



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I475226 B

(45) 公告日：中華民國 104 (2015) 年 03 月 01 日

(21) 申請案號：101127720

(22) 申請日：中華民國 101 (2012) 年 08 月 01 日

(51) Int. Cl. : G01N33/53 (2006.01)

G01N35/00 (2006.01)

G01N35/10 (2006.01)

(71) 申請人：逢甲大學 (中華民國) FENG CHIA UNIVERSITY (TW)

臺中市西屯區文華路 100 號

(72) 發明人：施志欣 SHIH, CHIH HSIN (TW) ; 吳和晉 WU, HO JIN (TW) ; 楊喻評 YANG, YU PING (TW)

(74) 代理人：陳紹良

(56) 參考文獻：

TW 201135228A

TW 201206538A

US 2002/0106786A1

US 2008/0102537A1

審查人員：劉守禮

申請專利範圍項數：22 項 圖式數：8 共 23 頁

(54) 名稱

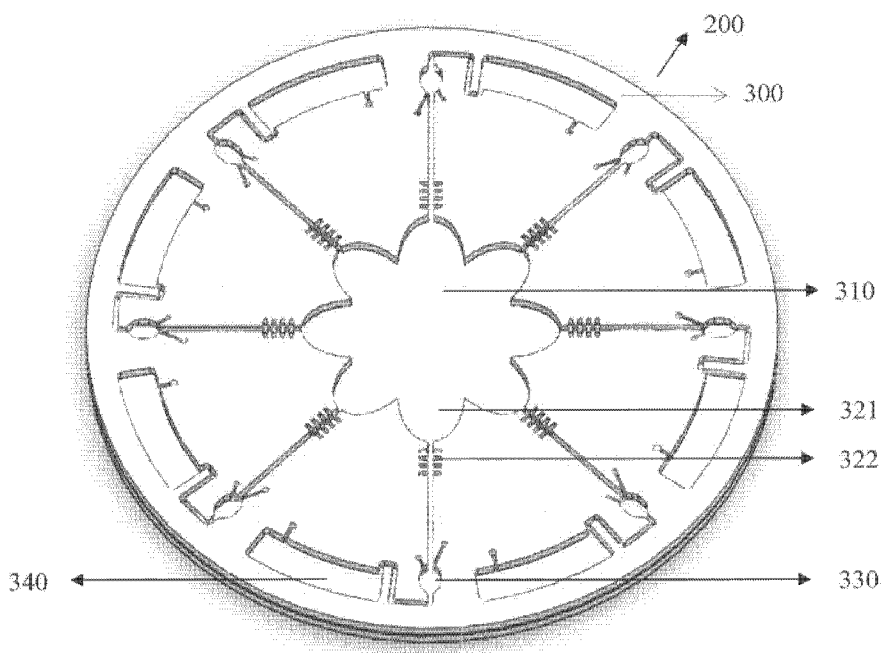
利用分流結構進行生化檢測之裝置及其運作方法

THE APPARATUS AND METHODOLOGY TO CARRY OUT BIOCHEMICAL TESTING ON A CENTRIFUGAL PLATFORM USING FLOW SPLITTING TECHNIQUES

(57) 摘要

本發明提供一種在離心平台上，利用分流裝置執行生化檢測之分析裝置及該裝置之運作方法。利用單層或是多層的分流結構，使得同一種試劑注入一次後即可在離心作用下平均分流至各需要反應之區域，降低傳統方式因為所需注入試劑的次數過多，而造成的人力、時間以及成本的浪費。此發明可確實的減少人為操作，大幅降低人為誤差的風險。

The invention provides an apparatus and methodology to carry out biochemical testing on a centrifugal platform using flow splitting techniques. In conventional biochemical testing, reagents need to be loaded individually into each reservoir. By using the flow splitting techniques in this invention, reagent only need to be loaded once, then, it can be evenly distributed into each reaction chambers in single or multilayer format. The invention greatly reduces the required manpower when large numbers of assays are integrated on one platform. Because of the invention, many medical examinations can be performed efficiently, thus reducing the waste of manpower, time and cost.



- 200 . . . 微流體碟片
- 300 . . . 微流體結構層
- 310 . . . 注入槽
- 321 . . . 分流槽
- 322 . . . 流動阻力元件
- 330 . . . 偵測槽
- 340 . . . 廢液槽

圖 2

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：101127720

G01N 33/53(2006.01)

※ 申請日：101.8.1

※IPC 分類：G01N 35/00(2006.01)

G01N 35/10(2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

利用分流結構進行生化檢測之裝置及其運作方法

The apparatus and methodology to carry out biochemical testing on a centrifugal platform using flow splitting techniques

二、中文發明摘要：

本發明提供一種在離心平台上，利用分流裝置執行生化檢測之分析裝置及該裝置之運作方法。利用單層或是多層的分流結構，使得同一種試劑注入一次後即可在離心作用下平均分流至各需要反應之區域，降低傳統方式因為所需注入試劑的次數過多，而造成的人力、時間以及成本的浪費。此發明可確實的減少人為操作，大幅降低人為誤差的風險。

三、英文發明摘要：

The invention provides an apparatus and methodology to carry out biochemical testing on a centrifugal platform using flow splitting techniques. In conventional biochemical testing, reagents need to be loaded individually into each reservoir. By using the flow splitting techniques in this invention, reagent only need to be loaded once, then, it can be evenly distributed into each reaction chambers in single or multilayer format. The invention greatly reduces the required manpower when large numbers of assays are integrated on one platform. Because of the invention, many medical examinations can be performed efficiently, thus reducing the waste of manpower, time and cost.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(2)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

200 微流體碟片

300 微流體結構層

310 注入槽

321 分流槽

322 流動阻力元件

330 偵測槽

340 廢液槽

● 五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

一種快速檢測之實驗裝置，特別針對程序中需要多次注入相同試劑以及注入多種試劑之實驗裝置。

【先前技術】

生化檢測，特別是酵素連結免疫分析法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 為一常見之快速檢測方法，因 ELISA 具有高專一性、快速、靈敏、檢驗成本低及可同時進行大量樣本檢測等優點，因此具有廣泛的實際應用之價值。ELISA 的原理為抗原及抗體間特異性鍵結，可用以檢測及初步定量特定之抗原或抗體。

以三明治酵素連結免疫分析法 (sandwich ELISA) 為例，實驗中需要陸續加入捕捉抗體 (capture antibody)、抗原 (antigen)、連結上酵素的偵測抗體 (detection antibody labeled with HRP)、及呈色液。每一步驟又需要一段孵育反應時間 (incubation time) 以及清洗 (wash) 程序。因此，整個酵素連結免疫吸附法需要一段相當長的執行時間 (數小時至數天) 及繁複的執行程序。現有的執行方式大多使用 96 孔微滴定盤 (microtiter plate) 來進行，但此種方法操作上必須手動地多次注入樣品與試劑於多個反應槽中，操作十分耗費人力與時間。

為了改善以上問題，在 2001 年，Lee 等人提出在微流體光碟平台上進行 ELISA，稱 "CD_ELISA"。此系統利用轉速控制使試劑可以照著檢測流程依序釋放，檢測人員只需預先將試劑注入各儲存槽，便可自動化執行試劑依序釋放以及混合反應，完成 ELISA 程序。

其原理如下：將一微流體光碟刻劃多組微流道，並在其微流道上設計數個儲存槽，於儲存槽下方設置微流閥。當微流體光碟於低轉速旋轉時，液體在儲存槽通往微流閥的入口處會形成一液氣表面，此時液體的內部有來自離心作用下所形成的液體壓力，而在液氣表面上會因表面張力產生一阻止液體前進的毛細壓力，當液體壓力低於毛細壓力時，液體會保留在儲存槽中，當轉速提高時，液體壓力跟著增加，當

