

摘要

由於奈米鑽石的特性：化學穩定度高、光學穩定度佳、表面容易改質修飾以及對生物分子有很好的吸附力，可以當成生物連結基材。在第一部分我先使用電子束微影系統(Electron Beam Lithography System)，定義出陣列圖形，再配合上自組裝單層膜的技術，將奈米鑽石整齊的排列在半導體基板上，製作成奈米鑽石的陣列晶片。

在第二部分我們利用奈米鑽石陣列其良好的生物分子吸附性，製造出溶菌酶官能基化的奈米鑽石陣列，具有生物分子選擇性，並利用拉曼光譜與紅外線吸收光譜來研究吸附在奈米鑽石陣列之溶菌酶光學特性，吸附在奈米鑽石陣列上之溶菌酶對大腸桿菌仍然擁有其反應活性，並利用此官能溶菌酶基化奈米鑽石陣列與大腸桿菌反應，未來可以發展出不同生物分子與奈米鑽石陣列之耦合物，可以應用在不同之生物分子或是細胞(如：癌症細胞…等)之光學特性之研究。

在第三部分我們利用奈米鑽石陣列基板接上一股DNA，再將另一股互補的DNA接在奈米金粒子上，經由雜合反應將雙股DNA結合在一起，如同將奈米金粒子修飾在奈米鑽石陣列上，再使用共軛焦顯微鏡量測，觀察到在反應之後奈米鑽石陣列基板光致螢光光譜的強度增強，這是因為奈米金粒子與奈米鑽石陣列產生電漿共振，利用奈米金粒子會讓奈米鑽石陣列的光學訊號改變，並且利用不同大小之奈米金粒子與奈米鑽石陣列耦合後，會使奈米鑽石陣列有不同範圍的螢光光譜強度增強，未來可以用來當作發展成生物偵測器後光學量測的指標。

關鍵字：生物晶片、自組裝薄膜、奈米鑽石、電漿共振、奈米金粒子

Recently, nanodiamond has become one of the best candidates to serve as a biobinding platform due to its special properties such as, high chemical stability, good photo-stability, easily surface modification, and binding affinity with biomolecules. In the first part of this thesis, we used E-Beam lithography system to design patterned nanostructure arrays. By using self-assembled monolayer (SAM) technology, we were able to position nanodiamonds into regular arrays on the silicon substrate and to fabricate a nanodiamond microarray chip.

In the second part of this work, the nanodiamond arrays were functionalized with lysozyme to target a certain bio-molecule or protein specifically. The optical

properties of the nanodiamond-protein complex arrays were characterized by a high throughput confocal microscope. The synthesized nanodiamond-lysozyme complex arrays were found to still retain their functionality in interacting with *E. coli*. It facilitates the development of new applications of different biomolecule-nanodiamond complexes that can interact with special targets, as well as the individual observation of their optical property.

In the third part of this work, we bound the nanodiamond surface with two complementary DNA sequences and gold nanoparticles. After the gold nanoparticle hybridize on the nanodiamond microarrays, we measured the micro-PL spectrum of nanodiamonds through a confocal microscope. In the spectrum, we observed enhancement of the PL signal of the nanodiamonds after hybridization, which demonstrated that the gold nanoparticles have modified the optical signal from the nanodiamonds. In the future, the signal will be used as an index for biosensing purposes.

Keyword: biochip, self-assembled monolayer, nanodiamond, plasma resonance, gold nanoparticle

前言

「生物晶片」一詞起源於1980年代，由於電腦晶片的製造，帶動了人類資訊產業的發展，為了提高晶片的產能，晶片的製程將趨向於微小化，此時科學家們興起應用生物分子，與這些微小化晶片結合的想法，以微小化晶片製程技術，整合微機電、材料、化學、生化及生醫工程等領域，並且以其準確性、可平行處理、樣品與化學藥品需求量少、分析速度快及低成本等優點，來進行醫學研究、生物研究、環境監測、食品檢驗的應用。

近年來微機電(Micro-electro-mechanical systems, 簡稱MEMS)製程技術蓬勃發展，利用小尺寸效應等現象製造出來的產品，具有縮小化、高效率以及低耗能等優點，除了半導體製程領域外，實驗室晶片(lab-on-a-chip, 簡稱LOAC)也逐漸成為微機電發展的一個主要研究重點。實驗室晶片的概念是由Manz和Ciba Geigy在1989年所提出，希望將原本在實驗室裡操作的不同流程，例如樣品前處理、試劑混合、化學反應和生化分析等步驟微小化並整合製作在一片晶片上。利用這種自動化的平行操作技術，可以取代昂貴的儀器設備、節省操作的人力資源和時間、減少樣品使用量、即時獲得偵測結果和增加實驗信賴度。我們也可以依照需求而設計出不同種具有強大功能的實驗室晶片。

由於大部分的生物分子本身無法發出螢光，或是螢光強度微弱，所以找尋適當的材料，可以與生物分子結合，還可以使用光學方法量測分析的生物標記，在生物檢測上就變得相當重要，所以在近代所發明的量子點(Quantum dot)，就常被當為生物標記的材料，因為它經過光源激發後，放射光的強度非常強，而且光穩定度較傳統染料佳，比較不會有光漂白(Photo bleach)現象，經過多年的發展，量子點在生物領域有許多篇幅的應用，但是量子點的一大缺點，就是具有細胞毒性(Cytotoxicity)，將之應用在醫藥治療上，這些有毒金屬或離子的釋出，使用在人體上有很大的危險性。

