

多功能介電泳晶片系統運用於膀胱癌細胞之期別診斷

Multi-Functional DEP Chip System for Diagnosis of Different-Grade Bladder Cancer Cells

黃耀緯、徐佑銘、吳耀東、莊承鑫

Yao-Wei Huang, You-Ming Hsu, Yao-Tung Wu, Cheng-Hsin Chuang

本文探討一種具三層式電極與微圓洞陣列之介電泳操控晶片，可程式化捕捉與釋放單細胞並應用於癌細胞電性感測功能。利用非均勻電場所產生之介電泳力來捕捉與釋放膀胱癌細胞，再藉由阻抗分析儀進行癌細胞感測，完成可程式化細胞操控與阻抗量測雙功能之實驗室晶片。實驗前先行利用模擬軟體來觀察微圓洞的結構和三層電極之電場分布情形，以此分布來了解設計細胞操控之正、負介電泳效應。實驗方面，以 LabVIEW 程式搭配 DAQ 系統進行可程式化的操控，將細胞捕捉後再進行單細胞電性量測，以獲得細胞之阻抗值，藉由其阻抗值來辨別細胞的特徵，在獲得特定細胞的判別後，則可進行單細胞的釋放，最後將回收後的標的細胞進行後續的研究作業。本研究將使用 T24 和 TSGH8301 兩種不同期別之膀胱癌細胞當實驗對象，實驗結果顯示 TSGH8301 (grade II) 阻抗值高於 T24 (grade III)，本研究所開發之介電泳晶片不僅可以達到捕捉、固定與可程式化單細胞操控與阻抗量測之能力，在未來亦可應用於體外檢測與藥物篩檢等領域上。

In this work, a dielectrophoretic (DEP) chip with multi-layer electrodes and a micro-cavity array was developed for programmable manipulations and impedance measurement of bladder cancer cells. Impedance sensing of single cells could be performed as follows: Firstly, cells were trapped in a micro-cavity array by negative DEP force constructed by top and middle electrodes; then, the impedance measurement for discrimination of different grades of bladder cancer cells was accomplished by the middle and bottom electrodes. After impedance sensing, the individual releasing of trapped cells was achieved by negative DEP force using top and bottom electrodes in order to collect the identified cells once more. In the experimental results, the capability of electrical manipulation successfully demonstrated by human bladder cancer cells (TSGH8301 and T24). Consequently, the DEP chip provides an excellent platform technology for lab-on-a-chip (LOC) or micro-total-analysis-system (micro TAS).

一、前言

尿路上皮癌 (簡稱膀胱癌) 在西方國家是男性第四常見的癌症，每年有超過 60,000 個新增病例，而在台灣它卻是泌尿生殖系統第二常見的癌症，此外，於台灣尿路上皮癌的族群中，女性罹患率稍高於男性 (男：女 = 1：1.3)，這也和國外的男性罹患率高於女性三倍的數據明顯不同⁽¹⁾。尿路上皮癌所發生的器官包括從腎臟的腎盂經輸尿管到膀胱，75–80% 的新增病例是呈現非侵入式 (Ta)、表淺性癌症狀 (T1) 或原位癌 (Tis)，然而仍有 20–25% 的腫瘤呈現侵犯性癌症狀 (T2–4)，而表淺性癌症患者 (Ta or T1) 在治療或手術過後五年內仍約有 50–80% 會復發⁽²⁾，且 10–20% 的患者會惡化至侵犯性癌症 (≥ T2)。根據研究顯示，發生膀胱癌的原因可歸咎於吸菸的習慣、某種職業環境的暴露所造成的。但是反觀台灣膀胱癌女性比例高於男性，且雲嘉地區的罹患率是世界平均值的 10 倍，因此就本土性的膀胱癌病因與患者應有必要進行詳細的研究。膀胱癌患者最常見的症狀乃血尿，但是血尿常出現於晚期的膀胱癌患者，而且膀胱癌並不是導致血尿的單一原因，因此無法以血尿症狀診斷是否為罹患膀胱癌，現行最具特異性的膀胱癌檢測標準法，乃藉由細胞學 (cytology) 的觀察以及膀胱內視鏡檢查兩項配合來確認膀胱癌的診斷。細胞學檢測特異性約 90%，但是敏感度不佳 (約 40–60%，若是早期診斷則更低)、耗時，且膀胱內視鏡檢查是一種侵入性的檢測方式，會造成病患不舒服而排斥。另外，也有一些膀胱癌腫瘤標誌的搜尋，其中有一些檢測尿液中的腫瘤蛋白標記試劑已經由 FDA 認證過而上市，如：BTA、NMP22 等，但是此類產品不但成本貴，且特異性低 (約 50%)，也易受血尿、蛋白尿、病患尿道發炎或男性前列腺肥大等因素干擾。因此，如何確認早期膀胱癌腫瘤標誌，及發展一個準確性高、非侵入性、可個人化的有效檢測方法，來篩選出高危險群以利於早期尿路上皮癌的治療是一個重要的課題，並且可提供給有可能復發且需要經常檢測的膀胱癌患者另一種較易接受的檢測方法。

使之，國內外有許多研究團隊積極發展實驗室

晶片 (lab-on-a-chip) 相關的研究，意旨在晶片上可完成檢體之分離、捕捉、篩選、分析與收集等流程。在 1999 年 T. Muller 與 G. Gradl 團隊⁽³⁾ 已證實利用平行電場所產生之介電泳力 (DEP) 來排列粒子與抓取特定粒子之可行性，然而此方法雖可排列與抓取，但須在持續供給交流電壓下才能把持住粒子，方可抵擋特定流場之沖刷，一旦電場關閉，將導致粒子無法確實定位，不利於粒子篩選與收集的實驗。但一般介電泳操控因電極會與溶液直接接觸，在低頻率與高導電度的溶液下容易產生電解的情況，因此 C-P. Jen 與 Y. Kang 團隊⁽⁴⁻⁵⁾ 利用 PDMS (poly-dimethylsiloxane) 阻絕電極與溶液的直接接觸所產生的電解現象，利用結構影響產生一個非均勻電場，以完成細胞之聚焦與分離之結果，此方法稱為絕緣式介電泳法。但此法只適用於高頻率下驅動。而 2008 年 Z. Zou 團隊⁽⁶⁾ 利用梳狀式電極來分離不同尺寸之粒子，但此方法為群體粒子之操控，無法達到單粒子解析度之操控與固定的效果。

