

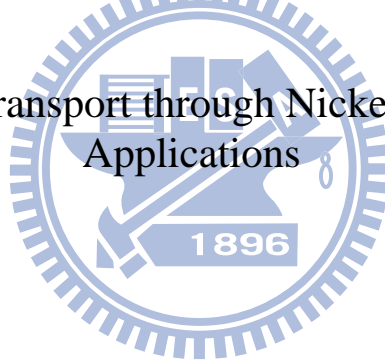
國立交通大學

材料科學與工程學系

博士論文

鎳離子螯合去氧核糖核酸之電性研究及其應用

The Study of Charge Transport through Nickel-chelated DNA and Its Applications



研究生：張簡鵬崇

指導教授：劉增豐 教授

共同指導：張家靖 教授

中華民國九十八年七月

鎳離子螯合去氧核糖核酸之電性研究及其應用
The Study of Charge Transport through Nickel-Chelated DNA and Its
Applications

研究生：張簡鵬崇

Student：Peng-Chung Jangjian

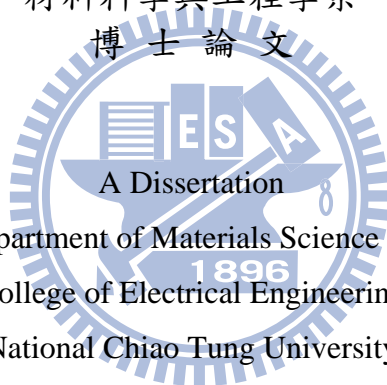
指導教授：劉增豐

Advisor：Tzeng-Feng Liu

共同指導：張家靖

Co-advisor：Chia-Ching Chang

國立交通大學
材料科學與工程學系
博士論文



Submitted to Department of Materials Science and Engineering
College of Electrical Engineering
National Chiao Tung University

in partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of
Doctor of Philosophy
in

Materials Science and Engineering

September 2009

Hsinchu, Taiwan, Republic of China

中華民國九十八年九月

鎳離子螯合去氧核糖核酸之電性研究及其應用

學生：張簡鵬崇

指導教授：劉增豐
張家靖

國立交通大學材料科學與工程學系（研究所）博士班

摘要

去氧核糖核酸 (DNA) 為自然界中一維的奈米線，其獨特的自組裝性常被應用於生物感測器，以及奈米導線模版的製作。然而其不佳的電導特性，則限制了 DNA 在分子元件發展與應用的潛能。在本研究中，我們將二價鎳離子於鹼性環境下，參雜入 DNA 分子的雙股螺旋中，形成 nickel DNA (Ni-DNA)。並藉由導電掃描探針顯微鏡，及電化學分析結果可知，Ni-DNA 的導電度較原本的 DNA 有大幅的改善。其電荷可能藉由 Ni-DNA 中，具有良好堆疊之鹼基對間的交互作用來作傳輸，而參雜在其中的鎳離子猶如存在於 DNA 分子中的電洞，使得電子更容易利用電子跳躍 (Electron hopping) 來做電荷的傳輸，並且在鹼基上電子最高填滿軌域 (HOMO) 與最低未填滿軌域 (LUMO) 之間的能隙也因鎳離子的參雜而降低。並且由電化學的分析中可知，DNA 分子中鹼基對的堆疊，對於電荷於 Ni-DNA 中的傳輸有顯著的影響。當鹼基對的堆疊產生變化時 (例如在序列中鹼基對發生錯誤配對，即造成 π 軌域堆疊的扭曲)，即使得電荷於 Ni-DNA 中的傳輸受到阻礙而呈現出較高的電阻值。藉由電荷於 Ni-DNA 中的傳輸特性，我們成功的將 Ni-DNA 導入至 DNA 生物感測器上的應用。對於 DNA 分子序列中是否有鹼基對錯誤配對的情況，可以有效的檢測。並對於單一核苷酸多型性 (single nucleotide polymorphisms; SNPs) 的檢測提供了一個新的方向。

除此之外，Ni-DNA 還可以應用於固態的奈米電子元件上。在本研究中，我們將 Ni-DNA 架於兩電極上，並經由電性量測的結果可知，參雜於 Ni-DNA 中的鎳離子會因電位的變化而產生氧化還原反應，此反應會使得 Ni-DNA 的電性上表現出負微分電阻的特性 (Negative differential resistance, NDR)。因此 Ni-DNA 具有極佳的電性分子元件之應用性。

The Study of Charge Transport Through Nickel-chelated DNA and Its Application

student : Peng-Chung Jangjian

Advisors : Dr. Tzeng-Feng Liu
Dr. Chia-Ching Chang

Department of Material Science and Engineering
National Chiao Tung University

ABSTRACT

DNA is a one-dimensional nanowire in nature, and it may not be used in nanodevices due to its low conductivity. In order to improve the conducting property of DNA, divalent nickel ions (Ni^{2+}) are incorporated into the base pairs of DNA at $\text{pH} \geq 8.5$ and nickel DNA (Ni-DNA) is formed. Meanwhile, electrochemical analyses by cyclic voltammetry and AC impedance show that the conductances of Ni-DNAs are better than that of native DNA by a factor of approximately 20 folds. UV spectroscopy and DNA base pair mismatch analyses of Ni-DNA show that electrons hopping through the π - π stacking of DNA base pairs may play a vital role for charge transport within Ni-DNA molecules. Meanwhile, the change in resistance that is caused by the mismatched of DNA can also be monitored by electrochemical. In this study, resistance increased exponentially with the number of mismatches. Accordingly, an intuitive and direct method for evaluating the numbers of DNA mismatches can possibly be achieved. Additionally, the exponential increase in the electrical resistance of mismatched Ni-DNA maybe caused by electron tunneling through the mismatch-induced potential barrier in Ni-DNA.

In addition, a molecular device that is composed of Ni-DNA molecules exhibits a negative differential resistance (NDR) behavior. When two gold electrodes were connected by Ni^{2+} -chelated DNA (Ni-DNA) molecules which were converted from λ -DNA, not only the conductivity of DNA molecules were improved, but also an NDR device was formed at room temperature, in an ambient environment. Such NDR characteristics of a Ni-DNA device may have been caused by the redox reactions of Ni ions. This finding provides a highly potential for constructing electrical nano-devices from biological molecules. This biomaterial is a unique and designable one-dimensional bio-polymer for usage in biosensors and nanodevices.

誌謝

在交大七年的博士歲月中，著實讓我上了人生中最重要的一課，不論在學術的專業領域上或是人文素養上，使我在此成長不少，而這些也都要歸究於許多人的指導與幫忙。

首先要感謝我的指導教授 劉增豐教授，在我學生的生涯中，給我不少獨立思考及解決問題的機會，讓我在論文研究期間有廣大的發揮空間。另外還有我的共同指導教授 張家靖教授，感謝張教授對於我的指導以及在研究上的討論，也正因如此，此論文才可以順利的完成。除此之外，還要感謝 蔡明蒔博士及李美儀學姐對於我的研究所提出的寶貴建議，當然也要一並感謝口試委員 朝春光教授、甘魯生教授、果尚志教授及周亞謙教授能在百忙之中抽空前來指導，使本論文更臻完善。並謝謝生科所 曾信華博士和鄭財木博士對於我在學理上及實驗上之建議，感謝本論文不及備載但曾經在我求學階段幫助、指導過我的老師。

在學校生活中，感謝學弟妹朱學亮、葉奕辰、周輔宣、李子正、周靖淳、楊瑤貞及姜芳馨…等的陪伴，讓我在博士班修業期間，除了苦悶的研究生生活外，還感受到許多的生活樂趣，以助身心上的調劑，在此也祝福大家鵬程萬里。

另外特別感謝邵苔珍小姐，在我求學過程中不斷地給我支持與鼓勵，讓我安心並專注於實驗上，奠定未來之基石。最後要感謝的就是我的家人們，謝謝爸、媽對於我生活上及身心上的支持，使我的博士班修業過程可以順利地完成，在此本論文之榮耀與你們共同分享。



目錄

摘要	I
ABSTRACT	II
誌謝	III
目錄	IV
表目錄	VII
圖目錄	VIII
第一章 緒論	1
1.1 前言	1
1.2 研究動機與目的	1
第二章 文獻回顧	4
2.1 DNA 簡介	4
2.1.1 去氧核糖核苷酸	4
2.1.2 DNA 一級結構	5
2.1.3 DNA 二級結構	6
2.1.4 DNA 分子的光學特性	7
2.1.5 DNA 分子的電子特性	8
2.1.6 DNA 分子的導電機制	11
2.1.6.1 超交換作用 (Superexchange model)	11
2.1.6.2 電荷跳躍 (Hopping modle)	12
2.2 M-DNA 簡介	13
2.2.1 金屬離子在 DNA 分子上的配位位置	13
2.2.2 M-DNA 的基本結構和特性	14
2.2.3 M-DNA helix 的電荷傳輸特性	15
2.3 分子自組裝 (Self-assembly) 特性	16
2.3.1 分子自組裝種類	16
2.3.2 自組裝單分子層 [烷基硫醇 (RSH)]	16
2.4 電化學簡介	18
2.4.1 電化學反應系統	19
2.4.2 影響電化學反應系統的因素	21
2.4.3 電極動力學[76,78]	22
2.4.4 循環伏安分析法 (Cyclic Voltarmmetry, CV)	23
2.4.4.1 可逆系統 (Reversible System)	25
2.4.4.2 不可逆系統 (Irreversible System)	26
2.4.4.3 近可逆系統 (Quasi-reversible System)	26

2.4.5 交流阻抗分析法 (Alternating Current Impedance, AC).....	26
2.4.6 等效電路.....	26
2.5 石英晶體微量天平分析法.....	29
2.6 電泳分析法.....	30
2.7 負微分電阻 (Negative differential resistance, NDR).....	31
第三章 利用電化學法分析 DNA 與 M (Ni)-DNA 的導電特性.....	33
3.1 前言.....	33
3.2 實驗.....	34
3.2.1 實驗藥品、溶液配製與設備.....	34
3.2.2 實驗操作步驟.....	38
3.2.2.1 Ni-DNA 的置換.....	38
3.2.2.2 紫外光與可見光吸收光譜分析.....	38
3.2.2.3 電泳分析.....	38
3.2.2.4 金電極表面清洗.....	38
3.2.2.5 石英晶體微量天平分析.....	39
3.2.2.6 導電掃描探針顯微鏡分析.....	39
3.2.2.7 電化學系統.....	40
3.2.2.8 循環伏安法量測.....	42
3.2.2.9 交流阻抗法量測.....	42
3.3 結果與討論.....	42
3.3.1 DNA 分子自組裝於金電極表面的覆蓋率.....	42
3.3.2 以電泳分析以及 XPS 檢測 Ni-DNA 之形成.....	46
3.3.3 DNA 與 Ni-DNA 之間電子特性的差異.....	50
3.3.4 電化學分析.....	51
3.3.4.1 以循環伏安法分析 DNA 與 Ni-DNA 之電化學特性.....	51
3.3.4.1.1 不同電解質溶液系統對 DNA 分子電化學特性的影響.....	51
3.3.4.1.2 DNA 與 Ni-DNA 之電化學特性.....	55
3.3.4.1.3 Ni-DNA 的電導機制.....	55
3.3.4.2 以交流阻抗法分析 DNA 與 Ni-DNA 之電性.....	58
3.3.4.2.1 DNA 與 Ni-DNA 之阻抗圖譜.....	58
3.3.4.2.2 等效電路模擬.....	61
3.3.4.2.3 鹼基對堆疊對 Ni-DNA 電性的影響.....	63
3.3.5 Ni-DNA 於生物感測器上的應用.....	66
3.3.5.1 DNA 序列中鹼基對錯誤配對之檢測.....	67
3.4 結論.....	70
第四章 DNA 分子元件製作與電性量測.....	72
4.1 前言.....	72

4.2 實驗	72
4.2.1 實驗藥品、溶液配製與設備.....	72
4.2.2 實驗操作步驟.....	74
4.2.2.1 電極製作.....	75
4.2.2.2 DNA 溶液中多餘金屬離子及鹽類的透析.....	75
4.2.2.3 DNA 分子的 electrostatic trapping.....	76
4.2.2.4 電性量測.....	77
4.2.2.5 DNA 分子影像分析.....	77
4.2.2.6 銀離子交換法.....	77
4.3 結果與討論	78
4.3.1 Ni-DNA 與 λ -DNA 之形貌分析.....	78
4.3.2 Electrostatic trapping.....	81
4.3.3 DNA 分子元件之電性量測.....	84
4.3.3.1 鹽類殘留對電性的影響.....	85
4.3.3.2 λ -DNA 與 Ni-DNA 之電性量測.....	86
4.3.3.3 Ni-DNA 分子元件之負微分電阻特性.....	87
4.3.3.4 不同掃描速率對負微分電阻的影響.....	89
4.4 結論	90
第五章 總結	92
參考文獻	93



表目錄

表 2.1 文獻中 DNA 分子導電特性的比較.....	10
表 2.2 常用於分子自組裝之官能基及與其吸附之材料.....	17
表 2.3 等效電路各元件之參數及其表示式.....	29
表 3.1 本實驗中所使用 Ni-DNA 樣品之序列.....	34
表 3.2 不同長度之 native DNA 分子自組裝於金電極表面之覆蓋率.....	44
表 3.3 等效電路中各個等效元件之模擬參數結果.....	63



圖目錄

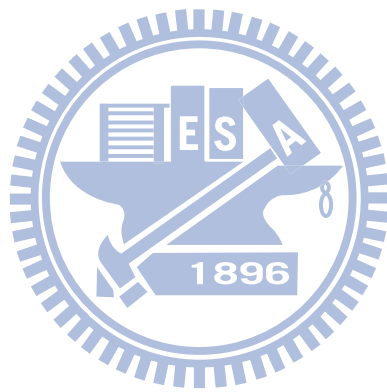
圖 1.1 晶片中電晶體數目增加與摩爾定律 (Moore's law) 之關係圖 (Source: ITRS).....	2
圖 1.2 半導體製程技術線徑縮小趨勢示意圖 (Source: Intel).....	3
圖 2.1 DNA 分子的組成及化學結構.....	5
圖 2.2 DNA 分子的二級結構[30].....	6
圖 2.3 雙股螺旋 DNA 分子[32].....	7
圖 2.4 DNA 分子紫外光可見光吸收圖譜[32].....	8
圖 2.5 (a) 雙股螺旋 DNA 及鹼基對堆疊示意圖. (b) The Bechgaard salts $(\text{TMTSF})_2\text{PF}_6$ - 一種導電的環狀類晶體[34].....	9
圖 2.6 電荷於 DNA 分子中的電洞傳導機制[47].....	11
圖 2.7 DNA 分子導電機制. (a) 超交換作用 (Superexchange) 或是穿隧效應 (Tunneling). (b) 電洞跳躍 (Hole hopping)[47].....	12
圖 2.8 鹼基對與二價金屬離子的配位.....	15
圖 2.9 M-DNA helix 之螺旋結構示意圖[28].....	15
圖 2.10 自組裝單分子層之成長機制[66].....	18
圖 2.11 三極電解槽之電化學反應系統.....	19
圖 2.12 電解質溶液內 (Solution bulk) 之電活性物質的質量傳遞 (Mass transfer) 機制。Ox 為電活性物質的氧化態，Red 為電活性物質的還原態[76].....	21
圖 2.13 (a) 循環伏安法之線性電位掃描波形圖. (b) 可逆反應之循環伏安圖譜[80].....	25
圖 2.14 (a) 電阻與電容以串聯及並聯的方式所組成之等效電路. (b) 此等效電路的阻抗圖譜 (Nyquist plot).....	28
圖 2.15 DNA 分子電泳分析示意圖.....	31
圖 2.16 NDR 電流-電壓特性曲線示意圖.....	31
圖 3.1 純金電極於電解拋光液中之循環伏安圖譜。掃描電位由 0.2 V 至 1.6 V，再回至 0.2 V.....	39
圖 3.2 金電極製作流程與 DNA 分子之自組裝。.....	40
圖 3.3 電化學分析所使用金電極之結構圖 (CHI101)。主要是以氯化三氟乙炔包覆直徑為 2 mm 的圓盤狀金電極.....	41
圖 3.4 不同長度之 DNA 分子自組裝於金電極表面後之循環伏安圖譜.....	43
圖 3.5 長度為 20 bp 之 native DNA 分子 (L-20) 自組裝於金電極表面後，由石英晶體微量天平所量測之頻率變化.....	45
圖 3.6 長度為 40 bp 之 native DNA 分子 (L-40) 自組裝於金電極表面後，由石英晶體微量天平所量測之頻率變化.....	45

圖 3.7 Ni-DNA 與 native DNA 之電泳分析結果	47
圖 3.8 SYBR Green 之化學結構圖	47
圖 3.9 Ni-DNA 之 XPS N 1s core level spectra 分析結果。(a) 純金表面 (b) Ni-DNA 修飾之金表面 (c) 經由 60 秒的 ion sputtering 處理後之 Ni-DNA 修飾金表面	48
圖 3.10 Ni-DNA 之 XPS Ni 2p core level spectra 分析結果。(a) 純金表面 (b) Ni-DNA 修飾之金表面 (c) 經由 60 秒的 ion sputtering 處理後之 Ni-DNA 修飾金表面	49
圖 3.11 Ni-DNA 之 XPS N 1s core level spectra 波峰分離模擬。400.02 eV 為 $-N=$ 共軛雙鍵的鍵結能、401.02 eV 為 $-NH_2$ 的鍵結能，以及 402.27 eV 為 $-NH^{3+}$ 的鍵結能，而位於 398.84 的波峰則為 Ni-N 的鍵結能....	49
圖 3.12 native DNA 與 Ni-DNA 之導電掃描探針顯微鏡分析結果。□ 表 native DNA，△ 為 Ni-DNA	50
圖 3.13 DNA SAMs 於 $Ru(NH_3)_6Cl_3$ 電解質溶液系統中之循環伏安圖譜.....	52
圖 3.14 Native DNA 與 Ni-DNA SAMs 於 $K_3Fe(CN)_6$ 電解質溶液系統中之循環伏安圖譜。(a) 純金電極 (b) native DNA 修飾之金電極 (c) Ni-DNA 修飾之金電極 (d) 經由 25 mM EDTA 處理後之 Ni-DNA 修飾之金電極	53
圖 3.15 純金電極 (a) 與 DNA SAM 修飾電極 (b) 於電解質溶液之示意圖	54
圖 3.16 長度為 30 bp 之 native DNA 分子 (Poly-TG) 自組裝於金電極表面後，由石英晶體微量天平所量測之頻率變化	54
圖 3.17 Ni-ssDNA (a) 與 Ni-DNA (b) 之循環伏安圖譜。虛線為 native ssDNA 或 DNA，而實線為 Ni-ssDNA 或 Ni-DNA	57
圖 3.18 DNA 分子於不同 pH 值(8.0、8.5、8.8 和 9.0) 的氯化鎳溶液中形成 Ni-DNA 之紫外光可見光吸收圖譜	58
圖 3.19 純金電極於 $K_3Fe(CN)_6$ 電解質溶液系統中所量測到的交流阻抗圖譜	59
圖 3.20 純金電極表面與電解質溶液界面所形成之電雙層示意圖。◆ 為 Redox probe，● 為 Electrolyte，● 為 Water molecule	59
圖 3.21 Native DNA 與經由 EDTA 處理後之 Ni-DNA 於 $K_3Fe(CN)_6$ 電解質溶液系統中所量測到的交流阻抗圖譜。□，▽ 分別表示為 native DNA 修飾之金電極以及經由 25 mM EDTA 處理後之 Ni-DNA 修飾之金電極，虛線為等效電路模擬結果	60
圖 3.22 Ni-DNA 於 $K_3Fe(CN)_6$ 電解質溶液系統中所量測到的交流阻抗圖譜，△ 為 Ni-DNA 修飾之金電極，虛線為等效電路模擬結果	60
圖 3.23 (a) 模擬純金電極系統下所量測交流阻抗圖譜之等效電路，(b) 模擬 DNA 分子修飾後金電極系統所量測交流阻抗圖譜之等效電路。 R_s 為溶液電阻， Q_{dl} 為一常相位角元件， ω 為角頻率， R_{ct} 為電荷轉移電阻，	

	W_0 (Warburg impedance) 為電解質溶液因擴散所造成的擴散阻抗， R 為 DNA 分子的電阻，而 Q_f 為 DNA 分子層的電容.....	62
圖 3.24	鹼基對堆疊對 Ni-DNA 交流阻抗圖譜之影響。○ 為完全互補之序列，●、▲、■ 分別為含有單一 AC、兩個 AC 以及三個 GT 錯誤配對鹼基對之序列 (如表 3.1 所示)，實線部份為等效電路模擬結果	64
圖 3.25	Ni-DNA 序列中鹼基對錯誤配對所誘發之電位能障示意圖	65
圖 3.26	能障寬度與電阻之關係圖	66
圖 3.27	Ni-DNA (Poly-TG) 序列中，鹼基對錯誤配對情形對交流阻抗圖譜的影響。● 為完全互補之序列，▲、▼、■ 分別為含有單一 GT、GA 以及三個 GT 錯誤配對鹼基對之序列 (如表 3.1 所示)，實線部份為等效電路模擬結果	68
圖 3.28	Ni-DNA (random sequence) 序列中，鹼基對錯誤配對情形對交流阻抗圖譜的影響。■ 為完全互補之序列，○、△、▽、◆ 分別為含有單一 GT、AC、GA 以及二個 AC 錯誤配對鹼基對之序列 (如表 3.1 所示)，實線部份為等效電路模擬結果	68
圖 3.29	Ni-DNA 序列中，各種不同鹼基對錯誤配對之電阻比較。圖中各符號所代表的序列如表 3.1 所示	69
圖 3.30	電阻變化量與鹼基對錯誤配對數量之關係圖	70
圖 4.1	元件電極製作流程圖	75
圖 4.2	DNA 分子 electrostatic trapping 示意圖	76
圖 4.3	元件電性量測示意圖	77
圖 4.4	銀離子交換法示意圖[18]。(a) 銀離子吸附於 DNA 磷酸骨幹 (b) 銀離子的還原	78
圖 4.5	Ni-DNA 之 AFM 影像分析 (a)，以及高度剖面圖 (b).....	80
圖 4.6	λ -DNA 之 AFM 影像分析 (a)，以及高度剖面圖 (b).....	81
圖 4.7	金電極之 AFM 影像圖，金電極間間隙約為 100 nm	83
圖 4.8	未經由 electrostatic trapping 之 DNA 分子於 SiO_2 基材上的 AFM 影像圖，DNA 分子呈現出隨機，網狀的分佈	83
圖 4.9	經由 electrostatic trapping 之 DNA 分子於 SiO_2 基材上的 AFM 影像圖，DNA 分子呈現出具有方向性的排列.....	84
圖 4.10	DNA 分子經由銀離子置換反應後之 SEM 影像圖	84
圖 4.11	緩衝液透析前與透析後對電性的影響	85
圖 4.12	鹽橋形成及電子傳輸示意圖	86
圖 4.13	λ -DNA 或 Ni-DNA 之電流-電壓曲線關係	87
圖 4.14	Ni-DNA 於正偏壓連續掃描之電流-電壓曲線圖 (0 V \rightarrow 10 V).....	88
圖 4.15	Ni-DNA 於負偏壓連續掃描之電流-電壓曲線圖 (0 V \rightarrow -10 V)	89
圖 4.16	Ni-DNA 連續循環電位掃描之電流-電壓曲線圖 (-10 V \rightarrow 10 V \rightarrow	

-10 V)..... 89

圖 4.17 Ni-DNA 於不同電位循環掃描速率之電流-電壓曲線圖 90



第一章 緒論

1.1 前言

本研究主要是利用分子自組裝特性，以及電化學分析技術，探討 native DNA 與 Metallic DNA (Ni-DNA) 之間導電度的差異與電化學特性，並藉由電化學的分析推导出電荷於 DNA 中的傳輸機制。再利用這些特性將 Ni-DNA 導入生物感測器上的應用，並成功檢測出 DNA 序列中是否有錯誤配對的鹼基對。最後再以 Ni-DNA 分子製作成一個固態的奈米分子元件，以電性量測分析探討 Ni-DNA 在分子元件上的應用。

1.2 研究動機與目的

拜科技進步所賜，半導體製程技術日新月異，電晶體元件的製程不斷的朝向奈米尺寸的方向發展。而在奈米化的過程當中，摩爾定律 (Moore's law) 多年來一直扮演著推動半導體製程技術發展的重要角色。依據摩爾定律所述，每經過大約五年，一個晶片中電晶體的數目會增加到原來的 10 倍 (圖 1.1)，相對的半導體線徑 (Gate Length) 也持續的縮小，例如目前的 45 奈米製程已逐步邁向商業化運轉。由國際半導體技術藍圖 (International Technology Roadmap for Semiconductors; ITRS) 所示，在 45 奈米製程之後，接下來的製程就到了 32 奈米和 22 奈米如圖 1.2。然而在以矽為基材的半導體技術上，22 奈米以下的製程將會逐漸的碰觸到物理極限以及高成本的問題[1]。為了克服積體電路製造的瓶頸，我們必須尋求更前瞻的技術甚至不同材料的解決之道。也因此，分子元件的開發受到許多研究單位的關注，而近幾年來分子元件的技術與發展 [2-12]，更展現出了分子元件極具潛力的發展趨勢。

何謂分子元件？簡單來說，分子元件就是利用奈米技術將一些奈米尺寸的分與毫微米的元件結構做一個有效的整合，將具有獨特電子特性的分子作為元件的主動區域 (Active area)，製造出一個具有特殊功能性的電子元件。例如：以奈米碳管所製作而成的場效電晶體 (Field-Effect Transistor)[13]，以及利用 *p*-phenylenevinylene oligomer 分子所作成的單電子電晶體 (Single-Electron Transistor)[14].. 等。這些元件的特性大都取決於電荷於分子中的傳導機制，因此，對於分子電性的探討可以說是分子元件中非常重要的一環。以目前分子元件製作技術來看，分子應用於奈米元件上時，所使用的分子需要有三種基本特性：獨特的結構性 (Fantastic structuring)、識別性 (Recognition) 和電導性 (Conductivity)。就 DNA 分子而言，在結構性上，DNA 分子可以經由特殊的序列設計形成一維的線性結構、二維的平面結構和三維的立體的結構，這些不同結構的 DNA 分子可以用來提供我們不同基因訊息的讀取[15]。在識別性上，DNA 分子上的一些特定的序列對於某些蛋白質分子有獨特的識別性，蛋白質分子可以藉由這個特性，選擇性的自組裝於 DNA 分子上，而 DNA 分子所扮演的角色就類似一個提供自組裝反應的平台，藉由這反應可以將不同的分子與 DNA 結合，例如在 2003 年

Braun et. al. 的研究團隊成功的利用這個特性，將 DNA 分子與奈米碳管結合，製作出了一個場效電晶體[16]。雖然 DNA 分子在結構性和識別性上有著不錯的表現，但是在導電特性上卻一直有許多的爭議。在過去幾年裡對於 DNA 分子的導電特性量測上，由於所使用的設備、元件的結構、量測的條件和 DNA 序列的不同，使得量測的結果一直是眾說紛紜，對於 DNA 分子的電子特性，從絕緣體[17-19]、半導體[20,21]、導體[22,23]甚至於超導體[24]的論述都曾經被發表過。對於 DNA 分子的導電特性，一直到現在都沒有一個清楚的定論。然而在 1993 年，Lee et al. 在一次實驗中意外的發現，當 DNA 分子中參雜了一些二價的金屬離子時，例如，鋅離子、鈷離子或鎳離子，DNA 分子的導電特性將有明顯的改善[25-29]，而這個經由金屬離子參雜的 DNA 分子則被稱為 metallic DNA (M-DNA)，M-DNA 的發現使得 DNA 分子在奈米元件上的應用獲得了重大的突破。

在這次的研究中，我們會以二價的鎳離子作為參雜物，將 DNA 分子轉換為 Ni-DNA 分子，再以電化學法分析其電子特性，並與 native DNA 做比較，希望藉由電化學法分析出 native DNA 與 Ni-DNA 之間電化學特性的差異以及電荷傳輸機制，最後將 Ni-DNA 導入生物感測器與固態奈米電子元件上的應用。

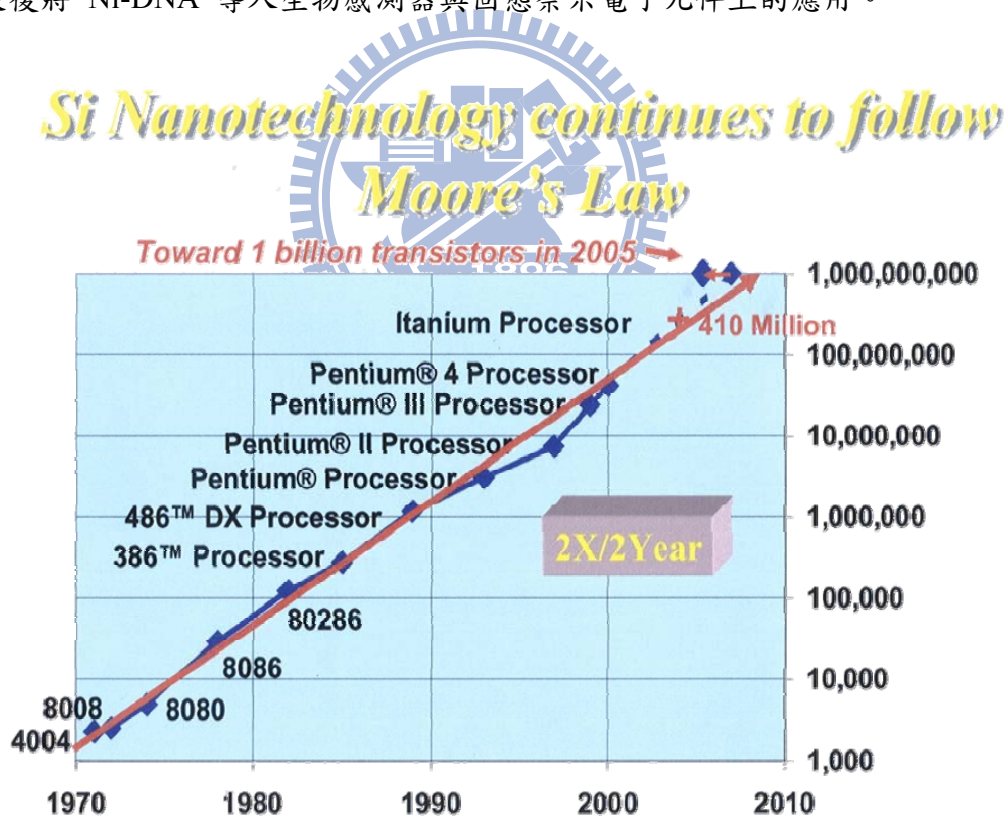


圖 1.1 晶片中電晶體數目增加與摩爾定律 (Moore's law) 之關係圖 (Source: ITRS)

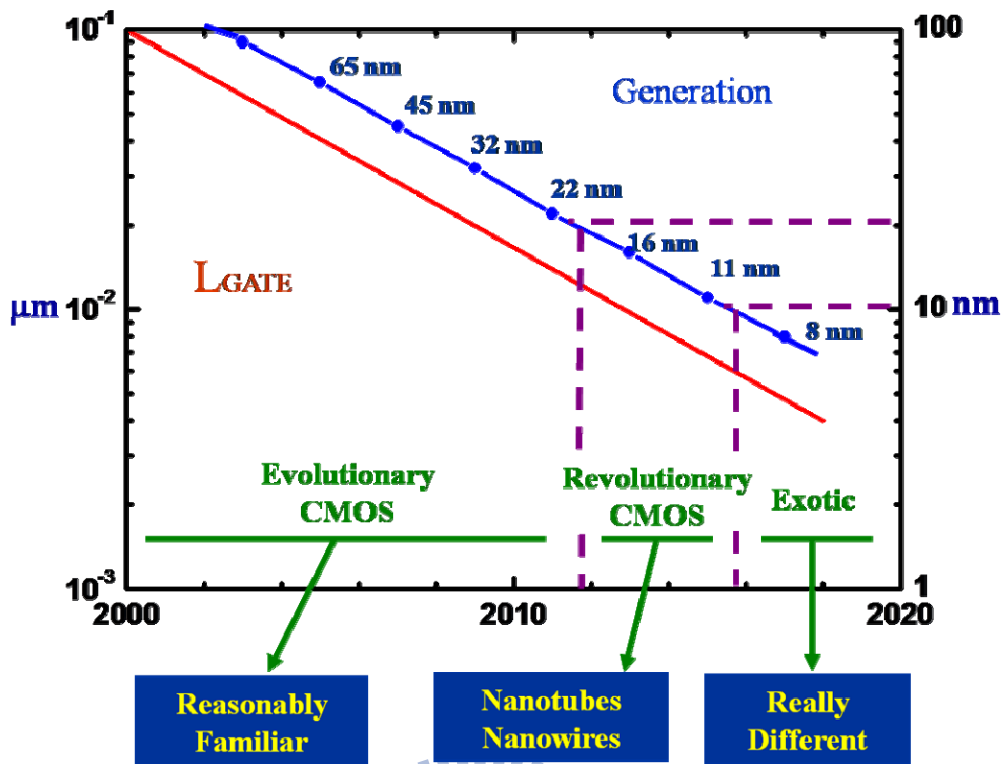


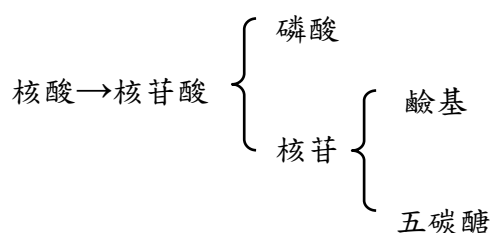
圖 1.2 半導體製程技術線徑縮小趨勢示意圖 (Source: Intel)



第二章 文獻回顧

2.1 DNA 簡介

核酸 (Nucleic acid) 是生物體細胞內最重要的大分子，主要是生物遺傳的物質基礎，在細胞中掌管了基因遺傳訊息的儲存 (Storage)、傳達 (Transmission) 以及表現 (Expression genetic information) 等功能[30]。核酸係由多個核苷酸 (Nucleotide) 組成，而核苷酸主要是由磷酸和核苷 (nucleoside) 所組成的，再將核苷進一步分解可生成鹼



基 (Base) 和五碳醣 (Pentose)。

根據所含五碳醣的種類可以把核酸分為兩大類，核醣核酸 (Ribonucleic acid; RNA) 和去氧核醣核酸 (Deoxyribonucleic acid; DNA)。DNA 是生物遺傳的物質，其結構是一個很長的線狀或環狀大分子，由去氧核醣核苷酸聚合而成 (Deoxyribonucleotide)，以下將針對 DNA 的化學組成及結構作介紹。

2.1.1 去氧核醣核苷酸

所謂的去氧核醣核苷酸是由去氧核醣核苷 (Deoxyribonucleoside) 被磷酸酯化所形成，去氧核醣核苷 (Deoxyribonucleoside) 是指一個鹼基加上一個醣類分子，每個去氧核醣 (Deoxyribose) C1 的位置上會接上一個鹼基。一般而言，鹼基可分為兩大類，以 5 角及 6 角雜環化合物組合而成的一類稱為嘌呤 (Purine)；只有一個 6 角雜環的則稱為嘧啶 (Pyrimidine)。組成 DNA 的鹼基分別為腺嘌呤 (Adenine; A)、鳥糞嘌呤 (Guanine; G)、胞嘧啶 (Cytosine; C) 和胸腺嘧啶 (Thymine; T)，。其中依據所接的鹼基的不同、去氧核醣核苷酸可以分為腺嘌呤去氧核苷酸 (Deoxyadenosine monophosphate; dAMP)、鳥糞嘌呤去氧核苷酸 (Deoxyguanosine monophosphate; dGMP)、胞嘧啶去氧核苷酸 (Deoxycytidine monophosphate; dCMP) 和胸腺嘧啶去氧核苷酸 (Deoxythymidine monophosphate; dTMP)[30] 其結構與化學組成如圖 2.1 所示。

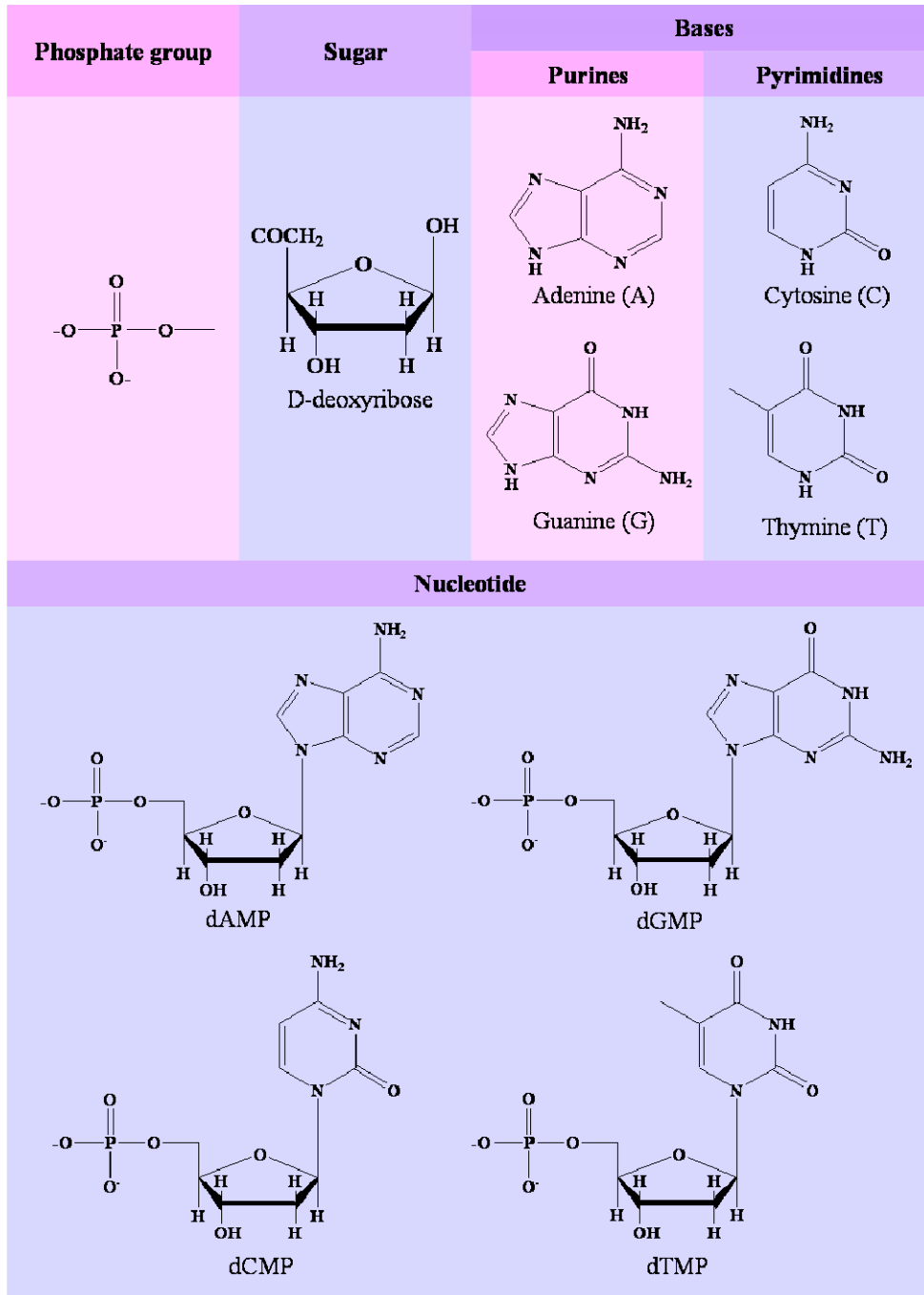


圖 2.1 DNA 分子的組成及化學結構

2.1.2 DNA 一級結構

DNA 的一級結構是指組成核酸的核苷酸之間連鍵的性質和排列的順序，DNA 分子中的核苷酸皆以 3', 5'-磷酸二酯鍵 (Phosphodiester bond) 連結，即一個核苷酸的五碳糖環第 3'位羥基，與另一個核苷酸的五碳糖環第 5'位的磷酸以酯鍵相連。因此 DNA 又可以看作是以去氧核糖及磷酸雙酯橋 (Phosphodiester bridge) 為整個分子的骨架 (Backbone)，所組成的去氧核糖核酸如圖 2.2 所示[30]。

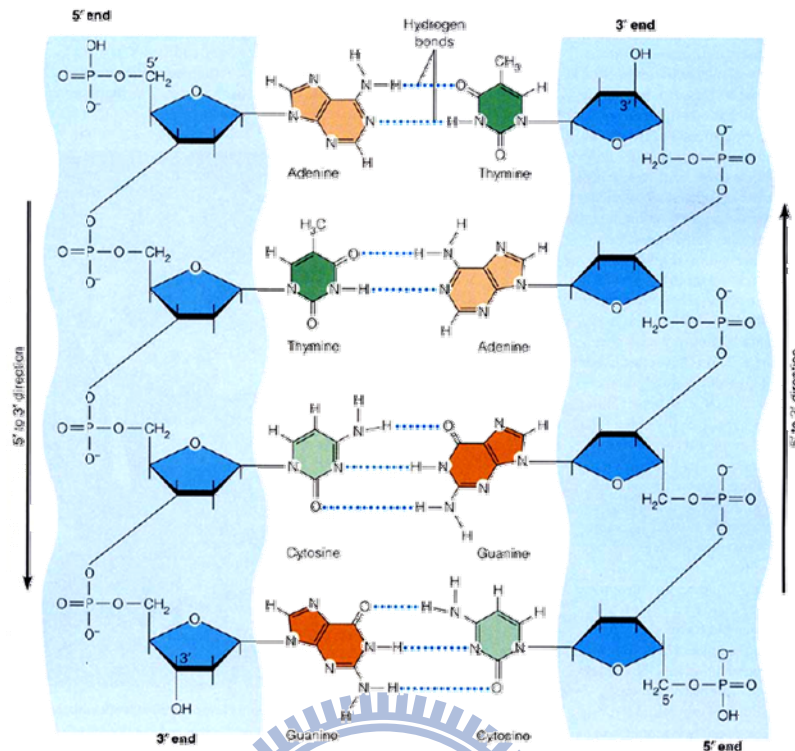


圖 2.2 DNA 分子的二級結構[30]

