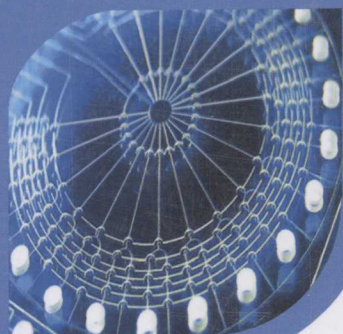


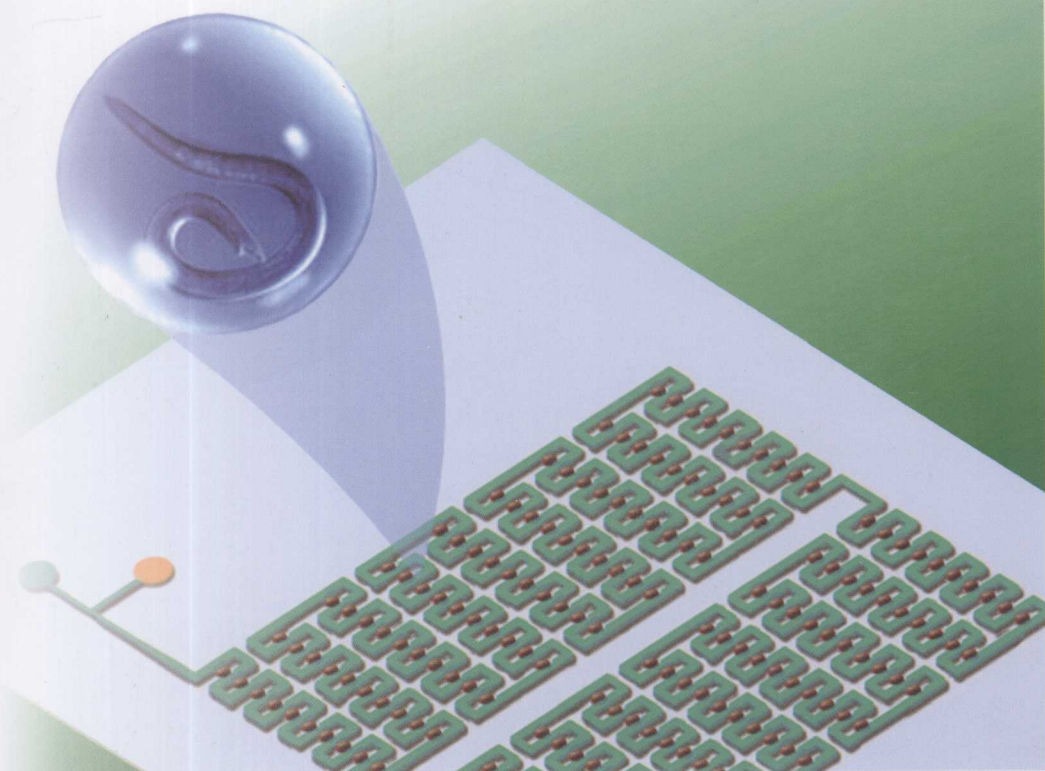
图解版 分析技术与实例丛书

图解

微流控芯片 实验室



林炳承 秦建华 著



科学出版社

www.sciencep.com

图解版分析技术与实例丛书

图解微流控芯片实验室

林炳承 秦建华 著

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书配以丰富、形象的图表,全面概述芯片实验室各项单元技术及其集成,并介绍这一技术在生命科学中的应用。主要包括:微流控芯片的材料与芯片制造技术,表面改性技术,驱动控制和检测技术,样品处理和进样技术,微混合和微反应技术,微分离技术,液滴技术以及各种技术的集成;在此基础上以系统生物学为纲,分别对芯片实验室技术在核酸分析和基因诊断,蛋白质和糖缀合物分析,代谢产物以及小分子分析,细胞培养、分选、裂解、内涵物测定和基于细胞模型的药物筛选研究,相互作用研究及其他方面的应用加以描述。作者课题组在这一领域的长期积累和已完成的工作作为基本内容和具体案例贯穿全书。

