

沾筆式奈米微影技術在感測器上的應用

Dip-Pen Nanolithography for Sensor Applications

呂慧歆、葉嘉仁、林啟萬

Hui-Hsin Lu, Chia-Jen Yeh, Chii-Wann Lin

沾筆式奈米微影技術 (dip-pen nanolithography, DPN) 是利用原子力顯微鏡的探針進行奈米製程。它的獨特性在於結合原子力顯微鏡在空間上高解析度與高定位的特點，以及將多種軟性物質直接寫在不同的基材上並且得到小於一百奈米以下的圖案。由於這些軟性材料的分子是透過毛細現象在基材表面形成自組裝層，因此 DPN 廣泛用於各式各樣的感測應用上。本文將介紹利用 DPN 製作的奈米感測器於生物分子與氣體感測的應用。

Dip-pen nanolithography (DPN) is an atomic force microscope (AFM)-based nanofabrication. The unique characteristic of DPN for obtaining the nanopatterns with feature size of sub-100 nm is to combine the high resolution and spatial registry of AFM for direct-writing of soft-materials onto various substrates. Because these molecules of soft materials are forming a self-assemble layer on substrate surface by capillary transport, DPN has been widely applied on different sensor applications. Here we introduce the nanosensor made by DPN and apply to gas and biomolecule sensing.

一、前言

G. Binnig 在 1982 年發明掃描穿隧顯微鏡 (scanning tunneling microscopy, STM)，可以對導電的樣本量測，也在 1985 年發明原子力顯微鏡 (atomic force microscope, AFM)，其樣本不受限於材質且無需真空環境，兩者的發明帶動了一連串在奈米尺度下的成像與衍生奈米製程的相關技術與應用⁽¹⁾。一般而言，探針式奈米製程技術 (tip-based nanofabrication) 包括：nanografting、nanoshaving、anodic oxidation 與 millipede 是屬於能量的傳遞所造成的奈米圖案；另一種直接用探針

沾取軟性材料並藉由毛細現象傳送到基材表面形成圖案，此即為 1999 年美國西北大學 C. Mirkin 團隊於 Science 期刊發表的沾筆式奈米微影 (dip-pen nanolithography, DPN) 技術，開啟了另一種探針式奈米製程技術相關應用^(2,3)。

在眾多的奈米製造技術中，探針式奈米製造技術基於 AFM 掃描的優點，所以具有高解析度與定位性，可以在指定的區域製作出小於 100 nm 的圖案。又因為是直接移動探針，並不需要額外製作光罩進行曝光顯影等多重步驟。近年來，隨著相關技術的不斷發展，陣列式多支探針可同時平行地製作

