

# 沾印式蛋白質微陣列晶片研製

本研究主要是利用生醫微機電製程技術，發展新式之沾印式蛋白質微陣列壓印系統，包含微印章陣列及蛋白質微印台。本研究是以微陣列為基礎的生醫檢測方法，不僅是一個全新的方法，可用來同時偵測成千個生醫檢體，並且擁有極佳的擴展性。此微陣列的晶片使用的材料價格低廉，且為半導體工業上常用的批次製程，可利用台灣成熟的半導體產業代工，量產成本低廉的可棄式晶片。此一新發展的生醫晶片不但能夠使用於蛋白質的分析，也可以應用於DNA 序列檢測、新藥品的篩選及研發，以及臨床診斷上。

曾繁根、黃海美、林世章、黃朝裕、錢景常

## 一、前言

生物晶片技術是推動下世代生醫檢測技術革命的關鍵助力。在傳統上，生醫檢測中所使用之設備不但龐大、昂貴、費時、檢體消耗量大、耗費人工，且檢測通量低。拜生醫晶片技術之賜，生醫檢測得以量小、精確、自動化，且檢測通量高。

生醫晶片一般而言為積體化之檢驗裝置，可將生醫檢體從試樣準備 (sample preparation)、檢體固定或處理 (sample immobilization/process)，直至反應訊號檢測及處理 (signal detection and process)，皆

曾繁根先生為美國加州大學 (UCLA) 機械與航空工程博士，現任國立清華大學工程與系統科學研究所助理教授。

黃海美女士為美國路易斯安那州立大學博士，現任國立清華大學生命科學研究所教授。

林世章先生現為國立清華大學工程與系統科學研究所博士班學生。

黃朝裕先生為國立清華大學工程與系統科學研究所碩士，現服役中。

錢景常女士為美國維吉尼亞州理工學院暨州立大學博士，現任國立清華大學工程與系統科學研究所教授。

能自動化完成之檢測系統。近十年以來，拜微機電系統技術進步所賜，此一檢測系統得以微小化並積體化，成為真實可用之實驗室晶片 (lab on a chip, LOC) 或微全分析系統 (micro total analysis system,  $\mu$ TAS)。生醫晶片有體積小、反應快速、檢測通量大及自動化分析等無限潛力之特點。但也因其生化反應所需試劑非常少量，且產生的訊號相當微弱，因此需要比傳統偵測系統靈敏之感測方式，以獲得精確可靠之訊號<sup>(1-2)</sup>。

在目前眾多生醫晶片之檢測技術中，微陣列技術為達成前述目標之重要功臣之一。生醫晶片中之微陣列晶片是最近幾年來相當熱門之新興產業，從第一個產品到現在大約只有八年的歷史<sup>(2)</sup>。歐美及日本等國投入此研發的公司及研究機構相當多，所耗費之研究資源亦相當可觀。從人類基因解碼完成之後，如何從此龐大如天文數字之資訊中，迅速獲得人類生、老、病、死相關之有用資訊，以增進人類生活福祉，為目前許多科學家所積極努力之目標。微陣列晶片之目的，主要可將成千上萬不同之生醫檢體固定於微小之晶片上，並可同時平行大量且快速之檢測，因此可於短時間內完成使用傳統技

術須耗費百千倍以上時間才能完成之工作，由此提供一個革命性之快速檢測方式。

除此之外，在醫學臨床的檢驗、新藥分析研發，以及對於環境生態的持續監測，都面臨必須要能夠同時平行並且迅速的檢驗眾多的生物檢體或是化學合成物之挑戰。在這些生物檢測中，由於樣品以及試藥取得不易或是價格相當昂貴，因此微量且批次的檢測技術，也就成為歐美、日本等先進國家重要的研發方向，因此微陣列技術也就成為下一代生醫檢驗和新藥發現的重要方法。

傳統的微陣列技術使用數個微小針頭放置於機械手臂下，並控制其在試片上將生醫檢體打點成為陣列，如圖 1 所示。此一將生醫檢體陣列化之技術，目前已廣泛的應用於 DNA 微陣列晶片之製作<sup>(1)</sup>，但對於蛋白質微陣列，傳統的點針陣列技術有以下的限制：

(1) 打點的速度取決於針頭的數量，且打點方式為序列式 (serial process)，非平行處理。以 4 針頭

機器為例，處理一組含一萬個檢驗點之試片需時約 1 小時。42 個試片同時處理需時約 30 小時。冗長的打點時間增加檢體或試劑腐壞之危險。

(2) 機器使用精密定位設備，價格高於數百萬元新台幣，需維修及校準針頭。於打印不同檢體時需用大量清水清洗，增加運作成本，浪費大量原有檢體，且增加環境污染及檢體相互污染之可能。

(3) 所打印之點的體積差異約為 10% - 25% 以上，增加檢測之不可靠性。

(4) 打點之大小侷限於細針之傳統加工技術，打點大小較難突破 50  $\mu\text{m}$  以下。

因此針對蛋白質微陣列，有使用微系統技術所發展而成之微陣列方式，包含微影方式<sup>(3-5)</sup>、微噴射方式<sup>(6-8)</sup>，以及微壓印方式等<sup>(9-11)</sup>。

圖 2 所顯示之蛋白質微陣列方式則使用光微影技術<sup>(3)</sup>，並且配合上 SAMs (self assembled monolayers)