其大於毛細壓力時，液體會突破微流閥，使得儲存槽中的液體被釋放出來。

如此設計簡化了檢測流程，加上在此系統中試劑體積需求小且反應的表面積大，可加速反應進行，使整體的檢測時間縮短至 1~2 小時即可完成。

然而，在執行 CD_ELISA 時，仍有部分問題需要克服。假設程序中需要加入五種試劑，每一程序則需要有五個微流閥，由文獻中得知，液體突破微流閥所需之轉速(突破轉速)由外而內依序為 327、546、968、1180、1506 每分鐘轉速(RPM)。(因受到形狀限制，無法提高突破轉速以拉大間隙)。看似可以依照控制轉速達到依序釋放試劑的效果，但在實際檢測中，突破轉速並非一個定值，其值落在突破轉速平均值的正負 20%範圍之內，此時會影響依序釋放試劑的正確性。當各微流閥的突破轉速差距不夠大，會形成突破轉速範圍重疊的情況，可能會使得在相同轉速下有數個微流閥同時被突破，導致原有檢測程序的改變，造成測試失敗。

有鑑於此，在 2009 年 Cho 等人提出以蠟閥取代微流閥作為阻擋液體釋放的裝置。以低熔點的蠟阻擋閥門，使液體於儲存槽中無法突破蠟閥前進。當需要釋放液體時，再依序用雷射光溶解蠟使閥門開啟，達到依序釋放的目的。如此即可正確的控制何時要讓液體突破閥門，避免釋放順序錯誤之情形。但此方法會造成碟片製作困難度提高，同時因為使蠟閥溶解也需要精密儀器控制，提高了整個測試的製作成本。

縱使不計成本透過蠟閥的應用解決微流閥突破轉速不穩定的問題，在檢測過程中，大量的液體注入程序仍會造成 CD_ELISA 使用上的困難。假設在一微流體光碟上有 12 組微流道，每組微流道中含有 5 個儲存槽，此系統在檢測前光是注入試劑便需注入 60 次，需要耗費大量的人力與時間，還會產生試劑揮發的問題。加上未來在產品的考量下，必定會以攤提光碟製造時的固定成本為前提，在微流體光碟上放置更多組微流道以達到經濟效益。若在 1 片微流體光碟上放置 96 組微流道，每組微流道中含有 5 個儲存槽，那麼一組微流道就需注入 5 次試劑，整個系統要運作總共就需注入 480 次試劑。如此不僅耗費時間

與人力，更可能使得人為疏忽產生的誤差大幅提升。

解決此問題的方案之一為分流流道設計，讓試劑能夠透過一次注入，便可以在離心力驅動下，可自動且平均地分配至各反應槽。文獻中離心場上的分流機制主要可分做兩類，第一類為序列式分流，其結構為一串連式排列的分流槽，每一分流槽出口有閥門控制。原理為利用離心力或毛細管力驅動液體依序列填滿各分流槽，流入分流槽中液體受到閥門限制而不再前進，多餘液體則經由流道尾端排出至廢液槽，使各分流槽中充滿一樣多的液體。最後提高轉速，將分流槽中填滿的液體突破閥門送至反應槽，達到液體平均分配的目的。Anderson (2005) 與 Mark 等人 (2009) 皆提出以序列式分流方式進行分流。然而此方式液體為序列填滿，因此液體分流需要較長時間。此外，毛細管力在填滿分流槽時容易不穩定，導致液體分流失敗。

另一種為分叉式分流，其結構為一個一分為二，二分為四的分支流道結構，原理是利用離心力驅動液體流入分支流道，使液體透過分支流道分成數份而流入反應槽。Lee 等人在 2009 年曾經提出以分叉式分流方式進行 CD ELISA。然而此種設計在液體分流時容易受到光碟旋轉產生的科氏力影響，使與光碟旋轉方向相反方向的流道之流量較大，導致液體分配不均勻。雖然在 2010 年 Lin 等人曾提出從流道幾何形狀降低流速來減少科氏力之影響的方式進行修正，但是測試結果僅限於 1000 RPM，在高轉速下恐無法達到效果。因此，依舊沒有徹底解決此問題。

【發明內容】

為解決先前技術中微流閥突破轉速不穩定，造成檢測程序錯誤，以及需要注入試劑之次數過多，使得人為誤差之可能性提升的問題，本發明提出一種利用分流結構進行生化檢測之裝置，亦可稱為生化檢測分析裝置：碟片式分流檢測系統。本發明加入了液體流動分配控制的功能，設計結構對稱於圓心，可避免科氏力所造成的 θ 方向干擾，甚至能利用科氏力幫助液體流入分流槽。此外，本設計為平行式分流，能夠同時在最短時間內將液體平均分配至分流槽。此外，本裝置以離心力取代毛細管力驅動液體填滿分流槽，減少不規則的流動情形。因

此本發明不僅具有原本 CD_ELISA 的優點，還可大量減少注入試劑的次數且快速並穩定的分配液體。

本發明提供之利用分流結構進行生化檢測之裝置包括一旋轉平台以及一微流體碟片，該旋轉平台以及該微流體碟片呈圓形扁平之碟片狀，該微流體碟片設置於該旋轉平台上。該旋轉平台包含至少一凹槽的對位裝置，透過該至少一凹槽將該微流體碟片固定於該旋轉平台上，且為避免影響檢測結果，材質選用可以是鋁或其他非磁性物質。該微流體碟片之材質可以是聚甲基丙烯酸甲酯(polymethylmethacrylate, PMMA)。

該微流體碟片包括一微流體結構層，該微流體結構層由圓心至圓周處包括：一注入槽、至少一微流道、至少一偵測槽以及至少一廢液槽。該注入槽位於該微流體結構層圓心處，並設置有試劑注入孔。該至少一微流道呈放射狀設置於該微流體結構層中，並與該注入槽連通，該至少一微流道為可供液體流通之通道，供試劑由該微流體結構層之圓心向圓周流動。該至少一偵測槽位於該微流體結構層圓周處，其可以設置待測物注入孔，並與該至少一微流道連通，用以供試劑進行反應。該至少一廢液槽位於該至少一偵測槽旁，並與該至少一偵測槽連通，用以儲存反應過後之廢液。

該至少一微流道包括一分流槽以及一流動阻力元件。該分流槽位於該注入槽外側(相較該注入槽較靠近圓周)，並與該注入槽連通，可平均分流由該注入槽流入之試劑。該流動阻力元件位於該分流槽以及該至少一偵測槽之間，並與該分流槽以及該至少一偵測槽連通，可控制試劑是否由該分流槽流至該至少一偵測槽。

該微流體結構層還可以包括至少一混合槽，該至少一混合槽位於該流動阻力元件以及該至少一偵測槽之間，並與該流動阻力元件以及該至少一偵測槽連通，且該混合槽可以設置待測物注入孔。

該微流體結構層尚可以包括至少一第二微流閥，該至少一第二微流閥位於該至少一偵測槽以及該至少一廢液槽之間，並與該至少一偵測槽以及該至少一廢液槽連通，可控制試劑是否由該至少一偵測槽流入至該至少一廢液槽。

其中該分流槽之體積至少為該至少一偵測槽之體積的三倍以上。各該至少一微流道中之該流動阻力元件與該微流體結構層圓心之距離皆相等。該流動阻力元件可以是一微流閥或一高阻力緩衝流道，該流動阻力元件若以該微流閥方式實施，其結構形狀可以是箭翎形。

