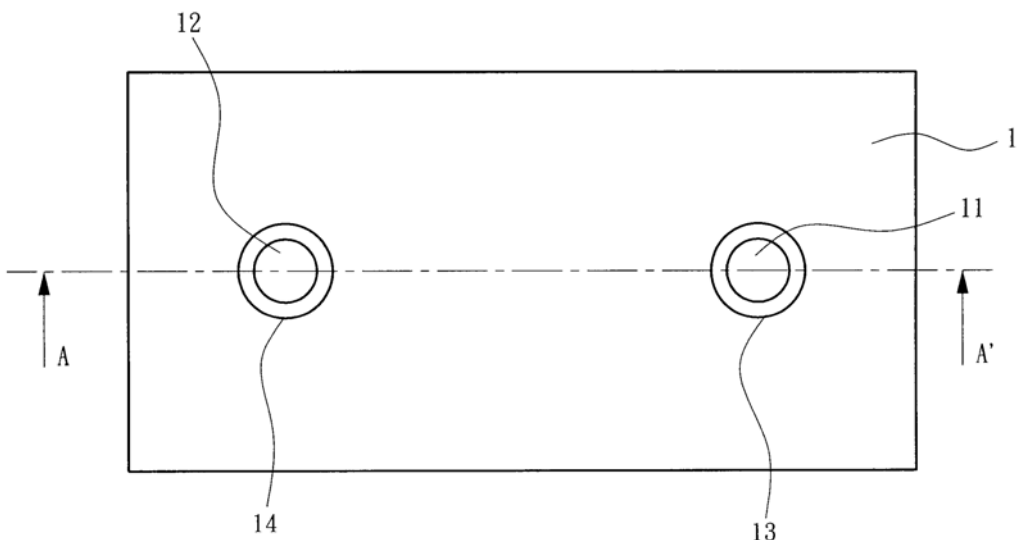


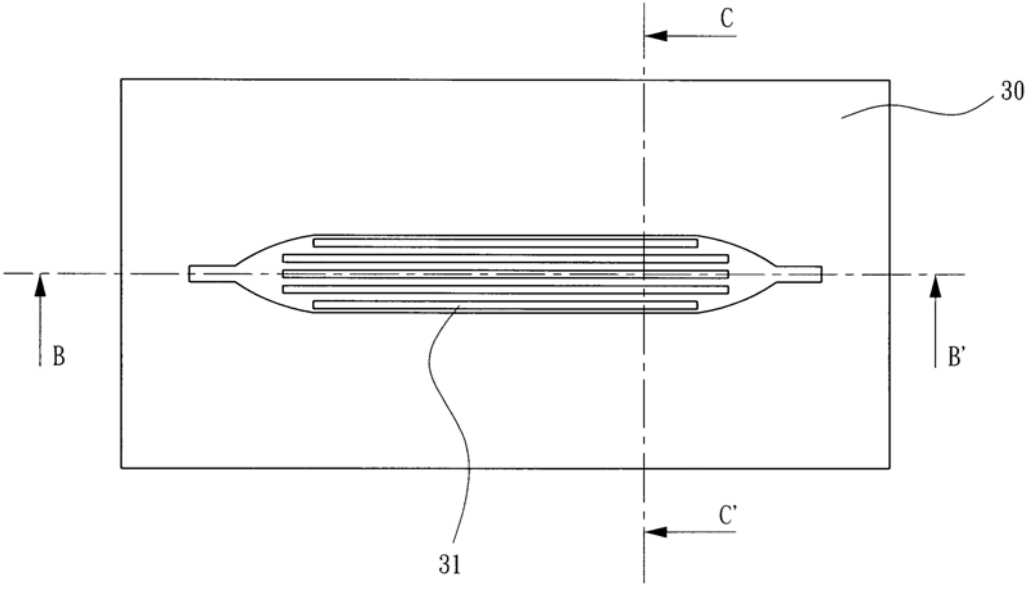
本發明係為一種具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置與方法，核酸萃取裝置利用基板上的凹凸溝槽，將可萃取核酸的核酸萃取物，如微粒或微攜帶體等，加以固定於凹凸溝槽當中，即可讓含有核酸的緩衝液與核酸萃取物充分反應並增加萃取核酸的效率；此外，在萃取核酸時，可利用特殊凹凸槽形結構及微流體來回運動，增加微流體與微粒之間的有效碰撞，藉此提高核酸萃取效率；在產生含有核酸的緩衝液之前，必須將檢體與緩衝液充分混合，於是，本發明更提供一種微流體混合裝置，其可在結構上讓液體產生渦流，以讓檢體與緩衝液增加接觸面積，加速並充分混合。 A microfluidic mixer apparatus for extracting nucleic acids includes a chip having a microfluidic channel. The microfluidic channel includes a plurality of gaps for depositing beads thereon. While a buffer having nucleic acids is injected into in the microfluidic channel and the gaps, the buffer having nucleic acids are reacted with the beads to extract nucleic acids, thereby improving extraction efficiency. More, the buffer having nucleic acids is flowed in the microfluidic channel and the gaps back and forth, so as to increase effective collision between the buffer and the beads, thereby further improving extraction efficiency. 具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置與其方法 Microfluidic mixer apparatus for extracting nucleic acids and the method thereof 本發明係關於一種萃取裝置，特別是關於一種可萃取核酸(nucleic acid)之核酸萃取裝置。