

應用微懸臂樑生物晶片於 藥物篩選系統

Drug Screening System by Microcantilever Biochip

吳志偉

Chih-Wei Wu

台灣地處於亞熱帶地區，為日本腦炎、登革熱、腸病毒的主要疫區。但至今對此類傳染疾病卻無真正有效的藥物可以防治，故了解病毒感染歷程，進而開發有效的抗病毒藥物是現今當務之急。常見與病毒相關之檢測分析，皆須使用實驗室之大型儀器，雖然檢測設備性能優異且結果準確，但伴隨有檢測時間長、所需樣本多、無法即時觀測、成本昂貴等問題。本研究利用微機電製程技術，結合微型懸臂樑感測結構、微流道系統、光學量測、水膠材料，製作一微懸臂樑藥物篩選晶片用以紀錄病毒感染歷程，並對抗體或抗病毒藥物進行抑制作用評估，以達到藥物篩選之目的。本系統針對不同種病毒，在不同病毒濃度的狀況下，成功紀錄其完整感染歷程，發現日本腦炎病毒有明顯的病毒侵入、複製、脫離時期，與其同病毒屬之登革病毒亦有相似之感染歷程。茲此實驗結果，本研究進一步對各種病毒具療效之專一抗體與不具療效之非專一抗體與病毒同時注入系統內，可於數小時內驗證專一抗體確有抗病毒之療效，免除傳統免疫分析之繁瑣與費時。此外，亦對藻類萃取物進行篩選，驗證其確有抵抗登革熱病毒之能力。綜上所述，本系統成功達成紀錄病毒感染歷程與藥物篩選，相信對於藥劑、保健食品、或疫苗開發將有相當助益。

Taiwan, located in the subtropical region, is one of the major epidemic areas of Japanese encephalitis, dengue fever and enterovirus. There is still no effective drug or vaccine that can truly cure the mentioned-above infectious diseases until now. It is the first priority to understand the infection processes of the viruses in order to find effective antiviral drugs or vaccines. Most traditional methods have to use large equipments located in the laboratory to detect or analyse virus. Although they have accurate detection abilities, but also have many disadvantages like long detection time, large volume of samples and reagents, non-real time, expensive cost. This study has proposed a novel system to record completed infection processes of Japanese encephalitis, dengue fever and enterovirus. Meanwhile, the inhibiting ability of antibody or antiviral drug has studied also by the same system. The system is consisted of a biochip manufactured by MEMS technology, optical measurement platform, and biocompatible hydrogel material. The biochip size is 3.15×3.15 cm which is consisted of microcantilever beams with hydrogel and a PDMS microfluidic. The biochip successfully recorded infection processes of different viruses in different concentrations. It was found that Japanese encephalitis had obvious penetration, replication and separation stages. Furthermore, dengue fever virus, which is the same genus as Japanese encephalitis, had a similar infection process. In view of the detection results, for each of the virus mentioned above, the effective specific antibody and the ineffective non-specific antibody were respectively injected into the biochips along with the virus. The antiviral ability of the antibodies was verified within few hours. The tedious work and the time cost by traditional immunoassay were avoided. In addition, the antiviral drug, algae extract, was proved that it could inhibit dengue fever virus for few hours. This study had proved that the biochip and detection system could successfully record completed infection processes for different virus and drug screen. It is believed that the experiment results described above are helpful for drug screen, functional food, and vaccine discovery.

一、前言

季節性流行疾病皆有極強傳染力，目前亦無有效治療方式，故若能了解此類病毒對生物之感染過程，對開發抗病毒藥物將有事半功倍之效，進而確保國人身心健康。台灣因屬亞熱帶，所以全年都可能發生腸病毒 (Enterovirus) 感染，從民國 87 年發生大流行至今，尚無有效的治療方式；登革病毒 (dengue virus) 則是另一種常見的人類致病病毒，每年約有 5 千萬人被感染，以目前醫學知識與研究，尚未能夠完全了解其致病歷程，故無法有效控制疫情。

現今對於病毒分離與鑑定，縱有許多學術及研究單位持續地進行探討，但不論是傳統之病毒分離培養鑑定法⁽¹⁻⁶⁾、反轉錄聚合酶鏈結反應⁽⁷⁾技術、酵素聯結免疫吸附檢定法⁽⁸⁾及聚合酶連鎖反應分析法⁽⁹⁾等技術，都還無法提出完整之病毒致病機轉及治療方法。病毒感染歷程大致可分成三個階段，分別為侵入期 (找到細胞並進入其內)、複製期 (製作病毒所需之核酸及蛋白質以複製病毒)、傳播期 (病毒脫離細胞進而感染其他細胞)。且現有病毒檢測技術大都只針對 DNA 或蛋白質做分析，故須對其設計專一性引子探針或抗原抗體進行接合，以致需耗費許多人力及時間，且無法完整且全面性的了解病毒入侵細胞至脫離細胞的完整過程，使得藥物開發面臨極大困難與疾病之用藥時機難以判斷。而生物晶片技術因其分析靈敏度及專一性高、分析速度快、檢測樣品少、平行化處理等特色，已成為基因或病毒解碼的重要工具。近年來生物晶片亦不再只是利用微加工技術將分析物修飾於晶片基材上，更進一步與感測器進行整合，使生物晶片擁有更為強大之分析檢測能力。其中，微懸臂樑生物晶片因具有免螢光標定、靈敏度高、平行處理、與低製作成本等優點，故本研究將微懸臂樑感測器與微流道系統結合成為微型生物感測晶片，以記錄病毒從侵入至脫離細胞所造成微懸臂樑不同形變量之變化，進而瞭解病毒從侵入至脫離細胞之完整過程，用以判斷該於何種階段使用藥物以抑制病毒的致病能力，進而開發及篩選最合適之藥劑。

