

纳流控富集技术

王俊尧 著



科学出版社

纳流控富集技术

王俊尧 著

国家自然科学基金青年科学基金项目(51505077)
吉林省科技发展计划优秀青年项目(20170520099JH)
吉林省教育厅“十三五”科学技术研究项目
(吉教科合字[2016]第 86 号)

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书主要介绍作者提出的电动纳流体富集机理及控制方法,该研究可用于描述纳米通道两端电动纳流体富集现象,探索纳米通道壁面电荷、尺寸、形状等物性参数的影响规律,并可以用来衡量电动离子富集倍率大小。全书共 6 章,主要包括以下内容:纳流控富集技术研究内容,微纳通道内电动离子输运理论,微纳通道内电动离子输运的算例,富集微纳流控芯片的制作,电动纳流体富集实验与免疫分析以及今后的研究要点。

本书可供微纳流控技术相关专业的研究生、高年级本科生和工程技术人员参考学习使用。

图书在版编目(CIP)数据

纳流控富集技术/王俊尧著. —北京:科学出版社,2018. 11

ISBN 978-7-03-059247-7

I. ①纳… II. ①王… III. ①纳米技术-应用-电流体力学-研究
IV. ①O361. 4-39

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2018)第 245676 号

责任编辑:孙伯元 / 责任校对:郭瑞芝

责任印制:张 伟 / 封面设计:蓝正设计

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>

北京九州迅驰传媒文化有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2018 年 11 月第 一 版 开本:720×1000 1/16

2018 年 11 月第一次印刷 印张:7 3/4

字数:156 000

定价:88.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

纳流体特征尺度介于量子力学与微流体力学的研究尺度之间。将纳流体与微流体相结合,利用二者结构特征尺寸在限域内变化引起的流阻和双电层等物理特征跃迁产生的跨尺度效应,可以实现微量进样、高倍富集、纯化、DNA 快速分离等功能。其中,微纳流控芯片中的电动纳流体富集是目前的研究重点之一,研究者利用各种微纳流控芯片,获得对诸多蛋白大分子的百万倍以上富集以及荷电小分子的千倍左右富集,提高了系统检测灵敏度。电动纳流体富集在免疫检测、酶促反应等方面得到应用,并有望应用于癌症早期痕量标志物检测。然而,电动纳流体富集机理的研究尚处于起步阶段,缺乏将高密度纳米结构集成到微米结构中的制作工艺,严重影响了电动纳流体富集的性能,这些不足为新理论、新方法、新工艺的研究提供了空间。

本书以排斥富集理论为基础,提出一种通过调控给定面积内孔数量实现增强富集倍率的方法,其基本原理是采用不同的聚丙烯酰胺凝胶配比以获得不同尺寸的纳米孔结构,进而获得不同强度的双电层排斥效应,最终实现增强富集倍率的方法。以此方法为基础,建立以电泳-电渗流相对通量衡量富集倍率的指标,通过理论研究揭示给定面积内孔数量变化对电动纳流体富集倍率的影响规律。采用包含不同孔数量的微纳流控芯片进行电动纳流体富集实验,验证通过调节给定面积内孔数量可以增强异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)和牛血清蛋白的富集倍率。该方法相对于已有方法的最大优点是以理论为指导、实验为依据,二者相辅相成实现了理论与实验的完美结合,最终找到了有效提供富集倍率的方法。

本书为了保障电动纳流体富集实验的顺利开展,提出一种制作集成聚丙烯酰胺凝胶玻璃微纳流控芯片的方法,利用光刻、腐蚀、热键合等微加工技术和基于聚丙烯酰胺凝胶的光敏聚合反应,实现在玻璃微米通道内集成