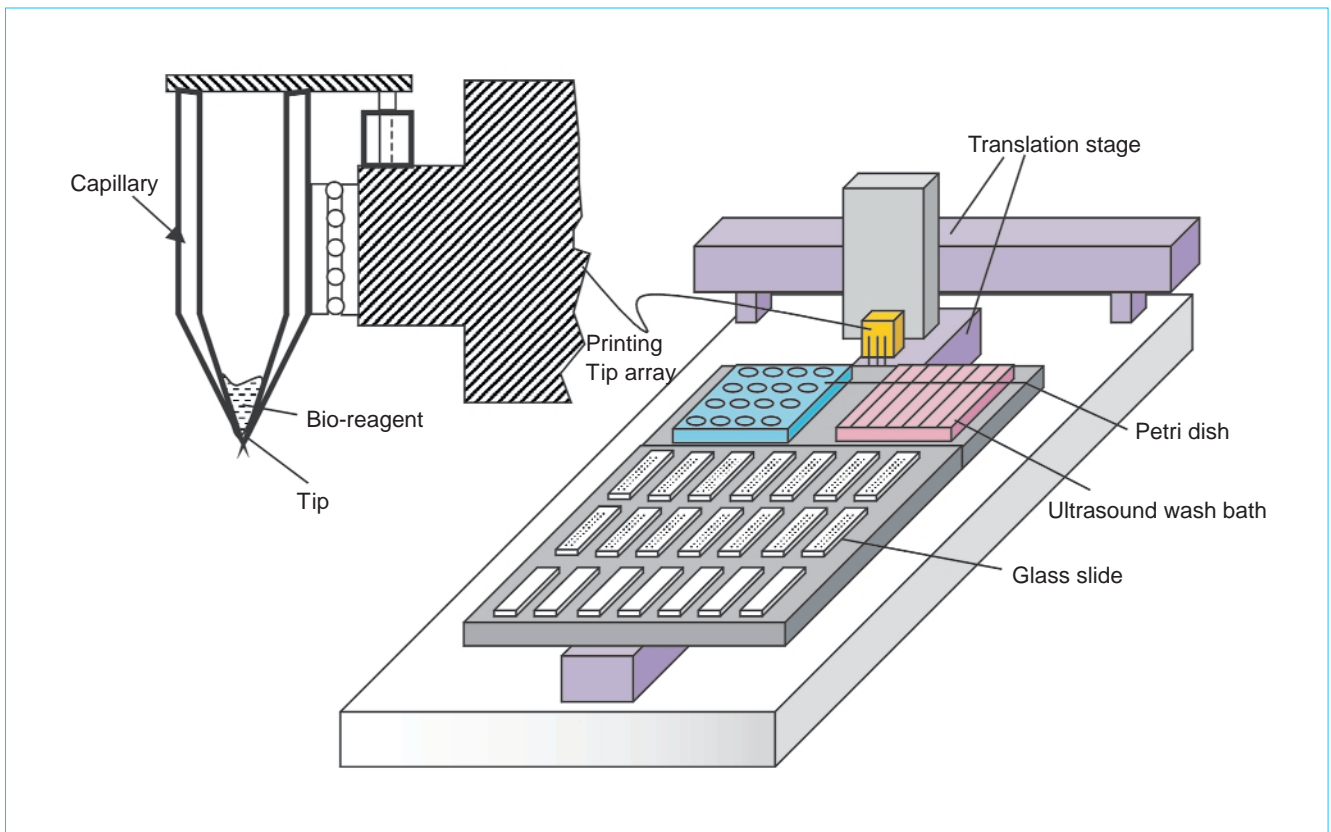


圖 1. 傳統之微陣列點印機。

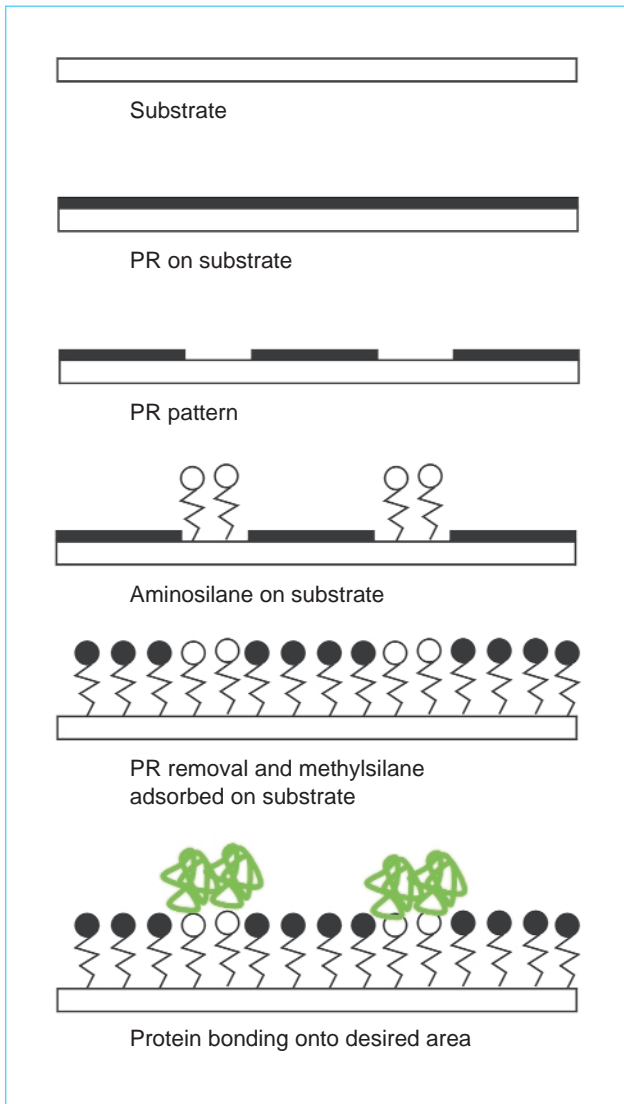


圖 2. 使用微影技術將蛋白質固定於特定陣列上。

的技術以固定蛋白質。其製程包含：於選定之底材上先旋鍍一層光阻，將光阻顯影後露出部分底材作為蛋白質接著處，然後將 SAM 材料塗佈於所露出之底材。光阻去除之後，另外一層蛋白質阻擋層接著塗佈於 SAM 材料之外所有底材處，以定義蛋白質附著位置。最後將蛋白質檢體與此晶片反應後，蛋白質可於所定義之處形成微陣列。此種鍵結蛋白質之方式可有效且迅速地將蛋白質固定於所需之處，且亦可形成定量之大陣列。但對於多種蛋白質選擇性鍵結於同一晶片上不同之處，則需要繁瑣之程序，且如要對成千上萬之不同種類檢體同時固定，其製作程序有相當之困難度。

