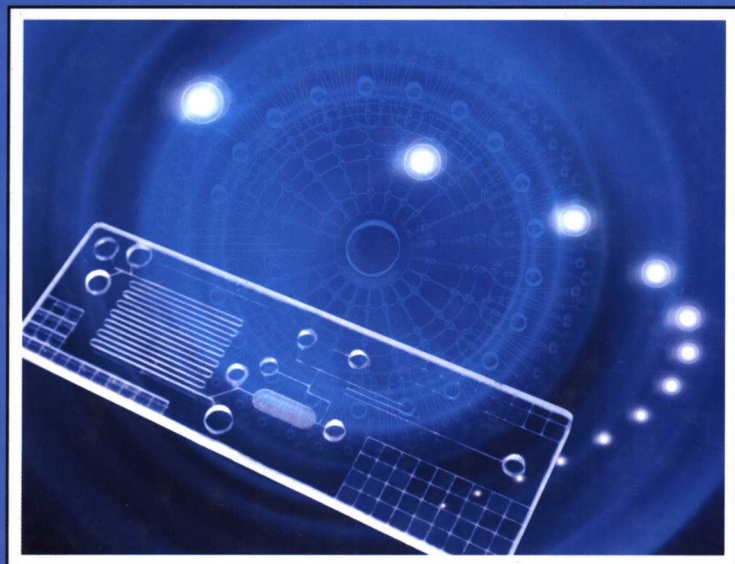


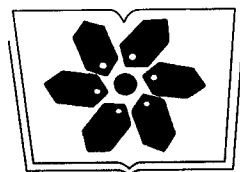
21世纪科学版化学专著系列

微流控芯片实验室

林炳承 秦建华 著



科学出版社



中国科学院科学出版基金资助出版

21 世纪科学版化学专著系列

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

本书分上下两篇,上篇以技术为主,分别阐述芯片、芯片上各种单元操作和不同的检测技术;下篇则着重应用,重点介绍微流控芯片实验室在核酸、蛋白质、小分子和细胞等方面已有的工作,并尽可能充分地提供来自一线实验室的成功案例。另有一章绪论,概括微流控芯片研究的基本历程,浓缩作者对这一新兴技术平台的理解、体会和积累。全书从思想、内容到逻辑、文字,都经过反复的讨论、充实、推敲和斟酌,力求引证梳理兼有,综合分析并重,特别是以作者实验室的工作贯穿始终。

本书可供生物技术、MEMS、分析化学专业的科研人员、高校师生阅读,可供政府相关部门管理人员和企业技术人员参考,也可作为研究生教材。

图书在版编目(CIP)数据

微流控芯片实验室/林炳承,秦建华著. —北京:科学出版社,2006
(21世纪科学版化学专著系列)