聚丙烯酰胺凝胶纳米塞,从而获得凝胶-玻璃微纳流控芯片。研制三种配比(丙烯酸酰胺单体和交联剂配比分别为 19 : 1、14 : 1、9 : 1)的聚丙烯酰胺凝胶纳米塞,该凝胶孔径随着交联剂比例的增加而缩小,给定面积内孔数量从 1.2 个/ $100\mu\text{m}^2$ 增加到 2.4 个/ $100\mu\text{m}^2$ 。该方法相对于已有方法的最大优点是实现了微纳结构的有机结合,避免制造过程中由纳米结构导致的二次套刻或微纳装配所引起的技术壁垒,简化制造工艺,具有操作简单、成本低廉、重复性好等特点。

本书为了验证理论方面的研究成果、微纳加工工艺的可能性和芯片性能的优劣,利用激光诱导荧光法开展电动纳流体富集实验,研究给定面积内孔数量和外加电压对电动纳流体富集性能的影响。结果表明:增加给定面积内孔数量和一定范围内增大外加电压有助于提高富集倍率,10nmol/L FITC 的富集倍率可提升 600 倍,0.002ng/mL FITC 标记的牛血清蛋白可实现较高倍率的富集。该实验结果相对于已有成果的最大优点是采用具有纳米网状结构的聚丙烯酰胺凝胶代替纳米通道开展富集实验,大幅提供富集稳定性,而且突破之前报道的蛋白百万量级的富集倍率。同时,提出一种电化学势驱动离子富集的方法,该方法利用不同电极还原性差异产生电化学势,在没有外加电源的条件下,实现微纳流控芯片中的离子富集,基于 Al-Pt、Fe-Pt、Cu-Pt 电极离子富集荧光强度分别为 40.2、27.1、15.0。该方法相对于已有方法的最大优点是实现了电动纳流体在无外部电源条件下的富集,大大缩小实验装置的体积,为电动纳流体富集技术小型化提供一个新思路。此外,开展电动纳流体富集应用实验——抗体抗原免疫反应,分别采用 FITC 标记兔免疫球蛋白 G(immunoglobulin G, IgG)和偶联磁珠羊抗兔 IgG 作为免疫反应的抗原和抗体,将磁珠固定于凝胶的富集端,实现富集区和免疫反应区的重合有利于免疫反应的高效进行。通过富集低浓度的抗原,提高其与抗体免疫结合的数量,可使免疫反应荧光强度提高 60%,有望改善抗原蛋白的检测限。该方法相对于已有方法的最大优点是实现微磁珠与微纳流控芯片在没有外部磁场控制的情况下的有机结合,为微磁珠在微流控领域内应用提供一个新思路。

富集微纳流控芯片的开发及应用是 DNA 分析、免疫学测定、疾病诊断等领域的大势所趋,而其制造成形技术和芯片富集性能则是目前制约应用和推广的关键难题。本书虽然围绕富集微纳流控芯片的低成本制作方法和电动纳流体富集方法进行了尝试、探究,但仍有许多方面需要进一步研究:①本书主要针对外加电压和给定面积内纳米孔数量对电动纳流体富集倍率进行理论分析和实验验证,对于流体黏度、微纳壁面电荷密度和纳米通道深度的研究尚不系统,其实验验证有待于今后进行深入研究;②凝胶玻璃微纳流控芯片在增强电动纳流体富集倍率方面的优势已通过实验证实,但内部孔径表征等方面工作有待于今后进一步开展。

本书研究内容引用了相关文献的观点,部分计算过程和数据来源于已公开发表的著作,在此对相关专家和学者表示感谢。由于作者水平有限,书中难免存在不妥之处,望广大读者批评指正。

目 录

前言

第 1 章 纳流控富集技术研究内容	1
1.1 微流控芯片概述	1
1.2 基于微流控技术的样品富集方法	2
1.3 纳流控技术应用背景	3
1.4 本书的研究内容	4
参考文献	5
第 2 章 微纳通道内电动离子输运理论	9
2.1 基于电动纳流体的富集理论研究现状	9
2.1.1 样品输运	11
2.1.2 正负电荷样品的富集差异	15
2.2 基于电动纳流体的富集理论基础	16
2.2.1 微纳通道壁面电荷分布	17
2.2.2 微纳通道内双电层分布	18
2.2.3 微纳通道内电动输运控制方程	19
2.2.4 微纳通道内电化学势的形成	21
2.3 电化学势驱动离子富集	22
2.3.1 离子富集的形成	22
2.3.2 电渗流对富集的影响	22
参考文献	23
第 3 章 微纳通道内电动离子输运的算例	26
3.1 富集计算与建模方法现状	26
3.2 基于电动纳流体的富集数值计算	27