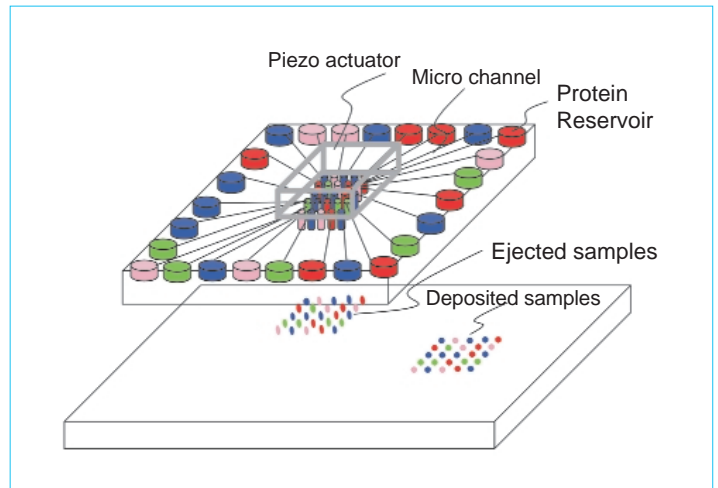


圖 3. 使用微噴射技術將蛋白質固定於特定陣列上。

第二種方法，如圖 3 所示，使用微噴射之方式<sup>(8)</sup>。檢體先用滴管或機械手臂點於蛋白質填充池 (protein reservoir) 中。晶片上之微流道系統，可將蛋白質檢體迅速以表面張力帶入中心之噴射孔中。噴射孔之上方使用壓電材料所作成之致動器，將噴射孔中之檢體擠壓形成液珠陣列，此液珠陣列則打印於晶片上固定。此種方式可同時處理上百種不同之蛋白質檢體，且打印之大小可由壓電材料之訊號控制。但打點之形狀可因液珠衝擊速度過快而呈現不規則狀，且衛星液珠之形成亦必須控制，否則定量將有誤差。此外，使用同一致動器驅動不同微噴管中之液體，將面臨位置不同之微噴管所擁有之液力狀況並不相同之情況，因此易造成陣列內外液珠大小不均之結果。如果將每一噴孔單獨分開由單一之致動器控制，單一晶片能容納之檢體數量將有相當之侷限。

第三種方式則為使用壓印之方式<sup>(9)</sup>，如圖 4 所示。此方法將凝膠先固化於玻璃管中，並利用凝膠來吸收蛋白質，接著使用壓印的方法，一次可壓印多個相同的蛋白質在特定表面上，這種方法可以一次壓印大量的同種蛋白質。此種方法如利用於大陣列不同蛋白質之壓印，將耗費大量人力及手工製成之玻管 - 凝膠印章。此外，使用矽膠模造製成之微印章則為另種壓印方式<sup>(11)</sup>，此種方式可利用微印章吸附蛋白質檢體，然後轉印至生醫晶片上形成微陣列；或使用模造之矽膠微通道系統緊壓於生醫晶片

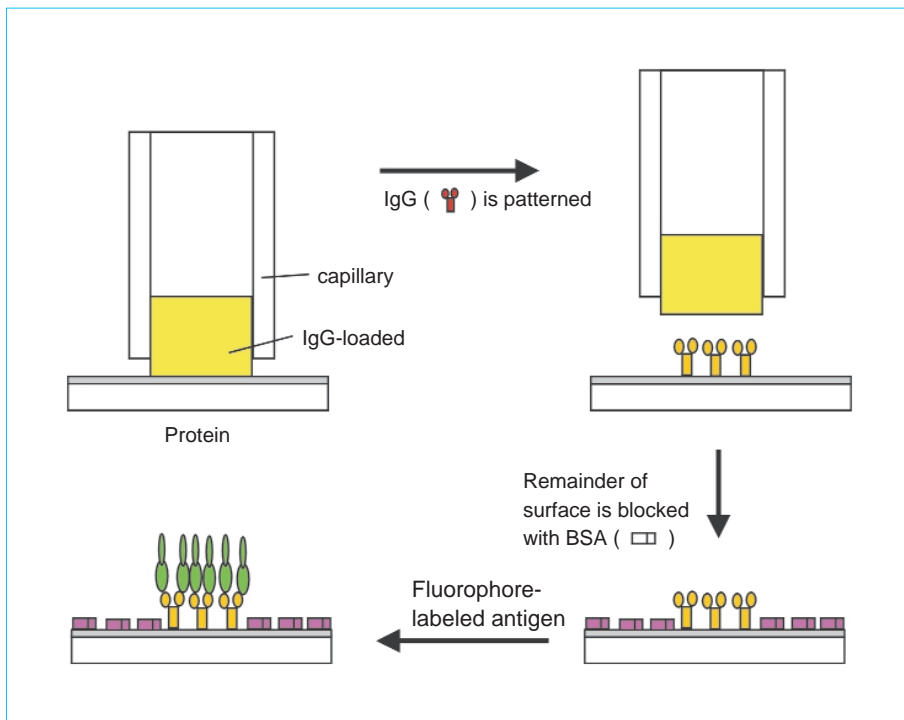


圖 4. 使用壓印技術將蛋白質固定於底材上。

上，並將蛋白質檢體通入流道中，以使蛋白質與表面鍵結而固定。無論以上何種方式，皆只顯示一至數種蛋白質處理於單一晶片上之能力，並無法大量處理不同種類之蛋白質。

因此為能達到大量處理不同種類蛋白質，以完成精確定量，快速定位塗佈，並兼顧系統簡單、便宜、容易操作等特性，本研究則使用微印章及微印台所組成之微壓印系統，以同時達成上述之目標。

## 二、微壓印系統之工作原理及特性

本研究中所使用之壓印晶片及原理，如圖 5 所示<sup>(12)</sup>。微印章陣列先吸附由微印台中所涵養之蛋白質，以形成陣列。然後吸附蛋白質之微印章與生醫晶片接觸，因而將蛋白質檢體轉印於生醫晶片上。轉印之蛋白質檢體，將經過生醫處理過程，以與螢光物質修飾過之抗體結合。此一螢光物質將於紫外光或雷射光之激發下放出螢光，因而透過影像之儲存與處理，其生醫反應之訊息可被定量分析。此一系統包含以下之優點：

1. 可大量處理上百種以上不同之生醫檢體。
2. 沾印及轉印過程只靠輕柔之機械接觸，並無牽涉

易於破壞生醫檢體之外來因素，如溫度、高壓、高離心力、化學藥品等對蛋白質結構具潛在威脅之作用。

3. 整體過程快速且平行處理，對於易腐壞之生醫檢體有相當之相容性。
4. 所使用之製程為大量製造之生醫微機電系統製程技術，成本低廉。
5. 所使用之材料可為便宜之塑膠材料，晶片為可棄式，無檢體之間相互污染問題。

## 三、微壓印系統之製程與製造結果

此一壓印系統包含微印章與微印台，本節將分別詳細說明製程之步驟及製造結果。

### 1. 微印章之製造

微印章之製程如圖 6 所示<sup>(12-14)</sup>。首先使用紫外線高深寬比微影之製程，以 SU-8 負型光阻為模材料，製造模於矽底材上。接著將混合好之雙成分矽膠 (Sylgard 184, Dow Corning) 施放於模上，經由真空抽氣泡之過程後，用一支撐底材將矽膠壓模。整個系統置於 60 °C 烤箱中 5 小時直至矽膠固化，並