近幾年來利用微結構造成一非均勻電場進行單細胞操控的研究儼然已形成一個趨勢。在 2009 年由義大利 M. Bocchi 研究團隊⁽⁷⁾ 利用微圓洞內三層電極的相位改變來產生不同的介電泳力分布，進行單細胞的操控與微粒聚集。同年，Y. Cho 與 A. B. Frazier 團隊⁽⁸⁻⁹⁾ 提出以流體控制的方式來固定單細胞於微結構處，然後進行細胞阻抗感測。然而此微結構的設計不利於細胞的操控，故本團隊在 2009 至 2011 年期間發表具多層電極與微結構陣列之介電泳晶片⁽¹⁰⁻¹²⁾，證實細胞被捕捉至圓洞內後，因微結構的效應，在無電壓作用下仍可承受特定的流率沖刷而不被沖離，此外，多層電極的設計可進行細胞操控、標的細胞釋放與癌細胞電性感測。

本研究擬將檢體用量降低，並利用可程式化控制的介電泳力與微結構陣列達到單細胞阻抗分析，來爭取細胞在量測過程中的時效性，以確保細胞的活性，並以電性量測方式判斷正常上皮細胞與癌細胞之差異，進一步檢驗出癌症期別。原因在於正常細胞病變時，其細胞內的離子濃度、胞器的電位及細胞膜蛋白質對電阻抗的分析，將有不同的反應，因此可藉由細胞電性阻抗來判斷該癌細胞演化的期別，對於臨床上的快速疾病檢驗具有極大助益。故

本研究的重點將研發可拋棄式個人化分析實驗室診斷微系統，利用介電泳原理捕捉細胞於標的位置，然後關閉交流電場，利用 LabVIEW 程式以及 DAQ 系統和阻抗分析儀作電性量測來快速檢測不同期別的膀胱癌細胞，晶片採用玻璃與高分子材質以降低成本，利用微流道生醫感測零組件之快速、高靈敏度等優點，實現個人化醫療檢測之目標。

二、介電泳原理

介電泳原理起源於 1951 年由 Herbert A. Pohl⁽¹³⁻¹⁴⁾ 所發表，主要說明一電中性微粒與緩衝

液之間在非均勻電場作用下導致極化率不同，電中性微粒因所誘發電荷不平均，產生一偶極矩，此現象使電中性微粒趨往高或低電場所區域移動，研究上稱為介電泳力現象，如圖 1 所示。圖 1(a) 為一帶電荷微粒與電中性微粒，置於一均勻電場中，其帶電荷微粒會因為電荷異性相吸、同性相斥的原理，往與本身電荷相反之電極移動 (如：電泳現象)，而電中性微粒因所誘發之正負電荷相等，受電場之力量相反且相等，故達到靜力平衡而趨於靜止。但將電中性微粒置於一非均勻電場中，如圖 1(b) 所示，微粒上的負電荷會往靠近正電極的一端移動，而正電荷會往靠近負電極的一端移動，則會

