

奈微米生物分子塗佈之晶片技術

文 圖 / 嚴沛文、林致廷

人類技術的演進皆肇始於人類對於自然的渴望，諸如希望飛翔與期望預測天氣的變化等，如何利用對大自然中生物行為所觀察到的行為和學習到的知識，開啟了人類科技發明與自然界生物間接合的橋樑，使生活更為多彩多姿即為科技發展的原動力。同樣的，在現今蓬勃發展的電機電子技術中，仿生晶片亦是研究發展的主軸之一。仿生晶片主要是觀察及模擬自然界生物各種各樣的特殊構造及結構，利用原本存在於大自然中的原理提供新的設計思想與系統架構而開發出新的晶片技術。在眾多仿生晶片技術中，生物分子感測及分析技術的發展推動著基礎生命科學的進步，可快速分析、具有高精確度並且操作簡單的感測技術為不可或缺的產品。在此背景下，生物分子感測元件應運而生。然而生物系統機制十分複雜且精細，因此仿生感測晶片技術可以幫助現今研究者利用生物體內繁雜的物理和化學過程原理去開發生物分子感測元件，而此技術的發展與成熟亦逐漸實現了生命科學研究領域的長久期待。

生物分子感測元件（biosensor）的實現方式為將感測分子——通常為生物受體分子（bio-receptor），與換能器或傳導元件（transducer）相結合，將待測物中的特定生物分子或化學物質與受體分子反應的結果，以光、電或其他形式的可分析訊號傳遞出來，因生物分子之間的反應通常具有專一性或高度選擇性，故此類元件有能力進行高精確度的感測與分析。而衍生出來的產物——生物晶片（biochip）是將大量單一或數種不同的生物分子感測元件加以整合，以陣列的形式，並以微機電製程的方式製作，使其可以進行平行、快速且大量的待測物分析^[1]。而現今生物感測晶片的應用遍及各大領域，舉凡分子生物學如基因體或細胞研究、醫學或臨床診斷、藥物研發、環境監測、食品分析、生化犯罪偵測等等，皆可利用生物晶片作為研究或發展工具。

在生物分子感測元件中，生物分子在晶片表面的固定化^[2]（或稱為塗佈）是製作生物分子感測元件的基礎。如何達成迅速、高精確度的固定化方法對生物分子感測元件的發展是相關科技發展之關鍵技術。而現有之分子塗佈法有微影製程（photolithography）、噴墨列印製程（inkjet printing）、微壓印技術（microcontact printing）、熱致塗佈等，各有其缺陷，如塗佈解析度不佳、塗佈效率不佳、所需儀器設備複雜、對所塗佈的生物分子造成物理性或化學性的傷害而致無法正常運作等。為了改善前述缺點，本實驗室著重的塗佈技術為「電致濕潤性」^[3]的方式。所謂「電致」為外加電壓於預定元件上的電極，利用電壓控制元件特定區域的表面電位，使生物分子均勻固定於元件表面。由於電致方式易與現今工業用微機電製程整合，故擁有高效率、高解析度等優勢，比起傳統塗佈技術有較高的晶片整合發展潛力。

何謂電致濕潤性

電致濕潤性的現象首先在1875年由盧森堡物理學家Gabriel Lippmann所提出^{[4][5]}。他發現汞與電解液之間的毛細現象特性可被外加電場所改變。但是由於電解液與汞或電極接觸時，外加電壓時會有電解的發生，故限制了外加電壓的大小。直到1990年代，Burno Berge提出^[6]在電極與電解液中加入一層絕緣的介電層以防止電解的發生，這就是今日所熟知的「介電質電致濕潤」(Electrowetting on dielectric, EWOD)，其元件架構如圖1所示。當外加電壓存在時，電解質溶液與絕緣層表面之間的接觸角會減小，即可調控元件表面材料的親疏水性。而電致濕潤現象的應用目前廣泛應用於生醫領域，像是微流道、微量液體輸送與混合，乃至於光學領域上的可變透鏡及顯示器技術方面。而本實驗室主要利用此原理達成生物分子均勻塗佈於生醫感測元件表面。

