



國立臺灣大學理學院化學系

碩士論文

Department of Chemistry

College of Science

National Taiwan University

Master Thesis

運用新穎的光電晶體生物感測器在高鹽度環境中檢
測多巴胺

A New Phototransistor Biosensor for Dopamine Detection
in High Salinity Environments

吳宗翰

TsungHan Wu

指導教授：陳逸聰博士

Advisor: Yit-Tsong Chen, Ph.D.

中華民國 112 年 07 月

July 2023

口試委員審定書



國立臺灣大學碩士學位論文 口試委員會審定書 NTU Master Thesis Oral Defense Approval Form

(論文中文題目 Thesis Title in Chinese)

運用新型的電化學生物感測器在高鹽度環境中檢測多巴胺

(論文英文題目 Thesis Title in English)

A New Potentiometric Biosensor for Dopamine Detection in High Salinity Environment

本論文係吳宗翰君 (學號 R01223182) 在國立臺灣大學化學系完成之碩士學位論文，於民國 112 年 7 月 11 日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明。

The student Tung-Han Wu (student no. R 01223182) enrolled in the Master Program of the Department of Chemistry, NTU has satisfactorily passed the oral defense on 11/11/2023 (date) with the approval of all committee members as follows.

口試委員 (Committee Members) :

陳逸聰

(簽名 Signature)

(指導教授 Advisor)

廖利斯

潘建源

陳振中

系主任、所長

(簽章)

(Dept./Institute Chair's Signature and Seal)

中文摘要



在生物感測領域中，場效電晶體(Field-Effect Transistor, FET)的使用已廣泛應用於各種生物分子的檢測。然而，傳統的 FET 生物感測器在高離子強度的環境中常受到德拜屏蔽效應(Debye Screening Effect)的影響，導致其偵測能力大幅下降。在這篇論文研究中，我們設計了一種新型的光電晶體(phototransistor)生物感測器，成功地突破了此一限制。我們使用的光電晶體採用二硫化錫作為通道材料，並將上轉換奈米粒子(Upconverting Nanoparticle, UCNP)與適體(Aptamer)結合，使其能夠調控光電流在高離子強度的環境中準確偵測目標分子。UCNP 受 980 nm 雷射激發時會發出 530 nm 的綠光，且此綠光被二硫化錫吸收產生光電流，當目標分子與適體結合，會改變其結構並拉近 UCNP 與 FET 的距離帶，以帶來光電流的變化，而這種變化較不會受到德拜屏蔽效應的影響。我們以多巴胺作為目標進行測量，實驗結果證明，在不照光時，在 1 倍磷酸鹽緩衝溶液中(1x Phosphate Buffered Saline, 1x PBS)中的偵測極限達到 10 fM，而在血清中也達到了 100 fM。但在光強度為 215 nW/ μm^2 時，其偵測極限在 1x PBS 中可達 10 aM，在血清中則為 100 aM，超過傳統 FET 生物感測器的偵測能力。此外，偵測範圍也隨著光強度的增加而擴大，同時由於訊號的增強解析度也有提高，顯示出其卓越的適應性和靈活性。這些成果展現了光電晶體作為生物流體內實時檢測生物分子的強大潛力。我們期待光電晶體在未來可以廣泛應用於高鹽環境中的人體檢體，如檢測生物標記物於血液和尿液等。

關鍵字：場效電晶體生物感測器、光電晶體生物感測器、上轉換奈米粒子、德拜屏蔽效應、二硫化錫奈米薄片

ABSTRACT

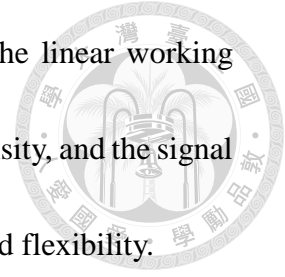


In the realm of biosensing, the use of field-effect transistors (FETs) has been broadly applied for the detection of a variety of biomolecules. However, traditional FET Biosensors are often affected by the Debye screening effect in high ionic strength environments, leading to a significant decrease in their detection capabilities. In this study, we designed a novel phototransistor biosensor that can successfully overcome this limitation.

This phototransistor employs tin disulfide nanosheets as channel material and integrates upconverting nanoparticles (UCNPs) with aptamers (referred as UCNP/Apt/SnS₂-FET), allowing accurate detection of target molecules in high ionic strength environments. When excited by a 980 nm laser, the UCNPs emit at the green light 530 nm which is absorbed by tin disulfide nanosheets to generate a photocurrent. As the target molecule binds with the aptamer, it changes its structure and brings the UCNP closer to the FET, resulting in a change in photocurrent of the UCNP/Apt/SnS₂-FET that is not significantly influenced by the Debye screening effect.

Using dopamine as the target for measurement, experimental results demonstrated that, without 980 nm illumination, the detection limit reached 10 fM in 1x PBS and 100 fM in serum. In contract, with the light intensity of 215 nW/μm² at 980 nm, the detection limit in 1x PBS could reach 10 aM, and 100 aM in serum, exceeding the

detection capabilities of traditional FET Biosensors. In addition, the linear working range of a UCNP/Apt/SnS₂-FET expanded with increasing light intensity, and the signal resolution was enhanced, demonstrating its excellent adaptability and flexibility.



These achievements display the powerful potential of the phototransistor for real-time detection of biomolecules within biofluids. We anticipate the phototransistor can be widely applied to detect biomarkers in high-salt human biofluids (such as blood and urine) in the future.

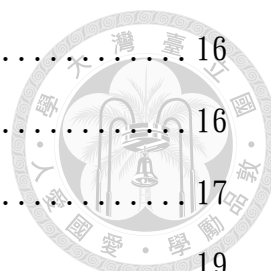
Keyword : FET biosensor, phototransistor biosensor, upconverting nanoparticle,

Debye screening effect, Tin disulfide nanosheets

目錄



口試委員審定書.....	i
中文摘要.....	ii
ABSTRACT.....	iii
目錄.....	v
圖目錄.....	viii
簡稱用語對照表.....	x
Chapter 1 導論	1
1.1. 場效電晶體.....	1
1.1.1. 場效電晶體.....	1
1.1.2. 二維材料作為場效電晶體通道.....	2
1.1.3. 二維二硫化錫場效電晶體.....	3
1.1.4. 場效電晶體生物感測器.....	4
1.1.5. 場效電晶體生物感測器的挑戰.....	5
1.2. 多巴胺.....	6
1.3. DNA 適體作為感測器受體.....	7
1.4. 上轉換奈米粒子.....	9
1.5. 研究動機與實驗設計.....	10
Chapter 2 實驗方法	13
2.1. 上轉換奈米粒子的合成與表面修飾.....	13
2.1.1. Core UCNP 合成.....	13
2.1.2. Core-Shell UCNP 合成.....	14
2.1.3. UCNP 表面二氧化矽修飾.....	15
2.1.4. UCNP 表面胺基修飾.....	15
2.1.5. UCNP 表面醛基修飾.....	16



2.2.	二硫化錫場效電晶體元件製作.....	16
2.2.1.	基板前處理.....	16
2.2.2.	底部氧化層制備.....	17
2.2.3.	以機械剝離法得到二維二硫化錫.....	19
2.2.4.	微影.....	21
2.2.5.	以蒸鍍與濺鍍制備電極.....	21
2.2.6.	上層氧化層制備.....	22
2.3.	光電場效電晶體表面修飾.....	23
2.3.1.	矽烷自組裝單層修飾.....	23
2.3.2.	DNA Aptamer 修飾.....	23
2.3.3.	UCNP 修飾.....	24
2.4.	光電場效電晶體生物感測器.....	24
2.4.1.	PDMS 微流道合成.....	24
2.4.2.	生物感測器的組裝.....	25
2.4.3.	生物感測實驗.....	25
Chapter 3.	結果討論.....	26
3.1.	二硫化錫鑑定.....	26
3.2.	上轉換奈米粒子.....	27
3.3.	SnS ₂ 元件電性量測.....	28
3.4.	受體修飾在 TiO ₂ 表面之鑑定.....	33
3.4.1.	共軛焦螢光影像.....	33
3.4.2.	閘極電壓檢測.....	35
3.5.	多巴胺量測.....	36
3.5.1.	多巴胺於 1x PBS 量測.....	36
3.5.2.	多巴胺於老鼠血清之量測.....	42
Chapter 4.	結論.....	48



圖目錄



Fig. 1 二維材料 FET 示意圖	2
Fig. 2 SnS ₂ 晶體結構.....	4
Fig. 3 FET Biosensor 的偵測機制.....	5
Fig. 4 多巴胺之 3D 結構.....	7
Fig. 5 多巴胺適體與多巴胺結合之結構	9
Fig. 6 UCNP 與發光機制.....	10
Fig. 7 UCNP/APT/SnS ₂ -FET 偵測多巴胺之示意圖.....	12
Fig. 8 UCNP 表面修飾.....	15
Fig. 9 SnS ₂ 影像	20
Fig. 10 SnS ₂ 晶體之 X 射線繞射和電子顯微鏡的特性測定	27
Fig. 11 UCNP 之電子顯微鏡和發光光譜的特性測定	28
Fig. 12 SnS ₂ -FET V _{sd} -I _{sd} 特性.....	30
Fig. 13 SnS ₂ -FET V _g -I _{sd} 特性	31
Fig. 14 SnS ₂ FET Leakage current.....	33
Fig. 15 FITC-Aptamer-SH 修飾於 MPTMS/TiO ₂ 之螢光影像.....	35
Fig. 16 在不同修飾後測量 SnS ₂ FET 的 I _{sd} - V _g 曲線.....	36
Fig. 17 1x PBS 中生物感測器之不同雷射強度與多巴胺濃度下電流變化... 37	
Fig. 18 對 Fig. 19 之作圖示意圖	39
Fig. 19 1x PBS 中沒照光、照光、兩者總和之電流訊號隨多巴胺濃度之變化	40
Fig. 20 結合朗謬耳吸附方程式之擬合曲線.....	42
Fig. 21 老鼠血清中生物感測器之不同雷射強度與多巴胺濃度下電流變化 .. 44	
Fig. 22 老鼠血清中沒照光、照光、兩者總和之電流訊號隨多巴胺濃度之變化	45

Fig. 23 血清環境下結合朗謬耳吸附方程式之擬合曲線..... 46



簡稱用語對照表



英文簡稱	英文全名	中文名
λ_D	debye length	德拜屏蔽長度
K_d	Dissociation constant	解離常數
ALD	Atomic Layer Deposition	原子層沉積
APT	Aptamer	適體
DA	Dopamine	多巴胺
DNA	deoxyribonucleic acid	去氧核糖核酸
DTT	Dithiothreitol	二硫蘇糖醇
FET	Field-Effect Transistor	場效電晶體
FITC	Fluorescein isothiocyanate	異硫氰酸螢光素
HR-TEM	High Resolution Transmission Electron Microscope	高解析度穿透式電子 顯微鏡
IGEPAL CO-520	Octylphenoxy poly(ethyleneoxy)ethanol	辛基苯氧基聚(乙烯氧 基)乙醇
MPTMS	(3- Mercaptopropyl)trimethoxysilane	(3-硫丙基)三甲氧 基矽烷
PBS	Phosphate Buffered Saline	磷酸鹽緩衝溶液
PCB	Printed wire board	印刷電路版
PDMS	Polydimethylsiloxane	聚二甲基矽氧烷
PTMS	Trimethoxypropylsilane	三甲氧基丙基矽烷
RPM	Revolution Per Minute	每分鐘轉速
SAM	Self-Assembled Monolayers	自組裝單層
SnS_2	Tin disulfide	二硫化錫
TEOS	Tetraethoxysilane	四乙氧基矽烷

TMDC	Transition metal dichalcogenide	過度金屬二硫族化物
TTIP	Titanium isopropoxide	異丙醇鈦
UCNP	Upconverting Nanoparticle	上轉換奈米粒子
XRD	X-ray diffraction	X 射線繞射

Chapter 1 導論



1.1. 場效電晶體

1.1.1. 場效電晶體

場效電晶體 (FET) 是一種重要的半導體元件，透過場效應來控制導電度。它擁有三個關鍵的電極：源極 (Source)、汲極 (Drain) 和閘極 (Gate)。透過在源極和汲極之間施加一個偏壓，我們可以測量通過元件和通道的電流。而透過在閘極上施加外加電壓，我們可以改變半導體材料中的自由載子的數量，進而影響我們測得的電流。

場效電晶體的導電度變化取決於半導體材料的種類和外加電壓的正負值。不同的半導體材料對外加電壓的變化產生不同的反應。透過控制閘極上的外加電壓，我們可以改變閘極與通道之間的電場強度。當閘極電壓為正時，對於 N 型場效電晶體，閘極電場會吸引更多的電子到通道區域，增加電流的流動。而對於 P 型場效電晶體，閘極電場會排斥的空穴到通道區域，進而減少電流的流動。

FET 在現代電子學中扮演著重要的角色，特別是在許多積體電路和數位電子應用中。它們具有低功耗、高速度和良好的開關特性，使它們成為許多電子設備的理想選擇。

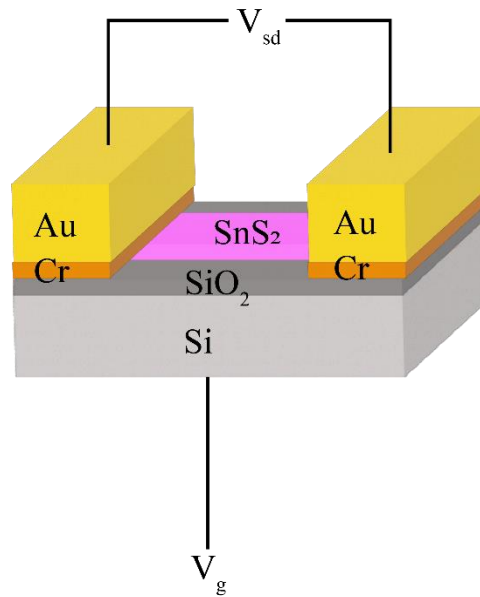


Fig. 1 二維材料 FET 示意圖 典型的金屬氧化物半導體場效電晶體。Au/Cr 做為源極與汲極，基板 Si 做為閘極。

1. 1. 2. 二維材料作為場效電晶體通道

二維材料在場效電晶體的應用中發揮了重要作用，尤其在其通道部分，這種類型的材料因其獨特的物理和化學性質，成為了通道材料的理想選擇。在 FET 的結構中，通道是連接源極和汲極的區域，由於其在電流流動中的關鍵角色，因此對通道材料的選擇具有重要意義。二維材料，如石墨烯⁽¹⁻²⁾和過渡金屬硫屬化合物⁽³⁻⁴⁾，因其出色的電性能以及超薄的特性，使其在 FET 通道的應用中受到了高度關注。

首先，二維材料的厚度僅有一個或幾個原子層，這使得其可以提供一個理想的電荷載流子通道，具有低散射損失和高載流子遷移率。此外，這種超薄的結構也使得閘極電場能夠更有效地控制通道中的載流子，從而提高 FET 的開關效率。其次，二維材料通常具有良好的熱穩定性和化學穩定性，這使得它們可以在各種苛刻的環境中維持穩定的性能。此外，由於其表面積與體積比例極大，二維材料在與其它物質接觸時能展現出極高的靈敏度，這對於在 FET 中實現高靈敏度的感測非常有利⁽⁵⁻⁶⁾。

總體來說，二維材料在 FET 通道的應用中，因其獨特的結構和性能特點，不僅提升了 FET 的電性能，也擴大了 FET 的應用範疇，尤其在生物感測和光電領域中展現出巨大的潛力。



1. 1. 3. 二維二硫化錫場效電晶體

二硫化錫 (Tin disulfide, SnS_2) 是一種具有潛力的二維材料⁽⁷⁾，展現出優異的特性和應用潛力。作為一種層狀過度金屬二硫族化物 (Transition metal dichalcogenide, TMDC)， SnS_2 具有獨特的結構和電子性質，使其成為場效電晶體的理想選擇。

SnS_2 材料具有幾項重要的基礎特性，使其成為一種引人注目的材料。首先， SnS_2 的結構由一層層的錫和硫原子堆疊而成，形成了一個層狀結構。其次， SnS_2 具有高載子遷移率，即載子在材料中移動的能力。相較於傳統的矽材料， SnS_2 的載子遷移率更高，這意味著它能夠提供更快的電子傳輸速度和更高的操作頻率，從而使得電子器件更加高效。

SnS_2 作為 FET 通道層具有優異的性能和特點。首先， SnS_2 在 FET 中可以實現高電子遷移率，這對於提高器件的整體性能至關重要。高電子遷移率意味著更快的電子傳輸速度和更低的能量損耗，從而使得 FET 能夠運行在更高的頻率下，同時降低功耗。其次， SnS_2 的層狀結構使得它具有優異的可調性。通過調節外加電場，可以調節 SnS_2 的導電性質，實現對載子的準確控制和調節。這使得 SnS_2 在 FET 設計中具有更大的彈性，可以根據需要調整器件的性能和工作特性。此外， SnS_2 還表現出優異的光學特性，這為其在光電子器件中的應用提供了巨大的潛力。由於其能隙位於可見光範圍⁽⁷⁾ (2.3 eV)， SnS_2 可以吸收可見光並產生光電效應。這使得 SnS_2 可以應用於光感測器、光伏器件和光學開關等領域。此外， SnS_2 還具有良好的光電轉換效率和快速的光響應時間，這使得它成為高效能光電器件的理想材料。

