

國立台灣大學理學院化學系

碩士論文

Department of Chemistry

College of Science

National Taiwan University

Master Thesis

矽奈米線場效電晶體在生化研究上的應用：

1. 利用選擇性表面修飾法減低偵測所需樣品量及時間
2. 結合生物脂雙層膜與矽奈米線場效電晶體作為偵測平台

Applications of silicon nanowire field-effect transistors on biochemistry study :

1. Minimizing sample volume and detection time via selective surface modification
2. Coupling supported lipid bilayer to a silicon nanowire transistor as a biosensing platform

楊婉鈴

Wan-Ling Yang

指導教授：陳逸聰 博士

Advisor: Yit-Tsong Chen, Ph. D

中華民國 101 年 6 月

June, 2012

誌謝

在這短短兩年的碩士生涯裡，首先，感謝陳逸聰老師讓我進入 322 這個大家庭內，學習與成長，不論是研究態度或待人處事上，都獲得了許多。

在 322 這個大家子裡，有著最堅強的博士後陣容、最認真的碩士級助理和最可愛的學生們。其中，我最要感謝的人也是最照顧我的人-博仁學長，謝謝你！不藏私的教我實驗技巧，謝謝你！不怕煩的教我思考問題，謝謝你！總是想把我推銷出去，謝謝你！把我當自己妹妹一樣看待，謝謝！我最愛你啦!!!再來，感謝的是身為同組的建維學長，謝謝你！雖然你本人真的話很少，但在我剛進這個家子，身為菜鳥時，你還是讓我感受到這家子的活潑與溫暖，我跟你和博仁學長，要是永遠的鐵三角唷！凱莉學姊，雖然你提早離開我們這家子，但謝謝你給著個家帶來這麼多歡笑。可欣學長，謝謝你一起陪我無聊的換管和抬槓。均達學長，謝謝你教我許多知識，我真的很佩服你的耐心。怡穎學姊，都是你誤會我，害我們過了大半年才熟起來，真是太可惜了，才剛混很熟，我就要畢業了，我會想念我們整天胡亂說的日子。耕慧學姊，真的太高興認識妳了，多了個懂我的人，真好。怡成學長，謝謝你成天跟我吵架，還真有趣。我最親愛的同學-令瑋，謝謝你又陪我度過一次的畢業和次次的歡笑與淚水。還有，帝宇學長、博任學長、梁捷學長、佳璋學長、弘杰學長、其勻、家維、耀文和元錫，謝謝你們。

我們是永遠的 322 大家庭，充滿著歡笑與淚水，相互扶持與鼓勵。我愛大家！

摘要

矽奈米線場效電晶體 (silicon nanowire field-effect transistor, SiNW-FET) 生物感測器，具有高靈敏度 (sensitivity)、專一選擇性 (selectivity)、即時回應 (real-time response)、及無標記偵測 (label-free detection) 等優異特性，在近年來的生醫檢測應用上，引起相當廣大的關注與期待。本論文致力於矽奈米線場效電晶體製備之改良，與發展其在生物膜蛋白研究領域上的應用。

傳統上矽奈米線場效電晶體的表面化學修飾，並非僅在矽奈米線的表面，而是全基材表面的修飾 (all area modified, AAM)。而在本研究裡，我們成功地以“bottom-up” (由上而下) 的方法製作出具選擇性表面修飾 (selective surface modification, SSM) 之矽奈米線場效電晶體。在此實驗中，首先以 3-胺丙基三甲氧基矽烷 (3-aminopropyltrimethoxysilane, APTMS) 修飾於矽奈米線的表面，再以光刻法 (photolithography) 進行 SSM SiNW-FET 元件的製備。而透過一系列的實驗，我們確認了 APTMS 在經過製程技術的操作過後，依然存在並不受破壞。這種僅修飾矽奈米線感測表面之場效電晶體，仍然保持優異的電學性質 (具有歐姆接觸 (ohmic contact) 和高跨導 (high transconductance))。我們亦將 SSM SiNW-FET 與傳統修飾方法製作 AAM SiNW-FET 相互比較，實驗結果顯示 SSM SiNW-FET 於電訊號偵測時，具有 (1) 反應所需時間短和 (2) 所需樣品量少的優點。此實驗證明了：限制修飾區域，可以改善 SiNW-FET 的靈敏度，提供一個具有高靈敏度的生物感測平台。此外，我們亦致力於 SiNW-FET 的表面上，鋪上生物脂雙層膜 (lipid bilayer) 以取代一般的化學修飾法。這種仿細胞膜的表面修飾，讓矽奈米線場效電晶體生物感測器，成為全新的生物膜相關研究之平台。在此實驗中，我們使用 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DOPC) 中性磷脂質分子以微胞融合 (vesicle fusion) 的方式，於矽奈米線場效電晶體的表面鋪成生物脂雙層膜，並以螢光顯微鏡觀察脂雙層膜的覆蓋情形，以 AFM 確認脂雙層膜的

厚度，且透過一系列的電性實驗觀察脂雙層膜修飾後的性質。實驗結果顯示，矽奈米線場效電晶體的表面在形成脂雙層膜後，因其遮蔽了矽奈米線的表面，造成電訊號強度的下降，對此我們設計出網絡式 (multiple-parallel-connection, MPC) 矽奈米線場效電晶體的系統，以增強訊號強度與偵測極限。結合脂雙層膜與 MPC 的優點，我們將可在仿生物所處環境中，利用 SiNW-FET 進行相關主題的研究。

關鍵字：矽奈米線場效電晶體、生物脂雙層膜



Abstract

Silicon nanowire field-effect transistors (SiNW-FETs) have drawn great attention because of their potential as a label-free, real-time, and ultra-sensitive sensor for biomolecular detections. As a biological sensor, the surface of a SiNW-FET device was conventionally all area modified (AAM) with receptors, covering not only the minute SiNW surface area but also the relatively massive surrounding substrate area. However, target molecules could be captured on the upstream substrate area before reaching the SiNW surface in sensing measurements, thus jeopardizing the detection sensitivity. In this study, we have successfully fabricated SiNW-FETs with the selective surface modification (SSM) of receptors only on the SiNW sensing surface via gas-phase premodification and a bottom-up fabrication technique. Our results show that a SSM SiNW-FET, exhibiting desirable electrical characteristics with regard to ohmic contact and high transconductance, has the merits of faster response time, less sample requirements, and much improved detection sensitivity. Besides, we integrated SiNW-FET with a lipid bilayer to mimic the cell membrane for biological research, especially for the membrane protein studies. Our results show that a 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DOPC) lipid bilayer membrane with single or double lipid bilayers could be homogeneously formed on the SiNW-FET surface via a vesicle fusion method. However, because the shielding of the lipid bilayers on the underlying SiNW, signals were reduced in electrical measurement. To improve the signal acquisition from a lipid bilayer membrane covered SiNW-FET, we demonstrated that the electrical signals and the detection limit can be enhanced by utilizing a multiple-parallel-connection (MPC) SiNW-FET system.

Key words : silicon nanowire field-effect transistor 、 supported lipid bilayer

目錄

| | |
|--------------------------------|-----------|
| 誌謝..... | i |
| 摘要..... | ii |
| Abstract..... | iv |
| 目錄..... | v |
| 圖目錄..... | vii |
| 表目錄..... | ix |
| 簡稱用語對照表..... | x |
| 第一章 導論..... | 1 |
| 第一節 選擇性表面修飾之研究目標..... | 1 |
| 1.1.1 矽奈米線場效電晶體生物感測器..... | 1 |
| 1.1.2 矽奈米線場效電晶體之元件製備..... | 4 |
| 1.1.3 研究動機..... | 8 |
| 1.1.4 研究目標..... | 11 |
| 第二節 生物脂雙層膜作為偵測平台之研究價值與目的..... | 12 |
| 1.2.1 生物細胞膜..... | 12 |
| 1.2.2 基板支撐之脂雙層膜..... | 15 |
| 1.2.3 網絡式矽奈米線場效電晶體..... | 18 |
| 1.2.4 研究動機..... | 20 |
| 1.2.5 研究目標..... | 22 |
| 第二章 實驗方法..... | 23 |
| 第一節 實驗方法：電晶體製程與選擇性表面修飾..... | 23 |
| 2.1.1 矽奈米線合成..... | 23 |
| 2.1.2 晶片製程..... | 26 |
| 2.1.3 表面修飾..... | 31 |
| 2.1.4 微流體通道製備..... | 35 |
| 2.1.5 實驗儀器..... | 36 |
| 2.1.6 電性量測系統..... | 38 |
| 第二節 實驗方法：脂雙層膜與晶片的結合及其特性鑑定..... | 41 |
| 2.2.1 生物脂雙層膜的製備..... | 41 |
| 2.2.2 螢光影像..... | 44 |
| 2.2.3 原子力顯微影像偵測..... | 47 |
| 2.2.4 網絡式矽奈米線場效電晶體的製作..... | 48 |

| | |
|----------------------------------|-----------|
| 2.2.5 電性量測系統..... | 50 |
| 第三章 實驗結果與討論..... | 51 |
| 第一節 選擇性表面修飾之奈米線場效電晶體生物感測器 | 51 |
| 3.1.1 矽奈米線合成..... | 51 |
| 3.1.2 氣相修飾之矽奈米線..... | 53 |
| 3.1.3 選擇性表面修飾矽奈米線場效電晶體之電性量測..... | 58 |
| 3.1.4 電訊號偵測結果..... | 64 |
| 第二節 生物脂雙層膜與電晶體的結合及特性 | 68 |
| 3.2.1 脂雙層膜之螢光影像..... | 68 |
| 3.2.2 脂雙層膜之原子力顯微影像..... | 73 |
| 3.2.3 網絡式矽奈米線場效電晶體之元件電性量測..... | 76 |
| 3.2.4 電訊號偵測結果..... | 79 |
| 第四章 總結..... | 81 |
| 參考文獻..... | 83 |



圖目錄

| | | |
|--------|---|----|
| 圖 1-1 | 以 SiNW-FET 生物感測器偵測目標生物分子之示意圖 | 3 |
| 圖 1-2 | 利用“top-down”方法製造 SiNW-FET 之示意圖 | 5 |
| 圖 1-3 | 使用“bottom-up”方法製備 SiNW-FET 之示意圖 | 7 |
| 圖 1-4 | 以 AAM SiNW-FET 和 SSM SiNW-FET 作為生物感測器示意圖 | 8 |
| 圖 1-5 | 磷脂質的化學結構 | 13 |
| 圖 1-6 | 雙層磷脂質的結構 | 13 |
| 圖 1-7 | 三種不同的膜蛋白 | 14 |
| 圖 1-8 | 模擬生物細胞膜的模型 | 15 |
| 圖 1-9 | 以 LB 技術製備 SLBs 示意圖 | 16 |
| 圖 1-10 | 以微胞融合的方法製備 SLBs | 17 |
| 圖 1-11 | 單根與多根 In ₂ O ₃ 奈米線電晶體之比較 | 19 |
| 圖 1-12 | MPC SiNW-FET 設計概念 | 19 |
| 圖 1-13 | 以 DOPC 中性磷脂質分子於 MPC SiNW-FET 的表面製備脂雙層膜作為仿細胞膜的生物感測元件 | 22 |
| 圖 2-1 | (a) VLS 生長機制合成矽奈米線 (b) 金-矽二元相圖 | 23 |
| 圖 2-2 | CVD 合成系統示意圖 | 25 |
| 圖 2-3 | 外層電極之光罩設計圖 | 27 |
| 圖 2-4 | 接觸轉印矽奈米線的步驟流程圖 | 28 |
| 圖 2-5 | 內層電極之光罩設計圖 | 29 |
| 圖 2-6 | 完成晶片製程步驟後之 SiNW-FET 實體圖 | 30 |
| 圖 2-7 | 以 APTMS 修飾之矽奈米線 | 31 |
| 圖 2-8 | 氣相修飾裝置示意圖 | 32 |
| 圖 2-9 | Biotin 固定化於 SiNW-FET 之化學反應機制圖 | 34 |
| 圖 2-10 | PDMS 化學結構 | 35 |
| 圖 2-11 | 以 PDMS 製作的微流體通道 | 35 |
| 圖 2-12 | (a) 打線機 (b) 壓克力座架設裝置 (c) 流體實驗架設系統 | 38 |
| 圖 2-13 | 電訊號量測系統示意圖 | 39 |
| 圖 2-14 | 磷脂醯膽鹼的化學結構 | 41 |
| 圖 2-15 | DOPC 的化學結構 | 41 |
| 圖 2-16 | 微胞製備流程圖 | 42 |
| 圖 2-17 | 16:0-06:0 NBD-PC 的化學結構 | 44 |
| 圖 2-18 | 螢光顯微鏡原理示意圖 | 45 |
| 圖 2-19 | 製備脂雙層膜之實驗架設 | 46 |
| 圖 2-20 | 以 AFM 量測 SLB 厚度之示意圖 | 47 |
| 圖 2-21 | MPC SiNW-FET 之內、外層電極設計圖 | 49 |

| | | |
|--------|---|----|
| 圖 3-1 | 硼摻雜矽奈米線以不同物鏡倍率下觀察之光學影像圖 | 51 |
| 圖 3-2 | 硼摻雜矽奈米線之 HR-TEM 和 ED 影像圖 | 52 |
| 圖 3-3 | 氣相與液相修飾矽奈米線之 SEM 影像 | 53 |
| 圖 3-4 | 液相與氣相修飾之矽奈米線光學顯微影像 | 54 |
| 圖 3-5 | 氣相修飾 APTMS 之矽奈米線和未修飾之矽奈米線以 AFM 和 KPFM 偵測之影像圖 | 55 |
| 圖 3-6 | ESCA 圖譜 | 56 |
| 圖 3-7 | ESCA 圖譜之 N_{1s} (401 eV) 圖譜訊號比例 | 57 |
| 圖 3-8 | SSM APTMS/SiNW-FET 以數位型多功能三用電表量測之 I_{sd} - V_{sd} 圖 | 59 |
| 圖 3-9 | AAM APTMS/SiNW-FET、SSM APTMS/SiNW-FET 和 Bare SiNW-FET 之 I_{sd} - V_g 曲線 | 59 |
| 圖 3-10 | 未經修飾之 p-type SiNW-FET 其電導隨不同 pH 溶液之變化 | 60 |
| 圖 3-11 | 在不同 pH 溶液的環境下，APTMS 修飾之 p-type SiNW-FET 表面會發生質子化和去質子化的反應 | 61 |
| 圖 3-12 | SSM APTMS/SiNW-FET 以不同 pH 緩衝溶液作電訊號的即時偵測 | 62 |
| 圖 3-13 | SSM APTMS/SiNW-FET 以不同 pH 值溶液作電訊號的偵測，其電導對 pH 的關係 | 63 |
| 圖 3-14 | 基材面積與矽奈米線的比例約為 $10^6 : 1$ | 65 |
| 圖 3-15 | 以 avidin 偵測修飾有 biotin 之 SSM 和 AAM APTMS/SiNW-FET 的電訊號 | 66 |
| 圖 3-16 | 以相對電阻變化量對樣品消耗量作圖，比較 SSM APTMS/SiNW-FET 和 AAM APTMS/SiNW-FET 的偵測靈敏度。 | 67 |
| 圖 3-17 | 以濃度 1 mg/mL 的微脂粒鋪成之脂雙層膜的螢光影像圖 | 68 |
| 圖 3-18 | 「未離心」和「離心」兩種不同情況下，脂雙層膜的螢光影像 | 69 |
| 圖 3-19 | 以不同濃度之微胞溶液製備脂雙層膜之螢光影像圖 | 70 |
| 圖 3-20 | 在微流體通道的系統下，以不同實驗條件觀察脂雙層膜的穩定性 | 72 |
| 圖 3-21 | 以 AFM 測量脂雙層膜 (以濃度 1 mg/mL 的微胞溶液製備) 所得之高度影像圖，脂雙層膜的厚度約為 10 nm | 74 |
| 圖 3-22 | 以 AFM 測量脂雙層膜 (以濃度 0.01 mg/mL 的微胞溶液製備) 所得之高度影像圖，脂雙層膜的厚度約為 5 nm | 74 |
| 圖 3-23 | 以濃度 0.01 mg/mL 的微胞溶液製備脂雙層膜，並以非利刃型器具對已鋪成之脂雙層膜做十字形狀刮離，以螢光顯微鏡觀察之影像圖 | 75 |
| 圖 3-24 | 以光學顯微鏡觀察製備完成之 MPC SiNW-FET 的內層電極 | 76 |
| 圖 3-25 | 以光學顯微鏡觀察 MPC SiNW-FET 中任一組源-汲極電極 | 76 |
| 圖 3-26 | 以 MPC SiNW-FET 量測 I_{sd} - V_g 曲線 | 77 |
| 圖 3-27 | 分別以 MPC SiNW-FET 和 single SiNW-FET 在固定 V_{sd} 下，以參考電極給予不同的 V_g ，量測 V_g 變化對電流的影響 | 78 |
| 圖 3-28 | 比較未經修飾及表面鋪成有單層脂雙層膜之 MPC SiNW-FET 的 I- V_g 曲 | |

| | |
|---|----|
| 線變化 | 79 |
| 圖 3-29 比較未經修飾及表面鋪成有單層脂雙層膜之 MPC SiNW-FET 當溶液 pH 變化時，電訊號所受之影響..... | 80 |

表目錄

| | |
|--|----|
| 表 1-1 SSM SiNW-FET 各種製備方式..... | 10 |
| 表 3-1 MPC SiNW-FET 與 single SiNW-FET 之跨導與雜訊比得比較 | 78 |



簡稱用語對照表

AAM — all area modification, 全基材面積修飾

APTMS — 3-aminopropyltrimethoxysilane

biotin-HPDP — N-(6-(Biotinamido)hexyl)-3'-(2'-pyridyldithio)-propionamide

BLM — black lipid membrane, 黑脂膜

CNT-FET — carbon nanotube field-effect transistor, 奈米碳管場效電晶體

CVD — chemical vapor deposition, 化學氣相沉積法

DOPC — 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine

DTT — dithiothreitol

G — transconductance, 跨導

I_{sd} — source-drain current, 源-汲極電流

MBS — 3-maleimidobenzoic acid N-hydroxy succinimide ester

MLV — multilamellar vesicle, 多層微脂粒

MPC SiNW-FET — multiple-parallel-connection silicon nanowire field-effect transistor, 網絡式矽奈米線場效電晶體

PC — phosphatidylcholine, 磷脂醯膽鹼

PDMS — polydimethylsiloxane

RIE — reactive ion etching, 反應性離子蝕刻

SiNW-FET — silicon nanowire field-effect transistor, 矽奈米線場效電晶體

SLB — supported lipid bilayer, 基板支撐之脂雙層膜

SSM — selective surface modification, 選擇性表面修飾

SUV — small unilamellar vesicle, 單層微脂粒

VLS — vapor-liquid-solid, 氣-液-固

λ_D — Debye-Hückel length

第一章 導論

第一節 選擇性表面修飾之研究目標

1.1.1 矽奈米線場效電晶體生物感測器

生物感測器 (biosensor) 係指利用感測元件將生物訊息、或溶液中特定生化分子的改變量，轉換成電訊號以便紀錄分析的一種裝置。隨著科技不斷的進步，其應用也越來越廣，包括在：化學分析¹、醫療診斷²、食品工業³、環境監測⁴...等領域上，皆可見到各種生物感測器的運用。

建構生物感測器的材料與方法已歷經數十年的研究，值得一提的是在過去十多年間，奈米材料 (例如：量子微粒、奈米粒子、奈米線、奈米管、和奈米薄膜...等)⁵⁻¹¹ 亦被導入生物感測器的製備當中。而隨著奈米技術的進步，也為生物感測器的改進產生了革命性的影響。由於這些尺寸約在1-100 nm的奈米物質，與核酸、蛋白質、病毒、和細胞...等生物分子大小相若，所以對於這些生物分子所造成的相對作用也特別的顯著。正因如此，以奈米材料和技術做成的生物感測器，在偵測生物分子上顯得更加靈敏。

截至目前為止，已有多種不同的奈米級偵測技術被運用在生物領域的研究與應用上，包括了：奈米金標記、奈米線場效電晶體...等。而這些奈米級生物感測器的應用，均具有高靈敏度、選擇性、快速分析、低花費...等優勢。其中，又以一維半導體奈米材料所研發而成的矽奈米線場效電晶體 (silicon nanowire field-effect transistor, SiNW-FET)¹²⁻¹⁴ 及奈米碳管場效電晶體 (carbon nanotube field-effect transistor, CNT-FET)¹⁵⁻¹⁷ 廣受矚目。

所謂場效電晶體為一種透過外加電場效應，以控制半導體內部電流的電子元件。一般之設計包括三電極系統：源極 (source, S)、汲極 (drain, D)、和閘極 (gate, G)。此三電極控制的半導體，其中源極和汲極是以半導體通道做為架橋，閘極則

是負責調控通道之電導 (conductance)。以p-型半導體為例，當在閘極施以負電壓時，將導致主要電荷載子 (電洞) 的累積，使得電導上升。而當使用場效電晶體做為感測器，由於帶電、或極性之生物系統及化學物質與場效電晶體之介電面結合時，其情形類似於以閘極提供一電壓於場效電晶體上，致使場效電晶體能因此而產生電訊號的變化。

在傳統場效電晶體的設計裡，源極和汲極之間的架橋是微米等級的二維平面半導體通道。當這二維微米通道以一維之半導體奈米線取代時，就成了奈米線場效電晶體。而此一通道尺寸的改變，正是場效電晶體偵測靈敏度大幅提升的重要關鍵。相較於微米平面，一維奈米線具有極高的表面容積比 (surface-to-volume ratio)，當場效電晶體做為感測器時，分析物結合在一維奈米線的表面時，會產生較大的電導變化¹⁸。

過去的數十年間，奈米級場效電晶體作為生物感測器廣受矚目，特別是在SiNW-FET的發展上。SiNW-FET是以單晶矽做為材料，易與以矽基材為基礎的半導體技術進行整合，從而獲得相關成熟半導體技術的支援與成本控制，除此之外，其亦具有高靈敏度 (sensitivity)、專一選擇性 (selectivity)、即時回應 (real-time response)、無標記偵測 (label-free detection) 等優異特性。至今，已被廣泛應用在蛋白質¹⁷、DNA¹⁵、RNA¹⁸之檢測，神經傳導物質¹⁹、腫瘤標誌物²⁰、和病毒的識別²¹...等。

SiNW-FET生物感測器，是在矽奈米線的表面修飾上特定的受體 (receptor) 做為感測元件。當系統暴露在含有目標分子 (例如：蛋白質、DNA、RNA...等) 的溶液環境中，目標分子會與受體結合於SiNW-FET的表面。此時，生物分子所帶的電荷形成之電場，便會影響SiNW-FET內之電子或電洞數目，進而引發電導度的上升或下降 (圖1-1)¹⁹。而藉由電導度的變化量，便可定量地計算出目標生物分子的濃度。此種偵測方式不需對生物分子做任何標記，相對於一般用來研究生物分子間作用的方法，例如：螢光共振能量傳輸 (fluorescence resonance energy

transfer)、共同免疫沉澱 (coimmunoprecipitation)...等技術，皆需以螢光分子來標定待測之樣品，然而SiNW-FET生物感測器則具有免標記檢測的優點。此外，半導體通道的粗細也會影響奈米線場效電晶體的靈敏度^{22,23}。直徑粗的通道，因其表面容積比減小，所以當帶電粒子接近時，此外來電場所影響的通道截面積，僅止於離表面不遠處，致使導通與截止比 (on/off ratio) 不高。相反地，當通道直徑縮小至奈米等級時，表面容積比急速地增加。因此同樣的帶電粒子接近時，相同的外來電場強度，就可以很容易地影響到奈米線的全部橫截面，致使導通與截止比大幅增加，同時靈敏度也會大幅提升。

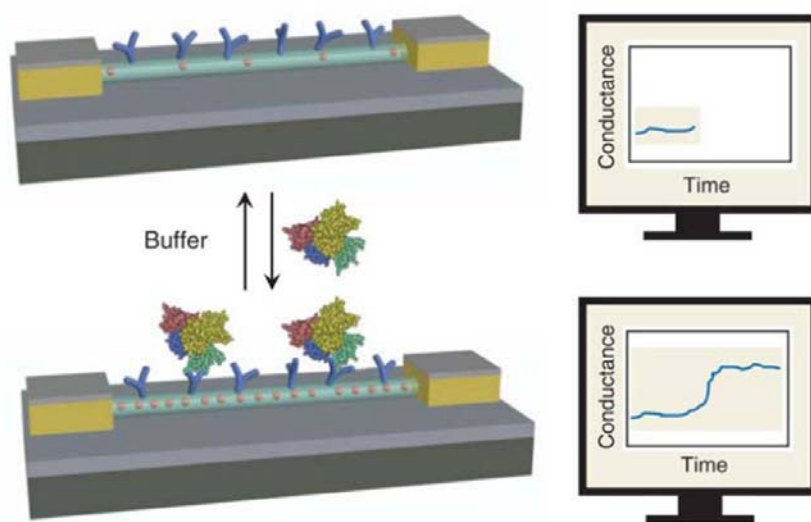


圖 1-1 以 SiNW-FET 生物感測器偵測目標生物分子之示意圖。左圖表示在緩衝溶液中，目標生物分子結合到表面修飾有受體之 SiNW-FET 感測器。右上圖顯示，在源-汲極間維持固定的電壓下，未與待測物結合的 SiNW-FET 顯示了固定的電流值。右下圖顯示：當目標生物分子與 SiNW-FET 表面上的受體相結合時，待測物所帶的靜電場，會對矽奈米線產生表面電位變化，而導致電流值的改變。因此，我們可透過對這些電訊號的監控，來判定目標生物分子與 SiNW-FET 表面上的受體是否相結合¹⁹。

1.1.2 矽奈米線場效電晶體之元件製備

SiNW-FET 的製備主要為：“top-down”（由上而下）和“bottom-up”（由下而上）兩種方法。“top-down”的方法是透過光刻（photolithography）過程，並結合電子束微影的技術，以對單晶矽晶片做物理蝕刻。而“bottom-up”方法，一般是使用化學氣相沉積法（chemical vapor deposition, CVD）先合成矽奈米線，接著對矽奈米線進行組裝，最後再以光顯影技術刻畫電極，完成元件的製備。

“Top-down” SiNW-FET

以“top-down”方法製造SiNW-FET，主要的工作在於運用絕緣體層上覆矽晶圓（silicon-on-insulator, SOI）施予光刻加工。SOI晶圓結構包含三個部分：矽晶圓基底、二氧化矽夾層（約200-400 nm）、頂部矽層（約50-100 nm）。如圖1-2所示，“top-down”之製程需要經過蝕刻的標準程序，包括：反應性離子蝕刻（reactive ion etching, RIE）、離子植入（ion implantation）、電子束微影製程（electron-beam lithography）、和熱蒸鍍（thermal evaporation），以連結矽奈米線和電極形成SiNW-FET裝置。

典型的“top-down”製程方法如圖1-2所示，其第一步（圖1-2 (i)）為將頂部矽層摻雜低密度的硼或磷，以決定矽奈米線為p-型或n-型半導體屬性；第二步（圖1-2 (ii)）是在光罩設計圖案上之電極預留處，予以高密度摻雜，定義出高導電度的電極區域；第三步（圖1-2 (iii)）係利用RIE蝕刻出微米等級區塊；下一步（圖1-2 (iv)）則是利用電子束或是精準控制的化學液相蝕刻法，刻畫出奈米級的矽奈米線；最後，利用熱蒸鍍法製作背向閘極（back-gate），並於晶片之正面鍍上一絕緣層於SiNW-FET上。

相較於“bottom-up”的方法，“top-down”的製程較為複雜，且因其過程需仰賴高解析的顯影技術，故有較多昂貴儀器的需求。“top-down”技術之另一挑戰，則是其所產生的矽奈米線寬度最小僅可達約100 nm。因此，如何就此兩點做改善，一直是“top-down”製程技術面臨的重要課題。

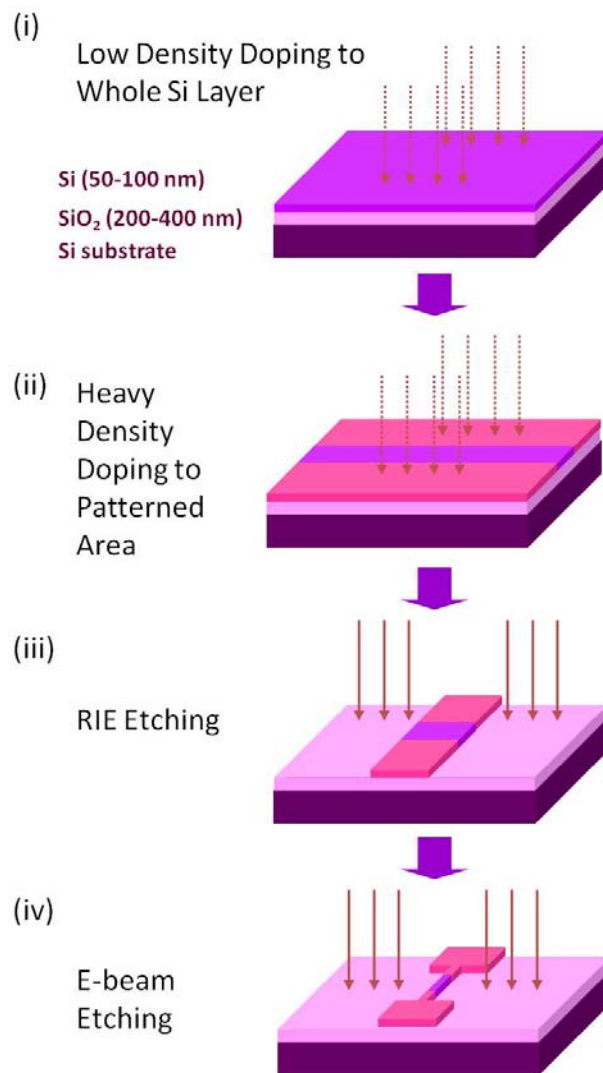


圖 1-2 利用“top-down”方法製造 SiNW-FET 之示意圖。首先將 SOI 晶片之上層矽晶圓做低密度參雜，使其具有適當的低電導度；然後在特定區間做高密度參雜，使其成為具有高導電度之導體區塊。接著利用定向乾式蝕刻電漿，蝕刻出微米等級之微米線結構。最後使用高能電子束蝕刻出奈米等級之矽奈米線¹²。

“Bottom-up” SiNW-FET

在“bottom-up”的製作過程中，首先是利用CVD方法生成矽奈米線，再藉由各種不同的技術，將矽奈米線組裝在矽基底上¹²，最後透過光顯影、或電子束微影技術以完成SiNW-FET的製作。

以CVD方法成長矽奈米線的過程（圖1-3 (i)），係依據氣-液-固 (vapor-liquid-solid，簡稱VLS) 的生長機制以完成²⁴。此法利用金屬奈米粒子做為合成矽奈米線的催化劑，金屬奈米粒子之粒徑同時亦可控制合成的矽奈米線之直徑大小。隨後（圖1-3 (ii)），將矽奈米線懸浮於乙醇溶液中，並散佈在矽基底表面。接下來（圖1-3 (iii)），將兩層光阻（分別為LOR3A和S1805）利用旋轉塗佈法將其覆蓋於矽基底上，並透過光罩曝光、洗除照光後之光阻，製作出微電極之預留空間。下一步驟（圖1-3 (iv)）則是利用熱蒸鍍法，鍍上金屬的源極和汲極；最後（圖1-3 (v)）使用去光阻液 (remover PG) 除去殘餘的光阻層，留下的金屬圖案便是所需的微電極。