2.1.3 DNA 二級結構

1953 年 Watson 和 Crick 提出了著名的 DNA 雙股螺旋 (Double helix) 結構模型 (二級結構)[31]，其要點如下：

一條單股 DNA 上的嘌呤鹼必須與另一條單股 DNA 上的嘧啶鹼相匹配，才能形成雙股螺旋結構，其中 A 與 T 以兩個氫鍵連結，G 與 C 以三個氫鍵連結 (見圖 2.2)，這稱為鹼基互補。在 DNA 分子中，腺嘌呤與胸腺嘧啶，鳥糞嘌呤與胞嘧啶的含量相等。因此當一條多核苷酸鏈的鹼基序列確定後，即可推知另一條互補的多核苷酸鏈的鹼基序列。

1. DNA 分子由兩條互補的多去氧核糖核苷酸鏈組成。每條鏈的骨幹由磷酸二酯基通過 3'-, 5'- 鍵與兩個去氧腺苷基連接而成。兩條多核苷酸以相反方向盤繞同一條軸，形成右旋的雙螺旋結構，圖 2.3。螺旋直徑為 2 nm，每轉一圈的高度為 3.4 nm，含 10 個核苷酸單位，每個核苷酸單位的高度為 0.34 nm。鏈間的兩條螺旋形成凹槽，一條較深，另一條較淺，分別稱為大溝和小溝。
2. 兩條多核苷酸鏈股架是去氧核糖和磷酸，鏈的內側是嘌呤鹼和嘧啶鹼。兩條鏈通過鹼基間的氫鍵相連而維持雙螺旋結構。

維持 DNA 雙股螺旋結構的主要作用力是鹼基堆疊作用力 (Base stacking forces)。它是由環狀鹼基的 π 電子相互作用引起的。第二個作用力為氫鍵，DNA 分子中鹼基層層堆積，在分子內部形成了一個疏水的環境，促使互補鹼基之間形成氫鍵。另一個作用

力為磷酸根上的負電荷與介質中的 K^+ 、 Na^+ 、 Mn^{2+} 等陽離子之間形成的離子鍵。

在雙螺旋結構的基礎上，DNA 還可以形成三級結構。除了鍊狀結構外，生物體普遍採取雙鍊環型 DNA (Double-stranded cyclic DAN) 的形式。完整的雙鍊環型 DNA 在某些情況下可以扭曲成麻花狀的超螺旋 (Superhelix) 或超捲曲 (Supercoil) 結構。

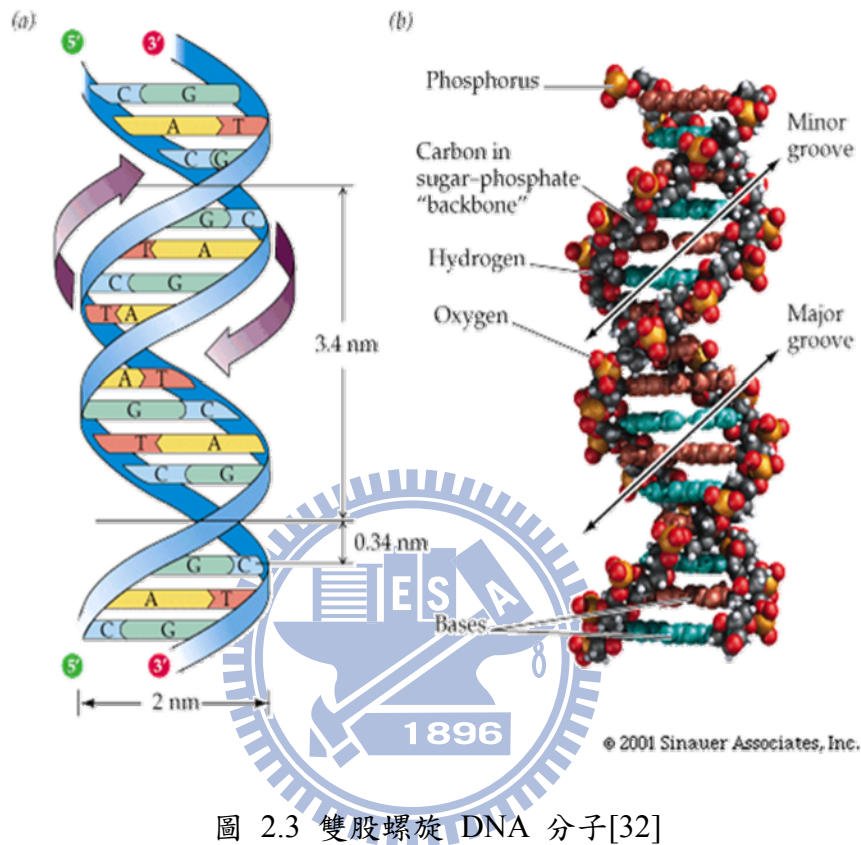


圖 2.3 雙股螺旋 DNA 分子[32]

2.1.4 DNA 分子的光學特性

當一束紫外光照射某些物質後，引起物質內部電子運動狀態的變化，而吸收一部分能量，由於分子內部電子的能量是量子化的電子，從基態 (Ground state) 躍遷到激發態 (Excited state)，只能吸收等於兩個能階差的能量，因此紫外光通過物質後，再通過稜鏡，會得到一組不連續的光譜，吸收最強的波長稱為特徵吸收波長。在 DNA 分子中，嘌呤鹼和嘧啶鹼都含有共軛雙鍵系統，經由紫外光照射之後，共軛雙鍵中的 π 電子會吸收 260 nm 左右的紫外光並躍遷到 π^* 激發態的位置，此時在紫外光可見光光譜圖 (UV-visible spectra) 中，會有最大吸收峰在 260 nm 波段，並在 230 nm 處有一低谷產生，如圖 2.4 所示。因此我們可以藉由特徵吸收波長的改變，來判斷 DNA 分子的結構是否有所變化。

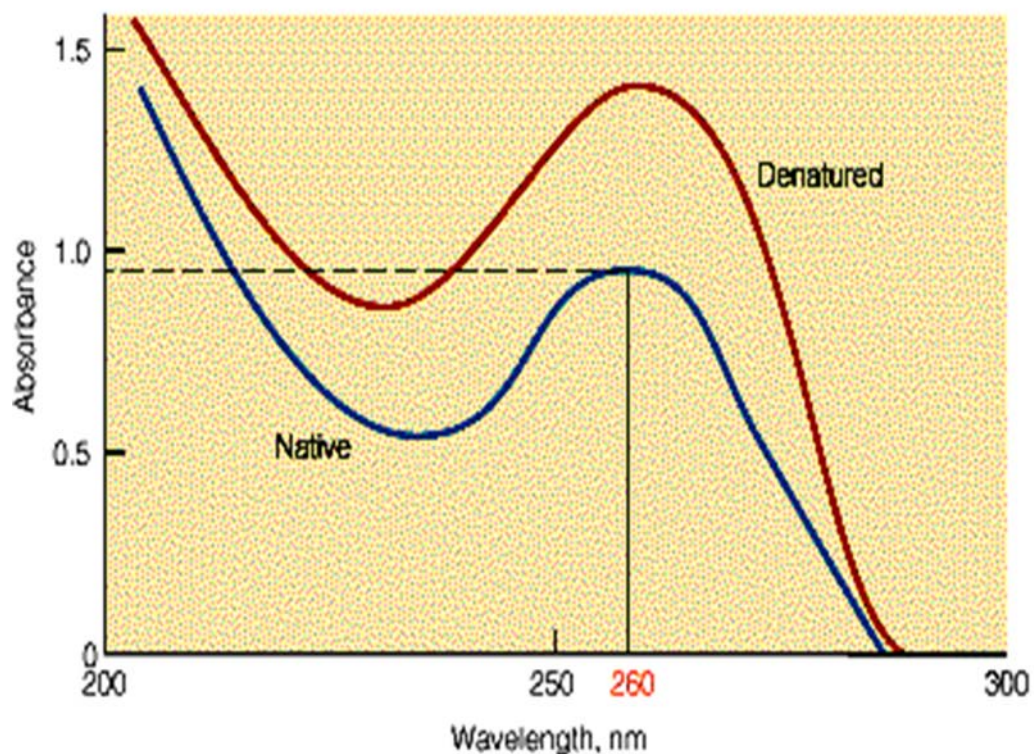


圖 2.4 DNA 分子紫外光可見光吸收圖譜[32]

2.1.5 DNA 分子的電子特性

有關於 DNA 分子的電子特性早在 1962 年就由 Eley et al. 所提出了[33]，在他們所發表的文獻中指出，DNA 中的核苷酸具有類似苯環的平面結構，當這些核苷酸形成適當的堆疊型態時（即所謂的 π -stack），相鄰鹼基對間的共軛雙鍵系統，透過垂直於苯環平面的 P_z 電子軌域形成混成軌域，而這混成軌域形成一個去局域化 (Delocalized) 的鍵結，因此電子可能沿著混成軌域作長鏈方向運動，如圖 2.5a。有些有機分子亦有類似的原子結構，例如 Bechgaard salts $(TMTSF)_2PF_6$ ，它是一種以芳香族類的分子堆積而成的晶體，層與層間的距離大約為 0.34 nm，如圖 2.5b 所示，這距離剛好與 DNA 分子中每個核苷酸單位的高度相似，在電性的表現上也的確是一種導體[34]。不過值得注意的是，這些有機分子導體是具有週期性排列的晶體，然而 DNA 分子則否。一般分子在缺乏週期性的無序系統中，往往會造成電子的局域化 (Localization) 而不導電，這現象稱為 Anderson localization[34-37]。從過去所發表過的文獻來看，對於 DNA 分子的電性一直以來都還沒有一個明確的定論。表 2.1 中整理出由不同研究團隊對於 DNA 分子電性量測的結果，從表中可以清楚的看出其量測的結果有著顯著的差異，DNA 分子的導電特性由絕緣體到導體都曾被發表過 [17-21,23,24,38,39]。

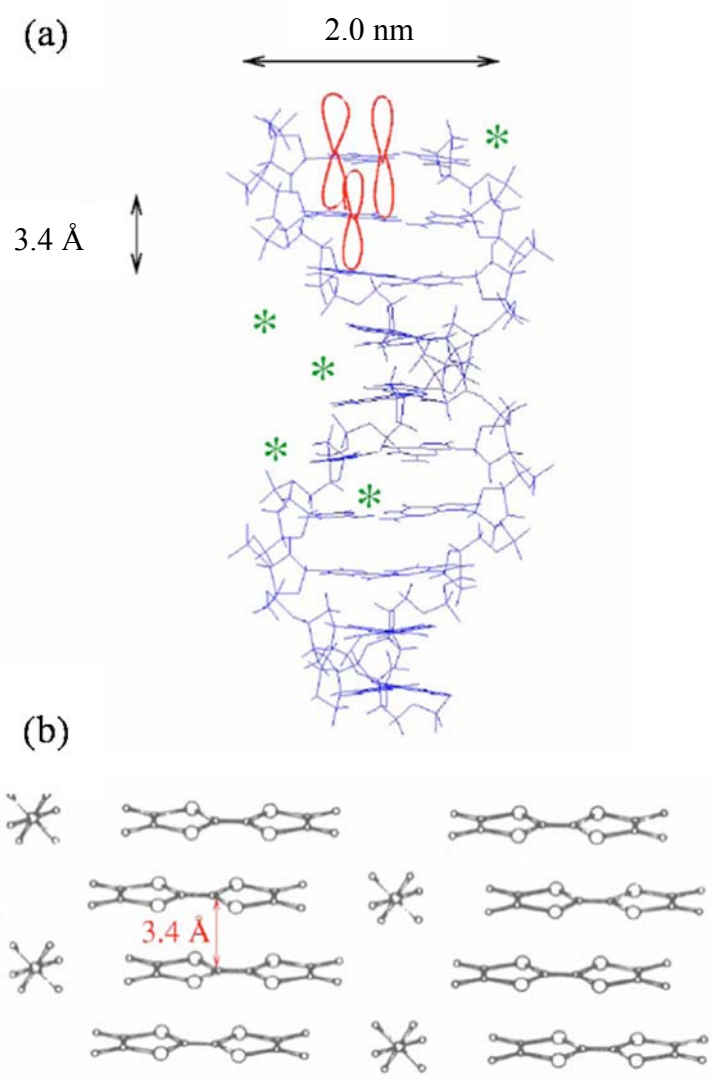


圖 2.5 (a) 雙股螺旋 DNA 及鹼基對堆疊示意圖. (b) The Bechgaard salts (TMTSF)₂PF₆ - 一種導電的環狀類晶體[34]

表 2.1 文獻中 DNA 分子導電特性的比較

Class	Group	DNA sample	~Length (nm)	Result	Electrode	Configuration	Ref.
Insulator	Braun <i>et. al.</i> (1998)	λ -DNA	> 16000	Insulating (RT)	Au	Suspended	[18]
	Storm <i>et. al.</i> (2001)	λ -DNA Poly(dG)-Poly(dC)	40-1000	Insulating (RT)	Pt/Au	On substrate	[17]
	de Pablo <i>et. al.</i> (2000)	λ -DNA	100	Insulating (RT)	SPM	on substrate	[19]
	Zhang <i>et. al.</i> (2002)	λ -DNA	> 4000	Insulating (RT)	Au	Suspended	[39]
Semiconductor	Porath <i>et. al.</i> (2000)	Poly(dG)-Poly(dC) (30 bp)	10	Wide band-gap semiconductor (RT)	Pt	Suspended	[21]
	Cai <i>et. al.</i> (2000)	Poly(dG)-Poly(dC) Poly(dA)-Poly(dT)	1700-2900 500-1500	Linear ohmic (RT)	SPM	Networks of bundles on substrate	[20]
	Fink <i>et. al.</i> (1999)	λ -DNA	600	Conducting (doped) (RT)	Au	Suspended	[23]
	Rakitin <i>et. al.</i> (2001)	Bundles of λ -DNA	15000	Narrow band-gap semiconductor (RT)	Au	Suspended	[38]
Conductor	Kasumov <i>et. al.</i> (2000)	λ -DNA	500	Induced superconductivity (T<1k)	Re/C	On substrate	[24]

2.1.6 DNA 分子的導電機制

就目前所發表過的文獻來看[34,40-46]，對於 DNA 分子的導電機制主要可以分為兩大理論，一為單步驟電洞傳導 (Single-step hole transfer)，也就是所謂的超交換作用 (Superexchange) 或是穿遂效應 (Tunneling)；另一個是藉由電洞跳躍 (Hole hopping) 來作電荷傳輸的多步驟電洞傳導 (Multi-step hole transfer)。這兩種機制都是利用光誘發電荷法 (Photoinduced charge) 所推導出來的。所謂光誘發電荷主要就是將一些具有氧化還原特性的探針 (Redox probe) 鍵結在 DNA 的雙股螺旋上，作為電荷施體 (Charge donors) 或電荷受體 (Charge accepters)，當 DNA 受到光物理反應 (Photophysically) 或光化學反應 (Photochemically) 誘發時，DNA 中的鹼基會產生氧化反應而生成帶正電荷的基團 (Positively charged radical)，此基團就像是一個電洞，可以藉由電荷的傳導而作移動，在移動過程中，電子會由 DNA 或電荷受體傳輸到電荷施體，就如同電洞的傳導一樣，如圖 2.6 所示[47]。

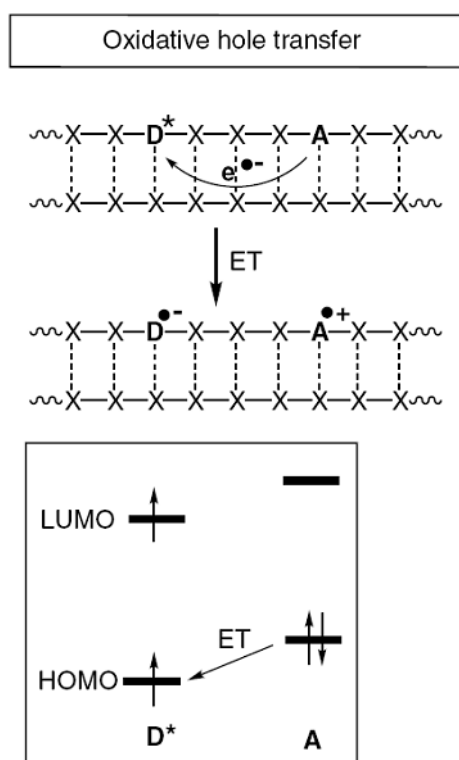


圖 2.6 電荷於 DNA 分子中的電洞傳導機制[47]

2.1.6.1 超交換作用 (Superexchange model)

當 DNA 分子的能態 (Energy state) 高於激發態的電荷施體時，電荷將會藉由量子力學的穿遂效應 (Tunneling effect) 由電荷施體穿遂至電荷受體，在整個傳輸過程中，電荷並不會停留在施體與受體間的 DNA 分子上 (圖 2.7a)[47]。在這種單一步驟的電荷傳輸過程中並沒有能量的散失，此現象稱為諧振 (Coherent)[34,47]。而電荷傳

輸的速率與傳輸的距離呈現出指數關係，隨這距離的增加，傳輸速率成指數遞減。因此藉由超交換作用傳輸電洞的機制，僅適用於短距離的電荷傳輸系統 ($< 10 \text{ \AA}$)。[47]

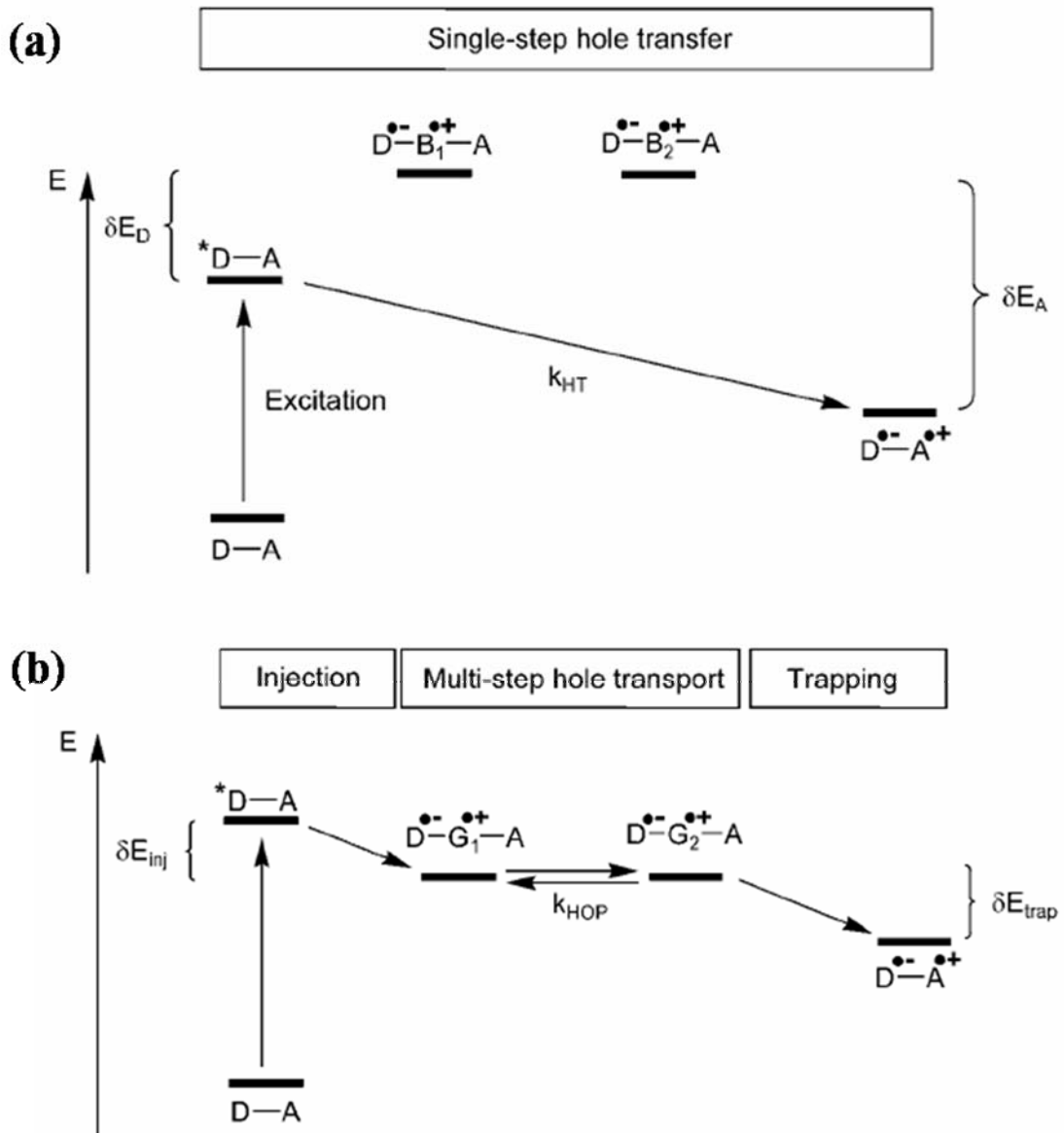


圖 2.7 DNA 分子導電機制. (a) 超交換作用 (Superexchange) 或是穿遂效應 (Tunneling). (b) 電洞跳躍 (Hole hopping)[47]

2.1.6.2 電荷跳躍 (Hopping modle)

相對於短距離的超交換作用機制，在長距離的電洞傳輸時，電洞會以跳躍的方式來作電荷的傳輸。在四種不同的鹼基中，鳥糞嘌呤 (Guanine; G) 最容易受到氧化，因此鳥嘌呤上因氧化所帶的正電荷基團，在電洞跳躍的過程中扮演著電荷載子介質的重要角色 (G-hopping)。和先前所描述的超交換機制不同，此時 DNA 分子的能態與激發態的電荷施體能態相似，使得電洞可以藉由熱跳躍 (Thermal assisted hopping) 進

入 DNA 分子的鹼基對堆疊中，如圖 2.7b 所示。電荷在 DNA 的不連續分子軌域中會有局域化 (Localized) 的現象產生，此時在電荷的傳導過程中，電荷的能量有部份會轉化成分子的動能，而使得能源散失，此現象稱為非諧振 (Incoherent)[34,47]。以此機制做為電荷的傳導時，電荷傳輸的速率與傳輸的距離並沒有顯著的關係。

在最近的許多文獻中也分別提到了，DNA 分子中除了鳥糞嘌呤 (Guanine; G) 可以作為電荷傳輸的載子外，腺嘌呤 (Adenine; A) 也可以擔任起此重要的角色 (A-hopping)[44-46]。A-hopping 主要是發生在 DNA 分子的序列中沒有 G-C 鹼基對，或者是在兩個 G-C 鹼基對中間包含有 ≥ 4 個 A-T 鹼基對時。在一般的電洞跳躍過程中，電荷的傳導仍然以 G-hopping 為主，當傳導過程中遇到 A-T 鹼基對時，會以穿遂的方式通過 A-T 鹼基對，但當 A-T 鹼基對的數目超過 3 個時，電荷就無法藉由穿遂效應來作傳輸，此時就必須利用 A-hopping 的方式才可以達到長距離的電洞傳導。

2.2 M-DNA 簡介

近幾十年來，DNA 分子的導電特性一直受到許多的研究團隊的注意 [17,21,23,48-54]，然而直到現在都沒有一個明確的定論，對於 DNA 分子的導電特性都還存在著許多的爭議。在 1993 年時，Lee *et.al.* 在某次意外的實驗中發現，當一些二價的金屬離子參雜入 DNA 分子中時 [25]，將使得 DNA 分子的電性獲得了明顯的改善 [26-29,38]。而這個經由金屬離子參雜的 DNA 分子就被稱為金屬化 DNA (Metallic DNA; M-DNA)。

2.2.1 金屬離子在 DNA 分子上的配位位置

在核苷酸分子中磷酸基、鹼基和五碳糖都可以作為金屬離子的配位基團。其中以鹼基配位能力最強，磷酸基居中，五碳糖的羥基最弱。在 DNA helix 中的鹼基與金屬離子之間的主要配位位置是在雜環圈氮原子的位置 (Heterocyclic ring nitrogen)；例如，嘌呤鹼的 N-7 和嘧啶鹼的 N-3.. 等。主要是因為這些位置是具有潛在質子化的位置 (Potential protonation sites)，與金屬離子鍵結之前，都有較高的酸性，其解離常數 (pK_a) 如下所示：

$$T3 (9.9) > G1 (9.4) \sim U3 (9.3) \gg C3 (4.4) > A1 (3.9) > G7 (2.5) \gg A7$$

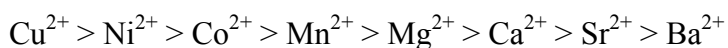
一般來說，金屬離子與這些配位位置的反應偏好也大致依循著這順序，但並非是絕對的。雖然在嘌呤鹼 N7 的位置其 pK_a 較低，然而卻是最容易與金屬離子產生配位作用，因此在高 pH 值時，鹼基中的配位位置與金屬離子的反應偏好順序應該如下所示：

$$T3 > G1 \sim U3 > G7 > A7 > C3 > A1$$

當 pH 值在中性時，由於前三個位置 (T3、G1 和 U3) 的 pK_a 較高，因此仍然有質子存在於這些配位的位置上，所以在中性的環境下其順序為：



由此可知，pH 值的高低是影響金屬離子與 DNA 分子配位位置的重要因素。能與核苷酸作用的金屬離子主要有 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Zn^{2+} ，由光譜吸收法 (spectrophotometry) 和 pH 法研究的結果：雖然嘧啶的 N-1 位置附近有胺基產生位阻效應，但它仍然可以通過 N-1 和 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Co^{2+} 和 Zn^{2+} 等金屬離子產生配位作用，藉由穩定常數的數值的比較，可以進一步得知 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 是直接和嘧啶的 N-1 配位，而 Mn^{2+} 則通過外配位層配位 H_2O 分子的氫鍵和 N-1 配位。二價金屬離子與核苷酸形成配位的穩定常數順序為：



2.2.2 M-DNA 的基本結構和特性

M-DNA helix 的形成主要是將雙股螺旋 DNA (ds-DNA) 放入在 pH 大於 8.5 並含有二價金屬離子 (Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、和 Zn^{2+}) 的溶液中，當 DNA 在高 pH 值的鹼性環境中時，在 G1 和 T3 配位位置上的亞胺基團 (Imino group) 會釋放出一個質子 (H^+)，使得鹼基帶負電荷並更容易與二價金屬離子產生配位反應如，如圖 2.8[25,55] 所示。有許多的實驗數據也證明了二價金屬離子會取代 G 和 T 鹼基上亞胺基的質子形成一個四面體的結構，例如：在 1993 年 Lee *et. al.* 以 H^1 核磁共振光譜 (Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy) 分析 Zn-DNA，發現當 DNA 在含有 Zn^{2+} 的鹼性溶液 (pH = 9.0) 中形成 Zn-DNA 時，鹼基上質子的訊號就會消失[25]。除此之外，當 DNA 序列是以 GC 重覆排列而成時，會比 AT 重覆排列而成的序列更快速且更完整的轉換為 Zn-DNA，為何會有這種情況產生？原因可以從 G1 和 T3 的 pK_a 得到解釋，由上一小節所述 (2.2.1)，G1 的 pK_a 為 9.4 而 T3 為 9.9，因此在 G1 上的質子會比 T3 上的質子更容易被釋放出來[25]，使得 GC 序列的 DNA 可以更快且更完整的形成 M-DNA。Aich *et. al.* 也提到當 DNA 形成 Ni-DNA helix 時，每一個鹼基對之間會有一個 Ni^{2+} 插入，並且放出一個質子 (圖 2.9)[28]。對於 Ni-DNA 的結構，由圓二色分光光譜 (Circular dichroism (CD) spectroscopy) 分析可知，當 ds-DNA 轉換為 M-DNA helix 時在光譜上並沒有明顯的改變，也說明了整個 M-DNA helix 的構形仍然維持著雙股螺旋的結構，並不會因為金屬離子的參雜造成明顯的結構變化。而 M-DNA helix 和 ds-DNA 之間也存在著可逆的關係，當我們在 M-DNA helix 中加入含有 ethylenediaminetetraacetic acid (ETDA) 的溶液或是在較低 pH 值的環境下，M-DNA helix 就會再轉變回原來的 DNA。

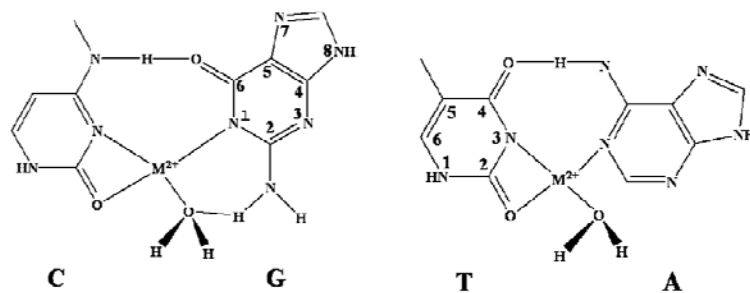


圖 2.8 鹼基對與二價金屬離子的配位

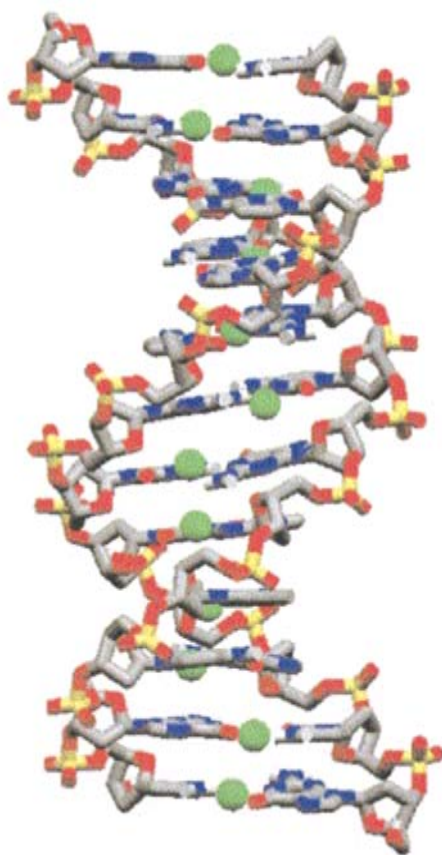


圖 2.9 M-DNA helix 之螺旋結構示意圖[28]

2.2.3 M-DNA helix 的電荷傳輸特性

對於 M-DNA helix 的電導特性也引起了許多研究團隊的注意，在 2001 年時，Rakitin et. al. 就曾經直接量測 Zn-DNA helix 的電性，由他們所得到的實驗結果可知，Zn-DNA helix 在電性上所表現出的特性，就像是一個類似金屬(Metallic-like)的導體[38]。而在電化學的交流阻抗實驗上，也發現了 Zn-DNA helix 所量測出的電阻要比 DNA 來得小[26]。相同的結果也在其它的電化學[27]和螢光淬熄 (Fluorescence quenching)[25,56,57] 實驗中被證明。除了實驗的證明外，也有一些文獻藉由理論的模

擬計算，得到類似的結果。由模擬的結果可知，當 DNA 轉換為 M-DNA helix 之後，原本存在於 HOMO 和 LUMO 之間的能隙 (Band gap) 將會縮小，並且 HOMO 和 LUMO 能帶 (Band) 也相對的變寬，這些現象都是因為當金屬離子插入鹼基對之間時，會造成雙股螺旋產生一些變形，使得鹼基上的 π 軌域產生重疊的現象，相對的，電子就更容易藉由 π 軌域的堆疊來移動。這些結果都顯示出，M-DNA helix 的形成可以有效的改善 DNA 的導電特性，將 DNA 分子轉變成為一條導線[58]。從這些研究中，我們可以得知，經由金屬離子參雜後的 DNA 分子，可以視為一條分子導線 (Molecular wire)，再與奈米技術相結合後，使其在奈米電子元件上的應用更極具潛力。

2.3 分子自組裝 (Self-assembly) 特性

所謂自組裝，是指基本結構單元(分子，奈米材料，微米或更大尺寸的物質)自發形成有序結構的一種技術，在自組裝的過程中，基本結構單元在基於非共價鍵，或是較弱共價鍵(凡德瓦力、靜電力、疏水性的交互作用、氫鍵或配位鍵)的相互作用下自發的組織或聚集為一個穩定、具有一定規則幾何外觀的結構[59]。自組裝過程並不是大量離子，原子或分子之間弱作用力的簡單疊加，而是若干個體之間同時自發的發生關聯並集合在一起，形成一個緊密而又有序的整體，是一種整體的複雜的協同作用。

2.3.1 分子自組裝種類

自組裝一般可以區分為兩大類，一為動態自組裝 (Dynamic self-assembly)，另一個為靜態自組裝 (Static self-assembly)。在動態自組裝中，組成結構的單元之間會產生交互作用，使得整個系統的能量有所散失[60]。然而在靜態的自組裝過程中，整個系統最終會達到一個熱動力學的平衡態，並且不會有能量的散失，如分子的結晶 (Molecular crystals)，DNA 的雜合 (Hybridization) 或是自組裝的單分子層 (Self-assembled monolayer (SAMs))[18,20,26,27,59,61-63] 等，大部份的研究也都專注於靜態自組裝的部份。其中自組裝單分子層更是被廣泛的運用在奈米科技與感測器上。

2.3.2 自組裝單分子層 [烷基硫醇 (RSH)]

自組裝單分子層是利用一分子的特定官能基與固體表面的特定反應性，於液態或氣態的環境下，在固體表面形成一具有方向性且緊密排列的單分子層[64,65]。不同的官能基會與不同的固體表面產生反應而形成較強的鍵結，例如共價鍵，而這種吸附的過程大多數也都以化學吸附為主。表 2.2[66]也列舉出了幾種常見的官能基以及與其相對應的固體表面，其中烷基硫醇 (RSH) 是最常被使用的官能基。烷基硫醇自組裝分子層的形成一般也都遵循著 Langmuirian isothermal kinetics 以及熱力學平衡，整個自組裝的過程可以用 Langmuirian isothermal equation 與 Gibbs free energy equation 來加以說明。

表 2.2 常用於分子自組裝之官能基及與其吸附之材料

烷基硫醇 (Alkanethiol): RSH	金 (Au), 銀 (Ag)、銅 (Cu) 和砷化鎵 (GaAs)
二烷基硫化物 (Dialkyl sulfides): RSR 二硫化物 (Disulfides): RS-SR	金
有機矽烷 (Organosilanes): RSiCl ₃ , RSi(OCH ₃), RSi(NH ₂) ₃	二氧化矽 (SiO ₂), 二氧化鋁 (Al ₂ O ₃), 玻璃, 石英, 雲母, 氧化鍺 (GeO ₂), 硒化鋅 (ZnSe), 金
醇基 (Alcohols): ROH 胺基 (Amines): RNH ₂	白金 (Pt)

Langmuirian isothermal equation:

$$\theta = \frac{Kc}{1 + Kc} \quad (1)$$

$$K = \frac{k_{ads}}{k_{des}} \quad (2)$$

θ 為基材表面的覆蓋率, c 為分子的濃度, K 為平衡常數, k_{ads} 為分子吸覆速率常數, k_{des} 為分子脫覆速率常數。由 Eq. (1) 可知, 基材表面的覆蓋率主要是與分子的濃度以及平衡常數成正比的關係, 濃度越高, 平衡常數越大, 表面覆蓋率也相對的越高。然而在烷基硫醇單分子層的自組裝上, 還必須考慮到分子長度所造成的影響, 整個自組裝的機制如圖 2.10 所示[66]。在低覆蓋率時, 烷基硫醇分子無序的吸附於基材表面(金), 烷基端與基材表面大至呈現平行的方式平躺於金表面(圖 2.10a)。覆蓋率增加時, 一些有序排列的分子島區將會出現, 並且藉由末端硫原子與金形成共價鍵, 固定於金表面, 而烷基端仍然與金表面平行(圖 2.10b)。當覆蓋率持續的增加時, 金表面的覆蓋率將達到飽和狀態, 此時烷基硫醇分子將會有秩序的排列於金表面(圖 2.10c)。分子持續的吸附將會造成吸附分子的相轉變 (Phase transition), 而造成相轉變的趨動力, 主要是來自吸附分子間的側向交互作用 (Lateral interaction), 使得原本平躺於金表面的烷基端豎立起來(圖 2.10d), 而此時溶液中的分子又會不斷的吸附, 使得金表面達到飽滿覆蓋率, 最後即形成單分子層(圖 2.10e)。在分子層的沉積過程中, 整個

系統必須降低它的自由能，以達到熱力學上的平衡態。在自組裝過程中，基材表面因結構的重建 (Reconstruction)，或者是吸附分子有序且同向性的排列方式，都會增加整個系統的自由能，因此烷基硫醇分子會藉由吸附作用，以及烷基鏈與烷基鏈間的交互作用來降低自由能以達到平衡態。

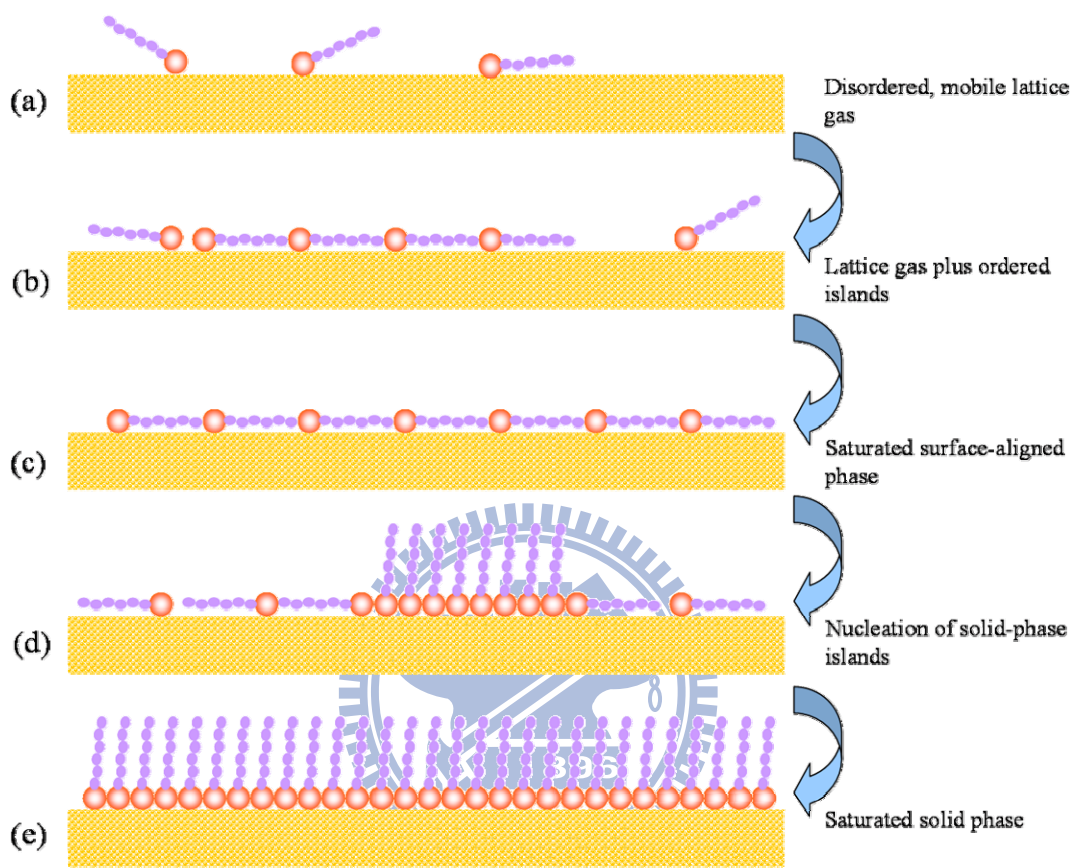


圖 2.10 自組裝單分子層之成長機制[66]

Gibbs free energy equation :

$$\Delta G = -RT \ln K \quad (3)$$

當烷基硫醇分子中的烷基鏈長度增加時， K (平衡常數) 值也相對的變大，由 Eq. (3) 可得知，系統的 Gibbs free energy 會隨著烷基鏈長度增加而減小，使得較長的烷基鏈不易脫附，造成長鏈的烷基硫醇分子以平躺的方式吸附於金表面，無法形成一層緻密的單分子層。由此可知，分子的長度對於表面的覆蓋率以及單分子層的形成有著顯著的影響。

2.4 電化學簡介

電化學反應主要是利用電極上電位的變化，來調整電極表面電子的能量，使得

一些具有電活性的物種 (Electroactive species) 與電極表面發生電子的轉移的化學反應。藉由偵測這些電化學反應所產生的電子訊號，可以得知電極表面與電解質溶液 (Electrolyte) 之間界面所發生的變化。在許多的研究當中，也常常使用電化學法來分析一些分子薄膜的導電特性[26,27,49,67-69]，或是作為生物感測器上的應用[70-75]。

2.4.1 電化學反應系統

當電極表面發生電化學反應時，電子由電解液中的電活性物種轉移至電極時，稱該反應為氧化反應，該電極為陽極。反之則為還原反應，該電極則稱為陰極。一般電化學反應系統主要是由陽極、陰極和電解質溶液所構成。由於電化學反應乃是利用電位來驅動反應，非一般化學方法之驅動力所能及，因此可以完成一些化學方法所不能完成的反應。通常三極電解槽是最常被用來研究電化學反應的系統 (圖 2.11)，三極電解槽的三極分別為工作電極 (Working electrode, WE)、輔助電極 (Counter electrode, CE) 以及參考電極 (Reference electrode, RE)。