SnS₂ 作為 FET 通道層展現出優異的特性和應用潛力。其高載子遷移率、優異的可調性、優越的光學特性，使其成為下一代電子器件的理想選擇。隨著對 SnS₂ 材料和其在 FET 中性能的深入研究，相信它將在電子技術領域中發揮重要作用，推動新一輪的技術創新和應用開發。

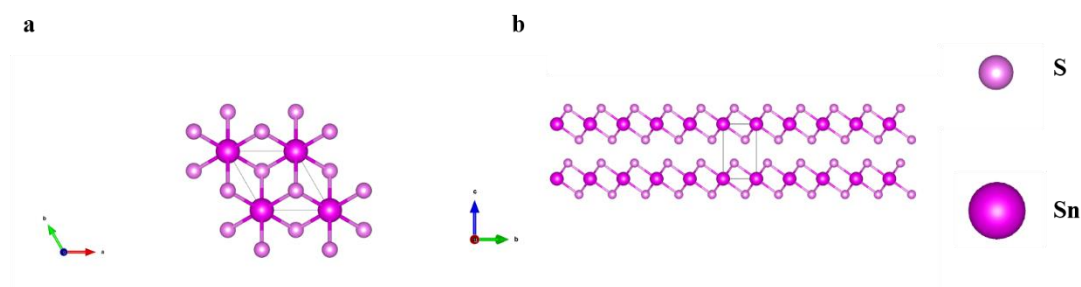


Fig. 2 SnS₂ 晶體結構 (a)SnS₂ 的六面邊形結構 (b)SnS₂ 奈米薄片的層狀結構，黑色方框為 1 個 unit cell

1. 1. 4. 場效電晶體生物感測器

場效電晶體生物感測器(FET Biosensor)是近年來生物科技界的重要革新⁽⁸⁻¹⁰⁾。這類感測器巧妙地利用電場效應，即由電荷的積累導致導電性變化，來檢測各種生物分子的存在與否。它們的敏感度、選擇性和速度超越了傳統的生物感測技術，對於提升我們對生物世界的理解和控制具有關鍵的影響。FET Biosensor 的將要檢測的帶電生物分子當做閘極。當這些帶電分子靠近 FET 時，會改變 FET 之表面電荷分佈，進而改變閘極電壓，從而影響導電通道的電導。透過測量這種變化，我們可以得知樣本中是否存在特定的生物分子，並估計其濃度。

二維材料在 FET Biosensor 的發展中也起著重要的作用⁽⁵⁾。這種材料的厚度僅為單個或數個原子層，這使得其表面與周圍環境的相互作用尤為密切，故而對生物分子的吸附極為敏感。此外，二維材料的高導電性和化學穩定性也使其成為製造高效能 FET Biosensor 的理想選擇。

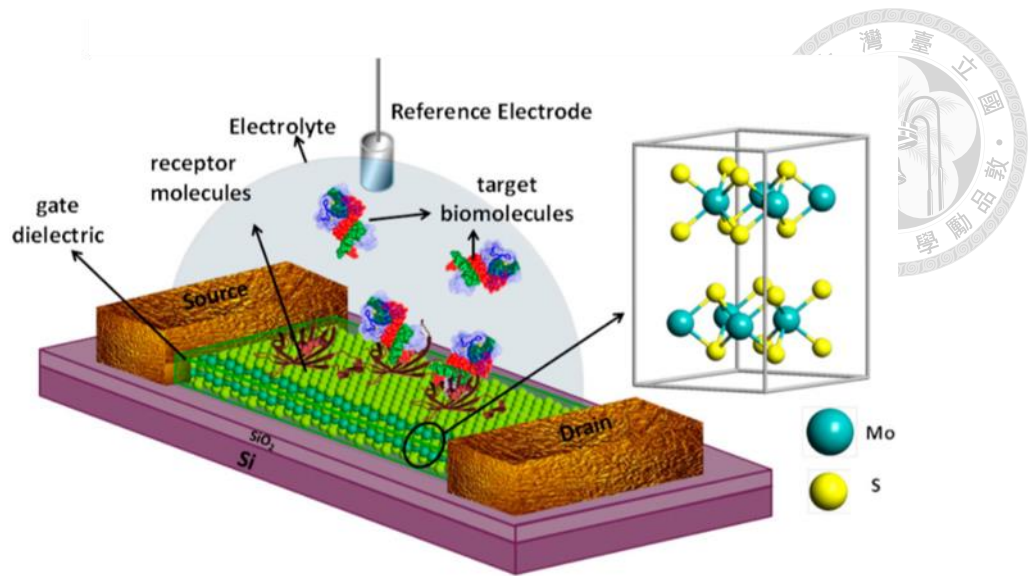


Fig. 3 FET Biosensor 的偵測機制⁽¹¹⁾ MoS₂ FET Biosensor，當帶電的目標分子與受體結合，帶來 FET 表面電位的變化，進而影響 FET 之通道電流。

1. 1. 5. 場效電晶體生物感測器的挑戰

FET Biosensor 在許多方面都展現了其卓越的性能，然而，每種技術都有其固有的局限性。對 FET Biosensor 而言，一個重要的限制因素是德拜屏蔽效應⁽¹²⁾。德拜屏蔽效應源自溶液樣品中的離子(電解質)，當生物分子接近感測器表面時，離子會在其周圍形成一個離子層。這個離子層可以有效地屏蔽分子的電荷，使得 FET 感測器難以檢測到其存在。德拜屏蔽長度 λ_D ，是描述此效應的關鍵參數，它反映了電荷被屏蔽的程度。在溶液中，德拜屏蔽長度可以通過以下公式計算：

$$\lambda_D = \sqrt{\frac{\epsilon_0 \epsilon_r k_B T}{2 N_A e^2 I}}$$

其中， ϵ_0 是真空的電容率， ϵ_r 是溶液相對真空的電容率， k_B 是波茲曼常數， T 是絕對溫度， N_A 是亞佛加厥常數， e 是基本電荷， I 是離子強度。在生物學的標

準環境下（溫度為 298 K，介電常數為 80，離子強度約為 0.15 M），Debye 屏蔽長度大約為 0.7 奈米。對於比德拜屏蔽長度大得多的生物分子，例如蛋白質，其在 FET 生物感測器中的檢測就會受到明顯的影響。

我們可以用下面的數學模型，來描述感測器和目標分子之距離，因為德拜屏蔽效應感應到的電位變化

$$V_{bs}(r) = V_0 e^{-r/\lambda_D}$$

$V_{bs}(r)$ 代表 FET 感測器感和目標分子之距離為 r 時應到的電位， V_0 代表目標分子的電位， r 是目標分子與 FET 表面的距離， λ_D 是 Debye 屏蔽長度。

這個公式很好地說明了 Debye 屏蔽效應如何影響 FET 感測器的檢測能力。首先，我們可以看到 $V_{bs}(r)$ 和 V_0 的關係是指數型的，這意味著即使分子的電位 V_0 非常高，只要 Debye 屏蔽效應足夠強，感測器感應到的電位 $V_{bs}(r)$ 也可能會非常低。換句話說，即使目標分子的濃度很高，也可能因為 Debye 屏蔽效應而被 FET 感測器忽視。其次，從公式中我們可以看出，分子與 FET 表面的距離 r 對感測器感應到的電位 $V_{bs}(r)$ 有很大影響。當 r 增大時， e^{-r/λ_D} 的值會迅速減小，導致 $V_{bs}(r)$ 也隨之下降。這表明，即使在有目標分子存在的情況下，如果分子與 FET 表面的距離過大，感測器也可能無法有效地檢測到其存在。

因此，儘管 FET 生物感測器具有很高的靈敏度，但在實際的生物樣品檢測中，德拜屏蔽效應仍然是一個重要的限制。如何解決或者避免這個問題，是目前 FET 生物感測器研究的重要課題。

1.2. 多巴胺

多巴胺是一種存在於所有動物中的重要神經遞質，對於調節心率、血壓、運動以及情緒等體內活動擔任重要角色⁽¹³⁻¹⁴⁾。瞭解多巴胺的作用不僅可以解釋許多生理現象，還對於瞭解並治療許多神經系統相關疾病具有重大意義。

在神經系統中，多巴胺在神經元間擔任信息傳遞的角色，並參與許多重要的生理功能，如動機、報酬、學習和記憶等。它的運作原理是通過釋放到神經元間的突觸間隙，並與接收神經元上的多巴胺受體結合，從而觸發一系列細胞內訊息傳遞反應。在心血管系統中，多巴胺則可以調節心臟收縮力和血管擴張，從而影響血壓和心率。另外，多巴胺也是一種重要的荷爾蒙，參與腎臟的鈉離子調節和水平衡的維持。然而，多巴胺的功能異常可能導致許多疾病的出現。例如，帕金森病是由於大腦中多巴胺的減少引起的，而精神分裂症和躁鬱病則可能與多巴胺的過度活躍有關。因此，針對多巴胺的治療手段已成為這些疾病治療的重要手段。

對多巴胺的研究也推動了許多生物感測技術的發展。例如，多巴胺的生物感測器可以通過實時監測多巴胺的變化，來瞭解神經系統的動態變化，或者用於評估藥物對神經系統的影響。因此，多巴胺不僅是我們理解生物體內許多重要功能的關鍵物質，也是許多研究和應用的重要目標。

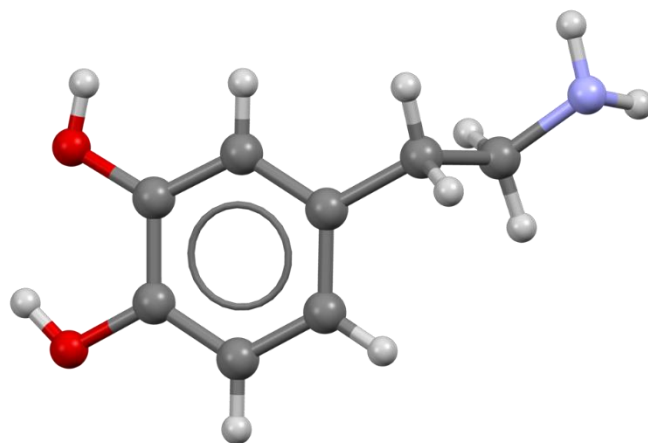


Fig. 4 多巴胺之 3D 結構，(白)氫 (灰)碳 (紅)氧 (紫)氮

1.3. DNA 適體作為感測器受體

DNA 單鏈體 (DNA aptamers) 已成為生物感測器中受體部分的理想選擇⁽¹⁵⁻¹⁶⁾，因為它們不僅具有高度的選擇性和親和性，而且具有簡單的化學結構和易於

製備的優點。DNA 單鏈體是一種特殊的單鏈 DNA，透過結構內的配對，形成穩定的三維結構，能專一性地與目標分子結合。DNA 單鏈體的一大優勢是透過系統演化的進化⁽¹⁷⁾(Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment, SELEX)技術可以進行定製，為特定目標分子開發專屬的單鏈體。透過此技術，我們可以在數十億甚至數兆的單鏈體集合中，選擇出最具親和力的序列，這使得 DNA 單鏈體在許多研究領域中，包括藥物開發、疾病診斷和環境檢測中，扮演了重要的角色。

在生物感測器中，DNA 單鏈體作為接收器的另一項吸引人的特性是其結構穩定性和化學穩定性。由於 DNA 的穩定性和耐用性，它可以在廣泛的 pH 和溫度範圍內保持其結構和功能，使得 DNA 單鏈體具有了廣泛的應用範疇。此外，DNA 單鏈體還可以透過化學修飾來改變其特性，例如提高其對特定目標分子的親和力或者提高其在特定環境中的穩定性。然而，儘管 DNA 單鏈體具有許多優點，但其在實際應用中也面臨一些挑戰。例如，如何將 DNA 單鏈體精確地固定在感測器表面，以及如何避免不必要的非專一性結合，都是當前研究中需要解決的問題。儘管如此，DNA 單鏈體在生物感測器中的應用仍然滿懷希望，並預期將在未來的生物感測技術中扮演重要的角色。

本研究使用 2018 年發表的 57 mer 多巴胺適體，是由 57 個核苷酸組成的單鏈 DNA，其序列為：

NH₂-CTCTCGGGACGACGCCAGTTTGAAGGTTTCGTTTCGCAGGTGTGGAGTG
ACGTCGTCCC-SH

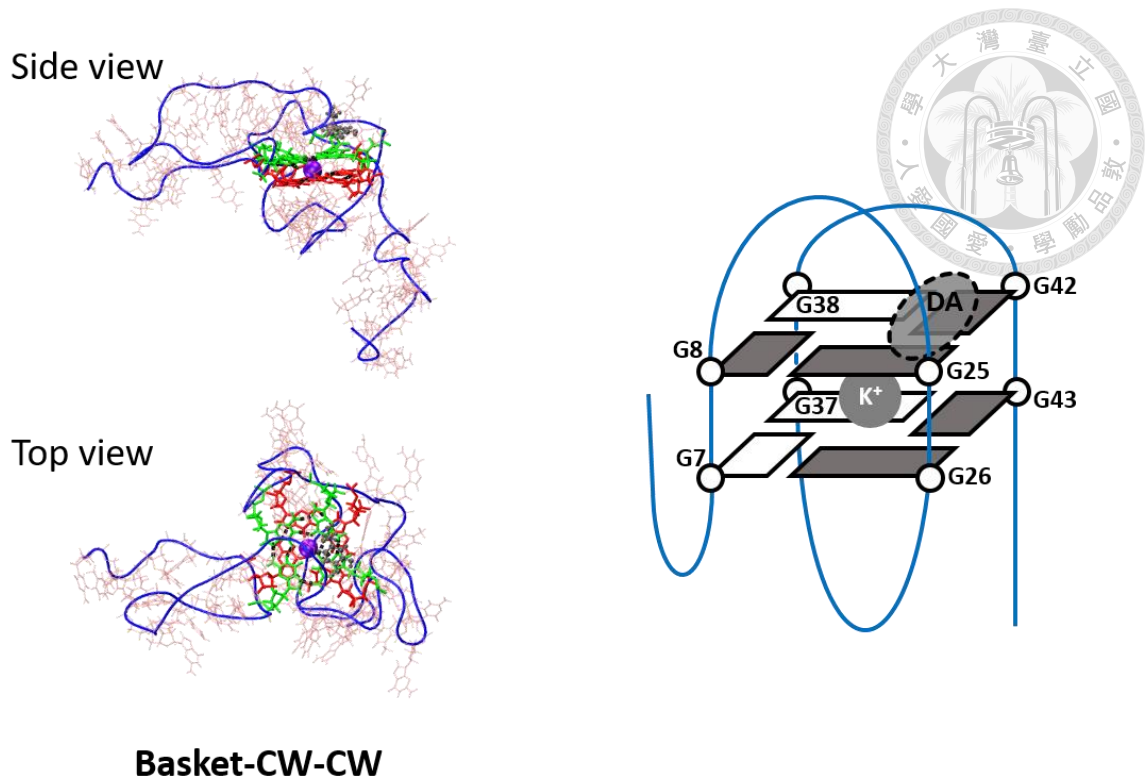


Fig. 5 多巴胺適體與多巴胺結合之結構

1.4. 上轉換奈米粒子

上轉換奈米粒子⁽¹⁸⁻¹⁹⁾(Upconverting nanoparticles, UCNP)是一種具有特殊光學性質的奈米材料。這種材料可以吸收兩個或更多的低能光子(通常是近紅外或紅光),並發射出一個高能光子(通常是綠光或藍光)。這種現象被稱為光上轉換,它需要多個光子同時作用才能發生。

上轉換奈米粒子的工作原理主要涉及到一種稱為"能量轉移上轉換"(Energy Transfer Upconversion, ETU)的過程⁽¹⁸⁾。在這種過程中,奈米粒子中的離子首先吸收一個光子並轉到高激發態。如果這個高能量態的壽命足夠長,則離子可能會吸收第二個光子,進一步增加其能量。然後,這些高能離子會將其能量轉移給周圍的其他離子,導致這些離子進入更高的激發態。最後,這些高能離子會以發射光子的形式釋放其能量,這些光子的能量大於原始吸收的光子能量。

這種上轉換現象具有許多獨特的特性,使得上轉換奈米粒子在許多應用中具



有廣泛的前景。例如，由於上轉換過程是非線性的，這意味著上轉換奈米粒子可以用於超分辨率成像。此外，上轉換奈米粒子還可以用於生物標記、光療法、光動力療法以及增強太陽能電池的效率。

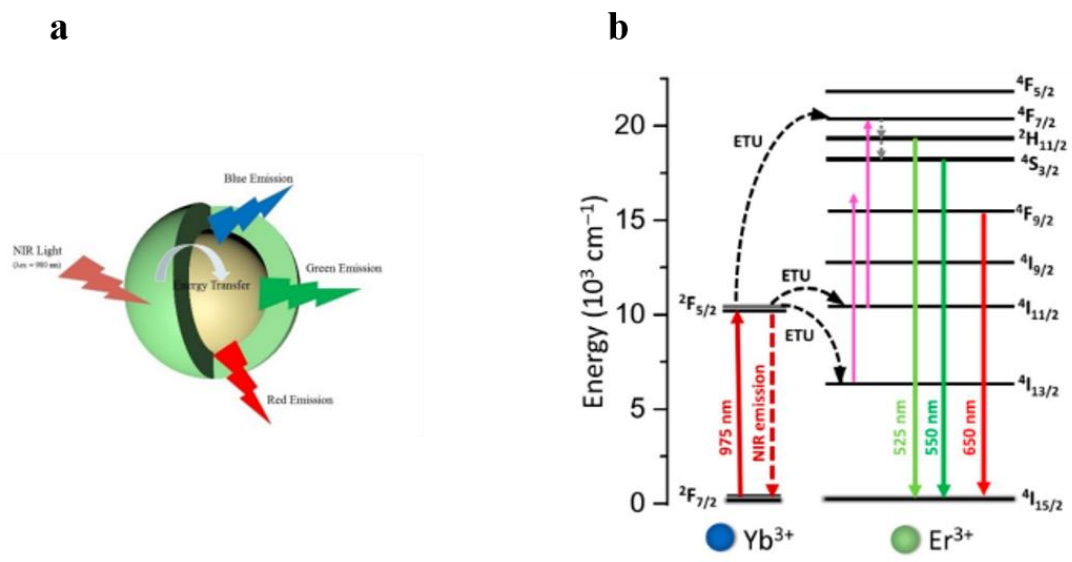


Fig. 6 UCNP 與發光機制⁽²⁰⁻²¹⁾ (a)Core-shell 結構 內層 core 為 NAYF₄ 晶體參雜 Yb³⁺ 與 Er³⁺，外層 shell 再以 NaYF₄ 包覆 (b)UCNP 內能量的轉換 Yb³⁺ 吸收 975 nm 波長並將能量轉換給 Er³⁺，使 Er³⁺ 被激發至激發態，激發態又吸收了來自另一個 Yb³⁺ 轉移的能量，使 Er³⁺ 再被激發至能量更高的激發態，並且以光的形式發出此能量。

