

## 一、 緒論

### 1.1 微流體元件(microfluidic device)簡介

結合現代科技最常見的半導體電子工業製程與微機電等技術，得以將尺寸縮小至微米(micrometer,  $\mu\text{m}$ )等級，而微流體元件即為由此尺寸大小構築成的微流道(microchannel)系統，其中又以 Manz *et al.*[1, 2]於 1990 年所提出的微小化全分析系統(Micro-Total Analysis system, 簡稱 $\mu$ -TAS)概念，所發展的微晶片(microchip)形式應用較為廣泛，而最先實現此想法即是應用光學印刷(photolithography)和化學蝕刻(chemical etching)等技術的整合性微組裝(microfabrication)系統，可將相當微量(microliter,  $\mu\text{L}$  或 nanoliter, nL)的液體，注入以玻璃或矽晶圓(silicon wafer)為基材的晶片內微流道中，再藉由各種不同之驅動力調控流體的流動和方向，以此把傳統實驗室中各項工作，包括混合、稀釋、萃取、反應、分離、偵測等一系列實驗，統合在一片微小的晶片



中進行，又稱之為實驗室微縮晶片(Lab-on-a-chip)。

隨著近幾年生物科技的興起，此類的微米流體元件更被寄予極大的期望，因其提供了一個十分理想的感測實驗平台，範圍從樣品製備、化學生物反應至後續處理、檢測分析等領域，結合以反應研究為主的微型反應器(microreactor)[3, 4]與分離效率優異的微晶片電泳(microchip electrophoresis)[5, 6]，可以在數分鐘內，只消耗極少量的樣品試劑，就能同時進行數百件的分析實驗，除了大大地提升整體的效能外，也同時具有下列的優異特性：

- 〈1〉 減少溶劑的使用與樣品的消耗量，低能源消耗；
- 〈2〉 高靈敏度；

- 〈3〉 縮短反應及分析時間；
- 〈4〉 可進行現場及時檢測；
- 〈5〉 使用後即可拋棄，能避免重複污染的問題；
- 〈6〉 增加自動化的可行性，達到高通量樣品平行式分析；
- 〈7〉 操作簡單便利；
- 〈8〉 微流道設計可依各實驗或檢測需求加以變化更改；
- 〈9〉 降低成本[7]。

微晶片電泳則為另一項帶動微流體元件在生化分析上有突破性發展的重要角色，顧名思義是在微晶片上進行電泳分析，它的基本原理與分離機制皆源自於傳統的毛細管電泳(capillary electrophoresis)，許多理論基礎都可直接套用。製作概念是在各類基材中以各種不同微細精準的加工方法，製造出可供液體流動的微流道後，再把其與另一片作為蓋板的基材貼緊密合，進而形成完整封閉的微小通道，早期配合半導體產業的濕式蝕刻技術，加上表面化學性質較為人所熟悉的玻璃基材，微晶片電泳以此類玻璃[8-10]或石英[11, 12]當基材開始一連串的研究發展。另外，由於微機電加工製造一日千里的快速進步，在設計上除了單一流道外，可依照不同用途，使其進行陣列式的分析，不僅加快檢驗的速度也提升了樣品的處理量，結合電泳的高分離效率，預期微晶片電泳必能為儀器分析技術帶來革命性的進展，當然也值得我們投入更多的心血加以研究改善，把化學分析和生物檢驗推向下一個新紀元。

## 1.2 微通道中流體的驅動力來源[13]

在微流體元件中的流體驅動力，大致上可區分成兩種：壓力驅動(pressure driven)與電動注入(electrokinetic injection)。前者的液體流速

Q(flow rate)為：

$$Q (\text{m}^3/\text{s}) = \Delta P/R ;$$

$\Delta P(\text{Pa})$ ：通過微流道的壓力降差；

$R(\text{Pa} \cdot \text{s}/\text{m}^3)$ ：微流道的阻力。

其中壓力降差可由真空幫浦(vacuum pump)或蠕動幫浦(syringe pump)產生。微流道阻力則會受流體的黏度(viscosity)、通道長度、半徑大小或長寬尺寸影響。一般而言流道愈細長，要維持一定的液體流速所需供給的壓力降差也就愈大。壓力驅動的最大優點為流體種類不受限制，縱使是不具有電導度(electrically conductivity)的溶劑也能適用；然而缺點除了上述所提及需額外加壓力源外，由壓力驅動產生的拋物線流(parabolic flow)，會造成樣品區帶因分散效應(dispersion)以致於波峰變寬(peak broadening)的情形，進一步導致在分析中要求極高的解析度下降。

電動注入主要的依據是在微流道的進口和出口兩端施加高電壓，在此電場的作用下，會同時有兩種驅動力產生，其一為流道表面特性所形成的電滲流(electroosmosis)現象，另一則為帶電荷粒子受電場影響下，加速力(accelerating force)與摩擦力(frictional force)的交互平衡，造成自身的泳動。在相對細小的微流道中，因其具有較高的表面積對體積比(surface-to-volume ratio)，有助於散逸高電壓產生的焦耳熱(Joule heating)效應，此外，藉由著電滲流提供了管壁與中心流速相當均勻且一致的平板流(plug flow)，扮演在電泳分析上一直維持極高解析度能力的首要功臣，而調控溶劑的流動方向也單純只要切換或改變施加電壓的位置即可順利達成，所有的動力來源僅為一部電源供應器。大幅簡化儀器的設備成本和系統體積重量，有利於後續發展可攜帶型(portable)分析系統或拋棄式(disposable)分析元件。

### 1.3 微流體元件材料與製作方法

目前文獻中應用較廣的基材主要可分為玻璃材質和高分子材料 [14, 15] 等兩種，前者具有優異的透明度和安定性，還有表面性質近似於毛細管電泳中最常使用的熔融矽(fused-silica)，特性上相對為研究者所熟知，所以在初期的微晶片製作材料上一直是以玻璃為主力，但玻璃晶片的製造過程複雜且價格昂貴，間接限制了其應用性。而高分子基材取得容易、成本低廉、製程所需的時間與步驟較為簡短，還有塑膠工業已有許多成熟的量產技術可供借鏡，加強其研究和使用的價值，具有將微流體元件推展成「拋棄式(disposable)」晶片的潛力。

#### 1.3.1 玻璃晶片



玻璃材質上的微流道一般係利用微顯影和蝕刻技術製成，Fig.1-1 為其標準的製造程序[5]，基本上可分為下列幾個步驟：(1)在玻璃基材上塗佈犧牲層(sacrificial layer)；(2)塗佈光阻(photoresist coated)；(3)置於 UV 光源下進行曝光(photoresist exposed)；(4)顯影(development) 移除未曝到光之光阻及犧牲層；(5)蝕刻玻璃(glass etched)；(6)高溫高壓下加蓋貼合。依照上述的製程與多年的技術研發後，目前市面上已有少數的高品質玻璃晶片產品商業化問世，然而其仍面臨著下列幾個挑戰與問題有待克服[14]：

(1)價格高昂：當微晶片開始量產時，基材的價格就顯得相當重要。

在美國市場上，聚甲基丙烯酸甲酯（俗稱壓克力）(Poly(methyl methacrylate)，PMMA)每平方公分( $\text{cm}^2$ )的售價為 0.2-2 美分(cents)，而各類玻璃晶片每平方公分售價約為 5-20 美分，基材成本價格就

相差了十倍以上。加上微流道的貼合動作多數必需在無塵室 (cleaning room)的環境中進行，還有特殊設備來提供高溫高壓的製程，在在都耗費相當大的能源，也增加了元件的成本。

(2)繁複的製程且製程中大量地使用化學藥劑：一般標準的製程中需包括清洗(cleaning)、光阻塗佈、光微影、顯影、濕式蝕刻(wet etching)等多重步驟，雖然這些半導體技術已十分成熟並可自動化運作，但複雜的過程會導致生產時間過於冗長、產率下降、提高製造出錯的風險與價格。濕式蝕刻過程中所使用的氫氟酸(hydrofluoric acid, HF)或氫氧化鉀(KOH)等蝕刻液，在操作上要非常小心謹慎外，廢液的處置也是另一個惱人的問題。

(3)流道的設計受限：因化學蝕刻的等向性(isotropicity)，其所製作的流道大多較為窄淺，然而為因應日益複雜的生化樣品分析，高深寬比(high aspect ratio)的流道設計勢必成為未來發展的研究重點。



### 1.3.2 高分子晶片

除了上述所提及的優勢外，高分子基材也無玻璃晶片製程上的缺點，使其在微流體元件的應用發展上，有逐漸迎頭趕上的趨勢，現今文獻中常見的高分子材料有聚甲基丙烯酸甲酯[16, 17]、聚二甲基矽氧烷(Poly(dimethylsiloxane), PDMS)[18-20]、聚對苯二甲酸乙烯酯(Poly(ethylene terephthalate), PET)[21]、聚碳酸酯(Polycarbonate, PC)[21]以及聚苯乙烯(Polystyrene, PS)[21, 22]等。其中又以 PMMA 和 PDMS 最被廣泛採用，PMMA 是常用的塑膠材料，來源取得容易並適用各種塑膠加工方法；PDMS 為具有彈性(elastic)的軟質塑膠，可利用簡單的灌注成型(casting)製作各類產品原型或模具，兩者都十分適用於實驗室的研究工作者，而皆具有優良的光學性質也為另一項考

量的因素所在。以下將扼要介紹幾種高分子微晶片的製造加工方法：

### 1.3.2.1 熱壓印法(Imprinting and hot embossing)[23]

以具有熱塑性的高分子材料而言，最簡易的方式來製作微流道應屬此法。其又可分成線壓法與模板(template)的壓模法，壓製過程如 Fig.1-2 所示。

線壓法中，首先選擇壓製微流道所需不同直徑的金屬線，通常使用耐熱且硬度較高的鉻(chrome)或不銹鋼(stainless steel)等細線，將之平整安置於乾淨的高分子基材表面，上下方以兩片玻片再覆蓋鋁片後，以夾具夾住且施加壓力，於高分子材料的玻璃轉移溫度(glass transition temperature,  $T_g$ )附近，高溫加熱數分鐘，待其冷卻並移去金屬細線，基材上受熱軟化凹陷的部分即為微流道所在處，重複此步驟並改變金屬線位置，就可壓製出所要的流道樣式。接下來取另一片相同大小的平板高分子基材，在其相對位置打洞製作連接孔，作為溶液儲存槽，完全覆蓋以製造出流道的高分子晶片上，一樣以玻片、鋁片和夾具夾緊，加熱進行黏合，最後在晶片周圍塗佈二氯甲烷(dichloromethane,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )等黏著劑，確保微流道封合不會有流體滲漏。這樣的壓製法牽涉壓線的溫度、時間及壓力參數的相互配合，最大的優點則為操作便利，以簡單的設備即可完成所有製程，但一般而言，運用此技術所製造出的流道佈局也相對較為簡單，以十字交叉型或雙 T(double-T)型最為常見。

壓模法[16]顧名思義為表面以預鑄有凸出之微流道設計圖樣的矽晶片或其他金屬模具，與高分子基材以上述製程相同的三明治式夾具固定法，一併加熱加壓，藉此將圖案拓印至高分子晶片上。母片模板的設計使用半導體的微顯影和蝕刻技術，可加長且變化通道的長度

和液體儲槽的圖樣，不受限於晶片大小仍可嘗試製作各種較為複雜的微流道，提高其應用性，此製程只需一個步驟即可完成所需的微流體元件製程，晶片再現性也比線壓法佳，唯獨模板可能因剛性不足，在冷卻脫模過中損壞，導致增加模板的耗損率。

### 1.3.2.2 雷射雕刻法(Laser ablation)[21]

利用雷射光源對塑膠材料進行切割或雕刻已經十分普遍，藉由雷射能量高且聚焦準確，高分子表面吸收雷射光源能量後，其化學共價鍵結遭到破壞，分解成 C、CO、CO<sub>2</sub> 等氣體分子或其他小分子斷片，脫離基材表面。調整雷射的光源強度及能量密度(焦耳/平方公分，J/cm<sup>2</sup>)，可得不同深度的流道。由此法產製的微通道結構不僅深度精確且內壁平整筆直，缺點為設備費用仍高，也不適用在大量生產上。

### 1.3.2.3 射出成型法(Injection molding)[14, 24]

首先將顆粒狀的高分子原料送入射出機內，通過加熱螺旋後高分子開始轉變成熔融態，接著以高壓將黏稠的液態高分子塑料射出進入模具中成型並冷卻硬化，最後將成品脫模取出。為維持整個操作流程有良好的再現性和成型物品質的穩定性，製程中的溫度、時間、壓力等參數均需嚴密地控制。以此模具每 5-10 秒鐘就可產製出一個晶片，可用來大量批次製造，成本與加工時間相對減低，滿足工業市場上高產量的需求。

### 1.3.2.4 LIGA 製程(Lithographie, Galvanofornung, Abformung)[25]

標準的 LIGA 製程中使用波長約 0.2-0.6 nm 的同步輻射 X 光射線進行深度光刻技術(deep lithiography)。而同步輻射 X 光射線的優點為波長短、功率大、穿透率強、繞射現象小等。LIGA 即結合了積體電路的光蝕刻技術、電化學的電鍍鑄模技術與高分子材料的熱壓成形或射出成型之模造技術，其所產製出的晶片無論就結構深度和精密度、深寬比、表面粗糙度，都比過去微機械加工的水準高出許多[26]。但可惜的是因光源設備為一相當龐大且昂貴的投資，並非一般實驗室研究所能應用。

LIGA 中主要製程手續如下：首先，在基材表面塗佈一層對同步輻射 X 射線敏感之高分子光阻，當 X 射線經過特別設計製作的光罩(mask)照射於光阻材料後，再利用顯影步驟把光罩上的微流道佈局轉印至光阻模板，隨後將金屬電鑄在此模板上方，接著以蝕刻方式去除光阻，即能得到所要的金屬微結構。最後以此金屬微結構作為晶片模板，經由熱壓成形或射出成型就可量產高分子微流體元件。

#### 1.4 微晶片電泳簡介

毛細管電泳分離之基本原理係在分離管柱內的緩衝溶液中，所注入的分析物帶有不同電性或電荷數之離子或分子，利用外加高電場的驅動，各分析物因自身特性而有不一樣的遷移速率，在毛細管中發生泳動並分離的現象。由於微流體元件的流道建立和毛細管的微通道有異曲同工的功能，因此開啟了所謂的微晶片電泳的分析新領域。相較於直線的傳統毛細管管柱，晶片中的流道設計可更加多元化，各種用途的通道可整合在單一個晶片上，增進其使用性。雖然兩者的分離原理並無太大的差異，但從毛細管邁向微晶片的過程中，並非完全套用現有毛細管電泳技術即可，因不論是選擇晶片材質、微流道的製作與



封裝上，微晶片電泳的發展將無可避免地會遭遇到相當多的問題，其中因其所注入的樣品量極少，加上儀器裝置能供給的光徑較短，導致在一般毛細管電泳中最常被使用的紫外光吸收偵測器(UV detector)很難應用在微晶片電泳上，因此微晶片電泳的偵測法靈敏度要求實為很大的關鍵之一。

## 1.5 微晶片電泳之偵測技術

目前曾被使用作為晶片電泳的偵測方法眾多，較為常見的有雷射誘發螢光偵測法(Laser-induced fluorescence, LIF)[16,23,24,27]、化學放光偵測法(Chemiluminescence, CL)[28,29]、熱透鏡偵測法(Thermal lens spectroscopy)[30]、電化學偵測法(Electrochemical detection, ECD)[31]、質譜儀偵測法(Mass spectroscopy, MS)[32,33]等，以下分別針對這些偵測法作簡單的說明介紹。



### 1.5.1 光學偵測法

#### 1.5.1.1 雷射誘發螢光偵測法(Laser-induced fluorescence, LIF)

以雷射作為發射光源，用以誘導激發分析物或經螢光衍生的待測物放出螢光來得到訊號偵測之目的[34]，在晶片電泳的發展上，因 LIF 能提供高度的靈敏度和極低的偵測極限，一直以來為最常被使用的重要偵測方式。初期 LIF 法於高分子微晶片的檢測中，由於高分子本身的官能基或其製造過程中添加物質具有發射螢光之特性，時常造成背景螢光干擾的問題，利用 Mathies 與 Huang 所設計的共軛聚焦(confocal) LIF 偵測系統[35]，可將雷射光聚焦於微通道中，充分發揮入射光強

度，除了收集分析樣品的放射螢光外，同時亦能將非聚焦部分之材料背景螢光予以遮蔽去除，如此不僅提高了訊號/雜訊比(signal to noise ratio, S/N ratio)，更有助於加強系統的靈敏度且改善其偵測極限，合併後續的光電倍增管 (photomultiplier, PMT) 或電荷耦合器件 (charge-coupled device, CCD)，將螢光訊號放大與數位化後再經電腦軟體分析處理。除此之外，亦可架設濾鏡組合(filter sets)及分光器 (beamsplitters)，收集不同的螢光放射波長。

### 1.5.1.2 化學放光偵測法(Chemiluminescence, CL)

所謂化學放光偵測係指分析物經化學反應放光後，經由光電倍增管收集訊號達到檢測之作用。Ramsey[28]於 1994 年提出晶片上進行管柱後反應的微流道設計，使得化學放光法首度被採用在電泳晶片上。此種方式不用額外供給激發光源，如此一來可以避免因激發光源散射現象產生的雜訊干擾，也有益於微晶片電泳儀器的縮小化。然而相關研究文獻不多[36-38]的主要原因在於：常見的化學放光試劑多數需先將其溶於有機溶劑中才能產生反應，但電泳分析法主要的流體驅動來源為電滲流，以在水相中進行為主並不適用於水溶性差的分析物，因此限制了化學放光偵測法的應用範疇。即使是水溶液系統中的化學放光反應，例如 luminol/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>，完成反應後會產生氮氣和氧氣，亦導致其在使用上有所困難[28]。

### 1.5.1.3 熱透鏡偵測法(Thermal lens spectroscopy)

目前應用於微晶片電泳中另一項當紅的偵測法為熱透鏡偵測法[39-41]，屬於一種光-熱轉換的光譜偵測方式。簡單說明其應用原理為[42]：當微流道內分析物受光源激發(excitation beam)，發生非輻射

緩解(nonradiative relaxation)後，伴隨熱能(heat)的釋放，造成周圍環境溫度、溶液折射率(refractive index)變化，形成所謂的熱透鏡效應(thermal lens effect)，而探測光源(probe beam)受到此效應類似一凹透鏡存在的影響，光源強度產生改變，該變化量的大小則與分析物濃度成正比的關係。

在最適化條件下，熱透鏡偵測法靈敏度可達 zeptomole( $10^{-21}$ )到 yoctomole( $10^{-24}$ )等級，可與 LIF 法相互媲美，待測物亦無特殊條件限制，所以適用範圍很廣，唯其因此而檢測選擇性不佳，但結合具優異分離效果的電泳晶片，加上之後發展出的迷你化桌上型熱透鏡儀器，更使得研究家對兩者的結合有著相當高的期待。

### 1.5.2 電化學偵測法(Electrochemical detection, ECD)

電化學偵測法的偵測器普遍外型輕巧體積小，應用於小型可攜帶式系統上相對較佔優勢，此外其靈敏度亦佳，可作為 LIF 法的另一個檢測選項，近幾年來這方向的研究有漸增的趨勢[43-46]。

Mathies 和其團隊[31]將電化學偵測法正式運用結合在微晶片電泳分析上，使用玻璃基材的微晶片，並將參考電極(reference electrode)與輔助電極(counter electrode)放置於偵測槽中，儘可能地靠近分離流道末端之工作電極(working electrode)。該研究中利用此系統偵測分離的神經傳導物質，如多巴胺(dopamine)、腎上腺素(epinephrine)、兒茶酚(catechol)等，偵測極限為 $\mu\text{mol}$ 等級。

依據各類分析物的性質，必須有特定的工作電極系統，因此眾多的電極設計與製作實為各研究者所專注努力的目標。另外，相對於 LIF 偵測法對晶片材質有高透光性的要求，一般以玻璃、石英或高分子材料中的 PMMA 和 PDMS 為主，電化學偵測法則不受限於此，因

而大幅提升其應用發展性。

### 1.5.3 質譜儀偵測法(Mass spectroscopy, MS)

質譜儀實為分析化學領域中最有力的偵測器，不僅能提供大範圍化合物的分離如聚胜肽(polypeptides)、核酸(nucleic acids)等，也可進一步提供我們待測物的結構及分子量的相關資訊，這是相較於其他偵測法更具優勢的特點。

晶片電泳結合質譜儀的首要課題為兩者系統界面的連接，常見的技術是電噴灑游離法(electrospray ionization, ESI)[47-49]，可使經由電泳分離出的液態樣品，藉電灑尖端和質譜儀入口間的電壓差，將之轉換成氣態導入質譜儀中進行定性分析。最近更發展出氣動式的霧化器(pneumatic nebulizer)[50]，能穩定地供給電噴灑過程中的樣品流速，亦省去電灑尖端(electrospray tip)的需求，甚至此霧化裝置只要經由一次蝕刻步驟即可製作完成。

### 1.5.4 其他偵測方法

除了上面所述各種常用的偵測方式以外，尚有例如：1998 年 Morri[51]以等速電泳(isotachopheretic, ITP)結合拉曼光譜儀(Raman spectroscopy)的偵測系統，以 2 W，532 nm NdYVO<sub>4</sub> 雷射作為光源檢測農藥如巴拉刈(paraquat)、大刈(diquat)等，分析物濃度的線性範圍可從 10<sup>-5</sup> 至 10<sup>-7</sup> M。依著微機電和微晶片技術日新月異的精進改善，配合不同研究需求，許多的偵測方法仍不斷被提出發展。

### 1.6 微晶片電泳之應用[5]

最先開始晶片電泳技術之應用可說是核酸分析，例如：寡核苷酸(oligonucleotide)、核糖核酸(RNA)等。對於一些組成較小的寡核苷酸(10-25 鹼基)[52]或有限的核酸片段(ribosomal RNA)[53]，僅需數分鐘即可達成分離。此外，之前受到人們高度關注與研究之人類基因體計畫(Human Genome Program)，能比預期時間更快解碼完成的功臣，就是以微晶片電泳進行 DNA 的定序工作。而於 1995 年首度證明其可行性的為 Mathies 實驗室[54]，利用玻璃晶片上所充填具篩選(sieving)功能的去活化聚丙醯胺(polyacrylamide)，分析經螢光染料標示之 DNA 序列片段，在有效長度為 3.5 公分的微流道中，成功地在 10-15 分鐘內判讀約 150-200 個鹼基組成的 DNA。為了提升對更長組合 DNA 的定序能力及更加縮短分析時間的需求，隨後發展出四色偵測器[55]，合併使用線形(linear)的聚丙醯胺作為基質，可於單一次操作之 20 分鐘內解讀超過 500 個鹼基的組成，其正確性達 99.4%。

配合微量分析系統中，以同時進行樣品處理程序及分析步驟的目標，於 1996 年出現將微型的 PCR 反應槽與晶片結合所形成之整合型 DNA 分析系統[56]，加上備有快速熱循環之特點，使得 DNA 可在 45 分鐘內完成訊號放大和分析的動作。另一方面以晶片電泳進行基因遺傳物質之檢測亦是目前主力發展的方向，期望透過其快速的分析來鑑定遺傳性疾病基因的存在與否。研究至今已能應用於如血色素沉著症(hemochromatosis)[57]、肌肉營養失調症(muscular dystrophy)[58]等遺傳相關疾病上。此外，在生化分析領域裡，不論是分離胺基酸、胜肽、蛋白質，或是酵素研究及分子間親合性之探討等[59]，微晶片電泳均能有效發揮所長，並展現其高通量分析的優越能力。

綜合上述，其他尚有於濫用藥物、火藥炸藥等涵蓋範疇十分廣泛

的應用[59]，加上其擁有的多項優點，都將使微晶片電泳在未來分析領域的發展無法估量。



## 二、高分子基材於微晶片電泳之研究

### 2.1 高分子晶片製程概論

高分子材料的範圍涵蓋塑膠、纖維、塗料、黏著劑等用途，廣泛地被使用於民生用品和各種科技產業，由於技術發展純熟，其成本價格相較其他材料普遍低廉許多，因此預期高分子基材在微流體晶片之應用上具有相當大的製作優勢，然而在實務製造與電泳實驗操作上，仍潛藏著一些有待克服的困難。以下將針對目前較常使用之兩種高分子型微晶片：PMMA 與 PDMS，作一些簡單的介紹。

PMMA 係屬於硬質類塑膠，單體(monomer)結構如圖 2.1 (a)。一般微流道的加工為之前所提及的熱壓法，基本上都是把 PMMA 基板加熱至其玻璃轉移溫度( $T_g$ )附近，使之受熱軟化，藉此將金屬線或模板上凸起的流道設計，以壓力拓印至基板上。文獻上常見的矽晶片和金屬模板製作不易且成本昂貴，加上模板本身在使用過程中，可能會有碎裂變形與表面污染的問題存在，影響所製造之微流體元件的再現性及可靠性，因此以其進行實驗室少量規模的研究尚佳，但在此類微晶片的量產上，亦有多方面需要努力突破。