近年來，由於生化技術之蓬勃發展，使得如何從血漿(plasma)中萃取核酸(DNA)，已發展得相當成熟。目前已有微粒(beads)的設計，其表面具有特殊官能基，可以抓住DNA，再用特殊緩衝液(buffer solution)即可重新釋出DNA。但是，使用微小化裝置以完成DNA萃取，甚至應用微流體原理以增加DNA萃取效率，則是尚未見諸文獻中。而由於微尺寸整體分析系統(microscale total analysis system, 簡稱 μ TAS)的實際需要，微流體系統於焉誕生，且目前正蓬勃發展中。如此之系統大大地縮小了傳統分析設備的尺度。此系統包括許多微流體元件，例如泵、閥、渠道以及混合器等，為了整合這些元件成為微尺寸整體分析系統，新的結構及製程方法就值得進一步研究。過去關於混合器、渠道的許多研究，均集中於兩種或三種流體的混合，這些設計通常需要這些流體分布能夠讓他們的接觸面積達到極大值，藉由擴散以完成混合。茲分述如下：1. 藉由紊流完成混合過程：Krulvitch(1995)指出具有尖銳轉角之箭形匯流方式能夠產生紊流以增加混合效果；另一個方法是強迫流體流過小曲率半徑之彎角，由於向心加速度的關係產生二次回流以增加混合效益。然而，這些方法在微流體元件的尺度時，可能無法達到預期的目的。此外，Branebjerg等人(1994)研究“迷你”及“微小”渠道中各種渠道形狀的混合效益。在“迷你”(約數百微米)尺度下，在Z字形的渠道中仍然能夠產生紊流以完成混合。而在“微小”(約數十微米)尺度下，紊流無法產生，混合僅能由擴散來完成。此種藉由紊流以完成混合過程的缺點是：在微尺度下不易造成紊流。在大型流體元件中，紊流可被使用以完成混合過程。但是當管道之尺寸縮小至數百微米，甚至數十微米時，流體之雷諾數遠小於2000(此為判斷流場是層流或紊流之標準)。所以，非常難以達到紊流之要求。Evans等人(1997)也建議，對於微機械的流體元件，許多混合方法難以實行，就是因為紊流無法產生。2. 藉由增加接觸面積完成混合過程：Miyake等人(1993)設計一個混合器，乃是採用將流體流經窄噴嘴的原理，該混合器具有出口約15微米大小的400個噴嘴陣列，如此產生許多小的柱狀流體，而增加兩種流體間之接觸面積。Desai等人所發明的微秒流體混合器(microfluidic sub-millisecond mixers, 美國專利5,921678)，該混合器(晶片)包含兩個T型混合器，混合器之間由一渠道連接而成為反應室，該元件能夠在100微秒內啟動或停止化學反應。藉由增加接觸面積完成混合過程的缺點是，其結構複雜，且製程不易。無論是製作多個噴嘴之陣列，亦或將兩種流體重覆分層，結構均非常複雜，且製程十分不易，不符合結構簡單之要求。3. 