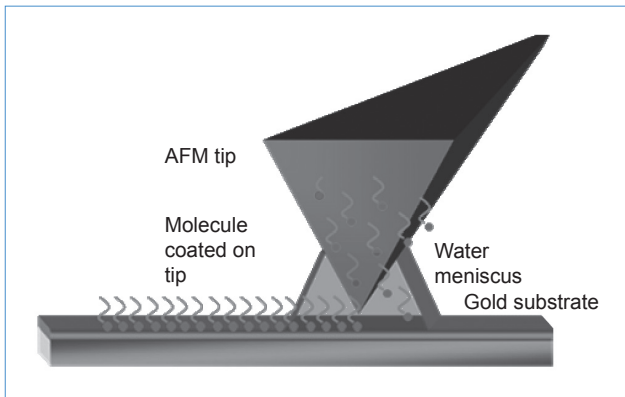


圖 1. DPN 的原理示意圖。AFM 的針尖透過水膜提供的毛細力將材料分子在基材表面形成一層自組裝分子。

大面積的奈米圖案，使得探針式奈米製造技術相較於其他奈米製程技術，像是奈米壓印、電子束微影等，具有更容易操作、省時且低成本之優點。使用 DPN 的奈米製程，除了具備與探針式奈米製程技術相同的優點外，選擇製程的材料與放置基材更具多樣性，特別是在生物感測器方面的應用，例如：DPN 可以選擇任何尾端修飾硫醇的分子，像是長碳鏈或是 DNA 序列，直接在金表面製作圖案；而 anodic oxidation 的技術只能在金屬或半導體材料上形成氧化物，或者使用電子流曝光塗佈於基材上的光阻，其需限定基材的種類或是圖案的材料，往往需要再進一步處理才能使用在感測相關的應用上。目前 DPN 常用的軟性材料包括：各式長碳鏈硫醇、DNA 序列、蛋白質、導電高分子、螢光染劑等，基材可以是金、矽、玻璃、雲母或是其他已經作過特殊處理的基材。這使得 DPN 的奈米圖案製程應用更為廣泛，尤其在生物感測方面，在直接作完圖案後即可進行特定生物分子的偵測。

二、原理

DPN 的奈米製程主要是以 AFM 的接觸式 (contact mode) 操作模式為主。當探針接觸到基材表面，空氣中的水分子會在針尖與基材表面針尖所接觸的面積形成一水膜，探針上預先沾取的軟性化學材料會順著水膜由探針端傳送到基材表面形成自

組裝分子層 (self-assemble monolayer, SAM)，如圖 1 所示 (附註 1)。藉由移動探針，分子因為毛細現象從探針端到達基材表面，就能做出我們預設的圖案。一般而言，AFM 探針的尺寸小於 25 nm，所以由此方法所做出的圖案在溫濕度搭配得宜的狀況下，就會直接是小於 100 nm 的圖案。

影響 DPN 製程的因素大致如下。(1) 探針的大小：目前市面上商品化探針具有多樣的選擇，越細的探針能提供越細緻的圖案。(2) 製程環境的溫濕度：環境的溫度，對於親水性的軟性材料會隨著溫度升高而得到較大的圖案；對於疏水性的材料，效果並不顯著。另外，濕度的高低會直接影響水膜的大小，所以濕度越大，圖案就越大⁽⁴⁾。(3) 軟性材料與基材的作用力：如果基材與軟性材料具有親和力，例如硫醇鍵與金表面，圖案就會在基材平面成圓形擴散；反之，若是沒有任何作用力，會得到不規則的圖案⁽⁵⁾。(4) 基材平坦度：基材的平坦度也是奈米製程的重要關鍵，尤其在 DPN。一般用做 DPN 製程的分子若屬於小分子 (例如：MHA (mercaptohexadecanoic acid) 與 ODT (octadecanethiol))，它們在金基材上形成圖案的高度大多未能在 topography (AFM 其中一種成像，顯示樣本表面高度差與特徵大小) 成像，僅能在 lateral force microscopy (AFM 另中一種成像，顯示表面材質的差異) 成像，因此基材的粗糙度高於這些分子，就很難觀察到製程的結果。(5) 探針移動速度：此部分對於會在基材表面形成擴散的材料效果更為顯著。如果是圓點狀的圖案，則以計算探針在表面不同停留時間 (dwell time) 所造成的不同點面積；如果是直線圖案，則以移動探針的速度造成不同的線寬，進而計算此材料在基材表面的擴散係數，做為此次使用 DPN 製作圖案設定的參數，DPN 軟體系統將會依據該次實驗的溫濕度得到的擴散係數，計算製作我們所設計的圖案所需要的时间並進行製程。

