



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102886280 A

(43) 申请公布日 2013. 01. 23

(21) 申请号 201210311357. 2

(22) 申请日 2012. 08. 28

(71) 申请人 博奥生物有限公司

地址 102206 北京市昌平区生命科学园路
18 号

申请人 清华大学

(72) 发明人 张国豪 黄国亮 王璨 郭素

王磊 邢婉丽 程京

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限

公司 11245

代理人 关畅

(51) Int. Cl.

B01L 3/00(2006. 01)

G01N 33/53(2006. 01)

C12Q 1/68(2006. 01)

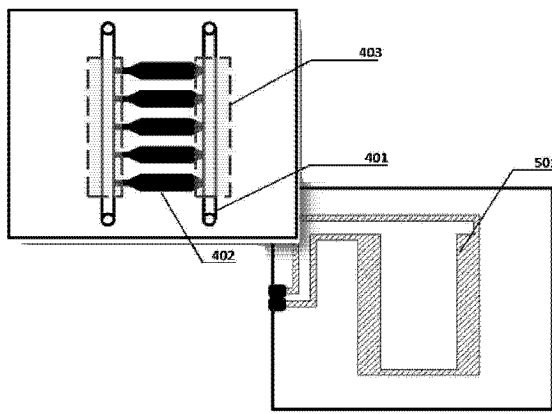
权利要求书 2 页 说明书 8 页 附图 7 页

(54) 发明名称

一种微流控芯片及其应用

(57) 摘要

本发明公开了一种微流控芯片及其应用。该微流控芯片包括基片和盖片；所述基片上设有微反应器阵列；所述微反应器阵列包括至少 1 个主通道和至少 2 个分别与所述主通道相连通的微池；所述微流控芯片还包括至少 1 个局部温控装置，所述局部温控装置对所述主通道加热或对所述微池进行冷却。使用此微流控芯片，在局部温控装置的作用下，微池内的试剂不会在主通道内冷凝，这样各微池内的试剂体积保持不变，保证了微池的均一性，主通道内没有与各微池连通的液膜，保证了微池的独立性。



1. 一种微流控芯片,包括基片和盖片;所述基片上设有微反应器阵列;所述微反应器阵列包括至少 1 个主通道和至少 2 个分别与所述主通道相连通的微池;

其特征在于:所述微流控芯片还包括至少 1 个局部温控装置,所述局部温控装置对所述主通道加热或对所述微池进行冷却。

2. 根据权利要求 1 所述的微流控芯片,其特征在于:所述微流控芯片包括 2 个平行的主通道,所述 2 个主通道之间连通有若干个所述微池;

所述局部温控装置为设置于所述盖片上的 Pt 电极,所述 Pt 电极与所述主通道的位置相应。

3. 根据权利要求 1 所述的微流控芯片,其特征在于:所述微流控芯片包括 2 个平行的主通道,所述 2 个主通道之间连通有若干个所述微池;

所述局部温控装置为设置于玻璃基片上的冷却管路,所述玻璃基片贴附于所述基片或盖片上,且所述冷却管路与所述微池的位置相应。

4. 根据权利要求 1 所述的微流控芯片,其特征在于:所述微流控芯片包括 1 个圆形的主通道,所述主通道由若干个 V 型管路首尾连接而成;所述微池包括相连通的缓冲区和反应区;每个所述 V 型管路的顶部与所述缓冲区相连通;

所述局部温控装置为一环形的电阻膜;所述电阻膜设于所述基片或盖片上且与所述基片或盖片之间设有间距;所述电阻膜与所述主通道的位置相应。

5. 根据权利要求 4 所述的微流控芯片,其特征在于:所述电阻膜与所述基片或盖片之间的间距为 $0\sim 0.5\text{mm}$,但不为 0;所述基片或盖片上与所述电阻膜的空心部位相对应处设有定位孔。

6. 根据权利要求 4 或 5 所述的微流控芯片,其特征在于:所述基片的上表面为经硅烷化试剂疏水化的表面;

所述盖片为一铝箔膜;

所述微流控芯片还包括机械变形装置,该机械变形装置的凸台上设有若干个圆柱形凸起,若干个所述圆柱形凸起呈圆形排列且可与若干个所述缓冲区位置对应。

7. 根据权利要求 1 所述的微流控芯片,其特征在于:所述微流控芯片包括相连通的若干排主通道,所述若干排主通道呈矩形排列;所述主通道由若干个 V 型管路首尾连接而成,每个所述 V 型管路的顶部与所述微池相连通;

所述局部温控装置包括帕尔贴,所述帕尔贴上设有若干个导热铝块;所述帕尔贴与所述基片或盖片配合时,所述导热铝块与所述主通道的位置相应。

8. 根据权利要求 1 所述的微流控芯片,其特征在于:所述微流控芯片包括 1 个螺旋形的主通道,所述主通道的外壁与若干个称量池相连通,所述称量池与所述微池相连通;

所述局部温控装置包括一环形的铝箔和若干个呈环形排列的 LED 灯;所述环形的铝箔贴附于所述基片或盖片上且与所述主通道的位置相应;所述 LED 灯设于所述环形的铝箔上且与所述环形的铝箔之间设有间距。

9. 根据权利要求 8 所述的微流控芯片,其特征在于:所述 LED 灯与所述环形的铝箔之间的间距为 $0\sim 10\text{mm}$,但不为 0;所述基片或盖片上与所述铝箔的空心部位相对应处设有定位孔。

10. 根据权利要求 1 所述的微流控芯片,其特征在于:所述微流控芯片包括 1 个由若干

个椭圆形区域连接而成的圆形的主通道；每个所述椭圆形区域与所述微池相通；

所述局部温控装置为一铜质圆环；所述铜质圆环贴附于所述基片或盖片上且与所述微池的位置相应。

11. 根据权利要求 10 所述的微流控芯片，其特征在于：所述基片或盖片上与所述铜质圆环的空心部位相对应处设有定位孔。

12. 基于权利要求 1-11 中任一项所述微流控芯片的保证微池均一性和独立性的方法，包括如下步骤：开启所述局部温控装置以对所述主通道进行加热或对所述微池进行冷却，使所述主通道内的温度高于所述微池内的温度，即可保证所述微池的均一性和独立性。

13. 权利要求 1-11 中任一项所述微流控芯片在生物检测或医疗检验中的应用。

14. 根据权利要求 13 所述的应用，其特征在于：所述生物检测或医疗检验为免疫分析、核酸扩增反应、核酸杂交反应分析或蛋白-受体结合反应。

一种微流控芯片及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种微流控芯片及其应用,属于微流控芯片领域以及生物检测领域。

背景技术

[0002] 微流控芯片是以微机电加工技术为基础,由微管路在芯片上形成网络,以可控微流体贯穿整个系统并完成各种生物和化学过程的一种技术。在微流控芯片技术发展早期,芯片毛细管电泳是其主流技术,所用芯片结构简单,功能单一;近年来,微流控芯片开始向功能化、集成化方向飞速发展,诸如 DNA 扩增反应、免疫反应、细胞裂解等重要的生物和化学过程成为新的热点,而为了研究这些复杂的生物化学反应,通常需要在芯片上制作大量、独立、均一的微池,这些微池共同构成了微反应器阵列。