基於額外能量的使用以完成混合：Mononey及White(1991)提出的超音波泵之使用，乃利用超音波增加液體分子的能量，加強分子活動，以完成混合。Evans等人(1997)亦提出以熱來產生氣泡泵之使用，以控制流體來回運動通過多出口的混合室，它可使原本鄰近的粒子變成分隔的很遠，如此即可增加混合。此種使用額外能量方式的缺點為，費用太高，且限制太多。如超音波、氣泡泵的使用，均需額外之能源，不僅費用高昂，且其設備龐大而搬運困難，限制頗多。鑒於以上習知技術的問題，本發明的目的在於提供一種具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，其包含了微渠道、混合器以及經固定之微粒，利用重新設計這些元件，即可達到改進混合效率的目的。本發明的另一個目的在於提供一種具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，其結構簡單，可減少製程時間及成本。本發明尚有一個目的在於提供一種具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，其運用被動元件，可降低裝置之損壞率。本發明還有一個目的在於提供一種具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，運用結構本身可產生渦流之特性，來增加位於裝置中之兩種流體的接觸面積，即可讓兩種流體快速混合。本發明還有一個目的在於提供一種具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，在一條管道中使用製程製作出凹凸之微渠道結構，並將核酸萃取微粒固定在該微渠道結構上，當緩衝液經過時，可增加微粒與流體之接觸面積。本發明最後有一個目的在於提供一種具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，利用流體來回流動，以增加微粒與流體間之有效碰撞，可大幅提昇核酸萃取效率。依據本發明所揭露的技術，本發明提供一種具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，包含：一基板，具有低深寬比之凹凸結構之微管道，深寬比最佳為1:1；以及，多個核酸萃取物，其固定在該凹凸結構之微管道表面，用以於具有核酸之緩衝液導入管道中時萃取該複數個核酸萃取物所對應之核酸。其中，本發明之具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置更可包含一上蓋，具有經鑿穿之兩孔，用以注入緩衝液與檢體。另外，更可包含一中層，其上層係與上蓋密合並為一具有兩側各連接一第一管道與一第二管道之腔體，兩管道的尾端分別與上蓋之兩孔直接對應並形成流體通路，該腔體用以混合由上蓋之兩孔所注入之緩衝液與檢體並產生渦流，且腔體中央或中央附近具有鑿穿之一孔洞，用以將緩衝液與檢體混合後導入基板當中。