2006 年 Lam 等人⁽¹⁰⁾以微懸臂樑檢測 human

immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) 之 gp120 外套蛋白，藉由特定專一性抗體之結合，以偵測 HIV-1 之存在。2009 年 Braun 等人⁽¹¹⁾於陣列化的微懸臂樑表面鍍上黃金薄膜，使大腸桿菌膜蛋白能順利附著以做為 T5 病毒受體，進而對 T5 病毒進行檢測。2010 年 Backmann⁽¹²⁾ 等人以 polyethylene Glycol (PEG) 作為蛋白質塗層並塗佈於微型懸臂樑上，每隔一小時分別通入不同濃度硫醇鹽 (mPEG-SH)，因兩者共價結合造成微懸臂樑產生形變，進而獲得隨濃度變化之微懸臂量形變量結果。綜上所述，現有懸臂樑感測器檢測文獻中，分析方式皆以抗體抗原接合之檢測模式⁽¹³⁻¹⁶⁾，此方式雖可有效偵測出病毒之存在，但無法確切得知生物體受病毒感染之完成過程，且尚未發現以細胞為檢測對象，進行細胞受病毒感染過程之分析。本研究利用微機電製程技術，結合微型懸臂樑感測結構、微流道系統、光學量測方法與水膠材料，製作一微型生物檢測晶片用以紀錄病毒感染歷程及對抗體或抗病毒藥物進行抑制作用評估，以達到藥物篩選之目的。

二、微懸臂樑藥物篩選系統設計與製作

1. 微懸臂樑藥物篩選系統設計

微懸臂樑藥物篩選系統包含微懸臂樑生物晶片、光學檢測系統、微流體驅動系統等，如圖 1 所示。為使微懸臂樑具有較好的抗扭矩之能力，特將之設計成 π 型 (圖 2)，橫樑中央為供細胞貼附之水膠材料固化區域，其尺寸為 $200 \mu\text{m} \times 200 \mu\text{m}$ ，橫樑兩側則做為低功率氦氖雷射光點入射與反射之光學檢測區，避免光線直接照射於不甚平坦之水膠膠塊與細胞上，造成位移感測器難以接收光點訊號導致量測不甚準確，亦可避免高能之雷射光束對細胞造成傷害。

2. 細胞固定方法

本研究使用之細胞為 BHK-21 (Baby Hamster Kidney-21) 敘利亞倉鼠腎細胞，目前雖有眾多文獻提出細胞固定方法⁽¹⁷⁻²⁴⁾，但皆沒有與感測器進行整合，只有利用螢光染色或顯微鏡觀察細胞存活狀

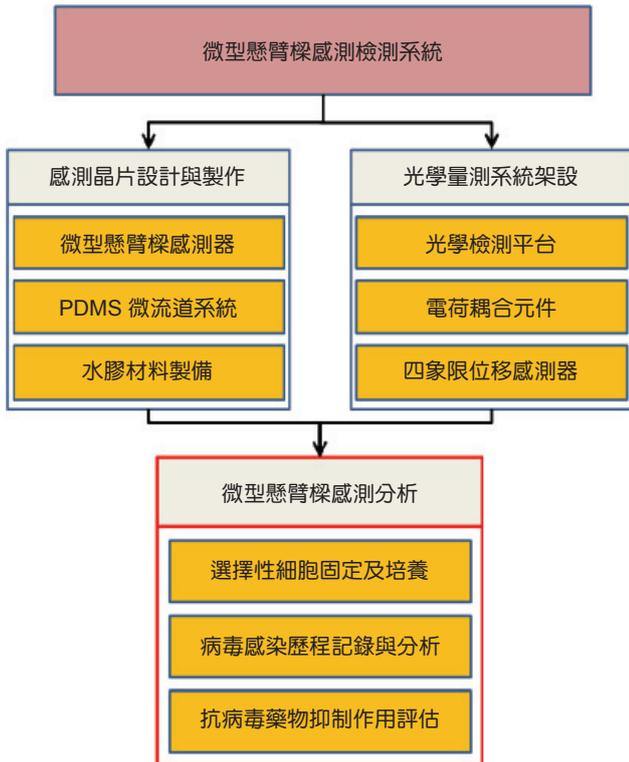


圖 1. 微懸臂樑藥物篩選系統架構。

態，以進行細胞定性之觀察；另以微懸臂樑感測器進行生物分析之研究，大多使用蛋白質免疫分析或 DNA 雜合反應等方法，皆於微懸臂樑上之金膜佈植 Bio-linker，再由 Bio-linker 固定抗體或 DNA 探針。然而，BHK-21 細胞之大小約為 $10\ \mu\text{m}$ ，為抗體或 DNA 探針之數千倍，故 Bio-linker 微弱之鍵結力量恐無法有效地將細胞固定於懸臂樑之特定位置上。此外亦有相關文獻利用電場效應將細胞固定於基材上⁽²⁵⁾，但若施加電場強度過大或時間過久，必然對細胞造成傷害並影響後續量測結果。故本研究提出利用具有生物相容性之水膠材料，將細