本书可供生命科学、化学及微机电加工(MEMS)等领域的科研、技术人员以及教师参考,也可作为高等院校、科研院所相关专业大学生和研究生的辅助教材。此外,本书还可供政府相关部门的管理人员阅读参考。

图书在版编目(CIP)数据

图解微流控芯片实验室/林炳承,秦建华著. —北京:科学出版社,2008
(图解版分析技术与实例丛书)

ISBN 978-7-03-022716-4

I. 图… II. ①林… ②秦… III. 分析(化学)—自动分析—芯片—图解
IV. O652.9-64

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008) 第 120084 号

责任编辑:杨 震/责任校对:张 琪

责任印制:钱玉芬/封面设计:王 浩

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2008 年 9 月第 一 版 开本: B5(720×1000)

2008 年 9 月第一次印刷 印张: 30 3/4

印数: 1—3 000 字数: 599 000

定价: 78.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈双青〉)

序

去冬今春,科学出版社杨震先生多次约稿,希望能以图解形式出版一本关于微流控芯片实验室的著作,以期在更大范围内向读者介绍这一已经受到广泛关注的科学技术。我们接受了这一邀请。

这本新书和作者在2006年7月出版的专著《微流控芯片实验室》有两个重要区别,其一当然是形式,图解版易于给读者更多的直观感受;其二,也是更为重要的,则是内容。这本新书力图更充分地反映微流控芯片实验室在刚刚过去两年的急剧发展。两年前,同样是在2006年7月, *Nature* 杂志出版了一期包括七篇评述的芯片实验室专辑,其中的编者按称,它有可能成为“这一世纪的技术”。专著和专辑中七篇评述的作者来自不同的国家,有长期从事微流控芯片研究的积累,在同一时间从不同的角度对同一对象提出了基本一致的看法。其中的要点是:这是一种非常重要的科学技术,可能会产生全局性的影响,引发革命,但就整体而言,它仍处在发展前期。此后两年中,微流控芯片实验室的发展超越了以往的任何一个阶段。各国政府竞相投入,研究队伍不断扩大,论文数目迅速增加,已经出现了产业化初期的种种迹象。同样是在这两年,作者课题组基本完成了以微流控芯片、芯片工作站和单元部件构建为目标的“原始积累”,开始把更多的精力集中于以社会重大需求为背景的应用基础研究,所有的成果大大丰富充实了这本新书的内容。

这本书由我们及我们的同事和学生共同完成,参与者的名字列于文前,其中高雁同学作了大量协调工作,兢兢业业。全书从思想内容到逻辑文字都经过反复推敲、再三斟酌,并坚持以作者实验室的工作贯穿始终,字里行间渗透着来自第一线劳作的艰辛。我们希望,这本书能有助于加强广大读者对这一科学技术的进一步了解。

感谢科技部“973”、“863”、国家科技支撑计划项目、国家自然科学基金委员会重点及重大基金项目、中国科学院和大连化学物理研究所创新项目的支持,感谢社会各界和广大读者在《微流控芯片实验室》一书出版后对课题组的诸多关心和热情鼓励。此外,本书引用了国内外学者的部分相关工作,在此一并表示衷心的感谢!

TEKEL 廖建华

目 录

序	
第1章 绪论	1
1.1 基本概念	4
1.2 相关称谓	6
1.2.1 微全分析系统	6
1.2.2 生物芯片	8
1.2.3 微阵列芯片	10
1.3 发展简史	12
1.4 微流控芯片的基本特征	14
1.5 微尺度下流体的基本特征	14
1.5.1 层流	16
1.5.2 传质	16
1.5.3 电渗	18
1.5.4 传热	18
1.5.5 相变	20
1.6 应用领域	20
1.6.1 化学	22
1.6.2 生物学和医学	24
1.6.3 光学	26
1.6.4 信息学	28
参考文献	30
第2章 芯片材料与芯片制作技术	31
2.1 常用微流控芯片材料与性能	32
2.2 芯片制作环境	34
2.3 硅、玻璃和石英芯片的制作	34
2.3.1 薄膜材料和沉积技术	36
2.3.2 光刻掩膜的制作方法	36
2.3.3 光刻的一般步骤	36
2.3.4 腐蚀方法及特性	40
2.3.5 去胶方法	40
2.4 硅、玻璃和石英芯片的打孔方法	42