在先前技術中的依序釋放設計中，各該微流閥在不同之半徑位置，因此各有不同突破轉速，但因其突破轉速實際上為一區間，因此在高轉速情形下可能會發生數個該微流閥同時被突破，如此會改變原有的檢測程序，造成實驗失敗。本發明的分流設計即可避免此情形發生，其原理是利用該分流槽配合馬達轉速變化時產生的 θ 方向慣性力使液體分配至各該分流槽，再利用馬達旋轉時產生的 r 方向離心力使液面平整且穩定，此時該分流槽外側的該流動阻力元件若以該微流閥方式實施，該微流閥將阻擋住液體。接著由於各該微流閥與該微流體結構層圓心之距離皆相等(即各該微流閥位於相同半徑位置)，因此各該微流閥的突破轉速也會相等，所以只需以低轉速將液體分配至各該分流槽後，再以高轉速使液體突破該微流閥，將液體送至該至少一偵測槽。在轉速控制上只需高低兩種設定。同時，在高轉速作用下，可以移除該微流閥表面液體，使之恢復閥門特性，之後視實驗需求再加入所需之其他試劑，重複突破該微流閥之步驟即可。本發明優點為同時只注入一種試劑，不用擔心釋放順序錯誤，該微流閥位於半徑的相同位置，也使得馬達轉速操控更為簡易。

同時本發明也能大幅降低人工注入次數。為達到良好的經濟效益，通常該微流體碟片上都設有數組該微流道同時進行實驗，假設該微流體碟片有 96 組該微流道，每組該微流道有 5 個儲存槽，則一次試驗總共便需注入 480 次試劑。而本發明提出之利用分流結構進行生化檢測之裝置，可透過該分流槽的運作，使每一次注入之試劑都平均分配至各該微流道中，此時 5 種試劑僅需注入 5 次，即可使試劑平均分配至 96 組該微流道，先前技術若要達到相同效果，其注入次數隨著該微流道數量提升而呈倍數成長。因此本發明不論在操作時間或人力上，都具有極大的優勢。

在實驗過程中，先前由該分流槽流入該至少一偵測槽之液體 A 將會

被後續由分流槽流入之液體 B 取代。若液體 B 可完全取代液體 A，將可大幅提高偵測訊號的穩定性。因此該分流槽的體積與該至少一偵測槽體積的關係十分重要。該分流槽的體積與該至少一偵測槽體積比至少要 3 倍以上方能有好的取代效果。根據設計不同，體積比可提升至 6 倍，甚至於 10 倍以提高其取代效果。

該流動阻力元件的作用若以該微流閥方式實施，可利用幾何形狀改變或是增加表面疏水性，在低轉速操作下阻擋液體前進。對於該微流閥的設計而言，可使用圓形微流閥、魚骨形閥等。但若所使用的檢測試劑包含蛋白質，會直接將圓形微流閥的管壁沾濕，進而使圓形微流閥失去閥門的效用。而當試劑流過魚骨形閥，容易殘留在閥內導致試劑交互感染。因此，本發明將魚骨形閥的角度稍作調整，改良為箭翎形。此種改良使得該微流閥不但能保留阻擋液體的功能，還能避免液體殘留在該微流閥內，解決前後注入之試劑會互相影響的缺點。

在某些液體(如 Phosphate Buffer Solution with Tween-20, PBST)的操作下，當液體通過閥門後會造成閥門疏水性永久失效。此時即使在高轉速作用下移除該微流閥表面液體，也無法恢復閥門疏水性。此時該流動阻力元件可改用該高阻力緩衝流道。該高阻力緩衝流道的幾何形狀(如深度與寬度)通常遠小於該注入槽或其他該至少一微流道之幾何形狀。利用液體在該注入槽和該高阻力緩衝流道中流動阻力的差別，可使液體在通過該高阻力緩衝流道前填滿該分流槽，再提高轉速，達到液體平均分配的目的。

上述說明雖以單面單層分流結構進行為主，但本發明分流設計的結構並不侷限於單面單層。根據實驗的需求，可發展為雙面多層的設計。採取多層設計時，該微流體碟片可包括至少二微流體結構層，由圓心至圓周仍包括該注入槽、該至少一微流道、該至少一偵測槽以及該至少一廢液槽，而該至少一微流道也包括該分流槽以及該流動阻力元件。此外，該至少二微流體結構層還可以包括該至少一混合槽以及該至少一第二微流閥，其設置位置亦與單面單層設計時相同。

多層設計之特點在於，該至少一偵測槽會與設置於該至少二微流體結構層中不同層且上下位置對應的每條該至少一微流道連通。意即若

該微流體結構層有四層，每層都設置數條該至少一微流道，則該至少一偵測槽會與四層該微流體結構層中上下位置對應的四條該微流道同時連通，使上下位置對應之四條該微流道內的液體流入同一個該至少一偵測槽。另外，該至少二微流體結構層中，不同層之該注入槽互不相通，且各層之該注入槽設有獨立的試劑注入孔。另外，處於同一層該至少二微流體結構層的各該至少一微流道中之該流動阻力元件與該至少二微流體結構層圓心之距離皆相等，不同層則距離可以不同。

本發明並不侷限於雙面雙層，若實驗過程中使用的試劑較多種，還可依檢測需求延伸成雙面三層、四層甚至更多。若使用該微流閥為該流動阻力元件情況下，相較於單面單層的設計，在多層設計的狀況下由於不同試劑不會流過相同的該微流閥(因為注入在不同層之該注入槽)，因此可完全避免試劑(尤其是含有蛋白質或界面活性劑之試劑)流過該微流閥後會造成該微流閥失效而無法阻擋液體的狀況，也可以避免試劑交互污染。若未使用多層設計，則當該微流閥被突破後，仍需維持高轉速一特定時間(如 10 分鐘)，使該微流閥乾燥，以恢復阻擋液體之功能。

【實施方式】

接著以實際運作流程與實施例，進一步配合圖式說明本發明如何解決先前技術之缺陷。

圖 1 為本發明一實施例之該旋轉平台(100)示意圖，其包含該至少一凹槽(110)的對位裝置，透過該至少一凹槽(110)可將如圖 2 所示之該微流體碟片(200)固定於該旋轉平台(100)上。

該微流體碟片(200)包括該微流體結構層(300)，如圖 2 所示，該微流體結構層(300)由圓心至圓周處包括：該注入槽(310)、該分流槽(321)、該流動阻力元件(322)、該至少一偵測槽(330)以及該至少一廢液槽(340)。

其中該流動阻力元件(322)可使用圓形微流閥或如圖 3 中(A)所示之魚骨形閥。但圓形微流閥遇到包含蛋白質的試劑會失去閥門的功效，而魚骨形微流閥容易殘留前次試驗之試劑導致交互感染。因此，本發明提出將其形狀改良為如圖 3 中(B)所示之箭翎形，可保留阻擋液體的

功能，並避免試劑殘留。此外，如需使用某些液體(如 Phosphate Buffer Solution with Tween-20, PBST)造成閥門疏水性質失效，可改用如圖 3 中(C)所示之該高阻力緩衝流道。

此外，本發明可視實驗需要提供多面多層結構，圖 4 即為雙面雙層設計之一實施例俯視圖，而圖 5 則是雙面雙層設計之側面剖視圖。由圖 5 可知該微流體碟片(200)中共包含四層該微流體結構層(300)，每層結構皆有獨立的試劑注入孔，多層結構之試劑注入孔如圖 5 所示分別為多層結構-第一層注入孔(312)、第二層注入孔(313)、第三層注入孔(314)、第四層注入孔(315)，但試劑的出口皆流入共同的該至少一偵測槽(330)。

