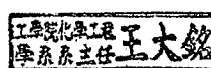
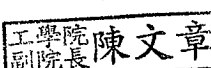


國立臺灣大學 研究成果專利申請表 本校案號：_____ (由產學合作總中心填寫)

請勾選以下兩種選項中的一種 (請參考第 2-3 頁的詳細說明)： 2015.05.06 版

☐ 「先期專利申請案」 (即美國 Provisional Application，技術已公開者請勿申請)；

☒ 「後期專利申請案」；針對本發明，是否已向校方提出「先期專利申請案」？ ☐ 是， ☒ 否

計畫合作機構	科技部 (請填寫本申請案所屬之經費來源，如：科技部、經濟部、農委會等)	☐ 利用本校資源 (勾選本項則無需填計畫名稱及編號)
計畫名稱及編號	發展光誘導圖刻仿生膜平台之實驗與理論以分離細胞膜物質 (請填寫衍生本申請案之所有計畫，並附核定清單或契約書影本；填寫空間請自行調整)	
計畫合作期限及金額	自 102 年 10 月 1 日至 105 年 9 月 30 日； 共新台幣 3,544,000 元整	
發明名稱	同時具有表面電漿共振以及電漿波導共振之微結構晶片 (非為原計畫名稱，請為本申請案技術內容訂定名稱)	
擬申請之國家	☒ 中華民國 ☐ 美國 ☐ 其他：_____	
※附件 (請依「先期專利申請案」或「後期專利申請案」，準備所需文件；標示*者為必須提供) ※請於『研究成果專利申請表』的 word 檔填寫完成後，務必 email 給所屬之本中心窗口。 (關於本中心各人員執掌暨聯絡資訊，請參連結 http://ord.ntu.edu.tw/CIAC/Responsibilities.aspx)		
「先期專利申請案」	☐ *技術推廣表(附件一)； ☐ *技術分類表(附件二) ☐ *國立臺灣大學研究成果基本資料表(附件三) ☐ *送至美國 USPTO 之技術文件 (可直接用論文，但盡量完整地揭露欲保護範圍技術內容，建議以英文撰寫，可包括圖式；無頁數或格式限制)	
「後期專利申請案」	☐ *技術推廣表(附件一)； ☐ *技術分類表(附件二) ☐ *國立臺灣大學研究成果基本資料表(附件三) ☐ *費用分攤協議書(附件四)； ☐ *研究成果專利構想揭露書(附件五) ☐ 相關文獻陳報表(附件六) ☐ 計畫經費核定清單(科技部計畫)或研究計畫補助合約書影本(非科技部計畫) ☐ 已公開或預計公開之相關文件(若於附件三第四點勾選公開或預計公開者) ☐ 學位論文口試保密同意書影本 ☐ 與本案相關之文獻資料影本	
提案人：  (簽章) 單 位： 台大化工		
提案日期： 104 年 7 月 21 日 職 稱： 助理教授		
敬 陳		
系 主 任 		
院 長 		
研 發 處 (產學合作總中心)		

研 發 長

A. 「先期專利申請案」(provisional application)之優點：

1. 可藉最少的經費、在最短的時間內(會議/論文發表/口試前)，先獲得多個國家(中華民國、美國、大陸及 PCT 國家)最基本的專利保護(申請日及申請號)。若準備僅申請中華民國專利亦可用美國「先期專利申請案」。
2. 無須準備正式的專利說明書或專利範圍(claim)，只要以自行準備的技術資料(可採論文格式，請以英文撰寫)，寄送紙本至美國 USPTO 後即完成申請 (USPTO 收到文件日為「先期專利申請案」正式申請日)。所需繳納費用僅有郵資與美國政府規費(2014 年 7 月時為 US\$130¹⁾)；亦可採線上申請。
3. 能有更充裕的時間，與專利事務所討論，精心設計極重要之「後期專利申請案」的專利範圍，以確保最大專利利益(專利範圍不會過於狹窄)。
4. 可視近期技術發展趨勢、產業變化、與廠商洽談技轉等結果，來決定是否一年內送「後期專利申請案」，如此亦能使有限的資源發揮更高的效益。(建議「先期專利申請案」送件後約 9 個月後啟動「後期專利申請案」，以確保專利品質)。

註 1：美國政府規費約 2~3 年變動一次，各項規費請以美國 USPTO 官網公布之數據為準。

B. 其他「先期專利申請案」注意事項：

1. 「後期專利申請案」(即正式之專利案)單是申請費用 (台灣案約 NTS40,000，美國案約 NTS100,000)，為龐大的投資，連同答辯、年費、其他可能發生之程序一同計算，中華民國發明案約新台幣 15-35 萬/件、美國發明案約 60-85 萬/件。
2. 請先自行向美國官方提出美國「先期專利申請案」(詳細步驟請見下頁)，再向產學合作總中心提出「國立臺灣大學研究成果專利申請表」(本申請表；第一頁請勾選「先期專利申請案」)。
3. 如先提出美國「先期專利申請案」，並於一年內提出「後期專利申請案」，可引用美國「先期專利申請案」的申請日為優先權日，因此，於前/後期專利案申請日之間所出現的其他人技術文件，仍不會干擾「後期專利申請案」獲准專利權。
4. 「先期專利申請案」寄到美國 USPTO 後，USPTO 不會直接審核(僅歸檔)，等到收到「後期專利申請案」後(若「後期專利申請案」主張「先期專利申請案」之優先權日期)，於「先期專利申請案」申請日起 18 個月時，一併公開先/後期專利申請案。
5. 「先期專利申請案」的技術資料，可包含多種技術內容，不受限於一發明一申請；而當技術研究陸續地出現進展時，亦可逐一地申請更多「先期專利申請案」，於最早提出申請之美國「先期專利申請案」申請日一年內申請「後期專利申請案」時，可主張各件「先期專利申請案」的優先權。
6. 若有新增技術內容，請確保美國「先期專利申請案」的發明人與「後期專利申請案」的發明人之間，至少一人重疊。
7. 網頁 <http://www.uspto.gov/patents/resources/types/provapp.jsp> 有更詳細說明，請參考。
8. 網頁 <http://www.uspto.gov/web/offices/ac/qs/ope/fee010114.htm> 可查閱最新美國先期專利的申請規費清單；根據 2014 年 5 月美國專利商標局的網站資料，小實體(small entity，含個人)申請美國先期專利的規費為美金 130 元。如需要最新規費資訊，亦可於 google 上搜尋『USPTO Provisional application filing fee』。
9. 可向 USPTO 申請註冊帳號(Customer Number)，往後即可至 USPTO 的網頁上綜覽申請過的所有美國專利案；相關內容請參以下網頁連結 <http://www.uspto.gov/patents/ebc/about.jsp>。

C. 以紙本方式，向美國 USPTO 申請「先期專利申請案」：

1. 請備好英文之「先期專利申請案」技術文件，可直接用論文為技術文件，但盡量完整地揭露欲保護範圍技術內容，列印成紙本，一旦送出後不能修改；
2. 請至網頁 <http://www.uspto.gov/forms/sb0016.pdf> 填寫 cover sheet、列印，並簽名（此網頁為 Provisional Application for Patent Cover Sheet）；
3. 請至 <http://www.uspto.gov/forms/2038-fill.pdf> 填寫信用卡單、列印，並簽名（此網頁為 Instructions for Completing the Credit Card Payment Form）；
4. 請將上述各紙本文件郵寄至以下地址：

Commissioner for Patents
P. O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450
USA

註 1: 「先期專利申請案」正式申請日為美國 USPTO 收到文件日。USPTO 日後並將 filing receipt (含 Application Number) 寄至案件中所提供之郵寄地址。

註 2: 寄出 USPTO 後務必提出「國立臺灣大學研究成果專利申請表」(本申請表)，產學合作總中心將協助技轉。

D. 以網路操作，向美國 USPTO 申請「先期專利申請案」：

1. 尚未註冊者，請至網頁 <https://efs.uspto.gov/EFSWebUIUnregistered/EFSWebUnregistered>；模擬練習可先至網頁 <http://www.uspto.gov/ebc/portal/sandbox/efs0-3-0.htm>。
2. 已通過數位認證者，請至網頁 <https://efs.uspto.gov/TruePassSample/AuthenticateUserLocalEPF.html>；模擬練習可先至網頁 <http://www.uspto.gov/ebc/portal/sandbox/efs0-4-0.htm>。
3. 關於常見問題(FAQs)，請參考網頁 http://www.uspto.gov/ebc/efs_faq.htm。

註: 網路完成申請後，務必提出「國立臺灣大學研究成果專利申請表」(本申請表)，產學合作總中心將協助技轉。

附件一、技術推廣表(含以下兩頁之中、英文表單)

為協助技術移轉，是否有意願與本中心合作推廣本技術[※]？

☒ 是(本中心將於技術交易網或各媒合會上發佈此資料)；

☐ 否(原因_____；若有意願使用本技術衍生新創公司者，可勾否)。

※依專利法第七條規定，提案人之各專利案的專利申請權及專利權，皆屬本校所有。



同時具有表面電漿共振以及電漿波導共振之微結構晶片

發明人：趙玲 教授

單位：國立臺灣大學 化學工程學系/研究所

簡歷：(可列出相關連結，例如系所、研究室網頁)

研究室網站：<http://web.che.ntu.edu.tw/biomembrane/>

市場及需求：

近來對於利用表面電漿共振之延伸技術量測生物或物質吸附等現象的研究相當的多，而此技術晶片有潛力可以提供更多資訊，並提出新的應用示範，在不需改變現有的儀器配備下即可將表面電漿共振的可應用範圍增廣。

技術摘要(含成果)：

我們在本技術中提供概念：電漿波導/表面電漿共振混合模態平台，是可容納兩種電磁波共振模態同時存在，即表面電漿共振模態及電漿波導共振模態(Plasmon-waveguide Resonance)。在此蝕刻的結構中，孔洞底部鍍有裸露的薄膜共振層以作為表面電漿共振的介質，用以偵測孔洞內部空間之物質及介質累積變化；未被蝕刻的區塊由其特定厚度之波導層和底部共膜層形成電漿波導共振模態的存在介質，用以偵測波導層外溶液介質之改變。此平台可形成雙共振峰曲線並能各自反應外界變化。

優勢：

1. 提供雙共振峰之曲線，可同時量測不同反應區域的變化。
2. 不須改變現有商用儀器即可應用。
3. 廣泛應用的物理性偵測，可搭配現有化學性偵測形成混合平台。

競爭產品：

1. 傳統表面電漿共振晶片。然而其偵測峰只有一個且只有單一偵測區域。
2. 電漿波導共振晶片。然而其偵測峰只有一個且只有單一偵測區域。
3. 局部表面電漿共振晶片。然而其偵測峰只有一個且只有單一偵測區域。