但奈米鑽石是由碳原子組成的，被認為具有低細胞毒性、良好的生物相容性、表面容易修飾、光穩定度佳及化學穩定度高等優點，所以適合當做生物標記。奈米鑽石表面包覆了一層疏水性的C-H鍵結，不過這些C-H鍵結，可以經由強氧化酸(H_2SO_4 : HNO_3 = 3 : 1)酸洗的步驟，將其氧化成羧基-COOH或其他含氧官能基，故而變成親水性，而這些修飾後的鑽石顆粒對胺基酸、蛋白質以及DNA有很強的吸附力。

研究目的

將奈米技術和生物科技結合是現今很受歡迎的議題，奈米粒子可用來當作生物體的探針或感測器，為了達到這個目的，具有生物相容性和不具細胞毒性是不可或缺的條件，此外表面易官能基化和修飾，以利於和生物體連接也是極為重要的

因子。利用奈米鑽石的特性，化學穩定度高、光學穩定度佳、表面容易改質修飾以及對生物分子有很好的吸附力等優點，當成生物連結基材。

利用本實驗室微影製程方面的能力與經驗，配合上高解析度的光學儀器，希望發展製作生物晶片的技術。在本研究先利用電子束微影系統(Electron Beam Lithography System)在已塗佈光阻的矽基板上，定義出陣列圖形，再配合上自組裝單層膜(Self-Assembled Monolayer)的技術，在矽基板上成長出整齊的奈米鑽石陣列，製作成奈米鑽石的陣列晶片。接著活化鑽石陣列的表面，將DNA或是蛋白質酵素反應連接上鑽石陣列表面，以達到偵測另一股完全互補的DNA或是對於蛋白質酵素有特殊反應之生物分子。

為了得到更好的光學訊號，我們更進一步將待偵測分子如:DNA或是其他生物分子反應連接上奈米金粒子，然後把反應後的奈米金溶液，與修飾過之奈米鑽石的陣列晶片表面進行反應，待反應完全後，使用共軛焦顯微鏡(Confocal microscopy)去量測晶片反應前後的光學訊號變化。期望利用奈米鑽石-奈米金之間電漿共振的交互作用，當成生物偵測器的量測訊號，未來希望可以建構一個光學量測平台，希望能夠建構成一套全自動化的光學即時偵測系統，並能發展成為實際可應用的晶片。

文獻回顧

生物晶片的技術，是許多實驗部分的分工集成一個完整的系統，包含生物分子的選擇、晶片表面的活化步驟以及固定化，訊號的偵測與分析。

生物分子如何固定上晶片表面，就是一個十分重要的課題，其中有兩種簡單的方法:(1)物理吸附法，是利用生物分子與基材之間的凡得瓦爾力(Van der waals force)、疏水作用(Hydrophobic interaction)[1]、靜電吸引力(Electrostatic attraction force)[2]，不過純粹用物理方式的生物分子吸附力，相較於使用化學法的生物分子弱，而且也可能會因為外在的溫度或酸鹼度的改變，而造成分子去吸附；(2)化學鍵結法，是利用生物分子上的胺基酸或某些官能基，例如:離胺酸(Lysine)含有氨基-NH₂、半胱胺酸(Cysteine)含有硫醇基-SH，與基材進行化學反應而形成共價鍵結。實驗上有時候會先在基材上形成自組裝單層膜(Self-assembled monolayer)，使基板成長上含有特定官能機的一層薄膜，例如:16-mercaptohexadecanoic(16-MHA)含有羧基-COOH，再加入EDC/NHS 可以與含氨基-NH₂ 的山葵過氧酵素(HRP)反應形成醯胺鍵(Amide bond)。

訊號的偵測，是利用生物分子反應作用後，改變電荷變化[3-4]，或光學等變化為量測基準[5-6]。在電荷改變實驗上，G. J. Zhang & J. T. Sheu 等實驗團隊是利用微流道系統，在矽奈米線先長上一層介電層後，再修飾上化合物以及生物分子，造成表面電位差異，圖1 所示[3]，而改變奈米線的電導值，圖2 所示[4]，形成空乏層模式的金氧半場效電晶體，圖3 所示。而在光學的實驗上，Yujun Song & Vaishali Bagalkot等實驗團隊，是利用DNA當作連結平台，當偵測物加入後，連接螢光粒子的DNA會分離至溶液中，造成溶液會有螢光訊號，以螢光訊

號當作偵測物存在的證明[5]；另外，還有利用量子點以DNA連結一個淬滅劑 (Quencher) 的實驗，當偵測物加入後，淬滅劑會釋出，所以原本放光被淬滅的量子點，後來可以再量到其放光訊號圖4所示[6]。

