

2021 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 160031

參展科別 物理與天文學

作品名稱 表面電漿共振和光譜紅移檢測類風濕性關節炎
的物理探討

就讀學校 臺北市立第一女子高級中學

指導教師 簡麗賢

作者姓名 張美琦、郭羽婕

關鍵詞 表面電漿共振、光譜紅移、類風濕性關節炎

作者簡介



我們是張美琦和郭羽婕，就讀北一女中高三數理資優班。

從事這個研究的動機是希望能用簡單的方法檢測類風濕性關節炎。研究過程中，從閱讀文獻到設計實驗到操作機器，除了學到不少相關知識，也讓我們感受到跨領域結合的重要性。

感謝教授、實驗室學長姊的幫助以及老師、父母、同學的鼓勵，使我們能順利完成研究。

摘要

本研究結合手機發展出一個檢測類風濕性關節炎的新方法。此研究使用奈米結構式的表面電漿共振晶片，藉由血清中的抗體接合後光譜紅移現象分析結果，將其用於檢測類風濕性關節炎。我們先用可與類風濕性關節炎的抗體結合的 peptide 修飾晶片，測量不同濃度下光譜紅移量的差異，找出紅移最明顯的檢體濃度，以此濃度配置我們之後實驗的檢體。接下來分別使用 matlab 分析歸納出發病與未發病之間光譜波長紅移量的差別，和架設手機拍照後用 imageJ 分析紅光強度兩種分析方法測量不同檢體，判斷其是否發病。從實驗結果發現，稀釋至原本濃度 10 倍的檢體紅移量最明顯，且使用 imageJ 分析紅光強度的數據比使用顯微鏡測量光譜波長的數據準確且穩定，前者可以明顯檢測出是否發病。我們希望將這種方法推廣到第三世界國家和農村地區，為他們提供一種更省時，更具成本效益的方法來測試類風濕關節炎。

ABSTRACT

In this study, a new method for diagnosing Rheumatoid Arthritis (RA) through smartphone has been developed. The Nanoslit Surface Plasmon Resonance (SPR) Sensing chip, which is used to sense RA in this study, can be low-cost and massively produced by using automatic nanoimprinting and sputtering metal deposition. We analyzed the red - shift of the resonant spectrum signals, which is corresponding to the amount of antibody conjugation.

First, we modified the nanoslit SPR sensor with the peptide, which is able to conjugate with autoantibody of RA. A dilution test was carried out for our further experiments. Then, we used matlab, to analyze the resonant wavelengths of several experimental samples and control samples. Furthermore, we also used the cellphone to test the samples. Firstly, the images of the nanoslit SPR chip after reacting with clinical sample was captured. The software, imageJ, was used to analyze red color intensity of the captured SPR chip image in order to determine amount of the autoantibody of RA in samples. From the experimental results, the red shift of the sample that diluted to the original concentration of 10 times is the most obvious. The data used imageJ to analyze the intensity of red color is more accurate and stable than the data using microscope to measure the wavelength of the spectrum. The former is possible to detect the incidence of disease

We hope to promote this method to the Third World Country and rural areas, offer them a more time-saving and cost-effective way to test for rheumatoid arthritis.

壹、前言

一、研究動機

類風濕性關節炎（rheumatoid arthritis，簡稱 RA）是一種自體免疫疾病，發病原因目前仍不明，但推論與環境和遺傳有關，它會導致關節發熱、腫脹和疼痛，也可能影響身體其他機能，一旦症狀出現就很難完全恢復，而越早發現就能越早治療，將傷害降到最低。此病在醫院中目前的檢驗方式是以酵素連結免疫吸附分析法（ELISA）為主，該技術是以酵素連結抗體或抗原，用酵素活性定量標記作為 anti- CPP 值。該技術非常靈敏，卻也十分費時，而且需要使用吸收光譜儀等大型儀器進行讀值，會使部分缺乏資源的偏鄉地區檢測不易，因此我們打算用手機結合奈米結構式的表面電漿共振晶片，透過抗體接上後共振波長的改變，研究出一個快速方便且成本較低的檢測方法。

二、研究問題與目的

- （一）測量不同濃度下檢體與 peptide 接合後光譜紅移量的差異
- （二）測量不同檢體，分析發病與未發病之間光譜的波長差異
- （三）與手機結合，測量不同檢體與 peptide 接合後的紅光強度，判斷是否發病
- （四）檢測偽陰性檢體

貳、研究設備與器材

紀錄與分析的軟體	matlab、imageJ、BWSpec4、UPMOST PVR、Excel
硬體設備	熱壓機、濺鍍機、手機、電腦、顯微鏡、奈米結構晶片
液體溶液	PBS、瓜胺酸序列 peptide、檢體（血清）
其他	滴管、偏振片

參、研究原理

一、奈米結構式的表面電漿共振（SPR）晶片

（一）原理

奈米金屬週期結構因為特定偏振方向(TM)的光穿透後，會出現共振現象。本研究將使用一維的奈米壓印結構，在鍍上金屬後會有高低兩層奈米金屬週期結構。這樣的週期結構會疊加出一個非對稱的共振波形，稱為 Fano。此非對稱波形具有非常尖銳的波形、因此對於微量的表面折射率改變非常靈敏，非常適合用於表面的免疫分析。

(二) 製作

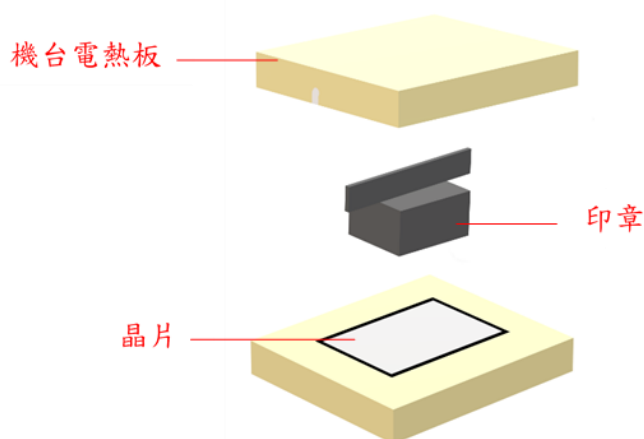
1.熱壓：此技術可同時達到受力平均及下壓的效果，均勻完整將結構轉印至塑膠膜上，且可重複使用，過程簡單成本相對低。(圖一)

步驟：

(1)加熱機台電熱板至 200°C、鎳鉻合金的印章至 165°C

(2)以 130psi 將印章上的奈米結構壓印到晶片上

(3)待印章冷卻到 65°C 並脫模



圖一、熱壓示意圖

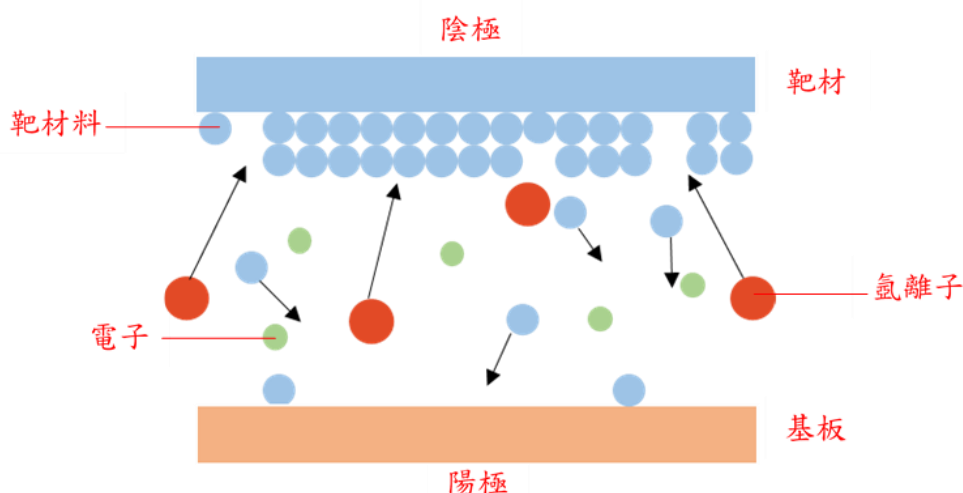
2.濺鍍：此技術具有薄膜緻密性與附著性，製作過程時間耗費短。(圖二)

步驟：

(1)在真空環境下打入氬氣，並通以高壓電

(2)氬氣電離形成氬氣電漿，撞擊靶材(金)陰極

(3)靶材原子與分子濺出附著於基板上



圖二、濺鍍示意圖

二、實驗原理

閱讀論文得知週期性奈米金屬表面電漿子激發波長與表面介電常數 (ϵ) 關係密切，而表面介電常數又與折射率有關，當金屬表面修飾上抗體或是抗體進一步與抗原結合時，都會造成折射率改變，故我們可藉此特性觀察共振光譜的改變，來達到檢測目的。引入布拉格二維耦合條件 (Bragg 2D Coupling Condition)：

$$\text{Re} \left[\frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}} \right] = |k_0 \sin \theta + iG_x + jG_y|$$

