



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102373153 A

(43) 申请公布日 2012. 03. 14

(21) 申请号 201010256931. X

(22) 申请日 2010. 08. 18

(71) 申请人 国家纳米科学中心

地址 100190 北京市海淀区中关村北一条
11 号

(72) 发明人 蒋兴宇 郑文富 张伟 王卓

(74) 专利代理机构 北京泛华伟业知识产权代理
有限公司 11280

代理人 刘丹妮

(51) Int. Cl.

C12M 3/00 (2006. 01)

C12M 1/00 (2006. 01)

G01N 33/53 (2006. 01)

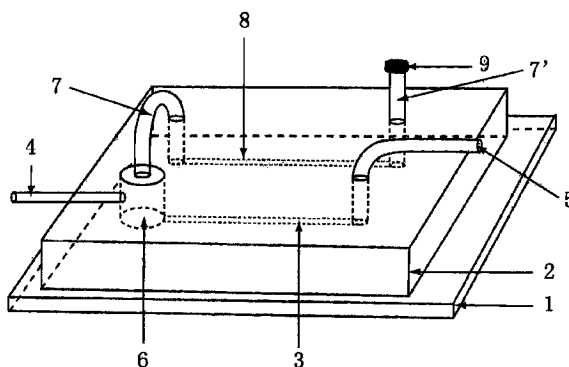
权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 2 页

(54) 发明名称

一种用于微流通道的除气泡装置

(57) 摘要

本发明提供一种用于微流通道的除气泡装置。本发明提供的除气泡装置,包括位于微流通道液体入口处的腔体,用于缓冲液体和捕捉气泡;和与腔体上部开口相连的气泡引流旁路,用于排除腔体捕捉的气泡,并且所述气泡引流旁路包括:两个旁路管和一条旁路通道,其中旁路通道与微流通道平行,两个旁路管分别位于旁路通道的两端,一个旁路管用于连接旁路通道与腔体,另一个旁路管用于排除气泡。本发明提供的除气泡装置结构简单、高度整合、无需外部装置支持,并且对微流通道内的正常液流无影响,适用于一切在微流控芯片中需要无气泡干扰的流体剪切力细胞实验以及蛋白质、核酸生化、免疫微流芯片检测实验。



1. 一种用于微流通道的除气泡装置,其包括:
位于微流通道液体入口处的腔体,用于缓冲液体和捕捉气泡;和
与腔体上部开口相连的气泡引流旁路,用于排除腔体捕捉的气泡。
2. 根据权利要求1所述的除气泡装置,其特征在于,所述气泡引流旁路包括:
两个旁路管和一条旁路通道,其中两个旁路管分别位于旁路通道的两端,一个旁路管用于连接旁路通道与腔体,另一个旁路管用于排除气泡。
3. 根据权利要求1或2所述的除气泡装置,其特征在于,所述连接旁路通道与腔体的旁路管为拱形。
4. 根据权利要求1至3中任一项所述的除气泡装置,其特征在于,所述用于排除气泡的旁路管不与旁路通道连接的一端末端由滤膜封闭;优选地,所述滤膜的孔径为0.2微米。
5. 根据权利要求1至3中任一项所述的除气泡装置,其特征在于,所述旁路管的直径为0.5-1.0毫米。
6. 根据权利要求1至5中任一项所述的除气泡装置,其特征在于,所述微流通道液体入口处位于腔体的最下部。
7. 根据权利要求1至6中任一项所述的除气泡装置,其特征在于,所述腔体侧壁中部连接有液体输入管,所述微流通道末端连接有液体输出管;优选地,所述液体输入管和液体输出管的直径为0.5~1.0毫米。
8. 根据权利要求1至7中任一项所述的除气泡装置,其特征在于,所述腔体为圆柱形,直径为3~5毫米,高为3~5毫米。
9. 根据权利要求1至8中任一项所述的除气泡装置,其特征在于,所述旁路通道的尺寸与微流通道相同;优选地,所述微流通道的宽度为0.1~1.0毫米,高度为0.1~0.5毫米,长度为10~20毫米;更优选地,所述旁路通道与微流通道平行。
10. 权利要求1至9中任一项所述的除气泡装置在微流控芯片中的应用;优选地,所述微流控芯片实验包括流体剪切力细胞实验、蛋白质免疫检测实验、核酸生化检测实验。