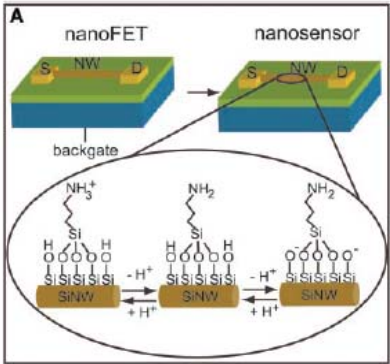


圖1矽奈米線表面電荷改變

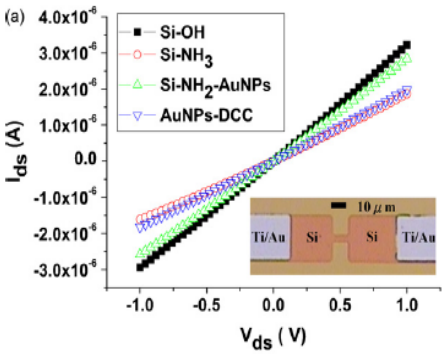


圖2 矽奈米線上修飾不同的化合物，造成電導值的改變

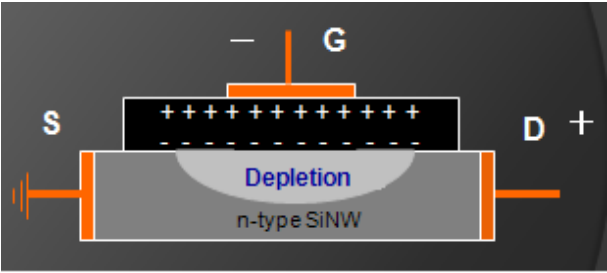


圖 3 當表面電荷(閘極 G)改變，空乏區的大小也會跟著改變

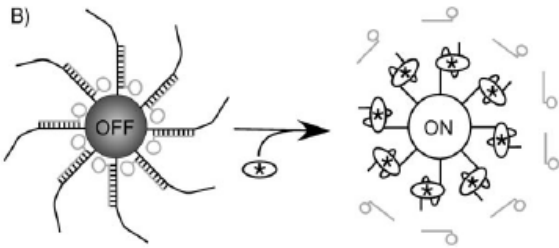


圖4 加入偵測物，抗凝血酵素的aptamer會包住偵測物，釋出淬滅劑

參考文獻：

- [1] T.S.Huang, Y.Tzeng, Y.K.Liu, Y.C.Chen, K.R.W alker, R.Guntupalli, C.Liu
Immobilization of antibodies and bacterial binding on nanodiamond and carbon nanotubes for biosensor applications *Diamond and Related Materials* 2004, 13, 1098–1102
- [2] Elena Perevedentseva, Chih-Yuan Cheng, Pei-Hua Chung, Jhih-Sian Tu, Yu-Hsin Hsieh and Chia-Liang Cheng **The interaction of the protein lysozyme with bacteria *E. coli* observed using nanodiamond labelling** *Nanotechnology* 2007, 18, 315102 (7pp)
- [3] Yi Cui, Qingqiao Wei, Hongkun Park, Charles M. Lieber **Nanowire Nanosensors for Highly Sensitive and Selective Detection of Biological and Chemical Species** *Science* 2001, 293, 1289-1292
- [4] J.-T. Sheu , C.C. Chen , K.S. Chang , Y.-K. Li **A possibility of detection of the non-charge based analytes using ultra-thin body field-effect transistors** *Biosensors and Bioelectronics* 2008, 23, 1883–1886
- [5] Yujun Song, Chao Zhao, Jinsong Ren and Xiaogang Qu **Rapid and ultra-sensitive detection of AMP using a fluorescent and magnetic nano-silica sandwich complex** *Chem. Commun.* 2009, 1975–1977
- [6] Matthew Levy, Sean F. Cater, and Andrew D. Ellington **Quantum-Dot Aptamer Beacons for the Detection of Proteins** *ChemBioChem* 2005, 6, 2163 – 2166

研究方法.

為了完成奈米鑽石陣列晶片的製作，首先奈米鑽石經過強酸氧化酸洗的步驟，可以把表面 sp^2 結構去除，並讓鑽石表面產生羧基 $-COOH$ ，可以應用到與含有胺基 $(-NH_2)$ 的生物分子鍵結。在微影製程前，矽晶圓先以化學氣相沉積法，成長約400nm 厚的二氧化矽層，二氧化矽層的厚度可以藉由觀察晶圓的顏色來得知，接著才會進行微影步驟。

基板製作的流程圖，實驗一開始，我會先將四吋矽晶圓切割成 $1.5cm \times 1.5cm$ 大小的正方形破片，實驗的步驟如下：

一. 在電子束微影的製程中，為了使光阻塗佈平整，矽基板要先經過清潔的步驟，去除基板表面的微粒髒汙。首先，準備三個乾淨的燒杯分別盛裝適量的丙酮

(Acetone)、異丙醇(Isopropanol, IPA)以及去離子水(DI water)，先把晶片置於丙酮中配合超音波震盪機震盪五分鐘，初步去除表面的微粒，接著再把晶片置於異丙醇中配合超音波震盪機震盪五分鐘，異丙醇會把晶片上殘留的丙酮有機溶劑帶走，最後再把晶片置於去離子水中超音波震盪五分鐘，去離子水會把殘留的異丙醇溶劑帶走，最後用氮氣槍吹乾完成清潔的步驟。

二. 實驗上所選用的電子阻劑是ZEONREX electronic chemicals所製造的ZEP520A，將清洗好的晶片利用旋轉塗佈的方式，配合適當的轉速得到厚度約300nm的阻劑層，接著晶片要經過180°C烘烤三分鐘，把光阻從中溶劑烤乾，等待晶片冷卻後即可進行下一步驟。

