

# 微晶片電泳高分子基材之電滲流性質探討

學生：吳瑜婷

指導教授：謝有容 博士

國立交通大學應用化學系(研究所)碩士班

## 摘要

近年來高分子微晶片電泳因其成本低廉製作簡單，於各類應用上發展出相當多的基材。本研究則以最常見之 PMMA(壓克力)及 PDMS(聚二甲基矽氧烷)為對象，分別採用熱壓法與矽模板輔助之灌注成型法製作所需的微流道。實驗中探討緩衝溶液酸鹼值、修飾劑、樣品注射時間或體積、流道線寬、外加電場等因子，對晶片表面特性及分析情形之影響。其中，為了改善高分子流道表面的疏水性質及調控適當的電滲流，以動態塗佈(添加界面活性劑)及電漿處理對管壁進行修飾。

結果呈現當緩衝溶液內含有陰離子型界面活性劑(SDS)時，不僅具有穩定電滲流的作用，也增加螢光試劑的放射強度。結合雷射誘發偵測法與本實驗室自行設計製作之晶片固定座夾具，可成功達到快速分離螢光黃異硫氰酸酯(FITC)及螢光素(Fluorescein)這兩種測試分析物。最後應用於分析經 FITC 螢光試劑衍生後的胺基酸產物，以添加含有 2 mM SDS 的 10 mM pH 8.2 Borate 緩衝溶液，在施加電場強度為 200 V/cm 下，於 200 秒內能有效分離精胺酸(Arginine, Arg)、甘胺酸(Glycine, Gly)、天冬胺酸(Aspartic acid, Arg)三種分析物。

# **Study of Electroosmotic Flow on Polymer-Based**

## **Microchip Electrophoresis**

**Student : Yu-ting Wu**

**Advisor : Dr. You-Zung Hsieh**

**Department of Applied Chemistry**

**National Chiao Tung University**

### **ABSTRACT**

Recently, polymer-based microchip electrophoresis has been developed with low-cost, simplified fabrication procedure and a wide range of available materials for specific applications. Two popular materials for microchips, polymethyl methacrylate (acrylic) and polydimethylsiloxane (PDMS) are used in this study. Plastic microchannels were fabricated by imprinting or casting with silicon template. For characterizing the surface properties and analysis conditions, the effects of pH value of buffer, modifier, injection time or volume, the width of channels, and applied field were demonstrated. In order to improve the hydrophobicity of surface and control the magnitude of the electroosmotic flow (EOF), we modified the wall by dynamic coating (addition of surfactant) and treated with oxygen plasma.

The experimental data showed that when negatively charged surfactants (SDS) in the background buffers, they could stabilize run-to-run EOF and enhance the intensity of fluorescent dyes. Combining with laser-induced fluorescence detection and laboratory-built chip holders, high-speed separation of Fluorescein isothiocyanate (FITC) and Fluorescein were successfully achieved. Finally, the approach was

applied to the analysis of FITC-labeled amino acids. Under optimized conditions, efficient separation of Arg, Gly, Asp was obtained within 200 s at 200 V/cm.



## 謝 誌

轉眼間，兩年多的研究所生活隨著論文的完成即將告一段落，在交大校園內經歷的一切，無論苦樂傷悲都會印在我的腦海裡，曾經感動過的人事物，不論深淺都將留在我心中，也期許自己能鼓起勇氣邁向下一個人生階段。

首先，感謝恩師 謝有容 教授，引領瑜婷進入學術的殿堂，於研究中給予最大的自由度，仔細聆聽並尊重學生的想法，讓我們得以盡情發揮所學，亦在我遭受挫折難過喪志時，一直鼓勵安慰著我，不斷地幫我建立自信心，非常難以言語表達出您對瑜婷所有愛護與提攜的感激之心。特別感謝 余艇 教授與 陳俊顯 教授百忙抽空參加學生的碩士學位口試，匆促之中仍然細心地提供研究相關的指導及建議，使得論文內容更加完善，同時也讓我知道學術的浩瀚無涯，學習之路確實是永無止境的，只有不斷的努力才能品嚐之後豐碩果實的甜美。