一种用于微流通道的除气泡装置

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于微流通道的除气泡装置及其应用。

背景技术

[0002] 细胞生物学微纳分析体系是近年来发展起来的新一代细胞培养和分析体系,是细胞粘附、分化、增殖行为以及细胞间相互作用研究的重要平台,为研究细胞的结构和功能以及细胞间相互作用提供前所未有的技术优势。

[0003] 聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 是一种具有极好透明性、低细胞毒性、透气性的聚合物,以 PDMS 和玻片为基材的微流控芯片已经被广泛应用于细胞微纳分析,比如,干细胞的分化、神经细胞神经肽的分泌、单细胞钙释放及抑制等。

[0004] 然而,在微流芯片培养细胞面临许多问题,包括细菌污染、液体渗漏、管道堵塞以及气泡的聚集等。大多数的问题可以通过仔细操作以及材料的筛选等方法加以减少或避免,然而,气泡的聚集却是微流控体系中经常发生且极难避免的一个问题。气泡通常发生在导管和微流孔道对接时或是在微流芯片在培养箱和显微镜之间转换时产生。此外,微流管道小尺度下液体的表面张力较大以及微流孔道内外的压力差等因素也经常导致溶解在液体中的气体逸出而形成气泡。气泡不但可以引起微流管道里的层流紊乱,而且具有很强的细胞毒性。气液界面的巨大张力差可以破坏细胞膜结构、严重影响细胞的功能,并且常常把粘附在管道基底的细胞彻底冲走,从而引起实验失败。因此,气泡问题已经成为长期阻碍细胞生物学微纳分析的一大障碍。

[0005] 目前,国外已经有人关注这个问题并且提出了一些解决方案,例如超声法、疏水膜除气法以及半透膜过滤法等,可以在一定程度上去除微流管道中的气泡,但同时也会带来细胞毒性,因此不适合于细胞生物学研究。Kang 等 (Lab on a Chip, 2008, 8, 176-178) 利用正压将气泡通过 PDMS 从微流管道排出,但是该方法的缺点是需要中断正在进行的实验,并且细胞需要直接暴露在高压下,有潜在的细胞毒性。Skelley 等 (Lab on a Chip, 2008, 8, 1733-1737) 设计的装置是将气泡捕获和排除的单元整合在一起,在不影响液流的情况下将气泡通过 PDMS 膜排出。然而,该设计的缺点是需要外接抽真空设备,并且排除气泡的速度比较慢,容易引起气泡在通道内的聚集。Sung 等 (Biomed. Microdevices, 2009, 11, 731-738) 最近发明了一种装置,由上下两层 PDMS 模块组成,上面的模块可以过滤和捕获小于一定尺寸的气泡,而下面的模块可以通过正常无气泡的液流,他们的装置可以允许细胞在无气泡状态下培养 4 天左右。然而,该装置的正常运行仍然需要短时间的实验中断和利用外接的抽真空设备除气,会对细胞和实验结果产生潜在的影响。

[0006] 因此,到目前为止,还没有一种简单、有效、稳定的除气泡装置可用来解决微流管道的气泡问题。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于,克服目前微流控系统除气泡方法的缺点,如去除气泡速度慢、

需中断液流以及装置制作和实验操作复杂等缺点,提供一种简单、高效、经济、适用和稳定的除气泡装置,解决长期困扰微流控细胞培养和分析实验的实际问题。

[0008] 本发明的目的是通过以下技术方案来实现的。本发明提供了一种用于微流通道的除气泡装置,其包括:位于微流通道液体入口处的腔体,用于缓冲液体和捕捉气泡;和与腔体上部开口相连的气泡引流旁路,用于排除腔体捕捉的气泡。

[0009] 优选地,所述气泡引流旁路包括:两个旁路管和一条旁路通道,其中两个旁路管分别位于旁路通道的两端,一个旁路管用于连接旁路通道与腔体,另一个旁路管用于排除气泡。

