



國立中山大學機械與機電工程研究所

碩士論文

新型微流體粒子/細胞分類器結合比例調劑混合裝置於  
生化分析之應用

**Microfluidic Particles / Cells Sorter Integrated with Concentration  
Friction Feeding Device for Biochemical Analysis Applications**

研究生：李承諺

指導教授：林哲信

中華民國 九十五年 六月

國立中山大學研究生學位論文審定書

本校機械與機電工程學系碩士班

研究生李承諺（學號：M933020042）所提論文

新型微流體粒子/細胞分類器結合比例調劑混合裝置於生化分析之應用  
Microfluidic Particles / Cells Sorter Integrated with  
Concentration Friction Feeding Device for Biochemical Analysis

經本委員會審查並舉行口試，符合碩士學位論文標準。

學位考試委員簽章：

林灼信  
馮靜明

李健言  
陳和琴

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

指導教授(可免) ✓ 林灼信

系主任/所長(可免) 邱鴻成

# 目 錄

目 錄 .....	i
圖 目 錄 .....	v
表 目 錄 .....	ix
摘 要 .....	x
Abstract .....	xii
致 謝 .....	xiv
第一章 緒論 .....	1
1-1 前言.....	1
1-2 微流體系統 .....	2
1-3 文獻回顧 .....	5
1-3.1 微型細胞分類器 .....	5
1-3.2 微型調劑傳遞裝置 .....	11
1-3.3 整合型晶片實驗室 .....	16
1-4 研究動機與目的 .....	22
1-4.1 電驅動式邊鞘流粒子/細胞分類器.....	22
1-4.2 樣本比例調劑並傳輸裝置.....	24
1-4.3 細胞裂解反應處理系統.....	26
1-5 論文架構 .....	27

第二章	理論分析與數學推導.....	30
2-1	電雙層形成機制.....	30
2-2	電滲透流理論 .....	31
2-3	流場分析數值模擬 .....	33
2-4	微流體聚焦壓縮現象 .....	34
2-5	粒子/細胞於壓縮流體之擠壓彈跳效應.....	38
第三章	晶片設計與實驗方法.....	40
3-1	晶片設計 .....	40
3-1.1	多階邊鞘流薄層微型粒子/細胞分類器 .....	40
3-1.2	串接式連續粒子/細胞分類器 .....	41
3-1.2	比例調劑混合反應系統.....	42
3-2	晶片製作 .....	43
3-2.1	光罩製作 .....	44
3-2.2	晶片清洗.....	45
3-2.3	微影.....	45
3-2.4	蝕刻.....	46
3-2.5	鑽孔.....	47
3-2.6	晶片接合.....	47
3-3	材料與生物樣本之準備.....	48

3-4 實驗架設.....	50
3-4.1 連續粒子/細胞分類裝置.....	50
3-4.2 整合比例調劑混合裝置之生化反應系統.....	51
<b>第四章 結果與討論.....</b>	<b>54</b>
4-1 多階邊鞘流薄層連續粒子/細胞分類裝置.....	54
4-1.1 多階邊鞘流聚焦壓縮情形.....	54
4-1.2 粒子分離結果.....	57
4-2 新型串接式連續粒子/細胞分類裝置.....	59
4-2.1 樣本流聚焦壓縮情形.....	60
4-2.2 粒子分類結果.....	65
4-2.3 效率評估.....	68
4-3 整合比例調劑混合裝置於細胞裂解反應之應用.....	73
4-3.1 試劑濃度比例配製.....	73
4-3.2 細胞裂解反應之結果.....	75
<b>第五章 結論與未來展望.....</b>	<b>76</b>
5-1 結論.....	76
5-2 未來展望.....	78
<b>參考文獻.....</b>	<b>80</b>

自 述.....	85
----------	----

# 圖目錄

圖 1.1 利用多孔隙微結構分類粒子之微流體晶片.....	6
圖 1.2 利用重力結合聚焦薄層分流之連續粒子分類晶片.....	7
圖 1.3 整合界電泳力之連續細胞分類器.....	8
圖 1.4 整合磁性微奈米尖端之磁珠/細胞分類器.....	9
圖 1.5 整合微加工聲波換能器於微管道之流體切換開關.....	10
圖 1.6 利用光鉗操縱生物細胞之微流體細胞分類裝置.....	10
圖 1.7 利用擠壓流體結合末端多非對稱分支管道之粒子分類器.....	11
圖 1.8 利用液壓控制樣本之 M x N 型微流體晶片.....	13
圖 1.9 利用流體體積法控制樣本切換之微流體裝置.....	14
圖 1.10 雙十字形聚焦微量進樣晶片.....	15
圖 1.11 利用管道長度控制混合濃度之微流體裝置.....	15
圖 1.12 可產生濃度梯度混合溶液之樹狀分之微流體裝置.....	16
圖 1.13 整合梯度液相層析法所需流體元件之微晶片裝置.....	18
圖 1.14 整合電滲幫浦、微混合器、溫度控制系統之微流體裝置.....	19
圖 1.15 一種可微量平行處理多種樣本之核酸純化處理晶片.....	20
圖 1.16 整合 PCR、電動注射分離、光纖偵測等裝置之微流體晶片..	21
圖 1.17 安捷倫公司所推出之(a)高效能液相層析晶片及(b)微流體晶片 分析平台.....	22

圖 1.18 微流體粒子/細胞分類器之工作原理示意圖.....	24
圖 1.19 比例調劑裝置示意圖.....	26
圖 1.20 整合比例調劑裝置及微混合器之細胞裂解反應處理系統.....	27
圖 1.21 整合型生化分析系統架構圖.....	28
圖 2.1 電荷分佈與電雙層形成示意圖.....	31
圖 2.2 電滲透流原理示意圖.....	32
圖 2.3 微流體聚焦壓縮現象示意圖.....	36
圖 2.4(a)樣本流經邊鞘流擠壓，將壓縮後之樣本流流體層視為可滑動 之庫頁流(Couette Flow)，(b) 粒子受力示意圖，粒子於管道中流動受流 體推力及黏滯力所影響，使之無法穩定進入寬度較小之流層中，將會 被擠壓而跳出並流到另一側寬度較大之流體層.....	39
圖 3.1 多階邊鞘流薄層微型粒子/細胞分類器之尺寸大小示意圖.....	41
圖 3.2 串接式連續粒子/細胞分類器之尺寸大小示意圖.....	42
圖 3.3 比例調劑混合反應裝置之尺寸大小示意圖.....	43
圖 3.4 晶片製程示意圖.....	44
圖 3.5 微流體細胞分類晶片實體圖.....	48
圖 3.6 比例調劑混合反應裝置之晶片實體圖.....	48
圖 3.7 粒子/細胞分類器系統架設圖.....	51
圖 3.8 比例調劑混合裝置之系統架設圖.....	53



圖 4.1 流道電滲透流聚焦實驗與模擬比較(a)多流道聚焦，拍攝於主管與三側管交界處，聚焦寬度分別約為 7、13、25 $\mu\text{m}$ ，(b)實驗局部放大圖，(c)、(d)為利用 CFDRC <sup>®</sup> 軟體進行多層流體聚焦的模擬圖，該計算之流層壓縮寬度與實驗結果吻合.....	56
圖 4.2 聚焦寬度與主/側管施加電壓關係圖.....	57
圖 4.3 直徑為 20 $\mu\text{m}$ 的粒子被壓縮之流體擠出之連續影像.....	58
圖 4.4 粒子分離圖。圖中綠色箭頭所指的為直徑 5 $\mu\text{m}$ 的綠色螢光粒子，白色箭頭所指的為直徑 20 $\mu\text{m}$ 的無螢光粒子.....	59
圖 4.5 流道電滲透流聚焦實驗與模擬比較(a) 流體聚焦影像，(b) 實驗局部放大圖，(c)、(d)、(e)為利用商用軟體 CFDRC <sup>®</sup> 進行多層流體聚焦的模擬圖.....	61
圖 4.6 利用模擬與數學推導之分析結果，(a)流場分佈，(b)速度場分佈，(c)加速度場分佈，(d)受力分佈.....	62
圖 4.7 在主管與側管間有無輔助聚焦微結構之模擬比較圖.....	63
圖 4.8 粒子第一次分離之連續實驗影像.....	64
圖 4.9 粒子第一次收集之連續實驗影像.....	65
圖 4.10 粒子第二次分離之連續實驗影像.....	67
圖 4.11 粒子第二次收集之連續實驗影像.....	68
圖 4.12 酵母菌於顯微鏡底下之影像圖形.....	69

圖 4.13 酵母菌與微粒子之連續實驗分類影響.....	70
圖 4.14 酵母菌與塑膠小球之效率評估圖.....	72
圖 4.15 試劑調劑比例與主管管道長度關係圖。結果顯示，在不同管道 長度下可以快速調配不同濃度之比例調劑.....	74
圖 4.16 紅血球裂解影像.....	75

# 表目錄

表 3.1 紅血球之裂解液成分參數.....	50
表 4.1 粒子實驗收集記錄表.....	72

# 摘要

本研究提出一種新的連續粒子分類方法，藉由粒子在邊鞘流中流動，其將可產生擠壓躍遷現象(Squeeze-Jumping Effect)，即在微流體聚焦作動下，粒子無法穩定流動在寬度小於該粒子直徑之流層當中，粒子將被擠壓，而從寬度較小的流層躍遷至寬度較大的流層中。藉由此一粒子擠壓躍遷現象，其可應用於不同大小粒子之分類。而藉著微機電系統(Micro-electro-mechanical Systems, MEMS)製程技術的發展，研究亦成功的設計並製作兩種粒子/細胞分類器，一為多階邊鞘流連續粒子/細胞分類器，另一改良後的串接式連續粒子/細胞分類器。研究中除了理論數學推導及數值模擬之分析外，並利用實驗予以佐證。藉由實驗與模擬的結果，本研究所發展的微型粒子分類器，可得到獲得率(% Recovery)與收集率(% Yield)分別為 87.7%與 94.1%之高分類效能，其可應用於微全分析系統之領域。

此外，有感於在微全分析系統之發展下，流體試劑均需精密地配製，並作微量的傳輸，因此本研究亦以簡單的邊鞘流理論為基礎，發展一晶片式比例調劑裝置，可以用來作試劑的合成、樣本的稀釋、藥物的調配等生化反應之前置處理步驟，其簡單之架構將易於整合在各類功能性晶片中。而為驗證上述比例調劑裝置之可行性，研究也提出一比例調劑混合反應晶片，其中包含：比例調劑裝置、T型微混合器、

蛇型反應區域。實驗亦以細胞裂解反應之應用作為說明，利用比例調劑裝置配製細胞裂解液，並與細胞於微混合器中進行混合，最後在蛇型反應區域使之有足夠時間進行裂解反應。由實驗結果之觀察，此一比例調劑反應晶片，確實可用以進行細胞裂解反應。

本研究藉由微機電製程成功的製作出：微型細胞分類器、比例調劑裝置、比例調劑混合反應晶片。且利用簡單的流體力學原理，推導微管道邊鞘流行為之數學模式，並以電腦數值模擬方法，分析所設計微流體晶片之流場、電場、壓力場、速度場之分佈，不僅如此，也由實驗之結果作為對照與驗證。盼望藉由研究所得之成果，能對發展整合型之微小生化分析系統有所貢獻，以實現微全分析系統之構想。

關鍵詞：邊鞘流、粒子/細胞分類、擠壓躍遷現象、比例調劑、細胞裂解、微流體。

# Abstract

This study proposes a novel method for continuously particle sorting utilizing cascade squeeze jumping effect under microfluidic configuration. Microparticles with different sizes can be successfully separated at different stages of squeezing sheath flow. The method is based on that particles can not flow stably within a flow stream with the smaller stream width than their sizes. Big particles will jump from their original flow stream into the wider neighboring sheath flow. In this study, we have successfully designed and fabricated two kinds of particles/cells sorters using MEMS (Micro-electro-mechanical Systems) technology. The proposed microchip device includes a multi-stage sheath flow particles/cells sorter and an improved design of a cascade squeezed flow scheme. In the study, theoretical formulations, computer simulations and experimental operations are used to analyze the flow field in the microchip and evaluate the sorting performance of the devices. Results show the good sorting performance with cell recovery rate of 87.7% and yield rate of 94.1% can be obtained using the proposed micro particles/cells sorter.

Furthermore, it is also important to continuously prepare reagents for in-column bio-chemical reactions. Therefore, this study presents a sheath-flow based microfluidic device for concentration fraction delivery of liquid samples. The simple and novel structure proposed in this study is able to prepare reagent with different concentration and is also easy to be integrated with other multifunctional microfluidic device. In order to demonstrate the feasibility and performance of the proposed concentration fraction delivery device, this study designs an integrated microchip device

for in-line preparation of lysis reagent for cell lysis and an integrated T-form microfluidic mixer for demonstration of RBC lysis in the same microchip. Reagents for cell lysis are firstly prepared by the concentration fraction delivery part of the chip. The prepared reagent is mixed with RBC sample downstream in the reaction channel using the T-form mixer. Results show a high RBC lysing rate of upto 100% in 10 mm downstream the T-junction can be achieved utilizing the proposed chip.

In this study, we have successfully demonstrated three kinds of microfluidic device including a micro particles/cells sorter, a concentration fraction delivery device and a cell lysis reactor. Numerical analysis and experimental investigation confirm the proposed concepts and performance of the microfluidic devices. The contributions of the study are highly potential for developing a low-cost bioreactor system in the  $\mu$ -TAS field.

**Keyword** : sheath flow, particles/cells sorter, squeeze jumping effect, concentration fraction delivery, cell lysis, microfluidic.

# 致 謝

回顧碩士生涯兩年可謂「露滴脂油恩重重」，盡是神的憐憫與恩典。如同詩篇 23 篇，耶和華是我的牧者，我必不至缺乏。祂使我躺臥在青草地上、領我在可安歇的水邊。祂使我的靈魂甦醒、為自己的名引導我走義路。我雖然行過死蔭的幽谷、也不怕遭害，因為你與我同在，你的杖、你的竿、都安慰我。在我敵人面前、你為我擺設筵席，你用油膏了我的頭、使我的福杯滿溢。我一生一世必有恩惠慈愛隨著我，我且要住在耶和華的殿中、直到永遠。

兩年研究的生活，這本論文的製作，實在是基於許多人的幫助與鼓勵下所完成。首先想感謝我的指導教授林哲信老師，亦師亦友的在研究上給予啟發，在生活上提供協助，使一個對學問蒙懂無知的小子，如今遇到問題可以不因害怕而退縮，反倒大刀闊斧的展露自己的頭角，而這期間當然有許多熬煉的經過，或有艱辛，或有甘甜，盡也都謝謝老師在各面的成全與教導。另外也要謝謝李佳言老師、傅龍明老師及陳和瑟老師在百忙之中抽空來參加我的論文口試，給我許多寶貴的意見。

這兩年大半的時間都是在實驗室度過，認識了許多 BEMS 的成員，想謝謝各位學長、同學及學弟妹，鈞賢、世偉、敬修、哲偉、育生、岳鋒、明峰、筱萍、志鵬、振成、書銘、維仁、岱洋、靖惠，謝



謝你們在些許枯燥繁忙的研究實驗中，帶給我許多歡樂的時光。也要謝謝在弟兄之家與我同負一轆的弟兄們，廣保、加達、俊漢、連晉、聖得、暉弘、介宏、聿衡、均易、君鵬、朱鵬、喜聖、聖新，謝謝你們的扶持與代禱，使我能順利完成碩士學業。當然還有我親愛的家人，父親、母親、姊姊、哥哥，對於你們也不是感謝就能致意的，謝謝你們在財力、物力、心力上對我的支持。總之，一路走來，要感謝的人太多了，在人生學習的路上，皆是由於眾人的幫助之下，使我能順遂而不至於倒下，以此數句感言謝謝所有我周遭的每一位。

承諺 于高雄西子灣

July, 2006

# 第一章 緒論

## 1-1 前言

微機電系統(Micro-electro-mechanical Systems, MEMS)是一種系統整合的技術，藉由微製造技術的發展，可將原本大型機械原件微小化，使微感測器、微致動器、微電極整合於一矽基材上[1]。在 30 多年前，集結半導體積體電路(Integrated circuit, IC)技術的問世，開啟了人類歷史在創新時期內最重要的科技革命，幾乎影響到我們生活的各方各面，如電腦科技、軟體業、網際網路業，每樣資訊時代的產物都源於半導體積體電路技術，甚至錄放影機、攝影機、行動電話等，其應用也不斷增加。而微機電系統可說是以半導體製程技術為基礎的延伸，其不僅包括半導體光刻、顯影、蝕刻等製程，更結合了各領域如機械、電子、物理、化學、材料、生物、光電等專業領域的技術。在此背景的應運下，微機電也成熟發展了獨特的加工技術：體型微細加工(Bulk micromachining)、面型微細加工(surface micromachining)、高深寬比微細加工(High-aspect-ratio micromachining)[2]，藉此加工技術的發展，使其擁有『微小化』、『易於整合』的優點，更是符合現今電子產品“輕、薄、短、小、低成本”的趨勢。

微機電系統所涵蓋的範圍極廣，由其所應用的領域，大致可區分為光學微機電(Optical MEMS)[3]、射頻微機電(Radio-Frequency

MEMS)[4]、生醫微機電(Bio MEMS)[5]，其中生醫微機電更是眾多研究發展的主流之一。近年來，由於生醫科技發展蓬勃，人類對於疾病的診治、治療技術開始重視，而如何有效率的提昇醫療檢測，如蛋白質檢驗、疫苗篩選、DNA 鑑定、目標物分離、純化等，亦是重點的研究。將微機電系統應用於生物醫學及生化分析領域上有許多好處，不僅提昇系統精度、增加分析能力、減少反應時間，更能縮減樣本使用量、減低成本，是微機電系統中最具發展潛力的應用之一[5]。

生醫微機電是微機電系統應用於生物醫學的新領域，與傳統生醫檢測相較下有許多優勢，對於近代醫療科技帶來極大的進展，然而其在研究及臨床的試驗尚未成熟，在技術上亦有許多未克服的困難。為了驅使生醫機電領域的持續發展，本研究將利用微機電製程技術製作微型生醫流體控制元件，應用於生醫檢測及生化分析，並實際以生物樣本作測試。盼望藉由此一研究的探討與討論，將對生醫機電領域帶來前瞻性的發展。

## 1-2 微流體系統

由於微機電系統的發展，帶來微製造技術劃時代性的突破，微型化儼然成為現今科技的重要發展趨勢，以分析檢測為主打之生化科技亦不例外。在生物、化學、材料等科學實驗中，利用微機電製造技術，可將傳統大型儀器設備微小化，甚至將各樣實驗室分析流程整合在一

小系統中，除縮小體積空間，更能簡化實驗流程。而事實上，早在 1989 年就有學者提出微全分析系統(Micro Total Analysis System,  $\mu$ -TAS)的概念[6]，這種技術與傳統檢測相比，在速度、費用、試劑/樣本消耗、防止污染、效率和自動化程度都有明顯的優勢，而其最終的目的是藉由設備原件的微小化，盡可能的將分析實驗室內各樣功能儀器及生化反應整合於一攜帶方便的晶片上，因此又被稱為實驗室晶片(Lab-on-a-chip)。

在許多科學分析實驗中，經常需要以流質為載體進行操作，如細胞培植、樣本 DNA 的製備、聚合酵素鏈鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)、電泳檢測等操作都是在液相環境中進行，因此在微全分析系統中，主要是以微流體系統為其研究主軸。微流體系統是以微機電技術為基礎，藉由微型加工製程方法，在基材上製作各樣功能形狀之微流道，封裝後在其中處理尺寸介於毫米至微米之間的液、氣、電等物之操控，進行各種複雜、精確的檢測分析，如：混合或分離微量流體、化學反應、微量分析、細胞分類或收集。因為其具有體積輕巧、攜帶方便、操作簡單及可拋棄式等優點，因此在生化技術研究上的應用範圍非常廣泛[7-9]。

過去十年來，原件微小化後的尺度效應開始備受矚目，當尺寸縮小到一個範圍時，許多現象與宏觀時不同，對於微米與奈米科技將有

顯著的影響，而至今微觀尺度下的基礎理論亦還在研究建立當中。其中在微流體的領域裡，許多已知宏觀下的定律規則已被推翻，無法利用傳統科學理論加以描述，需要進行部分修補與補充，例如微管道內極大的面積/體積比(surface-to-volume ratio)導致了電雙層效應、靜電力效應、表面張力效應[10]。因此若在微管道內存在氣泡，表面張力對氣泡阻塞流動將有諾大的影響；甚至藉由尺寸效應的影響，亦有學者利用表面張力或滲透的力量作為流體的驅動機制[11]。流體在大管道中流動，一般皆為紊流(turbulent flow)狀態，但在微尺度下，流體流動將變成低雷諾數(Reynolds number)之層流(Laminar flow)狀態，對於許多生化分析實驗中，常常都需要均勻混合兩種以上的試劑或樣本，因此如何在微流體層流中進行快速的混合，亦是實現微全分析系統之關鍵[12]。此外，微流體層流的現象，導致管道內流場流動穩定，對於進行樣本傳輸[13]、聚焦[14]等動作亦是一項非常重要的特性。故在宏觀之現象，將由於尺度和空間之微小化，使流體支配定律改變，對於微機電系統特別是微流體的領域更有深刻影響。

## 1-3 文獻回顧

### 1-3.1 微型細胞分類器

近年來，微全分析系統研究對生物細胞之操作帶進重要的發展，在微流體系統與裝置中進行細胞工程有許多優點：1. 在生化實驗分析上，更能顯著觀測生物單細胞於不同外加因子(如藥物的催化、試劑的刺激)影響下之細胞行為。2. 在微流體系統中，較易整合其它裝置，也提高各種標準分析操作之整合的可能性。3. 可同時在微流體系統內對大量細胞進行不同控制動作之處理。4. 微管道的尺寸約為 10-150  $\mu\text{m}$ ，非常適合容納各種尺寸之細胞在其中進行作動等[15]。

由上述可知細胞極為適合於微流體系統中進行實驗，且在微管道內作粒子分類、收集等操作之研究亦被廣為討論，以下將列舉數項細胞分類方法作為參考與討論。

#### 結構過濾法

Metz 等人(2002)[16]提出一種結構過濾的方式，分離不同大小的粒子，如圖 1.1 所示。該研究是在微管道內製作一多孔隙的區域，使較小的粒子可以流通該孔隙，反之較大的粒子將無法通過該孔隙而被微結構過濾，以達到粒子分離的目的。另外，Moorthy 等人(2002) [17, 18]也利用不同成分比例之聚合物混合，使之震盪攪拌變成乳狀溶液，並

放入微管道中，以 UV 燈照射，而產生過濾結構，以用於粒子之分類。

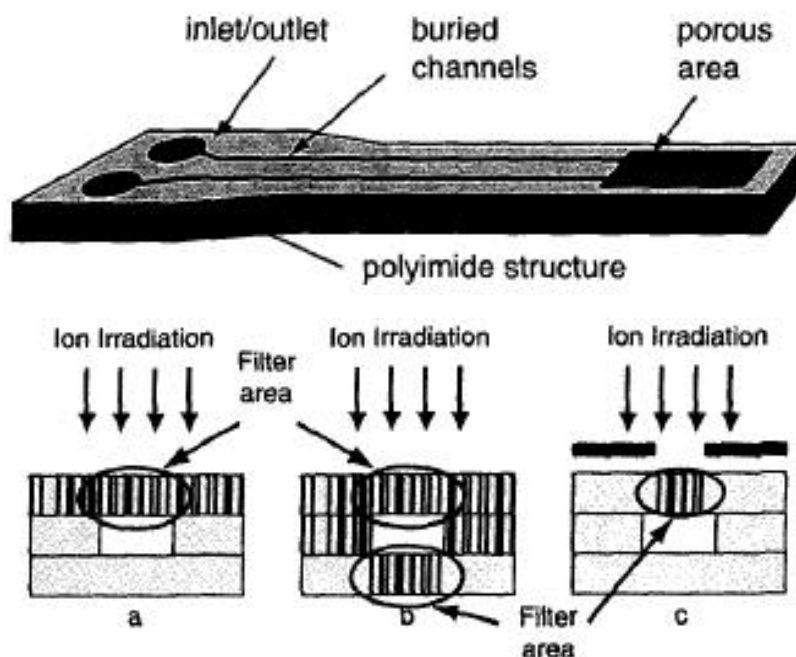


圖 1.1 利用多孔隙微結構分類粒子之微流體晶片[16]。

## 重力法

Moon 等人 (2001) [19] 提出利用重力結合分流薄層分離法 (Split-flow Thin, SPLITT) 連續分離粒子，如圖 1.2 所示。當不同大小的粒子或細胞在管道內流動時，將受到兩種力影響：一為驅動流體的液壓力，另一為重力；當粒子受液壓力驅動往前時，同時也受重力影響，粒子會被重力吸引逐漸下沉，體積較大的粒子，質量相對較重，向下移動的程度越明顯，藉由不同大小的粒子下沉的程度不同以分離粒子。