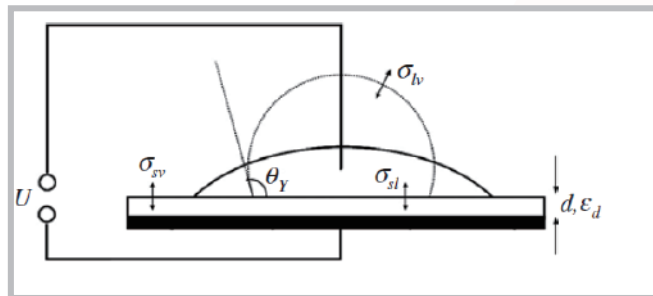


圖1：介電質電致濕潤性（EWOD）元件架構示意圖^[4]。元件黑色底部為電極，電極上的透明部分為絕緣層。 U 為外加於元件的電壓； σ_{sy} 、 σ_{sl} 及 σ_{lv} 分別為絕緣層-空氣、絕緣層-溶液及溶液-空氣間的表面張力； d 為絕緣層厚度， ϵ_d 為絕緣層的介電常數。

電致濕潤性元件應用於生物分子塗佈

生物分子對於晶片表面的沾黏性主要由兩種主要因素所影響，一為表面電荷，另一為表面的親疏水性，所以，改變表面的親疏水性將可以有效地影響生物分子對於晶片表面的沾黏特性。電致濕潤元件架構由下到上包含基板、電極與介電層，如圖2所示。利用前述電致濕潤的原理，主要是利用外加電壓調變元件表面的親疏水性變化，控制生物分子在表面的塗佈量。

為了提高表面親疏水性變化的效率，我們使用共聚物Pluronic作為中介分子。Pluronic為一種三區塊的共聚物，中央區塊為疏水性，兩端則有對稱的親水性長鏈，如圖3所示。當溶液中的Pluronic分子接近疏水性的元件表面時，中央的區塊會因分子間的疏水——疏水作用力（為一種凡得瓦力）而附著在元件表面上，兩端的親水性長鏈則會形成阻擋層，防止其他分子接近表面，降低溶液中其他分子在表面附著的機會，因此可利用此材料調控元件表面親疏水性變化以達到控制生物分子塗佈量。