其中 $k_0 \sin \theta$ 為入射之波向量，而 θ 為入射角， ϵ_m 與 ϵ_d 分別為金屬之介電常數及環境之介電常數， iG_x 和 jG_y 為介面上兩個互相垂直的座標軸反制晶格向量，在異常穿透的表面電將共振光譜中，我們通常採用垂直入射光 (Vertically Incident Light)，因此 $k_0 \sin \theta = 0$ ，又因為本研究是採用一維週期性奈米陣列，所以 jG_y 可被省略，故可簡化成下式：

$$G_x = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}}$$

由固態物理學中的基本定理可知，將反晶格向量 $G_x = 2\pi/a$ 帶入上式，化簡後得到共振波長為：

$$\lambda = a \cdot \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}}$$

且由於 $\epsilon_m > \epsilon_d$ ，故可再化簡為：

$$\lambda = a \cdot \sqrt{\epsilon_d}$$

再將折射率公式 $n_d = (\epsilon_d \mu_d)^{1/2}$ 代入上式中，又 $\mu_d \sim 1$ ，故又可得：

$$\lambda \sim a \cdot n_d$$

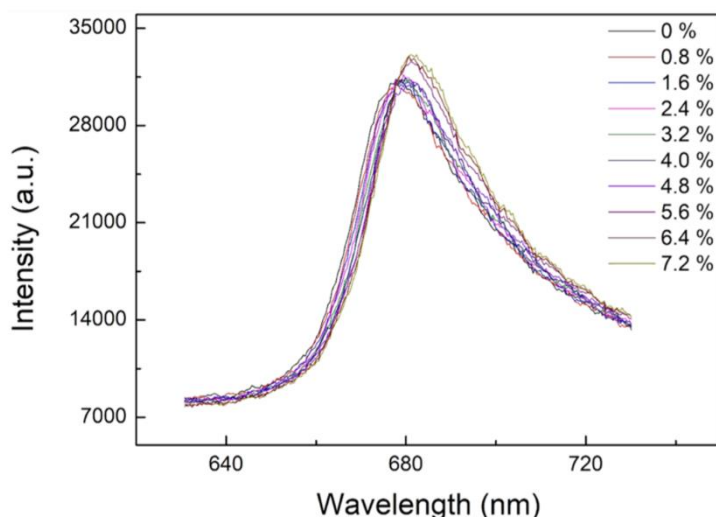
其中 λ 為共振波長， a 為奈米結構之週期， n_d 為環境折射率，因此共振波長大致正比於環境折射率。

肆、研究方法

本研究使用了兩種分析方法，一種是以顯微鏡接收共振光譜，用 matlab 分析光譜紅移量；另一種是以手機拍攝晶片，用 imageJ 分析照片的紅光強度變化量。

一、使用顯微鏡接收共振光譜，用 matlab 分析光譜

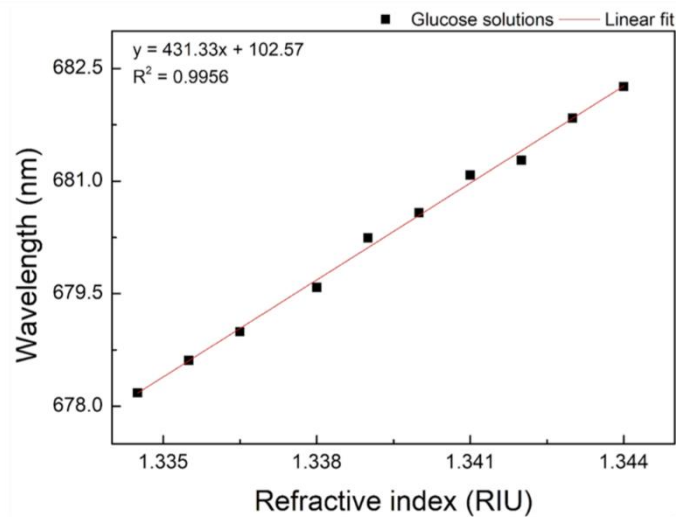
我們對於整體光學系統的架設與奈米結構式的表面電漿共振晶片進行靈敏度測試，確保量測時能夠有足夠的準確度與良好的偵測極限。實驗配置不同重量百分比的葡萄糖水由 0 % 開始每個濃度間隔 0.8 % 直到濃度 7.2 % 共有十種，而其折射率分別為 1.3345、1.3355、1.3365、1.3380、1.3390、1.3400、1.3410、1.3420、1.3430、1.3440，量測十種不同濃度的原始穿透光譜。並且由圖三可觀察出由最低濃度之葡萄糖水至最高濃度之葡萄糖水間有明顯的 SPR 共振波長紅移現象。



圖三、不同濃度的葡萄糖水之穿透光譜

然後進一步利用 SPR 共振波長波峰位置與葡萄糖水折射率的斜率關係做線性擬合計算 (Linear Fitting)，而斜率即為晶片之波長靈敏度。由圖四可知其靈敏度為

431.33 nm RIU / 、相關係數 R^2 為 0.996。

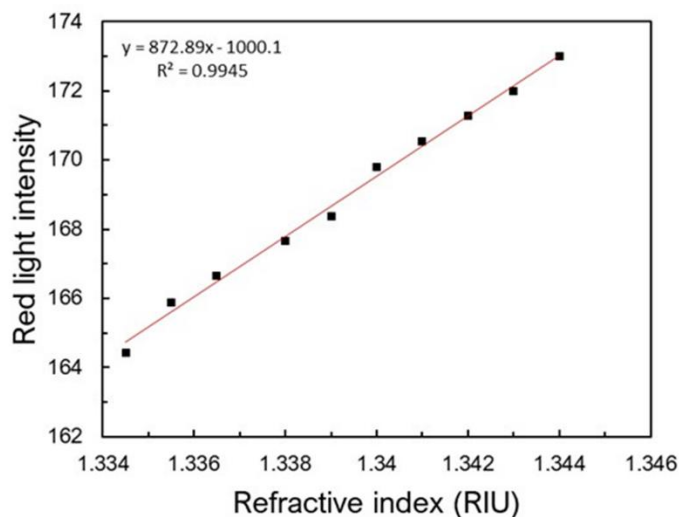


圖四、不同濃度的葡萄糖水之波峰位置變化與折射率關係

從上述測試結果可得知，共振波長確實與環境折射率成正相關，因此當檢體內對類風濕性關節炎的自體抗體和過去前人設計的具有瓜胺酸序列的 peptide 接合後，會造成奈米結構表面的折射率改變，再運用表面電漿共振原理觀察抗體跟 peptide 接合後光譜的紅移量，用 matlab 歸納整理出發病與未發病之間的波長差異。

二、使用手機拍攝晶片，用 imageJ 分析照片

使用之前配的十種濃度葡萄糖水，用 imageJ 分析手機拍攝的照片繪製紅光強度與環境折射率的關係圖（圖五），一樣斜率代表靈敏度，我們發現這個分析方法的靈敏度是之前的兩倍，而且相關係數也是大致等於一，因此我們推測這個分析方法可能比另一個更準確。



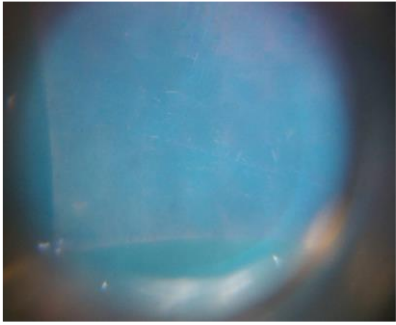
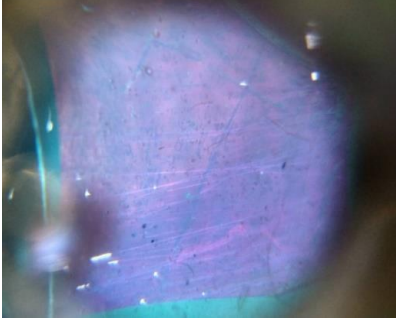
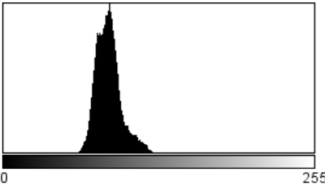
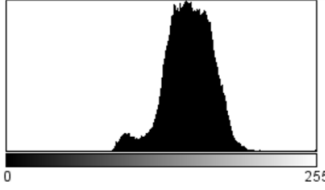
圖五、不同濃度的葡萄糖水之波峰位置變化與紅光強度關係

為了再次確認我們的想法，我們進行了滴水實驗（表 1），滴水前共振波長大約為 500 奈米左右，照片呈現藍色，而紅光強度平均為 86，滴水後環境折射率為原本的 1.33 倍，波長紅移到了紅光範圍，所以照片呈現偏紅色，紅光強度平均增為 150。

