

微懸臂梁與矽奈米線：下一世代的微型生物感測器

陳俊杉^{1*}、張子軒¹、李任光^{2,3}、林致廷³

¹台灣大學土木工程學系、²亞東紀念醫院、台大醫院、³台灣大學電機工程學系

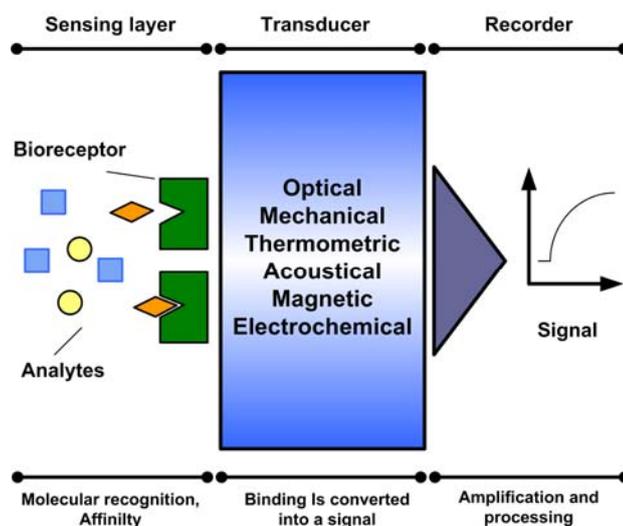
*E-mail: dchen@ntu.edu.tw

摘要

以微奈米機電系統為架構的生物感測器因擁有高靈敏性、不需標定物、成本低廉以及容易透過標準互補式金屬氧化物半導體製程批量生產等特性，近年來逐漸受到重視，其中又以微懸臂梁以及矽奈米線最具潛力，前者以靈敏的質量、溫度與表面應力變化，後者以靈敏的電晶體場效變化，偵測引發特定疾病的生物分子，以期準確並且快速的達到早期發現早期治療的診斷方式。本文針對微懸臂梁與矽奈米線之生物感測器做一簡介。首先介紹元件的運作原理，接著介紹本團隊及相關文獻的研究結果，最後就元件未來發展的可能性做一討論。

一、前言

生物感測器在人體生理監控及疾病檢測上占有舉足輕重的角色。例如：當血液中某種酵素濃度產生改變時，往往是特定疾病病發前的癥兆。這類的濃度改變可能只有 10^{-15} ~ 10^{-12} 莫耳數，故必須發展一簡單、高準確性並且可快速篩選的生物分子辨識定量分析技術。常見的生物感測器由兩項必要之條件所組成：一是具有專一性辨識功能之生物親和分子，如酵素、微生物、抗原、抗體、核酸等之生物元件，稱之為辨識元(sensing layer)；另一則是能將分析物及辨識元產生之親和性結合所造成生物分子結構改變轉換為表面應力、電荷、質量、熱或光學等物理訊號傳遞之轉換器(transducer)(如圖一)。



圖一、生物感測器運作原理示意圖

目前較為熟知的生物分子辨識定量分析技術為酵素免疫分析法(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA [1])。ELISA 利用抗原抗體之間專一性鍵結之特性，對檢體進行檢測。藉由螢光標定待測之生物分子即可利用顏色深淺對標定分子進行螢光定量分析。然而 ELISA 需複雜的純化步驟，造成此一分析法面臨了無法跨越的瓶頸：除了須投入大量的時間及較高的技術專業人力外，更重要的是無法隨身攜帶而限制了檢測器的使用場所，必須利用醫院或檢驗所的中央檢測平台進行分析。因此，隨著民眾健康意識的抬頭與臨床醫療的需求，下一世代的生物感測器優勢將著重在不需分離標定、檢測時間快，並且具高度可攜性，可即時監控等面向。

近年來，由於微奈米機電技術的進步所發展出的生物微機電系統(Bio-MEMS)讓我們能夠藉由微奈米元件一窺生物分子專一性鍵結的機制。由半導體製程所設計與製造的生物感測器已被驗證具有解決上述所列問題的潛力，而其中又以微懸臂梁(Microcantiliver)與矽奈米線電晶體(Silicon Nanowire FET)表現最為突出。相較於其他的生物感測器，二者的共同優勢在於可以藉由標準 CMOS 製程製作元件，量產可大幅降低成本，體積小可攜帶性佳及易於陣列化進行多工偵測。

本文對於微懸臂梁與矽奈米線之生物感測器做一簡介。首先介紹元件的運作原理，接著利用本團隊及文獻中所做之研究結果討論應用面和兩者間的比較，最後就元件未來發展的可能性做一討論。