2.5 硅、玻璃和石英芯片的封接流程.....	42
2.6 硅、玻璃和石英芯片的评估方法.....	44
2.7 高分子聚合物芯片的制作.....	46
2.7.1 热压法制作流程.....	46
2.7.2 模塑法制作流程.....	48
2.7.3 注塑法制作流程.....	48
2.7.4 LIGA 技术制作流程.....	50
2.7.5 激光烧蚀法制作流程.....	50
2.7.6 软光刻法制作流程.....	50
2.8 高分子聚合物芯片的打孔方法.....	52
2.9 高分子聚合物芯片的封接流程.....	52
2.10 高分子聚合物芯片评估方法.....	54
参考文献.....	60
第3章 表面改性技术	63
3.1 表面改性技术概述.....	64
3.2 玻璃和石英芯片的表面改性.....	66
3.2.1 动态改性.....	68
3.2.2 硅烷化反应.....	68
3.3 热塑性聚合物芯片的表面改性.....	70
3.3.1 本体掺杂.....	70
3.3.2 动态改性.....	72
3.3.3 聚合诱导接枝.....	72
3.4 固化型聚合物芯片的表面改性.....	74
3.4.1 本体掺杂.....	76
3.4.2 共价偶联.....	76
3.4.3 聚合诱导接枝.....	78
3.4.4 吸附-交联.....	78
3.5 表面改性的表征技术.....	80
参考文献.....	84
第4章 微流体驱动与控制技术	87
4.1 微流体驱动.....	88
4.2 机械驱动.....	88
4.2.1 气动微泵驱动.....	88
4.2.2 离心力驱动.....	92

4.2.3 压电微泵驱动	94
4.3 非机械驱动	96
4.3.1 电渗驱动	96
4.3.2 热气微泵驱动	96
4.3.3 光学捕获微泵驱动	98
4.4 微流体控制	100
4.5 电渗控制	100
4.6 微阀控制	100
4.6.1 无源阀控制	102
4.6.2 有源阀控制	104
4.7 程序编制	106
参考文献	108
第 5 章 进样和样品预处理技术	111
5.1 液态样品进样	114
5.1.1 区带样品进样	114
5.1.2 液滴样品进样	124
5.1.3 连续样品进样	126
5.2 气/固态样品进样	126
5.3 芯片实验室各种进样方式一览	128
5.4 萃取	130
5.4.1 固相萃取	130
5.4.2 液液萃取	134
5.5 过滤	136
5.6 膜分离	136
5.6.1 膜过滤	136
5.6.2 渗析	140
5.7 等速电泳	142
5.8 场放大堆积	142
5.9 芯片实验室各种预处理手段一览	144
参考文献	145
第 6 章 微混合和微反应技术	147
6.1 微混合	148
6.2 微混合器	150
6.3 被动式微混合器	150

6.3.1 并行叠片微混合器	150
6.3.2 串联叠片微混合器	152
6.3.3 混沌对流微混合器	152
6.3.4 液滴微混合器	156
6.4 主动式微混合器	156
6.4.1 磁力搅拌型微混合器	156
6.4.2 声场促进型微混合器	158
6.4.3 电场促进型微混合器	158
6.5 微反应和微反应器	160
6.6 微反应器分类	160
6.7 微化学反应器	160
6.7.1 按相分类	160
6.7.2 按样品衍生与分离的相对顺序分类	166
6.7.3 特殊微化学反应器示例	170
6.7.4 高通量微反应器示例	172
6.8 微型生物反应器	174
6.9 聚合酶链反应	174
6.9.1 PCR 芯片的制作	178
6.9.2 芯片 PCR 反应分类	182
6.9.3 芯片 PCR 集成	186
6.10 免疫反应	194
6.10.1 免疫反应的分类	194
6.10.2 均相免疫反应	194
6.10.3 非均相免疫反应	198
参考文献	208
第7章 微分离技术	215
7.1 概述	216
7.2 电泳分离的基本问题	218
7.2.1 电泳的谱带迁移	218
7.2.2 电泳的谱带展宽	218
7.3 芯片电泳分离常见模式	220
7.3.1 一维芯片电泳	220
7.3.2 多维芯片电泳	240