三、DPN 於感測器相關應用

製作超平金的方法係參考 Gupta 所報告的方法，在撕開的雲母片上鍍 150 nm 的金膜⁽⁶⁾，再以

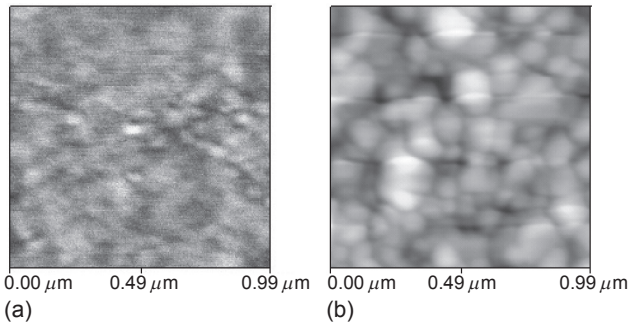


圖 2. (a) 超平金 AFM 影像，表面粗糙度為 0.14 nm；(b) 同樣製程條件下，直接鍍於矽晶圓表面的金膜 AFM 影像，粗糙度為 3.39 nm (contact mode, 2 Hz)。

小塊的蓋玻片或是矽晶圓沾取 epoxy 黏在金膜上，烤乾 epoxy 後，要使用時，再將蓋玻片或矽晶圓自雲母片撕開，金膜會黏在其上，即可使用含有硫醇鍵的材料進行 DPN 製程。超平金 AFM 影像如圖 2(a) 所示。另外，同時也準備在相同製程條件下鍍於矽晶圓上的金膜作為比較，結果顯示超平金的表面粗糙度為 0.14 nm，而直接鍍於矽晶圓表面粗糙度為 3 nm 以上。超平金的製作建議全程皆在無塵室進行，以減低空氣中懸浮粒子對樣本的影響。圖 3 為使用 MHA (過飽和溶於 acetonitrile)，於溫度 25 °C 與相對濕度 50% 下使用不同半徑的探針製作的點陣列，圖 3(a) 是探針半徑為 20 nm，點的大小為 50 nm，陣列為在 1 平方微米內有 10 × 10 個點；圖 3(b) 為使用半徑為 7 nm 的針尖圖樣也沾取 MHA 進行的 3 × 3 點陣列，點的直徑為 34 nm。MHA 一端為硫醇鍵固定於金表面，另一端為羧基經過活化與處理後即可與蛋白質分子進行共價鍵結作為後續分子辨識結合之生物應用。

到目前為止，已有多個團隊進行 DPN 於生物分子感測的應用，以下的介紹將針對蛋白質⁽⁶⁾、DNA⁽⁷⁾、分子馬達⁽⁸⁾與病毒⁽⁹⁾的相關應用。

1. 蛋白質奈米陣列

蛋白質陣列晶片以蛋白質 (如抗原 (antigen)、抗體 (antibody)) 為生物探針，整齊地排列在晶片上進行抗原-抗體專一性免疫反應，用以檢測生物分子交互作用之資訊，在蛋白質體學與細胞學的

分子動力學中扮演重要角色。傳統機械手臂點針式會遭遇檢測點體積差異過大與無法定量等問題。用 DPN 作的蛋白質微陣列晶片，點體積均勻性與微量性明顯優於目前所使用的點針設備。利用 DPN 做蛋白質陣列⁽⁷⁾，選用 MHA 當作墨水材料、金膜當作基材，使用 DPN 在金膜表面上點出微陣列，再用 11-mercaptoundecyl- tri(ethylene glycol) 鈍化處理金膜表面非 MHA 微陣列的區域，再將基材泡入含有標的蛋白質分子溶液中，目標蛋白質分子會與用 DPN 作在金膜上的 MHA 分子結合，即完成蛋白質微陣列晶片的製作，如圖 4 所示。將抗原蛋白質分子固定在金膜表面上之後，用螢光標記的抗體分子去結合，最後在螢光顯微鏡下得到點陣列的圖案，就可以檢測蛋白質的種類。另外，使用 AFM 掃描固定於奈米陣列表面的分子高度差也可以得到檢測分子有無結合的依據，達到非標定螢光的檢測應用目標。