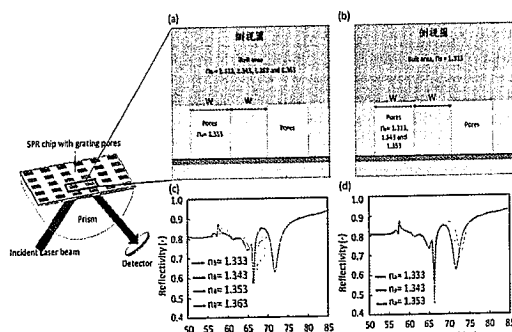
專利現況：

本研究團隊具有晶片生產技術、光學儀器架設能力、細胞培養及生物膜研究等生物實驗背景、微流道設計與操作技術以及電腦模擬能力，有足夠的表面電漿共振技術應用相關領域之材料。

聯絡方式(請不用填)：

臺大產學合作總中心

Tel: 02-3366-9945, E-mail: ntuciac@ntu.edu.tw





Grating Structured Surface Plasmon Resonance Chip and Plasmon Waveguide Resonance/Surface Plasmon Resonance Combined Chip

PI : Prof. Ling Chao

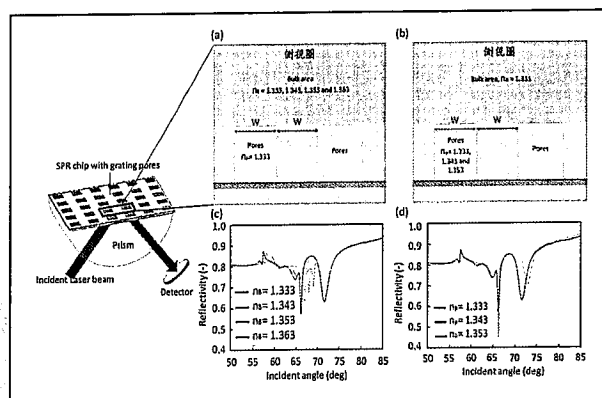
Department of Chemical Engineering,
National Taiwan U.

Experience:

Website: <http://web.che.ntu.edu.tw/biomembrane/>

Market Needs:

Recently, lots of researchers use surface plasmon resonance and its related technique to study in the fields of biology and chemistry. The developed chip in this study provides more information than conventional chip did, and we demonstrate the new application for surface plasmon resonance. Newly developed chip can be applied directly in current commercial equipment without the change or adjustment in parts.



Our Technology:

In this study, we created PWR/SPR combined chip that it can retain both surface plasmon resonance (SPR) and plasmon-waveguide resonance (PWR). This chip has sub-micron sized grating pore array structures. In the pores, resonance film is coated at the bottom and the change of refractive index in the pore region close to the surface of resonance film is sensed by the SPR. In the place without etching, PWR occurs in resonance film with waveguide layer. The geometry of the PWR/SPR combined chip allowed us to use the SPR to detect the refractive index change in the pore region, which is correlated to the target species concentration inside the pore, and the PWR to simultaneously monitor the change of refractive index at the top waveguide layer surface. This chip provides two resonance peaks that can react to change in different area, respectively.

Strength:

1. Provide two resonance peaks that react to changes happen in different area.
2. It can be used in current commercial machine without adjusting the parts.
3. Sense the physical properties so that it can be cooperated with current chemical detection platform.

Competing Products:

1. Conventional SPR chip. However, it has one peak and limited sensing area.
2. PWR chip. However, it has one peak and limited sensing area.
3. LSPR chip. However, it has one peak and limited sensing area.

This information herein is intended for potential license of NTU technology only. Other usage of all or portion of this information in whatever form or means is strictly prohibited. Kindly contact us and we will help to achieve your goal the best we can.

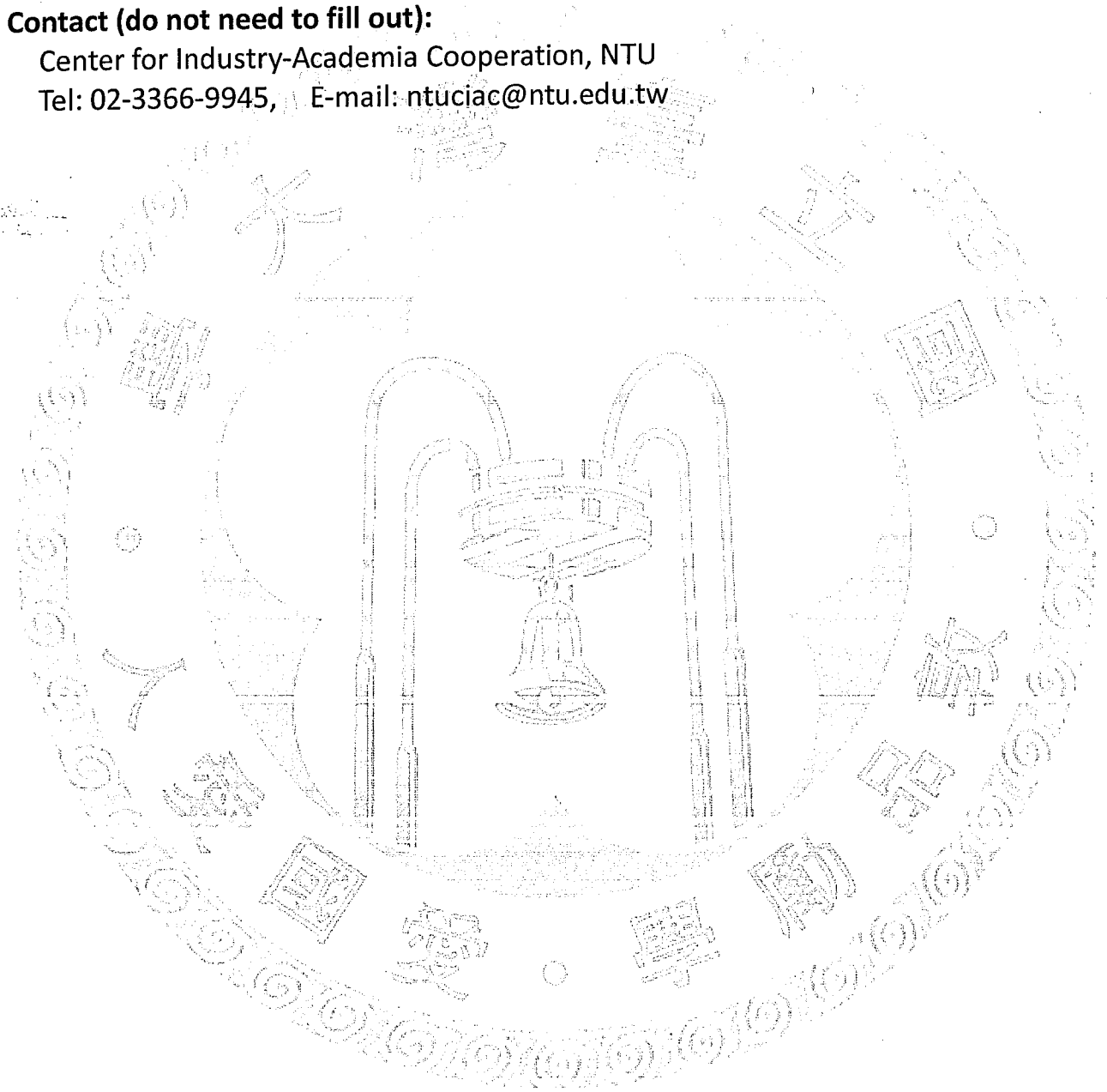
Intellectual Properties:

Our group have the techniques: chip fabrication and design, optical system design, cell culture and membrane study, operation and design of microfluidics system and simulation. These techniques are related application to support the further development of surface plasmon resonance.

Contact (do not need to fill out):

Center for Industry-Academia Cooperation, NTU

Tel: 02-3366-9945, E-mail: ntuciac@ntu.edu.tw



This information herein is intended for potential license of NTU technology only. Other usage of all or portion of this information in whatever form or means is strictly prohibited. Kindly contact us and we will help to achieve your goal the best we can.

請務必填寫此附件

機 密
CONFIDENTIAL

附件二、技術分類表

(請依技術本質勾選(可複選)或於其他(請自填)欄位填入適當類別；分類結果將置於網頁)

一階	二階	三階
生醫 農健	農業	☐ 植物種苗 ☐ 動物種苗 ☐ 生物農藥 ☐ 生物肥料 ☐ 抗病/蟲/逆境性 ☐ 生物整治 ☐ 品種權 ☐ 生物機電 ☐ 組織培養 ☐ 觀賞 ☐ 發酵 ☐ 基因轉殖 ☐ 糧食 ☐ 蔬菜 ☐ 天然物利用 ☐ 遺傳育種 ☐ 森林學 ☐ 獸醫學 ☐ 其他(請自填)
	醫療器材	☒ 診斷與監測用器材 ☒ 體外診斷用器材 ☐ 手術與治療用器材 ☒ 輔助與彌補用器材其他類醫療器材 ☐ 疼痛管理器材 ☐ 低/非侵入性器材 ☐ 預防疾病與健康促進之設備及用品 ☐ 其他(請自填)
	篩選平台	☐ 抗體 ☒ 生物晶片 ☐ 細胞分析 ☐ 組合式分子生物 ☐ 組合化學 ☐ 高通量藥物篩選技術(HTS)噬菌體展示技術 ☐ 蛋白酶 ☒ 藥物篩選 ☐ 標靶藥物 ☐ 其他(請自填)
	藥物	☐ 止痛藥 ☐ 麻醉劑 ☐ 血管生成 ☐ 消炎 ☐ 抗生素 ☐ 抗體 ☐ 抗癌 ☐ 抗真菌 ☐ antisense ☐ 抗病毒 ☐ 細胞凋亡 ☐ 細胞訊息 ☐ 中樞神經系統 ☐ 疾病模型 ☒ 藥物輸送 ☐ 生育 ☐ 基因治療 ☐ 賀爾蒙 ☐ 免疫治療 ☐ 發炎 ☐ 新陳代謝 ☐ 天然物 ☐ 病原體 ☐ 胜肽 ☐ 前驅藥物 ☐ 蛋白質 ☐ RNAi ☐ 小分子藥物幹細胞 ☐ 疫苗 ☐ 病毒 ☐ 傷口癒合 ☐ 其他(請自填)
	基因體學	☐ allele ☐ 生物資訊學 ☐ cDNA ☐ DNA ☐ 流行病學 ☐ EST ☐ 基因 ☐ 基因型 ☐ homologue ☐ isogene ☐ 基因庫 ☐ 微陣列/微陣列分析軟體 ☐ 藥物基因體學 ☐ 聚合酶 ☐ 多型性 ☐ 定位選殖 ☐ 蛋白質體學 ☐ 受體 ☐ RNA ☐ 標靶驗證 ☐ 基因轉殖動物 ☐ 其他(請自填)
	研究工具	☐ 抗體 ☐ 細胞株 ☐ 色層分析 ☐ 細胞培養 ☐ 定向分子演化 ☐ DNA / RNA 定序 ☐ DNA / RNA 合成 ☐ 電泳 ☐ 酵素 ☐ 裝置 ☐ 表現系統 ☐ 雜交 ☐ 老鼠模式 ☐ 寡核苷酸合成 ☐ PCR 檢測 ☐ 蛋白酶 ☐ 蛋白質定序 ☐ 蛋白質合成 ☐ 試劑 ☐ RNAi ☐ 光譜 ☐ 載體 ☐ 其他(請自填)
	技術	☐ 抗體 ☒ 生物晶片 ☐ 顯影劑 ☐ DNA 探針 ☐ 造影成像 ☐ 分子標記 ☐ 放射性同位素 ☐ 檢測技術 ☐ 其他(請自填)
電資 通光	電子光電	☐ 光資訊技術 ☐ 光電半導體技術 ☐ 平面顯示技術 ☐ 背光技術 ☐ 軟性電子技術 ☒ 光學技術(含鏡片材料) ☒ 電子及光電構裝技術 ☐ 矽基半導體技術 ☒ 電磁/光電訊號檢測 ☐ 奈米電子技術 ☐ 其他(請自填)
	資訊通訊	☐ 有線網路 ☐ 語音 ☐ 資訊安全 ☐ 監控 ☐ 網際網路電話相關技術(VoIP) ☐ Web 相關技術 ☐ 智慧型資訊系統 ☐ 無線通訊技術 ☐ 射頻辨識技術及應用(RFID) ☐ 環境控制與感知技術 ☐ 數位視/音訊與多媒體技術 ☐ 光通訊技術 ☐ 電子商務 ☐ 嵌入式系統技術 ☐ 其他(請自填)
機能 材化	材料化工	☐ 添加劑 ☐ 觸媒 ☐ 塗料/塗佈 ☐ 電化學 ☐ 石墨烯 ☐ 導電高分子 ☐ 塑料/聚合/複合材料 ☐ 化學/生物分析 ☐ 奈米材料 ☐ 半導體材料/製程 ☐ 物料改質 ☐ 超導體 ☐ 分散均勻化 ☒ 光學薄膜 ☐ 其他(請自填)
	能源環工	☐ 替代/生質能源 ☐ 燃料電池 ☐ 化學/生物分析 ☐ 高電功率 ☐ 碳氫化合物 ☐ 儲能 ☐ 節能減碳 ☐ 太陽能/電池 ☐ 海洋工程 ☐ 醫學/診斷/器械/儀器 ☐ 環境整治 ☐ 土木工程 ☐ 水利工程 ☒ 感測/量測方法/系統 ☐ 其他(請自填)
	機械儀設	☐ 機械元件/裝置/設備 ☐ 分析儀器 ☐ 光學/激光機器人 ☐ 顯微技術 ☐ 導航(GPS) ☐ 光譜儀 ☐ 超音波 ☐ 電腦輔助設計/檢測 ☐ 圖像處理 ☐ 環境感測/感應器 ☐ 生理訊號感測 ☐ 致動器 ☐ 微機電/元件/系統 ☐ 微控制 ☐ 其他(請自填)
其他 (請自填)		