三. 使用的Wecas繪圖程式設計圖形，整個矽基板破片，包含四個Cross mark和二十個定義圖形：兩個Cross mark之間間隔6mm，每一個Cross mark長為600 μm ，寬為25 μm ，設計Cross mark的目的，是為了在顯影後能夠用肉眼觀察到定義圖形的所在位置，而我設計的定義圖形則是介於兩個Cross mark之間；兩個定義圖形之間間隔距離為1mm，每一個定義圖形包含了四個12 $\times$ 12的400nm圓點陣列，每一區圓點陣列外圍有四個長寬皆為5 μm 的方形，設計方形的目的，是為了能輕易的在光學顯微鏡觀察下，找到400nm圓點陣列的位置，而在圓點陣列中，點與點距離為5 μm ，圖5為奈米鑽石晶片陣列定義圖型設計圖。

四. 在設計好定義圖形後，把晶片置於微影系統的移動平台，送入電子束真空腔進行微影過程。利用電腦選擇加速電壓50kV、電子束的電流大小600pA、設定欲曝光的圖形座標、控制曝光時間等不同參數，來得到最佳的微影圖案。

五. 把曝光完成的晶片置於顯影液N-pentyl acetate中，顯影三分鐘將已曝光的電子阻劑去除，顯影結束後用異丙醇沖洗，最後再用氮氣槍吹乾，即完成微影製程。

六. 圖6為自組裝薄膜奈米鑽石晶片陣列流程圖，在自組裝薄膜成長的實驗中，先將APTES 溶於95%的乙醇溶劑，配合超音波震盪調配成2 vol%溶液，把經過電子束微影的基板置入溶液中反應一小時，反應後使用乙醇和去離子水沖洗並用氮氣槍吹乾，沖洗的目的是為了把物理吸附的APTES 去除，接著基板要經過120°C烘烤10分鐘，完成後APTES 會在定義圖案區內，形成自組裝接著，使用EDC/NHS 試劑活化奈米鑽石表面的羧基，讓羧基容易與APTES 膜形成醯胺鍵(Amide bond)，使奈米鑽石固定在基板之上，自組裝膜與奈米鑽石形成醯胺鍵的反應機構亦顯示在圖6之中。在奈米鑽石定位化的實驗中，在各種試劑的使用也嘗試了許多不同的比例，最後使用較過量的鑽石溶液成功地將其定位於晶片上，實驗步驟所配置的試劑濃度分別是0.1mM MES buffer、0.025M EDC、0.025M NHS、0.1g 的奈米鑽石分散於100ml 去離子水，進而將MES buffer:去離子水:奈米鑽石:NHS:EDC = (3ml:6ml:3ml:6ml:6ml)反應一小時後，用去離子沖洗。

七. 待自組裝奈米鑽石鍵結上基板的反應完成後，使用ZEP520A專用的去光阻液ZDMAC來進行去光阻的步驟。將基板浸入裝有ZDMAC的燒杯中，過程中輕微的搖晃燒杯，大約五至十分鐘便可完全去除光阻，最後取出基板 用異丙醇以及去離子