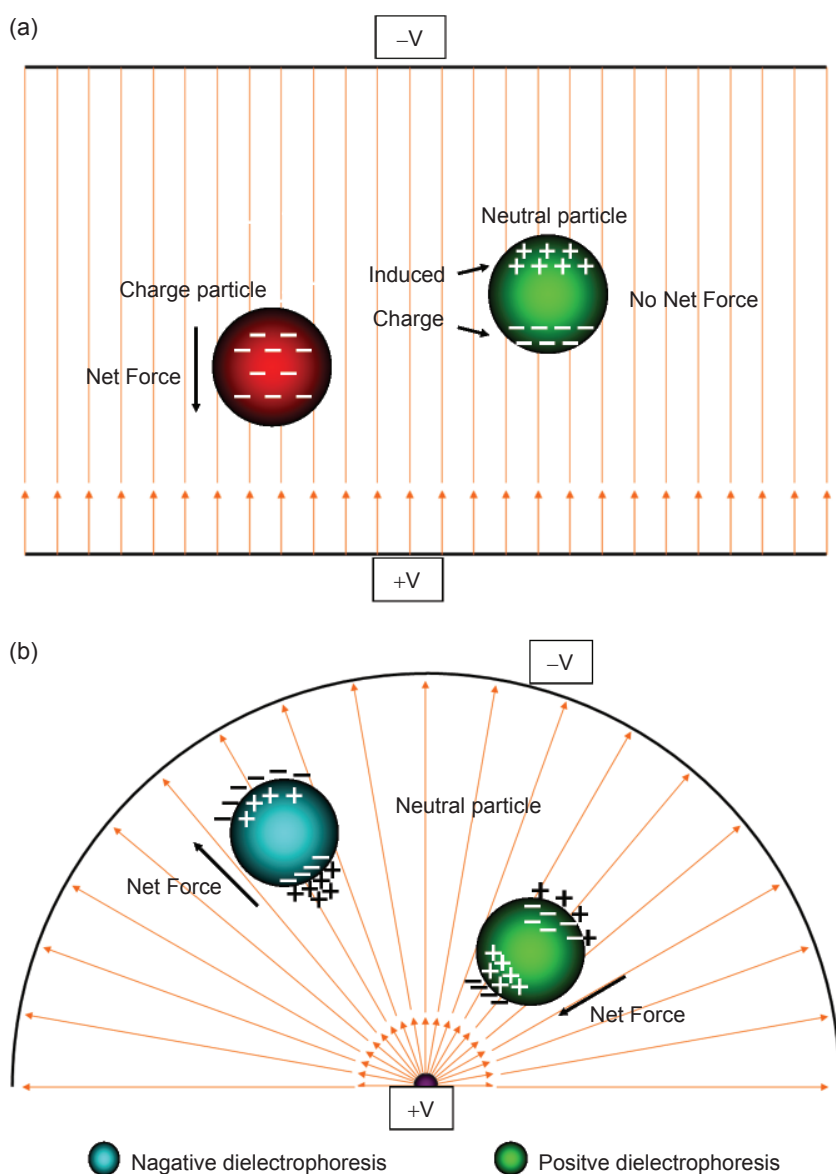


圖 1. 微粒在不同電場情況下運動之示意圖：(a) 帶電荷微粒與電中性微粒置於均勻電場中；(b) 電中性微粒置於非均勻電場中。

因兩邊所遭受之庫倫力大小不同，而產生一偶極矩，此一偶極矩受電場中作用在微粒上之力量稱為介電泳力。

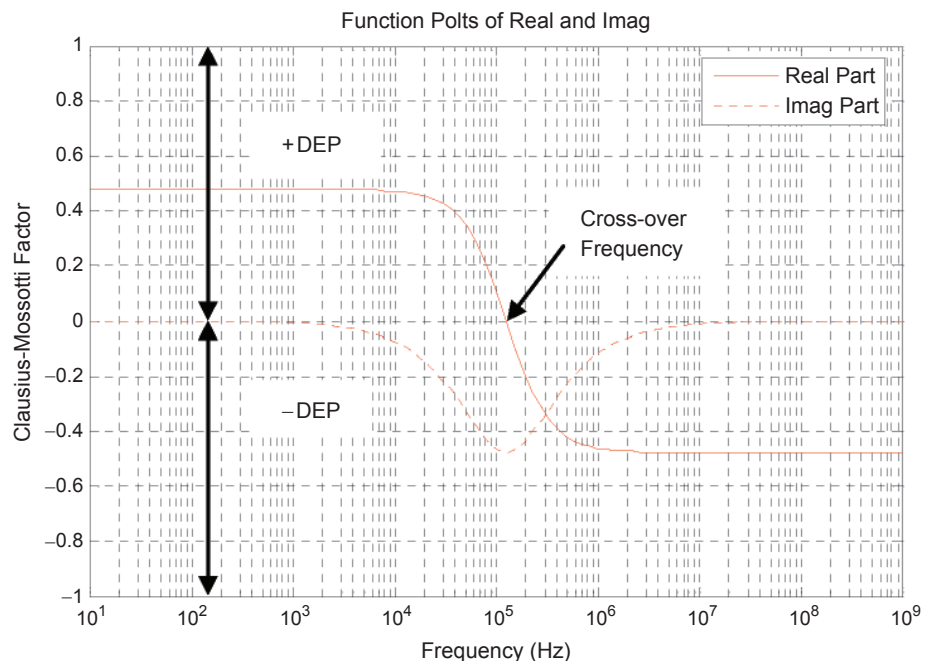
由於介電泳是依靠微粒與緩衝液之間的相對極化率所造成之現象，當微粒極化程度大於週遭緩衝液時，此時微粒會受到高電場強度區所吸引，稱為正介電泳 (positive dielectrophoresis, p-DEP)；若緩衝液極化程度大於微粒時，微粒將受到高電場區域所排斥，往低電場區域移動，稱為負介電泳力 (negative dielectrophoresis, n-DEP)。

當中性粒子處於不均勻電場中會因電場作用使得本身所包含的淨電荷產生分布不均的現象，造成粒子一端聚集正電荷，另一端聚集負電荷，由於粒子兩端電性相反，因而稱為電偶極 (electric dipole)。在外在不均勻的電場施加之下，若粒子偏極化程度大於週遭溶液時，則粒子內的正電荷會往負電極方向移動，負電荷會往正電極方向移動，此時所誘發出的偶極矩與電場方向一致。反之，若粒子偏極化程度低於週遭溶液時，此時所誘發出的偶極矩與電場方向一致。

本研究中主要使用介電泳力來操控奈米粒子，介電泳公式可表示為

$$F_{\text{DEP}} = 2\pi\epsilon_m a^3 \text{Re}[f_{\text{CM}}(\omega)] \nabla |E|^2 \quad (1)$$

圖 2. 當微粒 $\sigma_p \gg \sigma_m$ 及 $\epsilon_p \ll \epsilon_m$ 之 Clausius-Mossotti factor，其中實線為 f_{CM} 之實部，點線為 f_{CM} 之虛部， $-0.5 \leq \text{Re}[f_{\text{CM}}(\omega)] \leq 0.5$ 。



F_{DEP} 之正負值取決於 Clausius-Mossotti factor (f_{CM}) 之正負值，簡稱 CM factor。圖 2 所示為 $\text{Re}[f_{\text{CM}}(\omega)]$ 曲線與 X 軸之交點，稱為交越頻率 (cross-over frequency)，cross-over frequency 以上區域稱為正介電泳，以下區域稱為負介電泳，所以由式 (1) 可以清楚地瞭解介電泳力 (F_{DEP}) 受到下列因素之影響：

- (1) 介電泳力與微粒的體積 (a^3) 成正比。
- (2) 介電泳力與緩衝液之介電常數 (ϵ_m) 成正比。
- (3) 介電泳力之向量沿著電場平方之梯度 $\nabla |E|^2$ 移動。
- (4) 介電泳力也取決於 Clausius-Mossotti factor 之大小。

又可以 $\text{Re}(f_{\text{CM}})$ 之正負值來判斷介電泳力之正負。當 $\text{Re}(f_{\text{CM}}) > 0$ ，表示微粒比緩衝液有較佳之極化強度，所以微粒會受正介電泳力往高電場梯度區移動。當 $\text{Re}(f_{\text{CM}}) < 0$ ，表示微粒極化強度較緩衝液弱，故粒子會受負介電泳力作用往低電場梯度區移動。若將 f_{CM} 有理化展開，如式 (2) 可以清楚瞭解 $\text{Re}(f_{\text{CM}})$ 。當介電泳處於低頻 ($\omega \rightarrow 0$) 時，可以將 $(\epsilon_p - \epsilon_m)$ 忽略，所以在低頻時，偶極矩之方向取決於 $(\sigma_p - \sigma_m)$ 之正負值；反之，當處於高頻 ($\omega \rightarrow \infty$) 時，偶極矩之方向取決於 $(\epsilon_p - \epsilon_m)$ 。依據以上推論，介電泳力方向會因為輸入波形之頻率、緩衝液

與微粒之導電係數及介電係數有關。

$$f_{CM}(\omega) = \frac{\varepsilon_p^* - \varepsilon_m^*}{\varepsilon_p^* + 2\varepsilon_m^*} = \frac{(\varepsilon_p - \varepsilon_m) - i\left(\frac{\sigma_p - \sigma_m}{\omega}\right)}{(\varepsilon_p + 2\varepsilon_m) - i\left(\frac{\sigma_p + 2\sigma_m}{\omega}\right)}$$

$$= \frac{\omega^2(\varepsilon_p - \varepsilon_m)(\varepsilon_p + 2\varepsilon_m) + (\sigma_p - \sigma_m)(\sigma_p + 2\sigma_m)}{\omega^2(\varepsilon_p + 2\varepsilon_m)^2 + (\sigma_p + 2\sigma_m)^2}$$

$$+ i \frac{\omega(3\varepsilon_p\sigma_m - 3\varepsilon_m\sigma_p)}{\omega^2(\varepsilon_p + 2\varepsilon_m)^2 + (\sigma_p + 2\sigma_m)^2} \quad (2)$$

最後，將介電泳現象整理如下：

- (1) 作用於微粒上之介電泳力，只存在於非均勻電場下，或不為零的電場平方之梯度下。
- (2) 介電泳力與極化之電場方向無關，因此不管在直流或交流電場下，皆有介電泳現象。
- (3) 微粒之移動取決於微粒與緩衝液之介電常數或導電度，當 $\varepsilon_p > \varepsilon_m$ 或 $\sigma_p > \sigma_m$ 時，微粒將受較高電場區域所吸引，稱之為正介電泳，其受力的方向沿著電場平方之梯度方向移動。
- (4) 當 $\varepsilon_p < \varepsilon_m$ 或 $\sigma_p < \sigma_m$ 時，則微粒將受高電場區域所排斥，稱之為負介電泳，其受力方向相反於電場平方之梯度方向。
- (5) 當微粒直徑介於 1 到 1000 μm 時，介電泳現象較容易發生。