請務必填寫此附件

機 密
CONFIDENTIAL

附件三、國立臺灣大學研究成果基本資料表

本校案號：_____
(由產學合作總中心填寫)

提案日期：中華民國 104 年 7 月 21 日

一、發明名稱	中文：發展同時具有表面電漿共振以及電漿波導共振之微結構晶片以研究葡萄糖之跨細胞膜傳輸現象 英文：Development of Grating Structured Surface Plasmon Resonance Chip and Plasmon Waveguide Resonance/Surface Plasmon Resonance Combined Chip to Study Glucose Transport across Cell Membranes				
二、提案人	姓名	趙玲	服務單位	台大化工	職稱 助理教授
	電話	0978-033-090	e-mail	lingchao@ntu.edu.tw	
三、欲申請專利之目的 (可複選)	☒ 有意以本案為關鍵技術，新創事業，而需專利保護； ☒ 已有廠商願意技轉本案技術 / 洽談技轉事宜中； 廠商名稱 / 聯絡窗口： Bionavis 電話：_____ ☐ 本案之對應專利為科技產業之基礎專利(essential patent)，例如通訊產業或網際網路的通訊規格； ☒ 本技術所開發出之物品/設備，在結構上具創新性，故需專利保護，才能透過結構解析，來對照專利權之範圍，以確認是否被侵權。				
四、權利歸屬	☒ 臺大 ☐ 共有：與_____共有，共有比例為_____%：_____% (請填寫共有機構名稱) (臺大：共有機構) ☐ 其他：_____				

五、本申請案是否已公開？	※根據中華民國及美國專利法規定，凡案件於申請前已見於刊物或公開發表（含學位論文口試、學位論文電子全文及電子書目資料(含摘要)上網、學位論文紙本全文上架、學術刊物發表、學術研討會發表、媒體報導、上課講習、公開演講、參加展覽會、競賽發表…等公開事項），需於其事實發生後<u>六個月內</u>（若申請美國案為<u>12個月內</u>）提出申請方符合申請要件。 ■是(請續填以下) □否，未來預計會公開(請續填以下) □否 請註明公開事實及日期(若有多次公開，請條列) (1) <u>生物物理年會 2015(Biophysical annual meeting 2015): (2015.2.10)</u> (2) <u>學位論文口試: (2015.7.8)</u> ※<u>學位論文口試視同公開</u>，若採取以下手段，則可能認為不算公開(1)口試會議不以網路公告(2)口試時聽眾不能自由進出，避免對不特定人士揭露技術(3)所有參加口試會議者(含口試者)簽署保密同意書(請提供影本一份)。 ※學位論文繳交提醒：論文電子全文、電子書目資料(含摘要)及紙本論文若於網路上或圖書館供人查詢或閱覽也算是公開，若欲採取保密措施需於(1)本校電子學位論文服務系統上傳論文電子全文時，於系統上勾選<u>電子全文延後公開</u>，並另行填寫「<u>學位論文延後公開申請書</u>」向圖書館申請(2)<u>電子書目資料(含摘要)</u>及(3)<u>紙本論文延後公開</u>(注意：若於公開後才向圖書館申請延後公開，則仍以原公開日期為公開日) ※為維持申請專利內容之新穎性，請盡量在申請前勿公開相關內容。若已公開或預計公開請檢附已公開或預計公開之相關文件。																		
六、建議檢索關鍵字	中文：表面電漿共振，電漿波導共振，微米蝕刻結構，跨孔洞懸浮脂質膜，通道蛋白質 英文：surface plasmon resonance, plasmon-waveguide resonance, sub-micron grating structure, free-standing lipid membrane, transport membrane protein																		
七、發明人	※發明人欄位填寫說明： (1)發明人超過四位時，請自行複製發明人欄位使用。 (2)發明人請填寫<u>實際的發明人</u>，參酌美國專利實務上的認定，所謂發明人必須是對發明概念之形成及至少一項申請專利範圍之標的有所貢獻之人，才能稱為發明人。美國專利法規定，若列名之發明人未有發明之事實，則不得取得專利；若發明人記載錯誤，且可證明有「欺瞞之意圖」，則此專利權無法主張權利（單純接受指示，依所設計之實驗完成實驗結果者、提出需求者、提出產品缺點者等無實質貢獻者，不能算是發明人）。 (3)未來收益分配之有功人員不限於此專利申請案所列之實際發明人。 <table border="1" data-bbox="345 1821 1458 2112"> <tr> <td data-bbox="345 1821 394 1910"></td> <td data-bbox="394 1821 540 1910">姓名</td> <td colspan="3" data-bbox="540 1821 1458 1910">(中文/英文) 趙玲/ Ling Chao</td> </tr> <tr> <td data-bbox="345 1910 394 2000">1</td> <td data-bbox="394 1910 540 2000">服務單位</td> <td data-bbox="540 1910 1060 2000">國立台灣大學化學工程系</td> <td data-bbox="1060 1910 1206 2000">職稱</td> <td data-bbox="1206 1910 1458 2000">助理教授</td> </tr> <tr> <td data-bbox="345 2000 394 2112"></td> <td data-bbox="394 2000 540 2112">國 籍</td> <td colspan="2" data-bbox="540 2000 1060 2112">■中華民國 □其他：_____</td> <td data-bbox="1060 2000 1458 2112"> 身份證字號 或護照字號 A226029428 </td> </tr> </table>					姓名	(中文/英文) 趙玲/ Ling Chao			1	服務單位	國立台灣大學化學工程系	職稱	助理教授		國 籍	■中華民國 □其他：_____		身份證字號 或護照字號 A226029428
	姓名	(中文/英文) 趙玲/ Ling Chao																	
1	服務單位	國立台灣大學化學工程系	職稱	助理教授															
	國 籍	■中華民國 □其他：_____		身份證字號 或護照字號 A226029428															

		e-mail	lingchao@ntu.edu.tw	電話	CONFIDENTIAL 02-2922-2603
		聯絡地址	新北市永和區永利路 94 巷 7 號 2F		
	2	姓名	(中文/英文) 郭政融/ Cheng-Jung Kuo		
		服務單位	國立台灣大學化學工程系	職稱	碩士生
		國 籍	☒ 中華民國 ☐ 其他：_____	身份證字號 或護照字號	A126565294
		e-mail	r02524010@ntu.edu.tw	電話	02-2632-1810
		聯絡地址	台北市內湖區安康路 336 巷 1 號 3 樓		
	3	姓名	(中文/英文)		
		服務單位		職稱	
		國 籍	☐ 中華民國 ☐ 其他：_____	身份證字號 或護照字號	
		e-mail		電話	
		聯絡地址			
七、發明人 (續)	4	姓名			
		服務單位		職稱	
		國 籍		身份證字號 或護照字號	
		e-mail		電話	
		聯絡地址			
八、本申請案 所屬技術 領域別與 可能應用	本申請案 所屬技術領域		C12Q 包含酶或微生物之測定或檢測方法 G01N G02B 6/42		

範圍	可能應用範圍 (產業或產品)	(此欄位類似於技術推廣表中的『市場與需求』) 藥物篩檢平台、蛋白質運輸作用輔助偵測、吸附研究
		※本專利應用之可行性及潛在授權廠商： (1)本專利之技術與該國現有產品或技術之競爭性如何？ (2)依據本專利之產品或製程進入該國市場的可行性如何？ (3)若有任何公司曾與您接洽或詢問過相關技術，亦請提供。
	國家/地區	應用可行性及潛在授權廠商建議（請列舉並以文字說明）
	中華民國	富智科技，北極光生物科技，恆茂，福華，正茂生物科技
	美國	GE Healthcare Life Sciences, Bio-Rad, Biacore, Corning life sciences, Horiba, BiOptix, Biosensing Instrument, Reichert
	芬蘭	Bionavis

※發明人專利費用分攤說明：

經本研發成果所衍生之相關權益義務，將依「國立臺灣大學研究發展成果及技術移轉管理要點」辦理，有關專利申請費用之分攤及研發成果權利金及衍生利益之分配如要點第七點及第十二點，條文如下；另請留意，若有積累專利費用未繳納，將影響您後續申請新專利案之權益：