1.5. 研究動機與實驗設計

進行本研究的動機源於兩大主要因素：一是克服傳統 FET 生物感測器在高鹽環境下的偵測困難；二是優化生物分子偵測方法，以減少分析樣品的傷害並提高分析效率。

首先，儘管 FET 被廣泛應用於生物分子檢測，但在高離子強度的生物體液中，其受到德拜屏蔽效應的影響，導致偵測能力大幅下降⁽¹²⁾。這給精確、快速的

生物分子檢測帶來了重大挑戰。因此，發展一種可以在高離子強度環境下進行準確檢測的方法，尤其是能適應高鹽環境(如血清)的人體檢體，無疑是極為必要的。其次，優化生物分子偵測的方法也是我們進行此研究的動機之一。目前，許多感測方法使用雷射激發螢光分子，然而，雷射可能對樣品造成傷害，而且其穿透能力有限。使用上轉換奈米粒子作為光源，利用其特性(以紅外光激發)可以有效減少對分析樣品的傷害，且紅外光具備更強的穿透性。

基於以上考慮，我們設計了新型光電晶體生物感測器，UCNP/Apt/SnS₂-FET，其結構主要由上轉換納米粒子、適體、二硫化錫場效電晶體組成(Fig. 7)。這種設計使得 UCNP/Apt/SnS₂-FET 能在光照條件下，克服德拜屏蔽效應的限制，達到對生物標記物的高靈敏度和選擇性檢測。

首先，UCNPs 是一種特殊的納米粒子，能夠吸收兩個或更多的紅外光子並發射一個可見光子，這就是所謂的上轉換過程。當光源照射 UCNPs 時，UCNPs 會產生光電流。

其次，這個光電流會通過適體傳遞至 SnS₂-FET。適體是一種單鏈 DNA 分子，能夠特異性地與特定的目標分子(例如蛋白質或小分子)結合。當適體與其目標分子結合時，適配體會發生結構變化(摺疊)。這種結構變化導致 UCNPs 與 SnS₂-FET 之間的距離變化，進而改變光電流的強度。

最後，SnS₂-FET 會感測到這個改變的光電流。這個電信號與目標分子的濃度成正比，從而實現了生物標記物的檢測。獨特的是，由於 UCNP/Apt/SnS₂-FET 裝置的感測機制依賴於光電流，而不是場效應，這種新型感測器的應用性也可以擴展到檢測中性(無電荷)目標，這是傳統場效應感測器難以實現的。

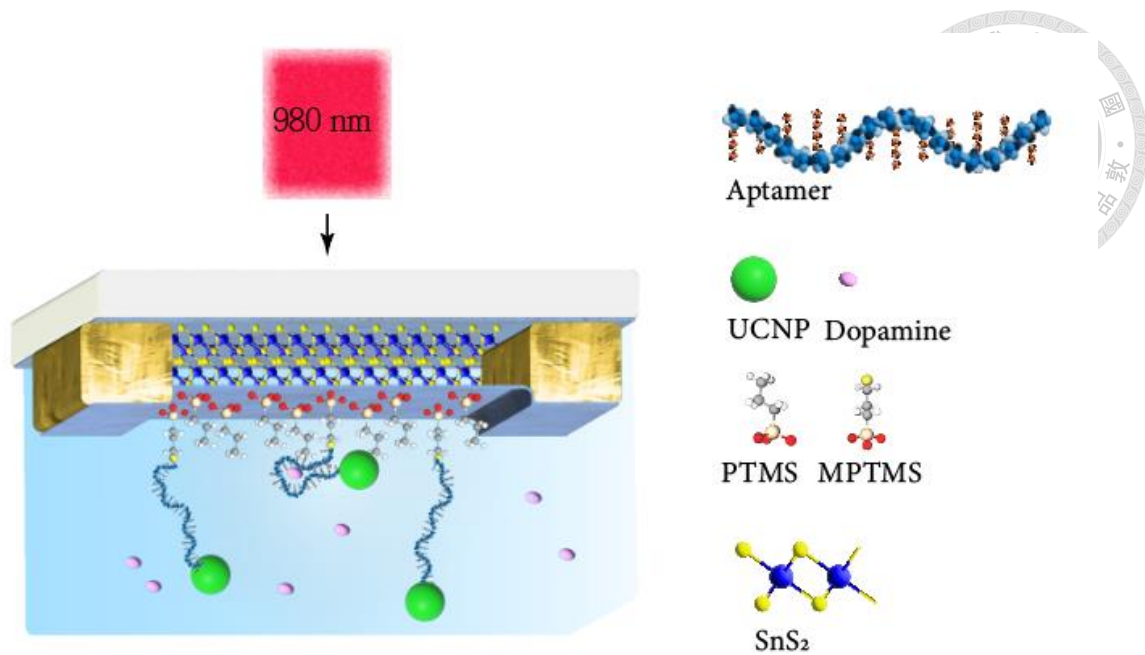


Fig. 7 UCNP/APT/SnS₂-FET 偵測多巴胺之示意圖 UCNP/APT/SnS₂-FET 與微流道系統的結合，實驗中以 980 nm 雷射激發 UCNPs 發射綠光，綠光被 SnS₂ 吸收產生光電流，透過適體與目標分子結合時，適體結構的改變，拉近 UCNPs 與 SnS₂ 的距離，產生更強的光電流，此訊號即做為我們分析樣品濃度的依據。

總結來說，本研究的設計融合了多種技術和材料，以提高 FET BIOSENSOR 在高鹽環境下的偵測效能。我們的結果顯示，這種新型的 UCNP/APT/SnS₂-FET 能有效地克服德拜屏蔽效應，提高偵測的靈敏度和選擇性，並有潛力在生物體液中實現實時偵測生物分子。

Chapter 2 實驗方法



2.1. 上轉換奈米粒子的合成與表面修飾

本研究使用熱裂解法合成 UCNP⁽²²⁾, 熱裂解法是一種被廣泛應用於合成上轉換奈米粒子 (UCNP) 的方法。這種方法主要利用高溫環境促使前驅物質迅速轉化為奈米粒子。具體來說, 氟化鈉釷 (NaYF₄) 摻雜了鐿 (Er) 和鉕 (Yb) 離子的 UCNP, 就可以通過熱裂解法來合成。

首先, 我們會將鈉、鐿、鉕、和氟的前驅物質混合在有機溶劑中。這些前驅物質在溶劑中形成均質的混合物, 確保最終奈米粒子的均勻性。然後, 我們將這種混合物加熱至高溫, 以促使前驅物質經由熱裂解反應形成 UCNP。在此過程中, 溫度的控制尤為重要, 它影響著奈米粒子的結晶性和尺寸分佈。最後, 我們將會利用洗滌和離心等步驟來分離和純化所得到的 UCNP。此時得到的 UCNP 就已經可以進行後續的修飾和應用。透過熱裂解法, 我們可以得到高品質, 且尺寸、形狀均勻的 UCNP。這種方法的靈活性和便捷性, 使得它成為了合成 UCNP 的首選方法。

2.1.1. Core UCNP 合成

1. 取乙酸釷水合物 (Y(CH₃CO₂)₃ hydrate, 99.9%, 200 mg), 乙酸鐿水合物 (Yb(CH₃CO₂)₃ hydrate, 99.9%, 70 mg), 乙酸鉕水合物 (Er(CH₃CO₂)₃ hydrate, 99.9%, 7 mg) 與 1-十八烯 (1-octadecene, 15 mL), 油酸 (oleic acid, 9 mL) 加入 100 mL 三頸圓底瓶
2. 架設迴流裝置, 在真空系統經磁石攪拌迴流並加熱上升至 90°C, 待反應物溶解後 (約 5 分鐘), 加熱包溫度設定至 50°C 並通入氮氣, 此時溶液呈淡黃色
3. 等待降溫時準備以下溶液, 取氟化銨 (ammonium fluoride, 120 mg) 與氫氧



化鈉(sodium hydroxide, 80 mg) 溶於甲烷 (methanol, 5 mL)

4. 當加熱包溫度到達 50°C，緩慢加入上述甲醇溶液，等待反應 90 分鐘
5. 升溫至 70°C 除去甲醇(約 10 分鐘)
6. 停掉氮氣，開啟幫浦抽氣 10 分鐘，10 分後停掉幫浦，通氮氣並加熱至 300 °C 維持 30 分鐘
7. 關掉加熱包等待溫度降至 80°C，加入乙醇 (ethanol, 15 ml) 使 UCNP 沉澱
離心純化 3 次，得到白色晶體即為 Core UCNP
8. 加入 1 ml 環己烷溶解 UCNP

2. 1. 2. Core-Shell UCNP 合成

1. 取 $Y(CH_3CO_2)_3$ hydrate (99.9%, 100 mg), 與 1-octadecene (7.5 mL), oleic acid (4.5 mL) 加入 100 mL 三頸圓底瓶
2. 架設迴流裝置，在真空系統經磁石攪拌迴流並加熱上升至 80°C，，加熱包溫度設定至 50°C 並通入氮氣
3. 等待降溫時準備以下溶液，取 ammonium fluoride (60 mg) 與 sodium hydroxide (40 mg) 溶於 methanol (2.5 mL)
4. 當加熱包溫度到達 50°C，緩慢加入上述甲醇溶液，等待反應 90 分鐘
5. 取 500 μ l Core UCNP 溶液加入至圓底瓶
6. 升溫至 70°C 除去甲醇(5 分鐘)
7. 停掉氮氣，開啟幫浦抽氣 10 分鐘，10 分後停掉幫浦，通氮氣並加熱至 300 °C 維持 30 分鐘
8. 關掉加熱包，等待溫度降至 80°C，圓底瓶的溶液分到 4 管離心管中，每一管加入乙醇 (15 ml) 使 UCNP 沉澱，離心純化 3 次，得到白色晶體即為 Core-Shell UCNP



2.1.3. UCNP 表面二氧化矽修飾

1. 前述 Core-Shell UCNP 離心後用氮氣吹乾後，在離心管分別加入環己烷 (2 ml)，用超音波震盪分離 UCNP 後，將 4 管混合為 1 管，並加入環己烷至 9 ml
2. 緩慢加入辛基苯氧基聚(乙烯氧基)乙醇(Octylphenoxy poly(ethyleneoxy)ethanol, IGEPAL CO-520, 400 μ l) ，超音波震盪 1 分鐘，溶液應呈澄清透明
3. 加入 ammonium hydroxide (40 μ l)再超音波震盪 30 分鐘
4. 加入四乙氧基矽烷(Tetraethoxysilane, TEOS) (20 μ l) 並反應攪拌 20 小時
5. 加丙酮使產物沉澱，並以乙醇、去離子水比例 1 比 1 離心分離出產物得到表面為 SiO₂ 的 UCNP (Silica UCNP)

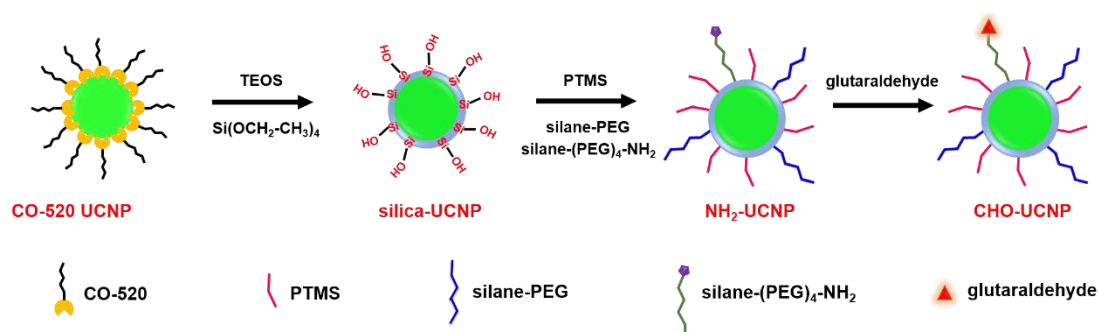


Fig. 8 UCNP 表面修飾 UCNP 首先被界面活性劑 CO-520 包覆，目的為分離每個 UCNP，加入 ammonium hydroxide 會使得 UCNP 表面產生 OH 基，TEOS 進一步與 OH 基反應得到表面為 silica 得 UCNP，接著修飾 3 種矽烷至 UCMP 上，得到 NH₂-UCNP，最後加入戊二醛與 NH₂ 反應得到 CHO-UCNP

2.1.4. UCNP 表面胺基修飾

1. 取 Silica UCNP(1 mg)溶於 1 ml 二甲基甲醯胺 (Dimethylformamide, DMF) 中，用超音波震盪使其分離
2. 加入 NH₂-(PEG)6-silane (9.8 μ l) m-(PEG)6-silane (6 μ l)



propyltrimethoxysilane (1.8 μ l)於室溫攪拌 1 hr

3. 使用 pH 7.4 之 1x PBS buffer 離心純化產物
4. 加入去離子水至 1 ml，用超音波震盪分離得 NH_2 -UCNP 溶液

2.1.5 UCNP 表面醛基修飾

1. 在 1 ml NH_2 -UCNP 溶液中加入 25% 戊二醛水溶液(111 μ l)與氰基硼氫化鈉 (Sodium cyanoborohydride, NaBH_3CN , 60 μ l)攪拌 2 小時，進行還原氫化反應
2. 用 1x PBS buffer 離心清洗 3 次，最後溶於 1 ml 1x PBS 中，得到 CHO-UCNP 溶液

2.2. 二硫化錫場效電晶體元件製作

2.2.1. 基板前處理

在製作各種電子或光電子設備，清潔基板的過程是關鍵的一步，它直接影響到設備的性能和可靠性。在此，我們選擇了單晶石英作為基板材料，其對 980 nm 波長的光穿透率達 90%，並進行了以下的清理程序。

首先，我們將石英基板分別置於丙酮、異丙醇和去離子水中，並進行超聲波震盪。每種溶劑的清洗時間都為 10 分鐘。這個過程可以有效地去除基板表面的有機污染物。丙酮是一種強有力的溶劑，能溶解許多有機物質；異丙醇則有助於去除殘留在基板表面的丙酮；最後用去離子水進行清洗，能去除可能殘留的無機鹽類。

接著，我們進行了氧氣電漿處理。石英基板被置於 30 W 的氧氣電漿中，氧氣流速為 30 sccm，處理時間為 3 分鐘。在電漿中，氧氣分子被離子化，生成活性氧種，這些活性氧種會進一步與基板表面的有機物反應，形成可揮發的產物而被去除。同時，電漿處理還可以使基板表面形成氫氧基，增加基板的親水性，有利於後續的材料修飾。

通過上述的步驟，我們能有效地清潔乙石英基板，為後續的設備製作提供良好的基礎。



2.2.2. 底部氧化層制備

原子層沉積 (Atomic Layer Deposition, ALD)⁽²³⁻²⁵⁾ 是一種極其精確的薄膜沉積技術，對於我們在石英基板上製備 5 奈米厚度的二氧化鈦 (TiO₂) 層具有無與倫比的優勢。這種方法的基本原理是進行自我終止的化學反應 (Self-Limiting Reaction)，確保每一個反應週期都只沉積一個原子厚度的材料，進而實現對薄膜厚度與組成的優異控制。

ALD 過程主要分為四個步驟：Pulse、Purge、吸附和反應。在 Pulse 階段，一種前驅物氣體被引入反應腔體，該氣體與基板表面的活性位點 (Active Site) 進行化學反應，形成一層單原子厚的物質。這種反應是自我終止的，因為一旦基板表面的活性位點全部被前驅物氣體占據，反應就會停止。接下來，用純淨的氣體（如氮氣）進行 Purge，將反應腔體中尚未反應的前驅物氣體與反應副產物徹底清除。然後，在吸附階段，另一種前驅物氣體被引入反應腔體，與先前形成的鈦層進行化學反應，形成二氧化鈦。同樣地，這個反應也是自我終止的。最後，再次進行 Purge，將尚未反應的前驅物氣體與反應副產物清除。通過反覆進行這種週期，我們可以精確地控制二氧化鈦薄膜的厚度。

經由原子層沉積法精密合成的二氧化鈦薄膜，在我們的設計中扮演了一個關鍵的角色，特別是在降低石英基板上的 trap states 方面展現出獨特的優勢。二氧化鈦薄膜的主要功能是作為閘極氧化層，它的卓越的界面特性，使得我們能在保持低的 trap states 同時，也能有效地控制電場。Trap states 是半導體或絕緣體內部的局部化態，它會捕獲電荷並阻止電荷遷移，進而影響到電子裝置的性能。在傳統的 FET 設計中，二氧化矽 (SiO₂) 是一種常用的閘極氧化層材料，然而，其表面粗糙度和化學不均勻性可能會導致較高的 Trap state，從而影響到電子裝置的



