

第一章 緒論

1.1 前言

醫學研究早已發現，生病的組織和正常的組織在基因表現的質和量上都有顯著的差異。因為生病而表現增加的基因，極有可能因為其蛋白質的合成過剩而脫離組織，進入血液或是進入尿液。利用和疾病相關的特殊抗體，在實驗中可以快速的檢測出血液或是尿液中是否含有這些因病變而產生的蛋白質，而達到早期診斷的功效。因此，利用平行、大量、全面性研究疾病組織與正常組織之間基因表現的生物晶片，是目前醫學研究的一大重點〔1〕。

目前市面上的生物晶片就是利用微處理的技術將人類所有的基因 DNA，約三萬個，分別固定在 3 公分長、2 公分寬的玻璃晶片或塑膠晶片上，成爲一個同時可以進行三萬個基因的點漬片。和標上螢光、放射線、或免疫顯色的 mRNA 反應時，每一個單獨的基因 DNA 均能尋找到和它序列互補的 mRNA 結合，並且能根據基因的活性顯示螢光或放射線強度。換句話說，就是可以同時偵測所有基因在細胞的活性。

因爲 mRNA 需標上螢光、放射線、或免疫顯色物質做標定 (label)，這種方法需要很長的時間，且需要敏感度極高的光譜儀設備，對於未來需要快速、高效率操作的生物資訊學與生物工程學，太過浪費時間。此外，利用不需另外做標籤的方法作生物分子之檢測，也可以避免生物分子在進行標記時產生無法避免的生物分子結構破壞，或是因爲每次酵素反應不同而產生質與量的不穩定性〔2〕。

因此，許多生物檢測研究把興趣放在不需要使用標籤雜交的分析方式例如：表面電漿共振 (Surface Plasma Resonance, SPR)〔3〕、懸臂樑 (cantilever)〔4〕、表面聲波共振 (Surface Acoustic Wave, SAW)〔5〕、電化學 (electrochemical sensor)〔6〕、場效電晶體 (FET, Field effect transistors)〔7〕以及石英晶體微量天平 (Quartz Crystal Microbalance, QCM)〔8〕。其他相關比較附於表 1.1。

本文的靈感即是來自石英晶體微量天平，我們選擇更合乎半導體製程的 PZT 作爲我們壓電晶體微量天平技術的主角，試圖利用其壓電性質作爲感測器的另一明日之星，設計一個具有感測能力之元件，以最快時間、最少成本及最小空間的訴求來完成，以利未來可以在低成本內進行生物感測。


1.2 背景與目的

一台電腦有了完善的周邊設備，但是沒有經過 CPU 的處理，就沒辦法顯出電腦功能的強大。感測器於生物晶片，正如同 CPU 在一台電腦的角色；電腦的強悍往往取決於 CPU 的能力，而感測器的靈敏度同時也決定了生物晶片的能力及應用。我們可以說，掌握了感測器的技術，就掌握了發展生物晶片的關鍵。



回顧過去 20 年生物晶片的發展歷程，無論生物晶片所偵測標的物為 DNA、RNA、蛋白質、細胞或組織，亦或融合分子生物、微流體、光電、化學、材料、生物資訊等多領域技術製成的整合型生物晶片，各類生物晶片的设计製造技術、樣品處理能力、自動化製備系統、控制系統及全自動雜交系統等，均已有突破性進展，並能符合生物晶片快速、大量、品質穩定之特質。唯目前生物晶片常用的偵測系統--共軛焦雷射掃描儀(confocal laser scanner)及 CCD camera 不能完全符合生物晶片快速、靈敏之訴求，因此生物晶片的檢測系統成爲國內外各生物晶片研發團隊技術角力戰場。

壓電晶體是近年來才被引用到生物感測器的轉換器使用，其原理與晶體表面吸附物質質量有關，晶體材料又以石英為主，故又可稱為石英晶體微量天平（quartz crystal microbalance，QCM）。早期的壓電晶體感測器，用在測定空氣污染物質，其使用在電極表面具有功能的包覆材料，大多為非生物性物質（abiotics）。