相較於“top-down”，以“bottom-up”方法合成的矽奈米線具有：高結晶度、可隨意指定摻雜密度、可控制覆蓋於矽奈米線上之氧化層的薄度 (2-3 nm)、和易掌控矽奈米線直徑大小 (可輕易達 < 10 nm) 的優點。一般而言，此一方式所產生的SiNW-FET，有較高的偵測品質，唯每一奈米線的各项性質參數可能有所差別。



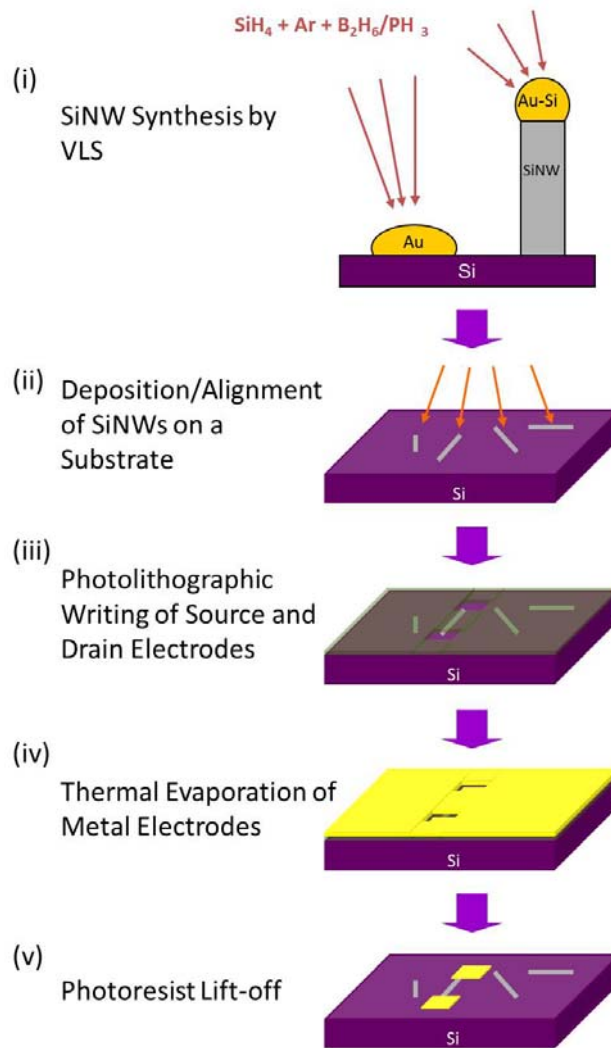


圖 1-3 使用“bottom-up”方法製備 SiNW-FET 之示意圖。首先利用 CVD 方法合成出參雜有微量硼或磷之矽奈米線，接著將此矽奈米線塗佈於矽晶片上。接著以塗佈光阻、曝光、顯影、蒸鍍等技術，製作連結矽奈米線兩端之微電極¹²。

1.1.3 研究動機

以CVD方法合成的矽奈米線，因曝露於空氣當中，表面易生成二氧化矽氧化層 (silica sheath)，此氧化層使得矽奈米線的表面可藉由修飾特定的受體 (receptor) 來偵測目標分子 (target molecule)，而最常用來修飾SiNW-FET表面的分子是3-aminopropyltrimethoxysilane (APTMS)，其一端可接有特定受體，另一端則與矽奈米線表面上的二氧化矽氧化層相連接。然而，因為矽奈米線的表面與用於製作SiNW-FET之矽晶圓表面皆為相同的二氧化矽材質，造成APTMS化學鍵結分子的修飾並非僅於矽奈米線的表面，連帶周遭基材的表面亦與修飾分子反應，這樣全基材面積修飾的矽奈米線場效電晶體我們稱它為all area modification SiNW-FETs (AAM SiNW-FETs) (圖1-4)。利用AAM SiNW-FET作生物分子的偵測時，因矽奈米線的表面相對基材表面來說，其所佔比例極小，造成絕大部分的目標分子是被位於基材表面上修飾的特定受體所捕捉，不具有偵測的效果，使得偵測靈敏度的下降。

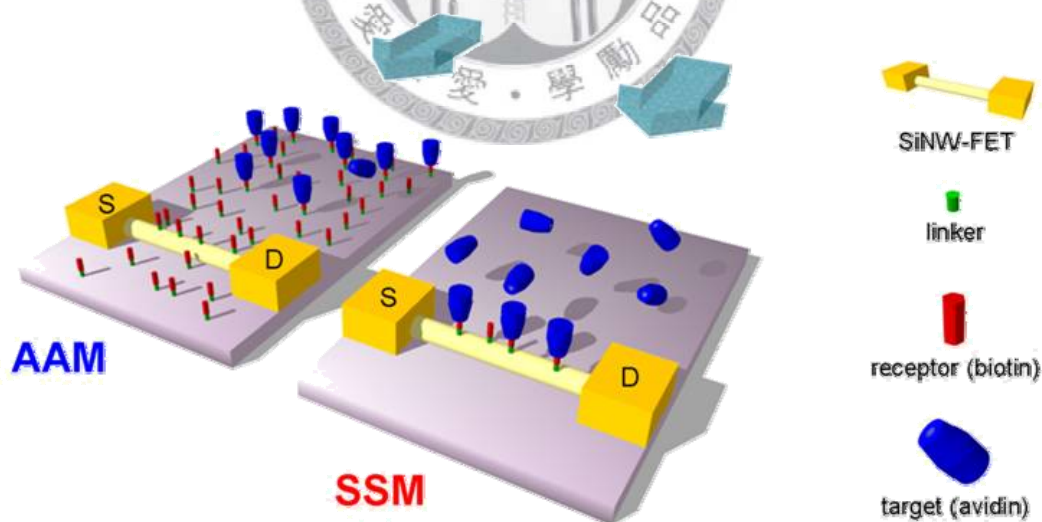


圖 1-4 以 AAM SiNW-FET 偵測生物分子時，絕大部份的目標分子是被位於基材表面上修飾的特定受體所捕捉，不具有偵測的效果，造成樣品的浪費；相反地，SSM SiNW-FET 因選擇性修飾特定受體於矽奈米線的表面，可避免樣品的浪費且減少偵測所需的時間。

依據文獻，將受體僅修飾於偵測感應區域，以改善偵測靈敏度的方法有數種，包括：光刻法 (photolithography)²⁵、微接觸印刷 (microcontact printing)²⁶、靜電吸引 (electrostatic attraction)²⁷、奈米墨水筆 (dip-pen nanolithography)²⁸ ...等以上方法皆可製備出僅在感應區域作選擇性修飾的場效電晶體，我們稱之它為 selective surface modification SiNW-FET (SSM SiNW-FETs) (圖1-4)，但其所能控制的最小修飾面積受限於微米等級，或者是需要專業技術的操作。另外，亦有文獻指出以 silicon-on-insulator (SOI) 為基礎利用焦耳熱 (Joule heating)²⁹ 和化學蝕刻 (chemical etching)³⁰ 兩種方法，製作 SOI-based SSM SiNW-FET 以達靈敏度改善的目的。前者的作法，係將 SOI SiNW-FET 的表面預先塗佈一層聚合物，再藉由高源-汲極電流 (source-drain current, I_{sd}) 產生焦耳熱，消融位於矽奈米線上方的聚合物，因此化學鍵接分子即可被修飾於矽奈米線的表面，達到選擇性表面修飾的目的；後者則是藉由控制蝕刻的速度，僅將矽奈米線表面上的二氧化矽去除，留下基材表面上的氧化層，此時矽奈米線的表面化學結構為 Si-H，再利用紫外光輔助催化反應，將含烯基的化學鍵接分子修飾在矽奈米線的表面。這兩種方法皆成功地製作了 SSM SiNW-FET，但因為高源-汲極電流所產生的焦耳熱可能會造成 SiNW-FET 結構的破壞，而蝕刻法若控制不得當，也很可能導致在進行生物感測實驗時產生漏電的情形，除此之外，這兩種方法僅適合以 SOI 為基礎之「由上至下」場效電晶體的製程方式，並不適用於「由下至上」的元件製備方式。

製備高品質的 SSM SiNW-FET 以提高偵測效率，在 SiNW-FET 作為生物感測器的應用上已成為一重要的課題。截至目前為止，大部分的 SSM SiNW-FET 都是建立在以 SOI 為基礎之「由上至下」的製程方式 (表1-1)，在本研究中，我們以「由下至上」的方法，首先將矽奈米線的表面修飾上 APTMS，然後再以光刻法製作出預修飾 APTMS 之 SSM APTMS/SiNW-FET。

The fabrication methods used to prepare SSM SiNW-FETs via a top-down or bottom-up approach.

| Chip type ^(a) | Modification method | Selective modified area | Test of selective modification | Test of detection sensitivity | Ref. |
|--------------------------|---|-------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------|
| Top-down | patterned photoresist | μm^2 | - | biotin/avidin | 31 |
| Top-down | thermal ^(b) | wire only | -NH ₂ /nano gold | - | 29 |
| Top-down | Si-H ^(c) | wire only | -NH ₂ /nano gold | - | 30 |
| Top-down | Si-H ^(c) | wire only | - | PNA/DNA | 32 |
| Bottom-up | surface modification of SiNWs prior to device fabrication | wire only | AFM/KPFM | biotin/avidin | this study |

表 1-1 (a) 以 SOI 為基礎的 Top-down (由上至下) SiNW-FET；以 CVD 合成法製備之 Bottom-up (由下至上) SiNW-FET。 (b) 施以高源-汲極電流將位於矽奈米線上方的聚合物熱消融。 (c) 以 HF 和 NH₄F 蝕刻矽奈米線表面的二氧化矽層，使矽奈米線的表面結構變為 Si-H 並以含烯基的化學鍵接分子作表面修飾之。

1.1.4 研究目標

一般場效電晶體的表面修飾方法為「液相」修飾，但此法所修飾的範圍，不僅是在矽奈米線的感測表面上，尚包括了整個基材的表面，不具有選擇性，導致在作流體電訊號偵測時，偵測樣品是被大部分不位在矽奈米線感測表面上的受體 (receptor) 所抓取，造成樣品的浪費，也降低了偵測靈敏度。除此之外，因液相修飾 APTMS 化學鍵接分子時，易發生聚積的現象，造成矽奈米線表面累積過厚的 APTMS 分子，導致偵測靈敏度的下降。

為改善液相修飾所造成的缺點，在此篇論文中，將 APTMS 化學鍵接分子預修飾於矽奈米線的表面上，以 bottom-up 的製程方式，製備選擇性表面修飾的 SiNW-FET，以提高偵測靈敏度、減少樣品的浪費，並避免修飾分子聚積的情形。



第二節 生物脂雙層膜作為偵測平台之研究價值與目的

1.2.1 生物細胞膜

生物細胞膜 (cell membrane) 為細胞結構中用來分隔細胞內、外不同介質和組成成份的界面，其主要的功能為：維持細胞結構的完整性以保護細胞內的成份、控制細胞內外物質的進出及訊號的傳遞、藉由表面之醣基化胜肽提供辨識功能以調控細胞間的交互作用...等。

細胞膜作為細胞的疆界，將細胞內的物質包圍起來，使其不與細胞外的物質產生混淆，為細胞中重要的構造之一，而此構造需符合能將細胞內、外的物質作有效的分割和使細胞能與環境之間進行物質交換的要求。因細胞內、外的物質皆屬水溶性，故細胞膜為一不溶於水的結構，也就是脂質 (lipid)，且其必需為一層連續的脂質，才可將細胞內、外的物質作有效的分割，而細胞的生命必須仰賴於環境中吸取養分，亦必須將廢物排出至環境中，且因養分和廢物都是水溶性物質，所以細胞必需要有機制能將水溶性物質運輸通過以脂質組成的膜，而此傳輸通道通常由蛋白質所組成。因此，細胞膜主要是由脂質作為基本單位重複組成，且鑲嵌有各種類型的蛋白質。

細胞膜的結構可由 1972 年美國加州大學 S. J. Singer 和 G. L. Nicolson 所提出的「流體鑲嵌模型」 (Fluid Mosaic Model) 來解釋³³，此觀點主張構成膜的蛋白質和脂質分子具有鑲嵌的關係，且膜的結構處於流體變化之中。

在流體鑲嵌模型下，細胞膜主要是由磷脂質分子雙層排列所組成。磷脂質分子為兩性 (amphiphilic) 分子，具有親水性的頭端和疏水性的尾端 (圖 1-5)，且因細胞膜內、外皆為水溶液，故雙層磷脂質分子的頭端皆朝向水相，而疏水性尾端則兩兩相接埋於膜內 (圖 1-6)，形成一穩定的結構。

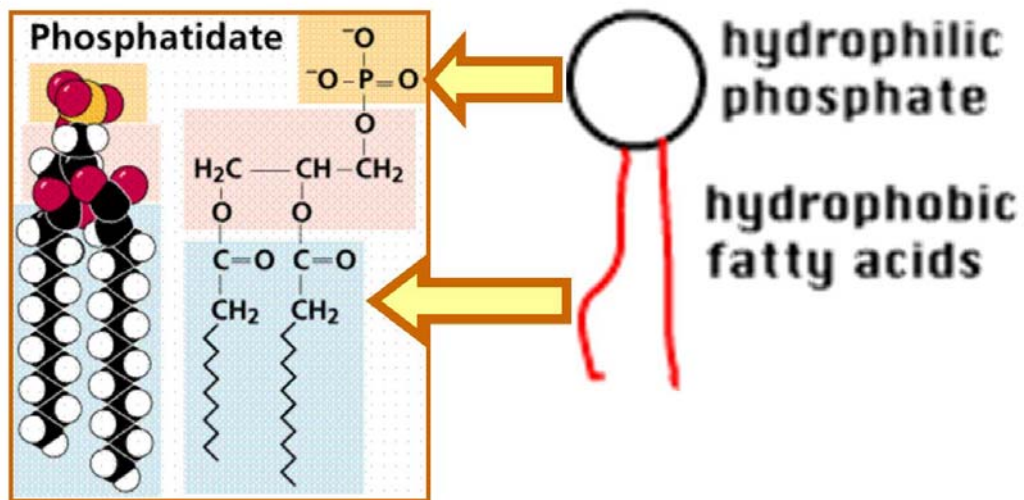


圖 1-5 磷脂質的化學結構，具有親水性的頭端和疏水性的長碳鏈尾端³⁴。

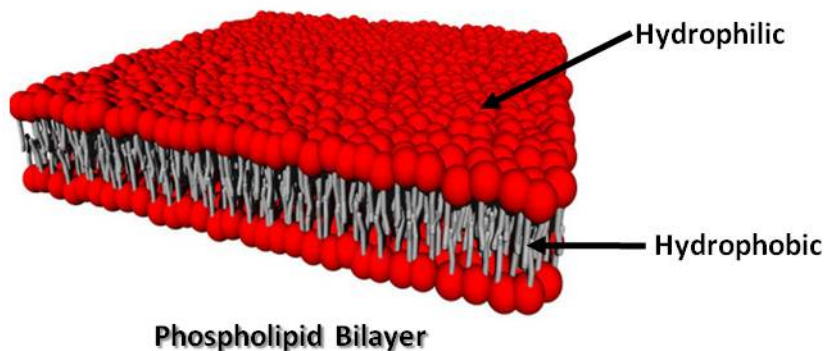


圖 1-6 雙層磷脂質的結構³⁵。

在流體鑲嵌模型中，因磷脂質分子之間是依靠凡得瓦力 (van der Waals force) 互相吸引，且此作用力相當微弱，使得磷脂質分子之間很容易互相吸引，亦很容易相互分離，故磷脂質分子可以隨著液體分子之間的流動性而靠近或分離，使得細胞膜具有流體的特性，而細胞膜的鑲嵌性則是源自於蛋白質的附著，這種附著於細胞膜上的蛋白質我們稱之為「膜蛋白」(membrane protein)。根據與細胞膜相連接的位置，可將其分為三類 (圖 1-7)：

1. 外周膜蛋白 (peripheral membrane protein)：附著於細胞膜表面或內在膜蛋白的蛋白質分子。
2. 內在膜蛋白 (integral membrane protein)：蛋白質分子僅部分與膜結合，並不跨越細胞膜。
3. 跨膜蛋白 (transmembrane protein)：跨越細胞膜兩端的蛋白質。

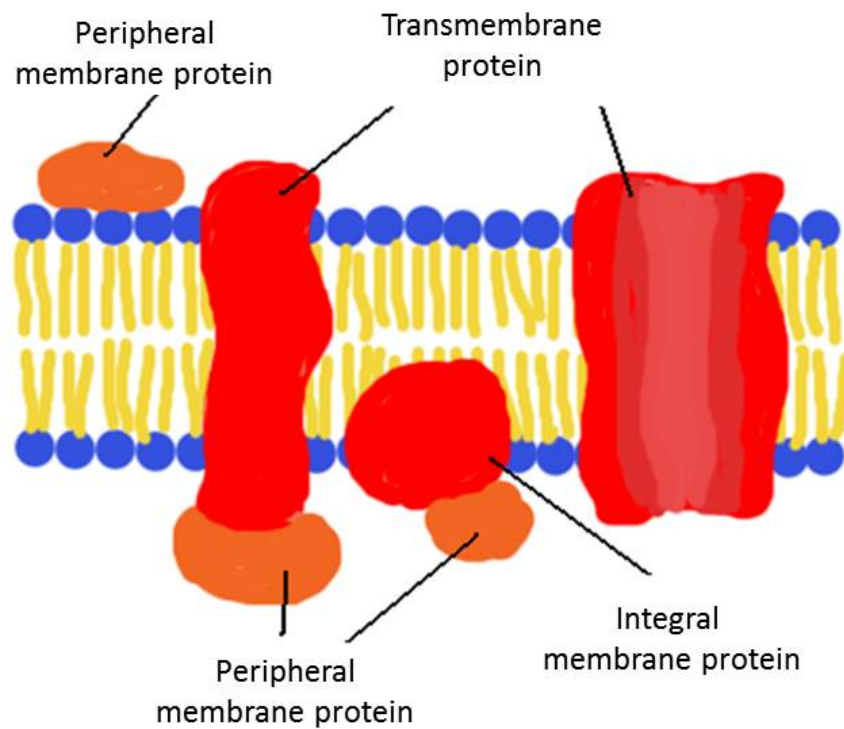


圖 1-7 三種不同的膜蛋白³⁶。

1.2.2 基板支撐之脂雙層膜

一般用來模擬生物細胞膜的模型有兩種：(1) 黑脂膜 (black lipid membranes, BLMs)³⁷ 基板支撐之脂雙層膜 (supported lipid bilayers, SLBs)³⁸。BLMs 的形成是將脂雙層膜製備於疏水性基板間的微小孔洞之間 (圖 1-8(a))，常被用來研究離子通道的形成^{37,39}，但由於 BLMs 是懸浮在溶液中，易遭受破壞，導致其穩定性不佳；SLBs 則是一種製備於固體基材表面上具流動性的脂質膜 (圖 1-8(b))，其穩定性較佳，可用來作為脂質擴散⁴⁰、膜蛋白嵌入⁴¹⁻⁵¹和蛋白質與雙層膜的結合⁵²⁻⁵⁶等相關研究的平台。常見用來鋪成 SLBs 的基材有雲母⁵⁷、硼矽玻璃⁵⁸、二氧化矽⁵⁹...等，這些表面皆具備有親水、平滑、乾淨等特性，因為雙層磷脂質分子的親水性頭端朝向外，同樣為親水性的基材表面可將其吸引，使其吸附於表面上，而平滑且乾淨的表面可提高 SLBs 鋪成的品質，減少脂雙層膜缺陷的產生。

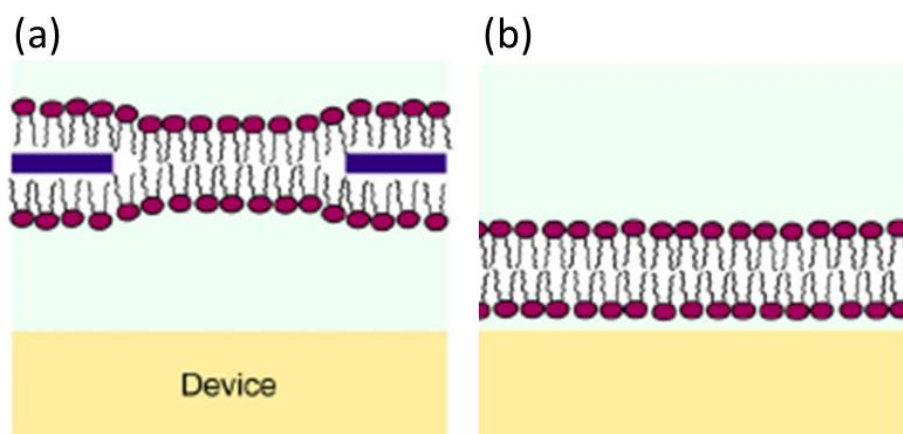


圖 1-8 模擬生物細胞膜的模型：(a) 黑脂膜 (black lipid membranes, BLMs) (b) 基板支撐之脂雙層膜 (supported lipid bilayers, SLBs)⁶⁰。

因為 SLBs 的穩定性佳且較適合使用在 SiNW-FET 的偵測平台上，故在本研究中我們選擇 SLBs 作為模擬生物細胞膜的模型。

常見製備 SLBs 的方法有：LB 技術 (Langmuir-Blodgett technique) 和微胞融合 (vesicle fusion method)。

➤ LB 技術 (Langmuir-Blodgett technique)

LB 技術是利用機械方式，將界面分子薄膜轉移至固體基板以製備分子單層與多層薄膜的系統，其步驟可簡單分為下列兩部分：

I. 兩性脂質分子於液氣介面間散佈

當兩性脂質分子分佈在液體表面上形成單分子層時，此單分子層級是所謂的 Langmuir 單分子層。Langmuir 單分子層的形成是藉由具揮發性的溶劑（通常使用 n-hexane 或 CHCl_3 ），將脂質分子均勻分布在空氣/液體的界面上，當有機溶劑揮發後，兩性分子分佈在水和空氣的界面間，親水基向下和水接觸，疏水基則朝上遠離水層，再藉由擠壓表面的兩性脂質分子，使得分子和分子間的距離減小，形成緊密堆積的單分子層（圖 1-9 (a)）。

II. LB 薄膜沉積於固體基板

首先，將一適當的固體基板移出佈滿 Langmuir 單分子層的液面，並同時利用電動機械手臂維持表面壓力，使單分子層可由液面轉移至固體基板上，形成親水端面向基板表面、疏水端暴露於空氣中、規則、排列緊密且具有方向性的單層分子薄膜（圖 1-9 (b)）。

將已鋪有單層分子薄膜的基板再度浸入佈滿 Langmuir 單分子層的液面中，使得脂質分子以尾對尾的方式堆疊，於基板的表面上形成 SLBs（圖 1-9 (c)）。

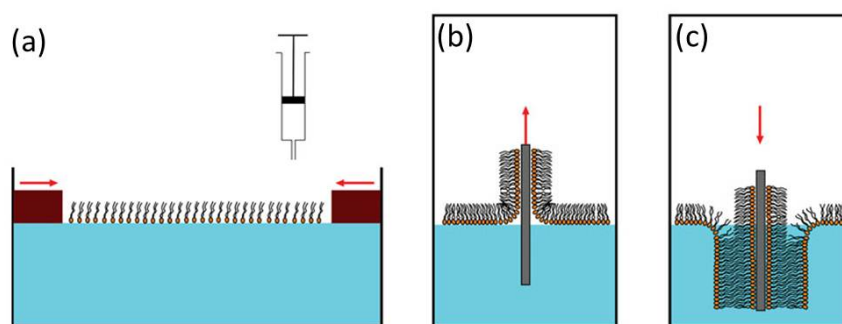


圖 1-9 以 LB 技術製備 SLBs 示意圖。(a) 兩性脂質分子於液氣介面間散佈，並藉由電動機械手臂的擠壓，形成緊密堆積的單分子層。(b) 將固體基板移出液面，使單分子層轉移至基板表面。(c) 將固體基板浸入液面中，形成 SLBs 於基板表面⁶¹。

➤ **微胞融合 (vesicle fusion method)**

以微胞融合法製備 SLBs (圖 1-10) 是目前最常見的一種方法，其製備步驟可簡單分為下列兩項：

- I. 微胞吸附於基材表面。
- II. 利用帶二價之陽離子，使微胞相互融合，形成 SLBs 於基材表面上⁶²。

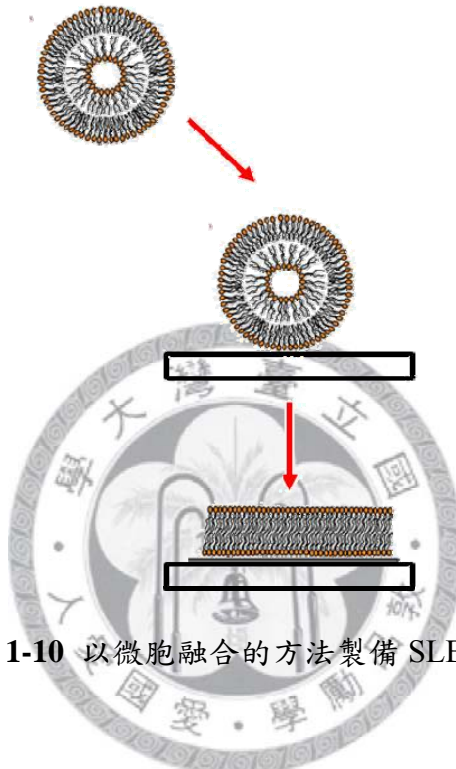


圖 1-10 以微胞融合的方法製備 SLBs。

由於微胞融合法相較於 LB 技術，其製作方式來得較為簡單、方便且不須使用昂貴的器材，即可完成 SLBs 的製備，故為目前最受歡迎的製備方式。在本實驗中亦以微胞融合的方式製備 SLBs 於 SiNW-FET 的表面上，進行相關主題的研究。

1.2.3 網絡式矽奈米線場效電晶體

文獻⁶³指出，SiNW-FET 的表面在鋪成 SLB 後，因其遮蔽了矽奈米線的表面，造成電訊號強度的下降，對此我們設計出網絡式矽奈米線場效電晶體 (multiple-parallel-connection silicon nanowire field-effect transistor, MPC SiNW-FET) 的系統，以增強訊號強度與降低偵測極限。

MPC SiNW-FET 的設計概念是欲將偵測所得之訊號雜訊比提高，而電訊號偵測之訊雜比 (signal-to-noise ratio, SNR) 又與 $I_{sd}-V_g$ 曲線之斜率有關⁶⁴，關係式如下：

$$SNR = \frac{\Delta I (\propto \text{slope of } I_{sd}/V_g)}{\delta i \text{ (Noise amplitude)}}$$

當 $I_{sd}-V_g$ 曲線之斜率增加， ΔI 值上升，使得 SNR 上升，故如何使 $I_{sd}-V_g$ 曲線之斜率增大，為一重要的課題。在此 $I_{sd}-V_g$ 曲線之斜率即所謂跨導 (transconductance, G)，其公式如下：

$$G = \frac{dI_{sd}}{dV_g}$$

2004 年，Zhou 的研究團隊以 In_2O_3 奈米線電晶體選擇性偵測 NO_2 氣體⁶⁵，其研究指出，當奈米線的數量由單根增加至多根時，可使得感測器的靈敏度增加且降低偵測極限。圖 1-11 顯示，當只有單根 In_2O_3 奈米線的電晶體作為偵測 NO_2 氣體的平台時，其偵測極限約為 20 ppb，若將 In_2O_3 奈米線的數量增加至數百根以上，則偵測極限可降低至 5 ppb，故認為奈米線數量的增加，可以提高偵測靈敏度並有效降低偵測極限。

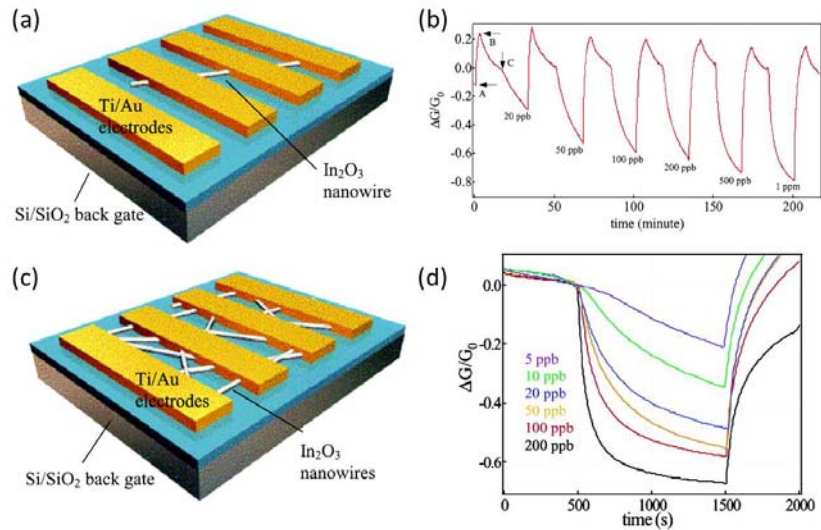


圖 1-11 (a)以 Ti/Au 作為源-汲極電極之單根 In_2O_3 奈米線電晶體。(b)以單根 In_2O_3 奈米線電晶體偵測 NO_2 氣體，偵測極限約 20 ppb。(c)多根 In_2O_3 奈米線電晶體。(d) 以多根 In_2O_3 奈米線電晶體偵測 NO_2 氣體，偵測極限可達約 5 ppb⁶⁵。

類似的概念轉換至 SiNW-FET 上，將奈米線的數量增加 (圖 1-12)。原先一對一 (共 180 對) 源-汲極電極之 SiNW-FET 的設計上 (簡稱 single SiNW-FET)，每對源-汲極電極間大約只含有一至數條 (< 10) 的矽奈米線，其跨導值約在 1000~3000 之間，若可以將源-汲極電極間的矽奈米線數量提升，使得 $I_{sd}-V_g$ 曲線斜率增加，跨導值上升，提升訊號雜訊比，即可增加 SiNW-FET 的靈敏度且降低偵測極限，以避免在脂雙層膜形成於 SiNW-FET 的表面後，因遮蔽了矽奈米線的表面，造成電訊號強度的下降，導致後續生物分子偵測實驗的偵測極限受限。

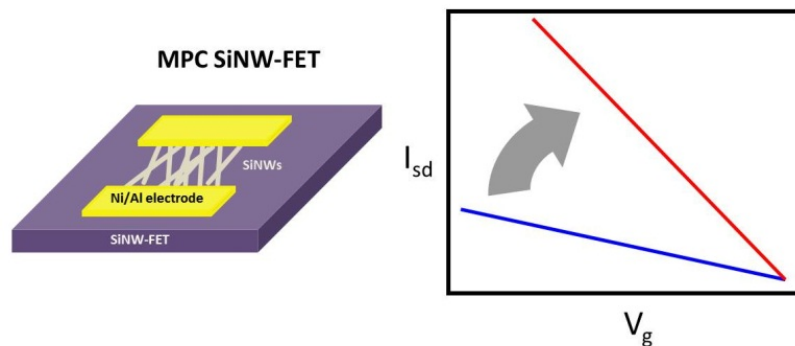


圖 1-12 MPC SiNW-FET 設計概念。將矽奈米線的數量增加，以提升 $I_{sd}-V_g$ 曲線斜率值，得較佳的訊雜比。

1.2.4 研究動機

呼吸作用 (cell respiration) 為生物體細胞將養分分解產生能量的過程，而絕大部分的分解作用是藉由催化酶促進氧化還原反應的進行。在呼吸作用中，養分的來源有三大物質，分別為碳水化合物、蛋白質和脂質。而以粒腺體為例，呼吸作用是透過糖解作用 (glycolysis)、丙酮酸脫羧 (pyruvate decarboxylation) 和檸檬酸循環 (citric acid cycle) 等步驟，將能量暫存至 NADH 與 FADH₂ 中，最後經由電子傳遞鏈 (electron transfer chain)，生成三磷酸腺苷 (ATP)，提供細胞能量，以供生命活動使用。電子傳遞鏈是由一系列電子傳遞蛋白所組成，而組成的聚合蛋白分子皆嵌合於粒腺體內膜，包括了五個膜蛋白複合物 (complex I, II, III, IV, V) 和脂溶性電子載體 (quinone)。