参考文献	244
第8章 液滴技术	247
8.1 液滴的形成	248
8.2 液滴的优点	250
8.3 液滴的操控技术	252
8.3.1 反应物引入	252
8.3.2 液滴的融合和分裂	254
8.3.3 液滴身份标记	256
8.3.4 液滴内涵物分析	256
8.3.5 液滴分选	258
8.3.6 液滴存储	258
8.4 液滴的表面处理	258
8.5 多层液滴	260
8.6 液滴的应用示例	262
8.6.1 蛋白质结晶研究	262
8.6.2 酶反应	264
8.6.3 细胞和模式生物研究	264
8.6.4 微颗粒材料制备	268
8.6.5 复杂过程的模拟	268
8.6.6 液滴在信号编码中的应用	270
参考文献	273
第9章 检测技术	275
9.1 微流控芯片对检测的特殊要求	276
9.2 微流控芯片检测分类	278
9.3 激光诱导荧光检测	278
9.3.1 常规单通道激光诱导荧光检测	280
9.3.2 常规多通道激光诱导荧光检测	280
9.3.3 微型化激光诱导荧光检测示例	284
9.4 紫外吸收光度检测	284
9.4.1 紫外吸收光度检测芯片的特殊要求	286
9.4.2 单点紫外吸收光度检测	288
9.4.3 全通道成像紫外吸收光度检测	288
9.5 化学发光检测	290
9.5.1 单通道化学发光检测	290

9.5.2 多通道化学发光检测	290
9.6 电化学检测	292
9.6.1 安培检测	292
9.6.2 电导检测	296
9.6.3 电势检测	298
9.6.4 复合式电化学检测	298
9.7 质谱检测	298
9.7.1 芯片与质谱的接口	300
9.7.2 芯片/质谱应用	304
9.8 等离子体发射光谱检测	306
9.9 热透镜检测	306
9.10 生物传感器检测	308
9.11 各种检测方法一览	310
参考文献	311
第 10 章 微流控芯片实验室在核酸研究中的应用	315
10.1 基因突变检测	316
10.1.1 点突变检测	316
10.1.2 基因重排检测	324
10.1.3 基因甲基化检测	326
10.2 基因分型检测	326
10.2.1 单核苷酸多态性检测	326
10.2.2 短串联重复序列多态性检测	332
10.3 DNA 测序	338
10.4 病原体基因检测	342
10.5 DNA 计算机	348
10.5.1 DNA 计算和 DNA 计算机	348
10.5.2 微流控芯片 DNA 计算机	352
参考文献	358
第 11 章 微流控芯片实验室在蛋白质研究中的应用	361
11.1 微流控芯片蛋白质分析技术	364
11.1.1 蛋白质样品预处理	364
11.1.2 蛋白质的分离	374
11.2 微流控芯片在蛋白质分析中的应用	380
11.2.1 蛋白质的性质鉴定	380