水沖洗，用氮氣吹乾即完成陣列晶片的製作。

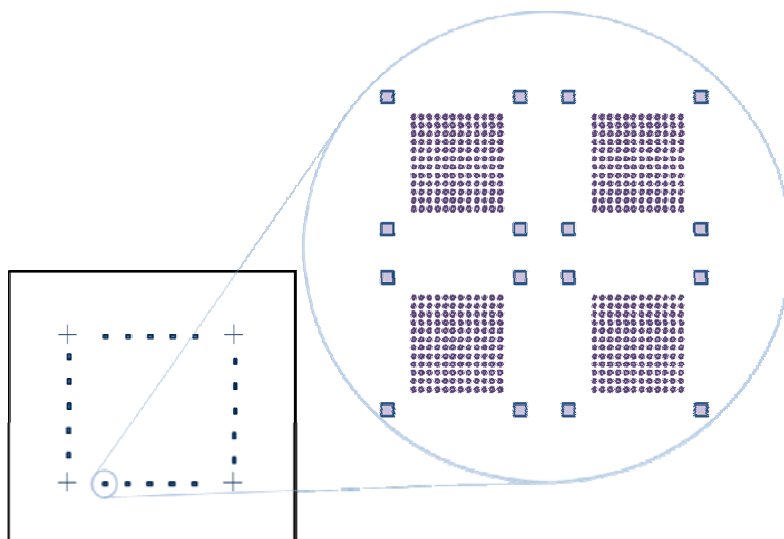


圖 5 定義圖形設計簡圖

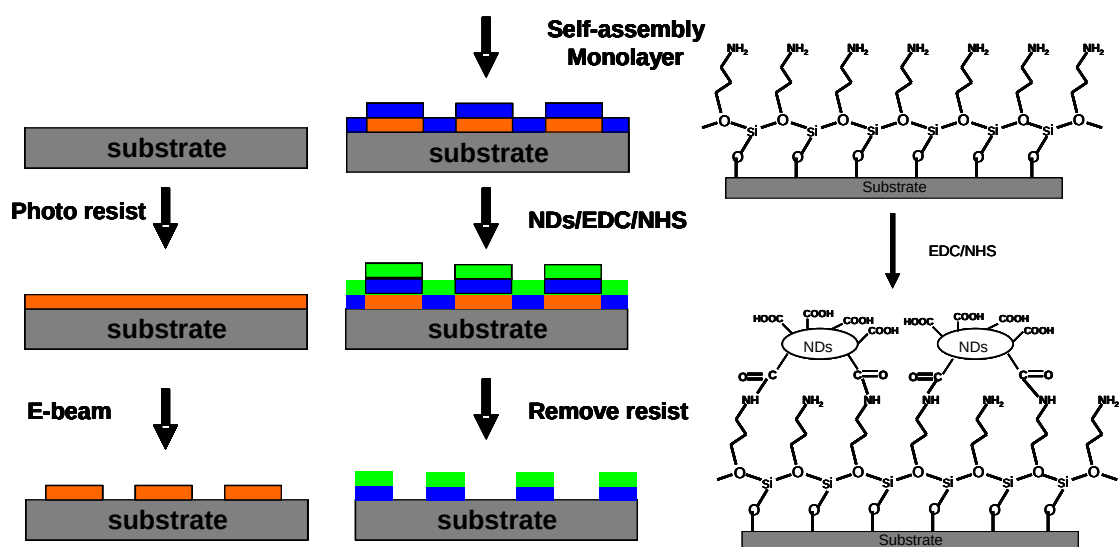


圖 6 基板製作流程圖與 APTES 自組裝膜與奈米鑽石形成醯胺鍵的反應機構

結果與討論

1. 奈米鑽石陣列晶片的製作

利用掃描式電子顯微鏡(SEM)我們可觀察奈米鑽石陣列晶片結構，其成果我們可以從下列的圖7之中的SEM圖觀察到，根據SEM的結果，我們利用自組裝單層膜的方式，可以製造良好排列的奈米鑽石陣列晶片。

除了用SEM 來觀察陣列晶片的結構外，另外我們使用了共軛焦顯微鏡LabRAM HR800 來量測光譜，利用奈米鑽石在拉曼光譜特有的 1332cm^{-1} 訊號，來確認奈米鑽石定位化反應的成功與否。先使用光學顯找到基板上圓點陣列的位置，並用影像擷取系統記錄下來，並且用程式設定共焦針孔的大小、選擇的光柵、CCD 接受訊號的積分時間、量測波段範圍以及Mapping 的區域等參數，來得到拉曼圖譜(其中的光柵參數設定：600；雷射光源：488nm；共焦針孔： $150\mu\text{m}$ ；積分時間：180秒；量測波段： $1100\text{--}1600\text{cm}^{-1}$ ；Mapping 點的數目為一個方塊區域共255個點)，將在影像擷取系統中，陣列晶片所設定Mapping一個方塊區域的光學顯微鏡所得之影像，對照已用程式鎖定之 1332cm^{-1} 訊號的強度對XY空間位置的Mapping圖，如圖8所示。與SEM的結果相同，利用組裝單層膜的方式所成長的陣列，其光學特性具有奈米鑽石之特性，經由Mapping實驗的結果，可以再次證明可以成功成長出良好定位化排列奈米鑽石陣列晶片，並且可能應用在生物感測晶片上。

2. 奈米鑽石陣列晶片生物分子鍵結測驗

接下來所做的實驗，是為了要確認我們製作的ND 陣列晶片，可以與生物分子鍵結並應用於製作生物陣列晶片，實驗上我使用含有許多胺基的聚離胺酸，與含有許多羧基的奈米鑽石陣列作用，接著再使用FITC 染料去標定聚離胺酸，利用量測FITC 的PL 訊號來確認生物分子鍵結反應的成功與否。

在光譜上，量測的波段是FITC染料受光源激發後放光的波段(Ex/Em wavelength: 494/518 nm)，我一樣是利用Mapping的實驗量測晶片上一個直線的陣列位置，如圖9所示(量測的參數：488nm雷射光源、共焦針孔 $300\mu\text{m}$ 、積分時間360秒、量測波段515–700 nm、Mapping點的數目為一直線共7個點，其中有4個點為ND存在的點)，圖9所示陣列晶片設定Mapping一直線的 OM圖；圖9所示訊號強度、量測波段對X軸Mapping圖，由圖譜的結果可以看到只有在有陣列圖形的位置上，才量的到FITC染料的訊號，基板上其他位置上則否，證明我們所製作的陣列晶片，的確可以與生物分子作用鍵結， 之後我會以第一部分的實驗結果來建構可應用的光學量測平台。

3. 奈米鑽石陣列晶片用於偵測大腸桿菌

大腸桿菌（學名：Escherichia coli，通常簡寫為E. coli）是人和動物腸道中最主要和數量最多的一種細菌，主要寄生於大腸內。是一種兩端鈍圓、能運動、無芽孢的革蘭氏陰性短桿菌。除某些菌型能引起腹瀉外，一般不致病，能合成維生素B和K，對人體有益。其屬名埃希氏菌(Escherichia)來源於其發現者Theodor

Escherich。大腸桿菌是腸桿菌科的一員，經常作為細菌的模式生物廣泛用於科學研究。

利用上述方式我們可以製造出不同大小的奈米鑽石陣列晶片，不同大小的奈米鑽石陣列晶片可以適用於不同大小的生物分子的偵測。在此我們選用最常被拿來科學研究的大腸桿菌，首先我們改變我們的奈米鑽石陣列晶片的大小為 $1\mu\text{m} \times 1\mu\text{m}$ ，間隔為 $5\mu\text{m}$ ，以符合一般大腸桿菌的大小。