(1) 工作電極 (WE)

為欲研究或測試的電極。此電極不固定為陽極或陰極，端視反應的不同而異，在電極上發生氧化反應時，此電極即為陽極；若發生還原反應，則此工作電極為陰極。

(2) 輔助電極 (CE)

根據參考電極的電位，在輔助電極上施加電流使工作電極達到使用者設定的偵測電位，並相對應於工作電極，所以可為陽極或陰極。此電極上發生電化學反應以不影響工作電極為原則，一般也都使用活性較不活潑的金屬，如白金 (Pt)。

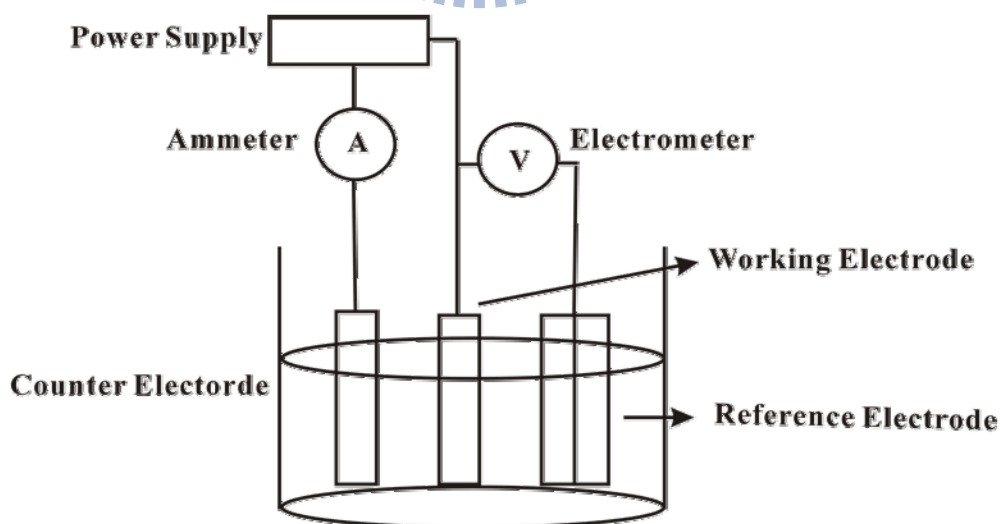


圖 2.11 三極電解槽之電化學反應系統

(3) 參考電極 (RE)

主要是在準確地設定工作電極上的電位。在電化學中所有的電位值都是以相對值來表示，因此需要一個參考的基準，參考電極即扮演這個角色；此電極在測定的電流範圍內本身的電位必須幾乎維持一定值。因此，一個理想的參考電極其電化學性能必須是可逆且穩定，並擁有近似理想非極化電極 (Nonpolarized electrode) 的特性，例如高交換電流和快速的電位響應。

在電解質溶液內 (Solution bulk) 的電活性物質，是以質量傳遞 (Mass transfer) 的方式進入電極表面的薄層溶液，進而抵達電極表面進行氧化還原反應 (圖 2.12)，質量傳遞的方式可以分為三種，包括 migration、diffusion 和 convection[76]。Migration 是指電場所造成的離子移動，帶正電荷的離子受陰極的吸引，帶負電荷的離子受陽極吸引；Diffusion 是由於電解質溶液內濃度的差異所形成的濃度梯度，使得分子由高濃度向低濃度移動；Convection 則是由於溶液本身為動態或經由攪拌所引起的運動。當電活性物質非常接近電極表面時，可能發生化學反應或物理吸附、脫附的做用；最後分析物接觸電極表面，在電極上發生氧化還原反應，產生反應電流 (單位 A)。式 (4) 描述反應電流的大小取決於分析物在鄰近電極表面的濃度梯度、分析物的擴散係數、電極面積的大小，和分子與電極交換的電子數。進行反應後再以類似的途徑離開電極表面回到 solution bulk。

$$i = nFAD \left(\frac{\Delta c}{\Delta x} \right) \quad (4)$$

i : 反應電流 (A)

n : 反應電子數

F : 法拉第常數

A : 電極的表面積 (cm^2)

D : 擴散係數 ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)

$\frac{\Delta c}{\Delta x}$: 濃度梯度 (M cm^{-1})



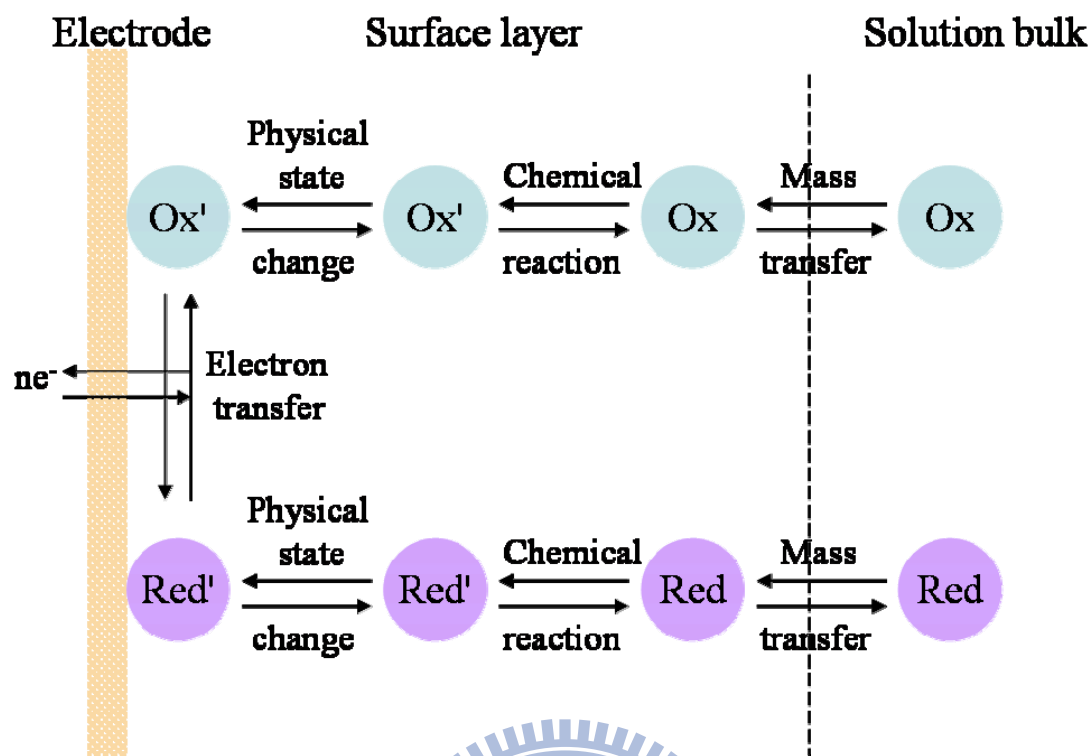


圖 2.12 電解質溶液內 (Solution bulk) 之電活性物質的質量傳遞 (Mass transfer) 機制。Ox 為電活性物質的氧化態，Red 為電活性物質的還原態態[76]

2.4.2 影響電化學反應系統的因素

在決定或設計一電化學反應系統時，通常必須考慮到下列幾個重要因素：

(1) 電極材料的選擇

電極材料的催化特性對電化學的反應速率之控制、產物之選擇性、陰陽極之反應過電位及電流效率之提高等皆有影響，而過電位的大小受電極材料的影響最大，因此良好的電極材料必須具有催化目標反應及降低反應過電位的特性。

(2) 電解質的選擇

一般電解質中所使用的溶劑，可簡單的分為水溶液與非水溶液。此外亦可分類為固態、膠態與液態電解質系統。例如：在鋰電池的設計上就應用了固態或膠態電解質[77]。在一些生物感測器上則採用了液態的電解質[70,74]。對於溶劑的選擇必須以電化學系統的需要加以考慮；例如：電位的穩定範圍、對反應物或生成物的溶解度、揮發性、適用溫度範圍、黏度與毒性等。

(3) 電解槽之設計

電解槽之設計通常包括電極之組對與排列、電解質溶液之流動狀況以及陰陽極的

隔離等問題。電解槽設計的目的，在於降低歐姆電位降 (IR potential drop)，改善質傳、熱導效果。

2.4.3 電極動力學[76,78]

假設在定溫定壓下，有一可逆反應



當反應未達平衡以前，正反應與逆反應的自由能， G_f 和 G_b 如下所示

$$G_f = a\mu_A + b\mu_B \quad (6)$$

$$G_b = c\mu_C + d\mu_D \quad (7)$$

μ 表示各物種的化學位能。隨著反應的進行，依據熱力學定律，整個系統的自由能會減少：

$$\begin{aligned} &= a\mu_A + b\mu_B - c\mu_C - d\mu_D \\ &= \left(a\mu_A^0 + b\mu_B^0 - c\mu_C^0 - d\mu_D^0 \right) - RT \ln \frac{(C)^c (D)^d}{(A)^a (B)^b} \\ &= -\Delta G^0 - RT \ln \frac{(C)^c (D)^d}{(A)^a (B)^b} \end{aligned} \quad (8)$$

式 (8) 中 (A)、(B) 等表示活性， ΔG^0 表示各種物種在標準狀態下，反應到達平衡狀態的自由能變化。

當反應到達平衡時， $-\Delta G = 0$ ，則式 (8) 可改寫為

$$-\Delta G^0 = RT \ln \frac{(C)^c (D)^d}{(A)^a (B)^b} \quad (9)$$

在定溫下， $-\Delta G^0$ 為一常數，則式 (9) 可以簡寫為

$$-\Delta G^0 = RT \ln K \quad (10)$$

$$-\Delta G = RT \ln K - RT \ln \frac{(C)^c (D)^d}{(A)^a (B)^b} \quad (11)$$

ΔG^0 稱為反應的標準自由能，而 K 則為標準平衡常數。

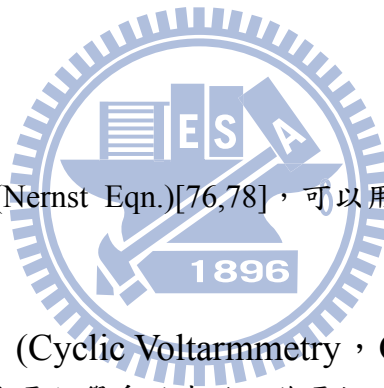
在一個達到平衡態的可逆反應之下，將不會產生任何的淨電流。然而在電化學系統中，為了產生反應，對於電極本身需施加有利於氧化或還原的電位，使得平衡系統受到破壞而產生化學反應，即會有微小的電流產生。在系統中施加一過電位 (Overpotential, E)，使得電極電位超出原先電極平衡的電位值 (E^0)，促使電流產生。電功不含因容積變化所引起的機械功，故相當於隨系統反應所得自由能增加：

$$\Delta G = nFE \quad (12)$$

其中 n 為電子數， E 為過電位，單位為電壓 V； F 為 1 法拉電量的電荷數 = 96485 C (庫倫)。式 (8) 可改寫為

$$nFE = nFE^0 - RT \ln \frac{(C)^c (D)^d}{(A)^a (B)^b}$$
$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{(C)^c (D)^d}{(A)^a (B)^b} \quad (13)$$

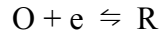
式 (13) 稱為能士特定律 (Nernst Eqn.) [76,78]，可以用來描述電化學反應系統中的電極電位。



2.4.4 循環伏安分析法 (Cyclic Voltammometry, CV)

循環伏安法主要是在電化學系統中的工作電極上施加一線性電位掃描，並以一定的速率改變外加的電位，即電位隨著時間成線性的增加或減少，如圖 2.13a 所示。記錄隨著電位掃引所產生的瞬間電流，以電位與電流作圖即可得到循環伏安圖譜 (圖 2.13b)。藉由圖譜上不同特徵峰值的電位 (E_p) 及峰值的電流 (i_p) 大小，可以得知分析物種與電極表面所產生的電化學反應 [27,73,76]。以圖 2.13b 為例：假設在一電化學系統中，電解質溶液只有還原態的電活性物種 (R) 時，當我們以一線性電位作掃引，即起始電位 (點 A) 往正值增加 (A \rightarrow C)。由於 A 點的電位較電活性物種的氧化還原電位小，因此並不會發生任何電化學反應，也就沒有電流的產生，當電位持續增加時，陽極的電位會慢慢的接近到電活性物種的氧化還原電位，此時，還原態的電活性物種 (R) 發生氧化反應，由還原態轉為氧化態 (O)，由於氧化反應的產生，在陽極上則可以偵測到陽極電流的產生，隨著電位不斷的增加，電流也成指數的增加。當電位到達 B 點時，由於在電極表面的還原態物種 (R) 已全都轉為氧化態物種 (O)，造成在電極表面形成一濃度梯度，使得 R 必須藉由擴散運動才可以到達電極表面作氧化反應，此時的電流大小取決於物質的擴散速率 (diffusion-limited) [79]，當擴散層厚度越厚，傳輸速率也就越慢，因此陽極電流隨著電位的增加 (B \rightarrow C) 而持續的降低。整個過程

中 (A → B → C)，在圖譜上則呈現出了一個氧化峰 (E_{pa}) 及陽極電流 (i_{pa})。相對的，當我們將掃瞄電位反轉後 (C → D → A)，氧化態的電活性物種 (O) 也會依據相同的原理而被還原成原來還原態的電活性物種 (R)，同時也生成了一個還原峰 (E_{pc}) 及陰極電流 (i_{pc})。以一個最簡單的法拉第電極反應為例：



循環伏安圖譜上的電壓-電流曲線，主要受到兩種不同機制的影響，異相電荷傳導 (Heterogeneous charge transfer) 與物質的擴散傳輸 (Diffusional mass transport)。在電極與電解質溶液界面的異相電荷傳導可以用 Butler-Volmer equation[80] 來描述：

$$j_o = \frac{i}{nFA} = C_o k_o \exp\left[-\alpha \frac{nF}{RT}(E - E^o)\right] - C_R k_o \exp\left[(1-\alpha) \frac{nF}{RT}(E - E^o)\right] \quad (14)$$

j_A = 電極界面的電流流量

C = 電活性物種的濃度

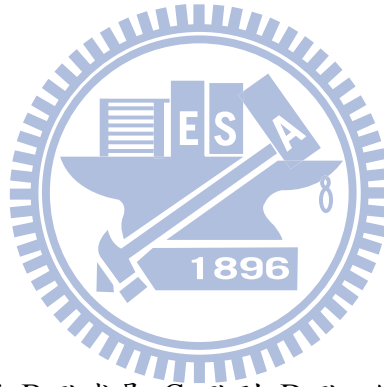
k_o = 速率常數

α = 移轉係數

E = 過電位

E^o = 標準電位

A = 電極面積



循環伏安圖譜上的 A 點到 B 點或是 C 點到 D 點，偵測到的電流值將會受到電活性物種於電極表面的濃度、電極電位和速率常數的影響。當電極表面的濃度梯度形成後，電流值的大小則主要受到物質傳輸擴散運動的影響 (B → C 或 D → A)，電流量會與濃度梯度成正比的關係：

$$j_o = -D_o \left(\frac{\partial C_o}{\partial x} \right)_{x=0} = D_R \left(\frac{\partial C_R}{\partial x} \right)_{x=0} \quad (15)$$

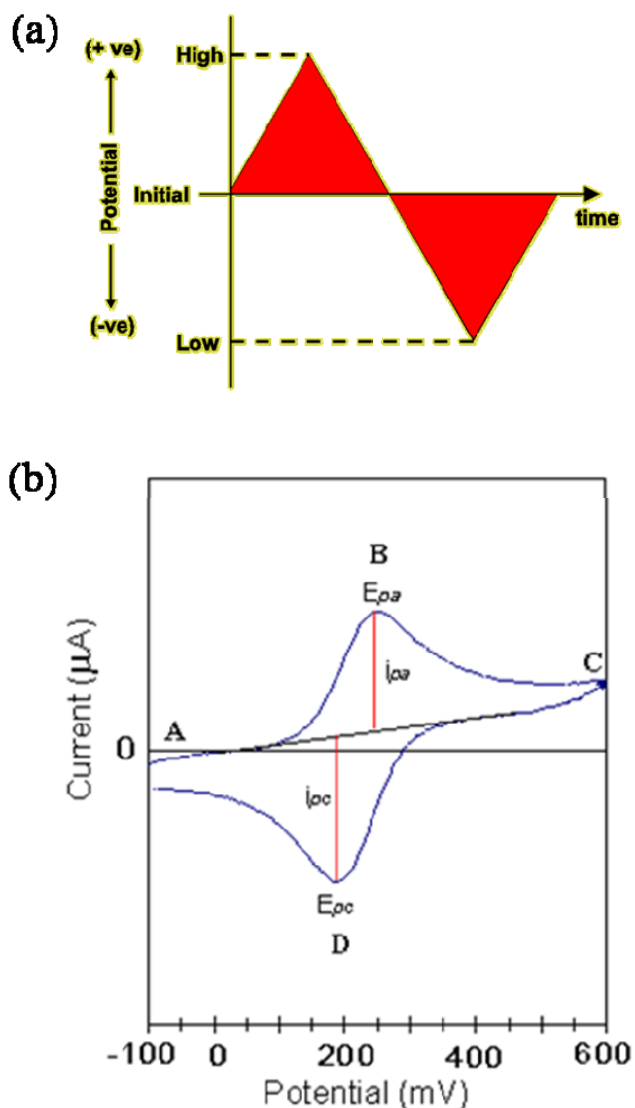


圖 2.13 (a) 循環伏安法之線性電位掃描波形圖. (b) 可逆反應之循環伏安圖譜[80]

2.4.4.1 可逆系統 (Reversible System)

對具備可逆性反應的電化學程序而言，其 $k_0 > 10^{-1}$ cm/s[80]，在施加一循環往返的電位掃描時，氧化峰與還原峰的两波峰之間的時間應極為接近 (25 °C)。通常可以藉由下式來判別是否具備有可逆性：

$$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = \frac{0.056}{n} V \quad (16)$$

ΔE 為氧化峰電位與還原峰電位之間的電位差 (單位 V)， E_{pa} 和 E_{pc} 分別為氧化峰電位和還原峰電位， n 為電子於電活性物種與電極之間的轉移數目。對於單電子轉移反應言， $n = 1$ ，當氧化峰電位與還原峰之間的電位差為 56 mV 時，代表此反應為可逆

的氧化還原反應。當我們得知整個反應為可逆反應時。峰電流 (i_p) 與其他變數的關係可以由 Randles-Sevcik 方程式[76]得知：

$$i_p = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} A C D^{1/2} \nu^{1/2} \quad (17)$$

式中， A 為工作電極的表面積 (單位： cm^2)， C 為整體電活性物種的濃度 (單位： mol/cm^3)， D 為電活性物種的擴散係數 (單位： cm^2/s)， ν 為電位的掃描速率 (單位： V/s)。在可逆的反應下，陽極所偵測到的氧化電流和陰極所偵測到的還原電流的比值會很接近 1。

2.4.4.2 不可逆系統 (Irreversible System)

相對於可逆反應，不可逆反應產生時，會有比較大的氧化峰與還原峰分離的情況發生，且電流量也較可逆反應時來得小，此時的電流量主要是受到電荷傳導速率的影響，相較於可逆反應的電荷傳導速率，不可逆反應的電荷傳導速率 ($k_0 < 10^{-5} \text{ cm/s}$)[80]小了許多。

2.4.4.3 近可逆系統 (Quasi-reversible System)

當電荷傳導速率介於可逆反應和不可逆反應之間時[80]， $10^{-1} > k_0 > 10^{-5}$ ，我們稱此反應為一近可逆反應，此時的電流量同時受到異相電荷傳導與物質擴散傳輸的作用。

2.4.5 交流阻抗分析法 (Alternating Current Impedance, AC)

當一個電極系統的電位或流經電極系統的電流產生變化時，對應的流過電極系統的電流或電極電位也相應地變化，這種情況就像是一個電路受到電壓或電流信號擾動時，有相應的電流或電壓響應一樣。而交流阻抗分析就是對系統施加一個頻率為 f 的振幅足夠小的正弦波電流訊號，相應的電極電位則會有一個頻率為 f 的正弦波響應的電壓訊號，此時電極系統的頻率響應函數就是電化學阻抗，可以用下式來表示其阻抗值：

$$Z = Z' + jZ'' \quad (18)$$

2.4.6 等效電路

在一系列不同頻率下所測得的一組頻響函數值就是電化學阻抗圖譜 (Electrochemical impedance spectroscopy, EIS)[81]。電化學阻抗圖譜是一種研究電極反應動力學及電極界面現象的重要電化學工具。在利用交流阻抗分析法所得到的電化學阻抗圖譜之後，可以藉由等效電路或數學模型的模擬，推測出電極系統中所包含的動

力學過程及其機制。等效電路基本上都由電阻 (R)，電容 (C) 或電感 (L) 等三種元件通過一定的聯接方式所組成。

通常用 R 表示電阻元件，單位為 Ω ，其阻抗如下：

$$Z_R = R = Z'_R \quad Z''_R = 0 \quad (19)$$

電阻的阻抗只有實部沒有虛部，其數值總為正值，並且與頻率的高低無關。

電容通常以 C 來表示，單位為 Farad (F)，阻抗為：

$$Z_C = -j \frac{1}{(\omega C)} \quad Z'_C = 0 \quad Z''_C = -\frac{1}{(\omega C)} \quad (20)$$

ω 為角頻率，電容的阻抗只有虛部沒有實部，電容值也都為正值，並且與頻率相關。

一般用 L 作為電感元件的標誌，單位為 Henry (H)，阻抗為：

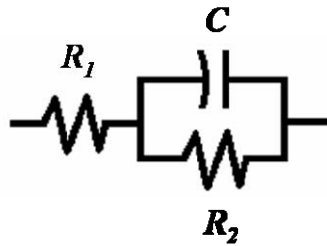
$$Z_L = j\omega L \quad Z'_L = 0 \quad Z''_L = \omega L \quad (21)$$

電感的阻抗也是只有虛部沒有實部， L 值為正值，並且與頻率相關。

由簡單的電學元件串聯、並聯或既有串聯又有並聯的聯接，可以組成複合元件的等效電路。舉一個常被使用的等效電路“Randles Circuit[82]”為例，此等效電路是由電阻與電容以串聯及並聯的方式所組成，如圖 2.14a 所示。其阻抗為：

$$Z = R_1 + \frac{R_2}{1+(\omega R_2 C)^2} - j \frac{\omega R_2^2 C}{1+(\omega R_2 C)^2} \quad (22)$$

(a)



(b)

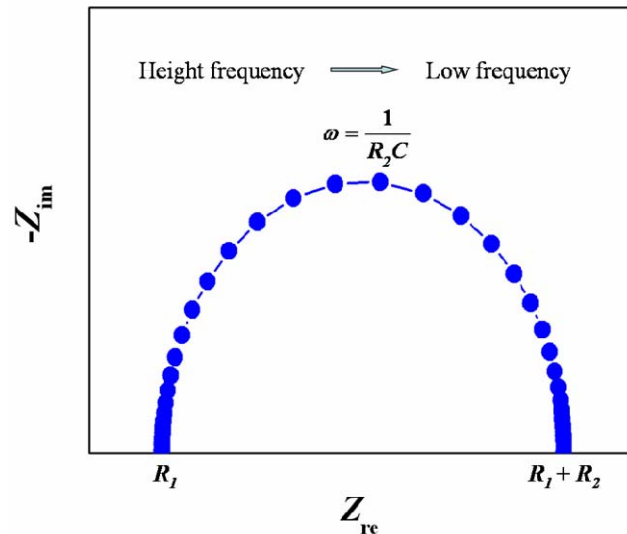


圖 2.14 (a) 電阻與電容以串聯及並聯的方式所組成之等效電路. (b) 此等效電路的阻抗圖譜 (Nyquist plot)

圖 2.14b 為此等效電路的阻抗圖譜 (Nyquist plot)，由高頻至低頻的阻抗於圖譜上呈現出一半圓弧，且交於阻抗實部軸於兩點，在高頻端的交點代表著等效電路中 R_1 的電阻值，相對的，在較低頻一端的交點代表著 $R_1 + R_2$ 的電阻值。因此對於一個經由交流阻抗分析法所得到的阻抗圖譜，藉由選擇適當的等效電路來模擬所量測到的阻抗值，則可推測出電極系統中所包含的動力學過程及其機制。然而對於一些較為複雜的電化學系統而言，單單只依靠電阻、電容或電感三種電路元件來進行阻抗圖譜的模擬並不足夠描述其電化學行為，例如在溶液態的電化學系統中，系統的阻抗還牽涉到了反應物靠近或生成物遠離電極表面之離子擴散速率的影響，當擴散效應支配電化學反應機制時，就必須再考慮到擴散效應所引起的阻抗，因此在等效電路中必須加入擴散阻抗元件，W (Warburg impedance)。一般較常使用的電路元件如表 2.3 所示。其中 CPE 為常相位角元件，用來描述非理想的電容元件，W 為半無限擴散阻抗，用來描述依靠擴散來做物質傳輸的路徑長度近似無限長時。O 為有限層擴散阻抗，用來描述擴散層的厚度為有限值。T 為阻擋層擴散阻抗，當距離電極表面 l 處有一壁壘阻擋物質的流

入時，則以此元件來描述擴散阻抗[81]。

表 2.3 等效電路各元件之參數及其表示式

等效元件	參數	Adittance	Impedance
等效電阻	R	$\frac{1}{R}$	R
等效電容	C	$j\omega C$	$-j\frac{1}{\omega C}$
等效電感	L	$-j\frac{1}{\omega L}$	$j\omega L$
CPE	Y_0, n	$Y_0 \omega^n \left(\cos \frac{n\pi}{2} + j \sin \frac{n\pi}{2} \right)$	$\frac{1}{Y_0} \omega^{-n} \left(\cos \frac{n\pi}{2} - j \sin \frac{n\pi}{2} \right)$
W	Y_0	$Y_0 \left(\frac{\omega}{2} \right)^{1/2} (1+j)$	$\frac{1}{Y_0} (2\omega)^{-1/2} (1-j)$
O	Y_0, B	$Y_0 (j\omega)^{1/2} \coth \left[B (j\omega)^{1/2} \right]$	$\frac{1}{Y_0} (j\omega)^{-1/2} \tanh \left[B (j\omega)^{1/2} \right]$
T	Y_0, B	$Y_0 (j\omega)^{1/2} \tanh \left[B (j\omega)^{1/2} \right]$	$\frac{1}{Y_0} (j\omega)^{-1/2} \coth \left[B (j\omega)^{1/2} \right]$

2.5 石英晶體微量天平分析法

石英晶體微量天平分析法 (Quartz crystal microbalance, QCM)，主要是利用反壓電效應來做為操作的原理。提到反壓電效應 (Converse piezoelectric effect) 就必須先提到壓電效應 (Piezoelectric effect)，壓電效應主要是在 1880 年，由 Pierre Curie 和 Jacques Curie 所提出的[83]。當施加一機械應力於一些沒有對稱中心的晶體時，會使得晶體中的原子位移，產生瞬間的偶極矩造成極化，此現象就稱為壓電效應，例如石英就是自然界中一種不具對稱中心的壓電材料[84]。相反的，當我們施加電壓於此晶體上時，會造成晶體的偶極重新排列產生機械應變，此現象就稱為反壓電效應。在石英中這種應變是具有彈性的，因此當我們施加交流電壓於石英晶體的兩面時，石英晶體就會產生特定頻率的振盪行為，當石英晶體的振盪頻率與交流電場的頻率吻合時，及產生最大的振幅形成共振現象 (Resonance)。石英晶體微量天平也就藉由量測共振頻率作一些定量的分析：當石英晶體上吸附了微量的待測物時，會使得石英晶體的共振頻率下降，量測共振頻率的改變量後，再依據 Sauerbrey equation[85]：物質吸附在石英振盪晶體表面時之質量-頻率關係式

$$\Delta f = \frac{-2f_0^2 \Delta m}{A(\mu_q \rho_q)^{1/2}} \quad (23)$$

Δf = 共振頻率變化量 (Hz)

f_0 = 石英晶體基本振頻 (Hz)

Δm = 吸附質量 (g/cm^2)

A = 電極面積 (cm^2)

μ_q = 石英晶體剪力係數 ($\text{g}/\text{cm} \cdot \text{s}^2$)

ρ_q = 石英晶體密度 (g/cm^3)

可以計算出有多少質量的待測物質吸附於石英晶體表面上，更進一步可以推算出有多少分子吸附其上，這也就是石英晶體微量天平被稱為可以直接偵測待測物的原因。

2.6 電泳分析法

帶電顆粒在直流電場作用下，向著與其電性相反的電極移動，稱為電泳 (electrophoresis, EP)。利用這種特性，電泳被廣泛的應用於一些蛋白質分子或小分子氨基酸的分離分析上。這些分子於電泳中的移動速度依分子的大小以及所帶的電荷量而定，分子越大帶電量越少移動性越慢，凝膠的濃度則決定了凝膠中孔隙的大小。以 DNA 分子電泳為例：DNA 分子的骨幹上因有磷酸根離子的關係，所以 DNA 分子在中性的溶液會帶負電荷，在一定的直流電場中，帶有負電荷的 DNA 分子則會向正極的方向移動。若我們將不同片段的 DNA 分子放入於多孔性凝膠骨架 (Porous gel matrix) 中時，因不同的 DNA 分子片段會有不同的尺寸大小，這些不同大小的 DNA 分子在 porous gel matrix 中會有不同的移動速率，較小的 DNA 分子移動速率比較大的 DNA 分子來得快，此時 porous gel matrix 就像是一個分子篩 (Molecular sieve)，經過一段時間的電泳分析後，不同尺寸大小的 DNA 片段即可被有效的分離出來，如圖 2.15 所示[86]。再經由螢光染劑的染色後，在紫外光照射下，可發現不同片段的 DNA 分子於凝膠上的位置。而影響 DNA 泳動的因素除了 DNA 的構形與大小之外，還有凝膠的濃度、電壓的大小、電泳緩衝液和螢光染劑的存在與否等。

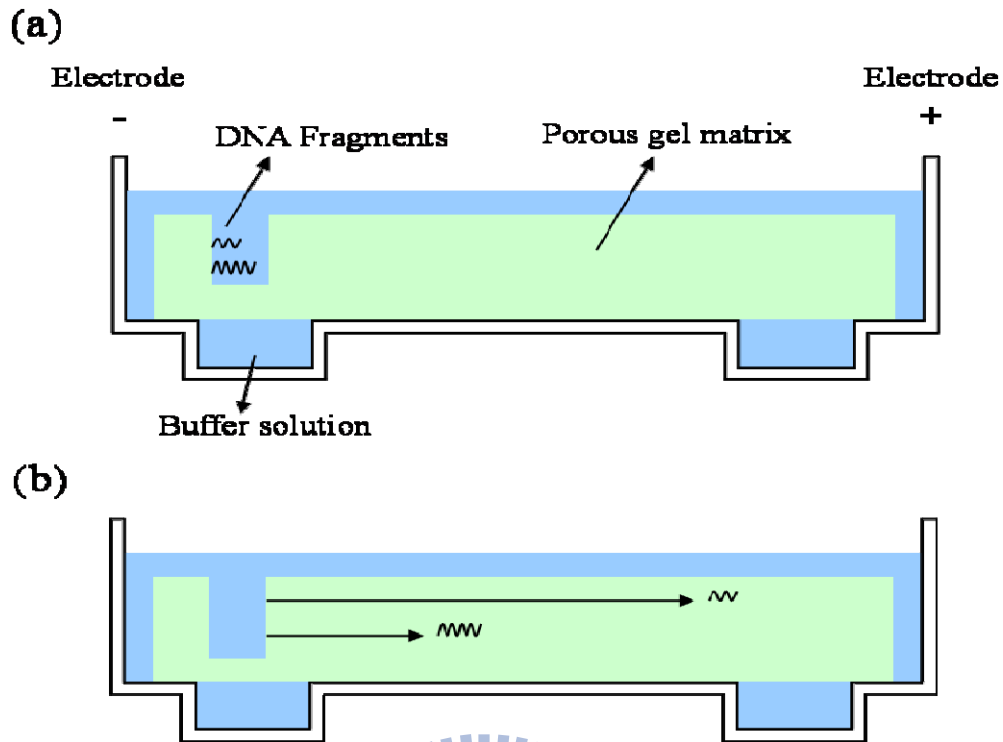


圖 2.15 DNA 分子電泳分析示意圖

2.7 負微分電阻 (Negative differential resistance, NDR)

所謂負微分電阻元件 (Negative Differential Resistance, NDR)，是在其電流-電壓曲線上具有負微分電阻的特性，也就是當電壓增加時，所產生的電流是隨著電壓的增加而遞減。例如：共振穿隧二極體 (resonant tunneling diode, RTD)[87]。其電流-電壓特性曲線如圖 2.16 所示：

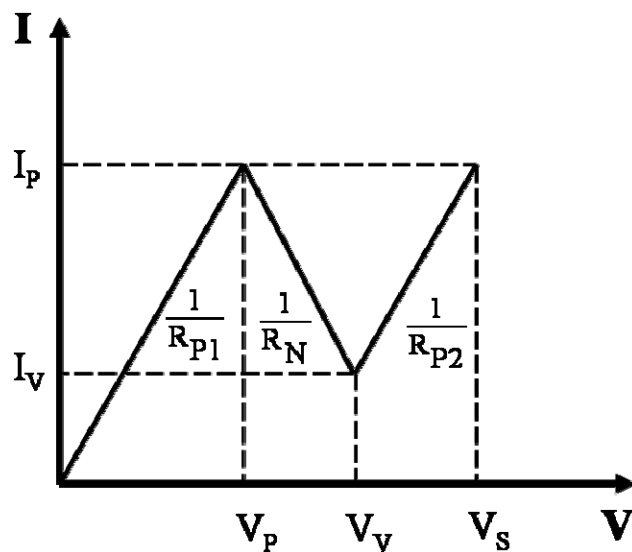


圖 2.16 NDR 電流-電壓特性曲線示意圖

$$R_{p1} = \frac{V_p}{I_p} \quad (24)$$

$$R_{p2} = \frac{V_s - V_v}{I_p - I_v} \quad (25)$$

$$|R_N| = \frac{V_v - V_p}{I_p - I_v} \quad (26)$$

$$PVVR = \frac{V_p}{V_v} \quad (27)$$

$$PVCR = \frac{I_p}{I_v} \quad (28)$$

式中 R_{p1} 為第一段正電阻區， R_{p2} 為第二段正電阻區， R_N 為負電阻區， $PVVR$ 為峰值、谷值電壓比， $PVCR$ 峰值、谷值電流比。一般常見的負微分電阻元件，均以三、五族化合物半導體製作而成，如砷化鎵 (GaAs)、磷化銦 (InP) 材料製作，其材料具有高電子移動率等優點。但因其成本過高，並且不能容易與積體電路元件相配合因而在應用電路上會產生困擾。



第三章 利用電化學法分析 DNA 與 M (Ni)-DNA 的導電特性

3.1 前言

隨著近幾年來科技的進步，製程設備和製程技術不斷的改進以及新材料不斷的研發之下，在我們周遭的生活中，許多的電子產品紛紛朝向輕薄短小邁進。然而當我們還在對著廣告中那即薄又輕的筆記型電腦羨慕不已時，許多的科學家已經將目光投注在奈米尺寸的電子元件上，而分子元件 (Molecular devices) 更是當中備受注目的焦點之一。所謂分子元件簡單的說就是利用一些特殊的技術操控分子或原子，按照人類的意願進行設計與組裝，進而製造出具有特殊功能的元件。而在許多的功能性分子當中，生物分子 (Biological molecules) 例如：DNA 分子更是備受青睞，主要是由於 DNA 分子是自然界最好的訊息存儲材料，以及具有自我組裝的特點，利於和現有的固態技術相互配合應用。

一個 DNA (Deoxyribonucleic acid) 單體，主要是由一個磷酸和一個五碳糖 (pentose)，以及一個鹼基 (base) 所組成，其中鹼基可分為 A (Adenine)，G (Guanine)，C (Cytosine) 和 T (Thymine) 四種。而早在 1953 年 James Watson 提出了 DNA 的雙股螺旋結構之後[31]，DNA 的導電特性引起了許多研究團隊的興趣，例如在 1962 年 Daniel Eley 首先提出，電子可以利用 DNA 中具有良好堆疊的鹼基對之間 π - π 的相互作用來作為電子傳輸的路徑，而形成分子導線[33]。在 2000 年 Danny Porath 和 Cees Dekke 則直接量測長度為 10.4 nm 的 DNA 分子的電性，發現其電性具有半導體的特性[21]。當然，也有一些科學家對於 DNA 分子的導電特性存有懷疑。而這議題也一直持續被廣泛的討論著。在 1993 年 Jeremy S Lee 為了有效的改善 DNA 分子的導電性，率先提出將一些二價的金屬離子 (Zn^{2+} 、 Co^{2+} and Ni^{2+}) 參雜入 DNA 分子中以提高其導電度，這些受到金屬離子參雜的 DNA 分子則稱為 Metallic DNA (M-DNA)[25]。

M-DNA 的形成主要是利用 pH 值的高低 (> 8.5) 來控制金屬離子取代 G 或 T 鹼基上亞氨基 (Imino) 的一個質子 (Proton)，而形成 G-M (Metal ion)-C 或 A-M-T 的結構[25,28,29,55]，如圖 2.8 所示。這些插入在雙股螺旋 DNA 鹼基對之間的金屬離子，將使得 DNA 的導電性有著顯著的改善[26,27]，再加上 DNA 分子本身所具有自組裝的特性，M-DNA 分子導線將可以被更廣泛的運用[38,88,89]。除此之外，DNA 分子還可以運用在生物感測器上 (Biosensor)，利用待測分析物與 DNA 分子鍵結時所產生的特異反應以電子訊號的方式經由 DNA 輸出，藉由電子訊號之間的差異而達到偵測的目的[49,70-72,75]。同理，M-DNA 也可以用於對遺傳疾病的檢測，一般的遺傳疾病往往都是由於某些基因序列發生了改變，若能將這些 DNA 轉化為 M-DNA，我們就可以透過正常 DNA 序列與突變 DNA 序列之間電子訊號的不同，藉由 M-DNA 將訊號放大來判斷是否有突變的現象產生[74]，而這些感測器的優點就在於檢測速度快，靈敏度高，樣品需求量少。

本實驗主要是藉由鎳離子的參雜將 ds-DNA 轉化為 Ni-DNA helix，再分別以

導電原子力顯微鏡 (SPM)，以及電化學分析法中的循環伏安分析法 (CV) 和交流阻抗分析法 (AC impedance) 對 native DNA 和 Ni-DNA 做電性上的分析以及其電化學特性的研究。最後再利用 Ni-DNA helix 於電化學分析中具有將電子訊號放大的特性，以 Ni-DNA helix 導入於電化學生物感測器上的應用[70-75]。藉由 Ni-DNA helix 有較 ds-DNA 高的導電特性，可以更準確的偵測出在 DNA 序列中是否有錯誤配對 (Mismatches) 的情況產生。

3.2 實驗

3.2.1 實驗藥品、溶液配製與設備

(1) 藥品

本實驗所用之藥品均為分析級，所使用之藥品如下：

Na₂HPO₄ (Disodium hydrogen phosphate, Sigma)

NaH₂PO₄ (Sodium dihydrogne phosphate, Sigma)

NaCl (Sodium chloride, Sigma)

TBE (Tris-Borate-EDTA) buffer 5× liquid concentrate (Pollster)

SYBR safe™ DNA gel stain (Applied biosystems)

Tris(hydroxymethyl) aminomethane (Sigma)

Agarose (Pollster)

EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid, Merck)

Acetone (merck)

HCl (Hydrochloric acid 32%, Merck)

KCl (Potassium chloride, Merck)

H₂O₂ (Hydrogen peroxide 30%, Merck)

H₂SO₄ (Sulfuric acid, Merck)

BOE (Buffered Oxide Etch, Merck)

KNO₃ (Potassium nitrate, Sigma)

NiCl₂ (Nickel(II) choride, Merck)

K₃Fe(CN)₆ (Ferrocyamide, Merck)

Ru(NH₃)₆Cl₃ (Hexaammineruthenium (III) chloride, Sigma)

另外向生技公司 (Markham Ontario, Canada) 購買經由硫醇分子修飾後的 DNA 片段如表 3.1 所示。且所有 DNA 樣品都經過純化以及去鹽類處理。

表 3 1 本實驗中所使用 Ni-DNA 樣品之序列

Symbol	Oligonucleotide sequence
P-fc	5' TGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTG 3' -SH 3' ACACACACACACACACACACACACACACACAC 5'

