

200841011

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：96112708

※ 申請日期：96. 4 11 ※IPC 分類：G01N 27/447 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

G01N 35/08 (2006.01)

具捕捉濃縮功能之介電泳晶片

二、申請人：(共1人)

姓名或名稱：(中文/英文)

國立成功大學

代表人：(中文/英文)

賴明詔

住居所或營業所地址：(中文/英文)

(701) 台南市大學路1號

國 籍：(中文/英文)

中華民國

三、發明人：(共4人)

姓 名：(中文/英文)

1.鄭宜肪、2.張憲彰、3.張長泉、4.林其昌

國 籍：(中文/英文)

1.~4.中華民國

四、聲明事項：

主張專利法第二十二條第二項第一款或第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明是有關於一種介電泳晶片，特別是指一種具微粒分離與捕捉濃縮功能之介電泳晶片。

【先前技術】

在臨床檢驗與一般食品檢驗方面，都希望能夠以最快速準確的方式檢測出檢體所含的細菌種類或特定生物微粒的量，以方便掌控抗生素之使用時機與種類。在細菌捕捉濃縮方面，由於檢體中某些需要檢測的細菌濃度通常非常的少，約 10^3 - 10^4 CFU/ml，如此稀少的細菌濃度是不容易被檢測鑑定的，而且細菌是呈現散亂的分佈在懸浮液中，容易因布朗運動或自身鞭毛的擾動而無法固定其位置，傳統方法是以培養的方式，先將檢體中的細菌培養至一定濃度，一般濃度大約需要至 10^6 - 10^8 CFU/ml，才能較有效的被檢測出來，經過陪養的程序一般約須經過 24~48 小時，有些生長緩慢之細菌甚至須經數天的時間培養才有辦法長到足夠的濃度，如幽門桿菌約需耗費四到七天的時間。如此耗時且繁雜的過程，對於一些因微生物感染之急症，往往緩不濟急，無法符合臨床上的需要，若檢體中之細菌種類不只一種時，則得花更多時間進行不同菌種的分離與培養。

雖然目前已有許多不同類型之介電泳晶片，但大部分都是採用無流體流動之濃縮方式，以四極式電極介電泳晶片為例，粒子可被負介電泳力捕捉於四電極中間，但由於電場強度會隨著離電極表面越遠而越衰減，故捕捉濃縮效

果並不佳，若有流體條件則懸浮於較上方的粒子將無法受到有效的介電泳力操控，且此捕捉方式電壓一開啟後就無法有更多的粒子進入，低濃度的檢體較無法以此方式進行濃縮，且無法以捕捉面積進行濃度定量。

【發明內容】

因此，本發明之目的，即在提供一種可捕捉濃縮一介電泳液中具不同介電特性之微粒的介電泳晶片。

本發明之另一目的，在於提供一種可分離與捕捉濃縮一介電泳液中具不同介電特性之微粒的介電泳晶片。

於是，本發明具捕捉濃縮功能之介電泳晶片，適用於捕捉一介電泳液中具特定介電特性的微粒，並包含上、下間隔相向之一上基板與一下基板、一疊接於該等基板相向側面間之流道成型層，及二上下間隔對稱地分別被覆固定於該等基板相向側面之電極層。該流道成型層與該等基板相配合界定出一左右延伸而可供介電泳液流動之中空微流道。該等電極層分別包括一前後延伸之捕捉電極，且該等捕捉電極分別具有一橫越微流道且呈開口迎向流經之介電泳液的 V 字型第一捕捉部，且當該等捕捉電極被施加預定頻率之交流電時，該等第一捕捉部可將通過之介電泳液中具特定介電特性的微粒捕捉擋下。

【實施方式】

有關本發明之前述及其他技術內容、特點與功效，在以下配合參考圖式之一個較佳實施例的詳細說明中，將可清楚的呈現。

如圖 1、2 所示，本發明具分離與捕捉濃縮功能之介電泳晶片的較佳實施例，適用於將介電泳液中的具有不同介電特性之微粒（圖未示）進行分離與捕捉濃縮，該介電泳可以是一般試劑或是真正檢體製成之溶液，例如稀釋後之血液、尿液、牛奶等，該微粒可以是非生物微粒（例如乳膠微粒），或是生物微粒（例如細胞、血球、細菌或酵母菌…等）。

