

纳米科学与技术



微纳流控芯片实验室

林炳承 著

 科学出版社

013067046



国家出版基金项目
NATIONAL PUBLICATION FOUNDATION

0652.9
05

纳米科学与技术

微纳流控芯片实验室

林炳承 著



科学出版社

北京



北航

C1674753

065-2.9
05

01308704C

内 容 简 介

本书共分 15 章,包括微流控芯片的各种基础技术和主要应用,其中,对近年来研究团队极为专注并颇有贡献的液滴芯片、纸芯片和器官芯片等新兴技术以及芯片在模式生物、微纳材料等重要领域的应用,都安排专门章节,予以重点介绍。书中提供的大量案例和彩图,全部来源于作者研究团队成员的一线工作。

绪论为全书之纲。作者力图以全新视角并从战略高度,诠释对这一新兴科学技术的理解和展望,既浓缩了积累,更倾注了心血。前言和后记则系倾力而成,阐明背景,传达思想,是全书的重要组成部分。

本书可供化学、生命科学和材料科学各分支学科以及机电系统(MEMS)加工等领域的科研和技术人员阅读,也可作为高校、科研院所相关专业研究生的教材。

图书在版编目 CIP 数据

微纳流控芯片实验室 / 林炳承著. —北京:科学出版社,2013

(纳米科学与技术 / 白春礼主编)

ISBN 978-7-03-038354-9

I. ①微… II. ①林… III. ①化学分析-自动分析-芯片-研究
IV. ①O652.9

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 192497 号

丛书策划: 杨 震 / 责任编辑: 杨 震 刘 冉 / 责任校对: 朱光兰
责任印制: 钱玉芬 / 封面设计: 陈 敬

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>

中国科学院印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2013 年 9 月第 一 版 开本: B5 (720×1000)

2013 年 9 月第一次印刷 印张: 29 插页: 4

字数: 580 000

定价: 128.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《纳米科学与技术》丛书编委会

顾 问 韩启德 师昌绪 严东生 张存浩

主 编 白春礼

常务副主编 侯建国

副主编 朱道本 解思深 范守善 林 鹏

编 委 (按姓氏汉语拼音排序)

陈小明 封松林 傅小锋 顾 宁 汲培文 李述汤

李亚栋 梁 伟 梁文平 刘 明 卢秉恒 强伯勤

任咏华 万立骏 王 琛 王中林 薛其坤 薛增泉

姚建年 张先恩 张幼怡 赵宇亮 郑厚植 郑兰荪

周兆英 朱 星

《纳米科学与技术》丛书序

在新兴前沿领域的快速发展过程中,及时整理、归纳、出版前沿科学的系统性专著,一直是发达国家在国家层面上推动科学与技术发展的重要手段,是一个国家保持科学技术的领先权和引领作用的重要策略之一。

科学技术的发展和应用,离不开知识的传播:我们从事科学研究,得到了“数据”(论文),这只是“信息”。将相关的大量信息进行整理、分析,使之形成体系并付诸实践,才变成“知识”。信息和知识如果不能交流,就没有用处,所以需要“传播”(出版),这样才能被更多的人“应用”,被更有效地应用,被更准确地应用,知识才能产生更大的社会效益,国家才能在越来越高的水平上发展。所以,数据→信息→知识→传播→应用→效益→发展,这是科学技术推动社会发展的基本流程。其中,知识的传播,无疑具有桥梁的作用。

整个 20 世纪,我国在及时地编辑、归纳、出版各个领域的科学技术前沿的系列专著方面,已经大大地落后于科技发达国家,其中的原因有许多,我认为更主要的是缘于科学文化的习惯不同:中国科学家不习惯去花时间整理和梳理自己所从事的研究领域的知识,将其变成具有系统性的知识结构。所以,很多学科领域的第一本原创性“教科书”,大都来自欧美国家。当然,真正优秀的著作不仅需要花费时间和精力,更重要的是要有自己的学术思想以及对这个学科领域充分把握和高度概括的学术能力。

纳米科技已经成为 21 世纪前沿科学技术的代表领域之一,其对经济和社会发展所产生的潜在影响,已经成为全球关注的焦点。国际纯粹与应用化学联合会(IUPAC)会刊在 2006 年 12 月评论:“现在的发达国家如果不发展纳米科技,今后必将沦为第三世界发展中国家。”因此,世界各国,尤其是科技强国,都将发展纳米科技作为国家战略。