[0003] 构建微反应器阵列需要两步:第一步,分配试剂以形成大量、均一的微池(见图 1);第二步,运用阀或介质隔离微池,保证各微池的均一性和独立性。对于第一步,当前的试剂分配方式多种多样,如亲水管路式(CN1996009B)、真空负压式(CN101590389A)、离心式(US6627159, US20050199500A1, US6919058B2, US20030166265A1, W09533986A1)等。对于第二步,微池的隔离方式比较有限,只有管路变形隔离(US6627159),矿物油/硅油隔离(CN101590389A),空气自然隔离。

[0004] 管路变形隔离是采用外部设备将附有压敏胶的金属基材变形,进而堵塞流路。此方法的缺陷是无法自动化,对芯片基材的材质有限制性要求,而且压敏胶的成分会对反应器产生干扰。矿物油隔离是在试剂完成分配后,再次加入矿物油,利用油/水的表面张力差异来进行隔离。此方法的缺陷是需要使用者二次加样,而且由于芯片通常使用胶条封闭进出口,矿物油会溶蚀胶条造成试剂泄露,污染环境。

[0005] 空气自然隔离是在试剂完成分配后,原来的主通道就变为了空气,利用自然形成的空气间隔来隔离。此方法原理简单,使用方便,但缺陷也最突出。在实际使用过程中,包含微池的芯片通常是整体温度控制,而芯片的不同区域存在材质、结构差异,这就导致微池内的液体会逐渐蒸发并在没有液体的主通道内冷凝,冷凝出的小液滴会逐渐扩大甚至形成液膜。蒸发首先导致各反应池试剂不同程度的减少,损害各微池的均一性(见图 2);而且形成的液膜会连通各微池,造成交叉污染,损害各微池的独立性(见图 3)。

发明内容

[0006] 本发明的目的是提供一种微流控芯片及其在应用,所述微流控芯片设有局部温度控制装置,可以控制芯片内主通道内温度高于微池内温度,可以有效避免微池试剂减少并避免冷凝液体产生液膜,保证微池的均一性和独立性。

[0007] 本发明所提供的一种微流控芯片,包括基片和盖片;所述基片上设有微反应器阵列;所述微反应器阵列包括至少 1 个主通道和至少 2 个分别与所述主通道相连通的微池;

[0008] 所述微流控芯片还包括至少 1 个局部温控装置,所述局部温控装置对所述主通道加热或对所述微池进行冷却。

[0009] 上述的微流控芯片中,所述微流控芯片包括 2 个平行的主通道,所述 2 个主通道之间连通有若干个所述微池;

[0010] 所述局部温控装置为设置于所述盖片上的 Pt 电极,所述 Pt 电极与所述主通道的位置相应。

[0011] 本发明所提供的第 2 种微流控芯片,所述微流控芯片包括 2 个平行的主通道,所述 2 个主通道之间连通有若干个所述微池;

[0012] 所述局部温控装置为设置于玻璃基片上的冷却管路,所述玻璃基片贴附于所述基片或盖片上,且所述冷却管路与所述微池的位置相应。

[0013] 本发明所提供的第 3 种微流控芯片,所述微流控芯片包括 1 个圆形的主通道,所述主通道由若干个 V 型管路首尾连接而成;所述微池包括相连通的缓冲区和反应区;每个所述 V 型管路的顶部与所述缓冲区相连通;

[0014] 所述局部温控装置为一环形的电阻膜;所述电阻膜设于所述基片或盖片上且与所述基片或盖片之间设有间距;所述电阻膜与所述主通道的位置相应。

[0015] 上述的微流控芯片,所述电阻膜与所述基片或盖片之间的间距为 $0 \sim 0.5\text{mm}$,但不为 0;所述基片或盖片上与所述电阻膜的空心部位相对应处设有定位孔。

[0016] 上述的微流控芯片,所述基片的上表面为经硅烷化试剂疏水化的表面,所述疏水化的试剂可为十八烷基三氯硅烷、十八烷基三甲氧基硅烷、辛基三乙氧基硅烷、异丁基三乙氧基硅烷、甲基三乙氧基硅烷或其同系物及其衍生物;

[0017] 所述盖片为一铝箔膜;

[0018] 所述微流控芯片还包括机械变形装置,该机械变形装置的凸台上设有若干个圆柱形凸起,若干个所述圆柱形凸起呈圆形排列且可与若干个所述缓冲区位置对应。

[0019] 本发明所提供的第 4 种微流控芯片,所述微流控芯片包括相连通的若干排主通道,所述若干排主通道呈矩形排列;所述主通道由若干个 V 型管路首尾连接而成,每个所述 V 型管路的顶部与所述微池相连通;

[0020] 所述局部温控装置包括帕尔贴,所述帕尔贴上设有若干个导热铝块;所述帕尔贴与所述基片或盖片配合时,所述导热铝块与所述主通道的位置相应。

[0021] 本发明所提供的第 5 种微流控芯片,所述微流控芯片包括 1 个螺旋形的主通道,所述主通道的外壁与若干个称量池相连通,所述称量池与所述微池相连通;

[0022] 所述局部温控装置包括一环形的铝箔和若干个呈环形排列的 LED 灯;所述环形的铝箔贴附于所述基片或盖片上且与所述主通道的位置相应;所述 LED 灯设于所述环形的铝箔上且与所述环形的铝箔之间设有间距。

[0023] 上述的微流控芯片,所述 LED 灯与所述环形的铝箔之间的间距为 $0 \sim 10\text{mm}$,但不为 0;所述基片或盖片上与所述铝箔的空心部位相对应处设有定位孔。

[0024] 本发明所提供的第 6 种微流控芯片,所述微流控芯片包括 1 个由若干个椭圆形区域连接而成的圆形的主通道;每个所述椭圆形区域与所述微池相连通;

[0025] 所述局部温控装置为一铜质圆环;所述铜质圆环贴附于所述基片或盖片上且与所述微池的位置相应。

[0026] 上述的微流控芯片,所述基片或盖片上与所述铜质圆环的空心部位相对应处设有定位孔。

[0027] 利用上述微流控芯片的保证微池均一性和独立性的方法,包括如下步骤:开启所述局部温控装置以对所述主通道进行加热或对所述微池进行冷却,使所述主通道内的温度高于所述微池内的温度,即可保证所述微池的均一性和独立性。

[0028] 本发明还提供了上述微流控芯片在生物检测或医疗检验中的应用;所述生物检测或医疗检验具体可为免疫分析、核酸扩增反应、核酸杂交反应分析或蛋白-受体结合反应。

[0029] 本发明提供的此微流控芯片,在局部温控装置的作用下,微池内的试剂不会在主通道内冷凝,这样各微池内的试剂体积保持不变,保证了微池的均一性,主通道内没有与各微池连通的液膜,保证了微池的独立性。