另外一類 PDMS 則屬軟質彈性體(elastomer)，單體結構為圖 2.1 (b)。主要的加工方式為灌注成型(casting)[19]，即是在模具內製造微晶片。當 PDMS 硬化成型的同時亦將模板上的流道佈局轉印到此 PDMS 高分子基材上，隨後依照軟質 PDMS 具有黏附於光滑平面之特性，可與另一片 PDMS 或不同材質之蓋板，經由凡得瓦爾力(van der Waals forces)以披覆接觸(conformal contact)形成可逆式貼合(reversible bonding)的微晶片[13,43]；亦能利用紫外光(ultraviolet light)[60-62]或

電漿(plasma)[13,60,61,64,65]等進行表面處理，使 PDMS 與蓋板間形成 O-Si-O 共價鍵結，以此便可製成不可逆結合(irreversible bonding)之微晶片。操作上的便利性及眾多變化性，使得 PDMS 微流體元件廣為各團隊研究討論，唯其灌注固化成型需等待一定的時間，且亦和 PMMA 基材面臨同樣模板製作取得與晶片製程上量產的問題。

## 2.2 基材相關特性[13,63,66]

相較於玻璃、石英基材容易因碰撞而破裂，高分子型的 PMMA 與 PDMS 確實有著優秀的機械性與耐壓性；對於許多常使用之有機溶劑、酸鹼溶液等亦具有一定的抵抗性。在光學性質的表現上，兩者皆屬透明基材，有利於各種光學偵測法。當其應用於生化樣品之生物微晶片分析時，兩種基材都不會導致生物毒性，生物相容性(biocompatibility)高；此外，PDMS 因為氣體可通透性(gas permeability)，於細胞實驗中也能由外界供給所需要的氧氣，以便順利進行活體細胞研究。

縱然擁有上述優點，PMMA 與 PDMS 之熱導率(thermal conductivity,  $\lambda$ )比玻璃小了一個數量級左右( $\lambda_{\text{PMMA}}=0.186$  W/mK[14]  $\lambda_{\text{PDMS}}=0.15$  W/mK[67]； $\lambda_{\text{glass}}=1.46$  W/mK[68])，表示兩者對熱能的平衡能力明顯不及玻璃基材，亦無法有效散逸在電泳中因施加高電場所產生的焦耳熱(Joule heat)。根據文獻資料[69]，於同樣測試條件下，PDMS/PDMS 組成之微晶片流道中心溫度為 58°C；PDMS/Glass 的組成僅為 32°C。而焦耳熱則會改變微流道內溶液之許多物理特性，如溫度、黏滯度(viscosity)等，更影響後續分析的效能。

另外，這兩種高分子均為由長鏈單體組成的聚合物(polymer)，所以有著相當強的疏水性質(hydrophobicity)[19,70]，使其在生物研究及



電泳分析等以水相為主的系統中，會遭遇到下面幾個問題：

- (1) 不易導入緩衝溶液等水溶液：以 PDMS 為例，Ocvirk *et al.*[67]為了改善這樣的現象，預先在微流道內通入甲醇與去離子水，結果確實可提升其後導入之水溶液在通道內的流動性，然而在其他後續研究下，發現以此方式經過一段時間後，微流道內會開始有氣泡生成，不僅液體流通性下降，亦無法進行電泳分析[92]。
- (2) 對於疏水性高之分析物有吸附的作用：特別是一些非極性(nonpolar)或生物大分子如蛋白質[61,62]等。於電泳實驗時，可能因此吸附作用而導致圖譜中波峰變寬(peak broadening)、拖尾(tailing)等後果，連帶地減低分離效率[84]。
- (3) 不穩定之電滲流驅動力[71]：PMMA 與 PDMS 兩者高分子組成的疏水性質，特別是 PDMS 並無可供解離帶電的官能基存在，但其仍會形成往負極方向電滲流，依文獻[67]推測為表面吸附環境中一些疏水性的陰離子或聚合反應中試劑所導入的負電荷等因素導致。因此由電雙層(double-layer charge distribution)理論與各研究發現，這類高分子型晶片之電滲流通常較玻璃晶片小且不甚穩定[70,84]，而電滲流在晶片電泳中係為一相當重要的參數，掌控著液體的導入及流速，若此電滲流在呈變化的狀態下，會造成分析物遷移時間飄移(migration time shift)，對於定性分析上有極大的負面效應。

### 2.3 晶片之表面修飾(surface modification)

大體於微流體元件的應用上，高分子微晶片最大的困難點即受限於其表面化學特性(surface chemistry)，為了提升其親水能力(hydrophilicity)，至今已有眾多方法被發展使用，主要都是針對微晶

片表面進行一些修飾反應[66]，以 PDMS 基板為例，包含：電漿處理、動態塗佈(dynamic coating)、共價修飾(covalent modification)等，以下就三種方式分別討論。

### 2.3.1 電漿處理

電漿係為高能的電子及離子組成之混合物，具有相同的正、負電荷數。一般認為於 PDMS 高分子基材上施打電漿，除了能以此方式協助結合微晶片外，其表面可能因此發生氧化反應，形成類似於  $\text{SiO}_x$  之矽層(silica-like layer)；或是轉變成親水性較高，類似於矽氫氧基(silanol, Si-OH)的結構。由文獻研究[72]顯示，以 X 射線光電子光譜術(X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)觀察經電漿處理後之 PDMS，發現其表面的氧元素含量增加，而碳的成分降低；紅外光譜圖(infrared spectroscopy)波數為  $3400 \text{ cm}^{-1}$  附近，呈現與氫氧基(hydroxyl group)相關的吸收帶狀分佈[62]；對水的接觸角(contact angle)量測上，依照曝露於電漿的時間不一，從原本的  $105^\circ$  會有不同變化的下降程度[61,62,65,85]，以上均可證明其親水性質增加的現象。而於電泳實驗中，經處理之 PDMS 微流道表面其塔電位(Zeta potential,  $\zeta$ )值上升，最直接的證據則是加快了電滲流移動率(electroosmosis mobility,  $\mu_{\text{EOF}}$ )。

然而，隨時間加長或溫度、環境改變，會因「老化效應」(aging effect)[63,85]逐漸疏水性回覆(hydrophobility recovery)，此親水特性的生命期短暫(short lifetime)，進一步導致電滲流移動率的減少與不穩定現象。根據 Owen *et al.*[73]推測整理的因素包括：(1)表面矽氧基重排至聚分子主體內部(bulk polymer)；(2)經因電漿處理後， $\text{SiO}_x$  層與高分子主體間彈性差異所造成的裂縫孔洞(cracks)，致使主體內部自由

之 PDMS 長鏈分子移動至表面；(3)表面矽氧基發生縮合反應 (condensation)；(4)具活性(volatile)之氧或其他物質擴散消失到大氣中；(5)表面粗糙度(surface roughness)改變等。更有趣的研究為若將電漿或紫外光氧化之 PDMS 微流道保存於極性水溶液中[63,92]，可延緩疏水性回覆的速度，其確切的原因目前仍不清楚。

### 2.3.2 動態塗佈

當緩衝溶液中添加如聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG)[74,75]、聚乙烯醇(polyvinyl alcohol, PVA)[76]、聚二甲基丙酰胺 (polydimethyl acrylamide, PDMA)[62]、聚氧化乙烯(polyethylene oxide, PEO)[77] 等高分子；相反電荷陽離子及陰離子構成的聚電解質 (polyelectrolyte)[78]；或是界面活性劑(surfactant)如十二烷基硫酸鈉 (sodium dodecyl sulfate, SDS)[67,71,79-82,85]、十六烷基三甲基溴化銨 (cetyltrimethylammonium bromide, CTAB)[79,80]、聚乙二醇基酚醚 (alkylphenyl polyethoxylates, Triton X-100)[70]及十二烷基聚乙二醇醚 (polyoxyethylene lauryl ether, Brij 35)[79,83]等，各方法機制不盡相同，但均能對微流道表面進行所謂的動態塗佈反應，以期加強高分子晶片之親水性與減少樣品吸附的狀況。

舉上述聚電解質為例，Liu *et al.*[78]先以 5% 陽離子之聚凝胺 (polybrene)，接著為 3% 陰離子的硫酸葡聚糖(dextran sulfate)塗佈於微晶片表面，利用兩者間多重的靜電吸引力，於微流道管壁表面形成穩定的雙層(bilayer)修飾，並應用在多巴胺等電化學偵測上，結果可提供超過 100 次實驗之穩定電滲流。

### 2.3.3 共價修飾

大致上可概分成聚合反應 (polymerization) 與硅烷化 (silanization) ，而聚合反應可由紫外光等輻射誘發 (radiation-induced)[74]或鈾離子催化(Cerium(IV) catalyzed)[86]生成，以此於高分子基材表面形成 Si-O-C 的共價鍵結，提昇與水溶液接觸後，被水解成矽氫氧基的機會，於文獻之聚胜肽分析上，大大地降低其與微流道表面的吸附力，藉此增加分離效率，操作上最高甚至有一個月之穩定性。

Delamarche 團隊[87]則於經電漿氧化處理後的 PDMS 晶片，利用分子量約為 3400 之聚乙二醇雙三甲基矽烷(polyethylene glycol di(trimethoxysilane), Si-PEG-Si)，固定(immobilization)PEG 於微流道表面，亦從實驗發現此矽烷化反應在抑制蛋白質黏著吸附方面，能力的確比電漿處理之晶片更佳。

其他還有各式各樣的方式，如化學氣相沉積(chemical vapor deposition, CVD)[88]、磷脂質雙層膜(phospholipid bilayer)[89]或蛋白質修飾法[90]，共同目標無非就是對這些高分子型的微流道表面進行改質，以因應各種不同類型的研究。

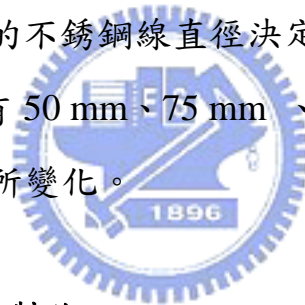
## 2.4 實驗設計及目的

以 PMMA 及 PDMS 微晶片的性質為本論文研究的晶片材料，結合雷射誘發螢光偵測器，使用兩種常見之螢光染料(fluorescent dye)作為分離測試樣品，探討此二類高分子微流體元件之組成、流道線寬、樣品注射時間或體積、表面處理方式、緩衝溶液條件等因素，對電滲流大小特性、螢光訊號強度與電泳分析的影響，並配合本實驗室自行

設計製作，功能為各類微晶片的固定座之夾具(holder)，期望以此建立一套快速而簡單的微流體晶片測試評估方法。

#### 2.4.1 電泳微晶片組成

主要微流道之基板選擇係為 PMMA 與 PDMS，分別採線壓法及灌注成型製程。共計有四種組合：熱壓結合的 PMMA/PMMA 晶片(簡稱 PMMA 微晶片)、可逆式貼合的 PMMA/PDMS 混成晶片(簡稱 Hybrid 微晶片)及 PDMS/PDMS 晶片(簡稱 PDMS 微晶片)、由氧氣電漿(oxygen plasma)處理形成不可逆鍵結的 PDMS/PDMS 微晶片(簡稱 PDMS(O<sub>2</sub>)微晶片)。其中 PMMA 微晶片之深度、寬度皆為 50  $\mu\text{m}$ ，由壓製微流道中所使用的不銹鋼線直徑決定。PDMS 類微晶片流道深度是 50  $\mu\text{m}$ ，而寬度則有 50 mm、75 mm、100 mm 三種尺寸，各線寬之樣品注射體積亦有所變化。



#### 2.4.2 微晶片夾具之設計製作

為了方便配合本實驗之需求自行製造晶片的固定座，選用加工容易的壓克力(PMMA)塑膠作夾具蓋板材料，所有元件設計以 AutoCAD (computer-aided design)電腦輔助設計軟體繪製，資料轉檔傳輸至電腦雕刻機，可進行準確定位的材料切割、溶液儲槽鑽孔等工作，加工精密度可達 0.0125 mm，每批次大約能生產 18 片幾乎無誤差之塑膠蓋板。此製程之夾具具有自動化操作、製作簡單迅速、造價便宜的優點，裝卸亦只需使用六個不銹鋼螺絲即可，不僅加快在實驗過程中更換微晶片的速度，也因為溶液存槽(reservoir)就設計製作在具有一定厚度(5-10 mm)的 PMMA 蓋板內，省去了之前於晶片表面之流道出口處，

黏貼多個吸管尖(tip)作為容器槽，可能造成的難度與再現性因素的影響，夾具的製造及使用確實大幅地提升了實驗的便利性。

圖 2.2 (A) 顯示二種夾具(I, II)上、下蓋板(cover plate, bottom plate)的相關尺寸規格，均可用於 LIF 偵測之微晶片電泳上。(I)組的上蓋板厚度是 10 mm，且配合偵測系統中直徑為 24 mm 之顯微鏡物鏡，在距離出口端 20 mm 處開了一個直徑 30 mm 的圓形偵測窗口，藉以協助物鏡之上下移動對焦，此夾具適用於已預先結合好的 PMMA 與 PDMS(O<sub>2</sub>)微晶片。(II)組的上蓋板厚為 5 mm，其上並無挖空的圓形偵測窗口，應用於 Hybrid 和 PDMS 微晶片的電泳實驗，避免上蓋之圓形窗口的開啟導致夾合時因施力不均勻，兩種可逆式貼合的微晶片發生滲露(leakage)、溶液繞道而行或是通道受擠壓變形等現象，影響後續測試及分析結果。製成二種夾具實拍照如圖 2.2 (B)，而微晶片與夾具組裝順序為圖 2.3 和圖 2.4。



### 2.4.3 電滲流測量方式

電滲流是由內壁表面電荷所引起的管內液體之整體流動，其大小可用移動率(mobility,  $\mu_{\text{EOF}}$ )表示：

$$\mu_{\text{EOF}} = \varepsilon \zeta / \eta$$

$\varepsilon$ ：溶液介電常數(dielectric constant)；

$\zeta$ ：塔電位(Zeta potential)；

$\eta$ ：溶液黏度(viscosity)；

除了上面三個因素的影響外，其中塔電位主要係由流道的表面電荷決定，電荷量又受 pH 調控，因此電滲流的大小也會隨 pH 變化。

參考 Lee *et al.*[91]於 1988 年所發表的「電流監測法(current monitoring method)」，並不需要注射任何樣品及架設偵測器，即可測

定電滲流值，裝置見圖 2.5。簡單說明其步驟為：首先確認在微流道入口(簡稱 Well 1)端與出口端(簡稱 Well 2)，施予一正向電壓，使得流體方向能順利由入口方往出口端移動。一開始導入濃度為 C 的緩衝溶液，使其充滿 Well 2 與微流道，接著在 Well 1 注入相同組成但濃度為 C' 的緩衝溶液，藉由電滲流的驅動，濃度 C' 的緩衝溶液漸漸取代流道中原本濃度為 C 的緩衝溶液，因此改變微通道內的電阻值(resistance)，隨後亦影響電流的大小，以 C' 小於 C 為例：電流會有下降的趨勢。當濃度 C' 之緩衝溶液完全充滿流道後，電流會達到呈定值的平原狀態(如圖 2.5 (a)、(b))，而電滲流移動率( $\mu_{\text{EOF}}$ )的計算則利用下列公式：

$$\mu_{\text{EOF}} (\text{cm}^2/\text{V sec}) = L^2 / V t$$

L：微流道總長，單位：公分(cm)；

V：外加電壓，單位：伏特(V)；

t：電流達定值所需之平衡時間，單位：秒(sec)。

文獻裡比較由此法與另一常用的中性標記物法(neutral marker method)所得之電滲流大小，發現兩者間無明顯的差異。而電流監測法因其操作的相當簡單便利，實為多數晶片電泳最常用以量測電滲流的方式。

## 三、實驗

### 3.1 儀器裝置

#### 3.1.1 微晶片電泳儀

微晶片電泳儀器為實驗室自行組裝而成，簡單的架設示意圖為圖 3.1，其包含下列各軟、硬體：

##### (1) 操作軟體

LabVIEW<sup>®</sup> (Laboratory Virtual Instrument Engineering Workbench) 為一種圖形化程式語言，可用作資料擷取、訊號分析與結果呈現等。針對本實驗之需求，亦能達到控制硬體，配合美商慧基公司 PCI-6023E 型(National Instruments, Austin, TX, USA)介面卡，以便及時(on-line)接收資料，並截取偵測器上的類比訊號，將之轉換為數位訊號且紀錄於個人電腦中。

##### (2) 高電壓電源供應器

樣品注射之電源供應器機型是 MP3500-F (Major Science, Taiwan, R.O.C.)，供應電壓最大可至 5000 V。分離流道之電源供應器為 Spellman 公司所生產的 CZE 2000R 型 (Spellman High Voltage Electronics, Plainview, NY, USA)。各電極組成為純度 99.5%之白金。

##### (3) 雷射偵測系統

採用氬離子(Argon ion, Ar<sup>+</sup>)雷射激發光源，激發波長為 488 nm，經光纖導入與顯微鏡聚焦到微晶片上。電源供應器為 JDS Uniphase (San Jose, California, USA )所製之 2110 型；面板控制器(remote controller)為 2500 型；雷射主體(laser head)為 2211-30SL 機型，輸出



功率範圍 6-30 mW，而本實驗將功率設定為 6 mW 進行。

#### (4) 顯微鏡

提供雷射定位偵測點的光學顯微鏡由 Olympus 公之所製造之 BH2-UMA 型(Olympus, Tokyo, Japan)，將晶片至於其 X-Y 移動式平台，由光纖導入的雷射經雙色向濾光鏡(diachronic beamsplitter) (FF506-Di02-25X36, Semrock, NY, USA)，接著以架設在目鏡上的 CCD 輔助聚焦與調整至最佳偵測位置，保護操作者眼睛不受高功率雷射傷害。而分析物被雷射激發所放射之螢光訊號，則利用濾光片(FF506-Em02-25, Semrock, NY, USA)過濾掉激發光源的波長，達到只收集樣品放射螢光訊號之目的。

#### (5) 光電倍增管

放射光譜型光電倍增管由 Hamamatsu 公司所產製之 R928 機型(Hamamatsu City, Japan)，偵測波長範圍 185-900 nm，具有高穩定性、低暗電流、高靈敏度等優點；電流轉換器(socket assembly)為 C1053 型(Hamamatsu City, Japan)，可使電流轉換成電壓輸出。

### 3.1.2 其他儀器

#### (1) pH 值量測儀

購自於美商貝克曼公司(Beckman Instrument, Fullerton, CA, USA)，型號為 Beckman 50 pH meter。使用前需先以其公司之 pH 4、pH 7 及 pH 10 標準緩衝溶液校正後，才得以進行量測。

#### (2) 毛細管電泳儀

為美商貝克曼公司所製造之 P/ACE MDQ 系列，儀器與數據分析由 Beckman Coulter MDQ 32 Karat software 控制和處理。分離管柱為內徑 50  $\mu\text{m}$ 、外徑 360  $\mu\text{m}$ 、總長 50 cm (至偵測窗口 40 cm)之二氧化

矽毛細管(fused-silica capillary, Polymicro Technologies, Inc., Phoenix, AZ, USA)，分離溫度及電壓各為 25°C 與 20 kV。

### (3) 氧氣電漿儀

由 March Instruments 公司製造之氧氣電漿儀。功率：500 W；氣體流速：100 SCCM (standard cubic centimeter per minute)。當儀器真空度抽至約 50 torr 後，依照設定秒數開始施打電漿的動作，所有實驗均在無塵室中進行。

## 3.2 化學藥品

分析物標準品(結構如圖 3.2 所示): 螢光黃異硫氰酸酯(fluorescein isothiocyanate, FITC)、螢光素(fluorescein)，四硼酸二鈉(disodium tetraborate, Borax)、十二烷基硫酸鈉(sodium dodecyl sulfate, SDS)均由美國 Sigma 公司(St. Louis, MO, USA)出品。磷酸氫二鈉(di-sodium hydrogen phosphate,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )、磷酸二氫鈉(sodium dihydrogen phosphate,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )、氫氧化鈉(sodium hydroxide, NaOH)、鹽酸(hydrochloric acid, HCl)則購買自 Fluka 公司。PDMS 單體(Sylgard 184 silicone elastomer)與硬化劑(curing agent)購自於喬越實業有限公司(Silmore, Taiwan, R.O.C.)，Tridecafluoro-1,1,2,2-tetrahydrooctyl trichlorosilane (簡稱 TTTS, 結構見圖 3.2)由 Gelest 公司提供(GELEST, INC., Morrisville, PA)。甲醇與丙酮各為 HPLC 等級試藥，實驗室所用的去離子水係由 Milli-Q 水系統(Millipore, Bedford, MA, USA)提供，其電阻值為 18.2 M $\Omega$ -cm。

### 3.2.1 緩衝溶液系統及樣品溶液配置

分析物標準品溶於丙酮中配成濃度為 2 mM 之儲備母液(stock solution)，密封後放置於冰箱內以 4°C 冷藏保存，實驗進行前再以緩衝溶液稀釋至所需濃度。使用的緩衝溶液系統一為由 0.2 M 的磷酸二氫鈉、磷酸氫二鈉溶液組成；另一為利用 0.1 M 之四硼酸二鈉及鹽酸混合調配，各自至需要的濃度與 pH 值。而濃度為 100 mM 的 SDS 則溶於去離子水中，依不同比例稀釋於緩衝溶液。所有導入微流道的溶液或溶劑，都需經 0.2  $\mu\text{m}$  PVDF 薄膜針筒型過濾器過濾和超音波震盪除氣(degassed)，以減少雜質或氣泡堵塞微通道的可能性。

### 3.3 微晶片製作與前處理

#### 3.3.1 PMMA 微晶片



本實驗採最簡易且低成本之熱壓法製作 PMMA 微晶片，材質為市售壓克力版，長、寬、高分別是 100 mm x 30mm x 30mm，以直徑 50  $\mu\text{m}$  之不銹鋼金屬線以線壓法壓製所需微流道，簡易流程如圖 3.3[100] 所示，首先壓克力板經氮氣吹除清理後，於中央表面固定金屬線作為分離流道，上下層各放置玻片及鋼片，利用 C 型夾施壓鎖緊後，放入 105°C 之烘箱加熱持續 7 分鐘，待拿出冷卻 20 分鐘後，放上另兩條為樣品注射流道之不銹鋼細線，重複上述步驟(詳細晶片設計如圖 3.4 所示)。當所有流道壓製完成，取出全部的金屬細線，使用另一片相同大小且已事先鑽好溶液流出口之壓克力片，一樣以烘箱 105°C，維持 7 分鐘，貼合此兩片壓克力板，最後以二氯甲烷塗佈微晶片周圍，加強其密閉性。(完成之微流道照片見圖 3.4 (a)、(b))

進行實驗前，以抽真空方式將緩衝溶液導入微流道中，持續 10 分

鐘確定通道內無氣泡存在，即可把各緩衝溶液和樣品溶液置於儲存槽內，上機開始電泳分析。當日實驗結束後，以去離子水清洗微流道 20 分鐘，抽乾並使其成乾燥裝態保存。

### 3.3.2 PDMS 微晶片

#### 3.3.2.1 矽晶圓模板規格及設計

利用工研院機械所協助製作之矽晶圓為凸模模板，其上的流道佈局由 AutoCAD 軟體繪圖而成，以塑膠或玻璃光罩進行濕式蝕刻，最後所得之流道凸模高度為 50  $\mu\text{m}$ ，分別有三種 50  $\mu\text{m}$ 、75  $\mu\text{m}$ 、100  $\mu\text{m}$  不同的線寬及四種樣品注射體積，詳細的通道規格見圖 3.5，各線寬實際微流道照片則如圖 3.6 所示。



#### 3.3.2.2 製作 PDMS 晶片

##### (1) 可逆式貼合之 PDMS 微晶片

PDMS 晶片製作過程以圖 3.7 (A)表示。首先將凸模板浸泡於丙酮中，以超音波震盪清洗 10 分鐘，待模板乾燥後滴入 TTTS(20  $\mu\text{L}$ )，放入溫度為 60 $^{\circ}\text{C}$ 的烘箱內約 5-10 分鐘，使其蒸氣能均勻塗佈在晶圓上，進行表面之硅烷化反應(silanization)，藉此除了避免 PDMS 與矽模板形成不可逆鍵結(irreversible bonding)，降低 PDMS 殘留於矽晶圓的機會，亦能使 PDMS 晶片成品順利自模板上撕除[13]。接著把模板移至欲灌模的容器內，倒入事先以重量 10:1 之比例混合均勻之 PDMS 單體及硬化劑，並利用超音波震盪減少因攪拌產生的氣泡，而後於

