

## 1.

本計劃的目標在將 Lab on a chip 技術應用於水產病原菌檢測，整合水產生物技術、微流道系統技術及螢光偵測系統技術，開發可攜式水產養殖病原菌微量檢測系統，將水產養殖池水檢測樣品置於微流道晶片系統內，進行核糖核酸快速萃取、簡易純化及精確雜合三步驟，應用 SSU RNA 寡核苷酸專一性片段做探針，並以螢光標定標幟，於設定的環境條件下雜合，透過光電系統檢測螢光訊號以量測水生病原菌，判讀水生病原菌存在與否，做為水產養殖業者是否添加抗生素於飼料中的依據，因此本計劃在此提出結合微流道技術應用專一性探針於養殖現場檢測樣品之概念，僅需池水樣品滴入一個銅幣大小的晶片上，或由零星浮游水面上的感染病魚，以棉花棒輕抹病灶取樣再置入晶片上，短時間內便可獲知結果做為池塘管理的依據，最大的優點是可用以規範養殖業者不必要的投餵抗生素節省用藥成本，也可以減少抗生素之使用量，增加水產品之安全性。

## 2.

本整合計畫之總計畫暨子計畫三主持人張忠誠教授，近五年之研究在整合 MEMS、光電、IC 技術製作積體化感測元件，將以前完成之 ZnSe/Si schottky photodiode, ZnSe/Si PIN photodiode, ZnSe/Si HBT, n-ZnSe/p-Si/n-Si Heterojunction phototransistors, ZnSe/Si MSM photodiode, n-ZnSe/p-GaAs/n-GaAs HBT 等短波長光感測元件加以整合，完成初步 ZnSe/ GaAs 和 ZnSe/Si 光電感測器和增益元件，整合於同一片晶片之製作，同時建立相關之光電特性測試系統。另外也完成 IR 感測元件、壓力感測器及超音波元件整合放大器於同一晶片上之元件，最近也將研究成果加以應用，包含 IR 陣列元件、超音波陣列元件及生醫晶片元件等；生醫晶片之研發是整合 MEMS 及光電技術進行高分子材料微流道及螢光偵測系統之整合。目前已初步建立螢光偵測系統，也配合陳昭德教授完成實際樣品之量測，若整合自製裝之 Sensor 及微流道系統既可完成實驗室晶片工作平台。

本整合計畫之子計畫一共同主持人陳昭德教授，專長為：(1) 生物生化及分子生物、(2) 漁業及海洋、(3) 生物技術、(4) 微生物，研究方向包括：基因轉殖、生物技術、分子生物。

養殖池魚遭受病原菌感染，往往造成業者重大損失，因此政府投入相當多的心力在魚病防治這方面的研究。A. hydrophila 與 E. tarda 為淡水養殖池常見之水生病原菌，本實驗室起始設置時承接國科會計劃贊助，研究水生病原菌的致病機制，為文獻上第一個完成 E. tarda 的溶血基因選殖及定序的實驗室，並分析溶血毒素的生化特性。承續我們對研究結果的分析因而提出不同的魚病防治概念，即由養殖池塘環境的改善來控制病原菌的感染，以取代傳統人體及獸醫針對個體的醫療模式似較為可行，此外也承接農委會應用計劃研究早期診斷及開發預測病原菌感染的技術。2001 年因健康因素，實際研究工作中斷了兩年，去年恢復研究工作，完成了 A. hydrophila 與 E. tarda 專一性探針的設計及測試可行性，結果確立 AH642 及 ET996 探針可精確簡測養殖池水中常在菌 A. hydrophila 與 E. tarda。本年度則利用專一性寡核苷酸探針，雜合檢測-80°C 冷凍一年以上的保存菌，分別檢測愛德華氏菌八個致病基因 hlyA, citC, fimA, gadB, katB, mukF, orfA 及 ssrB 的 RNA 表現與病原性之關係。當以吳郭魚做病原菌腹腔注射攻擊試驗時，致死魚可由肝臟重新再分離出細菌，並利用 ET996 雜合鑑定確認為愛德華氏菌，且同時萃取 RNA，並做專一性探針雜合檢驗，結果顯示八個致病基因的 RNA 皆會表現，而攻擊試驗七天後的活存

魚，抽血塗抹培養基表面則分離不到細菌，顯示八個致病基因 RNA 表現與否，確實與病原菌感染致病有關。

本整合計畫之子計畫二共同主持人陳柏台教授，專長為：(1) 結構聲學、(2) 機械工程、(3) 微機電系統、(4) 機電整合，研究方向包括：微流道、超音波陣列。

申請人在近二、三年之內相關於微技術的研究計有微電容式超音波元件的研製以及微流道相關技術的探討，其中微電容式超音波元件經過測試與理論模型吻合，目前正往陣列超音波的研製，此項計劃是國科會三年整合計劃的子計劃之一，其目標是以兩個垂直的一維陣列元件，產生二維陣列傳輸及接受的系統，可用於水下成像及生醫成像的應用。