謝謝實驗室所有的夥伴：協助設計及製作實驗夾具的 元謙 學長、教會我許多事的 秀麗 學姊、提供我各類訊息的 冠文 學長、一起努力奮鬥又溫柔好欺負的 滄浩、小愷 跟 亦文、可愛逗趣的學妹 蘭英 和 葉蓁，還有最照顧我又喜歡跟我鬥嘴的 修平 學長，不僅在研究上鼎力相助，也指導我生活中相當多的處世之道，讓我在各方面都能更加精進圓融。實驗室裡你們相伴的身影與歡笑聲是我最大的活力來源，使原本害怕不已的苦悶研究生活過得十分多采多姿。

最後當然要謝謝我所愛的家人們，爸爸、媽媽、妹妹和奶奶給我最大的支持與信任，讓我可以心無旁騖地專注於課業研究上，回到家後無盡的關心和照顧總能很快地撫慰我疲憊的心靈，得到充分的休息與再出發的力量。另外還有陪伴在身邊近五年時光的男友 立偉，一同分享我全部的心情，包容體貼著我的任性，一路上不斷幫我加油打氣，總在我最低潮脆弱的時候，提供愛哭的我一個相當溫暖又寬闊的胸膛，因為有你的鼓勵，我終於堅持地走到了這裡。

感謝國立交通大學應用化學系 陳金鑫 教授，提供實驗所需的氧氣電漿設備，以及國家科學委員會的計畫 NSC 94-2113-M-009-003、NSC 93-2113-M-009-022 經費資助。還有其他所有幫助過於瑜婷的人們，與你們一起分享這份畢業的喜悅與榮耀，謹獻上我最誠摯的感謝之意。

## 目錄

中文摘要	.....	I
英文摘要	.....	II
謝誌	.....	IV
目錄	.....	V
圖目錄	.....	VII
表目錄	.....	VIII
一、	緒論	1
1.1	流體元件簡介.....	1
1.2	微通道中流體的驅動力來源.....	2
1.3	微流體元件材料與製作方法.....	4
1.3.1	玻璃晶片.....	4
1.3.2	高分子晶片.....	5
1.3.2.1	熱壓印法.....	6
1.3.2.2	雷射雕刻法.....	7
1.3.2.3	射出成型.....	7
1.3.2.4	LIGA 製程.....	7
1.4	微晶片電泳簡介.....	8
1.5	微晶片電泳之偵測技術.....	9
1.5.1	光學偵測法.....	9
1.5.1.1	雷射誘發螢光偵測法.....	9
1.5.1.2	化學放光偵測法.....	10
1.5.1.3	熱透鏡偵測法.....	10
1.5.2	電化學偵測法.....	11
1.5.3	質譜儀偵測法.....	12
1.5.4	其他偵測法.....	12
1.6	微晶片電泳之應用.....	12
二、	高分子基材於微晶片電泳之研究	15
2.1	高分子晶片製程概論.....	15
2.2	基材相關特性.....	16
2.3	晶片之表面修飾.....	17
2.3.1	電漿處理.....	18
2.3.2	動態塗佈.....	19
2.3.3	共價修飾.....	20
2.4	實驗設計及目的.....	20

2.4.1	電泳微晶片組成.....	21
2.4.2	微晶片夾具之設計製作.....	21
2.4.1	電滲流量測方式.....	22
三、	實驗	24
3.1	儀器裝置.....	24
3.1.1	微晶片電泳儀.....	24
3.1.2	其他儀器.....	25
3.2	化學藥品.....	26
3.2.1	緩衝溶液系統及樣品溶液配製.....	27
3.3	微晶片製作與前處理.....	27
3.3.1	PMMA 微晶片.....	27
3.3.2	PDMS 微晶片.....	28
3.3.2.1	矽晶圓模板規格及設計.....	28
3.3.2.2	製作 PDMS 晶片.....	28
3.4	電滲流量測.....	29
3.4.1	緩衝溶液 pH 值的影響.....	30
3.4.2	緩衝溶液內 SDS 濃度的影響.....	30
3.5	螢光衍生化胺基酸之微晶片電泳偵測.....	30
四、	結果與討論	32
4.1	使用夾具之便利性.....	32
4.2	對電場的承受度.....	32
4.3	背景緩衝溶液 pH 值對電滲流之影響.....	33
4.4	背景緩衝溶液添加 SDS 濃度對電滲流的影響.....	34
4.5	背景緩衝溶液添加 SDS 對微晶片電泳分析之影響.....	35
4.6	樣品注射時間及注射長度對螢光訊號的影響.....	35
4.7	界面活性劑濃度對微晶片電泳分離之影響.....	36
4.8	外加分離電場對微晶片電泳分離之影響.....	37
4.9	微晶片電泳分離之再現性.....	37
4.10	不同微流道寬度於電泳分析之探討.....	38
4.11	兩種夾具對螢光訊號之影響.....	38
4.12	三種 FITC 衍生化胺基酸之微晶片電泳分析.....	39
4.13	結論.....	40
五、	參考資料	41