圖 3. 光學透鏡架設與參數示意圖。

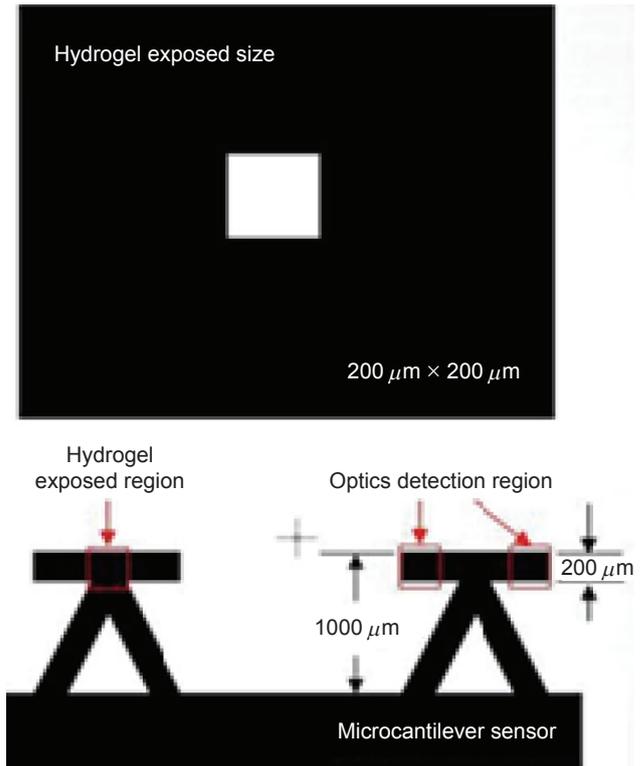
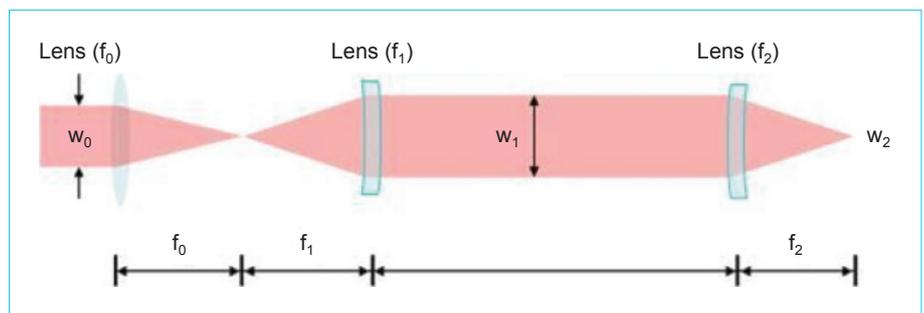


圖 2. 微型懸臂樑設計圖。

胞固定於水膠膠塊表面，此水膠膠塊已事先固定於微型懸臂樑上，將細胞固定之成果與微型懸臂樑感測器整合，達到定量及定性之檢測。

3. 檢測系統

本研究利用低功率之氦氖雷射作為光源，經由空間濾波器與精密針孔，將雷射光強度均勻化並將光通量縮減，解決光源中心光強度較強，周圍光強度較弱之問題，如圖 3 所表示。雷射光線從空間濾波器之濾波鏡片射出後，經由第一面聚焦透鏡將光束放大，並利用聚焦透鏡使光束成為平行光束，此

兩片鏡片之焦距分別為 f_0 及 f_1 ，兩鏡片放置之距離為其焦距之合 $f_0 + f_1$ ，如此則可計算放大後光束之寬度 w_1 與原光束寬度 w_0 之關係：

$$w_1 = \frac{f_1}{f_0} w_0 \quad (1)$$

其後再將放大後之光束由焦距為 f_2 的另一面聚焦透鏡將光束收縮為寬度 w_2 之光點，光點 w_2 之大小可藉由光學公式推導出與入射光源寬度 w_1 之關係式：

$$w_2 = w_1 \left[1 + \left(\frac{\lambda f_2}{\pi w_1} \right)^2 \right]^{0.5} \quad (2)$$

當 $f_2 \gg w_1$ 時，式 (2) 可簡化為：

$$w_2 = \frac{\lambda f_2}{\pi w_1} \quad (3)$$

本實驗中之雷射光點設定為 $10 \mu\text{m}$ ，結合以上推導之光學公式，可得到聚焦於微型懸臂樑感測器上之光點大小 w_2 為：

$$w_2 = \frac{\lambda f_2 f_0}{\pi w_0 f_1} \quad (4)$$

當光點聚集成設定之大小後，經由折射透鏡將光路徑改變往下折射，接著對焦至微型懸臂樑感測器的光學檢測區域，透過光槓桿原理使光線反射至四象限位移感測器 (Position-Sensitive detector, PSD) 並接收光訊號，藉由 PSD 量測此反射光的位移量 d ，再由此位移量 d 推算出微型懸臂樑感測器之形變

量，如圖 4 所示

微型懸臂樑感測器之形變量 可由光槓桿原理及三角幾何公式推導得出：

$$\Delta Z = \frac{d}{h} L \quad (5)$$

公式中

d ：雷射光點反射於四象限位移感測器上的距離差值

h ：微型懸臂樑感測器與四象限位移感測器之距離

L ：微型懸臂樑感測器長度

本研究亦將使用電荷耦合裝置 (Charge-coupled Device, CCD)，觀察雷射光點是否透過光路設計準確聚焦於微型懸臂樑之光學檢測區上。其後四象限位移感測器接收之訊號會透過同組之放大器將訊號放大並由電腦執行記錄訊號工作，完整之光學系統架設設計如圖 5 所示。

藉由分析微型懸臂樑感測器之形變量訊號，與螢光顯微鏡 CCD 鏡頭同時觀察水膠塊上細胞生長型態的變化，將能進一步了解病毒感染細胞之完整過程，並與傳統之病毒感染檢測互相比較映證其實驗結果。

4. 微型懸臂樑感測晶片製作

本研究選用已沉積氮化矽之四吋矽晶圓作為基材以進行微懸臂樑製作，對上述基材進行清洗去除表面雜質後旋塗光阻，再經過曝光、軟烤、顯影、硬烤等過程，形成具有圖案之光阻層。其後續利用反應離子蝕刻機 (AST, Crie-100, Taiwan) 進行乾