二、元件介紹

2.1 微懸臂梁

微懸臂梁為一端固定、一端無束制之微型結構，其做為感測器源自於原子力顯微鏡。微懸臂梁因具有免標定與極靈敏等特性，近年來已逐漸廣泛應用在生醫研究及環境檢測。微懸臂梁依據感測目標與原理的不同可分為三種，分別為共振頻式感測器、複合材料式感測器以及表面應力式感測器。

共振頻式微懸臂梁感測器主要為對微懸臂梁表面質量改變進行量測。理想微懸臂梁之共振頻可表示為：

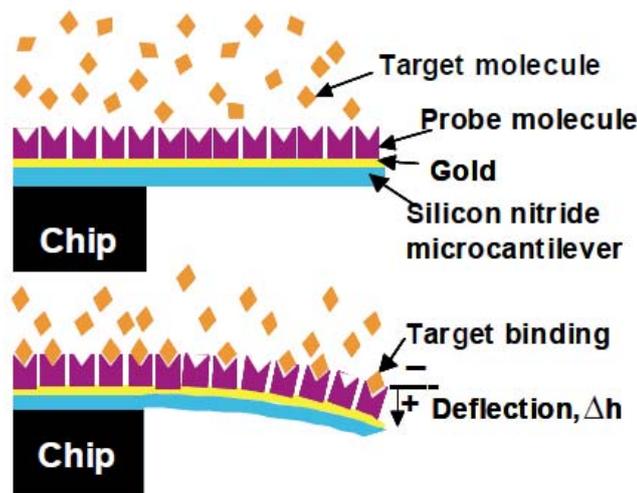
$$f = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m}} \quad (1)$$

其中 k 為材料之勁度，當目標分子存在於微懸臂梁表面或是偵測濃度產生變化，會進一步造成質量 m 改變，導致共振頻 f 也產生變化。在高真空環境下，已經可量測出接近 10^{-21} 克的變化量(zeptogram, zg)，故共振頻式微懸臂梁提供一非常適合量測微小質量的平台，例如蛋白質或是細菌。

複合材料式微懸臂梁感測器技術主要為量測溫度的變化。當以矽為底層材料之微懸

臂梁表面鍍上一層金屬時，因為兩者的熱膨脹係數不同，當溫度改變時，上下兩層材料會有不同的延伸量，因此微懸臂梁產生形變。經過適當的實驗架設，微懸臂梁式溫度感測器之靈敏度可達到 10^{-15} Jole，相當於可感應出 10^{-5} K 的溫度變化量。

當微懸臂梁周圍之環境產生變化或是直接在微懸臂梁表面產生化學或物理反應，會改變微懸臂梁表面之力學性質，稱之為表面應力。當反應只發生在微懸臂梁單一面時，此不對稱之應力改變將會造成壓應力或是拉應力，進而使微懸臂梁產生向上或向下之彎曲形變。藉由量測微懸臂量撓曲量，將可回推表面應力之變化量，並以此判斷分子在微懸臂梁表面反應之情況，如圖二。



圖二、當待測分子和微懸臂梁表面之辨識元分子產生鍵結會造成懸臂梁撓曲[2]。

表面應力式微懸臂梁撓曲量以及表面應力的轉換可簡單的由 Stoney's formula 求得：

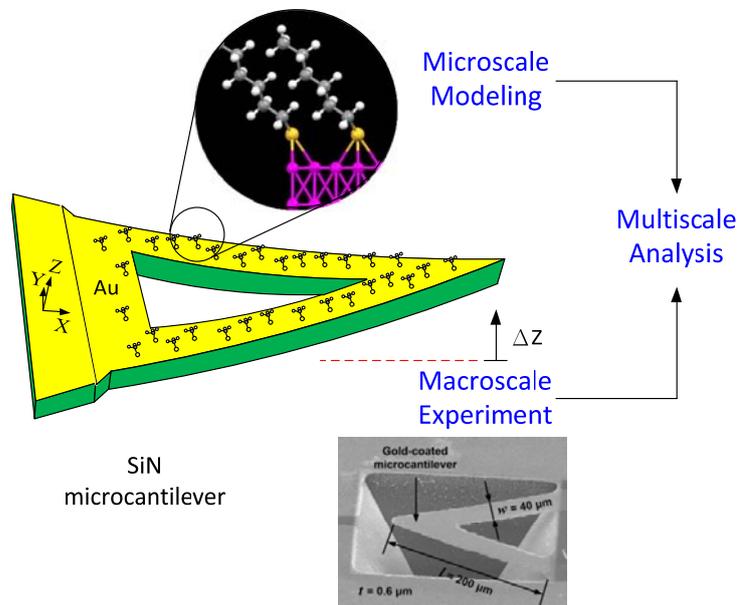
$$\frac{\Delta\sigma}{\Delta z} = \frac{Eh^2}{4L^2(1-\nu)} \quad (2)$$