性能。

在我們的研究中，我們選擇了 ALD 技術在石英基板上製備二氧化鈦薄膜，主要基於以下考慮。首先，ALD 具有極高的表面覆蓋率和優異的均勻性，這使得它能夠準確地在不平整或高度微結構的表面形成薄膜，這對於製備 FET Biosensor 設備來說是非常重要的。其次，ALD 允許我們精確地控制薄膜的厚度和組成，這對於製備具有精確性能的電子設備來說也是關鍵的。最後，ALD 是一種低溫過程，對於處理溫度敏感的材料，如有機分子或生物分子，具有特殊的優勢。

在本研究中，我們使用了異丙醇鈦 (Titanium isopropoxide, TTIP) 與水作為前驅物，進行 ALD 製備的二氧化鈦薄膜。ALD 的步驟遵循一個週期性的過程，以下是具體的步驟：

首先，ALD 反應室內的基板被加熱至 150 °C。接著，我們將含有 TTIP 的前驅氣體引入反應室內。這些 TTIP 分子會與基板表面反應，形成一層含有鈦的化學吸附層。在這個過程中，異丙醇作為副產物被釋放出來。這個步驟持續到基板表面已經飽和吸附了 TTIP 分子，並且無法再繼續反應。

接著，我們將反應室內的氣體抽出，以除去殘留在反應室內的 TTIP 分子和釋放出來的異丙醇。這是一個非常重要的步驟，因為它能夠保證下一步的氧化反應只在基板表面上進行，並且不會形成氣相中的不必要的反應產物。

最後，我們引入水蒸氣，使得基板表面上的含有鈦的化學吸附層被氧化，形成一層二氧化鈦薄膜。這個氧化過程也是到基板表面的化學吸附層被完全氧化為止。完成這個步驟之後，一個 ALD 循環就完成了。

這樣一個循環會被重複進行 40 次，以獲得我們所需的薄膜厚度。透過這樣的 ALD 步驟，我們可以精準地控制薄膜的厚度以及化學成分，進而優化我們裝置的性能。

2.2.3. 以機械剝離法得到二維二硫化錫

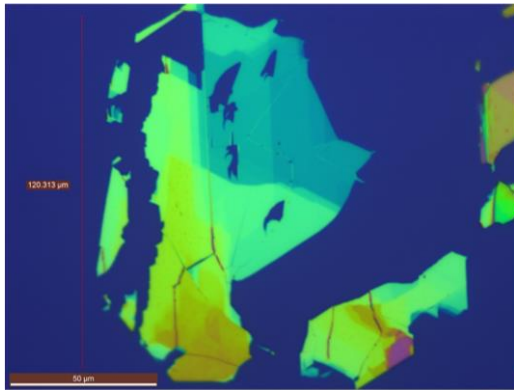
因二維材料層與層間為凡得瓦做用力⁽²⁶⁾，機械剝離法是一種簡單而有效的製備二維材料薄膜的技術，它基於物理作用，通過機械力使材料分離成更薄的層。該方法最早被用於獲取單層石墨烯，因其簡便、低成本和能夠產生高質量二維材料的優勢，如今已被廣泛應用於各種二維材料的製備，包括二硫化錫。

首先，我們使用 3M Scotch tape 將二硫化錫的塊材進行撕黏。通過反覆黏貼和剝離的動作，二硫化錫塊材會逐漸分裂成更薄的片狀結構，最終得到的是厚度在奈米級別的二硫化錫薄層。

接著，我們使用 PDMS stamp（一種以聚二甲基矽氧烷製成的膠印章）將膠帶上的二硫化錫轉移至石英基板上。PDMS stamp 具有良好的彈性和對微細結構的高度適應性，使其成為轉印二維材料至其他基板的理想工具。

最後，我們使用光學顯微鏡來觀察和選擇轉印後的二硫化錫薄層。通過固定顯微鏡的焦距和照明條件，我們可以由二硫化錫薄層的顏色推算其厚度(**Fig. 9**)。經過仔細選擇，我們可以找到厚度約為 20 奈米的二硫化錫，我們透過選擇固定厚度的 SnS₂ 以確保每個 FET 性能不會差太多。

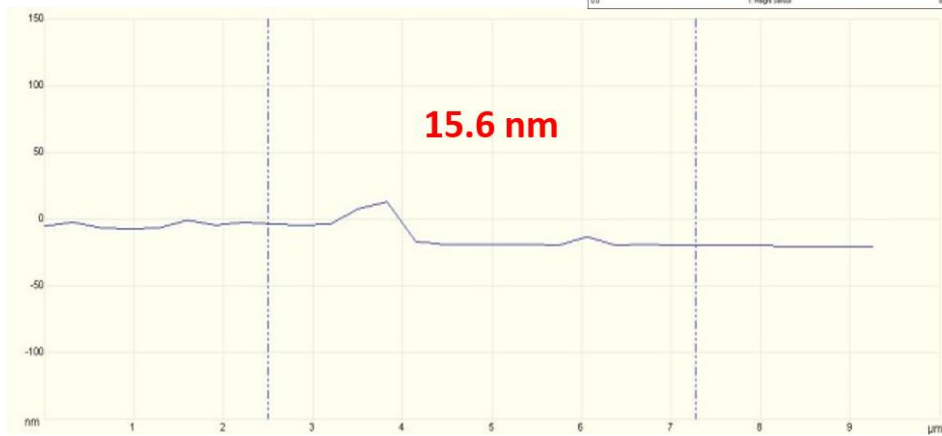
a



b



c



d



Fig. 9 SnS₂ 影像 (a)光學顯微鏡下 SnS₂ (b) AFM 影像 (c-d)分別表示(b)中紅線 1 與紅線 2 得高度分析，我們選用淺藍綠色的 SnS₂ 薄片做為通道材料



2.2.4. 微影

微影過程是製作電路圖案的關鍵步驟，通常被廣泛應用於製作高解析度且複雜的微奈米電子元件。這項技術被用於定義電路的結構和形狀，其微小的尺寸範圍可以達到奈米尺度。

我們使用黃光微影來製作電路的模板。這一步的過程主要包括光阻塗佈、曝光、以及顯影。在塗覆了正光阻的基板上，我們將其曝光於紫外光之下，紫外光通過預先設計的光罩，在光阻上形成了預定的電路圖案。然後，在顯影步驟中，被曝光的光阻部分將被溶解，形成電路圖案。

1. 利用旋轉塗佈(500 rpm 5 秒, 4000 rpm 40 秒)的方式將正光阻 S1813 塗佈在含有 SnS_2 薄膜的石英基板上
2. 將石英基板放在 $110\text{ }^\circ\text{C}$ hot plate 上加熱 90 秒，目的為使光阻溶劑揮發，穩定光阻結構
3. 使用雙面對準光罩機將光罩圖案對準 SnS_2 薄片
4. 使用紫外線進行曝光，曝光劑量為 100 mJ/cm^2
5. 將曝光後石英基板浸泡在 2% 四甲基氫氧化銨溶液中(15 秒)，洗掉被曝光部分的光阻
6. 以去離子水沖洗石英基板 45 秒，除去表面殘留的四甲基氫氧化銨
7. 用氮氣吹乾石英基板

2.2.5. 以蒸鍍與濺鍍制備電極

蒸鍍和直流 (Direct Current, DC) 濺鍍是兩種常用的物理氣相沉積 (PVD) 技術，這兩種技術都被廣泛用於微奈米電子元件的制備。

首先，蒸鍍是一種熱過程，通常用於沉積金屬薄膜。在這個過程中，金屬材料被加熱到足夠高的溫度使其蒸發。蒸發的金屬原子會沿著真空腔內的壓力梯度飛行，最後沉積在基板上，形成一層薄膜。這種方法的一個主要優點是能制備出

非常純淨和均勻的薄膜。

而直流濺鍍則，它使用高壓直流電場來離子化氣體並激發出金屬原子。這些金屬原子會撞擊基板並沉積在其上，形成薄膜。在 DC 濺鍍過程中，氣體離子的能量可以被細微調整，這使得我們能精確控制薄膜的結構和形貌。而且，與蒸鍍相比，DC 濺鍍更適合於沉積多種不同材料的多層薄膜。

我們首先以 DC 濺鍍鍍 5 nm 的鉻再以蒸鍍鍍 50 nm 的金

1. 將微影後的基板放入反應槍體中，並將真空抽至 3×10^{-6} torr 以下
利用 DC 濺鍍方式鍍 5 nm 鉻薄膜至基板(使用 30 sccm 的 Ar 產生電漿)，調整電壓電流使鍍率控制在 0.5 \AA/s ，鍍鉻的目的是作為粘合層使今更容易附著在基板上
2. 使用直流電加熱金錠使其揮發，控制在鍍率 0.5 \AA/s 鍍 50 nm 的金
3. 使用丙酮溶解光阻的部份得到具有源極與汲極的 SnS_2 裝置

2.2.6. 上層氧化層制備

本研究中再以 ALD 進行上層氧化層的沉積，作為 gate oxide 與後續化學修飾使用，並透過沉積不同的 oxide($14 \text{ nm Al}_2\text{O}_3$, 3 nm TiO_2)來避免 Cr/Au 電極與待測目標溶液漏電產生電流，而產生干擾實驗的訊號。方法與前述底部氧化層的沉積相同。

1. 將含有電極的 SnS_2 裝置放入反應腔體加熱至 120°C ，使用三甲基鋁 (Trimethylaluminum, TMA) 與水作為前驅物進行 56 個 cycle 得約 14 nm 的 Al_2O_3
2. 反應腔體加熱至 150°C ，使用 TTIP 與水作為前驅物進行 25 個 cycle 得約 3 nm 的 TiO_2



2.3. 光電場效電晶體表面修飾

2.3.1. 矽烷自組裝單層修飾

自組裝單層⁽²⁷⁾ (Self-Assembled Monolayers, SAM) 是一種有助於提升材料界面特性的技術，其中矽烷自組裝單層修飾在 TiO_2 上的應用，被證明對提升其表面活性具有相當的效果。矽烷是一種含有矽的有機化合物，其中含有活性的矽-羥鍵，這讓其能與氧化物表面，例如 TiO_2 ，形成強烈的化學鍵結。修飾過程主要包括將 TiO_2 暴露在含有矽烷的溶液中，矽烷分子會通過自發性反應與 TiO_2 表面形成鍵結，生成一層整齊有序的自組裝單層。

本研究中修飾矽烷的目的，是為了後續修飾受體 DNA Aptamer 與控制受體的密度。

1. 以 95% 乙醇最為溶劑，將兩種矽烷 MPTMS 與 PTMS 比例 1:9 混和，配置總濃度為 1% (w/w) 的矽烷融業
2. 將此溶液滴在 TiO_2 表面，放置於密閉的環境 1 小時
3. 使用乙醇沖洗矽烷修飾後的 TiO_2 表面
4. 將基板放至 110°C 的烤盤加熱 2 小時，形成 Si-O-Si 鍵結以穩定 SAM 結構

2.3.2. DNA Aptamer 修飾

接著將受體 DNA Aptamer ($\text{NH}_2\text{-CTC TCG GGA CGA CGC CAG TTT GAA GGT TCG TTC GCA GGT GTG GAG TGA CGT CGT CCC-SH}$) 修飾於矽烷組成之 SAM 上，這個步驟中利用 MTPMS 的硫醇與受體的硫醇反應形成雙硫鍵，同時上一步中使用 1:9 的矽烷混和物，由於 PTMS 中的甲基無法與受體發生化學反應，故能有效控制受體的表面密度。

1. 配置 $10\ \mu\text{M}$ Aptamer 溶液於 2 倍檸檬酸鈉鹽緩衝液 (saline-sodium citrate, SSC) 中
2. 配置 $2\ \text{mM}$ 三(羧乙基)磷 (Tris(2-carboxyethyl)phosphine, TECP) 於去離子



水中

3. 取 10 μL Aptamer 溶液加入 2 mM, 10 μL TECP 混合在 37°C 反應 10 分鐘，目的為切斷 Aptamer 與 Aptamer 間形成的雙硫鍵
4. 將該溶液滴至基板表面，在密閉容器中其反應 12 小時，使 Aptamer 與 MPTMS 形成雙硫鍵
5. 使用 1x PBS 沖洗 3 次，去掉表面殘留的液體，再以太離子水沖洗，並用氮氣吹乾

2.3.3. UCNP 修飾

利用 CHO-UCMP 的醛基與 Aptamer 的 NH_2 進行還原氨化反應，進一步將 UCNP 接到 Aptamer 上

1. 取先前配置好的 CHO-UCNP 溶液加入 NaBH_3CN (到 4 mM)滴至基板表面，在密閉空間反應 16 小時
2. 使用 1x PBS 沖洗 3 次，去掉表面殘留的液體，在以太離子水沖洗，並用氮氣吹乾
3. 配置含有 4 mM NaBH_3CN 的 5 mM 乙胺(ethylamine)溶液，滴至基板表面與 UCNP 中未反應的醛基反應形成氨基，在密閉空間反應 2 小時，此步是為了防止待測目標多巴胺在實驗中會與 UCNP 上的醛基反應形成亞胺
4. 使用 1x PBS 沖洗 3 次，去掉表面殘留的液體，再以太離子水沖洗，並用氮氣吹乾

2.4. 光電場效電晶體生物感測器

2.4.1. PDMS 微流道合成

微流道是一種微米級的管道系統⁽²⁸⁾，可以控制與導引流體的流動。在 FET Biosensor 中，微流道能夠將待測樣品準確地引導至感測區域，確保樣品在感測區的均勻分佈，提升感測的準確性。

這種精細的流體控制還可以減少樣品的消耗量，增加測試的靈敏度。當需要進行多種樣品的同時測試時，微流道技術也能實現多通道、平行處理的功能，提升生物感測器的效率。



1. 將 PDMS A 劑與 PDMS B 劑以 10:1 比例混和在離心管中，均勻攪拌至管內有大量空氣泡沫
2. 將混合液放入乾燥器內，抽真空去除泡沫
3. 將混合液注入一含有長方體 5 mm*500 μ m*500 μ m 凸起的模具，放入預熱至 80°C 的烘箱中 30 分鐘，得到一含有微米通道的 PDMS

2.4.2. 生物感測器的組裝

1. 製作簡單設計含有金焊盤的印刷電路版(Printed wire board, PCB)，用銅膠帶固定基版於 PCB 上
2. 透過打線機，用直徑 30 μ m 的鋁線連接 Cr/Au 電極與金焊盤
3. 將微流道的兩端連接聚乙烯管(polyethylene tube)，並貼在 SnS₂ channel 上方
4. 最後以壓克力板加工的鎖具，固定住整個裝置

2.4.3 生物感測實驗

1. 金焊盤的兩端連到 Keithley 6487 Picoammeter 輸出電壓，並讀取電流
2. 調整 980 nm 近紅外光雷射至 SnS₂ channel 上方 5 公分處
3. 兩根 Polyethylene Tube 一端接到待測溶液，一端接到注射幫浦，透過注射幫浦控制液體流速為 5 μ l/min
4. 設定 UCNP/APT/SnS₂-FET 偏壓 0.5 V，並流入樣品，調整紅外光雷射強度，以 Keithley 6487 Picoammeter 結合 LabView 介面，讀取 real-time data

Chapter 3. 結果討論

3.1. 二硫化錫鑑定



本研究以 X 射線繞射 (X-ray diffraction, XRD) 與高解析度穿透式電子顯微鏡 (High Resolution Transmission Electron Microscope, HR-TEM) 來鑑定 SnS₂ 薄片的晶形。

XRD 對於確認二維材料的晶體結構，具有其重要性。XRD 光譜是一種強大的工具，能夠評估材料的晶格結構和尺寸。當 X 射線撞擊樣品時，會在特定的角度上產生繞射。這些繞射樣態與材料的結構有著密切的關係。透過分析繞射峰的位置、強度和寬度，我們能夠獲得大量有關晶體的信息，如晶格參數、晶體尺寸、結晶度等等。對於二維材料來說，由於其具有極薄的厚度，XRD 光譜更是不可或缺的工具，它能幫助我們確定這些材料的晶體結構，並揭示其內部的晶體排列。

HR-TEM 則是一種能夠觀察材料內部結構的強大工具，特別適合用於研究奈米級和亞奈米級結構。HR-TEM 的工作原理是利用電子束穿透薄樣品，從而獲取樣品的內部信息。HR-TEM 不僅可以獲得樣品的形貌信息，還可以通過電子繞射或者像差糾正來獲得實空間和倒空間的結構信息。因此，HR-TEM 能夠對二維材料進行直接的、原子分辨的觀察，是理解這些材料內部結構的強大工具。HR-TEM 還能與能量色散 X 射線光譜 (Energy-dispersive X-ray spectroscopy, EDS) 或者電子能量損失光譜 (Electron energy loss spectroscopy, EELS) 等技術結合，進一步得到元素分佈、化學狀態等信息，這對於了解二維材料的物理和化學性質具有重要的作用。

Fig. 10a 從 X 光繞射圖譜可以得知 SnS₂ 具有六面體晶格的結構，進一步由 HR-TEM 檢驗 (Fig. 10c) 證明其為單晶六面體的結構，Fig. 10d 元素分析顯示 Sn:S 的原子數比例為 1:2，Fig. 10e 與 Fig. 10f 也可以看出不論是 Sn 還是 S，都是均勻分佈在晶體上。