ISBN 7-03-017160-8

I. 微… II. ①林… ②秦… III. 分析(化学):自动分析-芯片-研究
IV. O652.9

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 037966 号

责任编辑:杨 震 黄 海 王日臣 / 责任校对:李奕莹

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

*

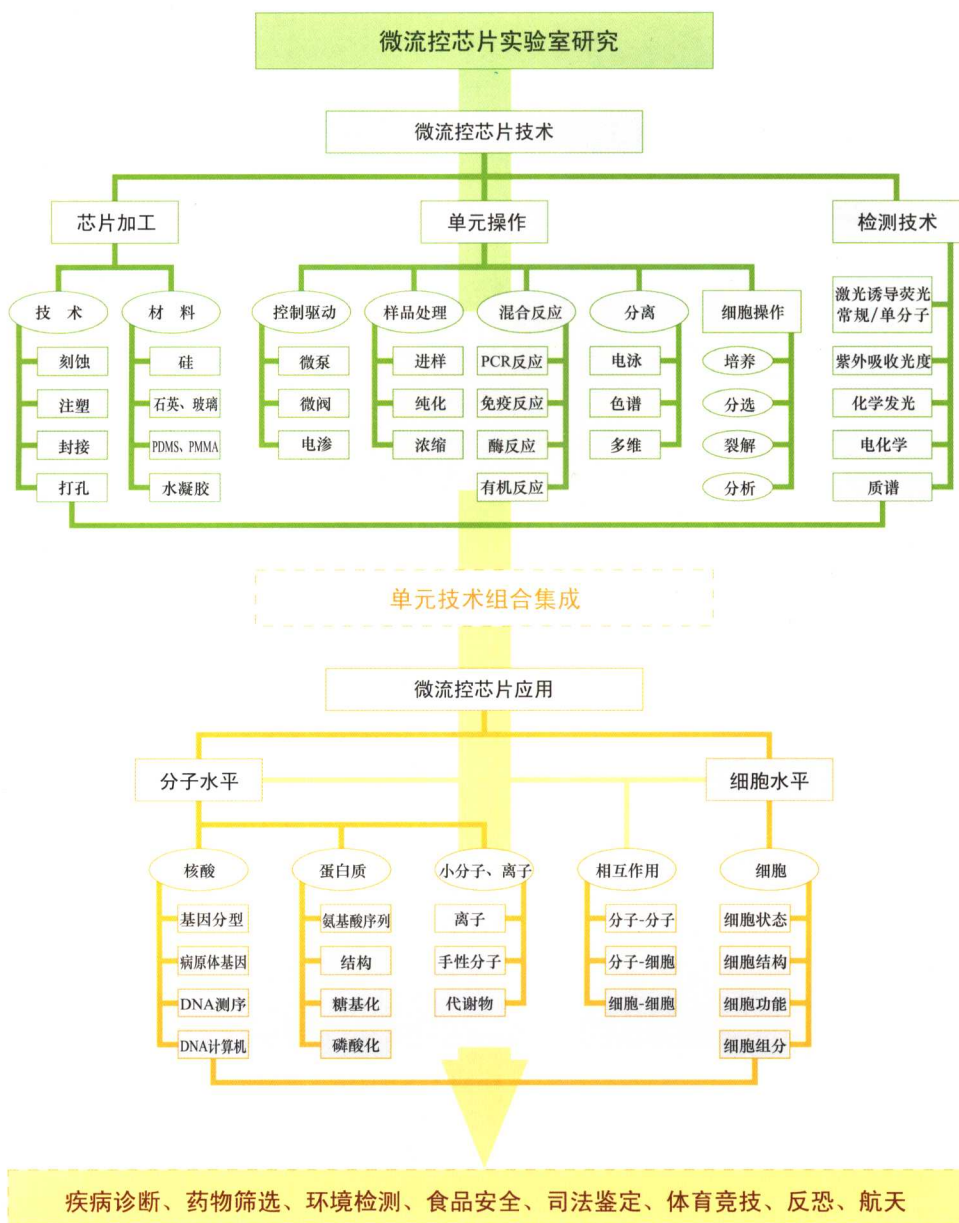
2006 年 7 月第 一 版 开本:B5(720×1000)

2006 年 7 月第一次印刷 印张:25 1/4 插页:4

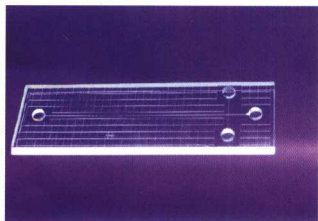
印数:1—3 000 字数:490 000

定价:64.00 元

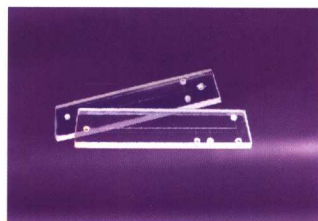
(如有印装质量问题,我社负责调换〈科印〉)