七、專利申請費用之分攤

經研發處審議通過據以申請專利者，專利申請之申請費、證書費、第一期專利年費、事務所手續費及其他依法令應繳納之專利規費等(以下簡稱專利申請費用)，依下列原則分攤：

- (一)申請之專利費用分攤比率如下：由校方負擔45%、發明人負擔50%、發明人所屬單位(院系所)負擔5%；有資助機關補助案件者，校方負擔55%、發明人負擔40%、發明人所屬單位(院系所)負擔5%。遇有特殊情況，研發長經財務副校長同意後，籌組專案小組評議，評議結果報請校長核准後，專利費用最高得由本校負擔95%。
- (二)本校依規定向資助機關申請補助專利相關費用而獲准後，其所申請之補助費用，由本校運用於研發成果管理維護及推廣。
- (三)研究經費由基金會或私人企業提供者，亦得由經費提供者自行向有關專利主管機關申請，本校不負擔相關費用，其智慧財產權之歸屬仍應依第二點規定辦理。
- (四)院系及相關單位不願負擔專利申請費用者，其負擔部分由學校負責，其相對技轉收入(如授權金及衍生利益金)歸屬學校。
- (五)專利審查過程中發明人有提出申復、補充、修正、答辯等情事者，前三次必要之費用依第一款規定比率分攤；第四次以上費用，由發明人先自行負擔，最後確認獲准通過時，再依第一款規定比率分攤。

發明人若欲放棄繳納應負擔之專利費用，應載明理由向專利承辦單位提出申請並經核准得放棄繳納。專利承辦單位催繳仍未繳納者亦視同放棄繳納。放棄繳納之專利案件數將列入後續審核專利申請之事由。

經財務處同意之投資案件，有關費用分擔於簽陳校長同意後，不適用前項規定。

十二、研發成果權利金及衍生利益之分配

技轉收入於扣除回饋資助機關、校方及發明人成本(含專利申請費用、年費)之部分後，依下列比率分配：

- (一)專利授權案件，其分配比率如下：校方20%、發明人70%、發明人所屬單位(院系所)10%。
- (二)第七條第一項第一款第三目之案件分配比率如下：發明人所屬單位(院系所)10%、發明人20%、其餘70%由校方及發明人分配比率依雙方出資比率決定之。
- (三)非專利授權案件，其分配比率如下：校方40%、發明人50%，發明人所屬單位10%。

本校研究中心向本校專利承辦單位提出專利授權案件之申請並經核准，得進行技轉類建教合作之推廣，若有收入則優先扣除15%提供予本校研究中心後，其餘由各單位依前項第一款之比例分配。

經財務處同意之投資案件，有關費用分配於簽陳校長同意後，不適用前項規定。

附件四、國立臺灣大學研究成果申請專利費用分攤協議書

一、請填寫案件資訊--

- 發明名稱：發展同時具有表面電漿共振以及電漿波導共振之微結構晶片以研究葡萄糖之跨細胞膜傳輸現象
- 本校編號（由產學合作總中心填寫）：
- 申請國別：中華民國

二、*發明人專利申請費用分攤說明：

- 專任教師在校任職期間，利用計畫或校方資源完成之研究而衍生之發明或其他智慧財產權，其智慧財產權為本校所有。
- 依「國立臺灣大學研究發展成果及技術移轉管理要點」第七點第一款及第十二點，本案發明人之專利申請費用分攤及權益收入分配比例如下，各比例亦將隨日後此管理要點或資助機關補助方案的變動而改變。
- 請留意，若有積累專利費用未繳納，將影響您後續申請新專利案之權益。

◎有資助機關補助之案件

專利費用分攤 比率方案		*專利申請費用分攤（%）			*權益收入分配比例（%）		
		校	發明人	院系所	校	發明人	院系所
資助機關 審核	通過	55	40	5	20	70	10
	未通過	45	50	5	20	70	10

◎無資助機關補助之案件

專利費用分攤 比率方案		*專利申請費用分攤（%）			*權益收入分配比例（%）		
		校	發明人	院系所	校	發明人	院系所
		45	50	5	20	70	10

- 專利申請過程中發明人應協助 STRIKE 系統登錄，以及答辯（含申復、補充、修正…等）之辦理；前三次答辯之必要費用依上述比率分攤，第四次以上費用，由發明人先自行負擔，於確認獲准通過時，再憑原始單據並依第一款規定比率分攤。
- 由發明人負擔之各項專利費用，以及未來可能衍生的權利金與利益分配，皆由提案人為支付或領取的代表，請提案人務必配合相關作業流程。
- 專利案總費用（新台幣；含各階段）概估：中華民國發明案約 15-35 萬/件、美國發明案約 60-85 萬/件。

三、本案經發明人同意依上述專利費用分攤比率辦理。

提案人：



（簽章+日期）

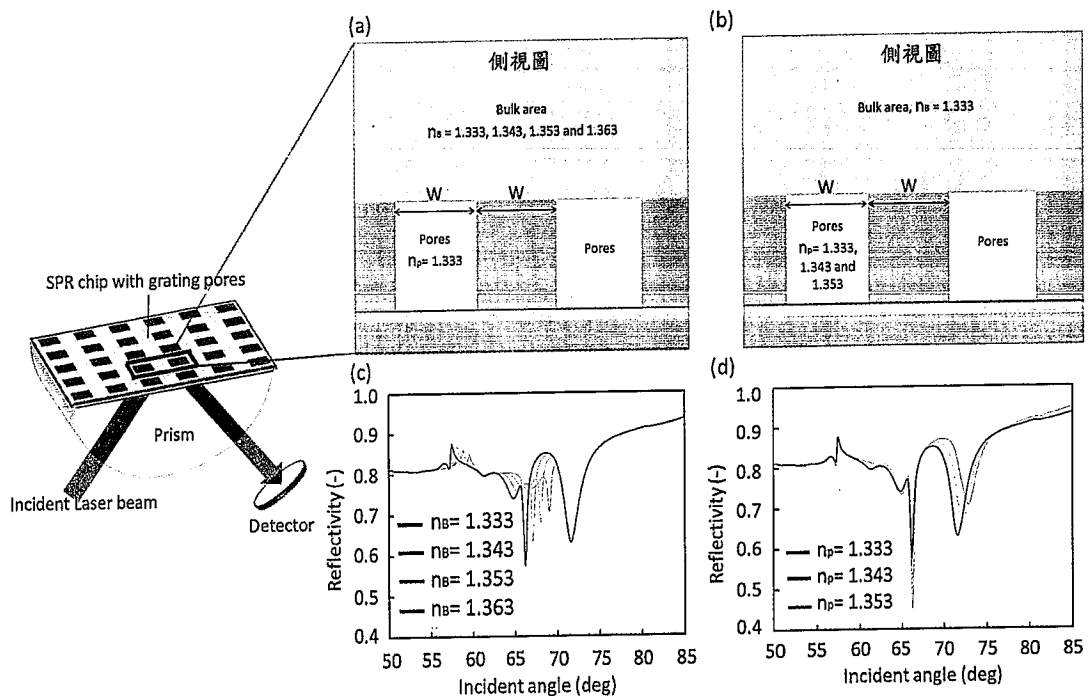
附件五、國立臺灣大學研究成果專利構想揭露書

(※此附件將提供給事務所，以利其了解本案技術內容；可自行擴充欄位)

一、專利類別	☒ 發明 ☐ 新型(於美國亦將提出發明專利申請) ☐ 設計 ※發明，指利用自然法則之技術思想之創作。 新型，指利用自然法則之技術思想，對物品之形狀、構造或裝置之創作。 設計，指對物品之全部或部分之形狀、花紋、色彩或其結合，透過視覺訴求之創作。
二、申請國家及理由	☒ 中華民國 ☐ 美國 ☐ 其他：_____ ※本校專利申請審查原則：以中華民國、美國兩國為優先考量，若欲申請其他國別(含歐盟、PCT)，則需請發明人依擬申請之國別提供以下三種狀況之說明文件，並經校方審查程序，如未附相關資料則無法審查。 (1)有廠商願意技術移轉；(2)有授權潛力；(3)市場評估良好。
三、發明背景及內容	(1)發明所欲解決之問題： 係指申請專利之發明或新型所要解決先前技術中存在的問題。

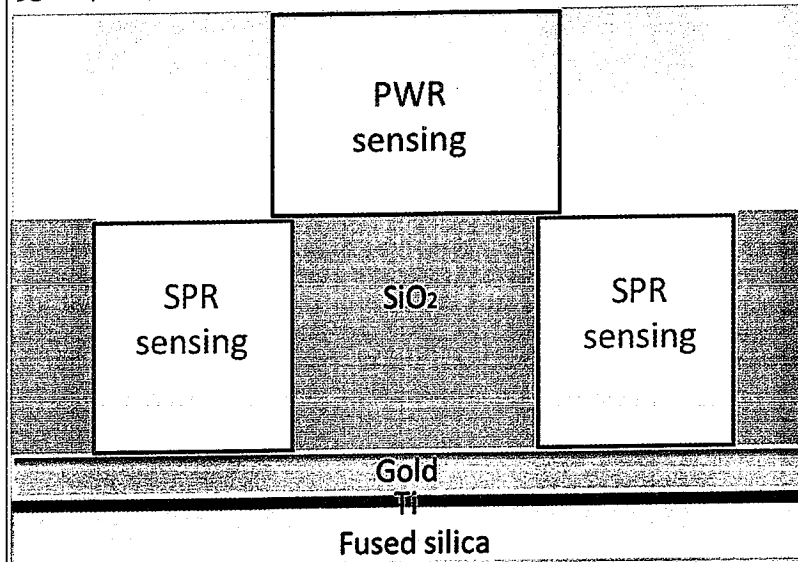
檢測物質通過膜蛋白跨膜運輸是研究生物生理機制的重要關鍵，相關的研
究對於藥物對膜上功能蛋白質的影響效應開發是有相當的幫助的。而過去所使
用的技術如膜片箝制技術(Patch clamp)、螢光標定(Fluorescence dye)、放射
物質標定(Radioactive flux assays)、FRET 表面改質電位量測(FRET based
voltage measurement)主要會有需要尋找額外標記物質(Label)的使用、需要進
行細胞膜表面化學改質或只能針對帶電物質做量測的限制。使用表面電漿共振
及其衍伸的方法可以解決上述問題，在不需要使用特定標記物質的情況下進行
量測，補足目前技術無法檢測的領域而能夠應用在更廣泛的生物物質經膜蛋白
傳輸量測。

整體概念如圖一所示，利用在晶片上形成微米級陣列孔洞結構作為具有通
道蛋白質之支撐式脂雙層膜形成的位置，由其作為區分孔洞內(pore area)外(bulk
area)的空間得的阻隔物。在圖一 a 中，當洞外的總體溶液(bulk area)因為物質
(ex: 葡萄糖)濃度增加而使折射率提昇，且洞內區域因為阻隔而維持不變時，
此種改變主要由電漿波導共振感應，其模擬結果由圖一 c 所示，此偏移的共振
峰稱為”電漿波導共振相關峰”；在圖一 b 中，當物質(ex: 葡萄糖)累積至蝕
刻之孔洞內部時，使得孔洞內部溶液折射率因濃度提升而增加，並藉由表面電
漿共振感測到其變化，其共振角偏移模擬結果由圖一 d 所示，此偏移的共振峰
稱為”表面電漿共振相關峰”。