溶菌酶（英文名稱：Lysozyme，又譯溶解酶）是一個分子量為14.4kDa的酶，它能夠通過催化肽聚糖中N-乙酰胞壁酸和N-乙酰氨基葡萄糖殘基間和殼糊精中N-乙酰葡糖胺殘基間的1,4- β 鏈的水解，而破壞細菌的細胞壁。由於溶菌酶會對大腸桿菌的細胞壁產生水解作用，所以我們選用溶菌酶來當做奈米鑽石與大腸桿菌的作用間質。

我們把製作好的奈米鑽石陣列晶片放入含有溶菌酶的PBS緩衝容液之中1小時，奈米鑽石陣列晶片吸附溶菌酶，之後再放入乾淨的PBS緩衝容液備用。我們利用拉曼光譜以及紅外線吸收光譜偵測後(如圖10所示)，我們發現在有奈米鑽石陣列的區域同時可以發現溶菌酶的訊號，在不具有奈米鑽石陣列的區域溶菌酶亦不存在，我們可以證明溶菌酶有確實吸附在我們的奈米鑽石陣列晶片之上。之後再把10 μl 的大腸桿菌分散在90 μl PBS緩衝容液中，再把我們的奈米鑽石陣列晶片放入具有大腸桿菌分散在緩衝容液中，之後奈米鑽石陣列晶片在用PBS緩衝容液以及去離子水沖洗，用以偵測大腸桿菌的存在。圖11為利用電子顯微鏡來觀察大腸桿菌與奈米鑽石陣列晶片之間的作用。在電子顯微鏡的觀察之中，大腸桿菌只能在有奈米鑽石陣列晶片的地方被發現，在基版的其他沒有奈米鑽石陣列晶片的地方，都沒有大腸桿菌附著，我們可以定論，只有擁有奈米鑽石陣列晶片的地方可以吸附溶菌酶，這一點與光譜測量的結果相同，進而這些吸附溶菌酶的奈米鑽石陣列晶片可以與產生作用。

4. 奈米鑽石陣列晶片光學即時偵測DNA系統

當奈米鑽石陣列晶片完成後，使用共軛焦顯微鏡LabRAM HR800 來量測這些鑽石陣列晶片的螢光光譜，圖12為鑽石陣列晶片的螢光光譜，我們所量測到的光譜上可以看到530nm、576nm、610nm、620nm、638nm、660nm、680nm 和730nm等峰值與文獻上相同。接著將這些奈米鑽石陣列晶片接上第一段DNA(DNA1)後，我們再一次量測奈米鑽石陣列晶片的螢光光譜，發現螢光光譜沒有明顯的變化。同樣的從圖12的螢光光譜圖我們得知，我們把第二段DNA(DNA2)修飾上奈米金球後，經過螢光光譜的量測，發現奈米金球與奈米金球接上DNA後皆不會發螢光。

當DNA1與DNA2為互補時，兩段DNA便會雜交，並且在奈米鑽石陣列晶片形成雙股螺旋DNA，當雙股螺旋DNA在奈米鑽石陣列晶片上形成時，會使得原本在DNA2上修飾的奈米金粒子靠近我們的奈米鑽石陣列，我們利用掃描式電子顯微鏡與穿透式電子顯微鏡來觀察奈米鑽石陣列與奈米金粒子耦合之情形，從圖13的電子顯微鏡與穿透式電子顯微鏡的觀察中，我們發現奈米金粒子與奈米鑽石陣列之間具有良

好的耦合效果。當奈米金粒子靠近奈米鑽石陣列後，經過螢光光譜的量測後，其量測結果顯示在圖14之中，我們發現發現在515nm 至740nm的區段，光譜的訊號與先前量測只有奈米鑽石樣品的訊號有明顯地不同，奈米鑽石的螢光光譜會獲得一個明顯的上升的現象。這個結果在Stefan Schietinger等人的研究中有類似的發現，他們利用AFM探針推動大小為60nm的奈米金粒子，使其接觸到奈米鑽石形成耦合，接著再利用532nm雷射去激發，並量測奈米鑽石的螢光光譜。在螢光光譜中，他們發現到奈米鑽石會受到奈米金粒子電漿共振的影響，所以奈米鑽石的螢光會有上升的現象，而其螢光增加的幅度又以在575nm附近的訊號較638nm附近的訊號來的顯著。他們指出這是因為奈米鑽石575nm的放射波段比較接近奈米金粒子540nm的電漿共振波段，所以其PL訊號會有很大的改變。更進一步的，我們比較使用不同大小的奈米金粒子，因為不同大小的奈米金粒子其電漿共振範圍的不同，其螢光光譜會有不同的變化，在我們的實驗之中，我們使用13nm、30nm、50nm與80nm 4種不同大小的奈米金粒子來產生電漿共振範圍的不同。在圖14螢光光譜之中，我們觀察到4種不同大小的奈米金粒子，當使用越大的奈米金粒子，其螢光光譜越長波長的地方受到電漿共振的效應越高，因為越大的奈米金粒子其電漿共振範圍越靠近長波長的範圍，這一點我們可以從不同大小的奈米金粒子的吸收光譜來得知，所以當奈米鑽石陣列受到越大的奈米金粒子的電漿共振，其螢光光譜增強的範圍越往長波長的地方移動。未來也許可以利用此一特點來偵測混合生物分子。