其中 $\Delta\sigma$ 為表面應力改變量、 Δz 為微懸臂梁撓曲量、 E 為材料楊氏系數(Young's modulus)、 ν 為材料蒲松比(Poisson ratio)、 L 和 h 分別為懸臂梁的長度和厚度。表面應力式微懸臂梁感測器為目前在生物感測器領域最為通用的技術，其標準程序為先在微懸臂梁的結構層(通常為氮化矽或是氧化矽)鍍上一層金屬薄膜(通常為金或是銀)，接著利用尾端帶有官能基(羧基、羥基、胺基等)之自組裝分子(self-assembly monolayer)吸附於金屬表面形成連結層用來連接並且固定微懸臂梁與辨識元。最後將欲測之生物分子與已吸附之辨識元進行專一性親和鍵結，此鍵結會造成微懸臂梁產生明顯形變用以作為生物分子之定性與定量分析。

表面應力式微懸臂梁依其量測技術主要可分為光學式微懸臂梁與壓阻式微懸臂

梁。光學式微懸臂梁利用光槓桿技術，將雷射光束聚集於微懸臂梁的尖端，並且於光束反射端使用位置感測器記錄反射之光點。當微懸臂梁產生撓曲時，投射在位置感測器上的雷射光點也會產生位移，此位移經過適當的校正與轉換後，即可反推求得微懸臂梁撓曲量。壓阻式微懸臂梁的原理則為當微懸臂梁產生表面應力，會導致壓力改變影響微懸臂梁中的壓阻結構使電阻值產生改變，利用惠司通電橋的概念量測電阻的變量，可以使生物反應及量測訊號全部濃縮在單一晶片上，達到 Lab-on-a-chip 的概念。

本研究團隊於 2007 年開始致力於微懸臂梁的研究，利用結合了微觀尺度原子模擬以及巨觀尺度的連體力學實驗(如圖三)的多尺度分析法探討自組裝分子吸附於微懸臂梁表面之行為，成功揭示了當吸附效應發生在微懸臂梁表面所造成的表面應力的物理原理。

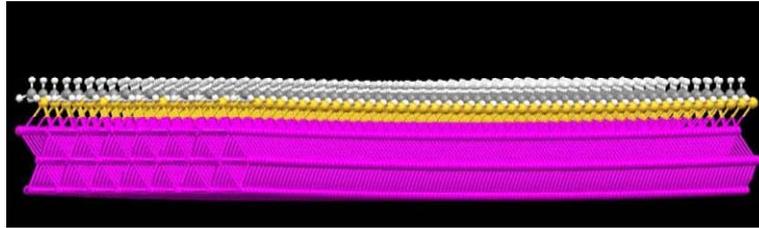


圖三、多尺度分析研究方法示意圖。

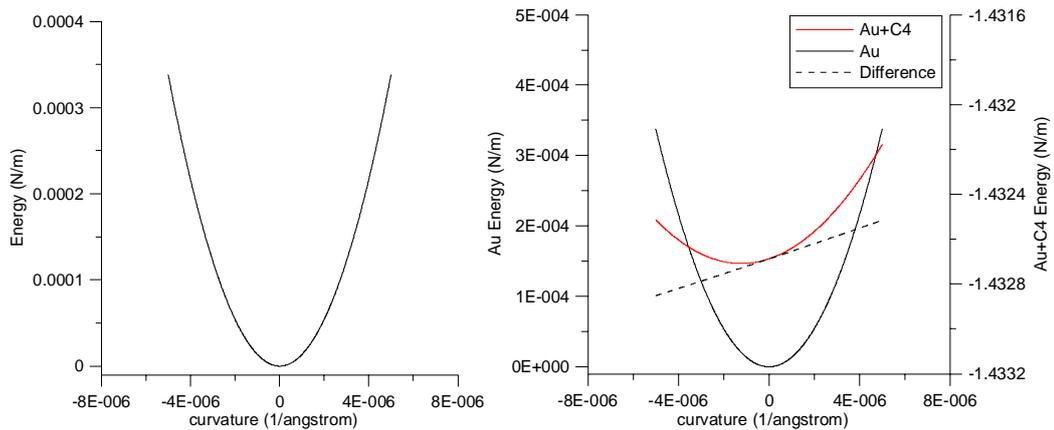
以 1-丁烷硫醇為例($\text{HS}-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$)，經由分子動力模擬後我們可得其分子吸附在金表面為六方最密堆積(hexagonal close packed, hcp)，吸附能(adsorption energy)為 1.54eV，碳硫鍵和金表面的法向量角度為 42.24° ，硫原子距離金表面則為 2.21 Å。