圖一、(a) 晶片孔洞結構側視圖，孔洞外部之總體溶液折射率提升，而孔洞內部
溶液則維持固定折射率 (b) 晶片孔洞結構側視圖，孔洞外部之總體溶液折射率
不變，而孔洞內部溶液折射率提升 (c) 使用 COMSOL 模擬圖一 a 的結果 (d) 使
用 COMSOL 模擬圖一 b 的結果。

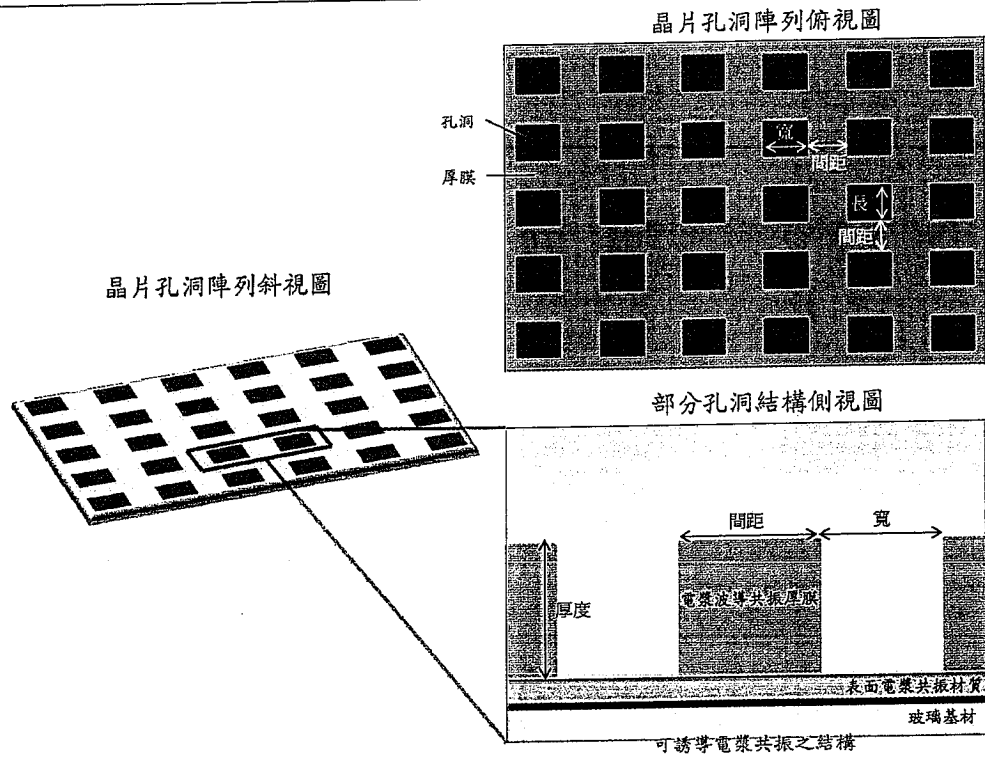
我們設計出同時具有表面電漿共振以及電漿波導共振之微結構晶片，如圖二所示，並展示出將表面電漿共振及電漿波導共振兩種結構結合後形成晶片的不同偵測區域的情形，孔洞內部主要由底層(ex: Gold)表面電漿共振(surface plasmon resonance)感測，在應用中對應檢測物質在孔洞內的物質累積或吸附；波導厚膜(ex: SiO₂)上以及孔洞外的區域則由電漿波導共振(plasmon-waveguide resonance)感測，在應用中對應檢測孔洞外溶液濃度改變、厚膜表面細胞膜形成或其表面上物質吸附事件



圖二、晶片的整體感應偵測區塊示意圖

(2) 解決問題之技術手段：

即欲獲得專利保護之主要技術特徵，請條列本案相較於先前技術具有創新、進步或功效等獨特技術部分，做為撰寫申請專利範圍之參考。



圖三、設計晶片之斜視、俯視及側視圖，並相關尺寸區域名詞定義。

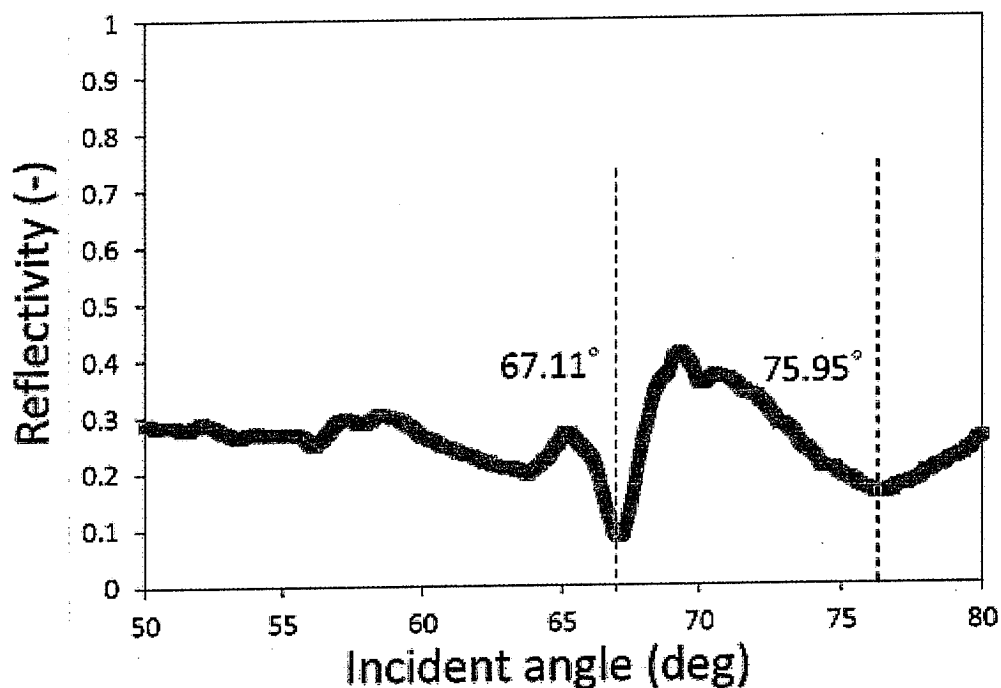
下列提及之位置如圖三所示。

1. 可誘導表面電漿共振發生之材料上鍍的厚膜材料可以為二氧化矽(SiO_2)、氧化鈦(TiO_2)、氧化鋁(Al_2O_3)、四氮化三矽(Si_3N_4)以及鐵氟龍(Teflon)等介電材質(dielectrics)及高分子材質，或使用石墨烯等可導電非金屬材料，厚度為50~1000 nm，因此厚度區間為厚膜形成電漿波導共振之較佳條件。
2. 於二氧化矽(SiO_2)、氧化鈦(TiO_2)、氧化鋁(Al_2O_3)、四氮化三矽(Si_3N_4)以及鐵氟龍(Teflon)等介電材質(dielectrics)及高分子材質，或使用石墨烯等可導電非金屬材料之厚膜上蝕刻出孔洞陣列。孔洞蝕刻尺寸為長和寬0.01~10微米；洞和洞的間距尺寸為0.01~10微米。
3. 使用玻璃基材及稜鏡為熔融石英(Fused silica)之低折射率材質，折射率為 $n=1.458$ ，可使表面電漿共振以及電漿波導共振兩個共振峰區分的更清楚。
4. 此結構之構成為鍍二氧化矽(SiO_2)、氧化鈦(TiO_2)、氧化鋁(Al_2O_3)、四氮化三矽(Si_3N_4)以及鐵氟龍(Teflon)等介電材質(dielectrics)及高分子材質，或使用石墨烯等可導電非金屬材料至如金(Au)、銀(Ag)、銅(Cu)、鋁(Al)等可誘導表面電漿共振效應之材質上，或者能誘導表面電漿共振之結構上，如光柵(grating)或其他材料之奈米結構。厚膜和共振層中間並不使用鈦或鉻等黏附層(adhesion layer)，而選用熱退火(annealing)技術，以增加曲線訊號反應的變化量，提高訊號解析度。
5. 使用之光源為可誘導表面電漿共振之可見光，如波長632.8nm或不可見光區間之常用激發電磁波。
6. 蝕刻形成孔洞使最底部的材料表現出之表面電漿共振的行為，偵測的主範圍為孔洞內部之溶液區域。
7. 未被蝕刻的部分保留厚二氧化矽(SiO_2)、氧化鈦(TiO_2)、氧化鋁(Al_2O_3)、四氮化三矽(Si_3N_4)以及鐵氟龍(Teflon)等介電材質(dielectrics)及高分子材質，或使用石墨烯等可導電非金屬材料之厚膜，和底部如金(Au)、銀(Ag)、銅(Cu)、鋁(Al)等可誘導表面電漿共振效應之材質上，或者能誘導表面電漿共振之結構上，如光柵(grating)或其他材料之奈米結構耦合形成電漿波導共振的行為，偵測的主範圍為孔洞外部溶液或者厚膜上的支撐式脂雙層膜形成及吸附等事件。
8. 未被蝕刻的厚膜部分，同時可以成為支撐式脂雙層膜形成的位置。
9. 進行共振角偵測時，同時出現對應於表面電漿共振行為以及電漿波導共振行為的雙共振曲線。
10. 雙共振角可以有各自對應環境變化而產生的偏移。

(3) 對照先前技術之功效：

係指前述技術手段所產生的技術效果。(等同於技術推廣表『本技術之優勢』)

