

四、聲明事項：

主張專利法第二十二條第二項 第一款或 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：
美國、2000/05/03、60/201,603

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明的領域，係關於感測或偵測不同的偵測物，包括離子(例如鐵、鉻、鉛、銅、鈣、或者是鉀)以及巨大分子(例如去氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、以及蛋白質)的設備及方法，特別是生物感測器、使用生物感測器的方法及製造生物感測器的方法。

【先前技術】

許多生物感測器已被發展用於偵測生物體，例如致病菌。傳統偵測病菌的方法通常涉及有機體的形態學評估或仰賴於(通常是必須的)繁殖有機體數目的評估；該種方法通常耗資時而且不適用於野外應用。快速偵測的需求及攜帶性促成了病菌識別整合於信號傳輸系統的發展。光學及電化學的細菌偵測皆有文獻報導(Ivnitski, et. al., 1999, T. Wang, et. al., 2000)(文獻引用詳細列於此敘述後)，然而本發明者認為電化學方法在微型化上具有相對的優勢。

一個理想的感測器標準包括高精確性、高靈敏度及可在相對短時間內完成的流程。甚或，系統可被微型化及自動化以取得相較於傳統技術更具意義的優勢，特別是野外的應用。

該專利申請基於公元 2000 年五月三日所註冊之美國臨時專利申請代號 No.60/201,603。

關於美國聯邦資助之研究及發展的聲明 本發明由美

國政府，經由海軍部門之研究計劃 No.N66001-96-C-8632 所資助。美國政府擁有本發明之某些特定權益。

先前習知技術

電化學方法使用電流迴路的原則。為完成該迴路，一計數電極(Counter electrode)被用於提供回到樣本溶液或者試劑的反回路徑；以及一個參考電極被用於提供相較於其他電極(通常為工作電極或測量電極)的參考電位。該種聯結必須由電化學方法提供，金屬電極被浸入化學溶液或試劑中，因此該電極上所產生的串聯電位無法避免。傳統的電化學理論要求參考電極電位非常穩定而且不受溶液中化學改變所影響。因此可提供非常穩定參考電位的銀/氯化銀參考電極是最常被使用的參考電極。

在圖 1 中，一個傳統的銀/氯化銀參考電極 10 包括一個氯化銀導線 1(銀導線包著一層氯化銀)浸在氯化鉀(3·5MKCL)及飽和氯化銀(AgCl)的溶液 5 中。該內部填充液 5 經由一多孔的陶瓷界面緩慢滲出電極，權充參考點 1 及樣本的電流連接。氯化鉀因其低成本及不影響測量而被使用。該溶液 5 包含氯化銀以防止參考點 1 的塗裝溶解。電極中溶液的滿度由一溶液填充孔來維持。

然而本發明者認為堅固及精確的生物偵測可用電化學方式完成，更精確的說，是使用氧化還原(Reduction-Oxidation)方式偵測而不用傳統的雙層參考電極結構(一層氯化銀塗裝在一層銀上)以提供上述已知的參考電極電位。

圖 2 中，電化學方式須一專用電位分析器 (Potentiostat)，該儀器是將感測元件置于控制放大器的迴路圈上。該方法的目的是藉由輔助電極(計數電極)通過的電流以控制測試電極(工作電極)和參考電極之間的電位差異。實際上，用極少的元件即可製造出一相當好的專用電位分析器(Potentiosta)。據圖所示電路中，90A 和 90B 為 1.22 伏特能階的參考二極體，用於連接正極負電源線。電位計 100 是用於設定所需的元件的極性，以連接於主控制放大器 110 的反向輸入端。工作電極 60 連接到電路的地線，而參考電極 70 接到主控制放大器 110 的反向輸入端。為了提高放大頻寬(多數操作放大器受限於約 20MA 且無法承受電容負載)，所以一個單位增益放大器 120 被使用於該電路中。單位增益放大器 120 需有比主控制器放大器 110 較高的頻寬，不然線路會因電容負載而產生振蕩。放大器 120 的輸出端經由一電流量測電阻 140 連接到輔助電極 80。差異放大器 130 用於量測該電阻 140 的電位降以轉換成相對於地線的輸出電壓。

微精密機械工程技術(MicroElecmechanicalSystems, orMEMS)提供了適用在各種不同工程領域中感測及移動的轉換元件。MEMS 技術的重要性在於使微米大小的機械元件能整合於電子元件及大量製造的技術上。MEMS 元件是由微機械加工方式所製造出，該多產量的製造方式運用了光學顯影的技術(Lithography)。微精密加工大量使用該光學顯影的技術以及事先設計的圖樣來製造三度空間的結構

(HOANDTAI, 1996, 1998)。MEMS 技術適用於微形製造的元件及應用發展。微型製造的元件通常定義為使用 MEMS 或積體電路(IC)技術。積體電路(IC)定義為電路元件及連接線被蝕刻或印製在一極小的積體材料晶片上。

本發明者認為電化學方式的微小性及攜帶性使該方式成為整合 MEMS 元件的最佳候選者，而且整合 MEMS 技術及生物偵測方式將更有利於感測不同的離子及巨大分子(去氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、及蛋白質)。

本發明者認為，在細菌的生物偵測領域中，提高精確性最有效的方式為偵測細菌的基因材料(例如 rRNA、mRNA、denatured DNA)。選擇性的感測目標細胞可藉由使用二單股 DNA 而觀察其雜交過程所完成，其基因序列互補於目標細菌的 DNA 或 RNA。為提高靈敏度，雜交過程中使用酵素來作訊號放大，例如，受質與產物的轉換率可放大最終的訊號數值。本發明中運用酵素反應來放大 DNA 雜交的生物感測過程，以在合理的短時間內完成。

因此，一偵測大腸桿菌(*E. coli*)的電化學(Amperometric)原型(prototype)應用上述的工作原理及技術被發展出(CHEN, ETAL, 2000, GAU, ETAL, 2000)。該微小型，精密及靈敏的大腸桿菌偵測器使用了 MEMS 技術、單層自動組合技術(SAMs)、DNA 雜交、以及酵素放大技術。使用石墨及碳電極之 DNA 電化學探針之前已有文獻報導(WANG, ETAL, 1997, MARRAZZA, ETAL, 1999)。運用絹印碳電極方式於拋棄式測試條的大腸桿菌 DNA 偵測

已有商用之電化學元件(Amperometric)。然而該方式很難達到高生產精確度及高偵測靈敏度。因此本發明者認為必須要發展出一種光學顯影技術，具有微米圖案的精確度及更廣泛的應用材料，例如金屬(金和銀)及碳。更甚者，表面加工技術，例如 Biotin-DAD-C12-SH dodecanamide 的 SAM 技術，被用於選擇性的固定目標分子在 MEMS 的表面。在金與銀及其他金屬上形成 SAMs 已有文獻報導(Revell, et al., 1998, Motesharei, et al., 1998, Xia, et al., 1998, Lahiri, et al., 1999)，蛋白質及其他生物分子亦可運用 SAMS 技術以固定於金的表面上(Ostuni, et al., 1999, Kane, et al., 1999, Spinke, et al., 1993, Haussling, et al., 1991)。電化學(Sun,etal.,1998,Hou,etal.,1998,Murthy,etal.,1998)方式運用 SAMs 技術在電極上已證實可成功的運用於偵測目標分析物。但並無一有效之電化學生物感測器可結合該多項技術。

在該即時大腸桿菌偵測系統中，本發明者指出並運用各項技術的先天優勢。本發明者運用 DNA 雜交及酵素放大技術達成所需要的高精確性及靈敏度。本發明者運用 MEMS 及 SAMs 技術製造出一微小型系統以使用於攜帶型的裝置中。最後，本發明展示出該偵測系統可應用於廣泛的致病菌。例如，偵測系統及測試流程可被應用於偵測泌尿道大腸桿菌及導致中耳炎的微生物。

因此，本發明的目的為提供全新的生物感測器、全新的方式使用生物感測器、以及全新的方式製造生物感測器。該目的藉由結合主要專利申請範圍中的特色及次要專

利申請範圍中所提及本發明的進一步優勢本體。

【發明內容】

本發明摘要並未全然描述該規格中的所有詳細特性，且本發明亦適用於該處所提及的特性及規格中他處所提及特性的次要結合。

本發明的第一項領域提供了一個使用單一基材(矽晶片、玻璃、塑膠、等等)的生物感測器裝置及方法，用於感測及偵測不同的目標分析物，包括特別是巨大分子(例如，DNA、RNA、及蛋白質)及離子(例如，鐵、鉻、鉛、銅、鈣、或鉀)。該具基材的生物感測器系統包含了一個工作電極，一個參考電極以及一個相對(輔助)電極。該具基材的生物感測器系統擁有與傳統電化學生物感測器相同的電化學能力。另外該具基材的生物感測器系統因與積體電路(IC)及/或 MEMS 製造流程相容並必需能在一個微小的區域內建造完成。

本發明的第二個領域包含運用微小尺寸中表面張力的裝置及方法於生物感測器中試劑及/或溶液的限制。該試劑及/或溶液包含生物偵測所需的電解質及/或分析物。

在優先的方式中，本發明中的裝置及方法可將用於感測及偵測不同離子(例如，鐵、鉻、鉛、銅、鈣、或鉀)以及巨大分子(例如、DNA、RNA、及蛋白質)的每一個電極，運用可控制的表面特性及微小尺寸的表面張力，選擇性的與試劑及/或溶液接觸，以提供所需的電解質及/或分析物。

在另一優先的方式中，運用表面張力於攜帶型及手提型元件的試劑及/或溶液的裝置及方法(亦或試劑及/或溶液中的電解質及/或分析物)可使元件耐震。另外，即使生物感測器被翻轉，試劑及/或溶液亦可被生物感測器用表面張力穩固地固定住。

本發明的第三項領域，包含整合電化學感測器及/或感測器組的元件(例如，電極)與額外需要的電子電路元件(例如，放大器)而成為一與積體電路(IC)技術整合的電化學感測器或感測器組。整個感測器系統及/或系統組可被整合於單一 IC 基材及晶片上，例如單一半導體元件(例如，矽及砷化鉀)。甚或，完成該系統及系統組無需或所需非常少的外接元件及/或儀器。該感測器及感測器組最適用於 IC 技術所製造。

在本文中任何用於大分子電化學的偵測，一較優特性為改變至少一個電極的表面特性。表面特性被改變用來固定大分子至表面上。通常 Biotin-Streptavidin 的 SAM 被使用於改變表面特性。通常，該 SAM 被置於電化學感測器的工作電極上。另外，像 SolGel 及/或 CarbonPaste 可被選擇性的用於取代 SAM 置於電化學感測器上。

以上的發明摘要只提供一範例並不限制本發明所應用的範圍。本發明的更進一步的實體，次要實體，修正，變易及加強將在本發明的詳細敘述中，陳述如下。

【實施方式】

較佳實施例的發明詳述 雖然該專利的特定內容協同

其參考之圖示會在該加以詳細敘述，各種可能的改變及修正不會偏離該專利之精神、適用範圍及意圖。所有的圖示及說明僅提供範例以作說明，而不夠成專利適用範圍之限制。

本發明第一個領域涉及使用電化學偵測方式來感測不同的目標分析物，特別是離子(例如，鐵、鉻、鉛、銅、鈣或鉀)以及巨大分子(例如，去氧核糖核苷酸、核糖核苷酸及蛋白質)。電化學偵測的原理需要使用一個氧化還原單位(REDOX cell)以及在該單位所產生的電化學反應。

當化學反應在該氧化還原單位內產生時，從單位將化學能量轉換為電子能量，反之亦然。通常，該單元有三個浸在液體(電解質)溶液中的電極，電極反應發生在電極與溶液的界面中。

該單元包含以一離子性導電區域(例如，水溶液或非水溶液、溶鹽及離子性導電固體)所連接的兩個導電的區域(例如，固體或液態金屬、半導體等等)。當電流通過各區域時，必需從電子流模式轉換成離子流在回歸至電子流模式。這些導電模式的轉變藉由氧化還原反應來完成。每一個導電模式的轉換反應稱為一個半單位(half cell)。

每一個電化學反應，為在氧化還原單位內產生之氧化還原反應。例如，在一自發性的化學反應中，當氫被氧氧化為水時，電子直接從氫轉換至氧。相對的，在氧化還原單位內自發性的電化學反應中，兩個分隔的電極反應亦同時一前一後的發生。

氧化還原單位的一重要特性為分隔的氧化還原反應同時地發生。例如，氫在正陽極被氧化，並轉移電子至正陽極。同時，氧在正陰極被還原，並從正陰極接受電子，全電化學反應為該兩電極反應的總和。在該例中，電極反應所產生的離子為正氫離子及負氫氧根離子。該兩種離子會在溶液中形成最後的產物：水。

在該過程中電子經由一外部的電子電路從正陽極傳導至正陰極，電流可在外部電子電路中被測得。該反應亦可被逆轉；在電解液的單位中加入電能量，水可被分解為氫與氧。

本發明的三電極系統是以包含工作電極，相反電極(輔助電極)以及相對電極的電化學單位(Electrochemical cell)。當電流從工作電極流至相反電極時，工作電極相對於相對電極的電位可被量測。該種結構可被用來調查工作電極上電極反應之基礎研究的動力學及工作原理。該三電極系統為本發明中的偵測模組之基本。

計數電極被用來提供至電解質之電流連接，所以電流可通至工作電極。計數電極通常由鈍性(貴金屬或碳/石墨)物質所製成，以防止電極分解。在本發明研發過程中曾觀察到，當加一大電流至相反電極的細小圖案或橫切面時，會造成電極加熱周遭的溶液。如果電流持續過載，氣泡將會產生而最終整個電極將被分解。因此，控制所通過電流或改變電極圖案的設計可避免氣泡之產生。在本發明的詳細流程中，計數電極的寬度大到不至於產生氣泡，即使通

過一較大之電流。

參考電極是用來提供其他電極電位之參考點(特別是工作電極或量測電極)，以供電化學單位之量測。少數常用(通常為商業產品)的電極組皆含有一獨立於電解質的電極電位，例如，銀/氯化銀電極、甘汞電極或氫電極。然而本發明者認為一單層電極，例如一單層金所構成之電極，可滿足相對電極之需求。甚或，在特定條件下，其他材料例如銀、鉛、白金、鉻、鋁、鈦及鎳亦可用於單層參考電極之使用。

在本發明中，工作電極在電化學生物感測器中佔有相當重要之地位。工作電極上的反應可被用來作電解質溶液的電化學分析。它可藉所加之極性而被用來作陽極或陰極。某些傳統的雙電極系統中，一電極可被視為工作(量測、指示或感測)電極。在電化學分析結構中、溶液中物質的濃度可由量測電極相對於參考電極的電位所得知。