附图说明

[0030] 图 1 为现有微流控芯片中试剂分配后的微池示意图。

[0031] 图 2 为对现有微流控芯片整体温控时微池示意图,此时各微池内液体的体积不再均一。

[0032] 图 3 为对现有微流控芯片整体温控时微池示意图,此时各微池内液体不再独立。

[0033] 图 4 为实施例 1 中的微流控芯片示意图。

[0034] 图 5 为实施例 2 中的微流控芯片示意图。

[0035] 图 6 为实施例 2 中的电阻膜示意图。

[0036] 图 7 为实施例 2 中实验组的等温扩增反应荧光图。

[0037] 图 8 为实施例 2 中对照组的等温扩增反应荧光图。

[0038] 图 9 为实施例 3 中的微流控芯片示意图。

[0039] 图 10 为实施例 3 中的红外 LED 加热装置示意图。

[0040] 图 11 为实施例 4 中的机械变形装置示意图。

[0041] 图 12 为实施例 5 中的微流控芯片示意图。

[0042] 图 13 为实施例 6 中的微流控芯片示意图。

[0043] 图 14 为实施例 7 中的微流控芯片示意图。

[0044] 图 15 为实施例 7 中的帕尔贴示意图。

[0045] 图 16 为对实施例 7 中的微流控芯片进行手动离心的示意图。

[0046] 其中,附图标记说明如下:

[0047] 401 主通道;402 微池;403 局部温控区;501Pt 电极;601 反应区;602 缓冲区;603 定位孔;701 电阻膜;1001 称量池;1002 铝箔圆环;1101 红外 LED;1201 圆柱形凸起;1301 铜质圆环;1401 冷却管路。

具体实施方式

[0048] 下述实施例中所使用的实验方法如无特殊说明,均为常规方法。

[0049] 下述实施例中所用的材料、试剂等,如无特殊说明,均可从商业途径得到。

[0050] 下述实施例中,芯片制作技术和使用方法均为微流控芯片领域和生物检测领域的常规技术和方法。

[0051] 实施例 1、局部温控区位于主通道区域,局部温控装置是芯片上的 Pt 电极

[0052] 如图 4 所示,微流控芯片包括两层,基片是厚度为 4mm 的聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)

片,盖片是厚度为 2mm 的玻璃底片;在基片的上表面上设置了微反应器阵列,微反应器阵列是根据公开号为 CN1996009B 的专利公开的方案设计的。微反应器阵列包括 2 个平行设置的主通道 401,2 个主通道 401 之间连接有多个微池 402,其中微池 402 为类似梭形结构,最宽处 6mm,每个微池体积是 144 μ L;主通道 401 宽 4mm,所有结构深度均为 1mm。在盖片上制作了 Pt 电极 501 (斜线区域),Pt 电极 501 与主通道 401 的位置相对应,形成局部温控区 403。

[0053] 上述的微反应器阵列可通过激光雕刻、机械加工或热压封接等现有技术制作。Pt 电极 501 可通过溅射、湿法刻蚀等现有技术制作。PMMA 盖片和玻璃底片通过胶封接为一体。通过外接电源连接 Pt 电极 501,目的为通过电极电阻只加热局部温控区 403,而避免加热微池 402。

[0054] 试剂为 SDS 溶液(10%W/V),试剂分配过程参见专利 CN1996009B 中的实施例 1,需要注意的是所使用的不相溶和不相反应的流体为空气,即此时微流控芯片内只有微池有试剂,其余部分为空气。试剂分配步骤完成后,将芯片进出口密封,并置于烘箱内整体加热,温度为 40 $^{\circ}$ C;同时通过 Pt 电极加热并控制局部温控区的温度为 90 $^{\circ}$ C,这样加热过程中,主通道区域的温度一直比微池温度高。

[0055] 同时以无 Pt 电极的芯片作为对照。

[0056] 加热 1 小时,将芯片从烘箱内取出,显微镜观察微池内溶液的体积变化,发现实验组的微池内基本无气泡,主通道内也没有液滴和液膜,这说明微池的均一性和独立性得到保证。而对照组的各微池内均有大小不一的气泡,液膜将各微池连通,对照组微池均一性和独立性均被损害。

[0057] 实施例 2、局部温控区位于主通道区域,局部温控装置是芯片外部的电阻膜。

[0058] 如图 5 所示,本实施例的微流控芯片包括两层,盖片是厚度为 0.1mm 的 PMMA 膜,基片是厚度为 2mm 的 PMMA 底片。在基片的上表面上设置了微反应器阵列。微反应器阵列可通过激光雕刻、机械加工或热压封接等现有技术制作。基片和盖片通过胶封接为一体。

[0059] 微反应器阵列包括主通道 401 以及与主通道 401 并行连通的 24 个微池 402,各个微池 402 之间的距离是相等的;其中主通道 401 是由 24 个 V 型管路首尾连接而成的圆形通道;微池 402 包括相连通的反应区 601 和缓冲区 602,每个 V 型管路的顶端处均与一缓冲区 602 相连通;缓冲区 602 为圆柱形,底面直径 1.5mm;反应区 601 也为圆柱形,底面直径 2mm。局部温控装置为一环形的电阻膜 701(如图 6 所示),电阻膜 701 设于盖片之上且与盖片之间保持 0.5mm 的距离,且电阻膜 701 与主通道 401 的位置相对应进而形成了局部温控区 403;基片和盖片上与电阻膜 701 的空心部分的位置相应处设有一个旋转轴定位孔 603,其为一半圆,半径为 5mm。

[0060] 使用此芯片及配套装置进行等温扩增反应,实验过程和结果如下:

[0061] 一、芯片制备

[0062] 引物序列如下:

[0063] A:TTGTAACGACGGCCAGTG,

[0064] B:GACCATGATTACGCCAAGCG,

[0065] C:GCTTATCGATACCGTCGACCTCGTACGACTCACTATAGGGCGAAT,

[0066] D:CAGCCCGGGGATCCACTAGCCTCACTAAAGGGAACAAAAGC;

[0067] 将引物 A、B、C、D 溶于水,得到含有 4 种引物的水溶液(A、B、C、D 在溶液中的浓度均为 $0.1 \mu\text{mol/L}$);取 $0.7 \mu\text{L}$ 引物混合液点样于 PMMA 底片的奇数反应区中(即 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23 为阳性),偶数反应区不点样(即 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 为阴性)。将点样后的芯片置于 50°C 烘箱中,30 分钟后取出(此时引物呈固态吸附在反应区底部),将芯片的底片和盖片封接,室温保存。

[0068] 二、试剂加样和分配

[0069] 扩增反应液的组成:由体系和模板组成。体系组成如下:

序号	反应物成分	终浓度	
1	<i>Bst</i> DNA 聚合酶大片段 <i>Bst</i> 酶反应缓冲液	0.32	U/ μl
2	(ThermoPol Reaction Buffer)	1	×
3	脱氧核糖核苷三磷酸 (dNTPs)	0.4	mmol/L(各)
4	EvaGreen 染料	0.6	×
5	牛血清白蛋白(BSA)	0.5	mg/ml
6	甜菜碱(betaine)	0.8	mol/L

[0070] [0071] 模板是 EZ-T 载体质粒 DNA 购自北京康润诚业生物科技有限公司,货号:T168-10,浓度为 $10^5 \text{copies}/\mu\text{L}$ 。体系:模板 =23 :2, v/v。

[0072] 使用注射泵往主通道 401 中加样,流速为 $60 \mu\text{L}/\text{min}$,试剂进入主通道,然后封闭进样口和出样口。将芯片固定在离心机的旋转轴上,转速 $5000 \text{rpm}/\text{min}$,30s 后,试剂从主通道 401 进入微池 402 的反应区 601,主通道 401 内剩余空气,试剂分配步骤完成。

[0073] 三、芯片检测过程

[0074] 将芯片放入检测仪器,检测仪器的整体温控设备(图中未显示)对芯片整体执行温度控制, 67°C 保持 73min;同时仪器内的电阻膜 701 控制温度在 69°C ,保持 73min。这样检测过程中局部温控区 403 的温度均比微池 402 内温度高。

[0075] 同时以没有电阻膜的检测仪器进行对照,比较二者之间的阳性扩增时间(T_p 值)差异和阴性扩增情况。对照组的试剂和芯片均与实验组相同。

[0076] 扩增反应效果通过实时荧光检测来检验。荧光染料可以指示反应进行程度。只检测微池 402 的反应区 601。

[0077] 四、实验结果

[0078] 图 7 为实验组等温扩增反应荧光强度随反应时间变化的扩增曲线;图 8 为对照组扩增曲线。其中 A 均为奇数孔,B 均为偶数孔。

[0079] 如图 7,实验组(有电阻膜 701 加热局部温控区 403)的奇数孔扩增曲线平滑,无明显抖动,各孔的 T_p 值差异很小;偶数孔在 73 分钟内均无扩增,保持阴性。这说明各反应区 601 内试剂体积均不变,反应区 601 内无气泡;奇数孔和偶数孔之间没有交叉污染。

[0080] 如图 8, 对照组(无电阻膜 701 加热局部温控区 403) 的奇数孔扩增曲线明显抖动, 极大影响软件判读, 各孔的 T_p 值差异很大; 偶数孔在 58 分钟开始出现假阳性扩增。这说明个微池内试剂体积有不同程度的减少, 不同的反应体积进而引起 T_p 值差异急剧增大, 同时出现的气泡干扰了仪器检测, 导致扩增曲线抖动; 随着微池内液体持续蒸发并冷凝在主管道内, 液膜连通了奇数孔和偶数孔, 导致偶数孔出现假阳性扩增。

[0081] 反应结束后, 将芯片从检测仪器内取出, 显微镜观察微池体积变化, 发现实验组的微池内基本无气泡, 而对照组的各微池内均有大小不一的气泡, 这些现象与扩增曲线结果相符。

[0082] 实验表明, 使用电阻膜 701 对芯片的局部温控区 403 (主通道区域) 局部加热, 可以避免微池试剂在其他区域冷凝, 这样反应过程中微池反应体积不变, 各微池之间没有交叉污染, 即微池的均一性和独立性得到保证。

[0083] 实施例 3、局部温控区位于主通道区域, 局部温控装置是芯片外部的红外 LED 灯

[0084] 如图 9 所示, 本实施例的芯片包括三层, 上层是厚度 0.05mm 的铝箔圆环 1002, 中层是厚度为 0.1mm 的 PMMA 膜(盖片), 下层是厚度为 2mm 的 PMMA 底片(基片)。在下层底片的上表面上设置了微反应器阵列。本实施例中的微反应器阵列包括呈螺旋形的主通道 401, 主通道 401 的外侧壁与 24 个均匀排列的称量池 1001 相连通, 称量池 1001 与微池 402 相连通; 主通道 401 宽度为 1.5mm; 微池 402 为圆柱形, 底面直径 2mm; 铝箔圆环 1002 贴附在盖片上, 且与主通道 401 的位置相应形成了局部温控区 403; 如图 10 所示, 局部温控装置为呈环形排列的 4 个红外 LED1101, 波长 850nm, 功率 5W; 红外 LED1101 设于铝箔圆环 1002 的上方, 且之间设有 10mm 的间距; 基片和盖片上与铝箔圆环 1002 的空心部分相应处设有一个旋转轴定位孔 603, 为一半圆, 半径为 5mm。

[0085] 使用注射泵往主通道 401 中加样, 流速为 $60 \mu\text{L}/\text{min}$, 试剂进入主通道 401, 然后封闭进样口和出样口。将芯片固定在离心机的旋转轴上, 转速 600rpm/min, 30s 后, 试剂随螺旋形主通道 401 依次充满各称量池 1001; 然后以转速 5000rpm/min 离心, 10s 后, 试剂从称量池 1001 进入微池 402, 主通道 401 和称量池 1001 内剩余空气, 试剂分配步骤完成。

[0086] 芯片检测过程与实施例 2 相同。当红外 LED1101 照射时, 铝箔圆环 1002 会吸收热量并升高主通道 401 内温度, 而芯片的其他区域由于 PMMA 材质对红外光的低吸收性, 温度几乎不变。通过控制红外 LED1101 的电压和照射时间, 可以将主通道 401 内温度范围控制在 $68-72^\circ\text{C}$ 。而检测仪器的整体温控设备(图中未显示) 控制芯片的微池区域温度为 67°C 。

[0087] 加热 1 小时, 将芯片取出, 显微镜观察发现各微池内试剂体积基本无变化, 微池内只有极少量气泡, 主通道内也没有液滴和液膜, 这说明微池的均一性和独立性得到保证。

[0088] 实施例 4: 局部温控区位于主通道区域, 局部温控装置是芯片外部的电阻膜; 芯片同时存在局部温控区、缓冲区、疏水化表面

[0089] 本实施例的微流控芯片与实施例 2 类似, 但上层 0.1mm 的 PMMA 膜换成了厚度为 0.1mm 的铝箔膜。此外还对下层 PMMA 底片进行了疏水化处理, 过程如下: 取洗净的 PMMA 芯片, 用等离子进行处理, 条件是 O_2 流量 40sccm, 压强 18pa, 等离子功率 130W, 持续时间 10min。将处理后的芯片浸泡于十八烷基三甲氧基硅烷溶液内(1%, V/V, 溶剂为正己烷), 4 小时(预先通 N_2 气保护)后取出芯片。再用正己烷清洗芯片并吹干, 置于 70°C 烘箱中抽真空烘干 1 小时。再用无水甲醇清洗, 再置于烘箱中抽真空 2 小时。