該介電泳晶片包含上下間隔平行之一上基板 3 與一下基板 4、一疊接於該等基板 3、4 之相向側面間之流道成型板 5，及二上下間隔對稱地分別被覆固定於該等基板 3、4 相向側面之電極層 6。

該等基板 3、4 是由玻璃板（glass slide）製成，但實施時，亦可視需求由石英或矽基材製成。其中，上基板 3 具有一貫穿其左端部之注液孔 301，及前、後間隔地分別貫穿其右端部之一第一與一第二排液孔 302、303。該流道成型板 5 是由 SU8 製成，且與疊接於其頂、底面之該等基板 3、4 相配合界定出一左右延伸而可供介電泳液流動之中空微流道 50。該微流道 50 具有一左右延伸且左端與該注液孔 301 連通之主流段 501，及前、後間隔且分別與主流段 501 連通地自主流段 501 右端往右延伸之一第一與一第二分流段 502、503，且該等分流段 502、503 右端是分別與該等排液孔 302、303 對應連通。但實施時，該等基板 3、4 與流道成型板 5 之材質皆不以上述材料為限。

在本實施例中，該微流道 50 之主流段 501 寬 1 mm，高 25 μ m，而該等分流段 502、503 寬約 350 μ m，高約

25 μm ，但實施時，微流道 50 結構比例不以此為限。

該等電極層 6 是由導電金屬材料製成，且呈薄膜狀，分別具有由左至右依序排列之一第一分選電極 61、一第二分選電極 62，及一捕捉電極 63。該等第一分選電極 61 分別具有一自主流段 501 前側邊往右後方水平延伸入主流段 501 中之第一分選部 611，該等第二分選電極 62 分別具有一自主流段 501 後側邊對應位於第一分選部 611 末端處，往右前方水平延伸入主流段 501 中之第二分選部 621，且該等第二分選部 621 末端是位於第一分流段 502 中。

該等捕捉電極 63 是前後彎折延伸地橫越該等分流段 502、503，分別具有橫越該等分流段 502、503 之一第一及一第二捕捉部 631、634，該等捕捉部 631、634 大致呈開口朝向所對應分流段 502、503 與主流段 501 連通處之 V 字型，亦即該等捕捉部 631、634 開口是迎向來自主流段 301 之介電泳液。該等捕捉部 631（634）皆具有二分別往右相向傾斜沿伸入相對應分流段 502（503）中之平直導引段 632（635），及二分別自該等導引段 632（635）末端以一預定曲率往右相向傾斜弧彎延伸且末端連接在一起之捕捉段 633（636），且該等捕捉段 633（636）連接處是位於相對應分流段 502（503）中間區域。

透過該等上、下間隔對稱之捕捉部 631、634 的導引段 632、635 與捕捉段 633、636 所構成之 V 字型的結構設計，可先藉由該等導引段 632、635 產生之負介電泳力，將快速流動之介電泳液中的微粒擋下，而無法通過該等上下間隔

之導引段 632、635 間的空間，並可將被擋下之微粒逐漸導引至該等弧彎狀捕捉段 633、635，而使該等微粒位移速度逐漸減慢，且因該等捕捉段 633、635 相連接之尖端處會對應產生最強之電場效應，因而可形成大於介電泳液之流體作用力的強負介電泳力，使被導引至該等捕捉段 633、635 間的微粒，可被該強負介電泳力作用而無法通過該等上下間隔之捕捉段 633、635 間的空間，而逐漸被限位聚集於該等捕捉段 633、635 左側。

為使該等捕捉段 633、636 可有效捕捉微粒，該等相連接之捕捉段 633、636 之較佳夾角 (θ) 範圍介於 $40^\circ \sim 45^\circ$ ，該等捕捉段 633、636 之弧彎曲率定義為：每一捕捉段左、右端之前後間距 (R) 與左右間距 (d) 的比值，本發明可實施之曲率範圍小於等於 1，但較佳之曲率範圍則小於等於 0.5，在本實施例以下說明中，該等捕捉段 633、636 曲率為 0.45，該等相連接之捕捉段 633、636 夾角則為 45° 。

訂定上述較佳曲率範圍 (≤ 0.5) 之主要考量，是因為當該等捕捉段 633、636 曲率範圍介於 $0.5 \sim 1$ 時，雖然該等捕捉段 633、636 仍可產生捕捉微粒之介電泳力，但容易因該等捕捉段 633、636 之曲率角度變化太快，而造成介電泳液流動時所產生之流體作用力大於該等捕捉段 633、636 之負介電泳力，而降低該等捕捉段 633、636 有效捕捉操控微粒之效率，針對曲率大於 0.5 的外型結構將於後另述。