此外，核酸萃取物為微粒(beads)或微攜帶體(microcarriers)；基板之材料則為導體、半導體、介電材料或高分子材料；第一管道與第二管道與腔體相連接部分之切線方向成某一夾角，較佳者為兩切線平行(180度)。為了產生渦流，腔體可設計為圓形、橢圓形、多邊形或不規則連續邊形(irregular continuous sided geometric shapes)，更可於腔體內部設計一柱狀物。依據本發明所揭露的技術，本發明更提供一種具凹凸結構之微管道的核酸萃取方法，包含下列步驟：提供一固定有核酸萃取物之管道；提供一可驅動流體前後運動之元件；以及，將具有核酸之緩衝液導入管道中，藉由元件驅動流體前後運動，以增加緩衝液與核酸萃取物的碰撞。此外，為了能讓兩種不同的流體充分混合，本發明亦提供一種微流體混

合裝置，包含一腔體及一孔洞之基板，孔洞位於腔體中央或其附近；及，兩個混合前管道，係連通於該腔體之兩端並形成一夾角；微流體混合裝置利用兩個混合前管道分別注入不同的兩種流體，兩種流體之流入方向反向，並於腔體中產生渦流。其中，更可包含一上蓋，具有對應於兩個混合前管道之兩孔，此兩孔用以注入上述之兩種流體，上蓋則用以蓋住微流體混合裝置。透過於上蓋的兩孔注入兩種不同的流體，即可使兩種液體充分混合。有關本發明的特徵與實作，茲配合圖示作最佳實施例詳細說明如下：本發明之核酸萃取裝置之第一具體實施例包含了一個基板以及上蓋，上蓋蓋住基板，用以注入緩衝液與檢體；基板則有許多微管道，微管道當中並固定有核酸萃取物，用來萃取核酸。先請參考「第1~4圖」，本發明之核酸萃取裝置之第一具體實施例，其中，「第1圖」為上蓋上視圖，「第2圖」則為基板上視圖，「第3圖」則為核酸萃取裝置剖面圖，「第4圖」則為剖面側視圖。在「第1圖」中，上蓋10包含了兩個孔洞11、12，孔洞則各有一個凸出部分13、14，其可分別作為注入具有核酸的緩衝液與檢體之注入孔。在「第2圖」中，基板30中則包含了微管道31部分，微管道31的管壁上則固定有核酸萃取物，此固定的核酸萃取物可萃取一般的或特定的核酸。「第3圖」的剖面圖則可清楚地看到上蓋10與基板30的關係，其中的孔洞11、12分別位於基板30之微管道31的兩端，進行形成一連通狀態。透過孔洞11、12注入的緩衝液與檢體，即可流至微管道31當中。「第4圖」則說明了微管道31的設計，其可採取多個溝槽的設計方式，將微管道31向下多挖幾條凹槽結構32，以容納更多的核酸萃取物。透過「第1~4圖」可知，本發明的第一具體實施例中，利用上蓋10的孔洞11及12注入緩衝液與檢體至基板30當中以進行核酸之萃取。