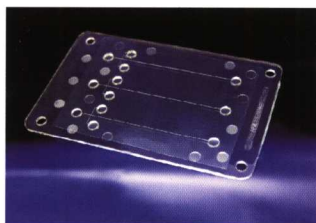
彩图1 微流控芯片研究总体框图



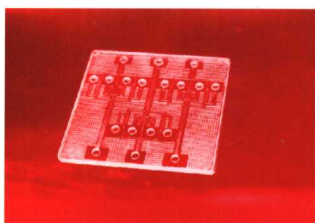
玻璃电泳芯片



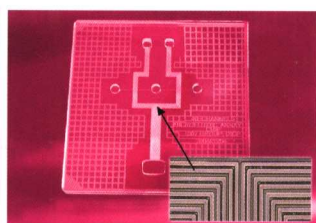
石英电泳芯片



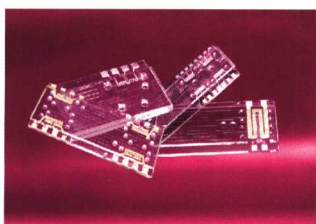
PMMA电泳芯片



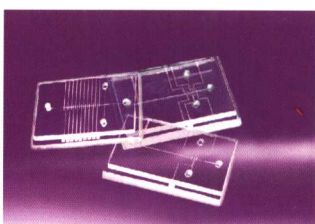
玻璃4通道阵列电泳芯片



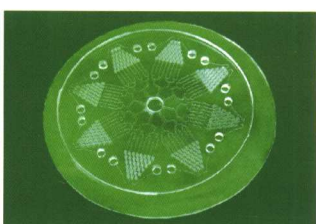
玻璃40通道阵列电泳芯片



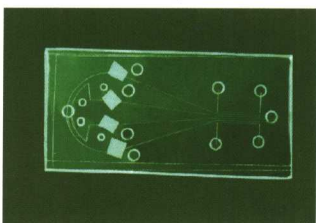
玻璃PCR芯片



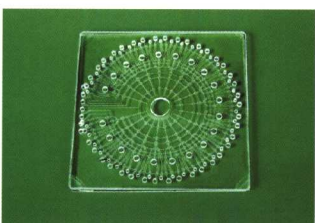
玻璃细胞捕捉和DNA收集芯片



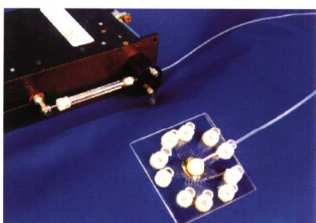
PDMS-玻璃药物筛选芯片



PDMS-玻璃细胞透析芯片



玻璃-PDMS-玻璃微泵驱动免疫芯片



PDMS-玻璃细胞研究芯片

彩图2 自制不同材料不同功能微流控芯片



激光诱导荧光检测



紫外检测

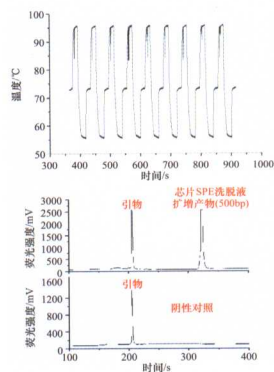


电化学检测 (USB接口)

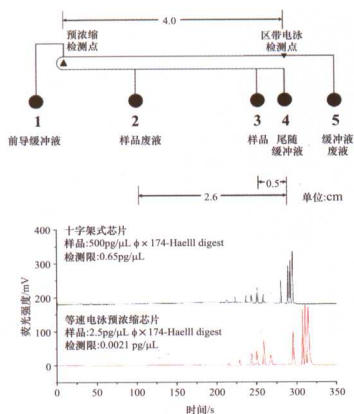


化学发光检测

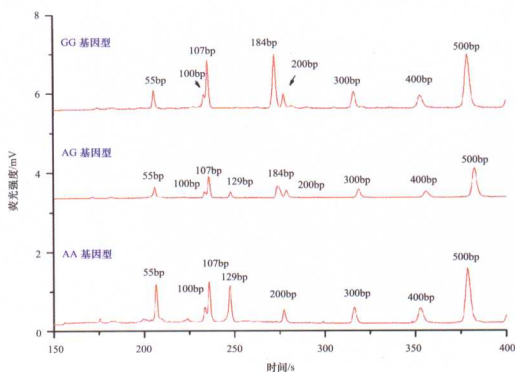
彩图3 自制不同检测器的微流控芯片工作站



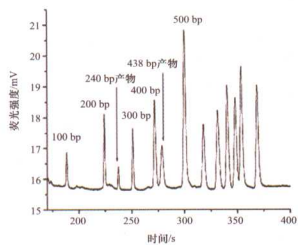
集成固相萃取/PCR/电泳的微流控芯片 (左) 及其 PCR 循环温度曲线 (右上) 和扩增产物电泳图 (右下)