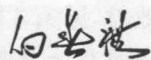
兴起于 20 世纪后期的纳米科技,给我国提供了与科技发达国家同步发展的良好机遇。目前,各国政府都在加大力度出版纳米科技领域的教材、专著以及科普读物。在我国,纳米科技领域尚没有一套能够系统、科学地展现纳米科学技术各个方面前沿进展的系统性专著。因此,国家纳米科学中心与科学出版社共同发起并组织出版《纳米科学与技术》,力求体现本领域出版读物的科学性、准确性和系统性,全面科学地阐述纳米科学技术前沿、基础和应用。本套丛书的出版以高质量、科学性、准确性、系统性、实用性为目标,将涵盖纳米科学技术的所有领域,全面介绍国内外纳米科学技术发展的前沿知识;并长期组织专家撰写、编辑出版下去,为我国

纳米科技各个相关基础学科和技术领域的科技工作者和研究生、本科生等,提供一套重要的参考资料。

这是我们努力实践“科学发展观”思想的一次创新,也是一件利国利民、对国家科学技术发展具有重要意义的大事。感谢科学出版社给我们提供的这个平台,这不仅有助于我国在科研一线工作的高水平科学家逐渐增强归纳、整理和传播知识的主动性(这也是科学研究回馈和服务社会的重要内涵之一),而且有助于培养我国各个领域的人士对前沿科学技术发展的敏感性和兴趣爱好,从而为提高全民科学素养作出贡献。

我谨代表《纳米科学与技术》编委会,感谢为此付出辛勤劳动的作者、编委会委员和出版社的同仁们。

同时希望您,尊贵的读者,如获此书,开卷有益!



中国科学院院长

国家纳米科技指导协调委员会首席科学家

2011年3月于北京

前言

2011年初,科学出版社杨震先生再度约稿,希望能出版关于微流控芯片的第三部著作,用以及时反映这一科学技术近年来的急剧发展,并据此答谢广大读者对作者所著的前两本书(2006年《微流控芯片实验室》和2008年《图解微流控芯片实验室》)的鼓励厚爱。几经犹豫,终于没有推辞。

已经清稿的第三本书“微纳流控芯片实验室”是前两本书的续篇,全书三分之二以上的内容涉及作者研究团队2008年以后的工作,特别是在前沿分支取得的重要成果。对于团队而言,“后2008”是一个非常重要的阶段,发展趋于成熟,积累日益丰富;全面地把团队成员的开拓性工作进行认真梳理,准确表达,既是责任,也是需要。实际上,连同本书在内的三部微流控芯片专著所涉及的作者研究团队工作的总和,忠实记录并完整概括了团队在一个重要新兴科学技术领域十四五年的研究历史,这段历史对中国乃至国际上的相关研究,颇有影响,在很多前沿分支,举足轻重。作者几十名不同专业背景的博士/硕士研究生和博士后为主体构成的这一时期团队成员名单列于文前。他们是中国第一代微流控芯片研究队伍的重要组成部分,他们的工作,和国内其他团队在同一时期的工作一起,构筑了中国微流控芯片研究和开发的基础。

本书共分15章,包括液滴、纸芯片、器官芯片、模式生物和微纳材料等近年来团队极为专注并颇有贡献的全新内容,以及在微纳流控等更小尺度上的初步探索。重新撰写的绪论力图从十多年一线工作的积累出发,以崭新的视角,诠释作者对这一新兴科学技术的理解和展望,而书中提供的大量案例和彩图,则全部来源于作者团队成员的前瞻性工作。全书顾及了从思想、内容到逻辑、文字的方方面面,反复推敲,再三斟酌,力求引证梳理兼有,综合分析并重,迹浅意深,言近旨远,特别是,秉承前两本书的风格,以研究团队的工作贯穿始终,字里行间渗透着来自第一线劳作的艰辛。

