

PDMS 機械性質檢測、力學模型建立與其在細胞力學方面的應用

Modeling and Characterization of Polydimethylsiloxane (PDMS) Pillar Arrays for Biological Applications

廖彥鳴、歐廣順、I-kuan Lin、陳國聲

Yen-Ming Liao, Kuang-Shun Ou, I-Kuan Lin, Kuo-Shen Chen

聚二甲基矽氧烷是微機電製程中之重要材料，廣泛地應用於奈米壓印以及生醫檢測等方面。藉由該材料所構建之微柱陣列的變形來量測及反推估細胞成長時與基材間之作用力，是近年來相當受到重視的生醫檢測技術之一。該方法首先藉由量測微柱之變形，接著以材料力學之懸臂樑公式，將所量測之變形量轉成作用力。然而，過去的研究多將聚二甲基矽氧烷視為線性彈性材料，並且利用長樑理論下之材料力學公式進行轉換。由於聚二甲基矽氧烷屬黏彈材料，而一般微柱陣列之寬高比又遠小於長樑公式之可適用範圍，這讓我們相信目前通用之轉換模型存在著相當大的誤差。因此，發展一套較精確之轉換模型有其必要性。本文同時從材料測試與分析模擬兩方向著手，分別對於聚二甲基矽氧烷於長尺度與微尺度下進行鬆弛與動態實驗以及相關之非線性有限元素分析，並實際製作微柱陣列進行實驗、模擬交叉比對與驗證，最後獲得一改良形變至作用力的模型。相信對評估細胞成長之作用力有相當的貢獻。

The mechanical interaction force between cells and their neighboring extracellular matrix is believed to be very important in various physiological processes and which can be measured by soft material probes. Polydimethylsiloxane (PDMS) is an important polymeric material widely used in bio-MEMS devices such as micropillar arrays for cellular mechanical force measurements. The accuracy of such a measurement relies on choosing an appropriate material constitutive model for converting the measured structural deformations into corresponding reaction forces. However, although PDMS is a well-known viscoelastic material, many researchers in the past have treated it as a linear elastic material and employed the simple cantilever beam equation to calculate the force from observed deflection, which could result in errors of cellular traction force interpretation. In this paper, the mechanical properties of PDMS were characterized by using uniaxial compression, dynamic mechanical analysis, and nanoindentation tests in both macro- and micro- scales, as well as finite element analysis. A generalized Maxwell model with the use of two exponential terms was used to emulate the mechanical behavior of PDMS at room temperature and the subsequent nanoindentation characterizations. After we found the viscoelastic constitutive law of PDMS, we used it to develop a more accurate model for converting deflection data to cellular traction forces. The results indicate that the linear cantilever beam model could significantly overestimate the cellular forces. Furthermore, in situ cellular traction force evolutions of cardiac myocytes were demonstrated by using this new conversion model. The results presented by this paper are believed to be useful for biologists who are interpreting similar physiological processes.

一、前言

細胞與周邊細胞外基質 (extracellular matrix) 彼此間之作用，長久以來被認為在一些基本的細胞生理過程，如細胞成長 (growth)、分裂 (division)、凋亡 (apoptosis) 以及移動 (migration)，扮演著重要的角色。因此如何在活體細胞成長過程中將此作用力準確地量出，一直是一個重要的研究主題。然而，細胞力大約僅在 10^{-6} 至 10^{-12} 牛頓之間，感測器本身之尺度限制、訊號解析度及生物相容問題等，使得此量測相當困難⁽¹⁻⁴⁾。近年來由於生醫微機電技術之發展，利用微製程技術製作微型感測器技術已然成熟。藉由觀測細胞所附著之軟性材料的變形，可間接由固體力學推估出作用力。其中，最受重視的軟性材料為聚二甲基矽氧烷 (polydimethylsiloxane, PDMS)，PDMS 為一高分子聚合物，為透明無色的軟性材料，廣泛地應用於生醫微機電元件或是軟微影 (soft lithography) 製程⁽⁵⁾。

在細胞力檢測應用方面，PDMS常被用來製作微柱陣列結構 (micro-pillar arrays, MPA)⁽⁶⁾，如圖 1(a) 所示，將細胞培植於 MPA 之上，細胞之生長、延展或是移動皆會使柱狀結構產生變位，如圖 1(b) 所示，藉此得到細胞力。其原理是利用基礎材料力學之樑理論，假設 MPA 為線性彈性材料，藉由量測柱狀結構之變位與已知幾何、材料性質，求得 MPA 所受之細胞作用力。

由以上可知，就細胞力量測而言，有兩個重要的關鍵。其一是如何準確地量出 MPA 的變形，其二則是如何尋求一個合理變形與作用力間之轉換模型。就前者而言，目前許多光學量測技術，如數位影像相關 (digital image correlation, DIC) 技術、雲紋干涉 (moire)，甚至是利用高倍率顯微鏡加上影像處理，均可獲致相當成功之量測⁽⁶⁻⁸⁾。而在模型方面，大部分研究均是將 PDMS MPA 當成是一群懸臂樑⁽⁹⁻¹¹⁾，然後沿用傳統之懸臂樑公式⁽¹²⁾，將其彎矩變形 (bending deflection) x 轉換成一作用力 F 。即：

$$F = \frac{3EI}{L^3}x \quad (1)$$

其中 L 與 I 分別為微柱長度與慣性矩， E 為微柱材料之楊氏係數。然而，此方式存在兩個令人詬病的問題。其一，傳統懸臂樑公式忽略剪力效應，係適用於長樑的情況，然而一般微製程技術製作出之 MPA，其寬高比 (aspect ratio) 均無法達到長樑的標準，因此該公式預期將引起相當程度的誤差。其二，PDMS 為黏彈性材料，其機械性質將會隨著時間與施載頻率以及鬆弛時間而變化，而一般在應用時僅以彈性行為視之，盲目套用的結果亦可能造成可觀的誤差⁽¹³⁻²⁰⁾。就第一項而言，Lavan 等人試圖以非線性有限元素分析，找出修正模型⁽²¹⁾。而本文則是更進一步藉由對 PDMS 進行壓痕、應力鬆弛、DMA (dynamic mechanical analysis) 以及奈米壓痕測試，建立 PDMS 之黏彈模型。接著進行非線性有限元素分析，藉以進一步修正原本之變形—作用力轉換模型。並將結果以圖表方式表現，以提供相關應用參考。