[0010] 优选地,所述连接旁路通道与腔体的旁路管为拱形,可以避免气泡直接进入旁路通道,并且起到破碎气泡的作用;更优选地,所述旁路管的直径为 0.5 ~ 1.0 毫米。

[0011] 优选地,所述用于排除气泡的旁路管不与旁路通道连接的一端末端由滤膜封闭;优选地,所述滤膜的孔径为 0.2 微米;更优选地,所述旁路管的直径为 0.5 ~ 1.0 毫米。

[0012] 优选地,所述微流通道液体入口处位于腔体的最下部。

[0013] 优选地,所述腔体侧壁中部连接有液体输入管,所述微流通道末端连接有液体输出管;更优选地,所述液体输入管和液体输出管的直径为 0.5 ~ 1.0 毫米,优选为 0.5 毫米。

[0014] 优选地,所述腔体为圆柱形,一方面有利于流体运动,并且更容易加工,直径为 3 ~ 5 毫米,高为 3 ~ 5 毫米。

[0015] 优选地,所述微流通道的宽度为 0.1 ~ 1 毫米,高度为 0.1 ~ 0.5 毫米,长度为 10 ~ 20 毫米;更优选地,所述微流通道的截面为长方形或正方形。

[0016] 优选地,所述旁路通道的尺寸与微流通道相同,若有液体从连接腔体和旁路通道的旁路管溢出时,可以有效地平衡液流压力,继续维持旁路的工作。

[0017] 优选地,所述旁路通道与微流通道平行。

[0018] 此外,本发明还提供了上述除气泡装置在微流控芯片中的应用。

[0019] 优选地,所述微流控芯片实验包括流体剪切力细胞实验、蛋白质免疫检测实验、核酸生化检测实验。

[0020] 在一个优选的实施方案中,本发明提供的一体化微流通道捕捉和排除气泡装置的结构示意图参见图 1,具体包括:

[0021] 1) 液体输入管路,位于整个微流系统的最前面,由内径为 0.5 毫米外径为 0.8 毫米的聚乙烯 (PE) 管经孔接入 PDMS 模块内的气泡捕捉腔体的中部,液体可经该管路流入气泡捕捉腔体。

[0022] 2) 液体缓冲和气泡捕捉腔体,是内建在 PDMS 模块的圆柱形空腔,直径为 5 毫米,高为 5 毫米。其上部由 PDMS 密封,下部由玻璃基片密封。该腔有三个开口,一为液体输入孔,位于一侧腔体侧壁的中部;另一个孔为微流通道的开口处,通向微流管道,位于液体输入孔对面腔体侧壁的最下方;还有一个气泡引流孔,位于腔体最上方的中部,通向气泡引流旁路。

[0023] 3) 微流通道部分,该部分是由带凹槽的 PDMS 模块和玻璃基片封闭形成的长管孔道,其中玻璃表面为通道的基底,上面粘附和培养细胞,PDMS 模块为微流通道的两壁及顶部。

[0024] 4) 气泡引流旁路,该旁路由三部分组成,一是引流聚乙烯管,开口于液体缓冲和

泡捕捉腔体的正上方,该管呈拱形,先向上然后弯下到达微流通道的侧方,然后和平行于微流通道的另一个旁路通道相连,而旁路通道的另一端和另一段直立向上的聚乙烯管相连,后者的末端由 0.2 微米孔径的滤膜封闭。该滤膜的作用为:1) 及时排出气泡,2) 自由交换气体,和 3) 阻止细菌的侵入。

[0025] 5) 液体输出管路,位于整个微流系统的最末端,由内径为 0.5 毫米外径为 0.8 毫米的聚乙烯管经孔接入 PDMS 模块内微流通道的末端,液体可经该管路流走。

[0026] 本发明提供的一体化微流通道捕捉和排除气泡装置的功能实现过程详述如下。携带气泡的液体在泵的推动下首先通过液体输入管路进入液体缓冲和气泡捕捉腔体,由于气泡的比重小,浮力导致气泡上升到腔体的内上方,另外,在腔体内的液体中析出的气体也上升到腔体的内上方,而气泡引流旁路的开口正好位于腔体的最上方,气泡可以进入并经由气泡引流旁路经最后的滤膜排出到大气中。在此过程中,开口于液体缓冲和气泡捕捉腔体以及气泡收集腔体最下方的微流通道则由于气泡上浮的原理始终没有气泡的进入,液体通过微流通道经液体输出管路排走。因此,本发明提供的装置在不影响微流通道内细胞实验的条件下实现气泡的有效排除,保证微流系统连续正常的工作。