模擬結果所顯示之模型如圖四，粉紅色表示金原子、黃色為硫原子、灰色為碳原子、白色則是氫原子。不同曲率結構的總能量經由計算後表示如圖五。在圖五(左)中，能量和曲率的關係圖為二次多項式，並且金表面模型中能量最低點為曲率零之位置，這表示了自組裝分子未吸附於金表面時，微懸臂梁沒有任何的彎曲，且為一平衡態。

而當硫醇分子吸附於金表面時，吸附現象為了達到平衡態，總能量產生了變化如圖五(右)所表示，其最小值落在曲率為 $-2.4548 \times 10^{-6} \text{ \AA}^{-1}$ 。而當硫醇分子吸附於金表面時導致了金表面產生了重構，也因此產生了表面應力。由於吸附現象只發生在金層其中一面，故上下的表面應力差也導致了懸臂梁產生撓曲變形。

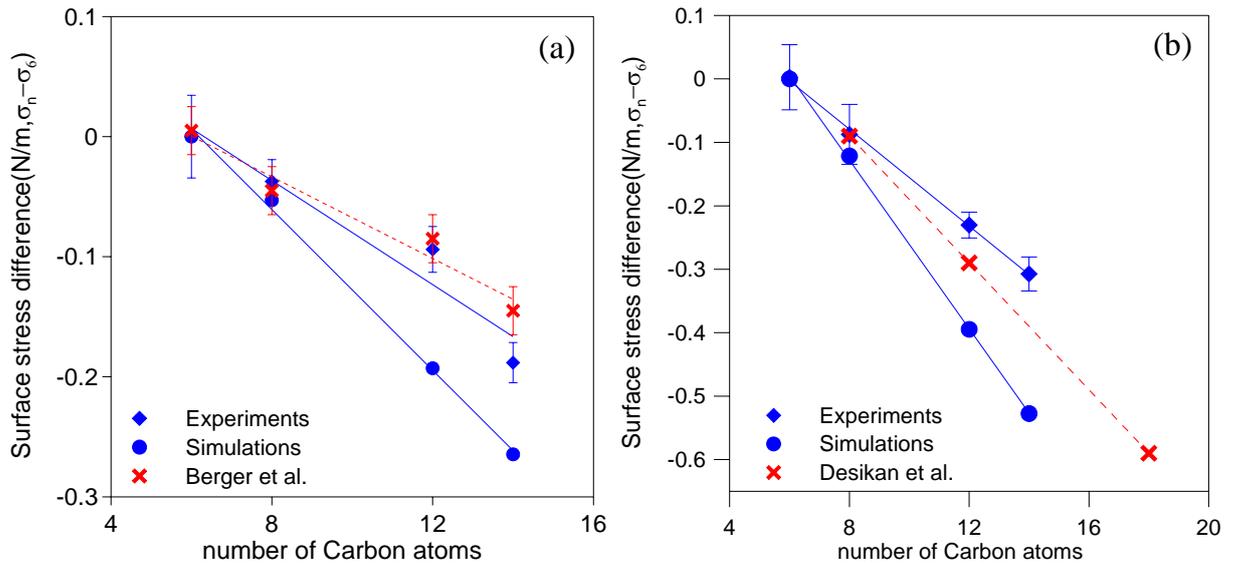


圖四：丁基硫醇分子吸附於金(111)面



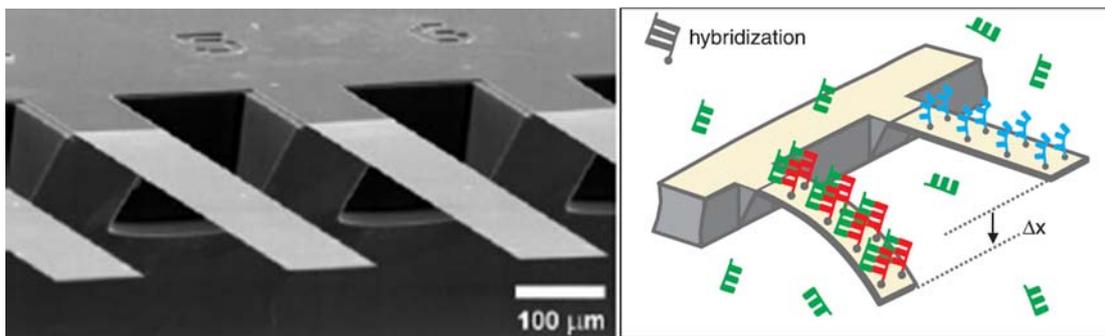
圖五：(左)金表面與總能量之關係；(右)單純金表面與自組裝分子吸附於金表面之比較圖。