P-GT	5' TGTGTGTGTGTGT <u>G</u> TGTGTGTGTGTGTGTG 3' -SH
	3' ACACACACACACAT <u>T</u> ACACACACACACACAC 5'
P-3GT	5' TGTGTGT <u>G</u> TGTGTGT <u>G</u> TGTGTGT <u>G</u> TGTGTG 3' -SH
	3' ACACACAT <u>T</u> ACACACAT <u>T</u> ACACACAT <u>T</u> ACACAC 5'
P-GA	5' TGTGTGTGTGTGT <u>G</u> TGTGTGTGTGTGTGTG 3' -SH
	3' ACACACACACACA <u>A</u> ACACACACACACACAC 5'
R-fc	SH-5' ACGTTGTAAAACGACGGCCAGTGAATTG 3'
	3' TGCAACATTTTGCTGCCGGTCACTTAAC 5'
R-GT	SH-5' ACGTTGTAAAACGAC <u>G</u> GGCCAGTGAATTG 3'
	3' TGCAACATTTTGCTG <u>T</u> CGGTCACTTAAC 5'
R-GA	SH-5' ACGTTGTAAAACGAC <u>G</u> GGCCAGTGAATTG 3'
	3' TGCAACATTTTGCTG <u>A</u> CGGTCACTTAAC 5'
R-AC	SH-5' ACGTTGTAAA <u>A</u> CGACGGCCAGTGAATTG 3'
	3' TGCAACATTT <u>C</u> GCTGCCGGTCACTTAAC 5'
R-2AC	SH-5' ACGTTGTAA <u>AA</u> CGACGGCCAGTGAATTG 3'
	3' TGCAACAT <u>CC</u> GCTGCCGGTCACTTAAC 5'
R-3AC	SH-5' ACGTTGTAA <u>AAA</u> CGACGGCCAGTGAATTG 3'
	3' TGCAACAT <u>CCC</u> GCTGCCGGTCACTTAAC 5'
L-20	SH-5' GAAGGAAGAGAAAGGAGAG 3'
	3' CTTCCCTTCTCTTTCCCTCTC 5'
L-24	SH-5' GAAGGAAGAGAAAGGAGAGGAAG 3'
	3' CTTCCCTTCTCTTTCCCTCTCCTTCC 5'
L-28	SH-5' GAAGGAAGAGAAAGGAGAGGAAGGGAA 3'
	3' CTTCCCTTCTCTTTCCCTCTCCTTCCCTT 5'
L-32	SH-5' GAAGGAAGAGAAAGGAGAGGAAGGGAAAGAG 3'
	3' CTTCCCTTCTCTTTCCCTCTCCTTCCCTTTCTC 5'
L-36	SH-5' GAAGGAAGAGAAAGGAGAGGAAGGGAAAGAGAAGG 3'
	3' CTTCCCTTCTCTTTCCCTCTCCTTCCCTTTCTCTTCC 5'
L-40	SH-5' GAAGGAAGAGAAAGGAGAGGAAGGGAAAGAGAAGGGAGA 3'
	3' CTTCCCTTCTCTTTCCCTCTCCTTCCCTTTCTCTTCCCTCT 5'

(2) 溶液配製

實驗中所使用的水均為去離子水 (Deionized water)，用於調配緩衝液或生物樣品保存液的去離子水都經過高溫高壓滅菌的滅菌水。

➤ 硫酸溶液

取體積比為 3 : 1 的濃硫酸 (H₂SO₄) 與雙氧水 (H₂O₂) 混合均勻即為

清洗用的硫酸溶液。

➤ 電解拋光溶液

以濃硫酸加入去離子水調配成 0.5 M 的稀硫酸溶液。

➤ 磷酸鹽緩衝溶液 (Phosphate buffer solution, PBS, pH = 7.0)

使用滅菌水分別調配 0.2 M Na_2HPO_4 與 0.2 M NaH_2PO_4 溶液，取 61 ml 的 0.1 M Na_2HPO_4 溶液和 39 ml 的 0.2 M NaH_2PO_4 溶液混合均勻，再加入 1 M 的 NaCl 即為 0.2 M 的 PBS 溶液，pH = 7.0。

➤ DNA 保存溶液

本實驗中所使用的 DNA 樣品皆為脫水乾燥的商應化產品，依據廠商所提供的資訊，我們將所有單股 DNA 的樣品加入磷酸鹽緩衝溶液，使其濃度都為 100 μM 。再將互補的兩條單股 DNA 等量雜合 (Hybridization) 於磷酸鹽緩衝溶液中，使其最後濃度為 10 μM ，並隔水加熱至 95 $^\circ\text{C}$ 約 5 分鐘，之後再讓它自然的降至室溫，此即為實驗中所使用的雙股 DNA 溶液樣品 (表 3.1)，各種濃度可依所需稀釋，並保存於 -20 $^\circ\text{C}$ 冰箱中。

➤ 氯化鎳溶液

此溶液主要是用於提供鎳離子使 DNA 轉化為 Ni-DNA。以滅菌水調配成含有濃度為 20 mM Tris buffer 和 5 mM NiCl_2 的氯化鎳溶液，再以氫水將 pH 值分別調至 8.0、8.5、8.8 和 9.0 即可。

➤ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 電解質溶液

在電化學系統中所使用帶負電荷 redox probe 的電解質溶液。將 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 與 KNO_3 均勻混合於去離子水中，調配而成含有 5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 與 100 mM KNO_3 的電解質溶液。

➤ $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ 電解質溶液

在電化學系統中所使用帶正電荷 redox probe 的電解質溶液。將 $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ 與 KNO_3 均勻混合於去離子水中，調配而成含有 5 mM $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ 與 100 mM KNO_3 的電解質溶液。

(3) 儀器設備

➤ 化學分析電子儀 (Electron Spectroscopy for Chemical Analysis, ESCA)

由 VG Scientific 公司所生產之 Microlab 310F 化學分析電子儀，藉由 X-Ray 光束照射在樣品表面，可收集到樣品表面數層原子內的光電子，分析此光電子的能量可得到相關的化學組態以及化學成分分析的資訊。又稱 XPS (X-ray Photoelectron Spectroscopy)。

➤ 水平電泳槽 (Horizontal gel electrophoresis system)

由 Major Science 所生產，型號為 MJ-105-S，外接電源供應器，可耐 130 $^\circ\text{C}$ 高溫，快速且準確的分離 DNA 或 RNA 片段。

- 原子力顯微鏡 (Atomic force microscope, AFM)

由德國 JPK 公司所生產 NanoWizard II 之原子力顯微鏡，可以在溶液中操作，有 tapping model 和 contact model 兩種掃描模式，主要一些生物分子的掃描為主。
- 電化學分析儀

由 EG&G 生產的電化學分析儀，Model 273A，外接一頻率產生器，Model 1025，直接連接電腦由程式控制，可執行多種電化學分析。本實驗採用循環伏安分析法和交流阻抗分析來作為實驗偵測。
- 石英晶體微量天平 (Quartz crystal microbalance, QCM)

由 AMETEK 所生產的石英晶體微量天平 (QCM922, AMETEK, TN, U.S.A.)，配有 RG100 的反應槽，所使用的石英振盪器為 AT cut，其基本振頻為 9 MHz，解析度可達 0.1 Hz。
- 集結式電漿輔助化學氣相沉積系統 (PECVD)

英國 STS MULTIPLEX CLUSTER SYSTEM，此機台為使用化學氣相沈積方式，可成長下列四種薄膜 Nitride、TEOS Oxide、n-type Amorphous Si 和 Amorphous Si，每個製程均使用電漿輔助沈積。

以上儀器設備皆為國家奈米實驗室所提供。

- 光阻塗佈機 (Photo resist spinner)

Synrex 擎邦 1-PM101D-R790，可分二段轉速和二段時間控制，旋轉速度可達 7500 rpm。
- 光罩對準曝光機 (Mask aligner)

德國 Karl-Suss 所製造之 UV 曝光機，型號為 MJB-3。
以上儀器設備皆為國立交通大學奈米中心所提供。
- 導電掃描探針顯微鏡 (Scanning probe microscope, SPM)

JSPM-5200 是一款多功能、高分辨率 SPM，適用於不同環境下的多量測。JSPM-5200 可以在各種自然條件—大氣、控制氣氛、流體、真空等環境下應用，樣品溫度範圍從加熱 500 °C (773 K) 至冷卻到 -143 °C (130 K)。由國立交通大學奈米科技研究所，許鈺宗教授奈米實驗室提供。
- 單電子槍蒸鍍機 (E-gun Evaporator)

由 ULVAC 所製造，型號為 EBX-8C，可以用於多種金屬蒸鍍 (Au、Ni、Al、Ge、Ti 和 Pt)，蒸鍍薄膜之不均勻度 (non-uniformity) < 10%。
由國立交通大學奈米科技中心所提供。
- 分光光譜儀 (UV-visible spectrophotometer)

由日本 JASCO 所製造，型號為 V-550，波長範圍：190 ~ 900 nm，光譜解析度：0.1 nm。

3.2.2 實驗操作步驟

3.2.2.1 Ni-DNA 的置換

為了量測 native DNA 與 Ni-DNA 的紫外光吸收光譜，以及電泳分析，我們將沒有經過硫醇分子修飾，長度為 30 個鹼基對，且序列為 poly-TG 的 native DNA 溶液分別加入不同 pH 值的氯化鎳溶液 (pH = 8.0、8.5、8.8 和 9.0)，將其 native DNA 濃度調配至 10 μ M。在 4 $^{\circ}$ C 環境中反應八小時後，溶液中的鎳離子於適當的 pH 值條件下 (pH > 8.5) 會參雜入 DNA 雙股螺旋中，形成 Ni-DNA[25]。為了排除在量測時，溶液中所含未鍵結的鎳離子所造成的影響，Ni-DNA 溶液會經由透析處理以去除多餘的鎳離子，其透析步驟如下：將不同 pH 所得到 Ni-DNA 溶液分別置於透析袋中，並放入於濃度為 5 mM、體積為 500 ml 的 Tris-HCl (pH = 8.0、8.5、8.8 和 9.0) 緩衝液中，於 4 $^{\circ}$ C 的溫度中透析 24 小時。經過透析後即可得到 Ni-DNA 溶液。

3.2.2.2 紫外光與可見光吸收光譜分析

為了觀察在不同 pH 值條件下的氯化鎳溶液對於 native DNA 形成 Ni-DNA 的影響，我們將依照上述方法所得到的不同 pH 值的 Ni-DNA 溶液進行紫外光光譜的量測，其量測範圍從 320 nm 到 220 nm。觀察 DNA 分子於紫外光照射下，在波長為 260 nm 處的吸收峰之變化。

3.2.2.3 電泳分析

同時以電泳分析 native DNA 與 Ni-DNA 的差異，電泳分析的步驟如下：

- (1) 以 0.5 \times 的 TBE 緩衝液配製 2% 的 Agarose 凝膠，加熱至沸騰。
- (2) 於 Agarose 完全溶解後，溫度降至約 50 $^{\circ}$ C 並加入 3 μ l 的 SYBR Green (an asymmetrical cyanine dye) 於約 15 ml 的凝膠中混合均勻。
- (3) 將凝膠倒入模具中，避光並自然降至室溫，使凝膠冷卻形成膠板。
- (4) 將做好的膠板置於水平電泳槽中，槽中加入 0.5 \times 的 TBE 緩衝液。
- (5) 將 DNA 樣品與 Loading dye 以體積比 5:1 的比例混合，並放入膠板中。
- (6) 施加約 10 V/cm 的電場強度，15 分鐘後即完成電泳跑膠。
- (7) 將膠板置於紫外光下，觀察其螢光發射現象。

3.2.2.4 金電極表面清洗

在實驗中經由硫醇分子修飾的雙股螺旋 DNA 會與金形成的共價鍵而自組裝於金表面上，形成 DNA 單分子層。在 DNA 分子自組裝前，金電極表面必需先經過一些表面清洗的程序，以確保其表面的潔淨度。首先會將金電極以氧化鋁粉漿料做研磨，用以研磨的氧化鋁粉之粒徑由 1 μ m、0.3 μ m 直到 0.05 μ m，使金表面呈現為一平滑的表面。將研磨後之金電極浸泡於硫酸溶液中 (3.2.1 (2) 溶液配製) 約 1 分鐘，以去除表面的有機污染，以去離子洗淨後，再以電化學法來作電解拋光 (Electropolished)[90]，在電解拋光的製程中所使用的電解拋光液為稀硫酸 (3.2.1 (2) 溶

液配製)，以 0.2 V 到 1.6V 的電位作循環的掃描，掃描速率為 100 mV/s。直到所得到的循環伏安曲線穩定為止，如圖 3.1 所示。在圖譜上 1.1 V~1.3 V 時為金的氧化反應，當電為小於 1.0 V 時則為金的還原反應[91]。電解拋光完成後則以去離子水清洗乾淨，以氮氣槍吹乾後即完成金電極清洗步驟。

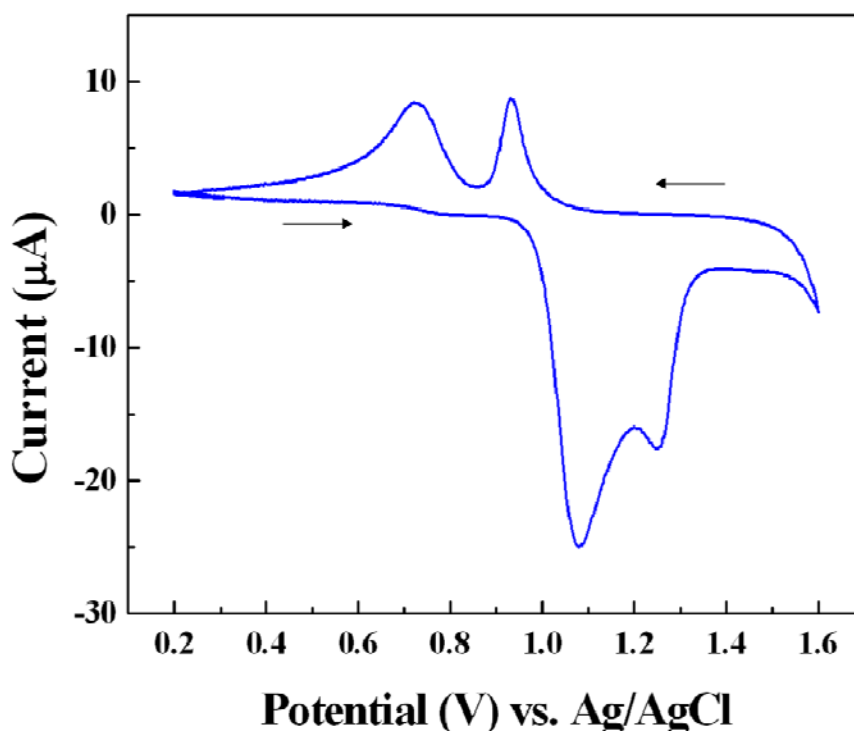


圖 3.1 純金電極於電解拋光液中之循環伏安圖譜。掃描電位由 0.2 V 至 1.6 V，再回至 0.2 V

3.2.2.5 石英晶體微量天平分析

在石英晶體微量天平分析上所使用的振盪晶體為披覆一層金電極的石英振盪晶體 (AT-cut)，其金電極面積為 0.2 cm^2 ，基本振頻約為 9 MHz。在形成 DNA 自組裝單分子層前，先以硫酸溶液清洗，再以電解拋光法在電解拋光液中清洗金表面 (電解拋光步驟如 3.2.2.4 所述)，以得到乾淨的金表面。將末端含有硫醇分子的雙股 DNA 保存液稀釋至 $2 \mu\text{M}$ 並取適量滴於金表面上，反應八小時之後，以 PBS 緩衝液清洗，再浸泡於去離子水中約 30 秒，經兩次浸泡後以氮氣輕輕吹乾即可形成 native DNA SAM。

3.2.2.6 導電掃描探針顯微鏡分析

以導電掃描探針顯微鏡分析 native DNA 與 Ni-DNA 的電子特性。

樣品的製備如圖 3.2 所示：

- (1) 於矽晶片上以電子槍蒸鍍法沉積 Ti (5 nm)/Au (50 nm)/Ti (5nm)，再以 PECVD 沉積 300 nm 的 SiO₂，之後經由黃光微影技術做圖型轉移。
- (2) 顯影後以 BOE 蝕刻 SiO₂ 直至金表面露出，再以丙酮去除殘留光阻，即完成樣品的結構。
- (3) 以硫酸溶液清洗金表面去除有機物的殘留，再以電解拋光法在電解拋光液中清洗金表面（電解拋光步驟如 3.2.2.4 所述），以得到乾淨的金表面。
- (4) 將末端含有硫醇分子的雙股 DNA 保存液稀釋至 2 μM 並取適量滴於金表面上，反應八小時之後，即可形成 native DNA SAM。
- (5) 於金表面形成 native DNA SAM 之後，以 PBS 緩衝液清洗，再將其浸泡於氯化鎳溶液 (pH = 9.0) 中。
- (6) 八小時後以 PBS 緩衝液清洗，再浸泡於去離子水中約 30 秒，經兩次浸泡後以氮氣輕輕吹乾，即完成樣品製作。

樣品完成後則在室溫、10⁻³ Pa 的真空環境下，以導電掃描探針顯微鏡進行電性的量測，量測電壓範圍為 -4 V ~ 4 V。

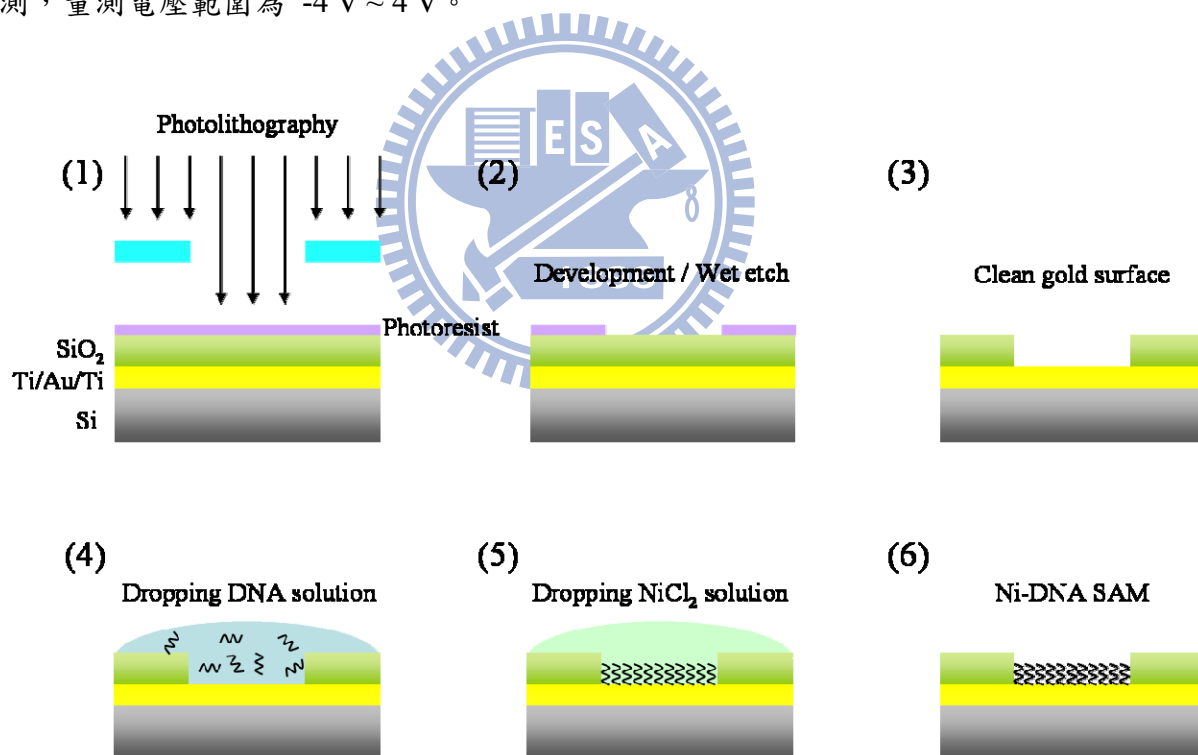


圖 3.2 金電極製作流程與 DNA 分子之自組裝。

3.2.2.7 電化學系統

(1) 工作電極

本實驗於電化學中所使用的工作電極為 CH Instruments 所生產的金電極，型號為 CHI101，金表面面積為 0.03142 cm²，其它規格如圖 3.3 所示。

金電極表面清洗流程如 3.2.2.4 所述，金電極清洗完畢後，則將不同種類的 DNA 保存溶液 (表 3.1) 稀釋至 $2\ \mu\text{M}$ 並適量的體積滴於金電極表面上，蓋上蓋子以避免溶液的蒸發，反應八小時後以 PBS 緩衝液清洗，再浸泡於去離子水中約 30 秒，以氮氣吹乾及可得到 native DNA SAMs 修飾的工作電極，再將此電極浸泡於氯化鎳溶液 ($\text{pH} = 9.0$) 中，八小時後以 PBS 緩衝液清洗，再浸泡於去離子水中約 30 秒，經兩次浸泡後以氮氣輕輕吹乾，即為實驗中所使用的 Ni-DNA SAMs 修飾的工作電極，其序列與代號如表 3.1 所示。

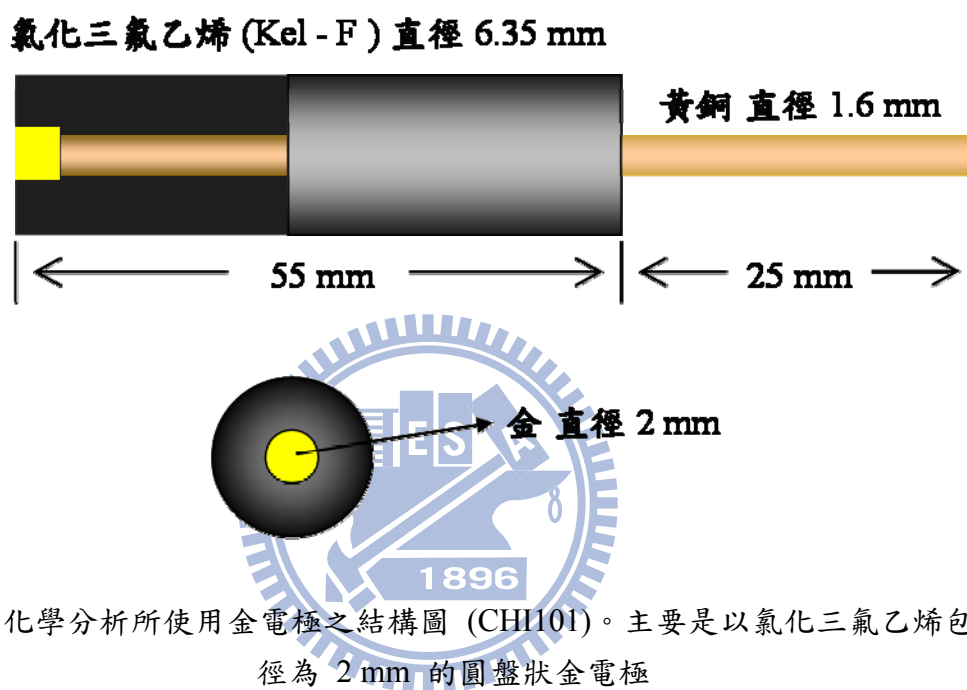


圖 3.3 電化學分析所使用金電極之結構圖 (CHI101)。主要是以氯化三氟乙烯包覆直徑為 2 mm 的圓盤狀金電極

(2) 參考電極

以自製的 銀/氯化銀 (Ag/AgCl) 為參考電極，其製作方法如下：

- 將銀線連結陽極，陰極則接上鉑片 (Pt)，一起放入稀釋的鹽酸 (HCl) 溶液中 ($\text{HCl} : \text{H}_2\text{O}_2 = 1 : 9$)。
- 通入 1 mA 的電流，此時銀線表面的銀溶解，並在表面沉澱出氯化銀。
- 待所量測的電壓到達 1 V 後，將電流升至 2~3 mA，當電壓高於 1.6 V 後，即完成銀/氯化銀。
- 將銀/氯化銀線放入玻璃管中，並加入飽和的氯化鉀 (KCl) 溶液，玻璃管末端以瓊脂半透膜封上，以導線連結銀/氯化銀線由玻璃管頂端拉出即完成參考電極製作。

(3) 輔助電極

實驗中以鉑片做為輔助電極。

(4) 電解質溶液

電化學系統中所使用的電解質溶液有兩類，一為 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 電解質溶液，另一個為 $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ 電解質溶液。主要的差異在於溶液中所帶不同正負電荷的 redox probes。

3.2.2.8 循環伏安法量測

分別將工作電極、參考電極和輔助電極插入含有 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 電解質溶液的電解槽中，相對於 Ag/AgCl 參考電極約 220 mV 的直流電壓下，在工作電極上施加一線性的循環電位掃描，掃描範圍由 -300 mV 到 600 mV，電位改變速率為 20 mV/s，量測不同電位下瞬間產生的電流值，以電位-電流作圖，即可得到循環伏安圖譜。於 $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ 電解質溶液中，電位掃描範圍則由 -400 mV 到 100 mV，掃描速率維持 20 mV/s。

3.2.2.9 交流阻抗法量測

對於在交流阻抗法量測時，電化學系統與循環伏安法量測相同，在工作電極上施加一振幅電位為 5 mV 的正弦波，掃描頻率由 100 kHz 到 0.01 Hz，量測其阻抗值，即可得電化學阻抗圖譜 (EIS)。

3.3 結果與討論

3.3.1 DNA 分子自組裝於金電極表面的覆蓋率

在電化學分析中，所使用的工作電極主要是經由 DNA 分子修飾過的金電極。DNA 分子可以藉由 3'端或是 5'端所接的硫醇分子與金表面產生反應形成共價鍵，使得 DNA 分子自組裝於金電極表面形成單分子層（其詳細步驟如 3.2.2 實驗操作步驟中所述）。DNA 單分子層於金電極表面的覆蓋率可以藉由電化學中的循環伏安分析法，以及石英晶體微量天平來量測。圖 3.4 為不同序列長度的 native DNA 分子 (L-20 ~ L-40 表 3.1) 自組裝於金電極表面後，經由循環伏安分析法量測的結果。在純金電極時可以觀察到相當明顯的氧化還原峰，氧化峰 (E_{pa}) 的生成主要是當掃描電位接近電解質溶液中的 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ 的氧化還原電位時， $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ (redox probes) 與金電極表面會發生電化學反應，使得 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ 產生氧化反應而生成 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ ，此時也會有電流值的產生。相同的原理，當我們做一反方向的電位掃描時， $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 則會產生還原反應而生成 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ 。由圖上可知純金電極的氧化峰的電位約為 238.26 mV，而還原峰 (E_{pc}) 的電位約為 163.60 mV，兩者間的電位差約為 74 mV，整個循環伏安曲線極為對稱，其峰電流 (i_p) 的比值也相當於 1，我們可以將整個氧化還原反應視為一個可逆的系統[80]。當不同長度的 DNA 序列自組裝於金電極表面且形成一單分子層後，可以發現其峰電位差 (ΔE_p) 隨著 DNA 序列長度的減少而增加，峰電位差的增加代表著系統的電荷傳導速率 (k_0) 降低，使得系統由原本的可逆反應變為近可逆反應甚至到不可

逆反應。由式 23 可以大略的估算出 DNA 分子於金表面的覆蓋率[92]；

$$\theta = 1 - \frac{i_p^{SAM}}{i_p^{bare}} \quad (29)$$

θ = 表面覆蓋率

i_p^{SAM} = 自組裝單分子層之峰電流

i_p^{bare} = 純金表面之峰電流

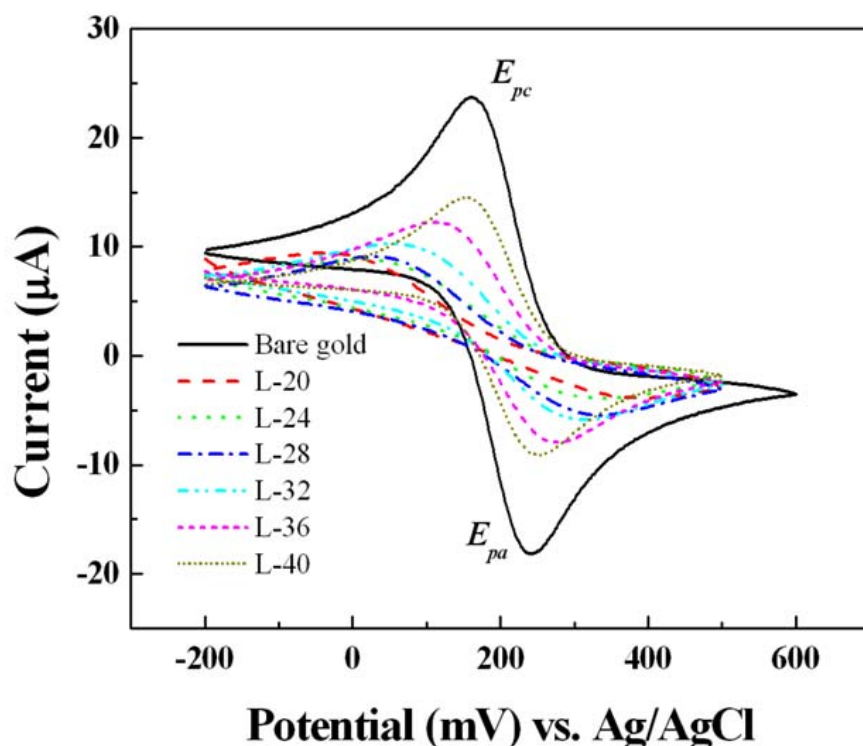


圖 3.4 不同長度之 DNA 分子自組裝於金電極表面後之循環伏安圖譜

計算出的表面覆蓋率整理於表 3.2。由表中可以得知 DNA 分子於金表面的覆蓋率隨著 DNA 序列長度的增加而減少。在此系列的 DNA 分子中含有 20 個鹼基對的 DNA 分子其表面覆蓋率高達 95%，換句話說，金電極表面幾乎都被 DNA 分子所覆蓋，因此電解質溶液中的 redox probes 必須藉由擴散運動才可以穿透 DNA 單分子層與金電極表面產生反應，或者直接與 DNA 分子進行電荷轉移，然而 native DNA 分子的導電性並不是很好，因此整個反應的決定步驟則取決於 redox probes 的擴散速率，相

對的其電荷傳導速率也就較在純金表面時慢了許多。從循環伏安曲線上 (圖 3.4) 可以看出，經由 20 個鹼基對的 DNA 分子所修飾的金電極 (L-20)，於循環伏安分析上已經很難發現有氧化還原峰的生成。當鹼基對增加至 40 個時，其覆蓋率降為約 42%。圖 3.5 為石英晶體微量天平量測的結果，純金電極的基頻 (f_0) 約為 8969493 Hz，經過含有 20 個鹼基對的 DNA 序列 (L-20) 自組裝於金電極表面後，其共振頻率降為約 8969403 Hz，共振頻率變化量 (Δf) 為 -90 Hz。於 40 個鹼基對的 DNA 序列 (L-40) 時，共振頻率變化量為 -33 Hz (圖 3.6)。由式(23)可以求出吸附分子的重量；L-20 的 DNA 分子吸附於金電極表面的重量為 9.72×10^{-8} g，L-40 DNA 分子則為 3.52×10^{-8} g，以一個鹼基對的 DNA 分子量約為 700 g/mole 來計算，吸附於金電極表面的 L-20 DNA 分子約為 2.09×10^{13} probes/cm²，L-40 DNA 分子約為 3.78×10^{12} probes/cm²。由石英晶體微量天平分析很明顯的可以得知，L-20 DNA 分子的吸附量較 L-40 DNA 分子吸附量大了 10 倍左右。隨著序列長度的增加，DNA 分子的覆蓋率下降，以及吸附量的減少，我們可以推測；當序列長度增加， K (平衡常數) 值也相對的變大，由 Eq. (3) 可得知，系統的 Gibbs free energy 會隨著吸附分子長度增加而減小，此時 DNA 分子以平躺的方式吸附於金電極表面，無法形成較緻密且有規則的排列，使得表面覆蓋率降低。在做循環伏安分析時，電解質溶液中的 redox probes 則較容易直接接觸到金表面，並產生電化學反應，電荷傳導速率則取決於反應速率，因此可以由循環伏安曲線上看出，經由 40 個鹼基對的 DNA 分子所修飾的金電極 (L-40)，其氧化還原峰之電位差與純金電極時相差不多。但由於金電極表面有約 42% 的面積被 DNA 分子所覆蓋，造成參與反應的金表面積較純金表面時來得少，也因此所得到的峰電流值也相對的較小。

藉由電化學中的循環伏安分析法，以及石英晶體微量天平來量測，我們可以得知 DNA 分子於金電極表面的覆蓋率及數量，並用於檢測 DNA 分子是否自組裝的緊密排列於金電極表面，並形成一層 DNA 的單分子層。

表 3.2 不同長度之 native DNA 分子自組裝於金電極表面之覆蓋率

	Bare gold	L-20	L-24	L-28	L-32	L-36	L-40
i_p	24.22	1.35	4.30	6.27	7.36	11.68	14.06
θ		94.43%	82.24%	74.49%	69.61%	51.78%	41.95%

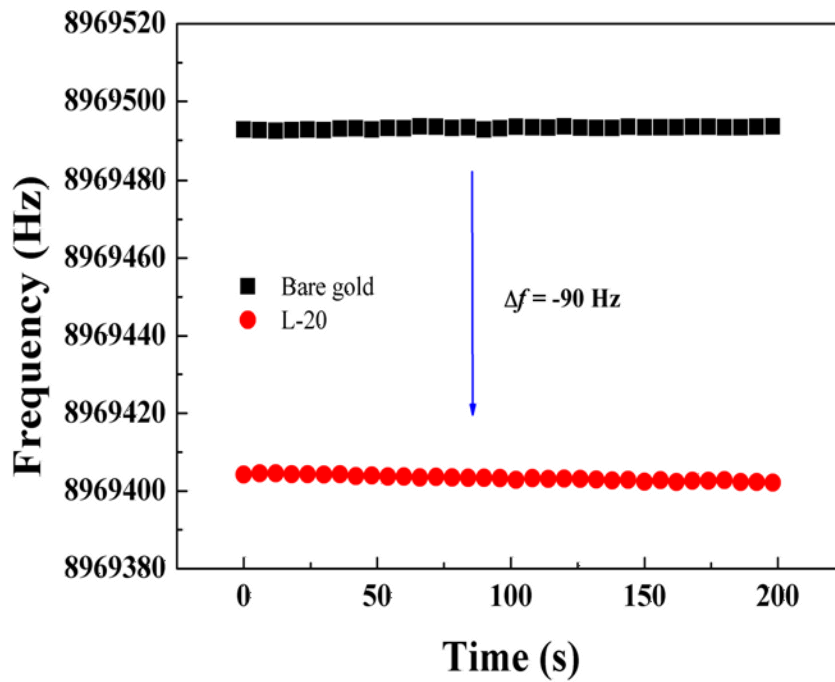


圖 3.5 長度為 20 bp 之 native DNA 分子 (L-20) 自組裝於金電極表面後，由石英晶體微量天平所量測之頻率變化

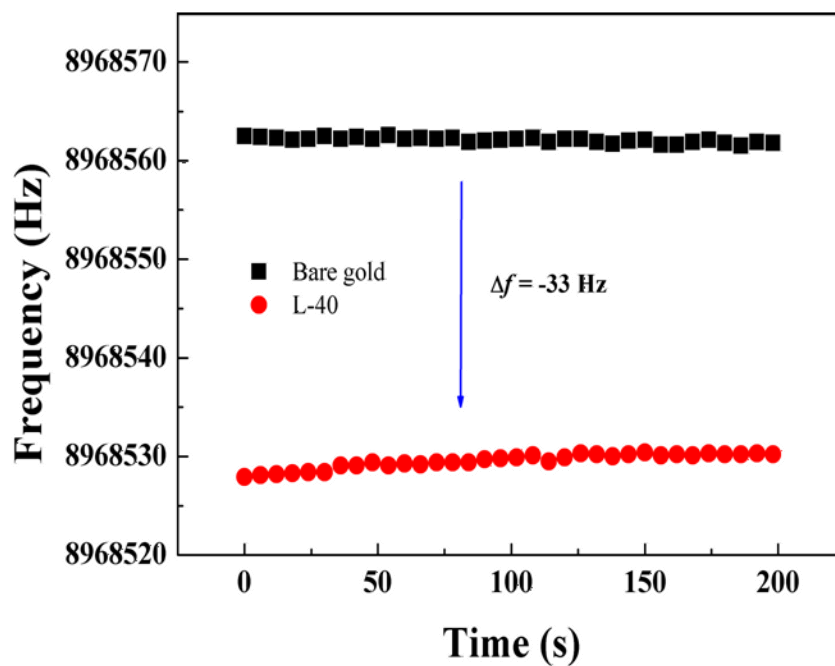


圖 3.6 長度為 40 bp 之 native DNA 分子 (L-40) 自組裝於金電極表面後，由石英晶體微量天平所量測之頻率變化

3.3.2 以電泳分析以及 XPS 檢測 Ni-DNA 之形成

由之前的文獻可以知道，當 ds-DNA 於一些二價的金屬離子 (Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、和 Zn^{2+}) 溶液中，且環境的 pH 值大於 8.5 時，二價的金屬離子會取代 G1 和 T3 亞胺基團上的一個質子，而形成 M-DNA[25,28,29,55]。在本實驗中。我們以二價的鎳離子於鹼性的環境下 (pH = 9.0) 參雜入 DNA (poly-TG) 的雙股螺旋中，而形成 Ni-DNA helix (P-fc)，其方法如 3.2.2.1 所述。為了確定 DNA 是否轉換為 Ni-DNA，我們以電泳分析來做檢測。如圖 3.7 所示，第 1 欄為 ds-DNA 樣品，第 2 欄為 Ni-DNA 樣品而第 3 欄為 Ni-DNA 經過 25 mM EDTA (pH = 9.0) 處理後的樣品[93]。由電泳跑膠的結果可以明顯的發現，在第 1 欄以及第 3 欄處，即 native DNA 與經由 EDTA 處理後的 Ni-DNA 都有螢光現象產生，而 Ni-DNA 的樣品 (第 2 欄) 則沒有。在電泳分析過程中，所使用的螢光染劑為 SYBR Green，它具有平面的化學結構，且帶一個正電荷(如同 EtBr)，如圖 3.8 所示。核酸在膠體中可經 SYBR Green 染色，SYBR Green 會嵌入核酸鹼基中，以紫外光照射，則核酸吸收紫外線波長的光線，再經 SYBR Green 放出可見波長的光線，因此在 DNA 的樣品中可以明顯看到螢光產生。然而當 native DNA 形成 Ni-DNA 之後，雖然整體的構形並沒有顯著的改變[25,58]，但由於在 Ni-DNA 鹼基對之間多了一個帶正電荷的金屬離子，使得 Ni-DNA helix 與 SYBR Green 之間產生了靜電排斥力，造成 SYBR Green 無法嵌入核酸鹼基中，也因此在此紫外光照射後，並不會放出螢光。當我們將 Ni-DNA helix 經由 EDTA 處理後，EDTA 容易與金屬離子形成錯合物的特性，會使得鹼基對中的鎳離子被抓出，此時，Ni-DNA 將會轉換回 native DNA[25-27,93]。在靜電排斥力消失的情況下，SYBR Green 又可以嵌入核酸鹼基中，再經由紫外光照射後，就如同第 1 列的 native DNA 樣品一樣，可以發現有螢光的現象產生。

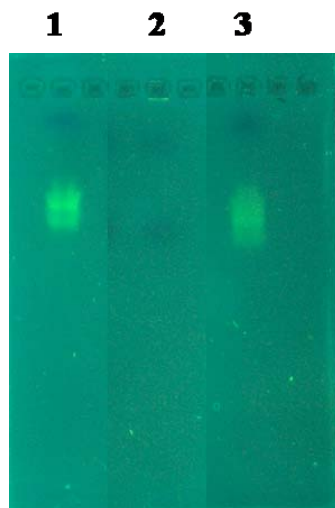


圖 3.7 Ni-DNA 與 native DNA 之電泳分析結果

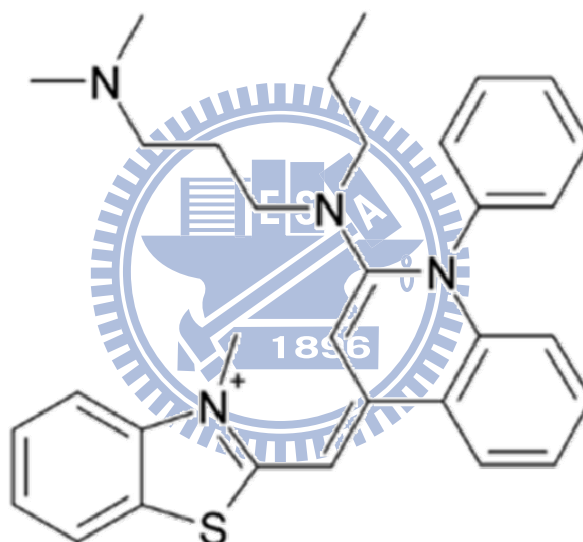


圖 3.8 SYBR Green 之化學結構圖

圖 3.9 為純金表面與經由 Ni-DNA (P-fc) 修飾後之 XPS N 1s core level spectra 分析結果，由圖上可以清楚看到，在純金表面上 (a) 並沒有 N 1s 的訊號。當金表面經由 Ni-DNA 修飾後 (b)，於 398 eV ~ 402 eV 之間有明顯的 N 1s 訊號產生，經由 60 秒的 ion sputtering 後 (c)，原本位於 398 eV ~ 402 eV 間的訊號則有顯著消失的現象。相同的情況也發生在 XPS Ni 2p core level spectra 分析上 (圖 3.10)，當金表面經由 Ni-DNA helix 修飾後 (b)，在 856.1 eV 處有一訊號峰產生，此訊號峰為 $\text{Ni}^{2+} 2p_{3/2}$ 之鍵結能，而在 874.5 eV 處的訊號峰則為 $\text{Ni}^{2+} 2p_{1/2}$ ，相對的在 862.8 eV 與 881.1 eV 的訊號峰為則分別為 $\text{Ni}^{2+} 2p_{3/2}$ 與 $\text{Ni}^{2+} 2p_{1/2}$ 的伴線 (Setallite line) 特徵[94]。同樣在經過 60 秒的 ion sputtering 後 (c)，Ni 2p 的訊號也會消失。進一步的將圖 3.9 中

Ni-DNA 於 398 eV ~ 402 eV 之間 N 1s 訊號做波峰分離模擬如圖 3.11 所式，大致上可以分離出 4 個特徵波，其鍵結能分別位於 398.84、400.02、401.02 以及 402.27 eV，依據之前所發表過的文獻可知[95-97]，位於 400.02、401.02 以及 402.27 eV 處的波峰為大致上分別為 DNA 分子中 $-N=$ 共軛雙鍵、 $-NH_2$ 以及 $-NH^{3+}$ 的表現，而位於 398.84 的波峰則為 Ni-N 的鍵結能。