細胞色素 *c* (cytochrome *c*, cyt *c*) 為一個微小的血紅素蛋白，位在粒腺體的內膜與外膜之間，是電子傳遞鏈中不可或缺的重要角色。在電子傳遞鏈中，cyt *c* 負責作為電子傳遞鏈中複合物 III (cytochrome *c* reductase) 和複合物 IV (cytochrome *c* oxidase, CcO) 間的架橋，將電子由複合物 III 傳遞至複合物 IV，行氧化還原反應⁶⁶。而截至目前為止，普遍認為在電子傳遞機制的多個步驟中，cyt *c* 和 CcO 的結合為機制當中的速率決定步驟⁶⁷，且依據文獻^{68,69}所指，當 cyt *c* 與 CcO 結合時，會引發結構的改變，接著結構改變的 cyt *c* 會重新安排其與 CcO 結合的位置，並將電子傳遞至 CcO 上。

然而在文獻中，受限於現有的研究方法，cyt *c* 與 CcO 結合之機制仍未明確。因此我們欲以 SiNW-FET 能免標記偵測蛋白結合的優勢，來建立新的偵測平台。同時，我們將藉由控制不同的電位，來研究 cyt *c* 或 CcO 在不同的氧化還原態下的結合情形。而由於 CcO 為膜蛋白，為維持蛋白質在生物體內的構形，我們須仿造一個類似細胞膜的實驗平台，以測量 CcO (膜蛋白) 與 cyt *c* (水溶性蛋白質) 間之交互作用。

脂雙層膜的結構可以用來維持細胞的構形、保護細胞中的元素，形成一個穩

定和天然的屏障，控制細胞內、外物質的進出，除此之外，脂雙層膜亦可容納大量具識別、運輸、信號傳遞功能的蛋白質。故以磷脂質雙層膜模擬生物細胞膜，除了可以維持脂質分子二維的流動性之外，亦可維持膜蛋白的構形，並保持其功能性，而如何建造可維持膜蛋白功能的生物奈米偵測介面，為一個相當重要課題。

近年來的研究中，許多學者開始致力於利用脂質膜建造奈米級生物感測元件^{63,70,71}，儘管已經取得了初步的研究工作，但其尚具有許多應用的可能性，假若我們亦可成功地將脂質膜鋪成在 SiNW-FET 的表面上，對後續膜蛋白作用等相關主題的研究具有一定程度的幫助。



1.2.5 研究目標

此論文的第二部分，目前僅進行至生物脂雙層膜與 SiNW-FET 的結合，作為一個全新的生物感測平台。

一般 SiNW-FET 生物感測器，是藉由化學鍵接分子在矽奈米線的表面修飾上特定的受體 (receptor) 作為感測元件。在此部分的研究中，我們欲以 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DOPC) 中性磷脂質分子於 SiNW-FET 的表面鋪上一層脂雙層膜 (圖 1-13)，模仿生物細胞膜的環境，取代一般的化學修飾法，以維持欲偵測蛋白之構形與功能。

依據文獻所指⁶³，SiNW-FET 的表面在形成脂雙層膜後，因其遮蔽了矽奈米線的表面，造成偵測電訊號強度的下降。故為避免因訊號強度的下降，導致偵測極限受限，對此我們以 MPC SiNW-FET 的系統作為全新的感測元件，以提高偵測之訊雜比與降低偵測極限。結合脂雙層膜與 MPC SiNW-FET 的優點，我們將可在仿生物所處環境中利用 SiNW-FET 進行膜蛋白等相關主題的研究。

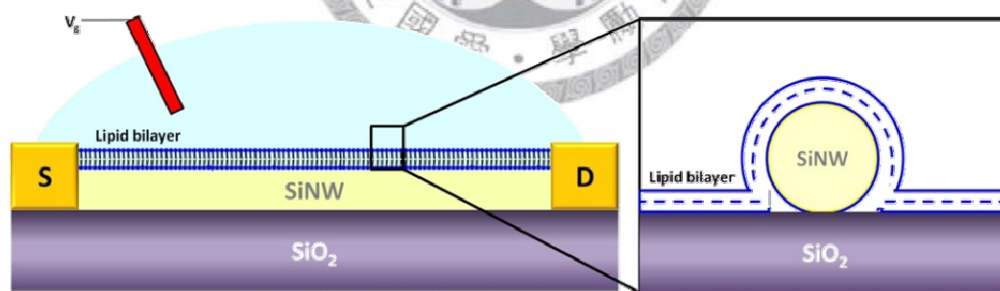


圖 1-13 以 DOPC 中性磷脂質分子，於 MPC SiNW-FET 的表面製備脂雙層膜，作為仿細胞膜的生物感測元件。

第二章 實驗方法

第一節 實驗方法：電晶體製程與選擇性表面修飾

2.1.1 矽奈米線合成

在此研究中，我們所使用的矽奈米線是以化學氣相沉積法 (chemical vapor deposition, CVD) ，並藉由氣-液-固 (vapor-liquid-solid, VLS) 之生長機制合成 (圖 2-1)⁷²⁻⁷⁴。

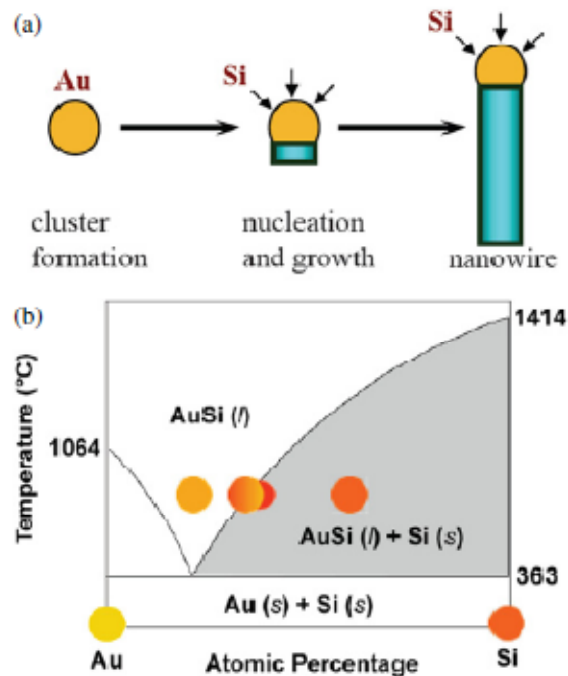


圖 2-1 (a) VLS 生長機制合成矽奈米線 (b) 金-矽二元相圖⁷³。

簡單來說，VLS 生長機制其為利用金屬奈米顆粒作為催化劑，進而引發反應物之吸附、溶解、過飽和，長成為一微奈米線。在我們的實驗中，使用直徑 20 nm 金奈米粒子當作催化劑，並依照金-矽二元相圖之條件來進行矽奈米線的合成，其合成機制包括了三大部分：第一部分合金過程 (alloy process) 是將金奈米粒子加熱至 460 °C，當通入反應氣體 silane 後，其會逐漸吸附於金奈米粒子的表面，受金奈米粒子的催化後，SiH₄ 被分解形成 H₂ 和 Si，矽原子融熔於金奈米粒

子中形成合金，並開始液化；第二部分則是成核 (nucleation) 過程，當持續通入反應氣體，合金中的矽含量增加，矽原子於金奈米粒子中的成分將達到過飽和狀態而開始析出；最後一部分為軸相生長 (axial growth)，矽原子析出後於液/固介面開始形成結晶，持續通入 SiH_4 後，將以軸相的生長方式長成單晶 (single-crystal) 矽奈米線。

合成過程中，我們亦通入 diborane (B_2H_6) 氣體，得硼參雜之矽奈米線，並藉由調整 diborane 的流量，改變參雜的比例，最佳化矽奈米線的性質。

合成矽奈米線流程：

1. 將晶圓切割成適當的大小 (約 $3\text{ cm} \times 1.5\text{ cm}$) 之破片，並以丙酮-異丙酮-去離子水的順序清洗破片表面。
2. 利用氧氣電漿 (Oxygen Plasma) 以功率 100 W 及時間 200 s 清潔破片表面有機雜質。
3. 將 0.1 % poly-L-lysine (w/v, Sigma) 滴於破片上，並完全覆蓋其表面，待 2 min 後，以去離子水清洗並以氮氣吹乾表面。此時表面帶正電之電性。
4. 調配稀釋比例為 1:3 的金奈米粒子膠體溶液 (20 nm, Sigma, $\sim 0.01\%$ HAuCl_4) 水溶液，將其吸取並覆蓋於破片表面，待約 10 s 後，以去離子水清洗並以氮氣吹乾表面。此時，呈負電之金奈米粒子會與帶正電的 poly-L-lysine 鍵結。
5. 將含金奈米粒子修飾的破片以 Oxygen Plasma (100 W, 5 min) 再次清潔其表面。
6. 開啟 Dry pump，將腔體抽真空並抽除管路內殘餘氣體。此步驟為安全起見，因所使用氣體具有危險性 (SiH_4 可自燃； B_2H_6 含劇毒)。
7. 將合成破片送入石英管中，放置於中心位置。
8. 再度開啟 Dry pump 待壓力值達 0.3 torr 後，改以 Diffusion pump 抽真空直至壓力達 5×10^{-6} torr。

9. 始流入 10 sccm 的高純度 Ar (g)，開始升溫至 460 °C。
10. 待溫度抵達 460 °C 時，立即通入 99.999 % SiH₄ (g) (6 sccm) 和 10 ppm B₂H₆ (g) (7.5 sccm)，並利用壓力計控制腔體總壓為 25 torr。
11. 當石英管內壓力值達穩定狀態後，開始計時合成時間約 15 min。
12. 合成完畢後，關閉所有氣體之閥門，利用 Pump 將反應氣體抽除，並關閉高溫爐使其降溫冷卻之。
13. 待溫度降至 50 °C 以下，以 Ar (g) 破真空並取出合成破片。
14. 完畢後，須以 Pump 將腔體及管路內殘餘氣體抽除，以確保安全。

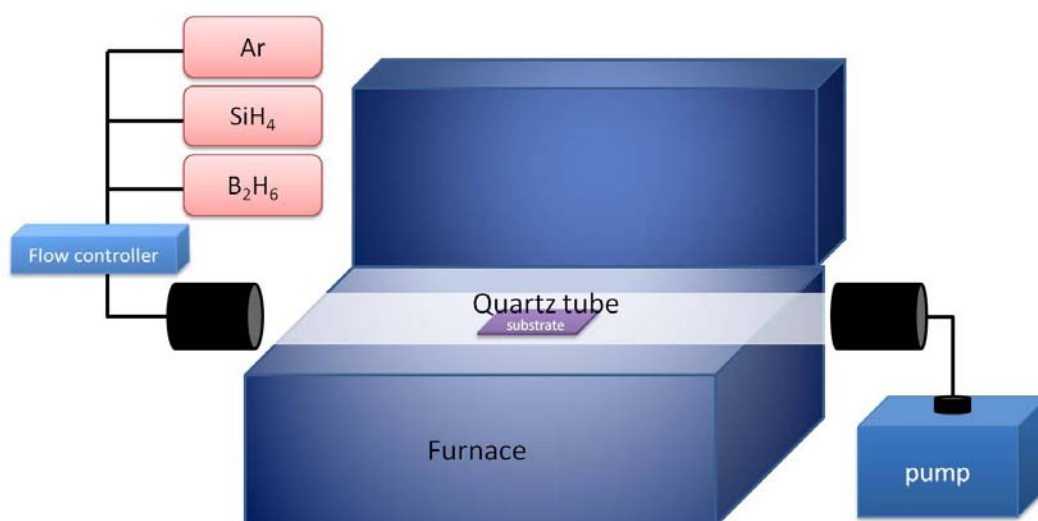


圖 2-2 CVD 合成系統示意圖。

2.1.2 晶片製程 (cowork with 李博仁 博士、陳建維 研究助理)

SiNW-FET 晶片的製程，可分為內層電極和外層電極兩個部分⁷⁴。

➤ 外層電極的製作

外層電極製作流程：

圖 2-3 為外層電極之光罩設計圖，大小為 17 mm × 17 mm，其正中心長方形的電極 (500 μm × 300 μm) 是作為 water gate 的用處，源極和汲極則分別以 500 μm × 500 μm 的方塊金屬製程電極。

外層電極的製作是利用黃光製程，包括了三個主要的步驟：光阻塗佈、曝光和顯影。

1. 首先，以 Oxygen Plasma (100 W, 200 s) 清潔四吋晶圓的表面。
2. 利用旋轉塗佈機 (spin coater) 於晶圓表面塗佈 LOR5B 光阻並以 185 °C 烘烤 5 min，接著再塗佈 S1813 光阻並以 115 °C 烘烤 1.5 min。光阻塗佈完成後，LOR5B 和 S1813 的厚度各約為 300 nm 和 500 nm。
3. 利用光照對準機 (mask aligner)，將光照對準後，以波長範圍為 350-430 nm 的光曝光 0.8 s。
4. 將晶圓置入 MF319 顯影液當中，約 1 min，使圖案顯現後，以去離子水清洗，並以氮氣吹乾。
5. 利用 Oxygen Plasma (30 W, 1 min) 清潔晶圓表面殘留的光阻。
6. 將晶圓置入蒸鍍機 (evaporator) 的腔體中，並抽真空至 10^{-7} torr 後開始蒸鍍金屬電極。第一層為鉻 (厚約 5 nm)，第二層為金 (厚約 60 nm)。
7. 金屬電極蒸鍍完成後，以 PG remover 將剩餘光阻徹底清除。
8. 外層電極完成後，於晶圓表面塗佈一層 S1805 光阻，以保護電極，避免後續步驟造成電極的損傷，並使用晶圓切割機，將晶圓上的電極陣切割成 17 mm × 17 mm 的晶片，即完成外層電極的製作。

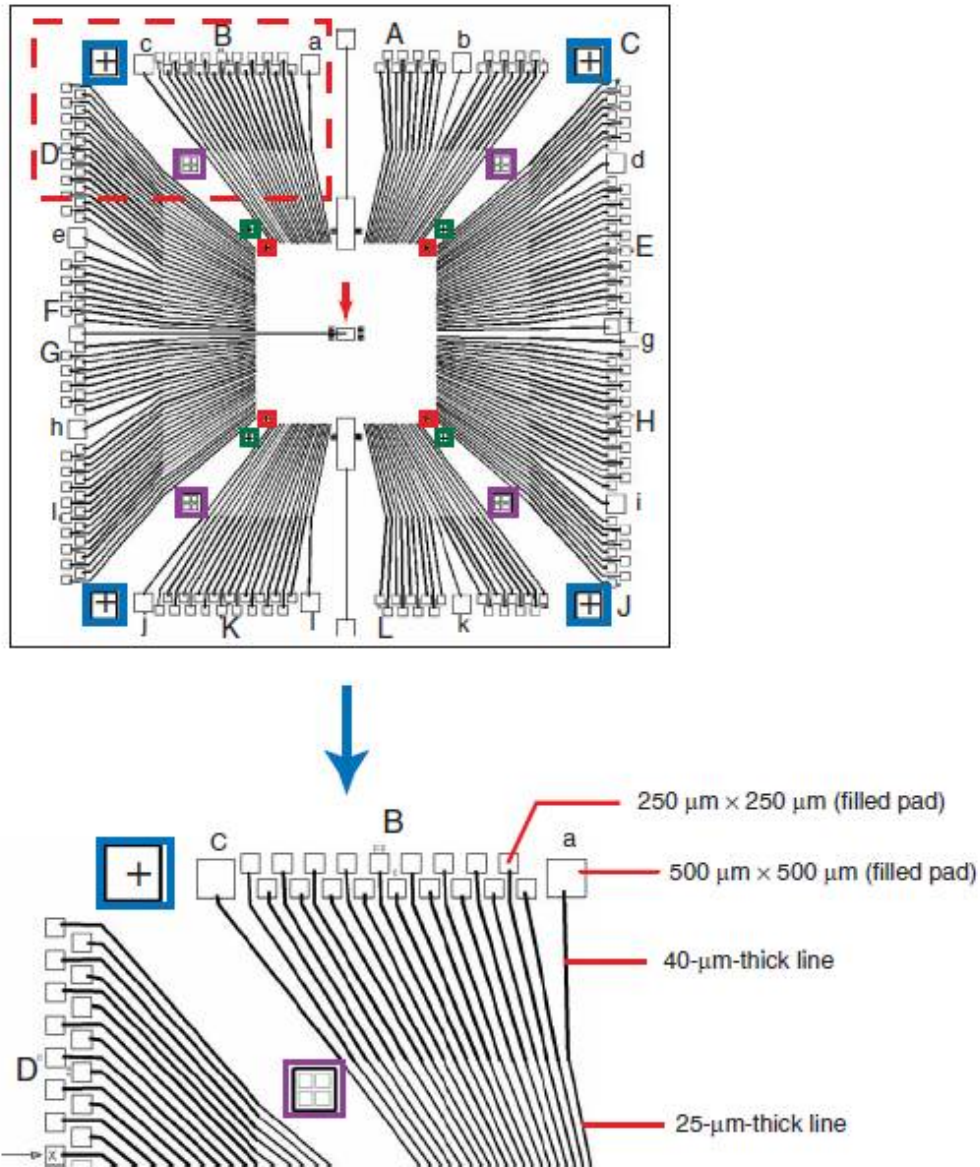


圖 2-3 外層電極之光罩設計圖，其大小為 17 mm × 17 mm，且藍色框、紫色框、綠色框和紅色框內的記號是用來作為光罩對準之標記，而正中心長方形的電極 (500 μm × 300 μm) 是作為 water gate 的用處。(紅色箭頭) 下方圖為紅色虛線框格的放大圖，源極為較大的方塊金屬電極 (500 μm × 500 μm)，並以小寫字母 a~l 作標記，汲極則為較小的方塊金屬電極 (250 μm × 250 μm)，並以大寫字母 A~L 作標記⁷⁴。

製作完成後的外層電極，我們將合成於破片上的矽奈米線以接觸轉印(contact printing)⁷⁵ 的方式抹在晶片上，再進行內層電極的製作。接觸轉印，係將含有矽奈米線的破片切割成適當的大小後，以氮氣槍輕吹表面，除去因切割破片所產生

的碎屑，並將其黏著於工具上，以適當的力道將奈米線抹於晶片表面上欲製作內層電極處（圖 2-4）。

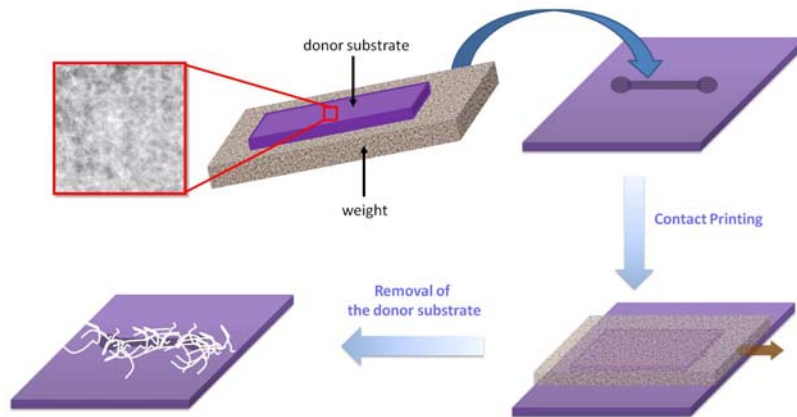


圖 2-4 接觸轉印矽奈米線的步驟流程圖。

➤ 內層電極的製作

內層電極製作流程：

圖 2-5 為內層電極之光罩設計圖，在內層電極的製作前，需先將晶片以 Oxygen Plasma 清除 S1805 光阻，再利用黃光製程進行內層電極的製作。

1. 利用旋轉塗佈機 (spin coater) 於晶圓表面塗佈 LOR5B 光阻並以 185 °C 烘烤 5 min，接著再塗佈 S1813 光阻並以 115 °C 烘烤 1.5 min。光阻塗佈完成後，LOR5B 和 S1813 的厚度各約為 300 nm 和 500 nm。
2. 利用光照對準機 (mask aligner)，將光照對準後，以波長範圍為 350-430 nm 的光曝光 0.8 s。
3. 將晶圓置入 MF319 顯影液當中，約 1 min，使圖案顯現後，以去離子水清洗，並以氮氣吹乾。
4. 利用 Oxygen Plasma (30 W, 1 min) 清潔晶圓表面殘留的光阻。

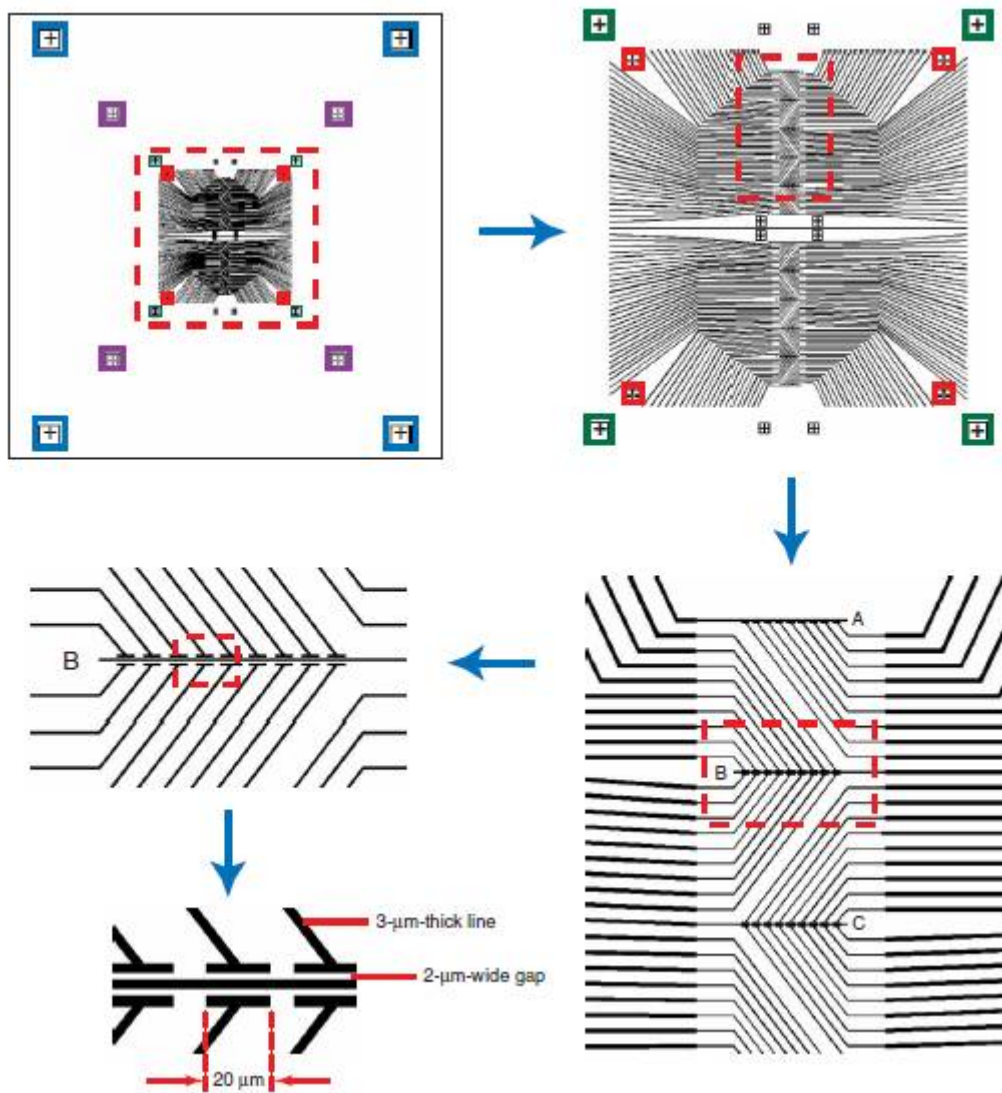


圖 2-5 內層電極之光罩設計圖，藍色框、紫色框、綠色框和紅色框內的記號是用來作為光罩對準之標記，每一藍色箭頭所指為前一圖的紅色虛線框中之放大圖。

5. 將晶片放入氫氟酸 (BOE, buffer of oxide etching) 約 5~8 s，再以太去離子水清洗，並以氮氣吹乾。
6. 將晶圓置入蒸鍍機 (evaporator) 的腔體中，並抽真空至 10^{-7} torr 後開始蒸鍍金屬電極。第一層為鎳 (厚約 70 nm)，第二層為鋁 (厚約 100 nm)。
7. 金屬電極蒸鍍完成後，以 PG remover 將剩餘光阻徹底清除，以太去離子水清洗，並以氮氣吹乾，即完成內層電極的製作。

晶片製作完成後 (圖 2-6)，由於金屬電極與矽奈米線間具有接面 (junction) 的存在，導致高電阻，為此我們利用熱退火 (thermal annealing) 使此接面達良好的歐姆接觸 (ohmic contact)，降低電阻且具線性的 I-V 曲線。熱退火是利用退火爐 (ULVAC-RIKO MILA-3000)，在抽真空至 100 mtorr 後，通入 forming gas (10 % $H_2/90\% N_2$)，升溫至 $360\text{ }^\circ\text{C}$ ，待 2 min，即完成熱退火的動作。

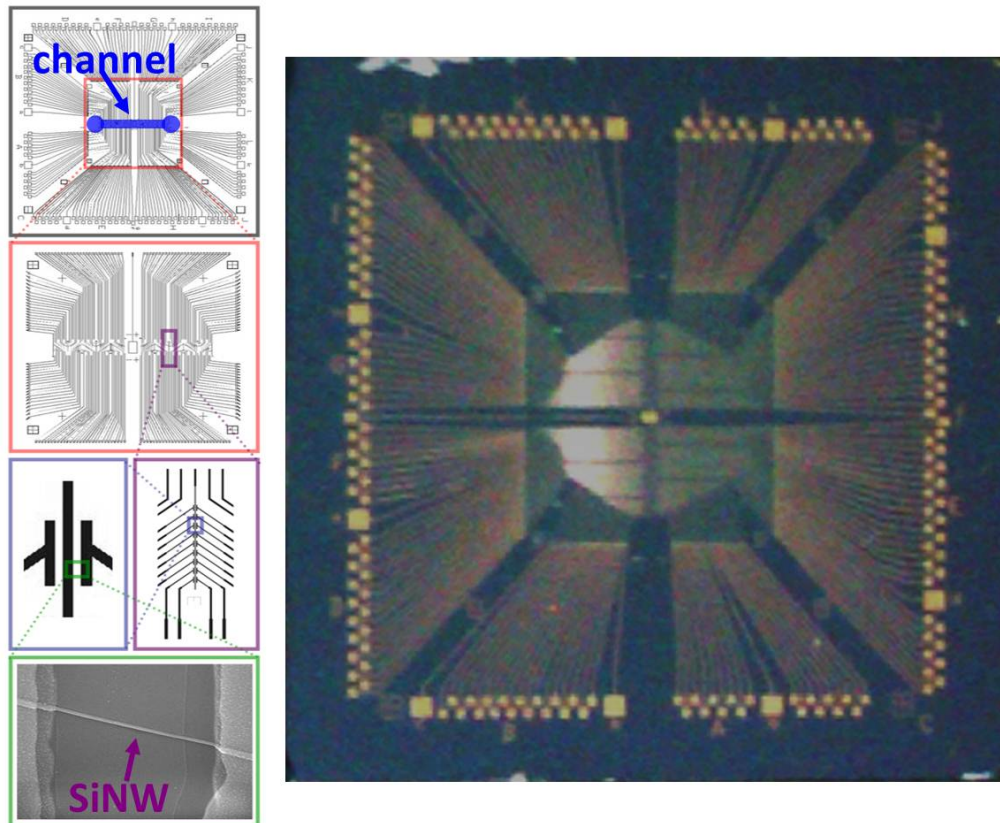


圖 2-6 完成晶片製程步驟後之 SiNW-FET 實體圖。右側圖中，藍色箭頭所指之處，為微流體通道對準之樣板，亦為矽奈米線接觸轉印處，紅色框為內層所在位置，紫色框為任一組源汲極電極，且每組中含多對的源汲極，藍色框則為放大其中一對源汲極電極，將其於光學顯微鏡下觀察，可見矽奈米線橫跨於源汲極間。

2.1.3 表面修飾

SiNW-FET 生物感測器，是在矽奈米線的表面修飾上特定的受體 (receptor) 做為感測元件。而要連結特定受體與矽奈米線表面，在我們的實驗中，使用了 APTMS 作為化學鍵結 (chemical linker) 分子。

SiNW-FET 的表面含有大量的矽醇基 (silanol group, Si-OH)，與 APTMS 反應後自組裝成單分子層的 APTMS，此時表面含一級胺基 (amino group, -NH₂)，藉此可作特定受體與矽奈米線表面的連結 (圖 2-7)。

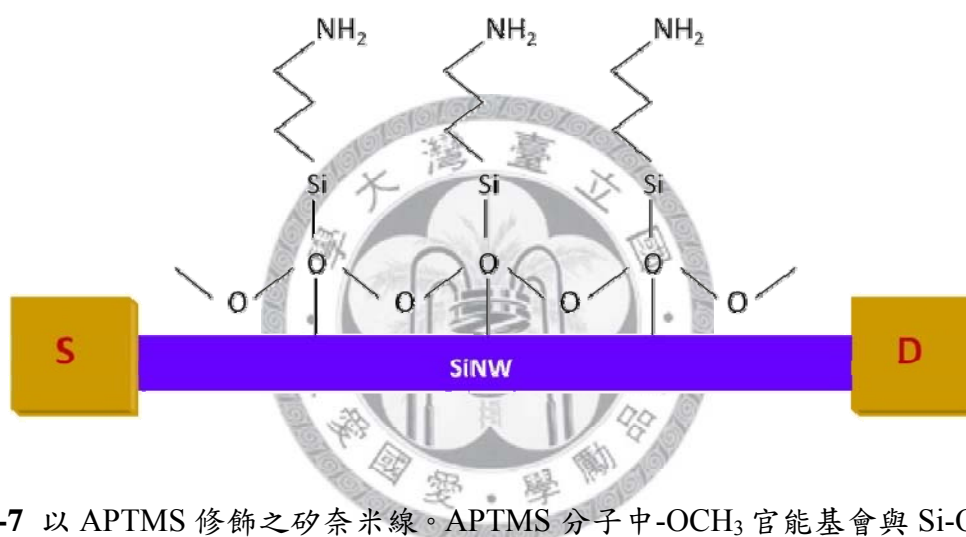


圖 2-7 以 APTMS 修飾之矽奈米線。APTMS 分子中 -OCH₃ 官能基會與 Si-OH 反應，產生化學鍵結，與矽奈米線的表面連結。

1. All area modification (AAM)

一般使用液相修飾 (solution-phase modification) 的方式對 SiNW-FET 表面作修飾。

此法係將已完成製程步驟的 SiNW-FET 先經 Oxygen Plasma (30 W, 60 s) 清潔表面過後，浸泡於 1% 的 APTMS 溶液 (以 95% 酒精稀釋之) 中，反應時間為 30 min，而後以酒精清洗表面，並利用 N₂ 吹乾表面，最後，以 110 °C 加熱約 5 min，即完成修飾步驟。