自組裝分子實驗使用光學量測系統，並且架設了氣態以及液態兩種環境變因測試自組裝分子的吸附反應。實驗成果自組裝分子的實驗成果跟模擬結果以及文獻中的實驗數值進行比較：圖六(左)以及(右)分別為自組裝分子在空氣中以及在酒精中吸附於微懸臂梁上，比對的文獻分別為 Berger *et al.*[3]以及 Desikan *et al.*[4]。藍色點位為本研究團隊所測得之實驗數據，紅色點位則為文獻中所呈現。由圖上可看出，雖然實驗所計算出的表面應力和文獻比較上略有出入，但在圖中斜率的變化，亦即表面應力的改變上($\Delta \sigma$)卻顯得非常相似。不論是模擬或是實驗的數據皆顯示：當碳鏈長度增加時，表面壓應力會跟著增加。根據模擬結果推測，當自組裝分子之碳鏈增加時，碳鏈之間交互作用所貢獻的表面壓應力會跟著增加，而其他交互作用貢獻不變，因此造成懸臂梁撓曲變形，表面壓應力增加。此外本研究分析空氣與酒精溶液結果發現，因酒精溶液貢獻較大的壓應力，因此自組裝分子於酒精溶液中吸附於懸臂梁金表面時會造成較大的表面壓應力。比較自組裝分子於空氣與酒精溶液中之平衡態也發現到，在空氣中自組裝分子與金表面的距離較遠、傾斜角較大。其表示自組裝分子於真空環境中距離金表面較遠，交互作用力較小，因此造成之表面壓應力也較小。



圖六、(左) 自組裝分子在空氣中吸附於微懸臂梁；(右) 自組裝分子在酒精中吸附於微懸臂梁。

文獻中利用微懸臂梁進行生物分子的感測可追溯至 2000 年 Fritz *et al.*[5] 等人成功建置了單一晶片中包含了八支各自獨立的微懸臂梁陣列系統，並且利用此一架構捕捉到寡核苷酸進行專一性互補鍵結所產生之訊號反應(如圖七)，確立了微懸臂梁在生物感測器領域中舉足輕重的地位。自此以微懸臂梁作為感測器的相關研究如雨後春筍般不停冒出，例如：監測大氣中有毒氣體分子濃度[6]、偵測特定蛋白質或是酵素反應[7]以及觀察病毒或是細菌與抗體間的行為[8]。



圖七、(左)微懸臂梁陣列的電子顯微鏡照片圖，(右) 寡核苷酸專一性互補鍵結實驗示意圖[5]。

2.2 矽奈米線場效電晶體

矽奈米線電晶體在 2001 年首先由哈佛大學的 Lieber 教授團隊所提出[9]，利用不同的辨識元固定在矽奈米線表面去捕捉不同的目標生物分子，原理類似於微懸臂梁感測器，不過微懸臂梁是偵測表面應力的改變，而矽奈米線則是當表面分子產生鍵結時會改變奈米線的導電度。矽奈米線已經被證明了擁有無須標定、即時監測以及高度靈敏等生

物感測器所需具備的特質。

典型的場效應電晶體結構如圖八所示，左端是源極 (source)，可視為電流由此流入，右端是汲極 (drain)，可視為電流由此流出並收集；另外又有 p 通道和 n 通道場效應電晶體之分，p 通道場效應電晶體是以電洞 (hole) 流做為導電載子，即矽半導體中摻雜了硼原子，該電洞流由源極流向汲極；n 通道場效應電晶體則是以電子流作為導電載子，此時矽半導體中摻雜了磷原子，該電子流同樣由源極流向汲極；閘極則扮演該電晶體開關的角色，閘極包含了一層介電層 (dielectric layer)，調整閘極的電壓大小可以控制導電載子的濃度，以 p 通道場效應電晶體為例，施加正的閘極電壓時，會減少 (deplete) 導電載子濃度從而使得電導下降，反之施加負的閘極電壓會累積 (accumulate) 導電載子濃度並增加電導，n 通道場效應電晶體則是相反。同樣的效果也適用於奈米線場效電晶體中，當待測物接上奈米線後，會影響奈米線表面的電場和電位，造成主要載子的累積或空乏。雖然此一變化量小於一般標準，但是因為奈米線的元件尺度相當接近一般的生物分子 (<100nm)，因此導電量的改變是可以被儀器觀測出來的。