藉由電泳分析以及 XPS 分析的結果，可以得知 native DNA 於鹼性的 (pH = 9.0) 二價鎳離子溶液中時，鎳離子會取代 G 和 T 鹼基上亞胺基的質子形成 Ni-DNA，並且 Ni-DNA helix 是具有可逆性的，可以藉由 EDTA 的處理而轉換回 native DNA 的形態。而 DNA 分子也可以藉由硫醇分子自組裝於金表面，並於二價鎳離子溶液中形成 Ni-DNA helix 單分子層。

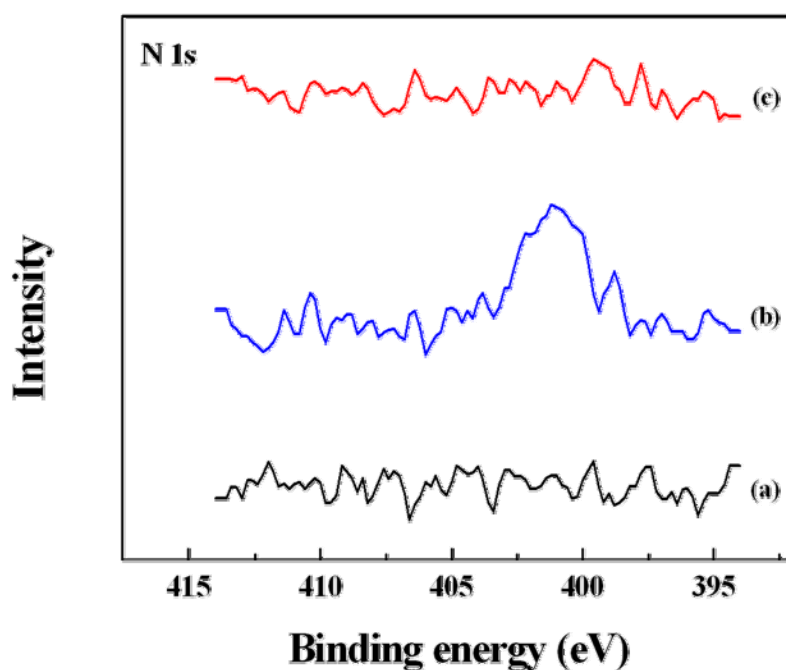


圖 3.9 Ni-DNA 之 XPS N 1s core level spectra 分析結果。(a) 純金表面 (b) Ni-DNA 修飾之金表面 (c) 經由 60 秒的 ion sputtering 處理後之 Ni-DNA 修飾金表面

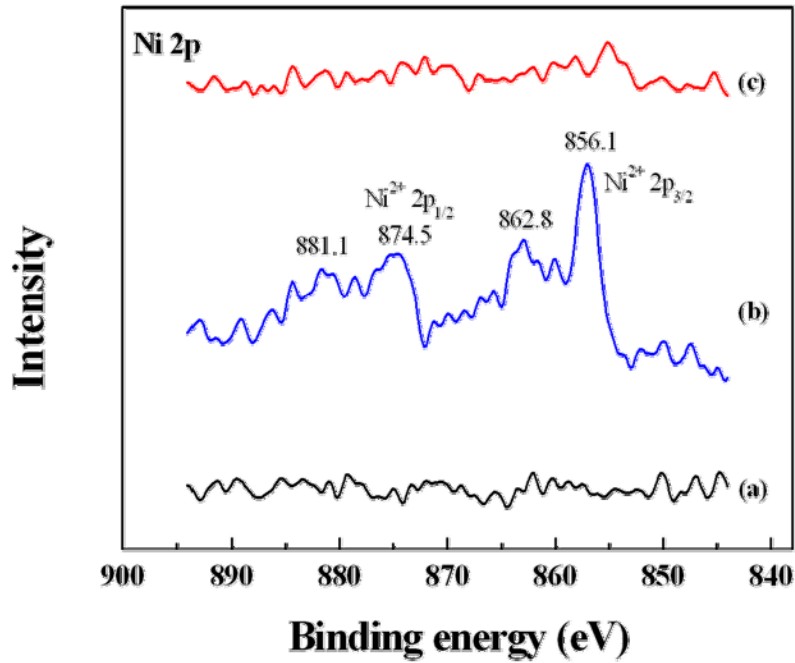


圖 3.10 Ni-DNA 之 XPS Ni 2p core level spectra 分析結果。(a) 純金表面 (b) Ni-DNA 修飾之金表面 (c) 經由 60 秒的 ion sputtering 處理後之 Ni-DNA 修飾金表面

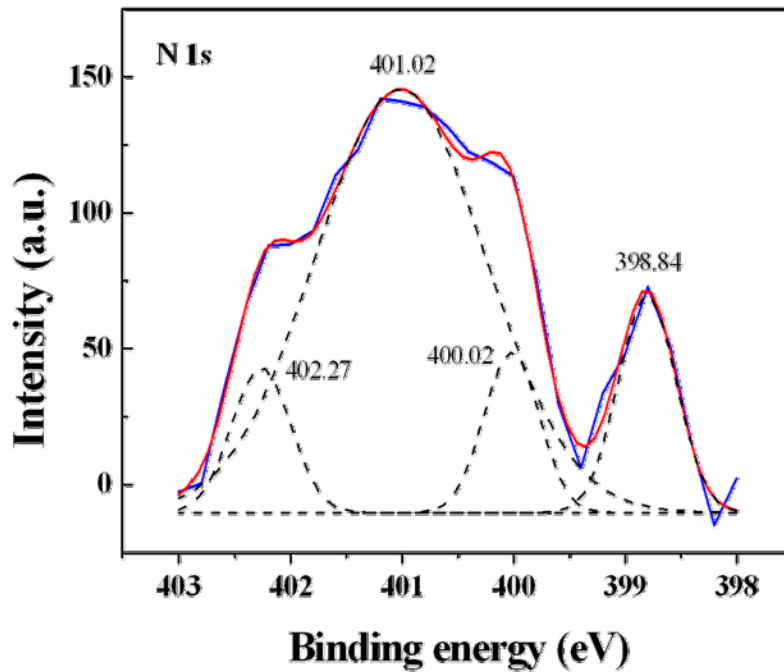


圖 3.11 Ni-DNA 之 XPS N 1s core level spectra 波峰分離模擬。400.02 eV 為 -N= 共軛雙鍵的鍵結能、401.02 eV 為 -NH₂ 的鍵結能，以及 402.27 eV 為 -NH³⁺ 的鍵結能，而位於 398.84 的波峰則為 Ni-N 的鍵結能

3.3.3 DNA 與 Ni-DNA 之間電子特性的差異

為了比較 native DNA 與 Ni-DNA 之間導電度的差異，我們將純金電極分別以 native DNA 與 Ni-DNA 作修飾，在金表面上分別形成 native DNA 以及 Ni-DNA 之自組裝單分子層，再以導電掃描探針顯微鏡分析其電流與電壓之觀係 (Current-voltage)，如圖 3.12 所示。由圖上的 I-V 曲線可以發現，以 native DNA 於金表面上所形成之單分子層，其特性就類似一絕緣層，在我們所掃描的電壓範圍內 (-4 ~ 4 V) 其電流值小於 0.03 nA。然而當我將 native DNA 分子層轉換為 Ni-DNA 分子層後，其導電特性則有明顯的改善。Ni-DNA 在電性量測上呈現出一非線性的 I-V 曲線，當掃描電壓介於 -2 V 到 1 V 之間時，電流值並無明顯的變化，掃描電壓大於 -2 V 或 1 V 時，電流值及隨著電壓的增加而增加。形成這種具有不對稱的 voltage barrier 之原因，主要是來自在量測上 DNA 分子與金電極及導電探針之間接觸勢壘 (Contact barrier) 的影響。在導電掃描探針顯微鏡量測上，Ni-DNA 的一端是藉由硫醇分子與金電極表面形成共價鍵而鍵結於於金電極上，而另一端則直接與導電探針接觸 (如圖 3.12 中之插圖)，因此在 DNA 分子的兩端存在著不同大小的接觸勢壘，使得在量測過程中電子需要不同的能量來躍過這兩種不同大小的勢壘，也因此 I-V 量測上會呈現出不對稱的曲線。綜觀整個量測的結果，我們可以得知 Ni-DNA 就像是一導電高分子，其導電度較 DNA 高。

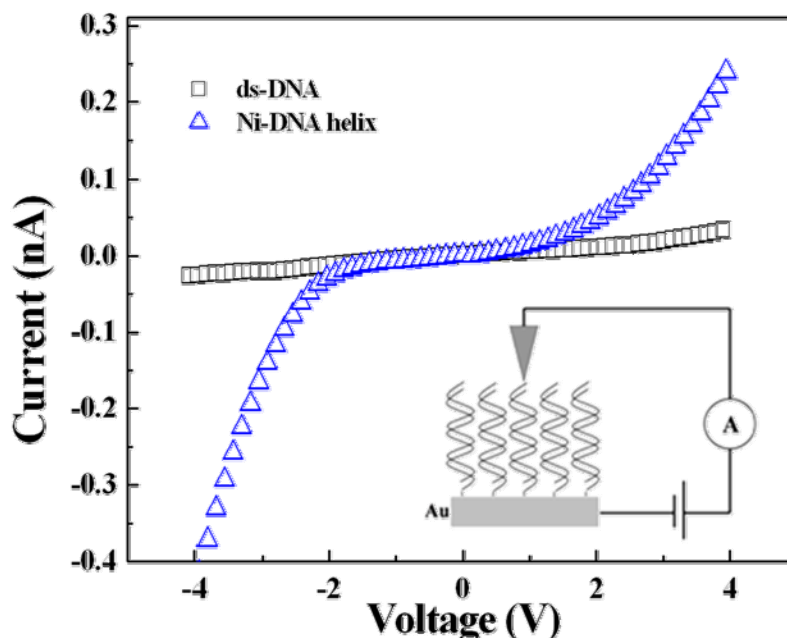


圖 3.12 native DNA 與 Ni-DNA 之導電掃描探針顯微鏡分析結果。□ 表 native DNA，△ 為 Ni-DNA

3.3.4 電化學分析

在電化學的分析上，我們以循環伏安法與交流阻抗法，分別對 DNA 與 Ni-DNA 的電性與電化學特性做探討。在電化學的分析中我們所使用的 DNA 序列為含 30 個鹼基對的 poly-TG，將此 DNA 分子依實驗操作步驟中第 3.2.2.7 節所述之方法，製作出由 DNA 以及 Ni-DNA (P-fc) 修飾之工作電極，並用於電化學的分析中。

3.3.4.1 以循環伏安法分析 DNA 與 Ni-DNA 之電化學特性

3.3.4.1.1 不同電解質溶液系統對 DNA 分子電化學特性的影響

(1) $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ 電解質溶液系統

當我們將帶有正電荷的 $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ 作為電解質溶液中的 redox probes，掃描電位由 -400 mV 至 100 mV 做一循環掃描，此時位於 -100 mV 至 -200 mV 之間可以看到 $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ 的氧化還原峰，如圖 3.13 所示。與在 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 電解質溶液系統中不同的是，在此系統中，純金電極與 DNA 修飾後的電極都可以發現到非常明顯的氧化還原峰，且峰電流的大小與峰電位的位置都與純金電極的電化學反應無太大的差異，整個反應系統可以看作是一個可逆的氧化還原反應。由此可知在此系統中，由於 redox probes 所帶的正電荷會與 DNA 磷酸骨幹上所帶的負電荷相互吸引，使得 redox probes 可以輕易的藉由擴散運動穿透 DNA 的單分子層到達金電極表面，並與金電極表面產生電化學反應，造成 DNA 與金電極間在循環伏安法曲線上並沒有太大的差異。這結果也顯示出 DNA 分子的電荷傳輸特性無法於 $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ 的電解質系統中表現出來。

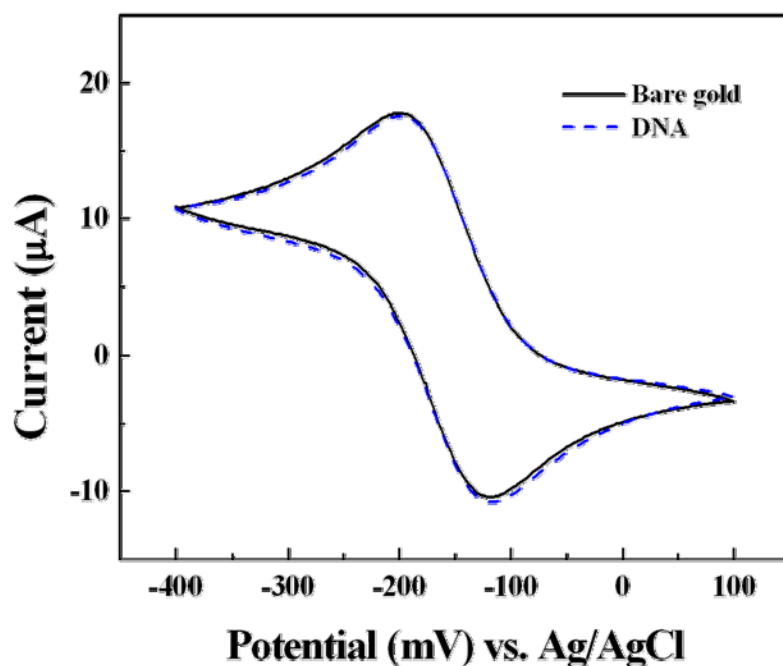


圖 3.13 DNA SAMs 於 $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ 電解質溶液系統中之循環伏安圖譜

(2) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 電解質溶液系統

圖 3.14 為純金電極與 DNA 修飾後的金電極，於含有 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ (redox probe) 電解質溶液系統之循環伏安圖譜。當我們以純金電極作為工作電極時，經由循環電位掃描後，由圖 3.14(a) 可以觀查到非常明顯的氧化還原峰，氧化峰 (E_{pa}) 所代表的是 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ 氧化為 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 的電化學反應，而還原峰 (E_{pc}) 則為 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 還原為 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ 的電化學反應。氧化還原峰之間的峰電位差 (ΔE_p) 約為 78 mV，並且峰電流也近乎相等。因此，此系統可以視為一主要由電解質的擴散運動所主導的可逆氧化還原反應 (Diffusion-limited reversible redox reaction)[79]。在此系統中，redox probe 會直接與金電極表面接觸，並發生氧化還原反應，其電荷交換速率是非常快速的，如圖 3.15(a)。當 DNA 分子自組裝排列於金電極後，金電極表面被 DNA 單分子層所覆蓋，此時 redox probes 的氧化還原反應只有藉由電荷經由 DNA 分子層的傳輸與金電極產生電荷轉移，或是藉由擴散運動與金電極接觸。由圖 3.14(b) 中可以看出，當 DNA 分子層自組裝排列於金電極表面後，其循環伏安曲線上幾乎沒有任何的氧化還原峰生產，由峰電流的比值可以大約估算出 DNA 於金電極表面覆蓋率高達 96.10%[92]。從石英晶體微量天平分析 (QCM) 可以得知，當 DNA 自組裝排列於金電極表面後，石英晶體的共振頻率降低 (Δf) 了約 -58 Hz (圖 3.16)。藉由 Sauerbrey equation[85] (式 25) 的估算，可得知在每平方公分的金基材上約有 9.18×10^{12} ($\pm 5.17 \times 10^{11}$, $n=3$) 的 DNA 分子。此表面覆蓋率較之前文獻中所發表的覆蓋率還高[98,99]，這也意味著 DNA 分子於金電極表面形成一層緻密的單分子層，並

且由於 DNA 分子的磷酸鹽骨幹上帶有負電荷，使得同樣帶負電荷的 redox probes ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$) 與 DNA 分子層會產生靜電斥力，造成 redox probes 較難擴散進入 DNA 分子層，因此電解質溶液中的 redox probes 的氧化還原反應只有藉由 DNA 分子層做電荷傳輸 (圖 3.15(b))。但由 3.3.3 節中導電掃描顯微鏡的分析可以得知，DNA 的電阻較高，電荷不易藉由 DNA 做傳輸，因此以 DNA 為工作電極的循環伏安分析上沒有明顯的氧化還原峰生成。

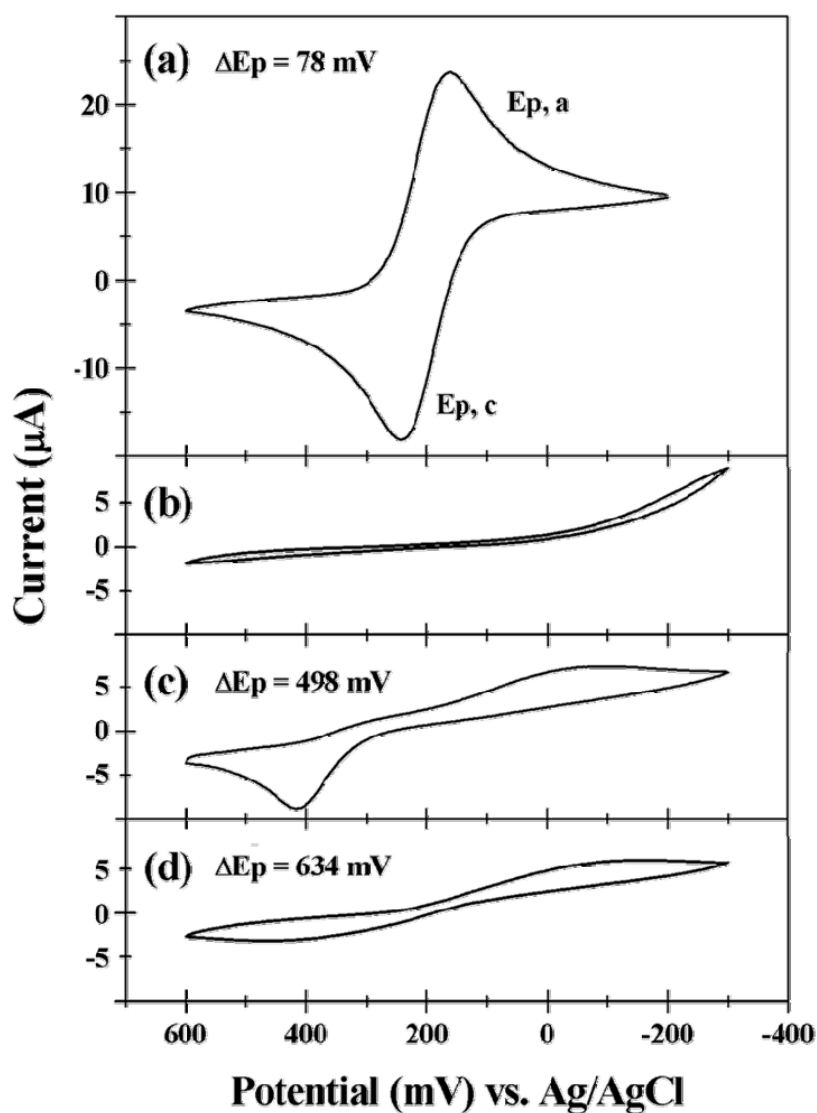


圖 3.14 Native DNA 與 Ni-DNA SAMs 於 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 電解質溶液系統中之循環伏安圖譜。(a) 純金電極 (b) native DNA 修飾之金電極 (c) Ni-DNA 修飾之金電極 (d) 經由 25 mM EDTA 處理後之 Ni-DNA 修飾之金電極

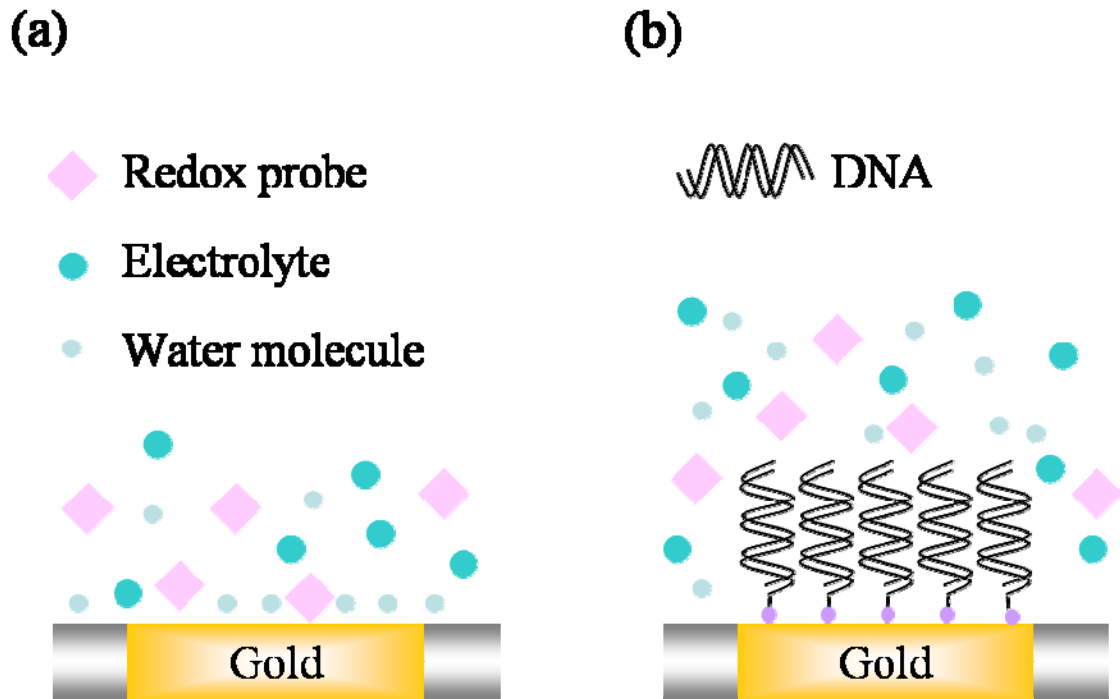


圖 3.15 純金電極 (a) 與 DNA SAM 修飾電極 (b) 於電解質溶液之示意圖

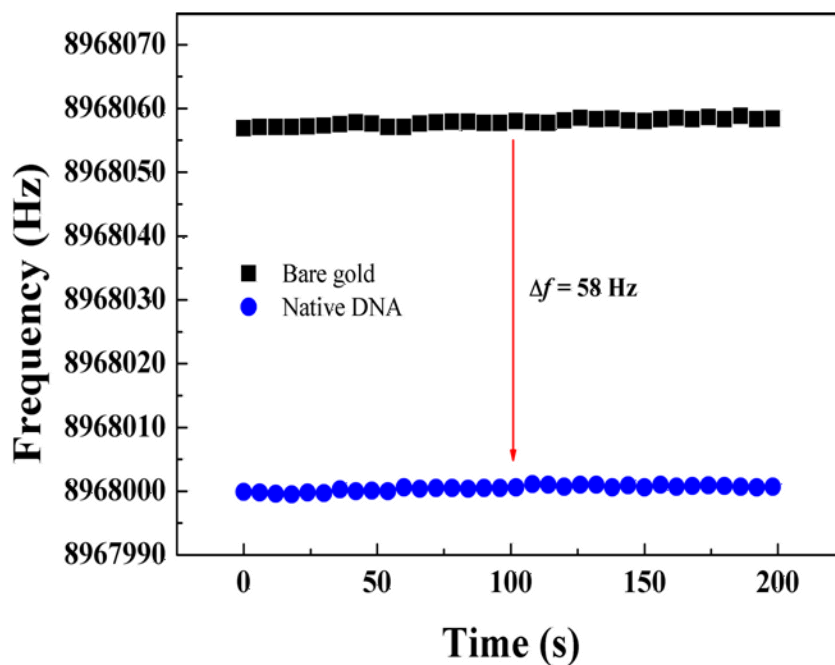


圖 3.16 長度為 30 bp 之 native DNA 分子 (Poly-TG) 自組裝於金電極表面後，由石英晶體微量天平所量測之頻率變化

3.3.4.1.2 DNA 與 Ni-DNA 之電化學特性

同樣的在 $K_3Fe(CN)_6$ 電解質溶液中，當 DNA 轉變為 Ni-DNA (P-fc) (圖 3.14(c)) 後，可以發現有一較大的氧化峰產生，但還原峰則相對的較不明顯，整個反應呈現出一不可逆的反應[80]。這說明了在此系統中，redox probes 與 Ni-DNA 修飾之金電極之間的電荷交換速率較慢，換個角度來看，即使電荷交換速率較慢，但相對於 DNA 而言，電荷可以藉由 Ni-DNA 分子來作為傳輸的路徑，由此也可得知 Ni-DNA 較 DNA 有較好的電導特性，此結果與 3.3.3 節中所述相同。當 Ni-DNA 經由 EDTA 處理後，由圖 3.14(d) 可以發現，原本出現在 Ni-DNA 循環伏安圖譜上的氧化還原峰消失了。由於 Ni-DNA 被轉換回原來的 DNA，使得原本藉由 Ni-DNA 作為電荷傳輸的路徑，被類似絕緣體的 DNA 所取代，因此電解質溶液中的 redox probes 與電極之間將不再產生電荷轉換。由此結果我們也可以得知， Ni^{2+} 的參雜確實是影響 DNA 分子導電特性的關鍵。

3.3.4.1.3 Ni-DNA 的電導機制

由上述循環伏安法與導電掃描探針顯微鏡的量測結果，我們可以清楚地看到，DNA 的導電特性可以藉由二價鎳金屬離子的參雜，而得到有效的改善，此結果與之前所發表過的文獻相同[26,27]。由 Lee 的研究團對所提出的 M-DNA 的結構來看[28,29,55,100]，金屬離子主要是鍵結在鹼基上，然而帶正電荷的金屬離子也會與帶有負電荷的磷酸骨幹相互吸引，使得金屬離子鍵結於 DNA 外層的磷酸根上[101]。這兩種情況都有可能是影響 DNA 分子導電度的因素，為了釐清此點，我們分別將單股螺旋 DNA (ssDNA) 與雙股螺旋 DNA (DNA) 修飾後的電極放入氯化鎳溶液使其轉換為 Ni-ssDNA 與 Ni-DNA，再分別以循環伏安法來分析其循環伏安曲線。結果如圖 3.17 所示，在圖 3.17(a) 中 ssDNA 的循環伏安曲線與圖 3.17(b) 中 DNA 的循環伏安曲線相同，代表著兩者都可以在金表面形成一緻密的單分子層，並阻隔了 redox probes 與金電極之間的電化學反應，如上節所述。當 ssDNA 轉換為 Ni-ssDNA 之後，其循環伏安曲線並沒有明顯的變化 (圖 3.17(a))。金屬離子於 ssDNA 上的鍵結位置主要是在鹼基與磷酸骨幹上[101]，然而不論是在那一種鍵結位置上，都無法有效的改善其導電特性。這也說明了電荷無法藉由 Ni-ssDNA 的磷酸骨幹或鹼基來作傳輸。相對的，Ni-DNA 則具有電荷傳輸的特性 (圖 3.17(b))。比較 ssDNA 與 DNA 在結構上的差異，主要就在於 DNA 中的鹼基對具有良好堆疊方式(π -stack)，當二價鎳離子取代 G 和 T 鹼基上亞胺基的質子形 Ni-DNA 之後[28,55]，鍵結於鹼基對間的鎳離子就如同扮演著橋樑的角色，帶正電荷的鎳離子猶如存在於 DNA 分子中的電洞，電荷可以藉由電洞跳躍 (Hole hopping) 來做電荷的傳輸[26]，使得電荷更容易藉由良好堆疊的鹼基對之間， π 軌域與 π 軌域間的交互作用來做電荷的傳導[33]。

由紫外光可見光吸收圖譜中可以看出 (圖 3.18)，當 DNA 分子於不同 pH 值 (8.0、8.5、8.8 和 9.0) 的氯化鎳溶液中形成 Ni-DNA 時，原本位於 260 nm 波長處

的 DNA 分子最大吸收峰會發生紅移 (red shift) 的現象，由文獻中可知 M-DNA 的形成主要是在 pH 值大於 8.5 的環境中[25,55]，從圖 3.18 中可以看到，當 DNA 分子於 pH 值為 8.8 和 9.0 的氯化鎳溶液中形成 Ni-DNA 時，DNA 的吸收峰由原本的 260 nm 位移至 275 nm 波長處。此紅移現象代表著，鹼基中共軛雙鍵的 π 電子必須受到 260 nm 左右的紫外光的激發才能躍遷到 π^* 激發態的位置，但在經過鎳離子的參雜後，其激發波長增加，也就是說 π 電子躍遷到 π^* 激發態的位置所須的能量降低了。換言之，DNA 分子中的電子最高填滿軌域 (HOMO) 與電子最低未填滿軌域 (LUMO) 之間的能隙因鎳離子的參雜而減小。此結果與 Alexandre et al.[58] 所模擬出 M-DNA 的電子結構不謀而合。因此在 Ni-DNA 中，電荷的傳導主要是透過鹼基對間 π 軌域與 π 軌域之間的交互作用來達成。



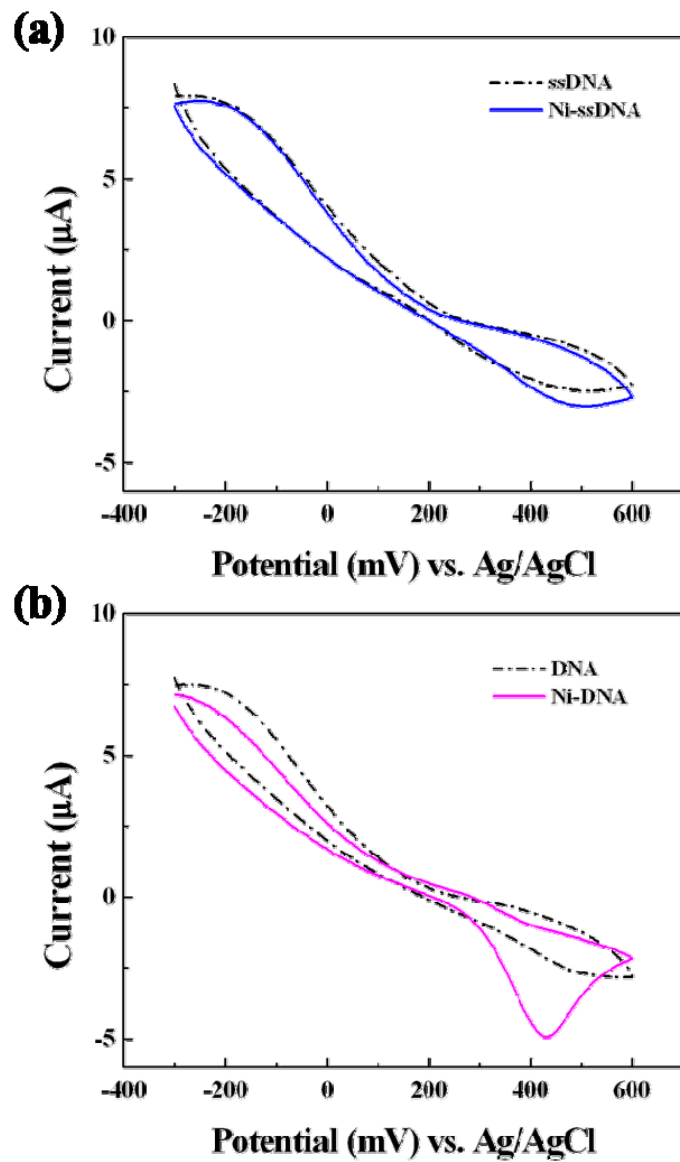


圖 3.17 Ni-ssDNA (a) 與 Ni-DNA (b) 之循環伏安圖譜。虛線為 native ssDNA 或 DNA，而實線為 Ni-ssDNA 或 Ni-DNA

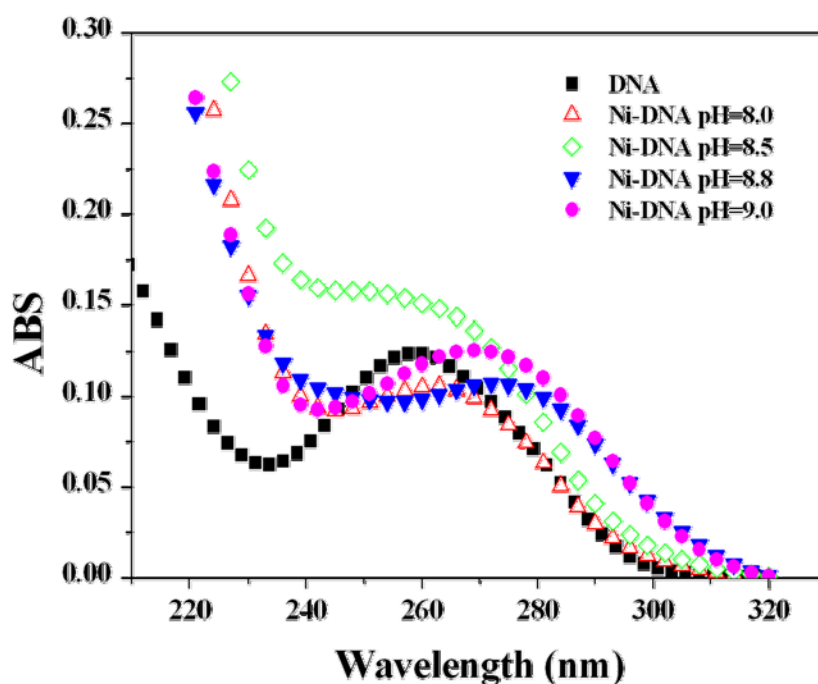


圖 3.18 DNA 分子於不同 pH 值(8.0、8.5、8.8 和 9.0) 的氯化鎳溶液中形成 Ni-DNA 之紫外光可見光吸收圖譜

3.3.4.2 以交流阻抗法分析 DNA 與 Ni-DNA 之電性

3.3.4.2.1 DNA 與 Ni-DNA 之阻抗圖譜

圖 3.19 為純金電極於 $K_3Fe(CN)_6$ 電解質溶液系統中所量測到的交流阻抗圖譜，於圖譜中可以發現在高頻區有一小半弧的生成，而在低頻區間其尾部為一線性關係。在低頻區的半弧主要來自於純金電極表面與電解質溶液界面所形成之電雙層 (Electrical double layer, EDL) 的供獻，如圖 3.20 所示，其特性就像是一電容效應。因此於高頻區間時，其交流阻抗圖譜會呈現出半圓弧的曲線，圓弧曲線與虛部為零的實部軸之第一個交點為溶液電阻 (R)。當頻率夠低時，電雙層電容有足夠的時間來完成充電的過程後，其特性就類似一電阻，此時圓弧曲線將與虛部為零的實部軸相交於第二個交點，此交點也就是所謂的電荷轉移電阻 (Charge transfer resistance, R_{ct})，當頻率繼續往下降時，電極與電解質溶液之界面因產生電化學反應而形成濃度梯度，使得整個系統的反應速率決定因素由原本的電荷交換速率，變為電解質的擴散速率 (diffusion-limited)[26]。擴散速率的快慢也就形成了交流阻抗中的擴散阻抗 (Diffusion impedance)，如圖 3.19 中低頻區間所量測到的線性部份。然而在 DNA 修飾後的金電極樣品中，整個系統的阻抗值相較於純金電極系統中大幅的增加 (圖 3.21)。其原因如同上節所述，覆蓋於金電極表面的 DNA 分子層將會阻礙電解質與金表面的直接接觸，並由於 DNA 分子的導電特性不佳，因此會有較大的阻抗值產生。其中由高頻

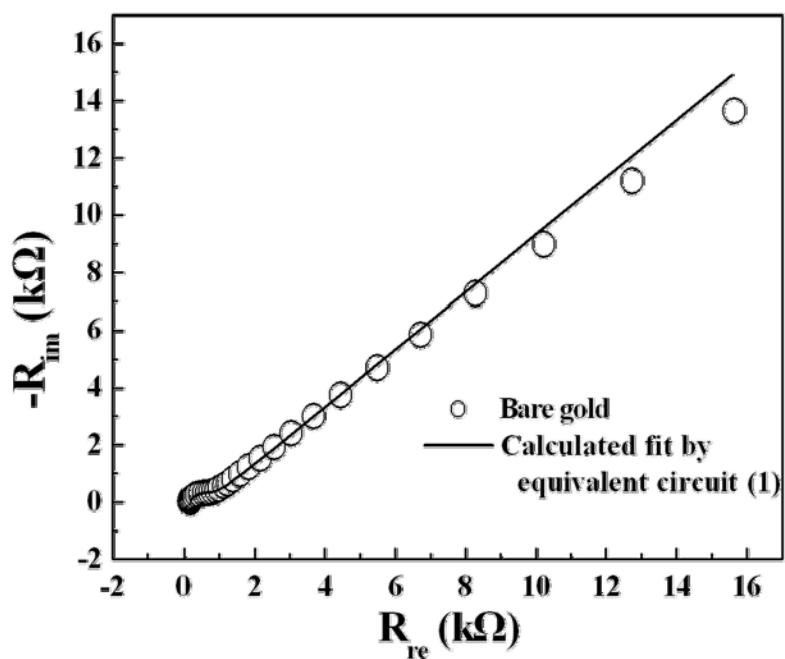


圖 3.19 純金電極於 $K_3Fe(CN)_6$ 電解質溶液系統中所量測到的交流阻抗圖譜

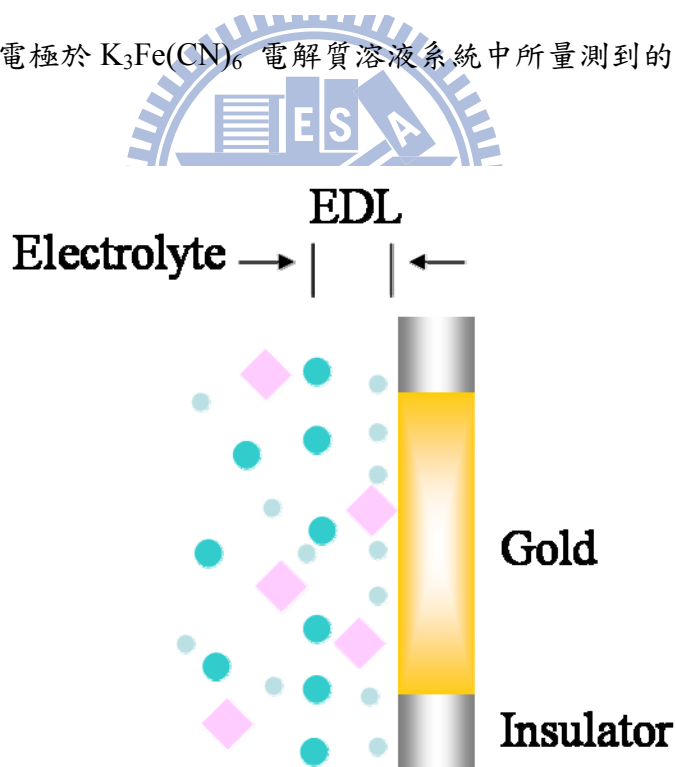


圖 3.20 純金電極表面與電解質溶液界面所形成之電雙層示意圖。◆ 為 Redox probe，● 為 Electrolyte，● 為 Water molecule

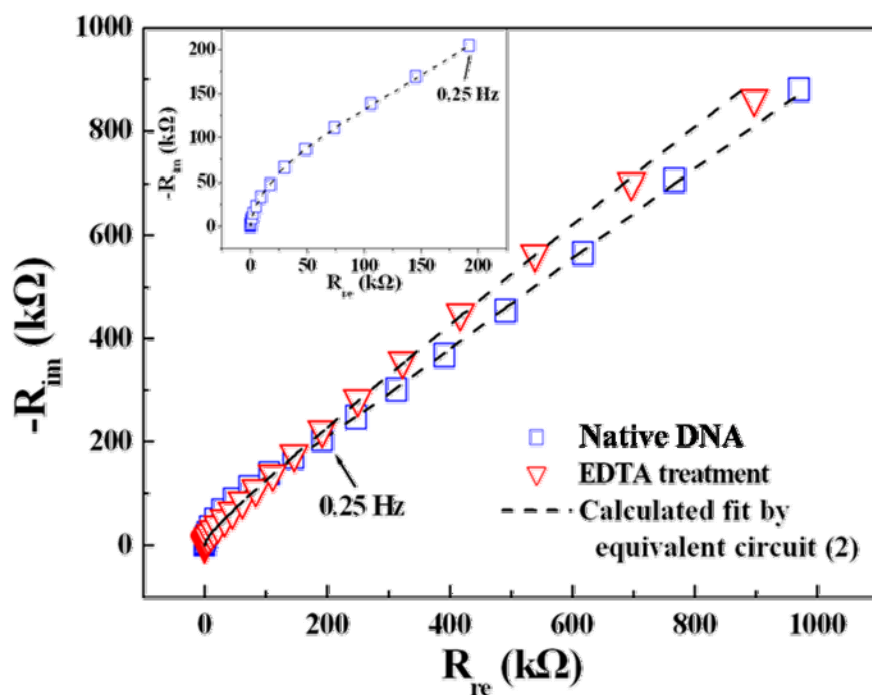


圖 3.21 Native DNA 與經由 EDTA 處理後之 Ni-DNA 於 $K_3Fe(CN)_6$ 電解質溶液系統中所量測到的交流阻抗圖譜。□，▽分別表示為 native DNA 修飾之金電極以及經由 25 mM EDTA 處理後之 Ni-DNA 修飾之金電極，虛線為等效電路模擬結果