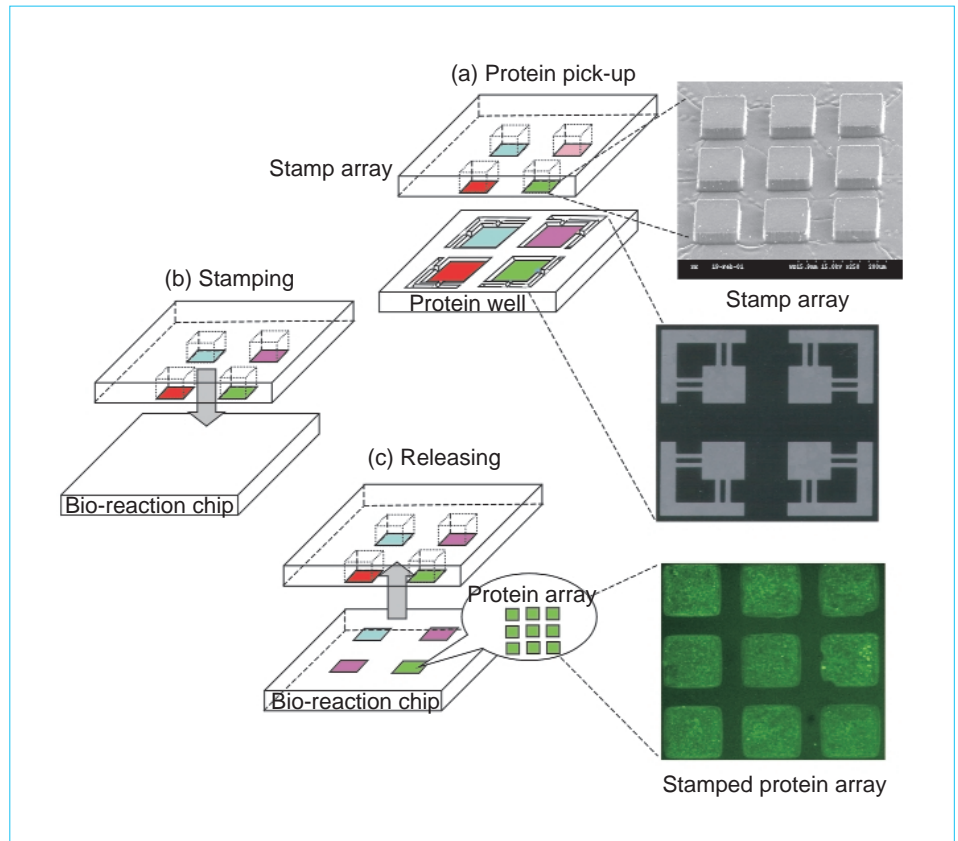


圖 5. 沾印式微壓印系統工作原理示意圖。

經由脫模過程將模造之矽膠由 SU-8 模中脫開。最後使用電子槍蒸鍍之方式，將鈦或鋁等金屬，鍍於微印章表面，以增加印章之親水特性。所製作完成之微印章如圖 7 所示。由電子顯微鏡圖可以清晰看見由微模造製程所精確定義之微印章，而其中放大之圖可得知微印章表面之光滑程度。

此微印章所使用之材料為柔軟之矽膠，因此與一般非完美平面之玻片表面接觸時，可隨表面之起伏產生適當之變形。甚至晶片表面有顆粒較小之灰塵時，雖然灰塵所在之處會造成缺陷，但卻不影響其他區域之壓印結果，可使整體操作不需於無塵室中，可普及於一般場所及實驗室。

使用此微印章直接與蛋白質溶液接觸，然後壓印於生醫晶片上，我們發現所沾附之蛋白質溶液之量難以精確控制。如果所含之量過多，則所蓋印之蛋白質間因液體表面張力作用，將有黏連之現象，無法得以清楚區分，如圖 8(a) 所示。如果將過多之蛋白質溶液先行用吸收紙吸附部分，再行蓋印於晶片上，所發生之情況多為蛋白質溶液不足，如圖

8(b) 所示，無法造成完滿之印蹟。因此如何提供壓印晶片適度之蛋白質質量，成為重要之研究課題。

## 2. 微印台的設計與製造

鑑於前述之壓印過多或不足之問題，使用印台供應定量蛋白質溶液成為本研究解決方法之一。此印台不但要能定量供應蛋白質溶液，所使用之材料必須不與蛋白質產生反應，且必須同時能供應多種不同種類之蛋白質。此外，蛋白質溶液能於溶液未使用完全時暫時儲存其中，以保存至下一次使用之時。除蛋白質供應量問題外，印台吸附蛋白溶液之後，與印台接觸之表面，必須維持半固體狀，以破除印章印台接觸時，表面張力將印章之間之液體沾連，以致於形成液膜無法分離的問題。此問題常造成壓印失敗。

為能達到以上要求並解決諸多問題，親水性之聚乙烯醇 (PVA) 被選擇為蛋白質水溶液儲存材料。聚乙烯醇為多孔性物質，當與蛋白質溶液接觸時成凝膠狀態，亦可以使用旋鍍方法製造於微印台上。

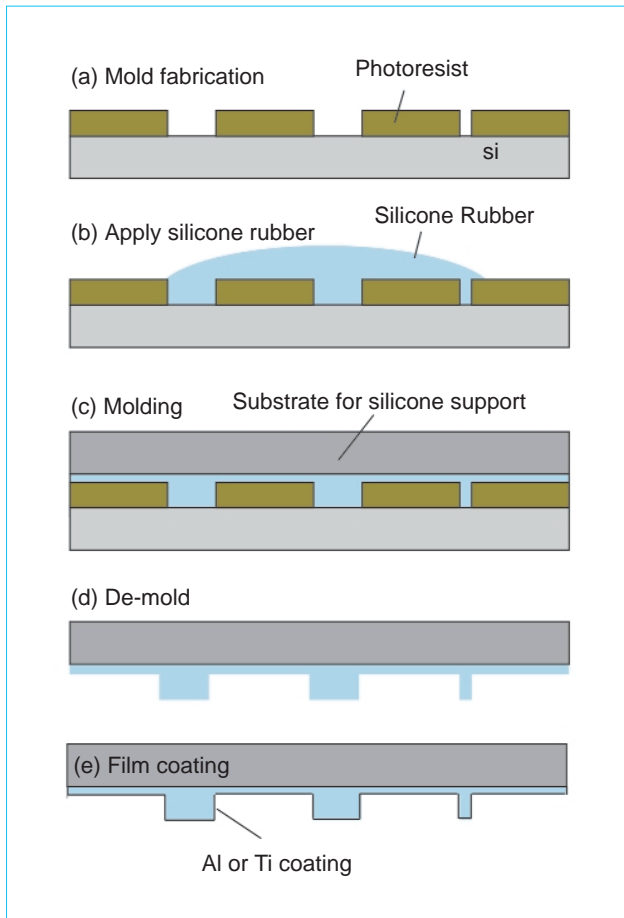


圖 6. 微印章之製程流程。

整體印台結構包含中央之蛋白質印台 (protein well) 以及外圍之儲液區 (reservoir)，而用於涵養蛋白質之聚乙烷醇則位於中間蛋白質印台上。儲液區為印台水量調節裝置，當印台水量過多時，多餘之溶液可流向儲液區儲存；但當液體過少時，儲液區之水溶液將自動調節流向蛋白質印台。如此中央之蛋白質印台可保持適度之濕潤程度，提供印章適量之蛋白質溶液，以為壓印使用。