2. DNA 應用

DNA 陣列晶片利用雜合反應 (hybridization) 產生雙股 DNA 的互補性結合，再利用標識物，例如：可見光顯色方式 (colorimetric development method)、螢光顯色方式 (fluorescent method)、放射物質、酵素呈色等方法，配合影像掃描與分析以進行 DNA 樣本之檢驗。Chung 等人研究應用 DPN 於微小分子的電性與化學特徵結構，其目標在發展高密度感測器以進行多種分析。其中之一是利用

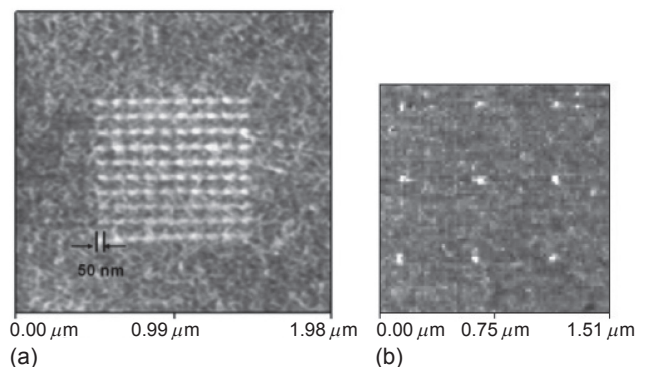


圖 3. (a) 用半徑 20 nm 的探針製作 MHA 的點陣列 (點直徑 50 nm)；(b) 半徑為 7 nm 的探針製作的 MHA 點陣列 (直徑為 34 nm)。

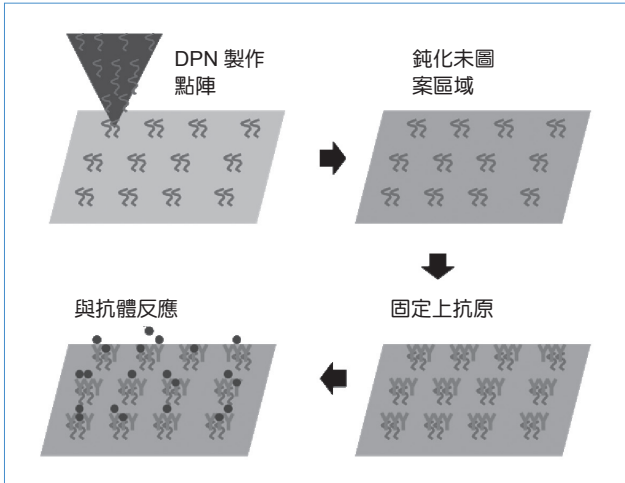


圖 4. DPN 應用於固定蛋白質微陣列之示意圖。

DNA 的鹼基互補配對原理研究 DNA 分子⁽⁸⁾。他們用電子束微影技術 (electron-beam lithography, EBL) 所製作的微電極，在兩微電極間，利用 DPN 高定位特性將特定序列 DNA 分子 (已修飾硫醇端) 直接書寫在電極末端上，用配對互補的 DNA 序列先對金奈米粒子進行修飾後，再和之前用 DPN 寫上去的 DNA 分子進行鹼基互補配對作用，待兩電極之間的 DNA 製程完成後，量取其電流對電壓曲線，研究此奈米電路的特性。DPN 可望應用在 DNA 定序、生物感測及疾病診斷方面，協助製造出更快、更有效的裝置。

3. 分子馬達應用

生物細胞本身就是一個自動機器，生物細胞利用能量轉換的過程來達成它們自己在細胞內的工作，如果能夠有效轉換生物細胞所產生的能量，就能達到以生物分子產生之能量作為馬達的目標。生物分子馬達的目標是將生物系統產生的化學能 (如葡萄糖或 ATP) 轉為機械能、電能或有效地轉換成化學能，作為機械輸出所使用的燃料。細菌細胞黏附在基材表面上，靠的是靜電力、氫鍵作用力或凡得瓦力在細胞與基材分子相互作用。應用 DPN 作出生物分子微陣列⁽⁹⁾，在經由 PLL (poly-L-lysine，一種聚合物，可與細胞膜中的成分發生靜電吸附作用) 修飾過的 MHA 分子層上，用探針建構出在 *E. coli* 細菌細胞 (*E. coli* bacterial cell) 的點陣列，由