結論

第一部分利用電子束微影技術來繪製定義圖形，接著使用自組裝單層膜的方式，把奈米鑽石粒子固定在基板上，使其形成奈米鑽石陣列晶片，搭配掃描式共軛焦顯微鏡，我們可以確定奈米鑽石可以確實的在半導體基板上形成陣列。

第二部份在經過光譜測量後定位化的奈米鑽石陣列，證明了奈米鑽石陣列可以有效吸附具有生物官能基的分子。

第三部份我們利用這製程簡單的鑽石陣列晶片吸附溶菌酶，並且利用光譜量測證明鑽石陣列晶片有效的吸附溶菌酶，再利用溶菌酶對大腸桿菌的特殊作用，搭配掃描式共軛焦顯微鏡量測，可以證明吸附溶菌酶鑽石陣列晶片可以大腸桿菌產生選擇性之作用，未來利用鑽石陣列晶片的幫忙，來研究欲量測分析特定蛋白質分子的光學訊號有很大的幫助。

第四部分利用兩股互補的DNA，分別接在奈米鑽石基板以及奈米金粒子上，經由反應步驟將奈米金粒子修飾在奈米鑽石陣列上，經過共軛焦顯微鏡量測，觀察到在反應之後奈米鑽石光致發光光譜的強度增強，證明金粒子會讓奈米鑽石陣列的光學訊號改變，而且不同大小的奈米金粒子修飾，會對奈米鑽石陣列之光學訊號有不同的改變產生，未來可以用來當作發展成多生物偵測器後光學量測的指標。

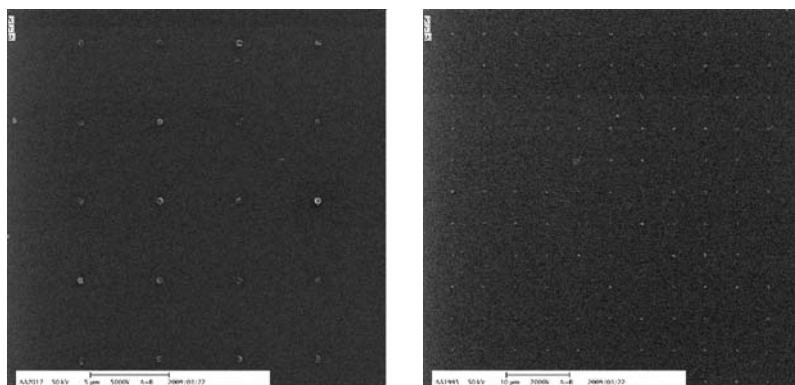


圖7：奈米鑽石晶片陣列區域的SEM圖

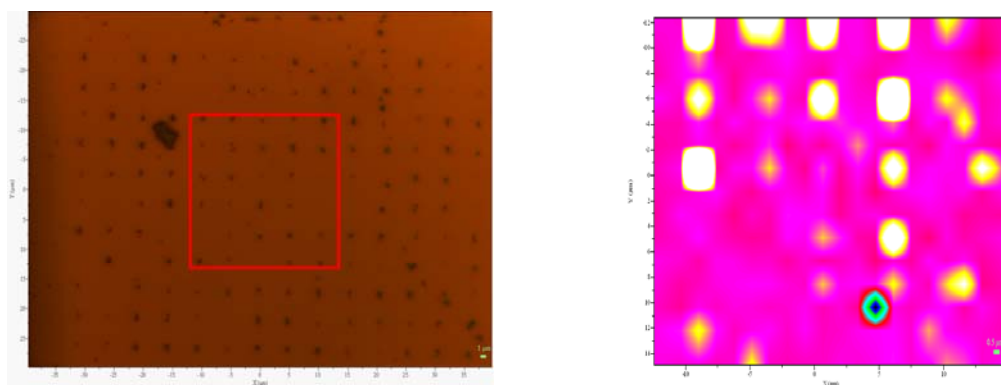


圖8：.陣列晶片設定 Mapping 區域的 OM 圖與 OM 圖對應的 Mapping 圖

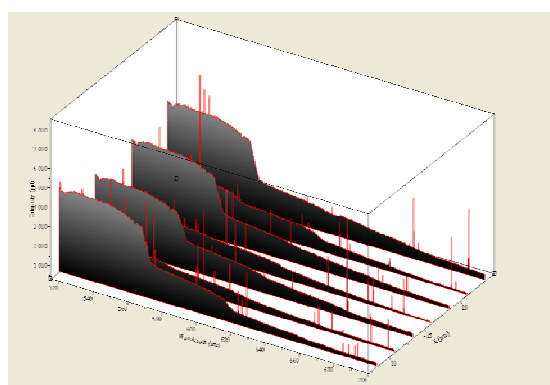
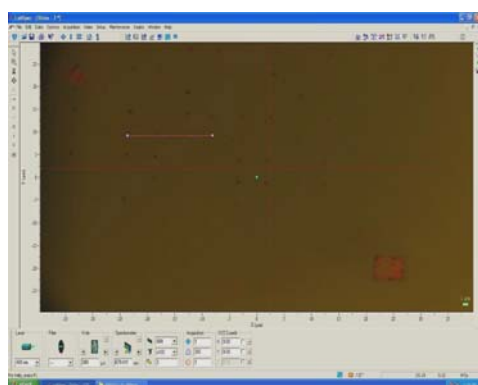