在微流道方面，應用不同的技術製造流道，包含犧牲層技術，SU-8 及 PDMS 等，這裡強調的是流體的操控技術，其中應用加熱的空氣當作驅控流體的動力，以及應用 PID 及逐漸逼近法來作溫度的控制。其中溫度的量測應用電阻式的溫度感測，其中在同一晶片的不同電阻感溫計，只用校準其中任一個電阻元件，即可應用於所有電阻感溫計，與電阻的尺寸無關。這些成果發表於國內會議，目前正寫成期刊論文投於國內外期刊。

此外申請人在兩三年之前的研究在於結構與流體聲音交互作用研究，以及結構動態的研究，並且發展成一套軟體計算水中潛體及浮體聲音輻射問題，可以應用在軍事艦艇的設計及評估，目前此軟體正轉移至國內的聯合船舶設計中心。

本整合計畫之子計畫二共同主持人吳志偉助理教授，專長為：(1) 微機電系統、(2) 半導體製程與設備、(3) 複合材料成形技術、(4) 微機電系統研發實驗室之規劃建置與營運管理。

1.1 無線通訊表面聲波濾波器研發：表面聲波元件具有高性能、小尺寸、低成本且與 IC 製程技術相容等優點，使其在電子工業與生醫產業上均佔有很重要的地位。本人加入由台大應力所吳政忠教授所領導之團隊，以微機電技術在石英壓電基板製作出中心頻率為 400 MHz 之表面聲波元件，此研究成果已順利產出一篇國外期刊論文 (SCI) 與一篇國內研討會論文。

1.2 繞射式雷射光學尺系統之研發：高靈敏度與高準確度的量測，為進行次奈微米研究工作所不可或缺之技術。本論文研製出一種新式繞射式雷射光學尺系統，更成功開發完成繞射式元件接版機，此研究成果已順利產出一篇國外研討會論文與兩篇國內研討會論文。

1.3 微感測元件電子構裝之研究：本研究設計一套可與半導體技術整合之微機電封裝製程，其方法具有立體結構的封裝能力、提供密閉環境與高接合強度、製程高相容性、陣列式生產模式可降低成本、低溫封裝等優勢。此研究成果已順利產出兩篇國內研討會論文。

1.4 焦電紅外線感測器開發技術：本研究利用微機電製程將感測器微小化製成焦電薄膜紅外線感測器，並研究其對紅外線之頻率響應，並經證實焦電感測器可感測到近紅外線與人體的遠紅外線範圍，進而利用此特性量測人體體溫，此研究成果已順利產出一篇國內研討會論文。

1.5 新型高靈敏度之微型懸臂樑生物感測器應用於免疫分析法之研究：本研究利用微機電技術製作一微型懸臂樑檢測晶片進行蛋白質免疫分析，同時以電場分離與抗體結合之抗原，並維持極高的再現性，可以達到快速與準確的效果，此成果已順利產出一篇國外研討

會論文。

本整合計畫之子計畫四共同主持人何志傑助理教授，專長為：(1)微光機電技術工程、(2)感測電路工程、(3)光電工程、(4)半導體元件設計，研究方向包括：光電元件、與微光機電系統技術於感測器之研製。

截至 2004 年底，何員整個主軸研究成果已大多發表於 IEEE、JECS、IEE EL、JEM、SSE...等著名期刊與研討會(詳細內容請參閱個人資料表之論文著述)，計：期刊論文 50 篇(國際：39 篇、國內：11 篇)，其中國際均屬 SCI 優良期刊；研討會論文 50 篇(國際：31 篇、國內：19 篇)。整體研究就光電元件主軸，則在於：顯示元件應用技術、金屬橫向誘發結晶技術低溫成長光電元件、高性能紅外線光感測器和 pin 光電元件與吸收累增分離之累崩光二極體技術整合製作積體化感測元件。而微光機電系統技術於感測器之研製，則致力於：微機電系統技術於光微感測器、化學微感測器、與機械微感測器之研製。

本整合計畫之子計畫四共同主持人劉萬榮副教授，專長為：(1)類比積體電路設計、(2)混合訊號積體電路設計、(3)高頻積體電路設計，研究方向包括：ASIC 特殊用途積體電路設計、光電系統設計與應用、IC 製程模擬、射頻積體電路設計。

近 5 年來之研究主要深耕於類比訊號處理及混合訊號處理之研究，開發各種不同功能類比與數位介面積體電路，如開發用於語音訊號處理之高解析度 MASH 架構 Delta-Sigma 類比數位轉換器(ADC)，及 Delta-Sigma 數位類比轉換器(DAC)，此等 ADC/DAC 用於一般語音應用。此外，除成功開發出結合色彩轉換處理，可用於掃瞄器影像處理之 ASIC 外，近來亦致力於開發一應用於影像處理之高速 ADC，此 ADC 係利用 parallel pipelined 之架構，其解析度為 10 位元，取樣頻率可望達 150Mbps 以上，此 ADC 能應用於高速影像處理上，如大尺寸(17 吋以上)液晶顯示器及高畫質電視上，此 ADC 亦為國內設計公司目前較為需求 IP 之一。