為了要讓核酸萃取更有效率，本發明將可萃取核酸的核酸萃取物固定於微管道31的凹凸結構上，讓含有核酸的緩衝液通過時，增加核酸萃取的效率。此外，亦可利用某種機制(如雙向導引幫浦或注射筒)透過孔洞11或孔洞12進行推動動作，將基板當中的緩衝液來回運動，如此，即可增加緩衝液與核酸萃取物之間的有效碰撞，提高核酸之萃取效率。這種做法，不需要主動元件的參與。由於透過固定於微管道31上的核酸萃取物來萃取核酸，所以，上蓋10與基板30的材料上較無限制，例如導體、半導體、介電材料或高分子材料均可加以運用。其中，基板30的厚度，則可在4~6毫米(mm)，最佳者在5毫米；而上蓋10的厚度則可設計在4~6(mm)，最佳者在5毫米。上蓋10的凸出部分13、14，其厚度則可在4~6毫米(mm)，最佳者在5毫米。至於孔洞11、12的內徑，寬度則可在3~5毫米，最佳者在4毫米。位於基板30上的微管道31，其管道的長度W，如「第2圖」所示，則可在500~1000毫米之間，最佳者為880毫米；微管道31的寬度則可在4~6毫米之間，最佳者為5毫米。孔洞11、12至凹槽結構32之間，其距離P1與P3，均可在150~250毫米之間，最佳者為220毫米；凹槽結構32本身的長度P2，則在400~500毫米之間，最佳者為440毫米。在「第3圖」中，微管道31當中的凹槽結構32，其深度則可在0.5~1.5毫米之間，最佳者為1毫米；其寬度則可在0.5~1.5毫米之間，最佳者為1毫米。此外，核酸萃取物則可選擇如微粒(beads)或者是微攜帶體(microcarriers)，只要能抓住所需要的一般或特定核酸的物質均可。核酸萃取時，常常需要事先混合檢體與緩衝液，也就是，透過緩衝液將檢體帶入核酸萃取裝置當中，此時，能否讓檢體與緩衝液適當地混合常常成為能否有效地萃取核酸的重點。於是，可於本發明之核酸萃取裝置當中再加上一層中間層，亦即增加一層微流體混合層。以下，將以「第5~7圖」來說明增加此一微流體混合層之核酸萃取裝置，亦即，本發明之第二具體實施例。請參考「第5圖」，本發明之核酸萃取裝置之第二具體實施例之上蓋上視圖，上蓋10同樣有兩孔洞15、16，孔洞15、16上各有凸出部分17、18。為了對應中層，上蓋10的兩孔洞15、16的位置與「第1圖」的兩孔洞11、12有所不同。請參考「第6圖」，中層20包含了腔體23，以及腔體23兩端的第一管道21與第二管道22，兩個管道均與腔體23相通。第一管道21與第二管道22的尾端分別與「第5圖」之孔洞15、16相通，並與腔體23形成一連通狀態。腔體23的中央或中央附近則鑿穿一孔洞24，此孔洞24可與基板30相通。中層20事實上包含了幾個主要的部分，第一管道21與第二管道22可稱之為混合前的管道，亦即，不同流體流入之處；腔體23則為混合區；孔洞24則為混合後的管道，也就是，混合後的流體流出之處。