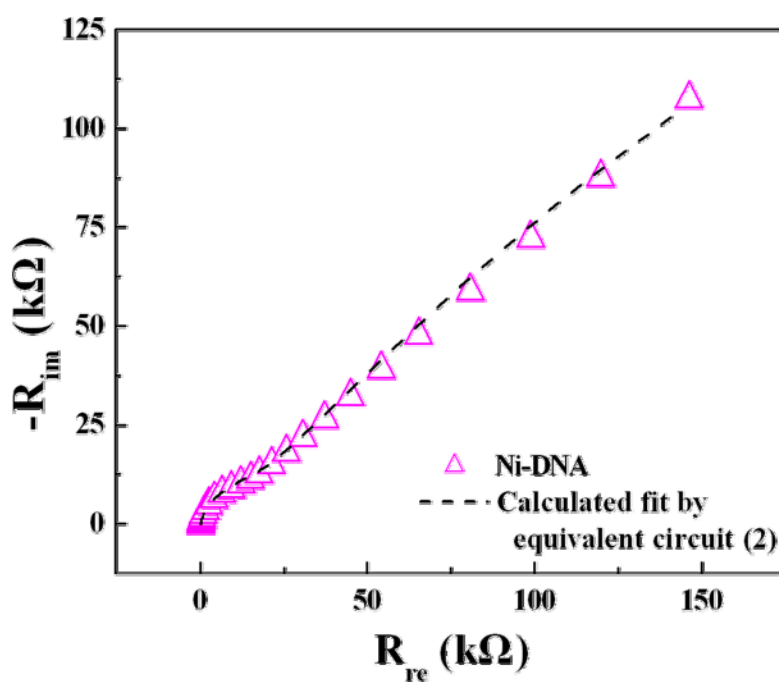


圖 3.22 Ni-DNA 於 $K_3Fe(CN)_6$ 電解質溶液系統中所量測到的交流阻抗圖譜，▽為

(100 kHz) 到低頻 (0.25 kHz) 的區間裡，可以發現有一曲率半徑較大的圓弧曲線，在這區間中，阻抗值的大小主要取決於電解質與電極之間的電荷交換速率[26,72]。當 DNA 自組裝分子層被轉換為 Ni-DNA 分子層後，此圓弧曲線的曲率半徑也大大的縮小 (圖 3.22)，這說明了 Ni-DNA 的阻抗值較 DNA 的阻抗值小，換言之，Ni-DNA 電荷轉移速率較 DNA 來得快。如同前面章節所述，Ni-DNA 可以藉由 EDTA 的處理而轉換為 DNA，此時我們也可以發現，當 Ni-DNA 經由 EDTA 處理後，其交流阻抗圖譜將會再呈現出與 DNA 相似的阻抗曲線，如圖 3.21 所示。

3.3.4.2.2 等效電路模擬

位於電解質溶液與電極之間的 DNA 分子層，在交流阻抗分析中所扮演的角色就像是一電容層。當此電容層在低頻的交流電場中獲得足夠的時間來完成充電過程後，電荷即可藉由 DNA 分子中，鹼基對間的良好堆疊來作為傳輸的通道。因此在不同的交流頻率下所得到的阻抗值，經由一個適當的等效電路模擬，可以進一步的估算出等效電路中各個等效元件的參數。圖 3.23(a) 為模擬純金電極所量測的交流阻抗圖譜之等效電路，以純金電極做電化學量測之工作電極時，由於電極表面與電解質溶液之界面會形成電雙層，此電雙層於交流電場中的特性，我們可以用一電容與電阻的並聯來描述，因此在純金電極系統下的等效電路 (Equivalent circuit (1))如圖 3.23(a) 所示。其阻抗 (R_z) 的方程式如下：

$$R_z = R_s + \frac{1}{Q + \frac{1}{R_{ct} + W}} \quad (30)$$

$$Q = Q_{dl} \omega^n \left(\cos \frac{n\pi}{2} + j \sin \frac{n\pi}{2} \right) \quad (31)$$

$$W = \frac{1}{W_0} (2\omega)^{-1/2} (1 - j) \quad (32)$$

式中 R_s 為溶液電阻， Q_{dl} 為一常相位角元件 (Constant phase element, CPE)，主要用來描述在電解質溶液與電極表形成的電雙層之非理想電容的特性；在式 (26) 中， $n=0$ 時電雙層特性就類似電阻， $n=1$ 時則為理想電容， ω 為角頻率。 R_{ct} 為電荷轉移電阻， W_0 (Warburg impedance) 為電解質溶液因擴散所造成的擴散阻抗。

圖 3.23(b) 中的等效電路 (Equivalent circuit (2)) 是用來描述經由 DNA 分子修飾後的電極之交流阻抗。在此系統中，金電極上的 DNA 分子層就類似金屬表面的高分子塗層。依據 Janek et. al.[92] 的研究，應用 Equivalent circuit (2) 可以有效的描述含

有共軛雙鍵的自組裝分子層之交流阻抗圖譜。Equivalent circuit (2) 的阻抗方程式如下：

$$R_z = R_s + \frac{1}{Q + \frac{1}{R} + \frac{1}{R_{ct} + W}} \quad (33)$$

$$Q = Q_f \omega^n (\cos \frac{n\pi}{2} + j \sin \frac{n\pi}{2}) \quad (34)$$

其中 R 為 DNA 分子的電阻，而 Q_f 為 DNA 分子層的電容。藉由 Equivalent circuit (1) 和 (2)，我們可以模擬在純金電極以及 DNA 分子修飾後電極的交流阻抗圖譜，其模擬結果如圖 3.19、3.21 和 3.22 中實線部份所示。等效電路中各個等效元件的模擬參數則列於表 3.3 中。由表中可以發現，DNA 與 Ni-DNA 的自組裝分子層都不屬於理想電容層，其 n 值都小於 1，並且 DNA 的電阻值也大於 Ni-DNA 的電阻值約 20 倍左右，此結果與我們之前對於 DNA 與 Ni-DNA 的電導特性的分析一致。藉由交流阻抗的分析與等效電路的模擬，可以更進一步將其電導特性作量化的比較。

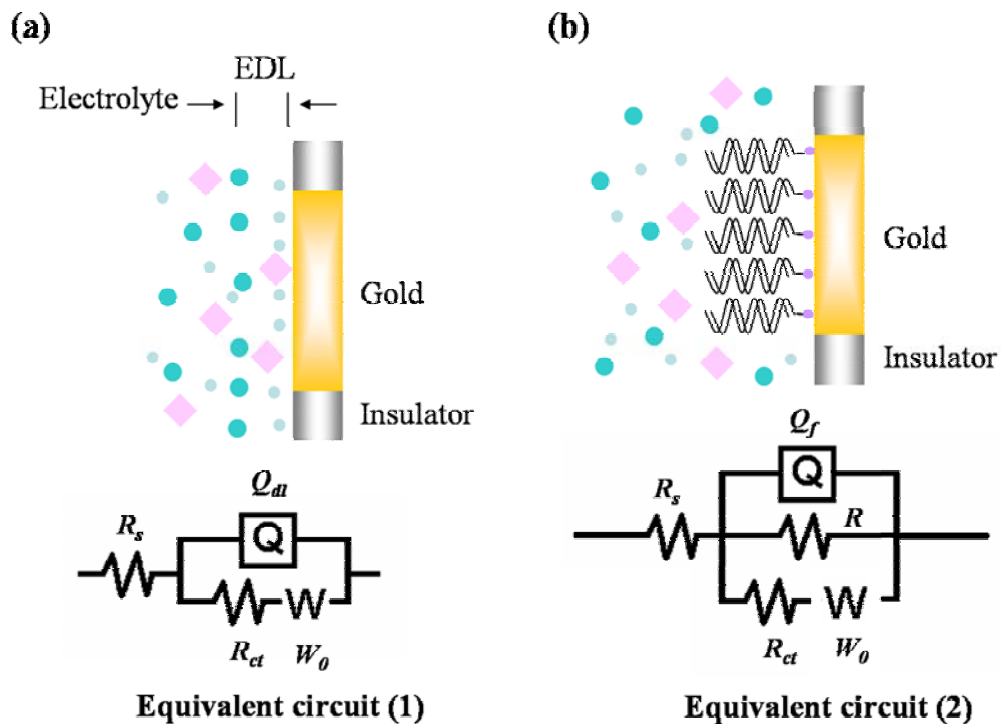


圖 3.23 (a) 模擬純金電極系統下所量測交流阻抗圖譜之等效電路，(b) 模擬 DNA 分子修飾後金電極系統所量測交流阻抗圖譜之等效電路。 R_s 為溶液電阻， Q_{dl} 為一常相位角元件， ω 為角頻率， R_{ct} 為電荷轉移電阻， W_0 (Warburg impedance) 為電解質溶液

因擴散所造成的擴散阻抗， R 為 DNA 分子的電阻，而 Q_f 為 DNA 分子層的電容

表 3.3 等效電路中各個等效元件之模擬參數結果

	R_s / Ω	Q_{dl} / F	Q_f / F	n	R / Ω	R_{ct} / Ω	$W_o / \Omega \text{ s}^{-1/2}$
Barc gold	175.9	1.94×10^{-6}		0.86		595.6	6.66×10^3
Native DNA	162.3		7.98×10^{-7}	0.95	2.04×10^7	1.28×10^5	3.37×10^5
Ni-DNA	175.3		1.76×10^{-6}	0.89	9.85×10^5	1.52×10^4	4.99×10^4
EDTA treatment	182.8		6.43×10^{-7}	0.93	3.86×10^7	2.74×10^5	3.28×10^5

3.3.4.2.3 鹼基對堆疊對 Ni-DNA 電性的影響

DNA 導電度的改善，主要是藉由二價金屬離子的參雜所造成的。當我們以二價鎳離子參雜入具有良好鹼基對堆疊的雙股螺旋 DNA 時，鎳離子不但可以降低 DNA 分子中 HOMO 與 LUMO 之間的能隙[58]，並且於電荷的傳輸過程中扮演著橋樑的角色，帶正電荷的鎳離子猶如存在於 DNA 分子中的電洞，電荷可以藉由電洞跳躍 (Hole hopping) 來做電荷的傳輸[26]，然而當鹼基對的堆疊產生變化時，電荷的傳輸相對的受到影響。在實驗中，我們分別將 single A-C mismatch (R-AC)、two A-C mismatch (R-2AC) 與 three A-C mismatches (R-3AC) 的鹼基對加入 DNA 的序列中 (表 3.1)，並以交流阻抗法來量測其 Ni-DNA 的電阻，如圖 3.24 所示。由圖上可以看出，隨著 DNA 序列中錯誤配對鹼基對的數目增加，阻抗值也相對的增加。藉由等效電路的模擬 (Equivalent circuit (2)) 可以得知，Ni-DNA 的電阻由原來的 $0.93 \text{ M}\Omega$ (完全互補) 增加至 $1.40 \text{ M}\Omega$ (Single A-C mismatch)、 $2.66 \text{ M}\Omega$ (Two A-C mismatches) 以及 $5.34 \text{ M}\Omega$ (Three A-C mismatches)。電荷於 Ni-DNA 中的傳輸，主要是藉由以鎳離子為介質，電荷於鹼基對之間所形成 π 軌域堆疊 (π -stack) 的通道 (Ni^{2+} -mediated π - π stacking corridor) 來作傳導。當 DNA 序列中有錯誤配對的鹼基對時，在錯誤配對鹼基對的位置上會造成 π 軌域堆疊的變動，此微小的擾動猶如一電位能障 (Potential barrier) 將會降低了電荷於 DNA 分子中的傳輸速率[71,102]，如圖 3.25 所示。電荷必須要有足夠的能量來躍過此能障，或藉由穿遂效應 (Tunneling effect) 來做傳輸。圖中 Φ 為 A-C mismatch 的電位能障高度 (Potential barrier high)，Single A-C mismatch 的能障寬度 (d) 約為 6.8 \AA 、two A-C mismatches 約為 10.2 \AA 而 three A-C mismatches 約為 13.6 \AA 。由能障寬度與電阻的關係圖 (圖 3.26) 可知，電阻隨著能障寬度的增加而呈現指數的增長，此現象就類似於電子的穿遂效應。依據 Simmons model[103]，電子的穿遂效應可以用下列式子來描述：

$$I \propto V \exp(-\beta d) \quad (35)$$

移項後可得到；

$$R \propto \exp(\beta d) \quad (36)$$

$$\beta = \frac{4\pi(2m\Phi)^{1/2}}{h} \quad (37)$$

式中 β 為衰退係數 (Bias-independent decay coefficient)， m 為電子的質量。 h 為蒲朗克常數 (Plank's constant)。利用式 (31) 對圖 3.26 作數值擬合 (Fitting)，其結果如圖 3.26 中實線部分所示。由擬合出的數值可知 β 約為 0.30 \AA^{-1} ，此數值與文獻中所發表過的數值 ($0.1 \sim 0.6 \text{ \AA}^{-1}$) [8,104,105] 相符。將 β 代入式 (32) 可以求得 A-C mismatch 於 Ni-DNA 中所形成的電位能障高度 (Φ)，其數值約為 0.083 eV 。由這些結果我們可以得知，電荷於 Ni-DNA 中的傳輸對於 DNA 序列中 π 軌域堆疊的擾動，以及鹼基對的穩定度是非常靈敏的。藉由此結果，我們可以利用電荷於 Ni-DNA 中的傳輸特性，將 Ni-DNA 導入至生物感測器上的應用。結合 DNA 的金屬化技術與電化學的分析，可以用來對 DNA 序列中鹼基的變異進行檢測。

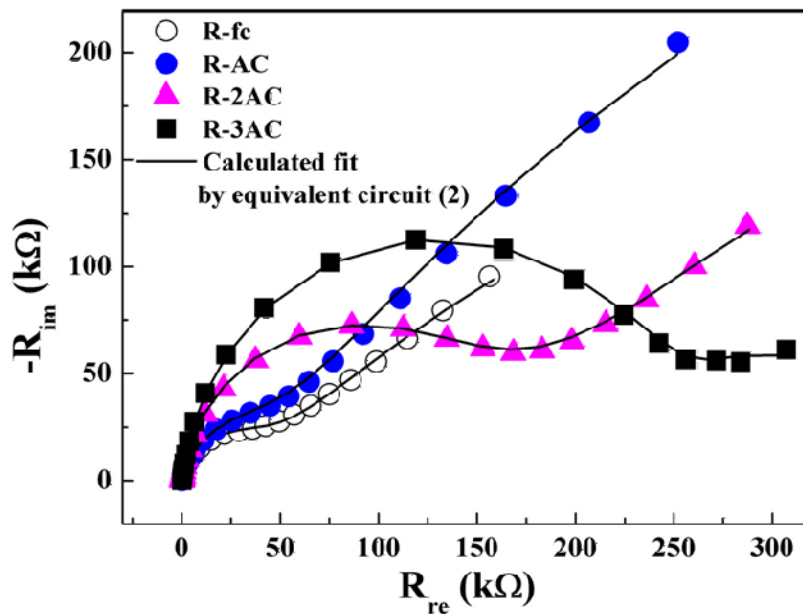


圖 3.24 鹼基對堆疊對 Ni-DNA 交流阻抗圖譜之影響。○ 為完全互補之序列，●、

▲、■ 分別為含有單一 AC、兩個 AC 以及三個 GT 錯誤配對鹼基對之序列 (如表 3.1 所示)，實線部份為等效電路模擬結果

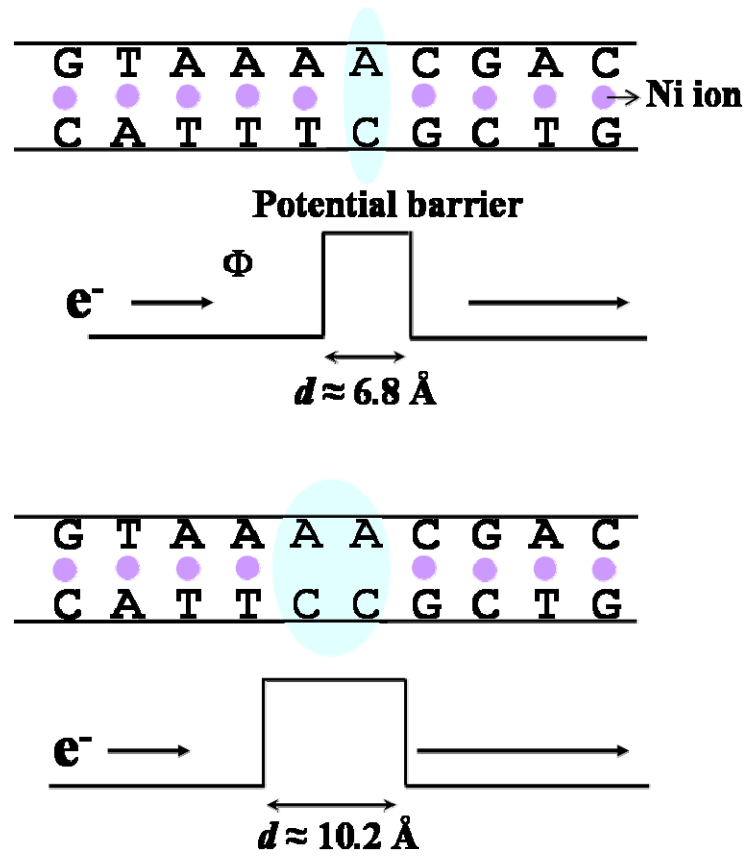


圖 3.25 Ni-DNA 序列中鹼基對錯誤配對所誘發之電位能障示意圖

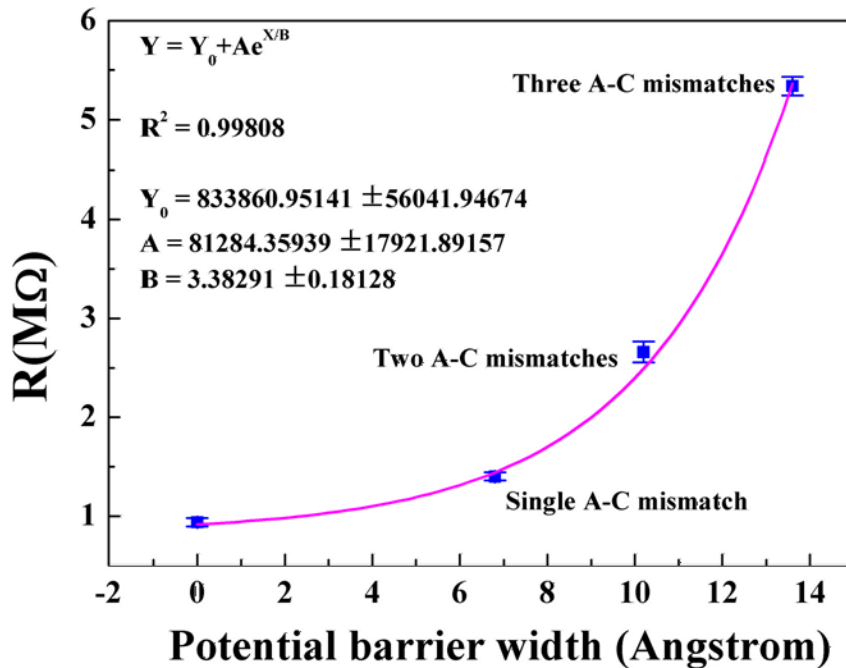


圖 3.26 能障寬度與電阻之關係圖

3.3.5 Ni-DNA 於生物感測器上的應用

在人體中有許多種的疾病都是由某些特定功能性蛋白質的不正常現象所引起的，而造成這些不正常性蛋白質的原因，主要在於其所對應的 DNA 序列中有某些鹼基的變異所引起的。在臨床的診斷上就必須要有一套有效，且快速的方法來檢測 DNA 序列中有害或突變的基因。一般用於 DNA 序列錯誤配對的檢測方法有以下幾種：1. 光學檢測法[106]、2. 石英天平微量分析法[107] 以及 3. 電化學檢測法[70-72,74,75]，其中以電化學法最具有重點照護檢驗 (Point-of-care testing, POCT) 的發展潛力。電化學法檢測的優點為有高靈敏度、高選擇性和低成本[71]，檢測過程中的電化學反應可以直接以電子訊號讀出，避免訊號轉換之間的誤差影響檢測的準確性。然而其主要的缺點則在於 DNA 分子本身的導電性較差，相對的電化學反應的訊號也較弱，因此則必須藉由一些催化劑的添加來增強電化學訊號，例如亞甲基藍 (Methylene blue, MB⁺)[71,73]。催化劑的添加在某些程度上也會造成檢測上的誤差，當催化劑沒有鍵結於 DNA 分子上，而是直接與工作電極表面接觸時，所量測的氧化還原反應則無法準確的反應出 DNA 序列上鹼基對的錯誤配對情形。在本實驗中，我們以金屬離子 (Ni²⁺) 的參雜使 DNA 轉換為 Ni-DNA 來提高 DNA 分子的導電性，以增強電化學反應的訊號。利用電荷於 Ni-DNA 中的傳輸機制 (如上節所述)，對 Ni-DNA 序列中是否有鹼基對錯誤配對的情況進行電化學分析。

3.3.5.1 DNA 序列中鹼基對錯誤配對之檢測

實驗中所使用的 DNA 主要是以 Poly-TG 所組成的序列，序列中含有 30 個鹼基對，另一個則是以 28 個隨機的鹼基對所組成的 DNA 序列，如表 3.1 所示。在這些序列中，分別設計了不同錯誤配對種類的鹼基對於其中，如 G-T、G-A 和 A-C。除了單一的錯誤配對情形外，數個錯誤配對的鹼基對也同樣的包含於其中。然而在 DNA 序列中，如果有太多的錯誤配對情況時，可能會造成 DNA 雙股螺旋結構的不穩定。依據之前的研究可知[108]，不同鹼基對之間的穩定度大致上如下所述；

$$G-C > A-T > G-T > G-G > T-T \approx G-A > T-C > A-C > A-A > C-C$$

由此可知，G-T 可以說是所有錯誤配對的鹼基對中最穩定的，因此我們以 G-T 的鹼基對來設計出一條含有三個 G-T 錯誤配對鹼基對的 DNA 序列 (P-3GT)。按照實驗操作步驟所述，我們分別將所有的 DNA 樣品修飾於金電極上，並置換成 Ni-DNA。在將這些 Ni-DNA 修飾的金電極，於 $K_3Fe(CN)_6$ 電解質溶液的電化學系統下進行交流阻抗分析，其結果如圖 3.27 和 3.28 所示。由圖中可以明顯的看出，含有鹼基對錯誤配對的 Ni-DNA 的阻抗值都大於完全互補的 Ni-DNA，不論是在 Poly-TG (圖 3.27) 或隨機序列 (圖 3.28) 的 Ni-DNA 都是如此。同樣的，我們以等效電路 (Equivalent circuit (2)) 模擬其交流阻抗圖譜，並將所得到的各個 Ni-DNA 樣品的電阻值標繪於圖 3.29。當 Ni-DNA (Poly-TG) 的序列中含有一個 G-T 錯誤配對的鹼基對 (P-GT) 時，其電阻值由原本的 $0.89 M\Omega$ (P-fc) 增加至 $1.91 M\Omega$ 。同樣的，在含有單一 G-A 錯誤配對的鹼基對 (P-GA) 以及三個 G-T 錯誤配對的鹼基為時，其電阻值也分別增至 $2.18 M\Omega$ 和 $6.02 M\Omega$ 。在隨機序列的 Ni-DNA 中也有相同的結果，完全互補的 Ni-DNA (R-fc) 的電阻值由 $0.93 M\Omega$ 增至 $1.40 M\Omega$ 、 $1.61 M\Omega$ 、 $2.07 M\Omega$ 和 $2.66 M\Omega$ ，相對於單一 A-C (R-AC)、G-T (R-GT) 和 G-A (R-GA) 錯誤配對的鹼基對，以及兩個 A-C 錯誤配對的鹼基對。由這些實驗以及等效電路模擬的結果，我們可以發現到，當 Ni-DNA 序列中有鹼基對錯誤配對的情況產生時，其電阻值則相對的大於原本完全互補的序列，並且不同類型的錯誤配對鹼基對也呈現出不同的電阻。隨著錯誤配對數目的增加，電阻也相對的增加。

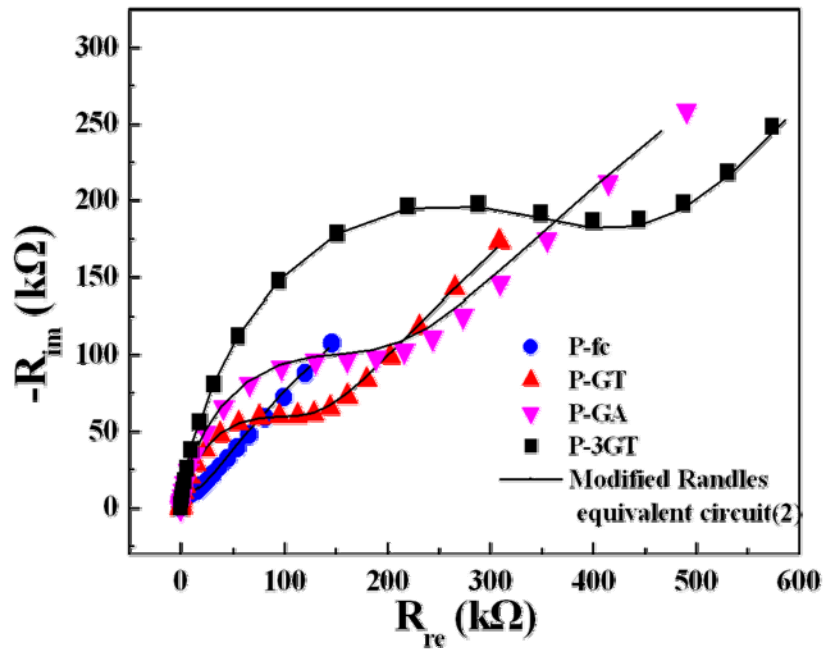


圖 3.27 Ni-DNA (Poly-TG) 序列中，鹼基對錯誤配對情形對交流阻抗圖譜的影響。● 為完全互補之序列，▲、▼、■ 分別為含有單一 GT、GA 以及三個 GT 錯誤配對鹼基對之序列 (如表 3.1 所示)，實線部份為等效電路模擬結果

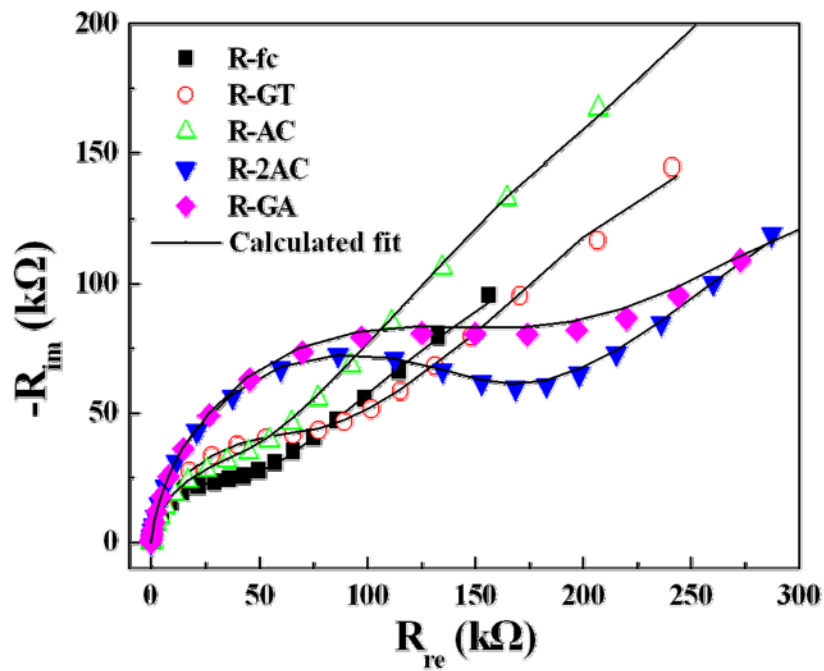


圖 3.28 Ni-DNA (random sequence) 序列中，鹼基對錯誤配對情形對交流阻抗圖譜的影響。■ 為完全互補之序列，○、△、▼、◆ 分別為含有單一 GT、AC、GA 以及二個 AC

錯誤配對鹼基對之序列 (如表 3.1 所示)，實線部份為等效電路模擬結果

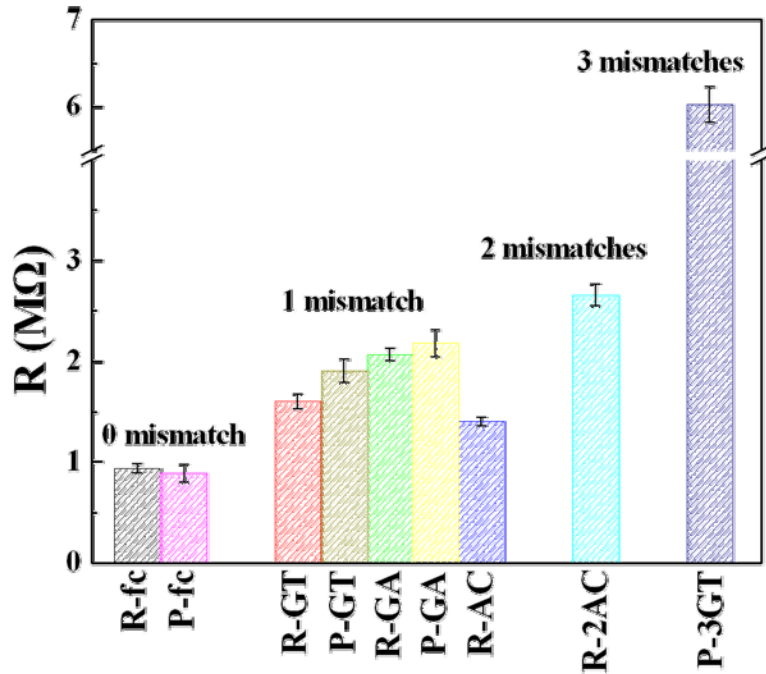


圖 3.29 Ni-DNA 序列中，各種不同鹼基對錯誤配對之電阻比較。圖中各符號所代表的序列如表 3.1 所示

由電荷於 Ni-DNA 中的傳導機制可知，含有錯誤配對鹼基對之 Ni-DNA 電阻增大的原因，主要是因電荷在 π - π stacking 作傳輸時，由於錯誤配對鹼基對所誘發出的電位能障，減少了電荷傳輸的機率。因此，依據不同類型的錯誤配對鹼基對所造成 DNA 雙股螺旋中 π -stack 扭曲程度的不同，藉由 Ni-DNA 電阻的量測，我們可以快速且準確的檢測出 DNA 序列中是否有錯誤配對的情況產生，甚至對於錯誤配對類型的種類也可進一步的作區分。例如在實驗中，不論是那一組序列的 Ni-DNA，當序列中有 G-A 錯誤配對的鹼基對時，其電阻都大於含有 G-T 錯誤配對鹼基對之序列 (圖 3.29)。除了先前所提及鹼基對穩定的影響外 (G-T 穩定度較 G-A 高)，G-T[109] 或 A-C[110] 在自然的情況下可以形成穩定的 wobble base pairing structure，此結構對於 DNA 整體構形的改變較小。然而在 G-A 錯誤配對的情況下，鹼基 G 與 A 都屬於嘌呤，在配對的過程中，G 和 A 可能藉由各自結構上羰基與氨基 (carbonyl-amino)、氨基與氨基 (amino-amino) 或是氨基與羰基 (amino-carbonyl) 的交互作用來進行配對 [111]，而此鹼基對的形成對於原本 DNA 分子的磷酸骨幹，及鹼基堆疊都會造成較大的影響。因此在 G-A 錯誤配對的情況下，Ni-DNA 則會表現出較大的電阻。此方式不但可以有效的針對 DNA 序列中，是否有錯誤配對的情況做檢測外，對於序列中鹼基對錯誤配對的數量也可以進一步的作分析，如圖 3.30 所示。藉由 Ni-DNA 電阻的

變化量與序列中鹼基對錯誤配對數量的關係圖可以得知，電阻的變化量隨著鹼基對錯誤配對數量的增加而增加，並且呈現出指數關係的增長，如圖 3.30 中所擬合出的指數增長曲線所示。由先前的實驗結果得知，電荷於 Ni-DNA 中傳輸時，可以藉由穿遂效應穿越過由錯誤配對鹼基對所誘發出的電位能障，因此，隨著電位能障數目的增加，電荷穿遂能障的機率將呈現出指數關係的遞減，相對的其電阻值則會隨著電位能障數目的增加，而呈指數關係的遞增。利用此關係，我們可以藉由量測含有錯誤配對鹼基對之 Ni-DNA，與完全互補 Ni-DNA 之間的電阻差異，反推即可得知其序列中所含有錯誤配對鹼基對之數量。

此檢測方式不會受到 DNA 序列上的差異，及 DNA 分子熱穩定度之影響，其檢測的機制主要是依據鹼基對堆疊的改變，而使得電荷於 Ni-DNA 中的傳輸速率產生變化。因此對於一些在傳統檢測法上，較難檢測出的單一的錯誤配對種類，如 G-T 或 G-A 等 (因具有較高的熱穩定度[70,112]，在傳統的雜合 (Hybridization) 檢測法中，其 melting temperature 的變化量並不大，較不易檢測)，透過此方法都可以有效的分辨出來。

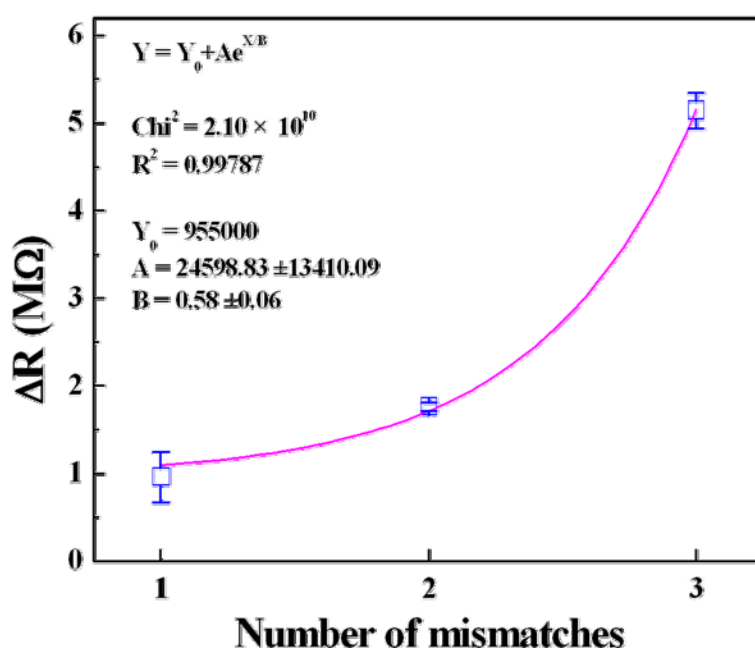


圖 3.30 電阻變化量與鹼基對錯誤配對數量之關係圖

3.4 結論

本實驗中，我們主要以電化學方法分析 native DNA 與 Ni-DNA 之間的電性差異與其電化學特性。在進行電化學分析前，DNA 分子則必須先於金電極表面形成單分子層，由循環伏安分析法以及石英微量天平分析法量測可知，DNA 分子自組裝於

金表面的覆蓋率主要會受到 DNA 分子長度的影響，DNA 分子長度越長，自組裝分子層於金表面的覆蓋率也越小，較不易形成緻密的 DNA 單分子層。由實驗結果可知，理想的 DNA 長度約為 20 bp 至 30 bp。當 DNA 分子於 pH = 9.0 的鎳離子溶液中反應約八小時後，由電泳分析以及 XPS 的分析結果可知，native DNA 將會被轉換為 Ni-DNA，此時二價的鎳離子將會取代 DNA 序列中，鹼基 G 或 T 亞胺基上一個質子，並與鹼基 C 或 A 以及氫氧基形成一穩定的四面體結構。當 native DNA 被轉換為 Ni-DNA 之後，其導電特性將有明顯的改善。而其電性的改善，主要是由於鎳離子參雜入具有良好鹼基對堆疊的 DNA 分子後，鎳離子就扮演著電荷傳輸介質的角色，帶正電荷的鎳離子猶如存在於 DNA 分子中的電洞，電荷可以藉由電洞跳躍 (Hole hopping) 來做電荷的傳輸，並由紫外光可見光吸收光譜可以看到，當鎳離子參雜入 DNA 分子後，鹼基上 HOMO 和 LUMO 之間的能隙會縮小，並且由於鎳離子的插入，使得鹼基對的堆疊更加良好，這些都是造成 Ni-DNA 有較好導電特性的原因。電荷於 Ni-DNA 中的傳導，主要會受到鹼基對堆疊的影響 (π - π stacking)，由交流阻抗圖譜以及等效電路的模擬，我們可以發現到，當 DNA 序列中的鹼基對堆疊產生變化時，Ni-DNA 的電阻會隨之改變，例如，當序列中有錯誤配對的鹼基對時，此時 DNA 分子中 π 軌域的堆疊會因錯誤配對的鹼基對而產生扭曲的現象，並誘發出一電位能障，使得電荷必須利用穿遂效應來穿越此能障，也因此使得 Ni-DNA 的電阻增加。藉由 Ni-DNA 的電荷傳導機制，我們可以將 Ni-DNA 運用於電化學的生物感測器上，例如以電化學法檢測 DNA 序列中，是否有錯誤配對的鹼基對。由實驗的結果可知，當 native DNA 轉換為 Ni-DNA 之後，我們可以有效的檢測出 DNA 序列中是否有錯誤配對的情況產生，甚至對於鹼基對錯誤配對的種類以及數量都可以作區分。

第四章 DNA 分子元件製作與電性量測

4.1 前言

隨著奈米技術的進步，固態電子元件的尺寸也越來越小。然而受到元件尺寸不斷縮小的影響之下，不論是在製程技術或是元件物理特性上，都有著不小的衝擊[1]。以現今的半導體產業為例，其主要的製程技術是以“top-down”的方式，經由一系列的成膜、黃光微影以及蝕刻等技術來製作元件的結構[113]。當元件大小達到奈米尺寸時，這些製程方式對於其元件結構的控制都具有極大的挑戰。除此之外，元件在奈米尺寸下所產生的量子效應，也將改變電子元件原本的物理特性。因此在過去的幾年來，已有許多的研究團隊紛紛著眼於分子元件的製作與發展[2-12]。在分子元件的製作上，嘗試利用“bottom-up”的方式，將一些原子級或分子級的材料建構成微小的奈米結構以製作分子元件，分子的自組裝 (Self-assembly) 技術即為其中一成功的例子[12]。同時有許多的研究發現，某些分子元件也確實能夠表現出與一些典型的電子元件相似的物理特性，例如，Li. et al.[114] 以 Fe^{2+} -terpyridine compound 所製作出的分子記憶元件 (Molecular memory device)，以及 Park et al.[11] 利用 $\text{Co}(\text{tpy}-(\text{CH}_2)_5\text{-SH})_2$ 分子所製作的單電子電晶體…等。這些研究也一再的證明了，分子元件於未來電子元件上應用的可行性。

在本研究中，我們以 Ni-DNA 分子作為主動區 (Active area)，製作出一橫向金屬 / Ni-DNA / 金屬 (metal-molecule-metal) 接合的分子元件。由電性量測的結果，我們發現此分子元件具有負微分電阻 (Negative differential resistance, NDR) 的特性。所謂的 NDR 指的就是，電流於某段電壓範圍內並不會隨著電壓的增加而增加，相反的，隨著電壓的增加電流則會減少。此物理特性於半導體元件中常被運用於低功率的記憶元件，以及邏輯元件上，例如，Esaki diodes[115] 和共振穿隧二極體 (resonant tunneling diode, RTD)[87]。在過去的幾年裡，也有一些有機分子也曾被發表過有 NDR 的特性[3,7,12]，並且由文獻中可知，在不同的分子元件系統中，NDR 特性的產生，可能來自於不同的機制。這些機制包含有分子的充電效應 (charging (reduction))[12]、氧化還原反應 (redox reaction)[7]、結構變化 (structural change)[116]、化學反應 (chemical reaction)[5] 和 association-dissociation processes[117]。例如當 (2'-amino-4-ethynylphenyl-4'-ethynylphenyl-5'-nitro-1-benzenethiol) 分子自組裝於兩個金電極之間，形成類似三明治結構的分子元件時，分子中的 nitroamine 會因兩步驟的還原反應 (two-step reduction) 而表現出 NDR 特性[12]；還有 Metalloproteins (ferritin) 會因分子中的過渡金屬離子所產生的氧化還原反應，而使得電流與電壓的關係呈現出 NDR 的特徵[7]。在本實驗中，以 Ni-DNA 所製作的分子元件，不但表現出較 native DNA 還好的導電特性外，也藉由參雜在 DNA 分子鹼基對間之鎳離子的氧化還原反應，使得 Ni-DNA 分子元件具有 NDR 的物理特性。

4.2 實驗

4.2.1 實驗藥品、溶液配製與設備

(1) 藥品

本實驗所用之藥品均為分析級，所使用之藥品如下：

Tris(hydroxymethyl) aminomethane (Sigma)

HCl (Hydrochloric acid 32%, Merck)

NH₄OH (Ammonium hydroxide, Merck)

AgNO₃ (Silver nitrate, Sigma)

對苯二酚 (Hydroquinone, Sigma)

EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid, Merck)

Acetone (merck)

H₂O₂ (Hydrogen peroxide 30%, Merck)

H₂SO₄ (Sulfuric acid, Merck)

NiCl₂ (Nickel(II) chloride, Merck)

Acetone (merck)

另外向生技公司 (TOYOBO, Osaka, Japan) 購買 λ-DNA 片段，其長度為 23130 bp (約 7.9 μm)，且 DNA 樣品都經過純化以及去鹽類處理。

(2) 溶液配製

實驗中所使用的水均為去離子水 (Deionized water)，用於調配緩衝液或生物樣品保存液的去離子水都經過高溫高壓滅菌的滅菌水。

➤ 硫酸溶液

取體積比為 3:1 的濃硫酸 (H₂SO₄) 與雙氧水 (H₂O₂) 混合均勻即為清洗用之硫酸溶液。

➤ Tris-HCl buffer

將 0.06 克的 Tris(hydroxymethyl) aminomethane 溶於 50 ml 的滅菌水中，再以 3N 的 HCl 溶液將 pH 值調至 9.0，即濃度為 10 mM 的 Tris-HCl buffer。

➤ λ-DNA 保存溶液

本實驗中所使用的 λ-DNA 樣品皆為脫水乾燥的商應化產品，依據廠商所提供的濃度配製資訊，將 λ-DNA 溶於 Tris-HCl buffer 中，並保存於 -20 °C 冰箱中。