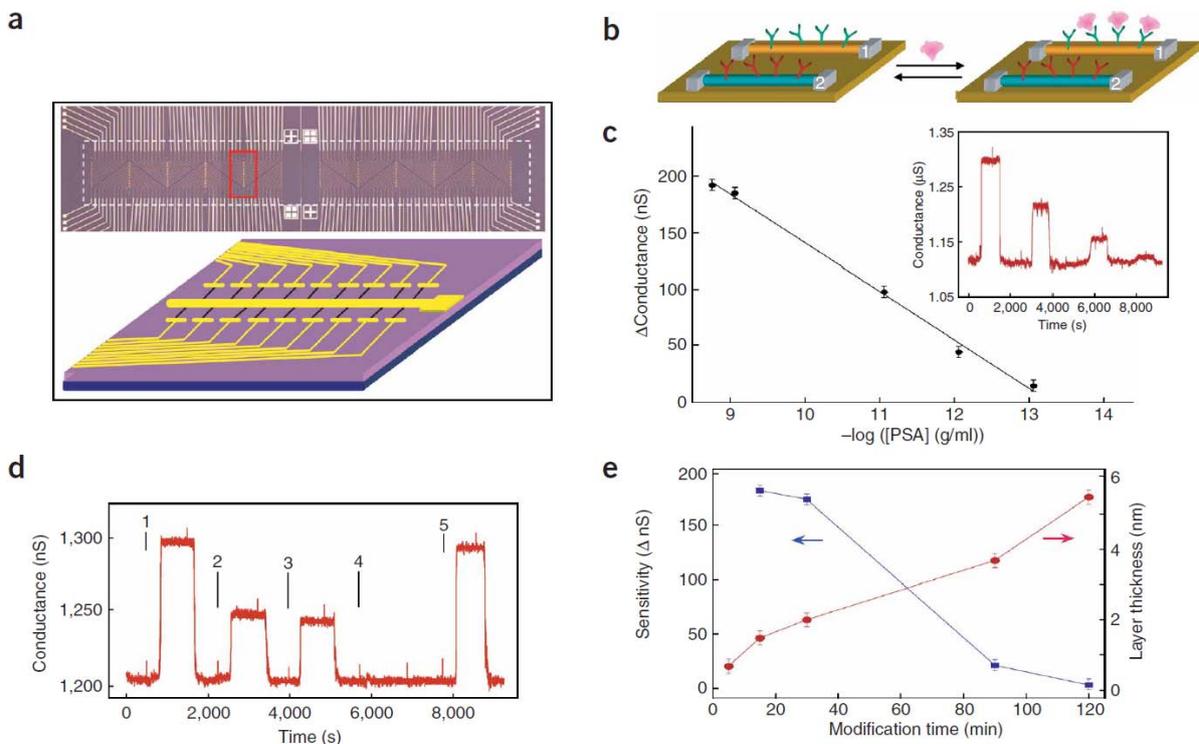


圖八、場效電晶體示意圖。

由於奈米線場效電晶體是準一維的結構，和傳統的場效電晶體有相當大的差異，奈米線優秀的表面積對體積比使其作為生物感測器擁有極高的靈敏度。矽在標準 CMOS 製程中為普遍且成本低廉的材料，並且以現今技術即可做到大量加工與生產，故為製作奈米線場效電晶體最佳材料之一。現行的矽奈米線場效電晶體製作分法主要分為 bottom up 和 top down 兩種方法。在 bottom up 的方法中，矽奈米線藉由化學氣相沉積 (Chemical Vapor Deposition, CVD) 的方法將單晶矽奈米線長在氧化矽基板上 [10]。接著以超音波震洗方法將矽奈米線振下並且沉積至另一塊氧化的矽基板上，基板上有已先經過曝光顯影和熱蒸鍍製程完成的電極區域以及金屬接點，最後再利用離舉 (Lift Off) 完成製程步驟。而為了在矽奈米線的製程效率上有所改善，開始有研究利用 top down 方法來製作矽奈米線 [11]，利用電子束微影 (E-Beam Lithography) 和深紫外光 (Deep UV Lithography) 將奈米線直接定義在光阻上，再經由顯影和蝕刻等步驟將圖形轉移至元件層，此方法可製作出約 50 奈米寬的奈米線。元件層的材料來源為絕緣層上矽晶圓 (Silicon on Insulator, SOI)，這類晶圓相較於多晶矽晶圓成本高出許多，因此目前有多項研究嘗試使用多晶矽晶圓作