60°C 下烘烤 1 個小時，加速其固化成型。完成的 PDMS 晶片從模板上剝下，裁切成 10 cm x 3 cm (長\*寬)大小，連續在甲醇及去離子水中以超音波震盪 10 分鐘後[67]，與另一片尺寸相同且打好溶液儲槽孔洞的上蓋，兩者皆以氮氣吹除清洗及乾燥表面，最後利用夾具 II 貼合鎖緊。而圖 3.7 (B)、(C)、(D)分別為蒸鍍 TTTS、脫模後之矽模板與製成之 PDMS 微流道照片。

## (2) 不可逆結合之 PDMS 微晶片

與上述灌模步驟相同，唯一的差別在於晶片表面施打氧氣電漿，使上下兩片 PDMS 產生共價不可逆鍵結。經多次嘗試研究發現，施打時間 20 秒為最適化條件，時間過短致使晶片無法全面封合，秒數過長則可能因對 PDMS 造成某種程度上之傷害，而無任何結合現象發生[61,66,97]。由電漿處理後之 PDMS 晶片，為穩定其電滲流特性，需盡速將微流道保存於水溶液中，此外微晶片仍以夾具貼合鎖緊，方便後續實驗電極的架設與增加溶液儲槽的存放體積。

兩種不同結合方法的 PDMS 微晶片在進行電泳前，以抽真空方式依序導入甲醇、去離子水及緩衝溶液各 10 分鐘[63,67]，確認微流道內無氣泡生成即可上機作一連串的測試。分析完成後，以去離水沖提 20 分鐘，結束保存於水溶液中。

## 3.4 電滲流量測

電滲流測定前，各封裝組合好的微晶片先以抽真空方式通入緩衝溶液，穩定流道表面性質約 15 分鐘，接著注入不同濃度之緩衝溶液後，開始以高電壓驅動，即可進行電流監測法。

### 3.4.1 緩衝溶液 pH 值的影響

以 5 mM 和 10 mM 的磷酸緩衝溶液進行電流監測法，探討在 pH 6.0、7.0、8.0 三種條件下，融熔矽毛細管(fused silica)與微晶片 PMMA/PMMA(PMMA)、PDMS/PMMA(Hybrid)、PDMS、PDMS(O<sub>2</sub>) 四種組合，各自電滲流所呈現的變化。此外，也在磷酸緩衝溶液中添加 5 mM 的 SDS，觀察 pH 值對其影響程度。

### 3.4.2 緩衝溶液內 SDS 濃度的影響

本研究選擇對高分子微晶片管壁進行簡單的動態塗佈修飾，藉此提升且穩定電滲流驅動力。以 5 mM、10 mM 的四硼酸二鈉緩衝溶液 (borate buffer, pH 8.2) 為主，其內添加有 2 mM、5 mM、10 mM 的陰離子型界面活性劑 SDS，利用 SDS 分子長碳鏈的尾端(tail)與晶片表面產生疏水性的作用，使其帶負電荷的頭端(head)得以顯露作為電滲流的驅動來源，之後計算各濃度的界面活性劑對電滲流影響之大小。

### 3.5 螢光衍生化胺基酸之微晶片電泳偵測

所選擇的三種胺基酸分別是：精胺酸(Arginine, Arg)、甘胺酸(Glycine, Gly)、天冬胺酸(Aspartic acid, Asp)，結構為圖 3.8 (a)，後續皆以縮寫簡稱。因其均具有一級胺之 amine 官能基，於鹼性的環境下，可與 FITC 進行 thiocarbamylation reaction 形成 R-NH-CS-NH-R' 之產物，如圖 3.8(b)，利用此衍生化產物即可進行微晶片電泳之螢光偵測。

分析物標準品皆購自美國 Sigma (St. Louis, MO, USA)。精確秤取各標準品溶於去離子水中配置成濃度為 15 mM 之三種儲備母液，與溶於丙酮且濃度為 2 mM 的 FITC，以 4:1 比例混合於 12.5 mM pH 9.0 的四硼酸鈉(Borate)緩衝溶液中，在室溫暗處下靜置反應約 17 小時，衍生後的樣品溶液存放至冰箱冷藏備用，實驗前再以電泳分離之緩衝溶液稀釋至所需的濃度。



## 四、結果與討論

### 4.1 使用夾具之便利性

夾具的設計不僅可作為溶液儲槽與架設白金電極處，也是各類微晶片的快速測試平台，有助於提升其應用範圍。特別是文獻[43,62,92,96]中所提及可逆式貼合(reversible bonding)最可能導致的液體洩漏(leakage)，以及壓力承受度不能超 5 psi 的問題，在本次實驗之兩種可逆式貼合的 Hybrid 及 PDMS 微晶片上，結合夾具(II)的使用，並無觀測到任何洩漏的狀況，且二種微晶片的耐壓性更超過了 76 cm 汞柱(~14.7 psi)，加強以抽氣幫浦導入溶液的沖提效率。

### 4.2 對電場的承受度



晶片的主要材質為 PMMA 與 PDMS，依前述兩者的熱導度約有 30% 之差異(2.2 章節)，對於由電壓產生之電流所造成的焦耳熱，PMMA 熱量散逸的能力明顯優於 PDMS，因此在 PMMA/PMMA 微晶片實驗中，供給電場強度達 500 V/cm，仍可維持穩定且與電壓成比例的電流值，亦不影響電泳分析操作。而以 PDMS 為主體的 PDMS/PMMA Hybrid 微晶片約為 300-400 V/cm；PDMS/PDMS 微晶片則以 300 V/cm 為上限，依流道寬度及晶片厚度有些微改變，理論上微流道愈細或晶片愈薄，其表面積容積比(surface-to-volume ratio)愈大，不只可以限制熱量的產生，對熱向周圍環境的散逸能力也愈強。過高的外加電場，除了可能損壞微流體元件，並造成不穩定飆升的電流值，也容易於微流道中生成氣泡[95]，無法進行後續分析之動



作。推測此氣泡的成因，在無液體洩漏及所導入溶液均經除氣的前提下，應與 PDMS 本身之氣體可通透性相關[98]。

實驗中亦觀察到下列有趣現象，以二種可逆式貼合的 PDMS/PMMA 與 PDMS/PMDS 微晶片作比較，Hybrid 微晶片氣泡產生機率較低，而不可逆結合 PDMS(O<sub>2</sub>)微晶片的機會則比兩者再小一點，原因可能是施打電漿後：(1) 降低了 PDMS 的氣體通透性；(2) 遮蔽(mask)或減少氣泡的形成核心(nucleation sites)[63]。

### 4.3 背景緩衝溶液 pH 值對電滲流之影響

#### (1) 未添加 SDS：

在傳統的融熔矽毛細管中，表面官能基為矽氫氧基(Si-OH)，當緩衝溶液 pH 值上升，其解離程度也隨之增加，形成帶負電荷的 Si-O<sup>-</sup>，而管壁表面電荷的增加，則會提升電滲流移動率。相同的機制套用在 PDMS(O<sub>2</sub>)微晶片上，由圖 4.1 (A)可發現，隨緩衝溶液 pH 值上升，兩者的電滲流移動率明顯變大。對比之下，PMMA、Hybrid、PDMS 三種微晶片，對 pH 值變化所產生的關聯性較小，主因應是這兩種高分子基材表面疏水性較高，且 PDMS 又為無特殊可供解離帶電的官能基之單體所組成，造成它們對緩衝溶液 pH 值敏感度較低。

經氧電漿處理的 PDMS 微晶片，不僅可改善流道表面的親水性，使得液體導入變的相當容易外，對電滲流更有直接的貢獻。由圖 4.1 (A)顯示其電滲流移動率均比其他微晶片組成高。另外，PMMA 的親水性優於 PDMS，所反應出的電滲流也較其他兩種 PDMS 組成微晶片大，亦由實驗觀察到 PMMA 微晶片受 pH 值影響比 Hybrid 與 PDMS 晶片多的現象。

#### (2) 添加 5 mM SDS

一般對微晶片管壁的動態塗佈反應，所添加的界面活性劑濃度不會超過其臨界微胞濃度(critical micellar concentration, C.M.C.)，因其少量存在就足以產生一定的功效，避免其形成微胞後，可能與分析物發生複雜的作用，進而影響分離效果[83]。SDS 的臨界微胞濃度是 8.1 mM，本研究選擇以 5 mM 進行添加測試。由圖 4.1 (B)結果看出變化趨勢近似於未加入 SDS 的情形，顯示雖然於不同酸鹼度下，但添加定量濃度的界面活性劑所造成之影響效應卻是相同的。

比較圖 4.1 (A)及(B)，細部差異來自於對融熔矽毛細管與 PDMS(O<sub>2</sub>)微晶片而言，SDS 的加入對緩衝溶液內離子強度(ionic strength)與黏度具有提升的效應，因此降低了電滲流移動率。但 SDS 卻是另外三種微晶片電滲流驅動力的來源，其對表面電荷及塔電位增加的影響甚劇，所以於 PMMA、Hybrid、PDMS 微晶片中，界面活性劑的存在確實對電滲流有正面的增加效果。

#### 4.4 背景緩衝溶液添加 SDS 濃度對電滲流的影響

實驗結果為圖 4.2，如上所述，隨 SDS 濃度上升，融熔矽毛細管及 PDMA(O<sub>2</sub>)之電滲流移動率呈降低的趨勢，主要由緩衝溶液內離子強度和黏度因素影響，離子強度越大使得塔電位降低，因而減小電滲流；其餘三種微晶片組成，則是呈現先上升後下降的反應，轉折處為 2 mM，證明 SDS 與微流道表面的吸附力相當強，僅需少量的界面活性劑就可達到修飾之作用，而持續提高 SDS 的含量，緩衝溶液的離子強度與黏度則又成為主要的調控因子[81]。

此外，由數據計算 SDS 對微流道表面的動態塗佈修飾於測試之四種組合微晶片，其電滲流偏差(variation)大都比未經修飾前來的小，更表現出 SDS 對穩定電滲流的貢獻。

#### 4.5 背景緩衝溶液添加 SDS 對微晶片電泳分析之影響

兩個螢光染料均在鹼性環境下，才能提供所需的發光強度，因此以 10 mM pH 8.2 的四硼酸二鈉緩衝溶液為主，微流道的有效長度約為 5.4 公分，採十字型的樣品注入方式，進行後續各電泳實驗條件之研究。

以 FITC 作為測試樣品，探討 PMMA、Hybrid、PDMS(O<sub>2</sub>)三個不同組合之微晶片，緩衝溶液內有無 SDS 存在對電泳操作的影響。由圖 4.3 (1)、4.4 (1)、4.5 (1)所示連續三次的電泳分析，發現未經動態塗佈的晶片，其分析物濃度需達 400  $\mu$ M，始有清楚之螢光訊號，而此高濃度會造成樣品吸附於流道表面的問題，放射光強度會隨次數增加，亦有波峰拖尾的情形，且分析物之遷移時間(migration time)也越來越短，推論除了是微晶片自身不穩定電滲流造成的時間飄移(shift)外[62]，也可能於鹼性環境下帶負電荷之 FITC 吸附於管壁上後，供給管壁電滲流驅動的表面電荷所導致。

當緩衝溶液內含有 5 mM SDS 後，可有效改善各晶片的親水性，尤其是應用於 PMMA 與 Hybrid 二種微晶片，使流體導入變的更加順利簡單，並因 SDS 與微流道表面親合力非常強，減低其他吸附力相對較弱之分析物附著於管壁上[67]，加上由其他研究指出，SDS 會提高這類螢光試劑發光效率，從圖 4.3 (2)、4.4 (2)、4.5 (2)所示，可減低分析物濃度至 10  $\mu$ M，並得到良好的訊號及遷移時間再現性，同時證明了 SDS 具有穩定電滲流的能力。相關詳細數據如表 4.1 (A)、(B)、(C)。

#### 4.6 樣品注射時間及注射長度對螢光訊號的影響

利用 PMMA 微晶片雙 T 設計之流道，討論樣品注射秒數與訊號間的關係，圖 4.6 可看出：隨注入時間增加，所導入的樣品量變大，螢光強度與波峰面積也就跟著上昇，至 30 秒左右開始出現樣品超載 (overloading) 滲漏的現象，於 60 秒更為嚴重，其後基線 (baseline) 無法回覆到起始值。

圖 4.7 (1)、(2) 則是均由塑膠光罩製成之矽模板灌製而成線寬 50  $\mu\text{m}$ 、100  $\mu\text{m}$  的 Hybrid 微晶片，展現不同進樣長度對螢光強度的影響。發現分析物訊號確實隨樣品注射體積變化，然而 100  $\mu\text{m}$  其所設計之注射長度相較於 50  $\mu\text{m}$  與 75  $\mu\text{m}$  大上許多，因此樣品超載滲漏的情形十分明顯。圖 4.8 (1)、(2) 各為玻璃光罩製作之 50  $\mu\text{m}$  與塑膠光罩灌製之 75  $\mu\text{m}$  的 PDMS 微晶片，結果顯示螢光強度和波峰面積仍依樣品注射量改變。

值得一提的是以塑膠光罩作模灌製成的 50  $\mu\text{m}$  晶片，因光罩無法與矽模板完全貼合，導致所蝕刻之凸模微流道平整度不佳且實際線寬比 50  $\mu\text{m}$  小，需以 PDMS/PMMA 混成組合的方式，才能具有較良好的流道通透性，減小以兩片皆為 PDMS 軟性基材組合之晶片，其微流道受擠壓變形的機會，但若是由貼合度相當高的玻璃光罩製成之 50  $\mu\text{m}$  晶片則無此困擾存在。於本章實驗結果討論若無特別敘述，其所使用之 50  $\mu\text{m}$  晶片均由塑膠光罩造模灌製而成。


#### 4.7 界面活性劑濃度對微晶片電泳分離之影響

由圖 4.9 電泳分析圖譜所示：當 SDS 濃度增加，電滲流變小帶動兩種分析物的遷移速度漸慢。於 2 mM SDS 時看不到 Fluorescein 的訊號，應為螢光素本身發光強度較弱所造成，當 SDS 濃度至 5 mM，

FITC 與 Fluorescein 的螢光訊號增強，並有不錯的分離效果，再持續提高界面活性劑含量至 10 mM，雖然可以在波峰強度上有更佳的表现，但 SDS 形成微胞後，與分析物產生作用進而減低了分離效率，綜合螢光訊號值及分離效果之考量，以 5 mM 的 SDS 添加較合適。而圖 4.10 (A)、(B)各為在此濃度之界面活性劑條件下，Hybrid 及 PMMA 微晶片之最佳化電泳圖。

而 SDS 濃度對 PDMS 微晶片的影響見圖 4.11，同樣地隨其含量增加，於分析物遷移時間與螢光訊號的表现類似，為配合電泳分離之效率，及減少界面活性劑在微通道中生成氣泡的機會，選擇以 2 mM SDS 為 PDMS 和 PDMS(O<sub>2</sub>)二種微晶片的分析條件。

#### 4.8 外加分離電場對微晶片電泳分離之影響



電泳分析中所施加的電場大小直接影響了理論板數的多寡，進一步表現於遷移時間、分析效率、解析度等各項參數上。由圖 4.12 可發現：以 200 V/cm 為最適化條件。當電場超過 300 V/cm，因焦耳熱效應顯著，不均勻的溫度梯度和局部的黏度變化，從而引起區帶變形，導致分離效果不佳，並於微通道中易有氣泡阻塞，若電場降至 150 V/cm，雖然可以消除焦耳熱與氣泡的影響，但在低電場下，樣品於微流道中停留的時間加長，其擴散效應也就愈明顯，從而造成分析物波峰變寬，分離效率及解析能力亦因此下降了。

#### 4.9 微晶片電泳分離之再現性

以夾具(II)進行可逆式貼合的 Hybrid 和 PDMS 微晶片組裝，優點較不可逆式結合操作簡易，不需要額外的儀器設備(氧氣電漿儀)，

當微流道被粒子堵塞時，更能將晶片拆卸清洗，利用有機溶劑如甲醇、乙醇或去離子水即可達到清洗的效果[18,43,70]，延長了晶片的使用壽命(lifetime)。以此探討可逆式貼合之 PDMS 微晶片 day-to-day 間的分離穩定性，由圖 4.13 可見再現性甚佳，其中 FITC 與 Fluorescein 之遷移時間相對標準偏差(relative standard deviation, RSD)各為 0.49%、0.75%。

#### 4.10 不同微流道寬度於電泳分析之探討

利用兩片皆為 PDMS 組成之微晶片，比較 50  $\mu\text{m}$ 、75  $\mu\text{m}$ 、100  $\mu\text{m}$  三種線寬對電泳分析的影響。結果如圖 4.14 所展示，相關數值則見表 4.2，增加線寬使得注射樣品體積變大，直接提升了訊號強度和波峰面積，但隨微流道變寬，進樣量增多及焦耳熱效應趨於明顯，也因此降低了分離效率及解析度。

另外，如 4.6 章節描述之故，此以玻璃光罩之矽模板所灌製出的 50  $\mu\text{m}$  PDMS 微晶片，比較 Hybrid 晶片與 PDMS 晶片於電泳分離的效能，結果見圖 4.15 與表 4.3，由圖譜和數據顯示於 Hybrid 微晶片之分析物遷移時間較快，由圖 4.2 推測為其電滲流較大之故，而不論是在半峰寬、分離效率及解析度上，Hybrid 微晶片的表現均比單一 PDMS 組成差，原因應是混成晶片之兩者基板性質不同，形成不均勻的表面電荷密度(nonuniformity of surface charge density)，導致樣品區帶的分散(dispersion)，而觀察到分析物波峰變寬的現象，進一步影響各項電泳分析之能力[99]。

#### 4.11 兩種夾具對螢光訊號之影響

二種夾具設計最大差別為上蓋偵測點附近之圓型挖空部分，本實驗以經電漿處理形成不可逆結合的 PDMS(O<sub>2</sub>)微晶片，探討夾具對訊號強度的影響程度。首先，利用夾具(II)觀察緩衝溶液中有無添加 SDS 對電泳分析的影響如圖 4.16 (A)、(B)，發現與此章節之 4.2 部分所得的結論相同，SDS 確實在提高靈敏度上扮演著非常重要的角色。

圖 4.17 則顯現出兩種夾具於螢光訊號上的差異，經過計算後使用夾具(II)會約有 40% 的雷射光源強度損失，推測其原因來自於厚度 5 mm 之上蓋結構，導致光源的散射情形相對提高，降低了實質用以激發分析物的雷射功率，而這樣散射的現象更進一步增加了聚焦光源於微流道之困難度，疊加影響即為得到變小的螢光訊號值。縱然如此，在實驗可接受的範圍下，夾具(II)於可逆式貼合 Hybrid 和 PDMS 微晶片之應用上功不可沒，仍具有相當大程度的貢獻。



#### 4.12 三種 FITC 衍生化胺基酸之微晶片電泳分析

經衍生反應後的胺基酸產物以 10 mM pH 8.2 的四硼酸鈉(Borate)緩衝溶液稀釋 500 倍，換算其濃度為 4  $\mu$ M。利用夾具(II)夾合經玻璃光罩造模灌製所得內徑為 50  $\mu$ m 的 PDMS，於添加有 2 mM SDS 的 10 mM pH 8.2 四硼酸鈉緩衝溶液中，進行微晶片電泳分離，偵測結果如圖 4.18 所示。

依據各分析物結構(圖 3.8 (a))，在鹼性條件下，Arg 屬鹼性胺基酸且帶有正電荷，因此於圖譜中訊號峰最先出現，同理得証，Asp 為酸性胺基酸並具有負電荷，所以其波峰最晚出現，而胺基酸中最基本結構的 Gly 遷移時間則介於兩者之間。圖 4.18 (A)採雙 T(300  $\mu$ m)之樣品注入方式，圖 4.18 (B)則為十字(50  $\mu$ m)注射，估計其靈敏度差異平均約為 2 倍左右，顯示雙 T 樣品注射方法確實可有效降低電泳分析

的偵測極限。

#### 4.13 結論

本研究以最簡單且最經濟的熱壓法及灌注成型法個別製作 PMMA 和 PDMS 晶片，根據不同的需求，結合兩種夾具的使用，提供各類型微晶片快速測試之平台。於實驗中發現這類型高分子基材的微晶片，其流道表面疏水性質高，導致電滲流相對較小且不穩定，亦十分容易有樣品吸附的問題。若在緩衝溶液內添加 SDS 界面活性劑，以此對流道管壁形成動態塗佈修飾，或是利用氧氣電漿進行氧化處理，均可提升微晶片表面之親水性質，並維持電泳實驗所需的電滲流驅動力，幫助順利導入樣品、溶劑等流體，配合雷射誘發螢光偵測法應用於二種螢光染料之分析，結果呈現良好的分離效果和再現性，對增加分析物靈敏度上也有很大的貢獻。最後應用於分析三種 FITC 衍生胺基酸，在添加有 2 mM SDS 的 10 mM pH 8.2 Borate 緩衝溶液，施予外加電場為 200 V/cm，可成功於 200 秒內達到不錯的分離效果。預期未來以這些製程方便且成本低廉的微流體元件，應有助於可拋棄型電泳用微晶片之量產技術與可攜帶型微分析系統之發展。



## 五、參考資料

1. Manz, A., Graber, N., Widmer, H. M., *Sens. Actuators B* 1990, B1, 244.
2. Manz, A., Fettinger, J. C., Verpoorte, E., Ludi, H., Wider, H. M., Harrison, D. J., *Anal. Chem.* 1991, 10, 144.
3. Fletcher, P. D. I., Haswell, S. J., Pombo-Villar, E., Warrington, B. H., Watts, P., Wong, S. Y. F., Zhang, X., *Tetrahedron* 2002, 58, 4735.
4. Krenkova, J., Foret, F., *Electrophoresis* 2004, 25, 3550.
5. Dolnik, V., Liu, S., Jovanovich, S., *Electrophoresis* 2000, 21, 41.
6. Belder, D., Ludwig, M., *Electrophoresis* 2003, 24, 2422.
7. Harrison, D. J., Manz, A., Fan, Z., Ludi, H., Wider, H. M., *Anal. Chem.* 1992, 64, 1926.
8. Effenhauser, C. S., Manz, A., Wider, H. M., *Anal. Chem.* 1993, 65, 2637.
9. Fan, Z., Harrison, D. J., *Anal. Chem.* 1994, 66, 177.
10. Jacobson, S. C., Hergenröder, R., Koutny, L. B., Ramsey, J. M., *Anal. Chem.* 1994, 66, 2369.
11. Jacobson, S. C., Moore, A. W., Ramsey, J. M., *Anal. Chem.* 1995, 67, 2059.
12. Jacobson, S. C., Ramsey, J. M., *Electrophoresis* 1995, 16, 481.
13. Sia, S. K., Whitesides, G. M., *Electrophoresis* 2003, 24, 3563.
14. Becker, H., Gärtner, C., *Electrophoresis* 2000, 21, 12.
15. Rossier, J., Reymond, F., Michel, P. E., *Electrophoresis* 2002, 23, 858.
16. Xu, J. D., Locascio, L., Gaitan, M., Lee, S. C., *Anal. Chem.* 2000, 72, 1930.
17. Henry, A. C., Tutt, T. J., Galloway, M., Davidson, Y. Y., McWhorter, C. S., Soper, S. A., McCarley, R. L., *Anal. Chem.* 2000, 72, 5331.
18. Effenhauser, C. S., Bruin, G. J. M., Paulus, A., Ehrat, *Anal. Chem.* 1997, 69, 3451.

19. Duffy, D. C., McDonald, J. C., Schueller, O. J. A., Whitesides, G. M., *Anal. Chem.* 1998, 70, 4974.
20. Anderson, J. R., Chiu, D. T., Jackman, R. J., Cherniavslaya, O., McDonald, J. C., Wu, H., Whitesides, S. H., Whitesides, G. M., *Anal. Chem.* 2000, 72, 3158.
21. Roberts, M. A., Rossier, J. S., Bercier, P., Girault, H., *Anal. Chem.* 1997, 69, 2035.
22. Locasico, L. E., Perso, C. E., Lee, C. S., *J. Chromatogr. A* 1999, 857, 275.
23. Martynova, L., Locascio, L. E., Gaitan, M., Kramer, G. W., Christensen, R. G., MacCrehan, W. A., *Anal. Chem.* 1997, 69, 4783.
24. McCormick, R. M., Nelson, R. J., Allonso-Amigo, M. G., Benvegna, J., Hoopwer, H. H., *Anal. Chem.* 1997, 69, 2626.
25. Becker, H., Dietz, W., *Proc. SPIE* 1998, 177, 3515.
26. Ehrfeld, W., Munchmeyer, D., *Nucleic Instrum. Methods A* 1991, 302, 523.
27. Harrison, D. J., Fan, Z. H., Seiler, K., Manz, A., Widermer, H. M., *Anal. Chim. Acta* 1993, 283, 361.
28. Chein, R. L., Burgi, D. S., *J. Chromatogr.* 1991, 559, 141.
29. VanderMoolen, J. N., Poope, H., Smit, H. C., *Anal. Chem.* 1997, 69, 4220.
30. Uchiyama, K., Nakajima, H., Hobo, T., *Anal. Bioanal. Chem.* 2004, 379, 375.
31. Woolley, A. T., Lao, K., Glazer, A. N., Mathies, R. A., *Anal. Chem.* 1998, 70, 684.
32. Xue, A., Dunayevskiy, M., Foret, F., Karger, B. L., *Rapid Commun. Mass Spectrum* 1997, 11, 1253.
33. Ramsey, R. S., Ramsey, J. M., *Anal. Chem.* 1997, 69, 1171.
34. Glassman, E., Kuo, J. E., Zare, R. N., *Science* 1985, 67, 813.