➤ 氯化鎳溶液

此溶液主要是用於提供鎳離子使 λ-DNA 轉化為 Ni-DNA。以滅菌水調配成含有濃度為 10 mM Tris-HCl buffer 和 2.5 mM NiCl₂ 的氯化鎳溶液，再以氨水將 pH 值調至 9.0 即可。

➤ Ni-DNA 溶液

將氯化鎳溶液加入至 λ-DNA 保存溶液中，反應八小時後即可得到 Ni-DNA 溶液，Ni-DNA 的濃度為 12.5 ng/μl。

➤ 硝酸銀溶液

將硝酸銀加入去離子調配成 0.1 M 的硝酸銀溶液，並以氨水將 pH 值調至 10.5。

➤ 對苯二酚溶液

將對苯二酚加入去離子調配成 0.05 M 的對苯二酚溶液，並以氨水將 pH 值調至 10.5。

(3) 儀器設備

➤ 電子束微影系統 (Electron beam lithography, EBL)

由德國 Leica 公司所生產 WEPRINT 200 電子束微影系統，其兼具晶圓直寫及光罩製作的雙重功能，並具 0.1 微米以下的圖案定義能力，故極適用於下數個世代的光罩及元件製作。

➤ 低壓化學氣相沉積 (Low-pressure chemical vapor deposition, LPCVD)

由荷蘭 ASM 公司所生產爐管系統 (LB45 Furnace system)，適用於 4 吋及 6 吋晶圓，具備氧化、擴散、低壓化學氣相沉積及高溫退火等功能。

➤ 自動化光阻塗佈及顯影系統 (Clean Track MK-8)

TRACK 的主要功能為曝光前將阻劑塗佈於晶圓表面的處理及曝光後的顯影流程，可將光罩上的圖案精準的轉移到阻劑，以利後續如蝕刻、離子植入等製程的進行。

➤ 電性量測系統 (HP 4156A)

由美國 AVALON 公司所生產 HP 4156A 之電性量測系統，可提供直流電性參數量測。變溫範圍為室溫至 200 °C。

➤ 原子力顯微鏡 (Atomic force microscope, AFM)

由德國 JPK 公司所生產 NanoWizard II 之原子力顯微鏡，可以在溶液中操作，有 tapping model 和 contact model 兩種掃描模式，主要以一些生物分子的掃描為主。

➤ 場發射掃描式電子顯微鏡 (FESEM)

由日本 HITACHI 公司所生產 S-4000 之場發射掃描式電子顯微鏡，加速電壓為 0 ~ 30 kV，電子槍為冷場發射式電子源，放大倍率為 20 ~ 300,000 倍。

以上儀器設備皆為國家奈米實驗室所提供。

➤ 單電子槍蒸鍍機 (E-gun Evaporator)

由 ULVAC 所製造，型號為 EBX-8C，可以用於多種金屬蒸鍍 (Au、Ni、Al、Ge、Ti 和 Pt)，蒸鍍薄膜之不均勻度 (non-uniformity) < 10%。由國立交通大學奈米科技中心所提供。

4.2.2 實驗操作步驟

4.2.2.1 電極製作

元件電極的製作主要是以電子束微影，以及 Lift-off 製程來完成，如圖 4.1 所示。整個製作流程如下：

- (1) 先以 LPCVD 於矽晶圓基材上沉積 120 nm 的 SiO_2 ，並旋塗上正光阻。
- (2) 利用電子束微影技術將電極圖案直寫於光阻上。
- (3) 經由光阻的顯影，可在光阻上得到電極圖案。
- (4) 以單電子槍蒸鍍機將 5 nm 厚的 Ti 金屬薄膜 (吸附層)，以及 50 nm 厚的 Au 金屬薄膜蒸鍍於顯影後的矽晶圓上。
- (5) 再以 Lift-off 的方式，將晶圓置於丙酮中，以超音波震盪將光阻移除，即可得到間隙約為 100 nm 的金電極。
- (6) 最後再以硫酸溶液及去離子水清洗，以去除殘留的光阻及有機污染物，即可完成電極的製作。

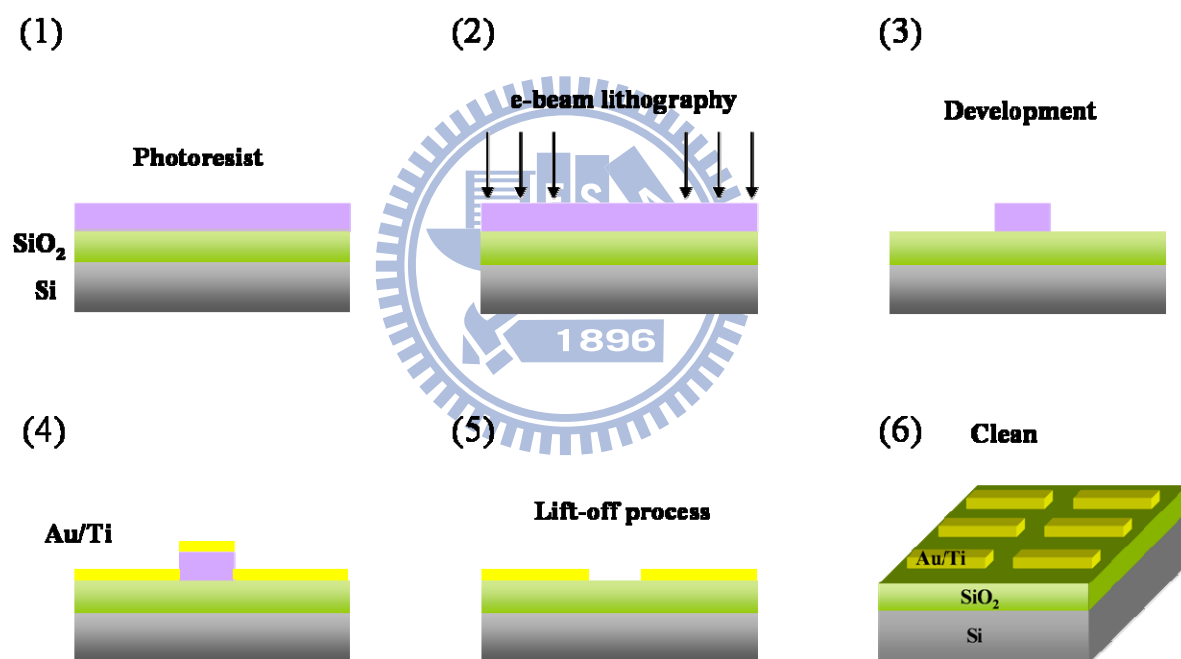


圖 4.1 元件電極製作流程圖

4.2.2.2 DNA 溶液中多餘金屬離子及鹽類的透析

實驗中，我們是以靜電吸引力的方式 (electrostatic trapping)[118] 將 Ni-DNA 或 λ -DNA 分子吸附至金電極上，然而在 electrostatic trapping 的過程中，Ni-DNA 或 λ -DNA 溶液所殘留的金屬離子及鹽類，都會影響到接下來電性量測的結果。因此在作 electrostatic trapping 之前，我們都會先將 Ni-DNA 或 λ -DNA 溶液進行透析的處理，其透析方式如下：

- (1) 將透析袋於 1 M 的 EDTA 溶液中加熱煮沸 10 分鐘，之後用蒸餾水徹底

清洗透析袋。

- (2) 取適量 Ni-DNA 或 λ -DNA 溶液置於透析袋中，並將透析袋兩端夾緊，以防止溶液漏出。
- (3) 將透析袋放入 2000 ml 的二次蒸餾水中，以磁石攪拌於 4 °C 冷房中進行透析 8 小時，重覆兩次此透析程序，即完成 DNA 溶液中多餘金屬離子及鹽類透析。
- (4) 由透析袋中將透析後的 Ni-DNA 或 λ -DNA 溶液取出後，即可用於 electrostatic trapping 的製程中。

4.2.2.3 DNA 分子的 electrostatic trapping

DNA 分子元件的製作，主要是將 Ni-DNA 或 λ -DNA 分子架橋 (Bridging) 於兩金電極之間，實驗中所使用的金電極之間的距離約為 100 nm。製程方式如下所述：

- (1) 首先將透析後的 Ni-DNA 或 λ -DNA 溶液，取適量滴於乾淨的金電極上 (圖 4.2 (a))。
- (2) 施加 1 V 的電壓於金電極上，以形成一平行於基材的電場，其電場強度約為 7.85×10^2 V/m，持續 20 分鐘後以氮氣槍吹乾 (圖 4.2 (b))。
- (3) Ni-DNA 或 λ -DNA 在此電場的作用下，由於磷酸骨幹上所帶的負電荷會被金電極上的正電位所吸引，因此 DNA 分子會以靜電吸附的方式吸附於電極上 (圖 4.3)，之後即可進行元件的電性量測。

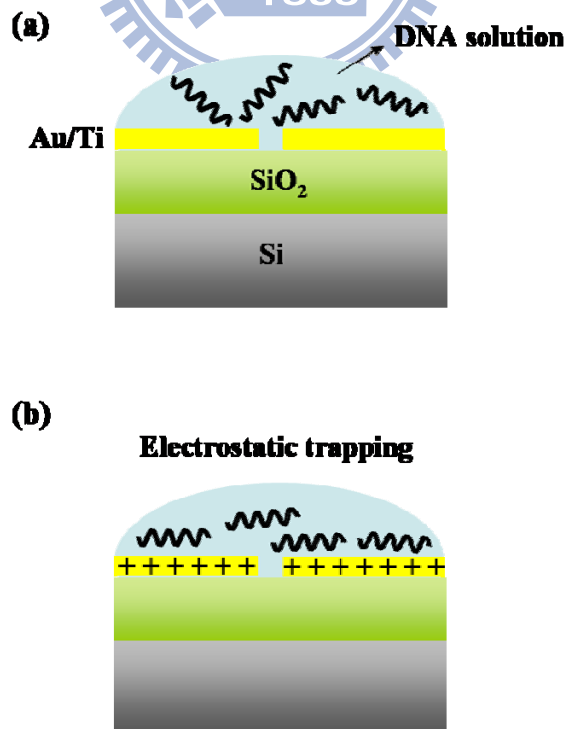


圖 4.2 DNA 分子 electrostatic trapping 示意圖

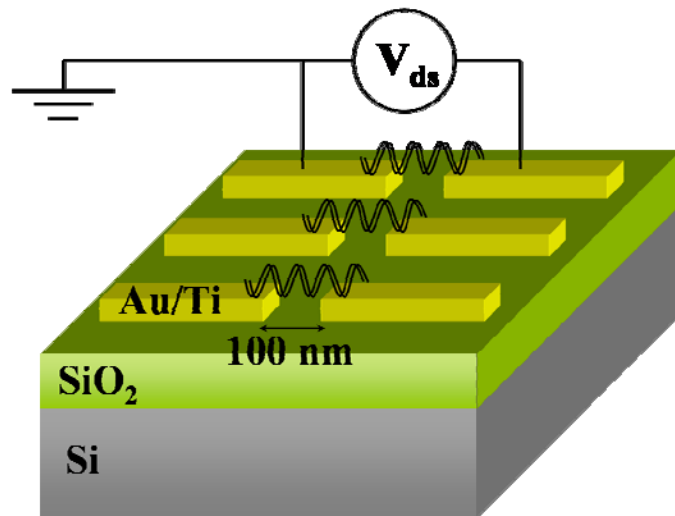


圖 4.3 元件電性量測示意圖

4.2.2.4 電性量測

以精確的半導體參數分析器 (HP 4156A) 於室溫及黑箱中進行電性的量測。施加一直流電壓於金電極上，其範圍為 $-10 \sim 10 \text{ V}$ ，另一金電極接地。量測在不同直流電壓下所得到的電流值。並改變不同的電壓掃描速率，觀測其電流的變化。

4.2.2.5 DNA 分子影像分析

以 AFM 掃描 Ni-DNA 或 λ -DNA 分子吸附於二氧化矽之基材表面之形貌，於室溫中以 tapping model 的方式進行 DNA 分子影像的掃描。所使用的探針為表面鍍有鋁的 n^+ -silicon，其力常數 (Force constant) 為 $10 - 130 \text{ N/m}$ 。SEM 的影像則於真空度小於 $3 \times 10^{-6} \text{ Pa}$ ，加速電壓為 25 kV 的條件下進行觀測。

4.2.2.6 銀離子交換法

實驗中為了能夠觀測到架於金電極間的 DNA 分子，我們以銀離子交換法將 DNA 分子轉換為銀導線[18]，其步驟如下：

- (1) 將經過 DNA 分子 electrostatic trapping 製程後的元件放入硝酸銀溶液中反應 5 分鐘，此時溶液中的銀離子，會因靜電吸引力而吸附於 DNA 磷酸骨幹上，或藉由離子交換取代原本吸附於骨幹上的離子，如圖 4.4a[18] 示。
- (2) 再將反應完後的樣品放入對苯二酚溶液，靜置 2 分鐘。此步驟是藉由對苯二酚，將吸附於 DNA 分子的銀離子還原成銀原子 (圖 4.4b)。
- (3) 再以去離子小心的清洗元件表面，並以氮氣槍吹乾。

經由上述步驟後，由於 DNA 分子被轉換為銀導線，使得在 SEM 下更容易觀察到位於兩金電極間的銀導線。

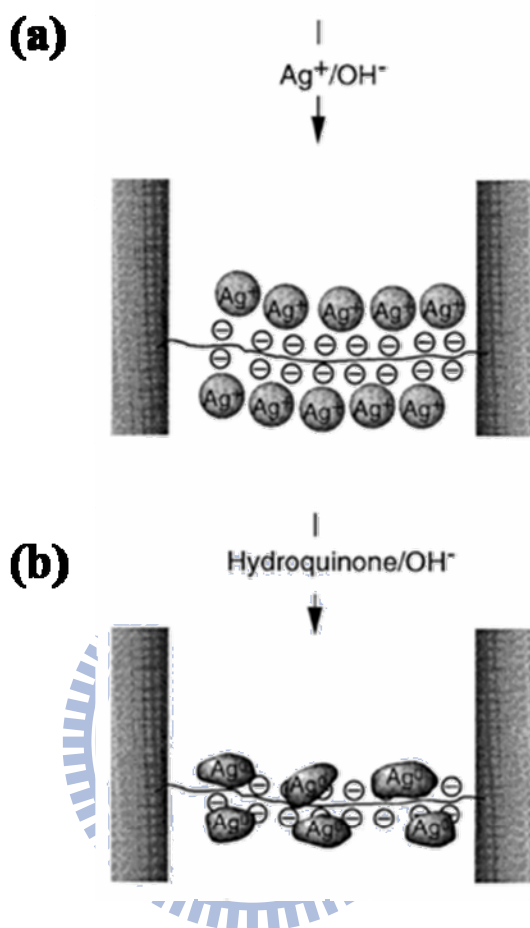


圖 4.4 銀離子交換法示意圖[18]。(a) 銀離子吸附於 DNA 磷酸骨幹 (b) 銀離子的還原

4.3 結果與討論

4.3.1 Ni-DNA 與 λ -DNA 之形貌分析

圖 4.5、4.6 為 Ni-DNA 與 λ -DNA 吸附於 SiO_2 基材上之 AFM 分析結果，由 AFM 的掃描影像中可以發現， λ -DNA 與 Ni-DNA 分子的形貌有些許的不同。在 Ni-DNA 分子上 (圖 4.5(a))，整條 Ni-DNA 的高低起伏較明顯，使得在 AFM 影像中，Ni-DNA 看起來像有許多的顆粒結構所組成，然而在 λ -DNA 分子中 (圖 4.6 (a))，整條分子線就較為平順。由文獻中可知[25,28,58]，當金屬離子參雜入 DNA 分子雙股螺旋中的鹼基對時，可能會造成 DNA 結構上的一些微小的改變，但整體而言，M-DNA 分子仍然維持著雙股螺旋的結構。除了插入在鹼基對間的金屬離子外，在 DNA 的磷酸骨幹上也會與一些金屬離子產生鍵結[101]，因此，在 Ni-DNA 的

AFM 影像中所看到的顆粒結構，可能是由於帶正電鎳離子的參雜，使得當探針尖端較靠近 Ni-DNA 中的鎳離子時，探針與 Ni-DNA 間的凡德瓦力受到影響，造成探針的振幅產生微小的變化，而此微小的變化即形成 Ni-DNA 之 AFM 影像中所呈現類似顆粒狀的結構。沿著圖 4.5(b) 及 4.6(b) 中所標示白線部份，觀測其高度剖面圖。由圖上可知， λ -DNA 的高度約為 0.9 nm 左右，此高度值與之前所發表過的文獻相似 [93]，並可以確定所掃描到的 λ -DNA 分子皆為單一條的 DNA 分子。然而在 Ni-DNA 的高度剖面圖中 (圖 4.6(b))，其高度也大約為 0.9 ~ 1.1 nm，此結果也顯示出 Ni-DNA 的結構，並不會因鎳離子的參雜而有顯著的變化。



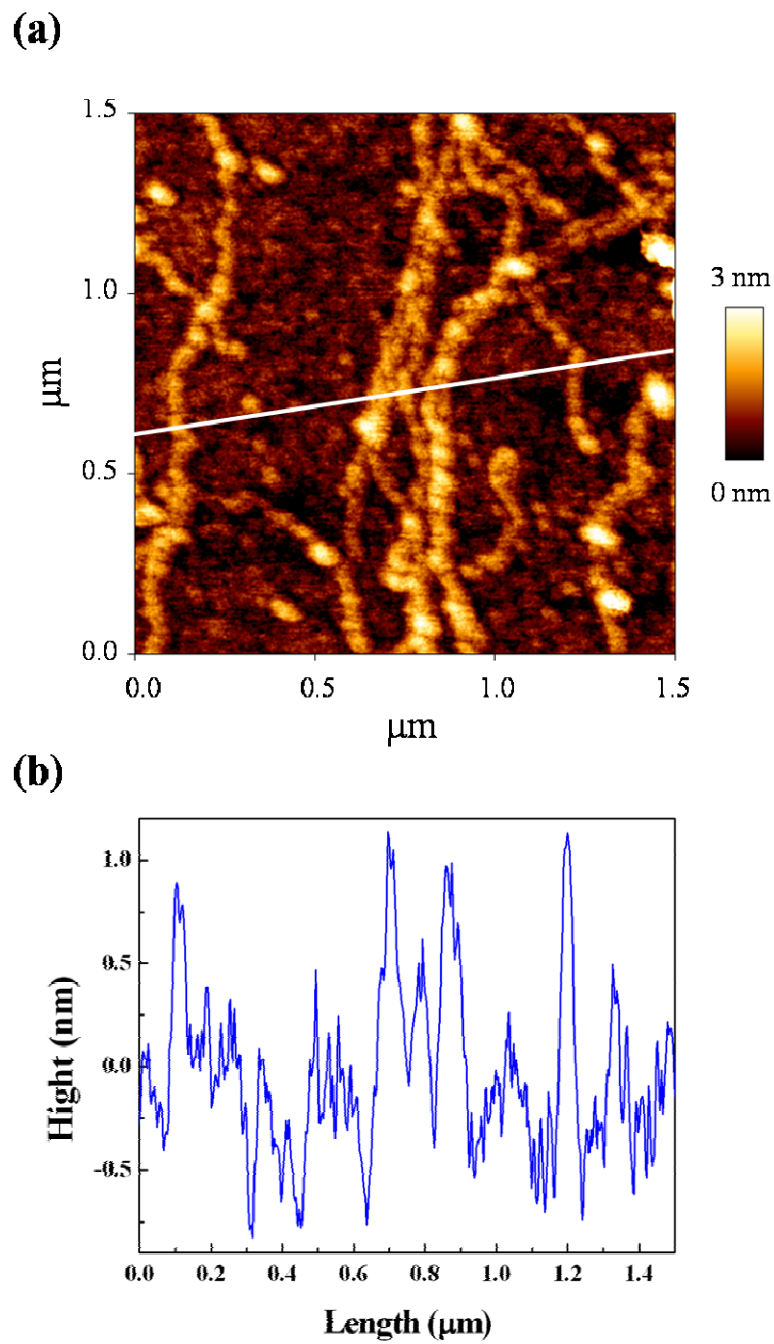


圖 4.5 Ni-DNA 之 AFM 影像分析 (a)，以及高度剖面圖 (b)

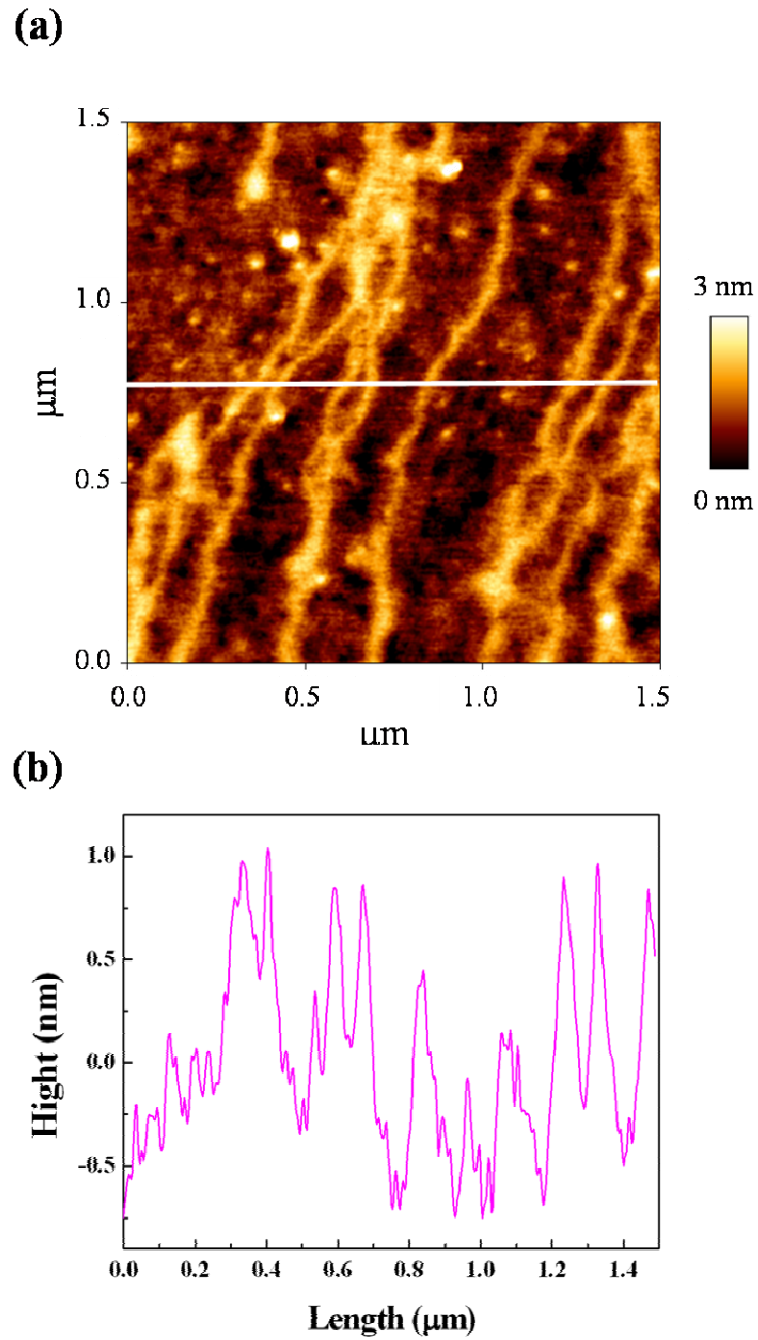


圖 4.6 λ -DNA 之 AFM 影像分析 (a)，以及高度剖面圖 (b)

4.3.2 Electrostatic trapping

在本研究中所製作的 DNA 分子元件，是以一個簡單的 M-M-M (Metal-Molecule-Metal) 組合所構成的，也就是在兩個電極間接上 DNA 分子。圖 4.7

為實驗中利用電子束微影所製作出的金電極，兩個金電極間的距離約 100 nm。為了能夠有效的將 λ -DNA 或 Ni-DNA 與兩個金電極作聯結，我們以 electrostatic trapping 的方式來達到此目的，也就是在兩金電極上施加一相同的正電壓，藉由電極上的正電位來吸引 DNA 分子，使得 DNA 分子最後能夠架橋 (Bridging) 於兩個金電極的間隙上，而形成 M-M-M 的結構，詳細的步驟如實驗部份所述 (4.2.2.3 節)。圖 4.8 為 DNA 分子在沒有經由 electrostatic trapping 製程的情況下，吸附於金電極周圍之 SiO_2 基材上的 AFM 影像圖。由圖中可以明顯的看出，當 DNA 分子吸附於基材上時，部分 DNA 分子會形成 DNA 分子束，並呈現出隨機的分佈，形成了類似網狀的結構。當我們使用 electrostatic trapping 的方式來製作 M-M-M 的結構時，位於金電極周圍的 DNA 分子會呈現出具有方向性的排列方式，且每一條 DNA 分子都有被拉伸 (Stretching) 的現象產生 (圖 4.9)。由先前電化學的循環伏安分析中 (圖 3.13)，我們可以得知，不論是 native DNA 或 Ni-DNA，其磷酸骨幹上都帶有負電荷。當這些 DNA 分子位於一直流電場的作用力之下時，即產生電泳，帶負電的 λ -DNA 或 Ni-DNA 會朝著電場中正極的方向移動。線性的 DNA 分子則沿著電力線 (Electric field line) 向正極的金電極移動，並因電場的影響之下而被拉直[119,120]，即如圖 4.9 中 AFM 掃描的結果。由此也可得知，部份的 DNA 分子則會完全的吸附於金電極上，甚至架於兩金電極的間隙上形成 M-M-M 的結構。為了確定此結構是否形成，我們以銀離子交換法將 DNA 分子置換成銀導線 (如 4.2.2.6 中所述)，以便於掃描式電子顯微鏡 (SEM) 下觀察。圖 4.10 為 DNA 分子經由銀離子置換反應後之 SEM 影像圖，由圖中可以看到在金電極的表面上聚集了許多的銀顆粒，這表示在金電極上有許多的 DNA 分子吸附於其表面上。除此之外，在兩個金電極間隙處也發現有銀線架於金電極上，因此我們可以得知 DNA 分子經由 electrostatic trapping 的步驟後，可以有效的將 DNA 分子架橋 (Bridging) 於兩個金電極的間隙上，而形成 M-M-M 的結構。

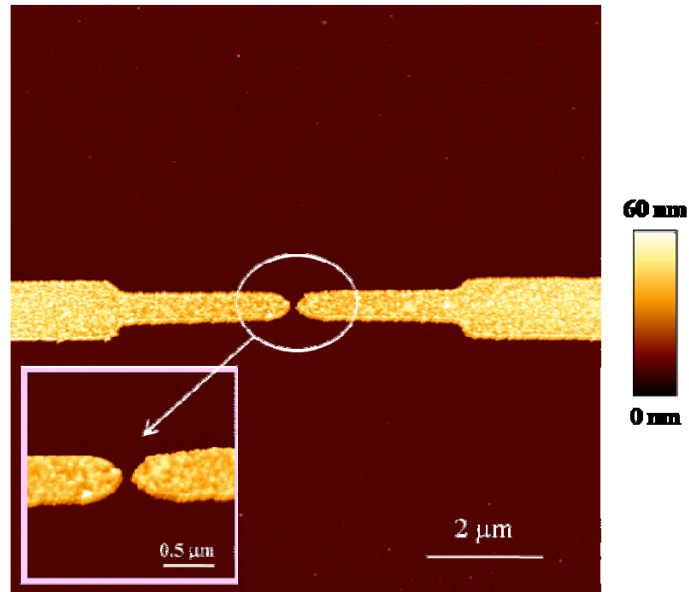


圖 4.7 金電極之 AFM 影像圖，金電極間間隙約為 100 nm

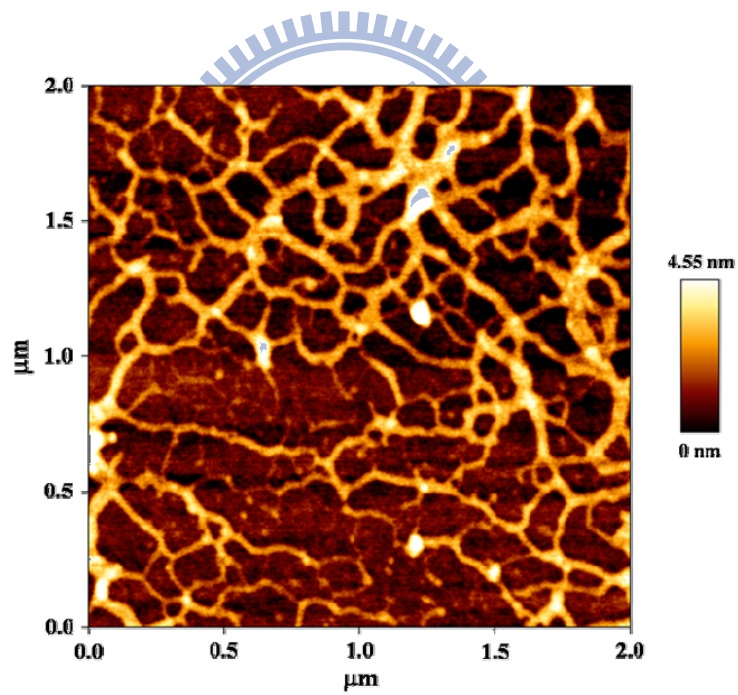


圖 4.8 未經由 electrostatic trapping 之 DNA 分子於 SiO_2 基材上的 AFM 影像圖，DNA 分子呈現出隨機，網狀的分佈

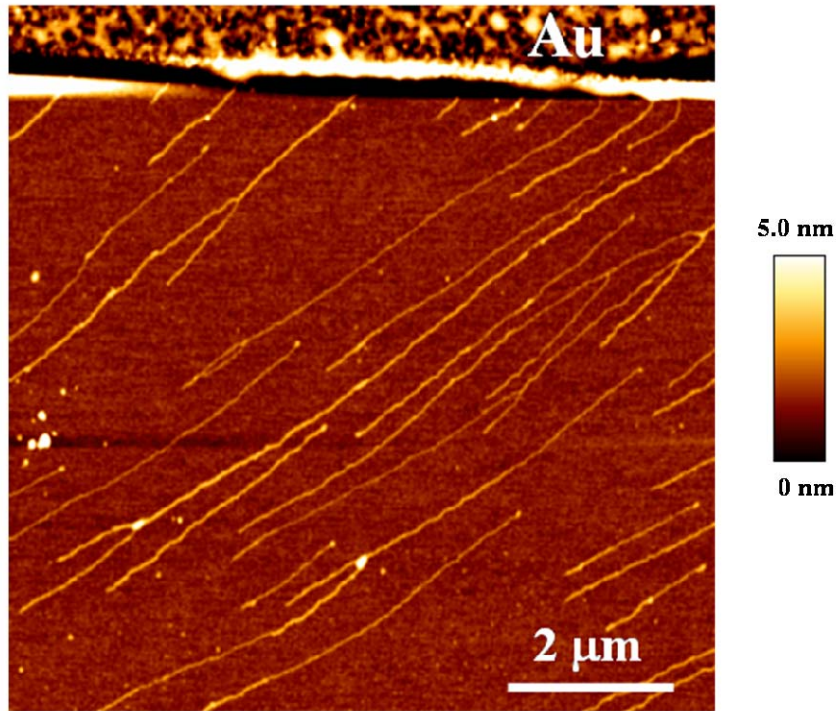


圖 4.9 經由 electrostatic trapping 之 DNA 分子於 SiO_2 基材上的 AFM 影像圖，DNA 分子呈現出具有方向性的排列

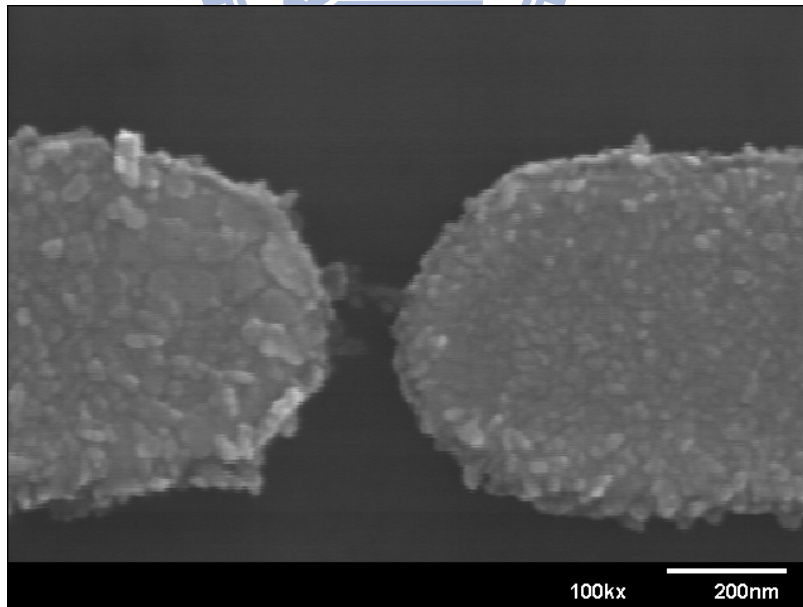


圖 4.10 DNA 分子經由銀離子置換反應後之 SEM 影像圖

4.3.3 DNA 分子元件之電性量測

當 DNA 分子元件製作完成後，我們以 HP 4156A 來進行 λ -DNA 與 Ni-DNA 的電性量測，觀察其電壓與電流之間的變化關係。

4.3.3.1 鹽類殘留對電性的影響

λ -DNA 與 Ni-DNA 樣品一般而言都保存於緩衝液中，在 DNA 分子元件製作過程中，緩衝液中的鹽類會殘留於元件上，而鹽類的殘留則有可能會影響電性量測的結果。為了釐清此點，我們做了一組空白實驗，分別將經由透析後及透析前的 Tris-HCl 緩衝液滴於金電極上，並以氮氣槍吹乾，最後再量測其電性，如圖 4.11 所示。沒有經過透析的緩衝液在吹乾後會有鹽類殘留於基材上，而透析後的緩衝液則沒有明顯的鹽類殘留。由電性上可以清楚地看到，沒有經過透析步驟的樣品，電流值會隨著電壓的增加而增加。相反的，經由透析後的樣品則沒有明顯的電流變化，其電流的大小與空白電極所量測到的基準電流 (Baseline) 相差無幾 (圖 4.11 中之插圖)。由此可知，殘留的鹽類會對元件的電性造成影響。當緩衝液中的鹽類析出並吸附於基材上時，可能會於兩電極之間的間隙形成鹽橋，如圖 4.12 所示。這些析出的鹽類受到大氣中水氣，及溼度的影響而產生潮解的現象，因此當我們施加一偏壓時，鹽類中的離子則會發生移動而產生電流。圖中可以發現，在較高電壓處電流-電壓曲線有雜訊的產生，這些雜訊可能是由於鹽類中，一些離子或化合物產生氧化還原反應所造成的。在實驗中為了防止鹽類殘留對元件的電性產生影響，在元件製作之前，所使用的 DNA 溶液都會經由透析步驟的處理，以去處多於的鹽類及金屬離子。

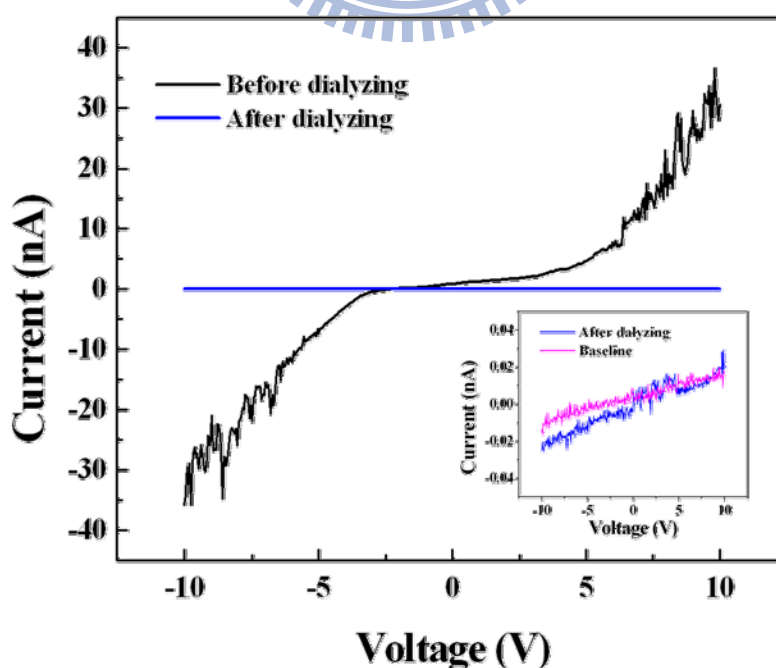


圖 4.11 緩衝液透析前與透析後對電性的影響

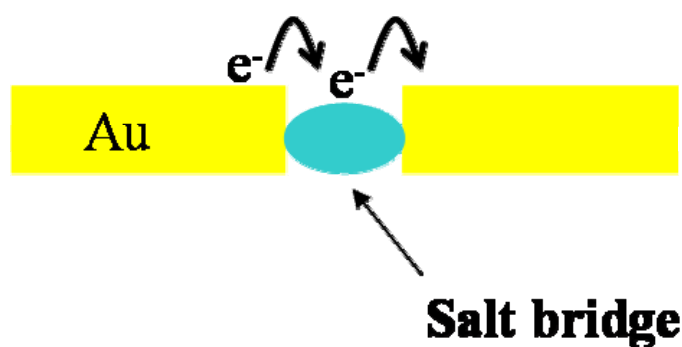


圖 4.12 鹽橋形成及電子傳輸示意圖

4.3.3.2 λ -DNA 與 Ni-DNA 之電性量測

當我們施加偏壓 ($-10\text{ V} \sim 10\text{ V}$) 於 λ -DNA 或 Ni-DNA 所組成的分子元件 (M-M-M) 時，如圖 4.13 所示，可以發現兩種不同 DNA 分子元件表現出截然不同的電子特性。在 λ -DNA 元件上，其電流與電壓的關係上呈現出非線性的曲線，並且於低電壓處為一平緩曲線 (Plateau curve) (圖 4.13 中的插圖)，在這平緩曲線的範圍內，電流並不會隨著電壓的增加而增加，直到所施加的偏壓到達某電壓值後，電流才開始有明顯增加的趨勢。此現象就類似於半導體材料中，電流與電壓的關係曲線。由圖中可以明顯的看出，此類似於半導體特性的能隙 (Energy gap) 大小約為 3eV 。而相似的結果也曾被發表過[21]，也因此許多的研究團隊將 native DNA 的導電特性歸類為半導體[20,23,38]。此能隙的產生，主要來自於 λ -DNA 分子與金電極接合處之間的接觸能障 (Contact barrier)。當所施加的偏壓到達臨界值時 (起始電壓，Threshold voltage)，電子 (或電洞) 將會藉由穿隧效應，由金電極穿隧過接觸能障而注入 (Inject) λ -DNA，並經由 λ -DNA 作電子 (電洞) 的傳輸[38]。當我們以 Ni-DNA 取代 λ -DNA 之後，在同樣的偏壓範圍內，所量測到電流則大於在 λ -DNA 元件所量測的電流值，並且於低電壓處沒有類似半導體能隙的現象產生，在整個掃描範圍內，電流隨著電壓的增加而增加，電子 (電洞) 於傳輸的過程中並沒有受到接觸能障的影響，使得 Ni-DNA 分子與金電極之間形成類似於歐姆式接觸 (Ohmic contact)。因此我們推測，參雜在 Ni-DNA 中的二價鎳離子 (其電子組態為 $[\text{Ar}](3\text{d})^8$)，其外層的 d 電子軌域能階可能與金電極的費米能階 (Fermi level) 形成界面能階校準 (Alignment)，因此電子 (電洞) 可以由電極注入 Ni-DNA 而不需要施加一起始電壓[38]。此結果與之前文獻中對於 Zn-DNA 的電性研判相似[38]。如同前面章節所述，native DNA 的導電度因鎳離子的參雜而有顯著的改善，除此之外，更令人感到興趣的是，Ni-DNA 元件還表現出了負微分電阻 (NDR) 的電子特性，如圖 4.13 所示。