在較佳的三電極結構中，生物感測器的計數電極及參考電極通常被安排在工作電極的周圍。幾種適用的結構一一陳述在圖 3，4，5，12，13，及 23 中。

在該敘述中，電化學生物感測器適用微精密機械工程系統(MEMS)技術所製成。從圖三中，在矽晶片 200(prime grade, p-type <100>, thickness 500-550.um)上沈積一層二氧化矽(SiO_2 , 1000 埃)在氮化矽(Si_3N_4 , 1000 埃)下充當墊層以疏解壓力及增強黏附性。各種不同尺寸的工作電極(例如工作電極 220)被製造在各種 MEMS 生物感測器上(例如視為感

測器 210)。目前，工作電極凹槽的深度為 350 微米。

被氮化矽所覆蓋的矽晶片 200 被覆以圖案並用氫氧化鉀沿著 111 及 100 晶體平面所蝕刻。氫氧化鉀所蝕刻凹槽的深度取決於蝕刻時間及溫度。100 微米寬的輔助電極(例如輔助電極 230)及參考電極(例如參考電極 240)距離所對應的工作電極 220 為 200 微米。圖三所示為製造 MEMS 生物感測器(例如生物感測器 210)所需的圖案。

氟化氫被用來去除氮化矽及二氧化矽以疏解內部壓力，另一層二氧化矽(5000 埃)被沉積在晶片上當作電絕緣層。PR5214 光阻影像反轉技術及 Au(2000 埃)/Cr(200 埃)的電子槍沉積技術被用來定義電極的圖案。最後，晶片 200 被浸在 hexamethyldisilazane(HMDS)的蒸汽中十分鐘，緊接著 150°C 的熱烘烤以達成周遭矽區域的疏水性。該疏水性及工作電極(例如工作電極 220)的三度空間結構，構成了工作電極 220 上在偵測初期的固定目標偵測物所需的液體限制。該設計有效的減少生物分子之非精確性的黏附至 MEMS 陣列的其他區域上。

目前電化學電極所使用的材料為金。在 MEMS 技術中數種可使用的導電材料，皆被用於製造電極於矽基材上。該三電極系統以鐵氰化物的 cyclic voltammetry 來驗證。金、白金、鈦及鋁電極的各種組合被用來測試，而以金/金/金三電極系統擁有最佳的 cyclic voltammetry 曲線及氧化還原特性。

圖 4 中所示，多數圓形生物感測器(例如生物感測器

310)被製造於方形基材 300(例如矽、砷化鎳、塑膠及/或玻璃)上。生物感測 310 包含一工作電極 320，一參考電極 330 以及一輔助電極 340。如前所示，電極是由 MEMS 技術中可取得之材料所製成之單層導電體。更甚者，所有電極可用金所製成。

圖 5 中所示，為本發明中另一種方式。生物感測器 410 包含一工作電極 420，一參考電極 430 及一相反（輔助）電極 440 被製造於基材上。目前電極皆由金所製成。工作電極 420 被製於一內件的凹槽上，其深度為 350 微米。該凹槽被設計用於限制所需的試劑於特定的空間中。如圖五所示，該凹槽以微精密製造方式所製成，其邊緣為氫氧化鉀蝕刻後之矽晶平面(111)。工作電極 420 以上述製程製造完成，並覆蓋於整個凹槽上。

在過程中，上述的製造方式擁有容易製造的優勢以及在單一連續的精密製造過程中可同時生產在一基材上。然而間歇性的微精密製造步驟亦可用來製造該系統。更甚者，後述所提之分析及實驗中指出，該低成本及易製造的生物感測器可被重複使用並擁有與傳統生物感測器相同的電化學特性(穩定性及逆轉性)。

在其中一實驗中，cyclic voltammetry 分析方式被使用來分析該生物感測器。Cyclic voltammetry(CV)為分析生物感測器最常使用之電化學技術。在工業界及學術界均常使用該技術於電化學系統的基礎研究。在 cyclic voltammetry 中，電極電位以一可控制的掃描速度(sweep rate, V/Sec)

從初始電位(E_0)掃描至最高電位(E_m)。

圖 6 中說明該概念。分析物反覆的氧化還原週期產生從工作電極中流入及流出的陰極/陽極電流。因試劑及/或溶液不被攪動，在不同偵測物濃度及不同掃描速度中可觀察到擴散效應。

陽極及陰極尖峰電流的區隔可被用來預測氧化還原反應中所涉及的電子數目。尖峰電流與偵測物濃度 C 及掃描速度 v 成正比。實驗結果通常以電流相對於電位所繪出，例如圖七所示。

在圖 7 所示的 CV 掃描中，電位為 X 軸，越向右電位越正(氧化反應)。電流為 Y 軸，越向下還原電流越大。

在下述分析實驗中所用之分析物為鐵氰化鉀 ($K_3Fe(CN)_6$ (329.26g/mol) ， 其 包 含 硝 酸 鉀 KNO_3 (101.11g/mol))緩衝溶液中之正三架氧還原狀態中的鐵原子(Fe^{III})。在工作電極的表面上，單一電子可被加於鐵氰化陰離子上。這會導致鐵氰化離子還原成 $Fe^{II}(CN)_6^{4-}$ ，並包含一兩價氧化態鐵離子(Fe^{II})。該分析物與電極間簡單之單電子交換為清楚定義及可被逆轉之反應。也就是說分析物可容易地被還原成 $Fe^{II}(CN)_6^{4-}$ 及很容易地被氧化回 $Fe^{III}(CN)_6$ 。

一氧化還原偶為一對在不同氧化狀態上的分析物。氧化還原偶 $Fe^{III}(CN)_6^{3-}/Fe^{II}(CN)_6^{4-}$ 的電化學半反應如下：

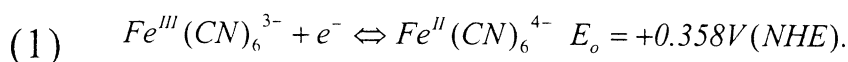


圖 8 中所示之 Voltammogram，包含兩相對應之尖峰(陰極及陽極，cathodic (i_{pc}) and the other anodic (i_{pa}))。當使用一標準電極，如標準氫電極(NHE)，該半反應的標準電位為+358MV。如果工作電極被施加超過 400mV 的偏壓，則分析物會被氧化成 $Fe^{III}(CN)_6^{3-}$ 。該工作電極上的氧化反應會使電子由溶液中流入電極而產出一陽極電流。如果工作電極被施加低於 400mV 的偏壓，則分析物會被還原成 $Fe^{II}(CN)_6^{4-}$ 。該工作電極上的還原反應會使電子由電極中流出至電極而產出一陰極電流。因為本發明中並沒有使用一參考電極，如 NHE、銀/氯化銀及飽和甘汞電極(SCE)，因此，該金所製成之三電極系統之無偏壓電位非常接近零伏。

CYCLIC VOLTAMMOGRAM 中兩重要的參數為，陰極及陽極尖峰電流(分別為 i_{pc} 及 i_{pa})的強度及該電流所對應的電位(分別為 E_{pc} 及 E_{pa})。使用該參數，可用來計算標準還原電位(E_o : E_{pc} 及 E_{pa} 的平均值)及電荷轉移的電子數。

尖峰電流(i_{pc} 及 i_{pa})可用 Randles-Sevcik 公式表示如下：

$$(2) \quad i_p = 0.4463nFAC \left(\frac{nFvD}{RT} \right)^{\frac{1}{2}}$$

其中， n =氧化還原偶半反應中的電子數

F =法拉第常數(96,485C/mol)

A =電極面積(cm^2)

v =電位掃描速度(V/sec)

D =偵測物的擴散係數(cm^2/sec)

R =通用氣體常數(8.314J/mol K)

T =絕對溫度(K)

在 25C 時，Randles-Sevcik 公式可被簡化為

$$(3) \quad i_p = (2.687 \times 10^5) n^{3/2} v^{1/2} D^{1/2} AC$$

其中之常數具有單位(i.e., $2.687 \times 10^5 \text{ Cmol}^{-1} \text{V}^{-1/2}$)

Randles-Sevcik 公式中可預測，尖峰電流與掃描速度的平方根成正比。如圖九中所示尖峰電流相對於掃描速度平方根可繪出一直線。Randles-Sevcik 公式可被修改以計算該直線之斜率如下：

$$A (4) (2.687 \times 10^5 \text{ Cmol}^{-1} \text{v}^{-1/2}) n^{3/2} D^{1/2} AC$$

尖峰電流及尖峰電位的關係可用來評估參與氧化還原的電子數及提供總反應逆轉性的性質分析電極反應中電子轉移的數目是由兩尖峰電位($E_p = E_{pa} - E_{pc}$)的間距所決定。例如，在快速可逆轉的氧化還原偶中，陰極及陽極的尖峰電流比例應為 1。本發明中以新型感測器設計所測得的數值接近 1。較多的偏差為電極被其他化學反應所干擾，而少許的偏差則因非理想系統所造成。圖 10 中所示十二個 CV 掃描週期，只有微量的偏差。該代表本設計擁有高度的逆轉性及穩定性。

本發明除低成本、易製造及擁有與傳統感測器相同的表現外，另一優勢為與積體電路(IC)及 MEMS 製造技術所

相容。更甚者如圖 3 及圖 4 所示，該生物感測器陣列可被製造於一微小區域內。

本發明的第二個領域涉及運用微小尺寸的表面張力以限制生物感測之試劑及/或溶液。該試劑及/或溶液包含目標分析物及/或生物感測器所需之化學物。

生物感測器的功能主要由精密性及靈敏度所決定。限制溶劑於基材上的概念源於降低本發明中分析物或其他溶劑成分(例如 Horseradish Peroxidase, HRP)之非專一性黏附於工作電極的周圍區域所致高程度的偵測雜訊。該非專一性的黏附導致高偵測雜訊及高偽陽性。HRP 在本範例中被使用做一訊號酵素。為證實雜訊來自工作電極表面 HRP 的殘留，一簡單的實驗被用來評估該不需要的黏附所造成的影響。HRP 被將至一矽晶片上並以清潔液清潔數次，在加上其受質溶液。立即有高程度之酵素反應呈現。因此 HRP 具有高程度之殘留。

就像其他的蛋白質 HRP 非常容易黏附在矽晶片上而且黏附力非常強。數種商業清潔溶液及隔離蛋白質皆被使用，但非專一性之黏附並無明顯之改善。因此，最佳的改善方式為避免該黏附發生。該發明中，生物感測器之工作電極外的區域並不需要與 HRP 溶液所接觸。在先前的技術中，傳統的方式為將三電極長久浸入溶液中，而且所有試劑皆會流過表面區域。

本發明者發現在生物感測器中限制某特定試劑於一特定區域之最簡單的方式為形成一凹槽結構。在圖五中，一

微精密製造的凹槽以氫氧化鉀蝕刻沿矽晶平面 400 所形成。工作電極 420 由 LIFT-OFF 技術所製成並包含整個凹槽表面。因此，溶液中包含會造成非專一性黏附的成分(例如 HRP)即被限制於凹槽區域而使所需之成分黏附至凹槽上的電極(通常為工作電極)。亦可避免非專一性黏附至生物感測器的周圍區域。試劑或溶液可從生物感測器上被清洗掉，在加上另一種試劑或溶液以完成感測的過程。

設計一生物感測器時，表面及材料科學的貢獻非常重要。當稀釋的試劑在晶片表面流動時，一不可接受程度之非專一性黏附可能在清洗過程中發生。例如，含有 HRP 的清洗溶液留置在周遭區域的時間遠大於 HRP 的黏附時間常數。因此除製造一凹槽結構外，周遭區域的表面特性因由其他方式來加以保護。

因此，另一種使表面遠離不需要的試劑及黏附成分為使其變成疏水性。矽晶片表面的 SILANATION 通常被用來防止懸吊結構因表面張力而黏附至矽基材上。該種技術在該被用來防止生物分子直接與矽基材的周圍區域接觸。

以 SILANE 為基礎的分子與其各種不同的官能基常被用來改變矽晶片、氮化矽晶片及 Atomic Force Microscopy(AFM)探針的表面特性。表面改變技術之 SILANE 化合物在二氧化矽表面上，以水解 $\text{Si}(\text{Cl})_n$ or $\text{SiO}-\text{C}_2\text{H}_5$ 而形成一堅固的化學單層。

人造材料與生物系統接觸的功能取決於兩種材料的表面特性。因為表面的相互作用會提高雜訊及損害結構，所

以表面改變技術為避免該問題之方法。改變表面特性最簡單的方式為使用塑膠材料。藉將表面轉化成一生物相容或生物鈍性之表面，非專一性之相互作用可被降至最低。最常使用之方式為利用硫醇類分子在金表面所形成的 Self-Assembly Monolayer(SAM)及利用 SILANE 分子在二氧化矽分子的表面上形成 SAM。該技術由 80 年代之 C. D. Bain, and G. M. Whitesides 所發展出。

如圖 11A 中，試劑由工作電極上的親水性特性而在金製成之工作電極上形成一水滴。圖 11B 中顯示藉增加試劑的體積，試劑所包含的區域將逐漸擴張而覆蓋至其他兩電極。圖 11C 中，為一過量之試劑所形成之試劑球 465，溶液並不會像傳統電化學裝置因過量的溶劑而翻覆至矽基材上。

在圖 12 及 13 中，每一個電極只有在需要時，經可控制的表面特性及表面張力將與電解質及/或分析物和其他成分 509 接觸。圖 13 中，在偵測時，所有的電極在電化學偵測中皆被浸於電解質及/或分析物 509。大部分的應用中，主要的時間花在圖 12 中樣本處理過程之固定目標物 509 在工作電極 510 上。在圖 12 及 13 中，電解質及/或分析物 509 在電極上之覆蓋程度由表面特性及試劑體積 520 所控制。

因此，利用上述微小尺寸之表面張力的特性來限制電解質及/或分析物及其他成分。另外上述方式所需之溶液體積非常少(通常為 pL 到 mL)。更甚者，因所使用之試劑體

積非常少，分析物離電極的距離亦非常短(pm 到 mm)。因此，分析物到電極間可只靠擴散效應來達成，而不需要攪動或混合。上述方法之另一優勢為，控制及/或改變電解質及/或溶液在電極上之覆蓋範圍極為簡單。更甚者，上述之溶劑及/或溶液限制方式可降低目標分析物之損失率並提高生物感測器之靈敏度。另外，上述之方式可使生物感測器有相當的避震性，使其適用於攜帶型或受攜型系統中。最後，因其表面張力限制現象，即使將感測器翻轉，溶液亦會被牢固地吸附住。