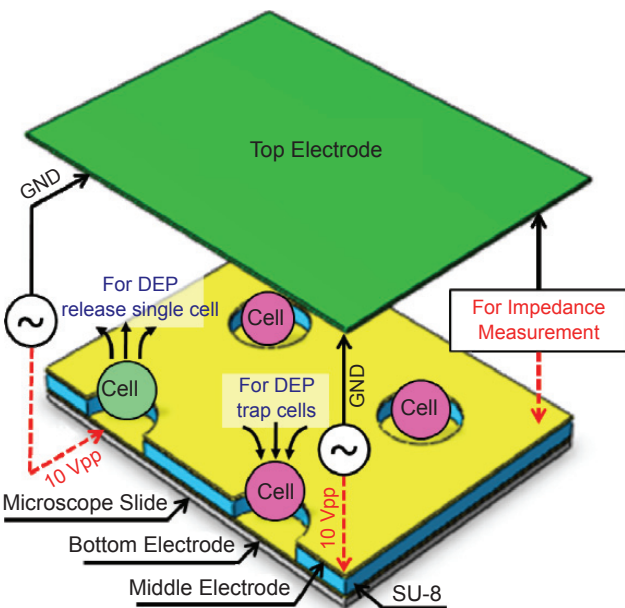


圖 3. 多層電極介電泳微陣列晶片之模擬 3D 結構。

表 1. CFD-ACE+ 模擬軟體設定參數表。

Properties	Medium	Au	SU-8
Density ρ (kg/m ³)	1000	19320	1194
Viscosity η (kg·m ⁻¹ ·s ⁻¹)	8.92×10^{-4}		
Conductivity σ (S/m)	2×10^{-4}	455×10^5	2×10^{-3}
Relative permittivity ε	80	6.9	37×10^{-1}

三、數值分析模擬

進行本實驗之前，先行使用 CFD-ACE+ (ESI group, France) 對所設計的多層電極介電泳微陣列晶片進行有限體積分析，其模擬結構如圖 3 所示。先以 CFD-GEOM 軟體繪出欲模擬的 3D 模型。設定條件是整體高度為 100 μm ，SU-8 的高度為 10 μm ，腔體的高度為 90 μm 。SU-8 間距為 20 μm ，圓洞的直徑設定為 20 μm ，將建立好的模型存檔後，接著以 CFD-ACE 來設定模擬參數，如表 1 所示，在其設定交流電的電壓 10 V_{pp} 與頻率於三層電極之間以及材料參數、邊界等，最後再由 CFD-VIEW 開啟模擬的結果，觀察其電場之分布情況。

由模擬實驗結果得知，高的電場密度皆分布於電極表面，而弱電場其發生在 SU-8 微圓洞內，如圖 4 所示。因此，當細胞移動至微圓洞上方，可藉由上中層電極產生負介電泳力將細胞捕捉至微圓洞內，如圖 4(a) 所示。且根據本實驗所測試，在沒有電壓輸出下，細胞可以穩定地靜置在圓洞內至少 3 小時以上，接續可以利用中下層電極以阻抗分析儀器量測細胞的阻抗特性，待確定完細胞之阻抗特性後，再利用上下電極所產生之負介電泳將其釋放且收集，如圖 4(b) 所示，故可利用模擬結果證實本實驗室晶片之可行性。

四、晶片製作與實驗方法

1. 晶片製作

本實驗所設計的介電泳晶片為多層電極微陣列介電泳晶片，用於細胞捕捉與可程式化標的單細胞釋放以及單細胞阻抗感測，此型晶片將改變底部電極設計為底層單點電極與對應電極二種型式，來量測單細胞之阻抗，如圖 5 所示。

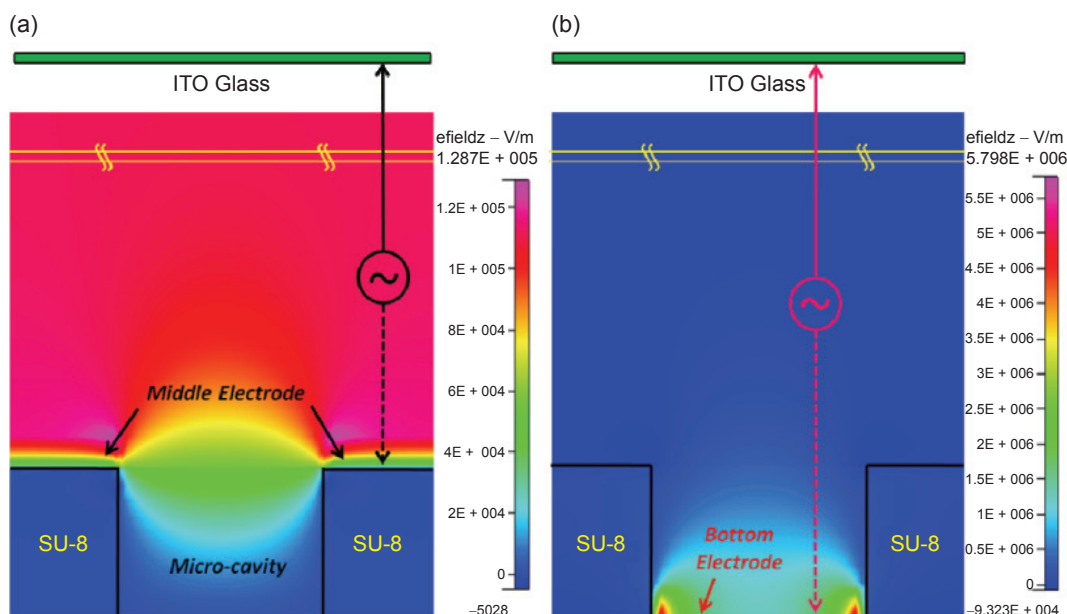


圖 4. 多層電極介電泳微陣列晶片之模擬結果圖：(a) 上層與中層電極之電場模擬側視圖；(b) 上層與下層電極之電場模擬側視圖。

首先將玻璃試片依序放入裝有丙酮與甲醇之器皿內，並放置在超音波震盪機裡清洗五分鐘，主要清洗粉塵微粒、金屬離子和有機污染物。接續使用電子束蒸鍍機 (e-beam evaporator) 以 0.5 \AA/s 的蒸鍍速率，蒸鍍 300 \AA 的鉻 (Cr) 金屬當作黏著層與 1000 \AA 的金 (Au) 金屬作為底層電極，而後透過黃光微影系統，將光罩圖案轉移至晶片感光材料上 (S1813 光阻)，經顯影後即可獲得如同光罩上的電極圖案，如圖 5(a) 所示。完成底層電極的製作後，接續利用旋轉塗佈機 (spin coater)，塗佈 SU-8 厚膜光阻於底層電極上方，經由軟烤、圓洞與底層電極之對準、曝光、曝後烤、顯影與硬烤等步驟，即可製作出 SU-8 微圓洞陣列，如圖 5(b) 所示。接著，在此晶片之 SU-8 厚膜光阻上蒸鍍鉻 (Cr) 與金 (Au) 電極，以完成中間層電極之製作，如圖 5(c) 所示。而後利用鑽石雕刻筆於 ITO 玻璃上進行樣本入口與出口端之鑽孔，其孔洞直徑為 1.5 mm 。