2. Selected surface modification (SSM)

在此實驗中，我們利用氣相修飾 (gas-phase modification) 的方式，針對矽奈米線的表面作選擇性的修飾，其裝置圖如圖 2-8。

首先，我們切取一適當大小且表面上已長有矽奈米線之矽晶圓破片，將其懸掛於三頸瓶的中央，並於平底處注入不經稀釋之 APTMS 原液，利用 Dry pump 將其於室溫中抽真空約 1 min，使 APTMS 汽化，最後，將其送進 40 °C 的烘箱中靜置，此時 APTMS 會被固定化於矽奈米線的表面，這種表面上修飾有 APTMS 分子的矽奈米線，我們稱之它為 APTMS-SiNWs。

在修飾步驟完成過後，我們亦將含 APTMS-SiNWs 的破片置於 110 °C 加熱板上加熱約 10 min，為使 APTMS 固定化於矽奈米線上的情形更佳良好。

此法與 AAM SiNW-FET 製作方式上的不同，是在於我們先對矽奈米線作 APTMS 的氣相修飾，而後將其接觸轉印在含有外層電極的晶片上，再進行內層電極的製程作業。

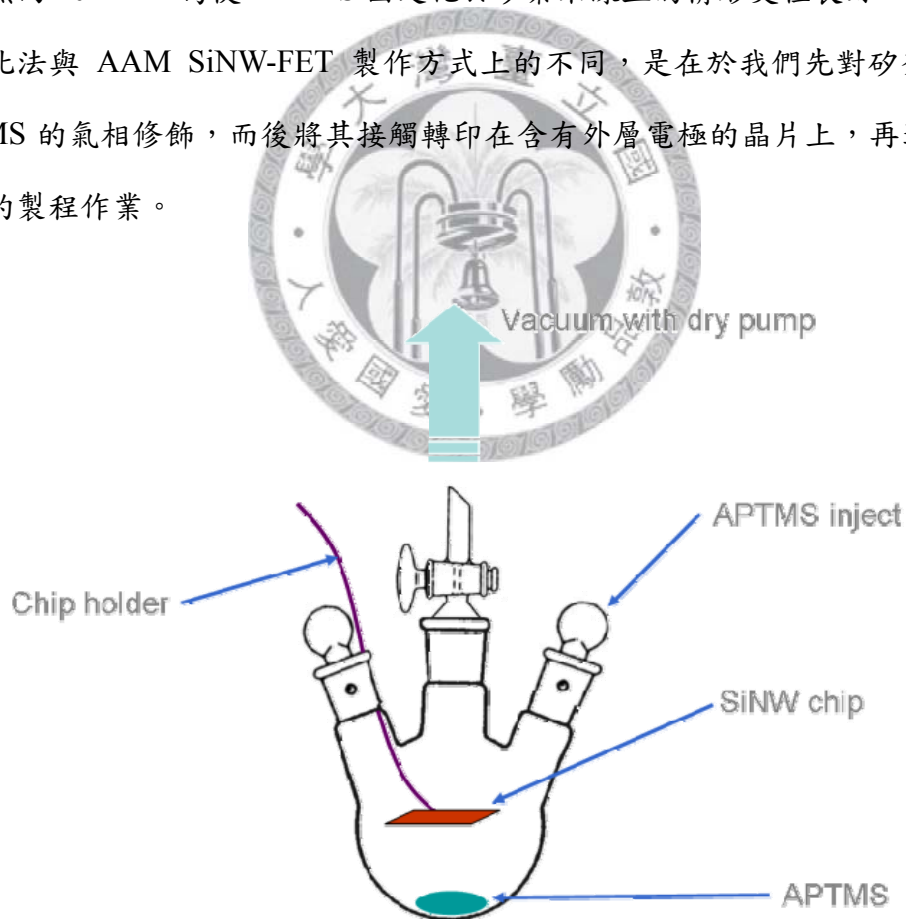
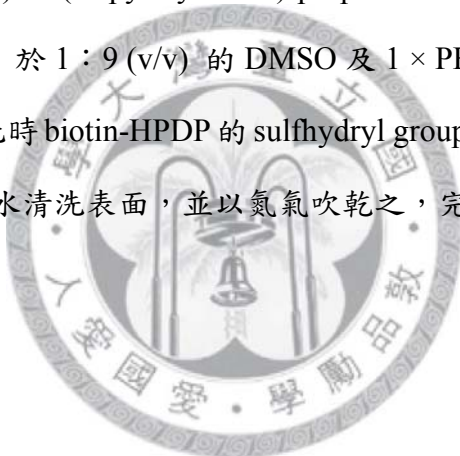


圖 2-8 氣相修飾裝置示意圖。

3. 生物素 (biotin) 的固定化

為比較 SSM APTMS/SiNW-FET 和 AAM APTMS/SiNW-FET 之間靈敏度的差異，在我們的實驗中，利用 biotin (生物素) 和 avidin (抗生物素) 具高度親和力的特點，對兩種 SiNW-FET 作電訊號的即時偵測。

在此，我們將 biotin 作為特定受體，固定化在 SiNW-FET 的表面上。於 SSM APTMS/SiNW-FET 和 AAM APTMS/SiNW-FET 製備完成後，將晶片浸泡於 1 mM 3-maleimidobenzoic acid N-hydroxy succinimide ester (MBS, 溶於 1:9 (v/v) 的 DMSO 和 1 × PBS) 中約 30 min，此時 MBS 會與 APTMS 的胺基反應，形成醯胺鍵，再以太離子水清洗表面，並以氮氣吹乾之。配製 5 mM 的 N-(6-(Biotinamido)hexyl)-3'-(2'-pyridyldithio)-propionamide (biotin-HPDP) 和 100 mM dithiothreitol (DTT) 於 1:9 (v/v) 的 DMSO 及 1 × PBS 的溶液中，將晶片再度浸泡於其中約 1 hr，此時 biotin-HPDP 的 sulfhydryl group 會與 MBS 的 maleimide group 反應，以太離子水清洗表面，並以氮氣吹乾之，完成 biotin 的固定化 (圖 2-9)。



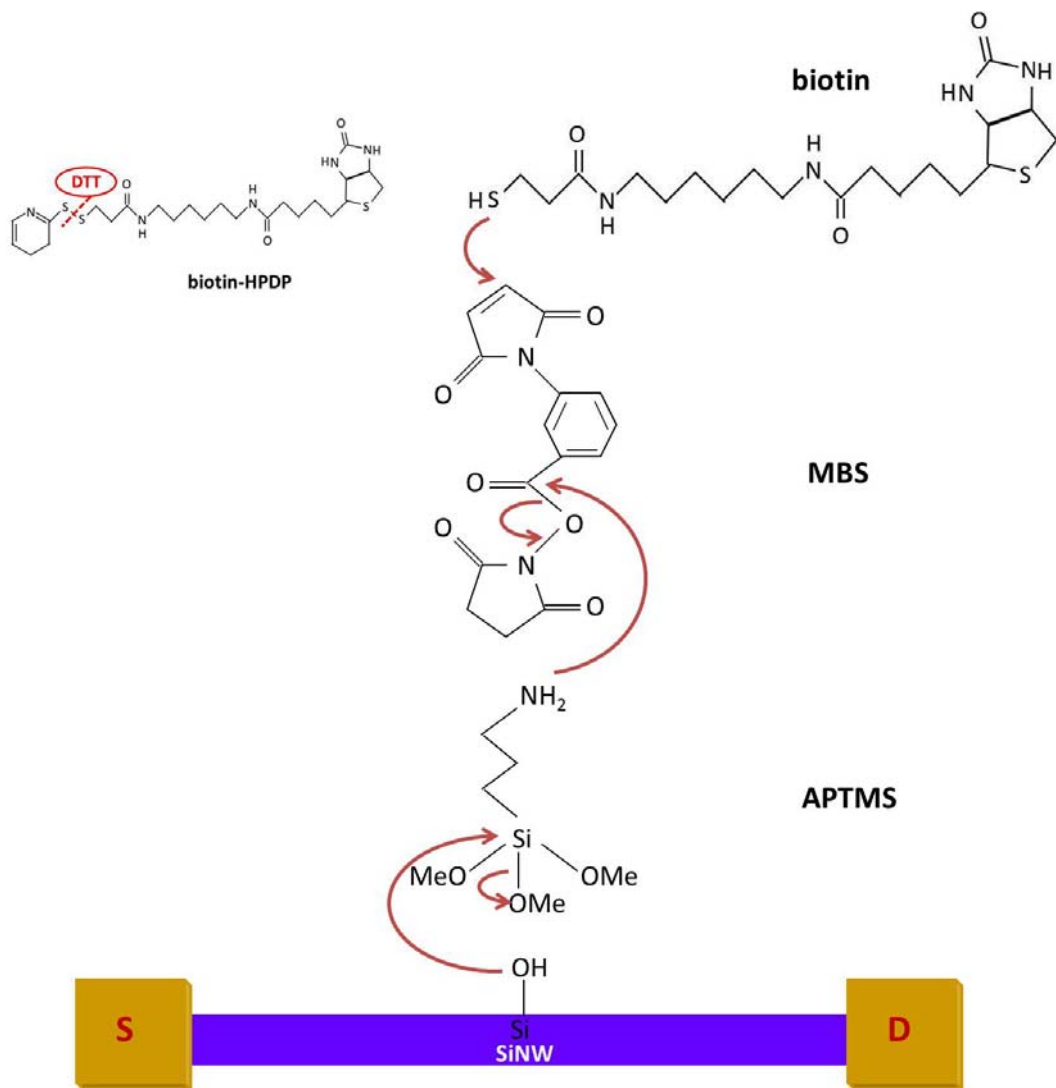


圖 2-9 Biotin 固定化於 SiNW-FET 之化學反應機制圖。固定化的步驟為 APTMS-MBS-biotin，但因為實驗所用的 biotin-HPDP 具有雙硫鍵，故實驗中添加 DTT 以切斷雙硫鍵，使其可與 MBS 反應之。

2.1.4 微流體通道製備

在我們的實驗中，使用微流體通道來操作一系列的流體實驗。而微流體通道的製作是將 polydimethylsiloxane (PDMS, 喬越實業有限公司) 之 A 劑 (Sylgard-184 silicone elastomer) 和 B 劑 (Sylgard-184 silicone elastomer curing agent) 以體積比 10:1 的比例混合均勻後 (圖 2-10)，倒入以玻璃培養皿盛裝之母模中，利用真空幫浦抽氣，除去因劇烈攪拌所產生之氣泡，直到氣泡完全被趕出，方可將其送入烘箱當中，以 80 °C 烘烤約 10 min，其可依所需之軟硬程度調整烘烤時間。

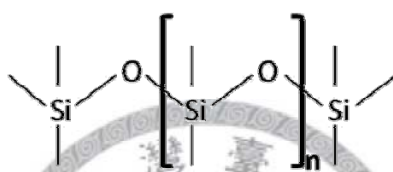


圖 2-10 PDMS 化學結構。

待 PDMS 冷卻後，可將其取下並裁切成適當大小，並利用中空鋼管依照微流體通道上兩端的形狀做鑽孔的動作，使得外徑 1.09 mm 的聚乙烯 (polyethylene, PE) 管可順利穿入 (圖 2-11)，藉此將溶液帶進或帶出微流體通道中。

微流體通道之母模的製作是將光阻 SU-850 利用旋轉塗佈 (spin coating) 的方式將其鋪於空白晶片上，並使用黃光顯影製程，在空白晶片上留下長 6.25 mm、寬 500 μm 、高 50 μm 突起的立體微流通道。

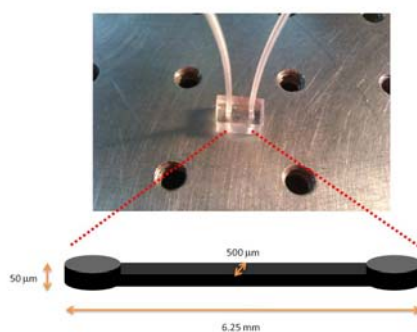


圖 2-11 以 PDMS 製作的微流體通道，其長、寬和高各為 6.25 mm、500 μm 、50 μm 。

2.1.5 實驗儀器

1. 鎖相放大器 (lock-in amplifier) :

電訊號量測的實驗，使用鎖相放大器 (Stanford Research System, SR830)，輸入交流電，以供應 SiNW-FET 源-汲極間的電壓，並得直流輸出訊號。

鎖相放大器，因其具有窄頻寬的優點，為一個能夠被用來偵測非常小之交流電訊號的儀器，且因為其中內建有 PSD (phase sensitive detector)，能將電路中特定頻率、相位鎖住，過濾其他雜訊，進而量測出正確的訊號。

2. 資料擷取系統 (data acquisition system, DAQ) :

實驗中，藉由 NI (national instrument) DAQ card 作為電壓的來源，給予元件閘極電壓，以量測元件之傳導性質 ($I-V_g$)，其最大可輸出 ± 10 V 的電壓，16 個類比輸入及 2 個類比輸出。

3. 原子力顯微鏡 (atomic force microscopy, AFM) :

1986 年，第一部原子力顯微鏡誕生，其具有原子級的解像能力，為掃描式探針顯微技術的代表儀器。主要原理是利用感應原子間凡得瓦力的作用來呈現樣品表面結構形狀，此儀器可應用於多種材料表面的偵測，並能在真空、氣體或液體的環境下操作。

AFM 的操作模式可區分為接觸式 (contact mode)、非接觸式 (non-contact mode) 和輕敲式 (tapping mode) 三大類，在我們的實驗中以輕敲式來測量矽奈米線的表面結構特性。輕敲式的原理係將探針與樣品的距離加近，增大振幅，使得探針在振盪至坡谷時接觸樣品，由於樣品表面的高低起伏，導致振幅改變，再利用迴饋控制的方式，取得高度的影像。

本實驗室所使用的 AFM 型號為 Digital Instruments/Veeco Bioscope SZ with Nanoscope IVa controller。

4. 克爾文力顯微鏡 (Kelvin probe force microscopy, KPFM) :

如果將 AFM 的探針換成可導電的材質並且在針和樣品表面間施以電位差，

利用它來偵測樣品表面的功函數，則稱為克爾文力顯微鏡 (Kelvin probe force microscopy, KPFM)，其圖像可紀錄針尖和樣品間的電位變化。

在 KPFM 的實驗中，所使用的探針為表面鍍有 Pt/Ir 之 Si tip (PPP-EFM, Nanosensors)，且因樣品表面上所吸收的水分子對於功函數的量測會造成一定的遮蔽效果，故我們將所有的實驗環境控制在濕度為 $55 \pm 2\%$ 之下，減少因水分子遮蔽效應所造成的誤差。

KPFM 影像的量測是經過來回兩次的掃描，第一次的掃描是以輕敲式 (tapping mode) 來回掃描，取得高度變化的影像；第二次則是以抬起式 (lift mode)，於針尖施以一電壓值 (V_{tip}) 使其與樣品表面保持一固定距離 (h_{tip}) 量測表面電位的變化⁷⁶。

5. 化學分析電子儀 (electron spectroscopy for chemical analysis, ESCA) :

ESCA 是一種分析材料表面元素及化學鍵結的儀器，其原理乃根據光電效應，當足夠能量的電磁波 (X-ray) 照射於樣品表面時，原子內的電子因吸收電磁波的能量而被游離出來形成光電子，而光電子的動能為入射電磁波的強度減去電子的束縛能，因此依不同元素的光電子具有不同的動能，來判斷表面元素的成分。

本實驗室所使用的 ESCA 廠牌與型號為英國 VG Scientific ESCALAB 250。

6. 掃描式電子顯微鏡 (scanning electron microscopy, SEM) :

SEM 為一種利用電子束掃描樣品表面，從而獲得樣品資訊的電子顯微鏡。實驗中，藉由 SEM 的量測，我們可得知樣品表面結構的高解析度圖像。

本實驗室所使用的 SEM 型號為 Hitachi S-4800。

7. 穿透式電子顯微鏡 (transmission electron microscopy, TEM) :

TEM 是將加速且聚集的電子束投射到樣品表面上，藉由電子與樣品中原子的碰撞而改變方向，產生立體角散射，而散射角度的大小與樣品的結構組成有關，因此可產生明暗不同的顯微影像。藉由 TEM 的量測，我們可以得知物質的化學

特性、晶體方向和電子結構等資訊。

本實驗室所使用的 TEM 型號為 JEOL JEM-2100。

2.1.6 電性量測系統

➤ 流體實驗裝置架設

將完成製程手續的 SSM APTMS/SiNW-FET 以丙酮-異丙醇-去離子水的順序清潔表面，因每一晶片中皆含有 180 組元件，故先利用 probe station 於空氣中量測其電性，選擇電阻值約 $1\text{ M}\Omega$ 且跨導值較佳的元件，來進行實驗。

將晶片以銅膠黏著於十字型外接電路板上，利用打線機 (wire binder) (圖 2-12 (a)) 將所選元件連接至電路板上，而後將 PDMS 所製作的微流體通道黏著於元件上的相對位置，並以特製壓克力座架設之 (圖 2-12 (b))。

流體量測實驗的進行，樣品係透過微流通道以注射幫浦 (KD-101, KD Scientific) 在固定速率 (0.3 mL/hr) 下抽取樣品進行電訊號的偵測 (圖 2-12 (c))。

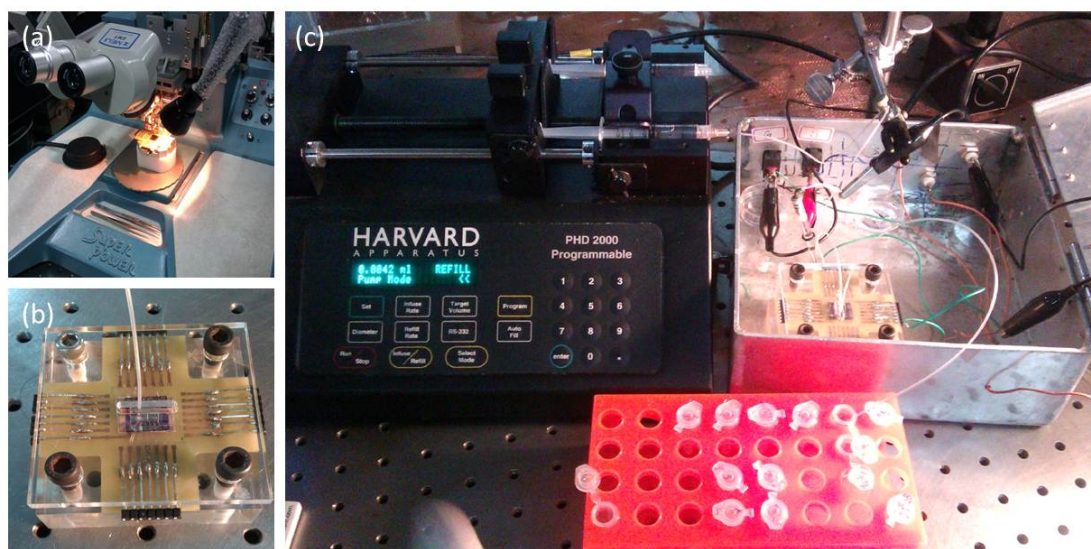


圖 2-12 (a) 打線機 (b) 壓克力座架設裝置 (c) 流體實驗架設系統。

➤ 電性量測

本研究中，包含了許多電性量測的實驗，以下是各種量測中所使用的實驗儀器與實驗條件：

1. Source-drain current vs. bias voltage：使用數位型多功能三用電表 (Keithley 6487) 量測在空氣下 SiNW-FET 源-汲極電流對偏壓 (I_{sd} - V_{sd}) 的曲線。
2. Source-drain current vs. gate voltage：利用鎖相放大器 (Stanford Research System, SR830) 固定偏壓 $V_{sd} = 30$ mV，並以 DAQ card 給予閘極電壓，掃描 V_g 從 0.4 V 到 -0.4 V 之源-汲極電流對閘極電壓曲線。
3. Source-drain current vs. time：利用鎖相放大器設定參數為 $V_{sd} = 0.03$ V (source-drain voltage)、 $f = 79$ Hz (modulation frequency)、 $\tau = 100$ ms (time constant)，並以參考電極 (Ag/AgCl reference electrode) 作為閘極，進行電訊號的量測 (圖 2-13)。

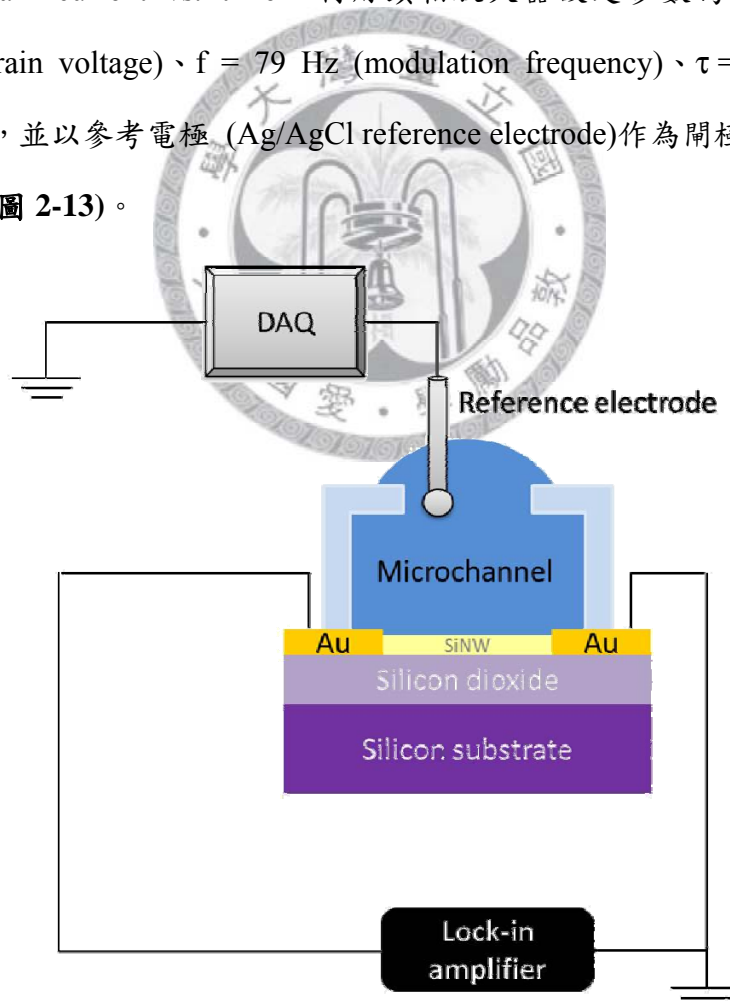


圖 2-13 電訊號量測系統示意圖。

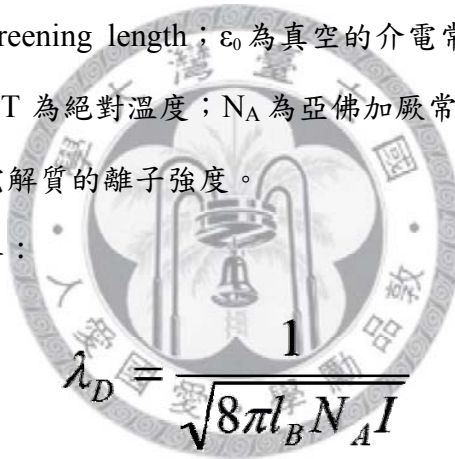
➤ 緩衝溶液的選擇

在 SiNW-FET 作為生物感測器的量測當中，FET 的偵測靈敏度會受到緩衝溶液的影響，在高濃度鹽類的溶液環境中，因高離子強度 (ionic strength) 使得目標分子與特定受體結合時所產生的電場受到遮蔽，導致測量到的訊號較弱，這樣的現象即所謂的 Debye-Hückel shielding effect。而緩衝溶液的有效偵測長度，我們稱為 Debye-Hückel screening length，若分析物與矽奈米線的距離在此範圍內，則可有效偵測之，此長度可由下列公式求得：

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

λ_D 為 Debye-Hückel screening length； ϵ_0 為真空的介電常數； ϵ_r 為溶液的介電常數； k_B 為波茲曼常數； T 為絕對溫度； N_A 為亞佛加厥常數； e 為基本電荷 (1.6×10^{-19} C)； I 為溶液中電解質的離子強度。

λ_D 亦可經換算寫得：



$$\lambda_D = \frac{1}{\sqrt{8\pi l_B N_A I}}$$

其中 l_B 為 Bjerrum length ($l_B = 0.7$ nm)。

| | | |
|-------------|---------|------------------|
| 緩衝溶液 | 1 × PBS | 5 mM Tris buffer |
| λ_D | 0.7 nm | 1.9 nm |

其中，1 × PBS 溶液係由 0.137 M NaCl、2.7 mM KCl、10.14 mM Na_2HPO_4 和 1.76 mM KH_2PO_4 所組成。

第二節 實驗方法：脂雙層膜與晶片的結合及其特性鑑定

2.2.1 生物脂雙層膜的製備

磷脂醯膽鹼 (phosphatidylcholine, PC) 為自然界中最常見的磷脂質種類，又被稱為卵磷脂 (lecithin)，可從大豆或蛋黃中萃取而得。其結構是在頭基上以三個甲基接於一個四級氮上，而疏水性的尾端則是由不同飽和度和長度的脂肪酸鏈所組成 (圖 2-14)。由於頭基上具有一正電荷及負電荷，因此在 pH 4-10 的範圍內，沒有靜電荷的存在，帶電中性。

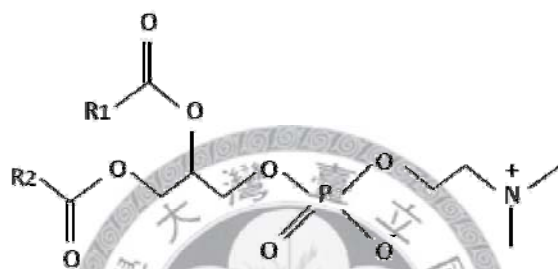


圖 2-14 磷脂醯膽鹼的化學結構。

在此實驗中，我們選用 DOPC 中性磷脂質分子，以微胞融合 (vesicle fusion) 的方式製備脂雙層膜於 SiNW-FET 的表面上。DOPC 為磷脂醯膽鹼的一種，其兩條疏水性的長碳鏈皆由 18 個碳所組成，且各含有一個順式雙鍵於 9 號和 10 號碳上 (圖 2-15)。

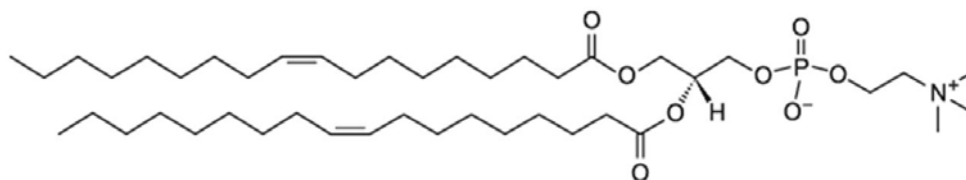


圖 2-15 DOPC 的化學結構。

脂雙層膜的製備步驟可分為微胞的製備 (vesicle preparation) 和脂雙層膜的形成 (bilayer formation)，另外尚包括基材表面的前處理步驟：

➤ 微胞的製備

1. 首先，將購買來的 DOPC 粉末 (Avanti Polar Lipids, Inc.) 溶於氯仿中，儲存於 -20°C 的冰箱中，以備使用。(母瓶溶液的濃度為 $1\text{ mg}/100\text{ }\mu\text{L}$)
2. 取適量之 DOPC/chloroform 溶液於乾淨的玻璃樣本瓶中，以氮氣槍並配合慢速轉動樣本瓶，使溶液中的氯仿蒸發，且於瓶壁上形成 DOPC 分子之薄膜。
3. 我們將樣本瓶以幫浦抽真空，除去殘留於瓶中的 chloroform，約 1 hr。
4. 將 DOPC 分子薄膜重新溶於緩衝溶液 ($20\text{ mM Tris-HCl (pH 7.5) + 100\text{ mM KCl}$) 中，每 15 min 搖晃瓶身一次，共歷時 1 hr，使 DOPC 形成微胞。此時的溶液呈現不透明混濁狀，是因為所形成的微胞屬於多層微脂粒 (multilamellar vesicle, MLV)，顆粒較大且大小不均。
5. 利用尖端式超音波破碎儀 (400 Watt model, Digital Sonifier, BRANSON)，以 30 % 功率，每 10 s 開、每 20 s 關的脈衝週期，共歷經 15 min，將多層微脂粒震碎成小型單層微脂粒 (small unilamellar vesicle, SUV)，其大小約為 50 nm，此時的溶液應較為澄清，幾近透明狀。(在進行超音波震碎時，須將樣品置於冰桶中，避免過熱的現象，亦可避免震碎後的小顆微脂粒因溫度的影響，再度形成較大顆的微脂粒)。

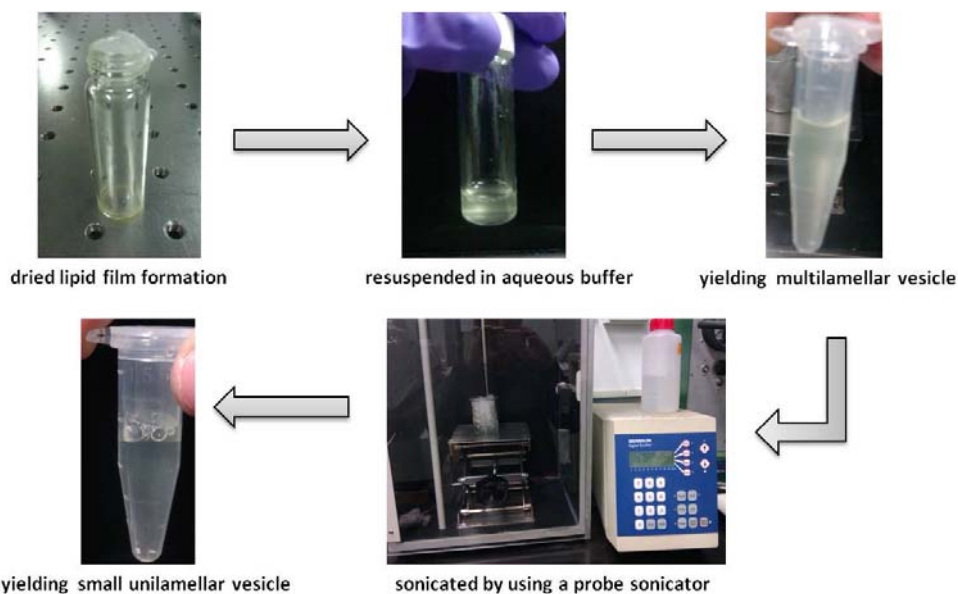


圖 2-16 微胞製備流程圖。

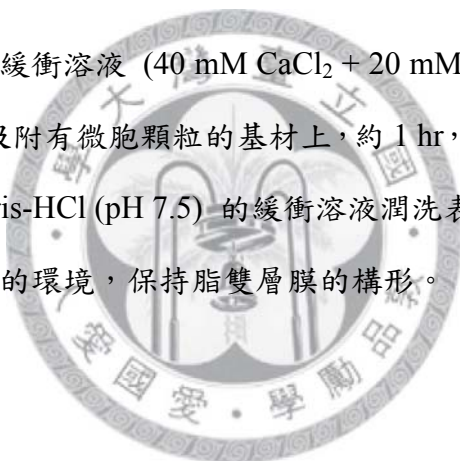
➤ 基材表面的前處理

本研究中，螢光影像和原子力顯微影像的實驗皆使用蓋玻片作為實驗基材，而電訊號偵測的部分是以 SiNW-FET 為實驗的基材，此兩種基材表面皆為相同的二氧化矽材質，具親水性，故可於其表面上製備生物脂雙層膜。