為了達到選擇性的塗佈生物分子的效果，先將晶片表面塗佈上一層Pluronic分子，如前所述，此一分子層將排斥生物分子沾黏於晶片表面，而

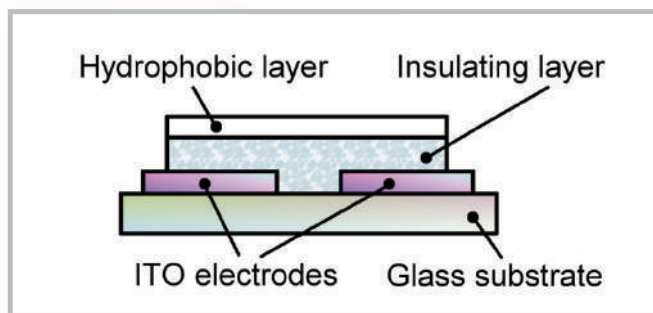


圖2：本研究所設計用於生物分子塗佈的電致濕潤性元件架構圖。

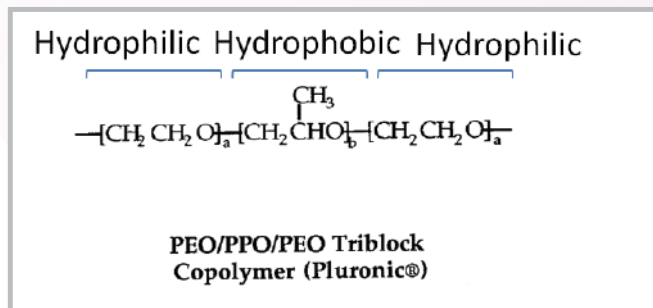


圖3：Pluronic 共聚物分子結構圖。

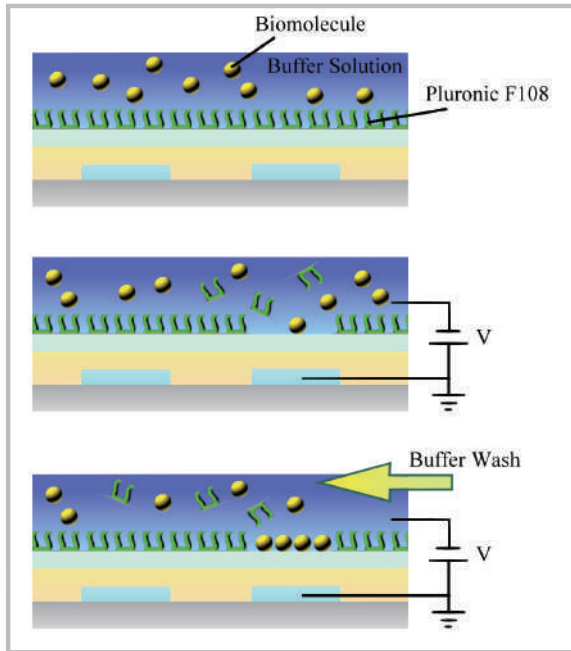


圖4：生物分子塗佈原理示意圖。圖中黃色圓球代表生物分子，綠色曲線條塊代表Pluronic分子，我們可於電極上外加電壓而改變元件的表面電位，使表面親疏水性發生變化，使Pluronic分子漂離，讓生物分子得以附著在元件表面特定的區域。

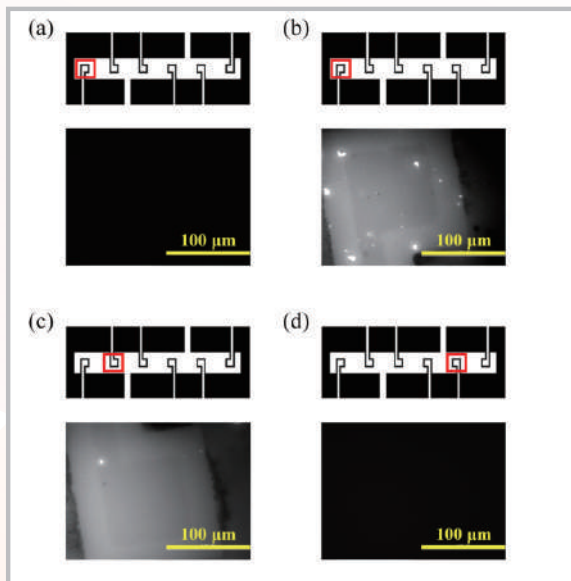


圖5：在元件表面進行螢光蛋白質塗佈的結果，紅色方框表示螢光照片所顯示的區域。

- (a) 元件表面第一電極區域，未進行蛋白質塗佈前的螢光照片，此為元件表面螢光強度的背景值。
- (b-c) 在元件的第一，二電極上外加電壓進行蛋白質塗佈，塗佈後該區域的螢光照片。圖中的亮度分布是以單色CCD曝光1秒後所收集到的紅光強度。
- (d) 塗佈完成後，在元件未外加電壓的第五電極區域的螢光照片，顯示非塗佈區域的螢光亮度分布。

後，利用施加電壓的方式，改變晶片表面的電位能，使晶片表面由疏水性變成親水性。在此一狀況之下，原本於晶片表面利用疏水性凡得瓦力黏附的Pluronic分子，即因為凡得瓦力的減少而無法繼續沾黏於晶片表面。隨後的生物分子即可以黏附於此一原本由Pluronic占據的表面空間，達成生物分子塗佈的目標。