直到 Guilbault 在1982 年首先發表將formaldehyde dehydrogenase與輔因子（cofactor）固定在電極表面來測定空氣中甲醛的成分〔9〕，才開始引起生化界的重視。壓電晶體生物感測器主要是由電子震盪電路、計頻器及生物感測元件的壓電晶體所組成。典型的壓電石英晶體構造，通常為兩片金屬電極如三明治般的將石英夾住，電極沿晶片表面垂直方向導入一振盪電場（oscillating electric field），使晶體內部因壓電效應而產生一機械性振盪，如果石英板的厚度一定，此機械性振盪為一固定頻率，此時利用適當的電子振盪電路，即可將其共振頻率（resonant frequency）測定出來。

目前其在生物醫學檢測之應用，最廣泛使用的是偵測抗體 (antibody)與抗原(antigen)之間的親和力交互作用。將特定之抗原蛋白質分子固定在感測器表面的金屬薄膜上，再加入含有抗體的待測物與之反應，利用抗原與抗體間專一性的親和力形成鍵結，而增加金屬薄膜表面吸附的負載重量，而改變感測器之共振頻率，再根據共振頻率偏移推算待測物的抗體含量。

最近的研究更將可形成鍵結的兩個生物分子，其中一者先固定於金屬鍍膜表面(如 oligo-nucleotide、DNA、RNA、peptide、protein、antibody、antigen、enzyme、vitamin…)，再將待測檢體置入感測槽，由於表面固定物與待測物兩者結合作用的專一性，即可以壓電元件偵測兩者交互作用。因此可以應用於判斷檢體來源、種類、濃度、生理活性及酵素動力學等生物醫學相關研究。甚至包括將其應用於新藥開發領域，利用此分析技術瞭解藥物分子與特定生物分子間的親和力及專一性等重要資訊，提供藥物研發人員更詳盡的藥物作用機制、加速新藥開發效率。

以愛滋病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 的分子檢驗技術為例 [10]: 分子生物學家根據對於 HIV 基因序列的瞭解，在 HIV 特有之基因序

列中擷取一小段序列將之設計為基因探針，將此基因探針以共價鍵結或吸附的方式固定於感測器的金屬膜表面。另外，先萃取受檢者血液中的 HIV 基因體（RNA genome），先以反轉錄酶（reverse transcriptase）進行反轉錄作用（reverse ranscription, RT），將 HIV 的 RNA 製成 cDNA 模板（tamplate），再加入特殊設計的引子（primer）、聚合酶（ploymerase）、去氧核苷酸（dNTP）、緩衝液等與之混合，進行一連串的聚合酶連鎖反應（Polymerase Chain Reaction，PCR），反覆複製檢體中的基因片段〔1, 2〕。

若受檢者為 HIV 帶原者，其血液中所含的 HIV 基因片段將被連續倍增，再將這些經 PCR 倍增後的 HIV 基因片段置入已固定 HIV 探針的感測器內，進行雜交反應（Hybrization），因感測器上基因探針與檢體的 HIV 基因片段為結構互補，探針上的各個核苷酸分子會分別與檢體基因片段上其所對應的核苷酸分子鍵結，因而使檢體基因片段吸附於感測金屬薄膜表面，造成感測器的共振頻率位移（Resonance Frequency Shift）變化，而檢出 HIV。同理可推，其他的生物醫學檢驗的應用還包括各種病毒篩檢、細菌篩檢、性病篩檢、遺傳疾病篩檢、致癌基因篩檢、抑癌基因篩檢、毒物測試、藥物效力測試、酵素活性測試…等，不勝枚舉〔1, 2〕。

壓電薄膜共振分析技術應用在生物分子親和力分析上，其最爲研究者期待的優點在於：

1. 可以即時偵測生物分子交互作用的反應結果(Real-Time Monitoring)，爲分子生物交互作用動力學研究之最有利依據。
2. 不需對欲分析的生物分子進行螢光或放射性標幟固定 (Label Free Detection)，因此可以簡化分析的步驟。
3. 如果在金膜表面結合特異性高的單株抗體，其偵測生物分子親和力交互作用的專一性很強(Specificity Analysis)，不受樣品中其他物質干擾，因此不需要對欲分析樣品先進行分離、純化等前處理步驟即可直接進行偵測。
4. 分析時間短 (Shorten Analysis Time)。
5. 可與半導體微機電系統技術逐漸整合，更有利於發展多功能、微小化之檢測系統。