近幾年亦致力於射頻(RF)積體電路之設計與開發工作，此等高頻積體電路主要應用於高頻無線通訊之接收器與發射器電路開發上，此外，尚應用於 0C-48 頻率以上光纖通訊收發器電路上。已開發之射頻積體電路為：2.4GHz 接收器，2.4GHz 發射器之功率放大器(PA)，5GHz 低雜訊放大器，5GHz 整數型鎖相迴路(PLL)等，目前計畫即是結合以往所開發之鎖相迴路及 Delta-Sigma 類比數位轉換器中之調變器電路技術來開發一高品質、低雜訊、高解析度、可調式 5GHz 非整數型之頻率合成器，此型頻率合成器電路極為複雜，深具挑戰性，尤其又為低功率耗損之設計時，其難度更高，此頻率合成器將應用於 5GHz 高性能接收器電路開發上。

為能光纖通訊與百億位元高速乙太網路前端接受電路。其中極為關鍵之技術即為一轉阻放大器(TIA)及自動增益控制電路(AGC)，由於此轉阻放大器(TIA)必須要高頻寬高轉阻增益及低電壓、低消耗功率及低雜訊的功能。而自動增益控制電路亦必須也需涵蓋極寬輸入範圍及足夠的頻寬來符合位元錯誤率及時隨機雜訊。因此，此轉阻放大器(TIA)及自動增益控制電路(AGC)之開發因其高速及低雜訊之要求，故難度極高，較一般乙太網路前端接受電路難度為高許多，也具有極高之挑戰性。

### 3.

本計劃的重點在於整合水產生物技術、微流道系統技術及螢光偵測系統技術，研發可攜式水產養殖病原菌微量檢測系統，並以之為載具實現水產養殖戶自行檢驗感染病魚病灶之感染菌及養殖池水中水生病原菌存在與否，做為池塘管理的依據，以減少施用抗生素之理想，進而提升養殖水產品食用安全性及節省業者用藥成本為目標。所開發的簡易實驗室晶片，進一步可用作活水產生物進口通關的快速檢疫工具。

目前全世界各先進國家，無不為下一世紀產業的出路尋找高成長的契機，生物科技的廣泛定義與應用範疇，符合此一思考方向所亟求之目標，故世界先進國家皆以前瞻性眼光，結合最新科學、生物、醫學與工程技術，快速地往生物科技道路前進，並且視為是維持國家整體產業成長的重要技術。生物科技之蓬勃發展，其快速之研發腳步與迅速擴充的應用範疇，已使今日生物感測器之研發典範，變成以多功能、微小化、及平行處理之晶片概念為主軸。以此延伸，「晶片即系統」之思潮業已成為目前生醫相關研發之主流。自 90 年代起，緣自半導體製造技術的運用，更為此一領域的發展帶來嶄新的技術，微影技術與大量生產帶動了微量分析、高速檢測及成本效能的改進，而微機電系統各種技術更為「晶片系統」的設計製造帶來無限的空間，諸如高度平行化、自動化、高產量、微量體積、快速等特性都將是半導體與微機電系統技術持續著力的重點。故而若能將原本繁複的實驗室工作程序與設定，藉由平面式奈微米元件的設計製作，將原來的檢測程序濃縮於一實驗室晶片 (Lab on a chip, LOC) 系統，可使檢測變為迅速、簡單，並可提升生物檢測之效率和增加應用之層面，此已成為一最新的重要研究典範之一。若能達到此理想，即可不需如傳統流程般，必須要有足夠的樣本，配合各種分離技術後，才可進行定性或定量鑑定、或確認各種特性，耗時久且需在實驗室進行。最近許多研究機構與公司研發單位皆開始重視 LOC 之潛力，也開始進行各領域之應用研發，本校生物晶片研究群也進行這方面之研究，其研究主題主要利用 LOC 的技術來解決水產養殖池病原菌檢測耗時過久與無法現場處理的問題。

養殖池魚被病原菌感染造成大量死亡的情形，由過去多年的研究結果顯示，從池水或少數感染病魚能分離出病原菌到全面性的感染，約需二到四個星期，因此檢測 *A. hydrophila* 及 *E. tarda* 在未爆發流行感染之前做預測篩檢，若無病原菌的發現，實無投餵抗生素的必要，在檢測到有病原菌存在可能爆發流行感染徵兆時再處理顯然較為妥當，且可減少抗生素殘留的困擾，但先決條件為未爆發流行感染之前先檢測到。傳統洋菜培養基菌落長成後，再做各項生化檢定，耗時至少兩三星期，池魚若被感染早已損失慘重，根本來不及作適當的處理，因此養殖業者才會在平時即投餵抗生素做預防。此種習慣性的投餵抗生素，除了造成病原菌具有抗藥性及藥物殘留的食品安全問題外，且一旦養殖魚被感染更毫無挽救的機會，因此發展快速的病原菌檢定技術一直是魚病防治的重要課題。Lab-on-a-chip 的概念由於微流道技術的開發進展，近年來已漸進入實用的階段，應用 SSU rRNA 專一性的寡核苷酸探針來雜合檢定病原菌及致病基因，若能縮短檢測的時間到一小時內，且操作簡便價格便宜，應用於預測魚病發生的時機將變成具體可行。因此本研究群提出利用 LOC 技術，應用專一性探針於養殖現場檢測樣品的概念，僅需池水樣品滴入一個銅幣大小的晶片上，或由零星浮游水面上的感染病魚，以棉花棒輕抹病灶取樣再置入晶片上，短時間內便可獲知結果做為池塘管理的依據，最大的優點是可用以規範養殖業者不必要的投餵抗生素，節省用藥成本並保障食品安全，此外活水產生物的檢疫也是應用的好工具。目前本校電機、系工、機械等專長的教授們，正在進行 LOC