11.2.2 蛋白质的结构分析	382
11.2.3 蛋白质的功能研究	384
11.2.4 蛋白质实际样品分析	394
参考文献	396
第 12 章 微流控芯片实验室在离子和小分子研究中的应用	399
12.1 离子	400
12.1.1 离子分析流程	400
12.1.2 离子分离模式	402
12.2 手性分子	406
12.2.1 基本概念	406
12.2.2 手性拆分	408
12.2.3 手性合成	412
12.2.4 手性合成-手性拆分集成	414
12.3 代谢物	414
12.3.1 代谢物的一般分析方法	416
12.3.2 代谢物的分析应用	420
参考文献	426
第 13 章 微流控芯片实验室在细胞研究中的应用	431
13.1 概述	432
13.2 细胞研究中的微流控芯片单元技术	434
13.2.1 细胞培养	434
13.2.2 细胞分选	436
13.2.3 细胞捕获	450
13.2.4 细胞裂解	456
13.3 微流控芯片在细胞研究中的应用	460
13.3.1 细胞状态研究	460
13.3.2 细胞功能研究	462
13.3.3 细胞组分研究	464
13.4 微流控芯片细胞研究应用示例: 微流控芯片细胞水平药物 筛选	466
参考文献	469
附录 本书涉及的量与单位符号简表	474
结语	475

第1章 绪 论

1.1 基本概念

1.2 相关称谓

1.3 发展简史

1.4 微流控芯片的基本特征

1.5 微尺度下流体的基本特征

1.6 应用领域

第1章 绪 论

微流控芯片实验室(图 1-1)是本世纪一项重要的科学技术,可能成为现代科技文明不可或缺的组成部分,对人类整体文明的发展进程产生影响。

现代科技文明发展的主旋律之一是微型化和集成化。手机越来越小,集成功能越来越多;电脑 CPU 线宽越来越窄,信息处理能力越来越强;通信、iPod、PDA、移动式 E-mail、电子地图和掌上影院已经可以集成到一种名为 iPhone 的设备上,这个被《时代》杂志评为 2007 年世界十大科技发明之首的 iPhone 其尺寸仅有 115 mm×61 mm×11.6 mm。

这些以微型或集成为根本特征的科技成果已经使人们相隔千里就可以无障碍通话,足不出户就可以办公,野外荒郊也可以看电影。人们开始作更多的设想,比如,有没有可能把疾病诊断设备,甚至整个医院的检验系统都微缩并集成到一个便携式的装置内;有没有可能在厨房内放一个手机大小的装置,随时监测饮用水、牛奶、果汁等是否合格或者水果和蔬菜的农药残留物是否超标……如果这样,人们就可以随时随地检测病情,毫无顾忌地享用美食,生活质量因此大幅提高,甚至生活方式都将发生改变。

微流控芯片实验室具备将一个生物或化学实验室微缩到一块只有几平方厘米薄片上的能力,它很可能使人们上述美好的愿景成为现实。2004 年,美国 *Business 2.0* 杂志封面文章将微流控芯片列为“改变世界”的七种技术之一,2006 年 *Nature* 杂志就这种可能成为“这一世纪的技术”推出专辑(图 1-2)。