在製備脂雙層膜於基材表面前，會先以酒精、丙酮、去離子水等清洗基材表面，並以 Oxygen Plasma (30 W, 1 min) 再度清潔表面且使其表面帶有親水性。

➤ 脂雙層膜的形成

1. 將製備好的微胞溶液，取適量添加於基材的表面，放置約 3 hr，使微胞吸附於基材的表面。
2. 添加含有鈣離子的緩衝溶液 (40 mM CaCl_2 + 20 mM Tris-HCl (pH 7.5) + 100 mM KCl) 於表面吸附有微胞顆粒的基材上，約 1 hr，使微胞融合形成 SLB。
3. 最後，以 20 mM Tris-HCl (pH 7.5) 的緩衝溶液潤洗表面，並將脂雙層膜保存在其中，維持濕潤的環境，保持脂雙層膜的構形。



2.2.2 螢光影像

此實驗中，我們利用螢光顯微鏡來觀察生物脂雙層膜鋪成的情形。在接下來的小節中，將介紹實驗中所使用的螢光脂質分子、螢光顯微鏡和螢光樣品的配置。

➤ 螢光脂質分子

本實驗中使用 16:0-06:0 NBD-PC 螢光脂質分子 (圖 2-17)，其為具有螢光標誌的脂質分子，被廣泛運用於細胞膜的研究上。

16:0-06:0 NBD-PC 的結構與一般脂質分子相同，具有親水性的頭端與疏水性的尾端。頭端的結構是屬於 PC 的形式，而尾端的兩條碳鏈中，一條為帶有十六個碳的飽和常碳鏈，另一條則以帶有苯環結構的 NBD 螢光基團接於第六號碳上。此螢光脂質分子的激發波長為 460 nm，放射波長為 534 nm。

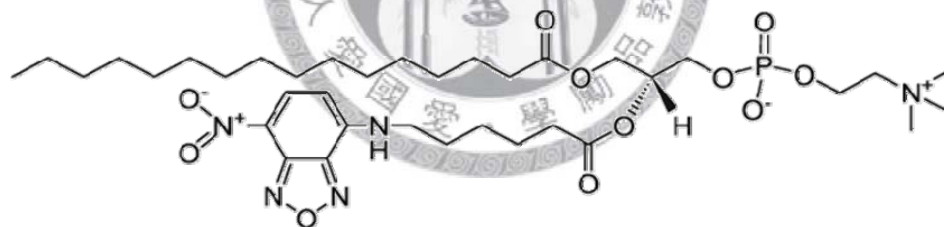


圖 2-17 16:0-06:0 NBD-PC 的化學結構。

➤ 螢光顯微鏡

本實驗所使用的是倒立式螢光顯微鏡 (Nikon Eclipse TE2000-U)，以汞燈作為激發光光源，並藉由濾光片選擇所需之激發光波長 (圖 2-18)。由光源所發出的光，經過激發光濾鏡後，剩下激發 NBD-PC 螢光分子所需之光源波長 (藍光)，而 NBD-PC 受藍光照射後，會產生放射波長為 534 nm 的螢光。

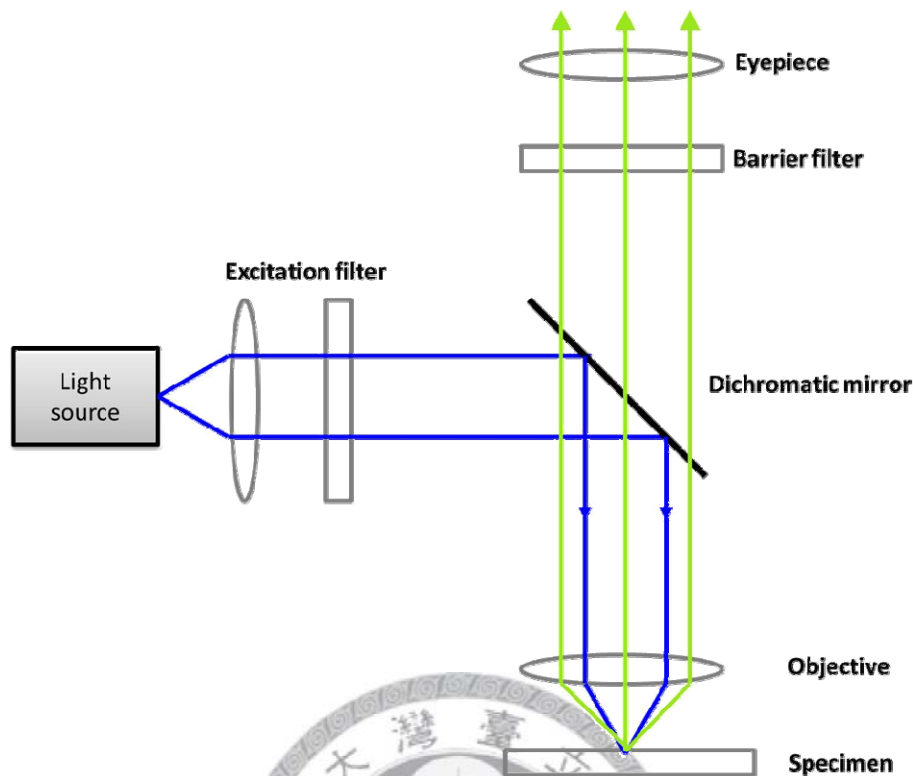


圖 2-18 螢光顯微鏡原理示意圖。

➤ 螢光樣品的配製

樣品的配製方式如下：

1. 首先，將購買來的 16:0-06:0 NBD-PC 粉末 (Avanti Polar Lipids, Inc.) 溶於氯仿中 (母瓶溶液的濃度為 1 mg/4000 μ L)，且盛裝之容器必須以鋁箔紙包覆，避免螢光分子因受光而導致螢光強度的衰弱。
2. 從 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中取出 DOPC/chloroform 的母瓶 (濃度為 1 mg/100 μ L)，待其回復至室溫後，取 100 μ L 的體積放入子瓶中 (子瓶需先以酒精-去離子水-丙酮-去離子水-甲醇的順序清洗乾淨且以氮氣吹乾之。)
3. 根據 DOPC 的總莫耳數加入 1 % mol 的 NBD-PC 於子瓶中，並將溶液搖晃均勻。
4. 依據第 2.2.1 節微胞製備的方法，繼續完成剩餘步驟，以得含有 NBD-PC 螢光分子之小型單層微脂粒。

在此實驗中，我們將 SLB 製備於蓋玻片上，並以 PDMS 所做出的圓柱狀深井 (井深約 0.5 cm，底圓直徑約 0.8 cm) 作為製作空白基材與脂雙層膜邊界的模型，將製備好帶有螢光脂質分子的微胞溶液取適量 (約 50 μL) 添加於井中 (圖 2-19)，並按照第 2.2.1 節形成脂雙層膜的步驟，完成脂雙層膜的製備，並保存於 20 mM Tris-HCl (pH 7.5) 的緩衝溶液中。

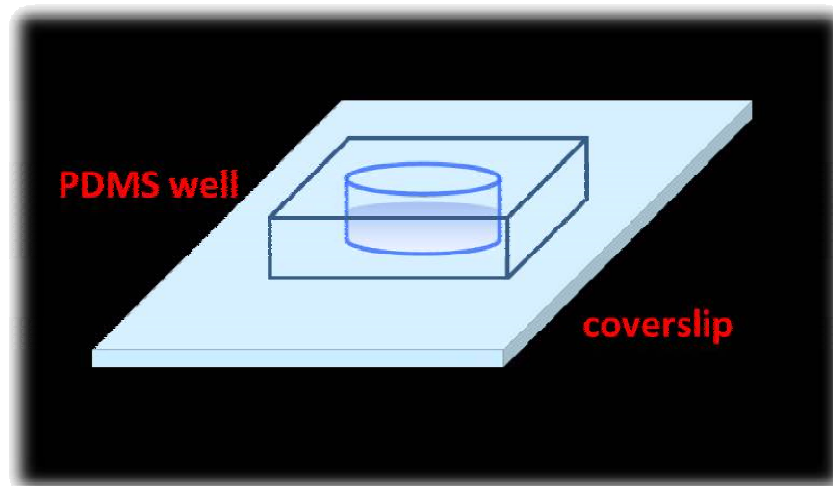


圖 2-19 實驗架設是將含圓柱狀、中空的 PDMS 井黏著於蓋玻片的表面，於其中製備脂雙層膜，藉此得明顯的空白基材與脂雙層膜之邊界。

2.2.3 原子力顯微影像偵測 (cowork with 廖均達 博士)

AFM 因具有原子級的解析度，常被用來探索奈米等級之生物脂雙層膜的特性，如：厚度的量測⁶¹、形成機制的觀察⁶²...等。此實驗中，我們利用 AFM 來量測基板支撐之脂雙層膜 (supported lipid bilayers, SLBs) 的厚度，確認所鋪成之 SLB 為單層脂雙層膜 (single lipid bilayer) (圖 2-20)。

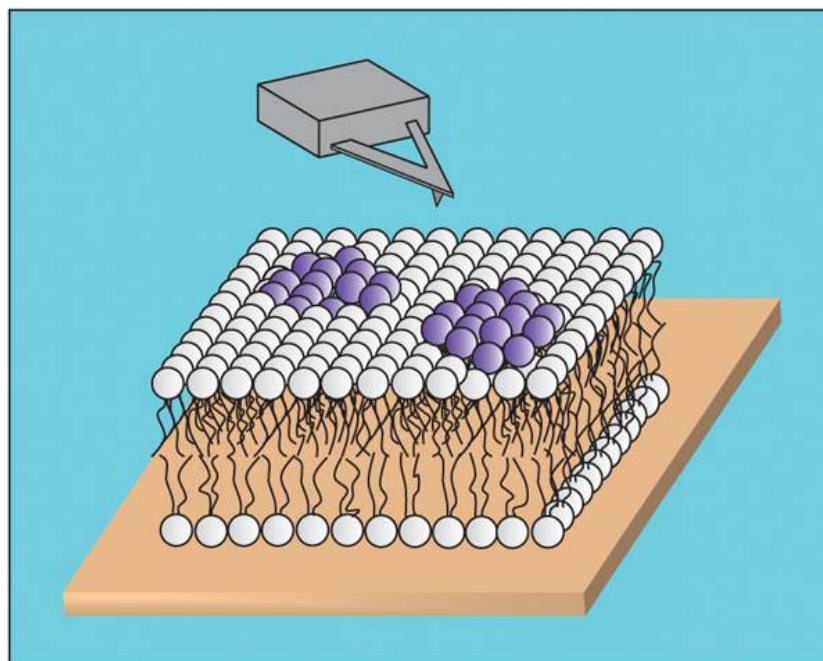


圖 2-20 以 AFM 量測 SLB 厚度之示意圖⁶¹。

在此實驗中，我們將 SLB 製備於蓋玻片上，並以 PDMS 所做出的圓柱狀深井 (井深約 0.5 cm，底圓直徑約 0.8 cm) 作為製作空白基材與脂雙層膜邊界的模型。將製備好的微胞溶液取適量 (約 50 μL) 添加於井中 (圖 2-19)，並按照第 2.2.1 節形成脂雙層膜的步驟 (p.44)，完成脂雙層膜的製備，並保存於 20 mM Tris-HCl (pH 7.5) 的緩衝溶液中。於量測 AFM 前，先以微量吸管將表面上的溶液吸乾，並先將其以螢光顯微鏡觀察之，並標記出所要量測之位置，再以 tapping mode 測量脂雙層膜的厚度。(tapping mode 於第 2.1.5 節實驗儀器中有加以介紹。)

2.2.4 網絡式矽奈米線場效電晶體的製作 (cowork with 李博仁 博士、陳建維 研究助理)

網絡式矽奈米線場效電晶體是改變我們 single SiNW-FET 電極的設計樣式，改為如圖 2-21 中所示之內層與外層電極設計圖。

新的內層設計圖中共有六組源-汲極電極。其中，保留有兩組與原先設計方式相同的電極 (圖 2-21 (c) 綠色框)，為一源極對上一汲極的設計方式，此外，我們亦設計了兩種不同對數的源-汲極電極，分別為八對 (寬 25 μm)(圖 2-21 (c) 藍色框) 和四對 (寬 45 μm)(圖 2-21 (c) 橘色框) 源-汲極。

圖 2-21 (a) 為外層光照的設計圖，其大小為 14 mm \times 14 mm，中心部分含有兩個長方形的電極 (300 μm \times 240 μm)，用以作為 water gate 的用處，外部為 16 個大金屬電極 (1.5 mm \times 1.5 mm) 組成，其中兩個做為 water gate 的外部電極，十二的作為六組源-汲極電極的外部電極，而圖中十字形的記號則是用來作為光罩對準的標記。

內外層電極的製作流程，可參考第 2.1.2 節內含有詳細的製作流程。整個 MPC SiNW-FET 的製作流程可簡化為：

外層電極的製作→矽奈米線接觸轉印至晶片中央部位→內層電極的製作

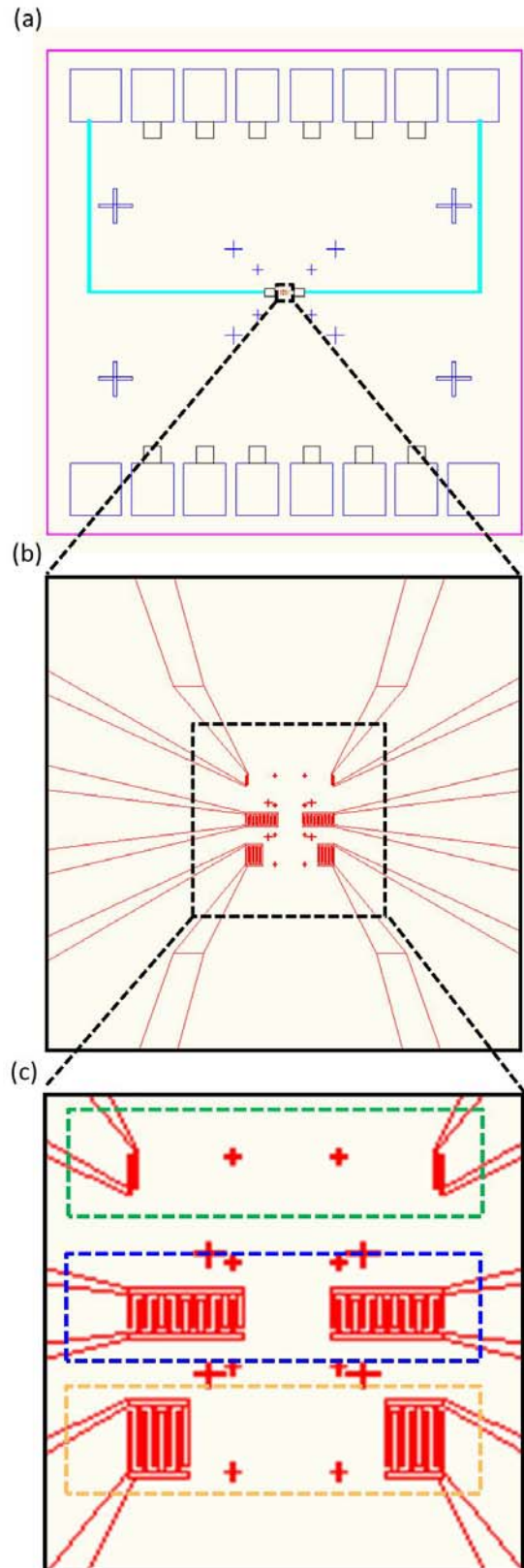


圖 2-21 MPC SiNW-FET 之 (a) 外層電極設計圖。(b) 內層電極設計圖。(c) 內層電極設計之放大圖。

2.2.5 電性量測系統

以 $0.1 \times$ PBS 配製各種 pH 值的緩衝溶液 (分別為 pH = 5.5、6.5、7.5、8.5)，進行空白晶片與鋪有脂雙層膜之晶片對於不同 pH 值溶液感應的比較。

實驗的裝置如同第 2.1.6 節，將元件連接至電路板上，並黏著上 PDMS 所製作的微流體通道於元件的相對位置，以特製壓克力座架設之。溶液則透過微流通道以注射幫浦 (KD-101, KD Scientific) 在固定速率 (0.3 mL/hr) 下抽取，以進行電訊號的偵測。

在實驗進行前，空白晶片須先以丙酮-異丙醇-去離子水的順序沖洗之，並以氮氣將表面吹乾，再利用 Oxygen Plasma (30W, 1 min) 使表面的 Si-OH 基團變為 Si-O⁻，使其對 pH 變化所產生的電訊號反應更為明顯。

完成空白晶片對不同 pH 值緩衝溶液的電訊號偵測後，我們將生物脂雙層膜鋪在同一晶片上，在此，我們直接利用微流體通道來控制脂雙層膜鋪成的範圍，其範圍即覆蓋於微流體通道下的面積。首先，以注射幫浦抽取預先製備好之微脂粒溶液 (0.01 mg/mL)，將溶液靜置於其中約 3 hr，使微脂粒吸附於晶片的表面，再以流速 0.1 mL/hr 流入含有 40 mM 的鈣離子溶液約 1 hr，使微脂粒融合形成脂雙層膜，最後，以流速 0.1 mL/hr 流入 20 mM Tris-HCl (pH 7.5) 的緩衝溶液潤洗表面，即完成脂雙層膜的製備，於固定速率 (0.3 mL/hr) 下抽取不同 pH 值緩衝溶液，以進行電訊號的偵測。

第三章 實驗結果與討論

第一節 選擇性表面修飾之奈米線場效電晶體生物感測器

3.1.1 矽奈米線合成

實驗所合成的矽奈米線是以 4000:1 的矽硼比，藉由 20 nm 的金奈米粒子催化，以 CVD 的方式和 VLS 的成長機制長成，圖 3-1 為合成完畢後，在光學顯微鏡下，以不同倍率之物鏡觀察之影像圖 (圖 3-1)。

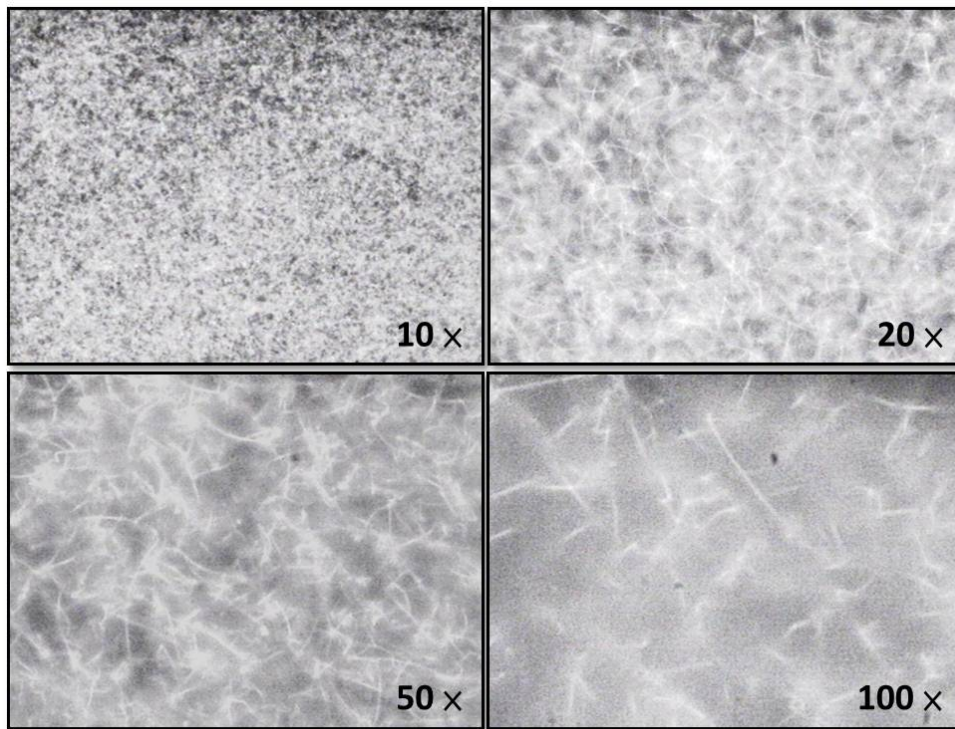


圖 3-1 合成步驟完成後，硼摻雜矽奈米線以不同物鏡倍率下觀察之光學影像圖。

合成出的矽奈米線，我們以高解析度穿透式電子顯微鏡 (high-resolution transmission electron microscopy, HR-TEM) 和電子繞射儀 (electron diffraction, ED) 來檢視其品質。依據 HR-TEM 和 ED 的結果 (圖 3-2)，所合成出的矽奈米線直徑約為 20~30 nm，其表面二氧化矽氧化層的厚度大約在 2~3 nm 之間，且矽奈

米線的成長為沿著米勒指數 (Miller index) $[111]$ 之晶格方向呈軸向成長，其晶格面的相距約為 0.32 nm 。

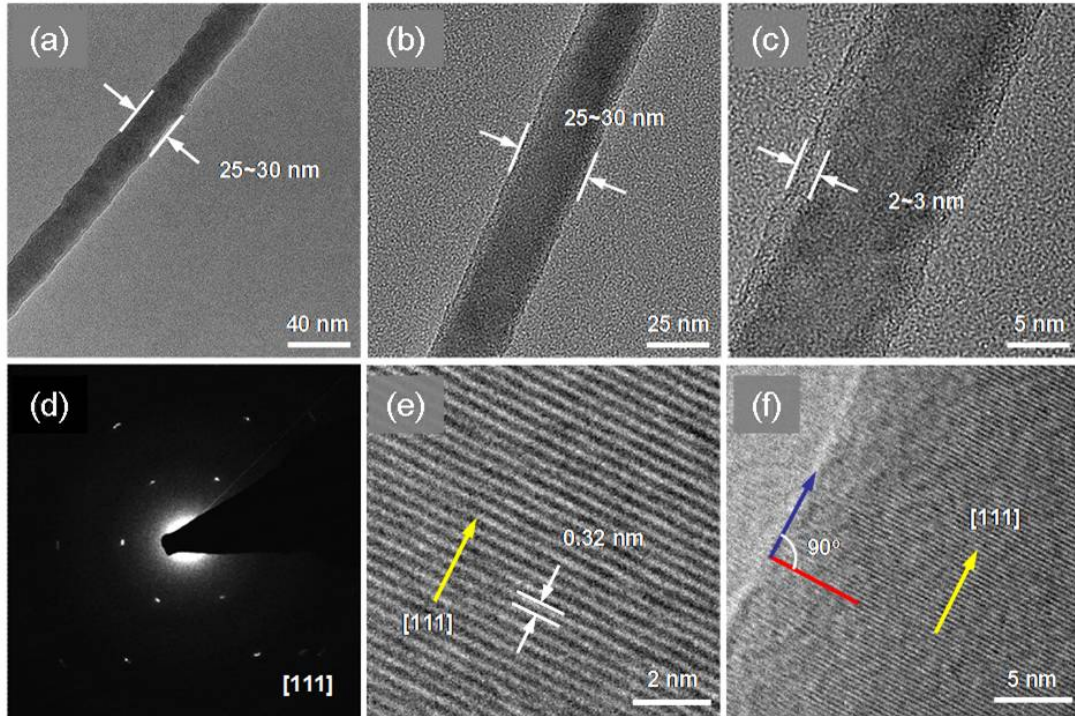


圖 3-2 硼摻雜矽奈米線之 HR-TEM 和 ED 影像圖。(a-b) 矽奈米線的直徑約 $20\sim 30\text{ nm}$ 。(c) 矽奈米線氧化層的厚度約 $2\sim 3\text{ nm}$ 。(d) 依據 ED 的影像圖，矽奈米線為單晶結構。(e) HR-TEM 的影像亦指出矽奈米線為 $[111]$ (黃色箭頭) 的晶格方向且晶格面相距約 0.32 nm (白色箭頭)。(f) 矽奈米線的成長方向 (藍色箭頭) 為沿著晶格方向 $[111]$ (黃色箭頭) 軸向成長，晶格面的形成則與奈米線成長方向成 90° (紅色線)。

3.1.2 氣相修飾之矽奈米線

此節，我們以掃描式電子顯微鏡、光學顯微鏡、原子力顯微鏡、克爾文力顯微鏡和化學分析電子儀，證明氣相修飾 APTMS 於矽奈米線上的成功與否。

以掃描式電子顯微鏡 (scanning electron microscopy, SEM) 觀察矽奈米線的表面結構 (圖 3-3)，依據顯微影像的結果，以氣相修飾之矽奈米線相對於液相修飾來說，較不易產生聚積的情形且根根分明，如此的矽奈米線將有利於晶片製程過程中，將矽奈米線在接觸轉印時，不因聚積導致矽奈米線成團。

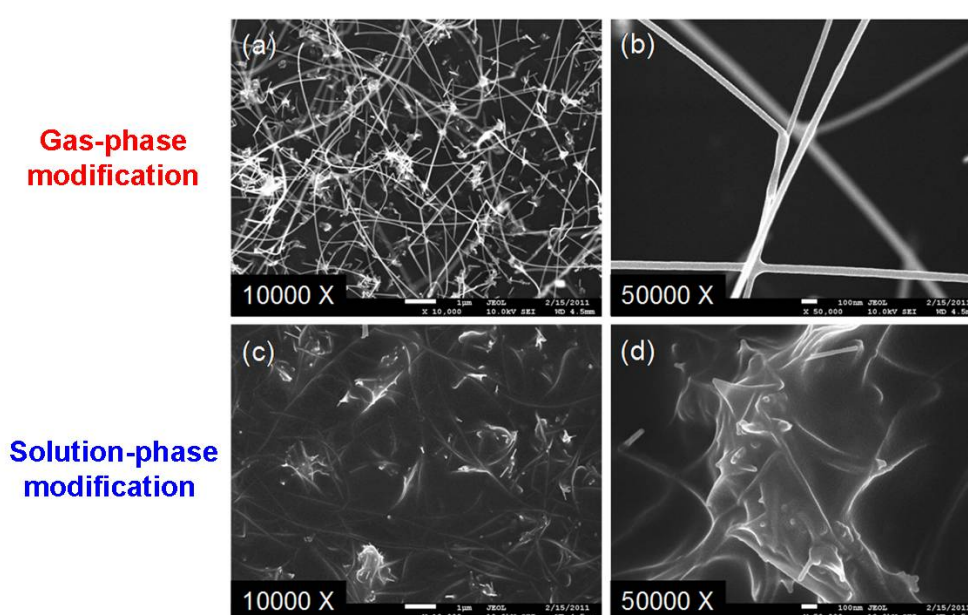


圖 3-3 氣相與液相修飾矽奈米線之 SEM 影像。(a) 氣相修飾 APTMS 之矽奈米線。(b) 圖 (a) 放大五倍後之顯微影像，氣相修飾之矽奈米線呈根根分明的狀態。(c) 液相修飾 APTMS 之矽奈米線。(d) 圖 (c) 放大倍率後之顯微影像，液相修飾之矽奈米線產生嚴重的聚積，而聚積的發生使得奈米線在接觸轉印至另一基材上具有一定的困難度。

我們亦以光學顯微鏡來觀察矽奈米線於 APTMS 氣相修飾完畢後再經接觸轉印各步驟之情形。由圖可見，以液相修飾的矽奈米線產生了嚴重的聚積現象 (圖 3-4 (b))，在經過超聲波震盪後，矽奈米線的濃密度下降 (圖 3-4 (c))，而後將其接觸轉印於另一基材上，幾乎不見矽奈米線 (圖 3-4 (d))；同樣地，我們亦以氣

相的方式修飾 APTMS 於矽奈米線上 (圖 3-4 (f))，並接觸轉印於空白 (圖 3-4 (g)) 和含 poly-L-lysine (圖 3-4 (h)) 的兩種基材上，比較兩種修飾法的結果，氣相修飾之矽奈米線除了可避免聚積情形的發生外，其亦可輕易地接觸轉印至另一基材上，有利於場效電晶體的製程，且含 poly-L-lysine 的基材，因其表面帶電性，更有助於矽奈米線的轉印。

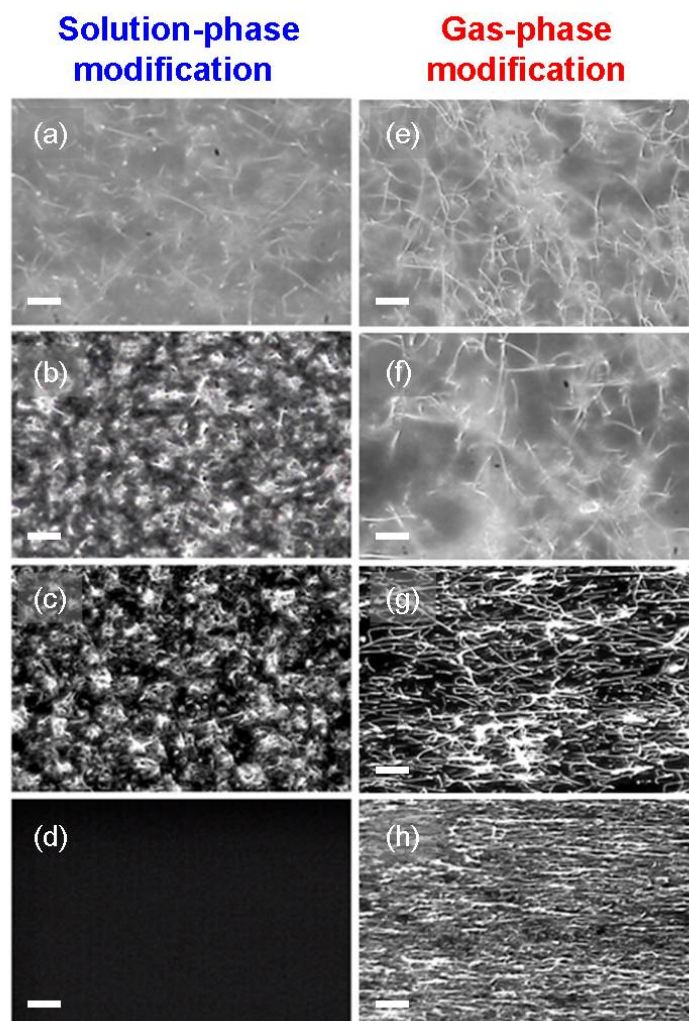


圖 3-4 液相與氣相修飾之矽奈米線光學顯微影像。(a) 以 CVD-VLS 合成之矽奈米線。(b) 液相修飾 APTMS 之矽奈米線產生聚積的情形。(c) 將 (b) 之矽奈米線浸泡於酒精當中，利用超聲波震盪器震盪後之影像。(d) 將 (c) 之矽奈米線接觸轉印至另一基材上之影像。(e) 於另一破片所合成之矽奈米線。(f) 以氣相修飾 APTMS 之矽奈米線仍是根根分明的狀態，沒有產生聚積的情形。(g) 將 (f) 之矽奈米線接觸轉印至空白基材上。(h) 將 (f) 之矽奈米線接觸轉印至表面含 poly-L-lysine 的基材上，與 (g) 的結果相比較，轉印後的結果較為濃密，故含 poly-L-lysine 的基材將有助於矽奈米線的轉印。比例尺為 5 μm 。