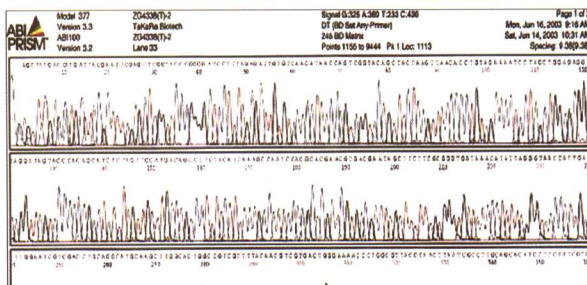
等速电泳和筛分电泳集成芯片示意 (上) 及有无等速电泳预浓缩结果的比较 (下)



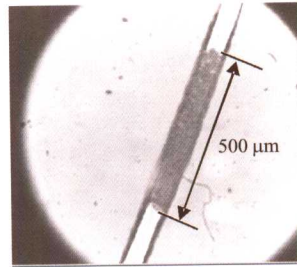
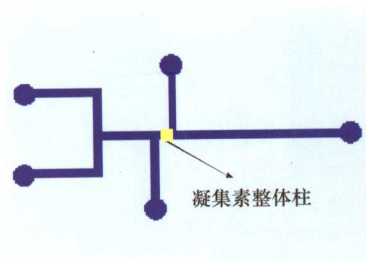
高血压发病相关AGT基因型的芯片电泳图



芯片电泳与反转录-多重PCR方法结合用于SARS病毒检测 (左) 及测序确证 (右)