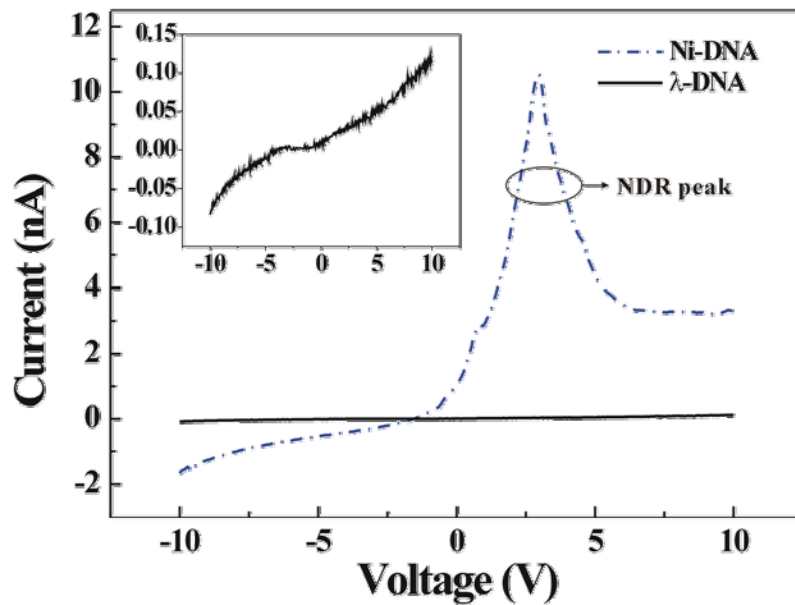


圖 4.13 λ -DNA 或 Ni-DNA 之電流-電壓曲線關係

4.3.3.3 Ni-DNA 分子元件之負微分電阻特性

圖 4.14 為 Ni-DNA 分子元件於室溫中連續正偏壓 (0 V \rightarrow 10 V) 掃描的電流-電壓曲線圖，由圖中可以發現當第一次掃描的時候，在電壓值約為 3.50 V 時有一負微分電阻峰 (NDR peak) 的形成，其峰值及谷值的電流比 (PVCR) 約為 1.78。但於隨後相同電壓範圍，以及同一方向掃描的過程中，此 Ni-DNA 分子元件的負微分電阻特性不再發生。然而當我們再以反方向做一連續負偏壓 (0 V \rightarrow -10 V) 的掃描時，同樣的也只有第一次的掃描過程中，在電壓值約為 -4.70 V 的位置上，發現了 PVCR 約為 6.21 的負微分電阻峰的形成，如圖 4.15 所示。值得注意的是，當於負偏壓的負微分電阻峰形成後，我們再作一次正偏壓的掃描時，位於正偏壓處的負微分電阻峰也會再一次的產生。因此當我們作一電壓的循環掃描時 (-10 V \rightarrow 10 V \rightarrow -10 V)，可以同時在正、負電壓處各發現到一負微分電阻峰的形成，如圖 4.16 所示。從圖上的電流-電壓曲線上可知，除了有可再現性的負微分電阻特性外，還發現到有磁滯的現象 (Hysteresis)。此現象主要是因為電荷在 Ni-DNA 的傳輸過程中，被捕陷 (Trapping) 所造成的結果[121]。這些具有再現性的電流-電壓曲線就類似於電化學分析中，循環伏安法所呈現出的可逆氧化還原反應之圖譜[122]，其差別則在於反應系統的不同。因此我們可以將 DNA 分子元件視為一固態環境下的電化學系統，元件上兩個金電極為系統中的陽極以及陰極，DNA 分子上的磷酸骨幹為介電層，而參雜入 DNA 分子中的二價鎳離子為 electro probes。在循環電壓掃描的過程中，當所施加的電壓接近鎳離子的氧化還原電位時，鎳離子就會產生氧化還原反應。在正電壓處出現的負微分電阻峰為

鎳離子的氧化峰 ($\text{Ni}^{2+} \rightarrow \text{Ni}^{3+}$)，而在負電壓處的負微分電阻峰則為鎳離子的還原峰 ($\text{Ni}^{3+} \rightarrow \text{Ni}^{2+}$)[7]。因此在 Ni-DNA 分子元件中，形成 NDR 特性的機制，主要來自於鎳離子的氧化還原反應。由先前的研究也可得知，Ni-DNA 可以做電荷的傳輸，因此在電壓的掃描過程中，鎳離子具穩定的氧化還原反應，相對的在循環電位掃描時，電流-電壓曲線會有一穩定的 NDR 特性的產生，如圖 4.16 所示。經過五次的連續循環電位掃描後，其電流-電壓曲線幾乎沒有明顯的變化。

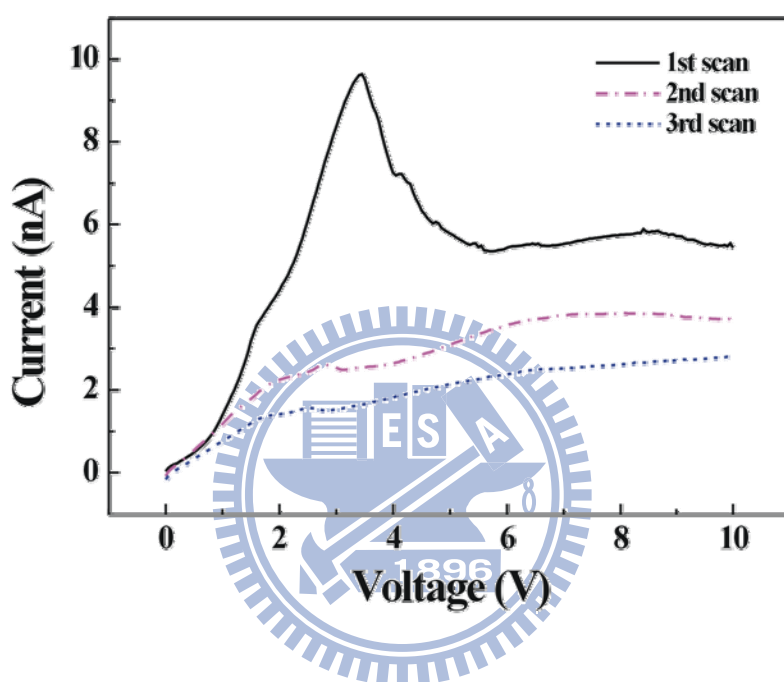


圖 4.14 Ni-DNA 於正偏壓連續掃描之電流-電壓曲線圖 (0 V → 10 V)

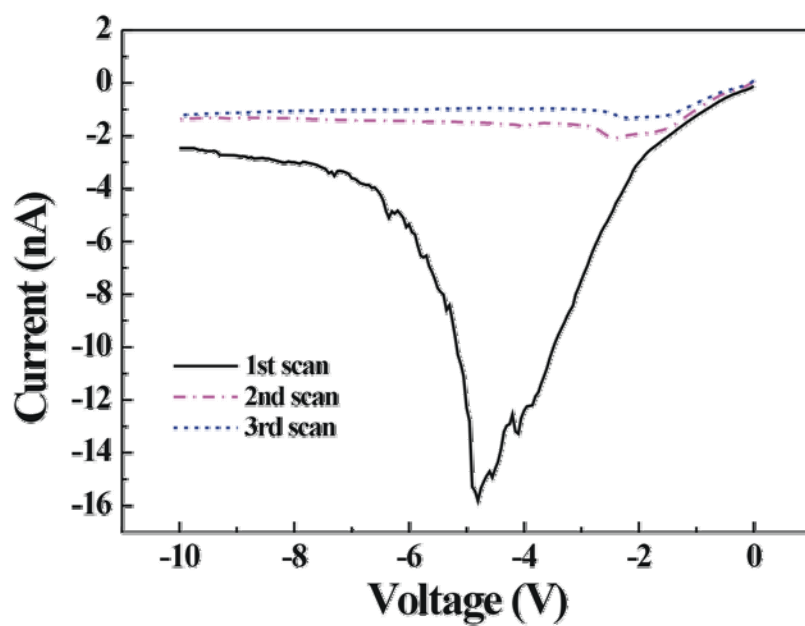


圖 4.15 Ni-DNA 於負偏壓連續掃描之電流-電壓曲線圖 (0 V → -10 V)

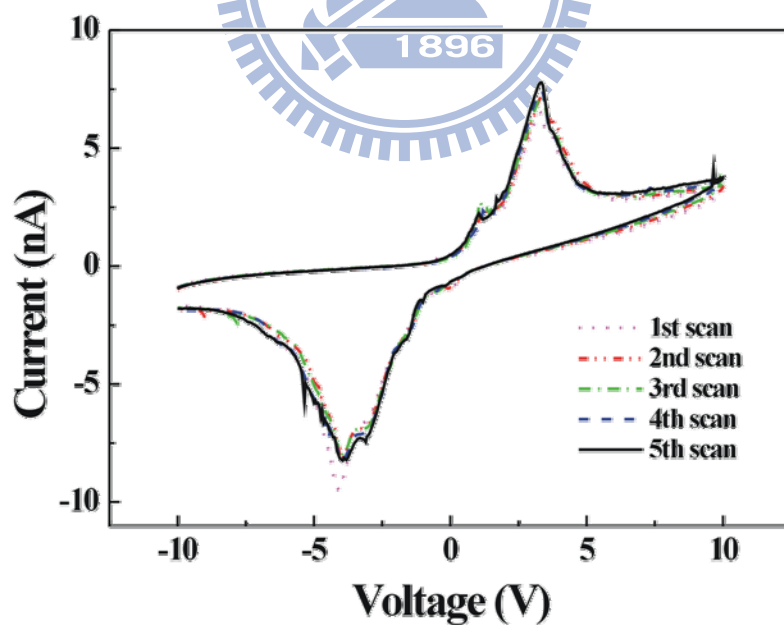


圖 4.16 Ni-DNA 連續循環電位掃描之電流-電壓曲線圖 (-10 V → 10 V → -10 V)

4.3.3.4 不同掃描速率對負微分電阻的影響

實驗中我們以不同的掃描速率做循環電位掃描，觀測其負微分電阻峰的變化，如圖 4.17 所示。由圖中可以看到，隨著掃描速率的增加，NDR 峰電流值也跟著增加，此現象類似於典型電化學系統中，氧化還原反應的特徵。在 Ni-DNA 分子元件中，隨著掃描速率的增加，鎳離子的氧化還原反應速率也隨之增加，因此表現出較高的氧化還原電流，即負微分電阻峰電流值的增加。在 Ni-DNA 分子元件的循環電流-電壓曲線上，我們還發現到，在正負偏壓處的電流-電壓曲線並不對稱，且隨著掃描速率的增加，負微分電阻峰的位置也有一些位移的現象產生。由此可知，在 Ni-DNA 分子元件中，鎳離子的氧化還原反應是一種近可逆的反應 (Quasi-reversible reaction)，而此近可逆反應的產生主要來自於在循環電位掃描時，電荷傳輸速率的不同所導致的。由文獻中可知[123]，DNA 分子之構形的改變會造成電荷傳輸速率的變化，因此我們推測在循環電位掃描時，帶負電荷的 Ni-DNA 分子之構形可能產生了變化，使得電荷於 Ni-DNA 中的傳輸速率有所不同，而造成鎳離子的近可逆氧化還原反應。可能造成 Ni-DNA 構形改變的因素有：一. Ni-DNA 帶負電荷的磷酸骨幹，因循環電位掃描時所施加偏壓的影響，而產生的構形變化、二. 參雜在 Ni-DNA 分子中的鎳離子，在電性量測過程中，因氧化還原反應，使得鹼基對間的二價鎳離子與三價鎳離子來回轉換，造成對 Ni-DNA 之構形的影響。

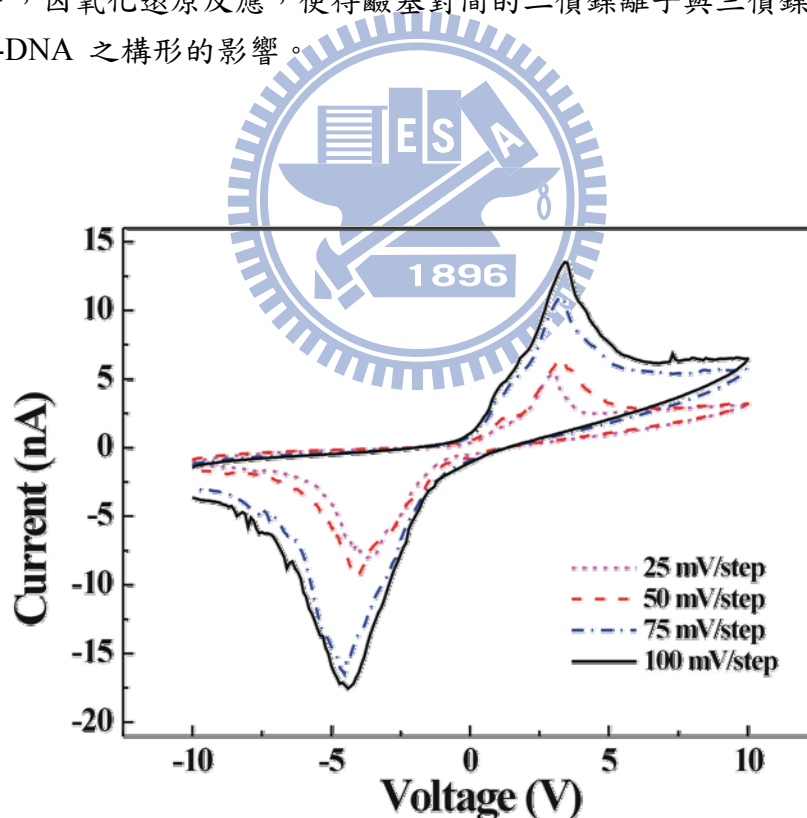


圖 4.17 Ni-DNA 於不同電位循環掃描速率之電流-電壓曲線圖

4.4 結論

我們利用 electrostatic trapping 的方式，成功的將 λ -DNA 或 Ni-DNA 架於兩

金電極上，形成 Metal-Molecules-Metal (M-M-M) 的結構。並針對這兩種元件進行電性的分析，由電性量測的結果可知， λ -DNA 分子與金電極之間的界面會形成接觸能障 (Contact barrier)，使得 λ -DNA 分子元件的特性就類似於半導體的電子特性。電荷於 λ -DNA 分子中，可以藉由鹼基對間的堆疊而做傳輸。在 Ni-DNA 分子元件中，其導電度不但比 λ -DNA 來得好外，Ni-DNA 與金電極之間的接觸也形成了歐姆式接觸 (Ohmic contact)。除此之外，參雜在 Ni-DNA 中的鎳離子就像是氧化還原中心，Ni-DNA 分子元件藉由鎳離子的氧化還原反應，可以在室溫、常壓中表現出穩定並具有再現性的負微分電阻特性。再者，在本實驗中我們所量測到的負微分電阻特性，其峰值及谷值的電流比 (PVCR) 約為 6.0。以上的實驗結果，一再的證明了 Ni-DNA 分子元件，於未來的奈米電子元件上極具應用潛力。



第五章 總結

DNA 分子對於生物科技以及奈米科技上的應用，一直以來都是許多研究團隊注意的焦點。然而不管是在 DNA 生物感測器或是電子元件上，都存在許多的問題等著我們去克服，DNA 的電傳導性質就是其中之一。在本研究中，我們以二價的鎳離子於鹼性 ($\text{pH} \geq 8.5$) 的環境下，參雜入 DNA 分子的鹼基對中以形成 Ni-DNA。藉由電性的量測以及電化學的分析，證實了鎳離子的參雜，確實可以有效的改善 DNA 的電導特性。由電化學分析的結果，我們可以得知 DNA 電性的改善，主要是由於鎳離子參雜入具有良好鹼基對堆疊的 DNA 分子後，鎳離子就扮演著電荷傳輸介質的角色。電荷可以藉由電子跳躍 (Electron hopping) 的方式於 Ni-DNA 中做傳輸，並且由實驗可知，鹼基對的堆疊對於電荷的傳輸有著顯著的影響。當 Ni-DNA 序列中有鹼基對錯誤配對時，其電阻將會有明顯增加的現象。利用此特性，我們將 Ni-DNA 導入至生物感測器上的應用，配合電化學的分析技術，可以有效的對 DNA 序列中，是否有鹼基對的錯誤配對做檢測，並對於單一核苷酸多型性(single nucleotide polymorphisms; SNPs) 的檢測提供了一個新的方向。

Ni-DNA 除了可以應用於生物感測器外，在分子元件上的應用也有著的表現。在實驗中，我們將 Ni-DNA 架於兩個金電極之間，形成 Metal-Molecules-Metal (M-M-M) 接合結構，並量測其電性。由電性上可以發現 Ni-DNA 分子元件在室溫、常壓下，就具有可再現性且穩定的 NDR 特性。而造成 NDR 特性的原因，主要是由於參雜在 Ni-DNA 中之鎳離子的氧化還原反應所誘發的。此獨特的電子特性，將使得 Ni-DNA 於奈米電子元件上更具發展潛力。

參考文獻

- [1] M. A. Reed, and T. Lee, *Molecular Nanoelectronics*, American Scientific Publishers California, USA, 2003.
- [2] S. Golka, C. Pflugl, W. Schrenk, G. Strasser, C. Skierbiszewski, M. Siekacz, I. Grzegory, and S. Porowski, Negative differential resistance in dislocation-free GaN/AlGaIn double-barrier diodes grown on bulk GaN. *Appl. Phys. Lett.* **88** (2006) 172106.
- [3] J. D. Le, Y. He, T. R. Hoye, C. C. Mead, and R. A. Kiehl, Negative differential resistance in a bilayer molecular junction. *Appl. Phys. Lett.* **83** (2003) 5518.
- [4] H. Park, A. K. L. Lim, A. P. Alivisatos, J. Park, and P. L. McEuen, Fabrication of metallic electrodes with nanometer separation by electromigration. *Appl. Phys. Lett.* **75** (1999) 301.
- [5] J. He, and S. M. Lindsay, On the Mechanism of Negative Differential Resistance in Ferrocenylundecanethiol Self-Assembled Monolayers. *J. Am. Chem. Soc.* **127** (2005) 11932.
- [6] Y. Selzer, M. A. Cabassi, T. S. Mayer, and D. L. Allara, Thermally Activated Conduction in Molecular Junctions. *J. Am. Chem. Soc.* **126** (2004) 4052.
- [7] Q. Tang, H. K. Moon, Y. Lee, S. M. Yoon, H. J. Song, H. Lim, and H. C. Choi, Redox-Mediated Negative Differential Resistance Behavior from Metalloproteins Connected through Carbon Nanotube Nanogap Electrodes. *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 11018.
- [8] R. E. Holmlin, R. Haag, M. L. Chabinyc, R. F. Ismagilov, A. E. Cohen, A. Terfort, M. A. Rampi, and G. M. Whitesides, Electron Transport through Thin Organic Films in Metal-Insulator-Metal Junctions Based on Self-Assembled Monolayers. *J. Am. Chem. Soc.* **123** (2001) 5075.
- [9] W. Liang, M. P. Shores, M. Bockrath, J. R. Long, and H. Park, Kondo resonance in a single-molecule transistor. *Nature* **417** (2002) 725.
- [10] H. Park, J. Park, A. K. L. Lim, E. H. Anderson, A. P. Alivisatos, and P. L. McEuen, Nanomechanical oscillations in a single-C60 transistor. *Nature* **407** (2000) 57.
- [11] J. Park, A. N. Pasupathy, J. I. Goldsmith, C. Chang, Y. Yaish, J. R. Petta, M. Rinkoski, J. P. Sethna, H. D. Abruna, P. L. McEuen, and D. C. Ralph, Coulomb blockade and the Kondo effect in single-atom transistors. *Nature* **417** (2002) 722.
- [12] J. Chen, M. A. Reed, A. M. Rawlett, and J. M. Tour, Large On-Off Ratios and Negative Differential Resistance in a Molecular Electronic Device. *Science* **286** (1999) 1550.
- [13] S. J. Wind, J. Appenzeller, and P. Avouris, Lateral Scaling in Carbon-Nanotube Field-Effect Transistors. *Phys. Rev. Lett.* **91** (2003) 058301.

- [14] S. Kubatkin, A. Danilov, M. Hjort, J. Cornil, J.-L. Bredas, N. Stuhr-Hansen, P. Hedegard, and T. Bjornholm, Single-electron transistor of a single organic molecule with access to several redox states. *Nature* **425** (2003) 698.
- [15] N. C. Seeman, DNA in a material world. *Nature* **421** (2003) 427.
- [16] K. Keren, R. S. Berman, E. Buchstab, U. Sivan, and E. Braun, DNA-Templated Carbon Nanotube Field-Effect Transistor. *Science* **302** (2003) 1380.
- [17] A. J. Storm, J. van Noort, S. de Vries, and C. Dekker, Insulating behavior for DNA molecules between nanoelectrodes at the 100 nm length scale. *Appl. Phys. Lett.* **79** (2001) 3881.
- [18] E. Braun, Y. Eichen, U. Sivan, and G. Ben-Yoseph, DNA-templated assembly and electrode attachment of a conducting silver wire. *Nature* **391** (1998) 775.
- [19] P. J. de Pablo, F. Moreno-Herrero, J. Colchero, J. Gómez Herrero, P. Herrero, A. M. Baró, P. Ordejón, J. M. Soler, and E. Artacho, Absence of dc-Conductivity in lambda-DNA. *Phys. Rev. Lett.* **85** (2000) 4992.
- [20] L. Cai, H. Tabata, and T. Kawai, Self-assembled DNA networks and their electrical conductivity. *Appl. Phys. Lett.* **77** (2000) 3105.
- [21] D. Porath, A. Bezryadin, S. de Vries, and C. Dekker, Direct measurement of electrical transport through DNA molecules. *Nature* **403** (2000) 635.
- [22] T. Shigematsu, K. Shimotani, C. Manabe, H. Watanabe, and M. Shimizu, Transport properties of carrier-injected DNA. *The Journal of Chemical Physics* **118** (2003) 4245.
- [23] H.-W. Fink, and C. Schonberger, Electrical conduction through DNA molecules. *Nature* **398** (1999) 407.
- [24] A. Y. Kasumov, M. Kociak, S. Gueron, B. Reulet, V. T. Volkov, D. V. Klinov, and H. Bouchiat, Proximity-Induced Superconductivity in DNA. *Science* **291** (2001) 280.
- [25] J. S. Lee, L. J. P. Latimer, and R. S. Reid, A cooperative conformational change in duplex DNA induced by Zn²⁺ and other divalent metal ions. *Biochem. Cell Biol.* **71** (1993) 162.
- [26] Y. T. Long, C. Z. Li, H. B. Kraatz, and J. S. Lee, AC Impedance Spectroscopy of Native DNA and M-DNA. *Biophys. J.* **84** (2003) 3218.
- [27] C. Z. Li, Y. T. Long, H. B. Kraatz, and J. S. Lee, Electrochemical Investigations of M-DNA Self-Assembled Monolayers on Gold Electrodes. *J. Phys. Chem. B* **107** (2003) 2291.
- [28] P. Aich, S. L. Labiuk, L. W. Tari, L. J. T. Delbaere, W. J. Roesler, K. J. Falk, R. P. Steer, and J. S. Lee, M-DNA: a complex between divalent metal ions and DNA which behaves as a molecular wire. *J. Mol. Biol.* **294** (1999) 477.
- [29] D. O. Wood, M. J. Dinsmore, G. A. Bare, and J. S. Lee, M-DNA is stabilised in G*C

- tracts or by incorporation of 5-fluorouracil. *Nucl. Acids Res.* **30** (2002) 2244.
- [30] W. M. Becker, L. J. Kleinsmith, and J. Hardin, *The World of the Cell* The Benjamin/cummings publishing Company, San Francisco, 2006.
- [31] J. D. Watson, and F. H. C. Crck, Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* **171** (1953) 2.
- [32] W. K. Purves, G. H. Orians, and H. C. Heller, *Life: The Science of Biology*, Sinauer Associates, 2001.
- [33] D. D. Eley, and D. I. Spivey, Semiconductivity of organic substances. Part 9.—Nucleic acid in the dry state. *Transactions of the Faraday Society* **58** (1962) 5.
- [34] R. G. Endres, D. L. Cox, and R. R. P. Singh, Colloquium: The quest for high-conductance DNA. *Reviews of Modern Physics* **76** (2004) 195.
- [35] P. Carpena, P. Bernaola-Galvan, P. C. Ivanov, and H. E. Stanley, Metal-insulator transition in chains with correlated disorder. *Nature* **418** (2002) 955.
- [36] D. S. Wiersma, P. Bartolini, A. Lagendijk, and R. Righini, Localization of light in a disordered medium. *Nature* **390** (1997) 671.
- [37] P. W. Anderson, Absence of Diffusion in Certain Random Lattices. *Phys. Rev.* **109** (1958) 1492.
- [38] A. Rakitin, P. Aich, C. Papadopoulos, Y. Kobzar, A. S. Vedeneev, J. S. Lee, and J. M. Xu, Metallic Conduction through Engineered DNA: DNA Nanoelectronic Building Blocks. *Phys. Rev. Lett.* **86** (2001) 3670.
- [39] Y. Zhang, R. H. Austin, J. Kraeft, E. C. Cox, and N. P. Ong, Insulating Behavior of lambda -DNA on the Micron Scale. *Phys. Rev. Lett.* **89** (2002) 198102.
- [40] D. B. Hall, R. E. Holmlin, and J. K. Barton, Oxidative DNA damage through long-range electron transfer. *Nature* **382** (1996) 731.
- [41] D. B. Hall, S. O. Kelley, and J. K. Barton, Long-Range and Short-Range Oxidative Damage to DNA: Photoinduced Damage to Guanines in Ethidium-DNA Assemblies. *Biochemistry* **37** (1998) 15933.
- [42] J. Jortner, M. Bixon, T. Langenbacher, and M. E. Michel-Beyerle, Charge transfer and transport in DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **95** (1998) 12759.
- [43] M. Bixon, B. Giese, S. Wessely, T. Langenbacher, M. E. Michel-Beyerle, and J. Jortner, Long-range charge hopping in DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **96** (1999) 11713.
- [44] M. E. Núñez, D. B. Hall, and J. K. Barton, Long-range oxidative damage to DNA: Effects of distance and sequence. *Chem. Biol.* **6** (1999) 85.
- [45] T. T. Williams, D. T. Odom, and J. K. Barton, Variations in DNA Charge Transport with Nucleotide Composition and Sequence. *J. Am. Chem. Soc.* **122** (2000) 9048.

- [46] B. Giese, J. Amaudrut, A.-K. Kohler, M. Spormann, and S. Wessely, Direct observation of hole transfer through DNA by hopping between adenine bases and by tunnelling. *Nature* **412** (2001) 318.
- [47] H. A. Wagenknecht, *Charge Transfer in DNA: From Mechanism to Application* Wiley-VCH, 2005.
- [48] A. K. Mahapatro, D. B. Janes, K. J. Jeong, and G. U. Lee, Electrical Behavior of Nano-scale Junctions with Well Engineered Double Stranded DNA Molecules, *Nanotechnology*, 2006. IEEE-NANO 2006. Sixth IEEE Conference on, 2006, pp. 66.
- [49] J. Wang, Electrical conductivity of double stranded DNA measured with ac impedance spectroscopy. *Physical Review B (Condensed Matter and Materials Physics)* **78** (2008) 245304.
- [50] X. Guo, A. A. Gorodetsky, J. Hone, J. K. Barton, and C. Nuckolls, Conductivity of a single DNA duplex bridging a carbon nanotube gap. *Nat Nano* **3** (2008) 163.
- [51] B. Hartzell, B. McCord, D. Asare, H. Chen, J. J. Heremans, and V. Soghomonian, Comparative current--voltage characteristics of nicked and repaired lambda-DNA. *Appl. Phys. Lett.* **82** (2003) 4800.
- [52] S. M. Iqbal, G. Balasundaram, S. Ghosh, D. E. Bergstrom, and R. Bashir, Direct current electrical characterization of ds-DNA in nanogap junctions. *Appl. Phys. Lett.* **86** (2005) 153901.
- [53] Xu, Zhang, Li, and Tao, Direct Conductance Measurement of Single DNA Molecules in Aqueous Solution. *Nano Lett.* **4** (2004) 1105.
- [54] E. Shafir, H. Cohen, A. Calzolari, C. Cavazzoni, D. A. Ryndyk, G. Cuniberti, A. Kotlyar, R. Di Felice, and D. Porath, Electronic structure of single DNA molecules resolved by transverse scanning tunnelling spectroscopy. *Nat Mater* **7** (2008) 68.
- [55] P. Aich, H. B. Kraatz, and J. S. Lee, M-DNA: pH Stability, Nuclease Resistance and Signal Transmission. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **11** (2000) 5.
- [56] S. D. Wettig, G. A. Bare, R. J. S. Skinner, and J. S. Lee, Signal Transduction through Dye-Labeled M-DNA Y-Branched Junctions: Switching Modulated by Chemical Reduction of Anthraquinone. *Nano Lett.* **3** (2003) 617.
- [57] P. Aich, R. J. S. Skinner, S. D. Wettig, R. P. Steer, and J. S. Lee, Long Range Molecular Wire Behaviour in a Metal Complex of DNA. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* **20** (2002) 6.
- [58] S. S. Alexandre, J. M. Soler, L. Seijo, and F. Zamora, Geometry and electronic structure of M-DNA ($M = \text{Zn}^{2+}$, Co^{2+} , and Fe^{2+}). *Physical Review B (Condensed Matter)* **73** (2006) 205112.

- [59] G. M. Whitesides, and B. Grzybowski, Self-Assembly at All Scales. *Science* **295** (2002) 2418.
- [60] S. Jakubith, H. H. Rotermund, W. Engel, A. von Oertzen, and G. Ertl, Spatiotemporal concentration patterns in a surface reaction: Propagating and standing waves, rotating spirals, and turbulence. *Phys. Rev. Lett.* **65** (1990) 3013.
- [61] J. Aizenberg, A. J. Black, and G. M. Whitesides, Control of crystal nucleation by patterned self-assembled monolayers. *Nature* **398** (1999) 495.
- [62] A. Kumar, N. L. Abbott, H. A. Biebuyck, E. Kim, and G. M. Whitesides, Patterned Self-Assembled Monolayers and Meso-Scale Phenomena. *Acc. Chem. Res.* **28** (1995) 219.
- [63] P. E. Laibinis, G. M. Whitesides, D. L. Allara, Y. T. Tao, A. N. Parikh, and R. G. Nuzzo, Comparison of the structures and wetting properties of self-assembled monolayers of n-alkanethiols on the coinage metal surfaces, copper, silver, and gold. *J. Am. Chem. Soc.* **113** (1991) 7152.
- [64] A. Ulman, Formation and Structure of Self-Assembled Monolayers. *Chem. Rev.* **96** (1996) 1533.
- [65] F. Schreiber, Structure and growth of self-assembling monolayers. *Prog. Surf. Sci.* **65** (2000) 151.
- [66] K. W. Kolasinski, *Surface Science*, John Wiley & Sons Ltd., 2002.
- [67] H. O. Finklea, D. A. Snider, J. Fedyk, E. Sabatani, Y. Gafni, and I. Rubinstein, Characterization of octadecanethiol-coated gold electrodes as microarray electrodes by cyclic voltammetry and ac impedance spectroscopy. *Langmuir* **9** (1993) 3660.
- [68] C. Miller, P. Cuendet, and M. Graetzel, Adsorbed .omega.-hydroxy thiol monolayers on gold electrodes: evidence for electron tunneling to redox species in solution. *J. Phys. Chem.* **95** (1991) 877.
- [69] I. Ruach-Nir, T. A. Bendikov, I. Doron-Mor, Z. Barkay, A. Vaskevich, and I. Rubinstein, Silica-Stabilized Gold Island Films for Transmission Localized Surface Plasmon Sensing. *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 84.
- [70] P. Abad-Valle, M. T. Fernández-Abedul, and A. Costa-García, DNA single-base mismatch study with an electrochemical enzymatic genosensor. *Biosens. Bioelectron.* **22** (2007) 1642.
- [71] T. G. Drummond, M. G. Hill, and J. K. Barton, Electrochemical DNA sensors. *Nat Biotech* **21** (2003) 1192.
- [72] T. Ito, K. Hosokawa, and M. Maeda, Detection of single-base mismatch at distal end of DNA duplex by electrochemical impedance spectroscopy. *Biosens. Bioelectron.* **22** (2007) 1816.
- [73] S. O. Kelley, E. M. Boon, J. K. Barton, N. M. Jackson, and M. G. Hill, Single-base

- mismatch detection based on charge transduction through DNA. *Nucl. Acids Res.* **27** (1999) 4830.
- [74] Y. T. Long, C. Z. Li, T. C. Sutherland, H. B. Kraatz, and J. S. Lee, Electrochemical Detection of Single-Nucleotide Mismatches: Application of M-DNA. *Anal. Chem.* **76** (2004) 4059.
- [75] M. Steichen, Y. Decrem, E. Godfroid, and C. Buess-Herman, Electrochemical DNA hybridization detection using peptide nucleic acids and $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ on gold electrodes. *Biosens. Bioelectron.* **22** (2007) 2237.
- [76] D. A. Skoog, F. J. Holler, and T. A. Nieman, *Principles of Instrumental Analysis* Thomson Learning 1998.
- [77] J. Wolfenstine, and J. Allen, $\text{Ni}^{3+}/\text{Ni}^{2+}$ redox potential in LiNiPO_4 . *J. Power Sources* **142** (2005) 389.
- [78] 鄭華生, 分析化學, 清大出版社, 新竹, 2007.
- [79] Q. J. Chi, J. Zhang, and J. Ulstrup, Surface Microscopic Structure and Electrochemical Rectification of a Branched Alkanethiol Self-Assembled Monolayer. *J. Phys. Chem. B* **110** (2006) 1102.
- [80] J. Heinze, *Cyclic Voltammetry - Electrochemical Spectroscopy. New Analytical Methods (25)*. *Angewandte Chemie International Edition in English* **23** (1984) 831.
- [81] 曹楚南, and 張鑒清, *An introduction to electrochemical impedance spectroscopy*, 科學出版社, 北京, 2002.
- [82] J. E. B. Randles, Kinetics of rapid electrode reactions. *Discussions of the Faraday Society* **1** (1947) 11.
- [83] P. Curie, and J. Curie, Crystal physics: Development by pressure of polar electricity in hemihedral crystals with inclined faces. *C. R. Acad Sci.* **91** (1880).
- [84] 余樹楨, 晶體之結構與性質, 勃海堂文化, 臺北, 1987.
- [85] D. A. Buttry, and M. D. Ward, Measurement of interfacial processes at electrode surfaces with the electrochemical quartz crystal microbalance. *Chem. Rev.* **92** (1992) 1355.
- [86] D. A. Micklos, G. A. Freyer, and D. A. Crotty, *DNA science: a first course*, CSHL Press, New York, 2003.
- [87] T. C. L. G. Sollner, W. D. Goodhue, P. E. Tannenwald, C. D. Parker, and D. D. Peck, Resonant tunneling through quantum wells at frequencies up to 2.5 THz. *Appl. Phys. Lett.* **43** (1983) 588.
- [88] P. C. Jangjian, T. F. Liu, M. Y. Li, M. S. Tsai, and C. C. Chang, Room temperature negative differential resistance in DNA-based molecular devices. *Appl. Phys. Lett.* **94** (2009) 043105.
- [89] S. Nokhrin, M. Baru, and J. S. Lee, A field-effect transistor from M-DNA.

- Nanotechnology **18** (2007) 095205.
- [90] J. Kang, L. Zhuo, X. Lu, and X. Wang, Electrochemical behavior of dopamine at a quercetin-SAM-modified gold electrode and analytical application. *J. Solid State Electrochem.* **9** (2005) 114.
- [91] C. Shengli, W. Bingliang, and Z. Hong, An EQCM study of the electrochemical behaviors of polycrystalline gold electrode in sulfuric acid solution. *Wuhan Univ. J. Nat. Sci.* **3** (1998) 102.
- [92] R. P. Janek, W. R. Fawcett, and A. Ulman, Impedance Spectroscopy of Self-Assembled Monolayers on Au(111): Sodium Ferrocyanide Charge Transfer at Modified Electrodes. *Langmuir* **14** (1998) 3011.
- [93] F. M. Herrero, P. Herrero, F. Moreno, J. Colchero, C. G. Navarro, J. G. Herrero, and A. M. Baró, Topographic characterization and electrostatic response of M-DNA studied by atomic force microscopy. *Nanotechnology* **14** (2003) 128.
- [94] A. D. Bokare, R. C. Chikate, C. V. Rode, and K. M. Paknikar, Iron-nickel bimetallic nanoparticles for reductive degradation of azo dye Orange G in aqueous solution. *Applied Catalysis B: Environmental* **79** (2008) 270.
- [95] M. R. Vilar, A. M. Botelho do Rego, A. M. Ferraria, Y. Jugnet, C. Nogue?s, D. Peled, and R. Naaman, Interaction of Self-Assembled Monolayers of DNA with Electrons: HREELS and XPS Studies. *The Journal of Physical Chemistry B* **112** (2008) 6957.
- [96] S. A. Krasnikov, N. N. Sergeeva, M. M. Brzhezinskaya, A. B. Preobrajenski, Y. N. Sergeeva, N. A. Vinogradov, A. A. Cafolla, M. O. Senge, and A. S. Vinogradov, An x-ray absorption and photoemission study of the electronic structure of Ni porphyrins and Ni N-confused porphyrin. *J. Phys.: Condens. Matter* **20** (2008) 235207.
- [97] E. L. J. M. S. C. A. P. M. A. Galtayries, XPS study of the adsorption of NH₃ on nickel oxide on Ni(111). *Surf. Interface Anal.* **30** (2000) 140.
- [98] A. W. Peterson, R. J. Heaton, and R. M. Georgiadis, The effect of surface probe density on DNA hybridization. *Nucleic Acids Res.* **29** (2001) 5163.
- [99] M. Yang, H. C. M. Yau, and H. L. Chan, Adsorption Kinetics and Ligand-Binding Properties of Thiol-Modified Double-Stranded DNA on a Gold Surface. *Langmuir* **14** (1998) 6121.
- [100] R. J. S. Skinner, J. S. Lee, Y. F. Hu, D. T. Jiang, P. Aich, S. Wettig, J. Maley, and R. Sammynaiken, Local Structure of M-DNA at the Nitrogen K-edge: Evidence Towards a Metal Ion Induced Conduction Band in DNA. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* **5** (2005) 1557.
- [101] J. G. Duguid, V. A. Bloomfield, J. M. Benevides, and G. J. Thomas, Raman spectroscopy of DNA-metal complexes. II. The thermal denaturation of DNA in the

- presence of Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , and Cd^{2+} . **69** (1995) 2623.
- [102] S. Roy, H. Vedala, A. D. Roy, D. h. Kim, M. Doud, K. Mathee, H. k. Shin, N. Shimamoto, V. Prasad, and W. Choi, Direct Electrical Measurements on Single-Molecule Genomic DNA Using Single-Walled Carbon Nanotubes. *Nano Lett.* **8** (2008) 26.
- [103] R. L. McCreery, Molecular Electronic Junctions. *Chem. Mater.* **16** (2004) 4477.
- [104] S. O. Kelley, and J. K. Barton, Electron Transfer Between Bases in Double Helical DNA. *Science* **283** (1999) 375.
- [105] S. O. Kelley, R. E. Holmlin, E. D. A. Stemp, and J. K. Barton, Photoinduced Electron Transfer in Ethidium-Modified DNA Duplexes: Dependence on Distance and Base Stacking. *J. Am. Chem. Soc.* **119** (1997) 9861.
- [106] A. Charrier, N. Candoni, N. Liachenko, and F. Thibaudau, 2D aggregation and selective desorption of nanoparticle probes: A new method to probe DNA mismatches and damages. *Biosens. Bioelectron.* **22** (2007) 1881.
- [107] X. Su, R. Robelek, Y. Wu, G. Wang, and W. Knoll, Detection of Point Mutation and Insertion Mutations in DNA Using a Quartz Crystal Microbalance and MutS, a Mismatch Binding Protein. *Anal. Chem.* **76** (2004) 489.
- [108] S. Pan, X. Sun, and J. K. Lee, Stability of complementary and mismatched DNA duplexes: Comparison and contrast in gas versus solution phases. *Int. J. Mass spectrom.* **253** (2006) 238.
- [109] H. T. Allawi, and J. SantaLucia, Jr., NMR solution structure of a DNA dodecamer containing single G*T mismatches. *Nucl. Acids Res.* **26** (1998) 4925.
- [110] X. L. Gao, and D. J. Patel, NMR studies of A.C mismatches in DNA dodecanucleotides at acidic pH. Wobble A(anti).C(anti) pair formation. *J. Biol. Chem.* **262** (1987) 16973.
- [111] K. L. Greene, R. L. Jones, Y. Li, H. Robinson, A. H. J. Wang, G. Zon, and W. D. Wilson, Solution Structure of a GA Mismatch DNA Sequence, d(CCATGAATGG)₂, Determined by 2D NMR and Structural Refinement Methods. *Biochemistry* **33** (1994) 1053.
- [112] T. Brown, W. N. Hunter, G. Kneale, and O. Kennard, Molecular structure of the G.A base pair in DNA and its implications for the mechanism of transversion mutations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83** (1986) 2402.
- [113] 莊達人, VLSI 製造技術, 高立圖書, 臺北, 1998.
- [114] C. Li, W. Fan, B. Lei, D. Zhang, S. Han, T. Tang, X. Liu, Z. Liu, S. Asano, M. Meyyappan, J. Han, and C. Zhou, Multilevel memory based on molecular devices. *Appl. Phys. Lett.* **84** (2004) 1949.
- [115] L. Esaki, New Phenomenon in Narrow Germanium p-n Junctions. *Phys. Rev.* **109**

- (1958) 603.
- [116] R. A. Kiehl, J. D. Le, P. Candra, R. C. Hoye, and T. R. Hoye, Charge storage model for hysteretic negative-differential resistance in metal-molecule-metal junctions. *Appl. Phys. Lett.* **88** (2006) 172102.
- [117] J. L. Pitters, and R. A. Wolkow, Detailed Studies of Molecular Conductance Using Atomic Resolution Scanning Tunneling Microscopy. *Nano Lett.* **6** (2006) 390.
- [118] K. H. Yoo, D. H. Ha, J. O. Lee, J. W. Park, J. Kim, J. J. Kim, H. Y. Lee, T. Kawai, and H. Y. Choi, Electrical Conduction through Poly(dA)-Poly(dT) and Poly(dG)-Poly(dC) DNA Molecules. *Phys. Rev. Lett.* **87** (2001) 198102.
- [119] J. M. Kim, T. Ohtani, J. Y. Park, S. M. Chang, and H. Muramatsu, DC electric-field-induced DNA stretching for AFM and SNOM studies. *Ultramicroscopy* **91** (2002) 139.
- [120] M. Washizu, and O. Kurosawa, Electrostatic manipulation of DNA in microfabricated structures. *Industry Applications, IEEE Transactions on* **26** (1990) 1165.
- [121] H. Choi, S. Choi, T. W. Kim, T. Lee, and H. Hwang, Nano-Scale Memory Characteristics of Silicon Nitride Charge Trapping Layer with Silicon Nanocrystals. *Jpn. J. Appl. Phys.* **45** (2006) L807.
- [122] P. C. Jangjian, T. F. Liu, C. M. Tsai, M. S. Tsai, and C. C. Chang, Ni²⁺ doping DNA: a semiconducting biopolymer. *Nanotechnology* **19** (2008) 355703.
- [123] N. Kang, A. Erbe, and E. Scheer, Electrical characterization of DNA in mechanically controlled break-junctions. *New J. Phys.* **10** (2008) 023030.