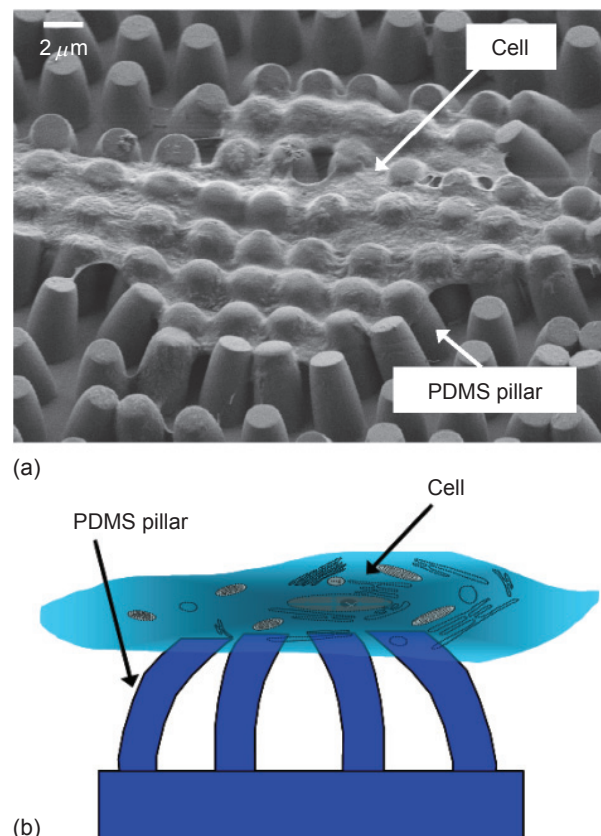


圖 1. (a) 細胞培植於 MPA 上之實體照片，(b) 細胞培植於 MPA 上之示意圖⁽²²⁾。

二、試片製作與測試計畫

為了達成上述目標，本研究首先將針對常尺度 (conventional scale) 下之 PDMS 進行準靜態之壓

擠試驗 (punch test)、應力鬆弛 (relaxtion) 測試以及 dynamic mechanical analysis (DMA) 測試。藉由上述三項測試結果，求取 PDMS 之彈性性質，並基於廣義 Maxwell 模型，構建 PDMS 之黏彈組成律 (constitutive law)。接著以奈米壓痕系統測試 PDMS 於微小尺度時之機械行為。在此同時，我們也發展奈米壓痕有限元素分析，納入藉由常尺度測試所獲取之材料性質，可以比較及驗證該組成率於微小尺度下 PDMS 之合理性。接著進行 MPA 之彎矩測試，測試結果亦與相對應的有限元素分析進行比對。待確定無誤後，則可藉由有限元素模擬發展出修正的變形－作用力轉換關係，整體研究流程如圖 2 所示。

首先進行試片製作，如圖 3 所示，依不同測試需要設計三種試片。第一種試片為塊狀，用於常尺度機械性質檢測；第二種為薄膜狀，用以進行奈米壓痕測試；第三種試片則是藉翻印 SU-8 母模而成之 MPA，詳細的製作過程可參考文獻 22-25。