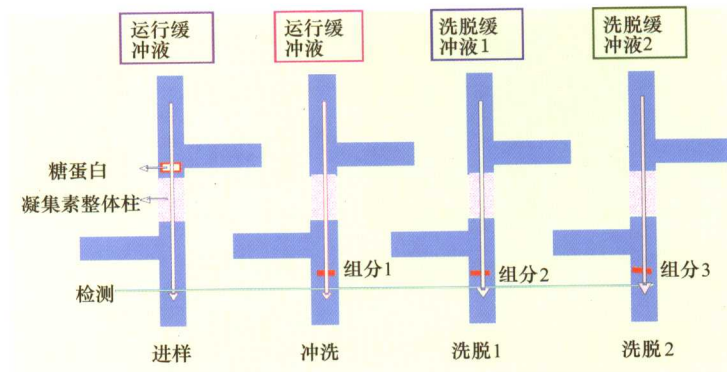


彩图4 微流控芯片核酸研究

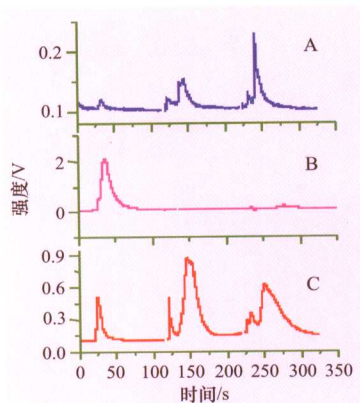


糖形分析集成化凝集素亲和芯片

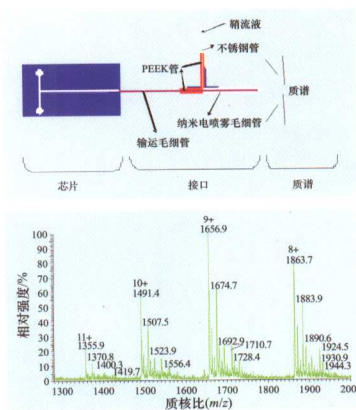
微流控芯片通道内的凝集素亲和整体柱



集成化凝集素亲和微流控芯片上的糖形分离过程

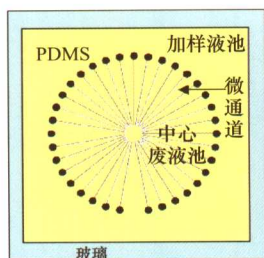


含不同类型糖链的糖蛋白在豌豆凝集素亲和微流控芯片上的分离结果

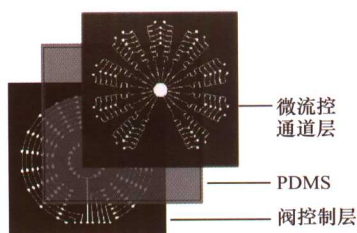


芯片/质谱连接示意及芯片/质谱用于糖蛋白(牛胰核糖核酸酶B)糖形的分离/检测

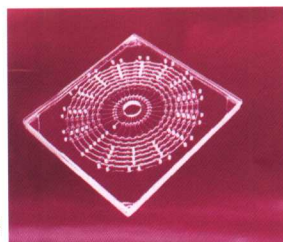
彩图5 微流控芯片糖蛋白研究



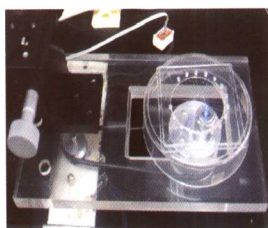
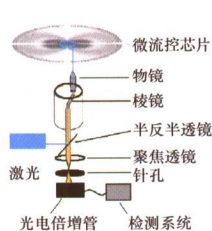
简单35通道免疫芯片示意



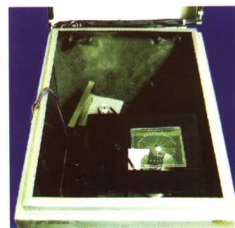
微泵驱动免疫芯片示意



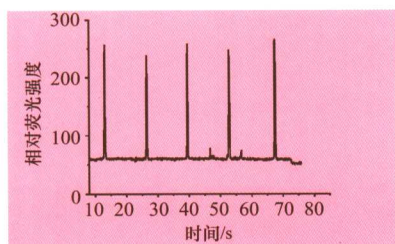
微泵驱动免疫芯片



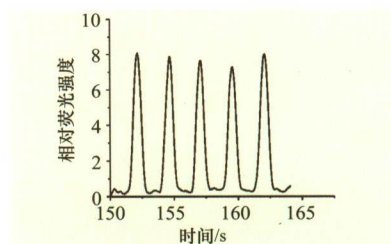
阵列激光诱导荧光(LIF)检测原理(左)及检测部分实物(右)



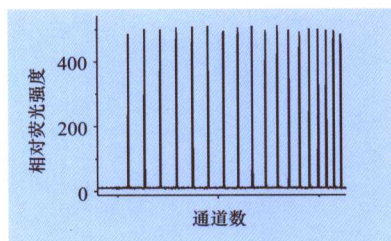
阵列化学发光(CL)检测原理(左)及样机(右)



5通道免疫检测20ng/mL皮质醇
(LIF, 峰高RSD=8.5%)

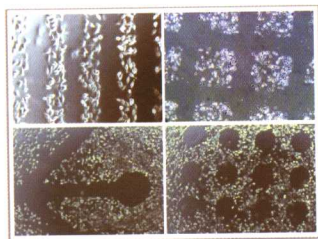


5通道免疫检测20ng/mL皮质醇
(CL, 峰高RSD=3.25%)

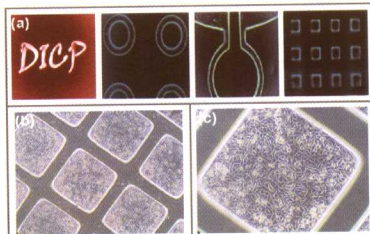


18通道免疫检测50ng/mL hIgG
(LIF, 峰高RSD=3.5%)