技術的開發，故可整合本校水產生物技術、微流道系統技術及螢光偵測系統技術，共同來完成可攜式水產養殖病原菌微量檢測系統，利用以本校水產生物實驗室已開發的具專一性的 16S rRNA 寡核苷酸片段，來共同開發一套可用於快速檢測養殖池水生病原菌的技術，應用於病原菌發生之預測篩檢，作為投餵抗生素與否的依據，進而擴大開發檢驗常見或法定的水產生物的病原菌晶片，用做水產品檢疫的最佳工具。

依據農委會九十二年公佈的統計資料，台灣養殖魚塭總面積約為 28790.95 公頃。純就晶片本身的經濟產值來估算，假設每一公頃含五口池塘，每一池塘每兩星期使用晶片檢測一次，每一晶片假設使用成本為新台幣 50 元，略估一年的產值約為新台幣一億八千七百萬元。另依據經濟部公布 2001 至 2003 年進口動物抗生素資料，約合新台幣 20.3 億，假設水產養殖消耗其中 1/3，每年單到岸價格進口商的成本就耗掉 2.25 億元新台幣，因此估算實際養殖業者施用抗生素的金額應超過 10 億新台幣/每年。假若每年因檢測到病原菌而必須使用抗生素的機率降為 1/10，節省下來的金額約為 8、9 億新台幣/每年。

晶片系統檢測不僅可節省水產養殖業者不必要的濫用抗生素成本，最重要的目的在維護消費者健康。此外晶片本身也代表高階技術的產品，在水產養殖先進國如日本、挪威等，也都尚未能做到病原菌預測篩檢的技術，因此開發本檢測晶片系統之應用構想具原創性與前瞻性。水產養殖池病原菌檢測系統之開發，可結合本校生命與資源科學院水產養殖系陳昭德老師已有的研究成果和本校理工相關系所正在發展的 LOC 晶片技術，在學術及技術上皆有其前瞻、創新與重要性，而且對國內的養殖產業可以提升養殖水產品的品質，降低抗生素殘留的危害，增加國際競爭力。而在產學合作方面，國內晶宇生物科技有意願與本校生物晶片研究群合作，整合完成之系統未來也可更進一步開發為可量產之產品，增加國內生物晶片製作公司之應用範圍，而生產之 LOC 晶片不只在台灣，在大陸及東南亞亦將有廣大之市場潛力。本計劃之執行，未來也可讓國內生物晶片製作廠商，在對水產方面之檢測系統提早介入，增加國際競爭力。

#### 4 .

本計劃的目標在整合製作一可攜式水產養殖病原菌實驗室晶片微量檢測系統，使得水產養殖戶可自行檢驗養殖池之池水所含病原菌是否達到用藥需求，以適當施用藥物控制做池塘管理。除了可節省用藥之成本費用外，更可降低養殖業者之不當施用抗生素造成藥物殘留之危害，增加人們食用養殖魚水產品之安全性及健康性。

本檢測晶片為一整合製作之系統，包含樣品處理流程、注入系統、微流道系統製作、微流道流體動力設計及量測分析、樣品收集、偵測、分析顯示等部份之技術，才能架構完整快速微量檢測系統。因此本整合性計劃將有四個子計劃參與，而各子計劃整合之關係如圖一所示，而樣品之檢測系統流程如圖二所示。

本計劃在執行之初將整合協調各子計劃開始按進度進行相關工作，以能配合整合計劃之進度。同時協調相關子計劃之共同研發項目，以提高整體之研發效率，總計劃亦將挑定各組之會議討論時間，使計劃之進度能確定掌握。而總計劃將協同子計劃一進行生物樣品之準備：於本校水產養殖系所、生物研究所取得生物檢測樣品。例如：蛋白質、DNA、RNA、螢光染劑，甚至病毒。並依子計劃一之需求協同子計劃三進行螢光檢測系統之建立。再進行子計劃一、子計劃三之協同實驗印證所建立螢光檢測系統可用於病原菌之檢測。另將協助子計劃二進行微流道製作：於矽基板塗佈一層 SU-8 光阻，配合製作好的光罩，