在圖 12 及圖 13 中，生物感測器可選擇性的配置一反應凹槽 530 來幫助吸附試劑 520 於特定空間內，並控制試劑 520 的形狀。然而，該凹槽 530 並非必需，試劑 520 亦可被一簡單的平面所吸附於特定空間中。

在圖 14 中，為製造本發明之生物感測器的第一步驟。如圖 14 中，在矽晶片 610 (prime grade, p-type $\langle 100 \rangle$, thickness 500-550. μm) 上沈積一層二氧化矽 620 (SiO_2 , 1000 埃) 在氮化矽 630 (Si_3N_4 , 1000 埃) 下充當墊層以疏解壓力及增強黏附性。

在圖 15 及 16 中，被氮化矽所覆蓋的矽晶片 600 被覆以圖案 640 並用氫氧化鉀沿著 111 及 100 晶體平面所蝕刻。氮化矽蝕刻出之凹槽 650 深度為 350 微米，該深度由氫氧化鉀蝕刻之時間及溫度所控制。

圖 17 中，氟化氫被用來去除氮化矽 630 及二氧化矽 620 以疏解內部壓力，另一層二氧化矽 660(5000 埃)被沉積

在晶片上當作電絕緣層。

圖 18 及 19 中，說明 Lift-Off 製程的製造程序。在基材 610 上的生物感測器之電極以光電阻 PR5214 層 670 翻印圖案至二氧化矽層 220 上。一光罩 671 被用影像翻轉技術(包括去除不必要的光電阻層 670)來轉印圖案至光電阻 PR5214 層 670。一以電子槍沉積方式所製成之金(2000 埃)680 被沉積在二氧化矽層 660 及已顯影之電光阻層 670。在沉積金(2000 埃)680 前，一層黏著層 690，例如鉻(Cr 200 埃)，先行被沉積在二氧化矽層 660 上，以增加附著。其他材料例如鈦或膠亦可用來當作黏著物。最後在圖 19 中，藉由溶解電光阻層 670，所有的電光阻層 670 及不需要之金 680 及鉻 690 皆被移除。

最後，晶片 600 被浸在 hexamethyldisilazane (HMDS) 的蒸汽中十分鐘，緊接著 150C 的熱烘烤以達成周遭矽區域的疏水性。

生物感測器(感測晶片)的表面被施以表面處理以防止非專一性的黏附。例如在圖 12 中，一大分子生物感測器的表面可先以 Piranha solution (70 vol% H₂SO₄, 30 vol% H₂O₂) 清洗其金表面 680，再以去離子水(dH₂O)沖洗。接下來在圖 20 中，表面處理物質，例如 biotin-DAD-C12-SH(12-mercapto(8-biotinamide-3,6-dioxacyl)dodecanamide) Roche GmbH, Germany 的 SAM 被沉積上。Spinke, et al.(1993) 沉積 biotin-DAD-C12-SH 的 SAM 步驟被使用於該，樣本被浸泡在 50mM solution of

biotin-DAD-C12-SH 的乙醇及 $4.5 \times 10^{-4} \text{M}$ 11-mercapto-1-undecanol (Aldrich Chemical Co., 44, 752-8) 中十八個小時，再以乙醇及水沖洗。最後在圖 21 中被 Biotin 覆蓋的金表面 700 被浸在 1.0 mg/ml 的 streptavidin 溶液十分鐘，再的去離子水沖洗以形成被 streptavidin 覆蓋的金表面 710。

本發明的第三個領域涉及整合整個電化學(氧化還原)生物感測器於一積體電路(IC)晶片上。晶體電路(IC)定義為一複雜之電子電路元件及其連接線被蝕刻及印製於極小之晶片上。

MEMS 元件其細小之結構使其擁有特殊之性質，其信號程度相對低於傳統的感測器。靈敏度可以晶片外的放大單元來改善，但該法亦增加雜訊及增大系統體積。於該本發明者設計一建築在晶片上的放大線路(放大線路製造在生物感測器晶片上)以及偵測線路(例如提供偏壓，電流感測，序列控制及訊號處理)以減少晶片及晶片間的干擾。偵測線路及放大線路皆可使用二極電晶體及/或 complementary metal-oxide-semiconductor (CMOS) 元件所組成。

在本發明中，晶片上的放大元件置於工作電極下，而工作電極通常為電化學感測器單元中面積最大的部分。就如同開放型基體二極光感器(BJT Photosensor)，基極區域以 Beta(通常為 80 至 150)的電流增益從轉化器接受電流。兩種 BJT，垂直式 BJT 及水平式 BJT，可被製造於電化學單

元下。電流增益取決於基極區域的長度。在水平式的 BJT 中該長度為離子植入能量及摻雜濃度的函數。在垂直式的 BJT 中，該長度為光顯影技術解析度、離子植入角度及熱能擴散的常數。因此，就晶片內及晶片到晶片的一致性而言，水平式 BJT 較為可靠。

圖 22 為一晶片內之放大線路與三電極的電化學感測器之剖面圖。該三電極以積體電路(IC)的技術所製成，且其面積相對於內部連接線及電路阻絕區皆來得大。整個生物感測器 700 可以兩階段(電化學感測階段 730 及二極電晶體放大階段 720)相疊成。金之工作電極 710 可用為 BJT 元件 720 之電磁屏障。工作電極接觸點(例如接觸點 733、734、735、736、737 及 738)連接至接觸界面 740 並增加工作電極 710 的表面面積以增強信號。所有電極結構的接觸點可以一單層之金屬，例如金，所構成。另外，生物感測器晶片 700 包含一矽基材 744。矽基材 744 包含一基極區域 743，一集極區域 742 及一射極區域 741。基極區域 743 由工作電極 710 上接收電子流。集極區域 742 連接至電源線並在特定的基極狀況下提供電流增益以作放大。從基極區域 743 及集極區域 742 所得之最終電流可於射極區域 741 上所測得。

在圖 22 中金屬內部連接 750 連接至信號輸出端(圖中未示)及涉及區域 741。金之工作電極 710，經由第一層二氧化矽 760 的通路蝕刻，連接至基極區域 743。第二層二氧化矽 770 用來當作 BJT 720 及訊號線的電源阻隔。而第

一層二氧化矽 760 用來當作三電極(工作電極 710，參考電極 780，計數電極 790)的電源阻隔。工作電極 710 上的接觸點(例如接觸點 733、734、735、736、737 及 738)增加其表面面積並與 BJT 720 形成牢固的接觸。接觸點的尺寸(通常為幾十微米)遠大於工作電極 710 上之蛋白質 SAM 的大小(通常為幾十埃)。所以蛋白質吸附作用並不會受到影響。

圖 24 為圖 23 中為在基材 805 上之生物感測器組。圖 24 為該感測器組中一單元 800 的剖面圖。如圖 24 中，生物感測器單元 800 包含一 CMOS 元件及/或 BJT 元件 830，以及電化學感測元件 840 和試劑 850。該與圖 22 中之結構類似。

因此，如圖 22、23 及 24 中，本發明中之第三領域涉及一直接整合之生物感測器系統，無需生物感測所需其他單元之晶片至晶片的連接。該系統不需要外接元件(儀器)或需要極少之外接元件即可構成一完全系統。更甚者，該全功能之生物感測器系統降低了生物感測的成本及雜訊，亦簡化了感測的流程。

圖 25 中，顯示如何以積體電路(IC)技術與 CMOS 元件及/或元件組以構成本發明中之生物感測器(感測晶片)。另外，一 BJT 元件(圖中未示)及/或元件組以可被加於其中。圖 25 中所示，一積體電路(IC)被製造在半導體基材 900 上，並包含一個二氧化矽層 905 及多晶矽閘極 907 在主動區 909 上。多晶矽閘極 907 以多晶矽製成並被用於切換電晶體低電阻源極 917 及洩極 919。

圖 26 中，一個二氧化矽層(5000 埃)920 接著被沉積在基材 900 上作為電極隔絕。在圖 27 中，二氧化矽層 920 接著被選擇性的以光學顯影技術極蝕刻方法而形成電流連接孔 940。圖 28 中，一導電栓塞 950 被置入該電流連接孔 940 中。導電栓塞 950 被用來當作導電電極 960 及低電阻源極 917 和及/或洩極 919 間之內部連接。

圖 29 為製造電極之 Lift-Off 製造流程。生物感測所需之電極，以 PR5214 光電組成 970 轉印圖案至基材 900 上之而氧化矽層 920。接著一光罩 921 被用影像翻轉技術(包括去除不必要的光電阻層 970)來轉印圖案至光電阻 PR5214 層 970。一以電子槍沉積方式所製成之金(2000A)960 被沉積在二氧化矽層 920 及已顯影之電光阻層 970。最後在圖 30 中，藉由溶解電光阻層 970，所有的電光阻層 970 及不需要之金/鉻 960 皆被移除。

圖 30 中，顯示如何以本發明中之生物感測器(感測晶片)1000 來偵測離子分析物，例如鐵離子。該感測器表面 1010 並無表面處理，在製造完成及清潔後即可用來偵測。在本敘述中分析物為鐵氰化鉀 $K_3Fe(CN)_6$ (329.26g/mol)，其中包含三價氧化態之鐵離子 (Fe^{III}) 在硝酸鉀 KNO_3 (101.11g/mol)的溶液中。如圖 31 所示，混合溶液 1020 與分析物(或試劑與分析物)被注於三電極(工作電極 1030，參考電極 1040，以及計數電極 1050)上。溶液的體積 1020 可被調整以使其液滴可因表面張力限制於三電極上。

圖 32 中，Cyclic Voltammetry(CV)的電流相對偏壓圖表以 CH Instruments 660A 的電化學工作站，一 picoamp booster 以及一法拉第絕緣箱所測得。偏壓由 0.1 伏特掃描至 -0.4 伏特而電流由工作電極 1030 所測得。

量測之後，若該感測器 1000 需要再次使用，則金表面以丙酮，酒精及 Piranha solution (70 vol% H₂SO₄, 30 vol% H₂O₂)溶液清洗再以去離子水沖洗。

圖 33 中為大分子物(去氧核糖核苷酸、核糖核苷酸及蛋白質)之偵測。偵測大分子物濃度需要感測器 biotin/Streptavidin 層的表面處理。感測器表面以上述之表面處理過程所使用之生物化學溶液以形成一層 Streptavidin。在生物感測器的表面 1100 經過處理後，致病菌的電化學(Amperometric)感測即可進行。首先 50ml 的 lysis reagent (0.4M NaOH)被加入至 250ml 的細菌樣本溶液中並在室溫中靜置五分鐘。100mL 的探針溶液(anchoring 及 signaling 探針)被加入後，混合溶液在 65C 靜置 10 分鐘。5UL 的細胞溶解液及探針溶液的混合物 1120 被放置於生物感測器 1100 之以 Streptavidin 覆蓋的工作電極 1130 上，並在室溫下靜置十分鐘。

圖 34 中，生物感測器 1100 以 biotin wash solution (Kirkegaard and Perry Laboratories, 50-63-06)沖洗。接著 5L 的 Anti-FI-POD(Anti-fluorescein peroxidase, 150U, Roche Inc., 1426 346), 稀釋於 0.75U/ml 或 0.15U/ml 之稀釋物 (PBS/0.5%Casein)的混合溶液 1140 被施於工作電極 1130

上，並在室溫下靜置十分鐘。

圖 35 中，生物感測器接著在清洗溶液沖洗。之後，10uL 的 K-blue substrate (Neogen Corp., 300176) 1160 被置於生物感測器上並覆蓋三電極(工作電極 1130，參考電極 1140，計數電極 1150)。

最後，電化學感測(氧化還原偵測)即可進行。電化學 (Amperometric) 電流相對於時間可由 CH Instruments 660A 的電化學工作站，一 picoamp booster 以及一法拉第絕緣箱所測得。感測器上之各樣本依序被偵測。偏壓固定於 0.1 伏特(相對於參考電極)而一陰極電流可在 20 秒後測得。因其電流在 20 秒後即會到達穩定狀態。細菌的濃度(細菌數目)可由連續稀釋及培養皿計數所決定。量測之後，若該感測器 1100 需要再次使用，則金表面以丙酮，酒精及 Piranha solution (70 vol% H_2SO_4 , 30 vol% H_2O_2) 溶液清洗再以去離子水沖洗。

上述的生物感測器在使用前皆先行校正過。該生物感測器以一已知目標分析物濃度之校正液和另一無目標分析物之校正溶液來作校正。該生物感測器亦可用多種的校正溶液來校正，每種校正溶液中包含不同的已知目標分析物濃度。以生物感測器來偵測該校正溶液而得到一參考信號。從參考信號即被用來與偵測樣本溶液所得之信號相比較，即可得知在樣本試劑中目標分析物的存在與否及數量。目標分析物存在及數量(例如濃度或絕對數量)可由傳統的生物內插法所決定。

其中所列之參考文獻，為用於作其中所提及每一種方法，技術及/或組合之補充，解釋，及提供背景資料。

因此，一全新之生物感測系統在該被加以詳細描述。本發明之各種不同的修正將不會偏離本發明之精神及範圍。例如，本發明所提及的中的生物感測器可被用來感測或偵測非生物元素或化合物。因此本發明除了下列的專利申請範圍外，不為該所限制。