DPN 控制微陣列的點大小，研究細菌細胞對於單一點體積大小與細胞黏附度的影響。然後經由螢光物質標定特定細胞，確認細菌細胞的存活度，因活體細胞才會產生化學能，所以高存活度也是努力的方向之一。DPN 所製作的仿生結構模板，提供讓細菌細胞依特定方位依附在基材表面的微陣列，讓研究者有機會利用這些細菌細胞所產生的能量進行分子馬達的研究。

4. 病毒(chemical templates/metal-ion-based)

微陣列技術的應用讓藥學和生物學有重大的進展，這種小型化的技術也提供觀察在奈米尺度下的微觀生物實體之能力，如控制方向和定位，DPN 被視為用來研究單一病毒分子的理想工具。用 DPN 製作微陣列的技術結合病毒分子其對於 Zn^{2+} 離子有親和力的特點，在此以固定煙草花葉病毒顆粒的微陣列作為例子⁽¹⁰⁾。因煙草花葉病毒 (tobacco mosaic virus, TMV) 的管狀結構 (長度為 300 nm，直徑 18 nm)、大小穩定和良好的特徵表面與生物辨別性。在金膜表面上，用 DPN 寫上 MHA 陣列，接著用 PEG-SH (11-thioundecyl-penta(ethyleneglycol)) 鈍化金膜表面上沒有 MHA 的部分，再浸泡至 $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 溶液中使 Zn^{2+} 離子固定在 MHA 之上，因為煙草花葉病毒分子對於 Zn^{2+} 離子有結合力，藉由這種結合力讓病毒分子依特定的位置與方位排列成微陣列，讓研究者有機會進一步分析病毒的行為。

四、其他的應用與相關發展

DPN 所製作的奈米圖案不受限於特定材料，在感測相關的應用裡可以直接製作用於感測的奈米導線或奈米點陣列等圖案，而不需要額外的黃光製程手續把材料侷限在特定的維度裡。我們在奈米導線陣列於氣體感測的研究裡，首先使用兩種導電高分子 polypyrrole 與 PEDOT:PSS (poly(3,4-ethylenedioxythiophene):poly(styrenesulfonate)) 做為製作奈米導線的材料，用探針沾取濃縮後的 polypyrrole 與 PEDOT:PSS 溶液於酸洗後的矽晶圓表面製作

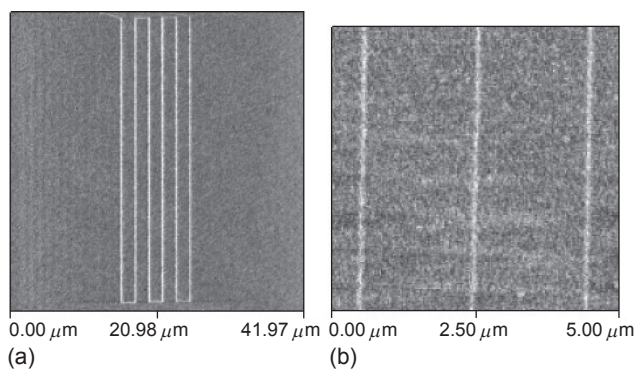


圖 5. 使用 DPN 製作 (a) polypyrrole 與 (b) PEDOT:PSS 的奈米導線於酸洗後的矽晶圓表面 (contact mode, 4 Hz)。