最後切割出 40 mm 長與 5 mm 寬的光學膠 OCA (optical clean adhesive) 作為流道腔體貼附於中層黃金電極與上層 ITO 電極之間，即可完成介電泳晶片的製作，如圖 5(d) 所示。此外，以塑鋼土黏著鐵氟龍管於介電泳晶片之樣本入口與出口端，其鐵氟龍管的外徑與內徑分別為 1.6 mm 與 1.0 mm 。完成本研究之介電泳晶片的製作後，以插排

銜接晶片、訊號產生器、電路板與 DAQ 系統，即可進行細胞可程式化操控與阻抗量測之實驗測試，以達到本研究之目的。

2. 實驗流程

本實驗選用人類膀胱癌細胞 (T24 與 TSGH8301) 做為介電泳晶片的細胞操控樣本，溶液為蔗糖水，其調配方法是取用蔗糖結晶混合去離子水調配成濃度為 8.63% 的蔗糖水溶液 (8.63% 為重量百分比)，其溶液導電度值約在 $4.87 \mu\text{S/cm}$ 。細胞方面，從細胞培養箱取出定量的細胞，取用方式為使用離心機將細胞與培養液 (RPMI) 分開，然後利用滴管將多餘的培養液抽出，再將 2 c.c. 的蔗糖水溶液加入細胞的試管內，稀釋其殘留的 RPMI 溶液導電度，接續再利用離心機將細胞沉澱於試管底部，然後由滴管將蔗糖水溶液抽出，僅留存細胞與極少量之蔗糖水溶液，最後再將 2 c.c. 的蔗糖水溶液加入試管內，才由導電度計測量其整體導電度值，其混合後之整體導電度範圍約為 $200 - 250 \mu\text{S/cm}$ 。然而將屬於高導電度的培養液替換成低導電度的蔗糖水溶液之目的，是從事細胞捕捉實驗時可擴大負介電泳的操控頻率範圍。

實驗步驟：利用玻璃針筒抽取混合後的細胞溶液，並注入流道腔體內，以 LabVIEW 程式控制交

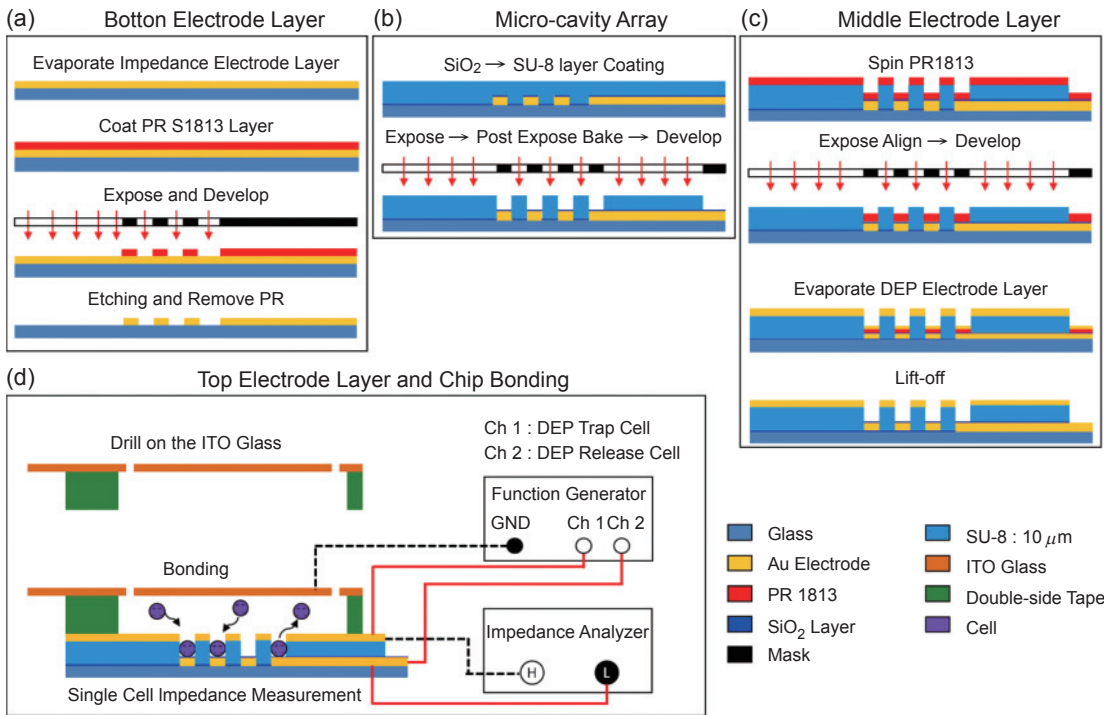


圖 5. 三層電極微圓洞結構陣列介電晶片製作流程圖，利用三層電極進行可程式化細胞操控與阻抗分析。

流電壓與頻率於上層與中層電極，細胞受到負介電泳力作用，驅使單顆標的細胞進入標的電極的圓洞內，如圖 6(a) 所示，將其單顆細胞捕捉至圓洞內即可利用 LabVIEW 程式控制阻抗分析儀量測其細胞之阻抗數值，如圖 6(b) 所示，待完成量測後，再利用上層與下層電極產生負介電泳力將其單顆標的細胞釋放，如圖 6(c) 所示，以完成可程式化之細胞操控與阻抗量測。

3. 實驗架構

本研究所使用的實驗儀器有三個主要部分。第一為選用微注射式幫浦 (KDS-210, KD Scientific) 來控制流體的速度。第二部分為利用訊號產生器提供交流頻率與電壓於電路板，並經由 DAQ 系統以 LabVIEW 程式來操控細胞與阻抗量測，LabVIEW 程式介面如圖 8(a) 與 8(f) 所示，經由頻率測試可得知細胞受操控時之正、負介電泳與交越頻率的範