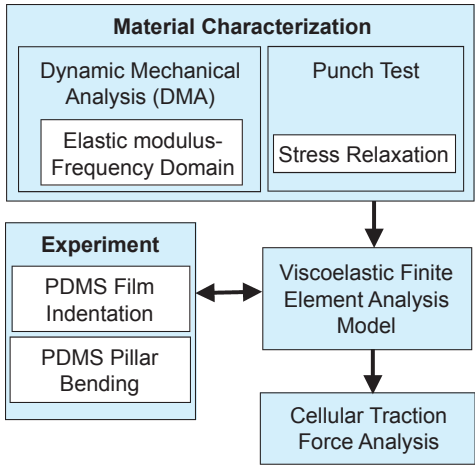


圖 2. 本研究的流程圖。

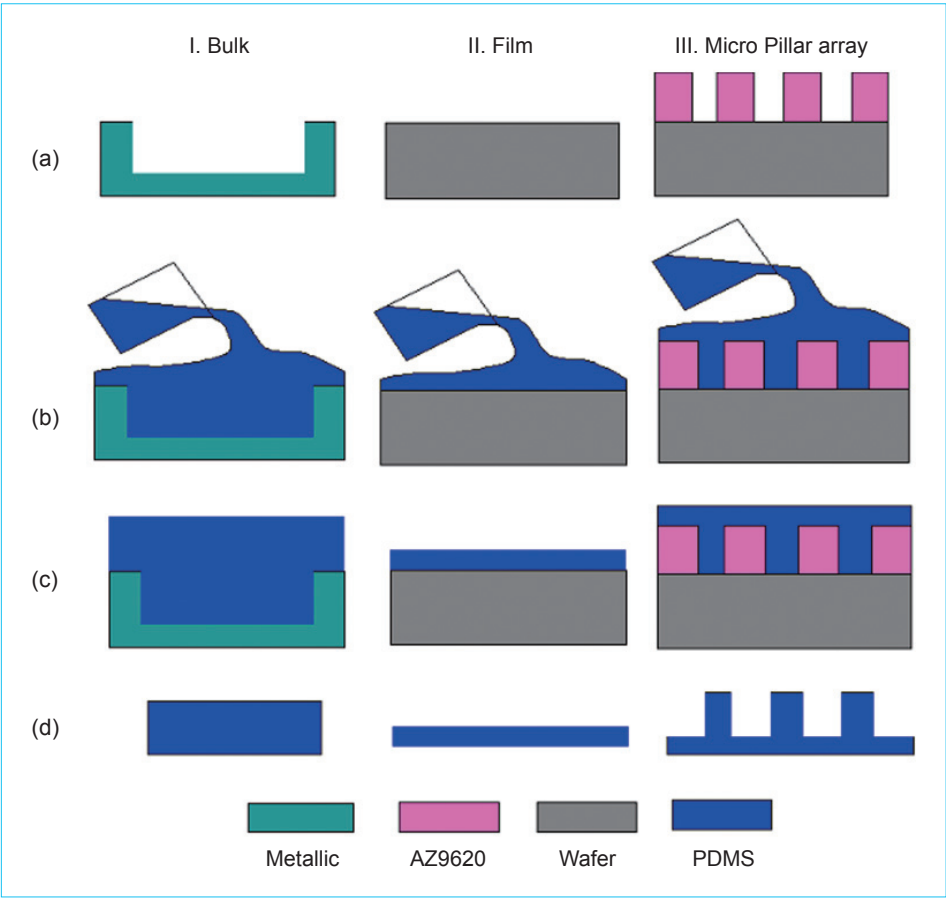


圖 3. PDMS 試片製作流程示意圖。

三、PDMS 巨觀黏彈性質檢測與組成律之建立

在材料測試方面，首先進行長尺度 PDMS 機械性質檢測。本實驗主要使用自行設計與製作之 punch tester (如圖 4(a) 所示) 與 DMA 測試系統進行實驗 (如圖 4(b) 所示)。首先，藉由 punch tester 可獲得壓深與施力間之關係 (如圖 5(a) 所示)。藉由接觸力學分析以及有限元素的模擬，可獲得 PDMS 之彈性模數約為 1.37 MPa。接著利用該系統進行應力鬆弛測試，其實驗結果如圖 5(b) 所示。另一方面，也藉由 DMA 在 0.1–100 Hz 範圍內進行動態測試，測試結果如圖 5(c) 所示，可藉此實驗數據求取 PDMS 之儲存 (storage) 與消耗模量 (loss modulus)。