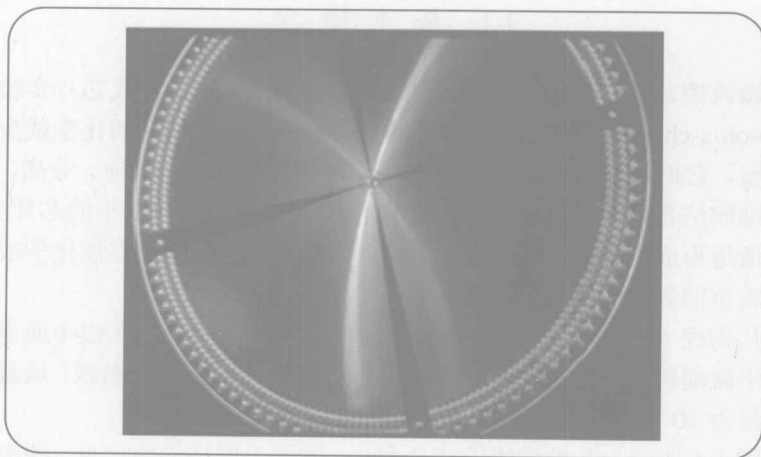


图 1-1 一种典型的微流控芯片

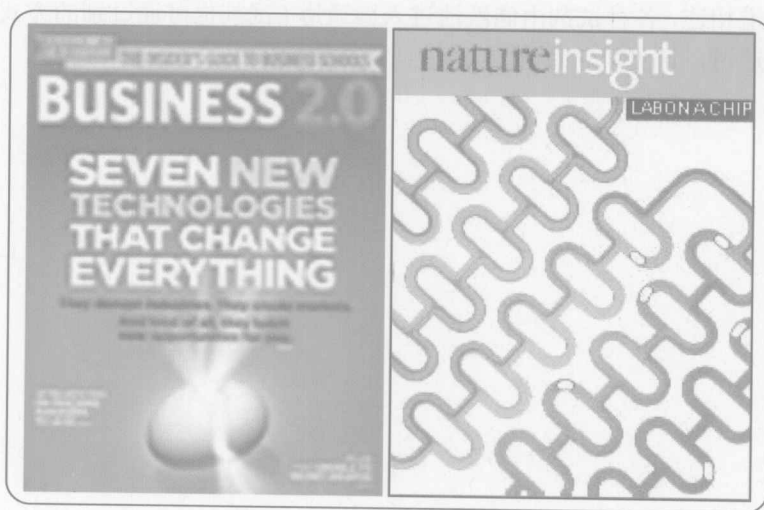


图 1-2 *Business 2.0* 杂志 2004 年第 5 卷 8 期封面和 *Nature* 杂志 2006 年芯片实验室专辑封面

1.1 基 本 概 念

微流控芯片实验室又称微流控芯片 (microfluidics) 或芯片实验室 (lab-on-a-chip), 指的是在一块几平方厘米的芯片上构建的化学或生物实验室。它把化学和生物等领域中所涉及的样品制备、反应、分离、检测, 细胞培养、分选、裂解等基本操作单元集成到一块很小的芯片上, 由微通道形成网络, 以可控流体贯穿整个系统, 用以实现常规化学或生物实验室的各种功能 (图 1-3) [1]。

从物理上说, 微流控芯片是一种操控微小体积的流体在微小通道或构件中流动的系统, 其中通道和构件的尺度为几十到几百微米, 承载流体的量为 $10^{-9} \sim 10^{-18}$ L。

图 1-4 所示为几种微流控芯片图片, 微通道网络清晰可见。图中红色箭头指示微通道网络。1 号芯片旁为一硬币, 2、3 和 4 号芯片被小镊子夹取。1 号芯片由塑料制成, 2 号和 3 号芯片由石英制成, 4 号芯片由玻璃制成。黄色箭头指示存储各种试剂溶液的储液池, 储液池和芯片微通道相连, 各种试剂由储液池进入微通道 (试剂也可通过别的方式进入微通道, 详见第 5 章)。