腔體23的設計以可以產生渦流為原則，所以，可以設計為圓形(circular geometric shapes)、橢圓形(elliptical geometric shapes)、多邊形(polygonal geometric shapes)或不規則連續邊形(irregular continuous sided geometric shapes)。透過渦流的產生，從孔洞15、16所注入的兩種流體，亦即，檢體以及緩衝液即可達到快速混合的目的。而孔洞24則可與腔體23平面成一定的角度，在實作上，以垂直(90度)為最佳。此外，中層20的厚度可在4~6毫米(mm)，最佳者在5毫米。而混合前的管道，亦即，第一管道21與第二管道22的與腔體23的夾角 θ ，約在20~80度之間。第一管道21與第二管道22之間，兩者以平行為最佳，或者，接近平行亦可。換句話說，第一管道21與第二管道22與腔體的兩切線夾角，最佳者在180度。第一管道21與第二管道22的徑寬，則可在0.4~0.6毫米(mm)之間，最佳者在0.5毫米；其深度則可在0.4~0.6毫米(mm)之間，最佳者在0.5毫米。至於孔洞的寬度則可在3~5毫米，最佳者在4毫米。最後，請參考「第7圖」，本發明之核酸萃取裝置之第二具體實施例之剖面圖，其包含了上蓋10、中層20以及基板30，基板30的結構與「第2、3與4圖」所述相同，不再贅述。從「第7圖」可清楚看到，上蓋10與中層20透過孔洞15、16形成連通；中層20與基板30則透過孔洞24形成連通。如此，由孔洞15、16所注入的緩衝液與檢體，即可在中層形成充分混合後，經過孔洞24流入基板30當中的微管道31，即可透過微管道當中經固定的核酸萃取物加以萃取核酸。從上蓋10上的孔洞15或16所注入的流體，其流速可在每秒5~30毫升(microliter)。所以，透過中層20的加入，本發明的核酸萃取裝置即可將檢體與緩衝液直接注入，達到快速混合以及萃取核酸的目的。在操作上，第二具體實施例與第一具體實施例大致相同，唯一不同點為，第二具體實施例當中，較無法透過流體來回運動的方式增加流體與微管道31之間的核酸萃取物的碰撞。所以，為了改進這項問題，可以將中層20設置於核酸萃取裝置之外，單獨設置為微流體混合裝置，先混合檢體與緩衝液，再將此混合液透過一導出部以導入核酸萃取裝置之中。接著，再透過第一具體實施例的操作方法，讓核酸萃取的效率增加。雖然本發明以前述之較佳實施例揭露如上，然其並非用以限定本發明，任何熟習相關技藝者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可作些許之更動與潤飾，因此本發明之專利保護範圍須視本說明書所附之申請專利範圍所界定者為準。10 . . . 上蓋 11 . . . 孔洞 12 . . . 孔洞 13 . . . 凸出部分 14 . . . 凸出部分 15 . . . 孔洞 16 . . . 孔洞 17 . . . 凸出部分 18 . . . 凸出部分 20 . . . 中層 21 . . . 第一管道 22 . . . 第二管道 23 . . . 腔體 24 . . . 孔洞 30 . . . 基板 31 . . . 微管道 32 . . . 凹槽結構 第1圖