【圖式簡單說明】

各插圖中，同一參考號碼所指的物體在各圖中皆屬同一物體。

圖 1，傳統相對電極的概要實體。

圖 2，用於電化學方式中的電位分析器實體。

圖 3，本發明中在圓形基材晶片上的電化學感應器陣列的概要實體。

圖 4，本發明中在方形基材晶片上的電化學感應器陣列的概要實體。

圖 5，本發明中的另一種電化學感應器陣列的概要實體。

圖 6，電位相對於時間的 Cyclic Voltammetry(CV)圖。

圖 7，本發明中，使用一生物感測器所測得的一 Cyclic Voltammetry(CV)循環。

圖 8，本發明中，使用一生物感測器，在不同的掃描速度下所測得的 Cyclic Voltammetry(CV)循環。

圖 9，在本發明中，使用一生物感測器，所測得的尖峰電

流相對於掃描速度的平方根。

圖 10，在本發明中，使用一生物感測器，在固定掃描速度下，所測得的多數循環之 Cyclic Voltammetry(CV)。

圖 11(A)，(B)，及(C)，為本發明中利用表面張力及表面處理所造成之試劑及/或溶液的限制。

圖 12，為一圖表說明本發明中將試劑及/或溶液選擇性的只限制於生物感測器的工作電極上。

圖 13，為一圖表說明本發明中將試劑及/或溶液限制於生物感測器的所有電極上。

圖 14，為一側視圖說明本發明中生物感測器製程的第一步驟。

圖 15，為一圖解說明本發明中生物感測器製程的第二步驟。

圖 16，為一圖解說明本發明中生物感測器製程的第三步驟。

圖 17，為一圖解說明本發明中生物感測器製程的第四步驟。

圖 18，為一圖解說明本發明中生物感測器製程的第五步驟。

圖 19，為一圖解說明本發明中生物感測器製程的第六步驟。

圖 20，為一圖解說明本發明中生物感測器的表面如何被處理以防止非專一性的結合。

圖 21，為一圖表說明圖二十中生物感測器的表面處理過程

的最終結果。

圖 22，為一組合式圖表，說明本發明中生物感測器系統與積體電路元件結合。

圖 23，為一圖表顯示本發明中生物感測器陣列與積體電路元件結合。

圖 24，為一整合式圖表說明一生物感測器單元與其他相似的單元體所組成之生物感測器陣列與積體電路元件結合。

圖 25，為一圖表說明本發明中的生物感測器如何與積體電路技術中的 CMOS 元件整合於一生物感測器(生物晶片)中的第一步驟。

圖 26，為一圖表說明生物感測器如何與積體電路元件整合於一生物感測器(生物晶片)中的第二步驟。

圖 27，為一圖表說明生物感測器如何與積體電路元件整合於一生物感測器(生物晶片)中的第三步驟。

圖 28，為一圖表說明生物感測器如何與積體電路元件整合於一生物感測器(生物晶片)中的第四步驟。

圖 29，為一圖表說明生物感測器如何與積體電路元件整合於一生物感測器(生物晶片)中的第五步驟。

圖 30，為一圖表說明生物感測器如何與積體電路元件整合於一生物感測器(生物晶片)中的第六步驟。

圖 31，為一圖解說明本發明中的生物感測器如何被使用於偵測離子分析物(或分子)。

圖 32，為圖 31 中的感測器所測得的 Cyclic Voltammetry (CV)

(電路相對於偏壓)。

圖 33，為一圖解說明本發明中的生物感測器實體如何被使用於偵測巨大分子(DNA、RNA、及蛋白質)的第一步驟。

圖 34，為一圖解說明本發明中的生物感測器實體如何被使用於偵測巨大分子(DNA、RNA、及蛋白質)的第二步驟。

圖 35，為一圖解說明本發明中的生物感測器實體如何被使用於偵測巨大分子(DNA、RNA、及蛋白質)的第三步驟。

【主要元件符號說明】

1	導線	5	溶液
10	參考電極	60	工作電極
70	參考電極	80	輔助電極
90A	參考二極體	90B	參考二極體
100	電位計	110	主控制放大器
120	增益放大器	130	差異放大器
140	電阻	200	矽晶片
210	感測器	220	工作電極
230	輔助電極	240	參考電極
300	基材	310	生物感測器
320	工作電極	330	參考電極
340	輔助電極	400	矽晶平面
410	生物感測器	420	工作電極

- | | | | |
|-----|---------|-----|---------------|
| 430 | 參考電極 | 440 | 計數電極 |
| 465 | 試劑球 | 509 | 目標物 |
| 510 | 工作電極 | 520 | 試劑體積 |
| 530 | 反應凹槽 | 600 | 矽晶片 |
| 610 | 矽晶片 | 620 | 二氧化矽 |
| 630 | 氮化矽層 | 640 | 圖案 |
| 650 | 凹槽 | 660 | 二氧化矽層 |
| 670 | 電光阻層 | 671 | 光罩 |
| 680 | 金 | 690 | 鉻黏著層 |
| 700 | 生物感測器晶片 | 710 | 工作電極 |
| 720 | 元件 | 730 | 電化學感測階段 |
| 733 | 接觸點 | 734 | 接觸點 |
| 735 | 接觸點 | 736 | 接觸點 |
| 737 | 接觸點 | 738 | 接觸點 |
| 740 | 接觸界面 | 741 | 射極區域 |
| 742 | 集極區域 | 743 | 基極區域 |
| 744 | 矽基材 | 750 | 金屬內部連接 |
| 760 | 第一層二氧化矽 | 770 | 第二層二氧化矽接 |
| 780 | 參考電極 | 800 | 生物感測器單元 |
| 805 | 基材 | 830 | CMOS 元件 及 / 或 |
| BJT | 元件 | 840 | 電化學感測元件 |
| 850 | 試劑 | 900 | 半導體基材 |
| 905 | 二氧化矽層 | 906 | 多晶矽閘極 |
| 909 | 主動區 | 917 | 源極 |

- | | | | |
|------|------------------|------|-------------|
| 919 | 汲極 | 920 | 二氧化矽層 |
| 921 | 光罩 | 940 | 電流連接孔 |
| 950 | 導電栓塞 | 960 | 導電電極 |
| 970 | 光電阻層 | 1000 | 生物感測器(感測晶片) |
| 1010 | 表面 | 1020 | 混合溶液 |
| 1030 | 工作電極 | 1040 | 參考電極 |
| 1050 | 計數電極 | 1100 | 生物感測器 |
| 1120 | 混合物 | 1130 | 工作電極 |
| 1140 | 參考電極 | 1150 | 計數電極 |
| 1160 | K-blue substrate | | |

五、中文發明摘要：

一基於微精密加工技術(MEMS)及積體電路(IC)技術的生物感測器可被用於偵測及感測不同的離子及巨大分子(去氧核糖核苷酸、核糖核苷酸及蛋白質)。基於微精密加工技術(MEMS)的生物感測器包含雜交、酵素放大反應及一電化學偵測方式以提高靈敏度及縮小系統體積。該生物感測器或感測器組皆整合於單一基材上。該生物感測器系統包含至少兩個電極。這些電極包含一工作電極，一相對電極及一計數電極(輔助電極)。該生物感測器及生物感測器組包含運用微小尺寸的表面張力所達成試劑及或溶液的限制之裝置設備及方法。該試劑限制系統包含運用可控制的表面特性及表面張力，使試劑及/或溶液被控制性的與感測器單元(例如電極)接觸。該試劑限制系統亦幫助生物感測器或生物感測器組整合入攜帶型或手攜型裝置，使其裝置不怕振蕩及翻轉。該發明亦提供一生物感測器或生物感測器組整合於積體電路技術中。整個感測系統或系統組可被製造於單一 IC 基材或晶片上而無需外接元件及/或儀器以完成一全功能之系統或系統組。目前該系統或系統組以 IC 製程製造在矽基材上。

六、英文發明摘要：

以第一試劑涵蓋第一區域；以及

以第二試劑涵蓋第二區域。

- 27、如申請專利範圍第 26 項所述的方法，其中該第一區域以第一幾何圖形構成以使第一試劑被限制於第一個區域內。
- 28、如申請專利範圍第 27 項所述的方法，其中該第二區域以第二幾何圖形構成以使第二試劑被限制於第二個區域內。
- 29、如申請專利範圍第 25 項所述的方法，其中該第一試劑為包含目標分析物之生物溶液，第二試劑為偵測目標分析物所需之化學溶液。
- 30、如申請專利範圍第 23 項所述的方法，其中該目標分析物係選自離子、分子以及巨大分子所組成的群組。
- 31、如申請專利範圍第 23 項所述的方法，其中偵測目標分析物的存在及/或含量進一步包括下列步驟：

用一包含已知濃度之目標待測分析物的第一校正溶液及用一包含無法測得(undetectable)目標待測分析物含量的第二校正溶液來校正該生物感測器；以及

以校正結果決定該樣品試劑中分子的存在及/或含量。
- 32、如申請專利範圍第 23 項所述的方法，其中，在將試劑加至生物感測器前，該第一區域及第二區域係經表面修飾。
- 33、如申請專利範圍第 23 項所述的方法，其中該第一區域及第二區域的表面特性由外在力場所控制。

- 34、一種用來偵測在液體試劑中至少一種分析物之氧化還原反應事件的裝置，其包括：
- 一氧化還原感測器，其係在半導體基材上運用積體電路(IC)及微機電系統(MEMS)技術所製造，該氧化還原感測器包含作為訊號輸出及偏壓控制所需的至少兩個與微加工製程相容的導電電極；
 - 一絕緣層，其係介於該半導體基材及該電極之間；以及
 - 一積體電路，其係位於該半導體基材上，且在該絕緣層之下，該積體電路包括偵測電路及提供該偵測電路所需偏壓的偏壓電路；
- 其中，該絕緣層具有一導電接觸單元用來連接該電極與該積體電路。
- 35、如申請專利範圍第 34 項所述的裝置，其中該導電電極係選自金、鋁、鉻、銅、白金、鎳以及鈦所組成的群組。
- 36、如申請專利範圍第 34 項所述的裝置，其中該導電電極由金製成。
- 37、如申請專利範圍第 34 項所述的裝置，其中該半導體基材係選自矽以及砷化鎵所組成的群組。
- 38、如申請專利範圍第 34 項所述的裝置，其中該半導體基材為矽。
- 39、如申請專利範圍第 34 項所述的裝置，其中該偵測電路包括一電流量測裝置，經由相應的電連接電極去偵測氧化還原反應事件之電流訊號。
- 40、如申請專利範圍第 39 項所述的裝置，其中該偏壓為電流偵測中電子轉移所需之兩相異電極間之壓差。

- 41、一種用來偵測在液體試劑中至少一種分析物之氧化還原反應事件的裝置，包括：
- 一氧化還原感測器，其係位於半導體基材上，該氧化還原感測器包括一參考電極，一工作電極，以及一輔助電極；
 - 一絕緣層，其係介於該氧化還原感測器與該半導體基材之間；以及
 - 一積體電路，其係位於該半導體基材之上，且在該絕緣層之下，該積體電路包括偵測電路及提供該偵測電路所需偏壓的偏壓電路；
- 其中，該絕緣層具有一導電接觸部位，藉以提供連接電極及積體電路間的電性連接。
- 42、如申請專利範圍第 41 項所述的裝置，其中每一個電極包含一單層導電材料。
- 43、如申請專利範圍第 42 項所述的裝置，其中該導電材料為金。
- 44、如申請專利範圍第 43 項所述的裝置，其中該半導體基材為矽。
- 45、如申請專利範圍第 44 項所述的裝置，其中該偵測電路包括一電流量測裝置，經由相應的導電電極去偵測氧化還原反應事件之電流訊號。
- 46、如申請專利範圍第 45 項所述的裝置，其中該偏壓為電流偵測中電子轉移所需之兩相異電極間之壓差。
- 47、如申請專利範圍第 41 項所述的裝置，其中該半導體基材係選自矽以及砷化鎵所組成的群組。