當要以該介電泳晶片分離介電泳液中之不同微粒時，

可先於該等電極層 6 之該等分選電極 61、62 與捕捉電極 63 施加不同頻率之交流電，使該等分選電極 61、62 與捕捉電極 63 可分別對不同之微粒產生強度差異的負介電泳力。接著，便可將具有不同介電特性之微粒的介電泳液自上基板 3 之注液孔 301 逐漸注入微流道 50 中，便可開始進行微粒之分選與捕捉濃縮。並可搭配其它檢測儀器（圖未示），例如拉曼光譜與儀影像擷取器等，進行定性與定量檢測。

配合圖 3、4 所示，首先針對該等分選電極 61、62 之作用進行說明，以經稀釋後之血液檢體中的紅血球與腸球菌 (*E. faecium*) 進行分選測試，其中，於該等第一分選電極施加電訊號為 $20V_{P-P}$, 400 kHz，而於該等第二分選電極施加電訊號為 $10V_{P-P}$, 400 kHz，檢體於微流道 50 中之流速為 $200 \mu\text{m/sec}$ 。當紅血球與腸球菌被流動之介電泳液帶向該等第一分選電極時，該等第一分選電極 61 對紅血球與腸球菌產生之負介電泳力會大於介電泳液之流體作用力，使得此兩種生物微粒接無法通過該等第一分選部間的區域，而一起沿該第一分選部 611 延伸方向逐漸位移至主流段 501 後側邊，而流向第二分選電極 62。

當鄰近主流段 501 後側邊之紅血球與腸球菌被導引至第二分選電極 62 時，在上述交流電訊號條件下，第二分選電極對於紅血球所產生負介電泳力會大於流體作用力，所以紅血球會被該等第二分選部 621 排斥，而沿第二分選部 621 延伸方向位移進入第一分流段 502 中。該等第二分選電極對於腸球菌所產生之負介電泳力較流體作用力弱，所以

在上述介電泳液流速作用下，腸球菌會直接被介電泳液帶動而沿著主流段 501 後側邊通過該等第二分選電極 62，而依序進入第二分流段 503 中，進而可將該等不同介電特性之生物微粒分別導引至不同的分流段 502、503 中，而達到分選之目的。

配合圖 5、6，以下繼續說明該等捕捉電極 63 位於該等分流段 502、503 之捕捉部 631、634 的捕捉濃縮作用。

繼續以上述紅血球及腸球菌為例，該等捕捉電極分別被施加之電訊號為 $20V_{P-P}$, 500 kHz，此時，該等捕捉部對於該等紅血球與腸球菌所產生之負介電泳皆大於流體作用力，所以上述紅血球與腸球菌分別被分選至第一與第二分流段後，會分別被該等捕捉部之負介電泳力排斥，而無法通過捕捉部間的空間，並在介電泳液的帶動下，逐漸地分別聚集限位於該等捕捉部左側，而完成紅血球與長球菌之捕捉濃縮。

再以生乳為例，將生乳進行稀釋後，以該介電泳晶片將生乳中之較大體細胞與較小之細菌分選至該等分流段 502、503 後，再將該等體細胞與細菌分別捕捉濃縮於該等捕捉部 631、634 左側。當以不同之生乳稀釋倍數（100 倍與 200 倍）進行測試時，可發現所捕捉濃縮之細菌的堆積面積與捕捉時間間具有相對應之線性關係，兩者之捕捉倍率介於 2~2.2 間，如圖 7 所示。

而相同稀釋倍率之生乳在不同流速情況下進行捕捉濃縮時，亦可發現流速與捕捉之細菌堆積面積間亦具有不錯

之線性關係，如圖 8 所示。

在完成上述之生物微粒的分選與捕捉濃縮後，由於生物微粒接集中於該等捕捉部 631、634 左側，因此，可以其它儀器進行定性與定量，例如以拉曼光譜儀測定該等被捕捉濃縮之生物微粒種類，由於不同種類之生物微粒會具有不同之拉曼光譜訊號，所以可藉由拉曼光譜儀所測定之訊號差異，鑑定出所捕捉濃縮之生物微粒種類，如圖 9 所示，以拉曼光譜儀測定該介電泳晶片所捕捉濃縮之大腸桿菌 (*E.coli*) 與乳桿菌 (*Lactobacillus*) 時，兩者所得到之拉曼光譜訊號具有明顯之差異性，可證實此介電泳晶片之捕捉電極 63 所產生之捕捉與濃縮效果，確實可幫助拉曼光譜儀進行連續流體下之偵測。

