利用奈米表面改質提升QCM偵測蘭花嵌紋病毒的靈敏度:以單壁奈米碳管與奈米金作表面修飾

研究生 : 黃宏書　　指導教授 : 黃國華 教授

共同指導: 洪耀欽 教授

(中國醫藥大學)

國立交通大學

奈米科技研究所

碩士論文

中文摘要

本論利用單壁奈米碳管 (single-wall carbon nanotube) 與 37 nm 奈米金(gold nanopaticles)修飾石英晶體微量天平 QCM (quartz crystal microbalance)使其在蘭花嵌紋病毒的及時檢測具有高靈敏度。首先利用單壁奈米碳管在電極的修飾，接著利用化合物 CDI-Tween 20 (1,1'-carbonyldiimidazole-activated Tween 20) 來交聯單壁奈米碳管與抗體，完成偵測前的修飾。藉由單壁奈米碳管的修飾，當檢測病毒濃度在 0.1 μg mL^{-1} 時的靈敏度可由 2.18 Hz ng^{-1} 提升至 11.5 Hz ng^{-1}，檢測極限也由 2.08 ng 提升至 0.502 ng。此外，經修飾後的檢測平台成功的應用於蘭花嵌紋病毒的定量。比較起酵素免疫法 ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)，單壁奈米碳管修飾 QCM 的檢測方式可達到相同的靈敏度且具有快速、便宜的優點，此研究提供了一個能快速檢測與定量蘭花嵌紋病毒的平台。

接著利用 37 nm 奈米金修飾QCM使其提升其靈敏度及鍵結效應。我們發現利用0.5 v/v % 的烷基雙硫醇修飾金電極表面可達到最高的奈米金覆蓋率(35.5%)，經修飾後的

QCM在偵測0.5 ng 蘭花嵌紋病毒的靈敏度可由4.62 Hz ng^{-1}提升至 48.1 Hz ng^{-1}，檢測極限也由1 ng提升至0.1 ng。本論文發現表面電荷的增加可提升石英震盪的基頻且增加其靈敏度，而表面能的增加可提升感測器的生物鍵結效應。

Nanoscale surface modification promotes ultra-sensitive detection of quartz crystal microbalance against cymbidium mosaic potexvirus: single-wall carbon nanotube and gold nanoparticles

Student: Hung-Shu Huang Advisor: Dr. Guewha Steven Huang

Co-advisor : Yao Ching Hung

Institute of Nanotechnology National Chiao Tung University

Abstract

We have developed an ultra-sensitive, convenient, real-time platform for detecting Cymbidium mosaic potexvirus (CymMV) based on single-wall carbon nanotube (SWNT)-functionalized quartz crystal microbalance (QCM) sensors. Functionalization was achieved by coating the QCM electrode with SWNTs, followed by 1,1'-carbonyldiimidazole-activated Tween 20 (CDI-Tween 20) modification and conjugation of antibodies. Sensitivity was enhanced from 2.18 Hz ng^{-1} to 11.5 Hz ng^{-1} when 0.1 μg mL^{-1} CymMV was applied. The low limit of detection of SWNT-functionalized QCM sensors was improved from 2.08 ng to 0.502 ng. The SWNT-functionalized QCM sensor was successfully used to quantify the amount of CymMV contained in infected orchid leaves. Compared to ELISA, SWNT-functionalized QCM sensors are fast, economical, and ultra-sensitive, with comparable sensitivities. The current study demonstrates the application of QCM sensors as a convenient platform to detect and quantify CymMV.

We modified the surface of QCM electrode with 37-nm GNP and found that the

sensitivity and capacity of detection was significantly enhanced. Maximum surface coverage of 35% occurred when 0.5% 1,6-hexanedithiol was applied as cross linking agent. A 10-fold enhancement of sensitivity was observed at 0.52 ng CymMV, from 4.62 Hz ng^{-1} to 48.1 Hz ng^{-1}. Limit of detection is improved from 1 ng to 0.1 ng. Modification of GNP enhanced 10 folds in sensitivity and in LOD.

Increase in surface charge was observed which in theory enhanced fundamental resonating frequency (F_0). Ultra-sensitive detection of modified QCM was correlated to the increase in surface charge. Increase in surface energy was also observed which was correlated to the increased in binding capacity of QCM electrode.

致謝

兩年的碩士生涯裡，夾雜著許多無法言喻的心情，首先感謝能有這段求學經歷讓我成長了許多，接著感謝許多支持與鼓勵我的人，也感謝樂意幫助教導我的人，因為有這些背後的推手才得以讓我順利完成學業。

大學時代材料與機械的背景讓我對於生物領域感到陌生與怯步，卻也是一種很好的學習的機會，在此我要感謝我的指導老師 黃國華 教授，老師不厭其煩的給予指導，並且不斷要我們能突破自己的障礙，讓我們具備 ”跨領域”的能力來面對往後職場的挑戰，除此之外，老師也常教導我們許多做人處事的原則，讓我們能在離開學校這個保護傘後能更加的謹慎。另外要特別感謝師母 洪孟燕 女士，師母不僅給予我在實驗上的鼓勵，也常撥空帶許多好吃的食物來給我們，讓我覺得實驗室就像一個大家庭一樣的溫馨。再來要感謝我的共同指導老師 洪耀欽 教授，洪醫師每個禮拜都能在百忙中抽空來參加實驗室的會議，並且給予專業的指導，在洪醫師的課堂中也讓我學習到許多醫學的新知。兩年碩士生涯裡，朝夕相處的實驗室夥伴是我邁進的原動力，在此要感謝 大勳、敍安 學長在實驗上能給予我細心的指導及精闢的見解，你們真的是實驗室的棟樑阿。接著要感謝在我碩一時帶我的高超及新堯學長，他們包辦一切實驗室問題與教導，兩人也在實驗方面給了我最大的協助，讓我能在短時間快速成長。還有從踏入實驗室就一起奮鬥到現在的好夥伴小孟、小馬、小明，感謝你們能與我一起經歷這兩年內的喜怒哀樂，往往都能互相扶持來渡過難關。最後要感謝實驗室新血的學弟妹們，已經能獨挑大樑的佳慧、洪寧、玉蘋，感謝妳們都能盡妳們所能的給我許多幫助，家偉、順華、宗翰也已

經慢慢的進入了軌道，相信你們必能青出於藍、更勝於藍的。

我能有幸來到這麼優秀的學術環境學習，要感謝大學時代的老師 李正中 老師，老師對教學的熱情讓我願意努力的念書，讓我學會從基本面去思考每一個難題。再來要感謝兩年來一直陪伴著我的女友珮芬，謝謝妳始終支持著我。最後我要感謝我的父母，父母總是希望我能朝自己的目標前進，並給予我最大的支持與鼓勵，讓我能無後顧之憂的專心於學業。還有許許多多曾經幫助過我的人，有你的幫助才能讓我完成碩士學位，謝謝你們。

Contents

Chapter 1

List of Tables

List of Figures

Chapter 2

List of Tables

List of Figures