十一、圖式：

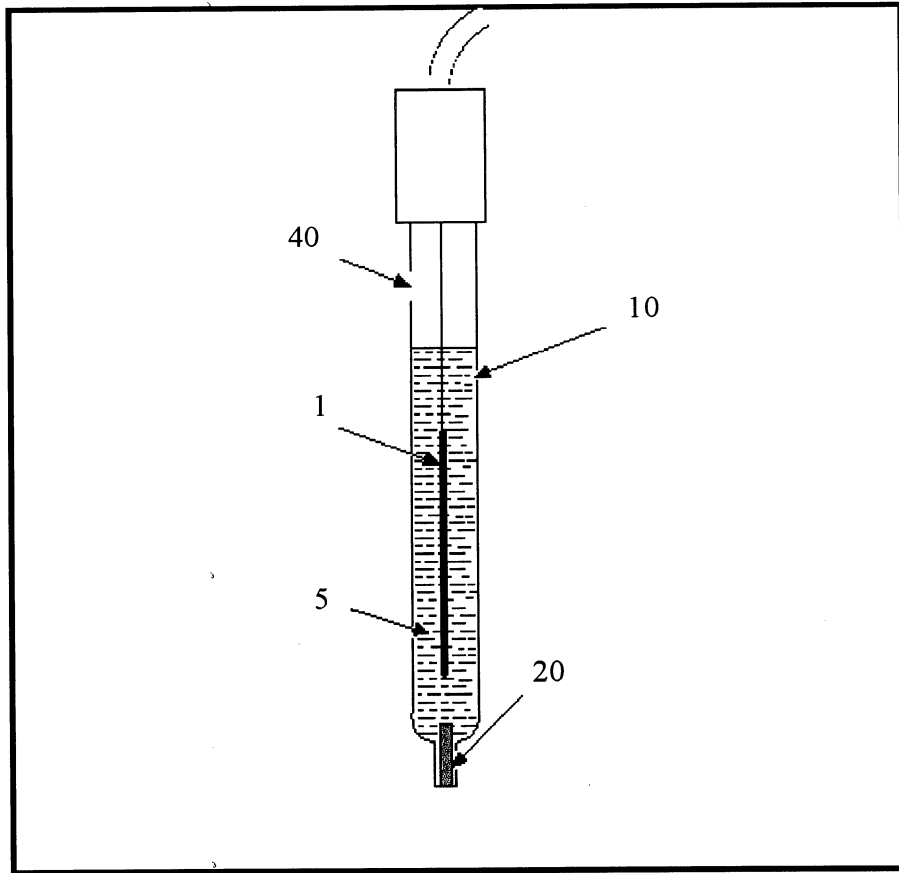


圖. 1

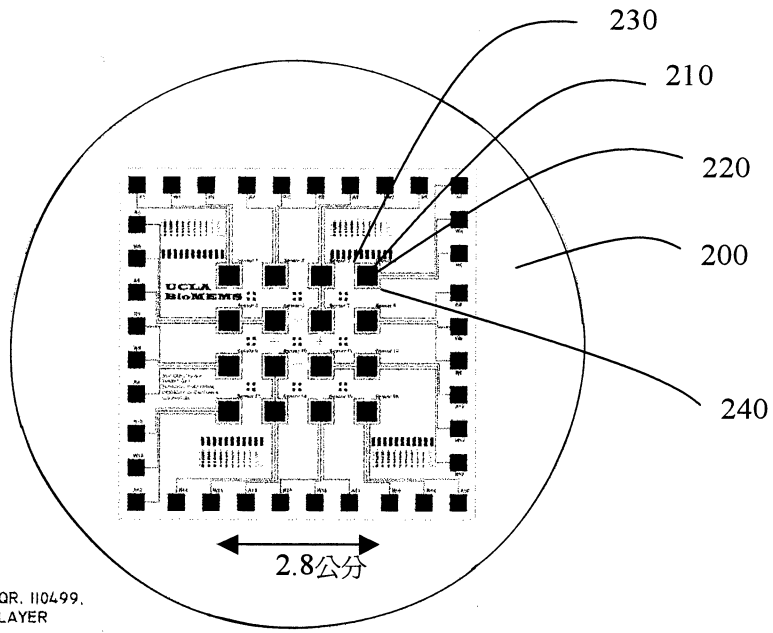


圖. 3

3600SQR. H0499.
GOLD LAYER

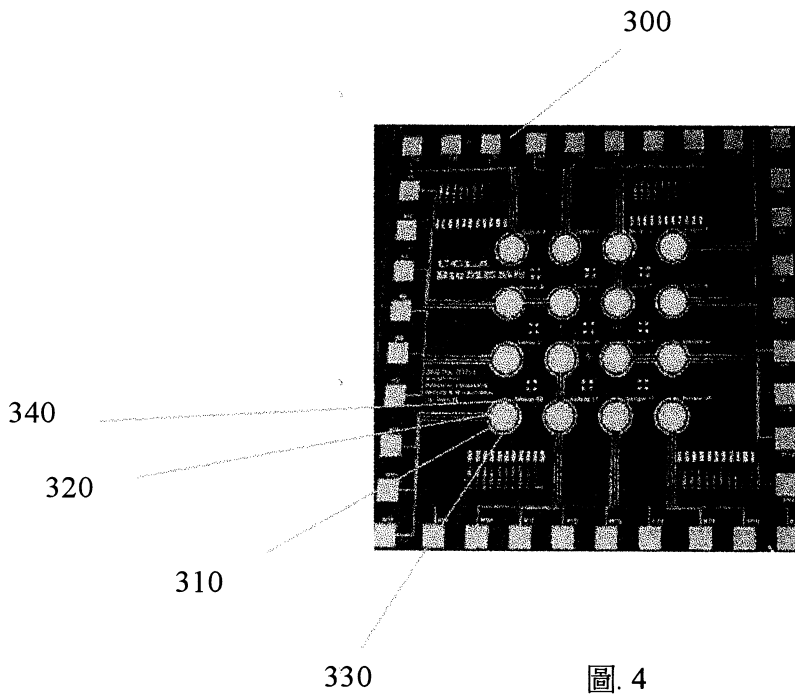


圖. 4

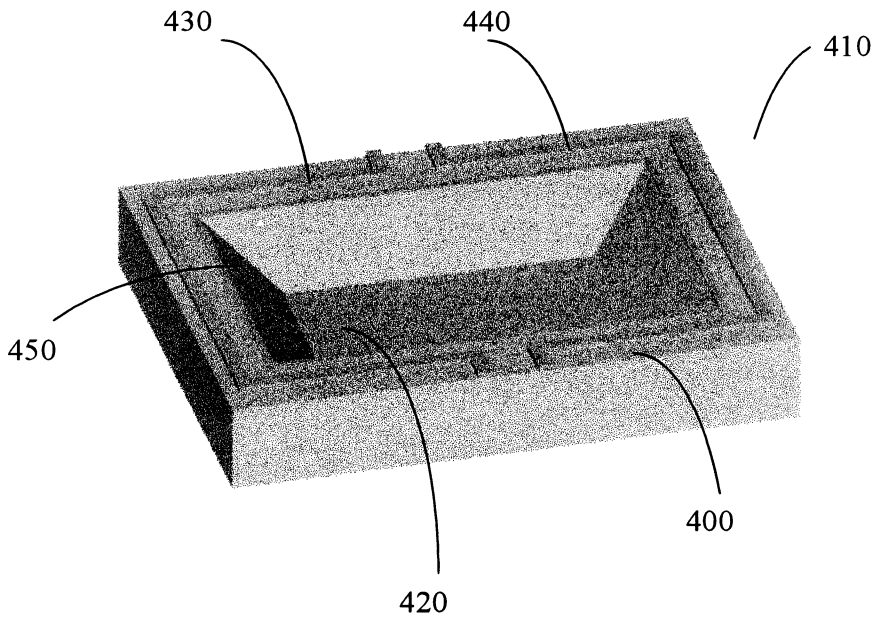


圖. 5

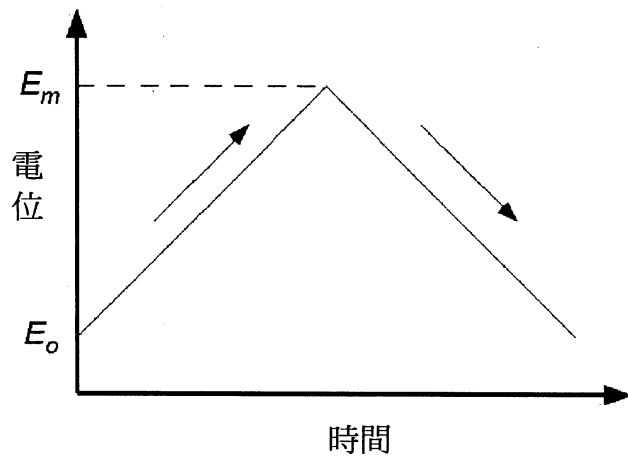


圖. 6

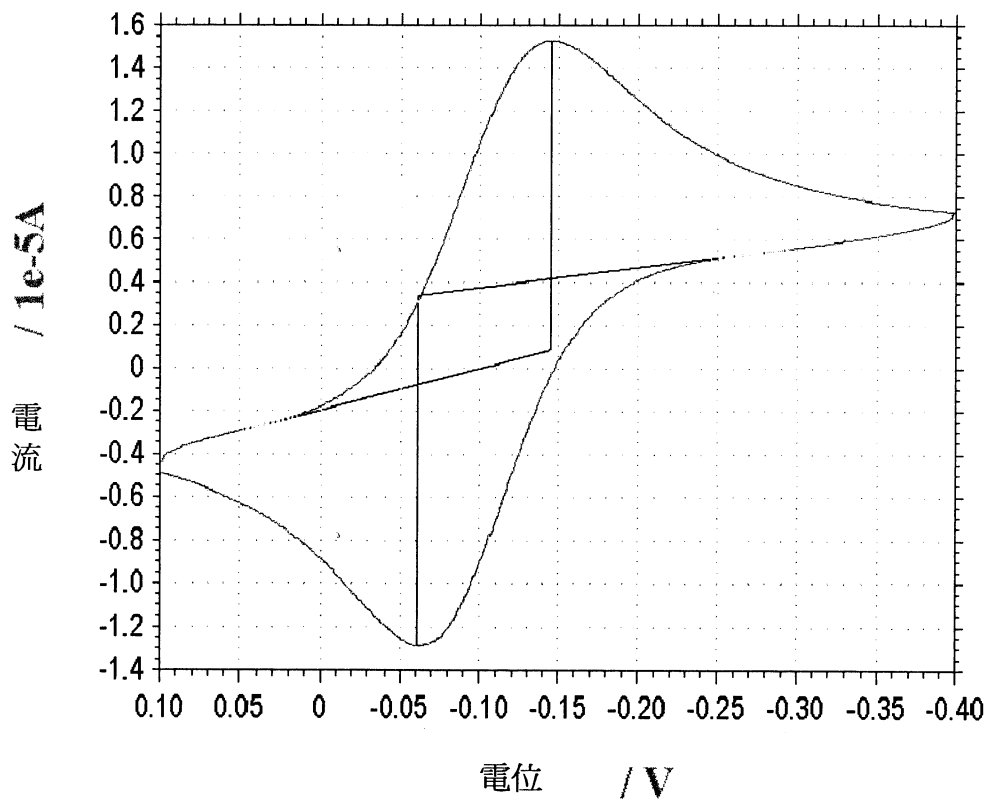


圖. 7

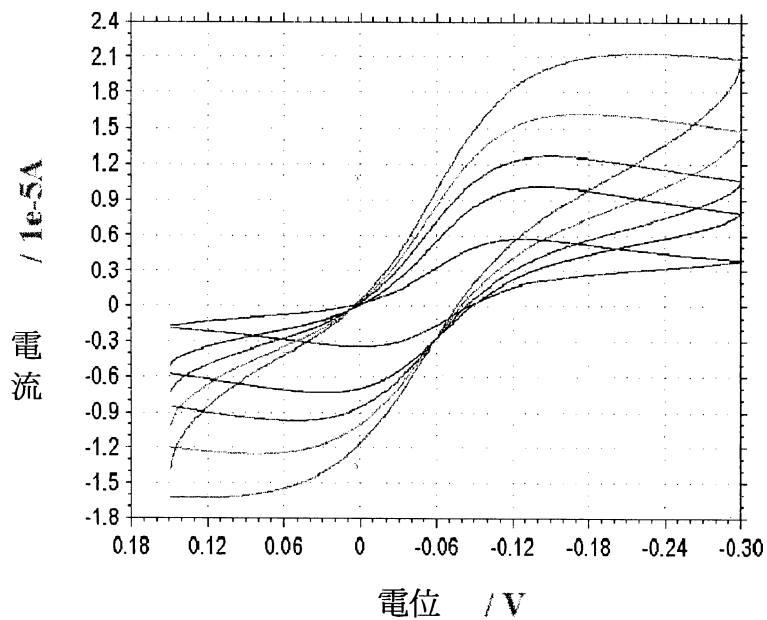


圖. 8

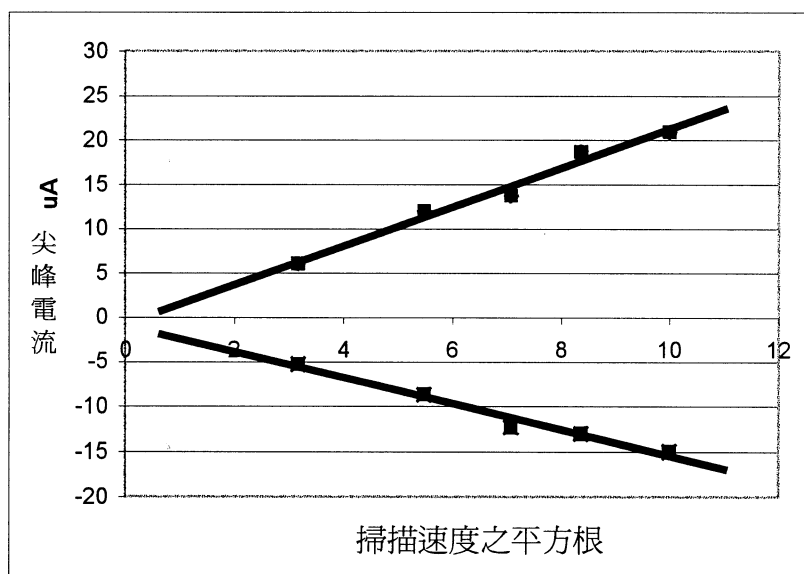


圖. 9

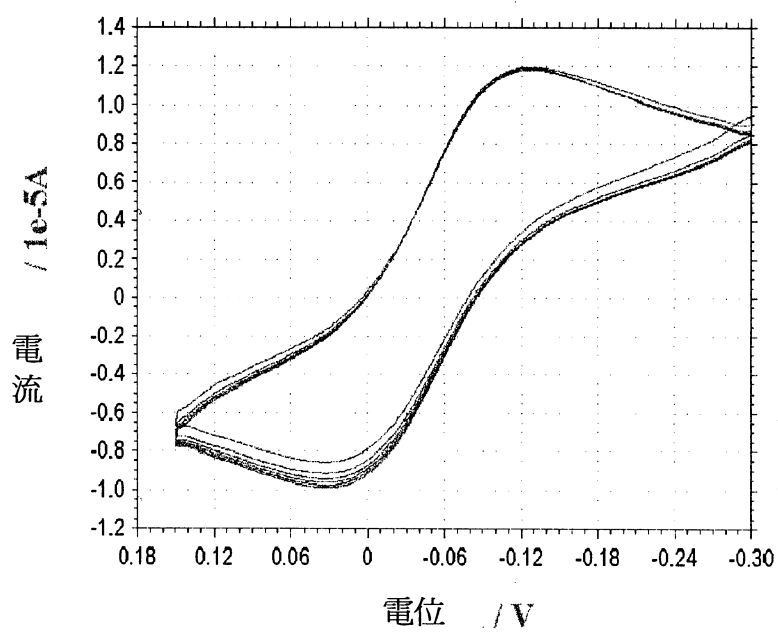


圖. 10

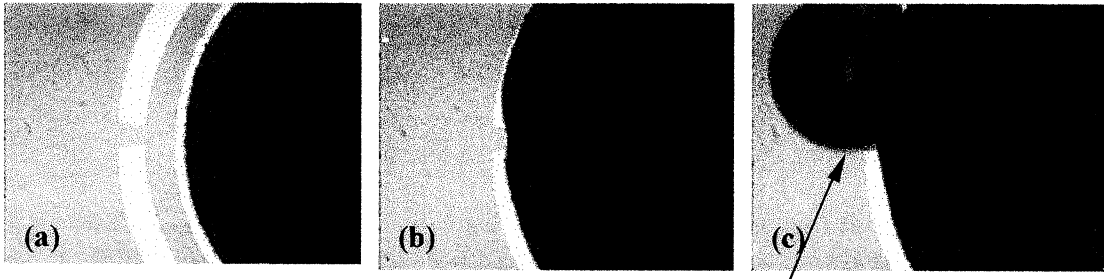


圖. 11

465

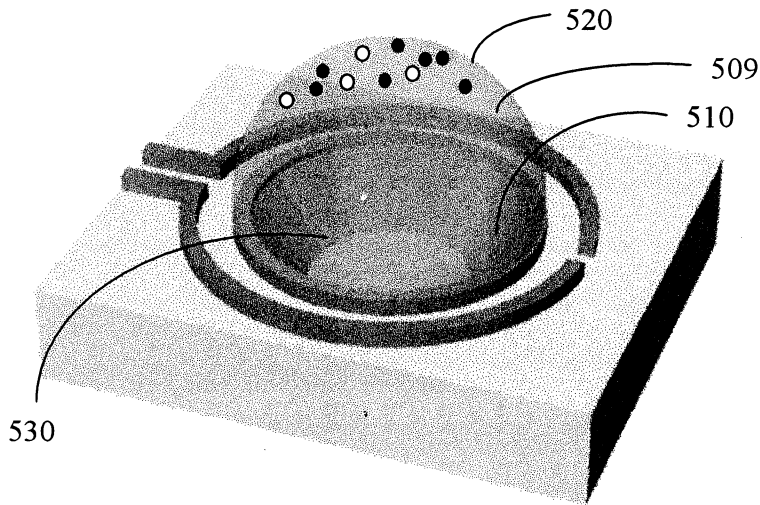


圖. 12

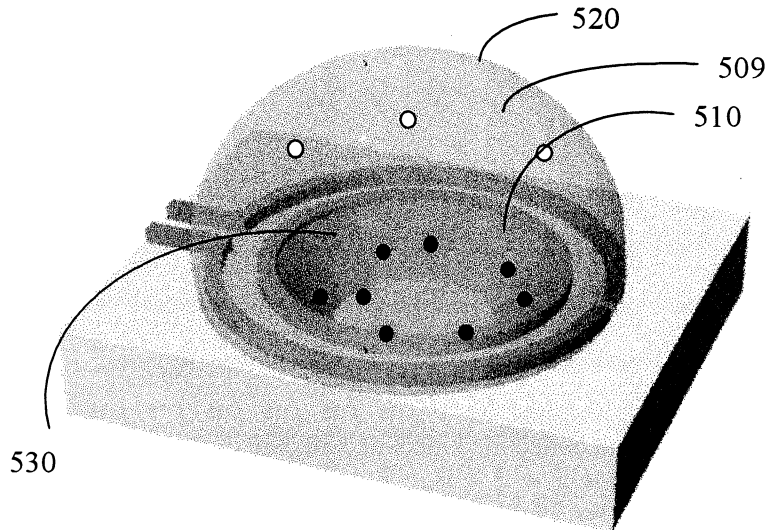


圖. 13

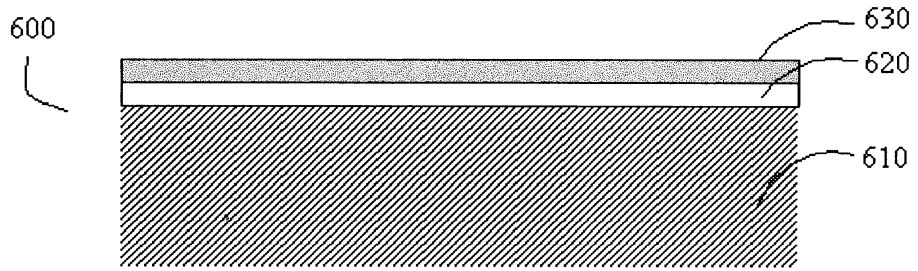


圖. 14

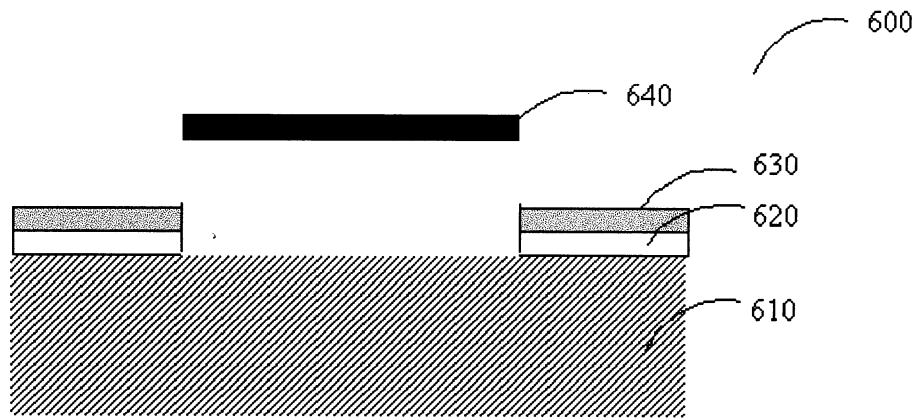


圖. 15

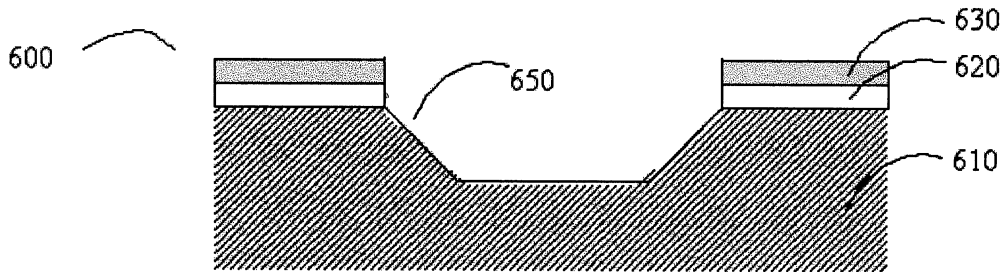


圖. 16

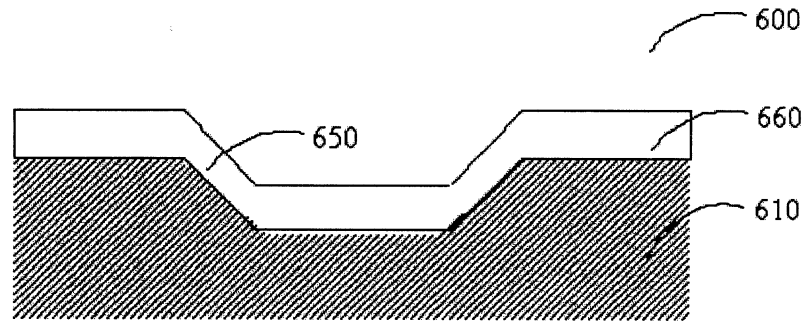


圖. 17

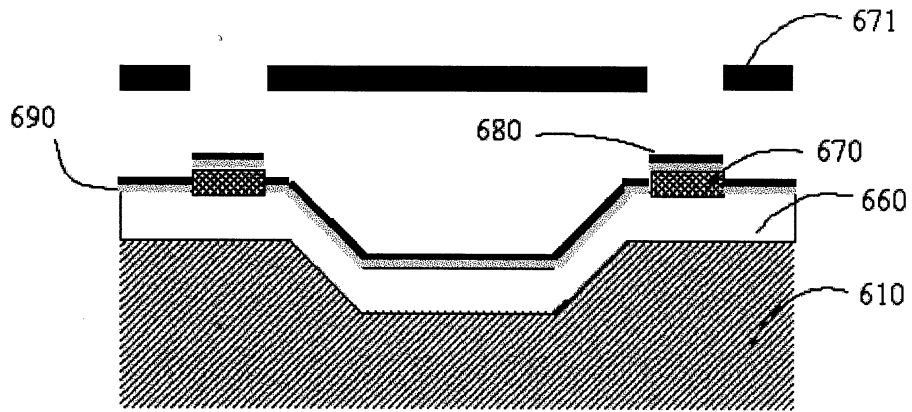


圖. 18

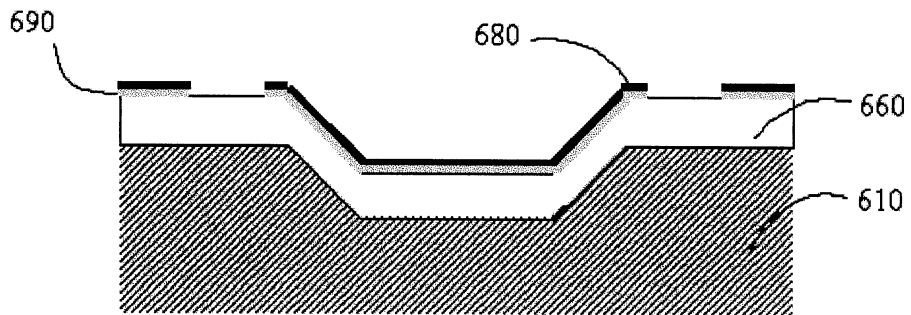


圖. 19

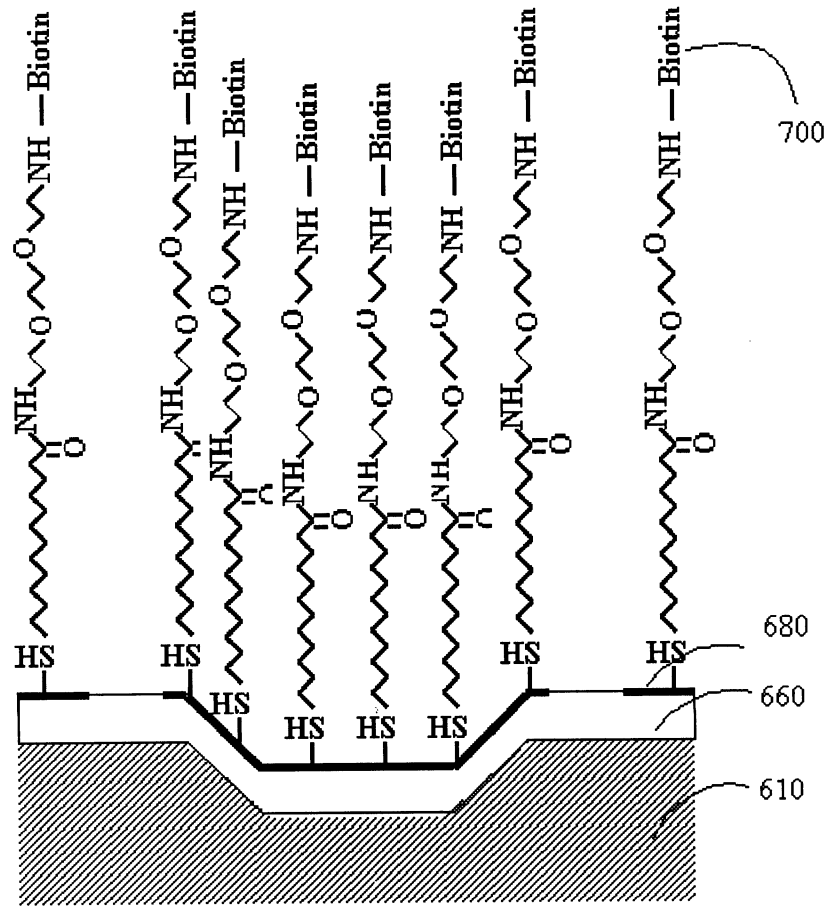


圖. 20

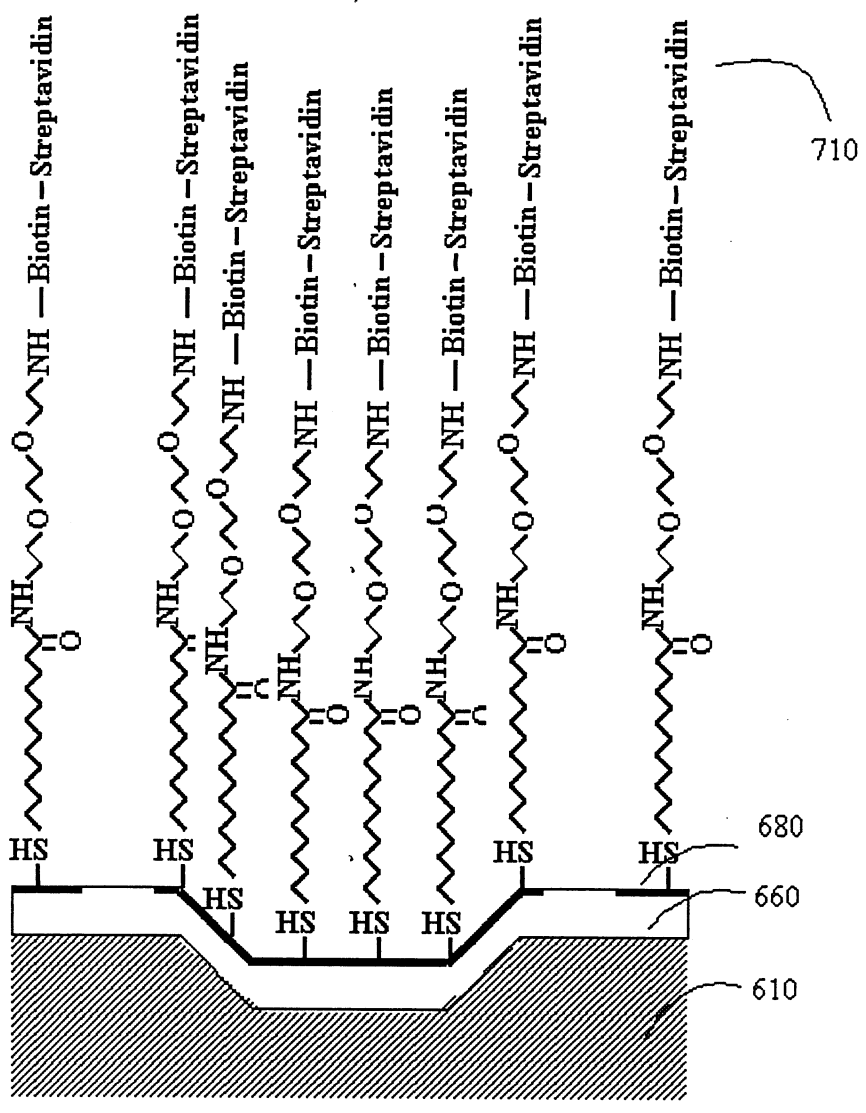


圖. 21

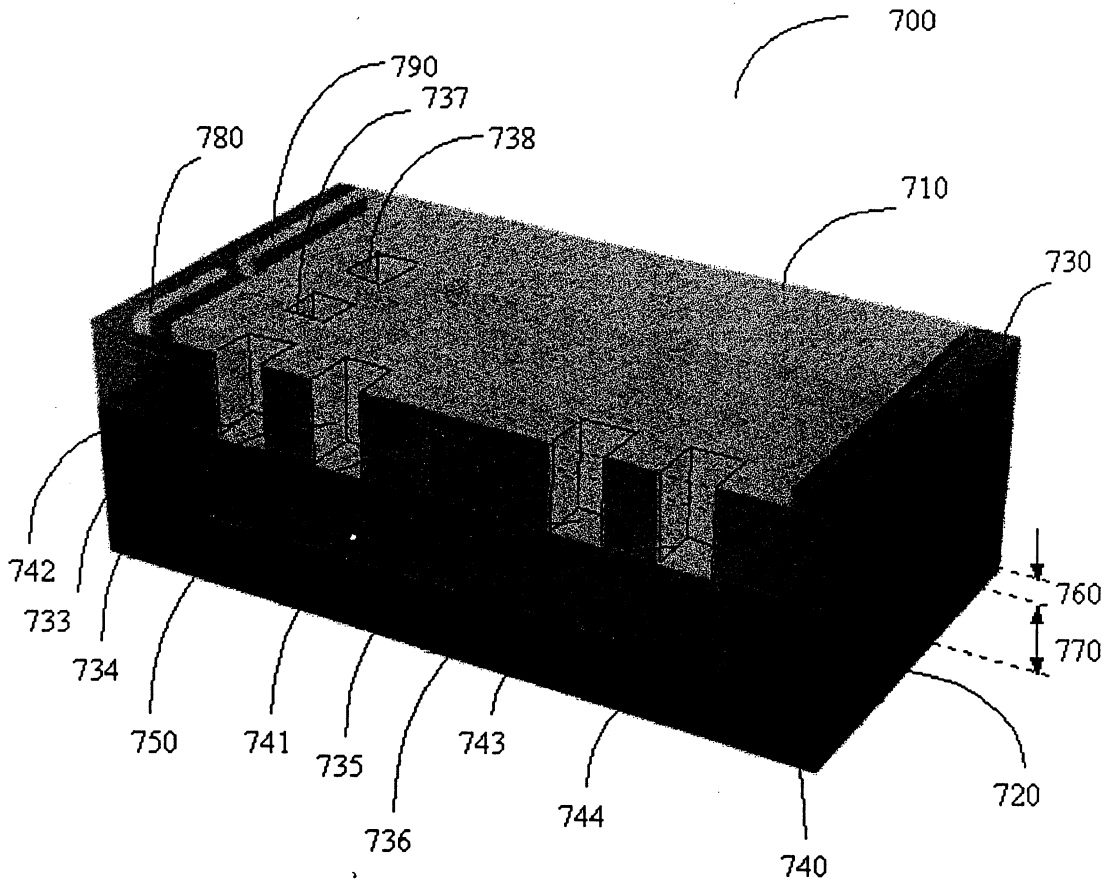


圖. 22

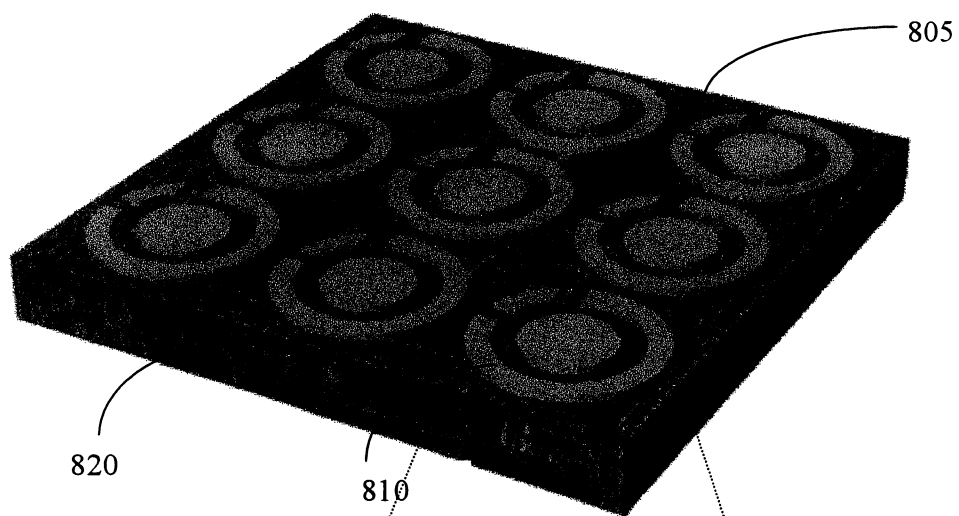


圖. 23

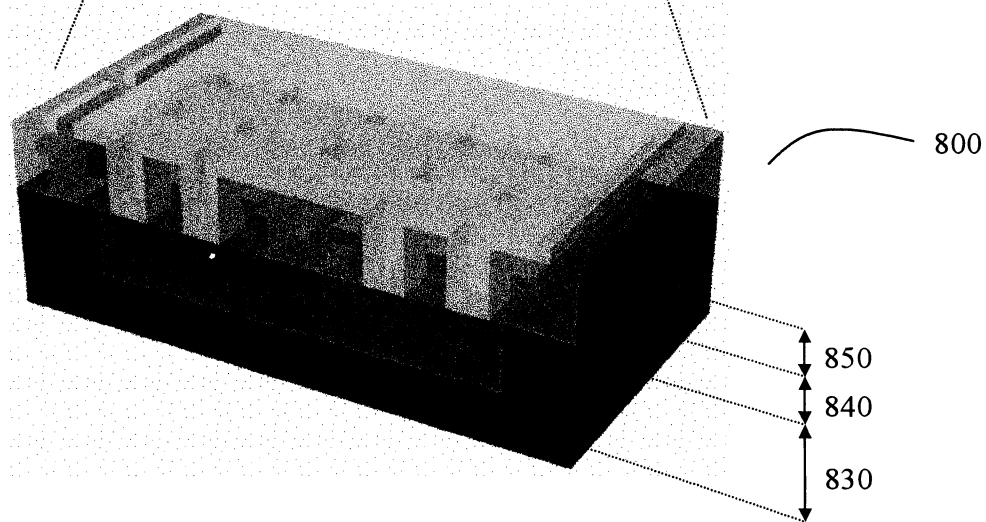