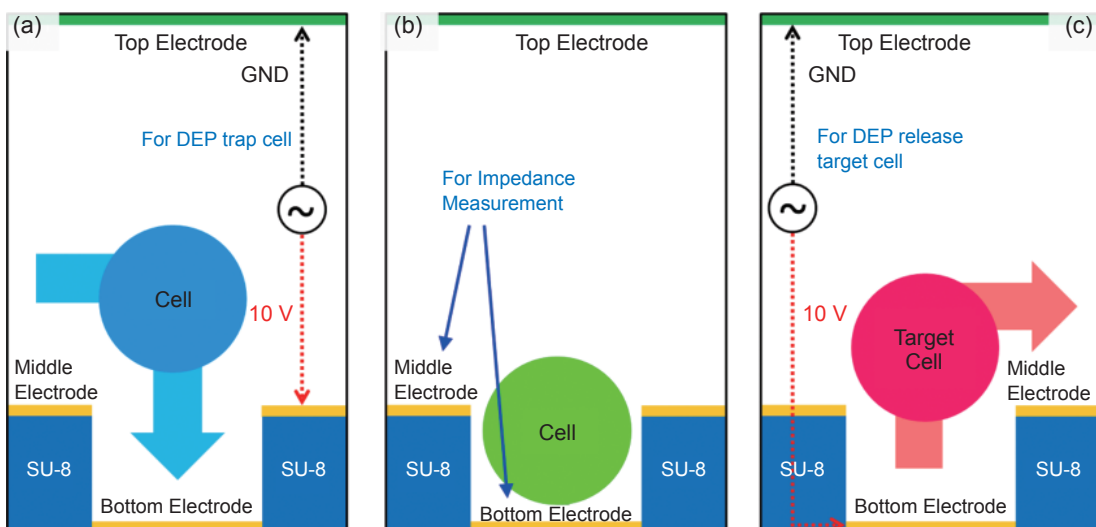


圖 6. 可程式化細胞操控與阻抗分析流程示意圖。

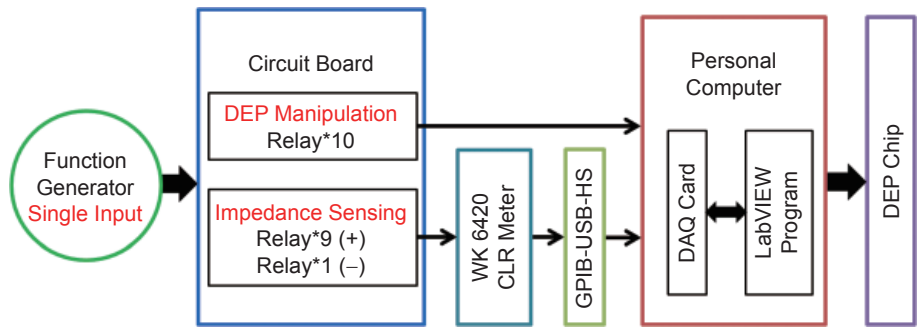


圖 7. 可程式化介電泳細胞操控與阻抗分析之實驗架構圖。

圍。最後，以生物光學顯微鏡 (BX51, Olympus) 來觀察細胞受交流訊號與特定流速的即時動態，並以數位攝影機 (HDR-XR350, Sony) 來記錄整個實驗過程，其實驗儀器架設如圖 7 所示。

五、實驗結果與討論

1. 細胞操控

本實驗選用人類膀胱癌細胞 (TSGH8301 與 T24) 進行流體流動狀態時細胞捕捉率的實驗，本

研究所使用的微圓洞陣列尺寸為直徑 $20\ \mu\text{m}$ ，而底部電極之直徑與深度分別為 $20\ \mu\text{m}$ 與 $10\ \mu\text{m}$ 。實驗結果顯示，將混合後的細胞與溶液注入流道腔體，等待細胞沉澱且靜止於微圓洞陣列周圍，如圖 8(b) 所示，接續使用 LabVIEW 控制程式開啟繼電器，施加第一組交流電壓與頻率於上層與中層電極，其細胞捕捉電壓與頻率分別是 $10\ \text{V}_{\text{pp}}$ 與 $50\ \text{kHz}$ ，經實驗後得知此頻率可產生負介電泳力，使細胞受到負介電泳力作用後，細胞朝向弱電場區域也就是微圓洞內部移動，達到捕捉細胞之功能，如圖 8(c)

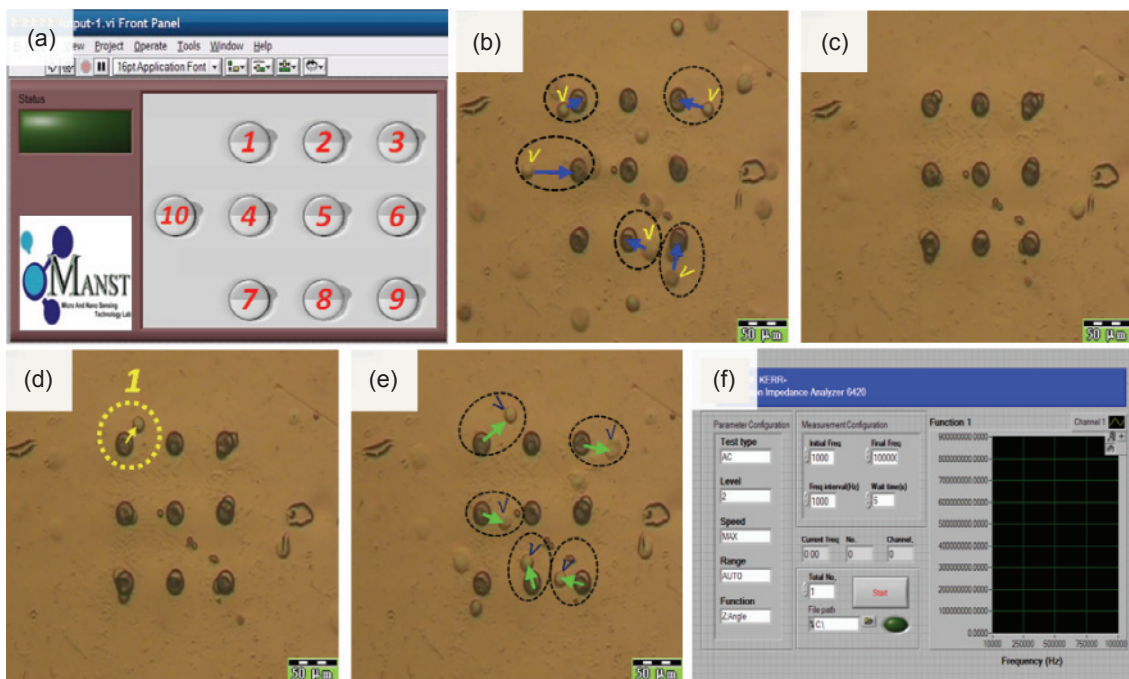


圖 8. 可程式化細胞操控與阻抗分析實驗結果：(a) 細胞操控之 LabVIEW 操控介面；(b) 細胞溶液注入微腔體內；(c) 開啟操控介面 No.10 開關於上中電極產生負介電泳力使細胞被捕捉至 SU-8 微結構內；(d) 接續轉換開啟 No.1 開關於上下電極藉由負介電泳力釋放標的細胞；(e) 最後開啟 No.10 開關於上中電極產生正介電泳力使其餘細胞整體釋放；(f) 細胞感測 LabVIEW 操控介面。