透過兩個實驗我們確定我們的想法是可行的，因此接下來我們打算用此分析方法檢

測真實檢體。

表 1、滴水實驗結果

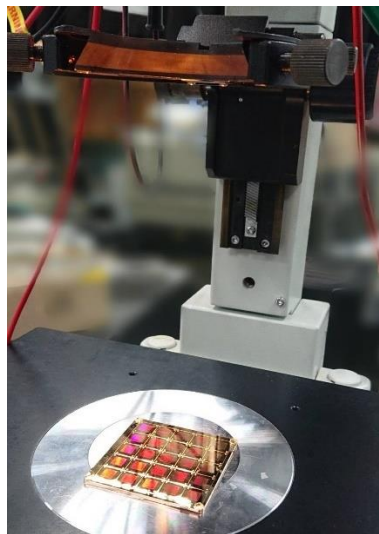
滴水前	滴水後
	
	
平均 86.080 最小值：58 最大值：127	平均 150.088 最小值：35 最大值：255
差值：64.008	

伍、研究架設與步驟

一、使用顯微鏡接收共振光譜，用 matlab 分析光譜

(一) 架設 (圖六)

顯微鏡的燈光從上望下聚焦在晶片上，由下方接收光譜共振訊號並傳到電腦，然後用 matlab 分析光譜紅移量



圖六

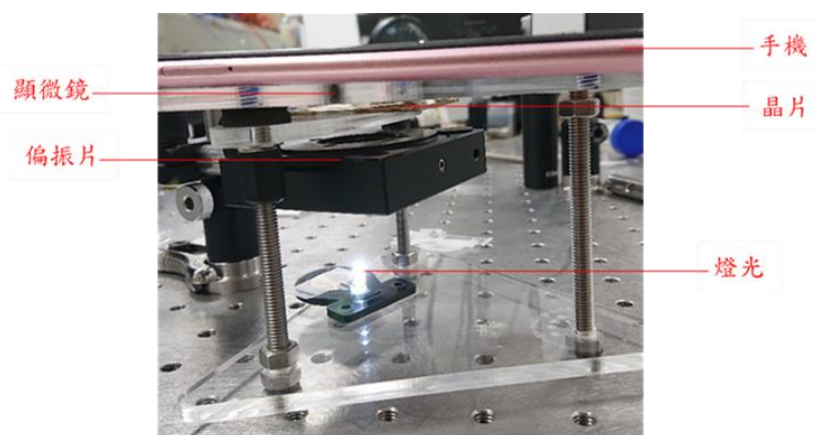
(二) 步驟

1. 滴上 PBS 每分鐘測量原始共振波長一次，共五次
2. 滴上 peptide 修飾晶片四十分鐘
3. 滴上 PBS 每分鐘測量 peptide 修飾後的共振波長一次，共五次 (peptide wash)
4. 滴上生物檢體使抗體與 peptide 接合，每分鐘測量一次，共二十次
5. 滴上 PBS 每分鐘測量抗體接上後的共振波長一次，共五次 (檢體 wash)
6. 用 matlab 分析光譜紅移數據，peptide wash 減檢體 wash
7. 歸納整理出發病與未發病之間的紅移量差異

二、使用手機拍攝晶片，用 imageJ 分析照片

(一) 架設 (圖七)

燈光會從下方經過偏振片到晶片再到顯微鏡再進入手機，然後以手機拍照並分析照片的紅光強度



圖七

(二) 步驟

1. 滴上 PBS 拍攝原始晶片的照片
2. 滴上 peptide 修飾晶片四十分鐘
3. 滴上 PBS 拍攝 peptide 修飾後的晶片照片 (peptide wash)
4. 滴上生物檢體使抗體與 peptide 接合二十五分鐘
5. 滴上 PBS 拍攝抗體接上後的晶片照片 (檢體 wash)
6. 用 imageJ 分析照片紅光強度變化，peptide wash 減檢體 wash
7. 歸納整理出發病與未發病之間的紅光強度變化差異

陸、研究結果

一、不同稀釋倍率的檢體與 peptide 接合的光譜紅移量

表 2、1000 倍實驗結果

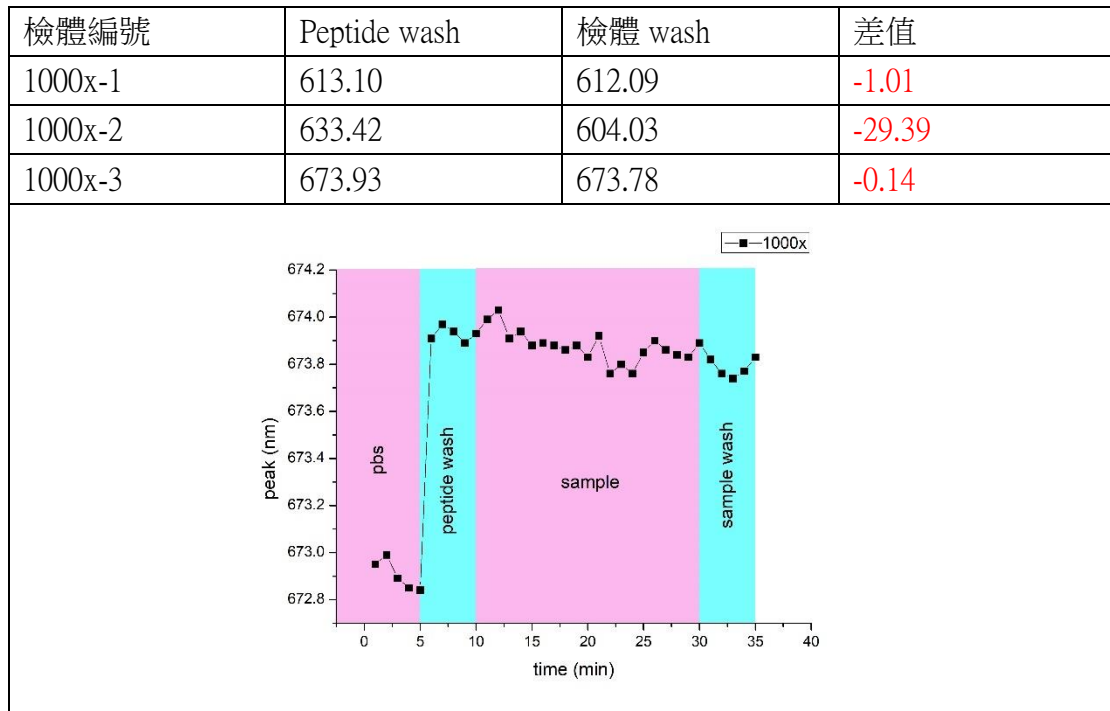


表 3、500 倍實驗結果

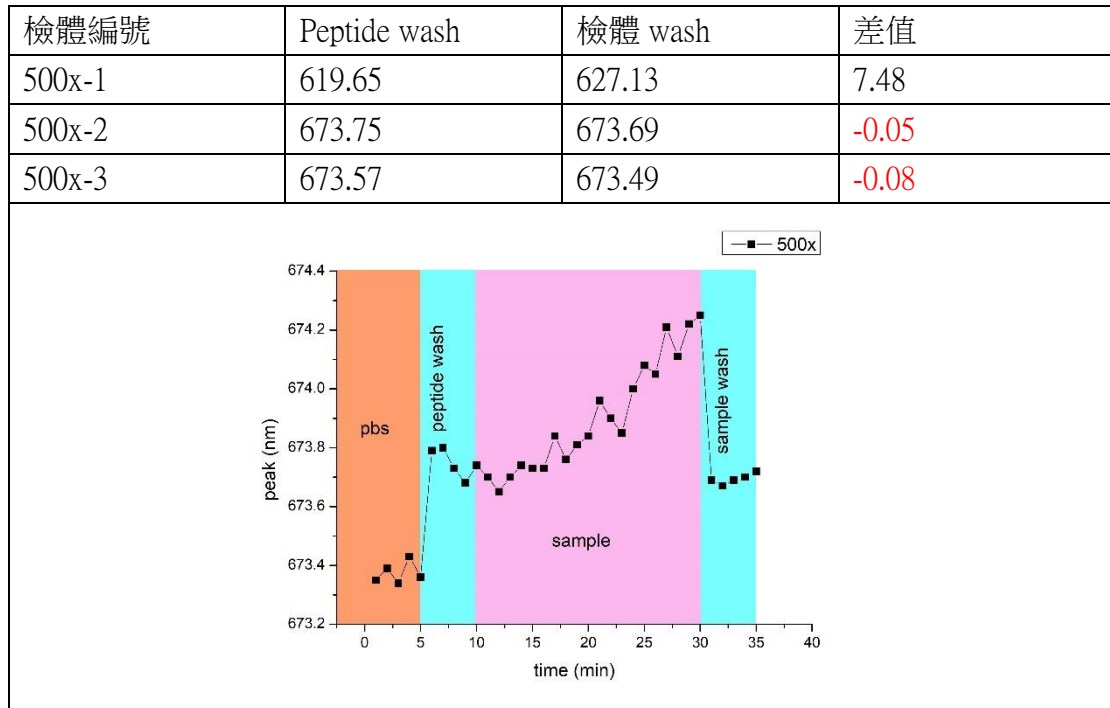


表 4、100 倍實驗結果

檢體編號	Peptide wash	檢體 wash	差值
100x-1	630.58	631.76	1.18
100x-2	628.84	630.18	1.33
100x-3	671.87	672.09	0.21