為元件層。然而多晶矽和氧化矽界面以及多晶矽晶粒邊界的缺陷會嚴重影響導電性質，如何減少缺陷狀態成為多晶矽製程的主要課題。 NH_3 電漿是一種提升多晶矽電性常見的方法，經過 NH_3 電漿處理，氮和矽形成強力的 Si-N 鍵來鈍化在多晶矽奈米線晶粒邊界的懸浮鍵，有效提升元件載子遷移率使得汲極電流上升，因此大幅降低了臨界電壓和漏電流，讓次臨界斜率更陡峭以及擁有更大的汲極電流[12]。

文獻中已經有多項研究證明了矽奈米線電晶體在生物感測器領域中強大的潛力。例如：偵測腦中重要的神經傳遞物質：多巴胺(Dopamine)[13]；去氧核糖核酸(DNA)的測測[14]；流感病毒的檢驗[15]以及癌症標誌多重電性感測(如圖九[16])。經由以上離子、細微分子、蛋白質和病毒等的檢測，矽奈米線場效電晶體已經展示了其感測特性：高靈敏、不須標定、及時量測等優點並可廣泛運用於生醫檢驗及化學探測。



圖九、矽奈米線導電度受到不同濃度的待測物吸附而有所變化[16]。

三、小結與展望

目前微懸臂梁與矽奈米線都還持續朝著元件改良上在前進，以維持穩定的檢驗再現性。以微懸臂梁為例，受到溶液本身的緩衝作用會使得共振頻式微懸臂梁在液體中量測表現不佳，而大部分的生物分子皆需存在於液體之中，因此如何加強共振頻式微懸臂梁在液態環境中的表現就成為主要難題。針對這個問題 Burg *et al.*[17]即在 2007 年設計出直接將流道蝕刻在微懸臂梁的結構層當中，如此設計可以使外在環境保持在空氣甚至真空當中而不會影響的微懸臂梁的震動頻率，實驗結果也顯示出可量測到 Femtogram 等級的質量變化。另外，壓阻式微懸臂梁相較於光學式微懸臂梁雖然體積較為輕巧並且較不

需要做複雜的光路校正，但是過大的雜訊使得此一元件一直無法有突出的表現，Yoshikawa *et al.*[18]在 2011 年設計出一套以薄膜(Membrane)取代微懸臂梁結構作為訊號接受端的主體，成功的使壓阻式微懸臂梁量測範圍相較於現行設計提昇了一個級距。

另外，對於如何進一步改進矽奈米線生物感測器的設計目前也持續研究中。根據文獻實驗的數據以及模擬的結果[19]，當目標分子吸附上矽奈米線時，較小的直徑和低參雜密度會表現出較高的靈敏度。此外，在具有多帶電離子的緩衝溶液中，因相異電荷相吸的現象讓帶電生物分子周圍環繞著相異電荷離子而引起電荷屏蔽效應，因為奈米線元件是由吸附上生物分子感應出的電場所控制，因此環境因素也會影響到奈米線的感測能力。由生物分子所感應出的靜電電場只有在一定的距離內才有作用，此距離稱之為德拜長度(Debye Length, λ_D)，而由生物分子所感應出的靜電電位會隨距離增加而呈指數遞減。因此，可以藉由緩衝溶液的選擇，獲得一個合適的 λ_D 來加強矽奈米線的感測能力，而不需要任何的元件改進 [20]。另一個簡單的方法用以提升矽奈米線的感測能力是將其操作在次臨界擺幅區間，在此區間內，由於矽奈米線表面載子濃度下降而提升了載子屏蔽長度(λ_{Si})，整個矽奈米線的截面被表面生物分子感應的電場遮蔽住，使得吸附上生物分子在矽奈米線表面所感應出的電場影響力提高[21]。