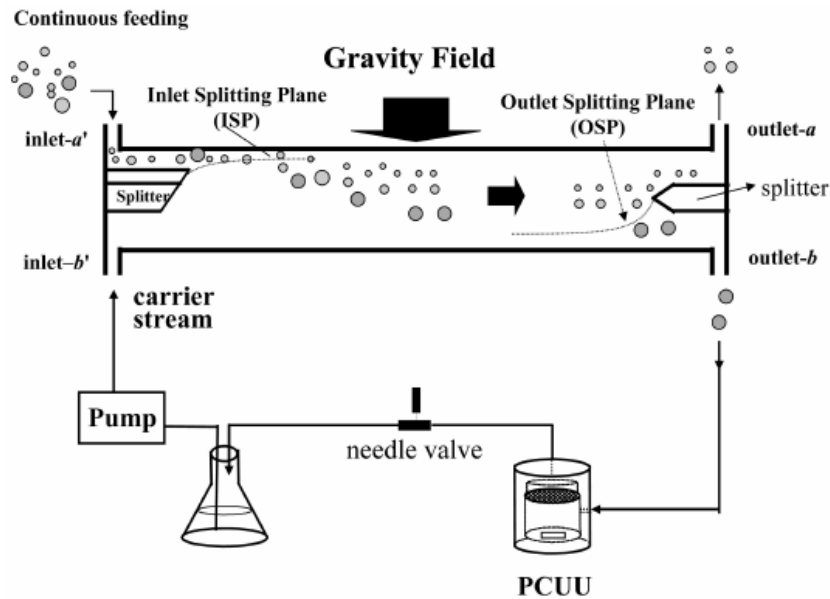


圖 1.2 利用重力結合聚焦薄層分流之連續粒子分類晶片 [19]。

## 介電泳力

介電泳力主要是根據粒子和外部溶液間不同的介電特性(導電度和介電常數)，同時利用非均勻交流電場，使粒子產生非對稱的誘發極化能力，粒子受電場作用力後將會往高或低電場強度處移動。Doh 等人(2005) [20]提出一種藉由液動介電泳力之連續細胞分類晶片，而該晶片分類的原理是根據細胞樣本(活的酵母菌與死的酵母菌)本身所帶的電荷性質不同，其會分別產生正、負介電泳力來進行分類，如圖 1.3 所示。此外，亦有學者利用介電泳力並配合其它作用力方式以達到分類之目的，如 Arai 等人(2001) [21]利用介電泳力並配合雷射捕捉力以分類粒子。Wang 等人(1998) [22]利用介電泳與重力場流分離法(Gravitational Field-Flow Fractionation, G-FFF)分類粒子，可分離不同大



小或不同表面特性(如表面帶電量)之粒子，實驗中也成功分類了直徑 6、10、15  $\mu\text{m}$  之粒子。

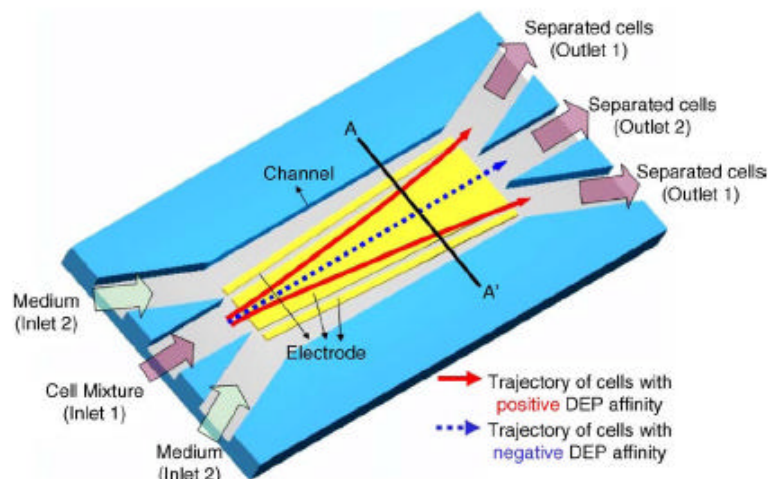


圖 1.3 整合界電泳力之連續細胞分類器 [20]。

## 磁力

Rong 等人(2003) [23]提出一種整合磁性微奈米尖端之磁珠/細胞分類器，如圖 1.4 所示，該晶片的作動原理是在管道交界處分別置放一磁場，根據欲分類之流向來啟動各個磁場線圈，以達到磁珠分類的功能。另外，Fuh 等人(2003) [24]將外加磁場應用在分流薄層內，可用以分離不同磁性程度之粒子。

利用磁力作粒子之分類，雖然可以得到不錯的分離效果，然而此法尚需一些前置作業，如一般細胞並不帶磁性，因此需誘使細胞導磁，才能使之受磁場作用。

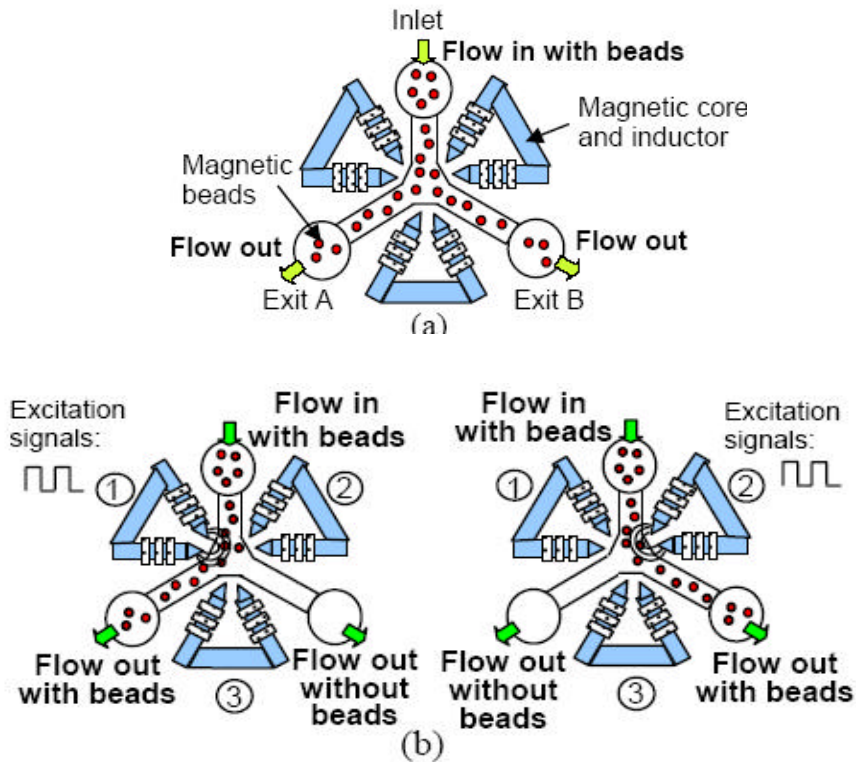


圖 1.4 整合磁性微奈米尖端之磁珠/細胞分類器[23]。

## 超聲波

Jagannathan 等人(2003) [25]提出一微管道之流體切換開關，其中整合了微加工聲波換能器，如圖 1.5 所示。其設計的原理是在樣本流道分叉處兩入口端分別置放一聲波元件，當一入口端之聲波作動時，管道內的流體則無法從該入口端進入，而被帶往另一端傳送來達到分類的效果，然而其只能達到粒子收集，而無粒子分類之功能，且無法連續操作。

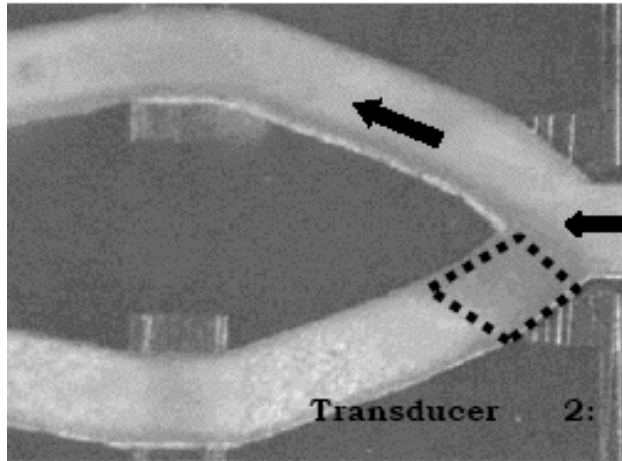


圖 1.5 整合微加工聲波換能器於微管道之流體切換開關[25]。

## 光鉗

Ozkan 等人(2003) [26]年提出利用光鉗操縱微流體裝置內的生物細胞來進行分類。如圖 1.6 所示，該研究利用光鉗的吸引力將粒子從一流層吸引至另一流層以從事分類的工作，然而該法亦無法達到連續操作的目標，且需要昂貴的雷射系統方可運作。

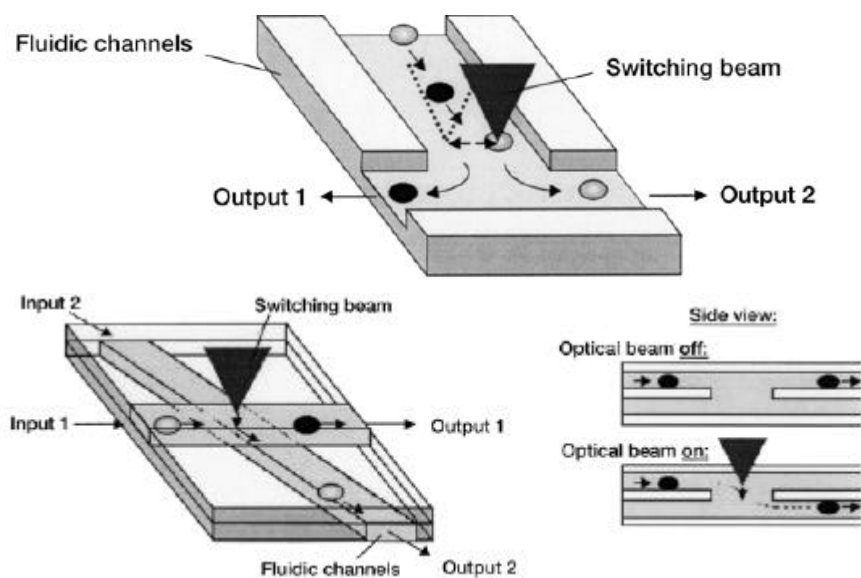


圖 1.6 利用光鉗操縱生物細胞之微流體細胞分類裝置[26]。

## 聚焦薄層

Yamada 等人(2005) [27, 28]提出利用擠壓流體結合末端非對稱分支管道以連續分離粒子，如圖 1.7 所示。由於微流體層流的特性，粒子在管道中將隨著流線穩定流動，而藉由流體擠壓不同大小粒子於管壁上，當管道膨脹時流線會跟著擴散開來，不同大小粒子將隨著中心位置所對應的流線而被分離。其中利用末端分支管道非對稱設計，改變管中之流場，以將被分離之不同大小粒子分別在不同管道被收集。

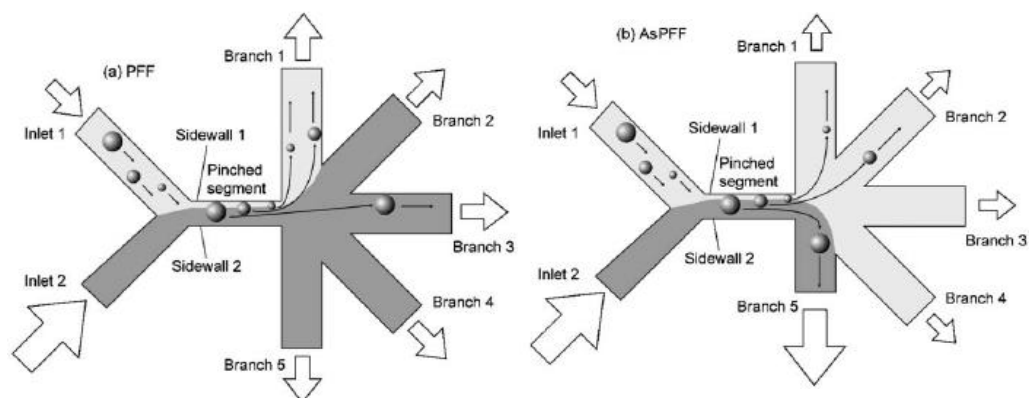


圖 1.7 利用擠壓流體結合末端多非對稱分支管道之粒子分類器[28]。

### 1-3.2 微型調劑傳遞裝置

微流體晶片的整合中，藥物傳送、化學分析、生物檢測等應用上，流體試劑均需精密地感測及控制流量，傳統大型流體系統無法處理這些微量流體，故需開發出小型化、高靈敏度之微量流體傳輸控制系統。

在微流體系統中進行流體傳輸控制，可以減少試劑使用量，並且

增加檢測速度，不僅降低昂貴試劑生物樣本的花費，也提昇檢測效能。行政院國家科學委員會亦在 2003 年曾公布，藉由『小而省，快而準』之微流體晶片技術的開發，民眾檢測疾症，不必再抽一大筒血，也不一定到大型醫院，花幾天、甚至幾個月的時間檢測或等報告，未來可能一滴血即可檢測 C 肝、低能症、乃至菌血病等疾病，過程只需幾分鐘。而近年來，在微流體系統中進行調劑傳送之操作已被廣為研究，以下將列舉數項作為參考與討論。

Lee 等人(2001) [29]提出一種液壓樣本傳送方法，如圖 1.8 所示，是在出入口  $M \times N$  的管道內，利用液壓控制樣本傳送至任意出口，在晶片內包含兩個部分：一為水力預集中部分，另一為流向導引部分。在水力預集中部分，利用兩側邊鞘流所產生之水力集中效應驅使中間樣本流寬度縮減至數微米之等級，以利於流體在流向導引時，樣品能正確無誤的進入所預定之微管道內；流向導引部分，其原理是利用兩側快速邊鞘流速度不同來引導樣品流之流向。

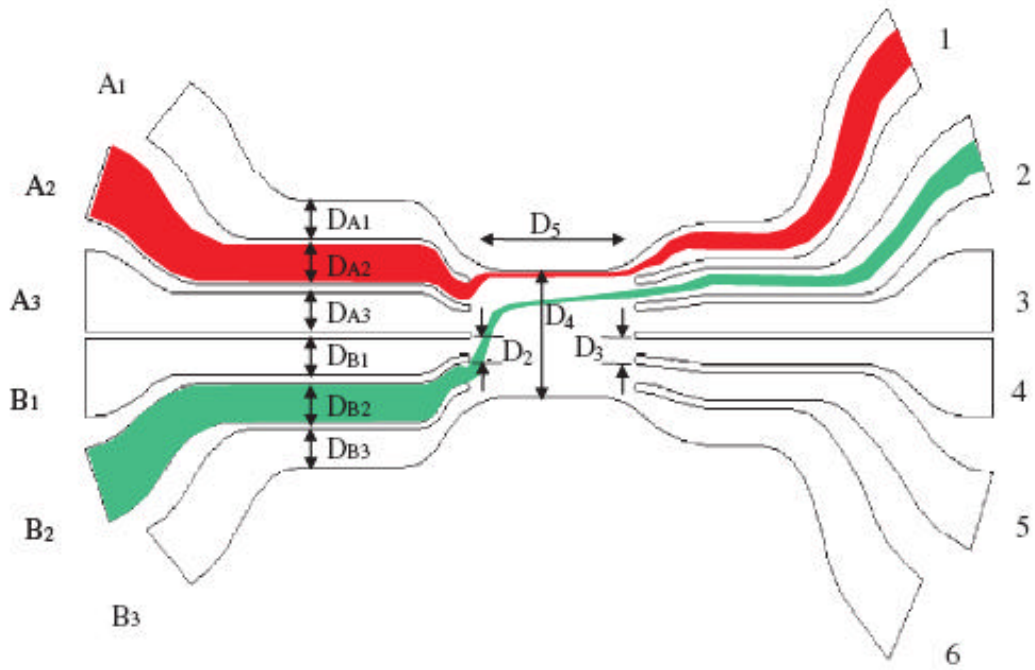


圖 1.8 利用液壓控制樣本之  $M \times N$  型微流體晶片 [29]。

Chein 等人(2004) [30]提出一種利用流體體積模式(Volume of fluid model)切換樣本的方法，如圖 1.9 所示。流體體積法是利用固定體積以估計流體在體積內所佔有的比例，研究中設計不同尺寸之微管道，以不同黏滯性之液體及流速進行實驗測試，在流體體積模式下，預測兩種流體層之界面將座落的管道位置，由此將可用來操作樣本傳送或切換的控制。

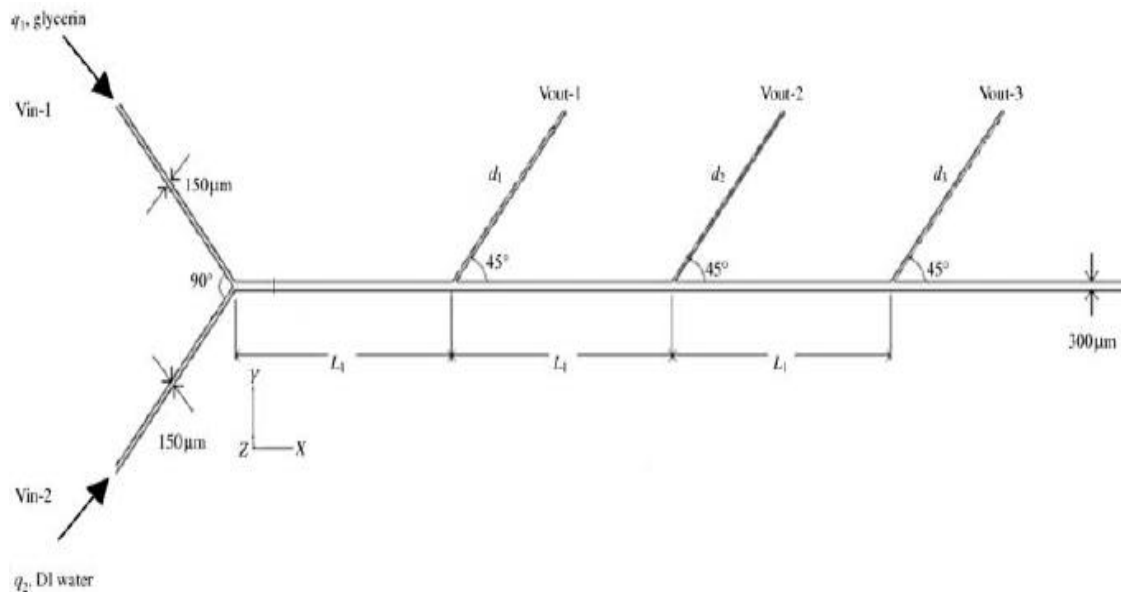


圖 1.9 利用流體體積法控制樣本切換之微流體裝置[30]。

Fu 等人(2003) [31]提出一種利用電動聚焦以控制樣本進量的方法，如圖 1.10 所示。流體試劑在微管道之流動方向並流速與所施加電場強度有關，研究中設計一雙十字型晶片，即在十字管道之一側管再設計一十字管道。將樣品由側管注入並進行電動聚焦，控制樣本流之寬度，利用電壓的切換，誘導緩衝液端擷取一段樣本，於偵測管道中進行分析，其中藉由控制樣本聚焦寬度之改變，即可控制所擷取樣本試劑之含量，以達到精密取樣之效果。

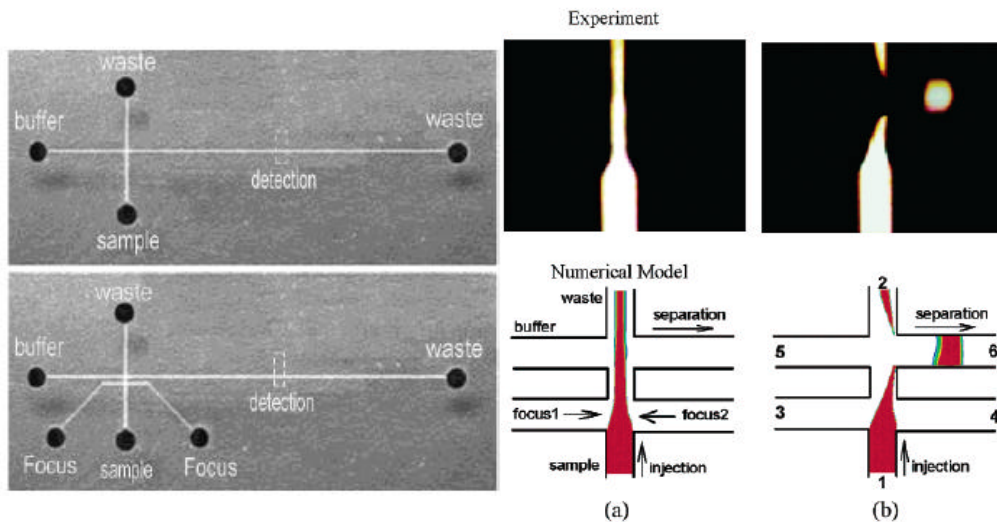


圖 1.10 雙十字形聚焦微量進樣晶片 [31]。

Yamada 等人(2006)[32]提出一種可以產生步階濃度分佈之微流體裝置，並運用於生化反應之過程，如圖 1.11 所示。該裝置是以 PDMS 製作，將兩種相溶試劑由兩入口槽注入，藉由不同管道長度之設計以控制混合濃度比例。研究中，利用此一裝置配製了摻有螢光染劑之 9 種步階濃度的酒精，應用於抑制酵母菌生長，並驗證此裝置適於應用於生化反應等應用。

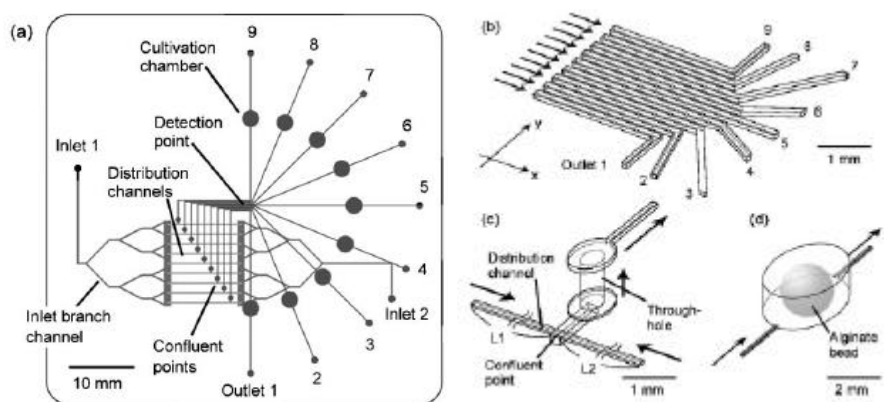


圖 1.11 利用管道長度控制混合濃度之微流體裝置[32]。



Noo 等人(2000) [33]提出一種可以產生濃度梯度混合溶液之微流體裝置，如圖 1.12 所示。其原理是利用在微流體管道中，低雷諾數層流之特性，而流體在管道內之混合主要是以擴散的方式，藉由樹狀分支管道之設計，使欲混合之試劑逐次依序被混合，所混和之溶液將產生濃度漸層之分佈。其中管道寬度及管道分支次數將影響混合溶液之濃度梯度分佈。

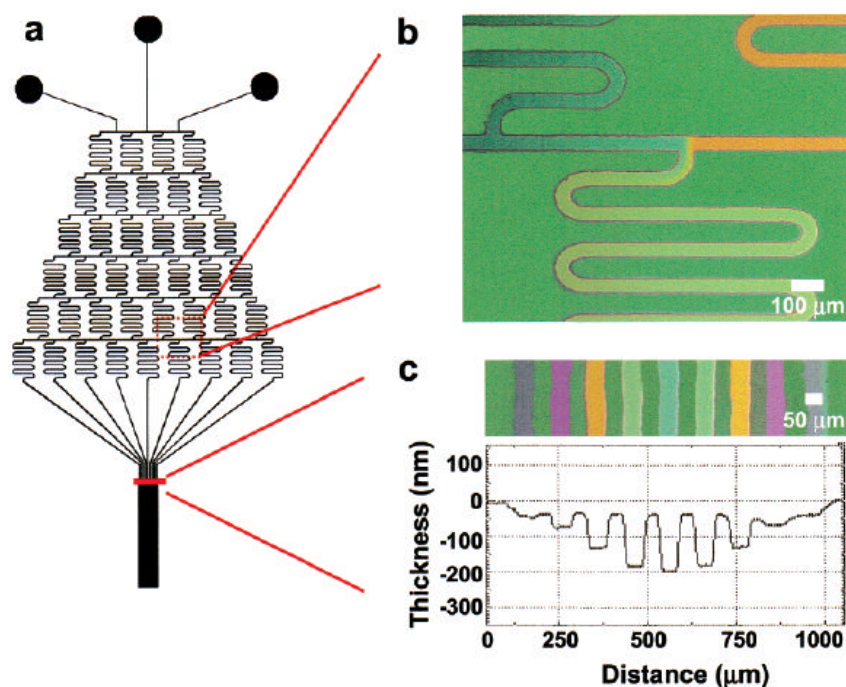


圖 1.12 可產生濃度梯度混合溶液之樹狀分之微流體裝置[33]。

### 1-3.3 整合型晶片實驗室

藉由微機電製程技術的發展，許多微型化之生化檢測元件均已被研發問世。而其最終目標乃是完成一系統化之整合型晶片實驗室，將

微型混合器、微型取樣裝置、微型細胞分類器、微型細胞裂解裝置、微型 PCR 裝置及晶片電泳偵測裝置等整合於一晶片上，以達到微全分析系統之概念。近年來，已經有需多學者陸續提出各樣整合型的晶片，將單一獨立之功能性元件裝置整合在一起，以下將列舉數項實例作為參考與討論。

Xie 等人(2005)[34]提出一微流體晶片，整合了所有用於梯度液相色層分析法所需之流體元件，並且利用微影技術可在矽晶元上被大量製作。如圖 1.13 所示，晶片包含三個運用電解產生氣泡之電化學幫浦、一微混合器、白金電極及一電灑噴嘴等，其中一個幫浦是為了裝載樣本，另外兩個幫浦是為了傳送溶劑梯度。研究中也利用此整合晶片完成牛血清蛋白中縮氨酸之液相層析串質譜分析，其結果顯示與傳統色層分析系統相比，所需之時間大幅縮短，成本也較低，將適合應用於蛋白質的液相層析等。