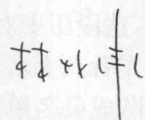
微流控芯片在学术研究层面上已经成功,正在向纳米尺度逐渐靠拢;它的产业化进程也已经开始,尽管稍有迟缓。整体而言,微流控芯片正处于从基础研究向大规模应用转移的重要时期,并准备接纳更多的从不同专业涌入芯片研究和开发的人潮。本书一个非常朴素的目标是,向更多的人介绍微流控芯片的来龙去脉,让更多的人分享作者研究团队的点点滴滴,把事情普及开来,在普及中寻求提高。

从某种意义上来说,微流控芯片已发展成为一门学科,学科形成是发展持续性的保证。学科连同支撑它的基础,都需要积累。积累是一个过程,过程有可能加快,

但永远无法略过。“微纳流控芯片实验室”作为过程中的一个环节,参与了这样一种学科积累,也因此对微流控芯片的发展作出了自身的贡献。

从本书起笔到清稿的一年多时间,正值作者研究团队重组的关键时期,风风雨雨。就在这一年多时间里,作者和一批以海归的原团队成员为主体的青年博士一起,在一批有识之士的帮助和支持下,先后在中国科学院大连化学物理研究所、大连理工大学和大连医科大学组建了微流控芯片基础研究实验室和基于微流控芯片的药学、材料学、医学研究实验室,并组合形成芯片实验室研究大连中心。这样一个理工医多学科交叉的研究中心开始承接科技部、国家自然科学基金委员会和中国科学院的一批重要项目,扬帆启程。

谢谢科技部、国家自然科学基金委员会、中国科学院大连化学物理研究所和大连理工大学对作者研究团队的支持,谢谢芯片实验室研究中心同事们的鼓励,谢谢国家出版基金和大连市人民政府的资助以及大连理工大学李晓瑞等同学在书稿整理阶段给予的技术上的帮助。我谨代表研究团队的全体成员,以此书奉献给对这个领域予以关注的广大读者。



2013年5月4日于大连

林炳承微流控芯片研究团队成员名单(1999—2012)

林炳承

博士研究生

王 辉	盖宏伟	何新亚	王 刚	周小棉	毛秀丽
秦建华	梁爱叶	姜 雷	刘大渔	罗 勇	龙志成
吴大朋	沈 铮	刘 欣	刘晓君	钟润涛	於林芬
黄淮青	马 波	高 雁	解 华	李博伟	叶因楠
张 宇	曾绍江	陆 瑶	李春宇	孔 静	施维维
潘小艳	黄术强	张清泉			

硕士研究生

张国豪 马 慧 肖良品

博士后

王 琪 刘婷姣 于 浩 王品虹 叶嘉明 刘开颖
刘显明 郑国侠

工作人员

戴忠鹏 时 蔚 肖 琳 李艳峰 张旭朗

目 录

《纳米科学与技术》丛书序

前言

第 1 章 绪论	1
1.1 微流控芯片的研究背景	1
1.2 微流控芯片的战略意义	2
1.3 林林总总的微流控芯片实验室	2
1.4 基于微流控芯片的微流体力学	4
1.5 纳流动和纳流控芯片	5
1.6 微流控芯片和产业转型	5
参考文献	6
第 2 章 一般芯片材料与芯片制作技术	7
2.1 常用微流控芯片材料与性能	7
2.2 芯片制作环境	9
2.3 硅、玻璃和石英芯片的制作和评估	10
2.3.1 薄膜材料和沉积技术	10
2.3.2 光刻掩模的制作	10
2.3.3 光刻的一般步骤	11
2.3.4 腐蚀方法及特性	12
2.3.5 去胶	13
2.3.6 打孔	13
2.3.7 封接	13
2.3.8 硅、玻璃和石英芯片的评估(案例一)	15
2.4 高分子聚合物芯片的制作和评估	17
2.4.1 热压法	17
2.4.2 模塑法	17
2.4.3 注塑法	19
2.4.4 LIGA 技术	19
2.4.5 激光烧蚀法	20
2.4.6 软光刻法	20
2.4.7 打孔	22