所示。接續利用 LabVIEW 控制程式施加交流電壓與頻率於上層與底層電極產生負介電泳力，電壓與頻率分別是 $10 V_{pp}$ 與 20 kHz ，使單顆標的細胞釋放，如圖 8(d) 所示。最後，將其非標的細胞利用上中電極產生正介電泳力，電壓與頻率分別是 $10 V_{pp}$ 與 200 kHz ，使其餘非標的細胞整體釋放，如圖 8(e) 所示。且經由細胞操控之實驗結果顯示，利用訊號產生器所產生之不同頻率去控制膀胱癌於正、負介電泳方向，頻率與介電泳力比較如表 2 所示，透過表 2 實驗結果得知，對於 TSGH8301 與 T24 膀胱癌細胞溶液導電度為 $210 \mu\text{S}/\text{cm}$ 時，其高頻率區域下為正介電泳力，反之，負介電泳力則產生在低頻區域，故本研究所開發之多層電極介電泳晶片可成功且簡單地自動化操控細胞。

2. 阻抗量測

當細胞利用 LabVIEW 控制程式所產生介電泳力後，將細胞捕捉且固定於 SU-8 微結構時，即可利用中層與下層電極達到阻抗分析量測之目的。且細胞被捕捉至 SU-8 微結構中，會再次冲刷腔體，使每個微圓洞內都確定僅有一個細胞，以完成單細胞的阻抗量測，且以 LabVIEW 程式控制阻抗分析儀去量測阻抗值前，會先行將 AC 訊號與注射式幫浦關閉，避免影響阻抗值之量測。本研究使用兩種

表 2. 人類膀胱癌細胞之正負介電泳與交越頻率範圍。

Sample	Cell Size (μm)	Negative DEP (kHz)	Cross-over Frequency (kHz)	Positive DEP (kHz)
TSGH8301	20 ± 3	10–50	140–180	180–1000
T24	15 ± 3	10–50	150–200	200–1000

不同期別之膀胱癌細胞 (TSGH8301 與 T24) 做為阻抗量測分析，根據阻抗量測實驗結果，如圖 9 所示，當細胞被捕捉至微圓洞內，阻抗會有所下降。且當捕捉不同期別之膀胱癌細胞，所量測之阻抗值也會有所不同，如圖 10 所示。第二期別的膀胱癌細胞 (TSGH8301) 的阻抗值會高於第三期別之膀胱癌細胞 (T24)，推斷可能是細胞內部之介電特性差異所造成極化的不同所產生的結果。且根據 K.-H. Han 團隊針對不同期別人類乳癌細胞之阻抗量測實驗⁽⁹⁾ (MCF-7、MCF-MB-231 與 MDA-MB-435)，由實驗結果亦可發現當癌細胞期別越高所測得之阻抗會降低，與本實驗所量測之結果雷同，故可更進一步證實本實驗室晶片之可行性與準確性。故由此實驗結果，可證明多層電極微結構介電泳晶片可結合程式化的人機介面搭配阻抗分析儀來完成自動化的阻抗感測分析實驗。