圖 6 為利用分流結構進行生化檢測之裝置運作方法流程圖(以酵素連結免疫分析為例)，其步驟包括：a.注入試劑：注入試劑至該注入槽(310)或該至少一偵測槽(330)；b.旋轉該旋轉平台(100)：若使用該微流閥為流動阻力元件(322)情況下，以低於該微流閥之突破轉速進行旋轉，使該注入槽(310)內之試劑平均流入各該至少一微流道(320)之該分流槽(321)，c.將該旋轉平台(100)之轉速進一步增加至一特定轉速：進一步將轉速提高至一特定轉速後，該分流槽(321)內之試劑突破該微流閥流入該至少一偵測槽(330)，進而與該至少一偵測槽(330)內之試劑混合進行反應；d.檢測反應結果。其中，該特定轉速為一固定之值，其值端賴該微流閥之位置、表面接觸角與幾何形狀而定。而步驟 c 完成之後尚可視檢測流程需要重複進行步驟 b 與步驟 c，再接續步驟 d 檢測反應結果。

若採用單層設計，則運作方法說明如下：首先進行步驟 a，將試劑 X 注入該注入槽(310)或該至少一偵測槽(330)，接著進行步驟 b，啟動馬達旋轉之後，帶動該旋轉平台(100)以及該微流體碟片(200)一起旋轉，此時試劑將平均分配至各該分流槽(321)，試劑因轉速不足以突破該微流閥而停留在該分流槽(321)內，待液面平整時，進行步驟 c，以高轉速使試劑突破該微流閥並流入該至少一偵測槽(330)，接著維持高轉速 10 分鐘，使該微流閥乾燥以回復阻擋試劑之功能，接著視實驗需要，再注入另一試劑 Y，並重複以上步驟，完成後進行步驟 d，檢測反應結果。

若採用多層設計，則差別在於步驟 a 注入試劑時，不同試劑可以注入到不同層之該注入槽(310)。首先將試劑 X 注入第一層該微流體結構層(300)之該注入槽(310)，接著進行步驟 b，旋轉該旋轉平台(100)，進行步驟 c，將該旋轉平台(100)之轉速進一步增加至一特定轉速，利用分流結構將試劑 X 均分至各該至少一偵測槽(330)；再重複進行步驟 a，將試劑 Y 注入第二層該微流體結構層(300)之該注入槽(310)，再一次進行步驟 b，旋轉該旋轉平台(100)，進行步驟 c，將該旋轉平台(100)之轉速進一步增加至一特定轉速，利用分流結構均分至各該至少一偵測槽(330)；再將試劑 Z 注入第三層該微流體結構層(300)之該注入槽(310)(步驟 a)，旋轉該旋轉平台(100)(步驟 b)，將該旋轉平台(100)之轉速進一步增加至一特定轉速(步驟 c)，利用分流結構均分至各該至少一偵測槽(330)；最後，將呈色液注入第四層該微流體結構層(300)之該注入槽(310)(步驟 a)，旋轉該旋轉平台(100)(步驟 b)，將該旋轉平台(100)之轉速進一步增加至一特定轉速(步驟 c)，利用分流結構均分至各該至少一偵測槽(330)，完成後進行步驟 d，檢測反應結果。

若採用多層設計檢測過程中，不同試劑各注入不同層之該注入槽(310)，再分別流經不同的該分流槽(321)、該流動阻力元件(322)，最後流入共同的該至少一偵測槽(330)進行反應以供檢測。如此可完全避免試劑交互污染，在使用該微流閥為該流動阻力元件(322)情況下，也可省去使用單層設計多種試劑時，在試劑突破該微流閥後，必須維持高轉速一段時間使該微流閥恢復乾燥的步驟。

[實施例一]

本實施例以單面單層分流結構，使用該微流閥為該流動阻力元件(322)情況下執行 CD ELISA 為例說明，實驗過程如圖 7 所示。首先，由待測物注入孔(316)注入 1 微升已連結捕捉抗體之磁珠、50 微升抗原、以及 1 微升已標定酵素之偵測抗體至該至少一混合槽(350)，接著將該微流體碟片(200)置於如圖 1 顯示之該旋轉平台(100)上以馬達轉速 800 RPM 旋轉，此時混合液在該至少一第二微流閥(323)作用下維持在該至少一混合槽(350)內，並保持較高液面。接著以磁場帶動磁珠運動，進行充分混合，並進行一小時之孵育(incubation)完成基本鍵結。混合完

畢後，以馬達轉速 1500 RPM 使混合液突破該至少一第二微流閥(323)。此時，已完成抗體與抗原鍵結之磁珠在磁場或幾何形狀作用下被固定於該至少一偵測槽(330)內，多餘混合液體則流入該至少一廢液槽(340)。接著於該單層結構-注入孔(311)注入 560 微升清洗液(Phosphate Buffer Saline with Tween-20, PBST)，先以馬達轉速 1000 RPM 配合該微流閥作用填滿該分流槽(321)，再以馬達轉速 4000 RPM 旋轉使液體突破該微流閥流至該至少一偵測槽(330)，並使該至少一偵測槽(330)分配到 70 微升的清洗液，進行清洗 2 分鐘。同時該微流閥在馬達轉速 4000 RPM 下 10 分鐘後也完成乾燥恢復閥門作用。視實驗實際需求，此清洗動作可重複數次。最後於該單層結構-注入孔(311)注入 560 微升呈色液(TMB)，使該至少一偵測槽(330)分配到 70 微升的呈色液，在磁場作用下反應 20 分鐘，最後即可偵測反應結果。

[實施例二]

本實施例以單面單層分流結構，使用該微流閥為流動阻力元件(322)情況下的脂質檢測(Lipid test)為例說明，實驗過程如圖 8 所示。本發明應用於此檢測可縮短健康檢查程序之時間，更快速得知檢測之結果。

此檢測是利用酵素終點反應法(Enzymatic end point method)檢測血清中三酸甘油酯(Triglycerides, TG)之含量。首先，由待測物注入孔(316)注入 1 微升的血清至該至少一偵測槽(330)，接著於該單層結構-注入孔(311)注入 272 微升的檢測用試劑，先以馬達轉速 1000 RPM 配合該微流閥作用使檢測藥劑填滿該分流槽(321)，再以馬達轉速 4000 RPM 旋轉使液體突破該微流閥流至該至少一偵測槽(330)並使該至少一偵測槽(330)分配到 34 微升的檢測藥劑。接著設定馬達以順逆時針交替轉動方式(振幅：150 度,頻率：15 赫茲，時間：30 s) 進行震盪混合，使所有液體在該至少一偵測槽(330)均勻混合後即可進行檢測。

本發明提供之裝置與方法可應用於生化醫學檢測，特別是需要加入多次試劑的檢測項目，如：免疫檢測。以 ELISA 為例，需要依序注入捕捉抗體、抗原、偵測抗體、清洗液與呈色液等五種試劑。若以一片該微流體碟片(200)上有 8 組該微流道(320)為例，共須注入試劑 40 次。應用本發明之設計則只須注入 5 次試劑，每注入一種試劑即可利用液體