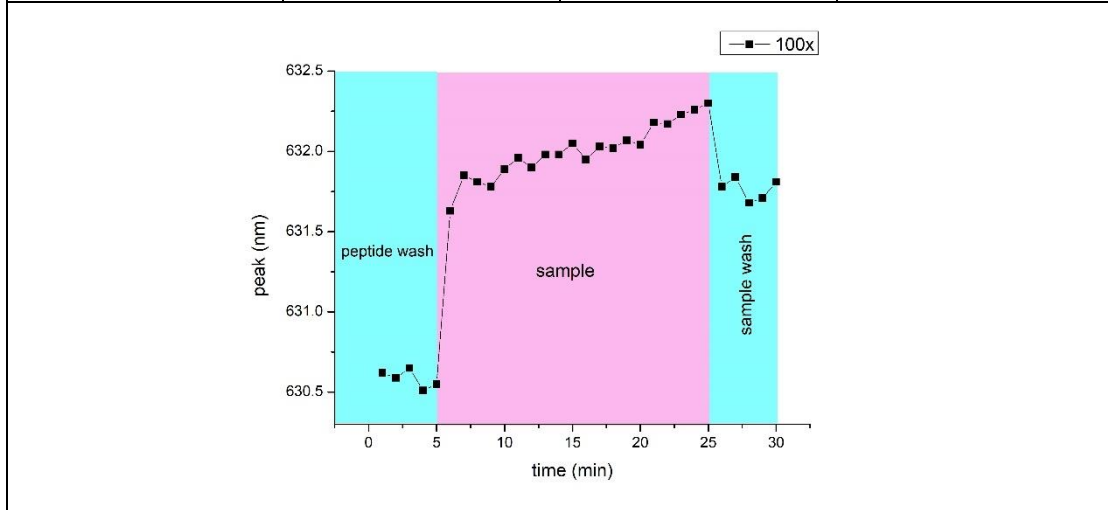


表 5、50 倍實驗結果

檢體編號	Peptide wash	檢體 wash	差值
50x-1	636.25	637.75	1.50
50x-2	672.67	672.81	0.14
50x-3	637.43	638.54	1.11

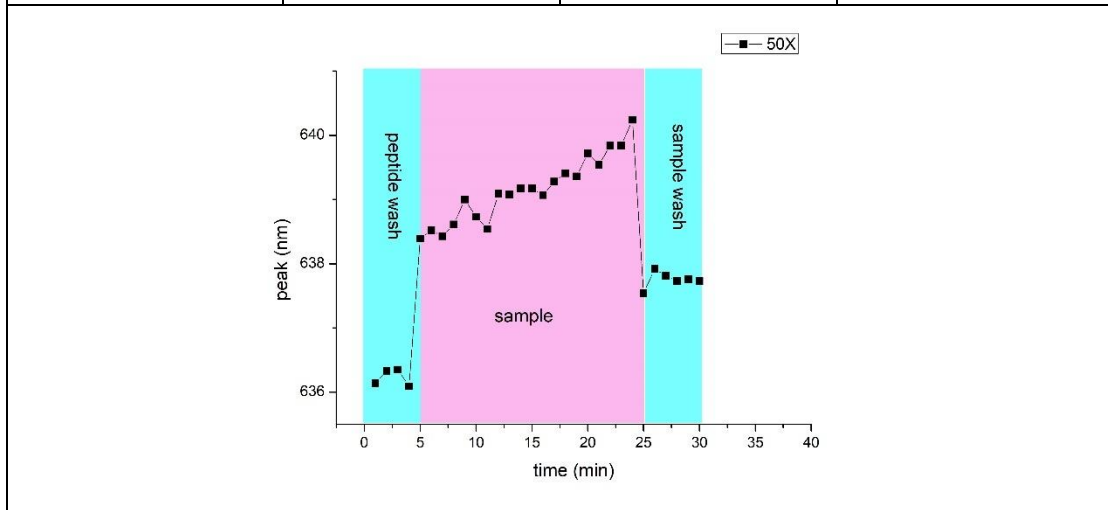
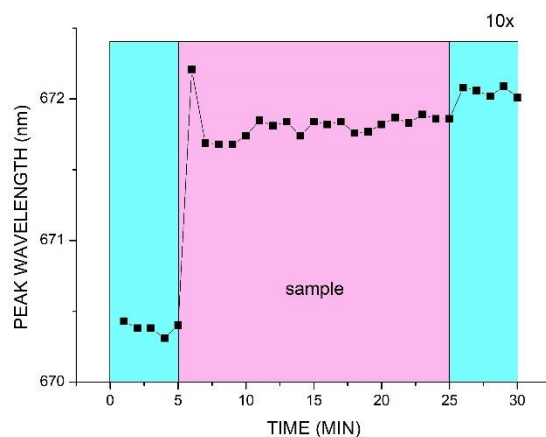


表 6、10 倍實驗結果

檢體編號	Peptide wash	檢體 wash	差值
10x-1	670.38	672.05	1.67
10x-2	671.87	673.19	1.32
10x-3	674.1	675.07	0.90



二、使用顯微鏡檢測真實檢體

表 7、G641(anti-CPP : 24.4)實驗結果

檢體編號	Peptide wash	檢體 wash	差值
G641-1	618.09	619.08	0.99
G641-2	626.10	627.92	1.82
G641-3	615.19	617.77	2.58

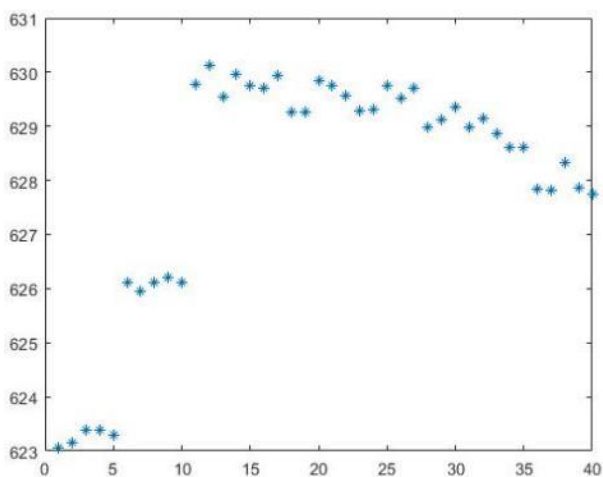


表 8、113(anti-CPP：2)實驗結果

檢體編號	Peptide wash	檢體 wash	差值
113-1	625.11	626.14	1.03
113-2	624.03	624.43	0.40
113-3	622.17	622.55	0.38

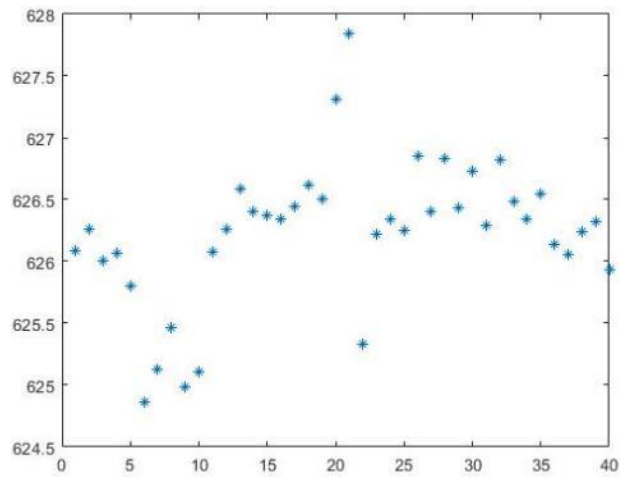


表 9、187(anti-CPP：57.3)實驗結果

檢體編號	Peptide wash	檢體 wash	差值
187-1	625.23	626.90	1.67
187-2	621.58	623.33	1.75
187-3	614.05	614.02	-0.03

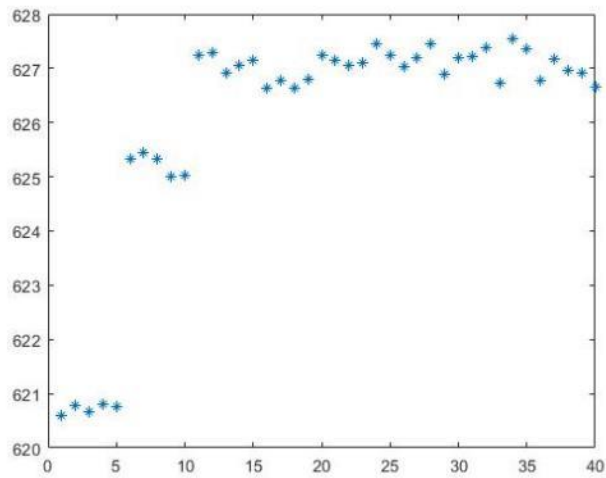


表 10、81(anti-CPP：3)實驗結果

檢體編號	Peptide wash	檢體 wash	差值
81-1	614.10	614.14	0.04
81-2	613.63	613.49	-0.14
81-3	614.03	614.00	-0.03