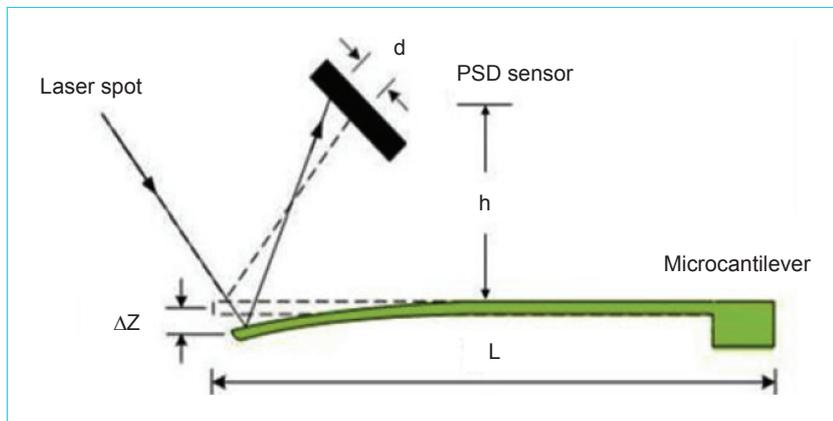


圖 4. 微型懸臂樑感測器形變量計算示意圖。

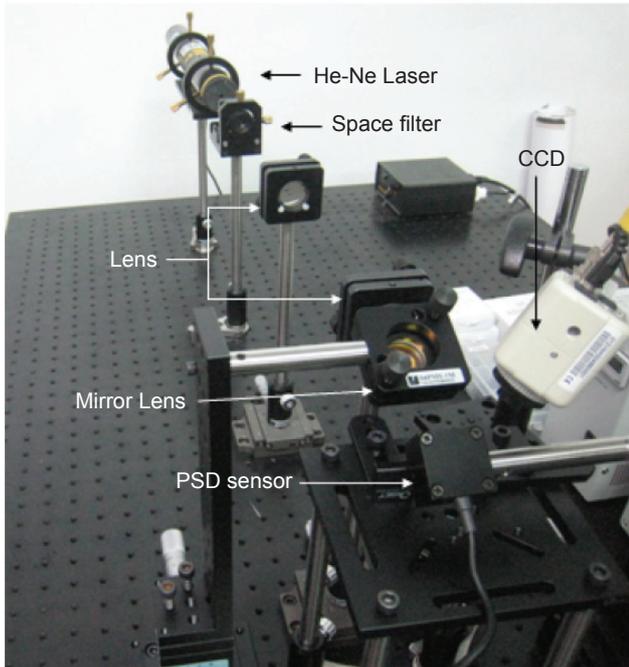


圖 5. 光學系統架設圖。

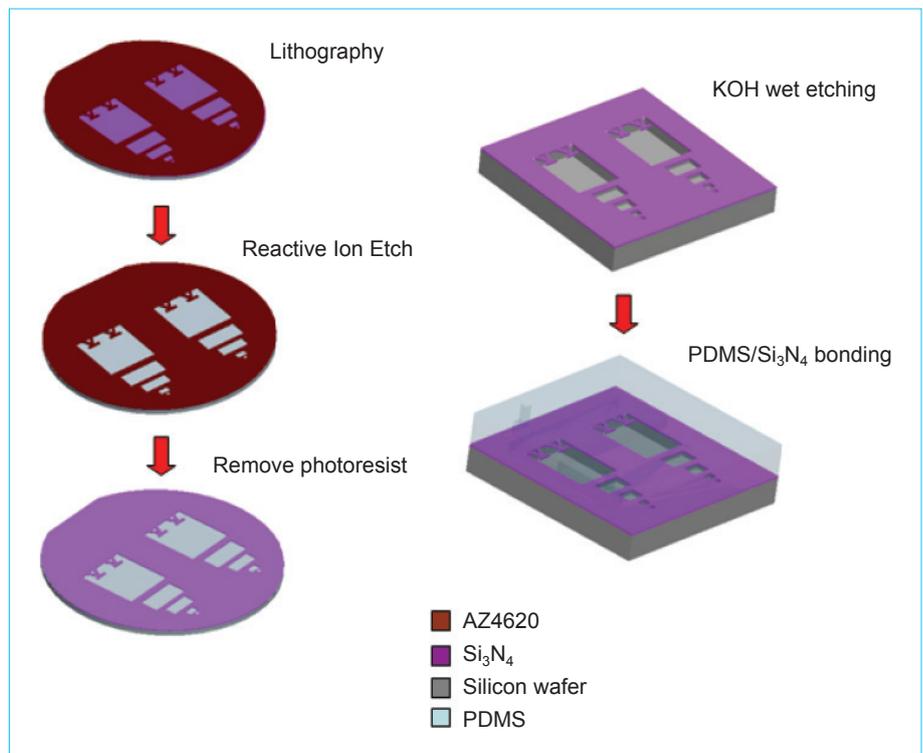
蝕刻製程，將未受到光阻保護之氮化矽層移除，製程完成再使用丙酮將光阻層去除，最後利用氫氧化鉀溶液將矽基材掏空移除，完成微懸臂樑結

構製作。本研究另將 SU-8 光阻旋塗於已清洗之矽晶圓表面，經過曝前烤、曝光、曝後烤、顯影等程序完成微流道母模製作。再將聚二甲基矽氧烷 (Polydimethyl siloxane, PDMS) 的主劑和硬化劑以 10 : 1 比例混合於燒杯中，隨後將調配好的 PDMS 溶液緩慢澆注於 SU8 母模結構上，並經由水流抽氣機進行低壓抽氣以將多餘氣泡去除。接著把模具放置烤箱中加熱使其固化，經由脫模、裁切、打孔後就完成 PDMS 微流道製作。再將稀釋後之明膠塗佈於 PDMS 微流道之上壁面，待明膠乾燥後即可將上述 PDMS 微流道晶片及微型懸臂樑感測器晶片利用氧電漿轟擊進行表面改質，改質完成後將兩片晶片接合並以重物加壓，即完成微懸臂樑生物感測晶片之製作，如圖 6 所示。

三、結果與討論

為證實微懸臂樑生物晶片及檢測系統的穩定度與準確性，本研究以不含水膠微結構之懸臂樑作為對照組 (reference)，並對已固定細胞之懸臂樑感測器進行再現性測試。Reference cantilever 經過 6 小

圖 6. 微懸臂樑生物感測晶片製作流程圖。



時的量測後，未有顯著之變形量產生；然而對不同懸臂樑感測器通入相同細胞濃度 ($2.4 \times 10^6/\text{ml}$)，發現皆擁有相似的變形量訊號產生，如圖 7 所示，證實微懸臂樑生物晶片及檢測系統的穩定性。圖 8(a) 為細胞貼附六小時後，螢光顯微鏡拍攝之照片，證明細胞能順利培養於微型懸臂樑上，而經 30 小時後以螢光顯微鏡觀察之結果如圖 8(b) 所示。顯示細胞能於晶片內順利貼附與增生，證實本研究具有使細胞長時間培養於晶片內特定區域之能力，利於後續病毒感染歷程記錄及抗病毒藥物篩選之檢測。

