

提高熱均勻性之微熱循環器與其聚合酶連鎖反應之應用

謝宗閔¹、羅錦興¹、黃富駿²、王榮豪²、簡良如²、李國賓^{2,*}

¹國立成功大學電機工程學系

²國立成功大學工程科學系

robinluo@mail.ncku.edu.tw

Tsung-Min Hsieh, Ching-Hsing Luo, Fu-Chun Huang, Jung-Hao Wang, Liang-Ju Chien and Gwo-Bin Lee, "Enhancement of Thermal Uniformity for a Microthermal Cyclor and Its Application for Polymerase Chain Reaction," *Sensors & Actuators B: Chemical*, 2008, Vol. 130: p848-856.

生 醫儀器微型化是現今一個重要的趨勢。也因此，本研究發展了一台微小型晶片核酸複製系統，不但具備有微小型溫度循環加熱系統的各項優勢，包含了小尺寸、低功率消耗、高升降溫速率以及可攜帶性，並經由微加熱晶片的改良，使得微小區域上的熱均勻性大幅提高，進而使該晶片型儀器之核酸複製的效能大幅地提升。

在本研究初步的測試中，先藉由方塊型微型加熱器以及電阻溫度感測器製作出一微型熱循環晶片，而後配合迴授控制和脈波寬度調變的技術，成功的實現聚合酶連鎖反應的熱循環機制並以沙門氏菌驗證了系統的可行性。其次，本研究中發展了兩種在晶片上提高溫度均勻性的新方法，用來增加DNA複製效率以及減少非專一性的產物。第一種方法是，首次發展出來之全新的陣列式薄膜加熱器並應用於此系統上。這種加熱器有近似於方塊型微型加熱器的低阻抗值並能同時提高特定區域上的熱均勻性。另外，搭配主動補償加熱器的設計也同時減少了來自外界的溫度場干擾。這樣的一個晶片型核酸複製系統已成功發展並以*S. pneumoniae*完成了系統複製效率的測試後，證實當晶片上熱均勻性提高時，DNA複製效率確有明顯之提升。

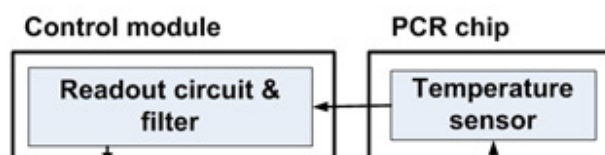


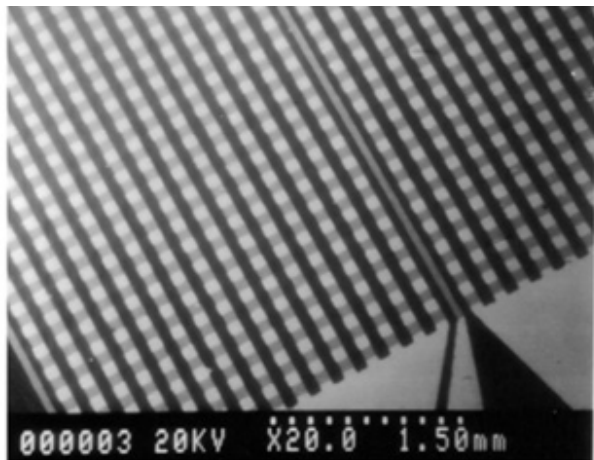
Prof. Gwo-Bin Lee



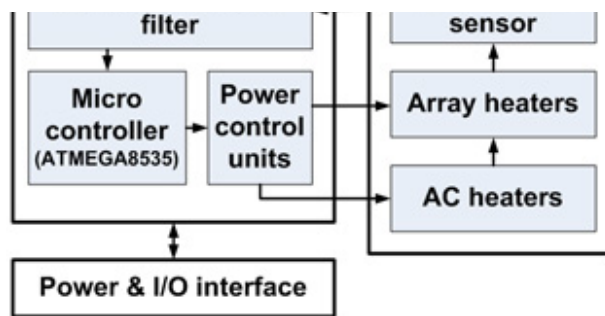
羅錦興教授與謝宗閔博士生

圖一為此主動式熱補償之陣列式微型加熱器之掃描式電子顯微鏡影像圖。這一種全新的陣列式微型加熱器是藉由微製程中的兩層薄膜金屬沈積而成，包括金與鉑。根據兩種金屬間不同之導電度，這種微型陣列式加熱器即可被製作而成。此外，本研究加入了主動式熱補償的加熱器為了消除因加熱器的邊緣效應導致之熱均勻性低之現象，如圖一所示。圖二說明這個微型熱循環晶片系統之方塊圖，包括有一台熱循環控制器以及一微型溫度循環晶片。此溫度循環控制器的控制模式是使用兩個同步的溫度循環的迴授控制來完成晶片上的精準的溫度控制。