2.4.8 封接	22
2.4.9 高分子聚合物芯片评估(案例二)	22
2.5 水凝胶聚合物芯片的研制(案例三)	24
2.5.1 水凝胶	24
2.5.2 水凝胶立体微图案	25
2.5.3 水凝胶立体微图案用于细胞培养	26
2.5.4 水凝胶平面微图案	27
2.5.5 以水凝胶为基础材料的微流控芯片	30
2.5.6 水凝胶芯片中细胞共培养	32
参考文献	33
第3章 纸质芯片材料与芯片制作技术	36
3.1 纸质微流控芯片	36
3.2 二维微流控纸芯片的制作	37
3.2.1 光刻法	37
3.2.2 绘图法	37
3.2.3 打印法	38
3.2.4 其他制作方法	38
3.3 三维纸质微流控芯片的制作	39
3.3.1 双面粘贴法	39
3.3.2 折叠压紧法	39
3.3.3 喷胶粘贴法	40
3.4 纸质微流控芯片的检测	40
3.4.1 比色检测	40
3.4.2 电化学检测	40
3.4.3 化学发光检测	41
3.4.4 电化学发光检测	41
3.4.5 免疫检测	42
3.5 喷蜡打印硝酸纤维素膜纸质微流控芯片研制(案例一)	43
3.5.1 硝酸纤维素膜	43
3.5.2 喷蜡打印制备硝酸纤维素膜纸芯片流程	44
3.5.3 喷蜡打印制备硝酸纤维素膜纸芯片条件优化	45
3.5.4 硝酸纤维素膜纸芯片的性能考察	45
3.5.5 硝酸纤维素膜纸芯片在蛋白质包被中的应用	48
3.6 以硝酸纤维素膜纸芯片为基质研制液塑 PDMS 芯片(案例二)	49
3.6.1 用硝酸纤维素膜纸芯片液塑制备 PDMS 芯片的流程	50

3.6.2 用硝酸纤维素膜纸芯片制备 PDMS 微孔	51
3.6.3 用硝酸纤维素膜纸芯片制备 PDMS 微通道	51
参考文献	53
第 4 章 微流体控制与驱动技术	56
4.1 微流体控制	56
4.1.1 电渗控制	56
4.1.2 微阀控制	58
4.2 微流体驱动	63
4.2.1 气动微泵驱动	63
4.2.2 电渗驱动	65
4.2.3 离心力驱动	66
4.2.4 单步往复流离心力驱动系统(案例一)	67
4.3 微阀微泵驱动控制(案例二)	69
4.3.1 芯片的制备	69
4.3.2 微阀微泵的程序控制	71
4.3.3 微泵微阀驱动控制的穿梭流混合效果验证	72
参考文献	73
第 5 章 进样及样品前处理技术	75
5.1 进样	75
5.1.1 单通道辅助进样(案例一)	75
5.1.2 多通道辅助进样(案例二)	80
5.2 样品前处理	82
5.2.1 固相萃取(案例三 A,B)	82
5.2.2 等速电泳(案例四)	92
5.2.3 膜分离(案例五)	93
参考文献	97
第 6 章 微混合和微反应技术	99
6.1 微混合和微混合器	99
6.1.1 微混合	99
6.1.2 微混合器	100
6.2 微化学反应和微化学反应器	108
6.2.1 微化学反应器的基本特征	108
6.2.2 不同的通道型微化学反应器	108
6.3 微型生物反应 I——聚合酶链反应	112
6.3.1 聚合酶链反应	112

6.3.2 集成微加热器/温度传感器 PCR-CE 芯片研制与性能考察(案例一)	113
6.3.3 集成 PCR-CE 芯片在乙肝病毒 DNA 分析中应用(案例二)	116
6.3.4 液滴数字 PCR 技术	120
6.4 微型生物反应 II ——免疫反应	120
6.4.1 免疫反应	120
6.4.2 酶免疫电泳芯片分析盐酸克伦特罗(案例三)	121
6.4.3 PDMS 固相载体/微阀(泵)芯片分析盐酸克伦特罗(案例四)	122
6.4.4 微珠免疫芯片分析睾酮(案例五)	125
参考文献	128
第 7 章 微分离技术	130
7.1 芯片分离的若干特点	130
7.2 电泳分离的基本问题	131
7.2.1 电泳的谱带迁移	132
7.2.2 电泳的谱带展宽	132
7.3 芯片电泳分离常见模式	132
7.3.1 一维芯片电泳(案例一 A,B,C,D)	132
7.3.2 多维芯片电泳(案例二)	147
参考文献	151
第 8 章 微液滴技术	153
8.1 微流控芯片液滴	153
8.2 微流控芯片液滴的特点	154
8.3 微流控芯片液滴生成及其操控(案例一 A)	155
8.3.1 基于“T”形结构芯片的液滴生成	155
8.3.2 基于“T”形结构微流控芯片液滴生成过程的操控	156
8.3.3 基于“流动聚焦”结构芯片的液滴生成	160
8.3.4 基于“流动聚焦”结构微流控芯片液滴生成的操控	160
8.4 微流控芯片液滴运行及其操控(案例一 B)	167
8.4.1 液滴内部的混合	167
8.4.2 液滴融合	170
8.4.3 液滴分裂	173
8.4.4 液滴分选	173
8.4.5 液滴捕获和存储	175
8.4.6 液滴身份标记	175
8.5 基于气动微阀的液滴操控(案例二)	177