3.2.1 基本假设和几何模型	27
3.2.2 网格划分和初边条件	28
3.3 基于电动纳流体的富集计算结果与分析	30
3.3.1 流体黏度对富集倍率的影响	31
3.3.2 外加电压对富集倍率的影响	33
3.3.3 微纳壁面电荷密度对富集倍率的影响	38
3.3.4 给定长度内纳米通道数量对富集倍率的影响	39
3.3.5 纳米通道深度对富集倍率的影响	44
3.3.6 限域结构对富集的影响	46
参考文献	55
第4章 富集微纳流控芯片的制作	57
4.1 微纳流控芯片制作方法研究现状	57
4.1.1 微纳沟道加工技术	57
4.1.2 微纳流控芯片键合技术	64
4.2 集成聚丙烯酰胺凝胶玻璃微纳流控芯片的制作	69
4.2.1 聚丙烯酰胺凝胶的制作工艺	69
4.2.2 聚丙烯酰胺凝胶给定面积内孔数量的计算	73
4.3 玻璃微纳流控芯片的制作	76
4.4 PMMA 微纳流控芯片的制作	81
4.4.1 等离子体刻蚀 PMMA 纳米沟道	81
4.4.2 PMMA 微米沟道热压和芯片键合工艺	83
4.4.3 PMMA 微纳流控芯片的键合	84
参考文献	85
第5章 电动纳流体富集实验与免疫分析	89
5.1 基于电动纳流体的富集应用研究现状	89
5.2 电化学势驱动离子富集实验	92
5.3 外加电压驱动离子和蛋白富集实验	98
5.3.1 荧光离子富集实验	98

5.3.2 牛血清蛋白富集实验	103
5.4 基于电动纳流体的富集抗原免疫反应	104
5.4.1 抗原抗体免疫反应	105
5.4.2 富集抗原免疫反应	105
参考文献	111
第 6 章 结论	112

第 1 章 纳流控富集技术研究内容

1.1 微流控芯片概述

微流控芯片^[1,2]是指在几平方厘米的芯片上,采用微加工技术制作出微沟道、微阀、微泵、微混合腔室和微反应腔室等单元集成的微器件。微流控芯片以分析化学为基础,通过在其上加载试剂和生物样品,实现样品的进样、混合、分离、反应和检测。采用微流控芯片进行样品分析检测具有以下优点^[3]。

(1) 节约成本:微流控芯片通道特征尺寸一般为几十微米到几百微米,在微流控芯片上进行分析仅需微升量级甚至更少的样品,有利于降低成本,减少环境污染。微流控芯片的微小尺寸有利于降低芯片原材料的消耗和芯片制作成本,当实现批量生产后,芯片的制作成本有望进一步降低。

(2) 快速分析与反应:微流控芯片通道长度一般为几厘米,样品分析反应过程在很短时间内便能完成。同时,微流控芯片内检测区域狭窄的特点可以显著增强流体相互扩散和传热传质,有利于提高分析和反应速度。

(3) 功能集成:微加工技术可以将多个功能部件集成在一个微流控芯片上,实现片内样品反应、分离、检测等,集成多功能的微流控芯片可以取代目前许多实验设备,如聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)仪、毛细管电泳仪等。

微流控芯片在 DNA 分析、药物筛选、细胞操作、免疫学测定、疾病诊断等方面有着广泛的应用前景。图 1.1 是一种用于疾病诊断的微流控芯片的实物图,Yager 等^[4]通过在微流控芯片内集成微阀、微混合器、微过滤器等结构实现了唾液样本的分析。同时,通过在微流控芯片内集成微电极并结