1. 日本腦炎病毒檢測

本研究首先將 BHK21 細胞注入晶片貼附六小時，再以細胞培養液將未貼附於水膠結構之

BHK21 移除，確保微懸臂樑後續之形變量皆由病毒感染細胞所造成。一小時後再注入 M.O.I = 1 之日本腦炎病毒 (Japanese Encephalitis Virus, JEV)，病毒感染時間為一小時，便以細胞培養液將未感染細胞之病毒移除，確保微懸臂樑後續之形變量皆非由 JEV 病毒感染所造成。圖 9 顯示在第八小時之後，微懸臂樑持續下降，研判此時 JEV 已侵入細胞並進行複製的階段，複製期維持約 2-3 小時後，微懸臂樑開始回彈，判斷此時 JEV 病毒複製完成並開始脫離細胞。本研究亦進行 JEV 與 NS1 (專一性抗體) 及 IgG (非專一性抗體) 接合之研究，以驗證抗體之抗病毒效果。圖 9 亦顯示 JEV 與 NS1 抗體結合後，抑制了病毒對細胞的感染能力，故微懸臂樑在病毒注入後並無持續下降與回彈

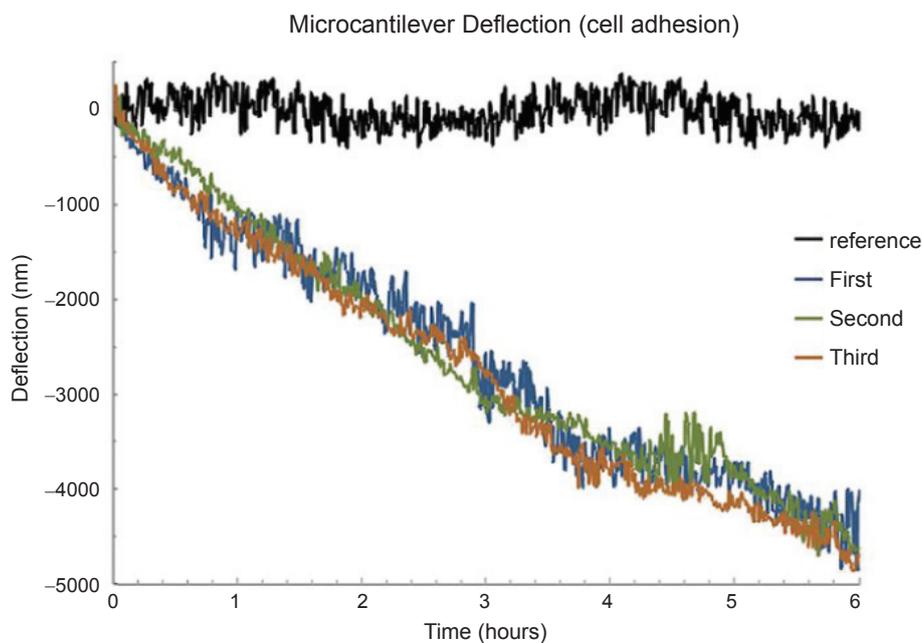


圖 7. 微懸臂樑感測器再現性測試。

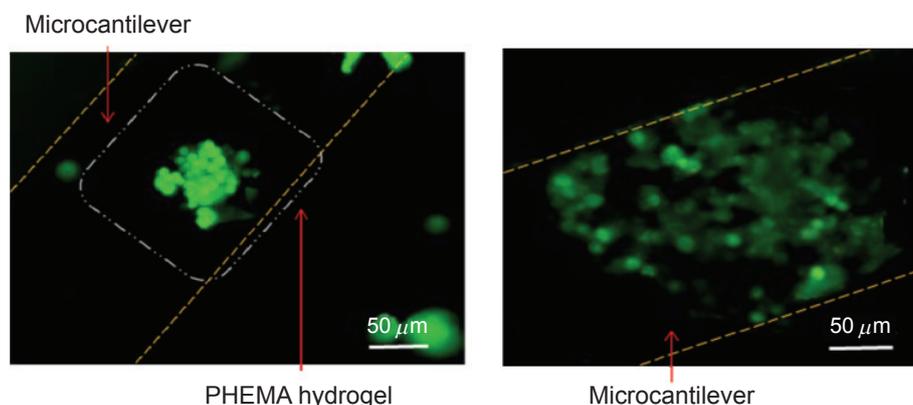


圖 8. 細胞培養於微型懸臂樑之水膠固定區域 (a) 6 小時，(b) 30 小時。

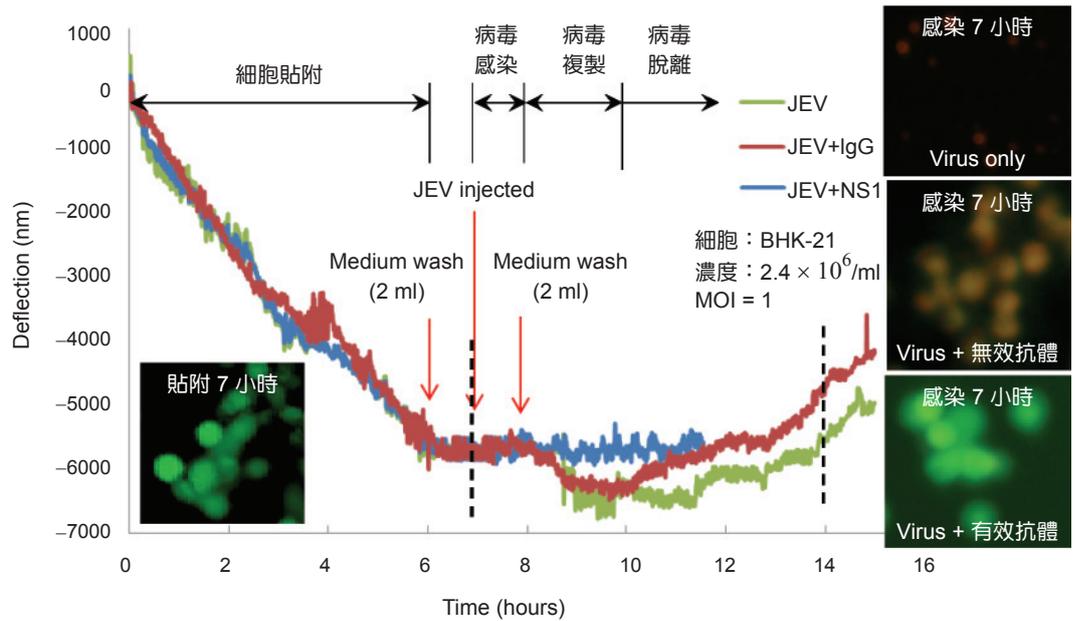


圖 9. 日本腦炎病毒感染細胞歷程紀錄暨有效與無效抗體效果驗證。

的現象，證實專一性抗體確有抗病毒之效果；反觀非專一抗體無法抑制 JEV 感染細胞，故有與純粹注入 JEV 有相似的感染歷程。圖 9 亦顯示細胞貼附及病毒感染後以螢光顯微鏡拍攝照片，可看出細胞於六小時貼附完成後皆順利存活，但通入 JEV 及非專一性抗體感染後七小時，細胞逐漸死亡；而注入 JEV 與專一性抗體後，細胞仍存活著。此螢光顯微鏡觀察結果與變形量量測結果相當吻合，再次證實本系統的穩定性及準確性，具有篩選抗病毒藥物效果之能力。

2. 登革熱病毒檢測