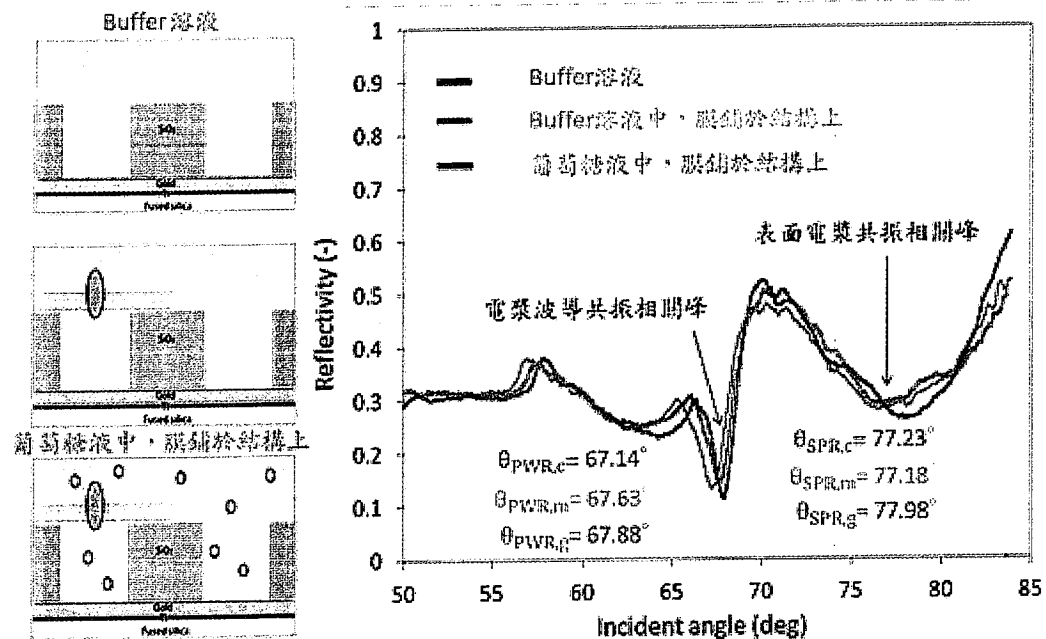
我們使用製造出來的同時具有表面電漿共振及電漿波導共振之晶片於不同環境下進行測試，結果如圖四所示。角度掃描曲線中產生雙峰的特性，較小的角度峰為電漿波導共振相關峰(PWR associated peak)，共振角為67.11度；較大為表面電漿共振相關峰(SPR associated peak)，共振角為75.95度。接下來的例子將顯示，當我們改變孔洞內的溶液環境或折射率時，表面電漿共振相關峰會產生偏移；當我們改變孔洞外的溶液環境或折射率時，電漿波導共振相關峰會產生偏移，雙峰的特性讓我們可以同時量測孔洞內和孔洞外的環境變化，本技術具有能同時偵測到對應到樣品不同區間之性質的雙共振角，是之前任何表面電漿技術都無法達到的特性。



圖四、晶片之角度對反射率作圖，曲線中呈現出雙峰特性。

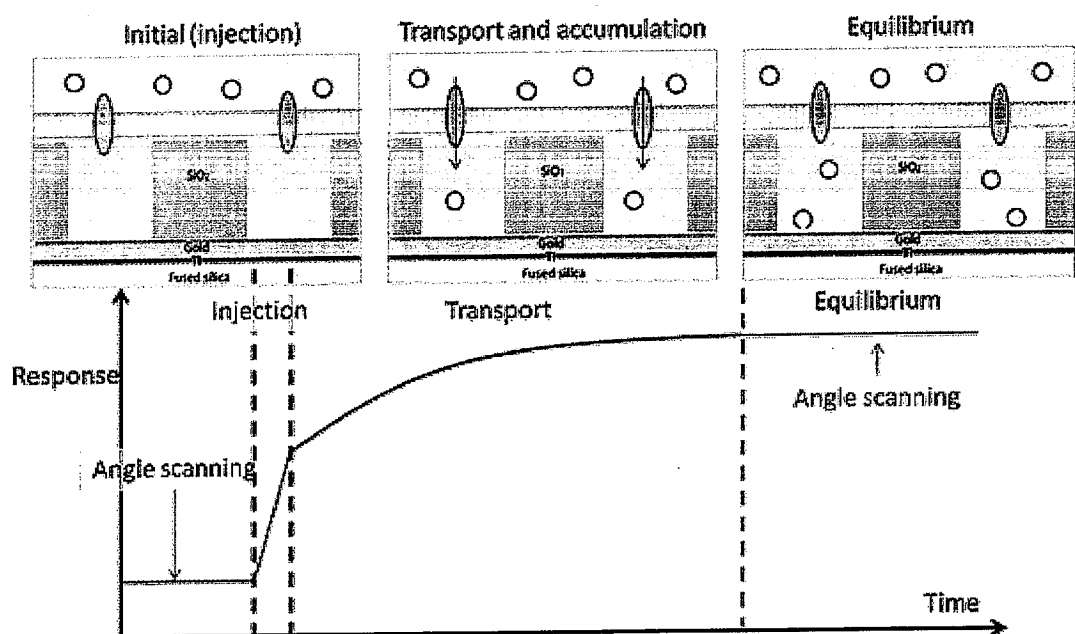
使用此晶片進行支撐式脂雙層膜之鋪膜以及溶液置換實驗，結果如圖五所示。一開始於buffer中我們可得到藍色的曲線。而在相同環境之下鋪完支撐式脂雙層膜之後，形成橘色的曲線，由於二氧化矽表面的折射率因膜的形成而有平均折射率上升的情況，因此偵測此區塊的電漿波導共振相關峰會產生偏移，共振角度從藍色的67.14度偏移變大為67.63度。然而此時孔洞內部的溶液環境仍然是buffer，因此表面電漿共振相關峰則只有相當小的0.05度偏移值。而後在相同鋪膜環境下將溶液環境改換成有4.6%葡萄糖之buffer溶液，形成綠色曲線。由於葡萄糖buffer溶液折射率較本來的buffer溶液更高，因此孔洞內部的改變由表面電漿共振相關峰進行偵測時，我們發現到其共振角由77.18度偏移至77.98度。但是因為置換溶液時，會連同孔洞外所有溶液的置換成葡萄糖buffer

溶液，而此區間是電漿波導共振相關峰的偵測範圍，因此我們同時觀察到其共振角從67.63度偏移至67.88度的情形。由此實驗中我們展現出了其雙峰確實具有各自對應外界折射率改變而產生共振角偏移的效果。



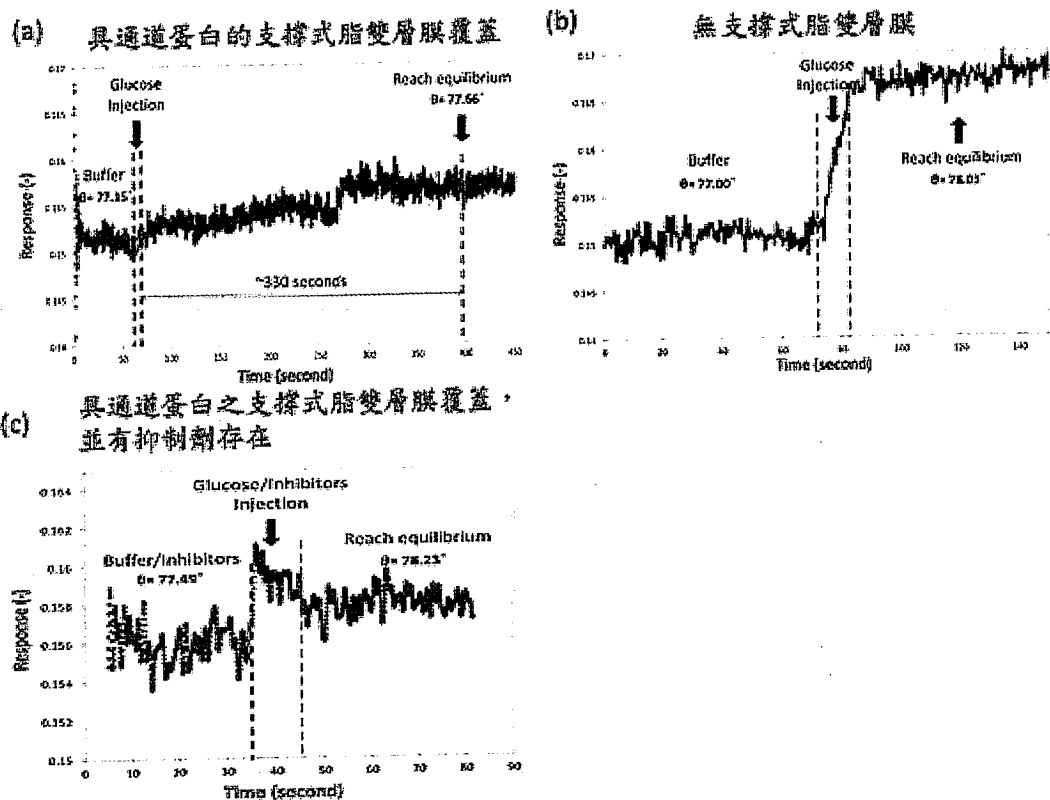
圖五、晶片在鋪支撐式脂雙層膜後，以及溶液置換後產生的共振峰偏移情形。

而後我們使用此晶片，於動態量測(Real time detection)下進行葡萄糖藉由運輸蛋白質跨膜運輸測試，示意圖如圖六所示。由於孔洞內部物質累積的區塊是由表面電漿相關峰偵測，因此我們在實驗中觀察表面電漿共振相關峰，固定入射光角度為77.00度，量測隨時間過去後所反射的訊號。物質累積越多，孔洞內部溶液平均折射率越高，訊號強度也會越高，直到達到新的平衡而停止。



圖六、注射完葡萄糖之後，葡萄糖順著濃度梯度傳輸進孔洞中，而有訊號(response)上升的情形。

我們將實驗的結果呈現於圖七中。圖七 a 顯示為具有通道蛋白質的支撐式脂雙層膜存在的情況，葡萄糖藉由膜上蛋白質運輸而形成訊號逐漸上升的情況，其訊號注射後至平衡所花時間約為 330 秒；相較於圖七 b 沒有膜形成的情況，注射後的物質可以藉由擴散和對流迅速達到平衡訊號，因此訊號改變只發生在注射期間；圖七 c 中，具有通道蛋白質的支撐式脂雙層膜存在的情況下，因為抑制劑的存在使的通道蛋白失去功能，因此不會有緩慢運輸的現象，訊號改變主要只出現在注射期間。



圖七、葡萄糖跨膜運輸至孔洞中累積之動態偵測訊號圖。

由以上實驗，我們顯示了此晶片也可以應用在傳統表面電漿共振之動態偵測實驗；而我們在未使用任何標定物質和細胞膜表面改質的程序下，即可以觀察到物質(ex: 葡萄糖)傳輸累積的訊號變化。

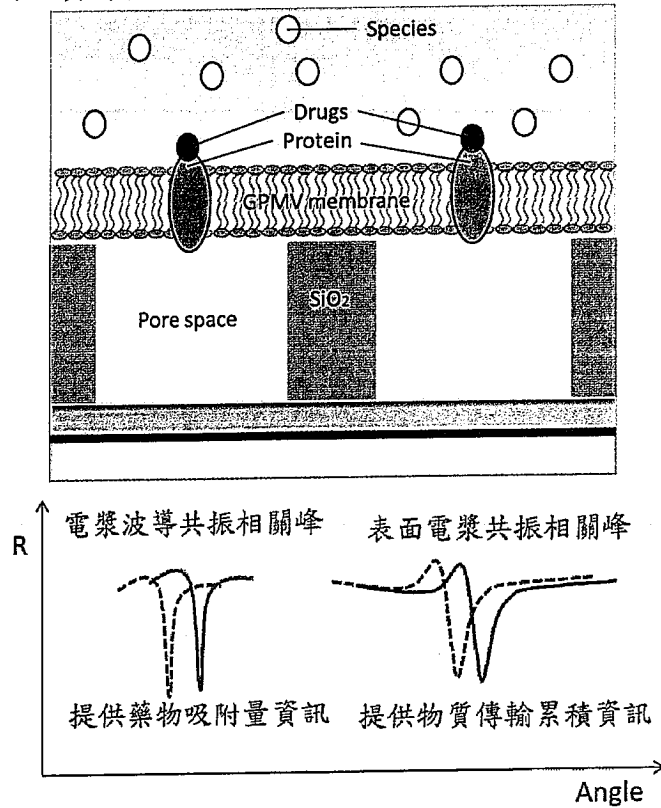
綜合以上的結果，我們成功設計出可以同時具有表面電漿共振以及電漿波導共振之微結構晶片，並在角度對反射率的圖中顯示出雙共振峰的特性；而各自為(1)電漿波導共振相關峰，主要偵測範圍為孔洞外部溶液以及二氧化矽表面上的膜形成或吸附事件(2)表面電漿共振相關峰，主要偵測為孔洞內部物質跨膜運輸而累積的訊號。這兩種共振峰可以有相當的自主性各自針對外界改變而產生共振角的偏移，比較起傳統的表面電漿共振等衍伸技術可望提供更高密度的資訊量。