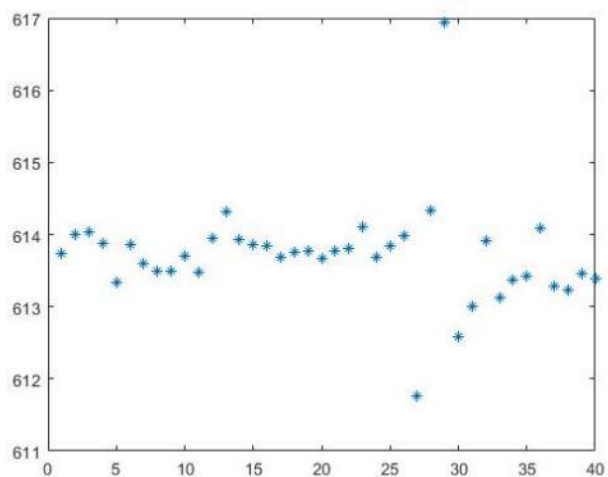


表 11、60(anti-CPP：4)實驗結果

檢體編號	Peptide wash	檢體 wash	差值
60-1	613.70	614.63	0.93
60-2	612.98	612.87	-0.11
60-3	615.34	615.78	0.44

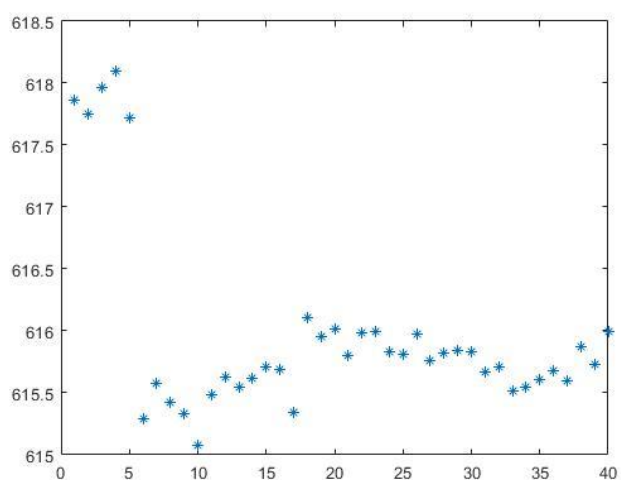


表 12、145(anti-CPP：5)實驗結果

檢體編號	Peptide wash	檢體 wash	差值
145-1	623.31	624.00	0.69
145-2	617.04	616.51	-0.53
145-3	615.29	618.66	3.37

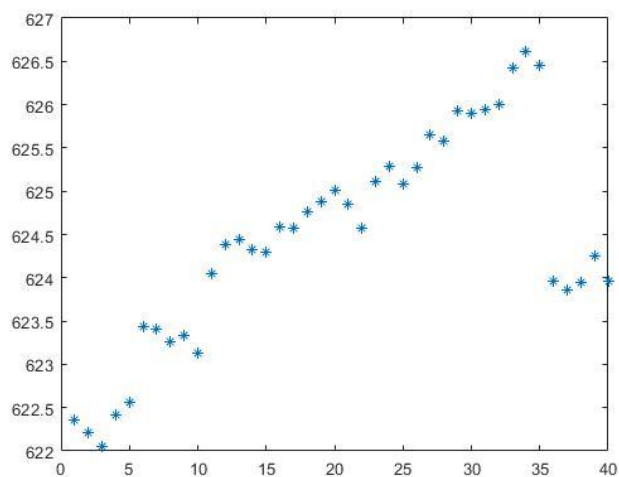


表 13、201(anti-CPP：2)實驗結果

檢體編號	Peptide wash	檢體 wash	差值
201-1	614.55	617.27	2.72
201-2	622.56	624.32	1.76
201-3	621.68	620.34	-1.34

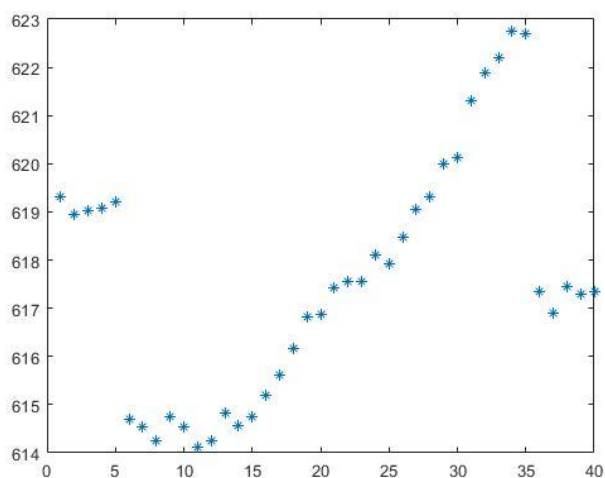


表 14、G567(anti-CPP：12.6)實驗結果

檢體編號	Peptide wash	檢體 wash	差值
G567-1	612.23	612.85	0.62
G567-2	621.43	622.06	0.63
G567-3	618.06	621.75	3.68

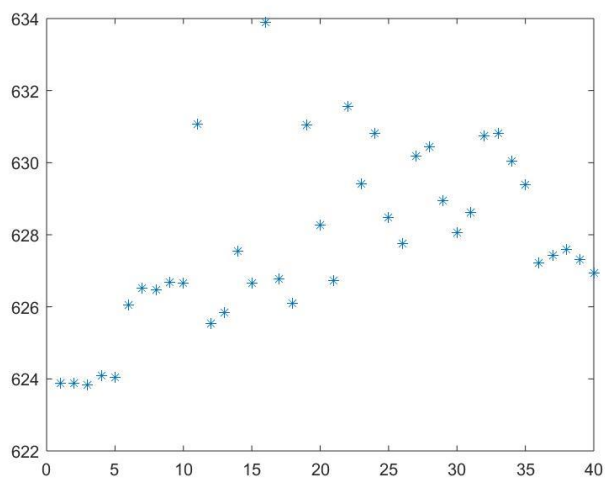


表 15、G599(anti-CPP：62)實驗結果

檢體編號	Peptide wash	檢體 wash	差值
G599-1	617.42	623.31	5.89
G599-2	623.03	626.04	3.01
G599-3	622.41	622.32	-0.10

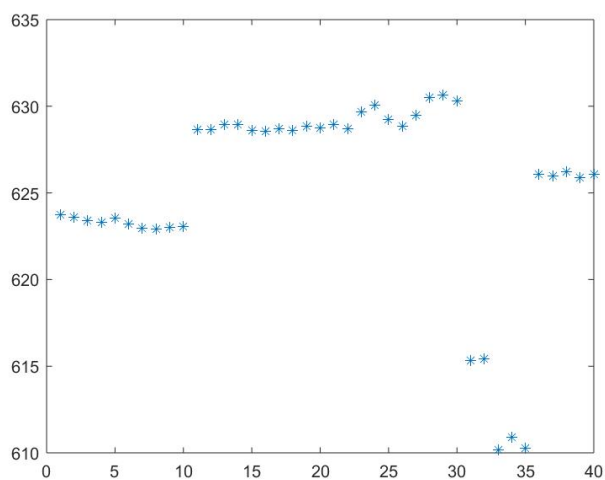


表 16、G629(anti-CPP：14.5)實驗結果

檢體編號	Peptide wash	檢體 wash	差值
G629-1	618.19	618.81	0.62
G629-2	616.52	607.02	-9.50
G629-3	612.57	615.45	2.88

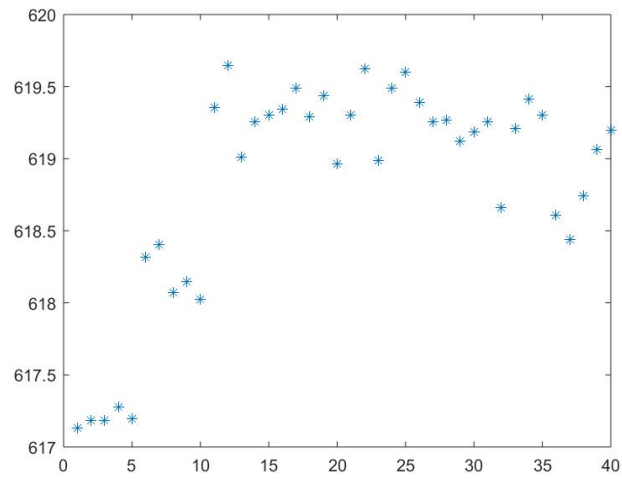


表 17、G529(anti-CPP：60)實驗結果

檢體編號	Peptide wash	檢體 wash	差值
G529-1	626.89	626.12	-0.77
G529-2	616.14	617.37	1.23
G529-3	619.6	621.25	1.65