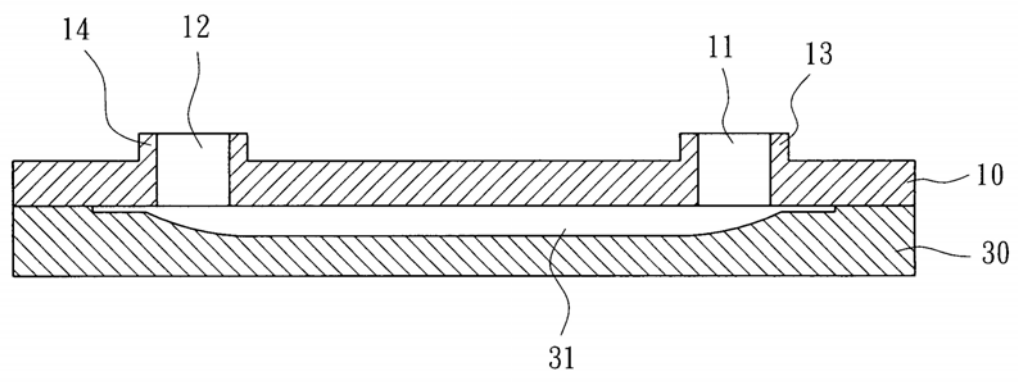
為本發明之核酸萃取裝置之第一具體實施例之上蓋上視圖；第2圖為本發明之核酸萃取裝置之第一具體實施例之剖視圖；第3圖為本發明之核酸萃取裝置之第一具體實施例之剖面圖；第4圖為本發明之核酸萃取裝置之第一具體實施例之剖面側視圖；第5圖為本發明之核酸萃取裝置之第二具體實施例之上蓋上視圖；第6圖為本發明之核酸萃取裝置之第二具體實施例之中層上視圖；及第7圖為本發明之核酸萃取裝置之第二具體實施例之剖面圖。一種具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，包含：一基板，具有一深寬比之凹凸結構之微管道；複數個核酸萃取物，固定在該凹凸結構之微管道表面上；一中層，覆蓋該基板，該中層包含一第一管道、一第二管道與一腔體，該第一管道與該第二管道分別設置於該腔體之兩側且與該腔體連通，且該腔體具有一鑿穿的孔洞，該孔洞連通該微管道與該腔體；及一上蓋，係覆蓋於該中層，該上蓋具有經鑿穿之兩孔，該兩孔分別連通該第一管道與該第二管道之尾端，用以注入具有核酸之緩衝液與檢體。如申請專利範圍第1項所述之具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，其中該微管道之深寬比約為1:1。如申請專利範圍第1項所述之具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，其中該複數個核酸萃取物係為微粒(beads)或微攜帶體(microcarriers)。如申請專利範圍第1項所述之具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，其中該基板之材料係由導體、半導體、介電材料、高分子材料，任選至少一種。如申請專利範圍第1項所述之具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，其中在該腔體上的該孔洞位於該腔體中央。如申請專利範圍第1項所述之具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，其中在該腔體上的該孔洞係位於該腔體中央附近。