[0090] 试剂分配步骤与实施例 2 相同,之后将芯片进出口密封。将机械变形装置(如图 11)倒置在芯片上,机械变形装置上的 24 个圆柱形凸起 1201 要与芯片的 24 个缓冲区 602 对应,手工施加一定压力,芯片的上层铝箔膜会凹陷进入缓冲区 602,调整手工施加的压力,凹陷的铝箔膜可以完全阻断反应区 601 和主通道 401 的气液传输路径。

[0091] 芯片的反应过程和检测过程与实施例 2 相同,1h 后,将芯片取出,发现各微池内试剂体积完全无变化,微池内完全无气泡,主通道内也没有液滴和液膜,这说明微池的均一性和独立性得到保证。

[0092] 在此实施例中,使用三种方式即局部温控区升温、缓冲区变形、芯片疏水化共同保证微池的独立性,避免微池之间的交叉污染。即使其中的任意两种方式失效,剩余的方式仍有效。局部温控区升温可以尽量减少试剂在其他区域冷凝,缓冲区变形可以完全隔离微池之间气液传输,疏水化表面尽管不能减少蒸发,但可以使得冷凝的试剂聚集成孤立的液滴而非铺展的液膜,避免微池之间连通。

[0093] 实施例 5、局部温控区位于微池区域,局部温控装置是铜质散热圆环。

[0094] 如图 12 所示,本实施例的芯片包括三层,上层是厚度为 2mm 的 PMMA 盖片,中层是厚度为 1mm 的 PMMA 基片,下层是一铜质圆环 1301。在中层 PMMA 片的上表面上设置了微反应器阵列。微反应器阵列可通过激光雕刻、机械加工或热压封接等现有技术制作。上层 PMMA 盖片和中层 PMMA 底片通过热压封接为一体。下层铜质圆环 1301 和芯片通过胶粘接为一体。

[0095] 中层 PMMA 片的微反应器阵列包括由 24 个椭圆形区域连接而成的圆形的主通道 401;每个椭圆形区域与微池 402 相连通;其中椭圆形区域深 0.7mm,长轴 4.5mm,短轴 2mm;主通道 401 的其他区域宽 1mm,深 0.2mm;微池 402 为圆柱形,底面直径 3mm,深 0.7mm;局部温控装置为一铜质圆环 1301,厚度 1mm,该铜质圆环 1301 贴附于盖片上且与微池 402 的位置相应,形成了局部温控区 403;基片或盖片上与铜质圆环 1301 的空心部分的位置相应处设有 1 个旋转轴定位孔 603,为一半圆,半径为 5mm。

[0096] 局部温控区 403 位于微池区域,使用铜质圆环 1301 对局部温控区 403 散热。检测仪器的光路通过上层 PMMA 透明盖片检测信号,因此铜质圆环并不影响信号采集。芯片直径 62mm,圆环直径 75mm,因此铜质圆环的外沿暴露于检测仪器的整体温控设备(图中未显示)的外部,由于铜的导热系数是 $401\text{W}/(\text{m}\cdot\text{K})$,此时铜质圆环起到对微池区域散热的作用。

[0097] 试剂分配步骤与实施例 2 类似,试剂通过离心进入微池 402,主通道 401 的椭圆形区域和其他区域剩余空气。芯片的检测过程与实施例 2 类似,将芯片放入检测仪器,检测仪器的整体温控设备(图中不显示)对芯片整体执行温度控制,67℃保持 73min;由于铜质圆环的散热作用,局部温控区 403 的实际温度是 66.9℃。这样检测过程中微池 402 的温度均比主通道 401 内温度低。

[0098] 1h 后,将芯片取出,发现各微池内试剂体积基本无变化,微池内只有极少量气泡,主通道内也没有液滴和液膜,这说明微池的均一性和独立性得到保证。

[0099] 实施例 6、局部温控区位于微池区域,局部温控装置是装有冷却管路

[0100] 如图 13 所示,芯片与实施例 1 类似,但包括三层,上层是厚度为 4mm 的聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)盖片,中层是厚度为 0.05mm 的 PDMS 膜,下层是厚度为 2mm 的玻璃底片。在上层盖片的下表面上设置了微反应器阵列,微反应器阵列是根据专利 CN1996009B 中的方案设计的。中层 PDMS 膜无结构,在下层玻璃底片的上表面上制作了冷却管路 1401。冷却

管路 1401 与微池 402 的位置相应,形成了局部温控区 403;下层玻璃底片的结构深度均为 0.2mm,可通过湿法刻蚀等现有技术制作。通过膜片泵向冷却管路 1401 内输送环境空气,目的为只冷却微池区域 402,而避免冷却主通道 401。

[0101] 试剂分配步骤与实施例 1 相同,之后将芯片进出口密封,并置于烘箱内整体加热,温度为 70℃;同时使用膜片泵向冷却管路 1401 输送外界环境空气,控制流速为 1L/min。

[0102] 1h 后,将芯片取出,发现各微池内试剂体积基本无变化,微池内只有极少量气泡,主通道内也没有液滴和液膜,这说明微池的均一性和独立性得到保证。

[0103] 实施例 7、局部温控区位于主通道区域,局部温控装置是帕尔贴

[0104] 如图 14,本实施例所用芯片与实施例 2 外形类似,但微池排列方式是矩形,即微池 402 是矩形排列;没有缓冲区,没有旋转轴定位孔。其他尺寸与实施例 2 相同。

[0105] 其包括相连通的 5 排主通道 401,并呈矩形排列;每排主通道 401 由多个 V 型管路首尾连接而成,每个 V 型管路的顶部与微池 402 相连通;局部温控装置包括帕尔贴 1602,帕尔贴 1602 上设有 5 个导热铝块 1601;当帕尔贴 1602 与基片配合时,5 个导热铝块 1601 与每排主通道 401 的位置相应,形成了局部温控区 403。

[0106] 如图 15 所示,使用帕尔贴 1602 对局部温控区 403 加热。加热过程中,导热铝块 1601 与芯片的下层 PMMA 板紧密贴合,并与局部温控区 403 对应。尽管不对微池 402 加热,但由于热传导作用,微池 402 可以保持稍低的温度。

[0107] 本实施例中,试剂分配过程不需注射泵和离心机。手工操作移液器向主通道 401 中加样,然后封闭进样口和出样口。如图 16 所示,手持芯片,以腕部或肘部为轴心,向下猛甩芯片(如同甩去手上水滴),试剂从主通道 401 进入微池 402,主通道 401 剩余空气,试剂分配步骤完成。

[0108] 芯片置于检测仪器内,控制帕尔贴加热模块的温度为 72℃;此时微池 402 的实际温度为 67℃,整个检测过程中局部温控区 403 的温度均比微池 402 内温度高。