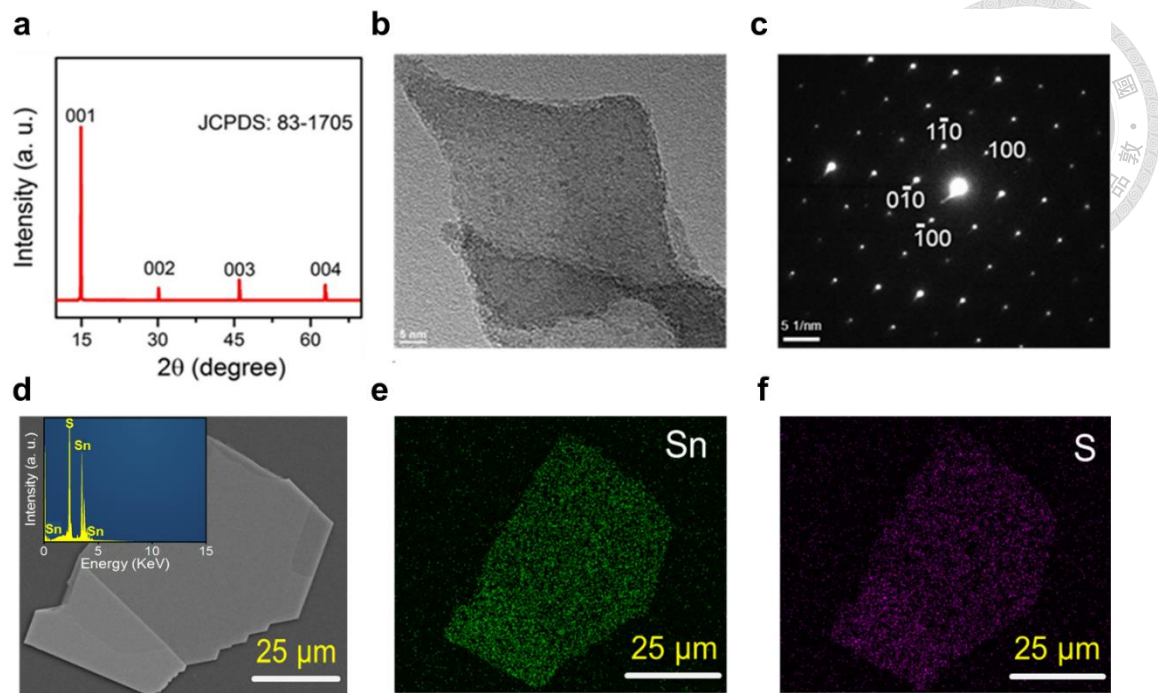


Fig. 10 SnS₂ 晶體之 X 射線繞射和電子顯微鏡的特性測定。(a) SnS₂ 晶體的 X 射線繞射光譜。(b) 高分辨率穿透式電子顯微鏡(HR-TEM)圖像，(c) 選區電子繞射(Selected area diffraction, SAED)圖樣，(d) 電子顯微鏡圖像(插圖顯示能譜分析 EDS 光譜) 以及 (e-f) 機械剝離 SnS₂ 薄膜之元素分佈素像圖。

3.2. 上轉換奈米粒子

本研究中上轉換奈米粒子負責產生綠光，並被 SnS₂ 吸收進一步產生光電流，因此嚴格的檢驗其大小是否均勻分佈，與其發光的強度對於後續生物感測實驗是有必要的。Fig. 11a 可以看出 Core UCNP 為六邊形，大小約在直徑為 5 ± 1 nm 的範圍，且呈現均勻分佈，Fig. 11b 則可以看到其晶格排列。

Fig. 11c 為 CHO-UCNP 的 HR-TEM 圖像，其邊緣有一層無晶形的膜狀物包覆在其表面，可以驗證本研究中在 UCNP 的表面進行的修飾確實有成功。

Fig. 11d 展示以 980 nm 雷射激發 UCNP 並檢測發光光譜，顯示在 530 nm (綠光) 與 630 nm (紅光) 有強烈的發光，與其他文獻的 NaYF₄:Yb, Er 之光譜一致⁽²⁹⁾

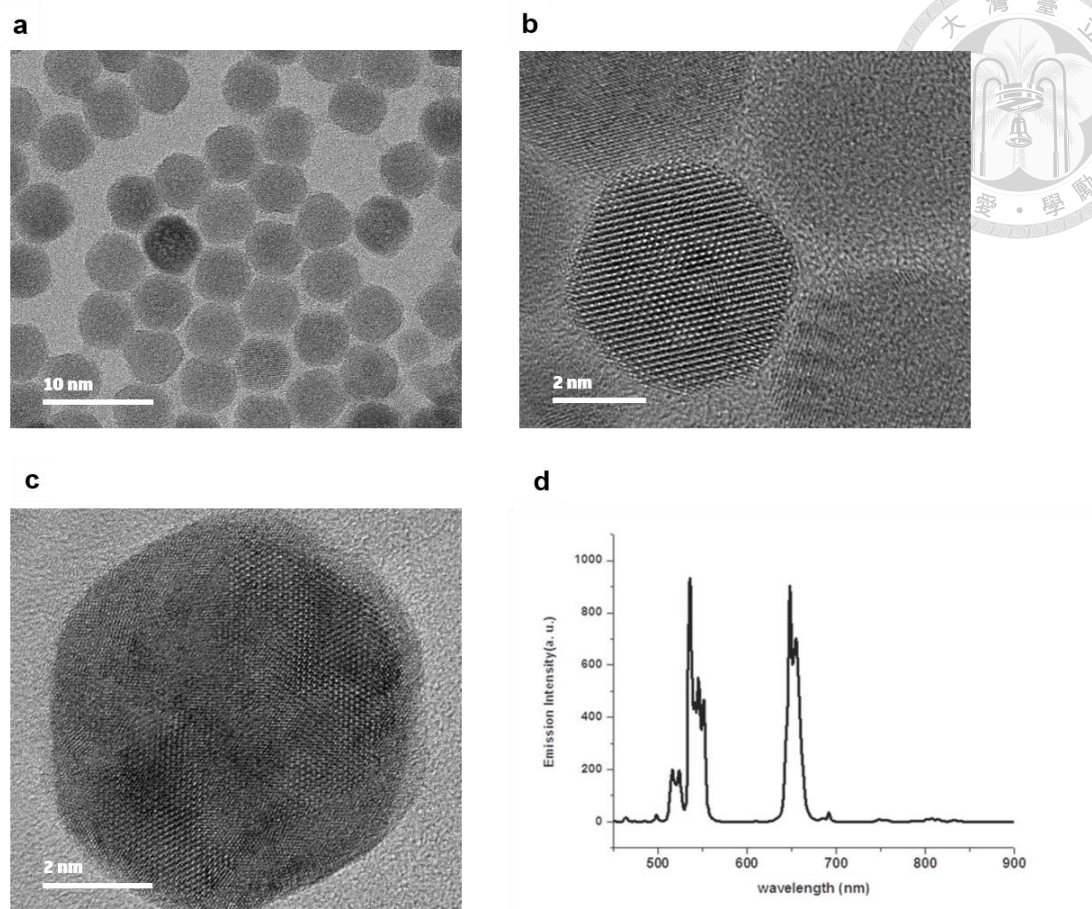


Fig. 11 UCNP 之電子顯微鏡和發光光譜的特性測定。(a-b) Core UCNP 之 HR-TEM 圖像 (c) CHO-UCNP 之 HR-TEM 圖像 (d) CHO-UCNP 之發光光譜圖

3.3. SnS₂ 元件電性量測

在進行表面修飾前，對二硫化錫場效電晶體進行電性量測是至關重要的一步。這是因為透過這種量測，我們可以確定 SnS₂-FET 的基本電性能，為後續的表面修飾或應用定下基線。這不僅為我們提供了一個參考點，以評估修飾如何改變電晶體的性能，也能幫助我們辨識出可能出現的問題，並在進行更多修改之前解決。

SnS₂-FET 的電性包括閾值電壓、電流開關比例、載子遷移率等多種關鍵參數。這些參數的優劣會影響到後續實驗步驟的設計和優化，並且有助於達到我們對裝置性能的預期。

同時，預先的電性量測也有助於我們評估 SnS₂-FET 的穩定性和可靠性。我們可以通過量測其電性在不同條件下（例如，不同的溫度、環境等）的變化，以評估其在真實應用環境中的性能。如果我們發現電性在特定條件下有顯著的變差，那麼我們可能需要進一步優化製程，以改善其性能。

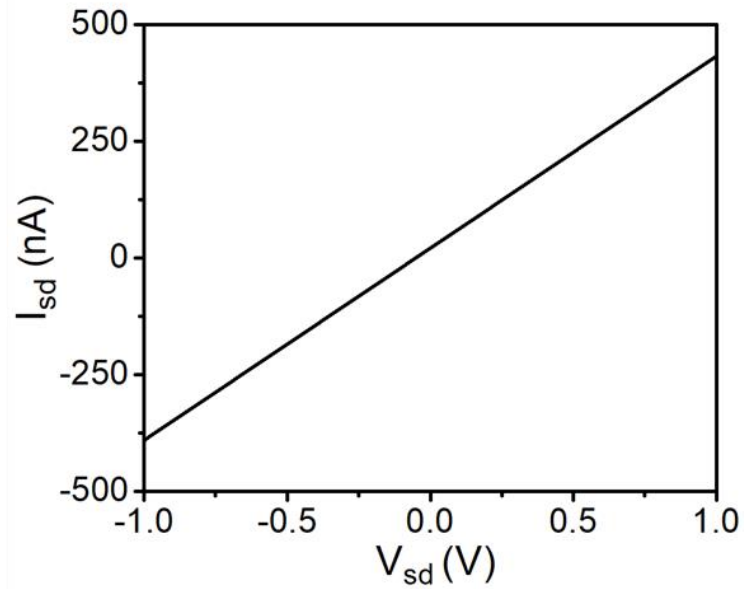
最後，對 SnS₂-FET 進行電性量測也能夠為我們提供反饋，以優化我們的製程和設計。例如，我們可以通過觀察電性量測結果，了解到製程中的某些步驟可能導致電性的降低或不穩定，並因此對製程進行調整。同時，量測結果也能為我們提供有價值的信息，以了解 SnS₂-FET 對於不同類型的表面修飾的反應，並選擇最適合的修飾策略。

對 SnS₂-FET 進行電性量測，是進行表面修飾前不可或缺的步驟。這個步驟對於確保裝置的性能，以及我們對裝置性能的理解，都至關重要。只有對基本電性有深入的了解，我們才能有效地設計和實施更進一步的優化策略。

從 Fig. 12 中 $I_{sd}-V_{sd}$ 由線性關係，可以看出 SnS₂-FET 為良好的歐姆接觸。載 FET 中有良好的歐姆接觸的重要性不容忽視。首先，良好的歐姆接觸可保證電流通過接觸區與半導體之間的阻抗呈最小化，從而達到高效的電子傳輸，進一步提高 FET 的性能。若缺乏歐姆接觸可能會引入電阻，從而導致電流通受阻，降低電晶體的性能。

其次，良好的歐姆接觸有助於消除肖特基障礙⁽³⁰⁾ (Schottky barrier)。肖特基障礙是金屬與半導體接觸區形成的能障，會阻礙載子（電子或電洞）的流動。當存在肖特基障礙時，載子需要獲得一定的能量才能跨越這個障礙，否則就會在金屬和半導體接觸處堆積，影響 FET 的開關行為和遷移率，進而降低元件的性能。

a



b

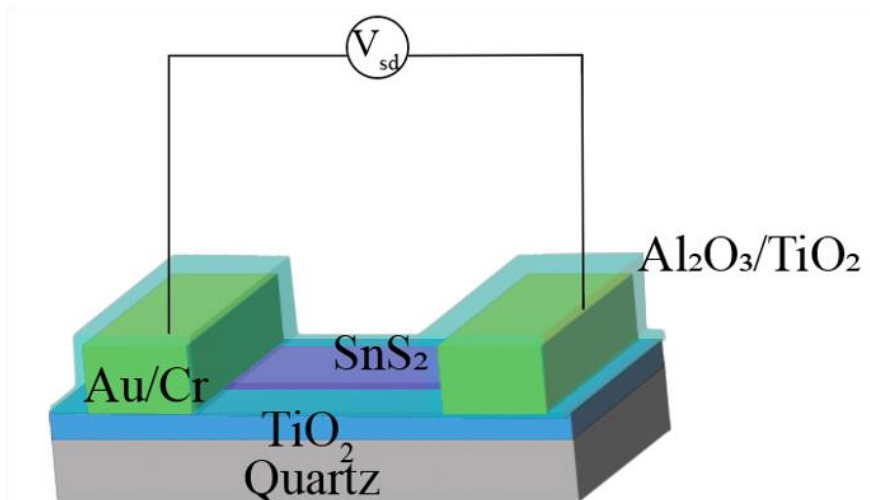


Fig. 12 SnS₂-FET V_{sd} - I_{sd} 特性 (a) FET 之 V_{sd} - I_{sd} 關係圖 (b)測量方式之示意圖

對於 FET Biosensor 而言，輔導(Transconductance)具有關鍵性的重要性，輔導是描述元件對輸入信號的靈敏度，它是電流變化與電壓變化的比率。在 FET Biosensor 中，高輔導是必需的，因為它決定了傳感器對於生物分子變化的靈敏度。當一個生物分子綁定到 FET Biosensor 的表面時，它會導致電場的改變，進而影響載子的分佈。這種變化可以通過轉導來量化。

簡單來說，輔導越高，FET Biosensor 對生物分子的變化就越敏感，即它的檢測限越低。因此，輔導直接影響 FET Biosensor 的性能，包括它的靈敏度和檢測限。這在許多關鍵的生物檢測應用中都是極其重要的，如早期疾病診斷、病原體檢測等。所以，優化 FET Biosensor 的輔導是提高其性能的一個重要方向。

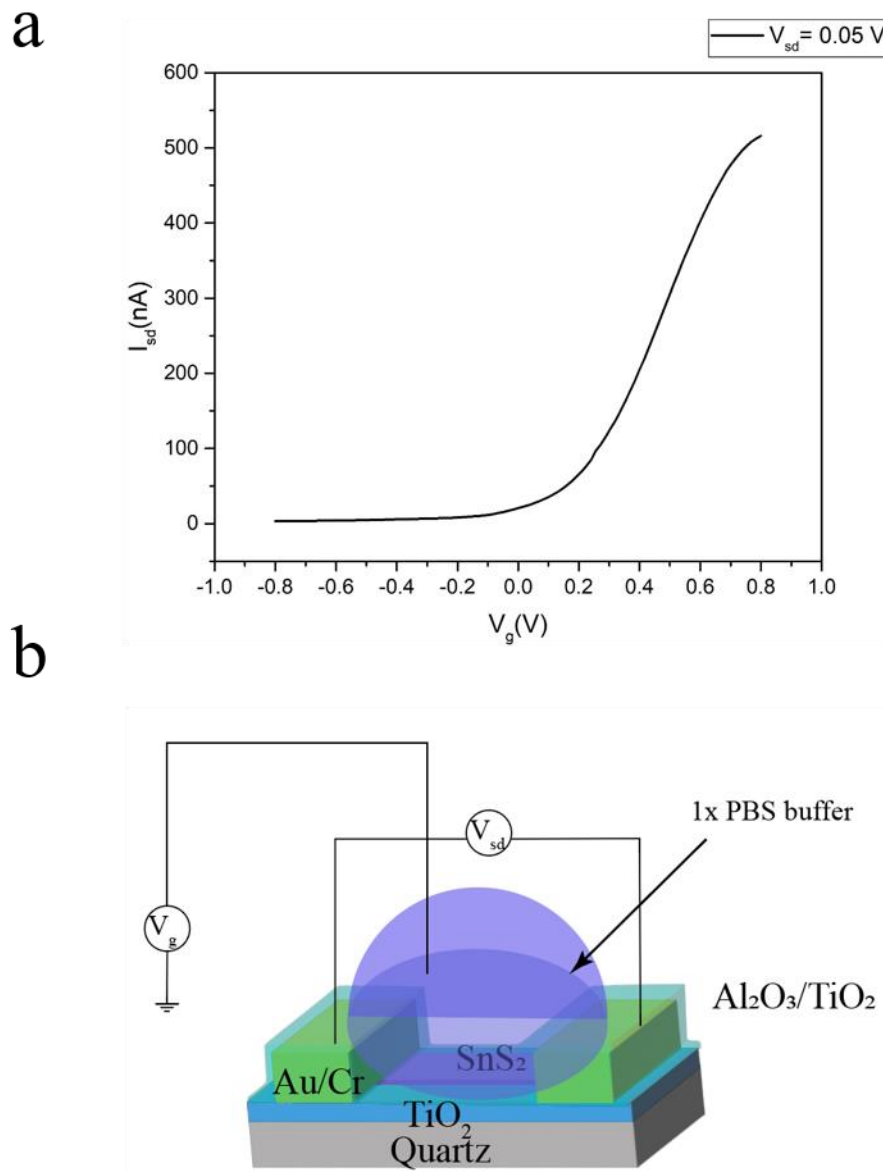


Fig. 13 SnS₂-FET V_g - I_{sd} 特性 (a) FET 之 V_g - I_{sd} 關係圖 (b) 測量方式之示意圖

我們利用 solution gate 的方式，測量 I_{sd} 對 V_g 的變化進一步計算輔導，通常本研究中的 SnS_2 FET，輔導約在 $10^3 \sim 10^4$ nS