圖9：.陣列晶片設定 Mapping 區域的 OM 圖與 OM 圖對應的 Mapping 圖

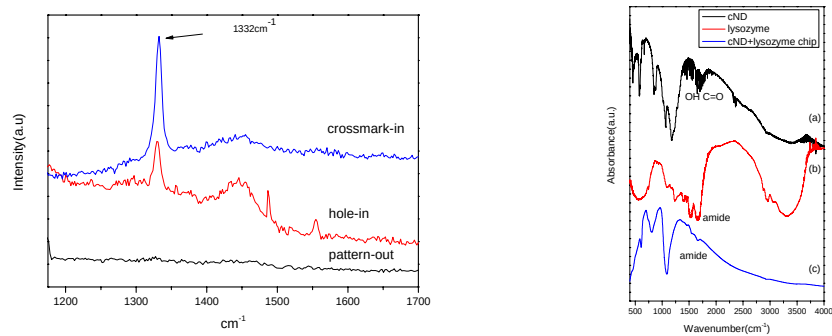


圖10：拉曼光譜以及紅外線吸收光譜

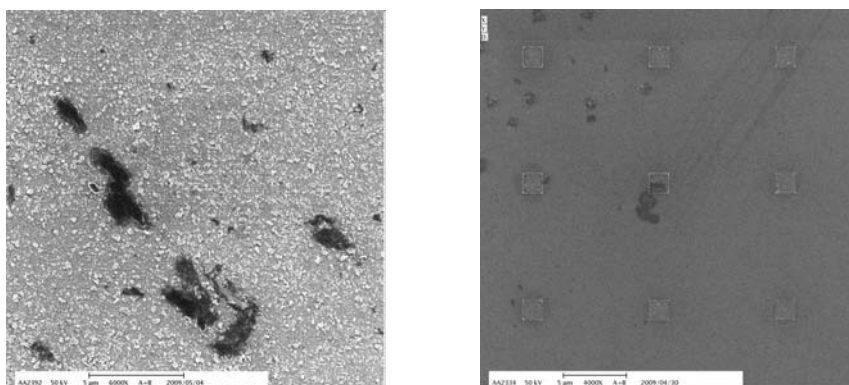


圖11：為利用電子顯微鏡來觀察大腸桿菌與奈米鑽石陣列晶片之間的作用

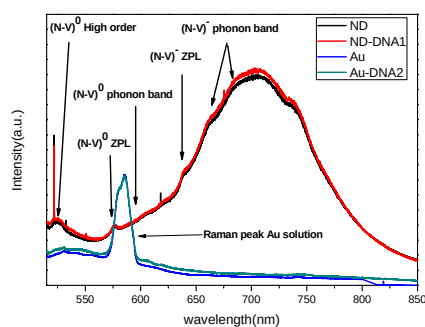


圖12：奈米鑽石陣列與金奈米粒子及其接上DNA後之螢光光譜

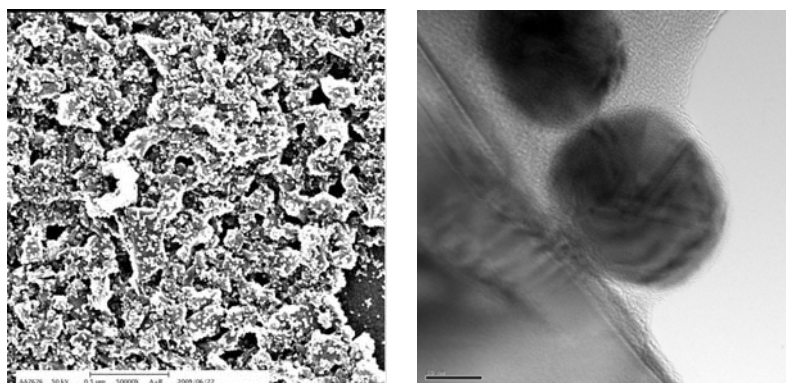


圖13：奈米鑽石耦合奈米金粒子的電子顯微鏡與穿透式電子顯微鏡圖

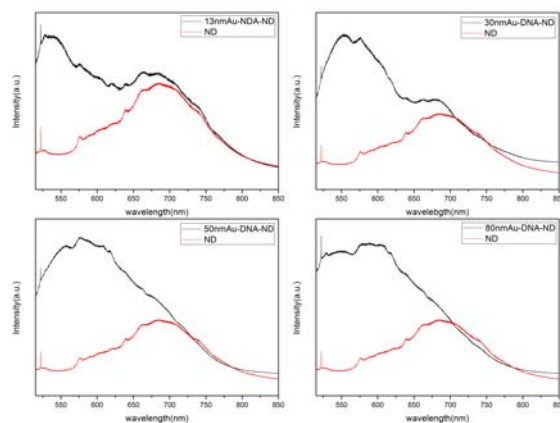


圖14：不同大小的奈米金粒子耦合奈米鑽石陣列之螢光光譜