印台之詳細製程，如圖 9 所示，並詳細說明如下<sup>(12)</sup>：

- (a) 將矽基材 (Si wafer) 表面氧化成長  $1\ \mu\text{m}$  之二氧化矽 ( $\text{SiO}_2$ )。
- (b) 在氧化矽上旋佈上一層  $10\ \mu\text{m}$  光阻 (photo resist)。
- (c) 以紫外光 (UV light) 將光阻曝光並顯影，以顯露二氧化矽。
- (d) 將晶圓放入 BOE (buffer oxide etchant)，由於

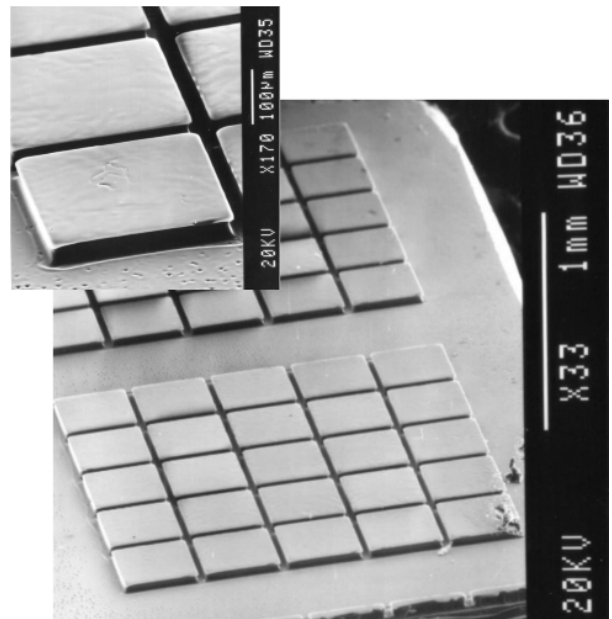
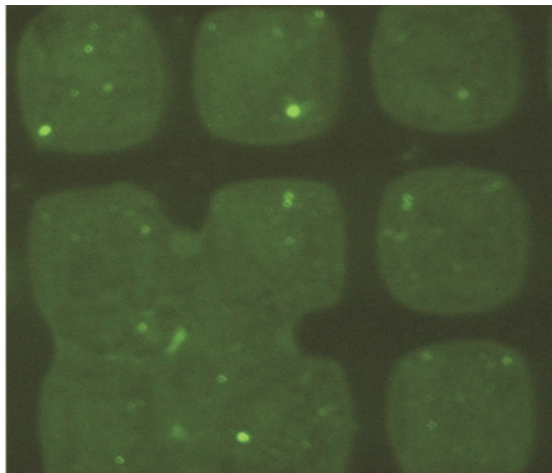


圖 7. 製造成功之微印章電子顯微鏡圖，與其印章表面之放大圖。

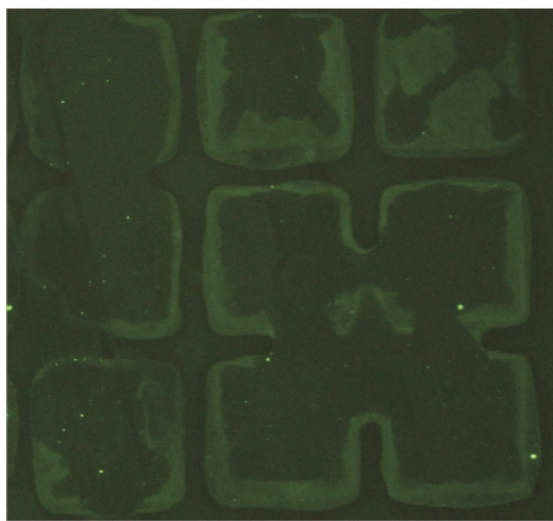
BOE 會蝕刻二氧化矽，但不會蝕刻光阻，因此二氧化矽經過 13 - 16 分鐘 (可以觀察蝕刻完成後孔洞的親水性，並由矽的非親水性來觀察蝕刻完成與否) 後會被 BOE 蝕刻完成。

- (e) 經過 (d) 步驟後，BOE 將二氧化矽蝕刻完，顯露出底層的矽基材，因此以  $80\ ^\circ\text{C}$ ，25% 之 TMAH 將矽往下蝕刻 5 小時，製作一  $100\ \mu\text{m}$  深之印台 (well)。
- (f) 完成 (e) 步驟後，重複 (b) (c) 步驟，並將高分子聚合物聚乙烷醇 (PVA) 旋佈至晶片上
- (g) 由於本實驗中，只有在中央印台處需含有 PVA，因此還需要利用掀離 (lift off) 的製程，將不需要 PVA 的地方，以掀離的製程完成。

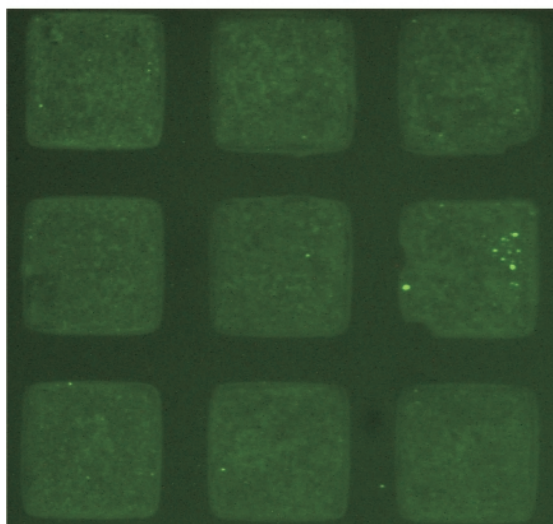
完成之微印台如圖 10 所示<sup>(14-15)</sup>。圖中右下方顯示四個不同設計之蛋白質微印台，而每一微印台可供應四種不同之蛋白質。左下圖則可清楚看見中央之蛋白質印台以及周邊之儲水區。蛋白質微印台之正面電子顯微鏡照片則顯示於左上方，可以清楚看見由體型微加工所完成之  $100\ \mu\text{m}$  深之蛋白質微印台。而儲水區之電子顯微鏡放大圖則顯示於右上方。整體儲水槽能供應之液量為  $1.361\ \mu\text{L}$ ，可完全滿足設計所需。