對於 FET Biosensor 而言，漏電流（從電極到待測溶液）會對其性能和準確性產生重大影響。這漏電流通常是由於電極和待測溶液之間的非完全隔離所引起的，可能會產生誤讀和雜訊，進一步影響了感測器對偵測生物分子的靈敏度和準確性。

首先，漏電流可以導致閾值電壓(threshold voltage)的偏移。閾值電壓是開啟 FET 的電壓，而漏電流會使這個閾值產生變化，影響元件的開關特性，可能會導致元件無法正確響應輸入信號。這在感測器中特別重要，因為我們需要能夠準確、可靠地偵測到生物分子的存在並轉換為電信號。

其次，由於電子從電極到溶液的漏電流，會在電極和溶液之間產生一個電位差，這會導致偽電位 (pseudo-potential) 的產生，從而影響生物分子的探測。在生物分子的電化學檢測中，我們需要確保電極和溶液之間的電壓穩定，任何的電壓變化都可能影響生物分子的檢測精度。

最後，漏電流可能會影響到 FET 的穩定性和壽命。一個持續的漏電流可能會導致電極材料的電化學腐蝕，導致元件性能下降，甚至損壞。此外，漏電流也可能導致敏感的生物分子受損，影響 FET 的靈敏度和檢測準確性。因此，要實現高性能的 FET Biosensor，必須確保良好的隔離，從而最小化漏電流，提高元件的性能和穩定性。我們對 SnS_2 FET 也進行了漏電流的檢測(Fig. 14)，本研究中漏電流最少都是 I_{sd} 的千分之 1 以下。

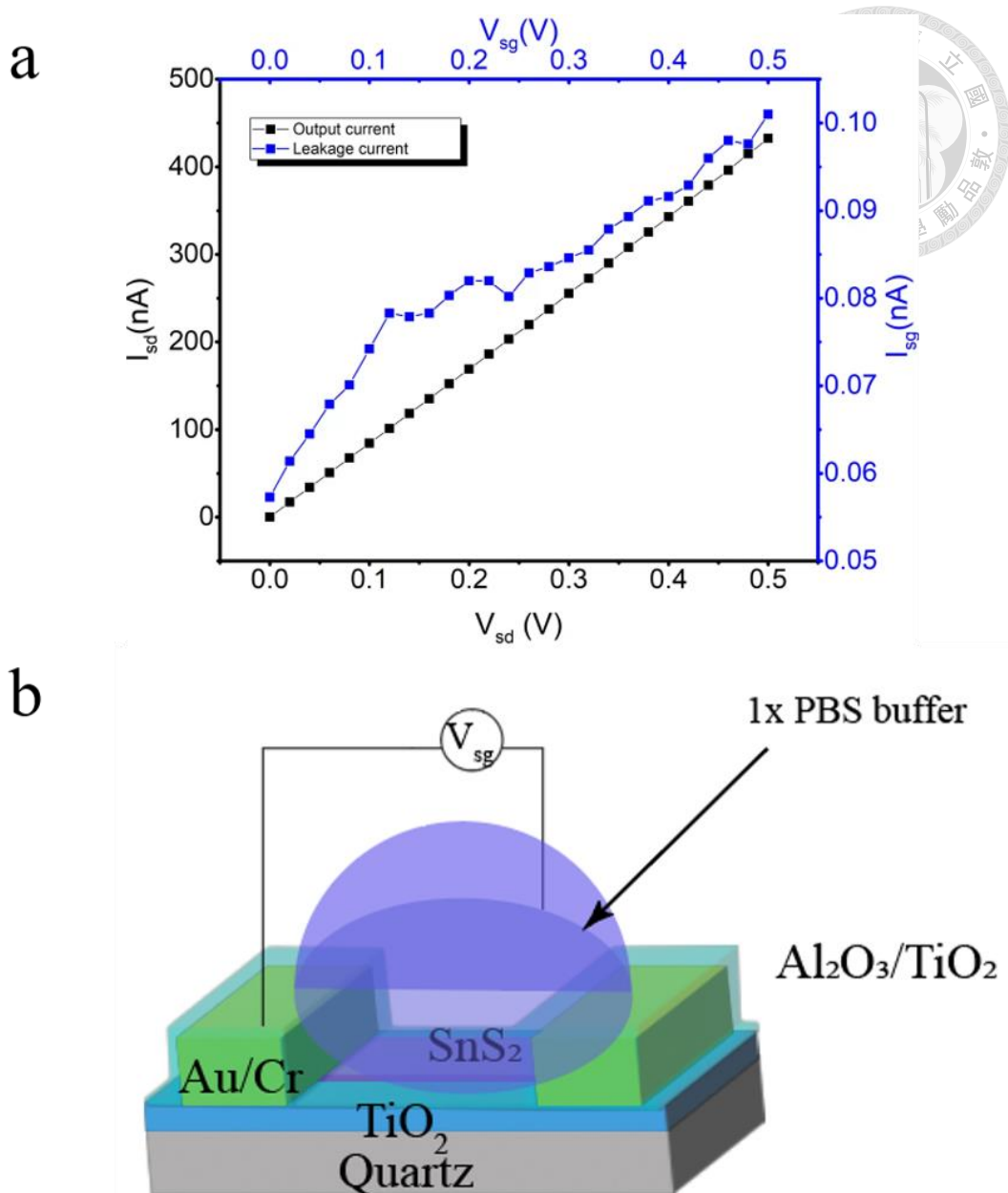


Fig. 14 SnS₂ FET Leakage current (a) V_{sd} - I_{sd} 與 V_{sg} - I_{sg} 之比較 (b)漏電流測量方式之示意圖。平均來說在 $V_{sd} = 0.5$ V 時，FET 之 I_g/I_{sd} 至少小於 0.1%

3.4. 受體修飾在 TiO₂ 表面之鑑定

本實驗分別以直接性與間接性的方法，檢驗對 SnS₂-FET 的表面修飾。

3.4.1. 共軛焦螢光影像

共軛焦螢光影像學 (Confocal Fluorescence Microscopy) 是一種常用的分析

技術，特別適用於生物物理和生物化學的研究。此技術利用共軛焦顯微鏡的原理，結合螢光影像學，使研究人員能夠獲得生物樣品的空間解析度，並能夠識別和定量生物分子的螢光性質。



在共軛焦螢光影像學中，激發光源照射在特定的焦點上，並將螢光信號與其他無關的背景分離，實現了極高的空間解析度。而螢光影像提供了特定分子的光學特性信息，這對於理解生物系統中的分子交互作用、結構變化、能量轉移等現象至關重要。共軛焦螢光影像學的一個重要應用是在生物材料和細胞中研究分子間的相互作用。例如，透過追蹤螢光標記的分子，我們可以了解細胞內分子的運動和位置分佈，並能夠對細胞內的分子交互作用進行定量分析。

此外，透過選擇性地激發特定的螢光標記，共軛焦螢光影像學可以用來研究多種分子同時存在的系統。此技術不僅可以用於測量分子的螢光強度，還可以測量分子的螢光壽命、磷光壽命、和能量轉移效率等，這些都是瞭解分子結構和動力學的重要參數。

本研究中，為了證明 Aptamer 可以修飾在 SnS₂-FET 元件的 TiO₂ 表面上先以微影的方式製作光阻圖案，並修飾 MPTMS，再修飾受體 FITC-CTCTCGGGACGACGCCAGTTTGAAGGTTTCGTTTCGCAGGTGTGGAGTGACGTCGTCCC-SH，與生物感測實驗不同的是將受體的 NH₂ 改為螢光分子 FITC，最後將光阻洗掉，理想上在螢光影像中應該觀察到與微影中相同的圖案。

使用 490 nm 光激發 FITC 並觀察 520 nm 的波長，Fig. 15 可以觀察到確實與光照圖案相同且 Aptamer 均勻被修飾在 TiO₂ 基板上，證明 MPTMS 與 Aptamer 的修飾是成功的。

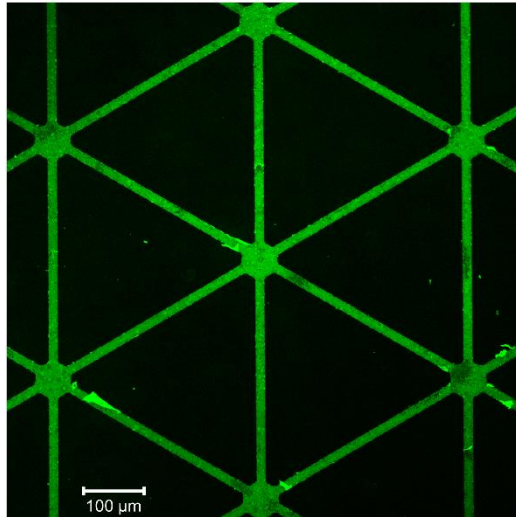


Fig. 15 FITC-Aptamer-SH 修飾於 MPTMS/TiO₂ 之螢光影像 螢光影像中的圖案與微影中使用的圖案相同，證明表現修飾的成功。

3.4.2. 閘極電壓檢測

為了檢驗可重複使用的 SnS₂ FET 的一系列表面修飾，我們也測量了 SnS₂ FET 的 $I_{sd} - V_g$ 曲線以確認每一個修飾。如 Fig. 16 所示的 $I_{sd} - V_g$ 曲線，SnS₂ FET 展示出 n 型半導體的特性。在修飾 MPTMS 後，在 1×PBS 中測量的 $I_{sd} - V_g$ 曲線向下移動，這是由於 MPTMS 的負電荷硫醇基團對 SnS₂-FET 產生了閘極效應。在 Apt 和 UCNP 修飾到 SnS₂-FET 後， $I_{sd} - V_g$ 曲線向上移動，這是由於 UCNP 對 SnS₂-FET 造成的閘極效應。然而，在二硫蘇糖醇(Dithiothreitol, DTT)處理剪斷雙硫鍵後， $I_{sd} - V_g$ 曲線向下移動並幾乎與 MPTMS/SnS₂-FET (Fig. 16) 的曲線重合。這個過程確認了 DTT 切斷了 Aptamer 和 MPTMS 之間的雙硫鍵，並將裝置表面恢復為 MPTMS/SnS₂-FET，從而證明了 SnS₂-FET 裝置的可重複使用性。

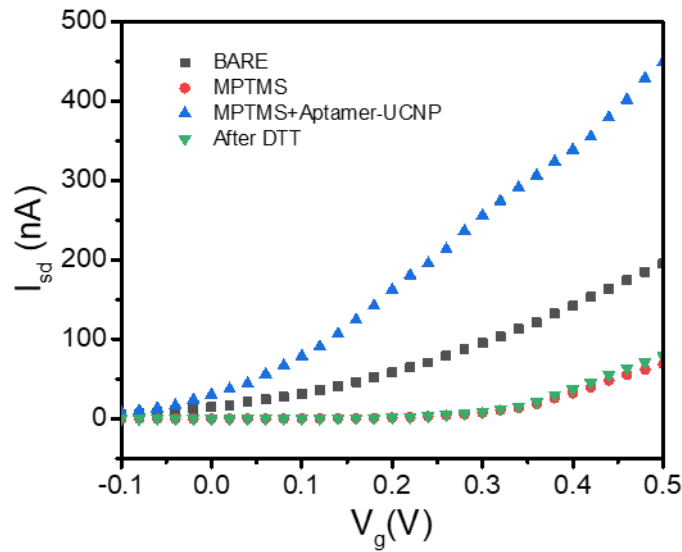


Fig. 16 在不同修飾後測量 SnS₂ FET 的 $I_{sd} - V_g$ 曲線。(黑)為未經修飾的 FET，(紅)為修飾 MPTMS 後 (藍)修飾 Aptamer 與 UCNP 後 (綠)用 DTT 切斷雙硫鍵後。thiol 之等電點(isoelectric point, pI)約為 6，UCNP 上有大量一、二級胺-NH₂/-NH，pI 約為 9，若 pI 小於溶液 pH 代表該分子會帶負電，反之亦然。

3.5. 多巴胺量測

光電晶體生物感測器在經過一系列的電性檢驗，確保其品質良好後，將組裝微流道系統，進行目標分子多巴胺的量測，研究在兩種環境下進行多巴胺的量測。

3.5.1. 多巴胺於 1x PBS 量測

首先是在 pH = 7.4, 1x PBS buffer (137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄, 2 mM KH₂PO₄, 2 mM CaCl₂, 2mM MgCl₂)中，1x PBS 常被用於模擬生物體溶液的環境模擬，德拜長度為 0.74 nm。我們配置不同濃度的多巴胺在 1x PBS 中，並觀察隨不同濃度之多巴胺以及不同 980 nm 雷射強度下，生物感測器的電流變化。

數據以 $\Delta I_{sd} / \Delta I_{sd}^{max}$ 對不同雷射強度與多巴胺濃度的變化來呈現(Fig. 17)，其



中 ΔI_{sd} 表示特定雷射強度與多巴胺濃度下其電流的變化， $I_{sd,buffer}^{IFD=0}$ 表示在 1x PBS 與不照雷射光下的 FET 電流， ΔI_{sd}^{max} 則表示最高濃度多巴胺與最高雷射強度下 FET 電流與 $I_{sd,buffer}^{IFD=0}$ 的差。

$$\Delta I_{sd} = I_{sd} - I_{sd,buffer}^{IFD=0}$$

$$\Delta I_{sd}^{max} = I_{sd,10nM}^{IFD=215} - I_{sd,buffer}^{IFD=0}$$

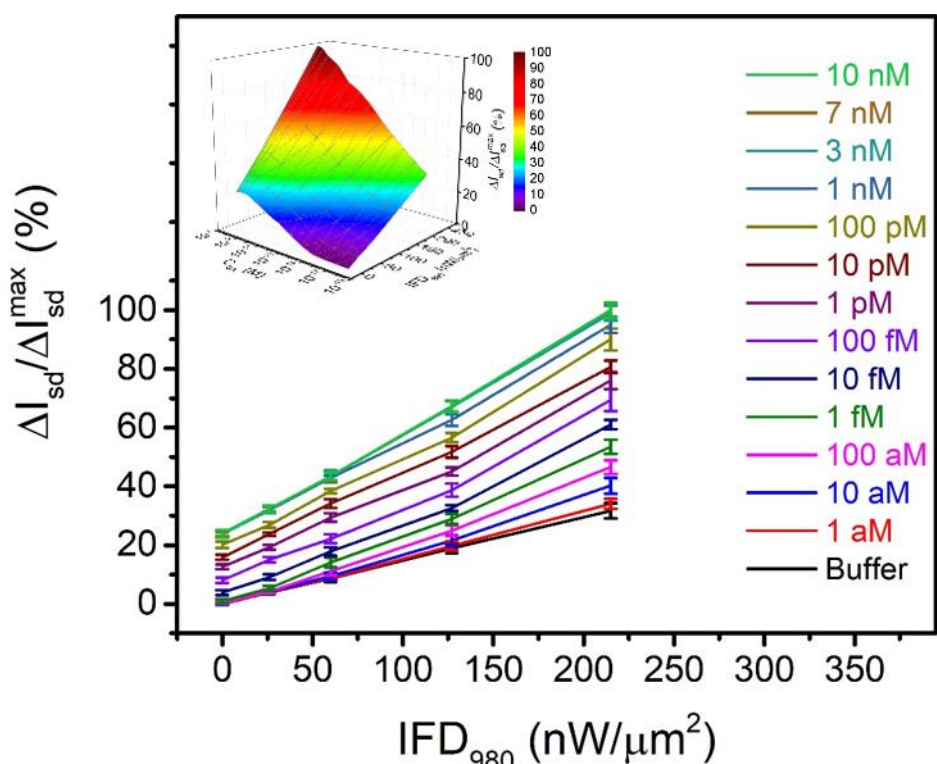


Fig. 17 1x PBS 中生物感測器之不同雷射強度與多巴胺濃度下電流變化。插圖為 3D 繪圖之表示方法。

可以看出電流隨著不同雷射強度的變化呈現線性的變化，在光強度為 215 nW/μm² 時，可以看出在多巴胺的濃度為 10 aM 時開始出現訊號，至 3 nM 濃度時飽和，我們進一步提取光強度為 0 nW/μm² 與 215 nW/μm² 的數據進行比較，觀察光電流的變化與影響。

依 Fig.17 的數據，這裡我們將先說明 Fig. 19 的作圖方法，以避免錯誤的理

解，首先我們就 Fig. 18 中取出 3 個不同濃度在沒照光與光強度為 $215 \text{ nW}/\mu\text{m}^2$ 的資料，總共有 6 個資料點(Fig. 19)定義如下

$$\text{Point A } \frac{I_{sd,buffer}^{IFD=0} - I_{sd,buffer}^{IFD=0}}{\Delta I_{sd}^{Max}}$$

$$\text{Point B } \frac{I_{sd,buffer}^{IFD=215} - I_{sd,buffer}^{IFD=0}}{\Delta I_{sd}^{Max}}$$

$$\text{Point C } \frac{I_{sd,CD A}^{IFD=0} - I_{sd,buffer}^{IFD=0}}{\Delta I_{sd}^{Max}}$$

$$\text{Point D } \frac{I_{sd,CD A}^{IFD=215} - I_{sd,buffer}^{IFD=0}}{\Delta I_{sd}^{Max}}$$

$$\text{Point E } \frac{I_{sd,CD A=10^{-8}M}^{IFD=0} - I_{sd,buffer}^{IFD=0}}{\Delta I_{sd}^{Max}}$$

$$\text{Point F } \frac{I_{sd,CD A=10^{-8}M}^{IFD=215} - I_{sd,buffer}^{IFD=0}}{\Delta I_{sd}^{Max}}$$

$$\Delta I_{sd}^{Max} = I_{sd,CD A=10^{-8}M}^{IFD=215} - I_{sd,buffer}^{IFD=0}$$

A 與 B 分別為在 1x PBS 中有無照光的資料點，C 與 D 則是特定多巴胺濃度下有無照光的資料點，E 與 F 則是多巴胺濃度為 10^{-8} M 的資料點。為了要單純比較場效應與照光的差異，我們將 B、D、F(同時存在著電場與光的效應)分別扣掉其場效應的貢獻，即 A、C、E，得到單純只有照光的貢獻，例如 D-C 代表該濃度下，在光強度為 $215 \text{ nW}/\mu\text{m}^2$ 時，光所造成的光電流變化。為了方便比較，我們將場效應貢獻、光貢獻、兩者總和重新歸一化(Fig. 20)