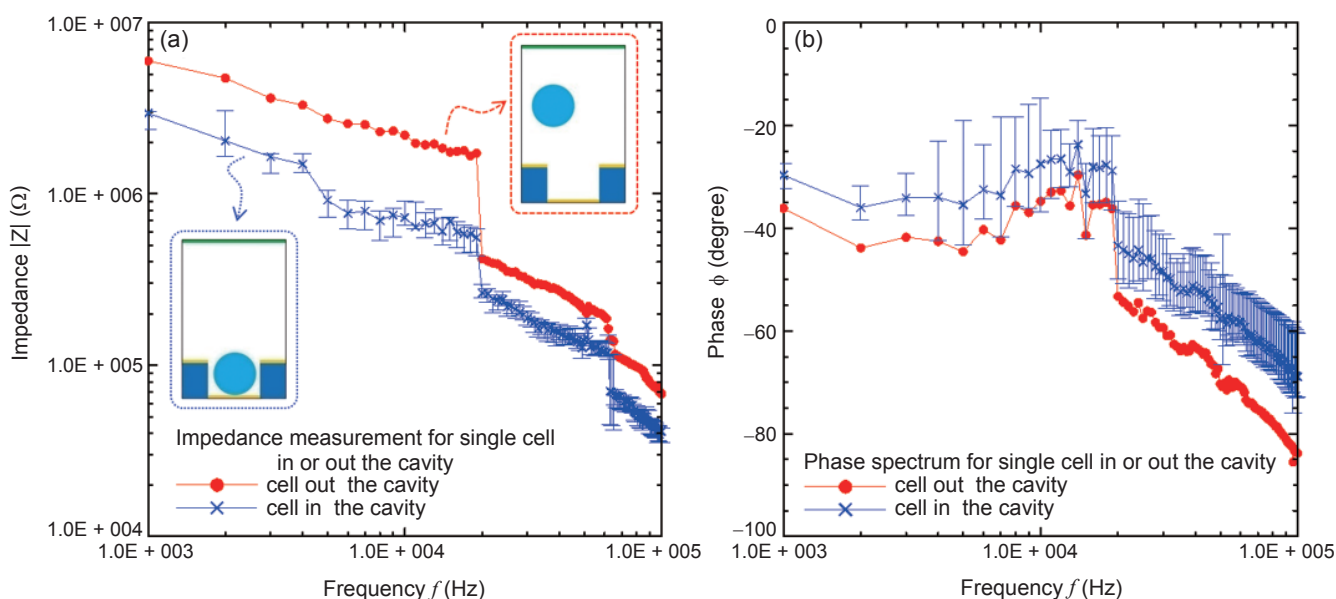


圖 9. 有無膀胱癌細胞於微圓洞內之阻抗與相位量測分析圖。

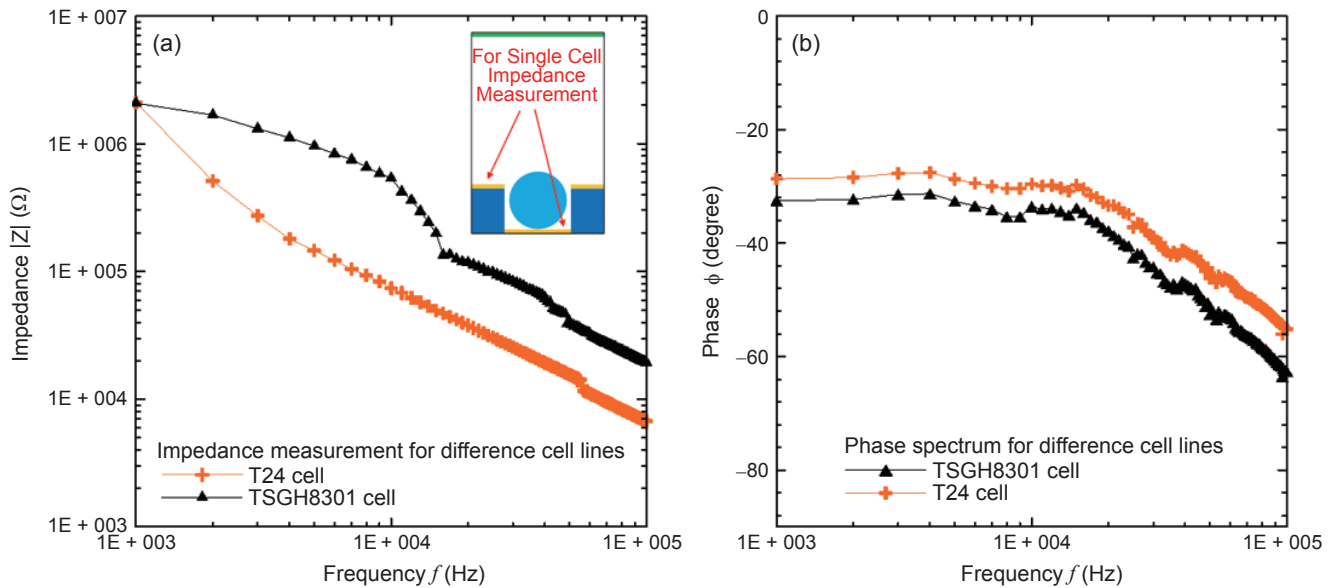


圖 10. 不同期別 (TSGH8301 與 T24) 之膀胱癌細胞阻抗與相位量測分析圖。

六、結論

本研究完成多層電極介電泳微陣列晶片的模擬與製作，並可達成可程式化操控細胞與量測單細胞阻抗之目的。三層電極微圓洞介電泳晶片之可程式細胞操控，可由上層與中層電極捕捉單細胞至單一圓洞內，微圓洞結構的設計可在細胞被捕捉至微圓洞內，於沒有交流電場下，細胞因微圓洞結構的效應可承受特定流率的沖刷而不會被沖出。然後由上層與底層電極進行標的細胞的釋放，此結果可證明多層電極介電泳微陣列晶片具有單細胞篩選的能力，未來將應用於不同性質的細胞篩選之研究。且在單細胞阻抗量測電極皆顯示，在所有量測時間點上皆顯示 TSGH8301 (grade II) > T24 (grade III)，且所有細胞阻抗值會隨著頻率的增加而降低，這是因為細胞電容特性影響較明顯的關係，而在越低的頻率 (10 kHz 以下) 阻抗靈敏度越好。本文所開發之介電泳晶片不僅具有自動化細胞操控與阻抗分析之功能，未來可將此晶片運用在活、死細胞的篩選、癌細胞電性阻抗感測與長時間觀察癌細胞藥物檢測。

參考文獻

1. World Health Organization, <http://www.who.int/whosis/>
2. Taiwan Clinical Oncology Research Foundation, Available at: <http://cisc.twbbs.org/index.php>
3. T. Müller, G. Gradl, S. Howitz, S. Shirley, T. Schnelle, and G. Fuhr, *Biosens. Bioelectron.*, **14**, 247 (1999).
4. C.-P. Jen and H.-H. Chang, *Biomicrofluidics*, **5**, 034101 (2011).
5. Y. Kang, B. Cetin, Z. Wu, and D. Li, *Electrochimica Acta*, **54**, 1715 (2009).
6. Z. Zou, S. Lee, and C. Ahn, *IEEE Sensors Journal*, **8**, 527 (2008).
7. M. Bocchia, M. Lombardini, A. Faenza, L. Rambelli, L. Giulianelli, N. Pecorari, and R. Guerrieri, *Biosens. Bioelectron.*, **24**, 1177 (2009).
8. Y. Cho, H.-S. Kim, A.-B. Frazier, Z.-G. Chen, D.-M. Shin, and A. Han, *Journal of Microelectromechanical Systems*, **18** (4), 808 (2009).
9. K.-H. Han, A. Han, and A.-B. Frazier, *Biosens. Bioelectron.*, **21**, 1907 (2006).
10. C.-H. Chuang, Y.-M. Hsu, and C.-H. Wei, *Electrophoresis*, **30**, 3044 (2009).
11. C.-H. Chuang, C.-H. Wei, Y.-M. Hsu, H.-S. Huang, and F.-B. Hsiao, *Proceedings of the 2009 IEEE Sensors Conference*, 943 (2009).
12. C.-H. Chuang, Y.-W. Huang, Y.-T. Wu, and T.-F. Wu, *Journal of Japan Applied Physics*, **50** (6), 06GL11-2-06GL11-6 (2011).
13. H.-A. Pohl, *J. Applied Physics.*, **22** (7), 869 (1951).
14. H.-A. Pohl, *Dielectrophoresis*, Cambridge University Press, New York (1978).



黃耀緯先生為南台科技大學奈米科技碩士，現任國立中正大學機械工程學系研究助理。

Yao-Wei Huang received his M.S. in nanotechnology from Southern Taiwan

University. He is currently a research assistant in the Department of Mechanical Engineering at National Chung Cheng University.



徐佑銘先生為南台科技大學機電科技博士，現任順邦科技股份有限公司高級工程師。

You-Ming Hsu received his Ph.D. in mechatronic science and technology

from Southern Taiwan University. He is currently a senior engineer at Chipbond Technology Corporation.



吳耀東先生為南台科技大學奈米科技碩士，現任能元科技股份有限公司工程師。

Yao-Tung Wu received his M.S. in nanotechnology from Southern Taiwan

University. He is currently an engineer at E-one Moli Energy Corporation.



莊承鑫先生為國立成功大學土木工程學博士，現任南台科技大學機械工程系暨奈米科技研究所副教授。

Cheng-Hsin Chuang received his Ph.D. in civil engineering from National

Cheng Kung University. He is currently an associate professor in the Department of Mechanical Engineering and Institute of Nanotechnology at Southern Taiwan University.