進行葡萄糖運輸示範實驗時，我們展現出了此平台無需使用標定物質，也不需使用細胞膜的表面改質即可進行訊號測量，有助於保留待測細胞膜及其蛋白質的自然情況；此技術聚焦於偵測折射率的改變(物理特性偵測)，讓此平台

	可偵測的物質範圍可以有部分離子以及許多不帶電分子，可望和其他物理學鍵結或反應方法配合使用，增加此平台針對特定物質的區分度；由此實驗中我們捕捉到物質運輸的動態資訊，顯示了此技術有助於未來對通道蛋白質運輸物質的研究，對於成為生物及藥物檢測平台方面有潛在的發展潛力。 Reference 1. Homola, Jiří, Sinclair S. Yee, and Günter Gauglitz. "Surface plasmon resonance sensors: review." Sensors and Actuators B: Chemical 54.1 (1999): 3-15. 2. Salamon, Zdzislaw, and Gordon Tollin. "Optical anisotropy in lipid bilayer membrane coupled plasmon-waveguide resonance measurements of molecular orientation, polarizability, and shape." Biophysical journal 80.3 (2001): 1557-1567. 3. Hao, Feng, et al. "Symmetry breaking in plasmonic nanocavities: subradiant LSPR sensing and a tunable Fano resonance." Nano letters 8.11 (2008): 3983-3988.
四、本發明之實施方式	請舉出至少一項關於本發明之較佳實施方式或具體實施例，可配合圖示說明，使所屬技術領域中具有通常知識者能了解其內容並可據以實施。 (本項可於本表格說明或以技術文件、論文等代替)

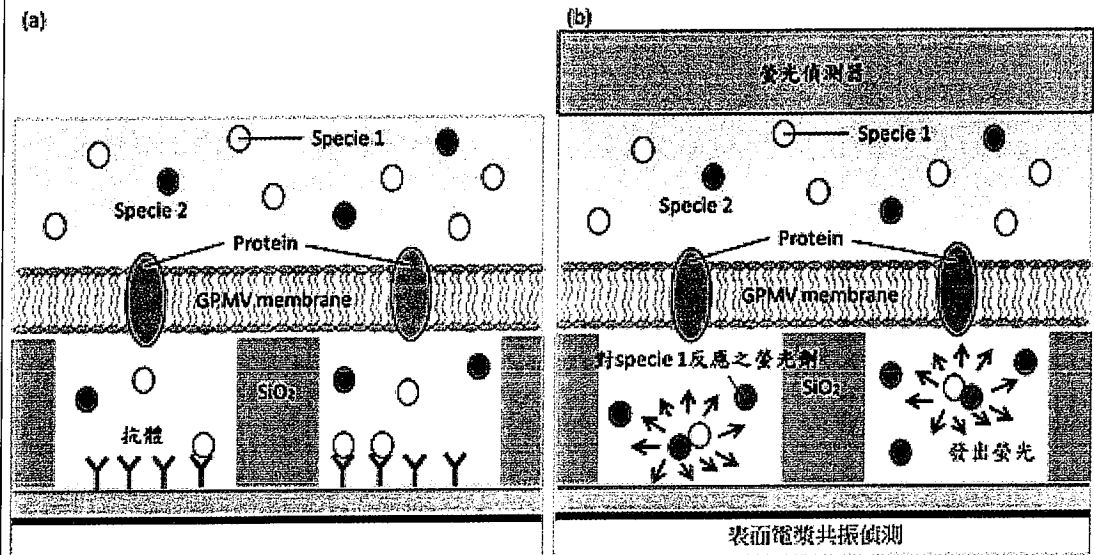
1. 藥物對通道蛋白質作用之檢測平台

如圖八所示，藥物在膜表面和蛋白質吸附後，由電漿波導共振相關峰可知道吸附事件，並於此時由表面電漿共振相關峰偵測藥物對蛋白質吸附後，造成的物質傳輸能力的抑制或刺激效果。應用於藥物候選人之效果篩選平台。



2. 和其他化學鍵結或螢光藥劑等化學方法結合之平台

如圖九所示，可於孔洞內偵測表面上加上對特定物質反應之抗體(圖九 a)，或於溶液中加入可對特定物質反應標定的藥劑(ex: 螢光於圖九 b)，當有兩種以上物質皆能被運輸進入時，增加共振角的區別度和靈敏度，或作為相互對照的輔助資訊。有潛力提供較可廣泛應用的方法，和現行其他化學方法作結合，形成提供更多資訊面向的新型平台。



圖九、(a) 平台結合抗體之輔助而提升對傳輸物質的區分度 (b) 平台結合其他化學方法如螢光以對物質運輸提供更多資訊

附件六、相關文獻陳報表

※請條列與本案技術領域相關之文獻，包含但不限於提案人或發明人之相關專利、論文等。

1. 專利(包含申請中及已獲證案件，請至少寫出申請國別及申請案號/獲證號)

(1)

(2)

2. 其他(該文獻若無法於網路上輕易取得，請檢附相關文件影本 1 份)

表一、過去技術與本技術之靈敏度、偵測範圍及共振曲線比較

	共振 峰數	靈敏度 (deg/RIU)	偵測範圍	延伸應用可能
傳統表面電漿 共振 (Conventional SPR, prism based) ¹	1	191(under 632.8nm)	單區間，金屬表 面 200 nm 內變 化	抗體或藥物作 用、生物膜
電漿波導共振 (PWR or CPWR) ²	1	-	單區間，波導層 表面 1000 nm 內 變化	抗體或藥物作 用、生物膜
局部表面電漿 共振 ³ (LSPR)	1	-	單區間，局限於 奈米粒子表面 40 nm 內變化	抗體或藥物作 用、拉曼散射光譜 (SERS)
同時具有表面 電漿共振及電 漿波導共振之 微結構晶片	2	表面電漿 共振相關 峰：65 電漿波導 共振相關 峰：95	雙區間 孔洞內金屬表 面；孔洞外波導 層表面	抗體或藥物作 用、生物膜、膜蛋 白運輸行為。有潛 力和其他技術結 合如奈米粒子或 螢光標定技術。

表二、過去技術與本技術應用於運輸蛋白質行為偵測之比較

	時間解析度	提供訊息	限制
膜片箝制技術 ¹ (Patch clamp)	Milliseconds	離子通道蛋白質 開合頻率及速率	價格高昂，操作難度 高
螢光標定 ¹ (Fluorescence dye)	Seconds to minutes	目標物質(離子或 不帶電分子)累積 量	需找到和待測物 質對應之螢光標 定染劑
放射物質標定 ¹ (Radioactive flux assays)	Seconds to minutes	目標離子藉蛋白 流通之通量	放射性物質對於 生物系統有潛在 傷害
FRET ¹ 表面改質電位量測	Seconds	帶電分子或離子 透膜運輸產生之 電位差	需針對細胞膜進 行表面改質
同時具有表面電漿共振 及電漿波導共振之微結 構晶片	Seconds	目標物質(部分離 子及不帶電分子) 累積量	只能感應平均折 射率改變，無法區 分特定物質

第 1890 次 討論 2532 102/06/19 (第 1890 次通過)

102年度 【發展光誘導圖刻仿生膜平台之實驗與理論以分離細胞膜物質】3年期經費核定總表

執行機構：國立臺灣大學

主 持 人：趙玲

助理教授(化學工程學系暨研究所)

年 度	業 務 費	研究設備費	國外差旅費	吳大猷獎	管 理 費	合 計	繳交報告時間 報 告 種 類
102	834,000	235,000	80,000	-----	75,000	1,224,000	103年7月底前 期中進度報告
103	784,000	250,000	80,000	-----	73,000	1,187,000	104年7月底前 期中進度報告
104	734,000	250,000	80,000	-----	69,000	1,133,000	105年12月底前 期末報告
合 計	2,352,000	735,000	240,000	-----	217,000	3,544,000	
全程執行期限：102/10/01 ~ 105/09/30 計畫編號：NSC 102-2221-E-002 -153 -MY3							

研究類型：新進人員研究計畫(個別型)

學門名稱：生化及生醫工程

流水號：102WFA0100286

研究性質：導向性基礎研究

承辦人：文端儀

研究成果歸屬：國立臺灣大學

撥款方式：3年經費分6期撥付，計畫主持人須於期中各年計畫執行期滿前二個月，至本會網站線上繳交進度報告，以憑核撥經費各項費用之支用請依「行政院國家科學委員會補助專題研究計畫經費處理原則」規定辦理。

The availability of a system such as the MS2-GFP fusion protein, which directly labels the mRNA, has allowed obtaining an estimation of the RNA polymerase elongation speed in living cells. There is however a large heterogeneity observed in RNA Polymerase II (PolII) elongation rates measured from fluorescence assays.

To shed further light on the source of this heterogeneity we introduce and discuss here a novel method based on the phasor analysis of steady state MS2-mRNA fluorescence trajectories. When applied to the study of PolII kinetics, we demonstrate that this approach allows resolving PolII elongation rates in a range from a few to hundreds of basepairs per seconds.

In order to couple this information to what happens to mRNA molecules once they leave the active transcription site, we combine 3D orbital particle tracking with Pair Correlation Analysis to investigate the diffusive routes taken by mRNA molecules within the nucleoplasm. With this approach we observe that the time an mRNA molecule takes to leave the transcription site is highly variable, ranging from a few to tens of seconds. Work supported in part by Grants NIH P41-GM103540 and NIH P50-GM076516

1630-Pos Board B581

Nanoscale Protein Diffusion by STED-Based Pair Correlation Analysis
 Ranieri Bizzarri¹, Paolo Bianchini², Francesco Cardarelli³, Mariagrazia Di Luca¹, Alberto Diaspro⁴.

¹Laboratorio NEST, Istituto Nanoscienze, CNR, Pisa, Italy, ²Nanophysics, IIT—Italian Institute of Technology, Pisa, Italy, ³Center for Nanotechnology Innovation @NEST, IIT - Italian Institute of Technology, Pisa, Italy, ⁴Nanophysics, IIT - Italian Institute of Technology, Genova, Italy.