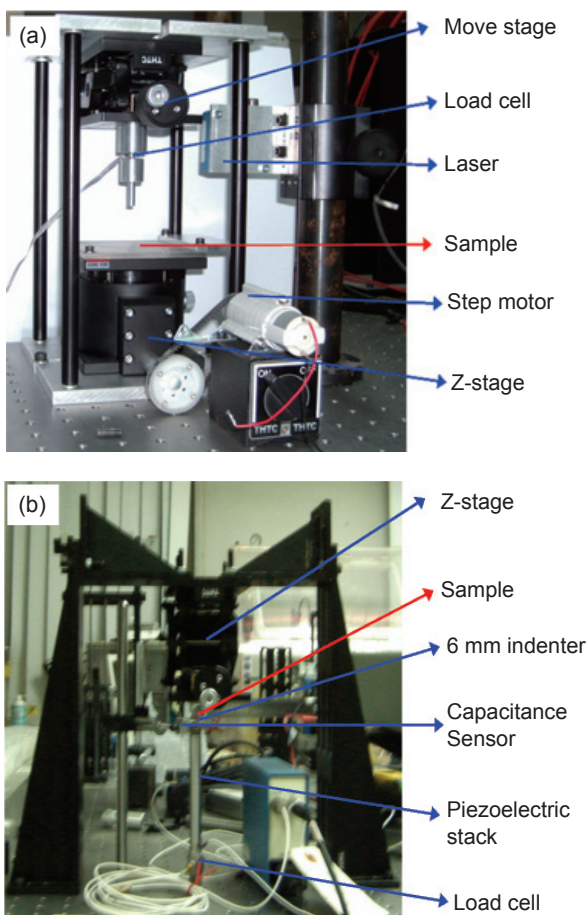


圖 4. (a) Punch tester 實驗測試系統，(b) DMA 實驗測試系統。

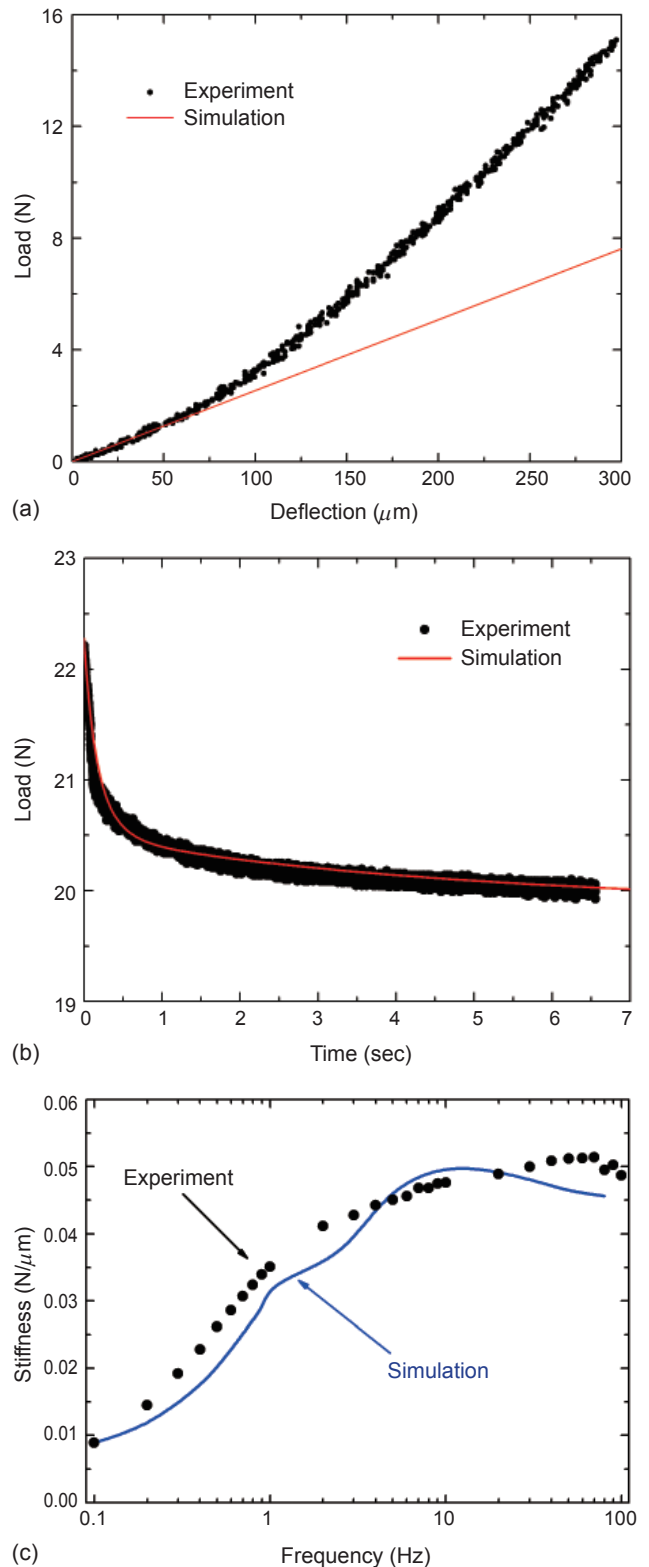


圖 5. (a) 由 punch tester 獲得 PDMS 之壓深與施力關係，(b) 應力鬆弛測試結果，(c) DMA 測試結果⁽²²⁾。

接著，我們將測試結果，根據廣義的 Maxwell fluid 模型建立 PDMS 的黏彈模型，並以 Prony series 的方式呈現，以利於後續有限元素分析。其剪力模數 $G(t)$ 可以下式表示：

$$G(t) = 0.455 \left\{ 1 - \left[0.08(1 - e^{-t/0.165}) + 0.03(1 - e^{-t/5}) \right] \right\} \text{ (MPa)} \quad (2)$$

同時根據試片幾何與測試條件，利用套裝有限元素分析軟體 ABAQUS/STANDARD⁽²⁶⁾，建立對

應之有限元素模型。藉由比對有限元素與實驗數據，微調材料組成律之可調參數，直到兩者吻合。相關實驗與模擬比對之結果請參考圖 5(b)。接下來，配合後續之微尺度 PDMS 測試，我們將會把此 PDMS 材料模型放入與微尺度測試試片相對應之有限元素模型，進行實驗／模擬之交叉比對，以評估巨觀模型於微觀測試之可適性。

四、PDMS 奈米壓痕測試與模擬

在完成常尺度之材料檢測並獲致材料組成律後，接下來利用試片 II 進行奈米壓痕應力鬆弛實驗，並同時建構等效之材料測試有限元素模型 (如圖 6 所示)，納入式 (1) 之 PDMS 材料組成律，並考慮實際壓痕頭之尖端曲率半徑，藉由實驗數據與有限元素模擬結果之交叉比對，以評估式 (2) 在微小尺度應用之精確性。

藉由美國波士頓大學之 Hysitron Triboindenter 進行上述測試。首先將 Berkovich 壓痕頭以 100 nm/s 的速度壓入試片 1000 nm 的深度，接著在維持壓深不變的情形下，進行 10 秒鐘的應力鬆弛實驗，最後再以與加載同樣的速度卸載。

實驗與模擬結果如圖 7 所示，在 $t = 10$ s 之前，由於施載之關係，壓痕力呈現穩定上升的趨勢；在 $t = 10$ s 時，應力開始鬆弛，而呈現指數下降的趨勢。由於試片表面並不是很理想，因此可以