本研究再針對登革病毒 (dengue virus, DV) 感染細胞的歷程進行量測及分析，實驗流程與上述 JEV 病毒檢測相同，結果如圖 10 所示。由微懸臂樑感測器訊號趨勢發現，登革病毒在第 8-9 個小時為複製期，複製期結束後病毒開始脫離細胞，細胞逐漸凋亡而微懸臂樑亦開始回彈。本研究亦進行 DV 與 NS1 (專一性抗體) 及 IgG (非專一性抗體) 接合實驗，以驗證抗體之抗病毒效果。由圖 10 之微懸臂樑變形量發現 DV 與專一性抗體接合後，懸臂

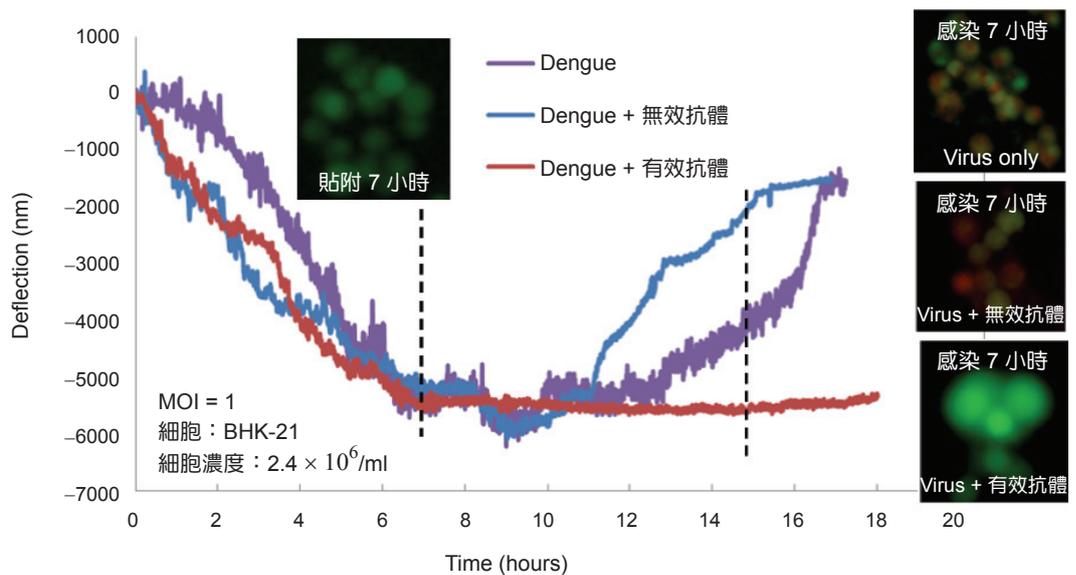


圖 10. 登革病毒感染細胞歷程紀錄暨有效與無效抗體效果驗證。

樑並沒有持續下降與回彈的現象，證實此種抗體可以有效的對抗登革病毒；反之，非專一性抗體與 DV 病毒同時注入晶片後，懸臂樑形變量與 DV 單獨注入有相似的結果，故證實非專一性抗體無法抑制登革病毒對細胞的攻擊。圖 10 亦顯示細胞貼附及 DV 感染後之螢光照片，顯示細胞於六小時貼附完成後皆存活著，但通入 DV 及非專一性抗體七小時後，細胞逐漸死亡；而注入 DV 與專一性抗體後，細胞仍存活。此螢光顯微鏡觀察結果與變形量測結果相當吻合，再次驗證本系統的準確性及穩定性，且具有篩選不同抗病毒藥物效果之能力。

3. 海藻萃取物與抗體抑制作用評估

除了針對病毒進行感染歷程記錄分析與抗體效用確認外，本研究進一步探討海藻萃取物－鹿角菜膠 (concentration = 1 mg/ml) 對抑制登革病毒的效果，並與專一性抗體做比較，結果如圖 11 所示。發現抗體與登革病毒接合後，可以完全且持續抑制病毒對細胞的攻擊；然而海藻萃取物僅能在初期達到預防病毒感染的效果，在感染 2 小時後即會逐漸失去抗病毒效用，而在感染 10 小時後，便喪失抗病毒能力，細胞將受到病毒的攻擊而死亡。圖 11 亦顯示不同感染時間所拍攝的螢光照片，於第四小時所拍攝照片可看出有部分細胞已處死亡狀態，表示鹿角菜膠已漸漸失去其抗病毒之功效，但海藻萃取物仍於初期具抵抗病毒之能力。