- 35.Mathies, R. A., Huang, X. C., *Nature* 1992, 359, 167.
- 36.Chiem, N., Harrison, D. J., *Anal.Chem.*1997, 69, 373.
- 37.Huang, X. J., Pu, Q. S., Fang, Z. L., *Analyst* 2001, 126, 281.
- 38.Liu, B. F., Ozaki, M., Ustsumi, Y., Hattori, T., Terabe, S.,  
*Anal.Chem.*2003, 75, 36.
- 39.Kimura, H., Sekiguchi, K., Kitamori, T., Sawada, T., *Anal. Chem.*  
2001, 73, 4333.
- 40.Tokeshi, M., Minagawa, T., Uchiyama, K., Hibara, A., Sato, K.,  
Hisamoto, H., Kitamori, T., *Anal. Chem.* 2002, 74, 1565.
- 41.Uchiyama, K., Hibara, A., Sato, K., Hisamoto, H., Tokeshi, M.,  
Kitamori, T., *Electrophoresis* 2003, 24, 179.
- 42.Kitamori, T., Tokeshi, M., Hibara, A., Sato, K., *Anal. Chem.* 2004, 53  
A.
- 43.Wang, J., Tian, B., Sahlin, E., *Anal. Chem.* 2000, 72, 3196.
- 44.Martin, R. S., Gawron, A. J., Lunte, S. M., Herry, C. S., *Anal. Chem.*  
2002, 74, 3670.
- 45.Wang, J. Pumera, M., Chatrashi, M. P., Escarpa, A., Konrad, R.,  
Griebel, A., Dorner, W., Lone, H., *Electrophoresis* 2002, 23, 596.
- 46.Zeng, Y., Chen, H., Pang, D. W., Cheng, J. K., *Anal. Chem.* 2002, 74,  
2441.
- 47.Figeys, D., Ning, Y. B., Aebersold, R., *Anal. Chem.* 1997, 69, 3151.
- 48.Xu, N. X., Lin, Y. H., Hofstadler, S. A., Matson, D., Call, C. J., Smith,  
R. D., *Anal. Chem.* 1998, 70, 3553.
- 49.Lazar, I. M., Ramsey, R. S., Sundberg, S., Ramsey, J. M., *Anal. Chem.*  
1999, 71, 3627.
- 50.Foret, F., Liu, H., Zhang, B., Felten, C., Karger, B. L., in: Harrison, D.  
J., Van Den Berg, A. (Eds.), *Micro Total Analysis Systems '98*, Kluwer  
Academic Publishers, Boston, MA 1998, pp. 35.
- 51.Walker, P. A., Morris, M. D., Burns, M. A., Johnson, B. N., *Anal.*

- Chem.* 1998, 70, 3766.
52. Effenhauser, C. S., Paulus, A., Manz, A., Widmer, H. M., *Anal. Chem.* 1994, 66, 2949.
53. Ogura, M., Agata, Y., Watanabe, K., McCormick, R. M., Hamaguchi, Y., Aso, Y., Mitsuhashi, M., *Clin. Chem.* 1998, 44, 2249.
54. Woolley, A. T., Mathies, R. A., *Anal. Chem.* 1995, 67, 3676.
55. Liu, S. R., Shi, Y. N., Ja, W. W., Mathies, R. A., *Anal. Chem.* 1999, 71, 566.
56. Woolley, A. T., Hadley, D., Landre, P., Demello, A. J., Mathies, R. A., *Anal. Chem.* 1996, 68, 4081.
57. Woolley, A. T., Sensabaugh, G. F., Mathies, R. A., *Anal. Chem.* 1997, 69, 2181.
58. Cheng, J., Waters, L. C., Fortina, P., Hvichia, G., Jacobson, S. C., Ramsey, J. M., Kricka, L. J., Wilding, P., *Anal. Biochem.* 1998, 257, 101.
59. Dolnik, V., Liu, S., *J. Sep. Sci.* 2005, 28, 1994.
60. Efimenko, K., Wallace, W. E., Genzer, J. J., *Colloid Interface Sci.* 2002, 254, 306.
61. Hellmich, W., Regtmeier, J., Duong, T. T., Ros, R., Anselmetti, D., Ros, A., *Langmuir* 2005, 21, 7551.
62. Chen, L., Ren, J., Bi, R., Chen, D., *Electrophoresis* 2004, 25, 914.
63. Ren, X., Bachman, M., Sims, C., Li, G. P., Allbritton, N., *J. Chromatogr. B* 2001, 762, 117.
64. Stroock, A. D., Dertinger, S. K., Whitesides, G. M., Ajdari, A., *Anal. Chem.* 2002, 74, 5306.
65. Lee, G. B., Lin, C. H., Lee, K. H., Lin, Y. F., *Electrophoresis* 2005, 26, 4616.
66. Makamba, H., Kim, J. H., Lim, K., Park, N., Hahn, J. H., *Electrophoresis* 2003, 24, 3607.

67. Ocvirk, G., Munroe, M., Tang, T., Oleschuk, R., Westra, K., Harrison, D. J., *Electrophoresis* 2000, 21, 107.
68. Swinney, K., Bornhop, D. J., *Electrophoresis* 2002, 23, 613.
69. Erick, D., Sinton, D., Li, D. Q., *Lab Chip* 2003, 3, 141.
70. Kang, J., Yan, J., Qiu, H., Yin, X. B., Yang, X., Wang, E., *Talanta* 2005, 66, 1018.
71. García, C. D., Henry, C. S., *Anal. Chim. Acta* 2004, 508, 1.
72. Toth, A., Bertoti, I., Blazio, M., Banhegyi, G., Bongnar, A., Szaplanczay, P. J., *J. Appl. Polym. Sci* 1994, 52, 1293.
73. Fritz, J. L., Owen, M. J., *J. Adhesion* 1995, 54, 33.
74. Hu S., Ren, X., Bachman, M., Sims, C. E., Li, G. P., Allbritton, N. L., *Anal. Chem.* 2002, 74, 4117.
75. Hu, S., Ren, X., Bachman, M., Sims, C. E., Li, G. P., Allbritton, N. L., *Langmuir* 2004, 20, 5569.
76. Wu, D., Luo, Y., Zhou, X., Dai, Z., Lin, B., *Electrophoresis* 2005, 26, 211.
77. Lin, Y. W., Chang, H. T., *J. Chromatogr. A* 2005, 1073, 191.
78. Liu, Y. L., Fanguy, J. C., Bledsoe, J. M., Henry, C. S., *Anal. Chem.* 2000, 72, 5939.
79. Badal, M. Y., Wong, M., Chiem, N., Salimi-Moosavi, H., Harrison, D. J., *J. Chromatogr. A* 2002, 947, 277.
80. Ping, G., Zhu, B., Jabasini, M., Xu, F., Oka, H., Sugihara, H., Baba, Y., *Anal. Chem.* 2005, 77, 7282.
81. García, C. D., Dressen, B. M., Henderson, A., Henry, C. S., *Electrophoresis* 2005, 26, 703.
82. Nagata, H., Tabuchi, M., Hirano, K., Baba, Y., *Electrophoresis* 2005, 26, 2247.
83. Dou, Y. H., Bao, N., Xu, J. J., Meng, F., Chen, H. Y., *Electrophoresis*

- 2004, 25, 3024.
- 84.Lacher, N. A., Rooij, N. F., Verpoorte, E., Lunte, S. M., *J. Chromatogr. A* 2003, 1004, 225.
- 85.Mourzina, Y., Steffen, A., Kalyagin, D., Carius, R., Offenhäusser, A., *Electrophoresis* 2005, 26,1849.
- 86.Slenta, B. E., Penner, N. A., Regnier, F. E., *J. Chromatogr. A* 2002, 948, 225.
- 87.Papra, A., Bernard, A., Juncker, D., Larsen, N. B., Michel, B., Delamarche, E., *Langmuir* 2001, 77, 4090.
- 88.Lahann, J., Balcelis, M., Hang, L., Rodon, T., Jensen, K. P., Langer, T., *Anal. Chem.* 2003, 75, 2117.
- 89.Yang, T., Jung, S., Hang, L., Mao, H., Cremer, P. S., *Anal. Chem.* 2001, 73, 165.
- 90.Linder, V., Verpoorte, E., Thormann, W., de Rooij, N. F., Sigrist, H., *Anal. Chem.* 2001, 73, 4181.
- 91.Huang, X., Gorden, M. J., Zare, R. N., *Anal. Chem.* 1988, 60, 1837.
- 92.McDonald, J. C., Duffy, D. C., Anderson, J. R., Chiu, D. T., Wu, H., Schueller, O. J. A., Whitesdides, G. M., *Electrophoresis* 2000, 21, 27.
- 93.Hillborg, H., Tomczak, N., Oláh, A., Schönherr, H., Vancso, G. J., *Langmuir* 2004, 20, 785.
- 94.Ross, D., Johnson, T. J., Locascio, L. E., *Anal. Chem.* 2001, 73, 2509.
- 95.Zhang, Y., Bao, N., Yu, X. D., Xu, J. J., Chem, H. Y., *J. Chromatogr. A* 2004, 1057, 247.
- 96.Wheeler, A. R., Trapp, G., Trapp, O., Zare, R. N., *Electrophoresis* 2004, 25, 1120.
- 97.Wang, B., Abdulali-Kanji, Z., Horton, J. H., Oleschuk, R. D., *Langmuir* 2003, 19, 9792.
- 98.Xiao, D., Le, T. V., Wirth, M. J., *Anal. Chem.* 2004, 76, 2055.
- 99.Dou, Y. H., Bao, N., Xu. J. J., Chen, H. Y., *Electrophoresis* 2002, 23,

3558.

100.高培原，「微晶片電泳場放大樣品堆積方法之研究」國立交通大學，應用化學研究所碩士論文，民國九十三年四月。



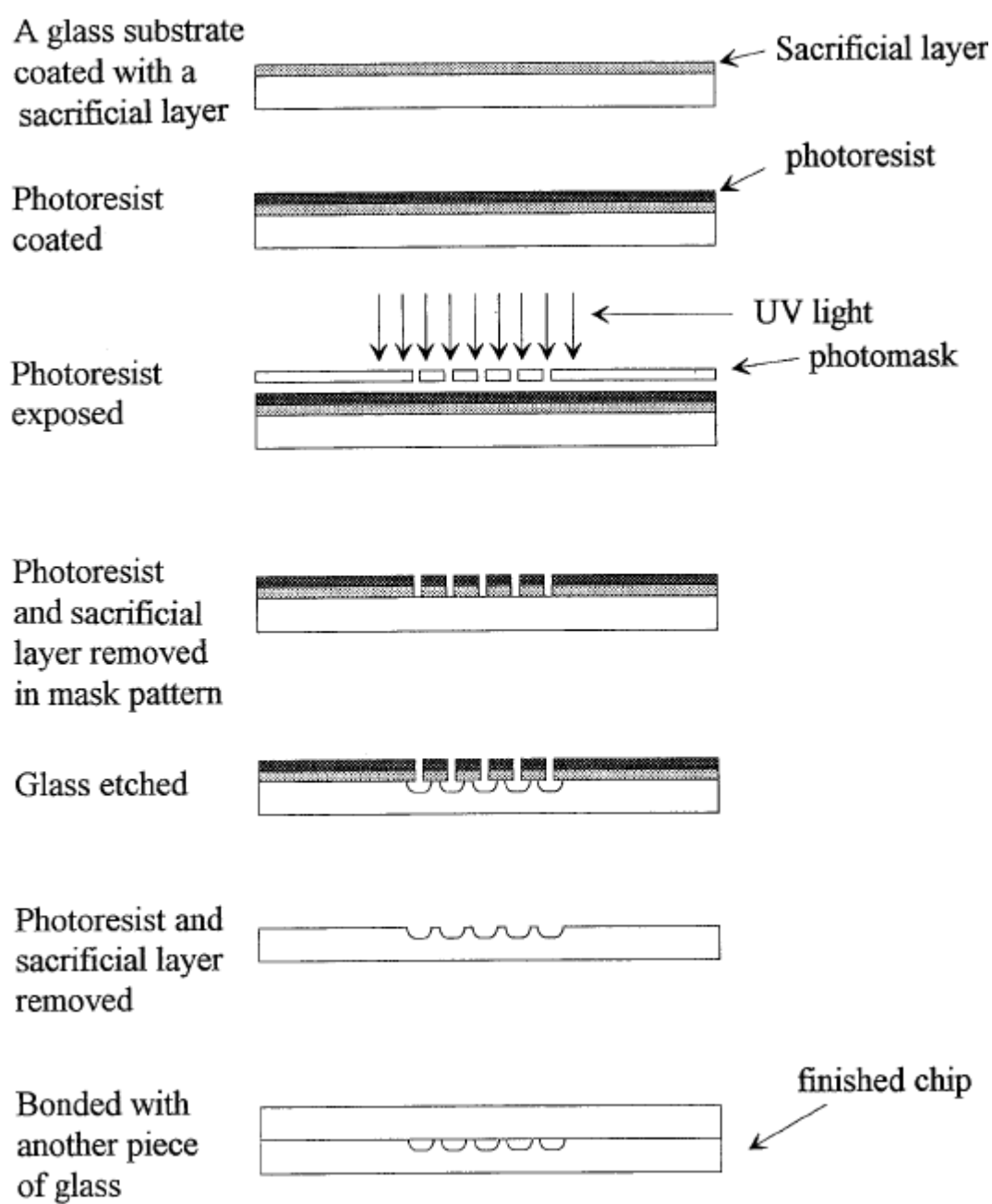


圖 1.1 製造玻璃微晶片之微顯影製程[5]。



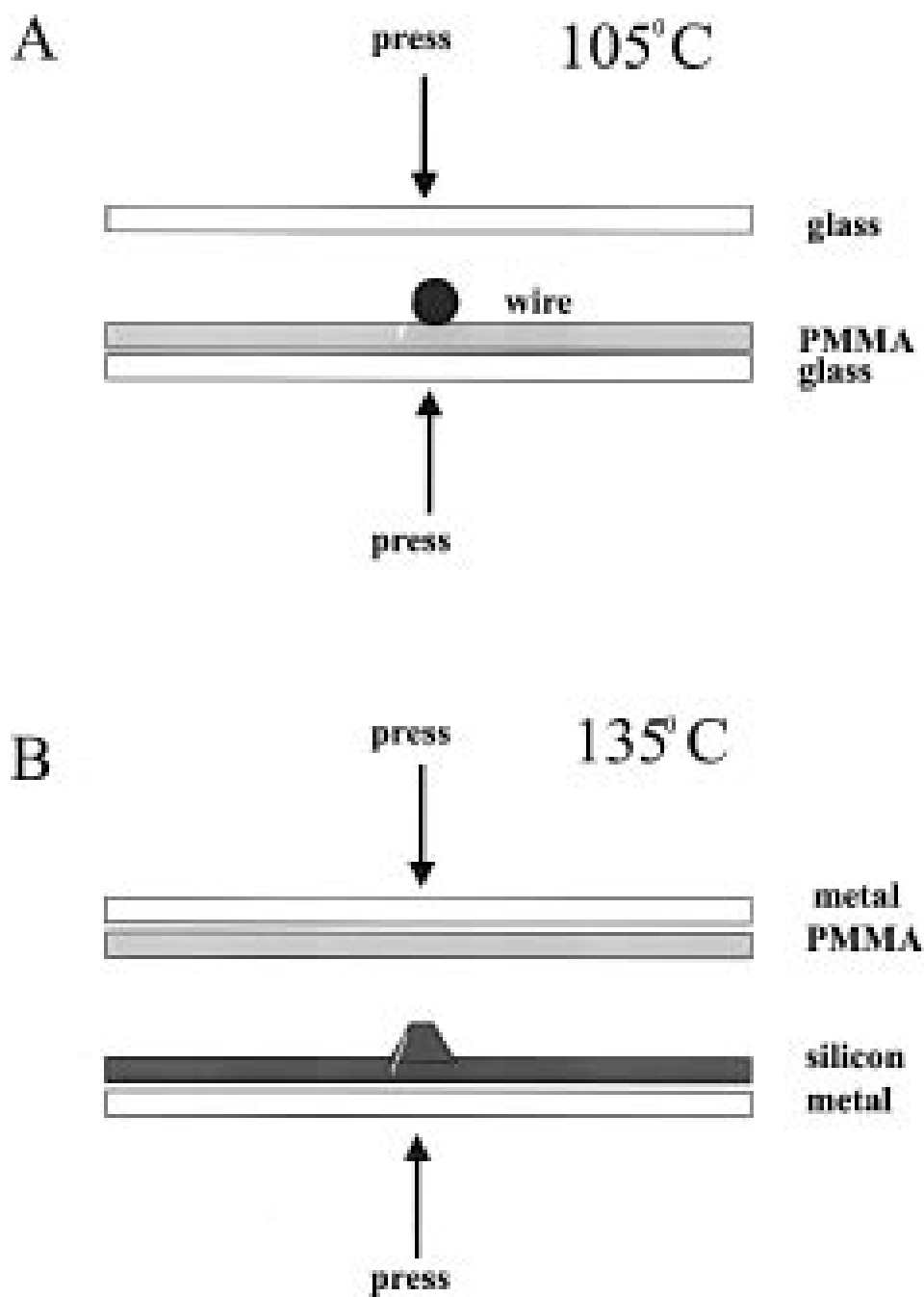
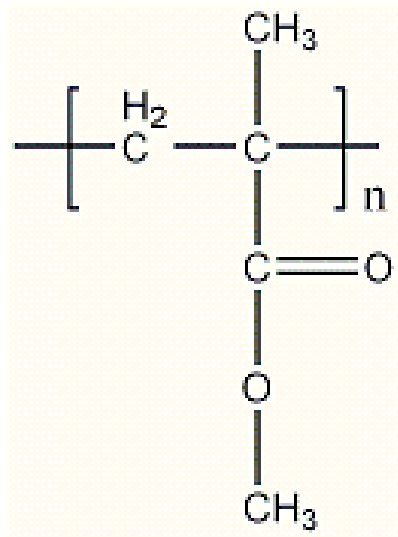
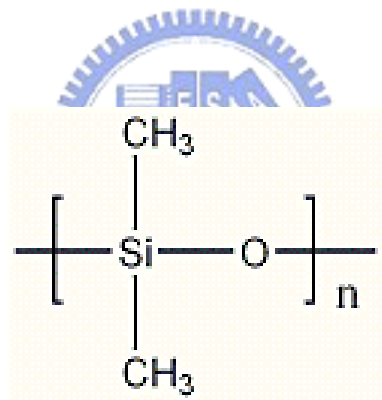


圖 1.2 兩種常見的熱印壓模法製程：(A) 金屬線熱壓法；(B) 矽模板熱壓法[23]。

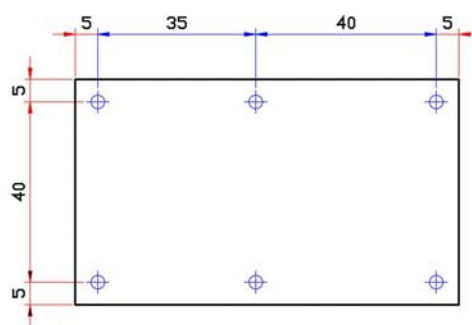
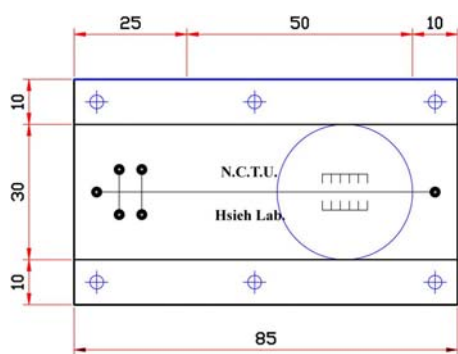


(a)

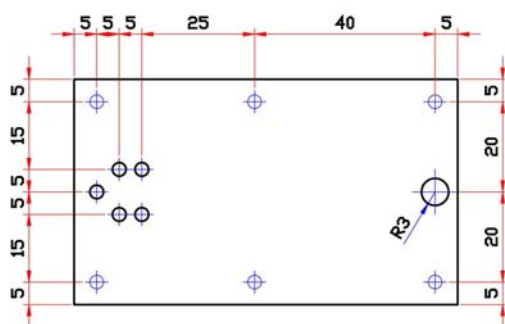


(b)

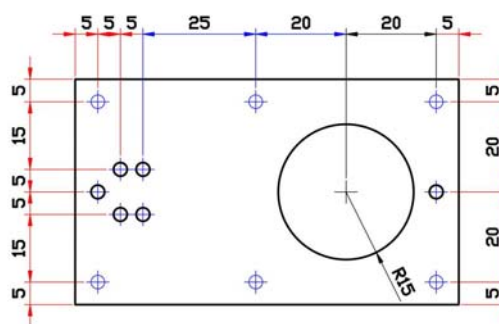
圖 2.1 高分子材料之單體化學結構：(a) PMMA；(b) PDMS。



Bottom plate

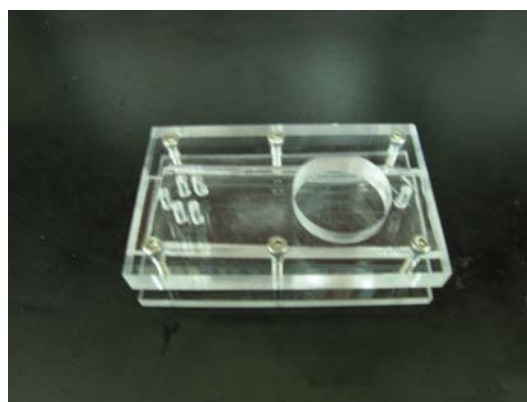
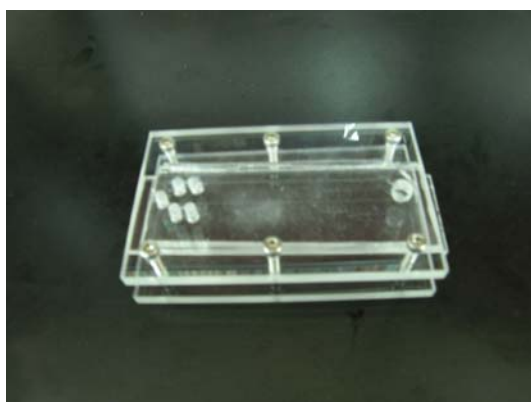


Cover plate (II)  
For LIF detection



Cover plate (I)  
For LIF detection

(A)



(B)