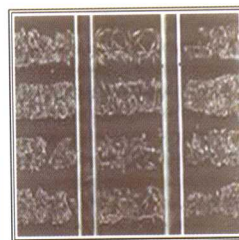
彩图6 微流控芯片免疫分析



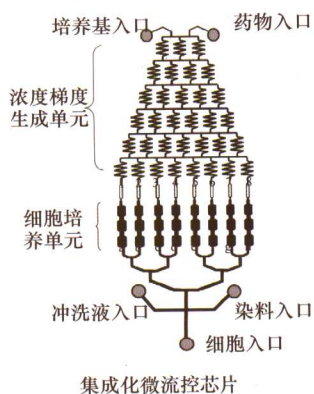
细胞在各种水凝胶二维微结构表面定域化生长



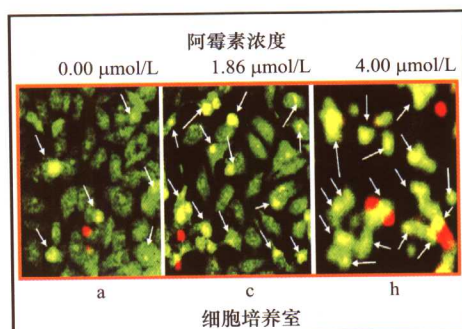
(a) 各种水凝胶立体微结构
(b) 细胞在水凝胶微孔阵列中生长
(c) 微孔阵列的局部放大



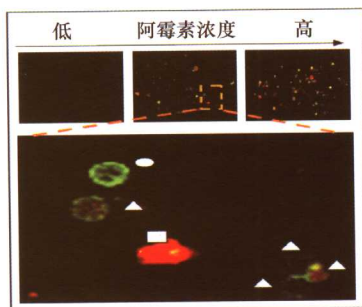
成纤维细胞（中）和肝癌细胞（左、右）在水凝胶芯片上共培养



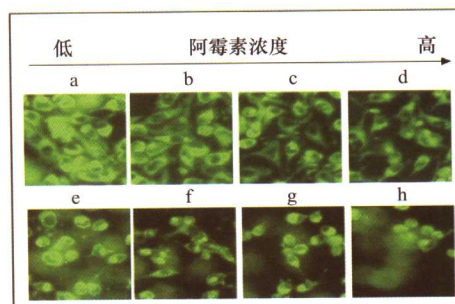
集成化微流控芯片



微培养室细胞荧光检测结果

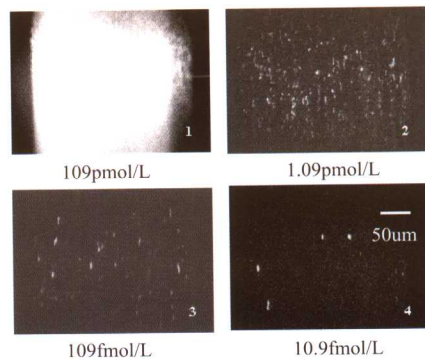


肝癌细胞膜（PS）变化

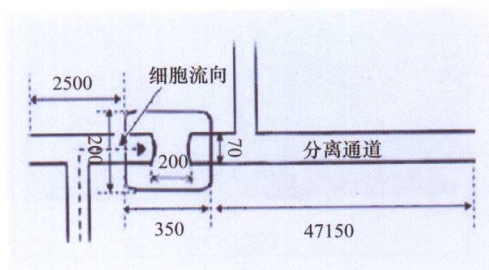


肝癌细胞线粒体膜电势变化

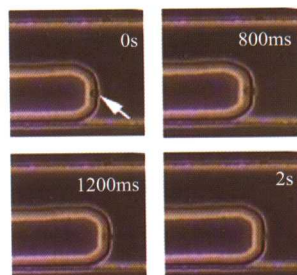
彩图7 微流控芯片细胞研究



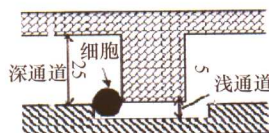
单分子检测装置（左），微通道中不同浓度的 λ DNA分子（右）



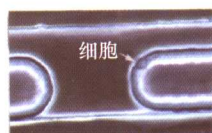
芯片结构示意图



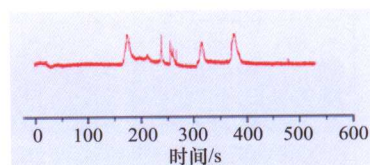
单个K562细胞裂解



坝结构示意图



单个K562细胞捕获



单个K562细胞RNA电泳谱图

彩图8 微流控芯片单分子单细胞检测

参与本书撰写和技术支持者名单

撰 写：林炳承 秦建华
 王 辉 盖宏伟 王 刚 周小棉 毛秀丽
 姜 雷 梁爱叶 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 李 进 曾绍江
 陆 瑶 施维维
技术支持：时 蔚 戴忠鹏 李春宇 孔 静 张国豪