綜觀上述五項優點，壓電薄膜共振分析法在生物醫學上的應用，將可望有大幅的成長，成爲未來生物醫學研究上不可或缺的工具。近來半導體

製程的進步，穩定的頻率訊號產生與量測皆已獲得良好的偵測極限，若能以生物感測技術與半導體微機電系統技術整合，將更有利於發展多功能、微小化、即時、價格便宜之生物檢測系統。

但是，目前 QCM 在製程方面會遭遇到一些問題。〔11〕由於 QCM 石英晶體的圖案定義及微小製程並不相容於目前的半導體製程，且石英微機電化在溼蝕刻與乾蝕刻都有無法克服的瓶頸。此外，蝕刻過後的感測器表面粗糙度也是影響靈敏度的重要關鍵，因為含有缺陷的震動表面會引起機械性的非簡諧震盪，檢測時會引起雜訊。所以，我們尋求另一種合於製程且具有高頻穩定性質的壓電晶體。



近年來，壓電材料已被應用在各種領域之中。在各種壓電薄膜中以 PZT 薄膜具有優異的壓電及介電等性能，是優異的微感測器及微致動器材料。而在微機電方面，PZT 壓電薄膜更是被使用與矽元件結合來作為微感測器。以目前電子元件逐漸朝向輕、薄、短、小的趨勢來看，PZT 薄膜組合微機電元件將會具有高靈敏度、高精確度以及高解析度等優點，在目前及未來都將具有高度的優勢。

1.3 文獻回顧

1.3.1 生物感測器

一般臨床檢驗中待測試樣均含有多種物質，若欲偵測特定物種，就必須藉專一性反應才會有比較明顯的效果，而生物感測器便符合這個需求。所謂生物感測器是利用生物元件所具備的專一性作為分析工具，再配合電子技術組成各種檢測系統。一般生物感測器是由生物元件、換能器、訊號處理器三大部分所組構：



(A) 生物元件 (Biological Component) :

生物感測器利用此部份和待測物直接接觸而產生反應，因此生物元件可以利用對待測物的特異性 (specificity) 來增加感測器的選擇性 (selectivity) 和靈敏度 (sensitivity)。一般的生物元件大多利用微生物、胞器、細胞受體、酵素、抗原、抗體、組織、等生物物質來偵測待測物種的存在。

(B) 換能器 (Transducer) :

此部份將生物元件和待測物質反應後之物理量或化學量的改變，轉換成電子訊號。因其所依據物理或化學原理的不同，分為光學 (optic)、質量感應 (mass-sensitive)、熱化學 (thermal)、電化學 (electrochemical)、磁感應 (magnetic) 等。其他研究比較附於表1.2。例如；在酵素標記型免疫感測器中，酵素與受質的反應除了具高度的選擇性外，於反應過程中會產生如熱、酸鹼值、吸收光或其他化學物質等等的變化，若以適當的換能器 (如熱偶計、電極、光子計數器等) 將這些變化轉換成電流訊號，便可藉由紀錄器供我們判斷而了解待測分析物的特性及濃度。例如：石英晶體微天平 (QCM)，利用塗附在石英表面上的生物元件 (單股DNA)，對待測分子 (目標DNA) 的吸附，引起石英晶體的表面重量改變，引起石英晶體的頻率改變，可以間接量測待測物質的濃度。

Sensor type	Signal generation
Thermal-metric sensors	Heat
Optic-electric sensors	Light absorption Wavelength Color Light polarization
Piezoelectric sensors	Mass frequency
Electro-chemical sensors	Conductivity Electric potential Electric current

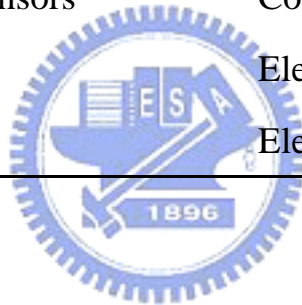


表 1.2 依轉換器之不同對生物感測器的分類 [12]

(C) 訊號處理器 (Signal Processor) :