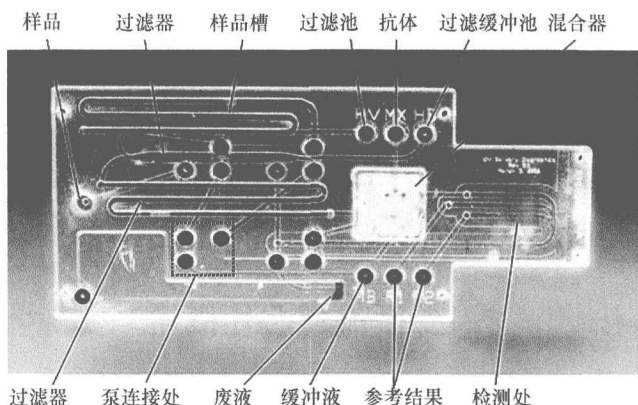


图 1.1 用于疾病诊断的微流控芯片^[4]

合光学传感器实现了人体免疫蛋白的快速检测。此外, Panaro 等^[5]、Sun 等^[6]和 Murthy 等^[7]通过在微流控芯片内集成微柱阵列实现了血液中细胞的分离、筛选、捕捉、培养等。与传统的细胞培养环境相比, 微流控芯片提供的微环境与肝细胞在体内肝组织中的环境极为相似^[8], 有助于延长肝细胞的存活时间^[9], 同时, 采用微流控芯片培养成骨细胞碱性磷酸酶, 可以提高其活性三倍以上^[10], 并且有利于保持细胞的功能性^[11]。

1.2 基于微流控技术的样品富集方法

微流控芯片特征尺寸仅为微米量级, 限制了检测样品体积, 样品有效成分量的不足影响了检测灵敏度, 成为微流控芯片应用和发展的重要瓶颈。例如, 对吸收分光光度检测法而言, 由朗伯定律^[12]可知, 当溶液浓度一定时, 物质对光的吸收程度与光通过的溶液厚度成正比, 与特征尺寸在毫米量级或更大的器件相比, 微流控芯片通道内样品的吸光度至少降低为原来的千分之一。因此, 为了保证样品的精确检测, 在样品进入检测点前, 需要采用样品富集技术, 对样品中的有效成分进行高倍浓缩。

根据待测微量成分的特性采用相应的富集方法, 将均匀分布于样品溶液中的待测微量成分富集至一较小体积内, 从而提高其浓度至检测下限以

上,能实现微量成分的检测。基于微流控技术的样品富集方法主要包括过滤型^[13]、固相萃取型^[14]、基于介电电泳型^[15]、场堆积型^[16]、基于蒸发仿生型^[17]等。例如,Oleschuk 等^[14]利用围堰式填充柱达到固相分离和萃取目的,采用侧通道实现固定相微粒填充和排出,利用 Spherisorb ODS1 作为吸附剂,乙腈作为洗脱剂,BODIPY 作为荧光富集试剂,获得百倍的 BODIPY 富集效果。Walker 等^[17]提出基于蒸发仿生原理的微流控样品富集方法,将微米通道内充满水,通道一端储液池采用大液滴覆盖,另一端储液池液面作为蒸发界面,随着蒸发作用的进行,样品逐渐富集于蒸发储液池内,并用直径为 $0.2\mu\text{m}$ 的荧光粒子和 FITC 标记的牛血清蛋白进行了实验验证,富集时间长达 28min,初始浓度荧光强度为 0.81,富集后荧光强度可达 0.99。相对于其他微流控样品的富集方法,基于场放大效应的堆积富集方法在效率和应用范围等方面具有优势,是目前微流控芯片使用广泛的富集技术,但需要在充满缓冲液微米通道中引入低电导率样品液塞,样品扩散影响检测精度,受进样量和压力耗散影响,富集倍率难达到 1000 倍以上。