進行曝光動作。顯影完並以異丙醇淋洗，完成母模製作。將配製好的 PDMS 澆置於母模上，並以 120 度烘烤 1 小時。將固化成形的 PDMS 結構體自母模撕下。利用氧電漿處理使兩片 PDMS 及玻璃基板結合完成微流道製作，此方法優點可大量生產且降低製程成本。另將整合子計劃一、子計劃三及共同計劃主持人趙勝裕教授、鄭邕言博士，進行微流道系統細部設計及測試。使微流道系統最佳化，另外將協同子計劃三、四，進行螢光檢測系統及感測器之設計製作。同時整合子計劃二、三、四及鄭邕言博士進行 Hybridization chamber 之細部設計、測試。另外將整合子計劃一、二及三進行 Hybridization 螢光檢測過程之試驗。基因微點陣技術是將探針 (Probe)，通常是將不同種類的 DNA 或 cDNA，以點陣固定在經表面化學塗布處理過的載體表面上，而受測的檢體(target)與 Probe 進行雜交試驗(Hybridization)。由於 DNA 為雙股螺旋結構具有互補的專一特性，就如同拉鍊般的性質，檢體中的標地核酸，會雜交固定在 cDNA 微點陣玻璃上含有互補的核酸序列的探針的點；再經過清洗將沒有雜交的樣本核酸去掉，就可以記錄下有雜交反應的點的位置。由本實驗室自行架設之綠光雷射藉著通過細光纖，得到充分之自相位調變效應，產生極寬頻之光源，將光纖插入我們自製的 PDMS 微流道生物晶片。綠光雷射光束經由分光片分為參考光路及樣品光路。樣品於平移台上以 Labview 經 DAQ 卡做處理，再經由顯示器觀察資料。

另外將協同子計劃四及工研院光電所丁維中博士進行薄膜沉積之試驗和分析。進一步進行含濾波器之 Poly-Si<sub>1-x</sub>Ge<sub>x</sub> 光檢測器之製作。而總計劃將協調子計劃一、三和王榮華教授將所得之訊號進行處理後教授進行測試資料進行處理分析，也將協同子計劃三、四和王榮華教授將所得訊號進行處理後利用所設計製作之 IC，將測量值顯示於 LCD 上，當各子計劃互相協同整合有初步成果後，將進行系統之整合測試。

各子計畫之相互整合:子計畫一生物樣品由本校水產系準備好後，便注入子計畫二微流道樣品進樣區並搭配微幫浦驅動。進入濾波器濾掉不必要的樣品，再經過第二個微幫浦，與緩衝液做 RT-PCR 處理。再經過第三個微幫浦，配合子計畫三雜交並以子計畫四矽鍺感測器做檢測。最後以子計畫五所架設之 Labview 平台為系統操作介面及訊號處理。

## 5-A.

子計劃一主要目標在改良複雜的實驗室大樣品取樣流程微量化，搭配微流道設計反應製程及提高檢測敏感度及精準度。而計劃進行之方法，以 *A. hydrophila* 及 *E. tarda* 的專一性探針為基準，比較及分析實驗室傳統檢測結果與通過原型微流道晶片的訊號解讀。簡易的晶片微流道處理生物樣品流程將分成三個步驟進行，包括細胞的溶解釋出核醣核酸，快速通過色層分析管柱純化核醣核酸，以及核醣核酸附著尼龍膜後精確的被螢光標定的探針雜合。子計劃一將提供實驗室標準實驗流程，並模擬微量化於晶片微流道內進行的可行性，針對每一反應製程搭配子計劃二的微流道設計加以改進。使用的螢光標定探針將搭配子計劃四的光電檢測系統，慎選最適的可標定寡核苷酸之螢光，以提高訊號檢測的敏感度及精準度。另開發重要養殖魚病常見原菌的專一性探針，增加進階改良型微流道晶片的實用性。

## 5-B.

子計劃二之目標為提出完整的微流道設計方法，其中包含了微流體之定量、推動、混和、溫度反應等功能，以架構實驗室晶片之微流道系統。本研究計劃將製作微流道結構於生物晶片中，並利用流體系統之操作完成生物分子之複製與樣本輸送等處理步驟。為達到高產能與降低製作成本之目標，本計畫將於玻璃基板與塑膠高分子材料(PDMS)上利用微影、蝕刻、鍍膜、熱壓成型等技術獲得固定體積之微通道(microchannels)與微反應槽(microchamber)，最後再以紫外光膠進行低溫封裝將兩者接合。針對樣本之前處理，於微流體系統之前段製作出安置過濾薄膜所需之槽道，此過濾薄膜孔徑分別為 $200\ \mu\text{m}$ 、 $5\ \mu\text{m}$ 、 $0.2\ \mu\text{m}$ ，可充分將待檢測樣本內之偵測對象分離純化。此外，更進一步利用溫度敏感性水膠(hydrogel)製作微閥門開關(microvalve)，進程序的調節與控制(process control)，進而達到控制流體流動的目的。在流體系統之控制部分，將對於生物分子表面動力學加以探討，亦將嘗試以外加幫浦之設計或電場等方式，進行中等規模之流體流道於晶片中之多工準確控制液體輸送，以利於生物分子作用機制之參數探討。本研究驅動力之來源將以壓電晶體所驅動之氣壓或液壓式微幫浦為主，其優點為能產生足夠的力量及快速的反應時間(1msec)。此外，量少的樣本及試劑意味著反應快速及靈敏，本子計劃對於微流體在反應器之操控，包含混合、清洗、搖晃等動作，將以水滴的形式處理，圖三為表面張力操控制水滴圖。