4. 不同病毒感染歷程之比較

本研究成功地針對日本腦炎病毒及登革病毒進行細胞感染歷程的紀錄與分析 (圖 12)。根據行政院衛生署疾病管制局的臨床病例顯示，患者在感染日本腦炎病毒經過 5-15 天的潛伏期後出現臨床症狀，登革病毒為 5-8 天。由量測結果顯示，日本腦炎病毒與登革病毒同屬黃質病毒科屬，故有相似感染歷程 (圖 12)，但日本腦炎病毒擁有較長的複製期 (約 2.5 小時)，本研究研判此現象係導致日本腦炎病毒潛伏期較久的原因之一；而登革熱病毒因其複製期約為一小時，故其潛伏期較短。由上述結果顯示，微懸臂樑感測器量測之變形量變化與臨床病例所顯示的資料大致吻合，成功達到不同病毒感染歷程之紀錄與分析之目的。

四、結論

本研究提出一種含微型懸臂樑結構之生物晶片，使細胞可選擇性培養於指定位置，並可通入病毒對細胞進行感染，再以四象限位移感測器與光學系統紀錄微型懸臂樑感測器之形變量，藉此分析病毒感染細胞之感染歷程。此外，另進行 JEV、DV、EV71 等病毒與專一性抗體與非專一性抗體接合之研究，以驗證抗體的抗病毒效果確實可抵抗病毒攻擊細胞，並且與抗病毒藥物作藥效之比較，成功達到藥物效用確認之目的。亦針對抗體與海藻