圖 2.2 兩種微晶片電泳/LIF 實驗用夾具：(A)設計圖；(B)實拍照。

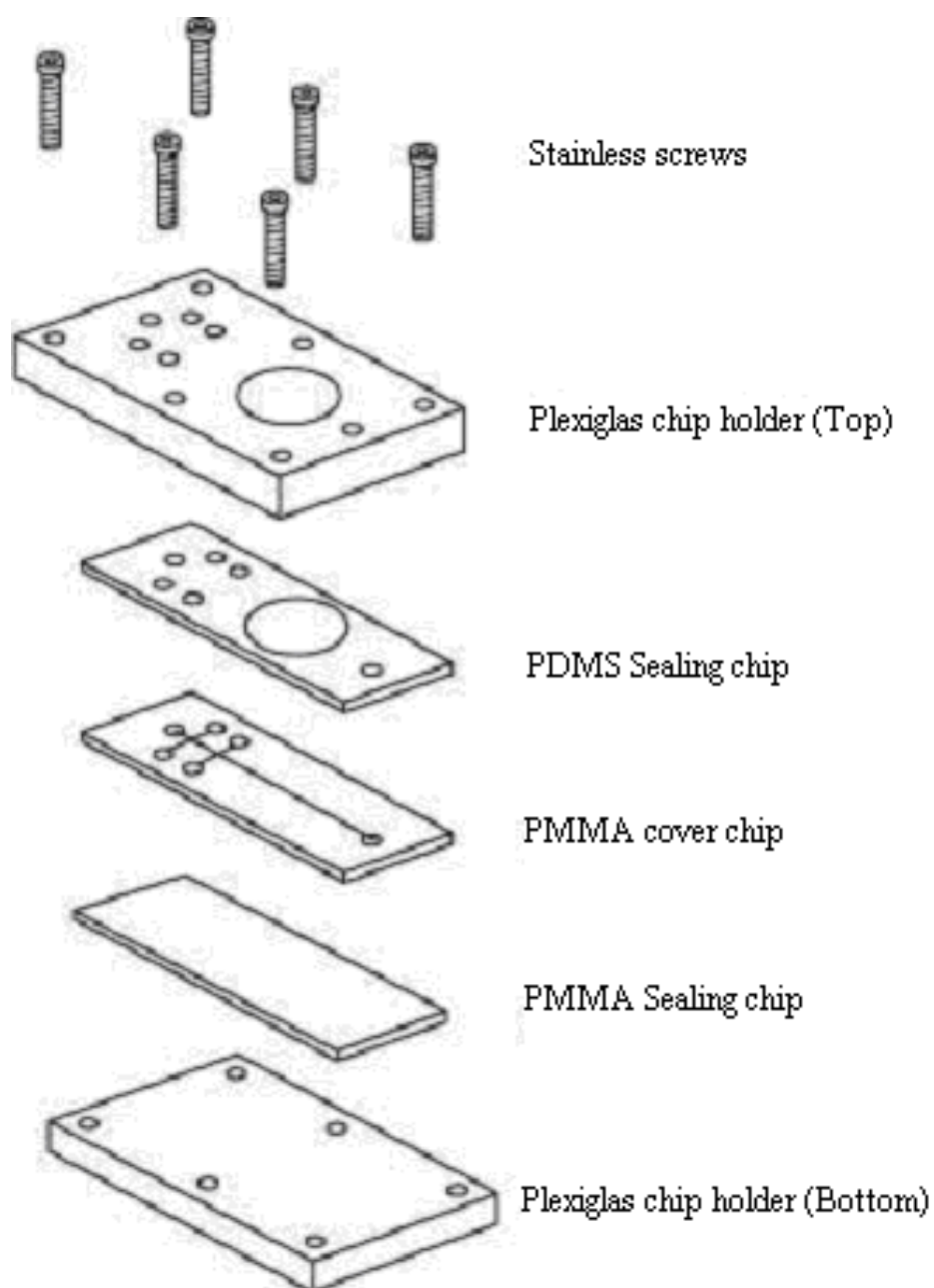


圖 2.3 夾具 I 型組裝簡圖。

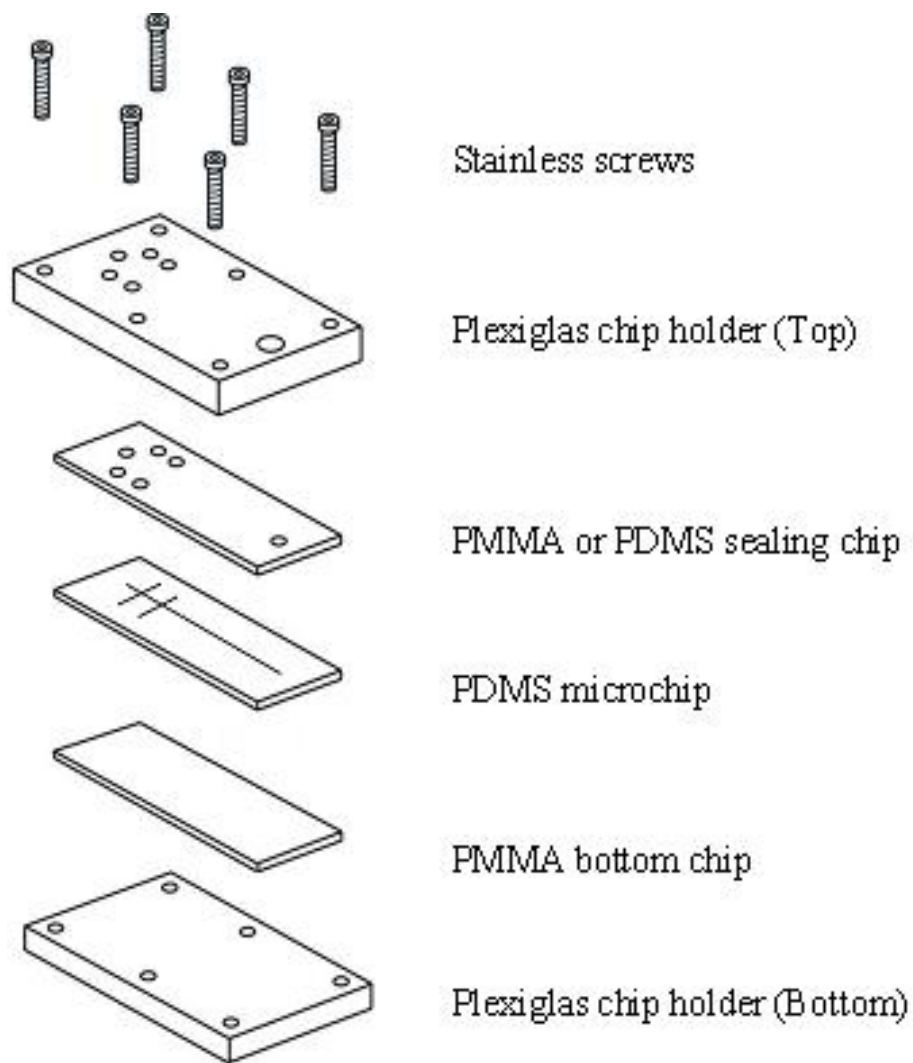
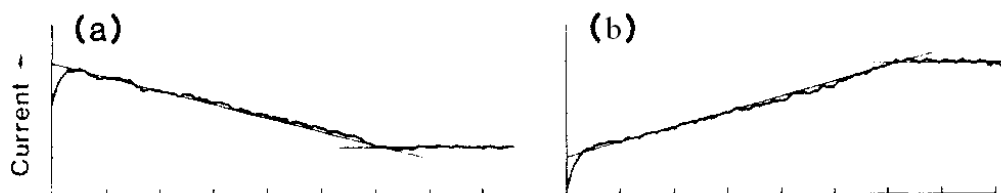
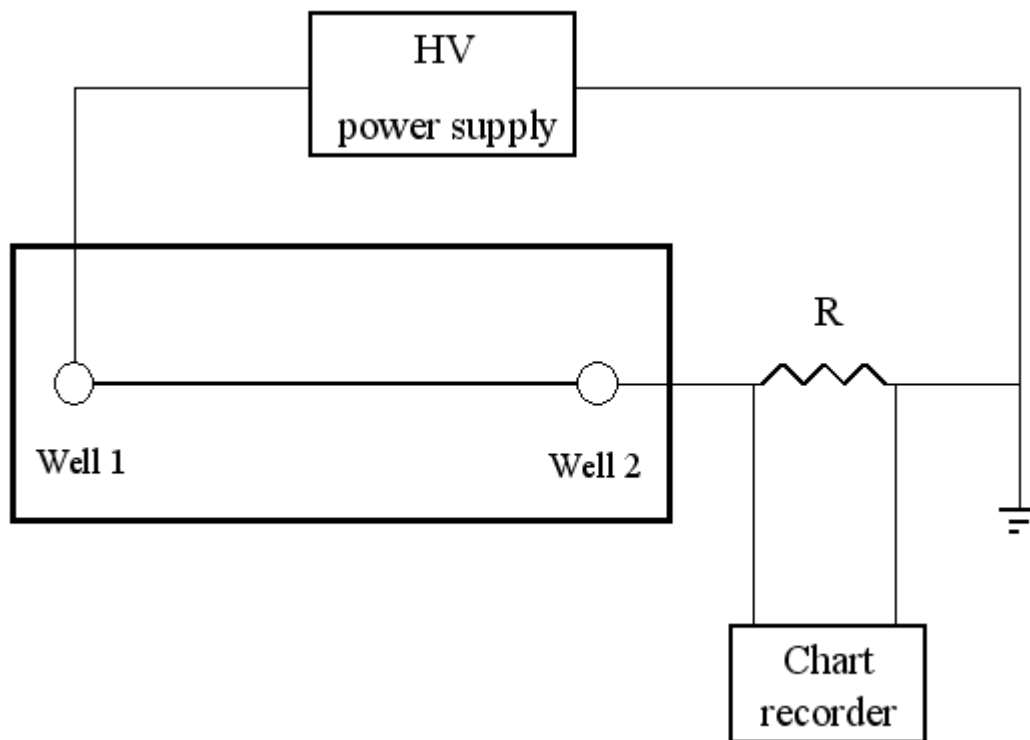


圖 2.4 夾具 II 型組裝簡圖。



(2)

圖 2.5 利用電流監測法[91]測定電滲流：(1) 裝置示意圖，(2) 電流變化圖：當(a) 低濃度取代高濃度緩衝溶液；(b) 高濃度取代低濃度緩衝溶液。

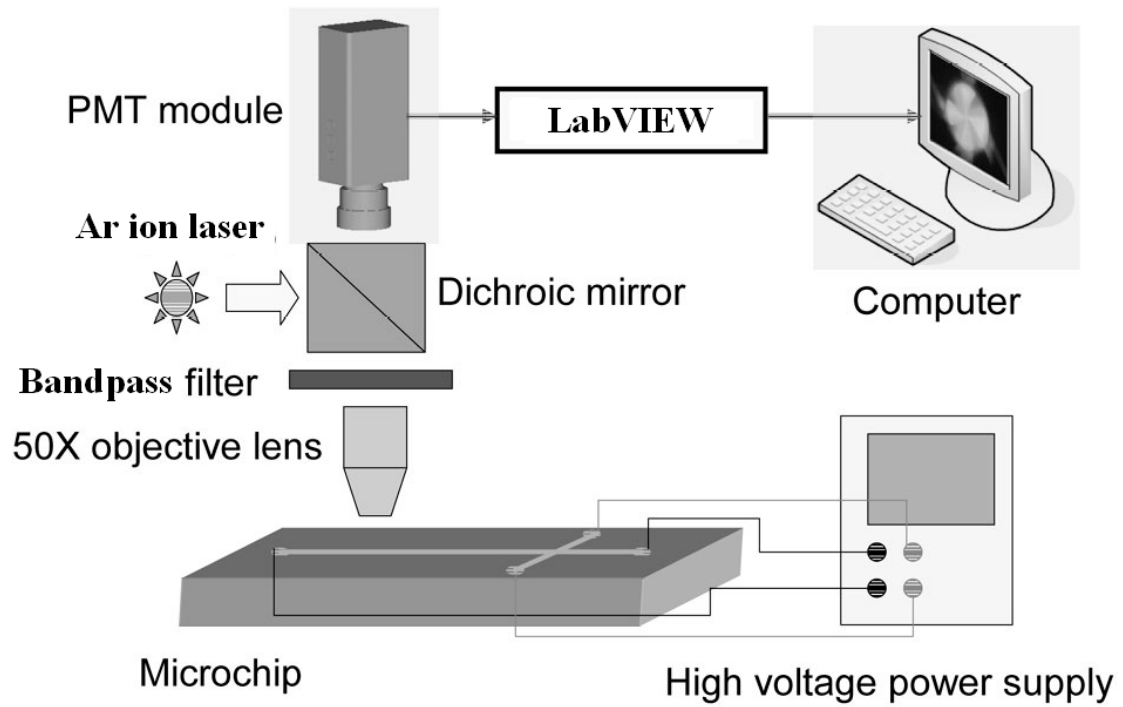
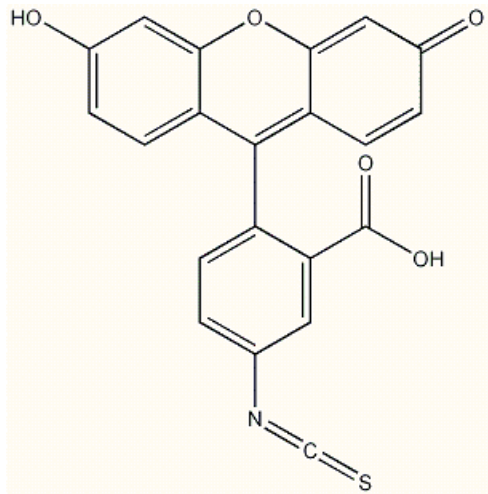
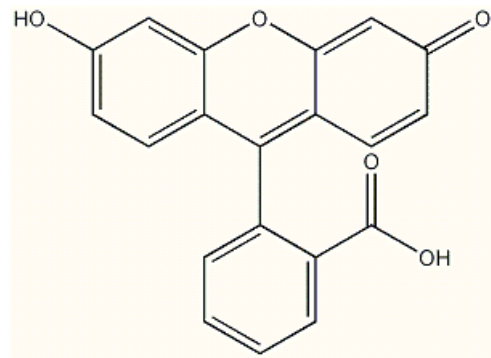


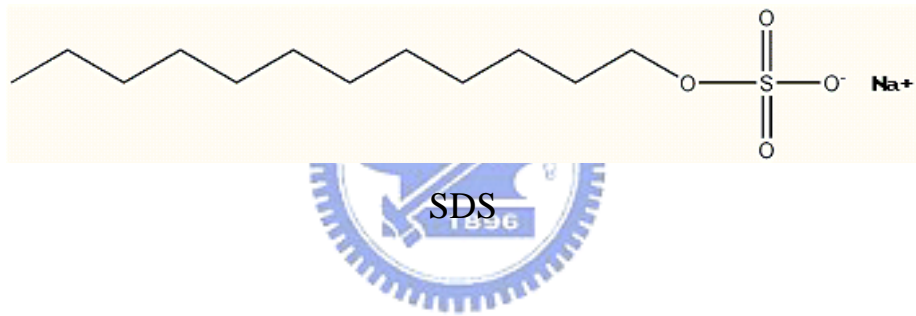
圖 3.1 自組裝微晶片電泳儀器架設示意圖。



FITC



Fluorescein



TTTS

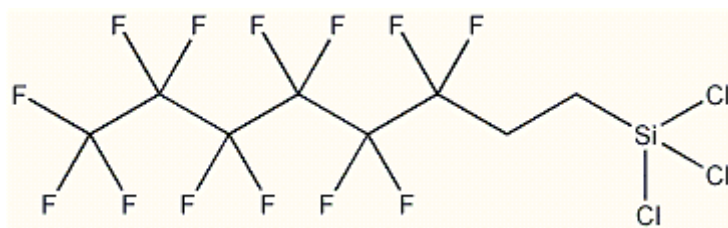
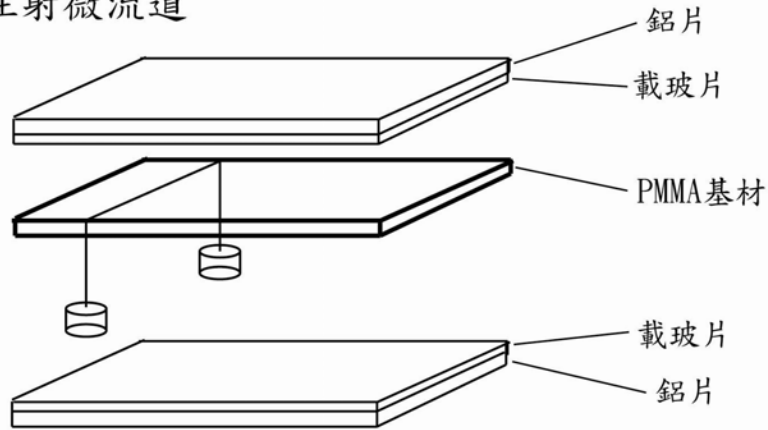


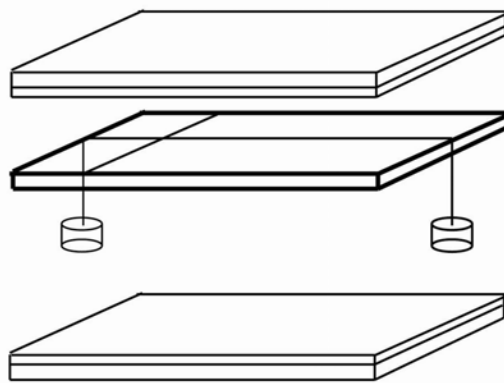
圖 3.2 實驗之分析物、SDS 與 TTTS 化學結構式。



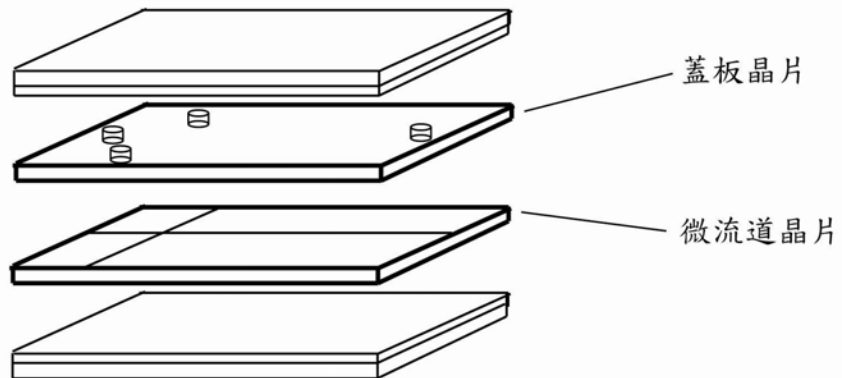
(1) 壓製注射微流道



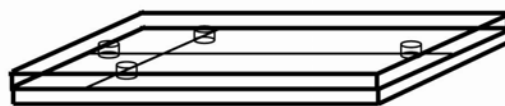
(2) 壓製分離微流道



(3) 微流道晶片與蓋板之熱壓合

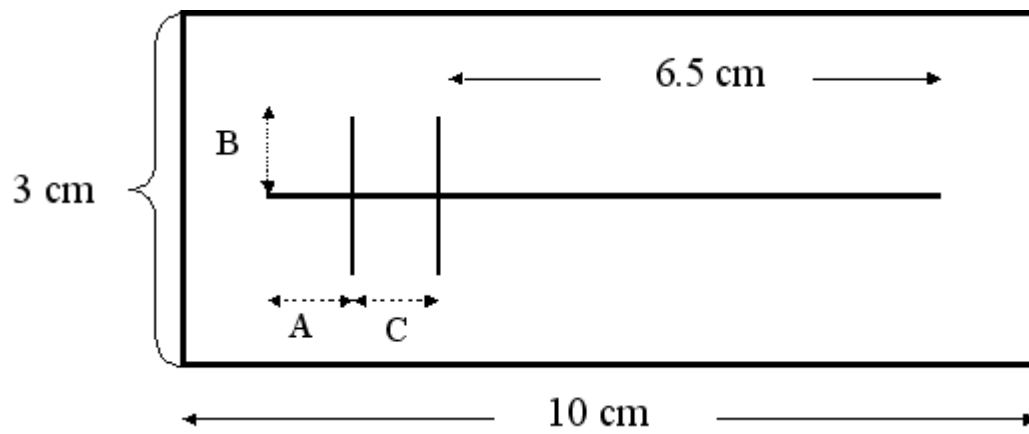


(4) 整合完成之微流體元件



微流體元件

圖 3.3 PMMA 電泳晶片微流道製程示意圖。



$$A = B = C = 0.5 \text{ cm}$$

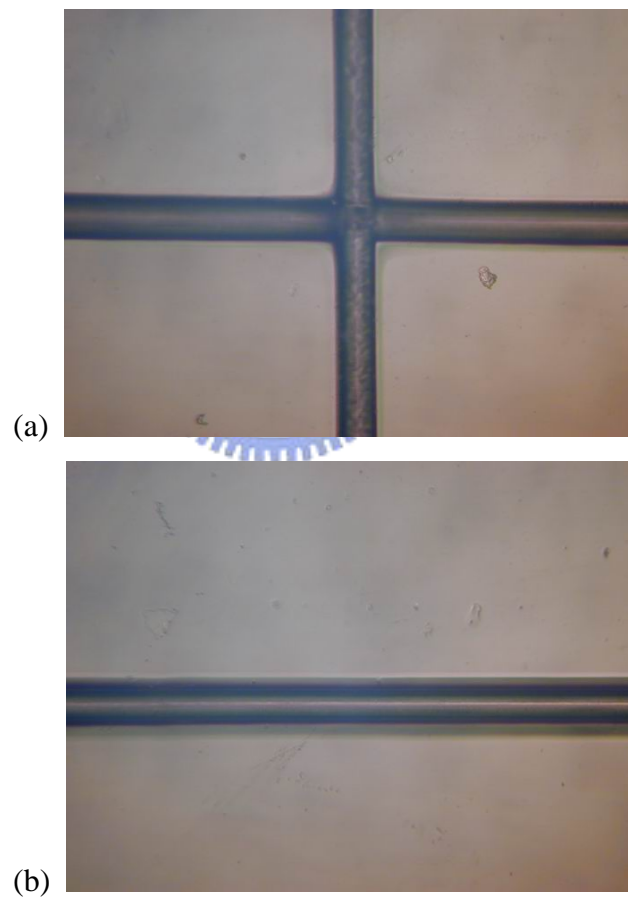
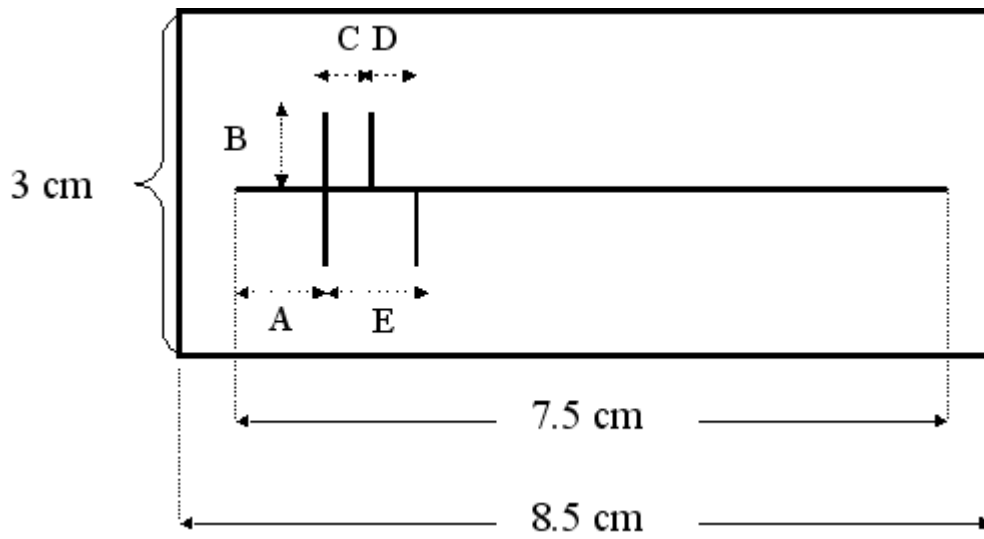


圖 3.4 PMMA 微晶片尺寸、流道規格。

熱壓法製成之微流道照片：(a) 交叉處；(b) 分離流道中段。



$$A = B = 0.5 \text{ cm}$$

| Width ( $\mu\text{m}$ ) | Length ( $\mu\text{m}$ ) |      |      |
|-------------------------|--------------------------|------|------|
|                         | C                        | D    | E    |
| 50                      | 300                      | 550  | 800  |
| 75                      | 300                      | 525  | 750  |
| 100                     | 1500                     | 2100 | 3500 |

圖 3.5 PDMS 微晶片尺寸、流道規格。

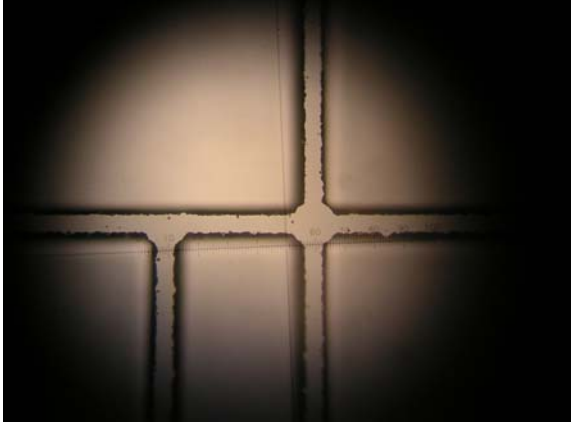
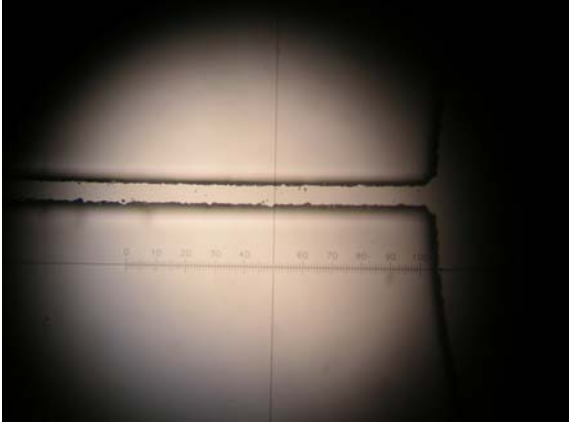