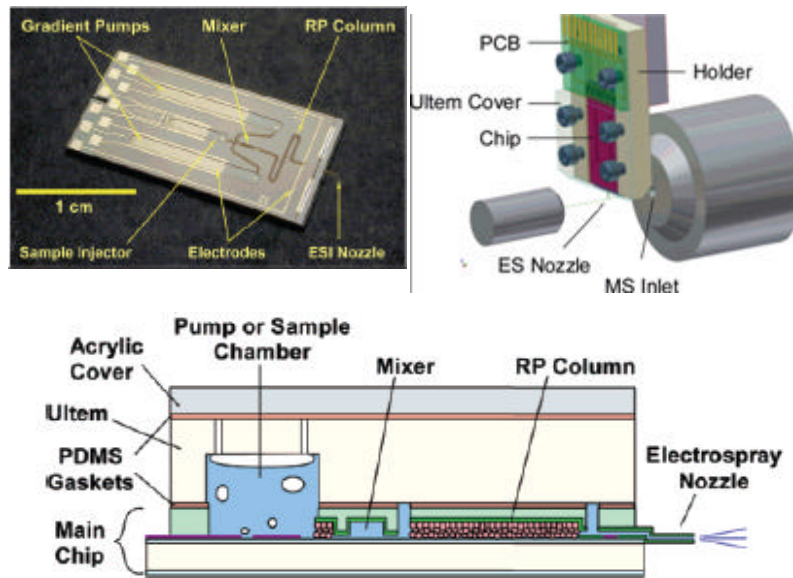


圖 1.13 整合梯度液相層析法所需流體元件之微晶片裝置[34]。

Lee 等人(2005) [35]提出一自動化 DNA 放大程序之微流體系統，其中整合了電滲幫浦、主動式微混合器、晶片式溫度控制系統、細胞裂解反應裝置、PCR 反應槽，如圖 1.14 所示。其工作原理是先將細胞在細胞裂解反應裝置中進行裂解，再取出 DNA 樣本並與試劑傳送至微混合器均勻混合，而後置入 PCR 反應槽進行 DNA 放大。由於此一自動化微流體晶片製程簡單、材料便宜，其為微小化生物分析系統提供一重大的貢獻。

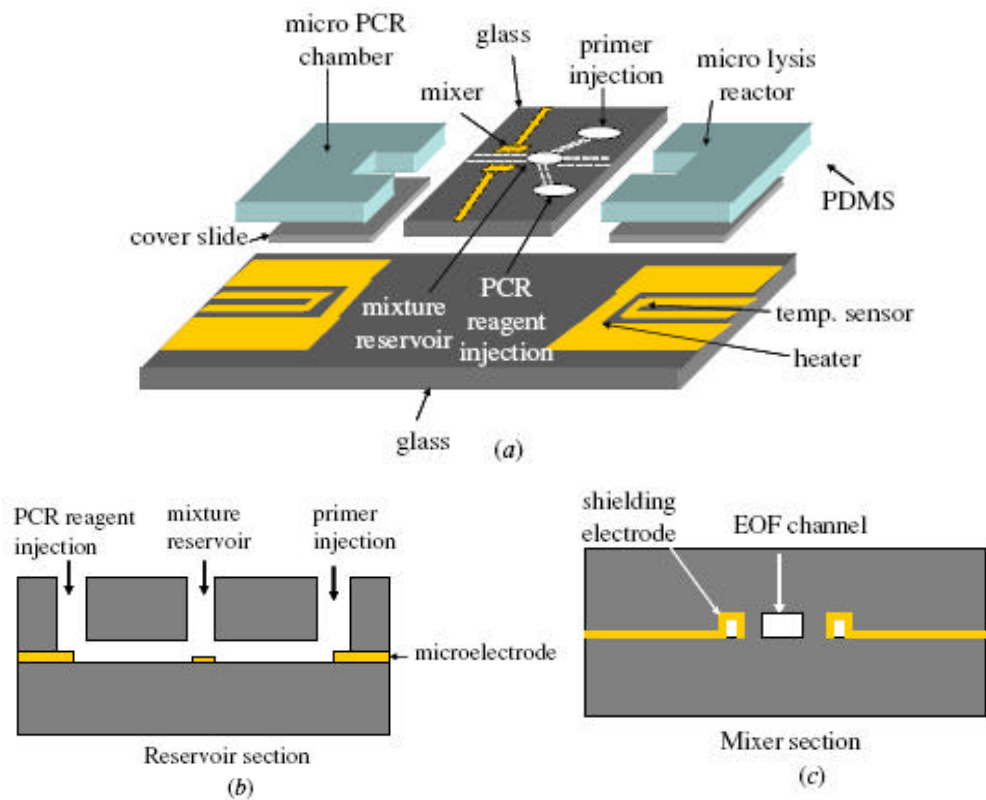


圖 1.14 整合電滲幫浦、微混合器、溫度控制系統之微流體裝置[35]。

Hong 等人(2004) [36]提出一種微流體晶片，其可應用於對細菌或動物細胞之核酸作淨化的動作。如圖 1.15 所示，所有核酸淨化的過程，包括細胞離心、細胞裂解、DNA 或 mRNA 純化及復育等，皆在微量尺度下於一個微流體晶片被完成。在此晶片內，mRNA 可自動從少量的單細胞中被粹取，且平行處理各種不同樣本，將適合應用於處理生物或醫藥等操作。

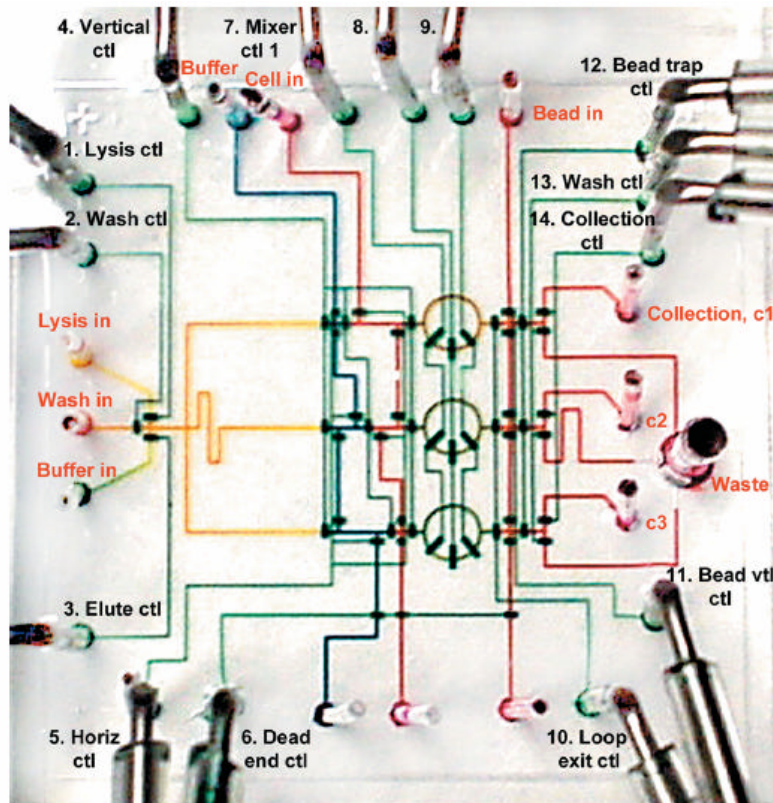


圖 1.15 一種可微量平行處理多種樣本之核酸純化處理晶片 [36]。

Lee 等人(2003) [37]提出一種新型微流體晶片，可用來處理 DNA 放大(PCR)、電動樣本注射及分離、線上光纖偵測，所有微流體元件都整合於一個製成簡單，且材料便宜的鈉玻璃晶片上。如圖 1.16 所示，首先 DNA 樣本可被大量複製於微型 PCR 裝置，之後在電泳管道中利用電動力進行樣本之注射與分離，最後於管道下游以光纖進行樣本偵測。研究中為了改善 DNA 樣本之分離效率，也發展了一個新的表面改質方法，在管道中塗佈一層 SOG(spin-on-glass)以抑制電滲透流效應。實驗結果顯示此微流體晶片可被應用於基因分析等重要研究。

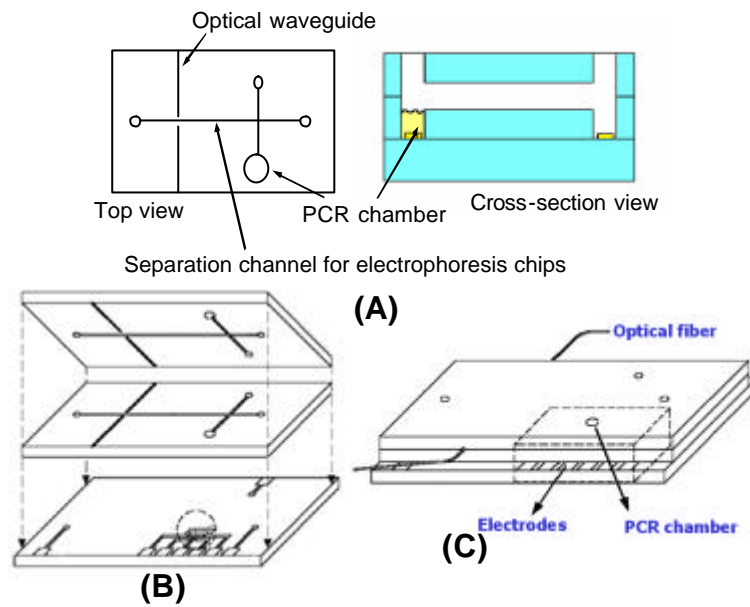


圖 1.16 整合 PCR、電動注射分離、光纖偵測等裝置之微流體晶片 [37]。

微流體晶片除了研發外，也已有商業化產品銷售，以下介紹安捷倫(Agilent)公司所推出微流體相關商品之工作原理與基本應用[38]。如圖 1.17(a)所示，為高效能液相層析晶片(HPLC Chip, high performance liquid chromatography)，整合了樣本濃縮和分析分離管道、液壓連接器、電灑等功能於一個塑膠晶片上，具有使用方便、高靈敏度、高生產力的優勢。此外，可將分析晶片至入安捷倫公司所推出之分析平台(2100 Bioanalyzer)，如圖 1.17(b)所示，其為基於微流體技術的平台，用於分析 DNA、RNA、蛋白質和細胞，可替代費時費力的凝膠電泳技術，提供快速、自動化的分析以及高品質的分析數據結果。



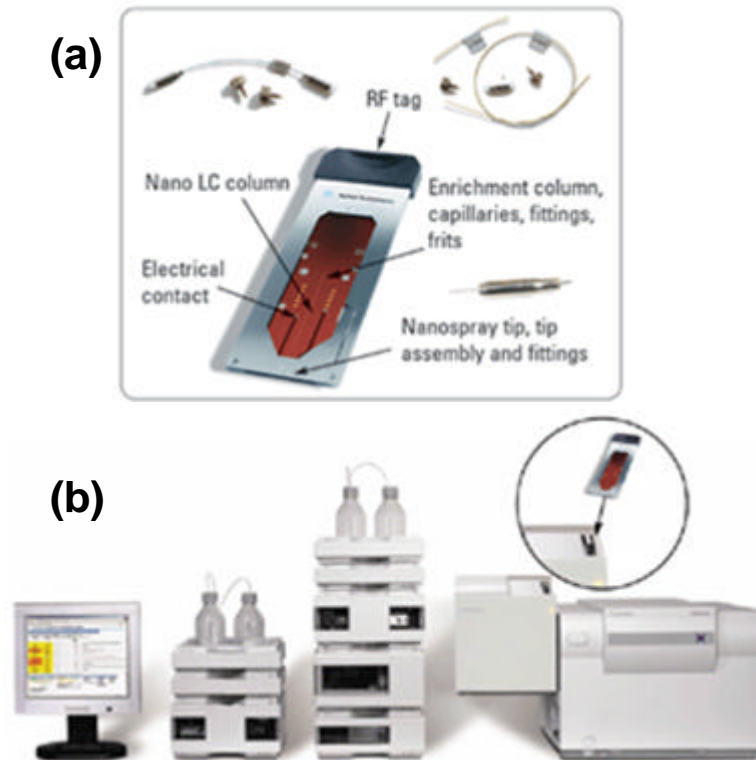


圖 1.17 安捷倫公司所推出之(a) 高效能液相層析晶片及(b)微流體晶片分析平台[38]。

## 1-4 研究動機與目的

### 1-4.1 電驅動式邊鞘流粒子/細胞分類裝置

近年來細胞操作技術不斷進步，尤其在快速檢測及方便操作之需求下，如何利用生物晶片提高生物檢測效率已被廣為討論並研究。而隨著微機電系統製程技術的發展，可將傳統大型流式細胞儀微小化，整合於小面積之生物晶片，除尺寸縮小、降低成本外，更增加其檢測速度並簡化人為的操作程序。本篇研究主要目的為利用微機電製程技

術，設計並製作微流體晶片，使不同大小的粒子在微管道內進行分離的動作，其可應用於連續式細胞分離、細胞計數等。

在微管道內分離粒子的方法已被廣為研究，然而目前粒子分離的方法雖皆可達到相同目的，但都各有其優缺及不便，例如結構過濾法需要複雜且昂貴的製程以製作該晶片。利用重力方法雖可連續分離不同大小粒子，然而欲使重力驅使粒子下沉達到效果，管道長度需設計很長，將不利於實驗操作及實際應用。以介電泳力分離細胞樣本的架構及操作較為複雜，並不易於與其他裝置整合。其它如磁力、光鉗、超音波等方法雖可分離粒子卻無法達到連續操作之目標。

有鑑於此，本研究將提出一種方便簡單的粒子分類方法，即製作一邊鞘流粒子分離裝置，以分離不同大小之微粒子。本研究利用微流體聚焦現象連續分離粒子，微流體聚焦現象是藉由側管之邊鞘流流體對樣本流的水力壓縮效果，而迫使樣本流的寬度縮減至所希望的尺寸。此一電滲流流體聚焦之現象已經被驗證，且可以利用單一個高壓電源產生器穩定且長時間的操作[39]。本研究之操作原理如圖 1.18 所示，操作時可以利用電驅動之原理將側管的流速加大，如此樣品流將被壓縮至所需要之寬度。當不同大小之粒子流至聚焦薄層時，若聚焦流體之寬度小於粒子直徑，則該粒子將無法進入較小之流層中，且將會被擠出而流到另一側寬度較大之流體層。被擠壓出之較大粒子，將



於其流層中穩定流動至管道末端。本研究並於管道中設計一膨脹空間，以便使前端已經被排擠入不同流層之粒子得以更進一步分離，並可於其後端進行收集。本文除討論關於晶片的設計及粒子分離原理外，並提出一簡單快速之晶片製程製作該微流體晶片。此外，本研究並利用數值模擬方法，以預測流體在不同電場施加條件下之流層寬度。並實際利用不同大小之微粒子並生物樣本進行分離測試。

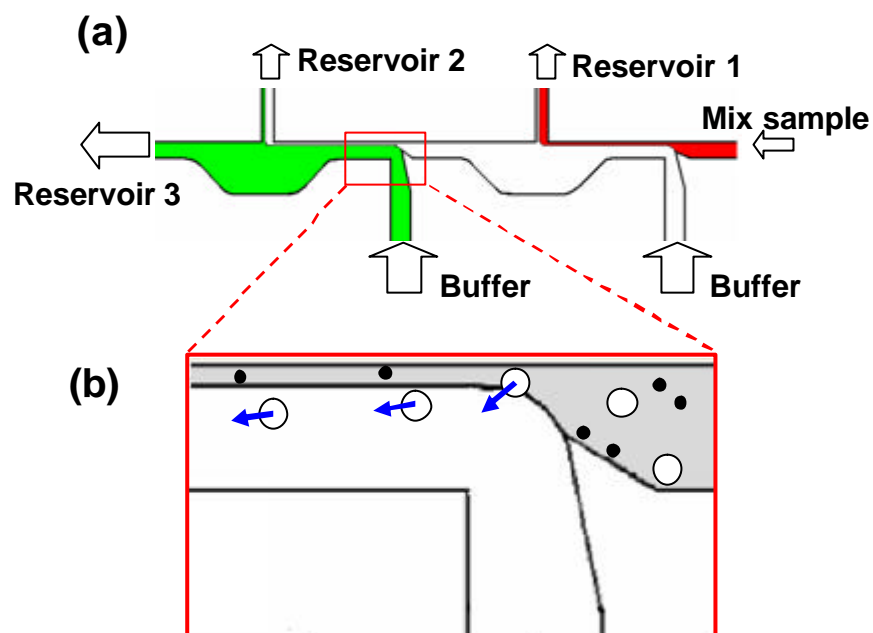


圖 1.18 微流體粒子/細胞分類器之工作原理示意圖。

#### 1-4.2 樣本比例配製並傳輸裝置

在傳統的生化實驗室中，許多步驟都需藉由人工的操作，人員在實驗室裡用量杯、微量吸管作樣本的取樣，以試管、滴定管等進行生化反應，其主要的目的是要控制樣本試劑的傳送，並使試劑與檢體達

到混合，等待足夠的時間使樣本進行反應，而後分離並萃取。由於精密機械的進步，有些生化、製藥工廠生產線，均已倚賴較具規模、自動化生產的機械設備進行工作，節省人力資源，且能更精密控制試劑劑量，但是這些機械設備的成本高、攜帶不便、使用上亦有諸多不便。而在 1989 年德國的 Manz 教授提出微全分析系統(micro total analysis system,  $\mu$ -Tas) [6]，其概念是將實驗室複雜的分析流程實驗步驟自動化地整合操作。由於將實驗室複雜之流程整合在生物晶片上，流體試劑精密地感測及控制流量是非常重要的，為了及早實現微全分析系統的概念，本研究提出一種晶片式微流體比例調劑裝置，可在管道中進行比例的調劑及傳輸，並滿足高靈敏度微量傳輸之需求。

研究之主要目的是利用微機電製程技術，設計並製作一種操作簡單之比例調劑裝置，如圖 1.19 所示。其作動原理是在一主管道上安置一個以上的側管，注入不同之樣本試劑，可在末端得到多種樣本之不同比例調劑，研究中將以兩種樣本之比例調劑為例，以說明並討論，其中提出兩種比例調劑控制模式：(1)長度控制模式，(2)電壓控制模式，控制流體之電場分佈，達到不同試劑比例之調配，將可應用於整合型晶片各種功能之前置步驟，如試劑合成、樣本稀釋、藥物調配等。本研究除討論關於晶片管道尺寸對試劑調劑比例之影響外，並利用數值模擬方法及數學模式推導計算，預測流體在不同管道尺寸改變條件

下之比例調劑，且實際以實驗結果跟理論數據作對照及比較評估。

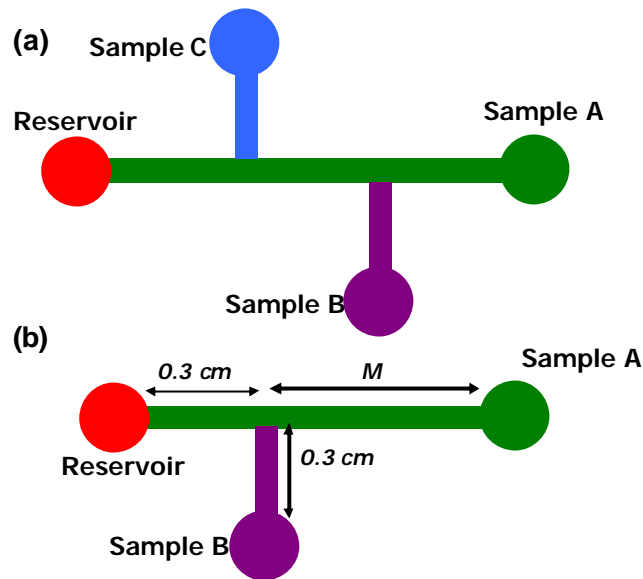


圖 1.19 比例調劑裝置示意圖

### 1-4.3 細胞裂解反應處理系統

生物科技發展至今，DNA 技術得到廣泛應用，許多具有重大應用的產品應運而生，如具有顯著醫療作用的胰島素、干擾素、生長激素等，它們的基因分別在宿主細胞內，成為基因工程的產物[40]。要想分離提取純化這些胞內物質，首要的任務是組織及細胞的破裂，常用的破裂方法有：機械法、物理法、化學法、酶解法，其中化學法已是實驗室內操作相當成熟的方法，大致包括兩種，一為用化學溶劑使組織或細胞溶解的溶劑處理法；另外則是用界面活性劑使組織或細胞溶解的界面活性劑處理法。

研究中將整合所開發之比例調劑裝置及微混合器，以進行細胞裂

解之應用。如圖 1.20 所示，利用比例調劑裝置調配含有  $\text{NH}_4\text{Cl}$  之細胞裂解液，再將所調製的細胞裂解液及細胞置入微混合器，使細胞與裂解液均勻混合而被裂解。其中所採用的生物樣本為人類血液的紅血球。

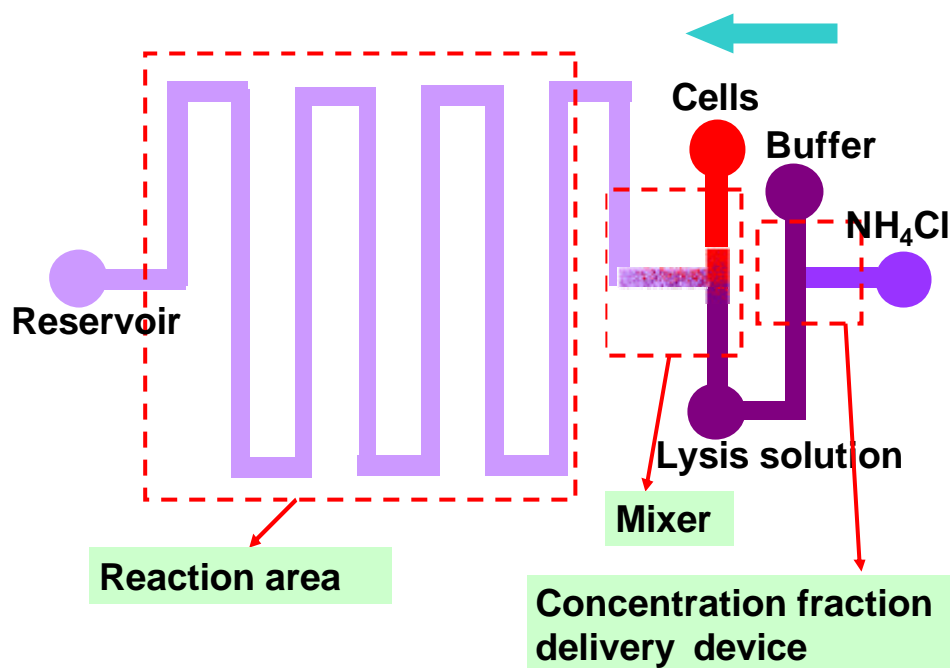


圖 1.20 整合比例調劑裝置及微混合器之細胞裂解反應處理系統。

## 1-5 論文架構

整合型之生化分析檢測技術之發展，乃是生化科技研究之重點之一。因此如圖 1.21 所示，本研究除討論所發展之微型細胞/粒子分類器、比例調劑裝置及微型混合器等單一元件之設計製作外，並致力於將各獨立之單元整合在一起，以達到系統化操作之目標。

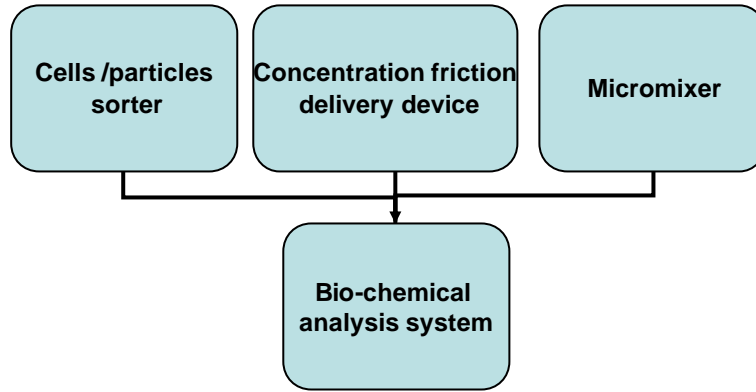


圖 1.21 整合型生化分析系統架構圖。

本論文之架構簡述如下：

## 第一章 緒論

本章節首先簡介微機電技術及微流體系統之發展背景，並針對所研究之相關主題作文獻回顧，主要包括三個部分：微型細胞/粒子分類器、微型調劑傳遞裝置、整合型晶片實驗室。而後說明本論文之研究動機與目的，最後簡述論文各章節之概要。

## 第二章 理論分析與數學推導

本研究中，微流體系統主要是以電滲透流為驅動源，因此在本章首先討論電雙層形成機制與電滲透流理論，之後也針對流場分析所使用數值軟體模擬作參數設定之介紹，最後對實驗中微流體聚焦壓縮現象與粒子/細胞於壓縮流體之擠壓躍遷效應作一簡單之數學模式推導。

## 第三章 晶片設計與實驗方法

本章將對於所提出之微流體元件包括：多階邊鞘流微型粒子/細胞分類器、串接式連續粒子/細胞分類器、比例調劑混合反應裝置等，介紹其設計原理與尺寸參數，並完整介紹晶片之製作過程。最後說明實驗中所需材料與生物樣本之預備，並介紹實驗設備之架設。

#### **第四章 結果與討論**

本章說明所提出之連續粒子/細胞分類裝置中，實驗之聚焦壓縮情形、粒子分離及收集結果，並評估其分類效率，以證實此一粒子/細胞分類裝置之可行性。此外討論比例調劑混合裝置於細胞裂解反應之應用，包括：試劑濃度比例配製與細胞裂解反應結果。