分配功能將試劑平分流入各該至少一偵測槽(330)，達到執行 ELISA 的目的。

綜上所述，本發明可降低需要注入試劑的總次數，且由於每次僅注入一種試劑，以及各該流動阻力元件(322)與該微流體結構層(300)之圓心距離皆相等，所以使用者只需注意操作將該微流體碟片(200)旋轉到較高轉速即可釋放試劑，不必頻繁更動成多段轉速，也無需顧慮該微流閥間突破轉速的不穩定性，試劑間亦無交互污染的可能。因此，本發明可大量簡化操作步驟、提升使用者操作方便性以及降低人為錯誤出現的機率，實為未來生醫檢測的良好選擇。

【圖式簡單說明】

圖 1 為本發明一實施例之旋轉平台俯視示意圖。

圖 2 為本發明一實施例之微流體結構層示意圖。

圖 3 為魚骨形微流閥(A)、箭翎形微流閥(B)與高阻力緩衝流道(C)示意圖。

圖 4 為本發明雙面雙層設計之一實施例俯視示意圖。

圖 5 為本發明雙面雙層設計之一實施例側面剖視示意圖。

圖 6 為本發明之運作方法流程圖。

圖 7 為應用本發明進行之 ELISA 實驗之微流體結構層示意圖。

圖 8 為應用本發明進行之 Lipid test 實驗之微流體結構層示意圖。

【主要元件符號說明】

100 旋轉平台

110 凹槽

200 微流體碟片

300 微流體結構層

310 注入槽

311 單層結構-注入孔

312 多層結構-第一層注入孔

313 多層結構-第二層注入孔

314 多層結構-第三層注入孔

315 多層結構-第四層注入孔

316 待測物注入孔

320 微流道

321 分流槽

322 流動阻力元件

323 第二微流閥

330 偵測槽

340 廢液槽

350 混合槽

七、申請專利範圍：

1. 一種利用分流結構進行生化檢測之裝置，其包括一旋轉平台以及一微流體碟片，該旋轉平台以及該微流體碟片呈圓形扁平之碟片狀，該微流體碟片設置於該旋轉平台上；

其中該微流體碟片包括一微流體結構層，該微流體結構層由圓心至圓周處包括：

一注入槽，該注入槽為輻射對稱狀且同時位於該微流體結構層及該微流體碟片的圓心上，並設置有一試劑注入孔，且該試劑注入孔位於該微流體碟片的圓心上；

至少一微流道，其呈放射狀設置於該微流體結構層中，並與該注入槽連通，該至少一微流道為可供液體流通之通道，供試劑由該微流體結構層之圓心向圓周流動；

至少一偵測槽，位於該微流體結構層圓周處，其可以設置待測物注入孔，並與該至少一微流道連通，用以供試劑進行反應；以及

至少一廢液槽，位於該至少一偵測槽旁，並與該至少一偵測槽連通，用以儲存反應過後之廢液；

其中該至少一微流道包括：

一分流槽，位於該注入槽外側，並與該注入槽連通，可平均分流由該注入槽流入之試劑；以及

一箭翎形微流閥，位於該分流槽以及該至少一偵測槽之間，並與該分流槽以及該至少一偵測槽連通，可控制試劑是否由該分流槽流至該至少一偵測槽。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置，其中該微流體結構層可以包括至少一混合槽，該至少一混合槽位於該箭翎形微流閥以及該至少一偵測槽之間，並與該箭翎形微流閥以及該至少一偵測槽連通，且該混合槽可以設置待測物注入孔。

3. 如申請專利範圍第 1 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置，

- 其中該微流體結構層可以包括至少一第二微流閥，該至少一第二微流閥位於該至少一偵測槽以及該至少一廢液槽之間，並與該至少一偵測槽以及該至少一廢液槽連通，可控制試劑是否由該至少一偵測槽流入至該至少一廢液槽。
4. 如申請專利範圍第 1 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置，其中該旋轉平台周邊外側設有至少一凹槽，該至少一凹槽平均設置於圓周等分處，該微流體碟片透過該至少一凹槽固定於該旋轉平台上。
 5. 如申請專利範圍第 1 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置，其中該旋轉平台之材質可以是鋁。
 6. 如申請專利範圍第 1 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置，其中該微流體碟片之材質可以是聚甲基丙烯酸甲酯 (polymethylmethacrylate, PMMA)。
 7. 如申請專利範圍第 1 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置，其中該分流槽之體積至少為該至少一偵測槽之體積的三倍以上。
 8. 如申請專利範圍第 1 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置，其中各該至少一微流道中之該箭翎形微流閥與該微流體結構層圓心之距離皆相等。
 9. 一種利用分流結構進行生化檢測之裝置，其包括一旋轉平台以及一微流體碟片，該旋轉平台以及該微流體碟片呈圓形扁平之碟片狀，該微流體碟片設置於該旋轉平台上；其中該微流體碟片包括至少二微流體結構層，該至少二微流體結構層由圓心至圓周處包括：
 - 一注入槽，該注入槽為輻射對稱狀且同時位於該至少二微流體

結構層及該微流體碟片的圓心上，並設置有一試劑注入孔，且該試劑注入孔位於微流體碟片的圓心上；

至少一微流道，其呈放射狀設置於該至少二微流體結構層中，並與該注入槽連通，該至少一微流道為可供液體流通之通道，供試劑由該至少二微流體結構層之圓心向圓周流動；

至少一偵測槽，位於該至少二微流體結構層圓周處，用以供試劑進行反應，其可以設置待測物注入孔，該至少一偵測槽與設置於該至少二微流體結構層中不同層且上下位置對應的每條該至少一微流道連通；以及

至少一廢液槽，位於該至少一偵測槽旁，並與該至少一偵測槽連通，用以儲存反應過後之廢液；

其中該至少一微流道包括：

- 一分流槽，位於該注入槽外側，並與該注入槽連通，可平均分流由該注入槽流入之試劑；以及
- 一箭翎形微流閥，位於該分流槽以及該至少一偵測槽之間，並與該分流槽以及該至少一偵測槽連通，可控制試劑是否由該分流槽流至該至少一偵測槽。

10. 如申請專利範圍第 9 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置，其中該至少二微流體結構層可以包括至少一混合槽，該至少一混合槽位於該箭翎形微流閥以及該至少一偵測槽之間，並與該箭翎形微流閥以及該至少一偵測槽連通，且該混合槽可以設置待測物注入孔。

11. 如申請專利範圍第 9 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置，其中該至少二微流體結構層可以包括至少一第二微流閥，該至少一第二微流閥位於該至少一偵測槽以及該至少一廢液槽之間，並與該至少一偵測槽以及該至少一廢液槽連通，可控制試劑是否由該至少一偵測槽流入至該至少一廢液槽。

12. 如申請專利範圍第 9 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置，其中該旋轉平台周邊外側設有至少一凹槽，該至少一凹槽平均設置於圓周等分處，該微流體碟片透過該至少一凹槽固定於該旋轉平台上。
13. 如申請專利範圍第 9 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置，其中該旋轉平台之材質可以是鋁。
14. 如申請專利範圍第 9 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置，其中該微流體碟片之材質可以是聚甲基丙烯酸甲酯 (polymethylmethacrylate, PMMA)。
15. 如申請專利範圍第 9 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置，其中該至少二微流體結構層中，不同層之該注入槽互不相通，且各層之該注入槽設有獨立的試劑注入孔。
16. 如申請專利範圍第 9 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置，其中該分流槽之體積至少為該至少一偵測槽之體積的三倍以上。
17. 如申請專利範圍第 9 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置，其中位於同一層該至少二微流體結構層中的各該箭翎形微流閥與該至少二微流體結構層圓心之距離皆相等。
18. 一種利用分流結構進行生化檢測之裝置運作方法，其步驟包括：
 - a. 注入試劑；
 - b. 旋轉一旋轉平台：使一注入槽內之試劑平均流入各至少一微流道之一分流槽；
 - c. 將該旋轉平台之轉速進一步增加至一特定轉速：進一步提高至該特定轉速後，該分流槽內之試劑突破一箭翎形微流閥流入至少一偵測槽，進而與該至少一偵測槽內之試劑混合進行反應；

d. 檢測反應結果。

19. 如申請專利範圍第 18 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置運作方法，其中步驟 c 中該特定轉速之值為固定值。
20. 如申請專利範圍第 18 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置運作方法，其中步驟 c 可以包括以下步驟，試劑突破該箭翎形微流閥後，持續旋轉一特定時間，使該箭翎形微流閥乾燥以回復阻擋試劑之功能。
21. 如申請專利範圍第 20 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置運作方法，其中該特定時間可以是 10 分鐘。
22. 如申請專利範圍第 18 項所述之利用分流結構進行生化檢測之裝置運作方法，其中步驟 c 完成之後尚可视檢測流程需要重複進行步驟 b 與步驟 c，再接續步驟 d 檢測反應結果。