## 圖目錄

圖 1.1	製造玻璃微晶片之微顯影製程	48
圖 1.2	兩種常見的熱印壓模法製程	49
圖 2.1	高分子材料之單體化學結構	50
圖 2.2	兩種微晶片電泳/LIF 實驗用夾具	51
圖 2.3	夾具 I 型組裝簡圖	52
圖 2.4	夾具 II 型組裝簡圖	53
圖 2.5	利用電流監測法測定電滲流	54
圖 3.1	組裝微晶片電泳儀器架設示意圖	55
圖 3.2	實驗之分析物、SDS 與 TTTS 化學結構式	56
圖 3.3	PMMA 電泳晶片微流道製程示意圖	57
圖 3.4	PMMA 微晶片尺寸、流道規格	58
圖 3.5	PDMS 微晶片尺寸、流道規格	59
圖 3.6	不同線寬矽凸模模板之微流道照片	60
圖 3.7	PDMS 晶片製作流程圖及微流道照片	61
圖 3.8	胺基酸結構式及其與 FITC 之衍生反應	62
圖 4.1	緩衝溶液 pH 值對電滲流移動率之影響	63
圖 4.2	緩衝溶液內添加之 SDS 濃度對電滲流移動率之影響	64
圖 4.3	緩衝溶液內 SDS 存在對 FITC 於 PMMA 微晶片電泳分析的影響	65
圖 4.4	緩衝溶液內 SDS 存在對 FITC 於 Hybrid 微晶片電泳分析的影響	66
圖 4.5	緩衝溶液內 SDS 存在對 FITC 於 PDMS(O <sub>2</sub> ) 微晶片電泳分析的影響	67
圖 4.6	注射時間對 FITC 於微晶片(PMMA)電泳螢光訊號之影響	68
圖 4.7	注射長度對 FITC 於 Hybrid 微晶片電泳螢光訊號之影響	69
圖 4.8	樣品注射長度對 FITC 於 PDMS 微晶片電泳螢光訊號之影響	70
圖 4.9	緩衝溶液內所添加 SDS 濃度對微晶片(Hybrid)電泳分析之影響	71
圖 4.10	Hybrid 微晶片與 PMMA 微晶片的最佳化電泳圖	72
圖 4.11	緩衝溶液內所添加 SDS 濃度對微晶片(PDMS)電泳分析之影響	73
圖 4.12	不同外加分離電場對微晶片(PDMS)電泳分析之影響	74
圖 4.13	PDMS 微晶片 day-to-day 之穩定性	75
圖 4.14	比較三種微流道寬度對微晶片(PDMS)電泳之影響	76
圖 4.15	比較二種微流道組成對電泳分析之影響	77
圖 4.16	緩衝溶液內 SDS 存在對 PDMS(O <sub>2</sub> ) 微晶片電泳分析的影響	78
圖 4.17	兩種夾具對微晶片(PDMS(O <sub>2</sub> ))電泳螢光訊號之影響	79
圖 4.18	三種 FITC 衍生化胺基酸之電泳圖	80

## 表目錄

表 4.1	緩衝溶液內有無 SDS 存在對 FITC 電泳分析的遷移時間、訊號強度、波峰寬、半高寬、遷移時間相對標準偏差之影響.....	81
表 4.2	微晶片流道線寬於電泳分析之遷移時間、訊號強度、半高寬、理論板數、解析度的影響.....	83
表 4.3	Hybrid 微晶片於電泳分析之遷移時間、訊號強度、半高寬、理論板數、解析度.....	84
表 4.4	比較兩種樣品注射長度對胺基酸衍生物於微晶片電泳分析之遷移時間、訊號強度、半高寬、理論板數的影響.....	85