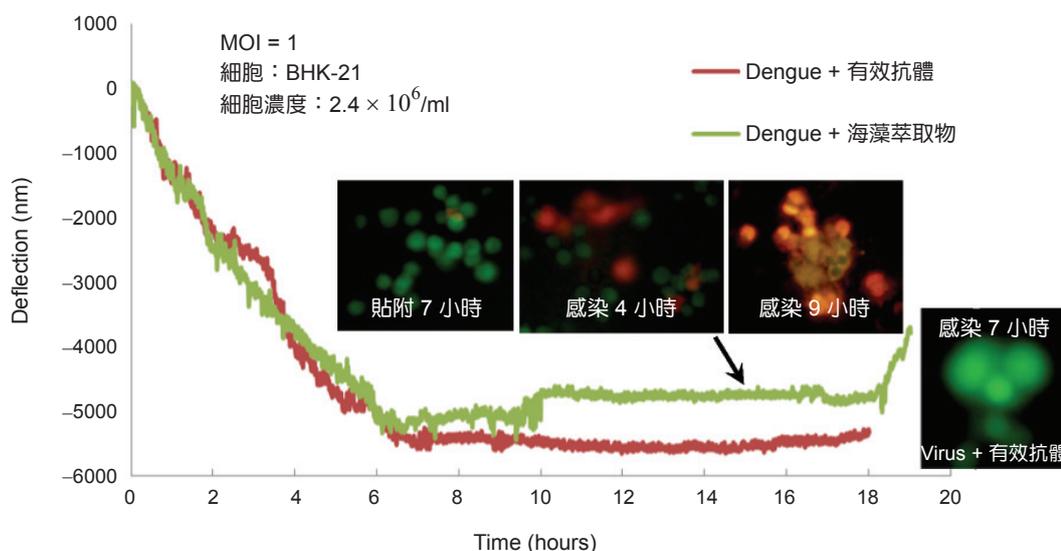


圖 11. 海藻萃取物與抗體對抑制登革病毒比較。

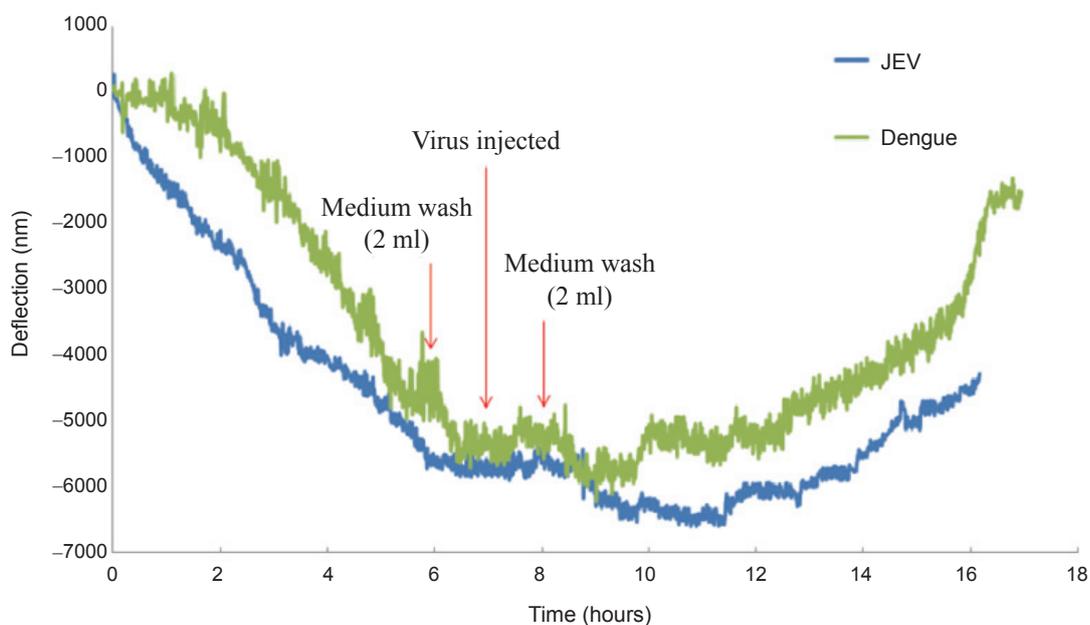


圖 12.
日本腦炎病毒及
登革病毒感染歷
程比較圖。

萃取物，進行抑制作用之評估，達成藥物篩選之目的，相信此實驗結果勢必對於研發藥劑有相當大的幫助。根據研究結果，歸納出數點結論，詳列如下：

1. 本系統可達成不同病毒之感染歷程紀錄及分析；同一病毒不同濃度之感染歷程紀錄及分析；不同藥物抑制病毒作用之評估，達成抗病毒藥物篩選之目的。
2. 日本腦炎病毒與登革病毒同屬黃質病毒科屬，故有相似的感染歷程，但日本腦炎病毒擁有較長的複製期（約 2.5 小時），本研究研判此現象導因於日本腦炎病毒潛伏期較久的緣故；而登革熱病毒因其複製期約為 1 小時，故其潛伏期相較之下居次。此實驗成果與行政院衛生署疾病管制局之臨床病例所顯示的資料大致吻合。
3. 由結果發現抗體與病毒接合後，可以完全且持續抑制病毒對細胞的攻擊；然而海藻萃取物僅能在初期達到預防病毒感染的效果，故本研究可對藥物或保健食品進行藥物時效性之診斷。
4. 本研究可於數小時內驗證抗體是否有治病之療效，免除傳統免疫分析之繁瑣與費時，可大幅縮短疫苗開發之進度。

參考文獻

1. C. J. Wu, T. L. Li, H. W. Huang, M. H. Tao, and Y. L. Chan, *Microbes and Infection*, **8**, 2578 (2006).
2. C. J. Wu, S. C. Lee, H. W. Huang, and M. H. Tao, *Vaccine*, **22**, 1457 (2004).
3. C. J. Wu, H. W. Huang, and M. H. Tao, *Vaccine*, **21**, 3938 (2003).
4. J. G. Smith and G. R. Nemerow, *Cell Host & Microbe*, **3**, 11 (2008).
5. V. Swarup, J. Ghosh, M. K. Mishra, and A. Basu, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **61**, 679 (2008).
6. C. F. Chen, D. A. Ridzon, A. J. Broomer, Z. H. Zhou, D. H. Lee, J. T. Nguyen, M. Barbisin, N. L. Xu, V. R. Mahavakar, M. R. Andersen, K. Q. Lao, K. J. Livak, and K. J. Guegler, *Nucleic Acids Research*, **33**, e179 (2005).
7. I. Skountzou, F. S. Quan, J. Jacob, R. W. Compans, and S. M. Kang, *Vaccine*, **24**, 6110 (2006).
8. S. Rennard, R. Berg, G.R. Martin, J.M. P.G. Foidart, and Robey, *Analytical Biochemistry*, **104**, 205 (1980).
9. J. M. Nam, S. I. Stoeva, and C. A. Mirkin, *American Chemical Society*, **126**, 5932 (2004).
10. Y. Lam, N. I. Abu-Lail, M. S. Alam, and S. Zauscher, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, **2**, 222 (2006).
11. T. Braun, M. K. Ghatkesar, N. Backmann, W. Grange, P. Boulanger, L. Letellier, H. P. Lang, A. Bietsch, C. Gerber, and M. Hegner, *Nature Nanotechnology*, **4**, 179, (2009).

12. N. Backmann, N. Kappeler, T. Braun, F. Huber, H. P. Lang, C. Gerber, and R. Y. H. Lim, *Beilstein J. Nanotechnol*, **1**, 3 (2010).
13. G. G. Bumbu, M. Wolkenhauer, G. Kircher, J. S. Gutmann, and R. Berger, *Langmuir*, **23**, 2203 (2007).
14. T. Braun, V. Barwich, M. K. Ghatkesar, A. H. Bredekamp, C. Gerber, M. Hegner, and H. P. Lang, *Physical Review*, **72**, 031907 (2005).
15. R. McKendry, J. Zhang, Y. Arntz, T. Strunz, M. Hegner, H. P. Lang, M. K. Baller, U. Certa, E. Meyer, H. J. Guntherodt, and C. Gerber, *The National Academy of Sciences*, **99**, 9783 (2002).
16. J. Zhang, H. P. Lang, F. Huber, A. Bietschi, W. Graege, U. Certa, R. McKentry, H. J. Guntherodt, M. Hegner, and C. H. Gerber, *nature nanotechnology*, **1**, 214 (2006).
17. D. Norouzian, S. Javadpour, N. Moazami, and A. Akbarzadeh, *Enzyme and Microbial Technology*, **30**, 26 (2002).
18. S.M. O'Connor, J.D. Andreadis, K.M. Shaffer, W. Ma, J.J. Pancrazio, and D.A. Stenger, *Biosensors & Bioelectronics*, **14**, 871 (2000).
19. P. Panda, S. Ali, E. Lo, B.G. Chung, T.A. Hatton, A. Khademhosseini, and P.S. Doyle, *Lab Chip*, **8**, 1056 (2008).
20. L.J. Yang and Y.C. Ou, *Lab Chip*, **5**, 979 (2005).
21. G. Orive, S. Ponce, R.M. Hernandez, A.R. Gascon, M. Igartua, and J.L. Pedraz, *Biomaterials*, **23**, 3825 (2002).
22. J. Fukuda, A. Khademhosseini, Y. Yeo, X. Yang, J. Yeh, G. Eng, J. Blumling, C.F. Wang, D.S. Kohane, and R. Langer, *Biomaterials*, **27**, 5259 (2006).
23. M. Hu, M. Kurisawa, R. Deng, C.M. Teo, A. Schumacher, Y.X. Thong, L. Wang, K.M. Schumacher, and J.Y. Ying, *Biomaterials*, **30**, 3523 (2009).
24. M.P. Cuchiara, A.C.B. Allen, T.M. Chen, J.S. Miller, and J.L. West, *Biomaterials*, **31**, 5491 (2010).
25. D.R. Albrecht, V.L. Tsang, R.L. Sah, and S.N. Bhatia, *Lab Chip*, **5**, 111 (2005).



吳志偉先生為國立交通大學機械工程博士，現任國立台灣海洋大學機械與機電工程系副教授。

Chih-Wei Wu received his Ph.D. in mechanical engineering from National Chiao Tung University. He is currently an associate professor in the Department of Mechanical and Mechatronic at National Taiwan Ocean University.