[0109] 加热 1 小时,将芯片取出,显微镜观察发现各微池内试剂体积基本无变化,主通道内也没有液滴和液膜,这说明微池的均一性和独立性得到保证。

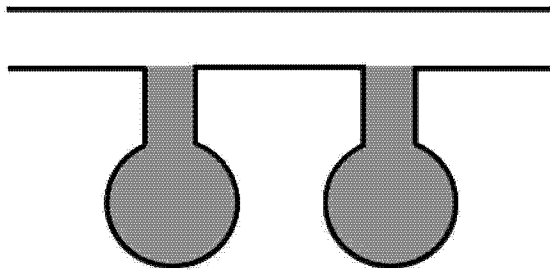


图 1

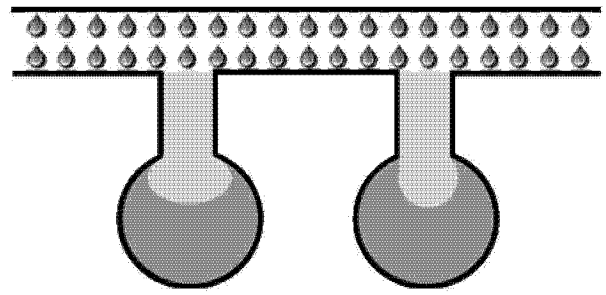


图 2

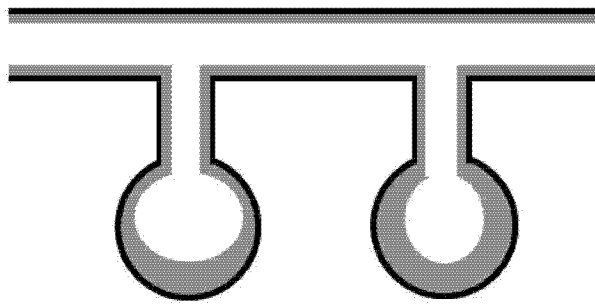


图 3

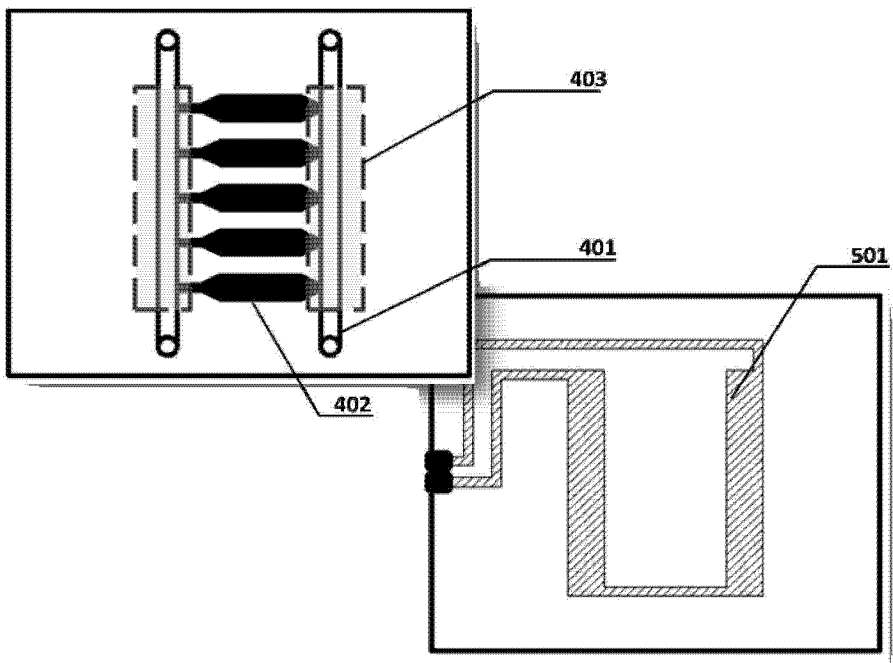


图 4

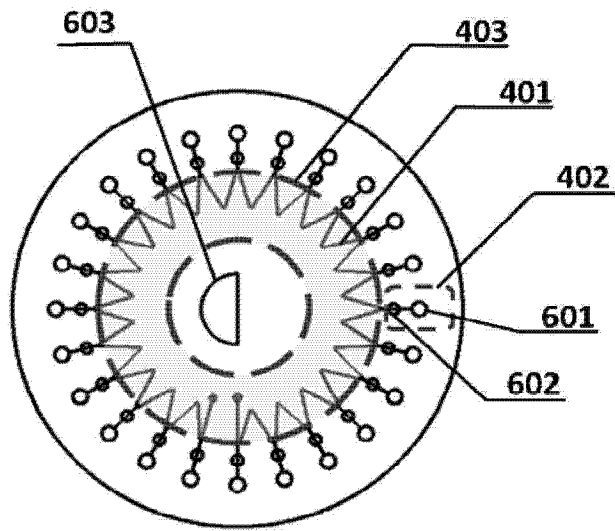


图 5

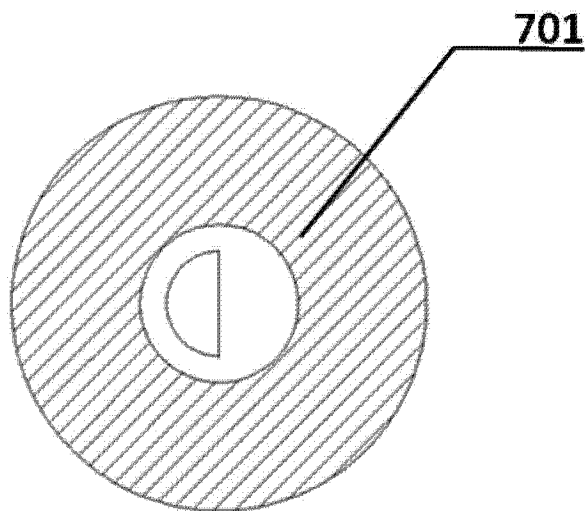


图 6

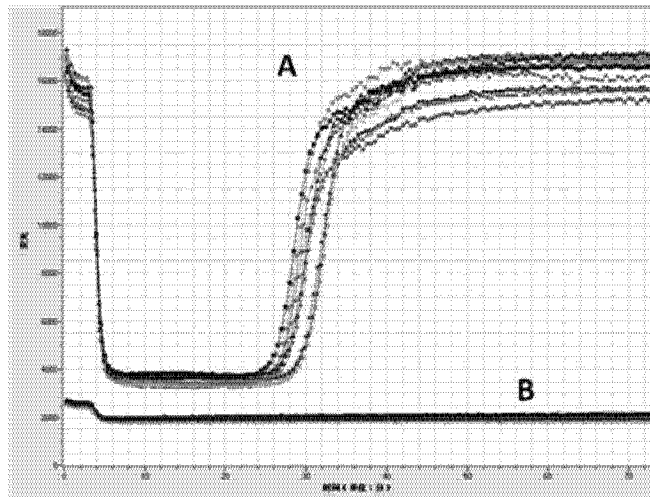


图 7

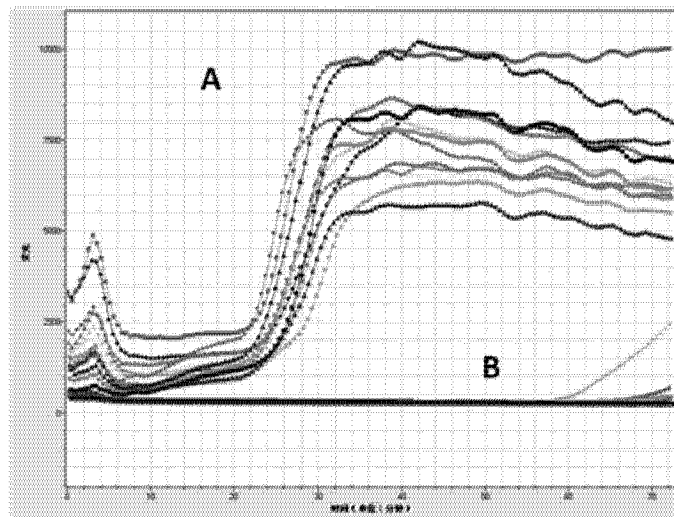


图 8

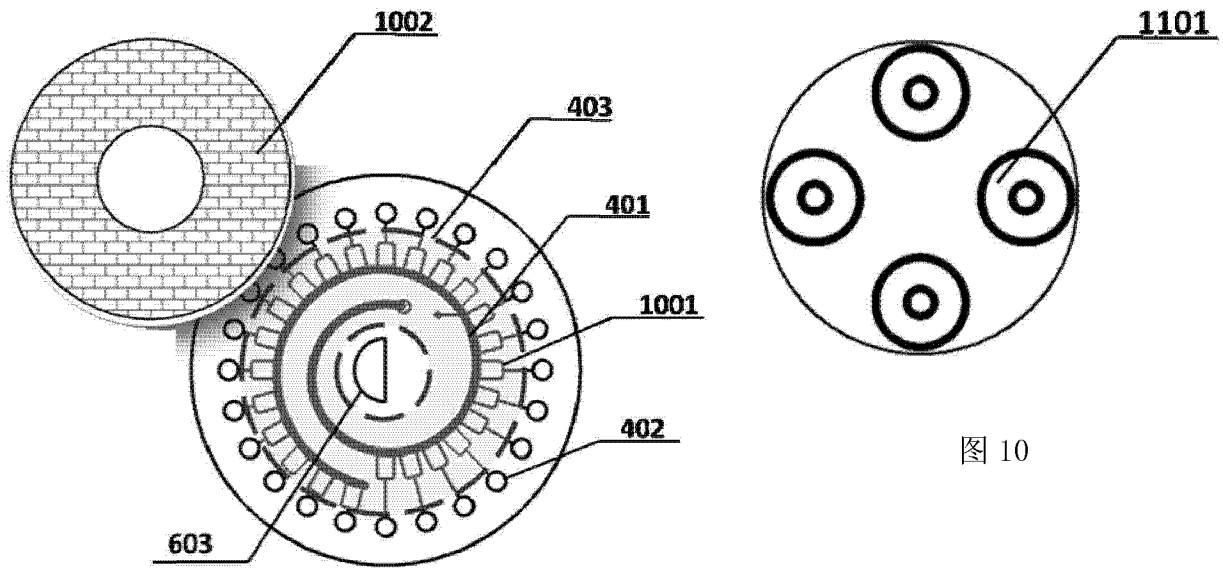


图 9

图 10