如申請專利範圍第1項之具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，其中該中層之該第一管道與該第二管道係分別與該腔體相連接部分之切線方向成一夾角 θ ，該夾角 θ 為20~80度之間。如申請專利範圍第1項之具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，在該腔體上的該孔洞與該腔體平面垂直。如申請專利範圍第1項所述之具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，其中該腔體係從圓形、橢圓形、多邊形與不規則連續邊形，任選其一作為其形狀。如申請專利範圍第1項所述之具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，其中該腔體內部係包含一柱狀物。一種具凹凸結構之微管道的核酸萃取方法，包含下列步驟：提供一具有凹凸結構之微管道，該凹凸結構之微管道的表面上固定有複數個核酸萃取物；將一具有核酸之緩衝液導入該凹凸結構之微管道中，以萃取該複數個核酸萃取物所對應之核酸；及驅動該緩衝液來回運動，以增加該緩衝液與該核酸萃取物之碰撞。如申請專利範圍第11項所述之具凹凸結構之微管道的核酸萃取方法，該複數個核酸萃取物可以是微粒(beads)、微攜帶體(microcarriers)或其他型式微小顆粒(particles)，任選其一或混合使用。如申請專利範圍第11項所述之具凹凸結構之微管道的核酸萃取方法，該可驅動流體來回運動之步驟，係利用一注射筒或一雙向導引幫浦，兩者任選其一或混合使用。如申請專利範圍第1項之具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置，其中該中層之該第一管道與該第二管道係為平行。一種核酸萃取方法，係利用申請專利範圍第1項所述之具凹凸結構之微管道的核酸萃取裝置所實施，其中該核酸萃取方法係包含下列步驟：將具有核酸之一緩衝液與一檢體注入於該上蓋之該兩孔中；由該兩孔注入的該緩衝液與該檢體，在該中層充分混合後，經由該腔體上的該孔洞流入該基板中的該微管道；混合後之該緩衝液與該檢體在該微管道中經由固定在該微管道表面上的複數個核酸萃取物萃取核酸。10...上蓋 11...孔洞 13...凸出部分 30...基板 31...微管道 32...凹槽結構



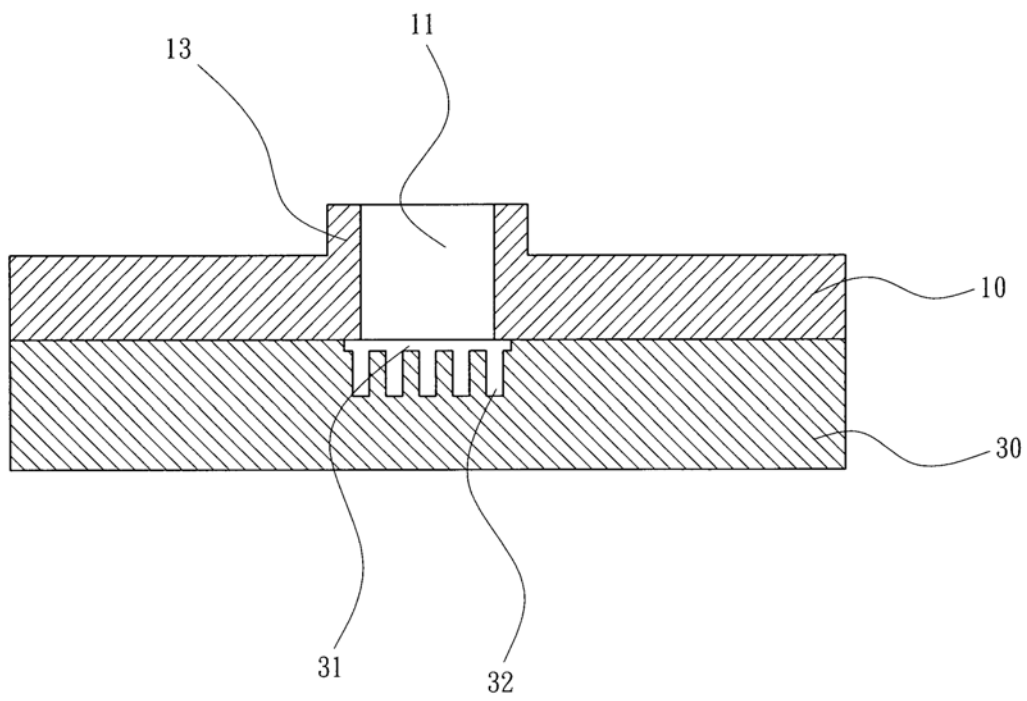
第1圖



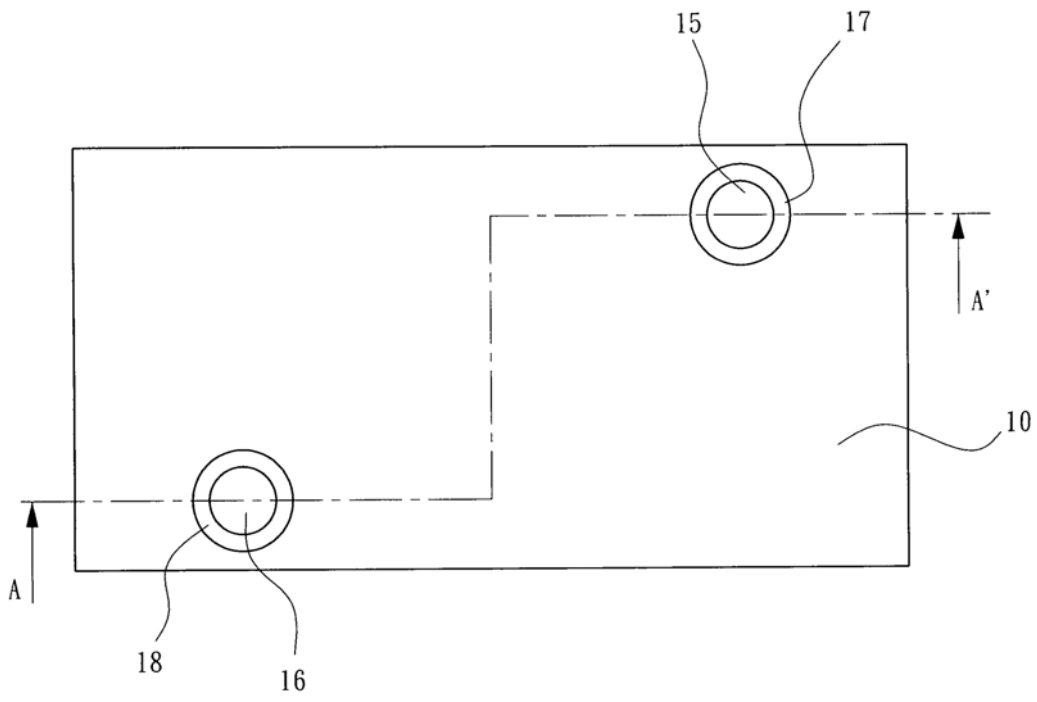
第2圖



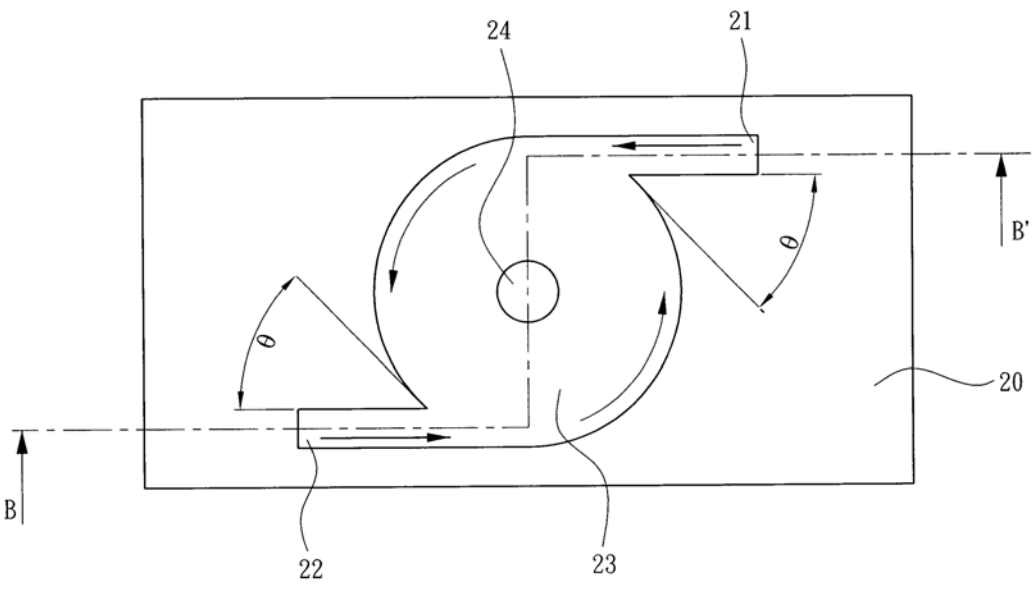
第3圖



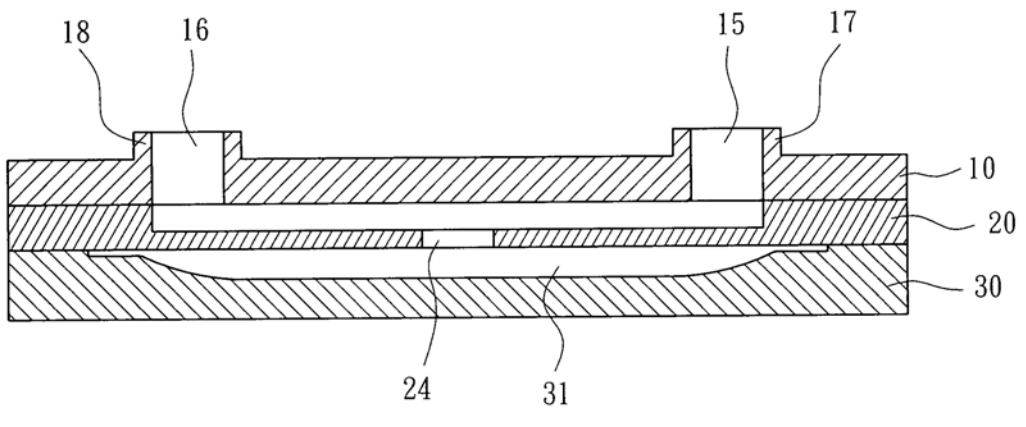
第4圖



第5圖



第6圖



第7圖