當生物微粒之種類確定後，便可以影像擷取器，例如攝影機或照相機，擷取被該等捕捉部 631、634 捕捉濃縮之生物微粒影像，並經由影像分析設備（圖未示）之處理，依據該微流道 50 高度、所擷取之微粒聚集面積與單一微粒體積等參數，而計算出總捕捉微粒數量，然後，再依據單位時間之介電泳液流量與捕捉所花費時間等參數，而計算出檢體的總微粒濃度。

藉由將本發明之介電泳晶片與上述檢測設備一起使用的設計，可快速且有效地分析出檢體中之細菌種類與數量，所以可大幅縮短食品或醫療檢體之檢驗分析、純化、菌種培養鑑定與定量所發費之時間，在醫療檢測方面，可使醫療人員快速得知病人症狀與病因，而可即時的給藥與治

療，在食品檢測方面，可盡快得知食品中所含之微生物（細菌、酵母菌等）總量與種類，而可有效提高食品檢測與管理品質。但實施時，該介電泳晶片所捕捉濃縮之生物微粒的定性與定量方法皆不以上述方法為限，亦可透過電化學檢測分析或其他檢測方式來進行定性與定量。由於上述生物微粒之定性與定量並非本發明創作重點，因此不再詳述。

如圖 10、11 所示，當該等捕捉部 631、634 的該等捕捉段 633、636 弧彎曲率大於 0.5 時，例如設計成圖 10 所示之圓弧 C 字型時，曲率為 1，該等捕捉段 633(636)產生之負介電泳力同樣可用以捕捉濃縮微粒，如圖 11 所示（生物微粒：酵母菌 (*Candida albicans*)），但經實際測試，其捕捉效率會較前述捕捉段 633、636 所構成之 V 字型結構差。

另外，在本實施例中，該介電泳晶片之微流道 50 僅具有二分流段 502、503，而該等電極層 6 亦僅設置二左、右間隔之分選電極 61、62，但實施時，該等分流道 502、503 之數量可依要分選之微粒種類數量而增加，並可對應增加突伸入微流道 50 中的分選電極 61、62 數量與捕捉電極 63 之捕捉部 631、634 數量，使多種不同介電特性之微粒在介電泳液流動過程中，逐漸被分選至預定之分流段 501、502 中並被分別捕捉濃縮，但實施時不以此為限。

歸納上述，透過該等分選電極 61、62 與捕捉電極 63 之結構設計，使得本發明介電泳晶片可快速地將介電泳液中具有不同介電特性之微粒分離並導引至預定區域，並藉

由該等捕捉電極 63 之捕捉部 631、634 的結構設計，而有效地將被分選出之微粒捕捉聚集在一固定區域，以方便後續之定性與定量檢測。當該介電泳晶片應用於食品或醫療檢體之生物微粒檢測時，可快速地將檢體中之各種微量生物微粒分離與捕捉聚集，進而節省大量微生物培養、純化、菌種鑑定與定量所發費之時間，使得食品檢驗人員或醫療人員可快速進行微生物定性與定量。因此，確實可達到本發明之目的。

惟以上所述者，僅為本發明之一較佳實施例而已，當不能以此限定本發明實施之範圍，即大凡依本發明申請專利範圍及發明說明內容所作之簡單的等效變化與修飾，皆仍屬本發明專利涵蓋之範圍內。