實驗中，為比較修飾前後的差異，我們以 AFM 和 KPFM 測量兩種不同的矽奈米線。圖 3-5 (a) 和 (b) 分別為修飾後和修飾前矽奈米線之 AFM 影像圖，圖 3-5 (c) 和 (d) 則為 KPFM 之影像圖，測量結果顯示，修飾後的矽奈米線其表面電位較修飾前約高出 30 mV，這是因為 APTMS 為一帶有胺基的分子，帶有正電性，使得矽奈米線的表面電位上升，此結果亦與文獻所得結果相符^{77,78}，指出在修飾具有胺基的分子於二氧化矽材質之表面上時，會使得表面電位上升，故依據 KPFM 的量測結果，證明了氣相修飾 APTMS 於矽奈米線上是成功的。

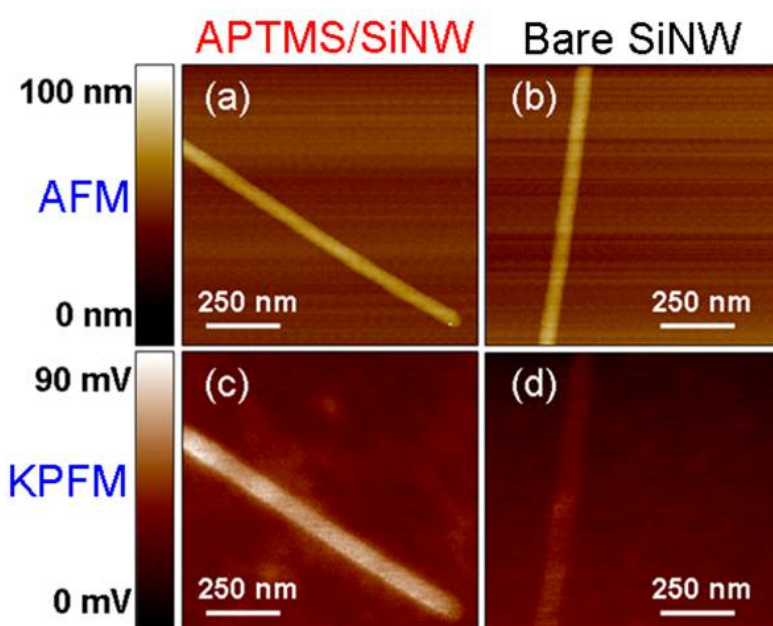


圖 3-5 氣相修飾 APTMS 之矽奈米線 (左側) 和未修飾之矽奈米線 (右側) 以 AFM(上排) 和 KPFM(下排) 偵測之影像圖。(a & b) 以 AFM 量測修飾後與修飾前矽奈米線的表面形狀。(c & d) 以 KPFM 量測氣相修飾 APTMS 後的矽奈米線，因表面含有帶正電的胺基，其電位較周遭基材表面高約 40 mV，而未經修飾之矽奈米線，因表面為二氧化矽，故與基材表面不具電位差。

除此之外，我們亦以化學分析電子儀 (electron spectroscopy for chemical analysis, ESCA) 來加以證明修飾的成功與否。圖 3-6 中，比較以氣相修飾 APTMS 於矽奈米線上前、後之 ESCA 圖譜的差異，結果顯示，在 APTMS 修飾完成後，圖譜中的 C_{1s} (284 eV) 和 N_{1s} (401 eV) 大幅增加，證明了我們可以成功地利用氣

相修飾法修飾 APTMS 於矽奈米線上。另外，我們亦比較了未修飾、修飾後和完成熱退火步驟後矽奈米線表面 N_{1s} 訊號 (401 eV) 之比例 (圖 3-7)，未修飾的矽奈米線因表面不含 APTMS，故不具有 N 元素的存在，而 APTMS 修飾之矽奈米線經光阻塗佈、有機溶劑沖洗和高溫熱退火等製程所需步驟後，表面 N_{1s} 的訊號仍存在著，約為 APTMS 剛修飾完成時的 77%，此結果確保了 APTMS 修飾之矽奈米線在經過嚴峻的製程步驟後仍舊存在，不易受破壞。

依據以上的結果，證明了以氣相修飾 APTMS 於矽奈米線上是成功的，且其亦可通過 bottom-up 製程技術的嚴苛考驗。

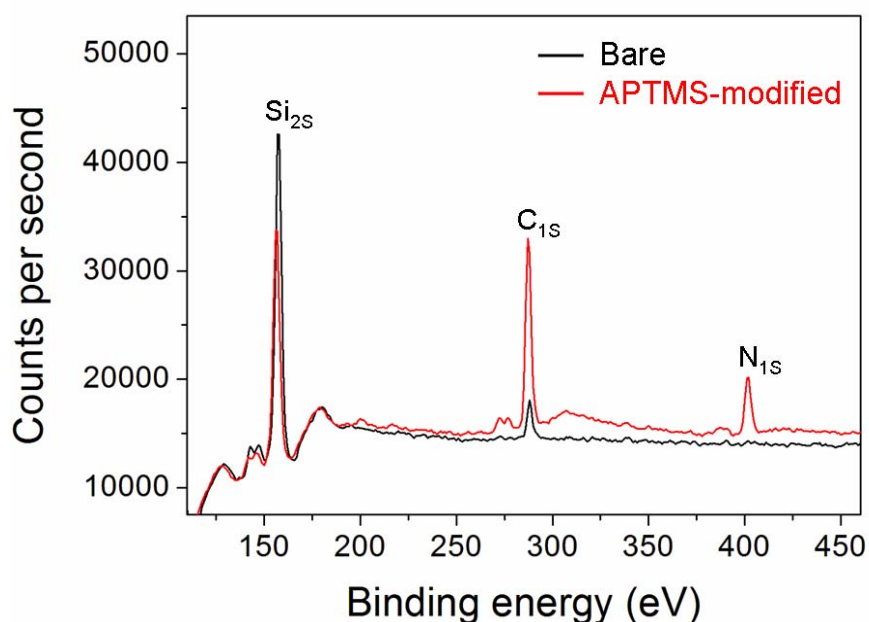


圖 3-6 ESCA 圖譜。黑色線為未經修飾之矽奈米線的結果；紅色線為以氣相修飾 APTMS 矽奈米線之圖譜訊號。依圖譜中， C_{1s} (284 eV) 和 N_{1s} (401 eV) 之訊號於修飾 APTMS 前後的差異，證明氣相修飾的成功。

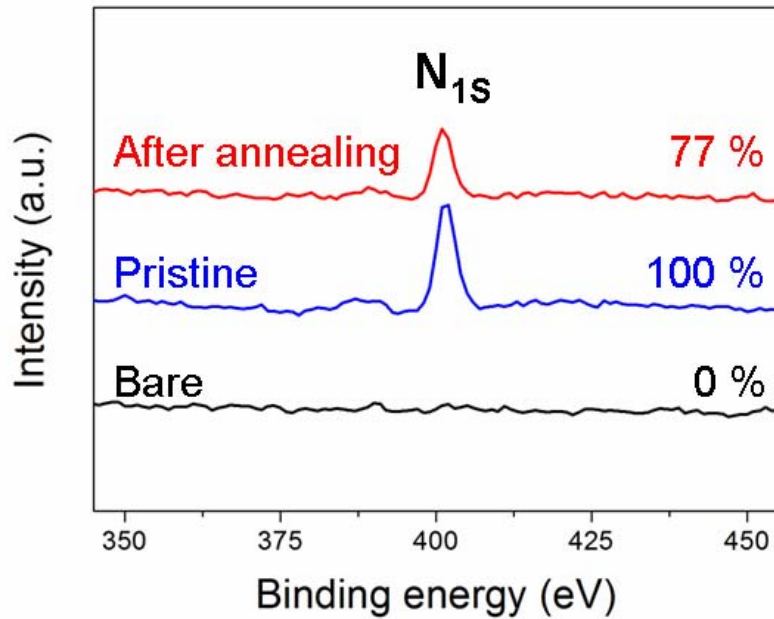


圖 3-7 ESCA 圖譜。藍色線為以氣相修飾 APTMS 矽奈米線之 N_{1s} (401 eV) 圖譜訊號；黑色線為未經修飾之矽奈米線的結果；紅色線為 APTMS 修飾之矽奈米線經製程與熱退火步驟後的偵測結果。以氣相修飾法修飾 APTMS 之矽奈米線，確實偵測出 N 之訊號，且經過製程步驟後，APTMS 修飾之矽奈米線其 N_{1s} 的訊號仍舊大於 75 %，證明了氣相修飾的成功，且此預修飾之矽奈米線可經過繁複製程步驟的考驗。

3.1.3 選擇性表面修飾矽奈米線場效電晶體之電性量測

將製備完成之 SSM APTMS/SiNW-FET 利用 probe station 量測 I_{sd} - V_{sd} 曲線 (圖 3-8)，量測的結果顯示其曲線呈近直線狀，此結果表示晶片在經過熱退火的步驟後，兩種金屬 (Al 和 Au) 所製作之電極的 ohmic contact 良好^{13,74}。

圖 3-9 中顯示以 SSM 和 AAM 兩種不同修飾法修飾 APTMS 於矽奈米線上所製作之 SiNW-FET 及未經修飾之 bare SiNW-FET，於 $0.01 \times$ PBS ($10 \times$ PBS 溶液含有：1.37 M NaCl、27 mM KCl、101.4 mM Na_2HPO_4 和 17.6 mM KH_2PO_4) 緩衝溶液環境下，量測其 I_{sd} - V_g 曲線圖。

當場效電晶體到達一特定的臨界電壓 (threshold voltage) 時，將處在「截止」(cut-off) 的狀態，電流無法通過，此時在氧化層與半導體的介面會開始出現導電電子層 (反轉層)，以後再增加的閘極電壓就不再用來改變空乏區的大小，而是用來增加導電電子層的電子數目。對於 p-type SiNW-FET 而言，其臨界電壓為一正電壓，而當矽奈米線的表面修飾 APTMS 分子後，因表面電荷的改變，導致其臨界電壓往負值移動。圖 3-9 中顯示 SSM APTMS/SiNW-FET 和 AAM APTMS/SiNW-FET 之 I_{sd} - V_g 曲線，相較未經修飾 SiNW-FET 之 I_{sd} - V_g 曲線，其曲線往左偏移，即臨界電壓往負值移動，此結果與預期相符。

造成 SSM APTMS/SiNW-FET 和 AAM APTMS/SiNW-FET 兩者 I_{sd} - V_g 曲線些微差異的原因可大略歸因於下列兩點：(1) 由於摻雜量、長度、粗細的些微不同，使得每根矽奈米線彼此間存在著差異 (2) SSM 和 AAM 兩種方法修飾 APTMS 於矽奈米線上修飾效果的差異。雖然 SSM 和 AAM 兩種方法製備之 APTMS/SiNW-FET 其 I_{sd} - V_g 曲線具有些微差異，但其依據兩者之臨界電壓值相較 bare SiNW-FET 皆向負值偏移且偏移量大略相等的實驗結果，說明 SSM 和 AAM 兩種方法皆可成功地修飾 APTMS 於 SiNW-FET 上。

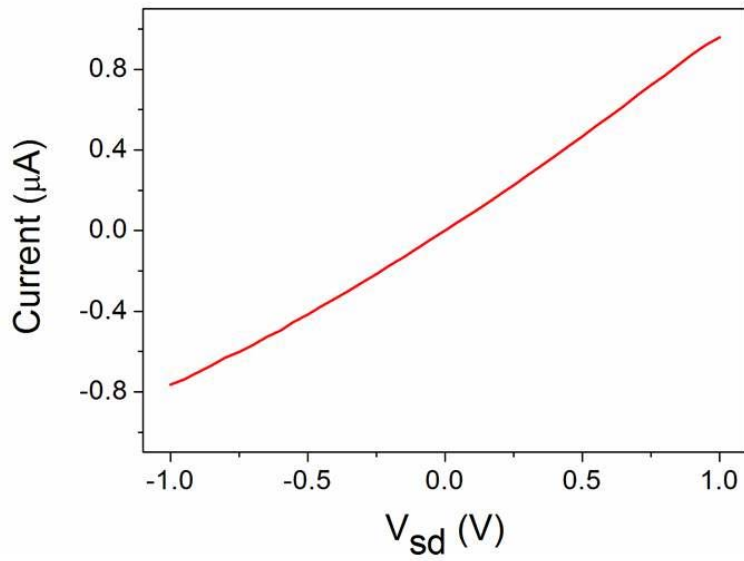


圖 3-8 SSM APTMS/SiNW-FET 以數位型多功能三用電表量測之 I_{sd} - V_{sd} 圖。

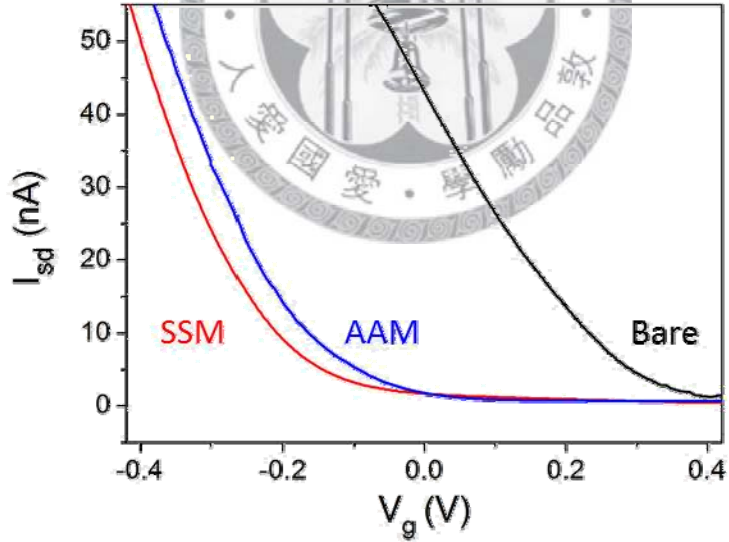


圖 3-9 Bare SiNW-FET 之 I_{sd} - V_g 曲線 (黑色)；AAM APTMS/SiNW-FET 之 I_{sd} - V_g 曲線 (藍色)；SSM APTMS/SiNW-FET 之 I_{sd} - V_g 曲線 (紅色)。 I_{sd} - V_g 的量測是在 $0.01 \times$ PBS 緩衝溶液環境下，固定 V_{sd} 為 30 mV，從 V_g 相對 Ag/AgCl 參考電極為 0.4 V 掃描至 -0.4 V。

哈佛大學 Lieber 教授的研究團隊於 2001 年 Science 期刊發表的文獻中，提及了 APTES 修飾之矽奈米線對於不同 pH 值之緩衝溶液會產生不同的電訊號值，且 pH 與電導呈線性關係¹³。對此一情形，其解釋為 APTES 修飾之 p-type SiNW-FET 會依據-NH₂和-SiOH 兩種官能基 pK_a的不同 (pK_a = 3.9 for -NH₂⁷⁹；pK_a = 8.5 for -SiOH^{80,81})，在不同 pH 溶液的環境下，表面會發生質子化和去質子化的反應。因在 $HA \rightleftharpoons H^+ + A^-$ 的反應中， $pH = pK_a + \log ([A^-]/[HA])$ ，當 pH 低於 pK_a 時，[HA]大於[A⁻]，使得質子化的發生，且當 pH 高於 pK_a 時，[A⁻]大於[HA]，將導致分子產生去質子化。故在低 pH 溶液環境下，-NH₂ 官能基會被質子化形成-NH₃⁺帶正電荷，對於 p-type SiNW-FET 而言，累積電洞載子，造成電導的下降；而高 pH 溶液環境，則會誘發-SiOH 官能基的去質子化，形成-SiO⁻，使得電導上升。相對地，未經修飾之 SiNW-FET 因其表面僅具有-SiOH 官能基，在溶液 pH 值大於-SiOH 的 pK_a 值時，會誘發去質子化的發生，形成-SiO⁻，使得 pH 與電導不再呈線性關係 (圖 3-10)，而是在高 pH 值時，因帶有負電荷的-SiO⁻產生，使得電導上升的改變量增遽。

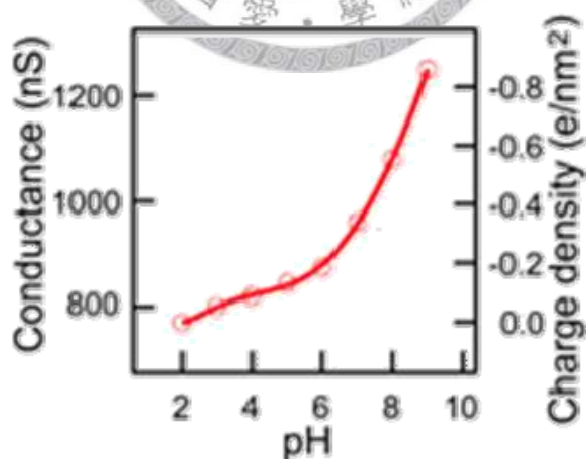


圖 3-10 未經修飾之 p-type SiNW-FET 其電導隨不同 pH 溶液之變化。高 pH 溶液環境下，誘發 SiNW-FET 表面-SiOH 官能基的去質子化，形成-SiO⁻，使得電導的變化增加¹³。

由於 APTMS 和 APTES 的官能基皆為 -NH_2 ，故根據文獻，我們以不同 pH 值的溶液，進行流體的量測，藉由 pH 與電導變化的關係判斷以氣相修飾 APTMS 於矽奈米線上的成功與否。在此實驗中以 5 mM citric acid、5 mM sodium phosphate、5 mM Tris-HCl 和 5 mM NaCl 配製溶液，並以 NaOH 和 HCl 調配 pH 範圍從 5.0 到 8.5。

於不同 pH 值溶液下，SSM APTMS/SiNW-FET 因表面修飾分子 APTMS，SiNW-FET 會依據 -NH_2 和 -SiOH 兩種官能基 pK_a 的不同，在不同 pH 溶液的環境下，表面會發生質子化和去質子化的反應。低 pH 溶液環境下， -NH_2 官能基會被質子化形成 -NH_3^+ ，帶正電荷；而高 pH 溶液環境，則會誘發 -SiOH 官能基的去質子化，形成帶負電荷的 -SiO^- (圖 3-11)。

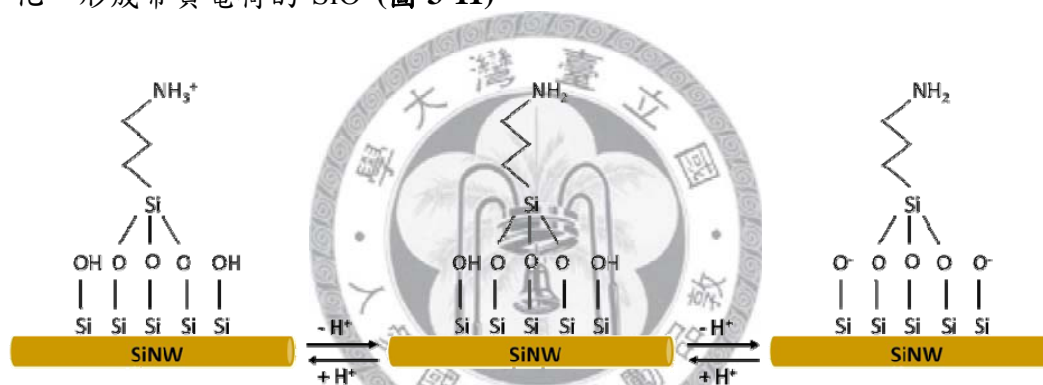


圖 3-11 APTMS 修飾之 p-type SiNW-FET 會依據 -NH_2 和 -SiOH 兩種官能基 pK_a 的不同，在不同 pH 溶液的環境下，表面會發生質子化和去質子化的反應。低 pH 溶液環境下， -NH_2 官能基會被質子化形成 -NH_3^+ 帶正電荷，對於 p-type SiNW-FET 而言，累積電洞載子，造成電導的下降；而高 pH 溶液環境，則會誘發 -SiOH 官能基的去質子化，形成 -SiO^- ，使得電導上升。

電訊號的實驗結果顯示 (圖 3-12)，SSM APTMS/SiNW-FET 在不同 pH 值溶液下會產生電導的變化，且 pH 值每變化 0.5，其電導的變化量大略相同，pH 與電導呈一線性關係，此結果與文獻相符¹³。如圖 3-13 所示，以此法亦可判定修飾效果的優與劣，當矽奈米線的表面修飾上 APTMS 分子且無聚積現象的發生時，假若暴露於溶液中 -NH_2 和 -SiOH 兩種官能基呈一比一的關係，可使 pH 與電導呈現完美的線性關係，而當 APTMS 分子的修飾覆蓋不完全， -SiOH 的量相對多於

-NH₂ 時，pH 與電導原為斜直線的關係，則會略趨向上，APTMS 分子的修飾若產生聚積，則會因-NH₂ 的量相對多於-SiOH，造成 pH 與電導的斜直線略為向下曲折。

電訊號在不同 pH 溶液下的改變 (圖 3-12) 和臨界電壓的偏移 (圖 3-9)，兩者皆證明以氣相預修飾 APTMS 分子於矽奈米線上的 SSM APTMS/SiNW-FET 之製備是成功的。

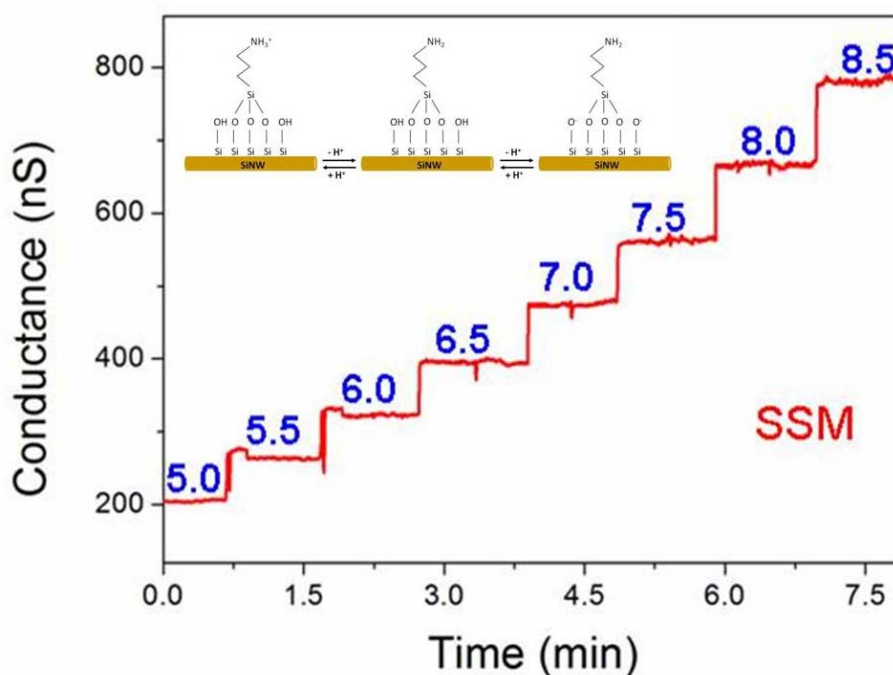


圖 3-12 SSM APTMS/SiNW-FET 以不同 pH 緩衝溶液 (pH = 5.0~8.5, ΔpH = 0.5) 作電訊號的即時偵測。p-type 之 SSM APTMS/SiNW-FET 其表面具有 -NH₂ 和 -SiOH 兩種官能基，在不同 pH 溶液環境下，因 -NH₂ 和 -SiOH 其 pK_a 的不同，表面會發生質子化和去質子化的反應。低 pH 溶液的環境下，-NH₂ 會被質子化形成 -NH₃⁺，造成電導的下降；而高 pH 溶液環境，則會誘發 -SiOH 的去質子化，形成 -SiO⁻，使得電導上升。

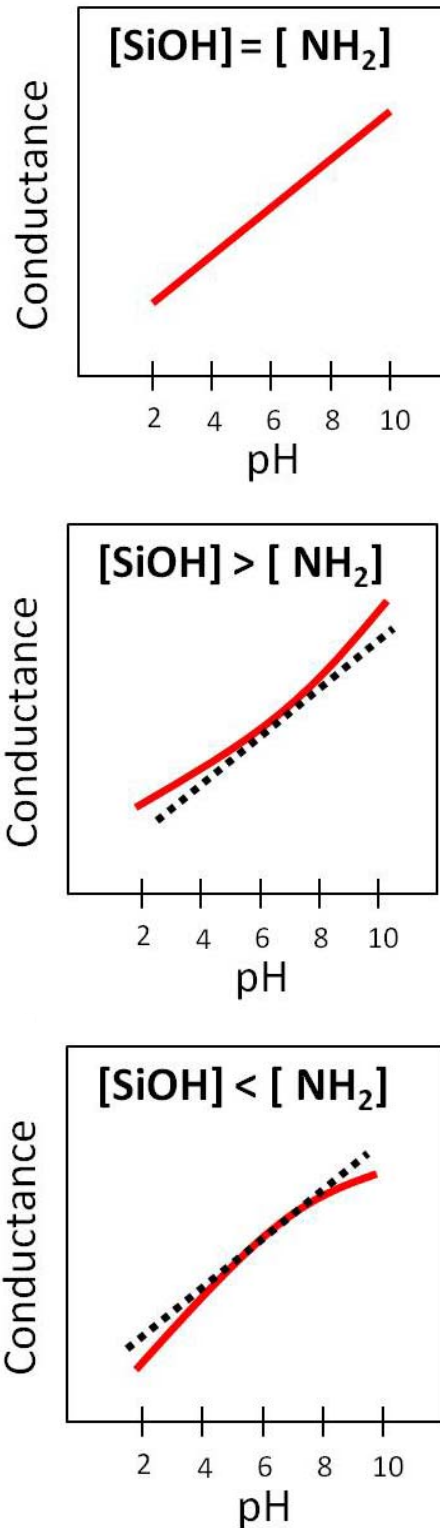


圖 3-13 SSM APTMS/SiNW-FET 以不同 pH 值溶液作電訊號的偵測，其電導對 pH 的關係。當 $[\text{NH}_2] = [\text{SiOH}]$ 時，使 pH 與電導可呈現線性關係，而當 $[\text{NH}_2] > [\text{SiOH}]$ 時，pH 與電導原斜直線的關係，則會略趨向上，若 $[\text{NH}_2] < [\text{SiOH}]$ ，則會造成 pH 與電導的斜直線略為向下曲折。

3.1.4 電訊號偵測結果

為比較 SSM APTMS/SiNW-FET 和 AAM APTMS/SiNW-FET 之間靈敏度的差異，在我們的實驗中，利用 biotin (生物素) 和 avidin (抗生物素) 具高度親和力的特點，對兩種 SiNW-FET 作電訊號的即時偵測。此實驗中，我們將 biotin 作為特定受體，修飾在 SiNW-FET 的表面上，偵測與目標分子 avidin 反應所產生的訊號。

基材面積與矽奈米線面積的比例計算：

流體實驗係藉由微流體通道透過注射幫浦抽取樣品溶液來進行，而比較 SSM APTMS/SiNW-FET 和 AAM APTMS/SiNW-FET，AAM 修飾的 SiNW-FET，因其為全基材面積的修飾，故整個為流體通道下的面積皆具有特定受體 biotin 的存在，可捕捉 avidin 分子，但 SSM 修飾的 SiNW-FET，biotin 僅修飾在矽奈米線的表面。

微流體通道 (長 6.25 mm、寬 500 μm 、高 50 μm) 下的面積為 3.125 mm^2 ，而每條矽奈米線 (直徑 30 nm、長度 2 μm) 的面積為 0.06 μm^2 ，故微流體通道下的基材面積與源汲極間矽奈米線的面積，比例約為 $10^6:1$ ，此計算結果，可看出兩者所佔比例相差極大 (圖 3-14)。

在此實驗中，所使用的緩衝溶液為磷酸鹽溶液 (76 μM Na_2HPO_4 + 24 μM NaH_2PO_4 , pH = 7.4, $\lambda_D = 19.5$ nm)，以注射幫浦抽取流速為 0.3 mL/hr 下，對 biotin/avidin 的反應進行電訊號的偵測。由於不同晶片之 SiNW-FETs，彼此間的性質 (如：電導、臨界電壓、跨導) 存在著差異，而依據文獻所指⁸²，我們可以藉由實驗中所得到的電流改變量 (ΔI) 和跨導值，將其轉換成相對地閘極電壓變化量 (ΔV_g)，以減小不同晶片偵測下所造成的差異。

$$\Delta V_g = \frac{\Delta I}{\frac{dI_{sd}}{dV_g}}$$

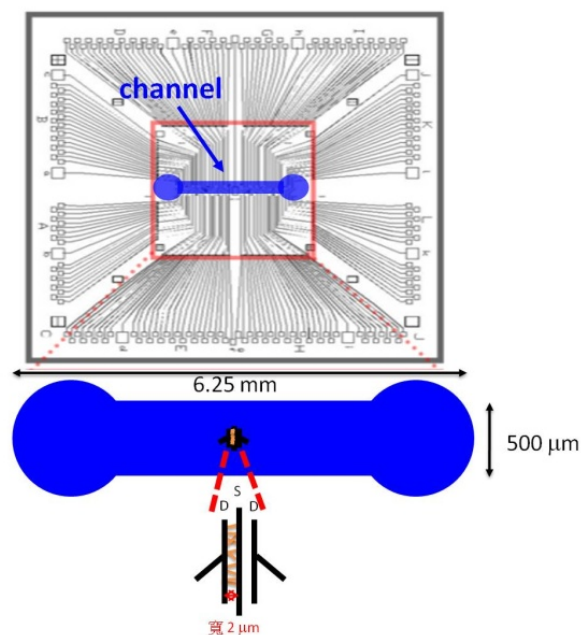


圖 3-14 上方為晶片之光罩設計圖，流體實驗進行時，將 PDMS 製作的微流體通道 (長 6.25 mm、寬 500 μm 、高 50 μm) 擺置於圖中所示位置，其涵蓋的基材面積為 3.125 mm^2 ，而每條矽奈米線 (直徑 30 nm、長度 2 μm) 的面積為 0.06 μm^2 ，故微流體通道下的基材面積與源汲極間矽奈米線的面積，比例約為 $10^6:1$ 。

圖 3-15 顯示以 SSM APTMS/SiNW-FET 和 AAM APTMS/SiNW-FET 兩種不同修飾法之 SiNW-FET 偵測 10 nM avidin 的實驗結果。兩種 SiNW-FET，在偵測達反應平衡後，其 ΔV_g 值大約相同，此結果意指著 SSM APTMS/SiNW-FET 和 AAM APTMS/SiNW-FET 因每對源汲極之間具偵測效果之矽奈米線數量相仿，故在有效偵測下所能捕捉之 avidin 的量是相同的。不同的是，以 AAM APTMS/SiNW-FET 偵測要達反應平衡所需的時間長達 1 min 以上，而 SSM APTMS/SiNW-FET 只需要約 15 s 即可達反應平衡，此情形可由圖 1-4 來解釋，AAM APTMS/SiNW-FET 因為修飾的範圍包含了周遭基材的表面，故修飾於基材表面上不具偵測效果的 biotin 亦可捕捉 avidin，且基材的面積相較於具偵測效果之矽奈米線面積比例相差極大 (基材面積：矽奈米線面積 = $10^6:1$)，導致要使矽奈米線上具偵測效果之 biotin 全都捕捉到 avidin，達反應的平衡，所需的時間拉長，所需樣品量也較多。

除此之外，我們亦藉由觀察樣品消耗量與相對電阻改變量 ($|R-R_0|/R_0(\%)$) 的關係，來比較 SSM APTMS/SiNW-FET 和 AAM APTMS/SiNW-FET 的偵測靈敏度 (圖 3-16)。