#### **第五章 結論與未來展望**

本章將說明論文之貢獻及研究之結論，並針對未來整合化系統提出相關建言。

## 第二章 理論分析與數學推導

### 2-1 電雙層形成機制

通常任何一對不是完全相同的固相、液相或氣相之導體接觸，將會形成有電位差存在之界面，電雙層(Electrical double layer, EDL)即為一種實用且重要之界面現象[41]。以本研究微流體管道所形成之電雙層為例，是一種固、液導體所形成之界面現象，研究中微流體晶片以玻璃為基材，微管道與水接觸將使管壁之 Si-OH 官能機被水解，並在管壁產生負電荷之氧化矽離子( $\text{SiO}^-$ )，為了平衡電中性，管道內緩衝液之正電荷離子將被吸引而聚集在管道壁面上，以形成電雙層，如圖 2.1 所示。電雙層由於正電荷離子的分佈大致可分為兩部分：一是被吸附在管壁表面固定不動之正電荷離子，稱為固定層(Stern layer); 另一是隨著管壁表面距離增加，正電荷離子隨之遞減之擴散層(Diffuse layer)。其中 Debye length 表示電雙層之特徵厚度，亦即在此範圍內能有較明顯電雙層電動現象。管道中電位勢以管壁為最大，隨著距離增加而遞減，而固定層與擴散層交界之電位稱為表面電位(Zeta potential)，其與管壁之電荷密度和緩衝液 pH 值有關。

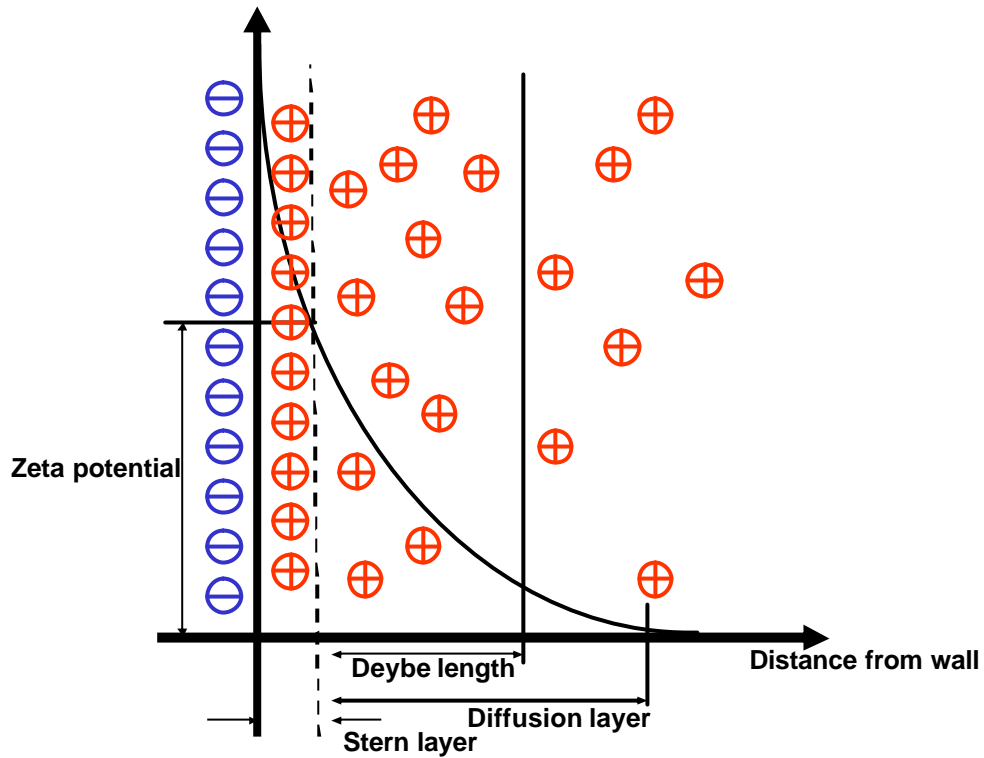


圖 2.1 電荷分佈與電雙層形成示意圖。

## 2-2 電滲透流理論

圖 2.2 為電滲透流的示意圖，以微管道流體為例，管道表面上存有帶正電荷離子之電雙層，當施加一電場於微管道流體時，將會影響電雙層中電荷分佈，並驅使擴散層之正電荷離子往負極端移動，由於流體黏滯效應的影響，管道中流體將會被正電荷離子帶動並一起往負極端移動，電滲透流因此產生。

電滲透流之流速  $V_{eof}$  與電滲透遷移率  $\mu_{eo}$ ，可被定義如下：

$$V_{eof} = m_{eo} E_{el} \quad (2-1)$$



$$m_{eo} = \frac{e\zeta}{h}$$

其中  $E_{el}$ (V/cm)表示所施加之電場強度， $\epsilon$ (N·m/V<sup>2</sup>)表示溶液介電常數， $\zeta$ (V)表示介面電位， $\eta$ (kg/m·s)為溶液的黏滯係數。由式(2-1)可知，電滲透流流速與電場強度及界面電位有關，因此除了改變電場強度之外，可藉由調整緩衝液之 pH 值以改變溶液中電荷密度，進而控制電滲透流流速大小。此外，在電滲透流中，截面流速為均勻平坦分佈，其可彌補並改善在壓力驅動流中，拋物線型流速分佈產生渦旋，擾亂樣本液與緩衝液帶寬，影響實驗偵測等。此一電滲透流現象在生物、醫學、化學及工程等領域有廣泛的應用，相關之研究受到不少學者重視，亦是本篇論文實驗中，微流體主要驅動之方法。

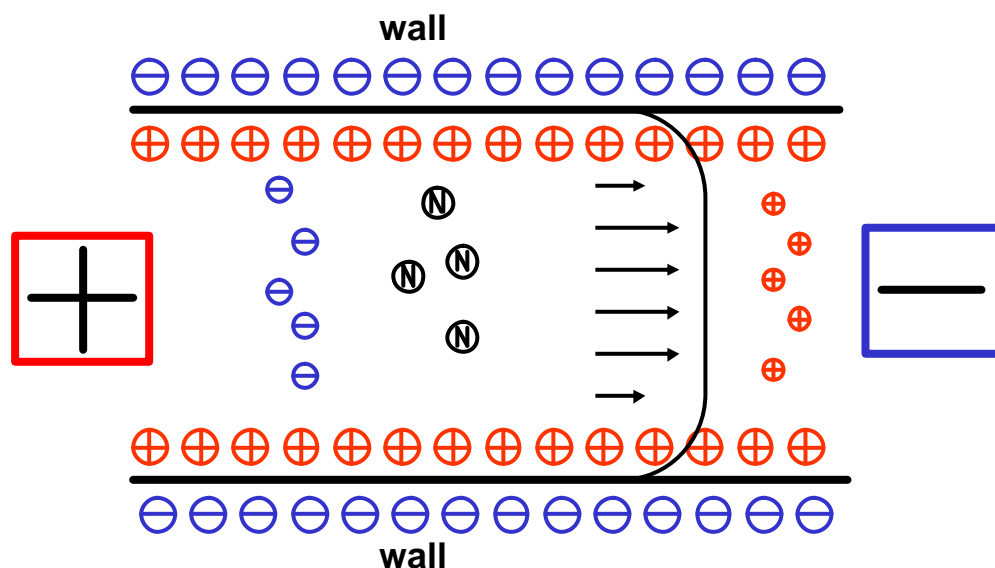


圖 2.2 電滲透流原理示意圖。

## 2-3 流場分析數值模擬

研究中除實驗外亦利用商用軟體 CFDRC<sup>®</sup>，模擬微流體流場與實驗作對照。CFDRC<sup>®</sup>常應用於微機電、微流體、醫工、航太、汽車、電子等相關工程方面之分析。以本研究微流體管道為例，其可同時分析流體之濃度、流速、流場、壓力、電場、溫度、熱傳等，是一套功能強大之模擬軟體。

微流體管道模擬分析分成三個部分，包括：

- (1) **CFD-GEOM**：由點、線、面建構模型，而後在線上標出格點並於面上建立網格，以完成所設計之幾何結構。在網格的建立中，格點的疏密與分佈，關係著數值計算的精密度，而在本研究中，於邊長約每 3  $\mu\text{m}$  設定一格點，並依據管道形狀複雜程度作修正，因此所建構的網格數目約 70~80 萬個，在此條件下進行的數值計算，將可得到所需的精確度。
- (2) **CFD-ACE**：可用以設定分析模式、邊界條件、初始條件等，作模擬運算之控制。在本研究中，是以電驅動管道內之流體，因此所選擇的模式包括：流體(Flow)、化學(Chemistry)、電(Electric)。邊界條件則對各邊界作定義，包括：管道壁面電雙層設定、每個區塊的交界面、入口及出口之電壓、流速或壓力。而由於流體最初狀態為靜止，所以不需對初始條件作特別設定。

在本研究中，微管道之基材為玻璃，緩衝液為 10 mM 之硼酸鈉溶液，模擬中微流體之相關設定如下：

- \* 介電常數(Dielectric constant) ,  $\epsilon = 80 \text{ N}\cdot\text{m}/\text{V}^2$ 。
- \* 界面電位(Zeta potential) ,  $\zeta = -0.075 \text{ V}$ 。
- \* Debye 厚度(Debye thickness) ,  $10^{-9} \text{ m}$ 。
- \* 流體黏度(fluid viscosity) ,  $\eta = 10^{-3} \text{ N}\cdot\text{s}/\text{m}^2$
- \* 樣本液之擴散係數(Diffusion coefficient) ,  $D = 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$

(3) **CFD-VIEW**：可觀看或讀取分析結果，包括流體之濃度、流速、流場、壓力、電場、溫度、熱傳等數值與圖形，最後再將模擬的結果製作成圖片或動畫。

## 2-4 微流體聚焦壓縮現象

微流體聚焦壓縮現象是藉由側管邊鞘流對主管樣本流的水力壓縮效果，而迫使樣本流的寬度縮減至所希望的尺寸，如圖 2.3 所示。由於流體在微管道內之雷諾數甚小，因此流體狀態皆為層流。假設忽略樣本流體與邊鞘流流體之擴散現象，則由質量守恆原理可得

$$\dot{Q}_{in} = \dot{Q}_{out} \quad (2-2)$$

$$r_1 \bar{V}_1 D_1 + r_1 \bar{V}_2 D_2 = r_a \bar{V}_a D_a \quad (2-3)$$

$$r_1 \bar{V}_1 D_1 = r_1 \bar{V}_c d \quad (2-4)$$

其中  $\dot{Q}_{in}$  為入口流量， $\dot{Q}_{out}$  為出口流量， $\rho$  為流體密度， $\bar{v}$  為流體之平均流速， $D$  為管道寬度，下標 1、2、 $a$  分別代表樣本流、邊鞘流與出口流體，而  $d$  為樣本流進出口管道之寬度。

由式(2-3)、(2-4)，入口質量流率等於出口流率可得

$$\bar{V}_a = \frac{r_1 \bar{V}_1 D_1 + r_2 \bar{V}_2 D_2}{r_a D_a} \quad (2-5)$$

$$d = \frac{\bar{V}_1 D_1}{\bar{V}_c} \quad (2-6)$$

假設二維流體之狀況，電壓驅動流體，微管道內流體之速度場呈均勻分佈，並簡化假設流體密度都一樣且不變，則  $\bar{v}_a = \bar{v}_c$ 、 $r_1 = r_2 = r_3$ ，因此，由式(2-5)、(2-6)整理可得，樣本流體經邊鞘流壓縮聚焦後在出口管道之寬度可表示為

$$d = \frac{\bar{V}_1 D_a D_1}{\bar{V}_1 D_1 + \bar{V}_2 D_2} \quad (2-7)$$

已知電滲透流流速與電場強度成正比關係，由上式(2-7)，可利用所設計微管道尺寸及調整施加電壓所產生的流速，作為預測樣本流聚焦寬度之基準，以提供實驗測試條件參數。

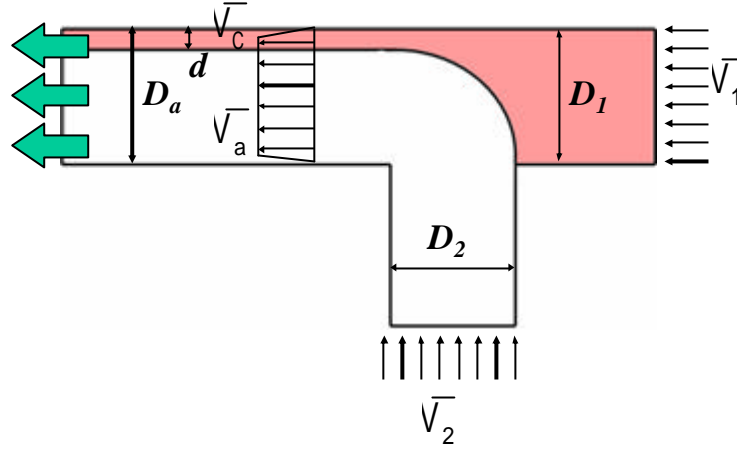


圖 2.3 微流體聚焦壓縮現象示意圖。

## 2-5 粒子/細胞於壓縮流體之擠壓躍遷效應

理論推導中，將樣本流與邊鞘流所接觸之界面視為一無形壁面。

如圖 2.4(a)所示，假設流體在兩平行板之間，其中下板為可滑動而上板則為固定不動，其可看作滑動之庫頁流(Couette Flow)。考慮流體為不可壓縮之牛頓流體，穩定之連續流體( $\partial u/\partial t = 0$ 、 $\partial u/\partial x = 0$ )，忽略流體的重力效應，且 Y、Z 方向速度為零( $v = 0$ 、 $w = 0$ )。依據電場與電荷分佈的物體力效應所修正之 X 方向 Navier-Stokes 方程式，如式(2-8)來描述流體的運動。

$$\frac{\partial u}{\partial t} + u \frac{\partial u}{\partial x} + v \frac{\partial u}{\partial y} + w \frac{\partial u}{\partial z} = -\frac{\partial p}{\partial x} + \frac{1}{\text{Re}} \left( \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial z^2} \right) - Gx \cdot r_e \frac{\partial y}{\partial x} \quad (2-8)$$

$u$  為 X 方向流速， $v$  為 Y 方向流速， $w$  為 Z 方向流速， $p$  為流場之壓力， $r_e$  為電荷密度， $y$  為電位勢， $\text{Re} = r_f U_{ref} L_{ref} / \eta = r_f (y_{inlet} \mathbf{e}_0 / z / \eta L) (L_{ref} / \eta)$  為雷諾數， $r_f$  為流體的密度， $U_{ref}$  為參考速度， $L$  為管道長度， $L_{ref}$  為

參考長度， $\epsilon$ 為介電常數， $\epsilon_0$ 為在真空中的介電常數， $y_{inlet}$ 為入口的 activated 電位勢， $Gx=2n_0k_bTr_fW^2/hRe^2$ 為墊雙層與機械運動能的比值， $n_0$ 為離子的體積濃度， $k_b$ 為 Boltzman 常數， $T$ 為絕對溫度， $W$ 微管道高度，而此數值方法的初始條件、邊界條件及細節可參考文獻[42]。

Navier-Stokes 方程式經簡化可得

$$\frac{d^2u}{dy^2} = \text{Re}\left(\frac{\partial p}{\partial x}\right) + \text{Re}Gxr_e \frac{\partial y}{\partial x} \quad (2-9)$$

將式(2-9)對  $y$  積分兩次可得

$$u = \frac{\text{Re}}{2}\left(\frac{\partial p}{\partial x} + Gxr_e \frac{\partial y}{\partial x}\right)y^2 + c_1y + c_2 \quad (2-10)$$

式(2-10)之兩常數  $c_1$  及  $c_2$  可由邊界條件求得，假設當  $y=0$   $y=b$  之邊界條件為  $u(y=0)=u^*$ 、 $u(y=b)=U$ ，將邊界條件帶入式(2-10)， $c_1$  與  $c_2$  分

$$\text{別可被表示為，} c_1 = \frac{U - u^*}{b} - \frac{\text{Re}}{2}\left(\frac{\partial p}{\partial x} + Gxr_e \frac{\partial y}{\partial x}\right)b, c_2 = u^*。$$

因此流體之速度場可寫作

$$u = \frac{\text{Re}}{2}\left(\frac{\partial p}{\partial x} + Gxr_e \frac{\partial y}{\partial x}\right)y^2 + \left[\frac{U - u^*}{b} - \frac{\text{Re}}{2}\left(\frac{\partial p}{\partial x} + Gxr_e \frac{\partial y}{\partial x}\right)b\right]y + u^* \quad (2-11)$$

在微管道的兩端施加電壓，則組成擴散層的正電荷離子將被吸引至負極，這些粒子再以黏滯效應拖著管道中體相液體向負極運動，由式(2-1)可知溶液之電滲透流流速可表示為  $u_{eo} = m_{eo}E_{el}$ ，而對於球形粒子於電滲透流中之黏滯力可表示為

$$F_f = 6phru \quad (2-12)$$

$F_f$ ：球形粒子的黏滯力， $r$ ：粒子半徑。

在式(2-10)中，假設  $U$  為側管電滲透流遷移流速， $b$  為粒子直徑，則由式(2-10)、(2-11)可得

$$F_f = 6\boldsymbol{\mu}\boldsymbol{m}\left\{ \frac{\text{Re}}{2} \left( \frac{\partial p}{\partial x} + Gx\mathbf{r}_e \frac{\partial \mathbf{y}}{\partial x} \right) y^2 + \left[ \frac{U - u^*}{b} - \frac{\text{Re}}{2} \left( \frac{\partial p}{\partial x} + Gx\mathbf{r}_e \frac{\partial \mathbf{y}}{\partial x} \right) b \right] y + u^* \right\} \quad (2-13)$$

如圖 2.4(b)，粒子在流場中受力產生一加速度，由牛頓第二運動定律，其可表示如下：

$$F - \int F_f(y)dy = ma$$

$$F = \int F_f(y)dy + \frac{1}{6}\boldsymbol{\rho}D_p^3ra \quad (2-14)$$

$F$ ：粒子受流體之推力， $D_p$ ：粒子直徑

粒子將受一分力  $F'$ ，使之突破樣本流與邊鞘流之界面，從樣本流流層跳至邊鞘流流層，此分力可表示為

$$F' = F \sin \boldsymbol{q}$$

$$F' = \frac{\boldsymbol{\rho}mD_p^2}{4} \left\{ \left[ 6(u_{eo} - u^*) - D_p^2 \text{Re} \left( \frac{\partial p}{\partial x} + Gx\mathbf{r}_e \frac{\partial \mathbf{y}}{\partial x} \right) \right] + u^* D_p \right\} \sin \boldsymbol{q} + \frac{\boldsymbol{\rho}D_p^3ra}{6} \sin \boldsymbol{q} \quad (2-14)$$

利用側管邊鞘流壓縮主管樣本流，使之縮小至實驗所需寬度，當聚焦樣本流之寬度小於粒子直徑，由式(2-14)可預測粒子於管道中流動受此分力所影響，使之無法穩定進入寬度較小之流層中，將會被擠壓

而躍遷並流到另一側寬度較大之流體層。

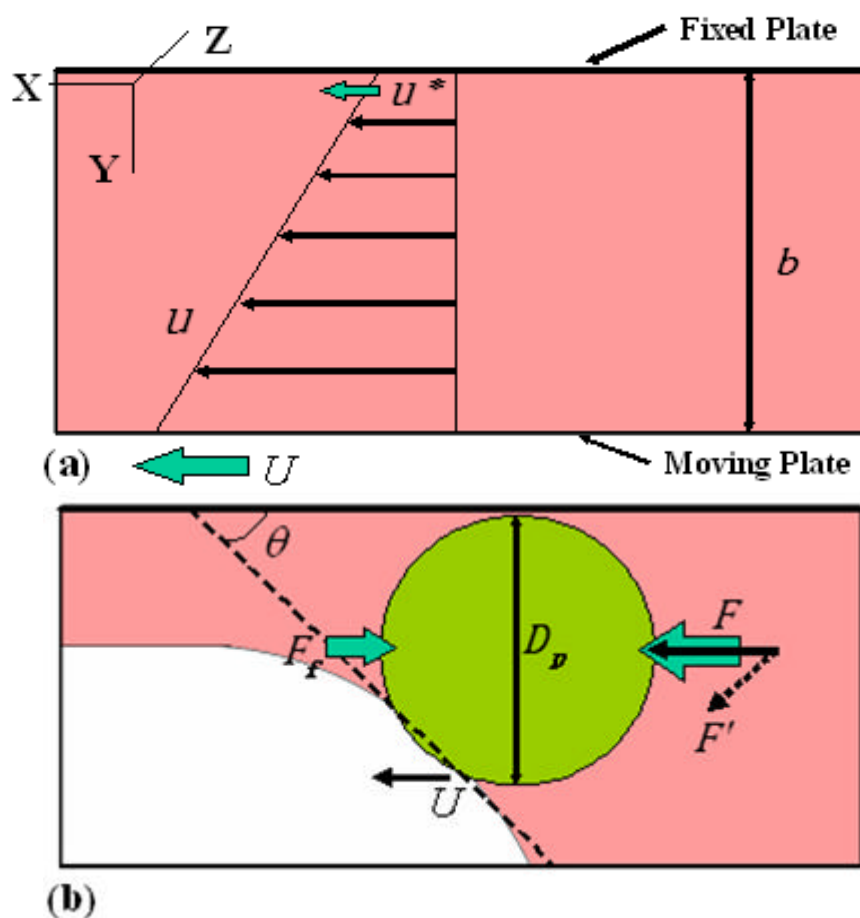


圖 2.4 (a)樣本流經邊鞘流擠壓，將壓縮後之樣本流流體層視為可滑動之庫頁流(Couette Flow)。(b) 粒子受力示意圖，粒子於管道中流動受流體推力及黏滯力所影響，使之無法穩定進入寬度較小之流層中，將會被擠壓而跳出並流到另一側寬度較大之流體層。



# 第三章 晶片設計與實驗方法

## 3-1 晶片設計

如何在微流體系統中，藉由其管道之設計，發展各樣功能之應用是一個重要的課題。實驗中所設計之微流體晶片，包括兩種粒子分類器與一種比例調劑混合反應裝置，以下將分別介紹所設計晶片之結構圖形與詳細尺寸。

### 3-1.1 多階邊鞘流薄層微型粒子/細胞分類器

在聚焦壓縮的流場中，當粒子/細胞直徑大於聚焦薄層時，其無法穩定流入該流層，將被擠壓而躍遷至另一側寬度較大之流層。利用此一現象，研究中提出一種多階邊鞘流薄層微型粒子/細胞分類器之設計，其形狀與設計尺寸如圖 3.1 所示。設計主要是利用一個以上之側管，以水力壓縮的方式，創造出多階邊鞘流薄層，當混合不同大小粒子/細胞之樣本從右端入口進入時，藉由此多階不同寬度之邊鞘流薄層，將使不同大小粒子依序被擠壓並彈跳至其可容身之聚焦薄層中而被分離，晶片後端亦設有無閥之多個收集管道，以收集被分離之不同大小粒子/細胞。

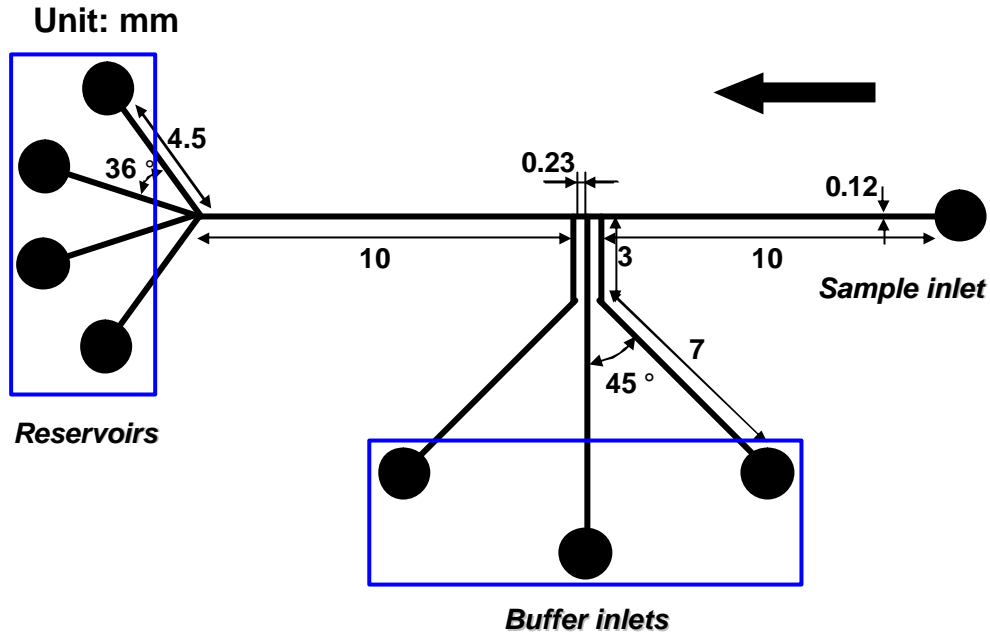


圖 3.1 多階邊鞘流微型粒子/細胞分類器之尺寸大小示意圖

### 3-1.2 單階串接式連續粒子/細胞分類器

此為多階邊鞘流微型粒子/細胞分類器之又一型改良。由於創造多階邊鞘流時，需要同時且精準控制每一個邊鞘流之寬度，由於不同管道之電場於管道中交互耦合，造成電場分佈相當複雜，因此不易長時間穩定控制多層邊鞘流之流場。且部分粒子/細胞需要作連續多次壓縮而躍遷的動作，這將增加其失誤的機率，而降低粒子/細胞分類器之分類效能。有鑑於此，研究又設計一單階串接式連續粒子/細胞分類器，其形狀與設計尺寸如圖 3.2 所示，以串接的方式連結一個以上之分類裝置，每一分類裝置由右而左主要包括三個部分：(1)前端粒子分離，利用側管的邊鞘流擠壓主管的樣本流，使之壓縮至所希望的寬度，讓