1.3 纳流控技术应用背景

近年来,随着微纳加工和测试技术的快速发展,纳流控技术成为人们关注的焦点。纳流控主要研究纳米结构特征尺寸在 $1\sim 100\text{nm}$ 的流体和样品输运^[18],这一特征尺寸内的研究展现出与微流控技术不同的物理特性,如双电层(electric double layer,EDL)交叠、流体阻力增大等,主要原因在于纳米通道特征尺寸数量级与德拜长度^[19,20]、生物分子大小^[21,22]相近,从而为 DNA 测序、蛋白等大分子检测、细胞培养、样品富集等提供了一个新的思路。

采用纳流控技术将 DNA 分子直接导入纳米通道,利用纳米尺度限制效应对 DNA 分子进行拉伸,可实现基于长度依赖和受限环境 DNA 分子快速排序,确定 DNA 分子上基因信息的空间位置^[23,24]。同时,采用纳流控技术可以实现免疫蛋白的分离与检测^[25~28]。2010 年,Lei 等^[29]报道了一种基于纳流

控技术的利用悬浮纳米颗粒晶体作为电输出的生物传感器,抗生蛋白链菌素被用来检测磷酸盐缓冲液中的维生素,维生素的检测范围为 $1\text{nmol/L} \sim 10\mu\text{mol/L}$ 。2011年,de la Escosura-Muñiz 等^[30]提出一种利用纳米沟道进行免疫分析的方法,在没有任何样品处理的前提下,实现了血液中蛋白过滤和检测,利用抗体来修饰纳米通道,抗体的导电性通过两次免疫反应(蛋白和金纳米颗粒)来调节,该系统实现了一种有效的免疫测定法,能够检测到相当于 52U/mL 的肿瘤标志物(cancer antigen 15-3, CA15-3)。此外,采用纳流控技术可以实现细胞的培养和液滴的形成。2010年,Hung 等^[31]制作了具备9个纳米点阵列的纳米装置,实现了多种细胞培养和不同阶段癌症细胞系的区分,为人工移植提供了基本设计参数。2011年,Shui 等^[32]采用平板型的微纳流控装置制作液滴,使用高度为 $100 \sim 900\text{nm}$ 的纳米通道可以生成直径为 $0.4 \sim 3.5\mu\text{m}$ 的液滴,生成的液滴可以稳定维持数周。

近年来,纳米结构成形技术和微纳系统集成技术的快速发展促进了纳流控技术的研究进展^[33,34]。纳米通道双电层交叠排斥效应和尺寸效应会引起蛋白和氨基酸^[35]等生物大分子富集和耗尽,利用此现象能实现百万倍样品富集。这里的富集和耗尽分别是指荷电小分子或生物大分子在外加电场和纳米结构的共同作用下,浓度在纳米结构两端升高和降低的现象。

1.4 本书的研究内容

微纳流控芯片中的电动纳流体富集是一个新兴的,涉及微纳设计制造、微纳流体输运等多学科并应用于生物医学检测等多领域的交叉研究方向,微纳流控芯片的制作和电动纳流体富集理论与实验研究成为这一研究方向的两个关键内容,微纳流控芯片是电动纳流体富集实验应用的载体,而电动纳流体富集理论和实验研究成果对于芯片结构设计,尤其是纳米通道结构设计,具有重要的指导意义。结合以上对于电动纳流体富集理论、微纳流控芯片制作方法、电动纳流体富集应用等方面国内外研究现状的分析,本书采

用数值模拟理论分析微纳通道内电动离子富集现象,研究电动纳流体富集相关参数对富集性能的影响,采用多种方法制作不同基底材料的微纳流控芯片,实现具有高富集倍率和良好稳定性的电动纳流体富集。本书结构框架和主要内容如下:

(1) 概述研究背景,论述电动纳流体富集理论研究现状、微纳流控芯片制作方法研究现状、电动纳流体富集应用研究现状,总结电动纳流体富集研究中的现存问题。

(2) 构建适用于描述电动纳流体富集现象的、耦合纳维-斯托克斯和泊松-能斯特-普朗克方程组的模型,模拟计算多场耦合电动离子富集过程,定量分析流体黏度、外加电场、微纳通道壁面电荷密度、纳米通道深度、给定长度内纳米通道数量对富集倍率的影响,提出以电泳-电渗流相对通量作为衡量富集倍率的指标。同时,提出以电化学势代替外加电压驱动离子富集的无源富集方法,讨论电渗流对离子富集的影响。