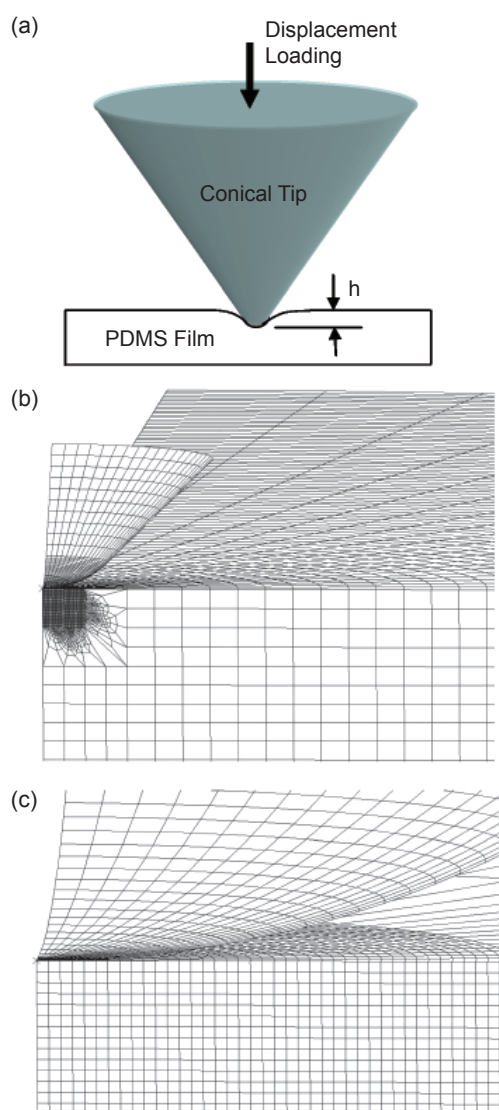


圖 6. (a) 奈米壓痕有限元素模型示意圖，(b) 奈米壓痕有限元素模型，(c) 奈米壓痕尖端局部模型放大圖。

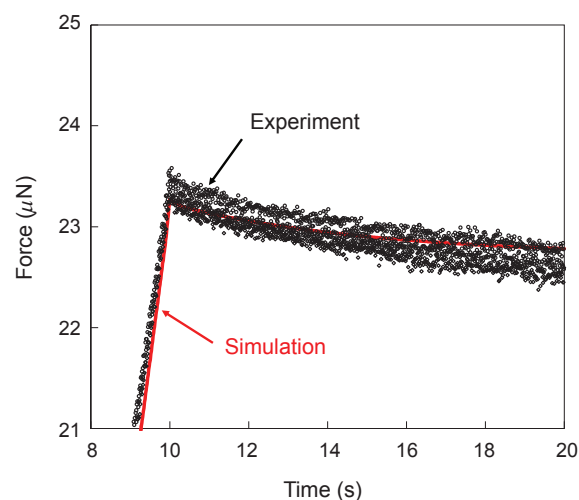


圖 7. PDMS 奈米壓痕測試與模擬結果圖⁽²²⁾。

看到在應力鬆弛階段，壓痕力有相當程度的散布。然而，整體壓痕力隨鬆弛時間漸趨減少的趨勢仍然十分明顯。另外，有限元素分析之結果同樣呈現於圖 7，可以看出模擬與實驗結果吻合度大致良好。我們相信在巨觀模型上，若以一個更高項次的 Prony series 進行擬合，應可獲得更好的結果。

五、PDMS 微柱之彎矩測試與微柱陣列力學轉換模型之建立

接下來，將利用相同之奈米壓痕試驗機，在試片 III 上進行彎矩實驗，以便更進一步貼近真實的應用狀況。圖 8(a) 為試片 III 之照片。圖 8(b) 為彎矩實驗之示意圖。首先以 100 nm/s 的加載速度對 PDMS 微柱進行加載 5 秒，接著再以 30 秒的時間進行應力鬆弛。與之前的測試策略相同，如圖 8(c) 所示，我們同時也對此實驗進行有限元素分析。相關之實驗與模擬數據則於圖 8(d) 顯示，可看出趨

勢符合，但實驗控制時有進一步改善的空間。

然而，不管是實驗或是模擬，上述之實驗與模擬數據均來自三種不同的貢獻 (如圖 9 所示)，即 (1) 微柱的彎矩變形，(2) 底材之變形，以及 (3) 由於探針刺入導致的局部變形。由於在實際應用時，細胞力僅會造成彎矩變形，因此我們必須進一步將上述實驗與模擬結果進一步修正，剔除後二者之影響，方可評估真正之彎矩變形與作用力的關係。利用彈簧串連之基本概念，藉由另外兩個有限元素模型去單獨評估底材變形以及探針穿刺的影響，其結果如圖 10 所示，可發現底材變形以及局部穿刺所佔的比例大概是 45% 左右，將此部分從圖 8 之實驗與模擬資料中剔除後，便可完整地呈現一個微柱受側向力與其產生之彎矩變形的關係。

接下來，以不同之應變率進行彎矩加載模擬，在經過上述實驗資料整理後，將 PDMS 微柱之受力與變形關係整理於圖 11 (a)。在固定的量測位移下，可發現傳統材料力學公式 (式 1) 高估了細胞作