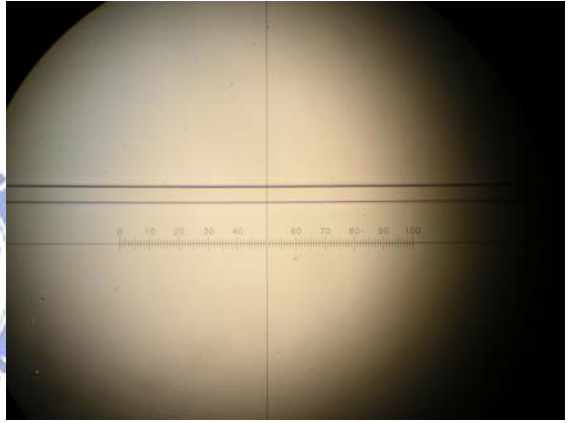
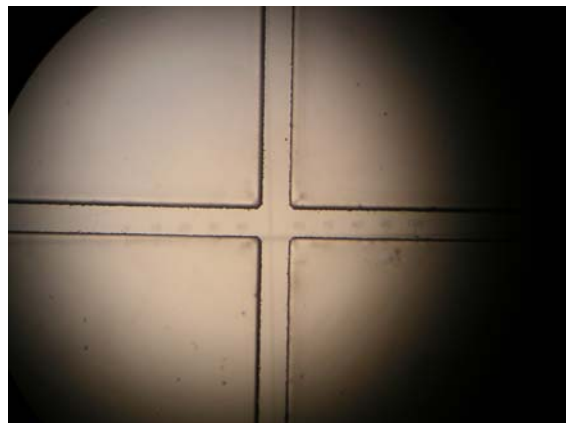
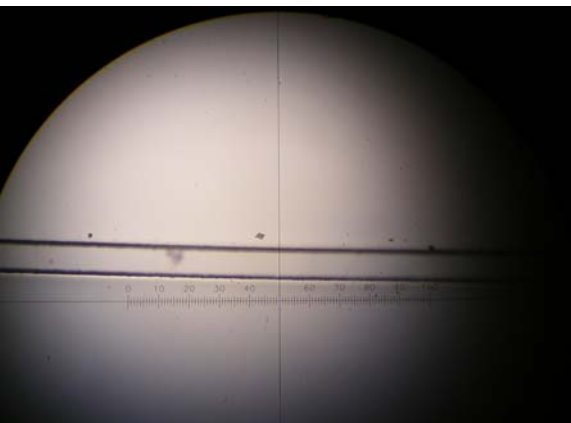
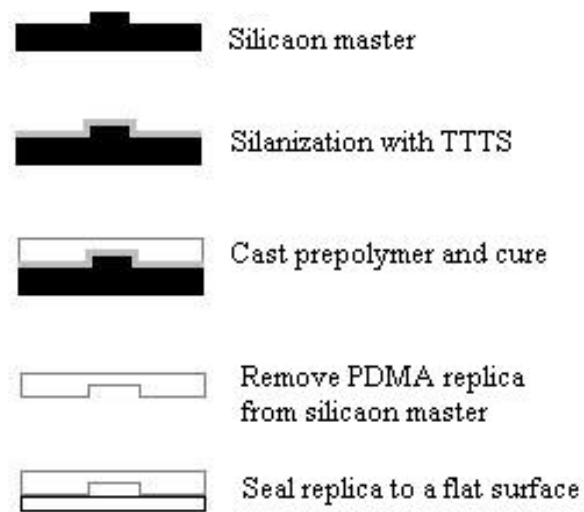
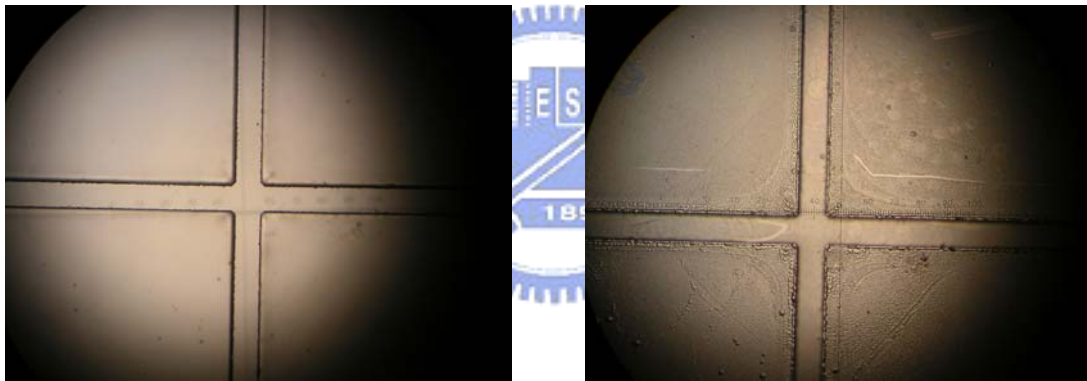
|                            |  | Channel                                                                             |                                                                                      |
|----------------------------|--|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Width<br>( $\mu\text{m}$ ) |  | cross                                                                               | separation                                                                           |
| 50<br>(plastic<br>mask)    |  |    |    |
| 50<br>(glass<br>mask)      |  |   |   |
| 100<br>(plastic<br>mask)   |  |  |  |

圖 3.6 不同線寬矽凸模模板之微流道照片。顯微鏡條件：50  $\mu\text{m}$  (plastic mask), 20 倍物鏡；50  $\mu\text{m}$  (glass mask), 10 倍物鏡；100  $\mu\text{m}$  (plastic mask), 10 倍物鏡。

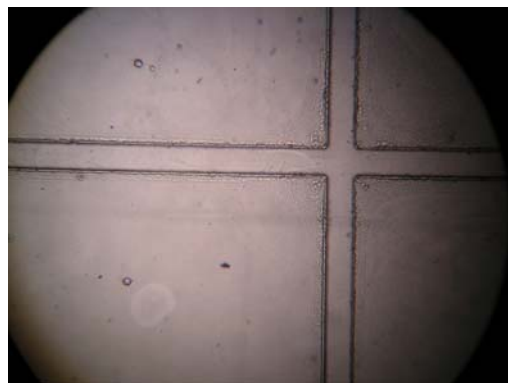


(A)



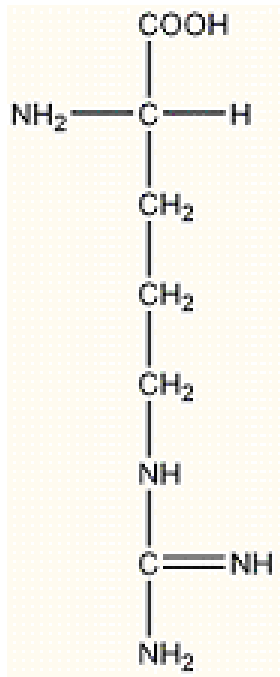
(B)

(C)

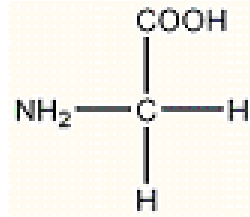


(D)

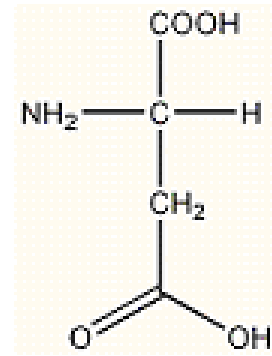
圖 3.7 (A) PDMS 晶片製作流程圖，微流道(100  $\mu\text{m}$ )照片；(B) 蒸鍍 TTTS 後之矽模板；(C) 脫模後之矽模板；(D) 完成的 PDMS 微流道。



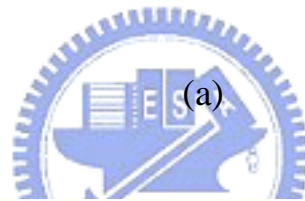
Arginine, Arg



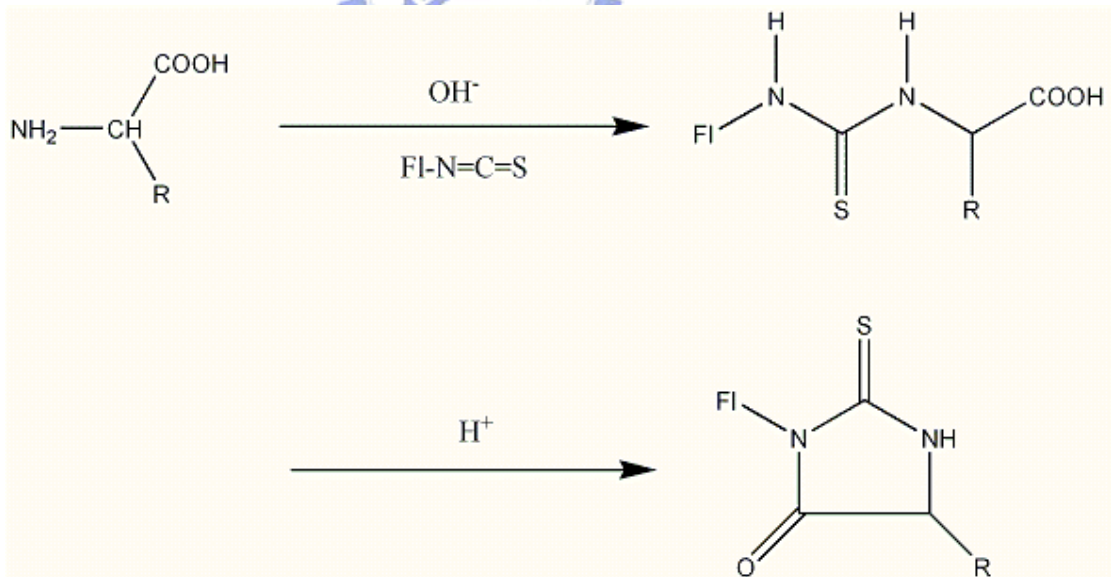
Glycine, Gly



Aspartic acid, Asp

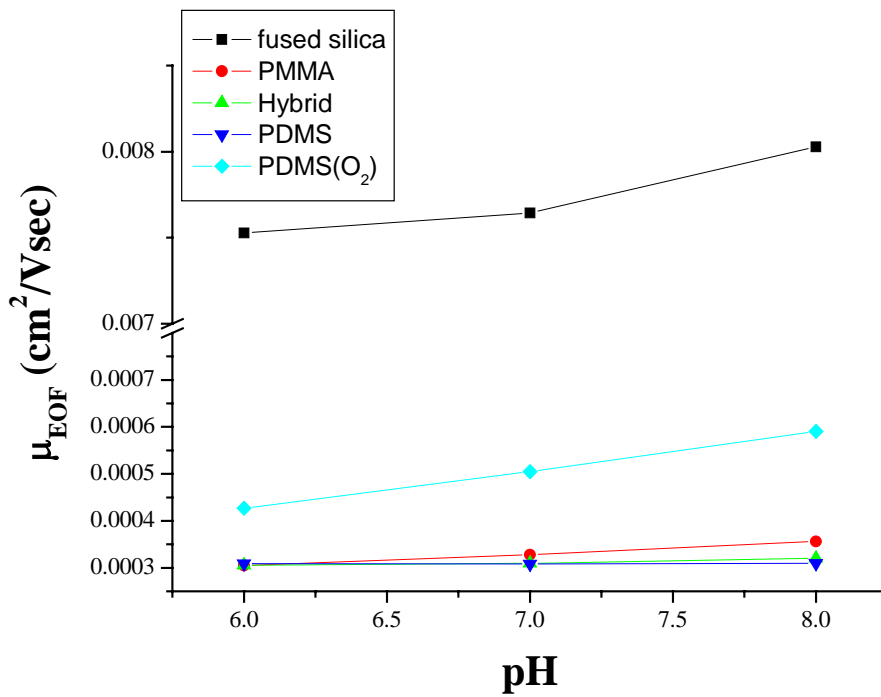


(a)

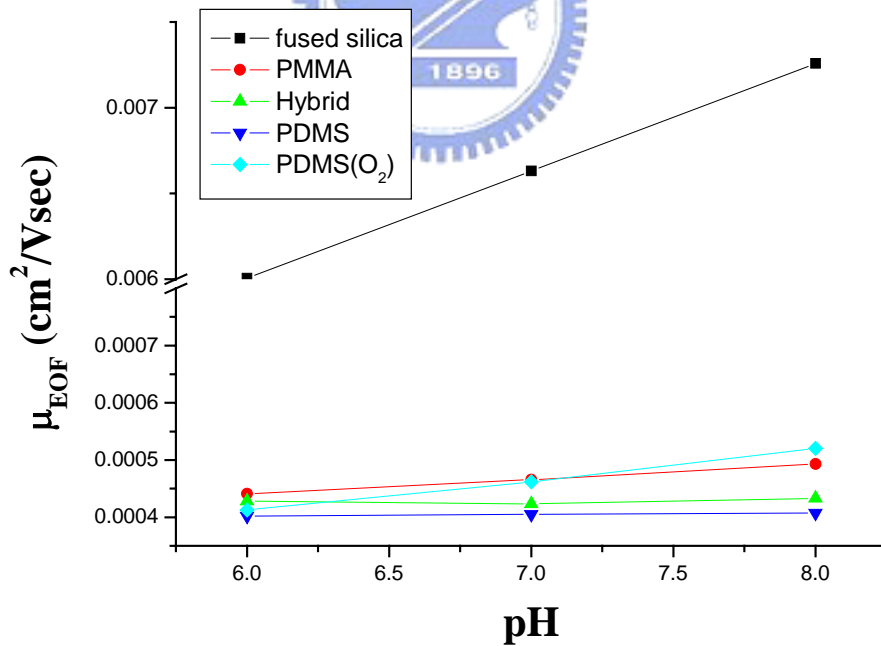


(b)

圖 3.8 (a) 胺基酸結構式；(b) 胺基酸與 FITC 之衍生反應。



(A)



(B)

圖 4.1 緩衝溶液 pH 值對電滲流移動率之影響：(A) 未添加 SDS；(B) 添加 5 mM SDS。電泳條件：由 20 mM 取代 15 mM 磷酸緩衝溶液。

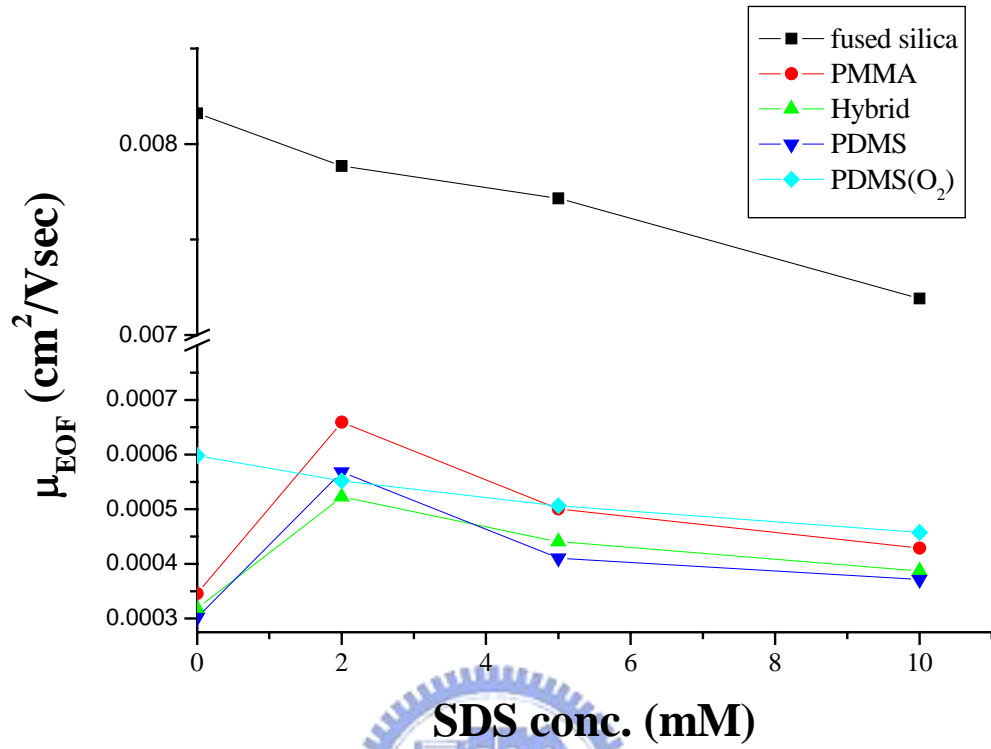
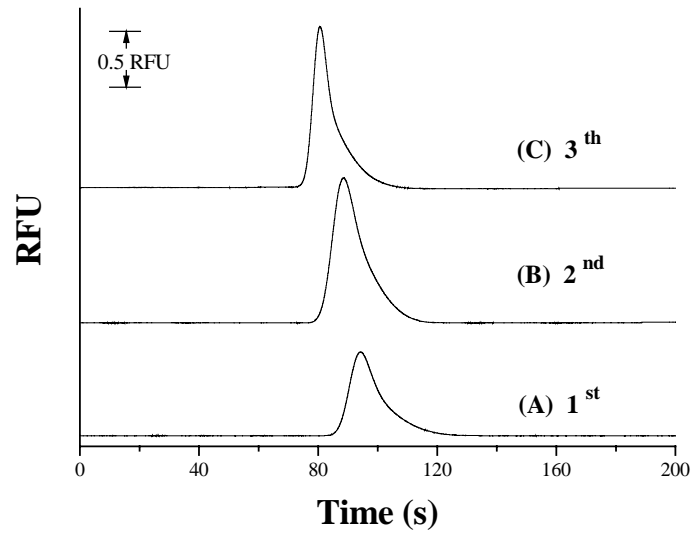
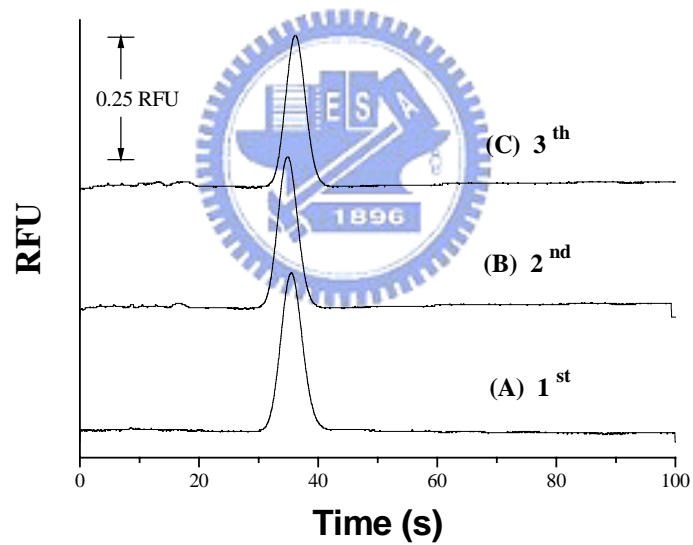


圖 4.2 緩衝溶液內添加之 SDS 濃度對電滲流移動率之影響。電泳條件：由 10 mM 取代 5 mM Borate buffer pH 8.2。



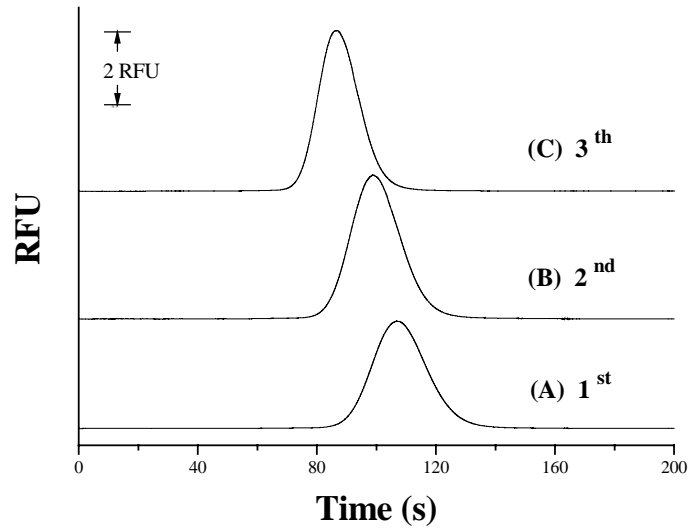


(1)

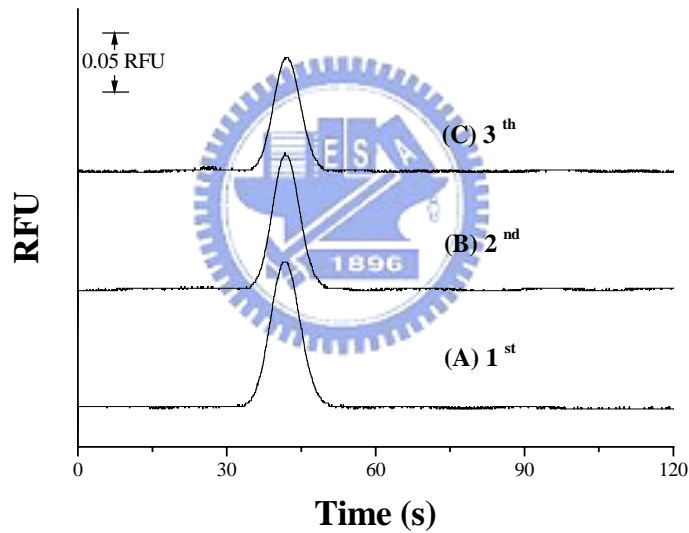


(2)

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：(1) 無添加；(2) 添加 5 mM。電泳條件：(1)、(2)分析物濃度各  
為 400  $\mu\text{M}$ 、10  $\mu\text{M}$ ；注射秒數：5 sec；緩衝溶液：10 mM Borate pH 8.2；  
外加電場強度：500 V/cm；PMT：800 V。

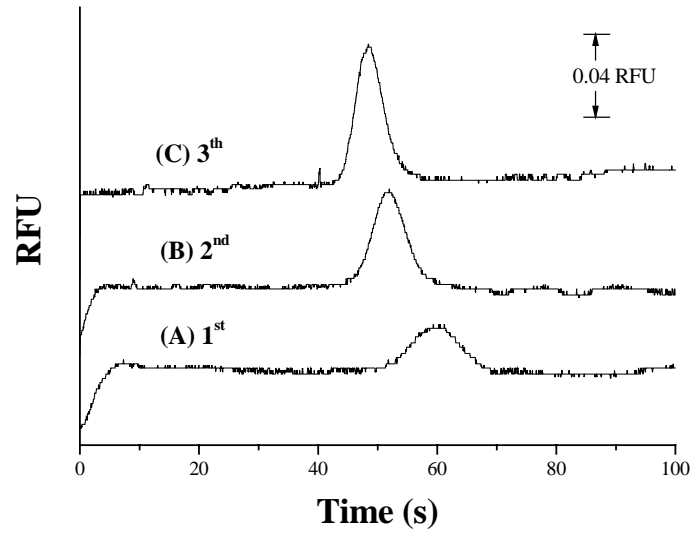


(1)

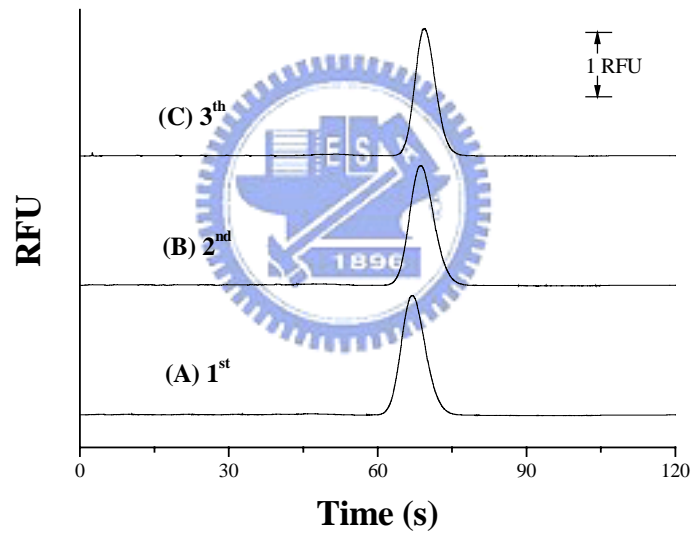


(2)

圖 4.4 緩衝溶液內 SDS 存在對 FITC 於 Hybrid 微晶片(50  $\mu\text{m}$ )電泳分析的影響：(1) 無添加；(2) 添加 5 mM。電泳條件：分析物濃度(1) 400  $\mu\text{M}$ 、(2) 25  $\mu\text{M}$ ；注射秒數：(1) 10 sec、(2) 5 sec；注射長度：(1) 850  $\mu\text{m}$ 、(2) 50  $\mu\text{m}$ ；緩衝溶液：10 mM Borate pH 8.2；外加電場強度：400 V/cm；PMT：800 V。



(1)



(2)