奈米導線。如圖 5(a) 是 polypyrrole 的奈米導線陣列，線長 $40\ \mu\text{m}$ 、寬 $500\ \text{nm}$ ，結果顯示 DPN 在微米的尺度仍然可以得到整齊的圖案；圖 5(b) 是 PEDOT:PSS 的奈米導線陣列，線寬為 $87\ \text{nm}$ ，由此結果顯示使用 DPN 所製作奈米圖案從一百微米到一百奈米以下的範圍，仍然可以維持圖案的整齊與一致性。在實際製作奈米氣體感測器的實驗裡，於事先製作完成的微電極 (附註 2) 上製作奈米導線陣列，如圖 6 所示，金電極先用傳統黃光製程製作於鍍有 $500\ \text{nm}$ 厚度的二氧化矽之矽晶圓基材上，電極的寬度為 $55\ \mu\text{m}$ 。在 DPN 製程前，使用酸洗 (piranha solution) 增加靜電附着力。圖 6(a) 為 34 條奈米導線的 AFM 掃描 (contact mode, 2 Hz) 影像，顯示量測之導線寬度為 $300\ \text{nm}$ ，間距是 $2\ \mu\text{m}$ 。圖 6(b) 是在 DPN 製作完導線後，量測對 $100\ \text{ppm}$ 一

氧化氮的動態反應。相較於同樣使用導電高分子為感測材料的氣體實驗，因為奈米導線極薄且體積少 (相較於相同材料用 spin-coating 薄膜或 dip-coating 的厚膜)，所以具有良好的吸脫附效果，此奈米氣體感測器在動態的氣體量測中只需 10–15 分鐘就可以把表面吸附的雜質氣體帶走，進行特定氣體感測。在經過多次量測後，仍然可以回到當初的基準訊號，而不會有殘留的問題，進而影響定量的效果。另外，對於其他進階奈米製程相關的應用，也可以利用 DPN 製作的軟性材料圖案當作遮罩直接進行蝕刻，得到想要的奈米結構。

近年來，DPN 已由原先 AFM 的原理應用單支探針製作圖案到陸續提出一維多支探針 (2 支、11 支到 26 支) 到二維五萬五千支製程圖案探針陣列⁽¹¹⁾，使得其可大量與大面積製造微奈米陣列，不再屬於連續 (series) 非平行的奈米製造技術。由於在生物相關的感測，DPN 直接製作生物分子的奈米圖案使得它在此領域具有相當大的應用潛力，所以最近也發展多製程探針陣列與結合螢光顯微鏡的新型製程機台，使之在生物分子檢測上的應用能夠更加便利。

五、結語

本文主要介紹 DPN 在製作微奈米感測器的相關應用。除了各式各樣生物醫學感測的應用外，我們也將 DPN 所製作的導電高分子奈米導線進行氣體感測的相關研究。DPN 是架構在原子力顯微鏡