生物檢測晶片的設計、製作、與應用等研究，均包含了生物樣本與檢體的混和、沖洗、分離等過程。在微流場中，因流場尺度小、流體速度慢，流體的運動主要受流體黏滯性、流體與微流道固體介面間的表面張力影響。而這兩種作用力均不利於生物樣本與檢體的混合與分離。如何提升微流場內不同介質的混合、分離等效應，為本計劃主要的研究課題之一。為提升微流場的混合效應，讓微流場內的流體質點團跳動是一較佳的方式，而應用氣泡破裂流場產生的微小噴流，即可達到此目的。本子計劃，擬先於釐米尺度的流道中從事實驗，並以質點影像測速法(PIV)量測氣泡破裂流場對於低雷諾數流場混合效應的增強效果。接著將所製作之微流道，於微流道中產生氣泡、擊破氣泡，並於顯微鏡下以微質點影像測速法(Micro-PIV)量測微流場內的混合與沖洗、分離效應，以修改微流道之製作，完成生物檢測晶片微流道系統設計之最佳化。

#### 5-C.

子計劃三之目標在完成 hybridization and detection chamber 之架構及系統整合，重點工作在配合子計劃一及子計劃二進行 hybridization 流程及系統架構，並配合子計劃二、四進行微流道與螢光檢測系統之界面製作整合。本計劃之工作方法首先將配合子計劃一及子計劃二進行將所需不同之 DNA 受體配置於 Nylon 薄膜上，同時配合子計劃二進行 Nylon 尺寸和 hybridization and detection chamber 尺寸之設計整合。另外將建立包括 laser, photo detector 之螢光檢測系統，進行獨立外部檢測試驗，由子計劃一提供測試樣品進行初步螢光檢測，接著將配合子計劃二、四之 hybridization and detection chamber 建立標準 Probe 製作及放置程序，同時在此 Chamber 上建立螢光量測系統，完成整合 Sensor 及單晶片之光偵測系統晶片與微流道系統晶片接合，形成一個 LOC 晶片，使整個系統完整化，建立整合微流道系統和包括感測元件、laser、單晶片之螢光偵測系統

之生物晶片檢測系統。同時配合總計劃，以子計劃一所規劃之樣品進行整合試驗，完成可攜式水產養殖病原菌微量檢測系統之整合製作。

子計劃四依過去研究之成果，擬以金屬誘發橫向結晶(MILC)技術研發低溫成長多晶矽鍺(Poly-Si<sub>1-x</sub>Ge<sub>x</sub>)薄膜累崩光感測(APD)元件；由於採用 MILC 技術成長 Poly-Si<sub>1-x</sub>Ge<sub>x</sub> 薄膜，可有效避免金屬污染而影響載子傳輸特性，且應用於具光濾波 APD 感測元件，目前尚無任何研究文獻，故具創新性之研發動機。本計畫之研究方法以 MILC 技術低溫成長 Poly-Si<sub>1-x</sub>Ge<sub>x</sub> 薄膜關鍵技術之研發及特性分析，如成長溫度、矽鍺成份對成長溫度的影響、阻抗值分析、Poly-Si<sub>1-x</sub>Ge<sub>x</sub>/Si 磊晶介面的特性及橫向結晶速率等技術；同時結合多孔矽表面奈米結構之技術，研發改善 Poly-Si<sub>1-x</sub>Ge<sub>x</sub> 薄膜 APD 光感測器之品質，以用於螢光偵測系統。另外將更進一步，應用上述的研究成果，研製具光濾波之 APD 感測元件，其主要架構為：微生物晶片、濾波器(CdS 薄膜)、APD 光感測器與 Si 基板之相關特性分析，建立低溫成長微生醫光感測元件的關鍵技術。

另外，子計畫四因所須量測之螢光至為微弱，因此光檢二極體所產生之光電流亦將極為微弱，如何克服雜訊對訊號之影響，如何將微弱訊號之變化檢測出來均是本研究之挑戰，為降低雜訊對訊號之影響及大幅減少系統電路之體積，本計畫將同時完成一高靈敏度光檢系統單晶片積體電路之設計與開發，以將光感測元件所得訊號加以處理，本積體電路主要有三大部份（一）低雜訊放大器(LNA)（二）高解析度類比數位轉換器(ADC)（三）數位控制及顯示電路(Controller)。整體單晶片之架構圖如圖四所示。

由於此單晶片電路之 LNA 及 ADC 部份為類比電路，控制器部份為數位電路，因此本單晶片積體電路之開發，為混合訊號積體電路之設計，具有相當高挑戰性。本計畫預計完成 LNA, 16~18 bit ADC 及 Controller 之部分電路設計，其中 LNA 及 ADC 將以晶片製作方式完成其驗證，而 Controller 部分之驗證將以 FPGA 方式達成其驗證工作，驗證完成後，即整合此三部分之電路完成一整體之積體電路設計，並由晶片之製作以驗證其功能，此單晶片並將與光偵測部分結合，以測試其靈敏性，及其抗雜訊之能力。此外，本計畫之控制電路亦須與本計畫之其它子計畫配合，完成內部資料之建立，及訊號之判別，而將結果顯示於 LCD 顯示器上，而提供所欲偵測水產生物病原菌之存在與否，及其量之多少程度等資訊。