較小的粒子行進於寬度較小的流層，而較大的粒子則被擠壓至寬度較大的流層，以進行粒子分離。(2)膨脹空間，利用流體從小面積進入大面積時，其流線將會擴散的方式，使已分離之粒子進入膨脹空間時，隨著擴散的流線，增加粒子分離之距離，以輔助實驗操作。(3)後端收集，裝置後端設置兩個出口管道，利用電壓微調控制流場的方式，使被分離的粒子分別進入不同的出口管道，以進行蒐集。

Unit: mm

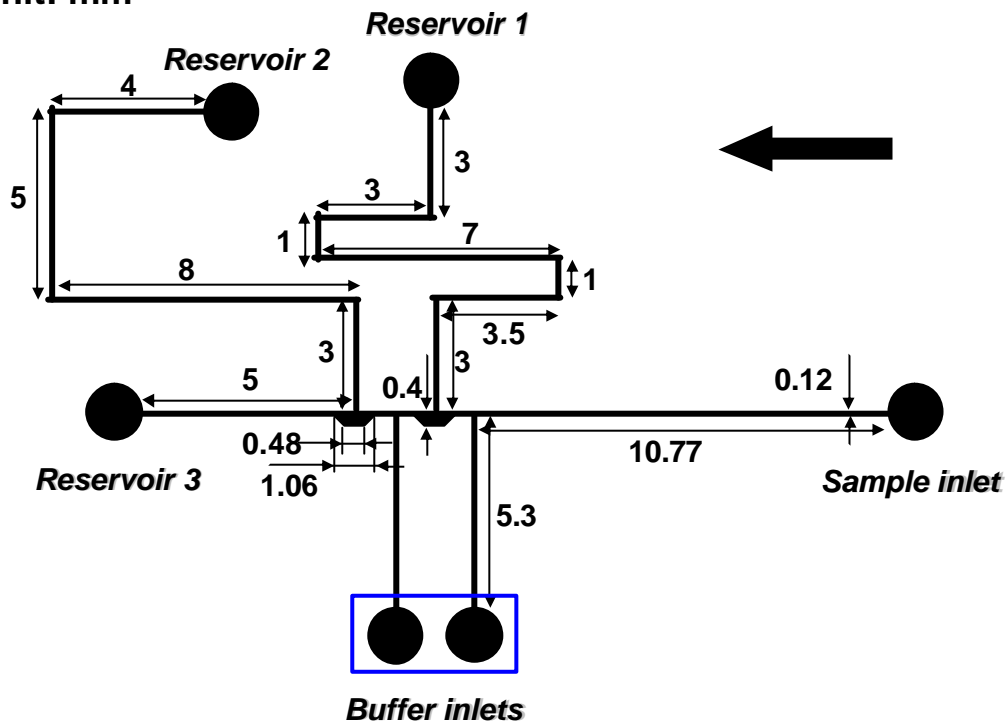


圖 3.2 串接式連續粒子/細胞分類器之尺寸大小示意圖。

### 3-1.3 比例調劑混合反應系統

比例調劑混合反應裝置之晶片形狀及設計尺寸如圖 3.3 所示，其結構由右而左包括：(1)具有試劑合成、樣本稀釋及藥物調配等功能之

比例調劑裝置。(2)使樣本與所配製之溶液混合之 T 型混合器。(3)長達 15 cm 之蛇型管反應區域。其中微混合器是引用本實驗室所已發展的技術，其在兩不同樣本液交界處後方 1 mm 時，即能獲得高達 95% 以上的混合效率[43]。 研究中亦成功以細胞(紅血球)裂解反應為例進行操作，在比例調劑裝置中調配出含有  $\text{NH}_4\text{Cl}$  之紅血球裂解液，之後與紅血球於 T 型混合器進行混合，最後進入蛇型管使之有足夠之時間進行裂解反應。

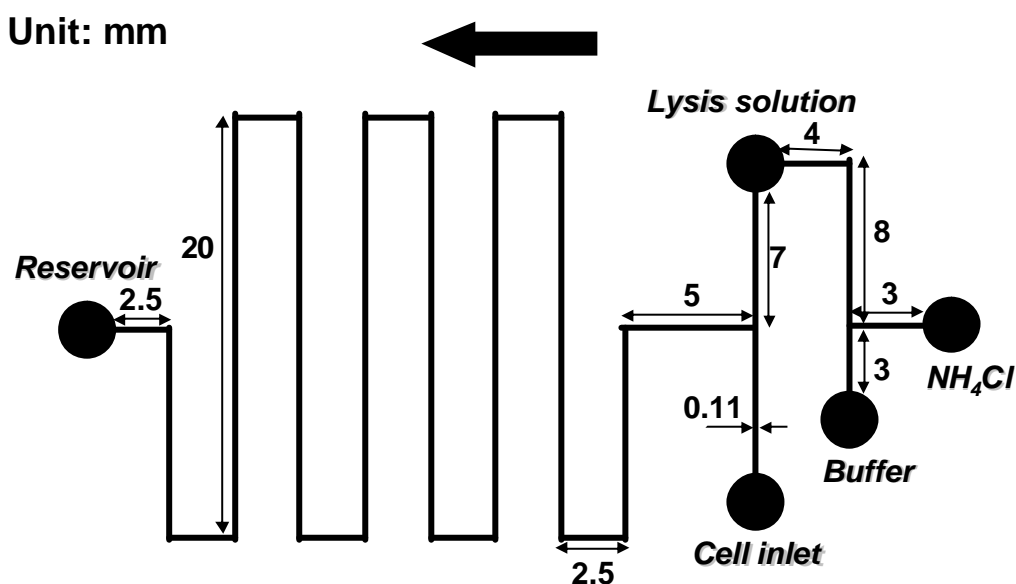


圖 3.3 比例調劑混合反應裝置之尺寸大小示意圖。

### 3-2 晶片製作

由於本研究採用電滲透流進行樣本之驅動，因此晶片之基材必須為親水性基材，以便產生明顯之電滲透流效應，故本研究選擇以低成

本的鈉玻璃基材為主，其表面具有大量之-OH官能基，因此於電驅動時可以穩定產生電滲透流效應，以驅動流體樣本。此外在製作晶片前需先將玻璃置於 400°C 之環境中 4 小時進行退火，以釋放玻璃生產加工時所產生的殘餘應力。圖 3.4 為晶片製程之示意圖，以下將簡述晶片之製作流程，而詳細之晶片製程可參考文獻[44]。

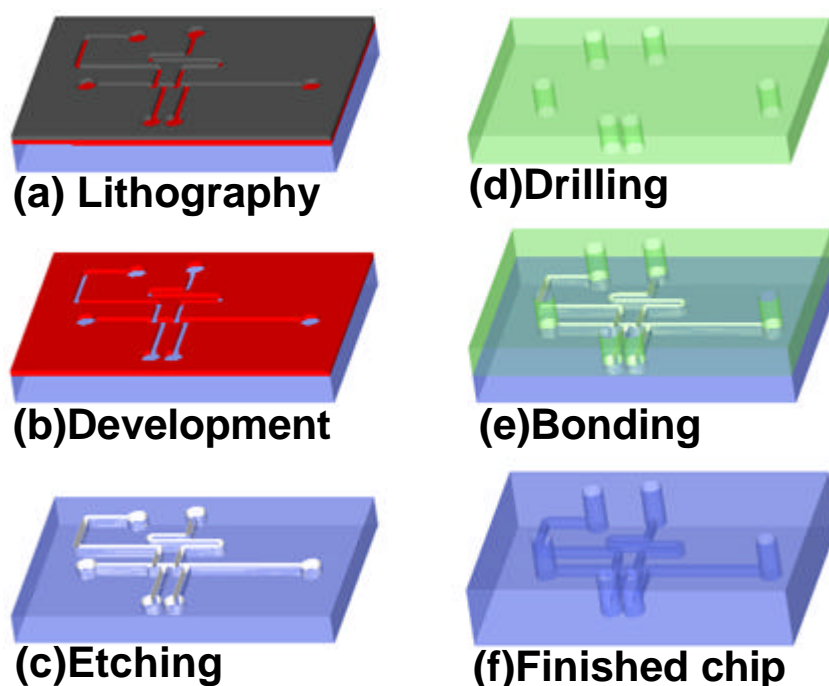


圖 3.4 晶片製程示意圖。

### 3-2.1 光罩製作

光罩主要是在微影時定義所要的圖案，因此光罩的設計是重要的，其有分透光區與不透光區，可製作出凹面與凸面之玻璃晶片表面。光罩之繪製是利用繪圖軟體 AutoCAD2006<sup>®</sup>來進行所需圖案形狀與尺寸位置之設定。光罩之材質方面，大致包括：石英玻璃光罩、玻璃光

罩及塑膠光罩，在本研究中，選擇以低成本之塑膠光罩來完成晶片之製作。塑膠光罩是利用高解析度之專業雷射印表機將所設計圖案轉移至高分子膠片上，適合線寬 20  $\mu\text{m}$  以上之圖形設計，其解析度雖不及石英玻璃及玻璃材質之光罩，但成本卻相對較低，為石英玻璃光罩之十分之一，相當適合應用於本製程中。

### 3-2.2 晶片清洗

玻璃表面之潔淨度關係著製程的成功與否，而常見的玻璃清洗多以強氧化還原反應之酸洗法進行，將退火完成之玻璃放入加熱 Piranha 溶液( $\text{H}_2\text{SO}_4 : \text{H}_2\text{O}_2 = 3 : 1$ )中，於沸騰後煮 10 分鐘，接著以去離子水(DI water)清洗，然後將其玻璃吹乾並放在 100°C 之電熱板烘烤 3 分鐘，去除玻璃表面之水分子。

### 3-2.3 微影

微影之主要目的是將所設計之圖形轉移至晶片上。其步驟為塗佈光阻、曝光、顯影，如圖 3.4(a)、(b)所示。為了增加光阻附著力，可以六甲基二矽胺(Hexamethyldisilazane, HMDS, Alfa Aesar, USA)當作附著力促進劑，將清洗完之玻璃置於一密閉容器裡，滴入數滴 HMDS 並放置 5 分鐘，使其蒸發附著在玻璃之表面，完成後於 100°C 之電熱板上烘烤 3 分鐘。之後將玻璃放置在旋轉塗佈機(Spin Coater)上，並將 AZ4620 正光阻劑滴在玻璃中間，以旋轉離心的方式將光阻均勻塗佈在

玻璃表面，此旋轉塗佈之參數為以 500 rpm/s 之加速度於 10 秒內旋轉至 5000 rpm，再以轉速 5000 rpm 的速度持續 30 秒。接著進行軟烤，於 100°C 電熱板上烘烤 3 分鐘，以揮發光阻層中的溶劑，達到固化。軟烤完後進行曝光，所使用的光源為 g-line(365 nm)，所需的曝光劑量為 169 mJ/cm<sup>2</sup>，使玻璃表面所塗佈的光阻吸收適當能量以產生光化反應，如此置入顯影液(AZ400K：DI Water = 1：3)約 60 秒，光阻被曝光的部分會溶解在顯影液中，即可成功地將光罩之圖形轉移至玻璃上。顯影後之玻璃經去離子水清洗吹乾後，進行硬考程序，將玻璃放置在電熱板上，從 100°C 升溫之 150°C 並持溫 10 分鐘，而後降至室溫，即完成硬烤。

### 3-2.4 蝕刻

將硬烤後之玻璃浸泡在蝕刻液 (buffered-oxide-etchant, BOE, JT Baker, USA)中進行蝕刻，並以超音波震盪加速蝕刻速率並增加蝕刻的均勻度，此蝕刻之速率約為 0.9 μm/min。而在蝕刻過程中會有鈣及鎂離子的結晶產生附著於微管道表面，其將影響蝕刻之品質，因此本研究利用 1 M 的鹽酸來除去這些表面的沈澱物，即每隔 5 分鐘就將玻璃從蝕刻液中取出，先經過去離子水清洗，接著置於 1 M 鹽酸溶液攪拌晃動 10 秒鐘，之後再以去離子水清洗，接著放入蝕刻液中繼續蝕刻，如此反覆進行，直到完成所需要之蝕刻深度。蝕刻完後，進行去光阻

之步驟，將蝕刻完之晶片放入 80°C 之 KOH 稀釋溶液(KOH: DI Water = 1: 4)將光阻去除，即完成蝕刻之動作，如圖 3.4(c)所示。

### 3-2.5 鑽孔

如圖 3.4(d)所示，玻璃蝕刻完成後，需對另一玻璃進行鑽孔，作為晶片上蓋之進口槽與出口槽，使樣品藉由此一進出口可在微管道中流動。晶片鑽孔是利用鑽石鑽頭對玻璃進行研磨，過程中需配合水流流過鑽孔部位，以對研磨摩擦所產生的高溫進行冷卻，且同時把研磨時所產生的玻璃碎屑帶走。

### 3-2.6 晶片接合

晶片接合前，需將蝕刻與鑽孔之玻璃以 Piranha 溶液再次進行清洗，之後以蝕刻之玻璃作為下板，鑽孔之玻璃作為上板，進行對位接合，如圖 3.4(e)。研究中是利用熱壓接合技術進行玻璃晶片接合，將對位好的玻璃放入高溫爐中，並放上三塊氧化鋁板(長、寬、厚分別為 10 cm、10 cm、0.7 cm)對欲接合的玻璃施以一向下之壓力，當玻璃加溫至稍微熔融的狀態即可接合，如圖 3.4(f)所示。其施加之溫度參數為 5°C/min 升溫至 670°C，並於 670°C 持溫 10 分鐘，最後以 5°C/min 降至室溫。圖 3.5、3.6 分別為研究中微流體細胞分類器及比例調劑混合反應裝置之晶片實體圖，其中並通入染料以方便管道形狀之觀察。



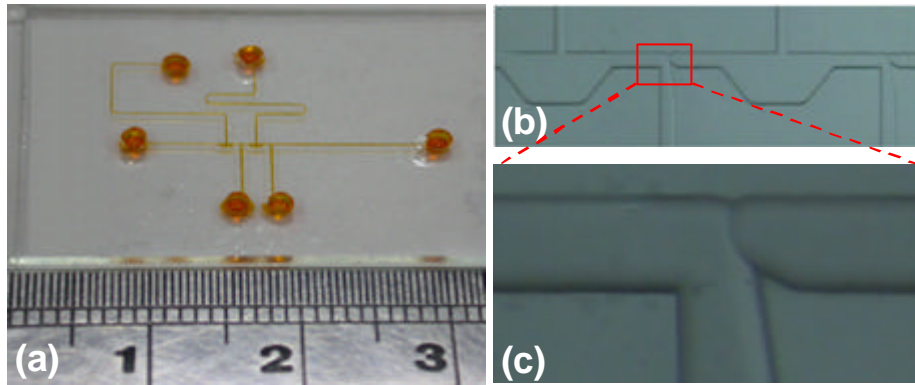


圖 3.5 微流體細胞分類晶片實體圖。

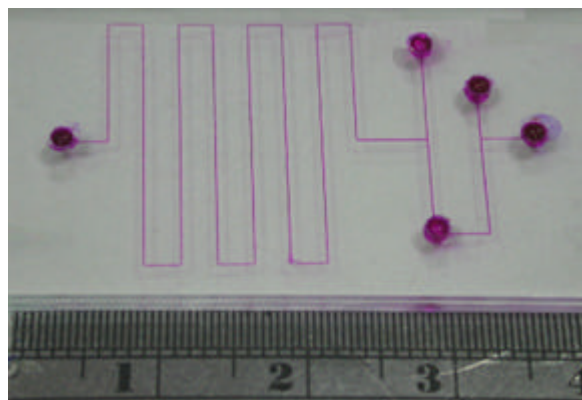


圖 3.6 比例調劑混合反應裝置之晶片實體圖。

### 3-3 材料與生物樣本之準備

#### (a) 儀器

高壓電源供應器：提供流體驅動源。(MP-3500, Major Science, Taiwan)

螢光顯微鏡：作為晶片檢測之平台。(E400, NIKON, Japan)

C.C.D.：裝置於螢光顯微鏡上，以擷取所觀察之影像。(DXC190, SONY, Japan)

電腦：用以儲存 CCD 所擷取之影像檔案。

## (b) 材料及生物樣本

**鈉玻璃：**本實驗晶片之基材以低成本的鈉玻璃為主，其成分包括有二氧化矽( $\text{SiO}_2$ )72.8%，氧化鈉( $\text{Na}_2\text{O}$ )13.7%，氧化鈣( $\text{CaO}$ )8.8%，氧化鎂( $\text{MgO}$ )4.0%等。

**塑膠小球：**研究中所使用之微粒子為 PS(Polystyrene)材質之塑膠小球 (Duke Scientific, USA)，其中包括 5、10  $\mu\text{m}$  發綠色螢光之微粒子與 20  $\mu\text{m}$  不發螢光之微粒子，而其折射率為 1.58，其密度約為 1.05  $\text{g}/\text{cm}^3$ 。

**紅血球：**紅血球(Erythrocyte)為一種無核血液細胞，其中包括使血液呈紅色之血紅蛋白，其外形呈雙凹扁平圓盤形，邊緣較厚，中間較薄。

直徑約為 7~8  $\mu\text{m}$ ，周邊部分厚 2.0  $\mu\text{m}$ ，中央為 1.0  $\mu\text{m}$ 。

**酵母菌：**酵母菌(Yeast)是一種真核生物，可用原核生物的方式培養，其基因組較小，複製時間短可做為基因分析或分子生物研究之材料。

酵母菌之形狀甚為不同，大小約比細菌大 10 倍，其直徑約為 2~5  $\mu\text{m}$ 。

## (c) 試劑

**緩衝液：**10 mM 之硼酸鈉溶液( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) (pH=9.2, Showa, Japan)，作為電滲透流之緩衝液。

**螢光染劑：**實驗中所使用之螢光染劑為  $10^{-6}$  M 之 Rhodamine B

**氫氧化鉀溶液：**使用氫氧化鉀(KOH)溶液，用以清潔晶片之微管道。

**紅血球裂解液：**用以裂解紅血球，其主要成分如表 3.1 所示。

表 3.1 紅血球之裂解液成分參數

<b>Composition of the Lysis Buffer</b>		
<i>reagent</i>	<i>final concentration</i>	<i>In 500 mL of 10 mM Sodium borate buffer</i>
NH <sub>4</sub> Cl	4.14 M	2.206 g
EDTA	0.037 M	18.5 mg
KHCO <sub>3</sub>	0.012 M	500 mg
H <sub>2</sub> O	n / a	n / a

## 3-4 實驗架設

### 3-4.1 連續粒子/細胞分類裝置

本實驗以一高壓電源供應器(MP-3500, Major Science, Taiwan)輸出直流高電壓，進行流體樣本之電滲透流驅動。並經由一連串之可變電阻作微小電壓調整，控制不同樣本入口端之電壓值，以形成不同之聚焦效果。實驗架設於一螢光顯微鏡之下(E400, NIKON, Japan)，該螢光系統利用汞燈激發螢光染料及粒子，並經過螢光濾片以取出所要之光波長，最後再以 C.C.D. (DXC190, SONY, Japan)配合影像擷取卡(DVD PKB, V-Geer, Taiwan)拍攝擷取實驗之動態影像，並儲存於個人電腦中，以進行後續分析，如圖 3.7 所示。其中，本研究以高壓電源供應器外接可變電阻(30 MO)作為流體驅動源，流體則選用與緩衝液混和稀釋濃度為  $10^{-6}$  M 之 Rhodamine B 螢光染劑，另一流體緩衝液則使

用 10 mM 之硼酸鈉溶液( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) (pH=9.2, Showa, Japan)。微小粒子採用直徑大小 5  $\mu\text{m}$ 、10  $\mu\text{m}$  及 20  $\mu\text{m}$  之 PS(Polystyrene)塑膠小球(Duke Scientific, USA)，其中除 20  $\mu\text{m}$  塑膠球外，其餘大小之塑膠球均帶有綠色螢光染料，以便於螢光觀測。

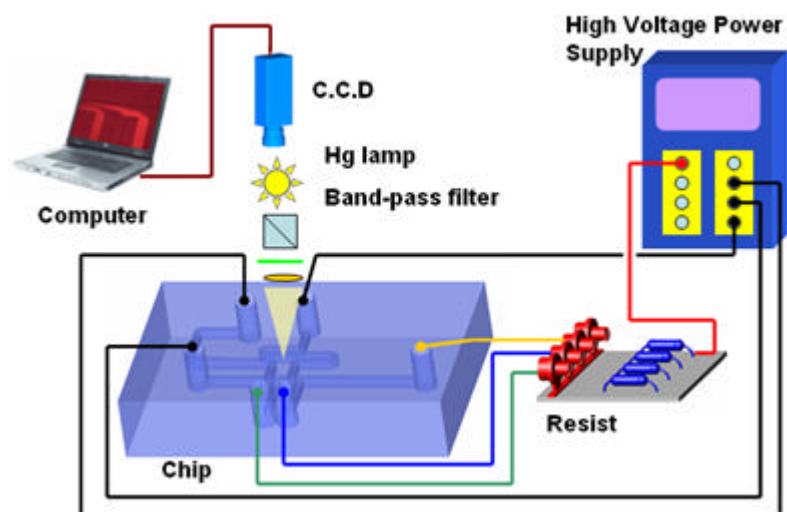


圖 3.7 粒子/細胞分類器系統架設圖。

### 3-4.2 整合比例調劑混合裝置之生化反應系統

本實驗主要是結合了比例調劑裝置與微混合器，以達到裂解紅血球之目的。其簡單之實驗系統架設如圖 3.8 所示。

#### (a) 裂解反應

在此比例調劑混合反應系統之研究上，以裂解細胞(Cell lysis)作測試，細胞樣本是使用人類血液的紅血球。研究中以電為驅動源，利用比例調劑裝置調配包含  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 、 $\text{EDTA}$ 、 $\text{KHCO}_3$  等特定比例試劑之裂

解液，其成分如表一所示。實驗並利用一繼電器，在 T 型端兩樣本槽以等值之高壓電源交替輸出，將所配製之裂解液與紅血球導入 T 形混合器中進行混合，混合器之操作參數是設定為 120 V/cm 的驅動電壓及 8 Hz 的切換頻率。最後於蛇型管道中使之有足夠時間進行裂解反應。此系統之操作平台同離子/細胞分類器一樣，是架設於一螢光顯微鏡之下，以 C.C.D.配合影像擷取卡，拍攝擷取實驗影像，並將影像資料儲存於個人電腦中。

#### (b) 比例調劑濃度量測

研究中以螢光染料當作樣品試劑，由不同之螢光強度並利用色階分析樣本配製的濃度，為得較佳之螢光辨識效果，將實驗比例調劑後之結果拍攝為影像圖檔，利用數位影像分析軟體(Scion Image beta 4.02, <http://www.scioncorp.com>)進行色度分析，即將所擷取的彩色影像轉為相對應的灰階圖片，進行色階差異比較。將樣品槽填滿螢光染料時之灰階值正規化為 1，完全無染料為 0。取出藉由比例調劑裝置所配製之溶液，並將其灰階值正規化，記錄其於 1 與 0 中所座落的位置，與填滿染料及無染料時作比較，藉此判斷所配製樣本的比例或濃度。

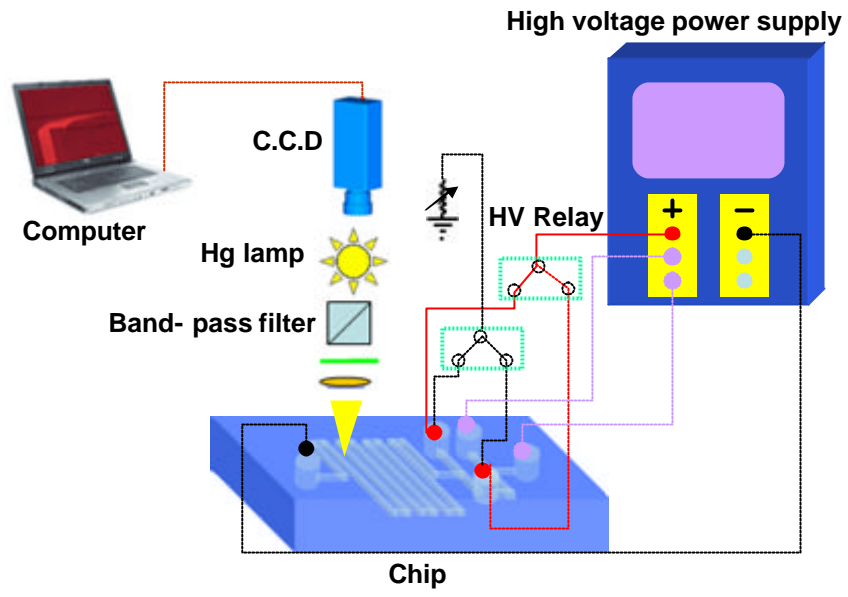


圖 3.8 比例調劑混合裝置之系統架設圖。

## 第四章 結果與討論

### 4-1 多階邊鞘流連續粒子/細胞分類裝置

此為研究初步所發展之一種粒子/細胞分類裝置，利用多個側管流體產生多階邊鞘流薄層，以進行不同大小粒子/細胞之分類，如圖 3.1。此一方法極其簡單，不但避免複雜之微管道結構製作，也不需昂貴、操作繁雜之儀器，與眾多粒子分類方法相比，整體系統係以最單純的方式達此細胞分類之目的。

#### 4-1.1 多階邊鞘流聚焦壓縮情形

如圖 4.1 所示，其為本連續細胞分類晶片中，多階邊鞘流聚焦壓縮實驗及模擬情形。圖 4.1(a)為利用電驅動三個側管流體所創造出多階不同寬度流層之實驗影像，其中所壓縮之流層分別為寬度  $7\ \mu\text{m}$ 、 $13\ \mu\text{m}$ 、 $25\ \mu\text{m}$ ，以及下端一寬度較大之邊鞘流，而圖 4.1(b)為倍率放大之影像，圖中紅色部分為濃度  $10^{-6}\ \text{M}$  之 Rhodamine B 螢光染料，黑色部分為  $10\ \text{mM}$  之硼酸鈉緩衝溶液。該結果顯示，藉由不同的驅動電壓，本晶片可以成功的壓縮出多個不同寬度之聚焦薄層，以進行粒子之分類。本實驗乃利用可變電阻將高壓電源供應器所提供的一組直流高壓電，以串連分壓之方式，轉變成四組不同大小的直流高壓，分別驅動主管道及三個側管道的溶液，由於各溶液入口端之驅動電壓不同，因