(a)



(b)



(c)

圖 8. 印台壓印結果：(a) 蛋白質溶液過多，(b) 蛋白質溶液過少，(c) 使用印台精確控制蛋白質量造成完整之壓印。

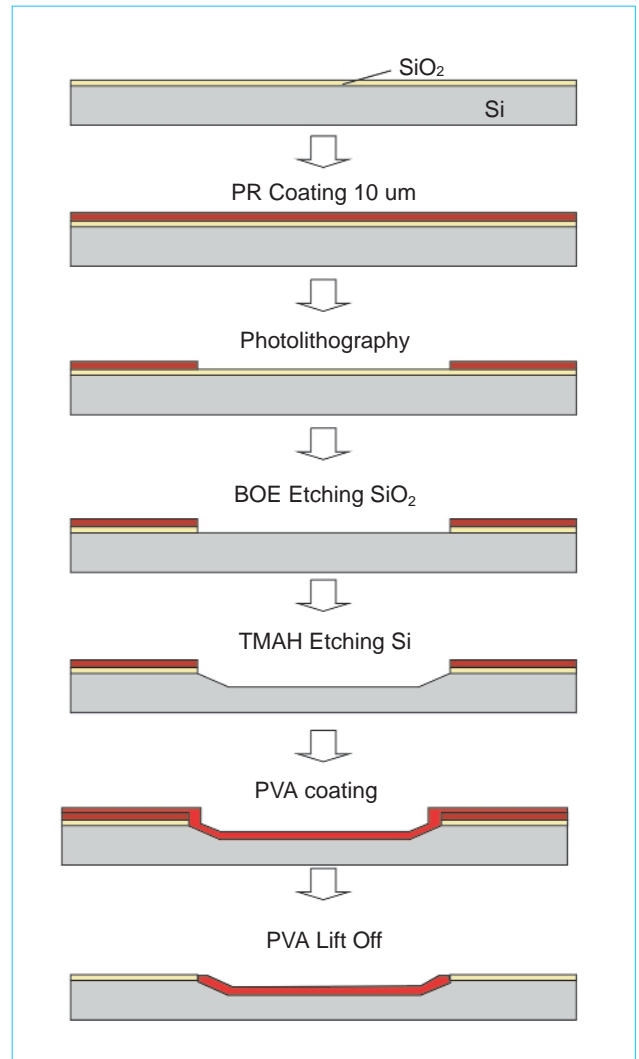


圖 9. 微印台詳細之製程流程圖。

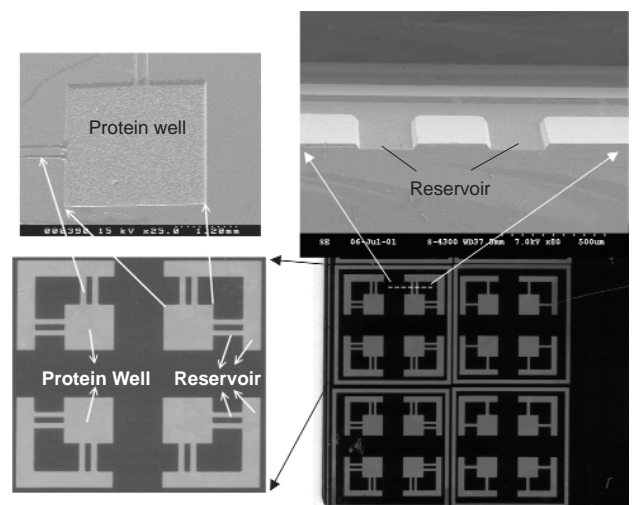
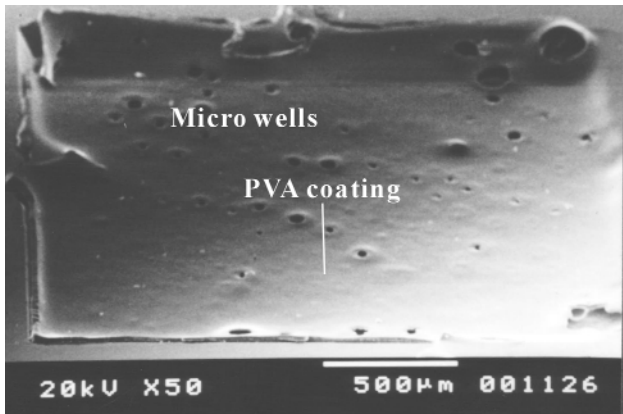
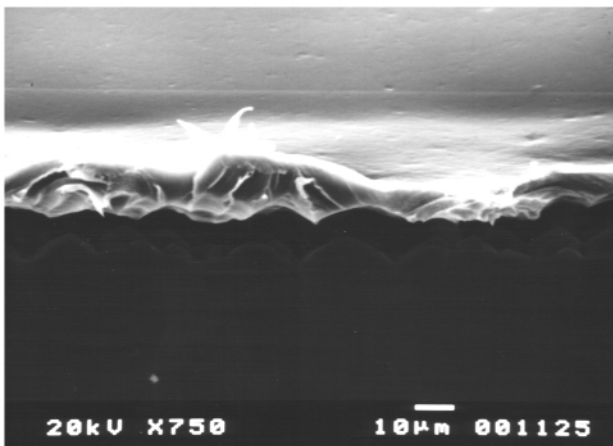


圖 10. 製造成功之微印台其正面圖，以及電子顯微鏡放大圖。



(a)



(b)

圖 11. 含有 PVA 薄膜的 (a) SEM 上視圖以及 (b) 橫切面照片，圖中白色部分為 PVA 薄膜。

蛋白質微印台上方，聚乙烯醇塗層之電子顯微鏡影像則顯示於圖 11<sup>(14)</sup>。由圖 11(b) 可以得知此蛋白質涵養層約為  $10\ \mu\text{m}$  厚，而由上視圖可見此蛋白質涵養層還算平整。此聚乙烯醇吸收蛋白質水溶液後將膨脹數倍，因此將表面之坑洞補平。使用此微印台供應微印章壓印之結果如圖 8(c) 所示，呈現均勻且大小控制良好之壓印結果，迥異於不使用印台之狀況。由此證實微印章與印台搭配使用之必要性。

#### 四、實驗結果與討論

使用此發展成功之沾印式微印系統，我們分別選擇了兩種蛋白質，以展示此壓印系統可同時壓印多種蛋白質之可能性。此兩種蛋白質為  $10\ \mu\text{g}/\mu\text{L}$