【圖式簡單說明】

圖 1 是本發明具捕捉濃縮功能之介電泳晶片之一較佳實施例的立體分解示意圖；

圖 2 是該較佳實施例之組合俯視圖，其中一上基板已移除；

圖 3 是該較佳實施例之第一分選電極實際進行生物微粒之分選時的顯微影像圖；

圖 4 是該較佳實施例之第二分選電極實際進行生物微粒之分選時的顯微影像圖；

圖 5 是該較佳實施例之捕捉電極的第一捕捉部實際捕捉濃縮生物微粒時的顯微影像圖；

圖 6 是類似圖 5 之視圖，說明第二捕捉部實際捕捉生

物微粒時的情形；

圖 7 是該等捕捉電極捕捉不同濃度之生物微粒時，生物微粒堆積面積與時間之關係圖；

圖 8 是該等捕捉電極在不同介電泳液流速下，所捕捉之生物微粒堆積面積隨時變化的關係曲線；

圖 9 是以拉曼光譜儀對該等捕捉電極之捕捉部所捕捉聚集之不同生物微粒進行測試之光譜數據；

圖 10 是類似圖 2 之視圖，說明等捕捉電極之另一實施態樣；及

圖 11 是圖 10 之該等捕捉電極實際捕捉生物微粒時的顯微影像圖。

【主要元件符號說明】

| | | | |
|-----------|-------|-----------|--------|
| 3 | 上基板 | 61 | 第一分選電極 |
| 301 | 注液孔 | 611 | 第一分選部 |
| 302 | 第一排液孔 | 62 | 第二分選電極 |
| 303 | 第二排液孔 | 621 | 第二分選部 |
| 4 | 下基板 | 63 | 捕捉電極 |
| 5 | 流道成型板 | 631 | 第一捕捉部 |
| 50 | 微流道 | 632 | 導引段 |
| 51 | 主流段 | 633 | 捕捉段 |
| 52 | 第一分流段 | 634 | 第二捕捉部 |
| 53 | 第二分流段 | 635 | 導引段 |
| 6 | 電極層 | 636 | 捕捉段 |

五、中文發明摘要：

一種具捕捉濃縮功能之介電泳晶片，包含上、下基板、一疊接於該等基板間之流道成型層，及二對稱地分別被覆於該等基板相向側面之電極層。流道成型層與該等基板相配合界定出一左右延伸而可供介電泳液流動之中空微流道。該等電極層分別包括一前後延伸之捕捉電極，且該等捕捉電極分別具有一橫越微流道的 V 字型第一捕捉部，且當該等捕捉電極被施加預定頻率之交流電時，該等第一捕捉部可將通過之介電泳液中具特定介電特性的微粒捕捉擋下。藉由該等捕捉部的結構設計，可有效地將微粒捕捉聚集在一固定區域，以方便後續之定性與定量檢測。

六、英文發明摘要：

十、申請專利範圍：

1. 一種具捕捉濃縮功能之介電泳晶片，適用於捕捉一介電泳液中具特定介電特性的微粒，並包含：

上、下間隔相向之一上基板與一下基板；

一流道成型層，疊接於該等基板相向側面間，並與該等基板相配合界定出一左右延伸而可供介電泳液流動之中空微流道；及

二電極層，上下間隔對稱地分別被覆固定於該等基板相向側面，該等電極層分別包括一前後延伸之捕捉電極，且該等捕捉電極分別具有一橫越微流道且呈開口迎向流經之介電泳液的 V 字型第一捕捉部，且當該等捕捉電極被施加預定頻率之交流電時，該等第一捕捉部可將通過之介電泳液中具特定介電特性的微粒捕捉擋下。

2. 依據申請專利範圍第 1 項所述之具捕捉濃縮功能之介電泳晶片，其中，該微流道包括一左右延伸之主流段，及前、後間隔地分別自主流段右端往右延伸之一第一與一第二分流段，該等第一捕捉部是橫越第一分流段，該等電極層分別更包括一往右後方延伸入主流段中的第一分選電極，及一往右前方延伸入主流段中的第二分選電極，且當該等第一與第二分選電極分別被施加特定頻率之交流電時，該等第一與第二分選電極可分別將特定介電特性之微粒導引至第二與第一分流段。

3. 依據申請專利範圍第 2 項所述之具捕捉濃縮功能之介電泳晶片，其中，該等捕捉電極分別更包括一橫越第二分流

段且呈開口迎向流經之介電泳液的 V 字型第二捕捉部，且當該等捕捉電極被施加預定頻率之交流電時，該等第二捕捉部可將通過之介電泳液中具特定介電特性之微粒捕捉擋下而無法通過。