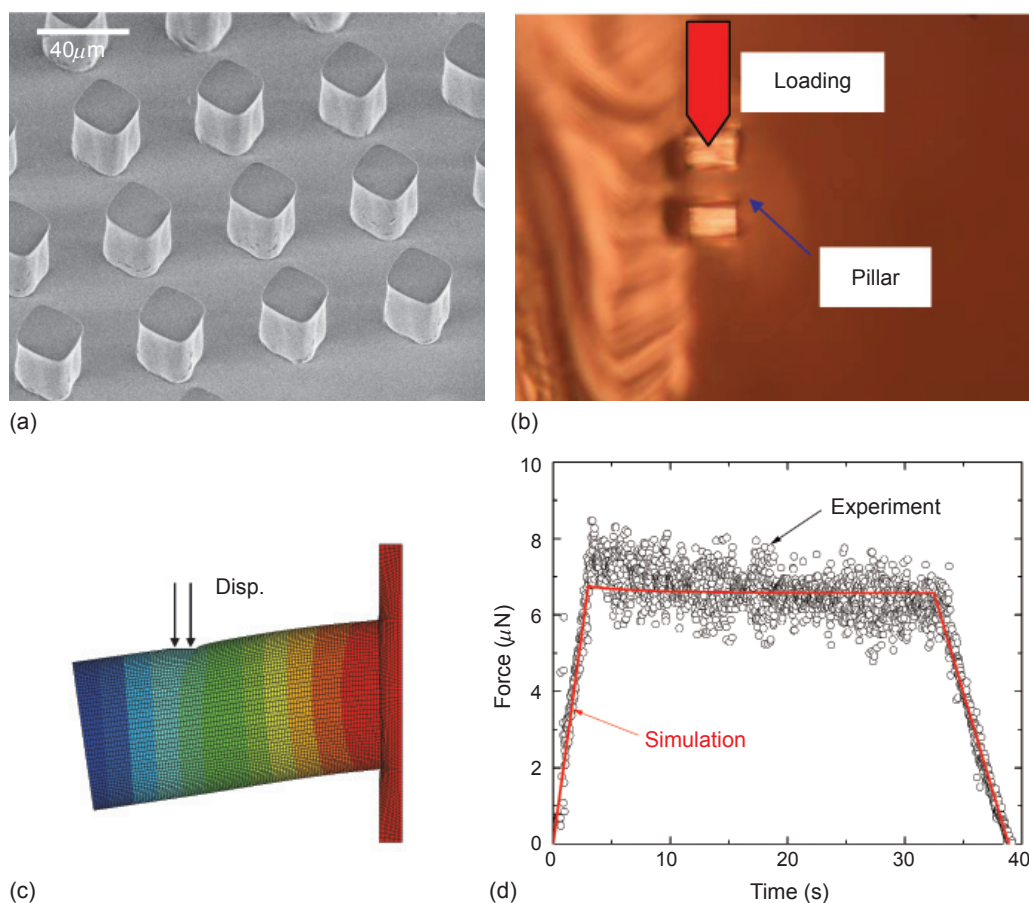


圖 8.

(a) Pillar 試片之 SEM 照片⁽²²⁾，(b) pillar 彎矩實驗之示意圖，(c) pillar 彎矩實驗之模擬示意圖，(d) 實驗與模擬數據比較圖⁽²²⁾。

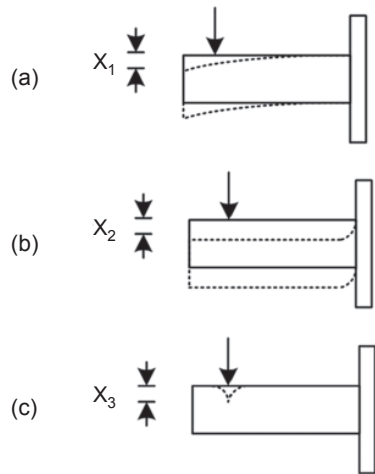


圖 9. Pillar bending 向下位移之成分示意圖，(a) 純彎矩 (pure bending) 變形，(b) 由於基底所造成之向下位移，(c) tip 的壓陷所造成的變形。

用力；反之，非線性有限元素彈性分析 (短樑理論) 以及考慮黏彈效應的分析結果大致類似。考慮黏彈效應下，由於等效彈性模數會隨著應變率上升，因此其變形至力量之轉換增益值也較單純之非線性彈性分析稍高。為便利將此研究結果推廣至其他尺度的設計，我們將圖 11(a) 之結果利用無分析的方式呈現於圖 11(b)。在圖 11 (b) 中， L 是 MPA 的高度， P_0 是由傳統材料力學公式 (式 1) 在 X/L 為 1 時所求得的力量。藉由圖 11(b) 之力量與變形間的轉換，可提供相關設計參考。

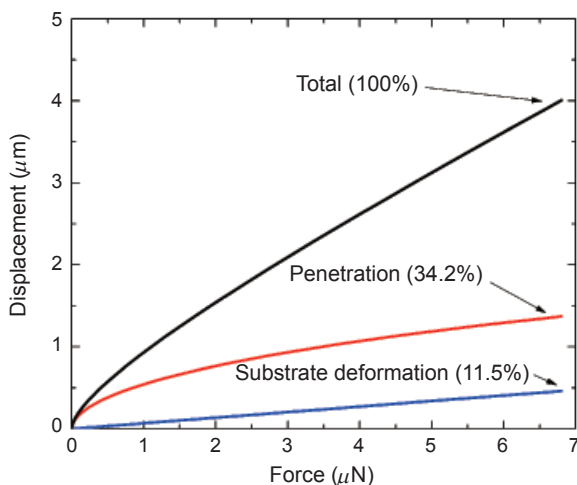
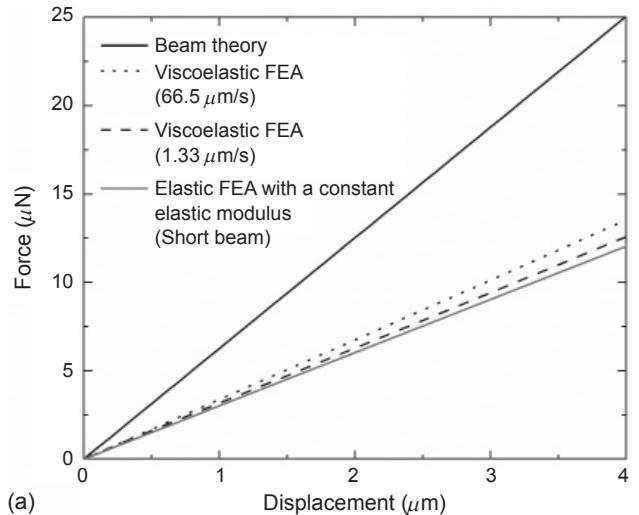
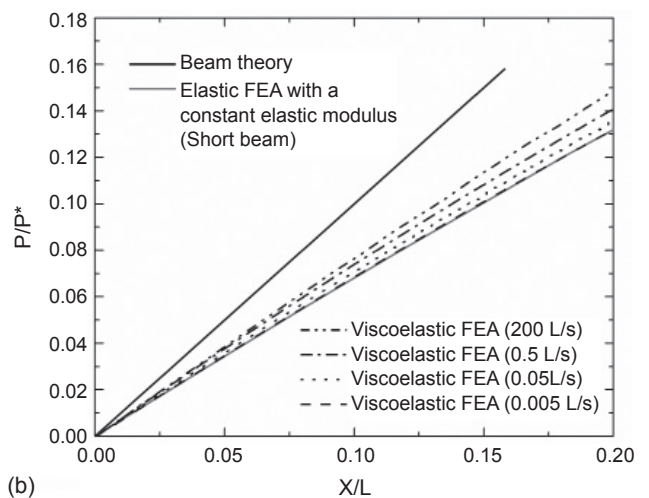