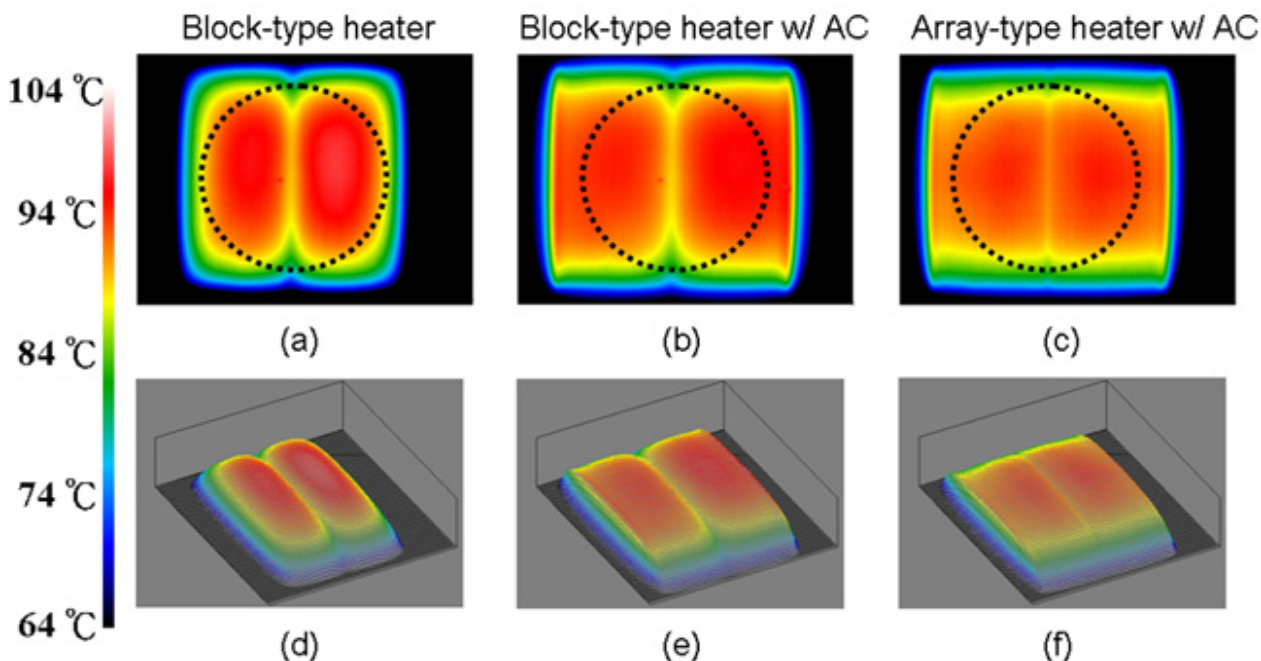


圖一 主動式熱補償聚合酶連鎖反應元件之掃描式電子顯微鏡影像圖



圖二 微型主動式熱補償聚合酶連鎖反應系統方塊圖

在實際使用上，因為微小型核酸複製系統需要高速之升降溫，因此在實際操作聚合酶連鎖反應時，需要加裝散熱片或風扇以大幅提高降溫速率。圖三利用紅外線熱相圖進行本研究中的主動式熱補償陣列式加熱器之熱均勻性分析並與一般常用之方塊型微型加熱器進行比較。此外，為了研究主動式熱補償加熱器之效能，圖三也同時顯示了有主動式熱補償之方塊型微型加熱器之熱均勻性分析。圖三顯示了在去氧核糖核酸變性的溫度下，裝有散熱器的不同微型熱循環晶片之紅外線熱相圖，包含有二維和三維的兩種顯示方式。由此圖可知，此種微型的陣列型加熱器較原始的方塊型微型加熱器之熱均勻性來的佳。我們分析了這些熱相圖之後可得到表一，而表一即顯示了以藉由熱相儀拍攝而得的實驗結果，證實了在晶片的特定區域上，若以攝氏1度的熱變化量為基準實際量測變化量小於攝氏2度的加熱面積比例，分別在設定為94，57 以及 72 時，擁有 66.9%，92.3%以及74.0%的高比值。由表一得知，本研究中所發展之主動式熱補償陣列式加熱晶片有遠高於傳統的方塊型加熱器之熱均勻性。



圖三 在去氧核糖核酸變性的溫度下，裝有散熱器的不同微型熱循環晶片之紅外線熱相圖。(a) 方塊型微型加熱器之二維紅外線熱相圖。(b) 有主動式熱補償的方塊型微型加熱器之二維紅外線熱相圖。(c) 有主動式熱補償的陣列型微型加熱器之二維紅外線熱相圖。(d) 方塊型微型加熱器之三維紅外線熱相圖。

(e) 有主動式熱補償的方塊型微型加熱器之三維紅外線熱相圖。(f) 有主動式熱補償的陣列型微型加熱器之三維紅外線熱相圖。(紅外線熱相圖之牽析度為29微米、像數為320*240，虛線表示本研究中聚合酶連鎖反應的微反應槽)

結論

本研究中探討了一種主動式熱補償之微型陣列式加熱器的發展與應用，大幅的改善了微型加熱器上微型聚合酶連鎖反應之反應槽中的熱均勻性分佈，並將有助於需要精準之溫度控制於特定溫度上之微型反應器的發展。藉由此新型的微小加熱器的設計，大幅提高了這種微型加熱器的熱均勻性且不需要額外之困難製程或複雜的控制模式。這台新的晶片型聚合酶連鎖反應系統以肺炎雙球菌證實了系統在實際進行聚合酶連鎖反應之效能，並較未改良熱均勻性之微型加熱晶片的效能來的高。

表一 在聚合酶連鎖反應之操作溫度下的不同的微型加熱器之熱均勻性的比較（晶片上安裝有散熱鰭片）

	Uniform area (%)	
	$\pm 1^{\circ}\text{C}$	$\pm 2^{\circ}\text{C}$
94°C		
block w/o AC	20.8	41.1
block w/ AC	34.1	53.8
array w/ AC	41.9	66.9
72°C		
block w/o AC	41.0	60.7
block w/ AC	47.4	68.9
array w/ AC	59.4	74.0
57°C		
block w/o AC	58.7	81.6
block w/ AC	67.2	86.1
array w/ AC	77.8	92.3