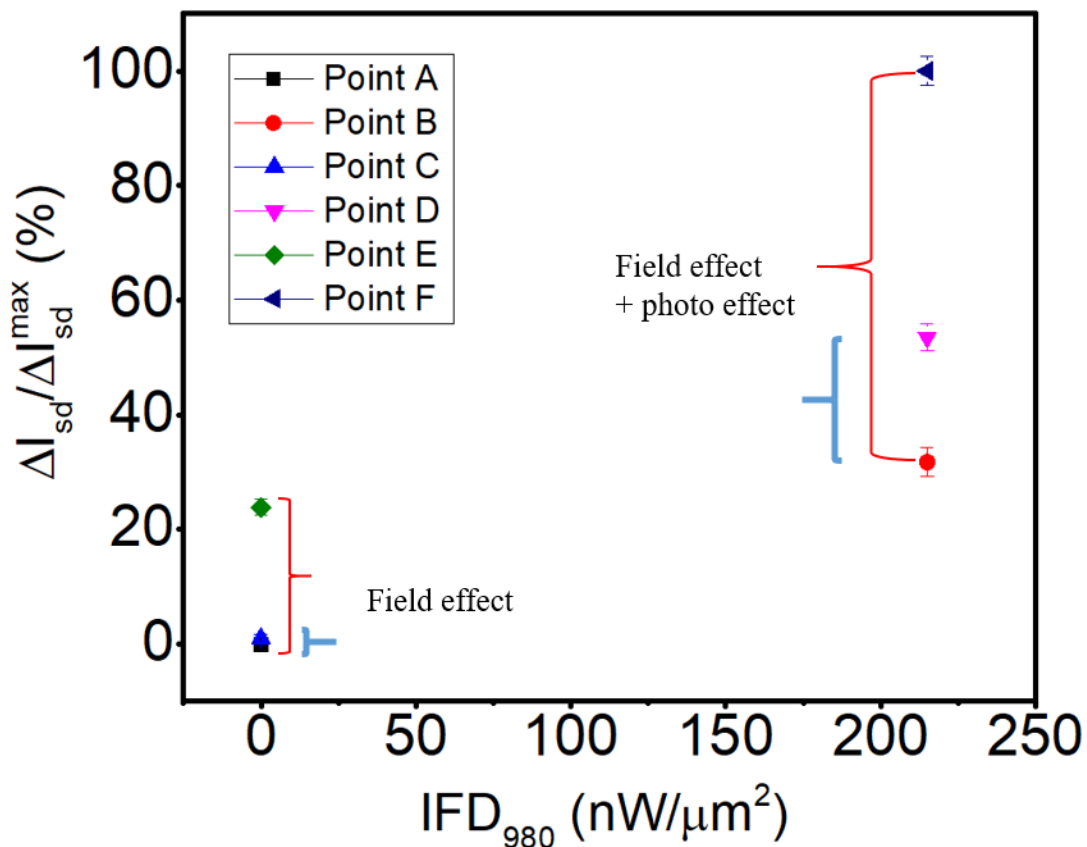


Fig. 18 對 Fig. 19 之作圖示意圖

Fig. 19 顯示了 $IFD_{980} = 0 \text{ nW}/\mu\text{m}^2$ 時偵測極限為 10 fM ，但以光電流可偵測的極限降為 10 aM 。實驗結果表明在低濃度，時由於德拜效應電訊號遭到屏蔽而阻礙產生訊號的產生，相反地，光訊號的穿透性較佳，較不受德拜屏蔽效應的影響，在較低濃度下也成功地偵測到訊號，提升生物感測器的偵測極限。

在這裡我們也可以看出二維材料作為 FET 通道材料的優勢，高表面積對體積比 (High surface-to-volume ratio) 是二維材料對於 FET Biosensor 具有優勢的重要因素。

1. 增加感測濃度範圍與靈敏度：由於具有較大的表面積，提供更多的 active site 來固定識別目標分子的生物分子(受體)，更多的目標生物分子可以與感測器接觸，導致更大的電性變化。這使得偵測目標分子的濃度範圍可以增廣，進而提高了感測器的靈敏度。
2. 快速反應時間：高表面積對體積比也意味著生物分子與感測器的接觸面積增加，生物分子有更多的機會與受體反應產生訊號，這可以加快感測器的反應時間，使得感測器可以實時監測生物分子的動態變化。

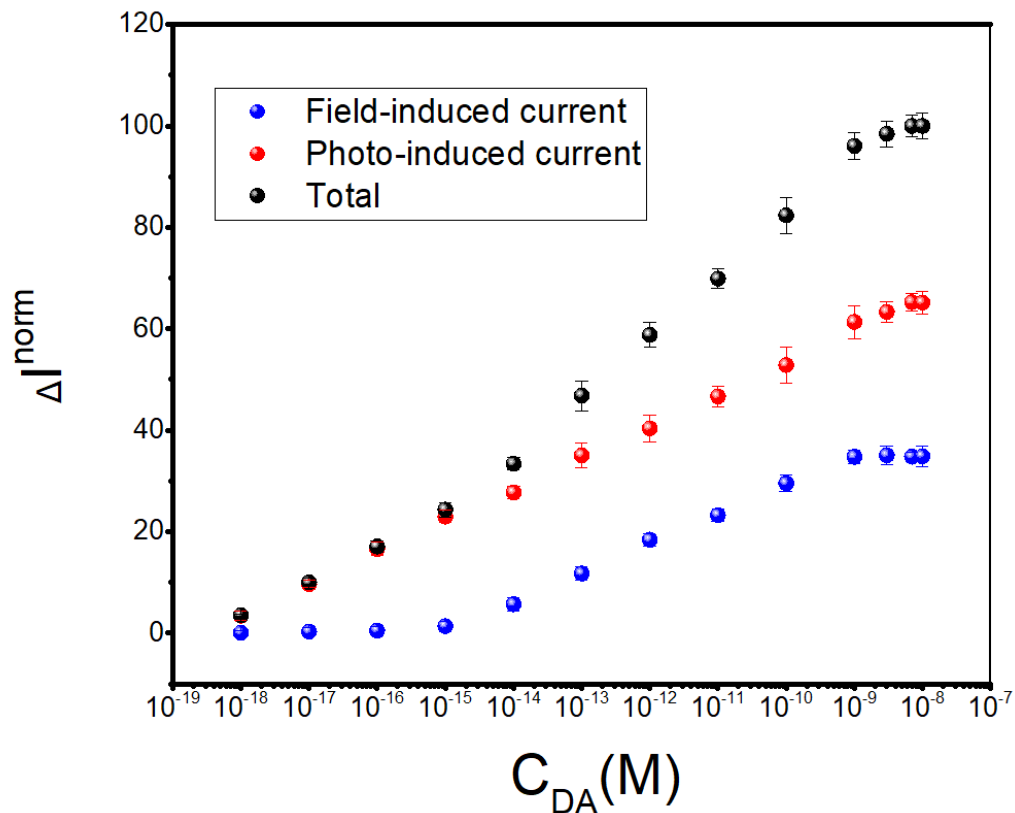


Fig. 19 1x PBS 中沒照光、照光、兩者總和之電流訊號隨多巴胺濃度之變化。可以看出低濃度時，光產生的訊號不受德拜屏蔽效應影響，進而得到更低的偵測極限。

我們進一步結合朗謬耳吸附模型(Langmuir isotherm adsorption model)來計算 Aptamer 與多巴胺的解離常數，分析單分子層吸附在固體表面的現象，我們常常使用朗謬耳吸附方程式式 作為理論工具。這種狀況常見於生物感測器中，例如:FET Biosensor 中的受體與受體目標分子的互動。

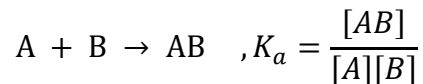
為了理解這種情況，我們需要將朗謬耳吸附方程式式與 FET 生物感測器的操作原理結合起來。具體來說，當目標分子與受體結合時，會在 FET 生物感測器的電流中產生變化。這種變化可以用來計算出與多巴胺結合的適配體分子的數量。

朗謬耳吸附方程式描述了吸附分子與表面吸附位點之間的平衡關係。在固定

溫度下，該等式可以表示為：

$$q = QK_aC/(1 + K_aC)$$

其中， q 是每單位面積的吸附分子數量， C 是溶液中的目標分子濃度， Q 是表面上的最大吸附分子數量， K_a 是平衡常數，反映了吸附的親和力。



若要將朗謬耳吸附方程式應用於 FET 生物感測器中，我們需要考慮到這種吸附現象在 FET 的電流變化上的影響。我們將等式改寫

$$\frac{C}{q} = \frac{C}{Q} + \frac{1}{QK_a}$$

我們可以 ΔI_{sd} 取代 q ， ΔI_{sd}^{max} 取代 Q ，並利用解離常數 $K_d = 1/K_a$ 改寫式子為

$$\frac{C_{DA}}{\Delta I_{sd}} = \frac{C_{DA}}{\Delta I_{sd}^{max}} + \frac{K_d}{\Delta I_{sd}^{max}}$$

結合朗謬耳吸附方程式和 FET 生物感測器的操作原理，我們可以定量地研究受體與目標分子的結合行為，並提供對生物分子的結合能深入理解。

透過將數據與朗謬耳吸附方程式擬合，將截距除以斜率我們得到，在沒照光，只有場效應時， $K_d = 3.78 \pm 0.16$ pM，而使用只有光效應的資料點去 Fitting 時， $K_d = 0.689 \pm 0.037$ pM。這兩者之間的差異可能由感測機制的差異導致，在場效應下，感測的是電荷變化，而在 DA 濃度較低時，由於德拜屏蔽效應的關係，訊號較難產生，然而在光效應下，感測的是光電流的變化，主要依賴於光照強度



以及 UCNP 與 SnS₂-FET 之間的距離，比起電訊號較不容易受德拜屏蔽效應影響，我們認為這種感測機制的差異是影響 K_d 的值的主要原因。在文獻中此 Aptamer 與多巴胺的解離常數在 1x PBS 約為 1 pM⁽³¹⁾，與我們得到的數值相近。

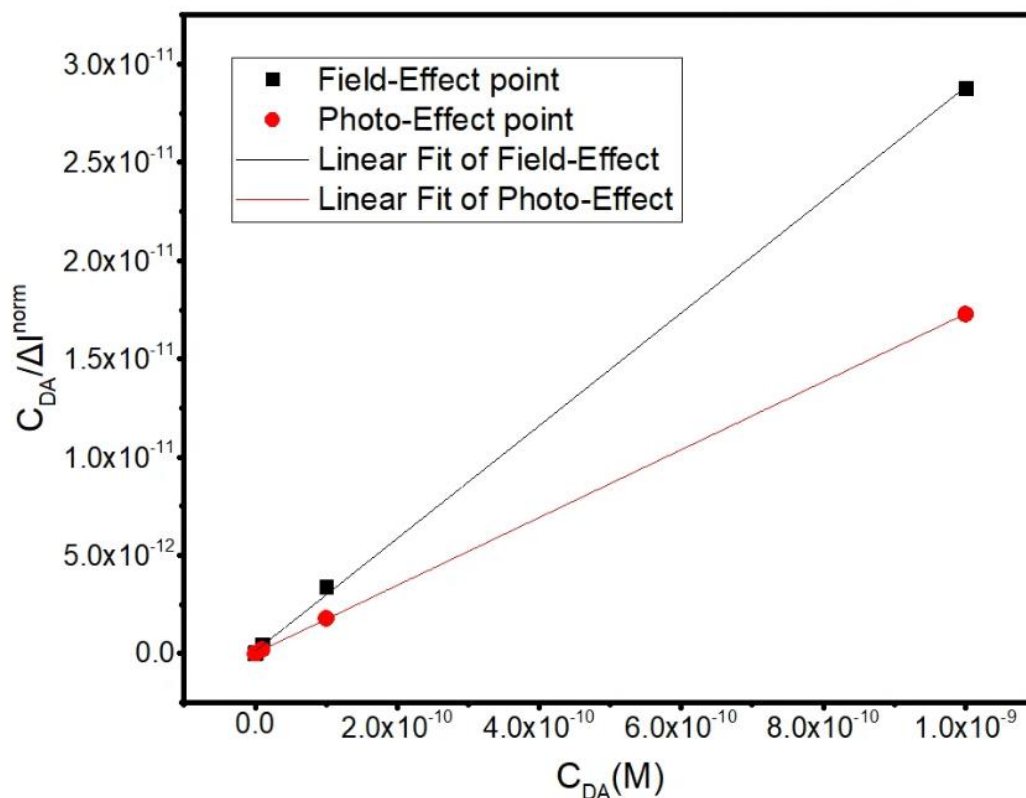



Fig. 20 結合朗謬耳吸附方程式之擬合曲線。只有場效應時，K_d = 3.78 ± 0.16 pM，而使用只有光效應時，K_d = 0.689 ± 0.037 pM

3.5.2. 多巴胺於老鼠血清之量測

在 1x PBS 取得成功後，我們將目標轉移到血清。進行生物溶液（如血清或血液）檢測的重要性，源於其直接與真實生物體系的相關性。以下是一些主要的原因：

1. 直接反映生物狀態：血液和血清中含有豐富的生物分子，包括蛋白質、代謝產物、疾病標記物等，這些都能夠直接反映個體的健康狀態。進行血液或血清檢測可以提供疾病診斷、疾病進展、治療效果以及生理功能變化等重要資訊。

- 
2. 實時監控：血液或血清樣本可以進行連續採集，從而進行疾病的實時監控和評估，這對於急性和慢性疾病的管理及治療調整都非常有用。
 3. 實驗環境的模擬：在生物溶液中進行檢測，可以模擬真實的生理環境，從而提高實驗結果的可靠性和相關性。

對於生物感測器在進行新方法或新設備的開發和驗證時，考慮到在真實生物溶液中的應用性是十分重要的。因為只有在這種情況下，才能有效地評估其在真實環境中的性能和應用潛力。

與上述多巴胺在 1x PBS 的檢測相同，只是將 1x PBS 換成含有 2 mM CaCl₂ 與 2 mM MgCl₂ 的老鼠血清。也就是 PBS buffer 的角色由血清代替。

Fig. 21 呈現 $\Delta I_{sd} / \Delta I_{sd}^{max}$ 對不同雷射強度與多巴胺濃度的變化，與在 1x PBS 中不同的是在光強度為 215 nW/ μm^2 時，可以看出在多巴胺濃度 100 aM 時開始出現訊號，1x PBS 為 10 M 偵測極限變差 10 倍，在血清中進行生物標記物檢測時，偵測極限不如在 1X PBS 中的主要原因有以下幾點：

1. 複雜的樣本矩陣：血清是一種複雜的生物樣本，含有大量的蛋白質、脂肪、鹽類、細胞、激素等成分，這些成分可能與檢測系統產生交互作用，從而干擾信號的生成和傳遞，導致偵測極限下降。
2. 其他物質的干擾：血清中的其他物質可能與標記物競爭與感測器的結合位點，或者產生非特異性(non specific)的吸附，進一步降低偵測靈敏度和偵測極限。
3. 生物成分的吸附：血清中的生物分子可能在感測器的表面形成蛋白質冠狀結構，這可能會改變表面的物理和化學性質，影響感測器的性能。