八、圖式：

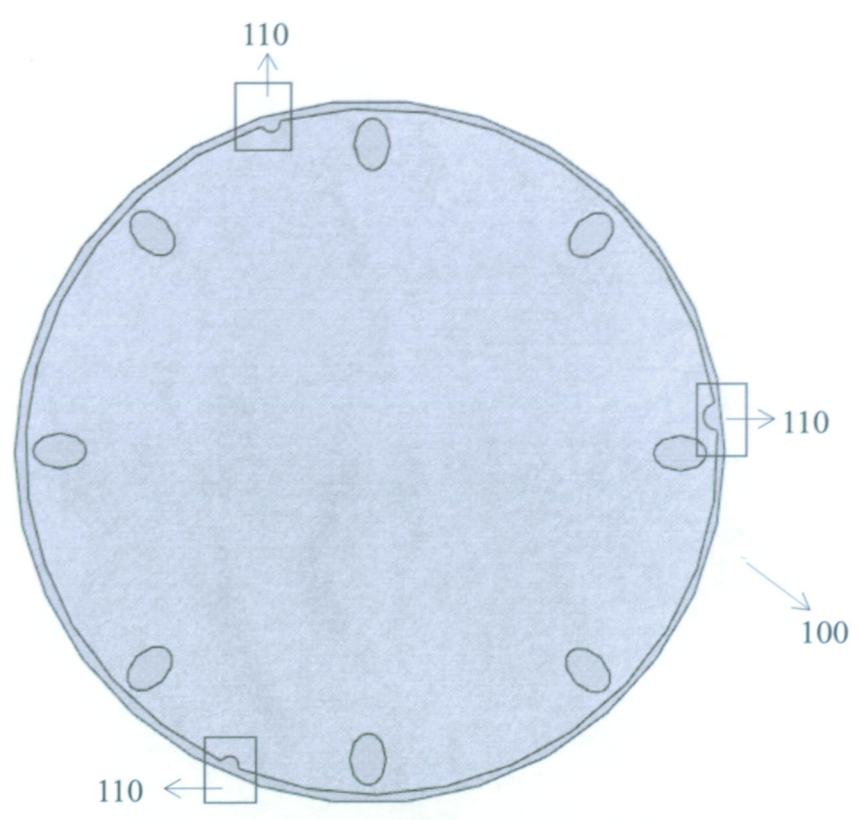


圖 1

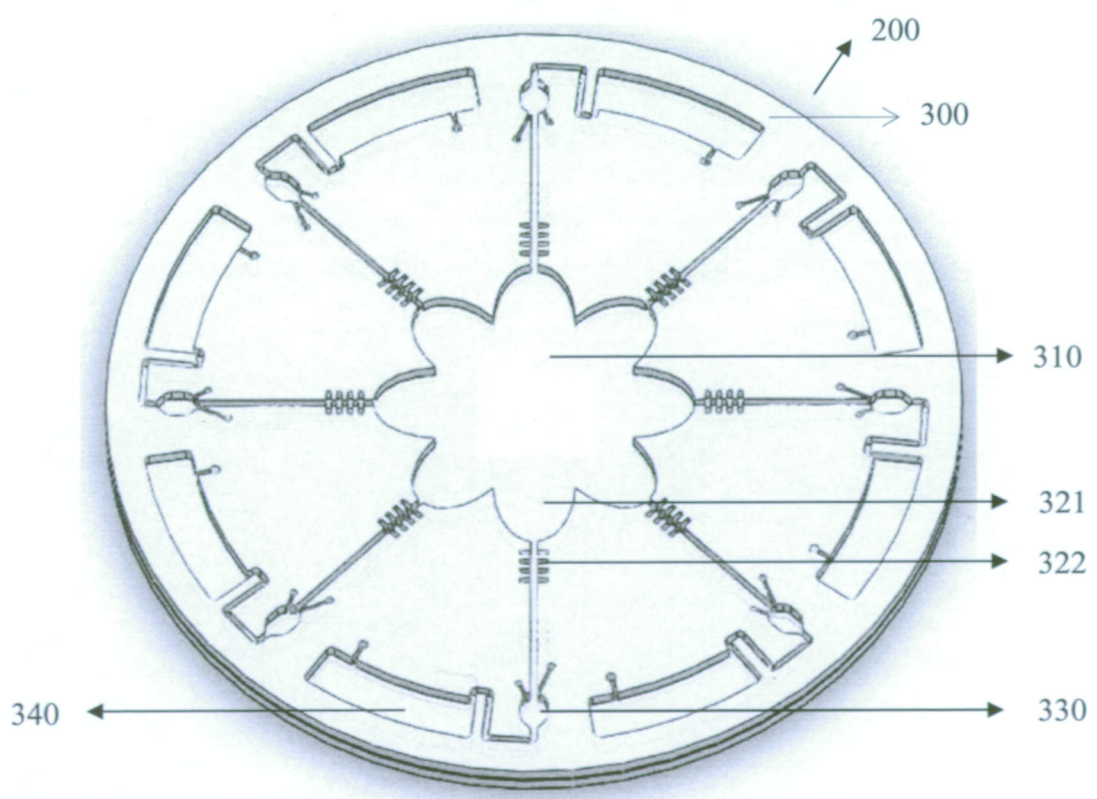


圖 2

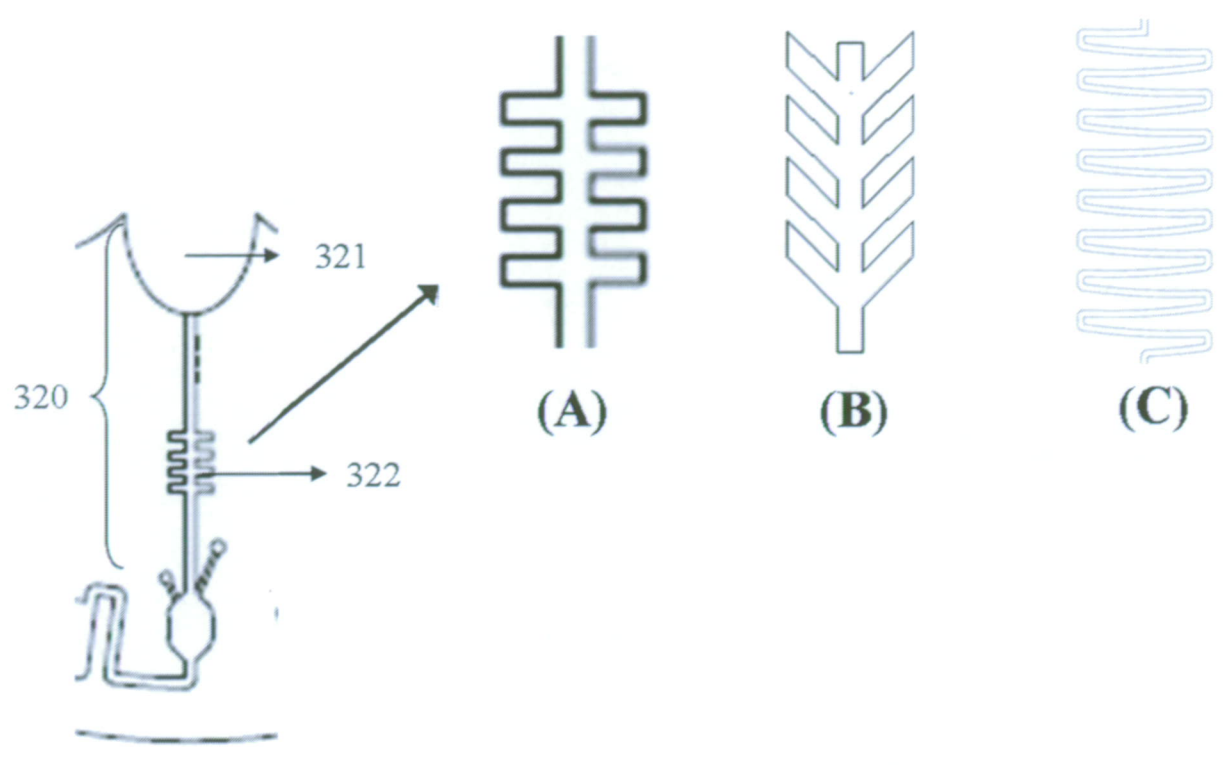