此流速也不相同，主管道的樣本流將被流速較快的側管溶液擠壓而寬度變小。在此一例中，所給電壓之參數從主管到三個側管分別為 200 V/cm、200 V/cm、280 V/cm、360 V/cm。

圖4.1(c)、(d)為商用軟體CFDRC<sup>®</sup>模擬聚焦的流場圖。利用計算流體力學的數學模式預測在不同電壓施加方式所獲得之狀況，並建立管道中流場的數學模型。計算前，先針對有可能發生的流體流動參數及條件作分析，可縮短處理計算時間，並且建立實驗數學模型之最佳化。本實驗模擬時，為獲得準確之數值模擬結果，在網格尺寸設計上，設定邊長每3  $\mu\text{m}$ 設一格點。因此，在完成建立數值模擬模型後，所使用之網格數目約十萬個，而圖形上有四個入口端及四個出口端。圖4.1(c)、(d)所給定之電壓模擬條件如下：主管道入口及三個側管入口分別設定200 V/cm、200 V/cm、280 V/cm、360 V/cm等比例調整，流體密度： $998 \text{ kg/m}^3$ ，流體黏度為 $0.001 \text{ kg/m}\cdot\text{s}$ 。此模擬聚焦圖片，發現與實驗相當吻合，利用數值模擬結果設定實驗參數，可較快獲得最佳之電壓施加模式。



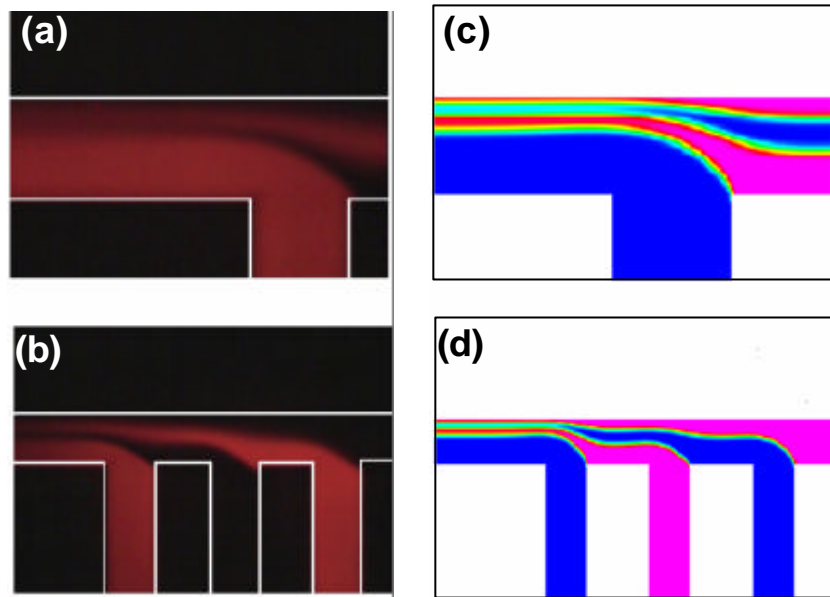


圖4.1 流道電滲透流聚焦實驗與模擬比較(a)多流道聚焦，拍攝於主管與三側管交界處，聚焦寬度分別約為7、13、25  $\mu\text{m}$ ，(b)實驗局部放大圖，(c)、(d)為利用CFDRC<sup>®</sup>軟體進行多層流體聚焦的模擬圖，該計算之流層壓縮寬度與實驗結果吻合。

圖 4.2 顯示以一個主管道及一個側管作邊鞘流聚焦實驗為例，在不同施加電壓之情況下，被壓縮的流層寬度與主/側管道施加電壓比例之關係。在此例中，管道之寬度皆為 120  $\mu\text{m}$ ，圖中方形符號表示主管道施加電場 100 V/cm，三角形符號則表示主管道施加電場 200 V/cm，側管道的電壓則利用可變電阻將直流高壓電作調整，調整幅度從 200 至 600 V/cm。結果顯示利用不同之施加電壓比，可以精確的控制被壓縮之流層寬度。此外，由於電滲透流之流速與管道內之電場強度值成

正比。因此，不同的施加電壓可以創造不同之樣本流速，以提供不同之分類速度之應用。

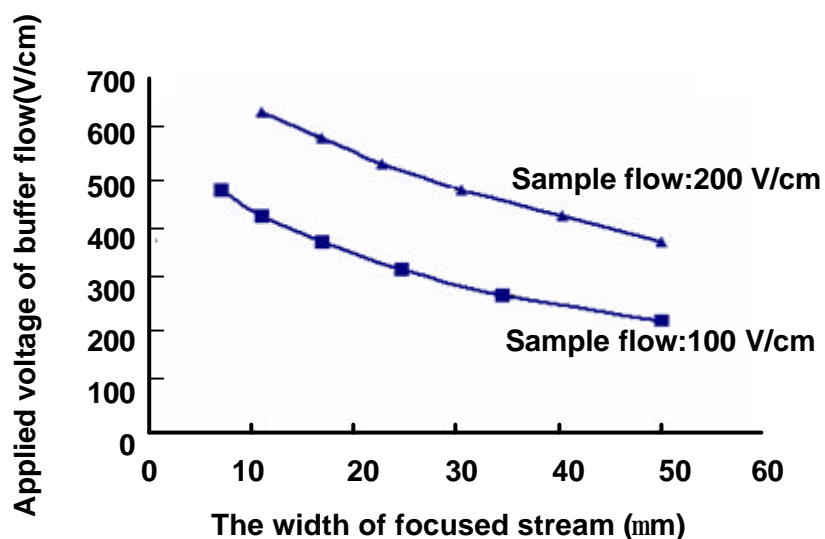


圖 4.2 聚焦寬度與主/側管施加電壓關係圖。

#### 4-1.2 粒子分類結果

圖 4.3 顯示直徑為 20  $\mu\text{m}$  的粒子在壓縮之流體中，被擠壓而彈出之連續影像。在側管注入紅色螢光染料與硼酸鈉緩衝液，使之產生顏色漸層，並以汞燈進行螢光激發，使各流層之寬度更容易分辨。圖中可以看出當粒子從樣本流管道流至被邊鞘流壓縮之位置時，因流層的寬度較粒子直徑小，因此粒子被擠壓出來，而進入另一側較寬之流層中，其中最小聚焦的流層寬度約為 10  $\mu\text{m}$ ，由實驗可以明顯看出粒子偏離原本流線所行徑路線，也證實本研究所提出之理論，粒子無法進入寬度小於粒子直徑之聚焦流層，因此可以利用此一現象來進行粒子/細胞分類等相關應用。

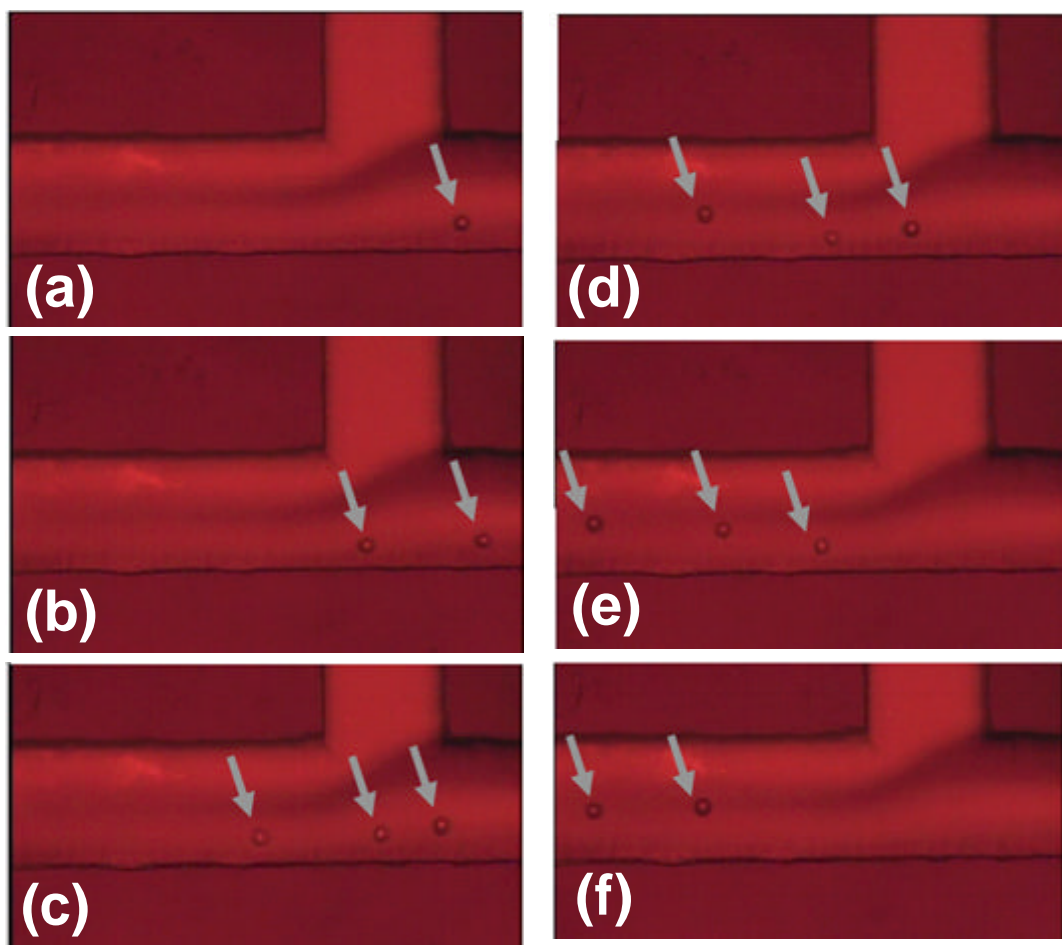


圖 4.3 直徑為  $20\ \mu\text{m}$  的粒子由右而左被壓縮之流體擠出之連續影像。

利用此一現象，本研究更進一步討論用多層不同寬度之薄層分流，由右而左連續分離不同大小的粒子。其結果如圖 4.4 所示，圖中粒子為直徑  $5\ \mu\text{m}$  綠色螢光粒子及  $20\ \mu\text{m}$  無螢光粒子，流體聚焦寬度約為  $10\ \mu\text{m}$ ，從圖可以清楚看到直徑  $5\ \mu\text{m}$  的粒子通過聚焦區域時，因為粒子直徑小於流體聚焦寬度，所以直徑  $5\ \mu\text{m}$  的粒子於通過壓縮流層區域後，一直處於靠近管壁的位置，而直徑  $20\ \mu\text{m}$  的粒子，因為直徑大於流體聚焦的寬度，所以當粒子通過流體聚焦區域時就被擠壓出來，

從圖中可看見直徑  $5\ \mu\text{m}$  的粒子在上端，直徑  $20\ \mu\text{m}$  的粒子在下緣，藉此原理而被分開，而達到連續分離的效果。由於本圖之放大倍率較低，所以目視分離現象並不十分明顯，但在較大之放大倍率下之經量測結果發現，兩粒子於不同流層流動之距離可達  $20\ \mu\text{m}$  以上。

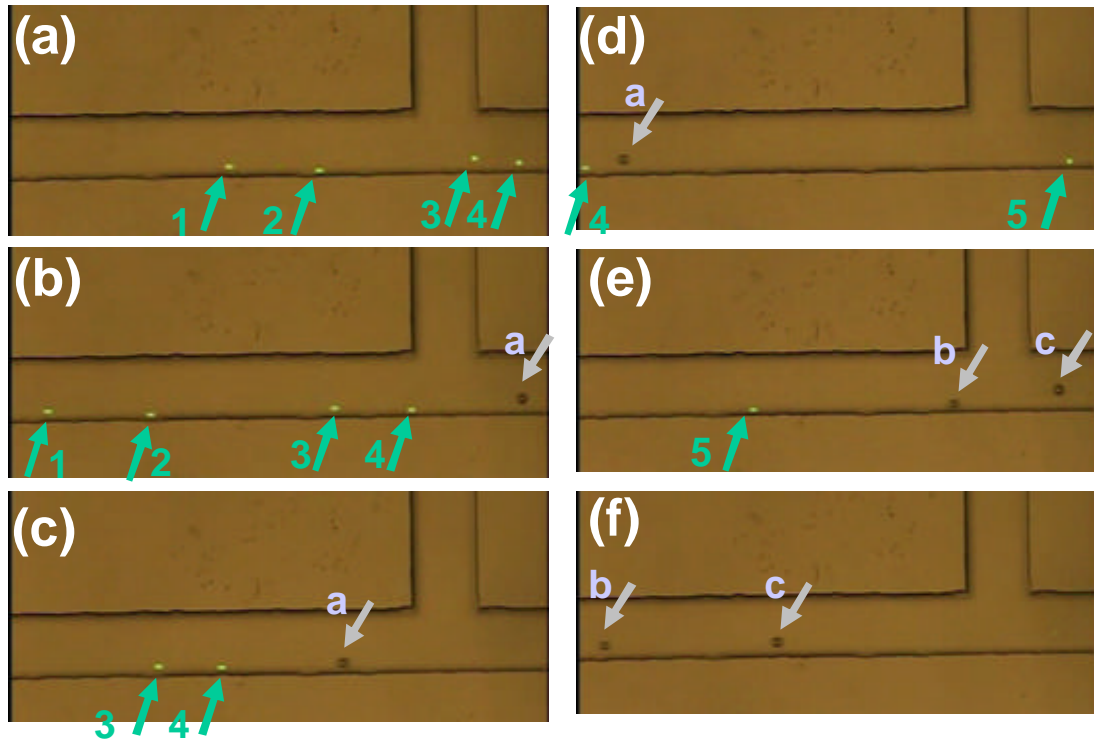


圖 4.4 粒子分離圖。圖中綠色箭頭所指的為直徑  $5\ \mu\text{m}$  的綠色螢光粒子，白色箭頭所指的為直徑  $20\ \mu\text{m}$  的無螢光粒子。

## 4-2 單階串接式連續粒子/細胞分類裝置

雖然前述粒子/細胞分類裝置，提供一製程簡單、系統架設單純之粒子分類方法，但要同時精準控制多個邊鞘流薄層寬度實屬不易，且粒子在被擠壓而躍遷之過程，有可能因慣性等因素而無法精確進入粒

子可容身之較大寬度流層，因而降低粒子分離效能。因此，研究中又進一步改良並發展新型串接式連續粒子/細胞分類裝置，如圖 3.2 所示，利用原有之架構並對管道之設計作改善。其主要是串接多個粒子/細胞分類裝置，每一個分類裝置由一階之邊鞘流所形成，不僅包含前述粒子/細胞分類裝置之優點，更簡化實驗操作，即進行粒子分離過程中，只需各別地準確控制一個邊鞘流寬度，因此可大幅改善粒子分離效率。研究中以串接兩個連續粒子/細胞分類裝置為例，分類三種不同大小微粒子作為此一分類器之說明。

#### 4-2.1 樣本流聚焦壓縮情形

圖 4.5(a)、(b)顯示於本連續細胞分類晶片中，利用邊鞘流創造出較小寬度流層之實驗影像。該結果顯示本晶片可以成功的壓縮出寬度小於  $10\ \mu\text{m}$  之流層，以及一寬度較大之後端邊鞘流。該實驗利用可變電阻將高壓電源供應器所提供的一組直流高壓電，以串連分壓之方式，轉變成 2 組不同大小的直流高壓，分別驅動主管道及側管道的溶液，圖中可清楚地看見，螢光染料被邊鞘流所擠壓之情形，藉由不同的驅動電壓，可產生各種不同寬度之流層，以供粒子分類之應用。除實驗外，研究亦以數值模擬預測流場行為，設定在主管與側管所施加之電場強度分別為  $100\ \text{V/cm}$ 、 $200\ \text{V/cm}$  時，圖 4.5(c)為微管道流場分佈情形圖，4.5(d)為微管道正規化電場分佈情形，圖 4.5(e)為微管道流

速分佈情形。

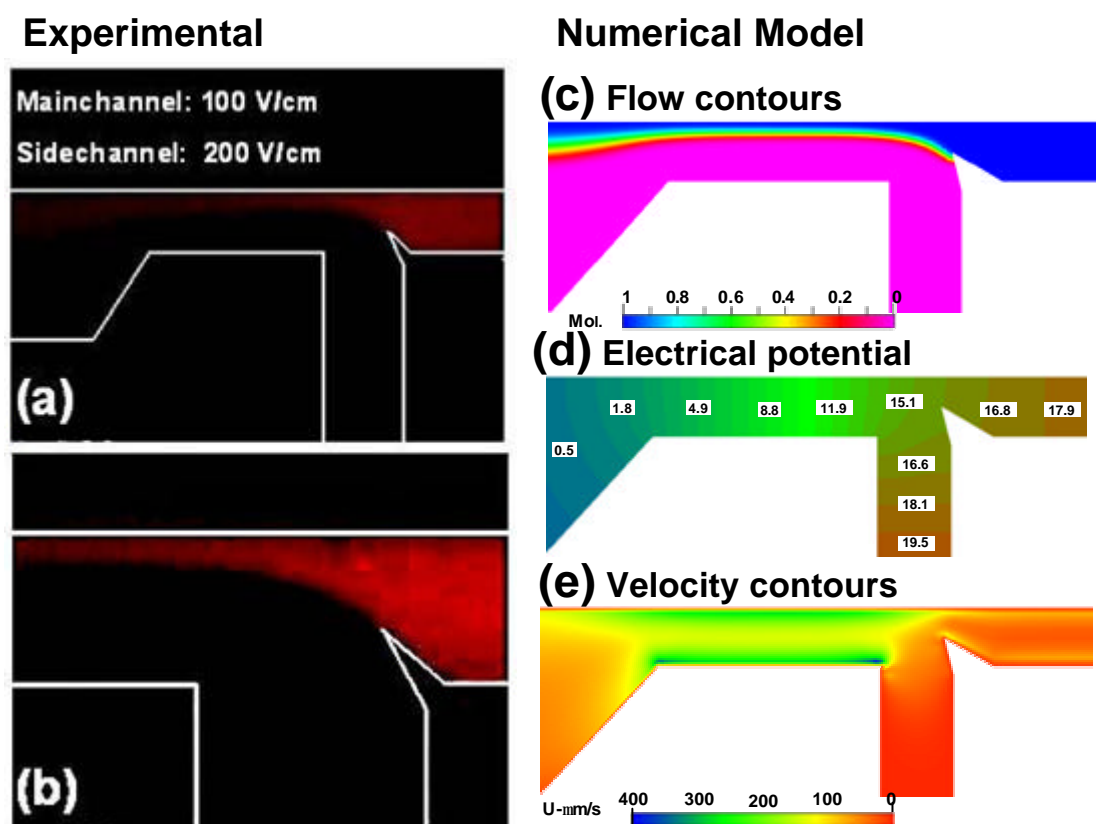


圖4.5 微流道電滲透流聚焦實驗與模擬之比較(a)流體聚焦影像。(b)實驗局部放大圖。(c)、(d)、(e)為利用商用軟體CFDRC<sup>®</sup>進行多層流體聚焦的模擬圖。

為了深入探究於聚焦壓縮流體內，粒子擠壓躍遷行為的受力情形，研究中利用模擬及數學模式推導進行分析，討論流場狀況並粒子於微管道內可能之受力情形，其中數學模式可以參考章節 2-5 粒子/細胞於壓縮流體之擠壓躍遷效應數學推導部分。圖 4.6(a)顯示主管與側管於施加電場分別為 100 與 200 V/cm 之流場模擬。圖 4.6(b)、(c)、(d)

之 X 軸座標為對應圖 4.6(a)相同距離從 0~800  $\mu\text{m}$  的範圍，其分別表示粒子在管道中流動之速度、加速度與受力情形，圖 4.6(c)之力為粒子在管道中之向下分力。由圖可知，模擬分析結果確實與實驗相符，粒子在流體聚焦部分將受到向下之分力，而促使粒子擠壓彈跳偏離原本流線，因此藉由模擬與數學模式的推導，將有利於推估並取得較佳之實驗參數，可提升粒子分類實驗之效能。

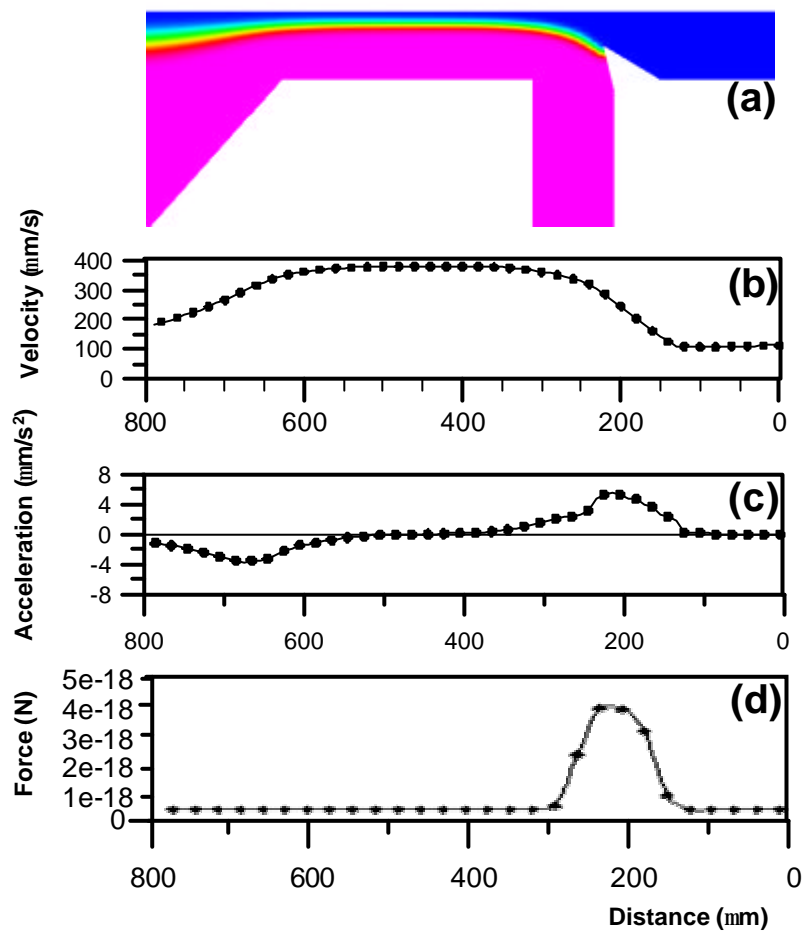


圖 4.6 利用模擬與數學推導之分析結果，(a)流場分佈，(b)速度場分佈，(c)加速度場分佈，(d)受力分佈。

管道設計部分於主管與側管間設置一凸起之微結構以輔助聚焦，圖 4.7 為模擬有無凸起微結構之比較。由圖可知，在相同的參數設定及驅動電壓情況下，有凸起之微結構能得到更小的聚焦寬度，將有利於實驗之進行。此一模擬之施加電場參數，主管與側管分別為 100 與 160 V/cm。

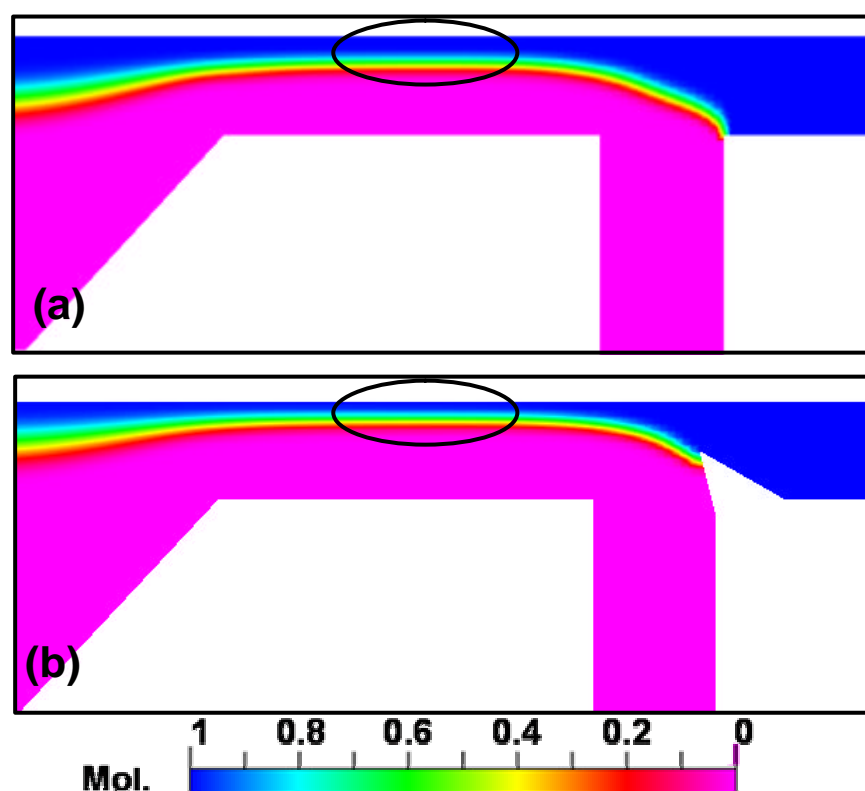


圖 4.7 在主管與側管間有無輔助聚焦微結構之模擬比較圖。

#### 4-2.2 粒子分類結果

以串連兩組粒子分類裝置為例，其包含兩個階段之分離與兩個階段之收集，將可分類三種不同大小之微粒子。圖 4.8 為實驗所拍攝之連續影像，顯示第一階段分離，其中紅色箭頭所指的為直徑 5  $\mu\text{m}$  綠色