圖. 24

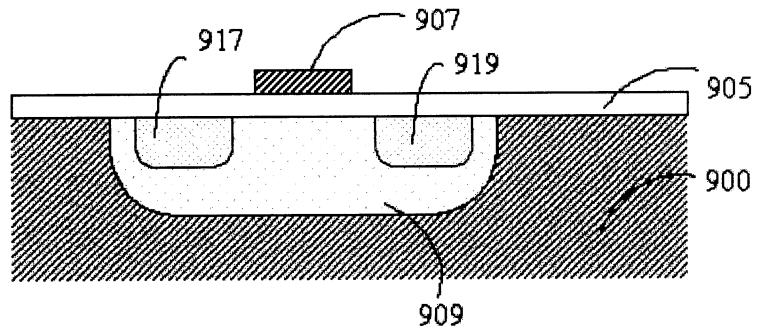


圖. 25

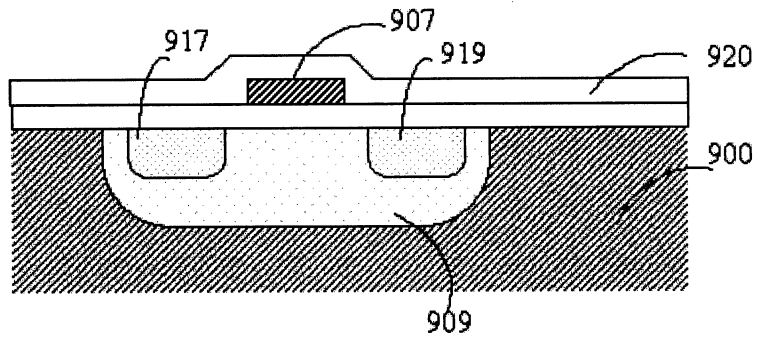


圖. 26

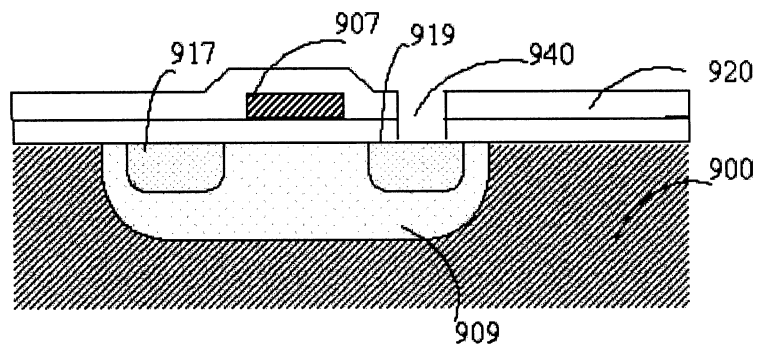


圖. 27

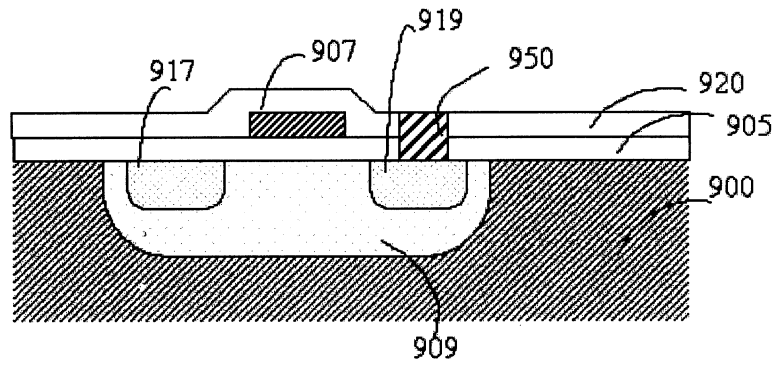


圖. 28

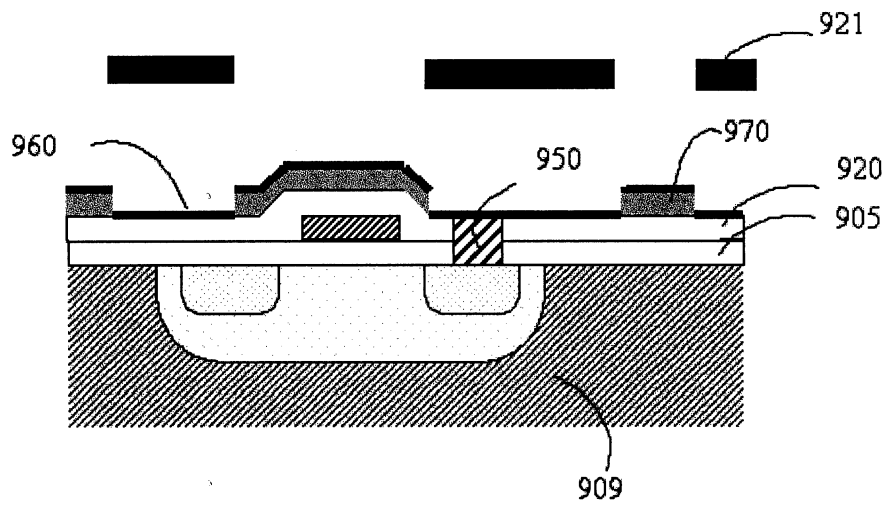


圖. 29

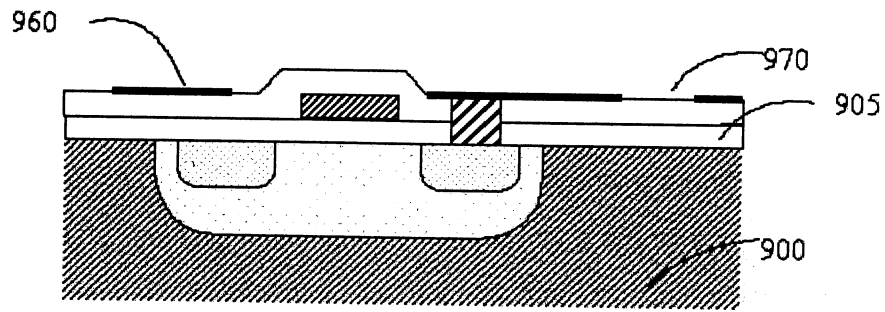


圖. 30

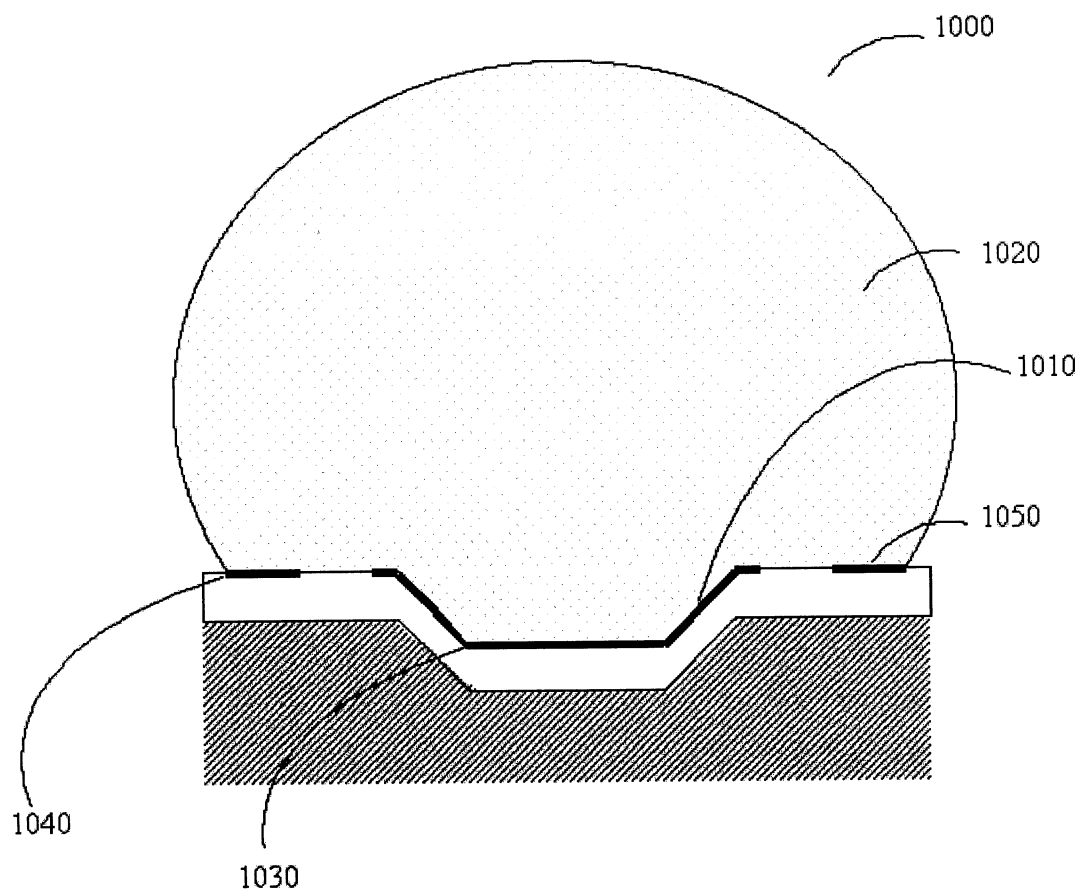


圖. 31

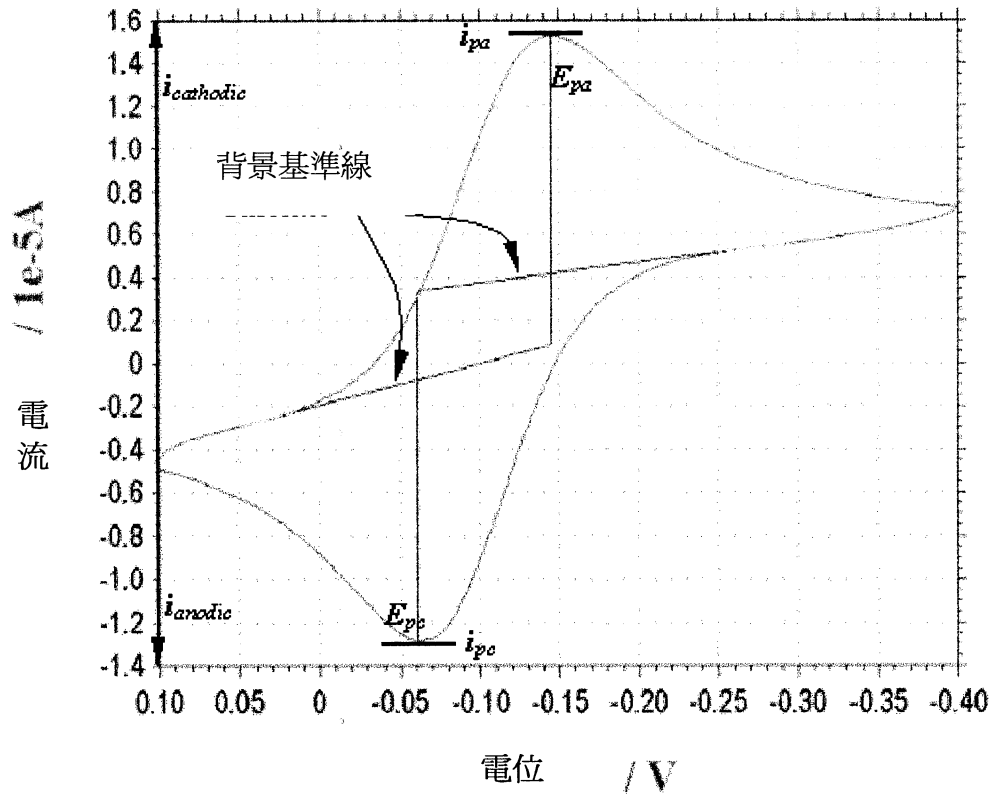


圖. 32

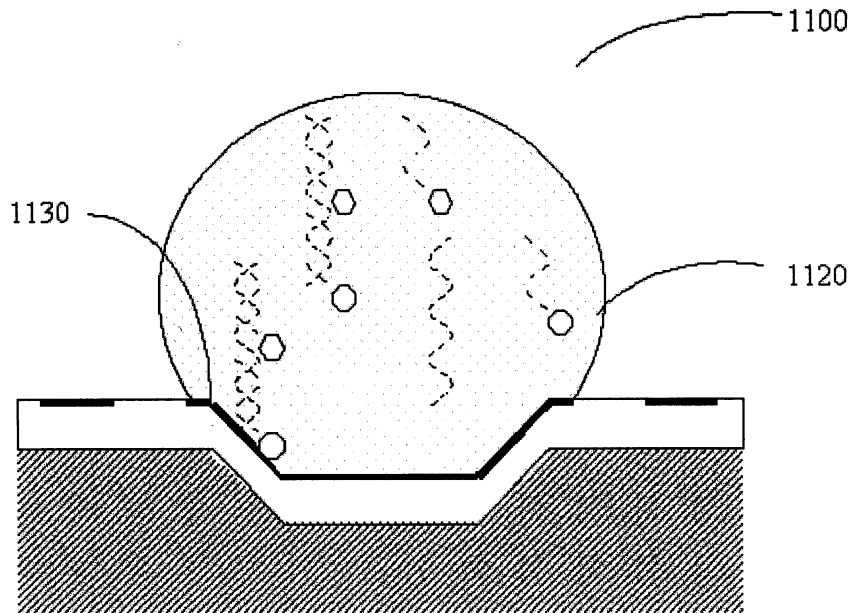


圖. 33

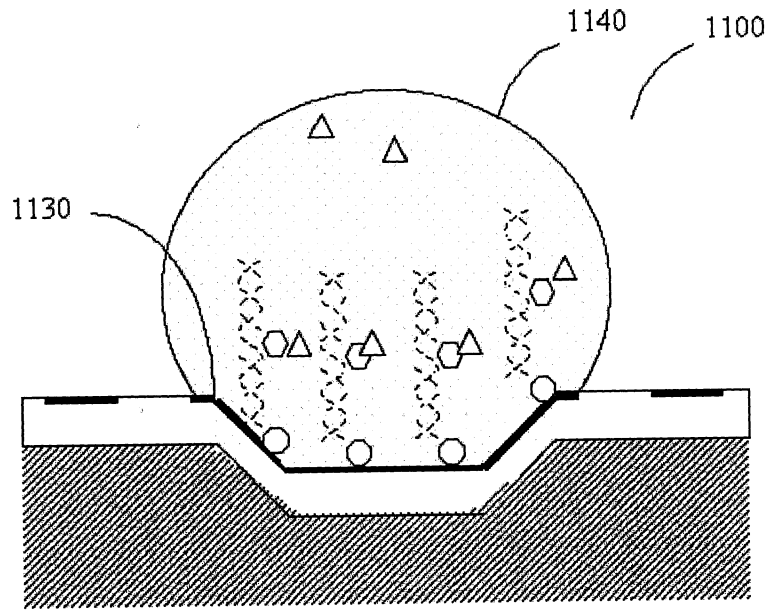


圖. 34

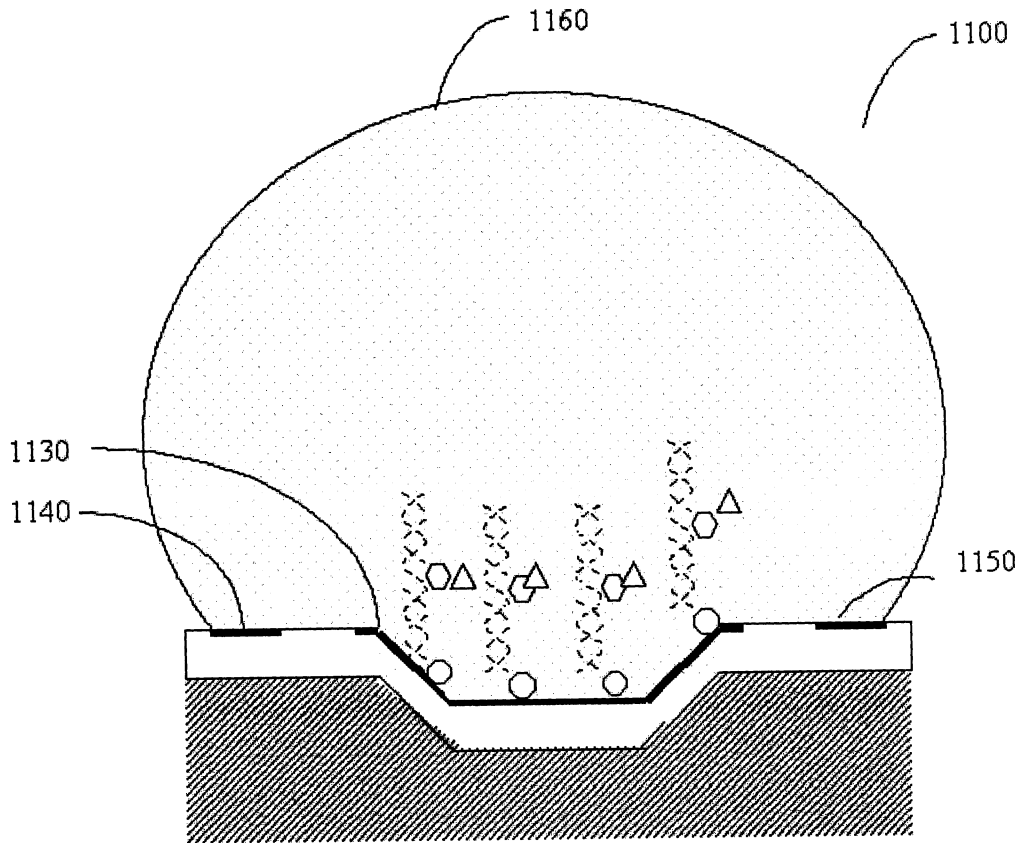


圖. 35

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（）圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無

公告本

96年 月 日修(更)正本

I245073

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：90110604

※申請日期：90.5.3

※IPC分類：C12N1/34, G01N5/10

一、發明名稱：(中文/英文)

具生物感測器晶片的生物識別系統

BIOLOGICAL IDENTIFICATION SYSTEM WITH INTEGRATED
SENSOR CHIP

二、申請人：(共1人)

姓名或名稱：(中文/英文)

高振智/JEN-JR GAU

代表人：(中文/英文)

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國加州 90069 洛杉磯艾普特 102 號角街 1211/

1211 Horn Ave. Apt 102, Los Angeles, CA 90069, USA

國籍：(中文/英文)

美國/USA

三、發明人：(共1人)

姓名：(中文/英文)