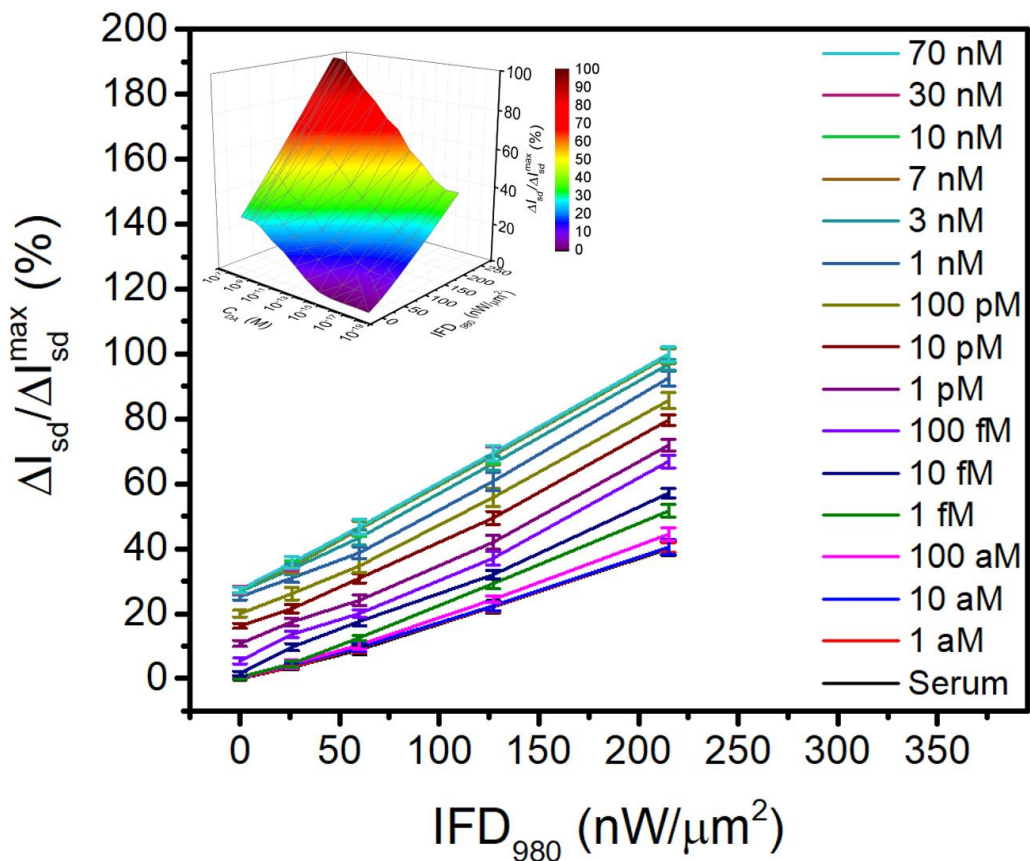


Fig. 21 老鼠血清中生物感測器之不同雷射強度與多巴胺濃度下電流變化。

插圖為 3D 繪圖之表示方法。

我們進一步提取光強度為 $0 \text{ nW}/\mu\text{m}^2$ 與 $215 \text{ nW}/\mu\text{m}^2$ 的數據進行比較，觀察光電流的變化與影響。Fig. 22 中顯示了沒照光時偵測極限為 100 fM ，再結合光電流時偵測極限降為 100 aM ，相比於 $1x \text{ PBS}$ 都差了 10 倍，但即使在血清中光訊號的優勢仍然存在，展現了光電晶體生物感測器與傳統場效電晶體生物感測器相比，可以藉由光訊號突破德拜屏蔽效應的優勢。

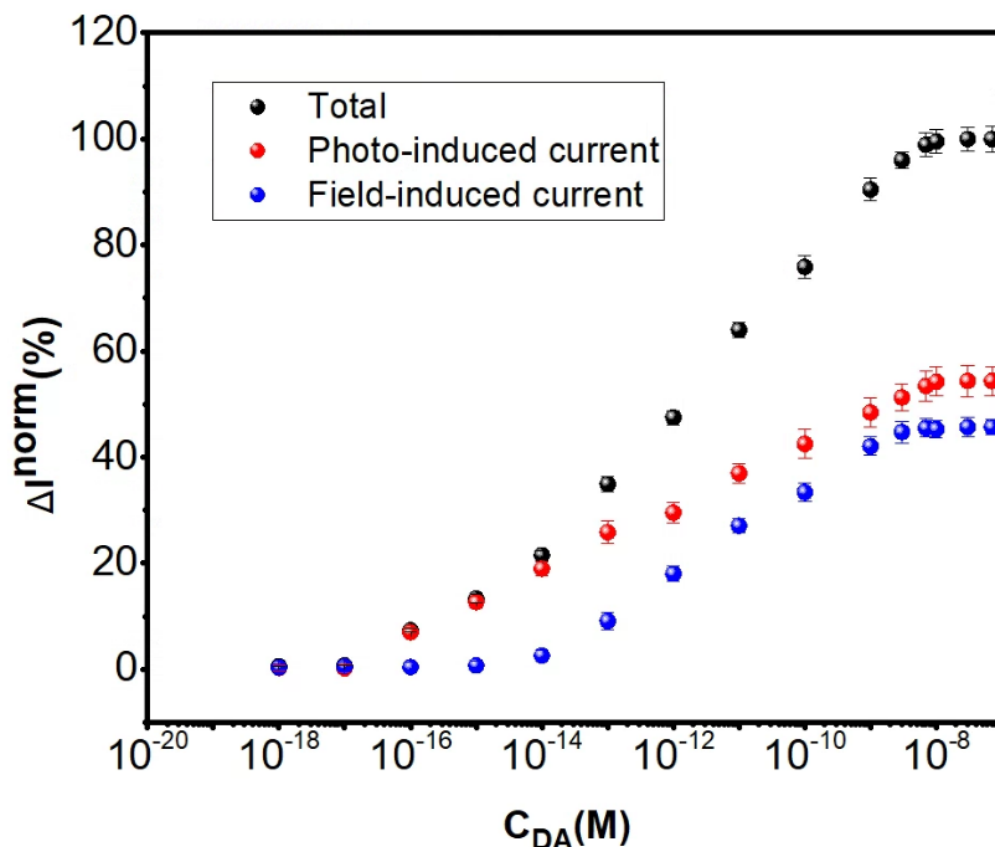


Fig. 22 老鼠血清中沒照光、照光、兩者總和之電流訊號隨多巴胺濃度之變化。可以看出低濃度時，光產生的訊號不受德拜屏蔽效應影響，進而得到更低的偵測極限。

只有場效應時， $K_d = 14.81 \pm 0.64$ pM，而使用只有光效應的資料點去 Fitting 時， $K_d = 8.11 \pm 0.71$ pM。這兩者之間的差異如同先前解釋，是由感測機制的差異導致，光訊號比起電訊號較不容易受德拜屏蔽效應影響，我們認為這種感測機制的差異是影響 K_d 的値的主要原因。在文獻中此 Aptamer 與多巴胺在胎牛血清 (Fetal Bovine Serum, FBS) 的解離常數約為 10 pM⁽³¹⁾，與我們得到的數值相近。

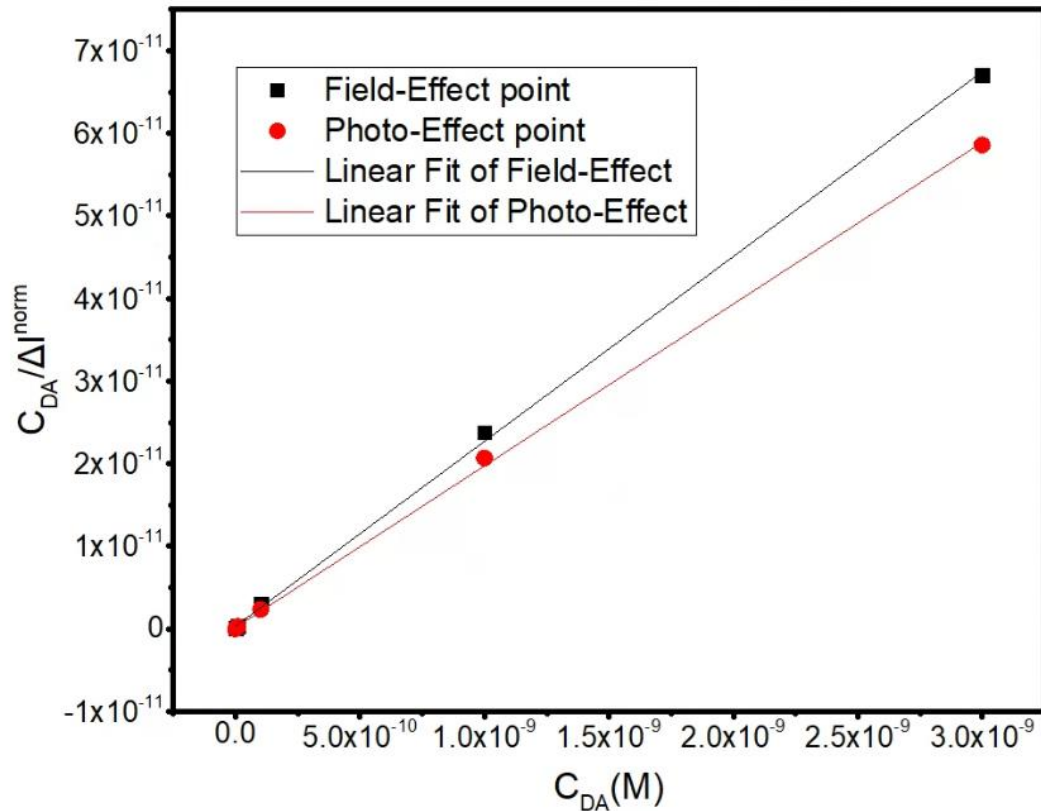


Fig. 23 血清環境下結合朗謬耳吸附方程式之擬合曲線。只有場效應時， $K_d = 14.81 \pm 0.64$ pM，而使用只有光效應的資料點去 Fitting 時， $K_d = 8.11 \pm 0.71$ pM

在 **Table. 1** 與 **Table. 2** 我們整理了光電晶體生物感測器的表現，以及與其他不同方法的比較。本研究充分展現，UCNP/Apt/SnS₂-FET 在更小的德拜長度下展現出更優越的偵測極限與線性工作區間，特別是與其他傳統方法相比，這一點尤其突出。

Table 1. 在不同環境下光電場效電晶體生物感測器的表現

目標分子	Buffer	線性工作區間 (215 nW/μm ²)	偵測極限	K _d (photo-effect only)
DA(光電流)	1× PBS	10 aM – 1 nM	10 aM	0.689 ± 0.71 pM
DA(光電流)	Serum	100 aM – 1nM	100 aM	8.11 ± 0.44 pM
DA(場效應)	1× PBS	1 fM – 1 nM	10 aM	3.78 ± 0.16 pM
DA(場效應)	Serum	10 fM – 1nM	100 aM	14.81 ± 0.64 pM

Table 2. 比較不同方法對多巴胺的量測

技術	Buffer	線性工作區間	偵測極限	Reference
電化學	0.1× PBS	0.2 – 100 μM	26/54/60 nM	32
電化學	0.1× PBS	10 nM – 220 μM	1 nM	33
光學	0.1× PBS	0.005μM – 10 μM	100 pM	34
電化學	0.1× PBS	10 nM – 70 μM	10 nM	35
場效電 晶體生 物感測 器	0.1× PBS	10 pM – 10 nM	10 pM	36
光晶體 生物感 測器	1× PBS at pH 7.4, Serum	10 aM – 1 nM 100 aM – 1nM	10 aM (1×PBS) 100 aM (Serum)	本研究

Chapter 4. 結論

簡單的 UCNP/Apt/SnS₂-FET 光電生物感測器已被證明為一可以在高鹽度緩衝液中檢測特定的生物標記物，具有極高的檢測靈敏度、目標選擇性和裝置的可重複使用性。該生物感測器已被證明可以檢測多巴胺，在超過德拜屏蔽長度的高濃度緩衝液中，具有寬廣的線性工作區間 (>6 個分析物濃度的數量級) 和在 10-100 aM 的檢測極限，這對基於場效應的傳統 FET 生物感測器來說是不可能的。

更重要的是，UCNP/Apt/SnS₂-FET 之獨特設計的優點在於。在光照條件下操作時，可以獲得更好的信號解析度，並在目標濃度的低端擴展檢測極限，從而規避了由於德拜屏蔽效應對傳統 FET 生物感測器的限制。由於 UCNP/Apt/SnS₂-FET 裝置的感測機制依賴於光電流，而不是場效應，這種新型感測器的應用性也可以擴展到檢測中性（無電荷）目標，這是傳統場效應感測器難以實現的。這項工作代表了，向臨床檢測各種疾病生物標記物的重要一步進展，對基礎研究和實際醫療診斷都有重大影響。

參考文獻



1. Novoselov, Kostya S., et al. "Electric field effect in atomically thin carbon films." *science* 306.5696 (2004): 666-669.
2. Geim, Andre Konstantin. "Graphene: status and prospects." *science* 324.5934 (2009): 1530-1534.
3. Geim, Andre K., and Irina V. Grigorieva. "Van der Waals heterostructures." *Nature* 499.7459 (2013): 419-425.
4. Novoselov, Kostya S., et al. "Two-dimensional atomic crystals." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102.30 (2005): 10451-10453
5. Masurkar, Nirul, Sundeep Varma, and Leela Mohana Reddy Arava. "Supported and suspended 2D material-based FET biosensors." *Electrochem* 1.3 (2020): 260-277.
6. Fathi-Hafshejani, Parvin, et al. "Two-dimensional-material-based field-effect transistor biosensor for detecting COVID-19 virus (SARS-CoV-2)." *ACS nano* 15.7 (2021): 11461-11469.
7. Huang, Yuan, et al. "Tin Disulfide An Emerging Layered Metal Dichalcogenide Semiconductor: Materials Properties and Device Characteristics." *ACS nano* 8.10 (2014): 10743-10755.
8. Li, Jason, et al. "Effect of nanowire number, diameter, and doping density on



- nano-FET biosensor sensitivity." *ACS nano* 5.8 (2011): 6661-6668.
9. Bergveld, Piet. "The development and application of FET-based biosensors." *Biosensors* 2.1 (1986): 15-33.
 10. Xu, Jing-Juan, Xi-Liang Luo, and Hong-Yuan Chen. "Analytical aspects of FET-based biosensors." *Frontiers in Bioscience* 10.1 (2005): 420-430.
 11. Jing, Xu, et al. "Engineering field effect transistors with 2D semiconducting channels: Status and prospects." *Advanced Functional Materials* 30.18 (2020): 1901971.
 12. Stern, Eric, et al. "Importance of the Debye screening length on nanowire field effect transistor sensors." *Nano letters* 7.11 (2007): 3405-3409.
 13. Iversen, Susan D., and Leslie L. Iversen. "Dopamine: 50 years in perspective." *Trends in neurosciences* 30.5 (2007): 188-193.
 14. Hornykiewicz, Oleh. "Dopamine (3-hydroxytyramine) and brain function." *Pharmacological reviews* 18.2 (1966): 925-964.
 15. Yoon, Sorah, and John J. Rossi. "Aptamers: Uptake mechanisms and intracellular applications." *Advanced drug delivery reviews* 134 (2018): 22-35.
 16. Song, Yanling, et al. "Discovery of aptamers targeting the receptor-binding domain of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein." *Analytical chemistry* 92.14 (2020): 9895-9900.

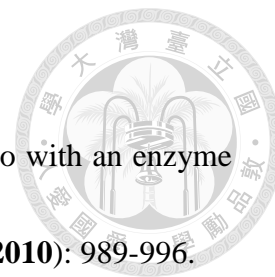


17. Sefah, Kwame, et al. "Development of DNA aptamers using Cell-SELEX." *Nature protocols* 5.6 (2010): 1169-1185.
18. Haase, Markus, and Helmut Schäfer. "Upconverting nanoparticles." *Angewandte Chemie International Edition* 50.26 (2011): 5808-5829.
19. Wilhelm, Stefan. "Perspectives for upconverting nanoparticles." *ACS nano* 11.11 (2017): 10644-10653.
20. Adhikari, Rajesh. "Applications of upconversion nanoparticles in nanomedicine." *J Nanomed Nanotechnol* 7 (2016): e141.
21. Skwierczyńska, Małgorzata, et al. "Ratiometric upconversion temperature sensor based on cellulose fibers modified with yttrium fluoride nanoparticles." *Nanomaterials* 12.11 (2022): 1926.
22. Wang, Meng, et al. "Upconversion nanoparticles: synthesis, surface modification and biological applications." *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 7.6 (2011): 710-729.
23. George, Steven M. "Atomic layer deposition: an overview." *Chemical reviews* 110.1 (2010): 111-131.
24. Johnson, Richard W., Adam Hultqvist, and Stacey F. Bent. "A brief review of atomic layer deposition: from fundamentals to applications." *Materials today* 17.5 (2014): 236-246.



25. Leskelä, Markku, and Mikko Ritala. "Atomic layer deposition chemistry: recent developments and future challenges." *Angewandte Chemie International Edition* 42.45 (2003): 5548-5554.
26. Yi, Min, and Zhigang Shen. "A review on mechanical exfoliation for the scalable production of graphene." *Journal of Materials Chemistry A* 3.22 (2015): 11700-11715.
27. Wang, Mingji, et al. "Self-assembled silane monolayers: fabrication with nanoscale uniformity." *Langmuir* 21.5 (2005): 1848-1857.
28. Raj M, Kiran, and Suman Chakraborty. "PDMS microfluidics: A mini review." *Journal of Applied Polymer Science* 137.27 (2020): 48958.
29. Yi, Guang Shun, and Gan Moog Chow. "Synthesis of hexagonal-phase NaYF₄: Yb, Er and NaYF₄: Yb, Tm nanocrystals with efficient up-conversion fluorescence." *Advanced Functional Materials* 16.18 (2006): 2324-2329.
30. Tung, Raymond T. "The physics and chemistry of the Schottky barrier height." *Applied Physics Reviews* 1.1 (2014).
31. Nakatsuka, Nako, et al. "Divalent cation dependence enhances dopamine aptamer biosensing." *ACS applied materials & interfaces* 13.8 (2021): 9425-9435.
32. Hsu, Ming-Sheng, et al. "Gold nanostructures on flexible substrates as electrochemical dopamine sensors." *ACS applied materials & interfaces* 4.10

(2012): 5570-5575.



33. Njagi, John, et al. "Amperometric detection of dopamine in vivo with an enzyme based carbon fiber microbiosensor." *Analytical chemistry* 82.3 (2010): 989-996.
34. Zhang, Xiaodong, et al. "Highly sensitive and selective detection of dopamine using one-pot synthesized highly photoluminescent silicon nanoparticles." *Analytical chemistry* 87.6 (2015): 3360-3365.
35. Wu, Li, et al. "Electrochemical detection of dopamine using porphyrin-functionalized graphene." *Biosensors and Bioelectronics* 34.1 (2012): 57-62.
36. Li, Bor-Ran, et al. "An ultrasensitive nanowire-transistor biosensor for detecting dopamine release from living PC12 cells under hypoxic stimulation." *Journal of the American Chemical Society* 135.43 (2013): 16034-16037.