[0027] 由此可见,本发明在 PDMS 微流通道的开口处设气泡捕捉腔,微流通道的开口位于气泡捕捉腔的底部,液体输入管开口于气泡捕捉腔侧壁的中部,在气泡捕捉腔的顶部连接聚乙烯气泡排出管,该管连接另一和微流通道平行且尺寸相同的 PDMS 微流通道,后者的另一端连接另一根聚乙烯管,该管的末端以 0.2 微米的微孔滤膜封闭。气泡捕捉腔可以是圆柱体形,上下为两圆平面,直径为 3-5 毫米,高度为 3-5 毫米。所有的接口处都用 PDMS 固化封闭防渗漏

[0028] 微流控芯片的发明使得许多细胞实验和生化、免疫检测得以在一个芯片上完成,是未来细胞生物学研究和生化免疫检测发展的一个重要方向。本发明解决了影响微流控芯片最主要障碍之一的气泡问题,为微流控芯片的稳定、高效使用提供了解决方案。因此,本发明的应用前景十分广阔,适用于一切在微流控芯片中需要无气泡干扰的流体剪切力细胞实验以及蛋白质、核酸生化、免疫微流芯片检测实验。具体而言,本发明提供的一体化微流通道捕捉和排除气泡装置具备以下有益效果:

[0029] 1) 结构简单、高度整合、体积轻巧、制作容易,无需外部装置支持。

[0030] 2) 对微流通道内的正常液流无影响(无压力变化、不中断液流),保证细胞的正常状态和功能。

[0031] 3) 除气泡效率高,捕捉和排除气泡同时进行。

[0032] 4) 长时间稳定工作,适合细胞长期培养。

附图说明

[0033] 以下,结合附图来详细说明本发明的实施方案,其中:

[0034] 图 1 显示本发明提供装置的结构示意图,其中附图标记所代表部件的说明如下:

[0035] 1:玻片;2:PDMS 模块;3:微流通道;4:液体输入管;5:液体输出管;6:气泡捕捉腔体;7/7':旁路管;8:旁路通道;9:滤膜。

[0036] 图 2 显示配备了本发明图 1 所示装置的微流通道内在有细胞和无细胞状态下的运行状态,其中 A) 是 24 小时连续原位观察细胞培养基流过通道内的情况;B) 是 24 小时连续

原位观察细胞培养基流过培养有细胞的通道内的情况。

[0037] 图 3 显示本发明提供装置的结构示意图,以及配备了该装置的弯曲微流通道内细胞在流体连续冲刷 10 天后染色的情况,其中 A) 是在弯曲通道的直段细胞的相差图,B) 是对应 A) 的荧光染色图 ;C) 是在弯曲通道的曲部细胞的相差图,D) 是对应 C) 的荧光染色图。

具体实施方式

[0038] 以下参照具体的实施例来说明本发明。本领域技术人员能够理解,这些实施例仅用于说明本发明,其不以任何方式限制本发明的范围。

[0039] 实施例 1

[0040] 本实施例具体将本发明提供的除气泡装置应用于微流通道内,检测其除气泡效果及对微流通道内培养的细胞是否影响。

[0041] 具体参见图 2,将图 1 所示结构的除气泡装置应用于微流通道内,在有细胞和无细胞状态下的运行状态,其中 A) 是 24 小时连续原位观察细胞培养基流过通道内的情况,可以看到,在整个过程中没有气泡的出现。B) 是 24 小时连续原位观察细胞培养基流过培养有细胞的通道内的情况,可以看出,在整个过程中没有任何气泡出现,细胞的状态保持良好。