高振智/JEN-JR GAU

國籍：(中文/英文)

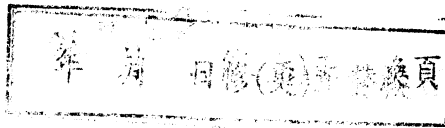
美國/USA

十、申請專利範圍：

- 1、一種偵測在一生物溶液中目標分析物的存在或量測其含量的方法，其包括下列步驟：
將該生物溶液與一微加工(microfabricated)的電化學生物感測器接觸，該微加工的電化學生物感測器包括：
(A) 一基材，其係可與微加工製程相容；及
(B) 至少兩個使用積體電路技術所製造的導電電極，其係位於該基材上，每一導電電極包含一單層的導電材料，該導電材料係可與微加工製程相容；
將該生物溶液與該導電電極接觸；
從該微加工的電化學生物感測器中量測電訊號的輸出；以及
藉由該輸出訊號決定在該生物溶液中目標分析物的存在及/或含量。
- 2、如申請專利範圍第 1 項所述的方法，其中在該電化學生物感測器的每一電極下，更包括一可與微加工製程相容的黏著物質，該黏著物質使每一電極可更佳地附著於該基材上。
- 3、如申請專利範圍第 1 項所述的方法，其中該生物溶液為一包含大分子(macromolecules)的生物溶液。
- 4、如申請專利範圍第 1 項所述的方法，其中該生物溶液為一包含離子、分子或原子的生物溶液。
- 5、如申請專利範圍第 1 項所述的方法，其中該基材係選自矽、砷化鎵、塑膠、以及玻璃所組成的群組。

- 6、如申請專利範圍第 1 項所述的方法，其中該基材包括由矽所構成之物質。
- 7、如申請專利範圍第 1 項所述的方法，其中該導電材料係選自金、鋁、鉻、銅、白金、鈦、以及鎳所組成的群組。
- 8、如申請專利範圍第 1 項所述的方法，其中該導電材料為金。
- 9、如申請專利範圍第 2 項所述的方法，其中該黏著物質為鉻、鈦、或膠。
- 10、如申請專利範圍第 2 項所述的方法，其中該黏著物質包括鉻。
- 11、如申請專利範圍第 1 項所述的方法，其中該基材進一步包括至少包含一電極之槽狀結構(well structure)。
- 12、如申請專利範圍第 1 項所述的方法，其中該電化學生物感測器包含至少三個導電電極。
- 13、如申請專利範圍第 12 項所述的方法，其中該每一導電電極包含一單層的金。
- 14、如申請專利範圍第 2 項所述的方法，其中由該輸出訊號決定在該生物溶液中目標分析物的存在及/或含量的步驟更包括下列步驟：
用一包含已知濃度之目標待測分析物的第一校正溶液及用一包含無法測得(undetectable) 目標待測分析物含量的第二校正溶液來校正該電化學生物感測器；
得到一參考訊號輸出；及
將一測得的訊號與該參考訊號比較，以決定該生物溶液中該目標待測分析物的存在及/或含量。