圖 3

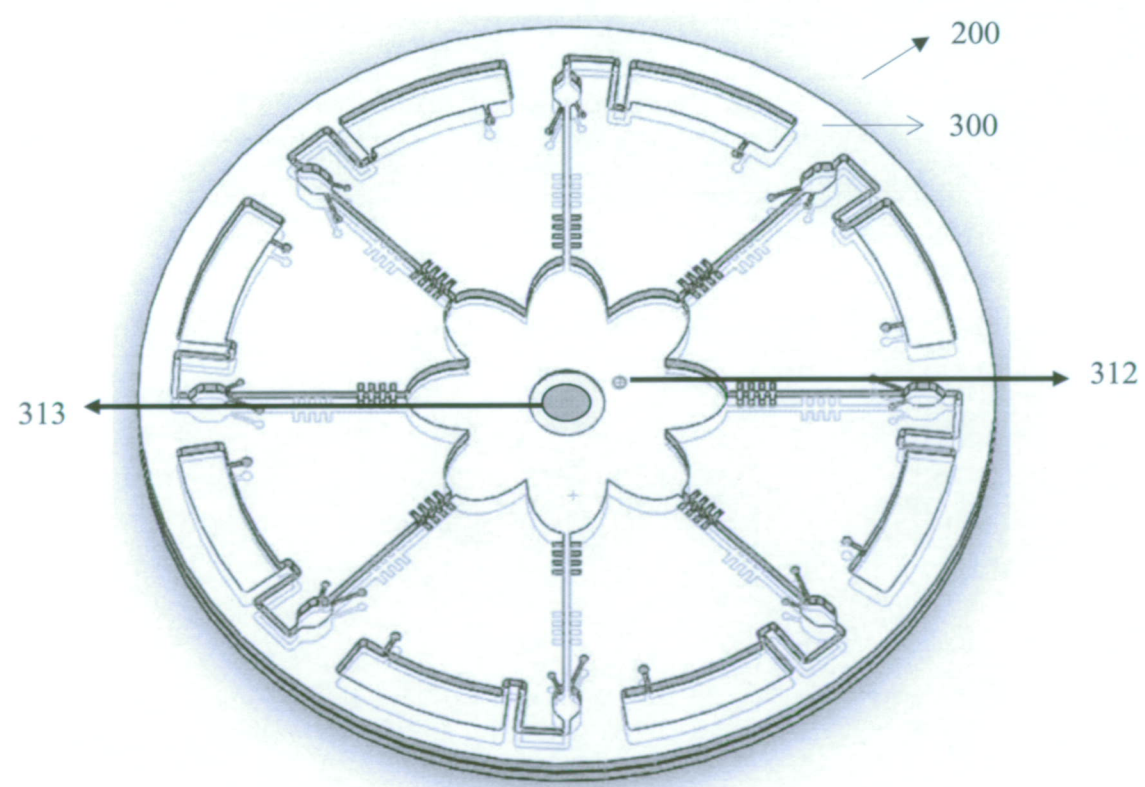


圖 4

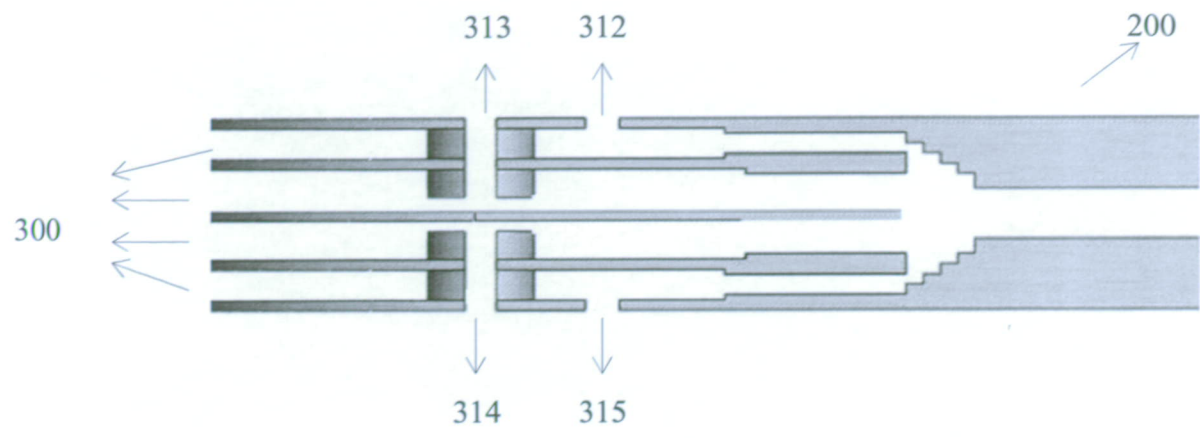


圖 5