## 6 .

本整合計畫之總計畫暨子計畫三主持人張忠誠教授，專長背景包含光電、積體電路製程、奈微米機電系統、感測元件系統及水下技術等；研究方向在於奈微米積體感測元件之製作及應用。整個研究主軸在於 MEMS，光電和 IC 技術整合製作積體化感測元件。張員原來之研究背景為光電元件如今已有 20 多年之研究歷程，自從 1982 年到海大任教後，配合學校發展，開始以 MEMS，光電和 IC 技術從事積體化感測元件系統之製作，已有 15 年之經驗，完成矽質壓力感測器、紅外線陣列感測器、超音波感測器和短波長光感測器等積體化元件之製作測試，也應用於溫度、紅外線感測、血壓、心跳、短波長光電感測、超音波測距、超音波影像等範疇，專長背景適合整合研究實驗室晶片。

本人亦曾在 1992-1995 年擔任本校電機系所主任，而主持人亦有主持整合型計劃之經驗，分別如下(a) 智慧型水下機械臂系統技術研發與實作-總計畫；子計畫一：智慧型水下機械臂系統測距技術研發、(b)遠端操控水下機械臂系統應用於水下施工作業之技術研發(I)-總計畫；子計畫一：遠端操控機械臂系統應用於水下施工作業之測距技術研發、



(c) 水下感測元件及系統之研發以應用於水下作業-總計畫 (1/3)；子計畫一：水下壓電片超音波陣列系統及水下感測元件電子電路支援系統之研發等。

而且亦曾協助電子元件暨材料協會在海洋大學舉辦 2003 年之電子元件暨材料研討會為議程主席。也擔任國科會北區微機電中心副組長、組長等服務工作。也曾擔任 2004 International Symposium on Underwater Technology; UT' 04。之分項主持人一職。此外本人也積極協助、推動本校奈微米技術學程課程之修正及教育部區域性奈米人才培訓中心計畫之工作，在計畫之整合協調上足以勝任。

而本研究群在三年前開始由本人及陳柏台教授、趙勝裕教授進行實驗室晶片平台技術之開發，目前已有初步之微流道系統與螢光偵測系統完成，配合實驗室晶片平台建立及可攜式水產養殖病原菌實驗室晶片檢測系統之研發需要陸續邀請水產養殖系陳昭德教授、機械系吳志偉教授、電機系劉萬榮教授及何志傑教授加入研發行。由陳昭德教授負責樣品備製及流程規劃目前已初步完成；陳柏台、趙勝裕及吳志偉教授負責微流道系統製作，目前已有初步微流道之樣品；何志傑教授負責光感測器製作，目前在 Si-Ge 光電感測器上已有初步成果；劉萬榮教授負責資料處理及 LCD 顯示器 IC 之製作，目前已有初步設計成果；本人則負責整合微流道系統及螢光檢測系統進行 Hybridization 及光電偵測部份；目前已初步建立螢光偵測系統，也配合陳昭德教授完成實際樣品之量測，整合主組裝之 Sensor 及微流道系統既可完成實驗室晶片工作平台。又因實驗室晶片檢測技術開發需化學背景之人材，同時需要軟體人才；因此邀請中研院鄭邕言博士及電機系王榮華教授加入研究團隊，目前因各成員專長可以涵蓋計畫之各細節部分，因此目前已完成分工架構，也開始進行部份整合工作，若能執行此整合計畫，將可使研發成果迅速展現出來。

## 7.

本校生命與資源科學院許多老師專研水產生物等研究方向，而且有很好的研究成果，也有完整之相關研究設備；如本計畫之子計畫一主持人陳昭德老師為水產養殖系的老師，其專長為分子生物技術，在細菌檢測方面已有豐富的研究經驗。整個水產養殖病原菌檢測流程皆可在其實驗室完成，因此可設計整個 LOC 晶片之檢測流程，其他子計畫可根據此流程製作 LOC 微流道系統及螢光偵測系統，以進行病原菌之快速檢測。而在 LOC 之專長方面，本校工學院電機系、系工系、材料所、海運學院機械系、輪機系、理學院光電所等系所，近幾年來大家努力推動奈微米機電系統技術，設立奈微米科技學程，修課之學生相當踴躍；同時也建立奈微米機電系統實驗室。由於學校相當支持奈微米方面之研究發展，同時鼓勵相關教授申請奈微米生物科技計畫，並承諾相對應之配合款。此外，本校在微流道系統及螢光偵測系統製作之相關老師及實驗室，已有不錯的基礎及資源。配合在水產生物方面之成果，在研發資源具有相當優勢。設備方面，在生物製作上已很完整；在元件製作上大型設備可以台灣大學奈微米機電系統研究中心（以下簡稱為研究中心，前身為國科會北區微機電系統研究中心），工研究光電所及 NDL 等為使用場所。一般設備可在本校奈微米機電系統實驗室及各相關系所實驗室進行，達到充份利用本校及研究中心等區域中心設備之目的，也促進國內奈微米科技之交流與互動。奈微米機電製程技術為本計畫所欲發展之水產養殖病原菌檢測晶片系統的最重要基本技術，除了利用本校已經建構完成的奈微米機電系統實驗室之外，台灣海洋大學生物晶片研究群與研究中心有著極其密切的關係，本計畫總主持人張忠誠教授現為研究中心之學術技術整合組組長，參與中心事務，子計畫共同主

持人吳志偉助理教授亦曾在該研究中心擔任四年之博士後研究員，負責中心營運管理、研究發展、產學合作、教育訓練與安全環保等各項重點工作，對中心之發展及規劃著力甚多，對本計劃的順利執行將有莫大的助益。另外在軟體方面則由 Soft computing Lab. 來支援；微流道及 hybridization chamber 之製作試驗則由中研究鄭邕言博士來支援。

8.