- 15、如申請專利範圍第 14 項所述的方法，其中該基材係選自矽、砷化鎵、塑膠以及玻璃所組成的群組。
- 16、如申請專利範圍第 14 項所述的方法，其中該導電材料係選自金、鋁、鉻、銅、白金、鎳以及鈦所組成的群組。
- 17、如申請專利範圍第 14 項所述的方法，其中該導電材料為金。
- 18、如申請專利範圍第 14 項所述的方法，其中該黏著物質係選自鉻、鈦、與膠所組成的群組。
- 19、如申請專利範圍第 14 項所述的方法，其中該基材進一步包括在至少一電極底下之一槽狀結構。
- 20、如申請專利範圍第 15 項所述的方法，其中至少一電極的表面係經表面修飾以在該表面上固著大分子。
- 21、一種偵測生物溶液中至少一分子的存在或量測其含量的方法，其包括下列步驟：
將該樣品試劑與一微加工的電化學生物感測器接觸，該微加工的電化學生物感測器包括：
(A) 一矽基材；及 (B) 用積體電路技術在該矽基材上所製造的三個導電電極，每一導電電極包含一單層的金；
使該生物溶液與該導電電極接觸；
從該微加工的電化學生物感測器中量測電訊號的輸出；以及
藉由該輸出訊號決定在該生物溶液中該分子的存在及/或含量。
- 22、一種微加工的電化學生物感測器，其包括：



一矽基材；以及

三個導電電極，其係利用積體電路技術在該矽基材上製造，其係用於偵測氧化還原反應，且每一導電電極包含一單層的金。

23、一種偵測生物溶液中之目標分析物的方法，其包含下列步驟：

提供一生物感測器及至少一種試劑，該生物感測器包含：

(A) 具有第一表面性質的第一區域，其係用於固定化在該生物溶液中之目標分析物；及

(B) 具有第二表面性質之第二區域，其與第一表面性質相異，該生物溶液可經由表面張力局限於第一及第二區域間，該第二個區域包含偵測該目標分析物的元件；

將一定量的試劑加在該生物感測器上，其中該試劑在生物感測器上覆蓋的範圍由試劑的體積及表面張力所控制；以及

用該生物偵測器感測該目標分析物的存在及/或含量。

24、如申請專利範圍第 23 項所述的方法，其中該元件包括至少一電極，其係選自輔助電極及參考電極所組成的群組。

25、如申請專利範圍第 23 項所述的方法，其中該試劑包括一第一試劑及一第二試劑中的至少一個試劑。

26、如申請專利範圍第 25 項所述的方法，其中將一定量的試劑加在該生物感測器上的步驟包括下列步驟：

- 48、如申請專利範圍第 41 項所述的裝置，其中該半導體基材為矽。
- 49、如申請專利範圍第 41 項所述的裝置，其中該偵測電路包括一電流量測裝置，經由對應的導電電極去偵測氧化還原反應事件之電流訊號。
- 50、如申請專利範圍第 49 項所述的裝置，其中該偏壓為電流偵測中電子轉移所需之兩相異電極間之壓差。