序

2004年10月,第六届全国毛细管电泳会上,科学出版社杨震先生约稿,这一次,终未推辞。

自六七年前着手开展微流控芯片实验室研究以来,多有出版社编辑洽谈书稿一事,每每不敢应承,无非是深知积累不足,惟恐贻误读者。那一阶段,世界范围的研究刚刚开始,课题组的方向才作调整,缺乏基本设备,没有核心技术,虽能以芯片电泳为切入点,略有施展,但整体而言,举步维艰。直至2003、2004年,开始“感动上帝”,柳暗花明,并由此一发而不可收。

发展至今,课题组已具备了自行设计、制造多种不同材料的芯片和不同检测器的芯片工作站的能力,掌握了化学和生物实验室一些主要单元操作的芯片化及其集成技术,建立了一个具有自主知识产权、富有生物医学特色的微流控芯片体系,并用于分子和细胞层次的实际样品,实现了微流控芯片的初级功能化。课题组已形成了一支以博士研究生为主,有化学、医学、药学、生物学、物理学和工程学等不同专业背景,致力于开拓创新的研究队伍。

正是这样一支队伍,承担了本书的撰写工作,参与者的全部名单列于扉页。全书共分上下两篇,上篇(第2~8章)以技术为主,下篇(第9~12章)则着重应用,另有一篇绪论,力图概括微流控芯片研究的基本历程,浓缩作者对这一新兴技术平台的理解、体会和积累。从思想、内容到逻辑、文字,全书的方方面面都作了反复的讨论、充实、推敲和斟酌,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,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。

时至今日,微流控芯片的研究早已超出了学术界的范畴,它很可能成为信息科学和生命科学之间沟通的桥梁,在未来五年、十年或者十五年中发展成一种举足轻重的产业,大幅度改善人类生存的质量,影响人类的未来。微流控芯片不仅理所当然地引起了相关领域的科研人员的广泛关注,也受到了政府各部门和企业界人士的高度重视。

感谢国家自然科学基金委员会、科学技术部、中国科学院和大连化学物理研究所课题组长期研究中给予的支持,感谢中国科学院科学出版基金和大连市人民政府出版基金对本书的资助。我们,中国科学院大连化学物理研究所微流控芯片研究组全体,谨以此书奉献给对这个领域予以关注的广大读者和社会各界。

林炳承 秦建华
2006年2月28日于大连

目 录

序

第1章 绪论	1
1.1 微流控芯片实验室及其发展历史	1
1.2 微流控芯片实验室的理论研究	2
1.3 微流控芯片实验室整体框架	3
1.4 微流控芯片及基本操作单元	4
1.5 微流控芯片的应用	7
1.6 展望	10
参考文献	11

上篇 微流控芯片实验技术

第2章 芯片材料与芯片制作技术	16
2.1 前言	16
2.2 芯片材料	16
2.2.1 硅、石英和玻璃	16
2.2.2 有机高分子聚合物	17
2.3 芯片制作环境要求	18
2.4 硅芯片、玻璃芯片和石英芯片的制作及封接	21
2.4.1 基本加工制作过程	21
2.4.2 芯片封接	29
2.4.3 玻璃芯片成品	31
2.4.4 石英芯片成品	33
2.5 高分子聚合物芯片的制作及封接	33
2.5.1 基本加工制作过程	33
2.5.2 芯片封接	41
2.5.3 聚合物芯片成品	42
参考文献	46
第3章 微流体控制与驱动技术	49
3.1 前言	49
3.2 微流体控制	49