1. 開發完成可攜式水產養殖病原菌原型實驗室晶片。
2. 開發出精準度及敏感度高的生物晶片原型，用以檢測養殖池水生病原菌 *A. hydrophila* 及 *E. tarda*。
3. 開發進階多微流道式的專一性探針檢測晶片，可同時檢測常見已知的養殖池魚病原菌，以符合養殖業者實際的應用。
4. 建立可替換式樣本微過濾系統及裝置自動取樣機構以達到分析檢測自動化。
5. 製作微幫浦、微閥門、微混和器、與微管道等微流體系統元件。
6. 完成實驗室晶片之微流道系統內溶解細胞釋出核糖核酸操作流程。
7. 完成實驗室晶片之微流道系統內色層分析管柱純化核糖核酸操作流程。
8. 完成於釐米尺度的流道中從事實驗，並以質點影像測速法量測氣泡破裂流場對於低雷諾數流場混合效應的增強效果。
9. 於微流道中產生氣泡、擊破氣泡，並於顯微鏡下，以微質點影像測速法量測微流場內的混合與沖洗、分離效應，將結果用以改善微流道之製作。
10. 建立 hybridization 用微陣列薄膜之製程和架構於微流道 hybridization and detection chamber 之流程。
11. 建立計劃所用樣品螢光偵測之模式，完成整合螢光偵測系統，讓樣品 hybridization 後可於 hybridization and detection chamber 直接利用螢光偵測系統進行螢光偵測。
12. 建立螢光偵測訊號之量化標準。
13. 完成微流道系統和螢光偵測及顯示系統之整合，架構水產病原菌檢測實驗室晶片(LOC)系統。
14. 完成以 MILC 技術進行不同成份 Poly-Si<sub>1-x</sub>Ge<sub>x</sub> 之成長溫度、橫向結晶速率、結晶顆粒大小與其阻抗值特性(I-V 曲線)；並設計以 Au 進行 MILC 之矽鍺/矽磊晶介面的結構。
15. 完成以 MILC 技術進行不同成份 Poly-Si<sub>1-x</sub>Ge<sub>x</sub>/porous Si 之成長溫度、橫向結晶速率、結晶顆粒大小與其阻抗值特性(I-V 曲線)的改變；並設計以 Au 進行 MILC 之矽鍺/多孔矽磊晶介面的結構變化，同時應用於螢光檢測系統。
16. 完成低雜訊放大器及高解析度類比數位轉換之設計及佈局並且下線，而數位控制及顯示電路則以 FPGA 完成整體數位電路之設計與驗證，同時和螢光偵測進行整合。
17. 完成 LNA 及 ADC 之電路測試、驗證及電路修正，並完成整個電路系統之設計及製作，同時和螢光偵測進行整合。
18. 單晶片系統電路與整體生物檢測系統之聯合測試與設定，並做資料之建立與分析，以提高檢測之準確性。

19. 建立水產養殖病原菌微量檢測系統之製作流程。
20. 建立水產養殖病原菌微量檢測系統之使用程序。

## 9.

本計畫所需主要設備包括三個部份 1. 水產生物技術所需研究設備 2. LOC 微流道系統所需研究設備 3. LOC 之螢光偵測系統技術，所需研究設備分三個主要部份進行說明。

1. 水產生物技術所需研究設備，需用本校水產養殖系實驗室之細胞研磨機、聚合酶連鎖反應設備、電泳設備及螢光檢測器等設備。
2. LOC 微流道系統所需研究設備需有光罩機、蒸鍍機、濺鍍機、熱蒸鍍機、LPCVD、PECVD、O<sub>2</sub> Plasma、光阻塗佈機、爐管及 ICP 等。上述之設備將利用研究中心、精密儀器中心、交大半導體中心與本校微機電系統實驗室等已有之設備進行實驗。光罩部份則需委託 NDL。
3. LOC 之螢光偵測系統技術所需研究設備，有化學清洗槽、濺鍍機、VPE 磊晶設備、氧化擴散設備、蒸鍍機、曝光設備、阻抗分析儀、I-V 測試儀、電性量測設備及雷射光螢光檢測系統可於本校奈微米積體感測元件實驗室實驗室使用。高溫爐、C-V 測試儀、測厚儀、光質譜儀、原子力顯微鏡等光電元件之量測設備可於工業技術研究院光電所及本校光電所使用。另外有極低雜訊訊號產生器、極低雜訊電源供應器、高頻示波器、邏輯分析儀等可使用於特殊用途積體電路設計實驗室使用。光罩部份則需委託 NDL。