8.5.1 微阀控制装置的设计和研制	177
8.5.2 微阀控制液滴生成	178
8.5.3 微阀控制液滴大小	178
8.5.4 微阀控制不同组成液滴生成	181
8.5.5 微阀控制液滴融合	183
8.6 基于电控的液滴破裂和液滴内涵物提取(案例三)	184
8.6.1 电控液滴破裂	184
8.6.2 电控液滴内涵物提取	186
8.7 微流控芯片数字液滴	187
8.7.1 电润湿现象和数字液滴	187
8.7.2 数字液滴芯片结构	189
8.7.3 数字液滴的一般操控	190
8.7.4 数字液滴的初级智能操控(案例四)	191
参考文献	194
第9章 检测技术	196
9.1 微流控芯片对检测的特殊要求	196
9.2 微流控芯片检测分类	197
9.3 激光诱导荧光检测	197
9.3.1 常规单通道激光诱导荧光检测(案例—A)	199
9.3.2 常规多通道激光诱导荧光检测(案例—B)	200
9.3.3 光电倍增管扫描检测(案例—C)	201
9.3.4 微型化激光诱导荧光检测示例	203
9.4 紫外吸收光度检测	204
9.4.1 紫外吸收光度检测芯片的特殊要求	205
9.4.2 单点紫外吸收光度检测	207
9.4.3 全通道成像紫外吸收光度检测	208
9.4.4 紫外吸收检测微流控芯片仪的研制和性能考察(案例二)	209
9.5 化学发光检测	212
9.5.1 单通道化学发光检测	213
9.5.2 多通道化学发光检测(案例三)	213
9.6 电化学检测	214
9.6.1 安培检测(案例四)	215
9.6.2 电导检测	218
9.6.3 电势检测	220
9.6.4 复合式电化学检测	220

9.7 质谱检测	221
9.7.1 芯片与质谱的接口	222
9.7.2 芯片/质谱应用(案例五)	225
9.8 等离子体发射光谱检测	226
9.9 热透镜检测	227
9.10 生物传感器检测	228
9.11 单分子荧光检测	230
9.12 各种检测方法一览	231
参考文献	232
第 10 章 微流控芯片在核酸研究中的应用	235
10.1 基因突变检测	235
10.1.1 点突变检测	235
10.1.2 基因重排检测	240
10.1.3 基因甲基化检测	241
10.2 基因分型	242
10.2.1 单核苷酸多态性检测	242
10.2.2 短串联重复序列多态性检测	246
10.3 DNA 测序	250
10.4 SARS 病毒和乙肝病毒的病原体基因检测(案例一,二)	252
10.4.1 SARS 病毒病原体基因检测(案例一)	252
10.4.2 乙肝病毒(HBV)病原体基因检测(案例二)	254
10.5 苯丙酮尿症的产前筛查和早期诊断(案例三)	255
10.6 微流控芯片 DNA 计算及其应用	258
10.6.1 DNA 计算及 DNA 计算机	258
10.6.2 三角形识别的微流控芯片 DNA 计算(案例四)	259
10.6.3 抗乳腺癌基因药物合成的微流控芯片 DNA 计算(案例五)	261
参考文献	265
第 11 章 微流控芯片在蛋白质研究中的应用	268
11.1 微流控芯片蛋白质分析技术	268
11.1.1 蛋白质样品预处理	269
11.1.2 蛋白质分离	280
11.2 微流控芯片在蛋白质分析中的应用	284
11.2.1 蛋白质性质鉴定	284
11.2.2 蛋白质结构分析	285
11.2.3 蛋白质功能研究(案例一,二,三)	288