將換能器所轉換出的訊號，經放大器處理後，進入訊號處理部分，解讀出有意義的訊號。如圖 1.1 所示。

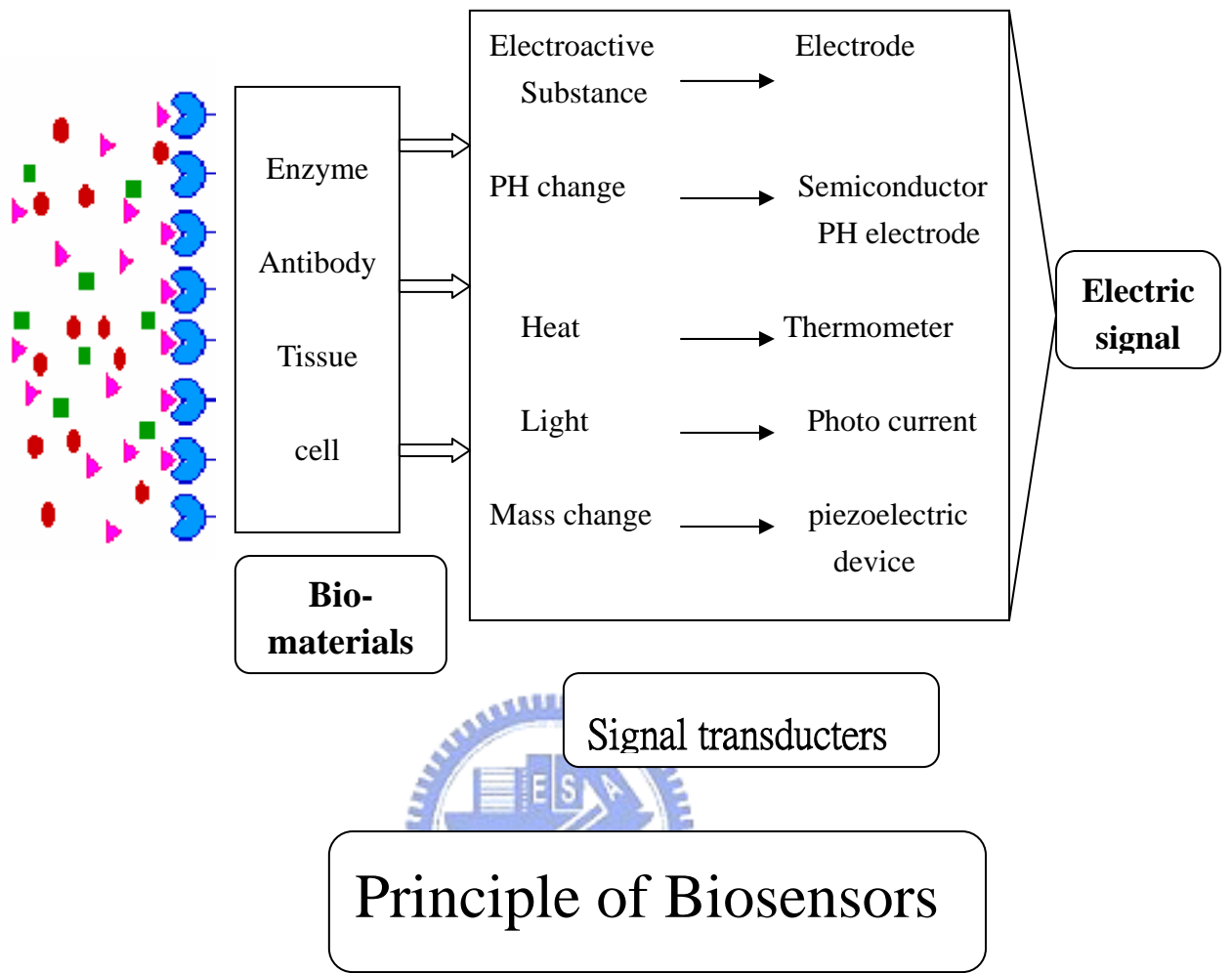


圖 1.1 生物感測器之結構及其反應過程示意圖〔13〕

1.3.2 壓電晶體生物感測器 (Piezoelectric crystal biosensor)