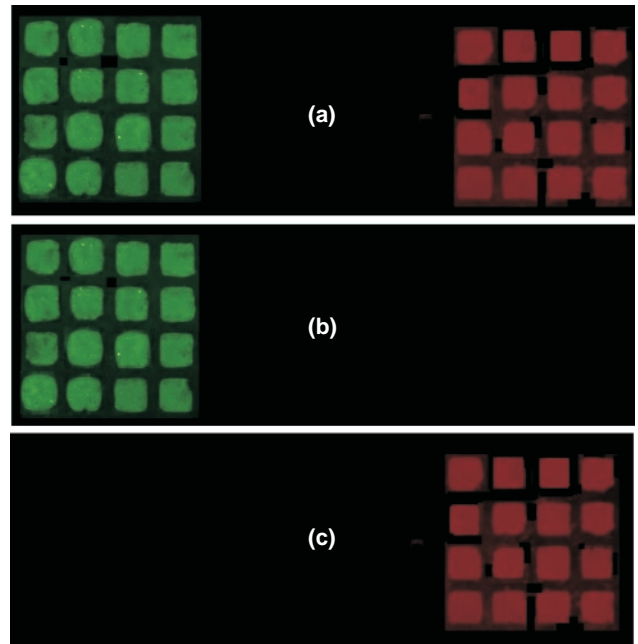


圖 12. 由 GenePix 4000B (Axon instruments) 激發得到的螢光影像，(a) Cy3 及 Cy5 同時激發之結果，(b) 只有 Cy3 被激發，(c) 只有 Cy5 被激發。

rabbit 及 mouse IgG (Sigma)，分別注入蛋白質印台之兩處。一邊尺寸  $350\ \mu\text{m}$  且間距  $100\ \mu\text{m}$  之  $4 \times 4$  微印章陣列則被選為此實驗壓印所用。微印陣列同時由印台兩處沾取不同之蛋白質後，直接壓印於已預先使用 APTS-BS3<sup>(2)</sup> 塗佈處理之載玻片，然後風乾半小時。之後則使用馬血清蛋白 (horse serum protein) 為阻擋層 (半小時)，用以阻擋未被蛋白質壓印之部份，以避免之後的抗體蛋白質與表面反應產生背景雜訊。為檢測蛋白質所壓印之位置及壓印特性，Cy3 螢光所修飾之 anti-rabbit IgG 以及 Cy5 螢光所修飾之 anti-mouse IgG (Pharmacia) 則同時滴入晶片上，以與特定之蛋白質產生鍵結反應。圖 12 顯示此一反應之結果。圖中螢光之激發及顯影所使用的為 Axon Instruments 公司所出之 GenePix 4000 掃描機。圖 12 顯示三種不同之掃描情況：(a) 為同時激發 Cy-3 和 Cy-5 螢光，(b) 只激發 Cy-3 螢光，(c) 只激發 Cy-5 螢光<sup>(15)</sup>。此一結果顯示相當乾淨且均勻之壓印，且蛋白質陣列間無相互污染之現象。對於蛋白質微陣列上，不同點間壓印點之大小，以及亮度之均勻程度，則顯示於圖 13<sup>(15)</sup>。其

壓印點之大小變化小於 7%，而亮度變化小於 5%。此一結果顯示沾印方式具有相當大之潛力可用於蛋白質微陣列壓印。

此外蛋白質之檢測過程中，有許多溶液沖洗之步驟，如何選用良好之蛋白質固定機制，以長時間定量固定蛋白質，而不於溶液沖洗過程掉落，亦為重要之課題。圖 14 顯示本研究所使用的四種不同蛋白質之固定方式<sup>(12-15)</sup>。圖 14(a) 為直接壓印於乾燥之商用 PVDF 膜，但經過一次水洗後，所有蛋白質及完全掉落，所以完全無法使用於蛋白質鍵結。圖 14(b) 則先將 PVDF 膜使用甲醇濕潤後，再壓印蛋白質檢體，最後並使用麗春紅 (Ponceau S) 顯影。因甲醇濕潤的關係，蛋白質溶液極易擴散，因此造成壓印影像大於原始之印章 50% 以上。圖 14(c) 則使用商用之凝膠片 (PhastGel<sup>®</sup>) 為固定蛋白質之載台，但因為凝膠三維結構緣故，壓印之蛋白質結果大於原印章 30% 以上，無法精確定量及定位。最後圖 14(d) 所顯示壓印結果乃使用本文前述之 SAMs (self assembled monolayers) 塗層 (APTS-BS3)，才得以完全成功，精確定量控制蛋白質之壓印於 7% 以內。而蛋白質含量經過 6 小時沖洗之

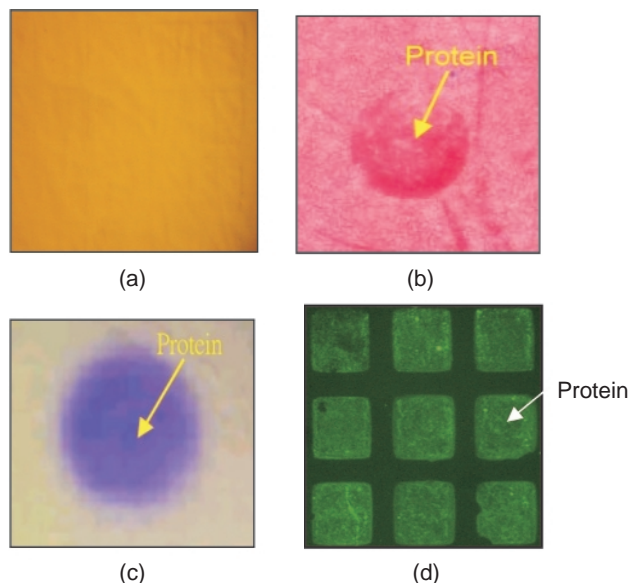


圖 14. 蛋白質壓印於不同之材料上，(a) 乾 PVDF 膜，(b) 甲醇濕潤之 PVDF 膜，(c) 商用凝膠 (PhastGel<sup>®</sup>)，(d) SAM 塗佈之載玻片 (APTS-BS3)。