11.2.4 蛋白质实际样品分析	295
参考文献	296
第 12 章 微流控芯片在离子和小分子研究中的应用	299
12.1 离子	299
12.1.1 离子分析流程	299
12.1.2 离子分离模式	301
12.2 手性分子	304
12.2.1 基本概念	304
12.2.2 手性拆分	304
12.2.3 手性合成	307
12.2.4 手性合成-手性拆分集成	307
12.3 代谢物	309
12.3.1 代谢物的一般分析方法	309
12.3.2 代谢物的分析应用	310
12.4 药物代谢物检测及毒性评价研究(案例)	313
12.4.1 芯片的设计与研制	314
12.4.2 芯片细胞培养和肝微粒体的固定	316
12.4.3 药物代谢物检测及代谢物诱导细胞毒效评价	316
参考文献	318
第 13 章 微流控芯片在细胞研究中的应用	320
13.1 细胞的微流控芯片	320
13.2 细胞研究中的微流控芯片单元技术	322
13.2.1 细胞培养	322
13.2.2 细胞分选	322
13.2.3 细胞捕获	325
13.2.4 细胞裂解	328
13.3 微流控芯片在细胞研究中的应用	329
13.3.1 细胞状态研究	329
13.3.2 细胞功能研究	330
13.3.3 细胞组分研究	331
13.4 抗肿瘤药物诱导细胞凋亡(案例一)	333
13.4.1 细胞凋亡分析微流控芯片设计与制作	333
13.4.2 阿霉素对肝癌细胞活性的影响	335
13.4.3 阿霉素诱导肝癌细胞凋亡	336
13.5 抗肿瘤药物高内涵筛选(案例二)	339

13.5.1	高内涵筛选微流控芯片设计与制作	340
13.5.2	微流控芯片抗肿瘤药物高内涵筛选	340
13.5.3	抗肿瘤药物高内涵筛选结果	344
13.6	肿瘤微环境构建及肿瘤侵袭研究(案例三 A)	345
13.6.1	三维细胞培养微流控芯片的设计和制备	346
13.6.2	三维基质内浓度梯度的生成	347
13.6.3	三维培养肿瘤细胞形态和活性的检测	347
13.6.4	EGF 诱导的肿瘤细胞在三维基质内的迁移	348
13.7	肿瘤细胞与间质细胞三维共培养及侵袭研究(案例三 B)	349
13.7.1	细胞三维共培养微流控芯片的设计制备	349
13.7.2	肿瘤细胞球的形成	350
13.7.3	CAF 诱导的肿瘤细胞球的侵袭	351
13.7.4	GM6001 抑制 CAF 诱导的肿瘤细胞球的侵袭	351
13.8	甲酰胺受体激动剂筛选(案例四)	353
13.8.1	甲酰胺受体介导的细胞趋化分析	354
13.8.2	甲酰胺受体内存吞分析	355
13.8.3	甲酰胺受体介导的钙离子释放分析	357
13.8.4	甲酰胺受体激动剂筛选结果	358
13.9	软骨组织培养以及不同生长因子的繁殖促进作用研究(案例五)	358
参考文献		361
第 14 章 微流控芯片在模式生物(线虫)研究中的应用		362
14.1	线虫的基本特征	362
14.2	用于线虫神经生物学研究的微流控芯片技术	364
14.2.1	通道微流控芯片	364
14.2.2	液滴微流控芯片	366
14.3	基于微流控芯片平台的线虫神经生物学研究	367
14.3.1	线虫行为研究	367
14.3.2	线虫神经系统研究	369
14.4	基于通道微流控芯片的神经毒素诱导线虫行为研究(案例一) ..	372
14.4.1	神经毒素诱导的单线虫神经元特征研究	372
14.4.2	神经毒素诱导的单线虫运动及神经元特征研究	374
14.5	基于液滴微流控芯片的神经毒素诱导下单个线虫运动行为研究 (案例二)	378