圖 4.5 緩衝溶液內 SDS 存在對 FITC 於 PDMS(O<sub>2</sub>)微晶片(100 μm)電泳分析的影響：(1) 無添加；(2) 添加 5 mM。電泳條件：(1)、(2)分析物濃度各為 400 μM、10 μM；注射秒數：10 sec；緩衝溶液：10 mM Borate pH 8.2；外加電場強度：200 V/cm；PMT：800 V。

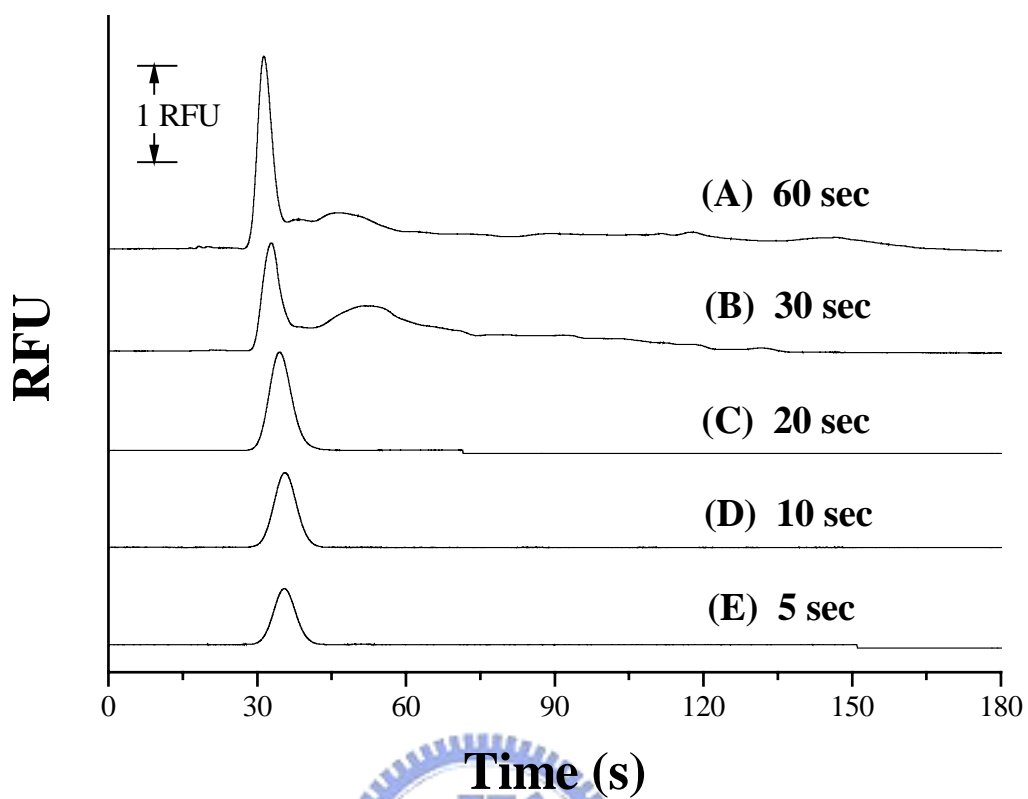
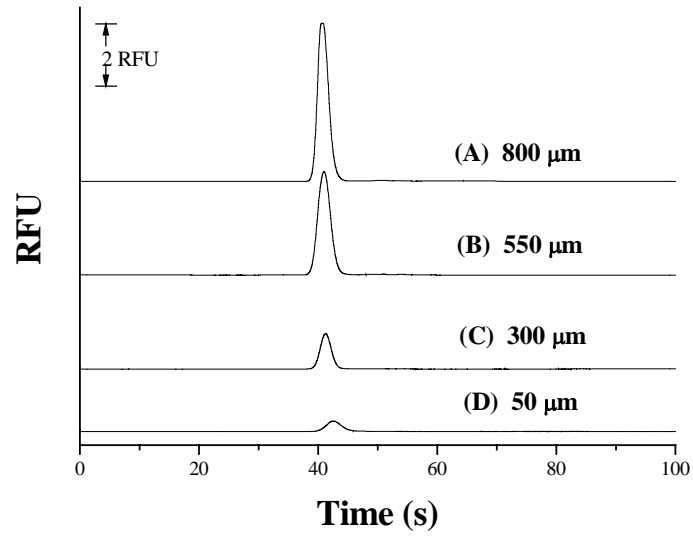
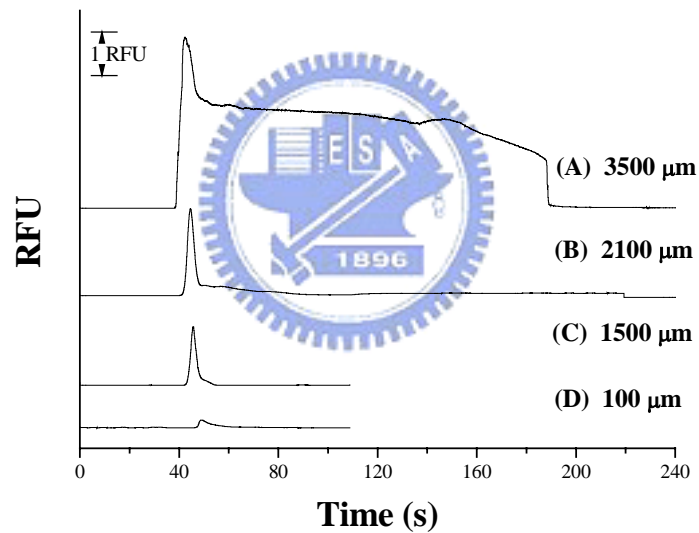


圖 4.6 注射時間對 FITC 於微晶片(PMMA)電泳螢光訊號之影響：採雙 T 注入，秒數各為(A) 60 秒；(B) 30 秒；(C) 20 秒；(D) 10 秒；(E) 5 秒。電泳條件：分析物濃度 25  $\mu\text{M}$ ；緩衝溶液：10 mM Borate pH 8.2, 5 mM SDS；外加電場強度：500 V/cm；PMT：600 V。

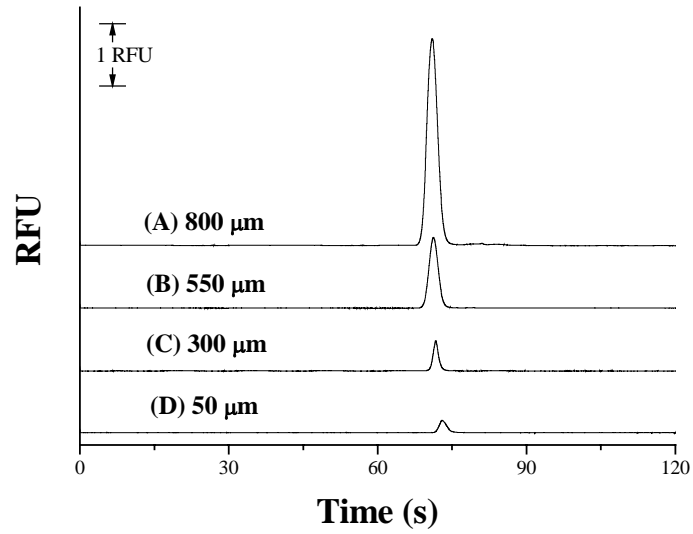


(1)

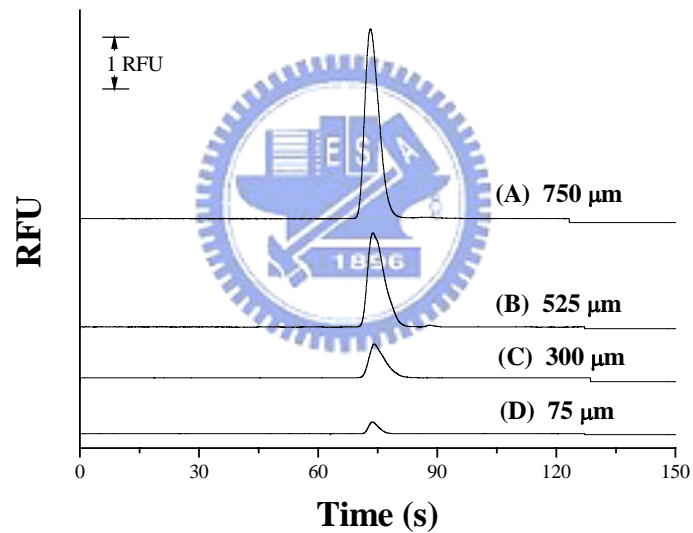


(2)

圖 4.7 不同樣品注射長度對 FITC 於 Hybrid 微晶片電泳螢光訊號之影響：線寬為(1) 50  $\mu\text{m}$ ；(2) 100  $\mu\text{m}$ ；各注入長度如圖上所示。電泳條件：(1) 分析物濃度：25  $\mu\text{M}$ ；外加電場強度：400 V/cm。(2) 分析物濃度：10  $\mu\text{M}$ ；外加電場強度：300 V/cm。緩衝溶液：10 mM Borate pH 8.2, 5 mM SDS；PMT：600 V。



(1)



(2)

圖 4.8 不同樣品注射長度對 FITC 於 PDMS 微晶片電泳螢光訊號之影響：線寬為(1) 50  $\mu\text{m}$ ；(2) 75  $\mu\text{m}$ ，各注入長度如圖上所示。電泳條件：分析物濃度：10  $\mu\text{M}$ ；緩衝溶液：10 mM Borate pH 8.2, 2 mM SDS；外加電場強度：200 V/cm；PMT：600 V。

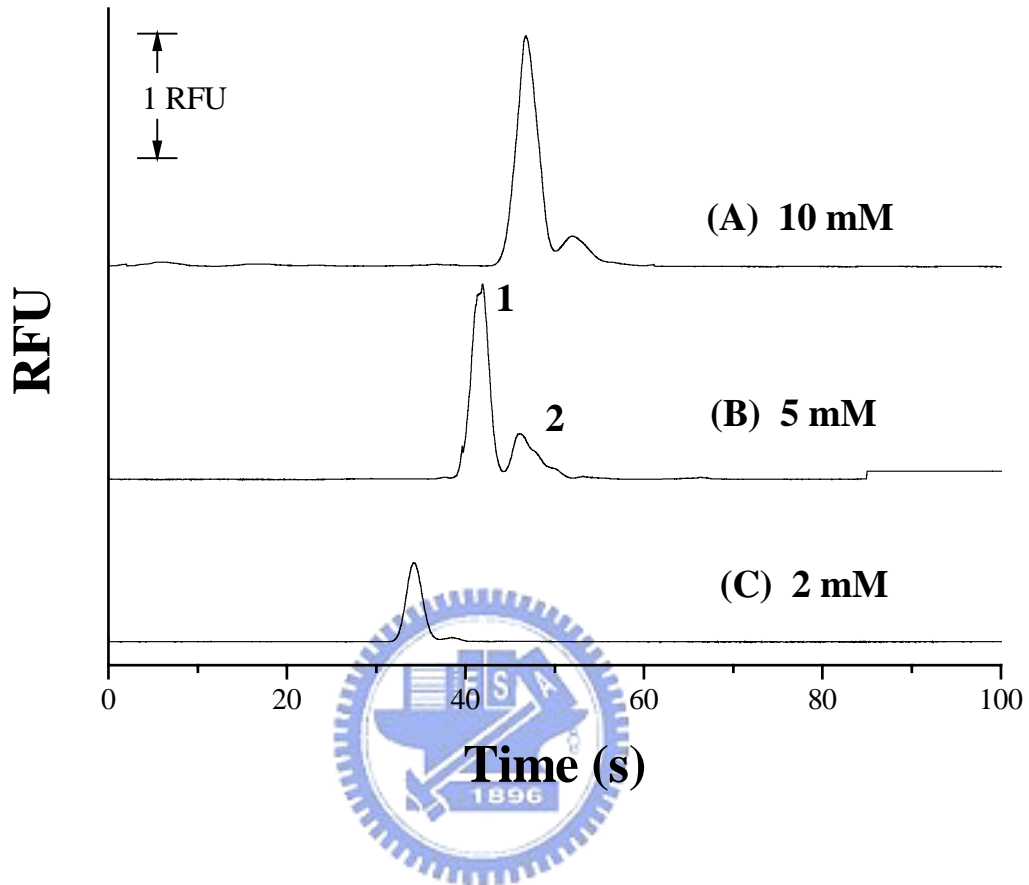
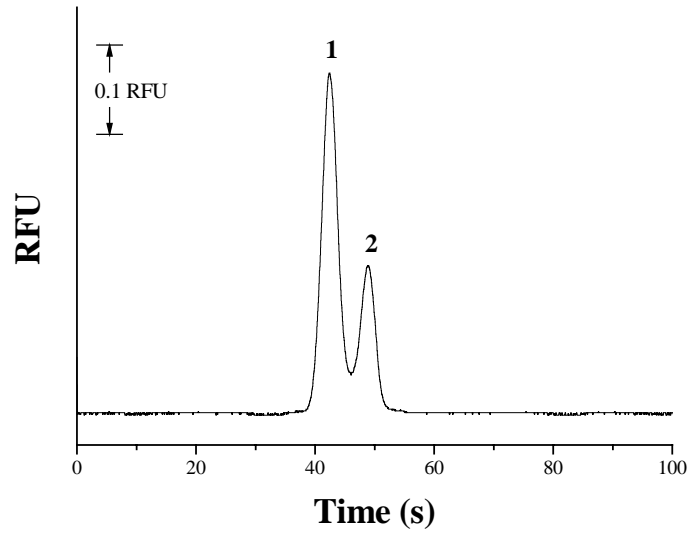
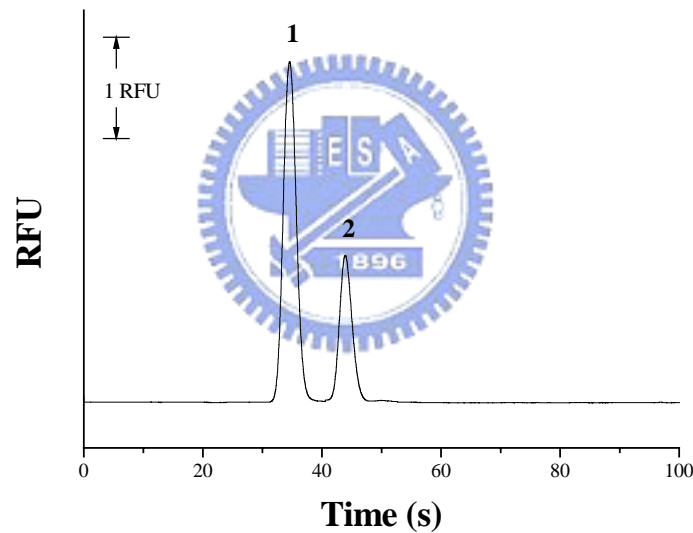


圖 4.9 緩衝溶液內所添加 SDS 濃度對微晶片(Hybrid(50  $\mu\text{m}$ ))電泳分析之影響。電泳條件：分析物濃度各為 25  $\mu\text{M}$ ；注射秒數：5 sec；緩衝溶液：10 mM Borate pH 8.2；外加電場強度：400 V/cm；PMT：800 V；Peak 1：FITC、Peak 2：Fluorescein。



(A)



(B)

圖 4.10 Hybrid 微晶片與 PMMA 微晶片的最佳化電泳圖：(A) Hybrid (50  $\mu\text{m}$ )；(B) PMMA (50  $\mu\text{m}$ )。電泳條件：FITC 與 F 濃度各為 10  $\mu\text{M}$  和 20  $\mu\text{M}$ ；注射秒數：5 sec；緩衝溶液：10 mM Borate pH 8.2, 5 mM SDS；外加電場強度：(A) 400 V/cm, (B) 500 V/cm；PMT：950 V；Peak 1：FITC、Peak 2：Fluorescein。



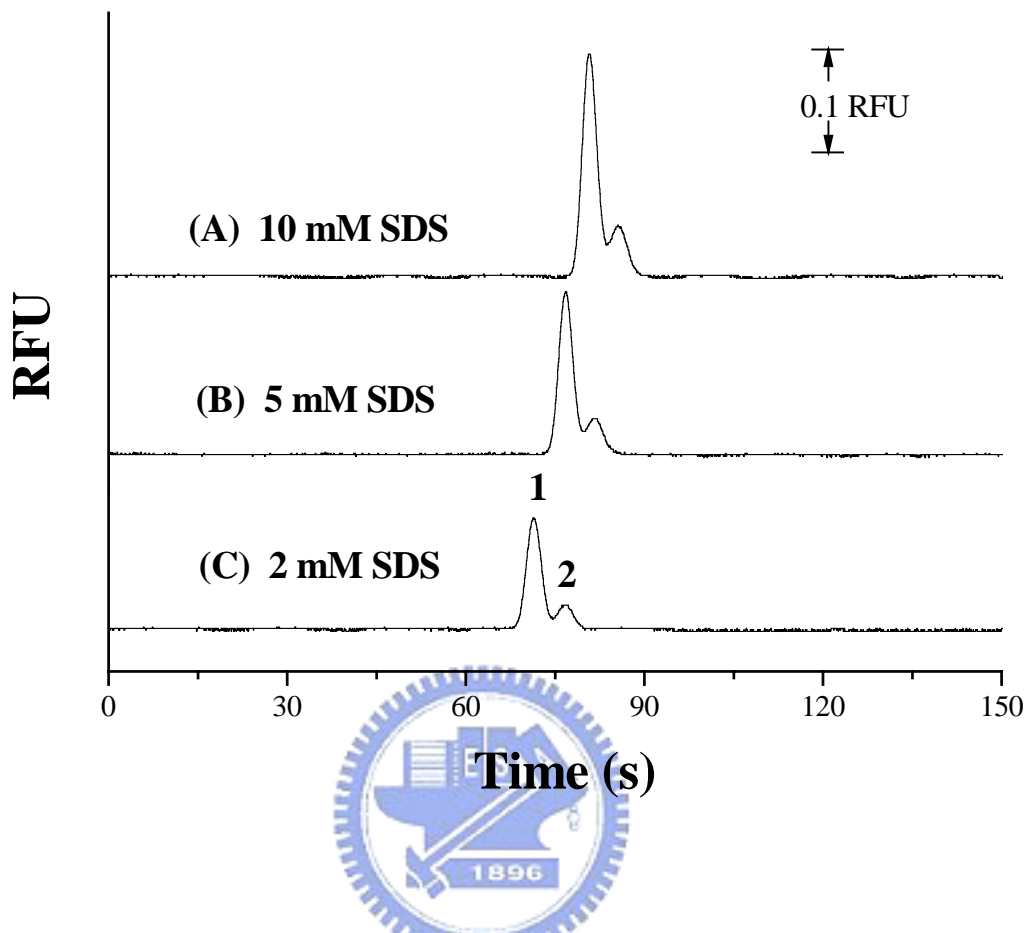


圖 4.11 緩衝溶液內所添加 SDS 濃度對微晶片 (PDMS(100  $\mu\text{m}$ )) 電泳分析之影響：(A) 10 mM；(B) 5 mM；(C) 2 mM。電泳條件：分析物濃度各為 10  $\mu\text{M}$ ；注射秒數：10 sec；緩衝溶液：10 mM Borate pH 8.2；外加電場強度：200 V/cm；PMT：800 V；Peak 1：FITC、Peak 2：Fluorescein。

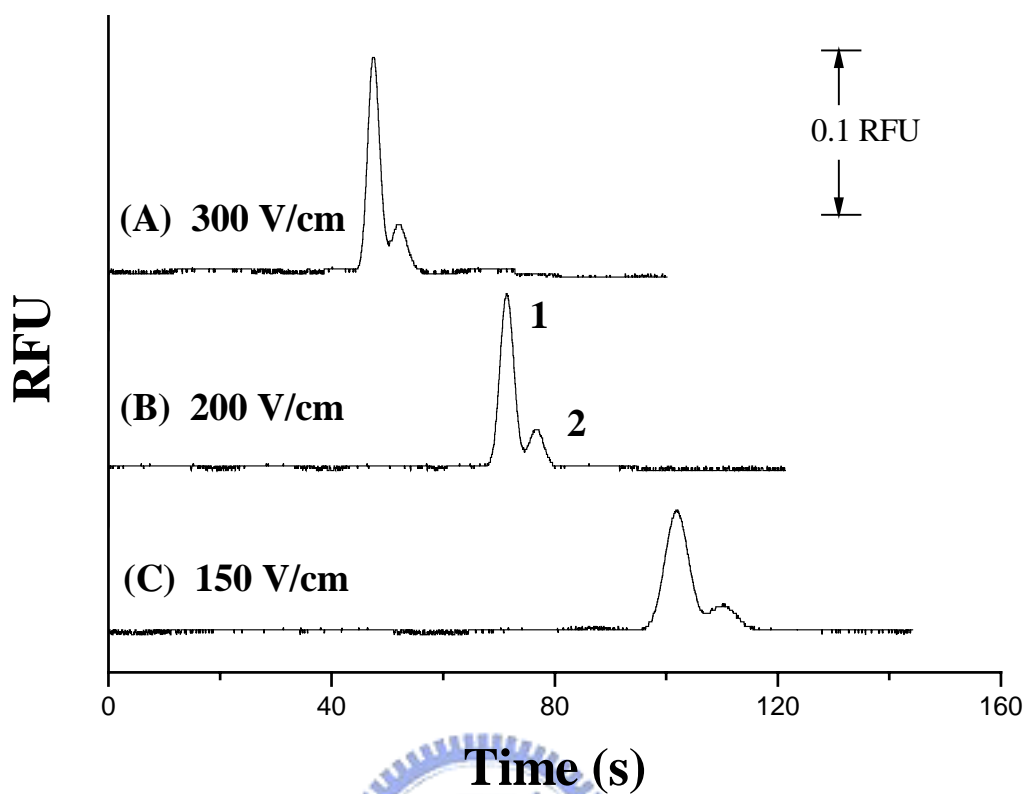


圖 4.12 不同外加分離電場對微晶片(PDMS(100  $\mu\text{m}$ ))電泳分析之影響：(A) 300 V/cm；(B) 200 V/cm；(C) 150 V/cm。電泳條件：分析物濃度各為 10  $\mu\text{M}$ ；注射秒數：10 sec；緩衝溶液：10 mM Borate pH 8.2, 2 mM SDS；PMT：800 V；Peak 1：FITC、Peak 2：Fluorescein。

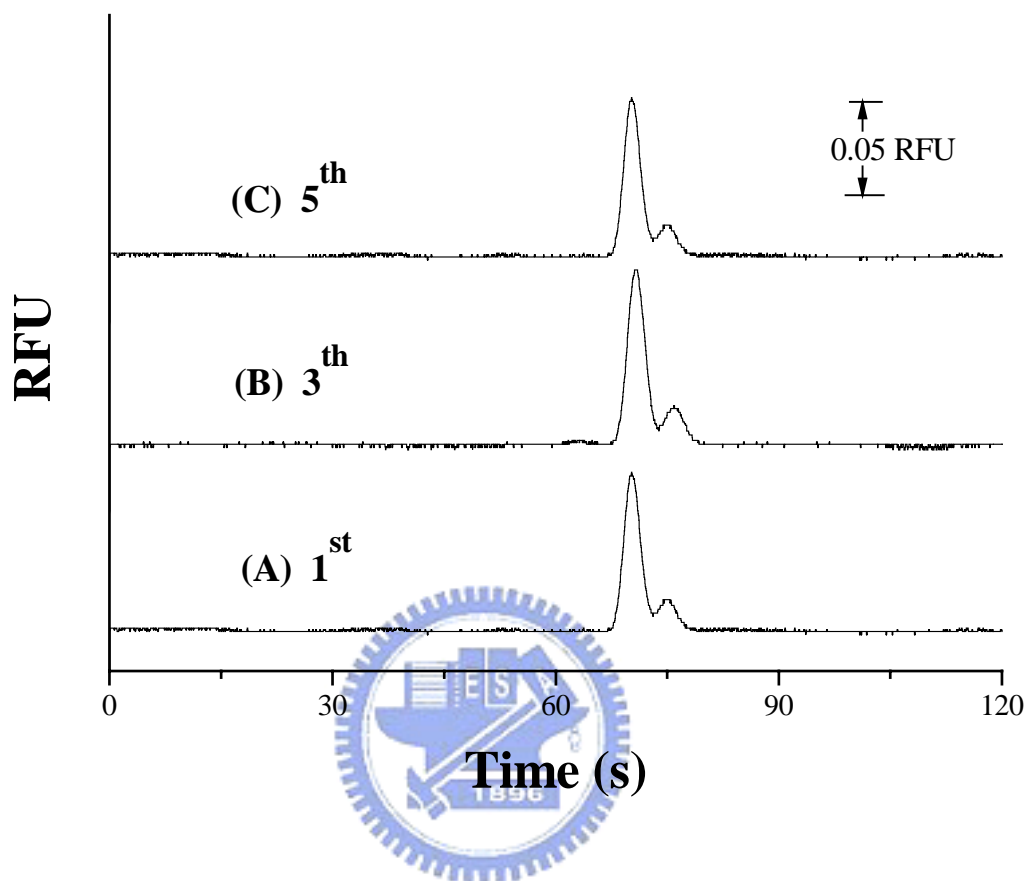


圖 4.13 PDMS 微晶片(100  $\mu\text{m}$ ) day-to-day 之穩定性：(A) 第一天；(B) 第三天；(C) 第五天。電泳條件：分析物濃度各為 10  $\mu\text{M}$ ；注射秒數：10 sec；緩衝溶液：10 mM Borate pH 8.2, 2 mM SDS；外加電場強度：200 V/cm；PMT：800 V。