We describe for the first time the combination between cross-pair correlation function analysis (pair correlation analysis or pCF) and stimulated emission depletion (STED) to obtain diffusion maps at spatial resolution below the optical diffraction limit (super-resolution). Our approach was tested in systems characterized by high and low signal to noise ratio, i.e. Capsid Like Particles (CLPs) bearing several (>100) active fluorescent proteins and monomeric fluorescent proteins transiently expressed in living Chinese Hamster Ovary cells, respectively. The latter system represents the usual condition encountered in living cell studies on fluorescent protein chimeras. Spatial resolution of STED-pCF was found to be about 110 nm, with a more than twofold improvement over conventional confocal acquisition. We successfully applied our method to highlight how the proximity to nuclear envelope affects the mobility features of proteins actively imported into the nucleus in living cells. Remarkably, STED-pCF unveiled the existence of local barriers to diffusion as well as the presence of a slow component at distances up to 500-700 nm from either sides of nuclear envelope. The mobility of this component is similar to that previously described for transport complexes. Remarkably, all these features were invisible in conventional confocal mode.

1631-Pos Board B582

Analysis of Trabecular Bone Architecture using Two Photon Fluorescence Microscopy

Hemanth Akkiraju¹, Christopher Price², Liyun Wang², Jeffrey Caplan³, Anja Nohe¹.

¹Biological sciences, University of Delaware, Newark, DE, USA,

²Mechanical Engineering, University of Delaware, Newark, DE, USA,

³Delaware Biotechnology Institute, University of Delaware, Newark, DE, USA.

Biomechanical competence of trabecular bone is dependent on the makeup of its architecture. Alterations in the trabecular architecture can lead to fractures in metabolic bone diseases like osteoporosis. Therefore, it is paramount to understand the signaling mechanisms that dictate these changes in bone growth and fracture repair. Two photon fluorescence microscopy revolutionized the imaging of biological specimens utilizing its unique capabilities. The three-dimensional (3D) imaging based on nonlinear excitation of the fluorophores brings multiple advantages for imaging skeletal tissue. However, noise generated by the subsurface signal and auto-fluorescence of the local tissue make imaging of trabecular bone problematic. Imaging of calcified tissue presents a unique challenge to address the aberrations produced through the noise generated. Also a general practice of immunolabeling of the plasticized bone for antigen stability are to be optimized. We demonstrate here for the first time using two-photon fluorescence imaging of trabecular bone and its architecture identifying the structural differences and cell populations lining the trabecular cavity and also the cells embedded in it. Furthermore, we developed a shortened method of immunohistochemistry for plastic embedded bone tissue providing antigen stability for antibody labeling. Two photon fluorescence imaging greatly reduces photo damage and helps image of specimens of uneven planes to submicrometer resolution making this an ideal source for imaging in vivo signaling of trabecular bone. We demonstrate here labelling of multi colored

fluorophores measuring Smad and ERK activity in trabecular bone growth in mice that are systemically injected with Bone Morphogenetic Protein 2 (BMP2). We optimized the conditions for in vivo imaging of bone tissue that is calcified and plasticized. We demonstrate here two photon fluorescence microscopy of the trabecular bone can be used for understanding the molecular mechanisms which control bone growth and development in vivo.

1632-Pos Board B583

Non-Linear Microscopy of Mitochondrial Damage and Abnormal Lipid Metabolism in Beta-Amyloid Expressing Yeast

Nisha Rani Agarwal^{1,2}, Xin Chen³, Kumaravel Ponnandai Shunmugavel³, Dina Petranovic³, Annika Enejder¹.

¹Molecular microscopy, Chalmers University of Technology, Gothenburg, Sweden, ²Plasmon technologies, Istituto Italiano di Tecnologia, Genova, Italy, ³Systems Biology, Chalmers University of Technology, Gothenburg, Sweden.

One of the earliest pathological hallmarks of Alzheimer's disease is the formation of soluble β -amyloid ($\text{A}\beta$) oligomers, also believed to be the primary neurotoxic agents long before the accumulation of amyloid plaques. However, the mechanisms by which the $\text{A}\beta$ oligomers cause cell dysfunction and eventually cell death are poorly understood. The yeast *Saccharomyces cerevisiae* has here emerged as a valuable model for systemic studies of the intracellular cytotoxicity of $\text{A}\beta$ species, revealing that $\text{A}\beta$ transits through the different endocytic compartments and disrupts cell-, mitochondrial-, lysosomal- and ER membranes (for a review of the different aspects of amyloid-membrane interactions) finally activating the mitochondrial apoptotic pathway. In order to form a deeper understanding for the cause and consequences of mitochondrial damage, seemingly one of the central cytotoxic mechanisms, we have done a multi-parametric study on living GFP- $\text{A}\beta 42$ expressing yeast using non-linear microscopy. The intracellular distribution of GFP-labelled $\text{A}\beta 42$ was correlated with the corresponding distribution and morphology of mitotracker-labelled mitochondria by means of 2-photon fluorescence microscopy. Furthermore, the consequences of the dysfunctional mitochondria and the resulting oxidative stress were visualized by the monitoring of the general NADH levels based on their 2-photon-excited intrinsic fluorescence and the content and distribution/morphology of lipid stores by means of CARS microscopy (probing natural carbon-hydrogen vibrations). We could observe how $\text{A}\beta$ -expressing yeast accumulates significant amounts of lipid stores and follow their coalescence to larger store units, which can be recognized as a general stress response, in this case most likely due to oxidative stress.

1633-Pos Board B584

Using Surface Plasmon Resonance to Study Species Transport across Lipid Membranes

Cheng-Jung Kuo, Chao Ling.

National Taiwan University, Taipei, Taiwan.

Studying species transport across lipid membranes by membrane transport proteins is important for various biological applications. Although patch-clamp technique is well developed for recording the ion transport across lipid membranes, the technique requires well trained personals for the challenging and delicate operation. In this study, we demonstrated using the surface plasmon resonance (SPR) based platform to detect the concentration change of the target species across the lipid membrane. We created sub-micron sized pore structure on the platform, in which the bottom surface is gold and the top surface is silica, and spanned lipid membranes over the pore. The process created a space inside the pore separated from the outside environment by the free-standing lipid membrane for further studying the species transport across the membrane. The platform geometry allowed us to combine plasmon-waveguide resonance (PWR) to the system to simultaneously monitor the refractive index change in the pore space, which is correlated to the target species concentration, and the refractive index change on the membrane above the top silica surface, which is correlated to the binding events occurring on the membrane surface. We expect to use this platform to monitor how various inhibitors or ligands could influence the transport dynamic of interested membrane transport proteins.

1634-Pos Board B585

Applications of High Resolution Surface Plasmon Resonance Imaging to Adherent Cells: Single Mammalian Cells to Bacterial Biofilms

Alexander W. Peterson, Michael Halter, Alessandro Tona, Nancy J. Lin, John T. Elliott.

Biosystems and Biomaterials Division, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA.

High resolution surface plasmon resonance imaging (SPRI) allows label-free imaging of subcellular features when performed using a high numerical aperture objective lens with a digital light projector to precisely position incident angle excitation. The SPRI signal is a result of the mass of material within

保密同意書（論文口試） 2014.8.6版

緣立書人等（以下稱立書人）將參與國立臺灣大學（以下稱臺大）化工系（所）中心 郭政融（以下稱揭露方）於民國104年7月8日之論文口試並了解該論文所涉之「研發成果」，臺大及揭露方擬將「研發成果」相關「機密資訊」告知或交付立書人。立書人瞭解臺大及揭露方所告知或交付之「機密資訊」，內含臺大所擁有之「研發成果」或技術秘密重要智慧財產權之法定權利或期待利益。為保持所知悉或交付資訊之機密性，立書人同意遵守下述之保密事項：

- 一、所謂「研發成果」係指揭露方進行之研究（研究名稱：Development of Grating Structured Surface Plasmon Resonance Chip and Plasmon Waveguide Resonance/Surface Plasmon Resonance Combined Chip to Study Glucose Transport across Cell Membranes.）相關之專利、著作權、積體電路佈局、營業秘密、電腦軟體、專門技術（know-how）及其他技術資料等智慧財產權。
- 二、所謂「機密資訊」，係指與臺大之「研發成果」相關之一切商業上、技術上或生產上尚未公開之秘密，或依一般商業及法律觀念，應視為機密之物品、文件及資料等，包括但不限於論文口述內容以及相關書面、圖樣、電腦或磁碟片檔案、錄音、錄影帶或光碟片資料檔案等，凡立書人自臺大或揭露方因上揭論文口試所取得、知悉或接觸的一切資訊均屬之。
- 三、「機密資訊」不包括以下的資訊：
 - （一）已有書面證據證明臺大或揭露方所交付或告知之資訊為立書人所已知；
 - （二）已見於公開發行之刊物或出版品等欠缺機密性質之資訊；
 - （三）經臺大事先書面同意立書人公開或揭露給第三人之資訊；
 - （四）立書人從不須承擔任何保密義務及責任的第三人處合法取得者。
- 四、立書人保證嚴守保密之義務，除臺大及揭露方自行公開「機密資訊」外，非經臺大及立書人書面同意，絕不以任何方式使其他第三人知悉或持有任何「機密資訊」，更不得自行利用或以任何方式使第三人利用「機密資訊」或取得任何權利。
- 五、立書人違反本同意書或有任何因可歸責於立書人的事由，致使「機密資訊」被洩露者，除應由該立書人負擔相關法律責任外，

並應給付臺灣大學新台幣壹仟萬元之懲罰性損害賠償。

- 六、若臺大及揭露方將該等「機密資訊」對外公開或解除其機密性者，立書人亦同時解除對該等「機密資訊」之保密責任。
- 七、本同意書之條款，如部份無效或無法執行，不影響其他條款之效力。
- 八、凡因本同意書而生之爭議，雙方同意先本誠信原則磋商之，磋商不協時，同意以臺灣臺北地方法院為第一審管轄法院。

此致

國立臺灣大學 暨 揭露方

立書人

就學/任職單位	姓名 (正楷親簽)	身分證號	戶籍地址
台大化工	趙 玲	A226029428	新北市永和市永利路94巷7號2F
中研院理化所	史有伶	Y220048839	台北市南港區研究院路二段=巷2F
海大機械	林 資 榕	N/20266079	台中市大里區東明路291巷40號
台大化工	謝元真	Q120701299	台北市大安區泰順街26巷22號5F
台大化工	官鎮玉	V121132962	新北市新莊區建安路76巷192號4F
台大化工	胡秉德	F129386603	新北市新莊區中興路81巷4號1F
台大化工	黃 建 豐	A127891362	台北市西區保羅路128號2F
台大化工	王 秉 芳	F227873783	新北市永和區保寧路134號3F之3
台大化工	林郁婷	E224340473	高雄市左營區銘誠路274號5F之1
台大化工	盧 嘉 宏	F227661318	新北市三重區復興街210巷5弄18號2F
台大化工	黃 嘉 北	FD05889320	台北市大安區辛亥路3段30號
台大化工	賴 中 哲	T123199105	屏東市豐年路116巷33號307號
台大化工	杜 育 龍	D122822241	台南市仁和路7623號

注意！請詳閱同意書文字並遵守保密義務