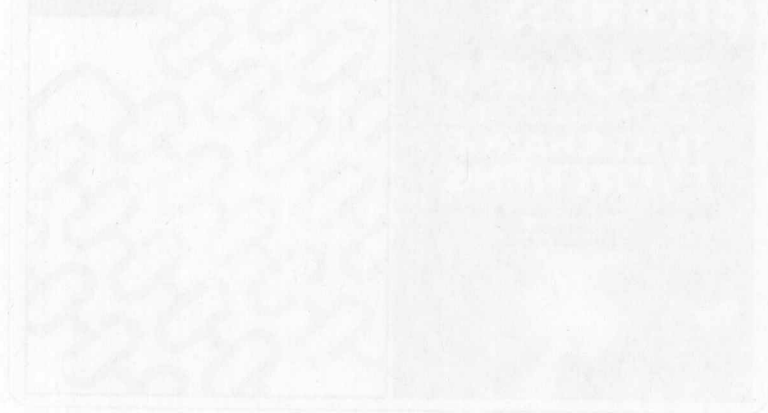


图 1-4 几种微流控芯片图片, 微通道网络清晰可见

1. 塑料芯片 2. 石英芯片 3. 石英芯片 4. 玻璃芯片



图 1-3 “微流控芯片实验室”概念展示，数字代表不同的操作单元

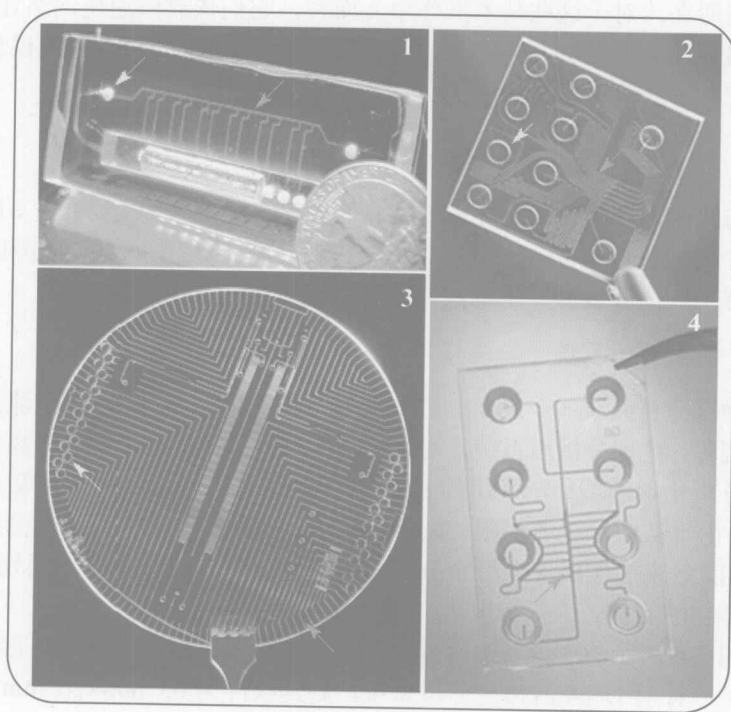


图 1-4 各式各样的微流控芯片

微流控芯片实验室各个操作单元通过微通道网络内流体的流动相互联系。设计适当结构的微通道网络,使流体在该微通道网络内按一定的方式流动,微流控芯片就可以从整体上实现特定的功能。

图 1-5 所示为几种常见的微流控芯片操作单元。(a) 为样品区带生成单元,通过一个十字交叉结构,可以很容易地在芯片上产生一个样品区带。一般而言,样品区带的产生是分离分析的前提条件。(b) 为浓度梯度生成单元,两种不同的溶液分别从 A、B 入口流入网络,经多次分流-混合,在出口端可以形成一个浓度梯度。这种浓度梯度的产生对血管生成、组织器官的分化等研究具有重要意义。(c) 为细胞固定单元^[2],利用这种单元可以很容易地在芯片上形成单细胞阵列,如照片所示。(d) 为液滴生成单元,当水相和油相的流速为一定比例时,水相可以在油相中形成液滴,这种液滴可以承载各种生化反应。

从上述几例可以看出,流动方式和微通道网络在很大程度上决定了它的功能,灵活的微通道网络设计是微流控芯片基本单元操作设计的一个关键所在。对于这些基本操作单元而言,它们依靠微通道网络连接,使网络连接通畅运行的关键部件是微泵微阀,微泵微阀也是大规模集成微流控芯片实验室得以形成的必要条件。

1.2 相关称谓

与微流控芯片实验室相关的称谓有微全分析系统、生物芯片、微阵列芯片等。这些称谓常见于各种科技材料和媒体报道中,它们文字相似,意义有别,读者容易产生混淆。本书在此对这些称谓进行说明。

1.2.1 微全分析系统

微全分析系统(μ -TAS)是以样品分析为最终目标的一类微流控芯片的统称。这种分析用系统尺寸微小,可以集成样品预处理、分离和检测等分析化学领域广泛采用的各种操作单元。在微流控芯片诞生后的前几年,由于认识水平的局限,微全分析系统和微流控芯片两个概念经常被混用,后来的实践证明微全分析系统只是微流控芯片的一个类别,而远不是它的全部。

图 1-6 所示为作者实验室开发的一组分析用芯片,箭头所指芯片即作为一种以针对 DNA 的微全分析系统,芯片尺寸为 63 mm×20 mm,集成了 DNA 萃取、PCR 扩增和电泳分离操作单元。