壓電晶體生物感測器為質量式生物感測器，利用壓電晶體的共振頻率會因為晶體表面上的質量變化，而有所改變的特性，以此作為偵測的依據，除了原理簡單外，其操作方便、成本低廉又具有即時應答等優點，但是在液相檢測時，靈敏度會降低，且易受非特異性鍵結的干擾。信號換能器必須具有高靈敏性、雜訊小、偵測範圍大及反應時間短等特性。

圖1.2分別針對不同換能器的生物感測器之檢測範圍做比較。由圖1.2可看出壓電晶體生物感測器的檢測範圍最大且最靈敏，故在本研究中選擇壓電晶體生物感測器作為我們研究的重點。

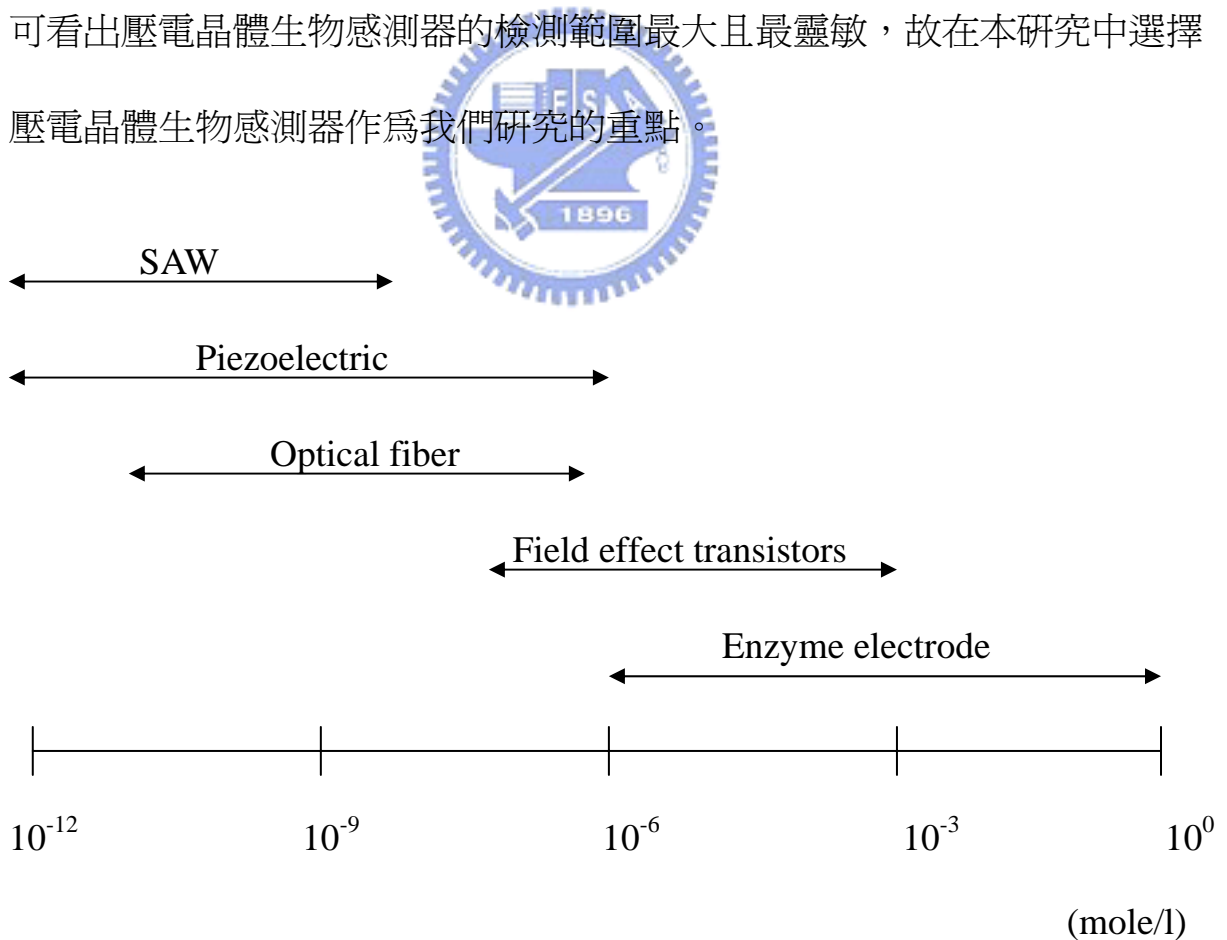


圖 1-2 各種生物感測器偵測範圍之比較〔14〕

1.3.3 壓電陶瓷薄膜

陶瓷是人類最早使用的材料之一，在發展史上有著重要的作用，直到現在，陶瓷仍是人類生活和生產中不可缺少的一種材料。這是因為陶瓷材料有著許多其他材料無法比較的優異性能，如耐磨損、耐腐蝕、耐高溫高壓、硬度大、不會老化等，能夠在其他材料無法承受的惡劣環境條件下正常工作。



陶瓷中的壓電材料（Piezoelectricity）更是其中的佼佼者。所謂壓電材料乃是指材料的偏極化電荷的產生，是由外界施加在材料上的應力而產生的。當應力很小時，其偏極化的變化與應力成正比。反之這種材料若施加電壓，將會發現我們可以改變材料的應變。即該分子是屬於中心對稱，則將不會產生電偶（Dipole），所以材料內有非對稱中心是壓電材料的一個最重要的要求。

目前最被看好的壓電陶瓷薄膜材料為銦鈦酸鉛 ($\text{PbZr}_{0.52}\text{Ti}_{0.48}\text{O}_3$, PZT) 及鉍鉍酸鋇 ($\text{SrBi}_2\text{Ta}_2\text{O}_9$, SBT) 兩種材料, 皆具有合成容易、良好的穩定性、高機電耦合因子、生產與應用易於掌握的優點, 並且在學界與業界對此兩種材料的探討已有相當多的研究報告[15,16]。與SBT相較, PZT具有較佳的表面型貌、較高的殘留極化 (Pr)、較低的製程溫度[17]。當考慮到積體電路整合時, 製程溫度是個重要的因素。