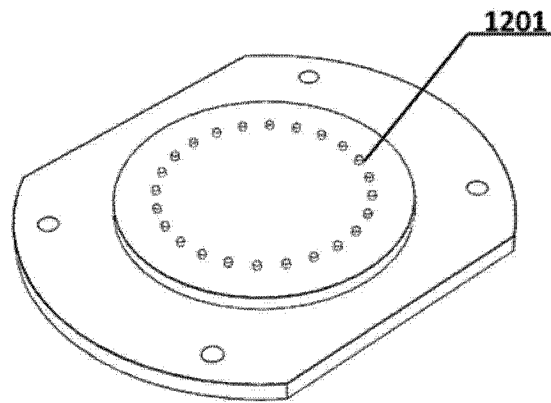


图 11

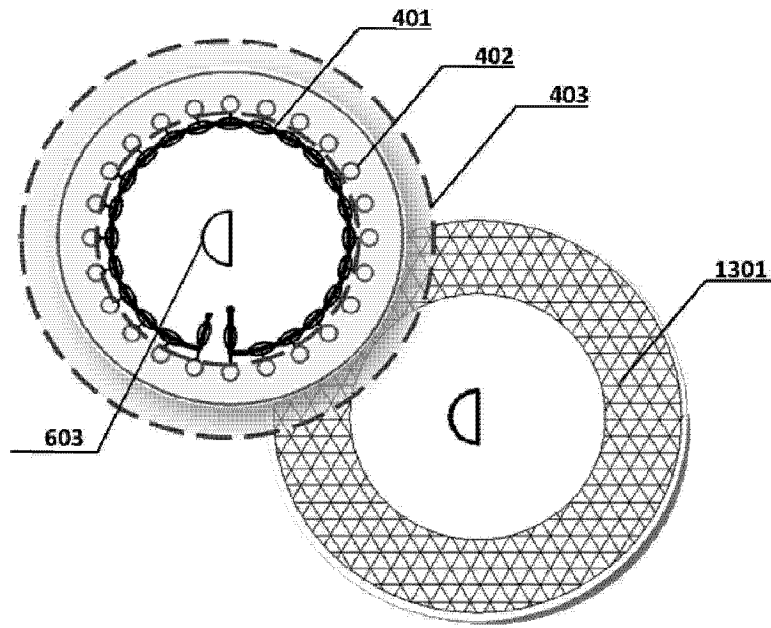


图 12

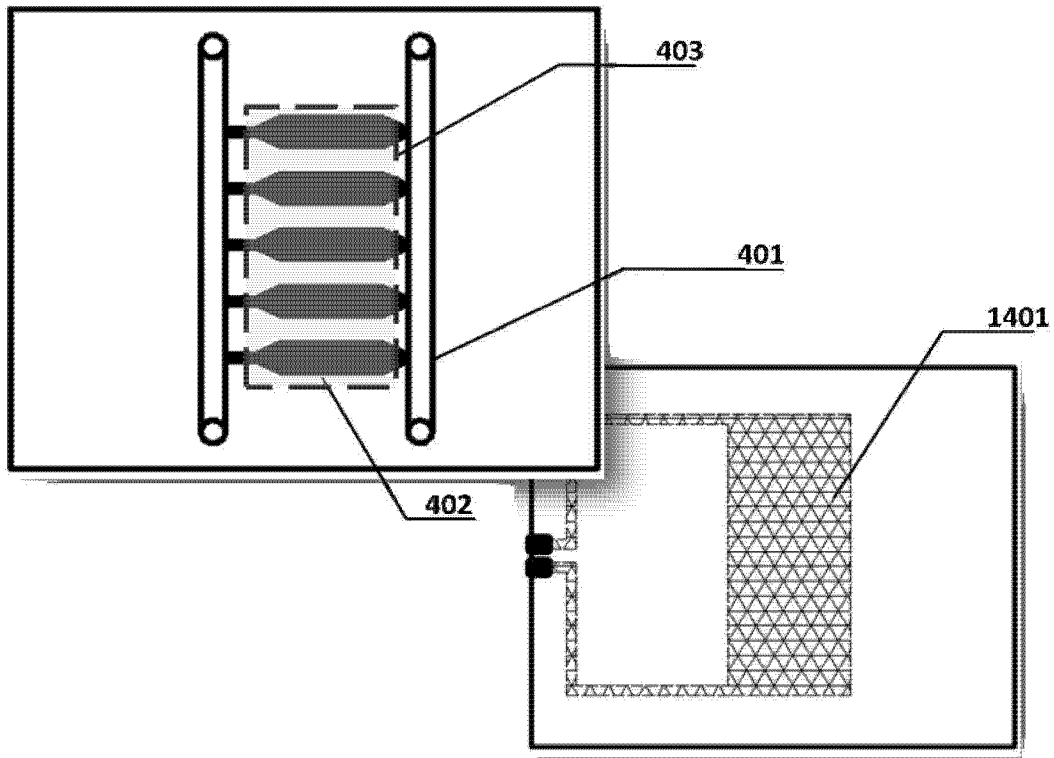


图 13

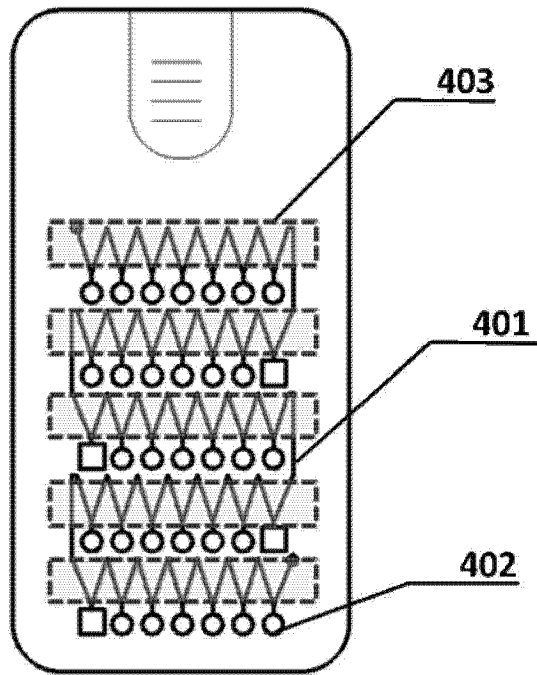


图 14

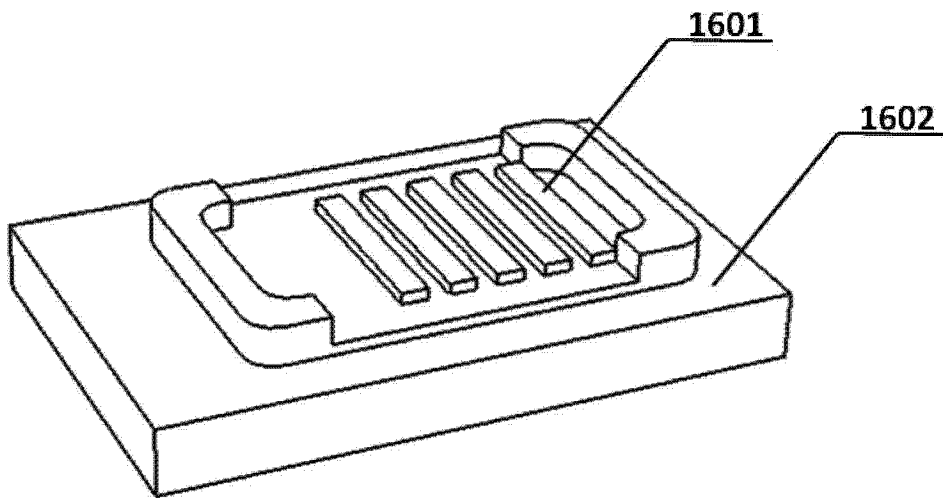


图 15

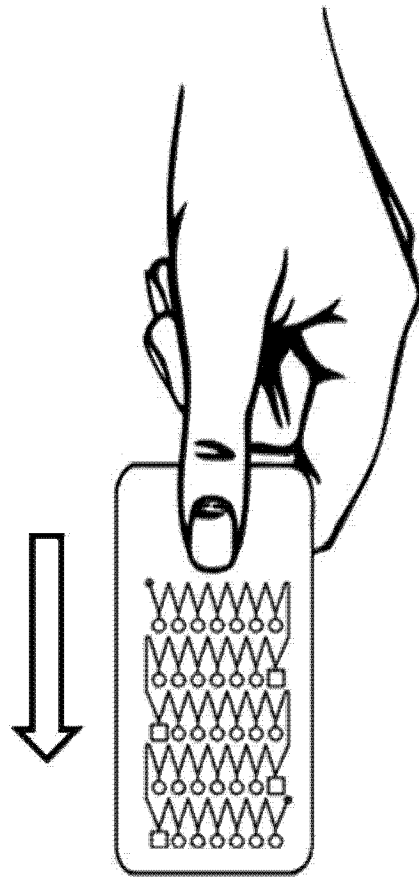


图 16

专利名称(译)	一种微流控芯片及其应用		
公开(公告)号	CN102886280A	公开(公告)日	2013-01-23
申请号	CN201210311357.2	申请日	2012-08-28
[标]申请(专利权)人(译)	博奥生物有限公司 清华大学		
申请(专利权)人(译)	博奥生物有限公司 清华大学		
当前申请(专利权)人(译)	博奥生物有限公司 清华大学		
[标]发明人	张国豪 黄国亮 王璨 郭素 王磊 邢婉丽 程京		
发明人	张国豪 黄国亮 王璨 郭素 王磊 邢婉丽 程京		
IPC分类号	B01L3/00 G01N33/53 C12Q1/68		
CPC分类号	B01L2300/0816 B01L2300/0864 B01L2300/1894 B01L3/5027 B01L2300/0803 B01L2300/087 B01L2300/1805 B01L3/502715 B01L2200/16 B01L2300/04 B01L2300/1822 B01L2300/1872		
代理人(译)	关畅		
其他公开文献	CN102886280B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种微流控芯片及其应用。该微流控芯片包括基片和盖片；所述基片上设有微反应器阵列；所述微反应器阵列包括至少1个主通道和至少2个分别与所述主通道相连通的微池；所述微流控芯片还包括至少1个局部温控装置，所述局部温控装置对所述主通道加热或对所述微池进行冷却。使用此微流控芯片，在局部温控装置的作用下，微池内的试剂不会在主通道内冷凝，这样各微池内的试剂体积保持不变，保证了微池的均一性，主通道内没有与各微池连通的液膜，保证了微池的独立性。