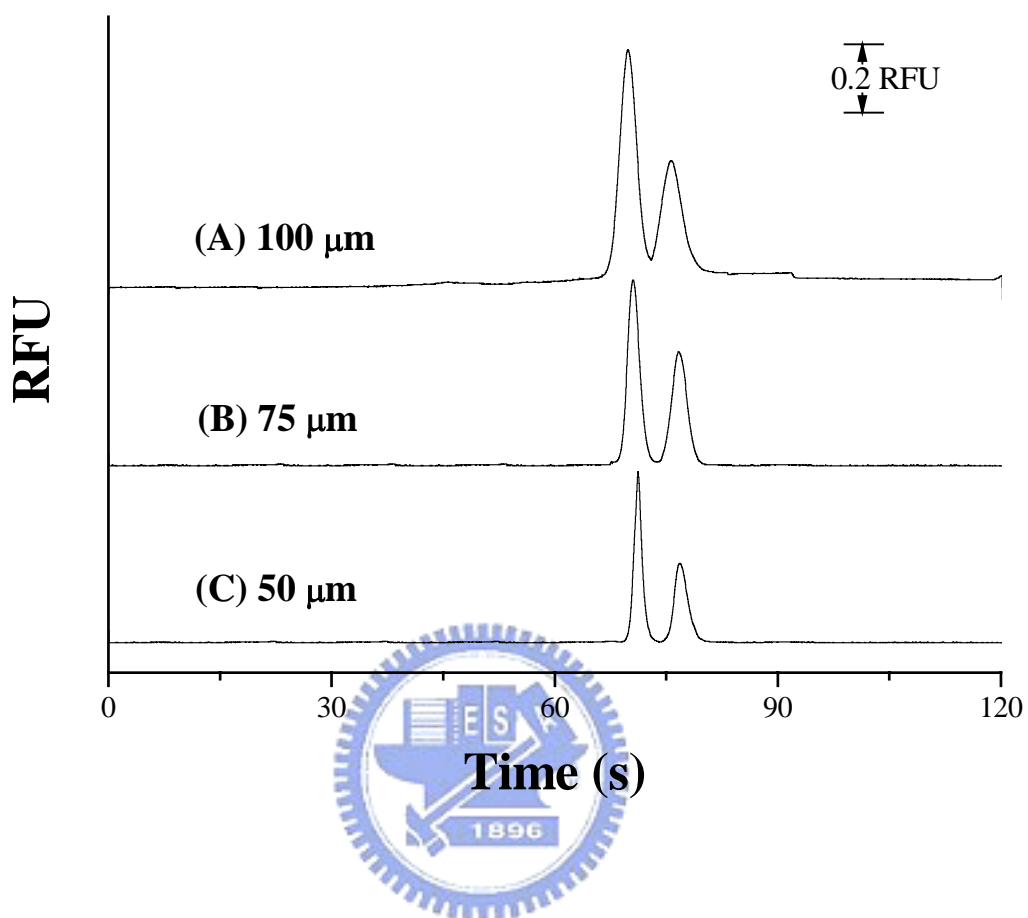


圖 4.14 比較三種微流道寬度對微晶片(PDMS)電泳之影響：線寬(A) 100  $\mu\text{m}$ ；(B) 75  $\mu\text{m}$ ；(C) 50  $\mu\text{m}$ 。電泳條件：FITC 與 F 濃度各為 10  $\mu\text{M}$ 、20  $\mu\text{M}$  注射秒數：10 sec；緩衝溶液：10 mM Borate pH 8.2, 2 mM SDS；外加電場強度：200 V/cm；PMT：950 V。

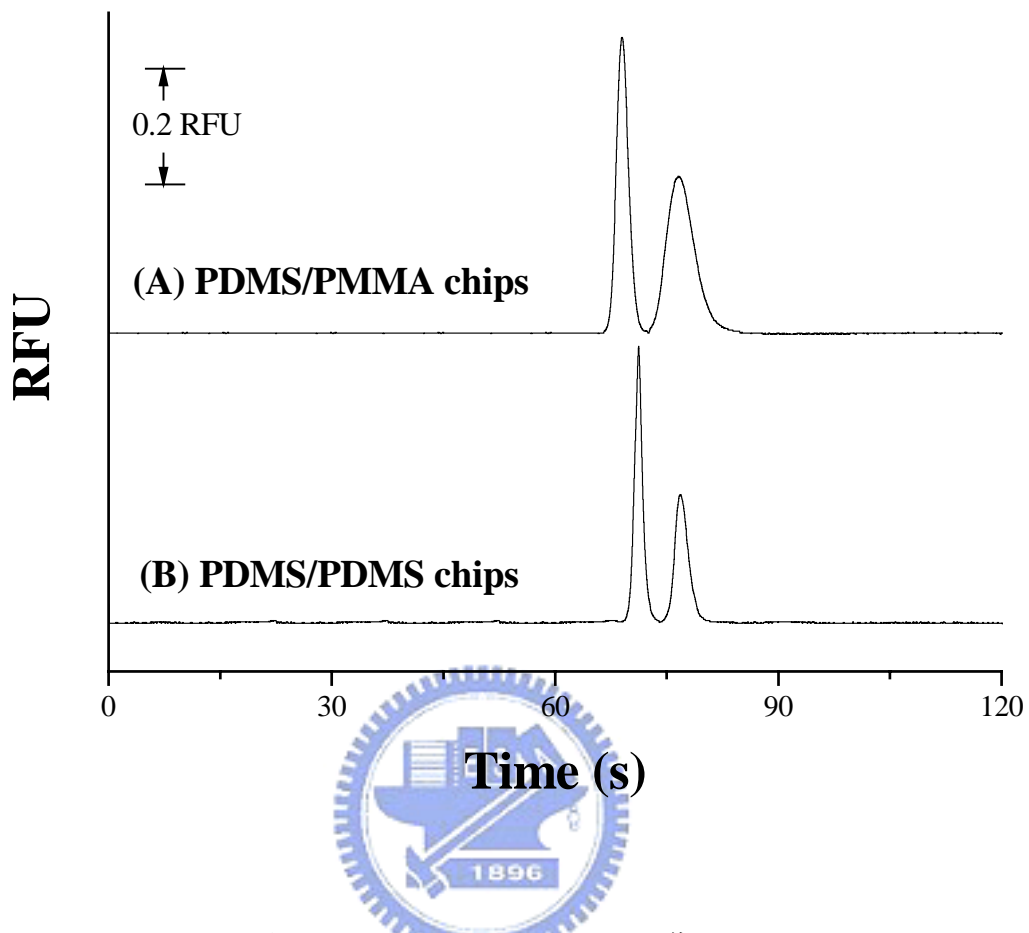
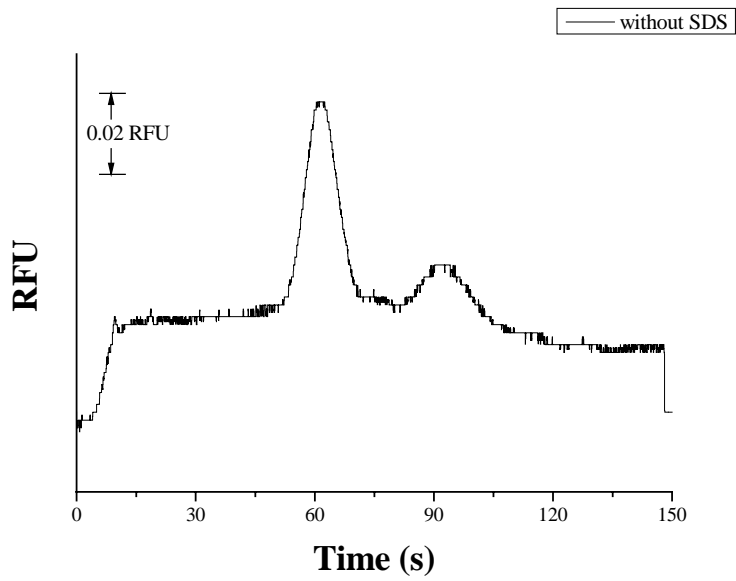
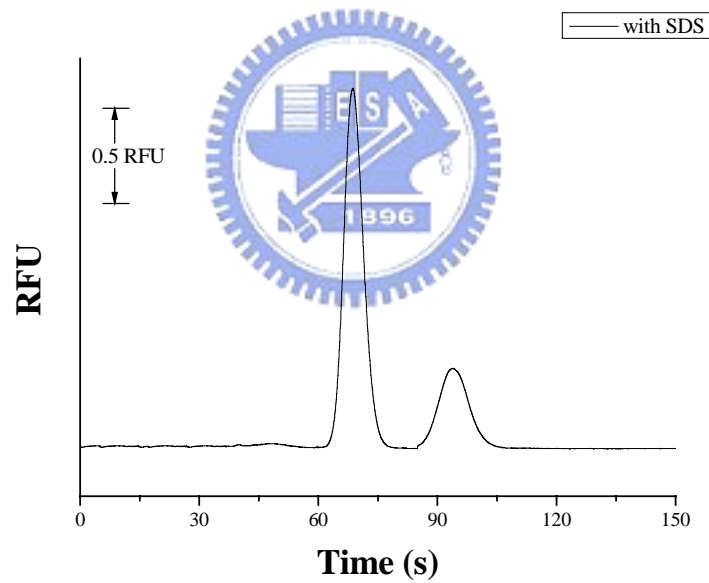


圖 4.15 比較二種微流道組成對電泳分析之影響：微晶片(A) Hybrid；(B) PDMS；。電泳條件：線寬皆為  $50\ \mu\text{m}$ ；FITC 與 F 濃度各為  $10\ \mu\text{M}$ 、 $20\ \mu\text{M}$  注射秒數：10 sec；緩衝溶液：10 mM Borate pH 8.2, 2 mM SDS；外加電場強度：200 V/cm；PMT：950 V。



(A)



(B)

圖 4.16 緩衝溶液內 SDS 存在對 PDMS(O<sub>2</sub>)微晶片(100 μm)電泳分析的  
 的影響：(A) 無添加；(B) 添加 5 mM。電泳條件：(A)、(B)分析物濃  
 度各為 400 μM、10 μM；注射秒數：10 sec；緩衝溶液：10 mM Borate  
 pH 8.2, 2 mM SDS；外加電場強度：200 V/cm；PMT：800 V。

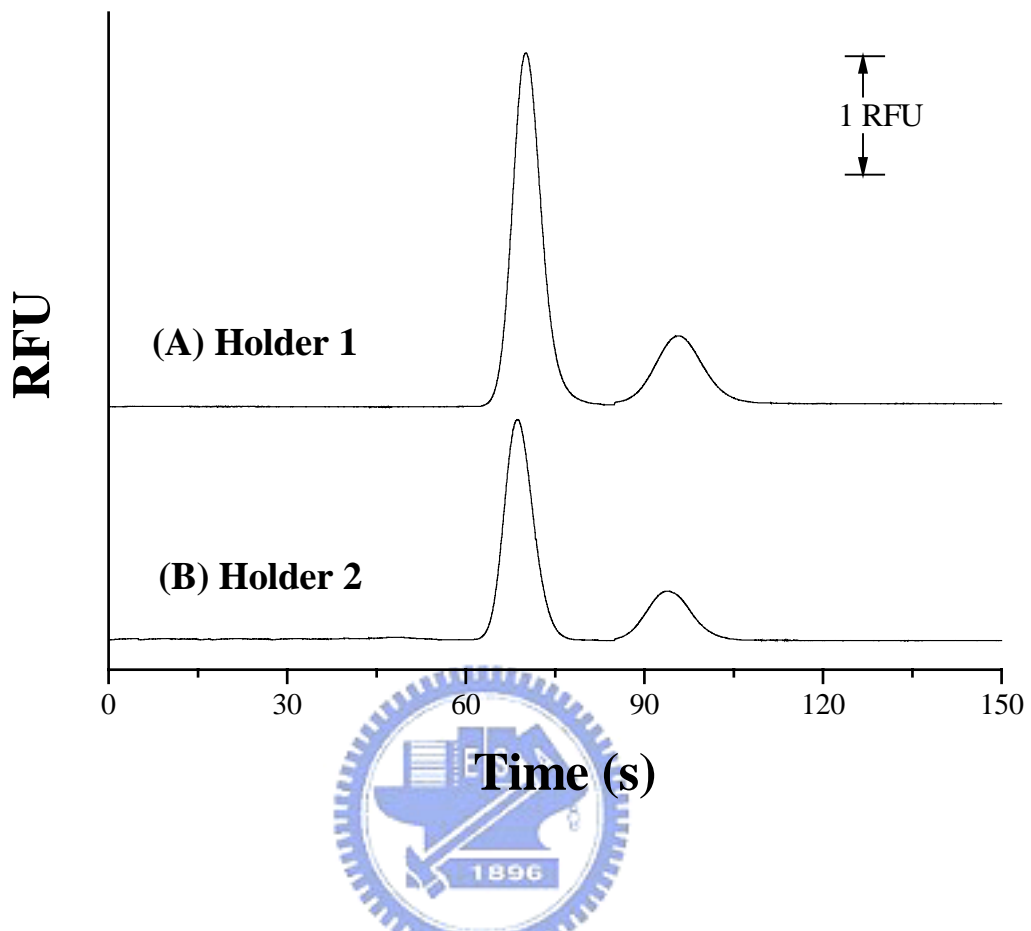


圖 4.17 兩種夾具對微晶片(PDMS(O<sub>2</sub>))電泳螢光訊號之影響：(A) 夾具 I；(B) 夾具 II。電泳條件：分析物濃度各為 10  $\mu$ M；注射秒數：10 sec；緩衝溶液：10 mM Borate pH 8.2, 2 mM SDS；外加電場強度：200 V/cm；PMT：800 V。

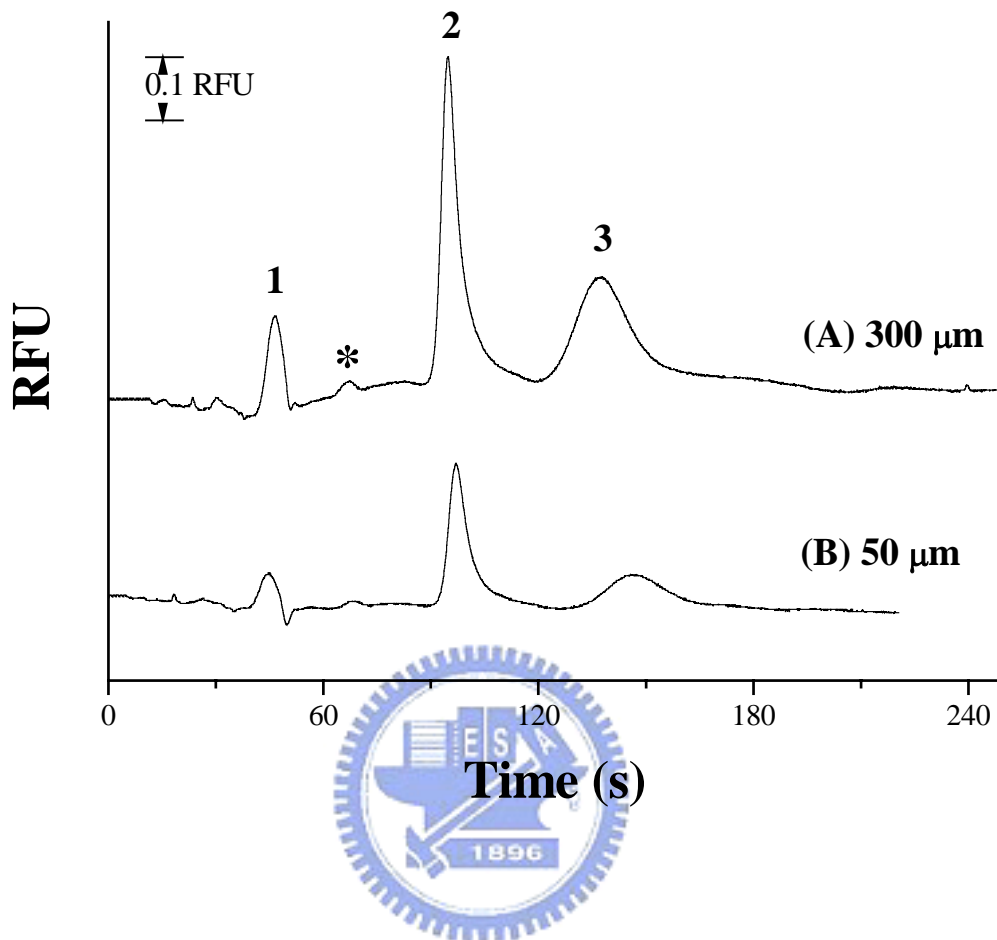


圖 4.18 三種 FITC 衍生化胺基酸之電泳圖：注射長度(A) 300  $\mu\text{m}$ ；(B) 50  $\mu\text{m}$ 。電泳條件：樣品濃度 4  $\mu\text{M}$ ；緩衝溶液：10 mM Borate pH 8.2, 2 mM SDS；外加電場強度：200 V/cm；PMT：950 V。Peak 1：Arg；Peak 2：Gly；Peak 3：Asp；\*：FITC。



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。

(A) PMMA 微晶片 (50  $\mu\text{m}$ ) ;

| Run                        | Without SDS     |                 |                 | With SDS <sup>e</sup> |                 |                 |
|----------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------------|-----------------|-----------------|
|                            | 1 <sup>st</sup> | 2 <sup>nd</sup> | 3 <sup>th</sup> | 1 <sup>st</sup>       | 2 <sup>nd</sup> | 3 <sup>th</sup> |
| MT <sup>a</sup> (sec)      | 94.2            | 88.5            | 80.7            | 35.4                  | 34.7            | 36.0            |
| Signal (RFU)               | 0.75            | 1.29            | 1.44            | 0.25                  | 0.24            | 0.24            |
| BW <sup>b</sup> (sec)      | 39.2            | 36.9            | 31.9            | 11.4                  | 10.2            | 9.9             |
| FWHM <sup>c</sup><br>(sec) | 10.1            | 9.9             | 6.6             | 4.0                   | 3.8             | 3.8             |
| RSD <sup>d</sup> (n=3)     |                 | 7.7%            |                 |                       | 1.8%            |                 |

(B) Hybrid 微晶片 (50  $\mu\text{m}$ ) ;

| Run                        | Without SDS     |                 |                 | With SDS <sup>e</sup> |                 |                 |
|----------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------------|-----------------|-----------------|
|                            | 1 <sup>st</sup> | 2 <sup>nd</sup> | 3 <sup>th</sup> | 1 <sup>st</sup>       | 2 <sup>nd</sup> | 3 <sup>th</sup> |
| MT <sup>a</sup> (sec)      | 106.6           | 99.0            | 86.6            | 42.4                  | 43.7            | 41.6            |
| Signal (RFU)               | 2.94            | 3.94            | 4.41            | 0.12                  | 0.12            | 0.10            |
| BW <sup>b</sup> (sec)      | 53.0            | 48.6            | 39.8            | 17.7                  | 15.7            | 16.0            |
| FWHM <sup>c</sup><br>(sec) | 20.4            | 18.3            | 15.2            | 6.9                   | 6.1             | 6.2             |
| RSD <sup>d</sup> (n=3)     |                 | 10.4%           |                 |                       | 2.4%            |                 |

(C) PDMS(O<sub>2</sub>)微晶片 (100 μm)。

| Run                     | Without SDS     |                 |                 | With SDS <sup>e</sup> |                 |                 |
|-------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------------|-----------------|-----------------|
|                         | 1 <sup>st</sup> | 2 <sup>nd</sup> | 3 <sup>th</sup> | 1 <sup>st</sup>       | 2 <sup>nd</sup> | 3 <sup>th</sup> |
| MT <sup>a</sup> (sec)   | 60.7            | 52.3            | 48.9            | 69.7                  | 68.9            | 67.3            |
| Signal (RFU)            | 0.022           | 0.046           | 0.066           | 1.936                 | 1.831           | 1.828           |
| BW <sup>b</sup> (sec)   | 19.1            | 17.9            | 14.4            | 13.2                  | 14.3            | 15.2            |
| FWHM <sup>c</sup> (sec) | 11.0            | 6.3             | 5.4             | 5.1                   | 5.8             | 5.9             |
| RSD <sup>d</sup> (n=3)  | 11.2%           |                 |                 | 1.8%                  |                 |                 |

a: MT= Migration time

b: BW= Band width

c: FWHM= Full width at half maximum

d: RSD= Relative standard deviation of migration time

e: Addition of 5 mM SDS

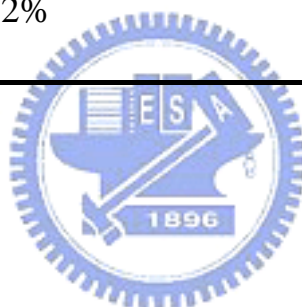
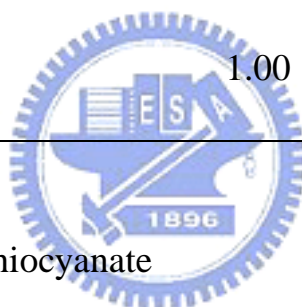


表 4.2 微晶片流道線寬於電泳分析之遷移時間、訊號強度、半高寬、理論板數、解析度的影響。

| Width                       | 50 $\mu\text{m}$   |                    | 75 $\mu\text{m}$   |                    | 100 $\mu\text{m}$  |                    |
|-----------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Compound                    | FITC <sup>a</sup>  | F <sup>b</sup>     | FITC               | F                  | FITC               | F                  |
| MT <sup>c</sup> (sec)       | 71.2               | 77.1               | 70.9               | 77.1               | 70.0               | 76.0               |
| Signal (RFU)                | 0.46               | 0.21               | 0.52               | 0.28               | 0.66               | 0.36               |
| FWHM <sup>d</sup> (sec)     | 1.2                | 2.1                | 1.7                | 2.5                | 2.8                | 3.5                |
| N <sup>e</sup> / m          | $3.55 \times 10^5$ | $1.43 \times 10^5$ | $1.75 \times 10^5$ | $9.58 \times 10^4$ | $7.51 \times 10^4$ | $6.44 \times 10^4$ |
| R <sub>s</sub> <sup>f</sup> | 1.04               |                    |                    | 1.00               |                    | 0.81               |



a: FITC= Fluorescein isothiocyanate

b: F= Fluorescein

c: MT= Migration time

d: FWHM= Full width at half maximum

e: N= Theoretical plates

f: R<sub>s</sub>= Resolution

表 4.3 Hybrid(PDMS/PMMA)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。

| Width                       | 50 $\mu\text{m}$     |                      |
|-----------------------------|----------------------|----------------------|
| Compound                    | FITC <sup>a</sup>    | F <sup>b</sup>       |
| MT <sup>c</sup> (sec)       | 69.1                 | 79.6                 |
| Signal (RFU)                | 0.51                 | 0.26                 |
| FWHM <sup>d</sup> (sec)     | 2.0                  | 4.0                  |
| N <sup>e</sup> / m          | 1.20*10 <sup>5</sup> | 3.73*10 <sup>4</sup> |
| R <sub>s</sub> <sup>f</sup> | 0.93                 |                      |

a: FITC= Fluorescein isothiocyanate

b: F= Fluorescein

c: MT= Migration time

d: FWHM= Full width at half maximum

e: N= Theoretical plates

f: R<sub>s</sub>= Resolution



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。

| Injection length        | 50 $\mu\text{m}$   |                    |                    | 300 $\mu\text{m}$  |                    |                    |
|-------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Compound                | Arg                | Gly                | Asp                | Arg                | Gly                | Asp                |
| MT <sup>a</sup> (sec)   | 43.9               | 99.1               | 148.6              | 47.1               | 94.9               | 139.9              |
| Signal (RFU)            | 0.078              | 0.209              | 0.042              | 0.152              | 0.476              | 0.149              |
| FWHM <sup>b</sup> (sec) | 7.2                | 6.1                | 20.5               | 5.2                | 4.9                | 17.7               |
| N <sup>c</sup> /m       | $2.73 \times 10^3$ | $2.66 \times 10^4$ | $5.27 \times 10^3$ | $8.64 \times 10^3$ | $3.78 \times 10^4$ | $6.27 \times 10^3$ |

a: MT= Migration time

b: FWHM= Full width at half maximum

c: N= Theoretical plates