因此我們選用銦鈦酸鉛 ($\text{PbZr}_{0.52}\text{Ti}_{0.48}\text{O}_3$, PZT) 當作一種新的材料, 作為壓電感測膜在生物醫學上的探討。



成長 PZT 壓電感測膜的文獻有很多[18], 例如電子槍蒸鍍 (E-Beam Evaporation)、濺鍍沈積法(Sputter Deposition)[19]、雷射沈積法(Laser Deposition)[20]、溶膠 - 凝膠法(Sol-Gel)[20]、低壓化學氣相沈積法(Low Pressure Chemical Vapor Deposition, LPCVD)[17,21]、有機金屬化學氣相沈積法(Metal Organic Chemical Vapor Deposition, MOCVD)[22]以及電漿加強式化學氣相沈積法(Plasma Enhance Chemical Vapor Deposition, PECVD)[21]、有機金屬堆積法 (MOD)、網印法 (screen printing)、水熱法(hydrothermal method) 等。

本論文係利用溶膠－凝膠法，因其具有下列幾項優點[23,24]：

- (1) 低溫製造過程。
- (2) 非真空處理且設備成本低廉。
- (3) 容易製作大面積的薄膜，可與半導體製程配合。
- (4) 薄膜純度高易控制。
- (5) 在化學組成與當量(Stoichiometry)之控制良好。



其中尤以能夠降低製程溫度之優點最引人注意，因為除了可避免含鉛材料中，鉛之揮發外，更可使其直接與半導體製程技術相結合，因此我們選擇使用溶膠－凝膠法製備感測元件薄膜。因此本論文是以溶膠-凝膠法製備鉛鈦酸鉛薄膜作為生物感測元件之研究。

1.4 研究方法與架構

第一章緒論主要以介紹本論文的研究背景與研究動機為主，再補充說明生物感測器與壓電陶瓷薄膜的相關原理與文獻；本論文的第二章將對壓電感測元件的原理及溶膠－凝膠法作一介紹，以瞭解壓電薄膜與元件之特性，接著在說明生物檢測流程；在第三章將說明壓電薄膜沈積元件製作的實驗過程、壓電薄膜與元件之特性分析所使用的儀器設備，及生物檢測元件的實驗過程；第四章將對實驗的結果作一完整的敘述與討論；第五章的結論，將對實驗結果及未來方向作一總結。