螢光粒子，藍色箭頭所指的為  $10\ \mu\text{m}$  綠色螢光粒子，黑色箭頭所指的為  $20\ \mu\text{m}$  無螢光粒子。從圖中可清楚看見直徑  $5\ \mu\text{m}$  的粒子通過聚焦區域時，因為粒子直徑小於流體聚焦寬度，所以直徑  $5\ \mu\text{m}$  的粒子一直處於靠近管壁的位置，而直徑  $10$ 、 $20\ \mu\text{m}$  的粒子，因為直徑大於流體聚焦的寬度，所以當粒子通過流體聚焦區域時就被擠壓而躍遷出來，因此直徑  $5\ \mu\text{m}$  的粒子在上端，直徑  $10$ 、 $20\ \mu\text{m}$  的粒子在下緣，藉此原理被分開，而達到連續分離的效果。

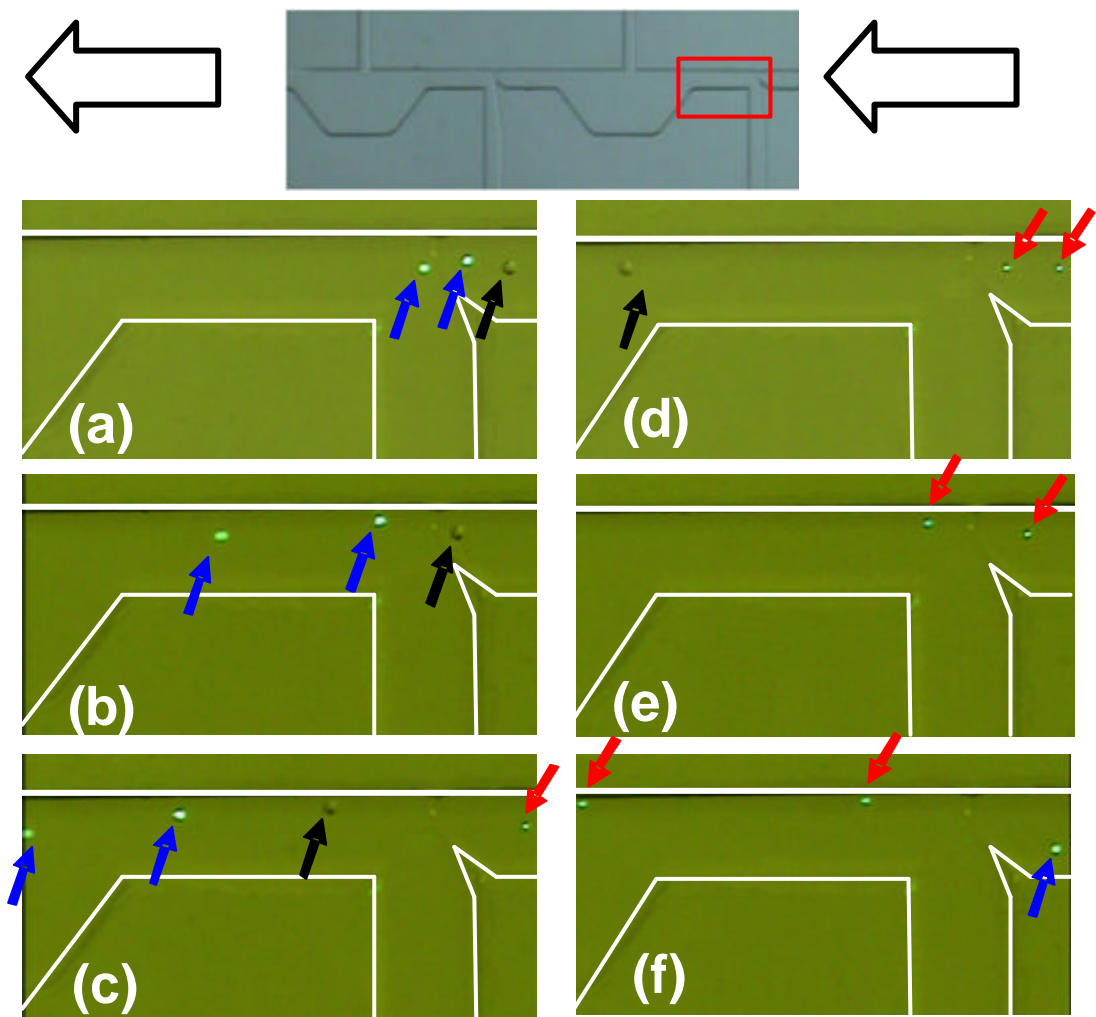


圖 4.8 粒子第一次分離之連續實驗影像。

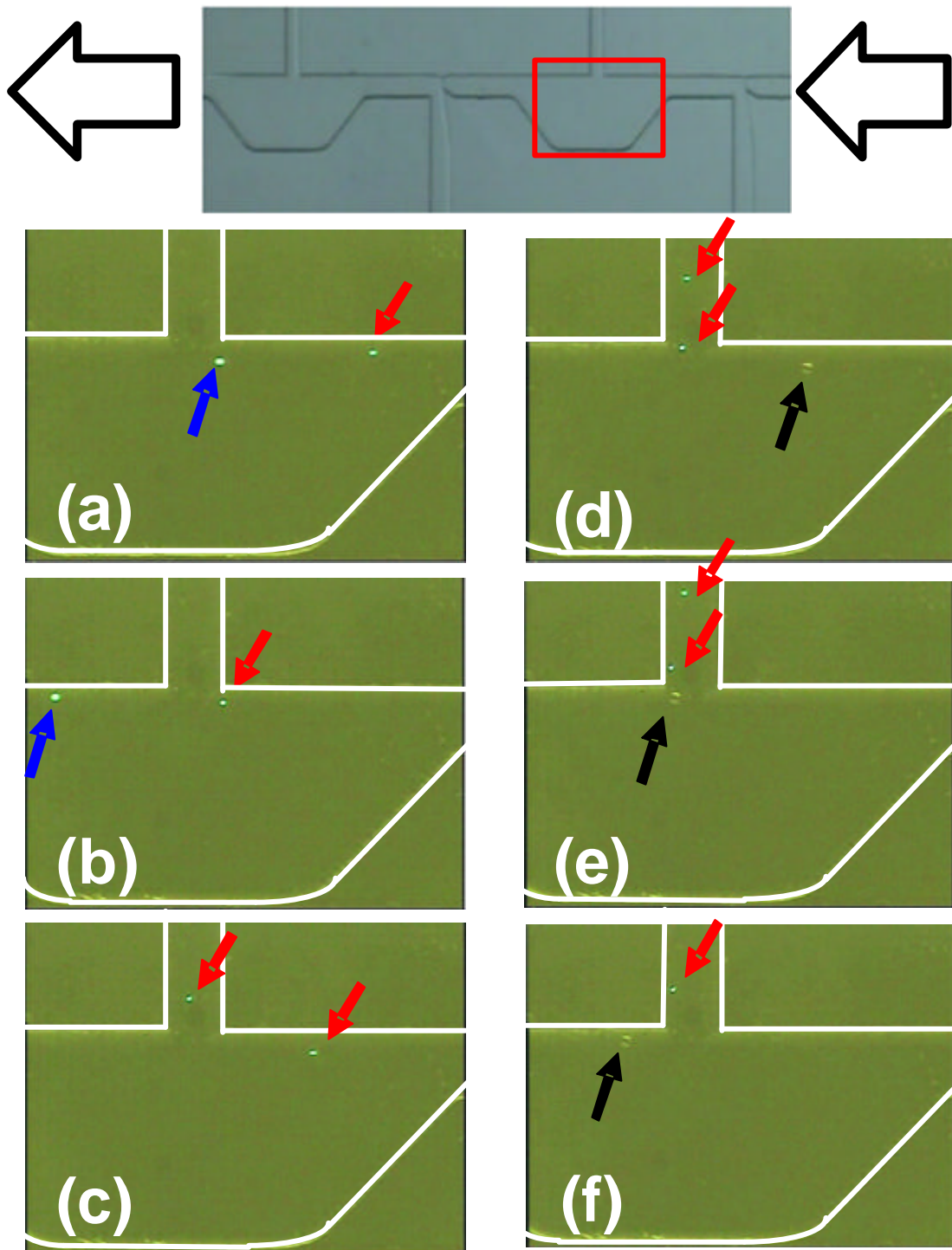


圖 4.9 粒子第一次收集之連續實驗影像。

圖 4.9 為第一階段粒子收集之實驗連續影像。由於粒子分離後，其間距較小不利於收集，分類裝置中設有一膨脹區域，當已分離之粒

子進入膨脹區域時，將隨著所對應膨脹的流線而增加其分離的間距，進而作收集。如圖所示，藍色與黑色箭頭所指的 10 與 20  $\mu\text{m}$  粒子在第一階段與紅色箭頭所指的 5  $\mu\text{m}$  粒子分離後進入膨脹區域，並隨著擴散的流線流至離上壁更遠的位置，而後通過側邊收集管道並流至後端，而 5  $\mu\text{m}$  粒子則一直沿著管壁上緣並流至側端收集管而被收集。

圖 4.10 為粒子第二階段分離之連續實驗影像，第一次分離後之 10、20  $\mu\text{m}$  粒子流至後端並進入第二個分離裝置，使聚焦流層寬度介於 10  $\mu\text{m}$  與 20  $\mu\text{m}$  之間，則 10  $\mu\text{m}$  粒子將流進聚焦薄層，處於管壁上緣，而 20  $\mu\text{m}$  粒子流進聚焦薄層時，將被擠壓而跳出至另一側之較寬流層，並與 10  $\mu\text{m}$  粒子分離。

圖 4.11 為粒子第二次收集之連續實驗影像。10  $\mu\text{m}$  粒子進入膨脹區域時，將沿著上壁流至側端收集管被收集，20  $\mu\text{m}$  粒子進入膨脹區域時，將隨著擴散流線而流至後端。由實驗結果顯示，藉由此串接式連續粒子/細胞分類裝置，將可成功的將不同大小之粒子/細胞作分類。

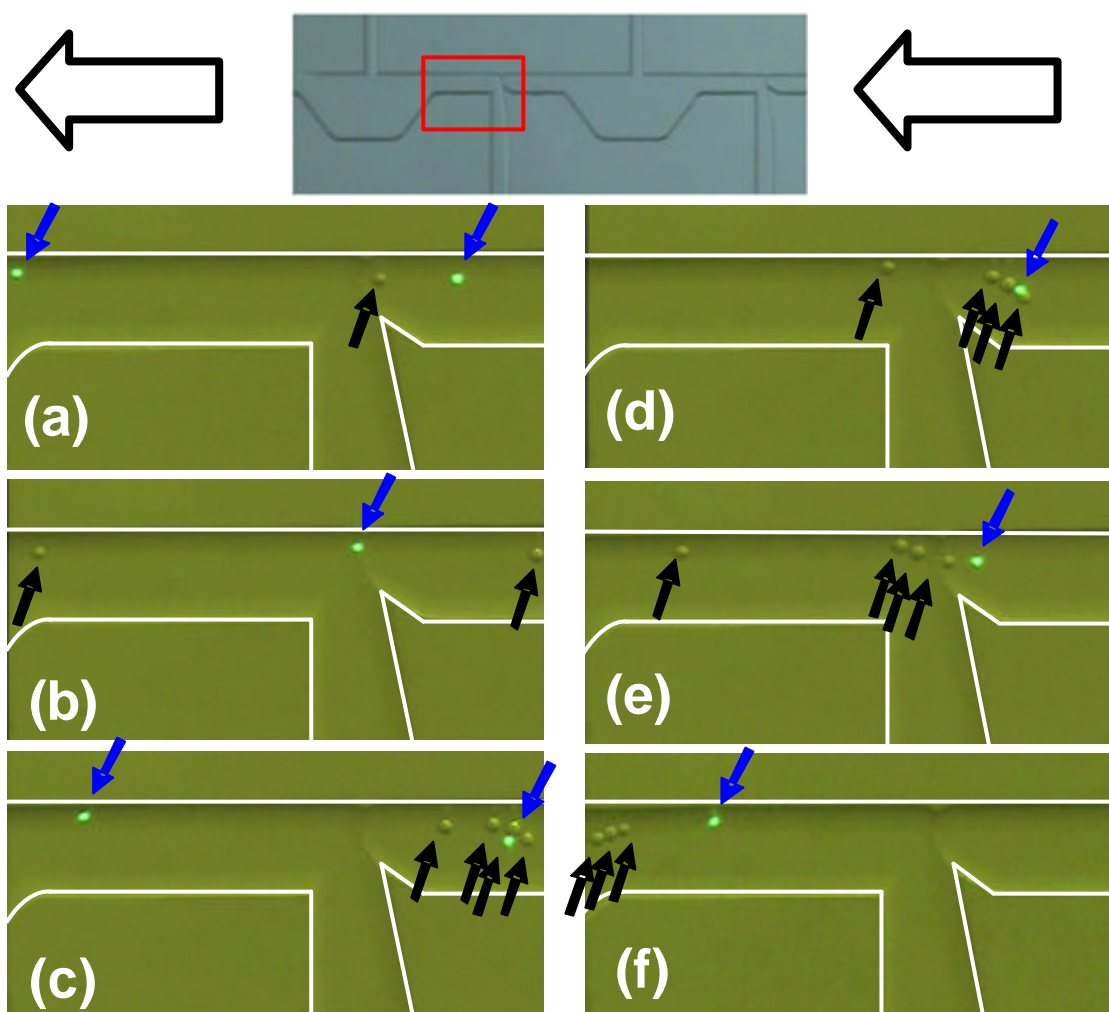


圖 4.10 粒子第二次分離之連續實驗影像。

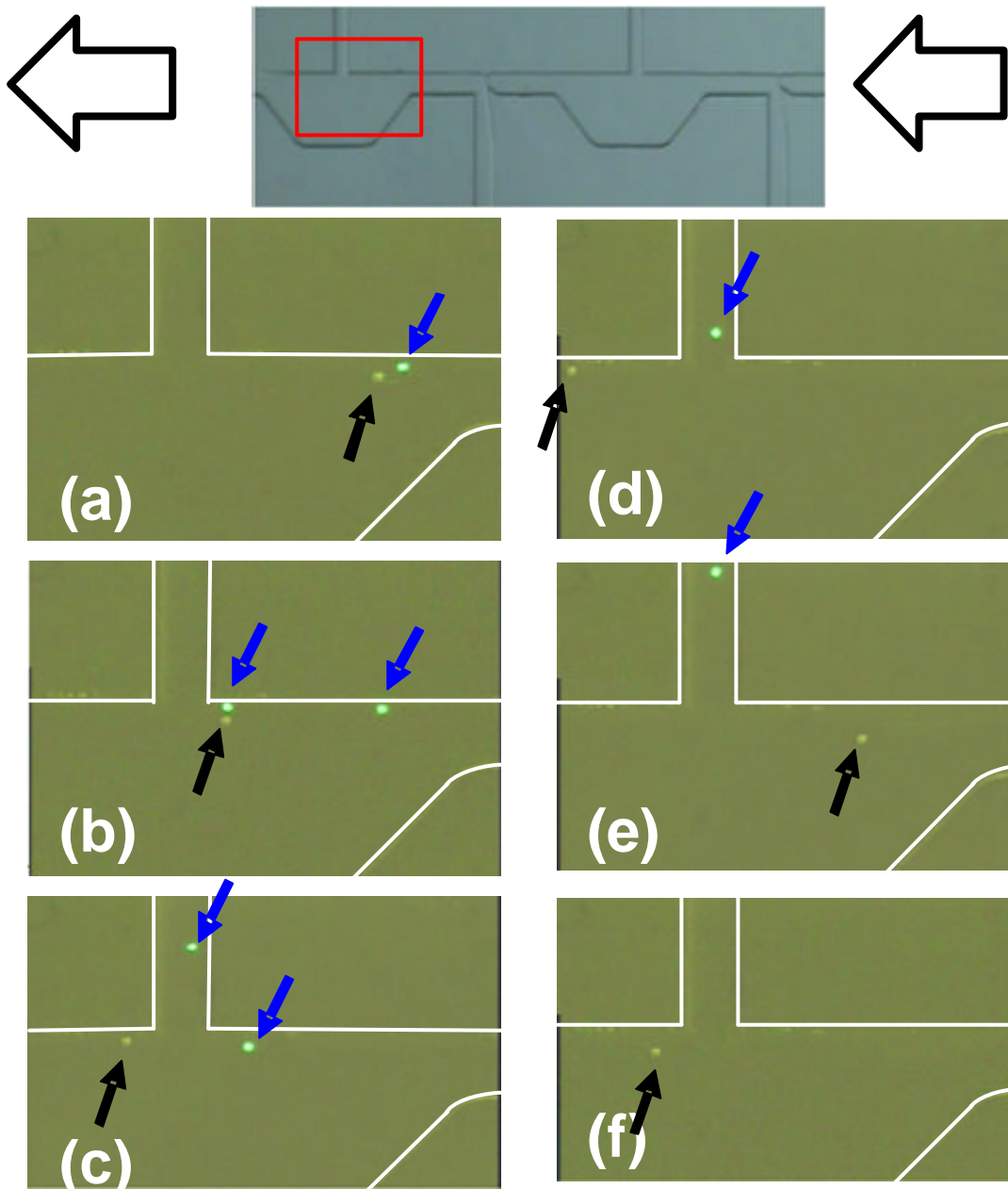


圖 4.11 粒子第二次收集之連續實驗影像。

### 4-2.3 分離效能評估

研究中亦實際以生物樣本酵母菌作測試，如圖 4.12 所示。圖 4.13 為分離 3~5  $\mu\text{m}$  酵母菌與 20  $\mu\text{m}$  粒子之連續實驗影像。實驗是以混有酵

母菌及塑膠小球之溶液當作混合液，將其置入本分類裝置中，如圖顯示，其可成功並順利分離酵母菌與微粒子，酵母菌將流動至側端收集管道並被收集。結果顯示，藉由此一簡單之分類裝置，其可用來分類或篩選各種不同大小之生物樣本，使其進行後續之細胞工程等應用。

而在細胞技術中，細胞的分類效能非常重要，若在收集槽中除了有欲分類的細胞外，又夾雜了其它不同的細胞，將對後續的實驗或檢測(如細胞培養、分離純化、DNA 萃取)帶來誤差，無法作精確的分析。在眾多連續式細胞分類裝置中，以微機電技術作基礎，微型化的細胞分類裝置中，粒子的收集率(% Yield)大部分都可達到 55%以上;而已商業化且技術相當成熟之大型流式細胞儀，其粒子的收集率在流率每秒 300 個以上的細胞通過下，收集率相當低，約為 25%以下，然而若在流率每秒 300 個以下的細胞通過下，其收集率可超過 55%，甚至可達 99%。唯其大部分細胞分類器獲得率(% Recovery)並不高[45]。

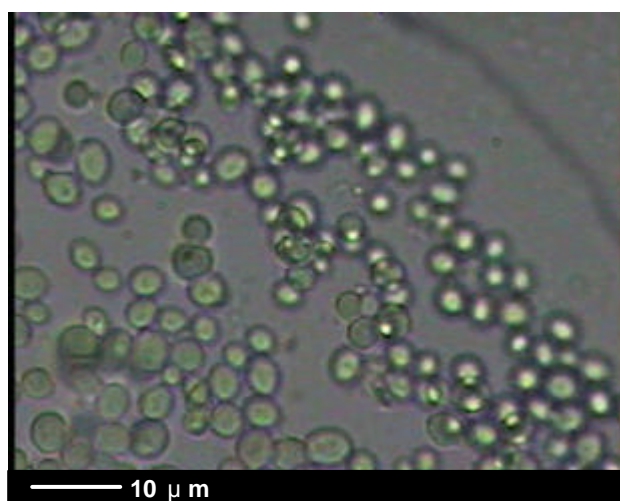


圖 4.12 酵母菌於顯微鏡底下之影像圖形。



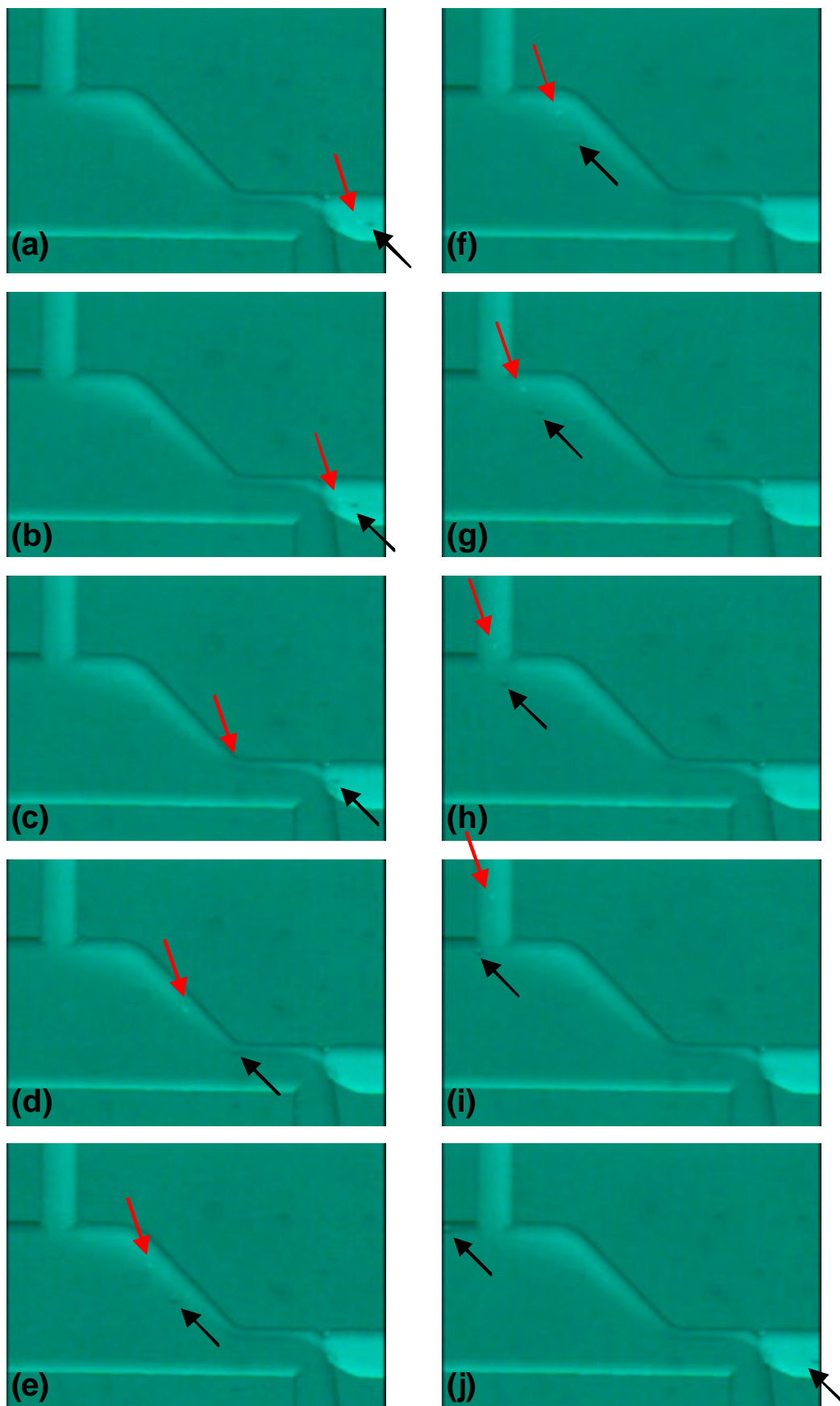


圖 4.13 酵母菌與微粒子由右而左之連續實驗分類影響。

研究初步尚未是最佳化之設計，在粒子/細胞分離或收集的過程，仍是會有錯誤發生，為了改善設計，更進一步作有效粒子分類，研究亦對所發展之分類裝置進行效能的評估。研究之評估方法是採用美國 Beckman 公司所提出，用於商用流式細胞儀之專業評估公式作為依據 [46]。表 4.1 顯示實驗時，針對粒子/細胞分類所做的紀錄，其為每分鐘通過約 40 個酵母菌及 15 個塑膠小球之速度下，在收集管連續 4 分鐘對樣本所作之計數，以進行效能之評估。研究主要是針對獲得率 (% Recovery) 及收集率 (% Yield) 作評估計算，其計算公式如表 4.1 下所示，獲得率表示收集槽 A 樣本數除以入口槽 A 樣本數之百分比，而收集效能表示收集槽 A 樣本數除以收集槽所有樣本數之百分比。圖 4.14 為酵母菌與塑膠小球之效能評估圖，酵母菌之獲得率與收集率分別為 87.7% 與 94.1%，塑膠小球之獲得率與收集率分別為 85.7% 及 72.7 %。此一結果顯示，本研究之粒子分類裝置及方法可以有不錯的分類效率，不僅收集率高獲得率也不低。



表 4.1 粒子實驗收集記錄表

		Diameter ( $\mu$ m)	Experimental results of cell counting (4 min)		
			Inlet	Reservoir 1	Reservoir 2
Sample mixture	Yeast	3~5	72% (146)	93.2% (128)	27.3% (18)
	PS bead	20	28% (56)	6.8%(8)	72.7%(48)

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{Number of sample A in reservoir}}{\text{Number of sample A in inlet}} \times \% \text{ Purity}$$

$$\% \text{ Yield} = \frac{\text{Number of sample A in reservoir}}{\text{All of sample in reservoir}} \times \% \text{ Purity}$$