生物分子塗佈實驗結果

為了驗證上述的晶片技術，我們利用具有螢光的牛血清蛋白分子進行實驗，將其塗佈於電致濕潤元件表面，實驗結果如圖5所示。由實驗結果可知有外加電壓區域元件可使蛋白質附著於其表面上，因此會表現螢光。（圖5 b-c）但是未加電壓區域由於未附有蛋白質因此不會表現螢光（圖5 d）。由此技術所完成的蛋白質塗佈結果可應用在細胞的塗佈上，由於不同蛋白質對細胞表面有不同的親合性，若在元件表面區域塗佈不同的蛋白質，即可選擇性的將細胞培養至元件表面的特定區域，且仍保有此技術兼具高解析度與高效率的優點。

結論與未來發展

我們以簡易的微機電製程技術製作一元件，包含微米尺度的電極與其上的疏水介電層，使蛋白質在元件表面形成的塗佈圖形與電極的形狀與大小相當吻合，因此可藉由製作奈米尺度的電極達成解析度甚高的生物分子塗佈目標；此外，藉由改變外加電壓的強弱即可控制蛋白質附著至元件表面的量，且塗佈流程的效率甚高，僅需要數分鐘至數十分鐘即可完成多次的生物分子塗佈。此技術可將多種不同的生物分子分批固定至同一元件表面的不同區域，且元件有操作容易、製作成本低廉並相容於目前的半導體產業與微機電製程等諸多優勢，未來可用於製作多工型的生物分子感測元件或生物晶片。（本專題策畫／電機系林茂昭教授&化工系陳文章教授）

參考文獻：

- [1] T. Vo-Dinh, B. Cullum, “Biosensors and biochips: advances in biological and medical diagnostics (Review).” *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 2000, 366, pp. 540-551.
- [2] G. T. Hermanson, A. K. Mallia, P. K. Smith, “Immobilized affinity ligand techniques.” Academic Press, San Diego, CA 1992.
- [3] C. Y. Fan, K. Kurabayashi, E. Meyhöfer, “Protein pattern assembly by active control of a triblock copolymer monolayer.” *Nano Lett.*, 2006, 6, pp. 2763-2767.
- [4] F. Mugele, J. C. Baret, “Electrowetting: from basics to applications.” *Journal of Physics-Condensed Matter*, 2005, 17, pp. 705-774.
- [5] G. Lippmann, “Relations entre les phénomènes électriques et capillaires,” *Ann. Chim. Phys.*, 1875, 5, pp. 494.
- [6] B. Berge, “Electrocapillarite et mouillage de films isolants par l'eau.” *C.R. Acad. Sci. Paris*, 1993, t. 317, Serie II, pp. 157-163.
- [7] Lin, C.-T. and Lin, C.-H., “A Statistical Nano-Mechanism of Biomolecular Patterning Actuated by Surface Potential,” *Journal of Applied Physics*, 109, DOI: 10.1063/1.3533982, Feb. 2011
- [8] Lin, C.-T., Chung, S.-L., Lin, C.-H., Kuo, P.-L., and Li, C.-H., “The Configurable-Biomolecular Nano Pattern Controlled by Surface Potential,” *Microelectronic Engineering*, doi:10.1016/j.mee.2010.12.041, 2011

嚴沛文小檔案

現為臺灣大學生醫電子與資訊學研究所博士生。2008年畢業於陽明大學生物技術暨檢驗學系，2010年前往美國Lehigh University做交換學生，並取得陽明大學生醫光電研究所碩士。2010年7月進入臺大生醫電子與資訊學研究所攻讀博士，主要研究為生物微機電系統整合技術與奈微米製程及應用。



林致廷小檔案

現任臺灣大學電子工程研究所助理教授。2006年取得美國密西根大學電機與資訊工程學博士，於2006年10月進入臺灣大學電子工程研究所任教。其研究興趣在於整合生物應用之電機電子相關元件與系統技術，包含奈微米生物分子感測元件、奈微米生物晶片、軟性噴墨電子元件系統及無線感測器網路系統等。