結果顯示，當 10 nM 的 avidin 已經消耗掉 100 nL 時，SSM APTMS/SiNW-FET 的相對電阻變化量已達 60%，但 AAM APTMS/SiNW-FET 卻尚未偵測到任何訊號。此外，當樣品消耗量達 1 μ L 時，SSM APTMS/SiNW-FET 的相對電阻變化量已高達 90% 以上，但 AAM APTMS/SiNW-FET 卻僅有約 8% 的變化量，且當樣品消耗量已高達 10 μ L 時，AAM APTMS/SiNW-FET 的電訊號才將達反應平衡的狀態。依據此一實驗結果，說明了 SSM APTMS/SiNW-FET 的偵測靈敏度相較 AAM APTMS/SiNW-FET 來說較佳，且其可減少樣品的使用量和偵測所需時間，這些優點對生物感測的相關研究有很大的助益。

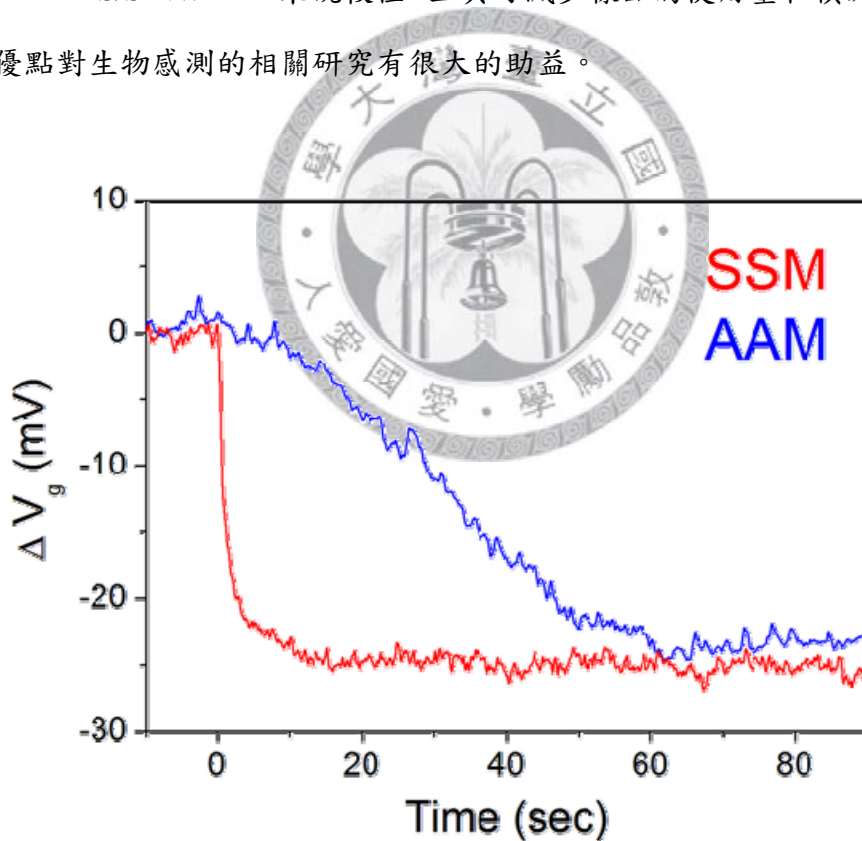


圖 3-15 以 10 nM avidin 偵測修飾有 biotin 之 SSM APTMS/SiNW-FET 和 AAM APTMS/SiNW-FET 的電訊號。SSM APTMS/SiNW-FET 達反應平衡約需 15 s，而 AAM APTMS/SiNW-FET 則需 1 min 以上才可達反應平衡。

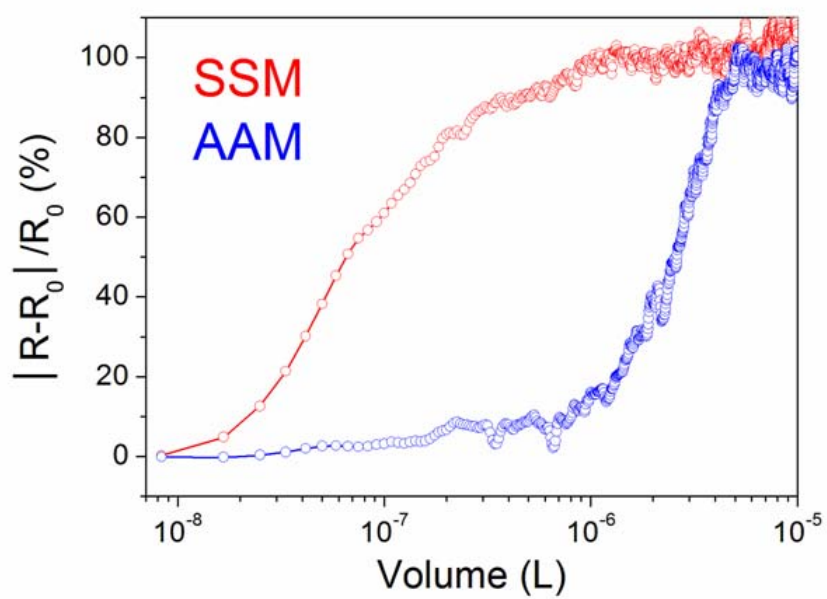


圖 3-16 以相對電阻變化量對樣品消耗量作圖，比較 SSM APTMS/SiNW-FET (紅色) 和 AAM APTMS/SiNW-FET (藍色) 的偵測靈敏度。



第二節 生物脂雙層膜與電晶體的結合及特性

3.2.1 脂雙層膜之螢光影像

為確認脂雙層膜是否能成功地鋪在基材上，並且確保脂雙層膜鋪成的品質(脂雙層膜覆蓋之均勻度)，我們藉由混合螢光脂質分子 (NBD-PC) 與脂質分子 (DOPC) 來觀察其螢光之有無與分佈情形。

初步的實驗，我們需要先確認微胞是否能吸附於基材上，並藉由 Ca^{2+} 將其融合形成脂雙層膜，圖 3-17 是以濃度 1 mg/mL 的微脂粒鋪成之脂雙層膜的螢光影像圖，螢光的出現確認了脂雙層膜能成功地鋪在基材的表面上，但螢光的均勻度不佳，出現了許多大小不一的亮點。造成螢光不均勻的主因是由於微胞製備步驟中所產生之微胞的粒徑大小不一，使得 Ca^{2+} 無法將其完全融合，留下了顆粒較大、未融合的微胞，形成不均勻的脂雙層膜。

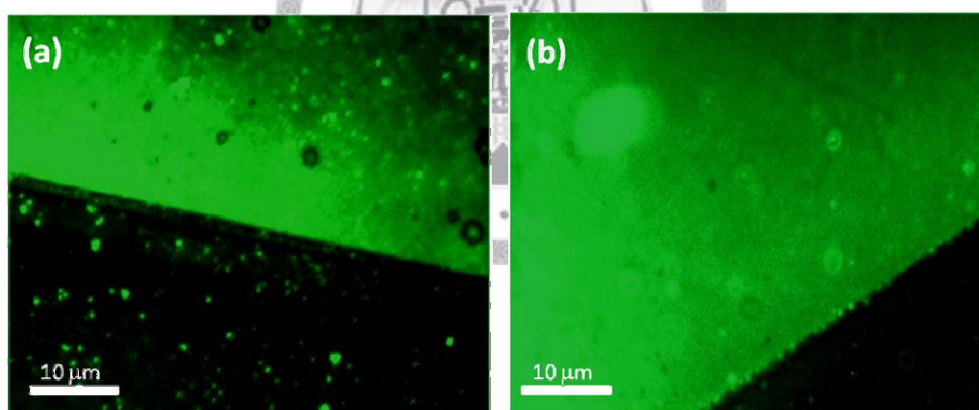


圖 3-17 以濃度 1 mg/mL 的微脂粒鋪成之脂雙層膜的螢光影像圖，(a) 和 (b) 分別為不同區域螢光之影像。

為改善脂雙層膜鋪成的均勻度，我們仿照文獻⁸³，在完成微胞製備的步驟後，利用離心機 (Centrifuge 5804R, eppendorf) 將微胞溶液以轉速 14000 rpm 離心約 1 hr，藉此分離出大小不同的微胞，並取得上層溶液，進行脂雙層膜的製備。

實驗中，比較了「未離心」和「離心」兩種情況下脂雙層膜的螢光影像。圖 3-18 中顯示，經過「離心」處理的微胞溶液其所鋪成的脂雙層膜，相較於「未離心」所得之脂雙層膜，螢光影像少了大小不一的亮點，呈現的螢光較為均勻，所鋪成之脂雙層膜的均勻度較佳，故接續的實驗在製備微胞的步驟完成後皆進行離心的動作，並取得離心後的上層溶液以製備均勻的脂雙層膜。

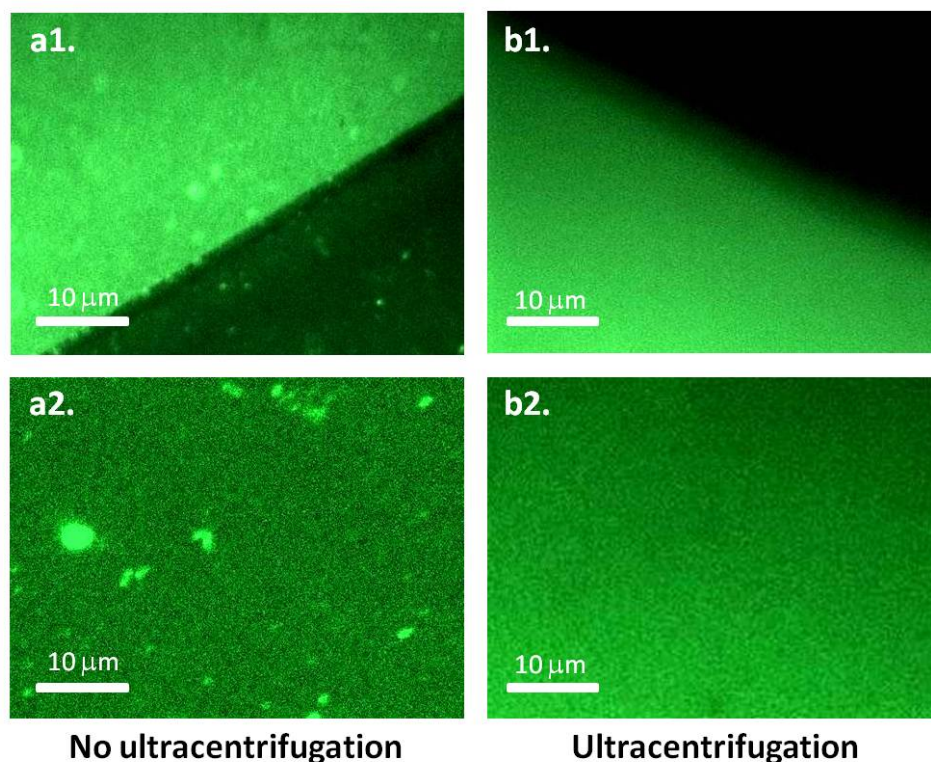


圖 3-18 「未離心」(a1. & a2.) 和「離心」(b1. & b2.) 兩種不同情況下，脂雙層膜的螢光影像。

上述的實驗結果，證明了我們可以將脂雙層膜成功地鋪在基材的表面上，但鋪成出之脂雙層膜的厚度仍屬於未知數，故我們準備了不同濃度的微胞溶液，以製備脂雙層膜，並觀察其螢光影像的差異和提供接下來第 3.2.2 節以 AFM 量測厚度的實驗。

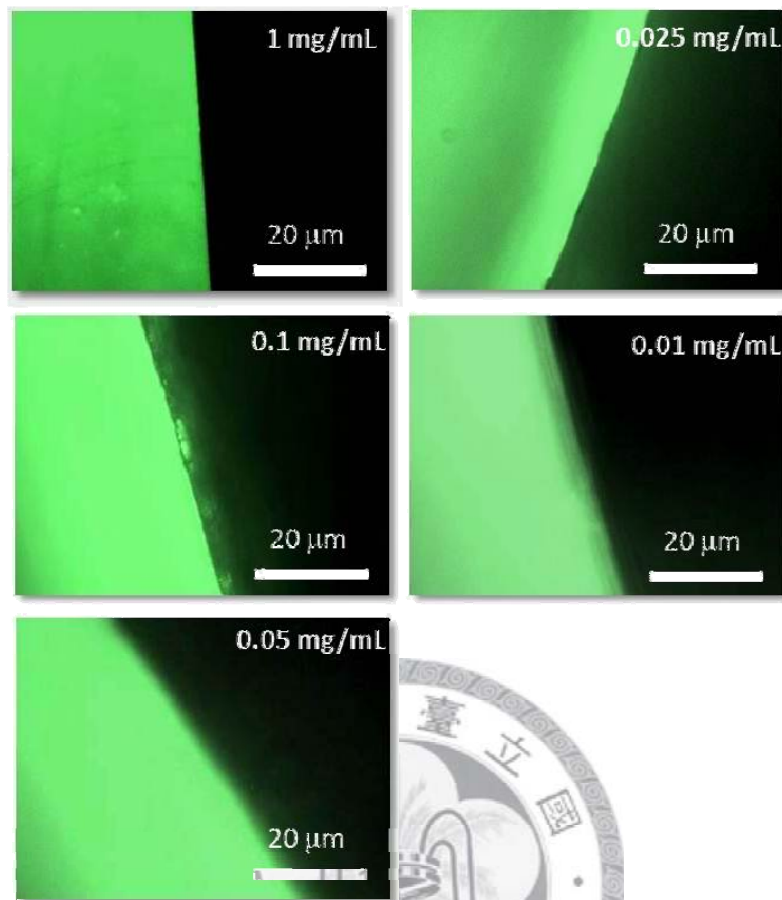


圖 3-19 以不同濃度 (分別為 1、0.1、0.05、0.025、0.01 mg/mL 的 DOPC + 1 % mol NBD-PC) 之微胞溶液製備脂雙層膜之螢光影像圖。

圖 3-19 中顯示螢光的亮度隨著微胞溶液濃度的下降而降低，且當微胞溶液的濃度稀釋一百倍，達 0.01 mg/mL 時，螢光仍可存在且均勻度佳，表示脂雙層膜依然可成功地鋪在基材的表面上。螢光亮度的差異與鋪成之脂雙層膜的層數有關，當使用濃度愈濃的微胞溶液時，所得的螢光亮度愈亮，意味著脂雙層膜的層數也愈多，而濃度較低的微胞溶液，所得的螢光亮度較低，脂雙層膜的層數也較少。在螢光影像觀察實驗的結果中，我們確認了脂雙層膜可經由我們的實驗方法成功地鋪在基材的表面上，但脂雙層膜實際的厚度仍需由更精密的實驗儀器測量才可得知。

由於以 SiNW-FET 作為量測生物樣品的偵測平台時，我們通常以 PDMS 製

作的微流體通道作為樣品進出流通之管道，故我們亦在微流體通道的系統下製備脂雙層膜，並利用此系統進行一系列的電訊號偵測實驗。在微流體通道的系統下製備脂雙層膜，其製備步驟與先前並無太大差別，首先將微胞溶液利用幫浦抽取進微流通道中，靜置約 3 hr 後，以流速 0.1 mL/hr 流入 Ca^{2+} 約 1 hr，將吸附在基材表面上的微胞融合形成脂雙層膜，最後以流速 0.1 mL/hr 流入 20 mM Tris-HCl (pH 7.5) 將表面多餘的微胞洗出，並作為保存脂雙層膜的溶液，即完成脂雙層膜的製備。

因為脂雙層膜與基材介面的結合僅僅依靠靜電力的存在，故必須考慮流體實驗進行時流速對脂雙層膜的影響，故我們亦做不同流速在長時間下進行流體實驗其脂雙層螢光影像之觀察。

此部分的實驗，我們以濃度 0.01 mg/mL 的微胞溶液製備脂雙層膜，在製備完成後，以不同流速流 20 mM Tris-HCl (pH 7.5) 的緩衝溶液約 1 hr 後，觀察其螢光的變化 (圖 3-20 (a))。結果顯示，在低流速 (0.1 mL/hr) 下進行實驗，脂雙層膜仍可完好存在，不受破壞。即使提高至一般流體實驗操作的流速 (0.3 mL/hr) 之下，脂雙層膜的完整性依然良好。但當流速再提高至 1 mL/hr 時，脂雙層膜開始無法抵擋溶液的沖擊力，螢光的亮度變弱，甚至有些區域產生不均勻的現象，脂雙層膜受到破壞。根據以上的實驗結果，我們將接續的流體實驗控制在流速 ≤ 0.3 mL/hr 的條件下進行，以避免脂雙層膜受過快的溶液流速所破壞。

流體實驗通常為長時間、連續性的進行，故我們必須確認脂雙層膜在固定流速下是否能接受長時間實驗的考驗。因流體實驗的進行通常控制在流速為 0.3 mL/hr 之下，所以我們藉由檢視螢光影像，觀察在此流速下操作流體實驗一段時間後對脂雙層膜的影響 (圖 3-20 (b))。結果顯示，在流體實驗操作 1 hr 後，螢光仍存在且完整無缺，當時間拉長至 2~3 hr 時，螢光亦不受破壞，從結果中可確定脂雙層膜能夠承受長時間流體實驗的考驗，確保脂雙層膜在實驗過程中不受破壞。

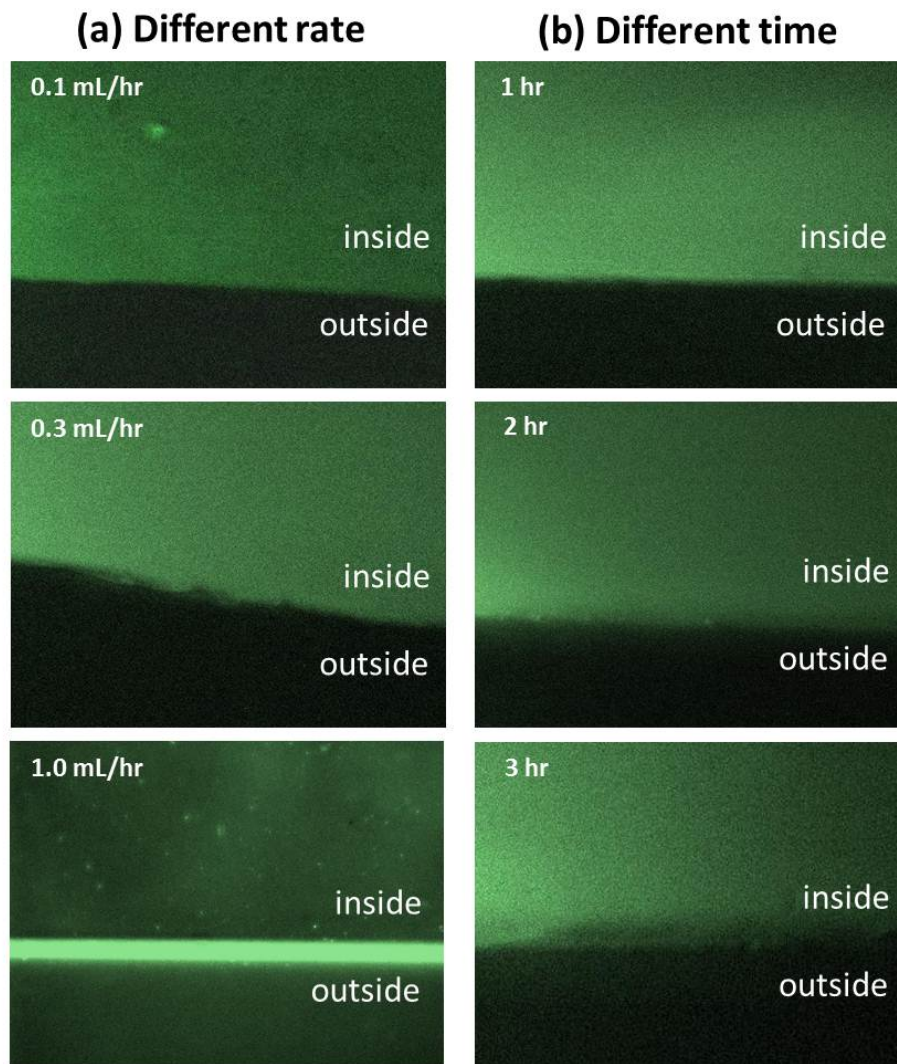


圖 3-20 以濃度為 0.01 mg/mL 的微胞溶液，在微流體通道的系統下，製備脂雙層膜。(a) 不同流速 (分別為 0.1、0.3、1.0 mL/hr) 下，操作流體實驗 1 hr 後觀察之螢光影像圖。(b) 在固定流速 0.3 mL/hr 下，連續觀察螢光影像 (分別為 1 hr 後、2 hr 後、3 hr 後觀察的結果)。

3.2.2 脂雙層膜之原子力顯微影像

論文的第 3.2.1 節，我們利用螢光觀察不同濃度微胞溶液製備之脂雙層膜的鋪成情形，當鋪成的技術可達絕大部分為均勻分佈後，因為螢光影像的強度只能輔助辨別脂雙層膜厚度的多與寡，要準確判斷鋪成之脂雙層膜的厚度，我們必須藉由更精密的儀器（例如：AFM）來精確測量之。

文獻指出，以磷脂質分子鋪成之單層脂雙層膜的厚度約為 5 nm⁶³，生物脂雙層膜厚度的多寡，對於 SiNW-FET 的偵測會產生一定的影響。當膜蛋白嵌入於脂雙層膜中，若脂雙層膜的層數過多、厚度過厚，SiNW-FET 受到脂雙層膜遮蔽的影響，造成偵測膜蛋白結合-未結合 (binding-unbinding) 作用等生物相關研究時無法做出準確的量測，且因細胞膜為單層脂雙層膜，為讓偵測環境下的膜蛋白能與生物體環境中相仿，故實驗的最終目的是製備出厚度約為 5 nm 的單層脂雙層膜。

在此實驗中，我們利用 AFM 量測脂雙層膜的厚度，並且依據所得的高度影像，判斷不同條件下鋪成之脂雙層膜是否為單層脂雙層膜 (single lipid bilayer)，以提供後續生物領域的相關研究。

首先，量測以濃度 1 mg/mL 微胞溶液製備之脂雙層膜的厚度 (圖 3-21)，結果顯示，此濃度條件下所製備出來的脂雙層膜厚度約為 10 nm，為單層脂雙層膜的兩倍，表示在此實驗條件下，我們所製備出的應為雙層脂雙層膜 (double lipid bilayer)，造成此結果的原因可能有二：(1) 小區域的鋪成面積 (2) 高濃度的微胞溶液。由於實驗在小區域的鋪成面積下進行，控制了脂質分子可以延伸的空間，當微胞溶液的濃度過高時，脂質分子因水平延伸的空間受限，開始向垂直方向堆疊，造成脂雙層膜的厚度增加。

為達鋪成單層脂雙層膜的目的，我們將微胞溶液的濃度稀釋，並在同樣地鋪成面積下進行實驗。圖 3-22 是以 AFM 量測濃度 0.01 mg/mL 微胞溶液製備之脂雙層膜所得之高度影像圖。依據實驗結果，在此濃度下所製備之脂雙層膜的厚度

約為 5 nm，即為單層脂雙層膜的厚度，故依據此實驗結果，我們確認了鋪成單層脂雙層膜的實驗條件應控制以濃度為 0.01 mg/mL 微胞溶液所製備。

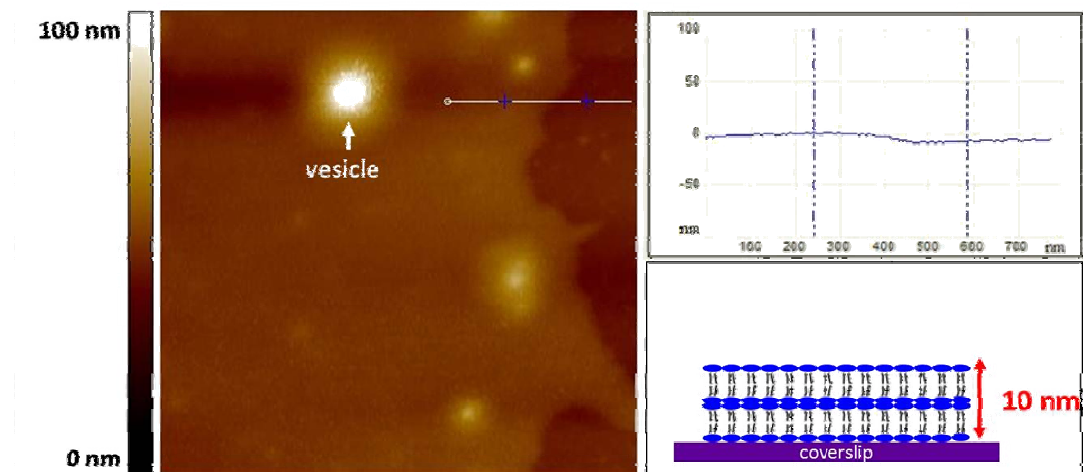


圖 3-21 以 AFM 測量脂雙層膜 (以濃度 1 mg/mL 的微胞溶液製備) 所得之高度影像圖，脂雙層膜的厚度約為 10 nm。

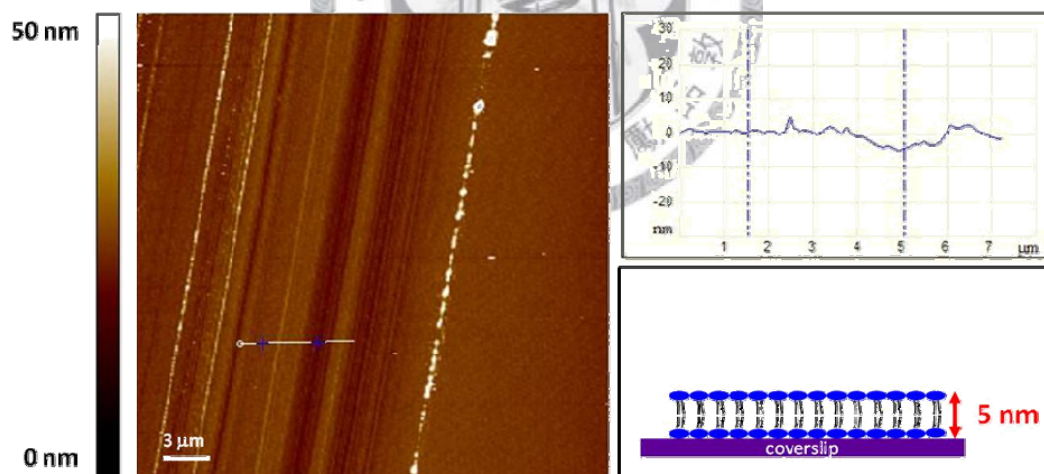


圖 3-22 以 AFM 測量脂雙層膜 (以濃度 0.01 mg/mL 的微胞溶液製備) 所得之高度影像圖，脂雙層膜的厚度約為 5 nm。

圖 3-21 的量測邊界是藉由 PDMS 所做出之圓柱狀深井 (井深約 0.5 cm，底圓直徑約 0.8 cm) 作為分辨空白基材與脂雙層膜邊界的模型，而圖 3-22 則是藉由非利刃型器具對以鋪成之脂雙層膜做刮離的動作，以做為辨別空白基材與脂雙

層膜邊界的依據，圖 3-23 為刮離脂雙層膜後以螢光顯微鏡觀察之影像圖，黑色部分即為將帶螢光基團之脂質分子刮離後所剩空白基材之影像。

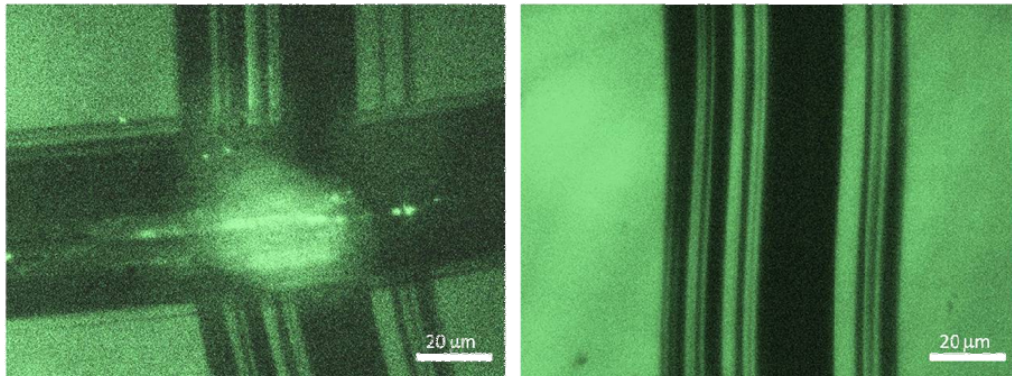


圖 3-23 以濃度 0.01 mg/mL 的微胞溶液製備脂雙層膜於蓋玻片的表面上，並以非利刃型器具對已鋪成之脂雙層膜做十字形狀刮離的動作後，以螢光顯微鏡觀察之影像圖。



3.2.3 網絡式矽奈米線場效電晶體之元件電性量測

以光學顯微鏡觀察完成製程步驟的 MPC SiNW-FET，影像顯示藉由接觸轉印的方式將矽奈米線轉至晶片表面的數量眾多 (圖 3-24)。

以其中任一組源-汲極電極為例 (圖 3-25)，約有數百條的矽奈米線橫跨在其間，若將其於液相中 ($0.01 \times$ PBS 的緩衝溶液) 量測 $I_{sd}-V_g$ 的曲線圖，可藉由 $I_{sd}-V_g$ 曲線中線性區域的斜率，可換算得其跨導值約為 $60 \mu S$ (圖 3-26)。

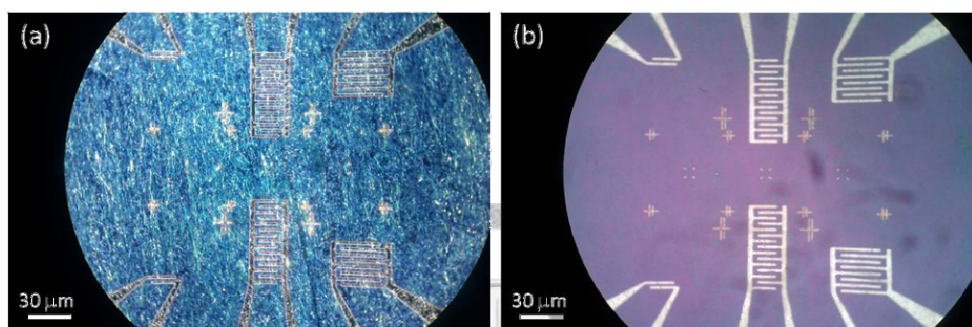


圖 3-24 以光學顯微鏡分別在 (a) 暗場 (dark field) 下 (b) 明場 (bright field) 下，觀察 MPC SiNW-FET 的內層電極。