(3) 提出一种利用光刻、腐蚀、热键合等微加工技术并基于聚丙烯酰胺凝胶光敏聚合反应,制作玻璃-聚丙烯酰胺凝胶微纳流控芯片的方法。采用微加工技术制备玻璃微纳流控芯片。采用等离子体刻蚀法在聚合物聚甲基丙基酸甲酯(polymethyl methacrylate, PMMA)上制作纳米沟道,并制备聚甲基丙基酸甲酯微纳流控芯片。

(4) 采用集成聚丙烯酰胺凝胶玻璃微纳流控芯片、玻璃微纳流控芯片,分别进行电动荧光离子和蛋白富集实验、电化学势驱动荧光离子和罗丹明6G离子的富集实验。同时,将电动纳流体富集实验应用到磁珠抗体抗原免疫反应中,采用电动纳流体富集荧光标记的抗原,与偶联磁珠的抗体结合,进而提高抗体抗原结合的荧光检测信号。

参 考 文 献

- [1] 方肇伦,方群. 微流控芯片发展与展望[J]. 现代科学仪器,2001,(4):3-6.
- [2] 刘鹏,邢婉丽. 生物芯片技术——21世纪革命性的技术[J]. 生理通讯,2000,19(2):29-31.
- [3] 王立鼎,刘冲,徐征,等. 聚合物微纳制造技术[M]. 北京:国防工业出版社,2012.

- [4] Yager P, Edwards T, Fu E, et al. Microfluidic diagnostic technologies for global public health[J]. *Nature*, 2006, 442(7101): 412-418.
- [5] Panaro N J, Lou X J, Fortina P, et al. Micropillar array chip for integrated white blood cell isolation and PCR[J]. *Biomolecular Engineering*, 2005, 21(6): 157-162.
- [6] Sun Y, Yin X F. Novel multi-depth microfluidic chip for single cell analysis[J]. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1117(2): 228-233.
- [7] Murthy S K, Sethu P, Vunjak-Novakovic G, et al. Size-based microfluidic enrichment of neonatal rat cardiac cell populations[J]. *Biomedical Microdevices*, 2006, 8(3): 231-237.
- [8] Powers M J, Domansky K, Kaazempur-Mofrad M R, et al. A microfabricated array bioreactor for perfused 3D liver culture[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2002, 78(3): 257-269.
- [9] Sivaraman A, Leach J K, Townsend S, et al. A microscale in vitro physiological model of the liver: Predictive screens for drug metabolism and enzyme induction[J]. *Current Drug Metabolism*, 2005, 6(6): 569-591.
- [10] Liegibel U M, Sommer U, Bundschuh B, et al. Fluid shear of low magnitude increases growth and expression of TGF- β 1 and adhesion molecules in human bone cells in vitro[J]. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 2004, 112(7): 356-363.
- [11] Ong S M, Zhang C, Toh Y C, et al. A gel-free 3D microfluidic cell culture system[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(22): 3237-3244.
- [12] 李昌厚. 仪器学理论与实践[M]. 北京: 科学出版社, 2008.
- [13] He B, Tan L, Regnier F. Microfabricated filters for microfluidic analytical systems[J]. *Analytical Chemistry*, 1999, 71(7): 1464-1468.
- [14] Oleschuk R D, Shultz-lockyear L L, Ning Y B, et al. Trapping of bead-based reagents within microfluidic systems: On-chip solid-phase extraction and electrochromatography[J]. *Analytical Chemistry*, 2000, 72(3): 585-590.
- [15] 朱晓璐, 尹芝峰, 高志强, 等. 基于光诱导介电泳的微粒子过滤、输运、富集和聚焦的实验研究[J]. *中国科学: 技术科学*, 2011, 41(3): 334-342.
- [16] Leung S A, de Mello A J. Electrophoretic analysis of amines using reversed-phase, reversed-polarity, head-column field amplified sample stacking & laser induced fluorescence detection[J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, 979(1): 171-178.
- [17] Walker G M, Beebe D J. An evaporation-based microfluidic sample concentration method[J]. *Lab on a Chip*, 2002, 2(2): 57-61.
- [18] Kim S M, Burns M A, Hasselbrink E F. Electrokinetic protein preconcentration using a sim-