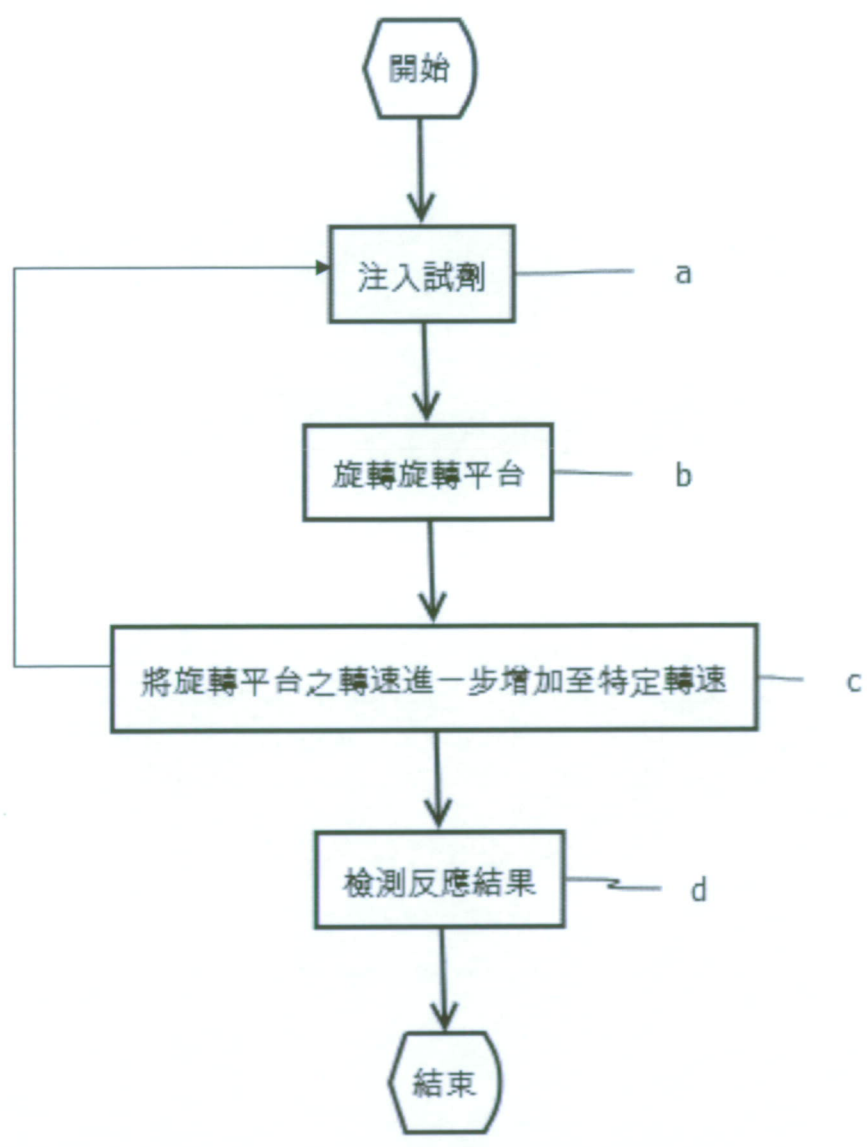


圖 6

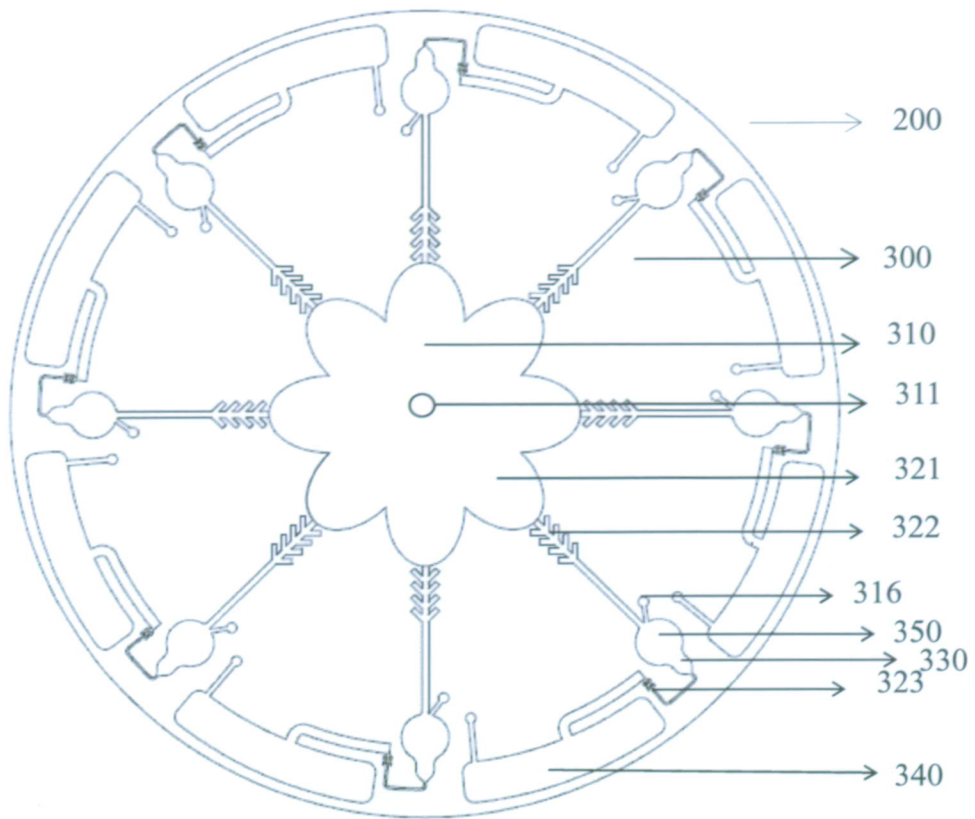


圖 7

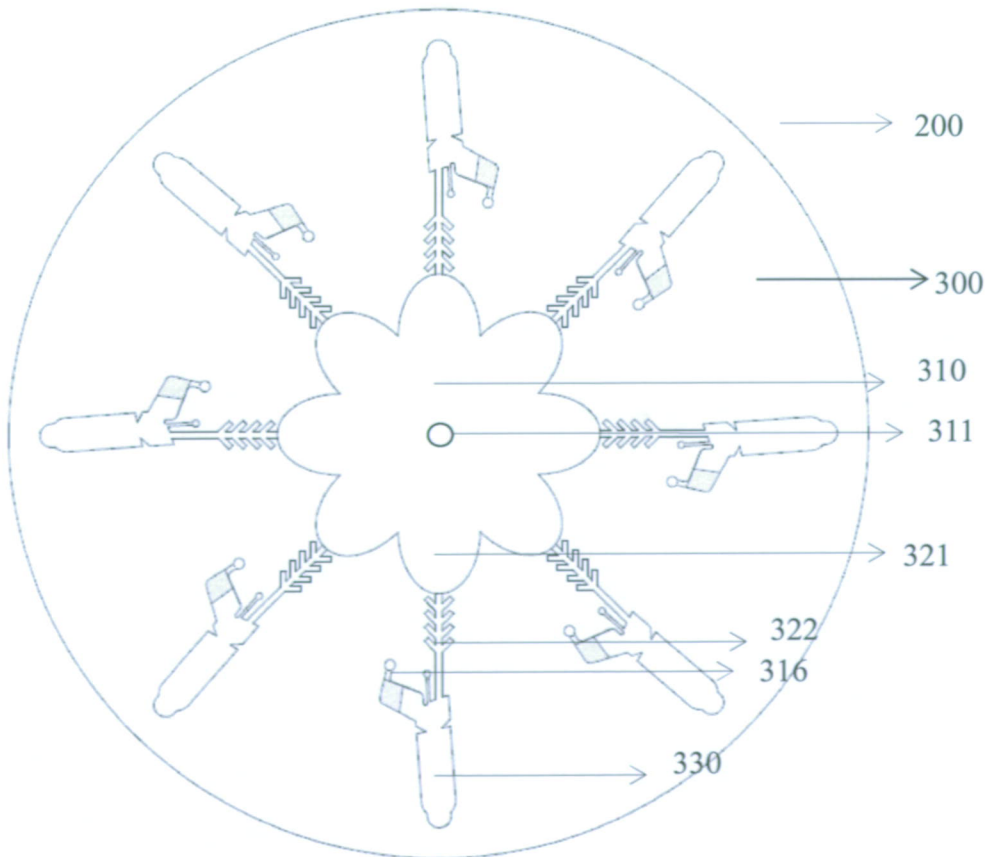


圖 8