4. 依據申請專利範圍第 3 項所述之具捕捉濃縮功能之介電泳晶片，其中，該等第一與第二捕捉部分別具有二前後間隔地往右相向延伸入相對應分流段中之平直導引段，及二分別自該等導引段末端往右相向弧彎延伸連接之捕捉段。
5. 依據申請專利範圍第 4 項所述之具捕捉濃縮功能之介電泳晶片，其中，每一捕捉段之弧彎曲率定義為其左、右端的前後間距與左右間距的比值，且該曲率比值小於等於 1。
6. 依據申請專利範圍第 5 項所述之具捕捉濃縮功能之介電泳晶片，其中，該等捕捉段之弧彎曲率小於等於 0.5。
7. 依據申請專利範圍第 6 項所述之具捕捉濃縮功能之介電泳晶片，其中，該等捕捉段之弧彎曲率為 0.45。
8. 依據申請專利範圍第 4、5、6 或 7 項所述之具捕捉濃縮功能之介電泳晶片，其中，該等相連接之捕捉段的夾角範圍為 $40^\circ \sim 45^\circ$ 。
9. 依據申請專利範圍第 8 項所述之具捕捉濃縮功能之介電泳晶片，其中，該等相連接之捕捉段的夾角為 45° 。
10. 依據申請專利範圍第 2 項所述之具捕捉濃縮功能之介電泳晶片，其中，該上基板具有一與主流段連通之注液孔，