- ple glass/poly(dimethylsiloxane) microfluidic chip[J]. *Analytical Chemistry*, 2006, 78(14): 4779-4785.
- [19] Pennathur S, Santiago J G. Electrokinetic transport in nanochannels. 1. theory[J]. *Analytical Chemistry*, 2005, 77(21): 6772-6781.
- [20] Pennathur S, Santiago J G. Electrokinetic transport in nanochannels. 2. experiments[J]. *Analytical Chemistry*, 2005, 77(21): 6782-6789.
- [21] Howorka S, Siwy Z. Nanopore analytics; Sensing of single molecules[J]. *Chemical Society Reviews*, 2009, 38(8): 2360-2384.
- [22] Sexton L T, Home L P, Sherrill S A, et al. Resistive-pulse studies of proteins and protein/antibody complexes using a conical nanotube sensor[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2007, 129(43): 13144-13152.
- [23] Sen Y H, Karnik R. Investigating the translocation of lambda-DNA molecules through PDMS nanopores[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2009, 394(2): 437-446.
- [24] Guo L J, Cheng X, Chou C F. Fabrication of size-controllable nanofluidic channels by nanoimprinting and its application for DNA stretching[J]. *Nano Letters*, 2004, 4(1): 69-73.
- [25] Karnik R, Castelino K, Fan R, et al. Effects of biological reactions and modifications on conductance of nanofluidic channels[J]. *Nano Letters*, 2005, 5(9): 1638-1642.
- [26] Jiang K, White I, de Voe D L. Detection of trace explosives by sers using 3-D nanochannel arrays[C]//The 14th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, Groningen, 2010: 2005-2007.
- [27] Huang S S, Xu G M, He X X, et al. Au nanochannels technique and its application in immunoassay[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2004, 49(18): 1920-1922.
- [28] Schoch R B, Cheow L F, Han J. Electrical detection of fast reaction kinetics in nanochannels with an induced flow[J]. *Nano Letters*, 2007, 7(12): 3895-3900.
- [29] Lei Y H, Xie F, Wang W, et al. Suspended nanoparticle crystal (S-NPC): A nanofluidics-based, electrical read-out biosensor[J]. *Lab on a Chip*, 2010, 10(18): 2338-2340.
- [30] de la Escosura-Muñiz A, Merkoňi A. A nanochannel/nanoparticle-based filtering and sensing platform for direct detection of a cancer biomarker in blood[J]. *Small*, 2011, 7(5): 675-682.
- [31] Hung Y C, Pan H A, Tai S M, et al. A nanodevice for rapid modulation of proliferation, apoptosis, invasive ability, and cytoskeletal reorganization in cultured cells[J]. *Lab on a Chip*, 2010, 10(9): 1189-1198.

-
- [32] Shui L L, van den Berg A, Eijkel J C T. Scalable attoliter monodisperse droplet formation using multiphase nano-microfluidics[J]. *Microfluidics and Nanofluidics*, 2011, 11(1): 87-92.
- [33] Schoch R B, Han J, Renaud P. Transport phenomena in nanofluidics[J]. *Reviews of Modern Physics*, 2008, 80(3): 839-883.
- [34] Wang Y C, Han J. Pre-binding dynamic range and sensitivity enhancement for immuno-sensors using nanofluidic preconcentrator[J]. *Lab on a Chip*, 2008, 8(3): 392-394.
- [35] Song S, Singh A K, Shepodd T J. Fabrication and characterization of photopatterned polymer membranes for protein concentration and dialysis in microchips[C]//*Solid-State Sensor, Actuator and Microsystems Workshop*, Hilton Head Island, 2004: 400-401.