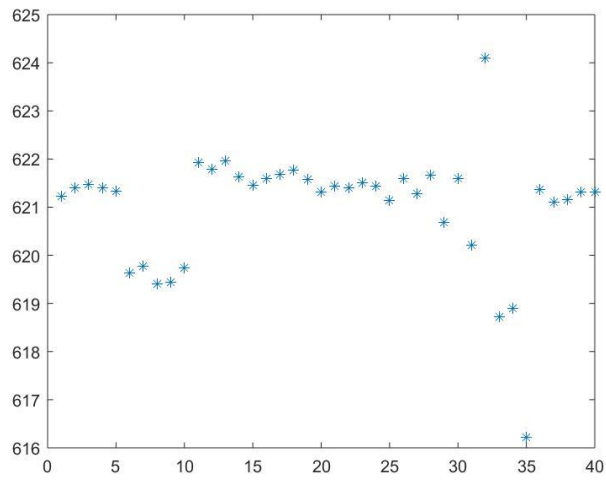


表 18、G593(anti-CPP：210)實驗結果

檢體編號	Peptide wash	檢體 wash	差值
G593-1	621.28	623.20	1.92
G593-2	618.25	619.87	1.62
G593-3	619.69	619.73	0.04

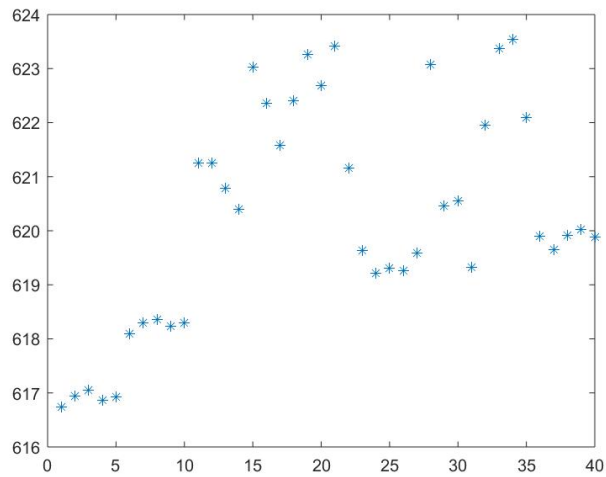


表 19、36(anti-CPP：3)實驗結果

檢體編號	Peptide wash	檢體 wash	差值
36-1	629.93	631.42	1.49
36-2	619.02	621.53	2.51
36-3	626.32	628.41	2.09

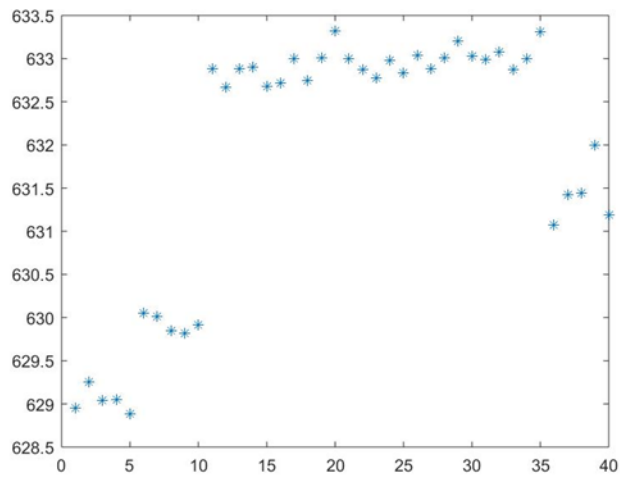


表 20、174(anti-CPP：3)實驗結果

檢體編號	Peptide wash	檢體 wash	差值
174-1	618.57	619.76	1.19
174-2	618.08	618.63	0.55
174-3	620.72	622.08	1.36

三、結合手機檢測真實檢體：

表 21、G641(anti-CPP：24.4)實驗結果

	原始	peptide wash	檢體 wash
紅光強度分布			
數值	最小值：38 最大值：215 平均值：161.422	最小值：37 最大值：225 平均值：163.613	最小值：51 最大值：223 平均值：170.552
差值	6.939		

表 22、113(anti-CPP：2)實驗結果

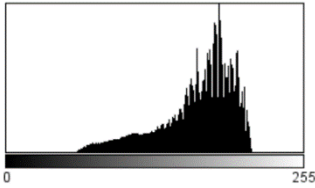
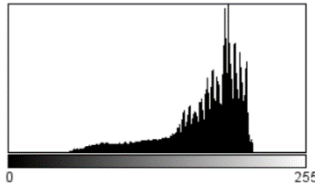
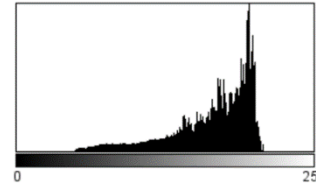
	原始	peptide wash	檢體 wash
紅光強度分布			
數值	最小值：57 最大值：211 平均值：163.633	最小值：49 最大值：215 平均值：167.323	最小值：47 最大值：213 平均值：167.653
差值	0.330		

表 23、187(anti-CPP：57.3)實驗結果

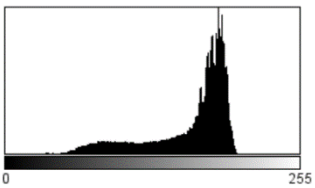
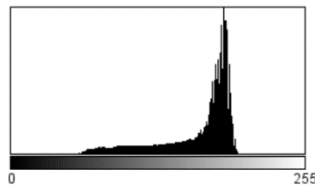
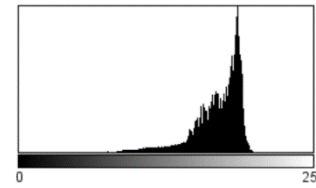
	原始	peptide wash	檢體 wash
紅光強度分布			
數值	最小值：29 最大值：205 平均值：159.795	最小值：36 最大值：203 平均值：162.139	最小值：53 最大值：255 平均值：171.622
差值	9.483		

表 24、81(anti-CPP：3)實驗結果

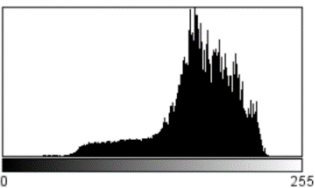
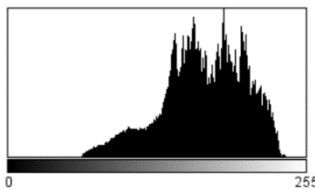
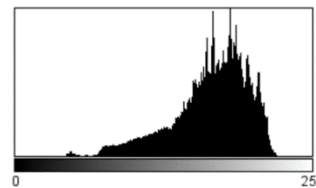
	原始	peptide wash	檢體 wash
紅光強度分布			
數值	最小值：26 最大值：246 平均值：165.264	最小值：58 最大值：242 平均值：167.373	最小值：38 最大值：237 平均值：167.818
差值	0.445		

表 25、145(anti-CPP：5)實驗結果

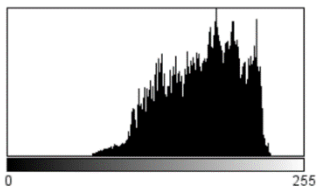
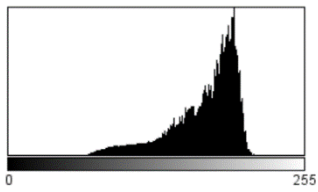
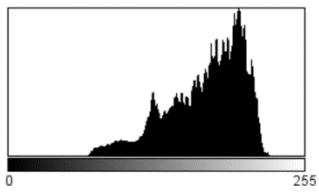
	原始	peptide wash	檢體 wash
紅光強度分布			
數值	最小值：66 最大值：230 平均值：166.993	最小值：48 最大值：221 平均值：169.011	最小值：45 最大值：228 平均值：169.688
差值	差值：0.677		

表 26、201(anti-CPP：2)實驗結果

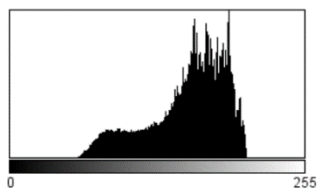
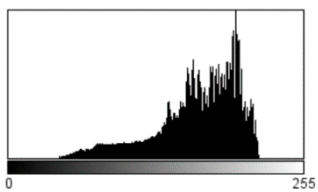
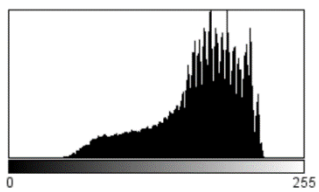
	原始	peptide wash	檢體 wash
紅光強度分布			
數值	最小值：37 最大值：208 平均值：153.939	最小值：39 最大值：219 平均值：162.763	最小值：40 最大值：222 平均值：162.935
差值	0.172		

表 27、G567(anti-CPP：12.6)實驗結果

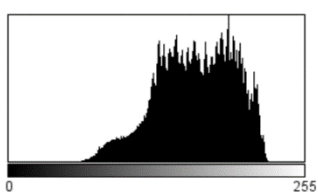
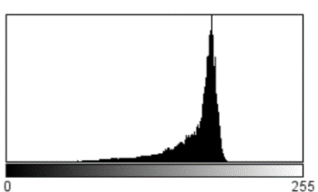
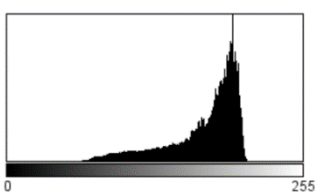
	原始	peptide wash	檢體 wash
紅光強度分布			
數值	最小值：51 最大值：234 平均值：160.918	最小值：35 最大值：255 平均值：161.889	最小值：56 最大值：255 平均值：169.789
差值	7.900		

