

壹、前言

1 奈米 (nm) 為 10 億分之 1 公尺。奈米科學是一門綜合性的應用科學類，其著重於如何產生製造奈米材料、探討奈米材料的物理與化學性質，以及最後如何將奈米材料導入應用端。奈米科技在 1990 年後才受重視，因此，奈米材料可以說是集物理、化學、生物、材料等技術為基礎的應用科學類。

酵素又稱為酶 (enzyme)，普遍生存在人體內，生物依靠酵素來幫助體內進行各種物質與新陳代謝維持生命。「酵素」一詞在 1877 年才提出，然而在我們生活中早就有酵素的的存在，例如：加入酵母細胞會將糖加速變成酒精的發酵作用、木瓜內的酵素可將肉質軟化。此外，還可利用酵素的專一性與可重複利用的特性，進行血糖或膽固醇等含量檢查，或是利用酵素作為疾病診斷的輔助工具或評估治療效果的指標。酵素就像是一把獨特的鑰匙，可以重複打開具有相同特定結構的鎖，也就是說，一種酵素只能催化某一類或是某一種基質。酵素也是蛋白質的一種，因此溫度、酸鹼值、壓力等造成蛋白質變性的因子，影響了酵素的活性。舉例來說，在適合的溫度範圍內，酵素的活性會隨著溫度升高而增加，除了少部分較耐高溫的酵素外，大部分酵素在 60°C 以上時，很快就會失去活性，酵素已被廣泛應用於臨床醫學、工業及生物科技等領域。

自然界的蛋白質酵素——過氧化酶 (peroxidase)，過氧化酶透過降解過氧化氫可將過氧化氫分解成水與氧氣，辣根過氧化酶 (horseradish peroxidase, HRP) 作用機制在生物體內會進行催化反應及還原反應，藉著提供電子具有專一性的受質作用如過氧化氫 (Schachl, Alemu, Kalcher, Jezkova, & Vytras, 1997)。

傳統酵素活性的偵測，常使用膠體電泳 (gel electrophoresis)、酵素免疫分析 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、化學冷光 (chemiluminescence) 或螢光探針 (fluorescence probe) 等。近年來以金奈米粒子為材質，利用比色法的方式進行酵素動力學的相關研究。如利用金奈米粒子使用比色法進行酵素活性的研究 (Kong et al., 2011; Wang, Wu, Shan, & Huang, 2011)，藉由金奈米粒子表面修飾上待測物或基質，再加入適當量的酵素，與基質進行專一性反應，使金奈米粒子由分散態轉成聚集態或是由聚集態轉成分散態的方式，達到偵測的目的，再藉由計算加入酵素量的多寡，與金奈米粒子分散或聚集的程度進行比較，即可用於酵素動力學的探討。此方式相較於傳統酵素的檢測方式，比色法有步驟簡單、免標記螢光染劑、以肉眼分析不需偵測器和便宜等優點。

酵素之用途雖然相當多，但由於在強酸、強鹼的條件與高溫的環境下會失去其原本應有的活性，穩定性較差，也不易純化，以致無法被廣泛地應用。因

此有人朝人工酵素方面進行研究，如去氧核酸酵素 (DNAzyme)、功能性聚合物 (functional polymer) 等，但這些人工酵素的催化活性較天然酵素低。近年來已有人發展利用奈米材料，取代酵素免疫分析法所使用的 HRP (Chen et al., 2011; Wang, Zhu, Jiao, Dong, & Li, 2012; Zhang, Xu, Li, & Li, 2013)。與天然酵素相比，金與鉑材料相對的成本較低、製備簡單、穩定性較好，具有仿酵素的特性，可應用在生物催化、生物測定和奈米生物醫學等相關領域 (He et al., 2011)。

貳、文獻回顧

2009 年，Faquan Yu 團隊 (Yu, Huang, Cole, & Yang, 2009) 利用檸檬酸鈉 (sodium citrate)、甘胺酸 (glycine)、聚離胺酸 (poly-lysine)、聚乙烯亞胺 (poly ethyleneimine)、羧甲基糊精鈉 (carboxymethyl dextran)、肝素 (heparin) 修飾氧化鐵奈米粒子的表面結構，使氧化鐵奈米粒子具有不同的表面電荷、電荷密度以及塗層厚度，利用六種不同表面特性的氧化鐵奈米粒子作為仿過氧化酶，使用 [2,2'-azino-di-(3-ethylbenziazobine sulfonate-6)] (ABTS) 和四甲基聯苯胺 (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, TMB) 作為基底染劑進行催化活性比較。與 HRP 比較在標準防腐劑 sodium azide 催化活性穩定度，催化活性穩定且不受影響。結果顯示，以甘胺酸修飾的氧化鐵奈米粒子具有良好的葡萄糖偵測線性 ($R^2 = .998$)。

2010 年，Yu Zhang 和 Ning Gu 團隊 (Zhang et al., 2010) 利用簡單、低成本的合成方法成功開發出高順磁性、無生物毒性、高生物相容性之磁性奈米粒子，並且以 IgG 為基板證明此奈米粒子為無生物毒性以及高生物相容性之仿過氧化酶。修飾後的氧化鐵奈米對 TMB 以及雙氧水的 K_m 值分別為 0.307 mM、323.6 mM。從實驗結果中發現，本方法合成出的仿過氧化酶活性高於天然酵素 HRP 並且與基底染劑 TMB 有較好的親和力。

2011 年，Xian-Xiang Wang 團隊 (Wang et al., 2011) 以 BSA@Au clusters 作為過氧化酶類催化劑。此實驗探討在不同溫度、pH 值的環境下以及不同濃度的過氧化氫的催化活性，BSA@Au clusters 最佳條件在 40°C、pH 3 證實 BSA@Au clusters 比 HRP 的催化活性還強。研究者開發一種新型的比色法，線性範圍從 $1 \times 10^{-6} \sim 2 \times 10^{-4}$ M，並應用於檢測人類尿液與血清樣品中的黃嘌呤。

2012 年，Xingguo Chen 團隊 (Su et al., 2012) 利用鋅結合鐵奈米粒子合成出比天然酵素 HRP 更具穩定性的仿過氧化酶，鋅鐵奈米粒子具有高穩定性、高催化活性，在 pH (2-11) 以及溫度 (0 ~ 90°C) 下保持穩定的催化活性，取代天然酵素 HRP 進行過氧化酶偵測，成功偵測糖尿病患者的尿酸濃度，具有良好的線性範