200841011

及二分別與該等分流段連通之排液孔。

十一、圖式：

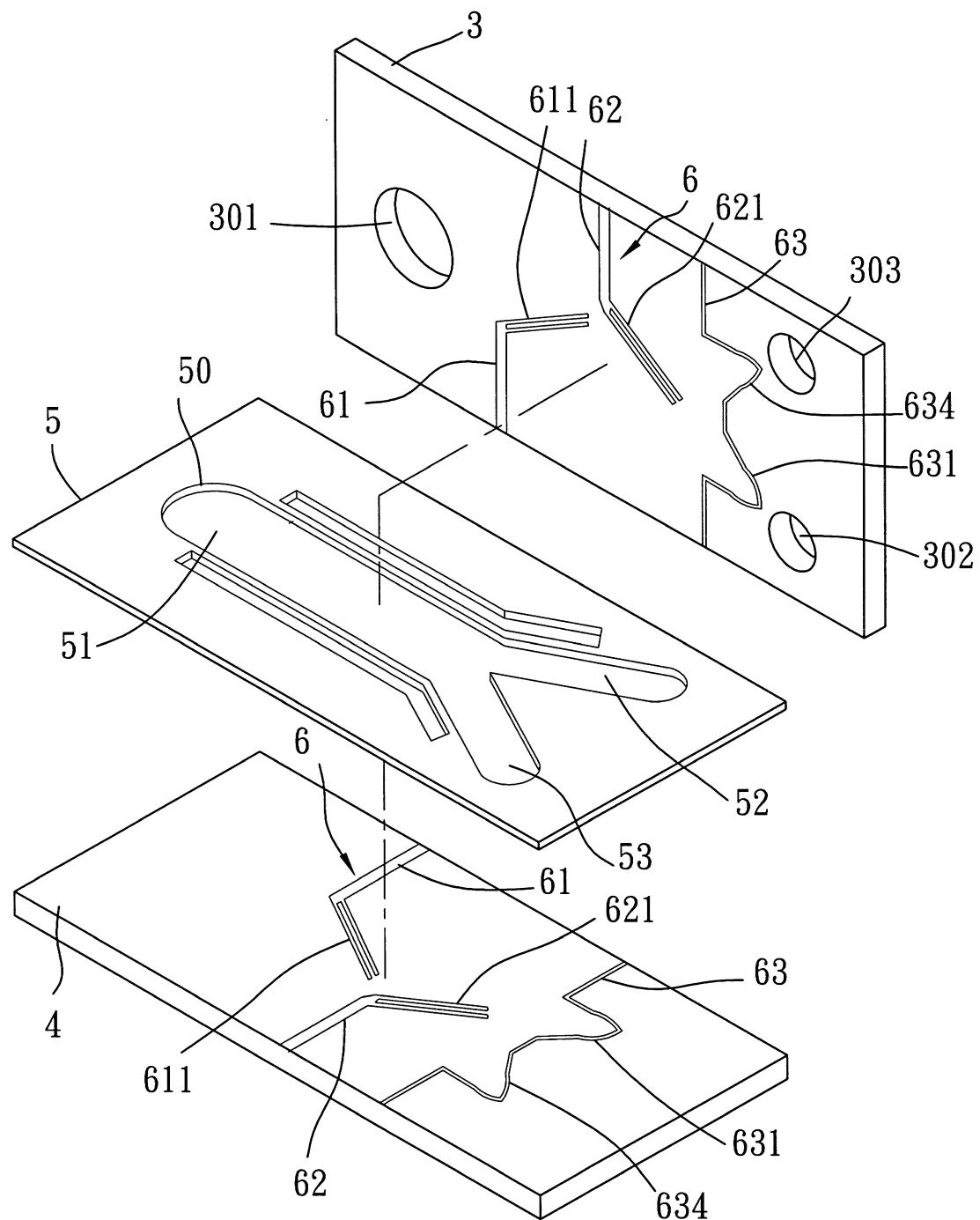
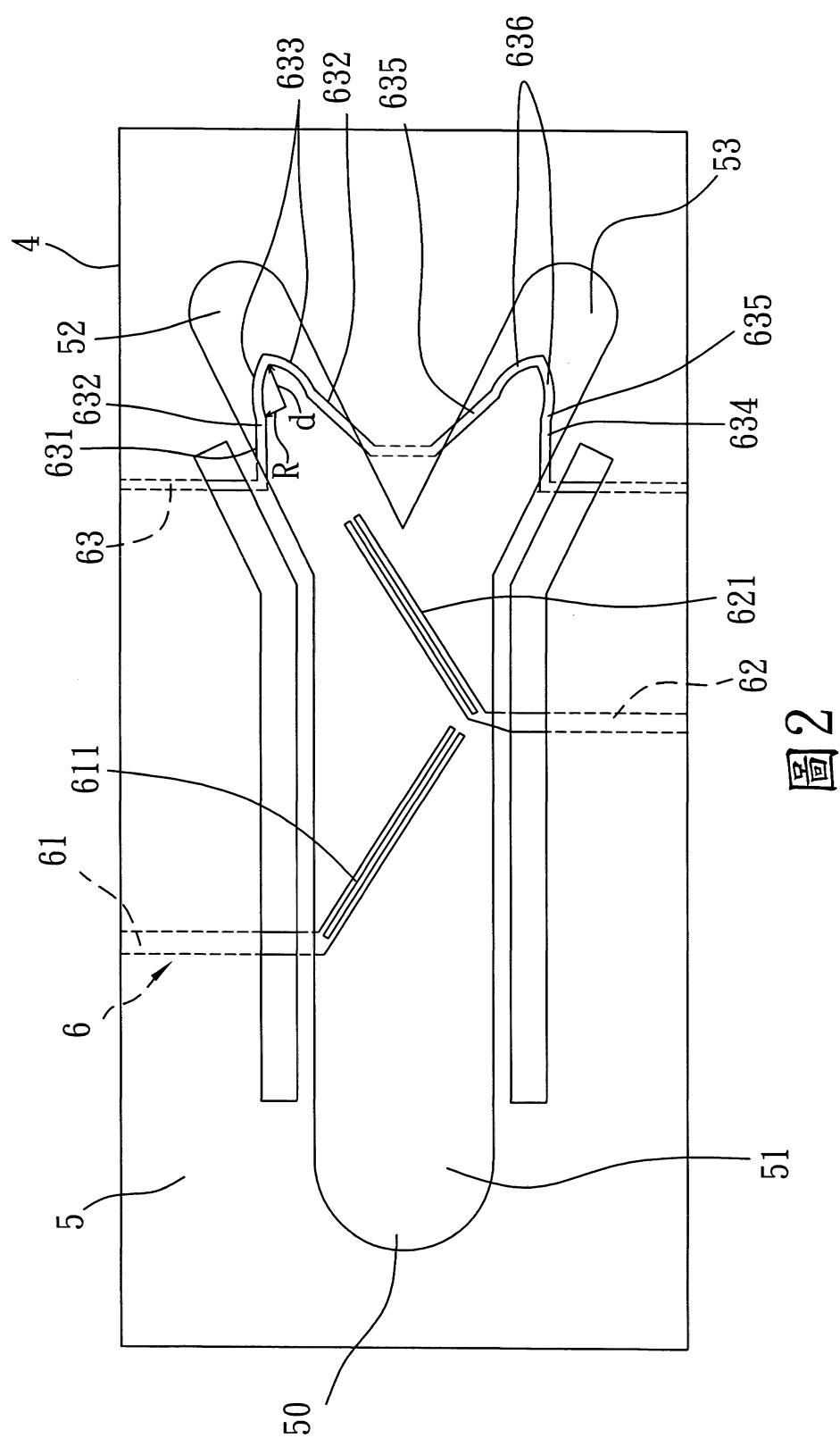
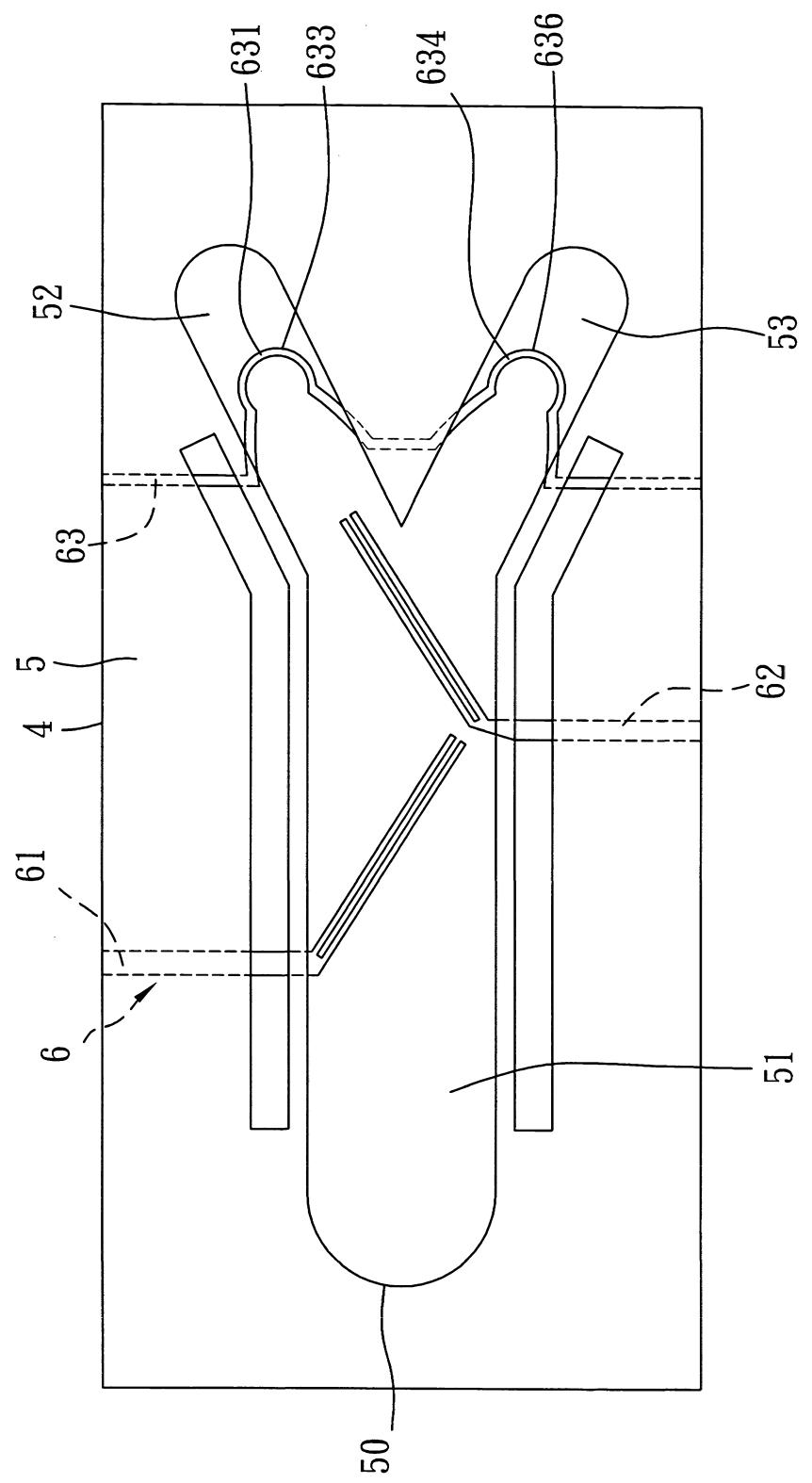


圖 1

200841011



200841011



10

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（1）圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

| | |
|---------------|---------------|
| 3.....上基板 | 53.....第二分流段 |
| 301.....注液孔 | 6.....電極層 |
| 302.....第一排液孔 | 61.....第一分選電極 |
| 303.....第二排液孔 | 611.....第一分選部 |
| 4.....下基板 | 62.....第二分選電極 |
| 5.....流道成型板 | 621.....第二分選部 |
| 50.....微流道 | 63.....捕捉電極 |
| 51.....主流段 | 631.....第一捕捉部 |
| 52.....第一分流段 | 634.....第二捕捉部 |

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：