本文討論下一代生物微感測器之特性，文中以微懸臂梁與矽奈米線場效電晶體為例引導出目前生物感測器所需具備的特性：無需標定、及時檢驗以及高度靈敏等。因為微懸臂梁與矽奈米線場效電晶體因為元件原理與偵測機制的不同，造成應用面和感測極限也有所差異。相較於微懸臂梁文獻中所顯示的偵測濃度極限(~picomolar, 10^{-12} 莫耳數)，矽奈米線在這方面顯示出了更為優秀的表現(~femtomolar, 10^{-15} 莫耳數)。但是因為微懸臂梁的所具有的機械結構性質使其能夠應用在更廣泛的感測器領域中，如本文中介紹的質量或溫度偵測，理論上可與生物感測做進一步結合。微懸臂梁與矽奈米線各擅勝場，兩者都可以與接近百種的生物分子進行量測及觀察，證明兩者皆在此一領域佔到非常重要的地位。未來幾年我們應可預期元件持續的進步以期符合臨床診斷上的實用性。

參考文獻

- [1] E. Engvall and P. Perlmann, "Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G," *Immunochemistry*, vol. 8, pp. 871-874, 1971.
- [2] G. Wu, *et al.*, "Bioassay of prostate-specific antigen (PSA) using microcantilevers," *Nature Biotechnology*, vol. 19, pp. 856-860, 2001.
- [3] R. Berger, *et al.*, "Surface stress in the self-assembly of alkanethiols on gold," *Science*, vol. 276, pp. 2021-2024, 1997.
- [4] R. Desikan, *et al.*, "Effect of chain length on nanomechanics of alkanethiol self-assembly," *Nanotechnology*, vol. 18, 2007.
- [5] J. Fritz, *et al.*, "Translating biomolecular recognition into nanomechanics," *Science*, vol. 288, pp. 316-318, 2000.
- [6] D. Raorane, *et al.*, "Nanomechanical assay to investigate the selectivity of binding interactions between volatile benzene derivatives," *Nano Letters*, vol. 8, pp. 2229-2235, 2008.
- [7] K. Gruber, *et al.*, "Cantilever Array Sensors Detect Specific Carbohydrate-Protein Interactions with Picomolar Sensitivity," *ACS Nano*, vol. 5, pp. 3670-3678, 2011.
- [8] J. Zhang and H. F. Ji, "An Anti E. Coli O157:H7 Antibody-Immobilized Microcantilever for the Detection of Escherichia Coli (E. coli)," *Analytical Sciences*, vol. 20, pp. 585-587, 2004.
- [9] Y. Cui, *et al.*, "Nanowire nanosensors for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species," *Science*, vol. 293, pp. 1289-1292, 2001.
- [10] Y. Wu, *et al.*, "Controlled growth and structures of molecular-scale silicon nanowires," *Nano*

- Letters*, vol. 4, pp. 433-436, 2004.
- [11] E. Stern, *et al.*, "Label-free immunodetection with CMOS-compatible semiconducting nanowires," *Nature*, vol. 445, pp. 519-522, 2007.
- [12] H. C. Lin, *et al.*, "Fabrication and characterization of nanowire transistors with solid-phase crystallized poly-Si channels," *IEEE Transactions on Electron Devices*, vol. 53, pp. 2471-2477, 2006.
- [13] C. H. Lin, *et al.*, "Ultrasensitive detection of dopamine using a polysilicon nanowire field-effect transistor," *Chemical Communications*, pp. 5749-5751, 2008.
- [14] J. I. Hahm and C. M. Lieber, "Direct Ultrasensitive Electrical Detection of DNA and DNA Sequence Variations Using Nanowire Nanosensors," *Nano Letters*, vol. 4, pp. 51-54, 2004.
- [15] F. Patolsky, *et al.*, "Electrical detection of single viruses," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 101, pp. 14017-14022, 2004.
- [16] G. Zheng, *et al.*, "Multiplexed electrical detection of cancer markers with nanowire sensor arrays," *Nature Biotechnology*, vol. 23, pp. 1294-1301, 2005.
- [17] T. P. Burg, *et al.*, "Weighing of biomolecules, single cells and single nanoparticles in fluid," *Nature*, vol. 446, pp. 1066-1069, 2007.
- [18] G. Yoshikawa, *et al.*, "Nanomechanical membrane-type surface stress sensor," *Nano Letters*, vol. 11, pp. 1044-1048, 2011.
- [19] Z. Li, *et al.*, "Silicon nanowires for sequence-specific DNA sensing: Device fabrication and simulation," *Applied Physics A: Materials Science and Processing*, vol. 80, pp. 1257-1263, 2005.
- [20] E. Stern, *et al.*, "Importance of the debye screening length on nanowire field effect transistor sensors," *Nano Letters*, vol. 7, pp. 3405-3409, 2007.
- [21] X. P. A. Gao, *et al.*, "Subthreshold regime has the optimal sensitivity for nanowire FET biosensors," *Nano Letters*, vol. 10, pp. 547-552, 2010.