圖 10. Pillar bending 向下位移之成分中底材變形以及局部穿刺所佔的比例⁽²²⁾。



(a)



(b)

圖 11. (a) PDMS 微柱之受力與變形關係圖，(b) PDMS 微柱之受力與變形無因次化後結果⁽²²⁾。

最後，將上述之研究結果應用到心肌細胞力的量測實驗上。心肌細胞之作用力藉由 PDMS MPA 的變形，以及利用傳統材料力學公式，以及本文獲致之改良關係如圖 12 所示，其中圖 12(a) 是未使用異丙腎上腺素 (isoproterenol, ISO) 前心肌跳動的情況，圖 12(b) 則是使用 ISO 後心肌跳動的情況。在心肌細胞作用下，微柱的變形可藉由光學量測紀錄之。在 ISO 灌注之前後，其作動特性有顯著的改變。相較於本文所發展之轉換公式，可發現在細胞作用力上，傳統材料力學轉換公式有顯著的高估。因此我們認為，本文方法對於求取較精確之細胞力，藉而獲致更精準之細胞作用機制上有其特殊貢獻。

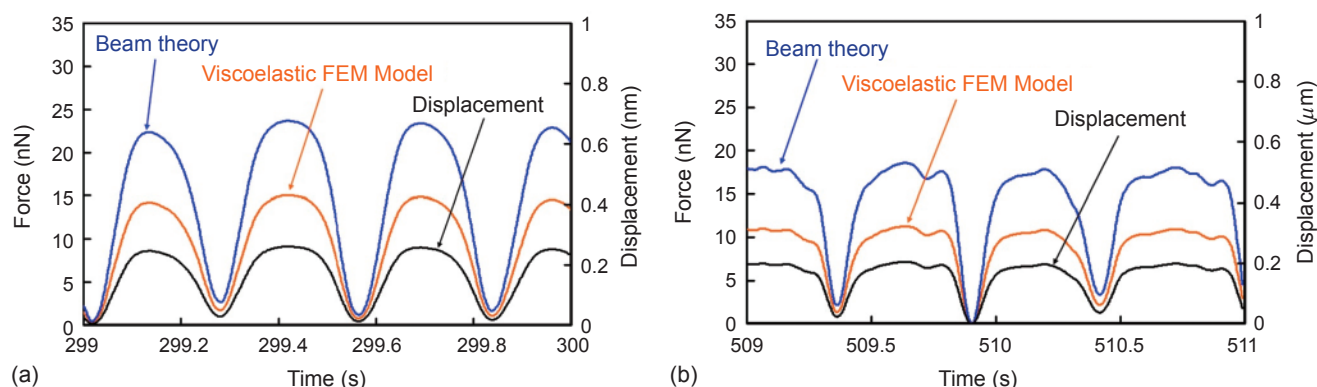


圖 12. 心肌細胞之位移與細胞力轉換的結果，(a) 未使用異丙腎上腺素，(b) 使用異丙腎上腺素⁽²²⁾。

六、結語

物理量之量測 (如機械性質、力量、位移等) 在我們的生活周遭無所不在，但必須注意的是幾乎所有可量測的物理量與最後所欲獲取之物理量通常並不相同，此二者之間必須藉由一正確的模型進行轉換。例如我們可以藉由量測皮托管 (Pitot tube) 兩端的液面高度差，並配合白努力方程式 (Bernoulli's Equation) 求取流體的速度。若該量測環境條件不符合該方程式之基本假設，則轉換後之結果必將出現可觀的誤差。

量測細胞成長時與基材間之作用力，是近年來相當受到重視的一個研究題目，而藉由 PDMS 材料所構建的微柱陣列的變形量測反推估細胞成長時與基材間之作用力，是被公認為相當具有潛力的檢測技術。然而該量測方法之可靠度除了實驗量測之精確性外，一個合理與準確的力學模型更是不可或缺。過去的研究藉由量測微柱陣列之變形，以材料力學之懸臂樑公式，將所量測之變形量轉成作用力。然而過去的研究多將 PDMS 視為線性彈性材料，並且利用長樑理論之材料力學公式進行轉換。由於 PDMS 屬黏彈材料，而一般微柱陣列之寬高比又遠小於長樑公式之可適用範圍，因此我們相信目前通用之轉換模型存在相當大的誤差。本文針對 PDMS 微柱之機械性質進行常尺度與微尺度的檢測，並藉此發展微柱之黏彈模型，最後整理出一修正的變形至力量轉換模型，可較精確地評估細胞成長的作用力。在後續相關研究方面，可考慮納入 PDMS 底材之變形，以評估此因素對於最後細胞力量測之影響。

誌謝

本研究係由國科會補助 (計畫編號 NSC 96-2628-E-006-006-MY3)。筆者在此也感謝美國波士頓大學機械系張鈺教授的研究團隊在實驗方面所提供之重要協助。