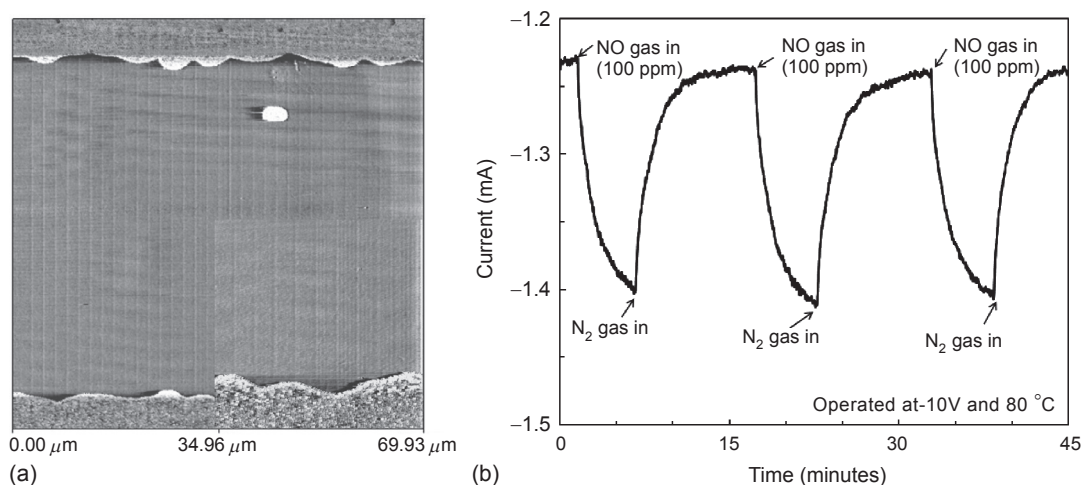


圖 6. (a) PEDOT:PSS 奈米導線陣列於金電極之間 (圖的上下方)；(b) 量測 $100\ \text{ppm}$ 一氧化氮氣體的動態感測圖。

之上，由機械、電子、控制、光學、物理與軟硬體等領域技術所構成的新技術，屬於一種高精密的微機電儀器，可以用奈米層級的解析度來製作微結構。此技術在 1999 年由西北大學 Mirkin 團隊發表後，已經準備邁入第二個十年的關鍵期。由上文從背景、原理、應用到最新發展的脈絡來看，可期待 DPN 在奈米科技快速發展的時代，更廣泛的應用到奈米電子學、生物分子學、奈米材料各領域的前瞻探索。

附註

1. 此圖係參考參考文獻 2 之原理示意圖重新繪製。
2. 感謝國立臺灣大學化學工程研究所何國川教授提供氣體感測之微電極晶片。

參考文獻

1. H. T. Soh, K. W. Guarini, and C. F. Quate, *Scanning Probe Lithography*, Springer, Norwell (2001).
2. R. D. Piner, J. Zhu, F. Xu, S. Hong, and C. A. Mirkin, *Science*, **283**, 661 (1999).
3. K. Salaita, Y. Wang, and C. A. Mirkin, *Nat Nano*, **2**, 145 (2007).
4. S. Rozhok, R. Piner, and C. A. Mirkin, *The Journal of Physical Chemistry B*, **107**, 751 (2002).
5. P. E. Sheehan and L. J. Whitman, *Physical Review Letters*, **88**, 156104 (2002).
6. P. Gupta, K. Loos, A. Korniaikov, C. Spagnoli, M. Cowman, and A. Ulman, *Angewandte Chemie International Edition*, **43**, 520 (2004).
7. K.-B. Lee, J.-H. Lim, and C. A. Mirkin, *Journal of the American Chemical Society*, **125**, 5588 (2003).
8. S.-W. Chung, D. Ginger, M. Morales, Z. Zhang, V. Chandrasekhar, M. Ratner, and C. Mirkin, *Small*, **1**, 64 (2005).
9. S. Rozhok, C.-F. Shen, P.-L. Littler, Z. Fan, C. Liu, C. Mirkin, and R. Holz, *Small*, **1**, 445 (2005).
10. R. A. Vega, D. Maspoeh, K. Salaita, and C. A. Mirkin, *Angewandte Chemie International Edition*, **44**, 6013 (2005).
11. H. Zhang, N. Amro, S. Disawal, R. Elghanian, R. Shile, and J. Fragala, *Small*, **3**, 81 (2007).



呂慧歆小姐為國立臺灣大學電機工程學系博士，現為臺灣大學醫學工程研究所博士後研究。

Hui-Hsin Lu received her Ph.D. in electrical engineering from National Taiwan University. She is currently postdoctoral fellow in the Institute of Biomedical Engineering at National Taiwan University.



葉嘉仁先生為國立清華大學動力機械工程學系學士，現為臺灣大學醫學工程研究所碩士班學生。

Chia-Jen Yeh received his B.S. in power mechanical engineering from National Tsing Hua University. He is currently a M.S. student in the Institute of Biomedical Engineering at National Taiwan University.



林啟萬先生為美國凱薩西儲大學醫學工程研究所博士，現為國立臺灣大學醫學工程研究所教授。

Chii-Wann Lin received his Ph.D. in biomedical engineering from Case Western Reserve University, USA. He is currently a professor in the Institute of Biomedical Engineering at National Taiwan University.