[0042] 图 3 示出了配备本发明装置的弯曲微流通道内细胞在流体连续冲刷 10 天后染色的情况,其中 A) 是在弯曲通道的直段细胞的相差图,B) 是对应 A) 的荧光染色图,可以看出,细胞在通道内培养 10 天后状态非常好。C) 是在弯曲通道的曲部细胞的相差图,D) 是对应 C) 的荧光染色图,可以看出细胞在通道内大量增殖,状态良好。

[0043] 可见,采用本发明提供的除气泡装置,能够有效解决微流控芯片实验以及应用中出现的气泡问题,保证实验结果或应用不受气泡的影响。

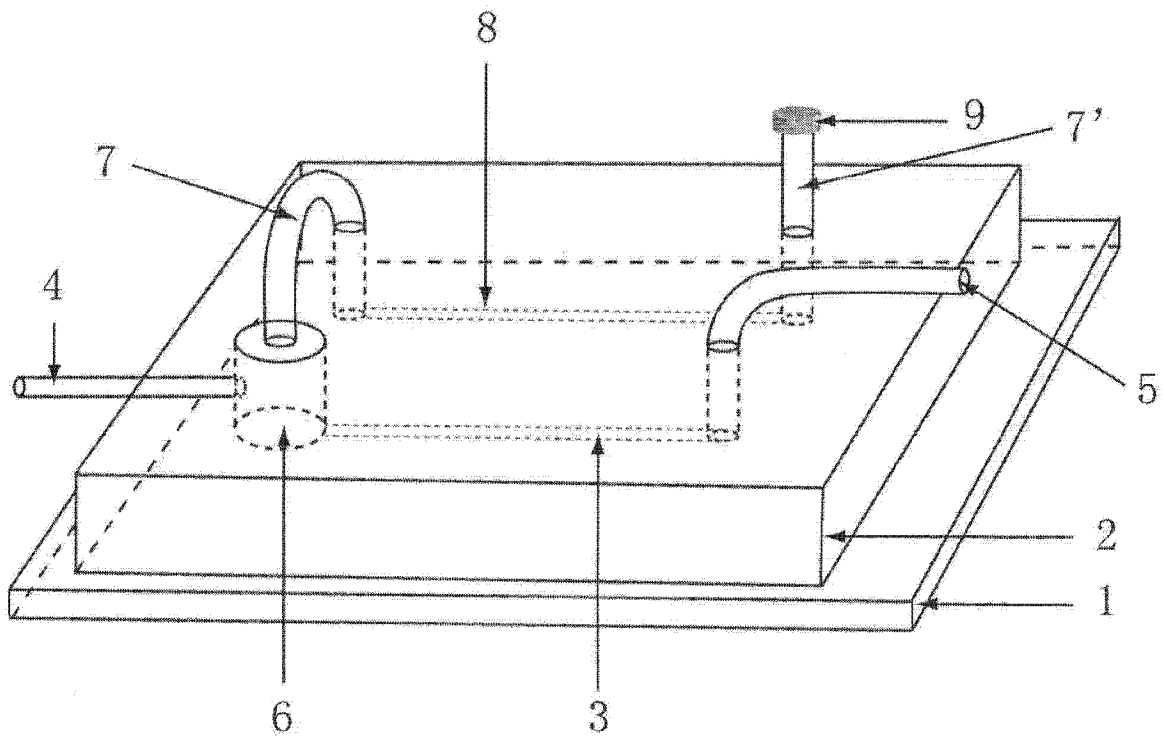


图 1

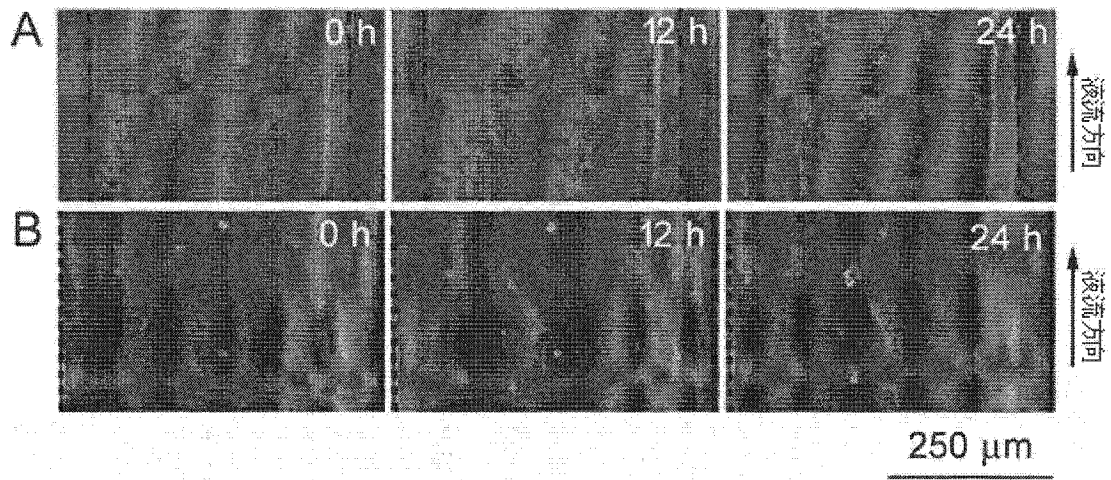


图 2

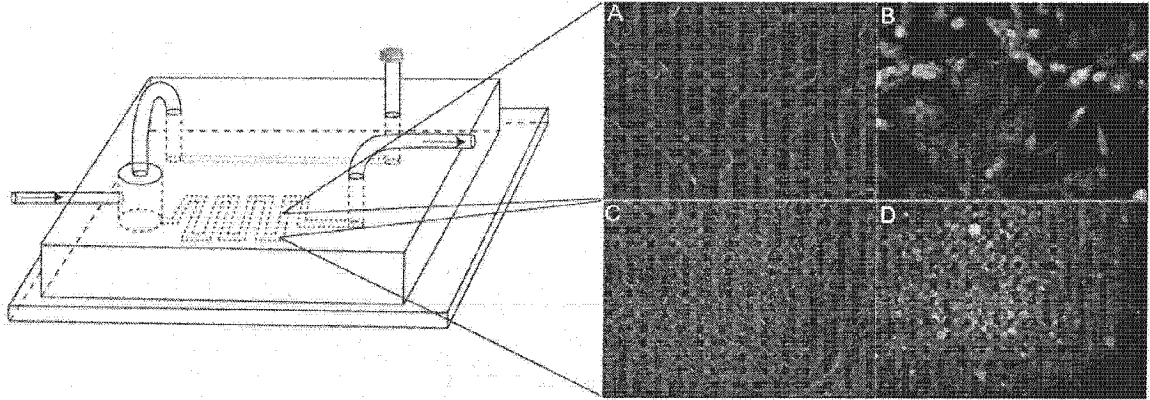


图 3

专利名称(译)	一种用于微流通道的除气泡装置		
公开(公告)号	CN102373153A	公开(公告)日	2012-03-14
申请号	CN201010256931.X	申请日	2010-08-18
[标]申请(专利权)人(译)	国家纳米科学中心		
申请(专利权)人(译)	国家纳米科学中心		
当前申请(专利权)人(译)	国家纳米科学中心		
[标]发明人	蒋兴宇 郑文富 张伟 王卓		
发明人	蒋兴宇 郑文富 张伟 王卓		
IPC分类号	C12M3/00 C12M1/00 G01N33/53		
CPC分类号	C12M23/16 C12M29/20		
代理人(译)	刘丹妮		
其他公开文献	CN102373153B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种用于微流通道的除气泡装置。本发明提供的除气泡装置，包括位于微通道液体入口处的腔体，用于缓冲液体和捕捉气泡；和与腔体上部开口相连的气泡引流旁路，用于排除腔体捕捉的气泡，并且所述气泡引流旁路包括：两个旁路管和一条旁路通道，其中旁路通道与微通道平行，两个旁路管分别位于旁路通道的两端，一个旁路管用于连接旁路通道与腔体，另一个旁路管用于排除气泡。本发明提供的除气泡装置结构简单、高度整合、无需外部装置支持，并且对微通道内的正常液流无影响，适用于一切在微流控芯片中需要无气泡干扰的流体剪切力细胞实验以及蛋白质、核酸生化、免疫微流芯片检测实验。