表 28、G629(anti-CPP：14.5)實驗結果

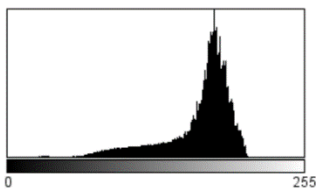
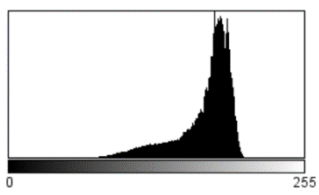
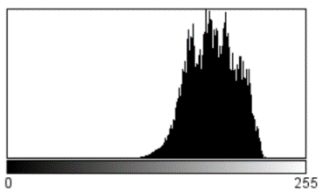
	原始	peptide wash	檢體 wash
紅光強度分布			
數值	最小值：15 最大值：239 平均值：164.192	最小值：70 最大值：208 平均值：169.818	最小值：47 最大值：255 平均值：175.403
差值	5.585		

表 29、G593(anti-CPP：210)實驗結果

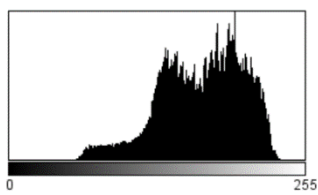
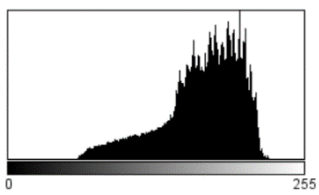
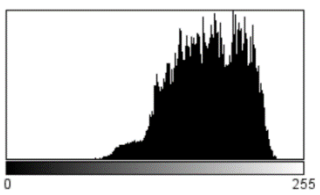
	原始	peptide wash	檢體 wash
紅光強度分布			
數值	最小值：40 最大值：238 平均值：165.755	最小值：55 最大值：226 平均值：166.783	最小值：25 最大值：235 平均值：171.596
差值	4.813		

表 30、14(anti-CPP：2)實驗結果

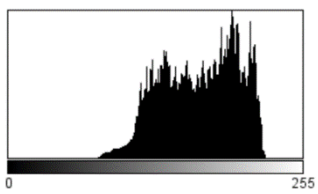
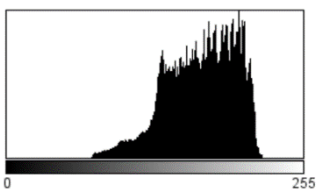
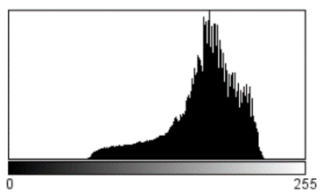
	原始	peptide wash	檢體 wash
紅光強度分布			
數值	最小值：61 最大值：224 平均值：165.882	最小值：68 最大值：241 平均值：166.906	最小值：59 最大值：229 平均值：167.250
差值	0.344		

表 31、36(anti-CPP：3)實驗結果

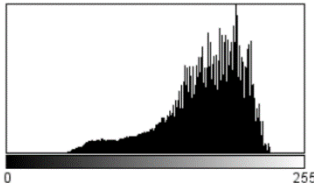
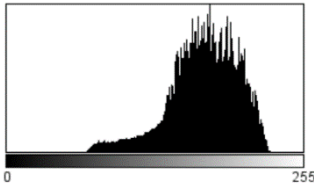
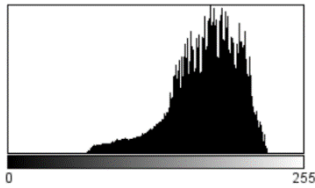
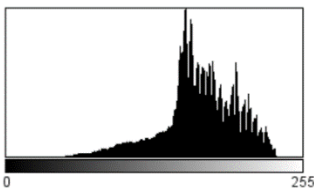
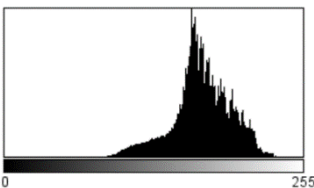
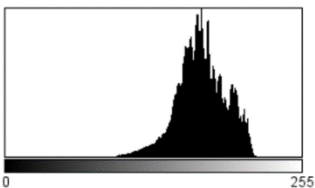
	原始	peptide wash	檢體 wash
紅光強度分布			
數值	最小值：33 最大值：227 平均值：168.000	最小值：67 最大值：236 平均值：169.344	最小值：63 最大值：231 平均值：169.816
差值	0.472		

表 32、174(anti-CPP：3)實驗結果

	原始	peptide wash	檢體 wash
紅光強度分布			
數值	最小值：44 最大值：234 平均值：166.109	最小值：74 最大值：237 平均值：168.398	最小值：85 最大值：224 平均值：168.910
差值	0.512		

四、檢測偽陰性檢體

表 33、1 實驗結果

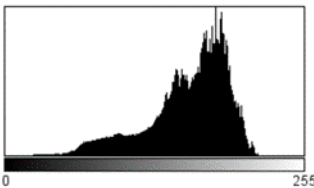
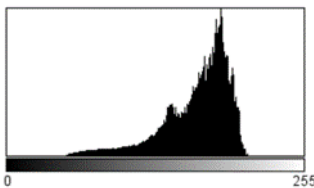
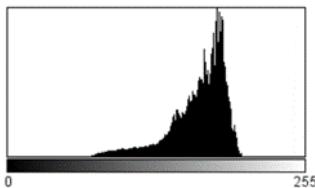
	原始	peptide wash	檢體 wash
紅光強度分布			
數值	最小值：19 最大值：227 平均值：155.908	最小值：32 最大值：232 平均值：162.360	最小值：57 最大值：204 平均值：163.742
差值	1.382		

表 34、2 實驗結果

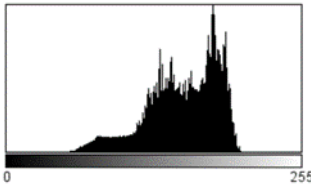
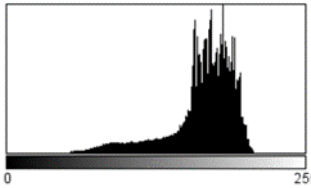
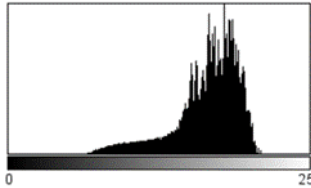
	原始	peptide wash	檢體 wash
紅光強度分布			
數值	最小值：43 最大值：255 平均值：152.473	最小值：27 最大值：230 平均值：166.484	最小值：52 最大值：219 平均值：167.939
差值	1.455		

表 35、3 實驗結果

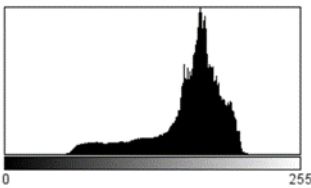
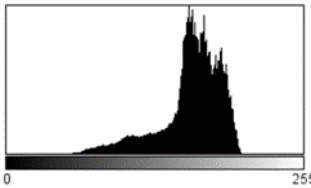
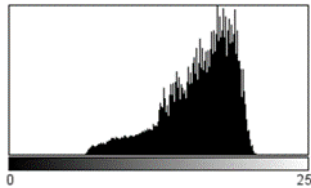
	原始	peptide wash	檢體 wash
紅光強度分布			
數值	最小值：42 最大值：215 平均值：157.810	最小值：32 最大值：205 平均值：158.338	最小值：61 最大值：213 平均值：161.024
差值	2.686		

表 36、4 實驗結果

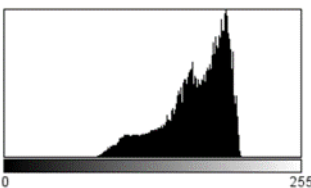
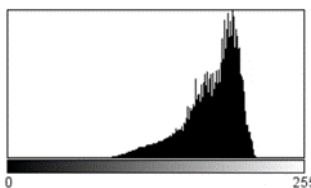
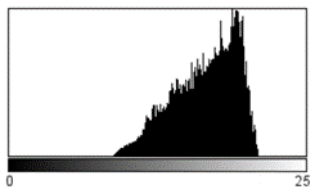
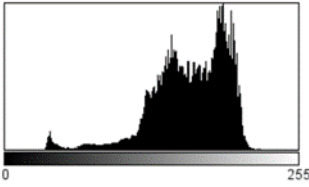
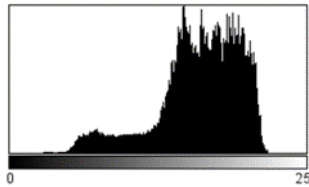
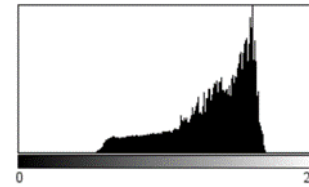
	原始	peptide wash	檢體 wash
紅光強度分布			
數值	最小值：71 最大值：208 平均值：164.126	最小值：49 最大值：216 平均值：175.472	最小值：79 最大值：217 平均值：168.193
差值	-7.279		