3.2.1 电渗控制·····	49
3.2.2 微阀控制·····	51
3.3 微流体驱动·····	56
3.3.1 气动微泵驱动·····	56
3.3.2 电渗驱动·····	60
3.3.3 其他驱动方式·····	61
参考文献·····	65
第4章 进样及样品前处理技术 ·····	67
4.1 前言·····	67
4.2 液态样品进样·····	67
4.2.1 区带样品进样·····	67
4.2.2 连续样品进样·····	82
4.3 气固态样品进样·····	83
4.4 样品前处理·····	85
4.4.1 固相萃取·····	85
4.4.2 等速电泳·····	92
4.4.3 膜分离·····	94
4.4.4 其他·····	99
参考文献·····	100
第5章 微混合和微反应技术 ·····	104
5.1 前言·····	104
5.2 微混合和微混合器·····	104
5.2.1 微混合·····	104
5.2.2 微混合器·····	105
5.3 微化学反应和微化学反应器·····	113
5.3.1 一般微化学反应·····	113
5.3.2 均相液相反应器·····	114
5.3.3 非均相反应器·····	115
5.3.4 柱前、柱后反应器·····	117
5.3.5 其他类型反应器·····	121
5.4 微型生物反应·····	123
5.4.1 聚合酶链反应(PCR)·····	123
5.4.2 免疫反应·····	137
参考文献·····	147

第 6 章 微分离技术	153
6.1 前言	153
6.2 微电泳分离的基本问题	154
6.2.1 谱带迁移	154
6.2.2 谱带展宽	159
6.3 微电泳分离的常见模式	174
6.3.1 一维芯片电泳	174
6.3.2 多维芯片电泳	195
参考文献.....	199
第 7 章 检测技术	206
7.1 前言	206
7.2 激光诱导荧光检测	207
7.2.1 单通道芯片 LIF 检测器	209
7.2.2 多通道阵列芯片 LIF 检测器	211
7.2.3 微型化和集成化的荧光检测器	214
7.3 紫外吸收光度检测	216
7.3.1 紫外吸收光度检测芯片的特殊需求	217
7.3.2 紫外吸收光度检测器	219
7.4 化学发光检测	222
7.4.1 单通道芯片化学发光检测器	222
7.4.2 多通道阵列芯片化学发光检测器	224
7.5 电化学检测	226
7.5.1 安培检测法	226
7.5.2 电导检测法	231
7.5.3 电势检测法	233
7.5.4 复合式电化学检测法	233
7.6 质谱检测	234
7.6.1 芯片与 ESI-MS 接口	235
7.6.2 芯片与 MALDI-MS 接口	237
7.6.3 芯片/质谱的应用	238
7.7 其他检测	240
7.7.1 等离子体发射光谱检测器	241
7.7.2 热透镜检测器	242
7.7.3 各种生物传感器	243
参考文献.....	244

第8章 单分子荧光检测技术	249
8.1 前言	249
8.2 单分子荧光检测的基本原理和物理量	250
8.2.1 荧光发射原理	250
8.2.2 背景噪声的降低	250
8.2.3 检测物理量	250
8.3 单分子荧光检测的基本过程	252
8.3.1 单分子标记策略	252
8.3.2 单分子荧光检测方法	253
8.3.3 单分子判定原则	257
8.4 单分子检测的应用	258
8.4.1 溶液体系中的应用	258
8.4.2 细胞体系中的应用	272
参考文献	274

下篇 微流控芯片实验室应用

第9章 核酸	280
9.1 前言	280
9.2 基因突变检测	281
9.2.1 点突变	281
9.2.2 基因大片段缺失、基因重排和甲基化	282
9.3 基因分型	285
9.3.1 单核苷酸多态性(SNP)基因分型	285
9.3.2 短串联重复序列多态性(STR)基因分型	288
9.4 病原体基因检测	293
9.5 DNA 测序	299
9.6 微流控芯片 DNA 计算机	301
9.6.1 DNA 计算和 DNA 计算机	301
9.6.2 微流控芯片 DNA 计算机	302
参考文献	307
第10章 蛋白质	311
10.1 前言	311
10.2 蛋白质分析中的若干问题	312
10.3 蛋白质氨基酸序列和构象	314
10.3.1 蛋白质的氨基酸序列	314