參考文獻

1. K. Harris, P. Wild, and D. Stopak, **208**, 4440, 177 (1980).
2. M. Dembo, T. Oliver, A. Ishihara, and K. Jacobson, *Biophys. J.*, **70**, 2008 (1996).
3. M. Dembo and Y. L. Wang, *Biophys. J.*, **76**, 4, 2307 (1999).
4. N. Q. Balaban, U. S. Schwarz, D. Riveline, P. Goichberg, G. Tzur, I. Sabanay, D. Mahalu, S. Safran, A. Bershadsky, L. Addadi, and B. Geiger, *Nature Cell Biol.*, **3**, 466 (2001).
5. 林奕寬, 三維微結構製程技術研究, 國立成功大學機械工程研究所碩士論文 (2004).
6. J. L. Tan, J. Tien, D. M. Pirone, D. S. Gray, K. Bhadriraju, and C. S. Chen, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **100** (4), 1484 (2003).
7. Y. Zhao and X. Zhang, *Adaptation of Flexible Polymer Fabrication to Cellular Mechanics Study*, *Appl. Phys. Lett.*, **87**, 144101 (2005).
8. Y. Zhang, C. W. Lo, J. A. Taylor, and S. Yang, *Langmuir*, **22** (20), 8595 (2006).
9. Y. Zhao and X. Zhang, *Cellular Mechanics Study in Cardiac Myocytes Using PDMS Pillars Array*, *Sens. Actuators, A*, **125** (2), 398 (2006).
10. Y. Tanaka, K. Morishima, T. Shimizu, A. Kikuchi, M. Yamato, T. Okano and T. Kitamori, *Lab on Chip*, **6**, 230 (2006).
11. 林紋瑞, 評估細胞力學之微陣列力量感測系統研發, 國立成功大學醫學工程研究所碩士論文 (2004).
12. S. P. Timoshenko and J. M. Gere, *Mechanics of Materials*, New York: Van Nostrand Reinhold (1972).
13. M. R. VanLandingham, N. K. Chang, P. L. Drzal, C. C. White, and S. H. Chang, *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.*, **43**, 1794 (2005).

14. C. C. White, M. R. VanLandingham, P. L. Drzal, N. K. Chang, S. H. Chang, *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.*, **43**, 1812 (2005).
15. I. K. Lin, Y. M. Liao, Y. Liu, K. S. Ou, K. S. Chen, and X. Zhang, *Appl. Phys. Lett.*, **93**, 251907 (2008).
16. T. M. Chen, *Int. J. Numer. Methods Eng.*, **38**, 3, 509 (2005).
17. G. Huang, B. Wang, and H. Lu, *Mech. Time-Depend. Mater.*, **8** (4), 345 (2004).
18. K. S. Chen, T. C. Chen, and K. S. Ou, *Thin Solid Films*, **516** (8), 1931 (2008).
19. W. N. Findley, J. S. Lai, and K. Onaran, *Creep and Relaxation of Nonlinear Viscoelastic Materials with an Introduction to Linear Viscoelasticity*, New York: Courier Dover Publications (1989).
20. M. S. Bobji, S. K. Biswas, and J. B. Pethica, *Appl. Phys. Lett.*, **71**, 1059 (1997).
21. Y. Xiang and D. A. LaVan, *Appl. Phys. Lett.*, **90**, 133901 (2007).
22. I.-K. Lin, K.-S. Ou, Y.-M. Liao, Y. Liu, K.-S. Chen, and X. Zhang, *IEEE/ASME J. Microelectromechanical Systems*, **18**, 1087 (2009).
23. I.-K. Lin, Y.-M. Liao, Y. Liu, K.-S. Ou, K.-S. Chen, and X. Zhang, *ASME IMECE* (2008).
24. Y.-M. Liao, I.-K. Lin, K.-S. Ou, K.-S. Chen, and X. Zhang, *Elastic and Viscoelastic Characterization of Polydimethylsiloxane (PDMS) for Biological Applications*, 4th APCOT, Tainan, Taiwan, June 23-25 (2008).
25. 廖彥鳴，軟材料之機械性質測試與其在半導體製程真空設備、生醫量測及軟板傳輸之應用，國立成功大學機械工程研究所碩士論文 (2008).
26. Hibbitt, Karlson, and Sorensen, Inc Technical staff, *ABAQUS/Standard User's Manual V.6.4*, Hibbitt, Karlson, & Sorensen, Inc (2003).



廖彥鳴先生為國立成功大學機械工程碩士，現任台灣積體電路股份有限公司工程師。

Yen-Ming Liao received his M.S. in mechanical engineering from National

Cheng Kung University. He is currently an engineer of Taiwan Semiconductor Manufacturing Company.



歐廣順先生為國立成功大學機械工程博士，現任國立成功大學機械工程學系博士後研究員。

Kuang-Shun Ou received his Ph.D. in mechanical engineering from National

Cheng Kung University. He is currently a post-doctoral researcher in the Department of Mechanical Engineering at National Cheng Kung University.



I-Kuan Lin 先生為美國波士頓大學機械工程博士，現任美國 NASA Goddard Spaceflight Research Center 研究工程師。

I-Kuan Lin received his Ph.D. in mechanical engineering from Boston University, USA.

He is currently a research engineer at NASA Goddard Spaceflight Research Center.



陳國聲先生為美國麻省理工學院機械工程博士，現任國立成功大學機械工程學系教授。

Kuo-Shen Chen received his Ph.D. in mechanical engineering from

Massachusetts Institute of Technology, USA. He is currently a professor in the Department of Mechanical Engineering at National Cheng Kung University.