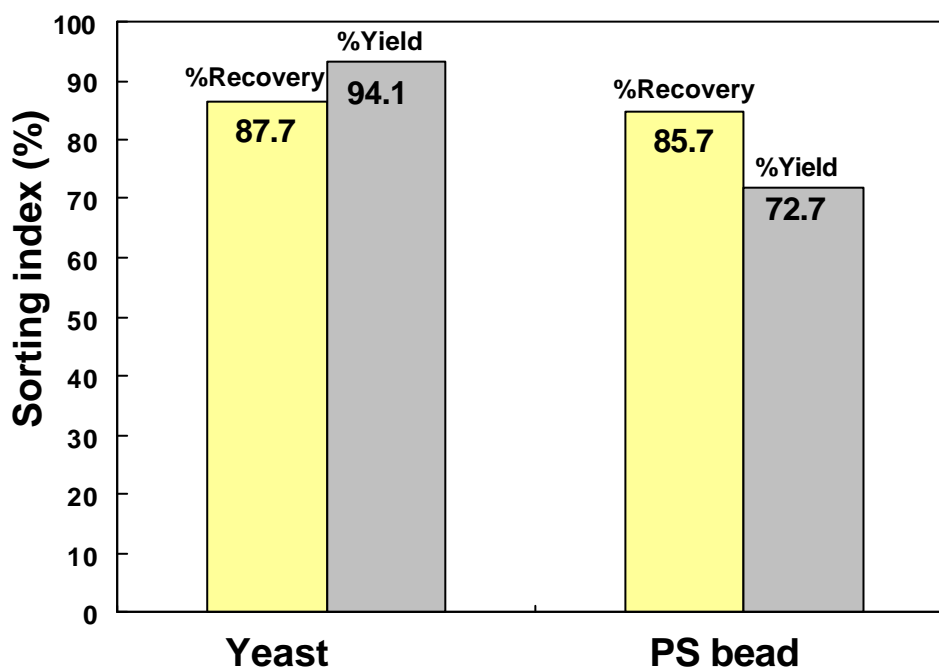


圖 4.14 酵母菌與塑膠小球之效率評估圖。

### 4-3 整合比例調劑混合裝置於細胞裂解反應之應用

在生化實驗中，常常需要將樣品原料與試劑放在一起，以進行處理或反應。因此，本研究發展一晶片式微流體比例調劑裝置整合微混合器，以應用於生化等相關反應。其中比例調劑裝置將可進行各種生化實驗之前處理，作試劑合成、樣本稀釋、藥物調配等，並且配合微混合器與樣本材料均於混合，以進行反應。研究中亦以紅血球裂解反應作為說明。

#### 4-3.1 試劑濃度比例配製

由式(2-7)可得知，邊鞘流壓縮之寬度與所設計管道長度及所施加電場強度有關，假設管道內電驅動之流體速度場呈均勻分佈，則流體之流量與流層寬度成正比。如圖 1.19 所示，其可藉由兩種操作模式達到不同試劑比例的配製：(1) 長度控制模式，即固定出口管道與樣品 B 入口管道長度，改變樣品 A 入口管道長度。(2) 電場控制模式，即固定各管道長度，改變樣本 A 入口槽與樣本 B 入口槽之施加電壓。用以改變管道內電場分佈，以調整樣本 A、B 之流量比例。

藉由此一簡單之比例調劑裝置，其可快速配製出不同比例之試劑，且其晶片式之設計將適於整合在各種功能性晶片之前端，進行前處理等動作。

圖 4.16 顯示在晶片入口端相同電壓驅動之情況下，管道長度尺寸與比例調劑濃度之關係。由理論數值可推知，固定樣品 B 入口管道長度為 3 mm，出口管道長度為 3 mm，當樣品 A 入口管道長度為 3、6、11、21、51 mm 時，可得樣品 A 濃度 50、40、30、20、10% 之配製，相反將樣品 A 與樣品 B 進樣入口對調，將可得到 60、70、80、90% 之濃度配製，由此將藉由管道尺寸的改變，以達到樣本稀釋或試劑配製。

圖 4.16 中曲線表示數值方法推算出之理論分佈，三角形符號則表示實驗之實際比例調劑濃度結果。結果顯示利用不同管道長度設計，將產生不同電場強度以調整試劑流量，可以達到不同比例試劑的配製，以提供不同功能性晶片前置調劑處理之整合。

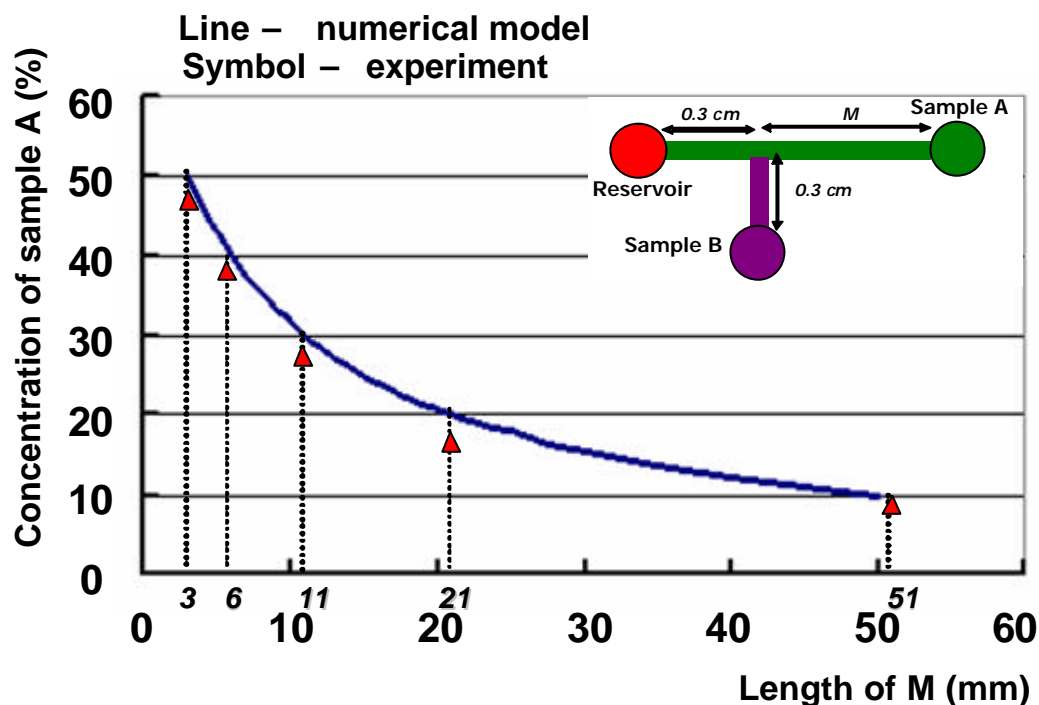


圖 4.15 試劑調劑比例與管道長度關係圖。結果顯示，在不同管道長度下可以快速調配不同濃度之比例調劑。

### 4-3.2 細胞裂解反應之結果

圖 4.17 為裂解紅血球之圖形影像，將紅血球藉由微混合器與已配製好的裂解液混合後，傳送至蛇型管狀反應區域，以進行紅血球的裂解，其中紅血球是以大約  $200\ \mu\text{m/s}$  之流速下進行傳輸。圖 4.17(a) (b) (c)、(d)為紅血球於蛇型管反應區不同位置時之裂解情形，於實驗進行 10 分鐘後，在顯微鏡底下觀測，T 型混合器交界處後端 10 cm 處並未發現任何單一之紅血球，其近乎完全裂解。圖 4.17(e)為紅血球於入口槽進樣之影像，圖 4.17(f)為紅血球與裂解液在微混合器之混合圖形。

藉由此一微流體晶片之設計可成功將紅血球裂解，其中所整合的比例調劑裝置也成功配製所需之裂解液，由此也驗證研究中所提出之比例調劑裝置將適於整合，與其它功能性晶片進行生化實驗之操作。

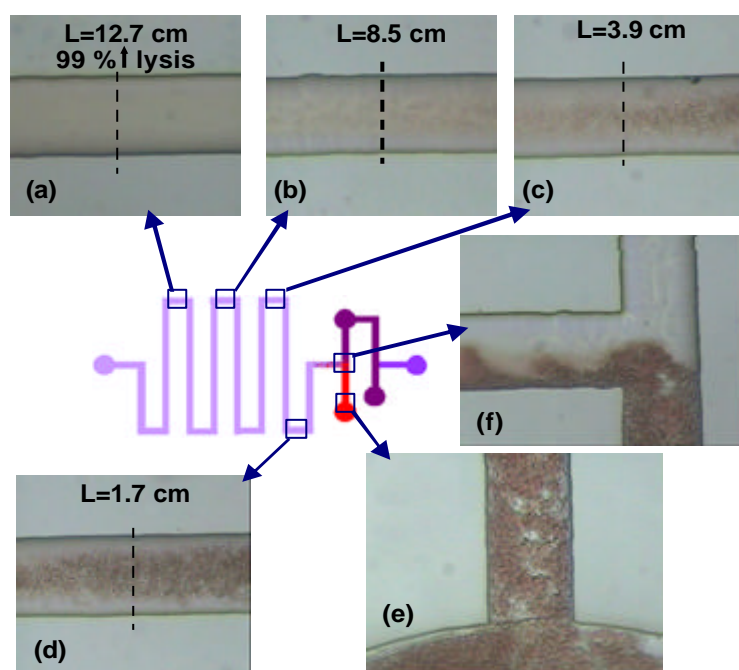


圖 4.17 紅血球裂解影像。

# 第五章 結論與未來展望

## 5-1 結論

本研究利用微機電製程與邊鞘流之應用，成功的實現了所提出之一種粒子/細胞分類方法。此外，也以簡單的邊鞘流理論，說明了可作為前處理之比例調劑裝置，更實際將其整合微混合器，作為細胞裂解反應之應用。以下將對所研究之成果作一整理。

### 電驅動式邊鞘流粒子/細胞分類裝置

- (1) 本研究利用粒子在邊鞘流中之擠壓躍遷現象 (Squeeze-Jumping effect) ，提出了一種粒子/細胞分類方法。
- (2) 利用微機電製程，成功的設計並製作出粒子/細胞分類晶片，包括一多階邊鞘流連續粒子分類裝置，及其改良後的單階串接式連續粒子/細胞分類裝置。
- (3) 研究中利用簡單的流體力學原理，推導了流體聚焦壓縮寬度，並粒子於流體中受力之數學模式，用以說明粒子/細胞於壓縮流體之擠壓躍遷現象。
- (4) 本粒子/細胞分類裝置，僅使用一組高壓電源，並一連串高阻抗值之可變電阻，藉由串連分壓的方式，驅動所有樣本試劑與側管邊鞘流體，並精密微調控制聚焦壓縮寬度，以達到粒子分類之目的。

- (5)以商用軟體 CFDRC<sup>®</sup>模擬流體聚焦壓縮時之流場、電場、速度場，用以預測所設計晶片之可行性，與實驗結果作對照，並印證模擬與實驗結果相符。
- (6)實際以實驗說明本粒子/細胞分類器。其中，使用大小與細胞相似的塑膠小球為樣本，在晶片管道中作測試，觀察粒子分離與收集之情形，用以驗證所提出粒子分類方法的可行性。
- (7)研究中亦實際以生物樣本(酵母菌)作測試，並針對本粒子分類裝置作一效能之評估，結果顯示，酵母菌之獲得率(% Recovery)及收集效率(% Yield)可高達 87.7 %與 94.1 %。

### 比例調劑混合反應系統

- (1)本研究利用簡單之邊鞘流理論，提出一種比例調劑裝置，其可用來作為各種功能性晶片之前處理步驟，如試劑合成、樣本稀釋、藥物調配等應用。
- (2)本研究成功地實現一整合型之電驅動式微流體晶片，其中包括了比例調劑裝置、微混合器與一蛇型反應區，可用以處理藥物試劑，並與樣本混合進行各樣生化反應。
- (3)在比例調劑的研究中，討論了不同的管道長度設計，並不同的施加電壓，對邊鞘流壓縮寬度的影響，進而估測後端所收集之溶液，即不同試劑濃度之比例關係。

(4)以細胞(紅血球)裂解為例，說明此一比例調劑混合反應系統，利用比例調劑裝置配製紅血球裂解液，並使之與紅血球在微混合器中混合後進入蛇型反應區進行裂解反應。由實驗結果可知，於實驗進行10分鐘後，在顯微鏡底下觀測，其在T型混合器兩側管交界處後端10 cm處，並未發現任何單一之紅血球，其可幾乎被裂解完全。

綜合上述所整理之結論，本研究所提出之微流體裝置，可歸納出幾項特點：(a)成本低廉；(b)製作簡單；(c)操作方便；(d)無需昂貴或複雜設備；(e)易於整合。其將對微全分析系統的發展，帶來相當大的貢獻。

## 5-2 未來展望

研究中所提出創新粒子分類方法，雖然已經被驗證並說明，然而仍希望能藉由電腦模擬的方式，使所發展之粒子分類裝置達到最佳化的設計，即在更小的晶片體積面積，更為簡化的電場模式下，達到更好的粒子分類效能。此外，目前僅以酵母菌與塑膠小球混合，作為樣本溶液，因此日後更希望能以各式生物樣本作測試，以真正達到細胞分類的工作。在比例調劑方面，目前僅以兩種樣本之比例調劑作為說明，然而實際在生醫或化學實驗中，各種應用之反應試劑的配製，其中包含了許多成分，因此未來將進一步發展多種樣本之比例調劑。

藉由微機電技術的發展，本研究已成功地製作並驗證所提出的微

流體晶片，包括粒子/細胞分類裝置、比例調劑裝置，並與混合器整合的比例調劑混合反應晶片，現階段雖已完成單一模組的開發，然而整合乃是微全分析系統之概念，且是生醫科技發展的趨勢，因此期許未來除了改良各單一模組之外，能夠將所發展的裝置整合在一起，並作延伸，將各式晶片之調劑、進樣、取樣、分析、偵測等功能，整合於一晶片上，成為晶片式實驗室。



## 參考文獻

- [1] J. B. Lee, J. English, C. H. Ahn, and M. G. Allen, "Planarization techniques for vertically integrated metallic MEMS on silicon foundry circuits," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 7, pp. 44-54, 1997.
- [2] B. Ziaie, A. Baldi, M. Lei, Y. D. Gu, and R. A. Siegel, "Hard and soft micromachining for BioMEMS: review of techniques and examples of applications in microfluidics and drug delivery," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 56, pp. 145-172, 2004.
- [3] M. Yano, F. Yamagishi, and T. Tsuda, "Optical MEMS for photonic switching-compact and stable optical crossconnect switches for simple, fast, and flexible wavelength applications in recent photonic networks," *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, vol. 11, pp. 383-394, 2005.
- [4] C. L. Goldsmith, Z. M. Yao, S. Eshelman, and D. Denniston, "Performance of low-loss RF MEMS capacitive switches," *IEEE Microwave and Guided Wave Letters*, vol. 8, pp. 269-271, 1998.
- [5] A. C. R. Grayson, R. S. Shawgo, A. M. Johnson, N. T. Flynn, Y. W. Li, M. J. Cima, and R. Langer, "A BioMEMS review: MEMS technology for physiologically integrated devices," *Proceedings of the IEEE*, vol. 92, pp. 6-21, 2004.
- [6] A. Manz, N. Graber, and H. M. Widmer, "Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensing," *Sensors and Actuators B*, vol. 1, pp. 244-248, 1990.
- [7] E. Verpoorte and N. F. De Rooij, "Microfluidics meets MEMS," *Proceedings of the IEEE* vol. 91, pp. 930-953, 2003.
- [8] J. Khandurina and A. Guttman, "Bioanalysis in microfluidic devices," *Journal of Chromatography A*, vol. 943, pp. 159-183, 2002.
- [9] D. Erickson and D. Q. Li, "Integrated microfluidic devices," *Analytica Chimica Acta*, vol. 507, pp. 11-26, 2004.
- [10] M. N. Sabry, "Scale effects on fluid flow and heat transfer in microchannels," *IEEE Transactions on Components and Packaging Technologies*, vol. 23, pp. 562-567, 2000.
- [11] A. Nag, B. R. Panda, and A. Chattopadhyay, "Performing chemical reactions in virtual capillary of surface tension-confined microfluidic devices," *Pramana-Journal of Physics*, vol. 65, pp. 621-630, 2005.

- [12] D. M. Hobbs and F. J. Muzzio, "Reynolds number effects on laminar mixing in the Kenics static mixer," *Chemical Engineering Journal*, vol. 70, pp. 93-104, 1998.
- [13] S. V. Ermakov, S. C. Jacobson, and J. M. Ramsey, "Computer simulations of electrokinetic injection techniques in microfluidic devices," *Analytical Chemistry*, vol. 72, pp. 3512-3517, 2000.
- [14] T. Stiles, R. Fallon, T. Vestad, J. Oakey, D. W. M. Marr, J. Squier, and R. Jimenez, "Hydrodynamic focusing for vacuum-pumped microfluidics," *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 1, pp. 280-283, 2005.
- [15] H. Andersson and A. van den Berg, "Microfluidic devices for cellomics: a review," *Sensors and Actuators B*, vol. 92, pp. 315-325, 2003.
- [16] S. Metz, C. Trautmann, A. Bertsch, and P. Renaud, "Flexible microchannels with integrated nanoporous membranes for filtration and separation of molecules and particles," *Proc. IEEE 17th International MEMS Conference (IEEE MEMS 2004)*, pp. 81-84, 2002.
- [17] J. Moorthy and D. J. Beebe, "In situ fabricated porous filter-characterization and biological applications," *Proc. IEEE 15th International MEMS Conference (IEEE MEMS 2002)*, pp. 514-517, 2002.
- [18] J. Moorthy and D. J. Beebe, "In situ fabricated porous filters for microsystems," *Lab on a Chip*, vol. 3, pp. 62-66, 2003.
- [19] M. H. Moon, S. G. Yang, J. Y. Lee, and S. Lee, "Combination of gravitational SPLITT fractionation and field-flow fractionation for size-sorting and characterization of sea sediment," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 381, pp. 1299-1304, 2005.
- [20] I. Doh and Y. H. Cho, "A continuous cell separation chip using hydrodynamic dielectrophoresis (DEP) process," *Sensors and Actuators A*, vol. 121, pp. 59-65, 2005.
- [21] F. Arai, A. Ichikawa, M. Ogawa, T. Fukuda, K. Horio, and K. Itoigawa, "High-speed separation system of randomly suspended single living cells by laser trap and dielectrophoresis," *Electrophoresis*, vol. 22, pp. 283-288, 2001.
- [22] X. B. Wang, J. Vykoukal, F. F. Becker, and P. R. C. Gascoyne, "Separation of polystyrene microbeads using dielectrophoretic/gravitational field-flow-fractionation," *Biophysical*

- Journal*, vol. 74, pp. 2689-2701, 1998.
- [23] R. Rong, J. W. Choi, and C. H. Ahn, "A functional magnetic bead biocell sorter using fully integrated magnetic micro nano tips.," *Proc. IEEE 16th International MEMS Conference (IEEE MEMS 2003)*, pp. 530-533, 2003.
- [24] C. B. Fuh, H. Y. Tsai, and J. Z. Lai, "Development of magnetic split-flow thin fractionation for continuous particle separation," *Analytica Chimica Acta*, vol. 497, pp. 115-122, 2003.
- [25] H. Jagannathan, G. G. Yaralioglu, A. S. Ergun, and B. T. Khuri-Yakub, "An implementation of a microfluidic mixer and switch using micromachined acoustic transducers.," *Proc. IEEE 16th International MEMS Conference (IEEE MEMS 2003)*, pp. 104-107, 2003.
- [26] M. Ozkan, M. Wang, C. Ozkan, R. Flynn, A. Birkbeck, and S. Esener, "Optical manipulation of objects and biological cells in microfluidic devices," *Biomedical Microdevices*, vol. 5, pp. 61-67, 2003.
- [27] M. Yamada, M. Nakashima, and M. Seki, "Pinched flow fractionation: Continuous size separation of particles utilizing a laminar flow profile in a pinched microchannel," *Analytical Chemistry*, vol. 76, pp. 5465-5471, 2004.
- [28] J. Takagi, M. Yamada, M. Yasuda, and M. Seki, "Continuous particle separation in a microchannel having asymmetrically arranged multiple branches," *Lab on a Chip*, vol. 5, pp. 778-784, 2005.
- [29] G. B. Lee, B. H. Hwei, and G. R. Huang, "Micromachined pre-focused M x N flow switches for continuous multi-sample injection," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 11, pp. 654-661, 2001.
- [30] R. Y. Chein and S. H. Tsai, "Microfluidic flow switching design using volume of fluid model," *Biomedical Microdevices*, vol. 6, pp. 81-90, 2004.
- [31] L. M. Fu, R. J. Yang, and G. B. Lee, "Electrokinetic focusing injection methods on microfluidic devices," *Analytical Chemistry*, vol. 75, pp. 1905-1910, 2003.
- [32] M. Yamada, T. Hirano, M. Yasuda, and M. Seki, "A microfluidic flow distributor generating stepwise concentrations for high-throughput biochemical processing," *Lab on a Chip*, vol. 6, pp. 179-184, 2006.

- [33] N. L. Jeon, S. K. W. Dertinger, D. T. Chiu, I. S. Choi, A. D. Stroock, and G. M. Whitesides, "Generation of solution and surface gradients using microfluidic systems," *Langmuir*, vol. 16, pp. 8311-8316, 2000.
- [34] J. Xie, Y. N. Miao, J. Shih, Y. C. Tai, and T. D. Lee, "Microfluidic platform for liquid chromatography-tandem mass spectrometry analyses of complex peptide mixtures," *Analytical Chemistry*, vol. 77, pp. 6947-6953, 2005.
- [35] C. Y. Lee, G. B. Lee, J. L. Lin, F. C. Huang, and C. S. Liao, "Integrated microfluidic systems for cell lysis, mixing/pumping and DNA amplification," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 15, pp. 1215-1223, 2005.
- [36] J. W. Hong, V. Studer, G. Hang, W. F. Anderson, and S. R. Quake, "A nanoliter-scale nucleic acid processor with parallel architecture," *Nature Biotechnology*, vol. 22, pp. 435-439, 2004.
- [37] G. B. Lee, C. H. Lin, F. C. Huang, C. S. Liao, C. Y. Lee, and S. H. Chen, "Microfluidic chips for DNA amplification, electrophoresis separation and on-line optical detection.," *Proc. IEEE 16th International MEMS Conference (IEEE MEMS 2003)*, pp. 423-426, 2003.
- [38] "<http://www.agilent.com>."
- [39] S. C. Jacobson and J. M. Ramsey, "Electrokinetic focusing in microfabricated channel structures," *Analytical Chemistry*, vol. 69, pp. 3212-3217, 1997.
- [40] J. R. Marchesi, T. Sato, A. J. Weightman, T. A. Martin, J. C. Fry, S. J. Hiom, and W. G. Wade, "Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 64, pp. 795-799, 1998.
- [41] W. Janusz, I. Kobal, A. Sworska, and J. Szczypa, "Investigation of the electrical double layer in a metal oxide/monovalent electrolyte solution system," *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 187, pp. 381-387, 1997.
- [42] R. J. Yang, L. M. Fu, and G. B. Lee, "Variable-volume-injection methods using electrokinetic focusing on microfluidic chips," *Journal of Separation Science*, vol. 25, pp. 996-1010, 2002.
- [43] C. H. Lin, L. M. Fu, and Y. S. Chien, "Microfluidic Tform mixer utilizing switching electroosmotic flow," *Analytical Chemistry*, vol.

- 76, pp. 5265-5272, 2004.
- [44] C. H. Lin, G. B. Lee, Y. H. Lin, and G. L. Chang, "A fast prototyping process for fabrication of microfluidic systems on soda-lime glass," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 11, pp. 726-732, 2001.
- [45] B. C. Ferrari, G. Oregaard, and S. J. Sorensen, "Recovery of GFP-labeled bacteria for culturing and molecular analysis after cell sorting using a benchtop flow cytometer," *Microbial Ecology*, vol. 48, pp. 239-245, 2004.
- [46] "EPICS<sup>®</sup> ALTRA<sup>™</sup> Flow Cytometer," <http://www.beckman.com>.

# 自 述

姓 名:李 承 諺 (Chen-Yan Lee)

出生日期：1982.07.1

性 別：男

出 生 地：台灣，桃園

學 歷：碩 士 - 國立中山大學機械與機電工程 2004.09 ~ 2006.06  
學 士 - 國立中山大學機械與機電工程 2000.09 ~ 2004.06  
高 中 - 台北市再興中學 1997.09 ~ 2000.06



電子信箱：[m933020042@student.nsysu.edu.tw](mailto:m933020042@student.nsysu.edu.tw)

## 發表著作

### <International Conference >

1. C. H. Lin, C. Y. Lee, L. M. Fu, "Continuous Particle Sorting Utilizing Cascade Squeeze-Jumping Effect Under Microfluidic Configuration," The 19th International IEEE Micro Electro Mechanical Systems 2006 Conference, January 22-26, Istanbul, Turkey, 2006.
2. C. H. Lin, C. Y. Lee, L. M. Fu, "Numerical and Experimental investigations into a Novel Cell Sorter Utilizing Continuous Cascade Squeeze-Jumping Effect," The 10th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences ( $\mu$ TAS2006), November 5 - 9, Tokyo, Japan, 2006.

### <Conference in Taiwan>

1. 李承諺, 林哲信, 傅龍明, "多階邊鞘流薄層於連續式微流體粒子分類晶片之應用," 第3屆精密機械與製造技術研討會, 屏東, 墾丁, 20-22, May, 2005.
2. 李承諺, 林哲信, "新型串接式連續粒子分類器於微管道之應用," 第二十二屆中國機械工程學會全國學術研討會, Chongli, 25-26, Nov, 2005.
3. C. Y. Lee, C. H. Lin, L. M. Fu, "Analysis of Cascade Squeeze-Jumping Effect under Microfluidic Configuration for Continuous Particle Sorting" The 4th Conference on Precision Machinery and Manufacturing Technology, Pingtung, 26-28, May, 2006.