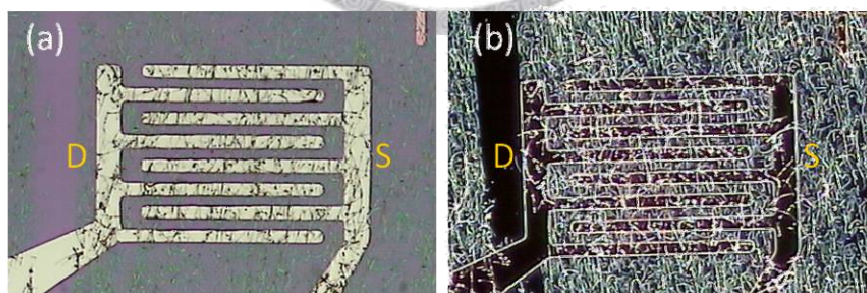


圖 3-25 以光學顯微鏡分別在 (a) 明場下 (b) 暗場下，觀察 MPC SiNW-FET 中任一組源-汲極電極。

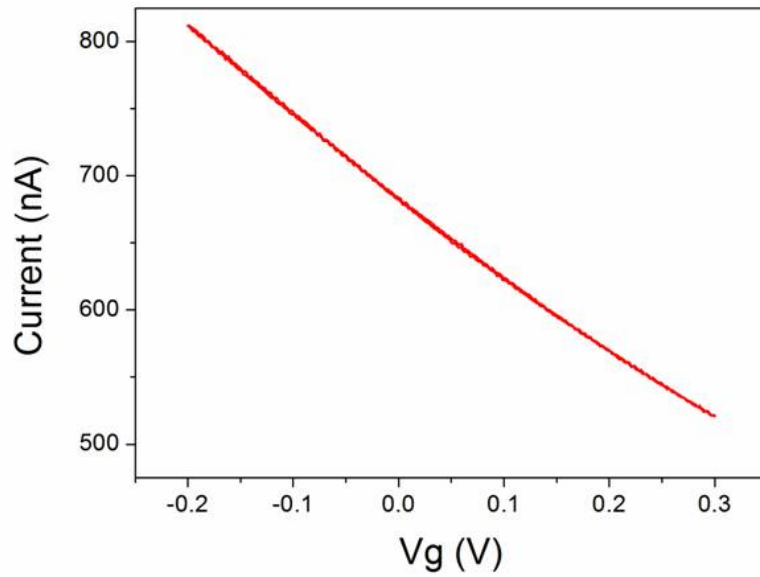


圖 3-26 I_{sd} - V_g 曲線。 I_{sd} - V_g 的量測是在 $0.01 \times$ PBS 緩衝溶液環境下，固定 V_{sd} 為 10 mV，從 V_g 相對 Ag/AgCl 參考電極為 0.3 V 掃描至 -0.2V，掃描速率為 1 mV/s。

圖 3-27 是在固定 V_{sd} 下，以每次改變 V_g 值 -0.01 V 來量測 V_g 變化對電流的影響，結果顯示，MPC SiNW-FET 對於 V_g 的變化可反應出明顯的電流變化，其雜訊比可高達 20 以上，相對地，以 single SiNW-FET 量測 V_g 變化對電流的影響，其所得雜訊比較小。

MPC SiNW-FET 相較於 single SiNW-FET，擁有了更大的跨導值且其訊雜比佳 (表 3-1)，提升了 SiNW-FET 的偵測靈敏度並可降低偵測極限，以避免在脂雙層膜形成於 SiNW-FET 的表面後，因遮蔽了矽奈米線的表面，造成電訊號強度的下降，導致後續生物分子偵測實驗的偵測極限受限。

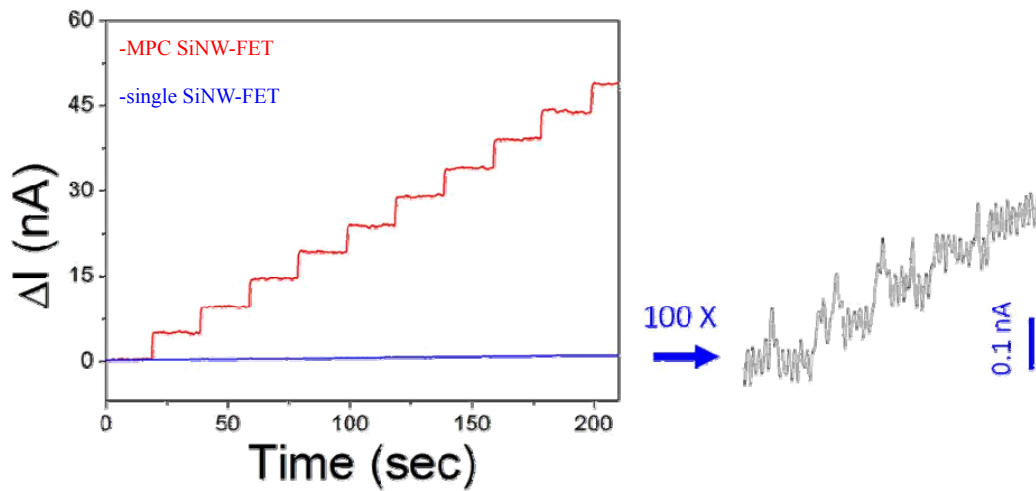


圖 3-27 分別以 MPC SiNW-FET (紅色) 和 single SiNW-FET (藍色) 在固定 V_{sd} 下，以參考電極給予不同的 V_g ，量測 V_g 變化對電流的影響。($V_g = 0\text{ V} \sim -0.1\text{ V}$ ， $\Delta V_g = -0.01\text{ V}$)

| | MPC SiNW-FET | single SiNW-FET |
|---|--------------|-----------------|
| Transconductance (nS) | 40K ~ 150K | 1000 ~ 3000 |
| S/N (per $\Delta V_g = 0.01\text{ V}$) | > 20 | ~ 3 |

表 3-1 MPC SiNW-FET 與 single SiNW-FET 之跨導與雜訊比得比較。

3.2.4 電訊號偵測結果

依據前小節螢光與原子力顯微影像的實驗結果，本節實驗採用濃度 0.01 mg/mL 的 DOPC 微胞溶液，並以微胞融合的方式，將脂雙層膜製作於晶片的表面上。

由於矽奈米線表面受到物質的覆蓋，使外在電場對奈米線造成的影響受到遮蔽，因此對應的電流變化相對較小，導致 $I-V_g$ 曲線的變化微幅下降 (圖 3-28)。

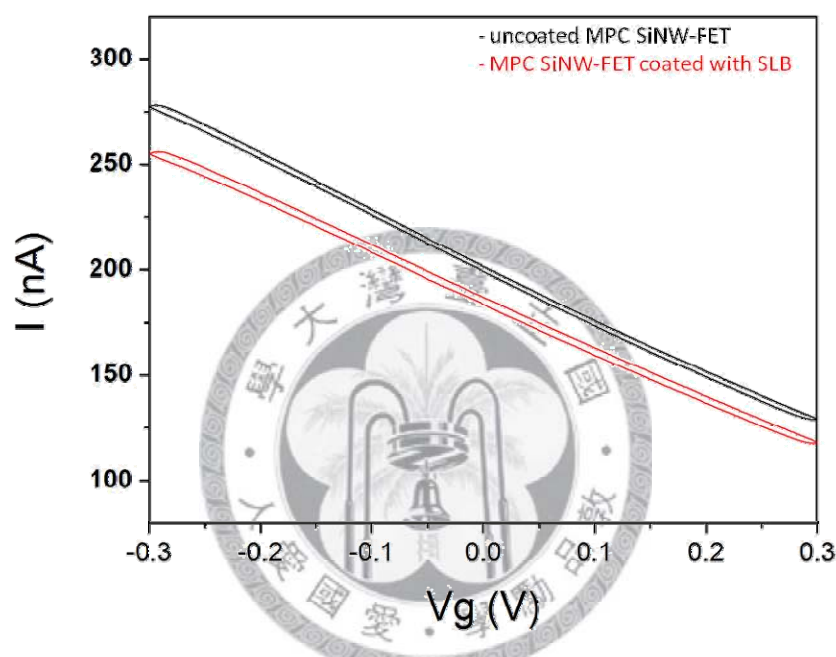


圖 3-28 比較未經修飾及表面鋪成有單層脂雙層膜之 MPC SiNW-FET 的 $I-V_g$ 曲線變化。MPC SiNW-FET 的表面在經過單層脂雙層膜的鋪成後 (紅色)，相較未經修飾之 MPC SiNW-FET (黑色) 其 $I-V_g$ 曲線的變化略小。

此外，我們亦藉由不同酸鹼度的緩衝溶液 ($0.1 \times$ PBS) 量測 pH 變化 (pH 5.5~8.5, Δ pH = 1) 對未經修飾與表面鋪有脂雙層膜之 SiNW-FET 的影響 (圖 3-29)。在第 3.1.3 節中，我們曾說明未經修飾之 SiNW-FET 因表面具有矽醇基，使得電導對於溶液 pH 值的變化呈現「非線性」的關係，而在 SiNW-FET 的表面鋪上單層脂雙層膜之後，溶液 pH 值的變化對電導變化量的影響程度略微減小。這是由於脂雙層膜覆蓋於矽奈米線的表面，產生了遮蔽效應，使得暴露於溶液中的矽醇基減少，遮蔽了 pH 變化對 SiNW-FET 表面矽醇基的影響，使得因高 pH

溶液環境，誘發-SiOH 去質子化形成-SiO⁻的情形降低，電導隨 pH 改變之現象趨於減緩。

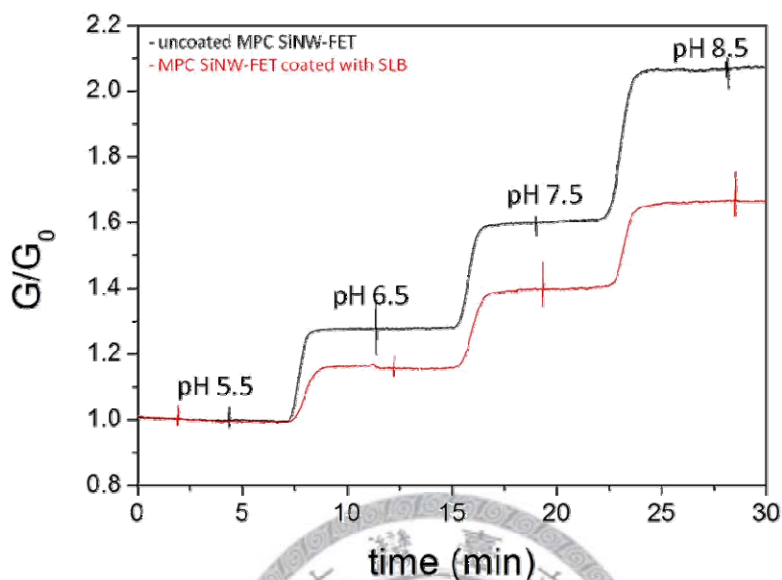


圖 3-29 比較未經修飾及表面鋪成有單層脂雙層膜之 MPC SiNW-FET 當溶液 pH 變化時，電訊號所受之影響。MPC SiNW-FET 的表面在經過單層脂雙層膜的鋪成後 (紅色)，相較未經修飾之 MPC SiNW-FET (黑色) 其電訊號的變化略小。

依據 $I-V_g$ 曲線變化與不同 pH 值溶液對電導變化的實驗結果，間接證明我們已可成功地將脂雙層膜鋪成在 SiNW-FET 的表面，並可順利進行長時間的流體實驗，故我們可藉由此仿細胞膜的生物感測元件進行相關領域的研究，作為全新的實驗平台。

第四章 總結

傳統上，SiNW-FET 是利用「液相」的方式，將化學鍵接分子修飾於晶片的表面。由於此法修飾之面積不僅是在矽奈米線的感測表面上，亦包括了不具偵測效益之周圍基材表面，使得絕大部分偵測樣品被不具偵測效果之受體所抓取，造成樣品的浪費，並降低偵測之靈敏度。

在第一部分的實驗中，我們改以「氣相」修飾的方法，先將矽奈米線預修飾 APTMS 分子，再以光刻法進行 SSM SiNW-FET 元件的製備。首先，在 KPFM 矽奈米線表面電位變化和 ESCA 氮元素分析的實驗結果中，說明我們成功地利用氣相的方式修飾 APTMS 分子於矽奈米線上，並依據表面修飾有胺基之 SiNW-FET，對不同 pH 溶液其電導呈線性關係之實驗，確保了已修飾 APTMS 之矽奈米線，在經過一連串製程的嚴峻步驟後依然存在並不受破壞，且 SSM SiNW-FET 保有歐姆接觸和高跨導等優異的電學性質。此外，利用 biotin/avidin 生物系統對 SSM SiNW-FET 和 AAM SiNW-FET 作比較的實驗中，我們得到以 SSM SiNW-FET 作為偵測系統，僅需樣品耗量 1 μL 即可達相對電阻變化量 90% 以上，且約 15 s 即可達反應平衡，故 SSM SiNW-FET 可減少樣品使用量並縮短反應所需的時間，改善 SiNW-FET 的偵測靈敏度，作為一個具高靈敏度的生物感測平台。

一般 SiNW-FET 是利用化學鍵接分子連接待測物之特定受體作為偵測生物分子相互作用之平台，但生物分子可能因所處環境的不同，造成構形上的改變。在第二部分的實驗中，我們於 SiNW-FET 的表面鋪上生物脂雙層膜以取代一般的化學修飾法，提供生物分子仿生物細胞膜的環境，以維持其在體內之構形。依據螢光的實驗結果，我們成功地利用微胞融合的方式將脂質膜鋪成在基材表面上，且脂質膜可通過流速和長時間實驗的考驗。又根據 AFM 的量測結果，確定了鋪成厚度 5 nm 單層脂雙層膜的實驗參數，為以濃度 0.01 mg/mL DOPC 脂質分子製備之。此外，鋪成脂雙層膜於 SiNW-FET 的表面上，因遮蔽矽奈米線的表面，造

成訊號強度的下降，為此所設計之 MPC SiNW-FET 其具有高偵測靈敏度且降低偵測極限的優點。結合脂雙層膜與 MPC SiNW-FET 的優點，我們可在仿生物環境中，將 CcO (膜蛋白) 嵌入於脂雙層膜中，量測 CcO 與 cyt *c* 間之交互作用，除此之外，亦可進行其他膜蛋白相關主題的研究。



參考文獻

1. Farre, M., and Barcelo, D. (2003) Toxicity testing of wastewater and sewage sludge by biosensors, bioassays and chemical analysis, *Trac-Trend Anal Chem* 22, 299-310.
2. Wang, Y., Xu, H., Zhang, J. M., and Li, G. (2008) Electrochemical sensors for clinic analysis, *Sensors-Basel* 8, 2043-2081.
3. Viswanathan, S., Radecka, H., and Radecki, J. (2009) Electrochemical biosensors for food analysis, *Monatsh Chem* 140, 891-899.
4. Rodriguez-Mozaz, S., de Alda, M. J. L., and Barcelo, D. (2006) Biosensors as useful tools for environmental analysis and monitoring, *Anal Bioanal Chem* 386, 1025-1041.
5. Duan, X. F., Huang, Y., Cui, Y., Wang, J. F., and Lieber, C. M. (2001) Indium phosphide nanowires as building blocks for nanoscale electronic and optoelectronic devices, *Nature* 409, 66-69.
6. Hu, J. T., Odom, T. W., and Lieber, C. M. (1999) Chemistry and physics in one dimension: Synthesis and properties of nanowires and nanotubes, *Accounts Chem Res* 32, 435-445.
7. Liang, X. G., and Chou, S. Y. (2008) Nanogap detector inside nanofluidic channel for fast real-time label-free DNA analysis, *Nano Lett* 8, 1472-1476.
8. Morales, A. M., and Lieber, C. M. (1998) A laser ablation method for the synthesis of crystalline semiconductor nanowires, *Science* 279, 208-211.
9. Raymo, F. M., and Yildiz, I. (2007) Luminescent chemosensors based on semiconductor quantum dots, *Phys Chem Chem Phys* 9, 2036-2043.
10. Rosi, N. L., and Mirkin, C. A. (2005) Nanostructures in biodiagnostics, *Chem Rev* 105, 1547-1562.
11. Tansil, N. C., and Gao, Z. Q. (2006) Nanoparticles in biomolecular detection, *Nano Today* 1, 28-37.
12. Chen, K. I., Li, B. R., and Chen, Y. T. (2011) Silicon nanowire field-effect transistor-based biosensors for biomedical diagnosis and cellular recording investigation, *Nano Today* 6, 131-154.
13. Cui, Y., Wei, Q. Q., Park, H. K., and Lieber, C. M. (2001) Nanowire nanosensors for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species, *Science* 293, 1289-1292.
14. Park, I. Y., Li, Z. Y., Li, X. M., Pisano, A. P., and Williams, R. S. (2007) Towards the silicon nanowire-based sensor for intracellular biochemical detection, *Biosens Bioelectron* 22, 2065-2070.

15. Chen, R. J., Choi, H. C., Bangsaruntip, S., Yenilmez, E., Tang, X. W., Wang, Q., Chang, Y. L., and Dai, H. J. (2004) An investigation of the mechanisms of electronic sensing of protein adsorption on carbon nanotube devices, *J Am Chem Soc* 126, 1563-1568.
16. Martel, R., Schmidt, T., Shea, H. R., Hertel, T., and Avouris, P. (1998) Single- and multi-wall carbon nanotube field-effect transistors, *Appl Phys Lett* 73, 2447-2449.
17. Tans, S. J., Verschueren, A. R. M., and Dekker, C. (1998) Room-temperature transistor based on a single carbon nanotube, *Nature* 393, 49-52.
18. Cui, Y., Zhong, Z. H., Wang, D. L., Wang, W. U., and Lieber, C. M. (2003) High performance silicon nanowire field effect transistors, *Nano Lett* 3, 149-152.
19. Patolsky, F., Timko, B. P., Zheng, G. F., and Lieber, C. M. (2007) Nanowire-based nanoelectronic devices in the life sciences, *Mrs Bull* 32, 142-149.
20. Li, C., Curreli, M., Lin, H., Lei, B., Ishikawa, F. N., Datar, R., Cote, R. J., Thompson, M. E., and Zhou, C. W. (2005) Complementary detection of prostate-specific antigen using In_2O_3 nanowires and carbon nanotubes, *J Am Chem Soc* 127, 12484-12485.
21. Choi, A., Kim, K., Jung, H. I., and Lee, S. Y. (2010) ZnO nanowire biosensors for detection of biomolecular interactions in enhancement mode, *Sensor Actuat B-Chem* 148, 577-582.
22. Elfstrom, N., Juhasz, R., Sychugov, I., Engfeldt, T., Karlstrom, A. E., and Linnros, J. (2007) Surface charge sensitivity of silicon nanowires: Size dependence, *Nano Lett* 7, 2608-2612.
23. Grieshaber, D., MacKenzie, R., Voros, J., and Reimhult, E. (2008) Electrochemical biosensors-Sensor principles and architectures, *Sensors-Basel* 8, 1400-1458.
24. Mohammad, S. N. (2006) Self-catalysis: A contamination-free, substrate-free growth mechanism for single-crystal nanowire and nanotube growth by chemical vapor deposition, *J Chem Phys* 125.
25. Stern, E., Wagner, R., Sigworth, F. J., Breaker, R., Fahmy, T. M., and Reed, M. A. (2007) Importance of the debye screening length on nanowire field effect transistor sensors, *Nano Lett* 7, 3405-3409.
26. Renault, J. P., Bernard, A., Juncker, D., Michel, B., Bosshard, H. R., and Delamarche, E. (2002) Fabricating microarrays of functional proteins using affinity contact printing, *Angew Chem Int Edit* 41, 2320-2323.
27. Naujoks, N., and Stemmer, A. (2003) Localized functionalization of surfaces

- with molecules from solution using electrostatic attraction, *Microelectron Eng* 67-8, 736-741.
28. Piner, R. D., Zhu, J., Xu, F., Hong, S. H., and Mirkin, C. A. (1999) "Dip-pen" nanolithography, *Science* 283, 661-663.
 29. Park, I., Li, Z. Y., Pisano, A. P., and Williams, R. S. (2007) Selective surface functionalization of silicon nanowires via nanoscale Joule heating, *Nano Lett* 7, 3106-3111.
 30. Masood, M. N., Chen, S., Carlen, E. T., and van den Berg, A. (2010) All-(111) surface silicon nanowires: Selective functionalization for biosensing applications, *Acs Appl Mater Inter* 2, 3422-3428.
 31. Stern, E., Klemic, J. F., Routenberg, D. A., Wyrembak, P. N., Turner-Evans, D. B., Hamilton, A. D., LaVan, D. A., Fahmy, T. M., and Reed, M. A. (2007) Label-free immunodetection with CMOS-compatible semiconducting nanowires, *Nature* 445, 519-522.
 32. Zhang, G. J., Chua, J. H., Chee, R. E., Agarwal, A., Wong, S. M., Buddharaju, K. D., and Balasubramanian, N. (2008) Highly sensitive measurements of PNA-DNA hybridization using oxide-etched silicon nanowire biosensors, *Biosens Bioelectron* 23, 1701-1707.
 33. Singer, S. J., and Nicolson, G. L. (1972) The fluid mosaic model of the structure of cell membranes, *Science* 175, 720-731.
 34. Miller, K. R. (2002) Prentice Hall biology, Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.
 35. Tresset, G. (2009) The multiple faces of self-assembled lipidic systems, *PMC Biophys* 2, 3.
 36. Karp, G. (2010) *Cell and molecular biology : concepts and experiments*, 6th ed., John Wiley, Hoboken, NJ.
 37. Van Gelder, P., Dumas, F., and Winterhalter, M. (2000) Understanding the function of bacterial outer membrane channels by reconstitution into black lipid membranes, *Biophys Chem* 85, 153-167.
 38. Castellana, E. T., and Cremer, P. S. (2006) Solid supported lipid bilayers: From biophysical studies to sensor design, *Surf Sci Rep* 61, 429-444.
 39. Bezrukov, S. M., and Vodyanoy, I. (1993) Probing alamethicin channels with water-soluble polymers - effect on conductance of channel states, *Biophys J* 64, 16-25.
 40. Sonnleitner, A., Schutz, G. J., and Schmidt, T. (1999) Free Brownian motion of individual lipid molecules in biomembranes, *Biophys J* 77, 2638-2642.
 41. Ataka, K., Giess, F., Knoll, W., Naumann, R., Haber-Pohlmeier, S., Richter, B., and Heberle, J. (2004) Oriented attachment and membrane reconstitution of

- his-tagged cytochrome c oxidase to a gold electrode: In situ monitoring by surface-enhanced infrared absorption spectroscopy, *J Am Chem Soc* 126, 16199-16206.
42. Deniaud, A., Rossi, C., Berquand, A., Homand, J., Campagna, S., Knoll, W., Brenner, C., and Chopineau, J. (2007) Voltage-dependent anion channel transports calcium ions through biomimetic membranes, *Langmuir* 23, 3898-3905.
 43. Diaz, A. J., Albertorio, F., Daniel, S., and Cremer, P. S. (2008) Double cushions preserve transmembrane protein mobility in supported bilayer systems, *Langmuir* 24, 6820-6826.
 44. Friedrich, M. G., Kirste, V. U., Zhu, J. P., Gennis, R. B., Knoll, W., and Naumann, R. L. C. (2008) Activity of membrane proteins immobilized on surfaces as a function of packing density, *J Phys Chem B* 112, 3193-3201.
 45. Giess, F., Friedrich, M. G., Heberle, J., Naumann, R. L., and Knoll, W. (2004) The protein-tethered lipid bilayer: A novel mimic of the biological membrane, *Biophys J* 87, 3213-3220.
 46. Goennenwein, S., Tanaka, M., Hu, B., Moroder, L., and Sackmann, E. (2003) Functional incorporation of integrins into solid supported membranes on ultrathin films of cellulose: Impact on adhesion, *Biophys J* 85, 646-655.
 47. Sharma, M. K., and Gilchrist, M. L. (2007) Templated assembly of biomembranes on silica microspheres using bacteriorhodopsin conjugates as structural anchors, *Langmuir* 23, 7101-7112.
 48. Sharma, M. K., Jattani, H., and Gilchrist, M. L. (2004) Bacteriorhodopsin conjugates as anchors for supported membranes, *Bioconjugate Chem* 15, 942-947.
 49. Smith, E. A., Coym, J. W., Cowell, S. M., Tokimoto, T., Hraby, V. J., Yamamura, H. I., and Wirth, M. J. (2005) Lipid bilayers on polyacrylamide brushes for inclusion of membrane proteins, *Langmuir* 21, 9644-9650.
 50. Wagner, M. L., and Tamm, L. K. (2000) Tethered polymer-supported planar lipid bilayers for reconstitution of integral membrane proteins: Silane-polyethyleneglycol-lipid as a cushion and covalent linker, *Biophys J* 79, 1400-1414.
 51. Wagner, M. L., and Tamm, L. K. (2001) Reconstituted syntaxin1A/SNAP25 interacts with negatively charged lipids as measured by lateral diffusion in planar supported bilayers, *Biophys J* 81, 266-275.
 52. Domanov, Y. A., and Kinnunen, P. K. J. (2008) Islet amyloid polypeptide forms rigid lipid-protein amyloid fibrils on supported phospholipid bilayers, *J Mol Biol* 376, 42-54.

53. Horton, M. R., Reich, C., Gast, A. P., Radler, J. O., and Nickel, B. (2007) Structure and dynamics of crystalline protein layers bound to supported lipid bilayers, *Langmuir* 23, 6263-6269.
54. Jung, H. S., Yang, T., Lasagna, M. D., Shi, J. J., Reinhart, G. D., and Cremer, P. S. (2008) Impact of hapten presentation on antibody binding at lipid membrane interfaces, *Biophys J* 94, 3094-3103.
55. Nye, J. A., and Groves, J. T. (2008) Kinetic control of histidine-tagged protein surface density on supported lipid bilayers, *Langmuir* 24, 4145-4149.
56. Yang, T. L., Jung, S. Y., Mao, H. B., and Cremer, P. S. (2001) Fabrication of phospholipid bilayer-coated microchannels for on-chip immunoassays, *Anal Chem* 73, 165-169.
57. Egawa, H., and Furusawa, K. (1999) Liposome adhesion on mica surface studied by atomic force microscopy, *Langmuir* 15, 1660-1666.
58. Cremer, P. S., and Boxer, S. G. (1999) Formation and spreading of lipid bilayers on planar glass supports, *J Phys Chem B* 103, 2554-2559.
59. Tamm, L. K., and McConnell, H. M. (1985) Supported phospholipid-bilayers, *Biophys J* 47, 105-113.
60. Kataoka-Hamai, C., and Miyahara, Y. (2010) Field-effect detection using phospholipid membranes, *Sci Technol Adv Mat* 11.
61. Mingeot-Leclercq, M. P., Deleu, M., Brasseur, R., and Dufrene, Y. F. (2008) Atomic force microscopy of supported lipid bilayers, *Nat Protoc* 3, 1654-1659.
62. Jass, J., Tjarnhage, T., and Puu, G. (2000) From liposomes to supported, planar bilayer structures on hydrophilic and hydrophobic surfaces: An atomic force microscopy study, *Biophys J* 79, 3153-3163.
63. Misra, N., Martinez, J. A., Huang, S. C. J., Wang, Y. M., Stroeve, P., Grigoropoulos, C. P., and Noy, A. (2009) Bioelectronic silicon nanowire devices using functional membrane proteins, *P Natl Acad Sci USA* 106, 13780-13784.
64. Rajan, N. K., Routenberg, D. A., and Reed, M. A. (2011) Optimal signal-to-noise ratio for silicon nanowire biochemical sensors, *Appl Phys Lett* 98.
65. Zhang, D. H., Liu, Z. Q., Li, C., Tang, T., Liu, X. L., Han, S., Lei, B., and Zhou, C. W. (2004) Detection of NO₂ down to ppb levels using individual and multiple In₂O₃ nanowire devices, *Nano Lett* 4, 1919-1924.
66. Mathews, C. K., Van Holde, K. E., and Ahern, K. G. (2000) *Biochemistry*, 3rd ed., Benjamin Cummings, San Francisco, Calif.
67. Garber, E. A. E., and Margoliash, E. (1990) Interaction of cytochrome c with

- cytochrome c oxidase - an understanding of the high- affinity to low-affinity transition, *Biochim Biophys Acta* 1015, 279-287.
68. Lynch, S. R., Sherman, D., and Copeland, R. A. (1992) Cytochrome c binding affects the conformation of cytochrome a in cytochrome c oxidase, *J Biol Chem* 267, 298-302.
 69. Murgida, D. H., and Hildebrandt, P. (2008) Disentangling interfacial redox processes of proteins by SERR spectroscopy, *Chem Soc Rev* 37, 937-945.
 70. Zhou, X. J., Moran-Mirabal, J. M., Craighead, H. G., and McEuen, P. L. (2007) Supported lipid bilayer/carbon nanotube hybrids, *Nat Nanotechnol* 2, 185-190.
 71. Martinez, J. A., Misra, N., Wang, Y. M., Stroeve, P., Grigoropoulos, C. P., and Noy, A. (2009) Highly efficient biocompatible single silicon nanowire electrodes with functional biological pore channels, *Nano Lett* 9, 1121-1126.
 72. Lin, T. W., Hsieh, P. J., Lin, C. L., Fang, Y. Y., Yang, J. X., Tsai, C. C., Chiang, P. L., Pan, C. Y., and Chen, Y. T. (2010) Label-free detection of protein-protein interactions using a calmodulin-modified nanowire transistor, *P Natl Acad Sci USA* 107, 1047-1052.
 73. Lu, W., and Lieber, C. M. (2006) Semiconductor nanowires, *J Phys D Appl Phys* 39, R387-R406.
 74. Patolsky, F., Zheng, G. F., and Lieber, C. M. (2006) Fabrication of silicon nanowire devices for ultrasensitive, label-free, real-time detection of biological and chemical species, *Nat Protoc* 1, 1711-1724.
 75. Fan, Z. Y., Ho, J. C., Jacobson, Z. A., Yerushalmi, R., Alley, R. L., Razavi, H., and Javey, A. (2008) Wafer-scale assembly of highly ordered semiconductor nanowire arrays by contact printing, *Nano Lett* 8, 20-25.
 76. Tsai, C. C., Chiang, P. L., Sun, C. J., Lin, T. W., Tsai, M. H., Chang, Y. C., and Chen, Y. T. (2011) Surface potential variations on a silicon nanowire transistor in biomolecular modification and detection, *Nanotechnology* 22.
 77. Gangopadhyay, R., and De, A. (2000) Conducting polymer nanocomposites: A brief overview (vol 12, pg 608, 2000), *Chem Mater* 12, 2064-2064.
 78. Goller, M. I., Barthet, C., McCarthy, G. P., Corradi, R., Newby, B. P., Wilson, S. A., Armes, S. P., and Luk, S. Y. (1998) Synthesis and characterization of surface-aminated polypyrrole-silica nanocomposites, *Colloid Polym Sci* 276, 1010-1018.
 79. Vezenov, D. V., Noy, A., Rozsnyai, L. F., and Lieber, C. M. (1997) Force titrations and ionization state sensitive imaging of functional groups in aqueous solutions by chemical force microscopy, *J Am Chem Soc* 119, 2006-2015.
 80. Leung, K., Nielsen, I. M. B., and Criscenti, L. J. (2009) Elucidating the

- bimodal acid-base behavior of the water-silica interface from first principles, *J Am Chem Soc* 131, 18358-18365.
81. Ong, S. W., Zhao, X. L., and Eissenthal, K. B. (1992) Polarization of water-molecules at a charged interface - 2nd harmonic studies of the silica water interface, *Chem Phys Lett* 191, 327-335.
 82. Ishikawa, F. N., Curreli, M., Chang, H. K., Chen, P. C., Zhang, R., Cote, R. J., Thompson, M. E., and Zhou, C. W. (2009) A calibration method for nanowire biosensors to suppress device-to-device variation, *Acs Nano* 3, 3969-3976.
 83. Ma, Z. Y., Janmey, P. A., Sharp, K. A., and Finkel, T. H. (2011) Improved method of preparation of supported planar lipid bilayers as artificial membranes for antigen presentation, *Microsc Res Techniq* 74, 1174-1185.