結果則顯示於圖 15<sup>(12,14)</sup>。由圖上的曲線顯示出，在經過 6 小時的沖洗過程，蛋白質仍然可以保留有 75%，已足夠後續的分析與檢測。

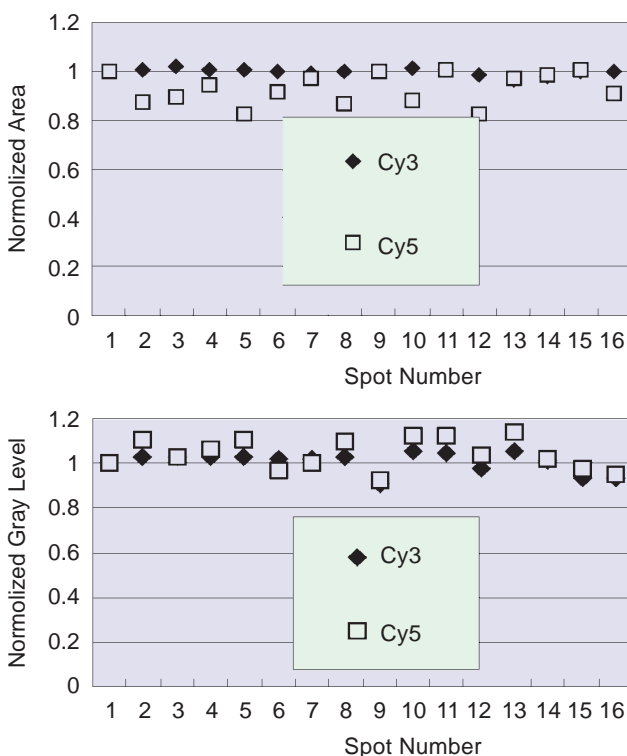


圖 13. 兩種蛋白質壓印後不同壓印點之亮度與面積。

## 五、結論

本研究已發展出一種新型沾印式蛋白質微陣列壓印系統，包含微印章陣列以及蛋白質微印台，用以將蛋白質微陣列精確定量，並固定於生醫晶片上，以為大量平行檢測之應用。此系統使用溫和之機械接觸，以及流體表面張力作用，將不同蛋白質之檢體，以定量方式吸附於微印之表面，然後平行大量的轉印於表面處理過之生醫檢測晶片，以為後續之檢測。其中所使用之蛋白質印台，不但可提供印章壓印時所需之定量蛋白質，更有儲存槽之設計，可涵養過多之蛋白質檢體，以平衡提供印台所需。由於壓印過程於短時間內結束 (少於數分鐘)，蛋白質檢體得以完整保存且定量精確。

本研究擁有極佳的擴展性，由目前  $5 \times 5$  之蛋白質陣列可進而擴展至  $100 \times 100$  以上。微印章與微印台已完全成功製造，且壓印實驗結果證實：此一壓印系統可壓印出壓印點之大小變化小於 7%，

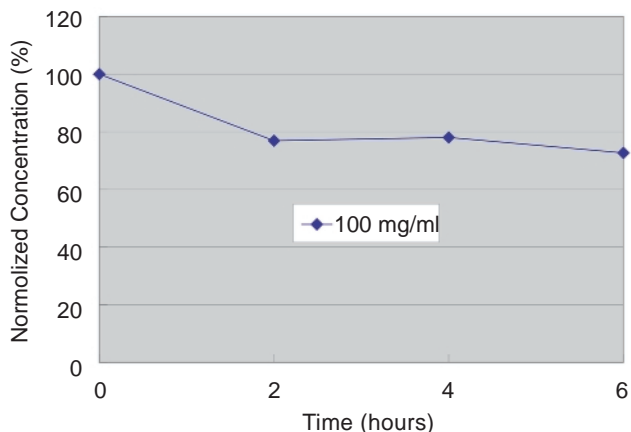


圖 15. 蛋白質經過水洗 6 小時之後的螢光強度。

而亮度變化小於 5% 的蛋白質微陣列晶片，且可同時使用於壓印不同之蛋白質微陣列。此微陣列晶片使用的材料價格低廉，且為半導體工業上常用的批次製程，可利用台灣成熟的半導體代工產業，量產成本低廉的可棄式晶片。此一新發展的生醫晶片不但能夠用於蛋白質的分析，也可以應用於 DNA 序列檢測、新藥品的篩選與研發，以及臨床診斷上。

## 誌謝

本研究承蒙國家衛生院國家型計畫 NSC89-2323-B-007-005, NSC90-2323-B-007-004) 大力支持，始得順利進行，在此特表感謝。研究期間國立清華大學化學工程系陳信龍教授提供 PVA 藥品相關知識，在此一併誌謝。

## 參考文獻

1. 許志模, *Science*, **9**, 720 (1999).
2. 張維根戀, *Science*, **9**, 716 (1999).
3. Dmitry Guschin, *et al.*, *Analytical Biochemistry*, **250**, 203 (1997).
4. J. F. Mooney, A. J. Hunt, J. R. McIntosh, C. A. Linberko, D. M. Walba, and C. T. Robers, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 12287 (1996).
5. A. S. Blawas and W. M. Reichert, *Biomaterials*, **19**, 595 (1998).
6. S. Nilsson, C. Lager, T. Laurell, and S. Bimbaum, *Analytical Chemistry*, **67** (17), 3051 (1995).
7. H. Gruhler, N. Hey, M. Nuller, S. Bekesi, M. Freygang, H. Sandmaier, and R. Zengerle, *ASME MEMS*, **1**, 413 (1999).
8. B. D. Heil, C. Steinert, H. Sandmaier, and R. Zengrle, *IEEE MEMS'02*, Las Vegas, Nevada, USA, pp.706-709, Jan. 20-24 (2002).
9. B. D. Martin, Bruce P. Gaber, C. H. Patterson, and D. C. Turner, *Langmuir*, **14** (15), 3971 (1998).
10. L. Libioulle, A. Bietsch, H. Schmid, B. Michel, and E. Delamarche, *Langmuir*, **15** (2), 300 (1999).
11. Y. Hia, J. Tien, D. Qin, and G. M. Whitesides, *Langmuir*, **12** (16), 4033 (1996).
12. S. C. Lin, F. G. Tseng, H. M. Huang, C. Y. Huang, and C. C. Chieng, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, **371** (2), 202 (2001).
13. F. G. Tseng, H. M. Huang, C. S. Liu, C. Y. Huang, S. C. Lin, and C. C. Chieng, *MEMS' 2000, MEMS-vol. 2, ASME IMECE 2000*, 59, Florida, USA, Nov. 5-10 (2000).
14. F. G. Tseng, S. C. Lin, H. M. Huang, C. Y. Huang, and C. C. Chieng, "Protein Micro Arrays Immobilized By  $\mu$ -Stamps And Protein Wells On Phastgel<sup>®</sup> Pad", paper accepted by *Sensors and Actuators B* (2002).
15. F. G. Tseng, H. M. Huang, C. Y. Huang, S. C. Lin, and C. C. Chieng, "Dual-Protein Micro Arrays Deposited By  $\mu$ -Stamps And  $\mu$ -Wells",  *$\mu$ TAS2001*, Monterey, CA, USA, Oct. 21-25, pp. 591-592 (2001).