表 37、5 實驗結果

	原始	peptide wash	檢體 wash
紅光強度分布			
數值	最小值：33 最大值：224 平均值：160.634	最小值：26 最大值：249 平均值：162.169	最小值：58 最大值：238 平均值：165.761
差值	3.592		

柒、討論

一、不同稀釋倍率的檢體與 peptide 接合的光譜紅移量

為了找出檢體在何種稀釋倍率下最穩定，我們將檢體分別稀釋為 1000、500、100、50、10 倍，觀察數據，我們歸納出以下現象：

- (一) 濃度 1000 倍的檢體中，檢體 wash 與 peptide wash 的差值為負，主要原因是 1000 倍檢體中的抗體濃度過低，導致 peptide 幾乎無法與抗體接合。
- (二) 濃度 500 倍的檢體中，相較 1000 倍紅移量較大，由此趨勢我們可再次確認濃度大小與紅移量成正相關。
- (三) 濃度 100 倍、50 倍、10 倍的紅移量大致相同，推測可能是抗體濃度已達到飽和，但仍有微量差異，其中以 10 倍最為穩定，因此我們以 10 倍配置接下來實驗所需要的檢體。

二、使用顯微鏡檢測真實檢體

- (一) 檢體 anti-CPP 值大於 7，有發病（表 38）

表 38

檢體編號	anti-CPP 值	Peptide wash 光譜波長	檢體 wash 光譜波長	差值
G641	24.4	618.09	619.08	0.99
		626.1	627.92	1.82
		615.19	617.77	2.58
187	57.3	625.23	626.9	1.67
		621.58	623.33	1.75
		614.05	614.02	-0.03

G567	12.6	612.23	612.85	0.62
		621.43	622.06	0.63
		618.06	621.75	3.68
G599	62	617.42	623.31	5.89
		623.03	626.04	3.01
		622.41	622.32	-0.1
G629	14.5	618.19	618.81	0.62
		616.52	607.02	-9.5
		612.57	615.45	2.88
G529	60	626.89	626.12	-0.77
		616.14	617.37	1.23
		619.6	621.25	1.65
G593	210	621.28	623.2	1.92
		618.25	619.87	1.62
		619.69	619.73	0.04

(二) 檢體 anti-CPP 值小於 7，未發病 (表 39)

表 39

檢體編號	anti-CPP 值	Peptide wash 光譜波長	檢體 wash 光譜波長	差值
113	2	625.11	626.14	1.03
		624.03	624.43	0.4
		622.17	622.55	0.38
81	3	614.1	614.14	0.04
		613.63	613.49	-0.14
		614.03	614	-0.03
60	4	613.7	614.63	0.93
		612.98	612.87	-0.11
		615.34	615.78	0.44
145	5	623.31	624.00	0.69
		617.04	616.51	-0.53
		615.29	618.66	3.37
201	2	614.55	617.27	2.72
		622.56	624.32	1.76
		621.68	620.34	-1.34

36	3	629.93	631.42	1.49
		619.02	621.53	2.51
		626.32	628.41	2.09
174	3	618.57	619.76	1.19
		618.08	618.63	0.55
		620.72	622.08	1.36

(三) anti-CPP 值對照紅移量的結果

1. 根據醫院使用 ELISA 技術得出的 anti-CPP 值，以 7 作為區分是否發病的依據，值越大表示發病越嚴重。
2. 判斷紅移量時以 1 為基準，若差值平均大於 1 則表示紅移量大，此分析方法未能與醫院的檢測結果吻合。

表 40、anti-CPP 值對照紅移量結果

anti-CPP 值<7		anti-CPP 值>7	
紅移量小	紅移量大	紅移量小	紅移量大
113、81、29、60、145	201、174	G567、G599、G629	G641、187、G529、G593
屬於未發病的正常現象	抗體與 peptide 未完全接合，且其餘抗體堆積在測量點上，而在檢體 wash 階段未被沖刷掉	抗體與 peptide 的接合不夠緊密，而在檢體 wash 階段有部分被沖刷掉	屬於有發病的正常現象

(四) 紅移量呈現負值

當檢體內沒有足夠的抗體與 peptide 接合，而我們再次滴上 PBS 測量檢體 wash 的光譜時，會導致原本的 peptide 再次被洗掉，導致其共振波長比 peptide wash 的共振波長還短，使紅移量出現負值。

三、結合手機檢測真實檢體

(一) 檢體 anti-CPP 值大於 7，有發病（表 41）

表 41

檢體編號	anti-CPP 值	Peptide wash 紅光強度	檢體 wash 紅光強度	差值
G641	24.4	163.61	170.55	6.94
187	57.3	162.14	171.62	9.48
G567	12.6	161.89	169.79	7.90

G629	14.5	169.82	175.40	5.58
G593	210	166.78	171.60	4.82

(二) 檢體 anti-CPP 值小於 7，未發病 (表 42)

表 42

檢體編號	anti-CPP 值	Peptide wash 紅光強度	檢體 wash 紅光強度	差值
113	2	167.32	167.65	0.33
81	3	167.37	167.82	0.45
145	5	169.01	169.69	0.68
201	2	162.76	162.94	0.18
14	2	166.91	167.25	0.34
36	3	169.34	169.82	0.48
174	3	168.40	168.91	0.51

從實驗數據可看出，醫院判定為發病的檢體，紅光強度有明顯改變，依據抗體接上多寡，變化量會出現不同，但都大於 1，而未發病的檢體，紅光強度變化都小於 1，其細微的變化源自於晶片上面殘留的 peptide 和少數的抗體接合造成其和原始紅光強度仍有些微差異，此分析方法與醫院結果吻合。

四、偽陰性檢體

醫院檢測出 anti-CPP 值小於 7，但病人卻出現症狀的狀況稱為偽陰性，我們使用五個偽陰性的檢體，用手機拍照分析紅光強度的方式檢測，其中四組出現紅光強度變化大於 1，表示我們的方法有檢測出此檢體有發病，因此此方法準確率頗高。

表 43

檢體編號	Peptide wash 紅光強度	檢體 wash 紅光強度	差值
1	162.36	163.74	1.38
2	166.48	167.94	1.46
3	158.34	161.02	2.68
4	175.47	168.19	-7.28
5	162.17	165.76	3.59

捌、結論與應用

從實驗一中發現 10x 檢體的紅移量最明顯，因此最適合用於後續實驗檢測。

實驗二我們用實驗室的顯微鏡測量，但實驗並沒有完全按照我們當初的預期進展，不僅數據不穩定，有時還會與預期結果相違，推測可能是由於實驗時顯微鏡燈光會聚焦於一個點，那個點可能剛好沒接上 peptide 或抗體，造成實驗數據的不穩定，影響其準確性。

實驗三用手機擷取晶片的畫面，以 imageJ 大面積分析測量，避免實驗二中出現的問題，數據準確率高，符合醫院的檢測結果，且比原來方法方便省時省錢。

根據我們的實驗結果，用實驗三的檢測方法能達到快篩的效果，當檢測顯示出紅光強度明顯變化，患者才需要選擇去醫院做更精密仔細的檢驗，可以減少醫療資源的浪費，而且我們的方法非常簡單，對專業人員的要求度不高，所使用的晶片製作技術也可以達到大量生產、低成本以及快速製程等目標，再使用便利的手機擷取分析判斷，相較現在醫院所使用的 ELISA 技術，可以減少大量機器成本和時間，提供資源較缺乏的地區能及早發現並治療類風濕性關節炎。

另外，我們推測此分析方法只要找到專一性的蛋白質，也能適用於其他疾病的檢測，但需要更進一步的實驗證實。

玖、參考文獻

- 一、侯乃誠：Nanoslit Surface Plasmon Resonance Sensor using automatic nanoimprinting Lithography for detecting LMP1 Gene
- 二、Handout on Health：Rheumatoid Arthritis. National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases. August 2014[2 July 2015].
- 三、Majithia V, Geraci SA. Rheumatoid arthritis：diagnosis and management. *Am. J. Med.* 2007, 120 (11)： 936 – 9. PMID 17976416. doi：10.1016/j.amjmed.2007.04.005.
- 四、A study of classification criteria for a diagnosis of juvenile rheumatoid arthritis
- 五、楊文斐：Synchronously Imprinting Preconcentrator and Nanoslit Surface Plasmon Resonance Sensor for Immunoassay

【評語】 160031

以光譜紅位移量測血清中抗體量，值得探討。結合手機發展出一個檢測類風濕性關節炎的新方法。使用奈米結構式的表面電漿共振晶片，藉由血清中的抗體接合後光譜紅移現象分析結果，將其用於檢測類風濕性關節炎。但大致僅貼上實驗結果，沒有足夠的討論，建議可加強