



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110918139 B

(45) 授权公告日 2023. 09. 29

(21) 申请号 201811098975.7

(22) 申请日 2018.09.20

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110918139 A

(43) 申请公布日 2020.03.27

(73) 专利权人 上海欣戈赛生物科技有限公司
地址 200082 上海市杨浦区国权北路1566
弄37号101室

(72) 发明人 李珍仪 王竣弘 陆祎 姜竣凯

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227
专利代理师 张柳 赵青朵

(51) Int. Cl.
B01L 3/00 (2006.01)
G01N 1/40 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 102527454 A, 2012.07.04
CN 105457692 A, 2016.04.06
CN 105483002 A, 2016.04.13
CN 108387488 A, 2018.08.10

JP 2003066004 A, 2003.03.05

KR 100593792 B1, 2006.06.30

TW 201413230 A, 2014.04.01

TW 201506515 A, 2015.02.16

US 2011168561 A1, 2011.07.14

US 2012058504 A1, 2012.03.08

WO 0137958 A2, 2001.05.31

WO 2016016825 A1, 2016.02.04

WO 2018094249 A1, 2018.05.24

CN 209302785 U, 2019.08.27

US 2006177815 A1, 2006.08.10

JP 2006349592 A, 2006.12.28

US 2004163955 A1, 2004.08.26

US 2005011761 A1, 2005.01.20

US 2011108422 A1, 2011.05.12

US 2012292184 A1, 2012.11.22

US 2014083855 A1, 2014.03.27

WO 2004077017 A2, 2004.09.10

WO 2005121767 A1, 2005.12.22

WO 2006004558 A1, 2006.01.12

(续)

审查员 赵洋

权利要求书1页 说明书6页 附图3页

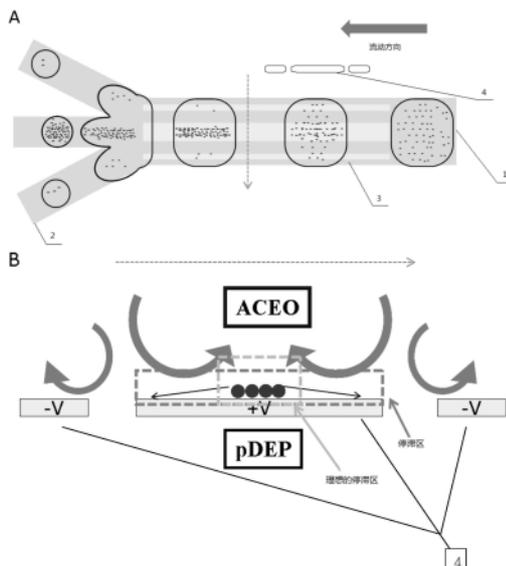
(54) 发明名称

微流控芯片、含有该微流控芯片的装置及样本浓缩的方法

(57) 摘要

本发明涉及微流控领域,特别涉及微流控芯片、含有该微流控芯片的装置及样本浓缩的方法。本发明为连续流体(continuous flow)状态下使用交流电渗流配合正介电泳力进行液滴相对区域集中,而后通过出口之间的锐角进行多余液滴液体切割,得到浓缩的样本液滴。浓缩的液滴样本有广泛的用途,假设样本为细胞/细菌时可进行药物敏感试验或样本数少量可提浓后进行分析与培养。若样本为DNA时因提浓后于液滴中的高浓度可有效提升后续的扩增,分析或节省杂交的效率,并因液滴内的样本浓度提高而增加碰撞机率,可缩短反应时间。

CN 110918139 B



[接上页]

(56) 对比文件

WO 2012032802 A1, 2012.03.15

WO 2018009892 A1, 2018.01.11

Louai Labanieh et al..Floating
Droplet Array: An Ultrahigh-Throughput
Device for Droplet Trapping, Real-time

Analysis and Recovery.《Micromachines》
.2015,第6卷(第10期),第1-23页.

张晓飞;张洋;谭秋林;薛晨阳;熊继军;孙
东.集成微电极结构的芯片介电泳富集过程研
究.科学技术与工程.2014,(第33期),第57-61
页.

1. 一种微流控芯片,其特征在于,包括基片,所述基片设置有进样口(1)、出口(2)以及设置于进样口(1)、所述出口(2)之间的微流道(3);

所述基片还设置有电极(4),所述电极(4)施加交流电渗流扰动力和介电泳力于所述微流道(3);

所述电极(4)为非对称交流电极;

所述电极(4)为三级式非对称电极和连续偏斜交流电极,所述三级式非对称电极包括中间电极和两边电极,所述中间电极的宽度大于所述两边电极的宽度;

所述中间电极的宽度至少为所述两边电极的宽度的2倍;

所述连续偏斜交流电极的频率能够产生负介电泳力;

所述三级式非对称电极的频率为:能够产生交流电渗流的流场;且能够产生正介电泳力;且交流电渗流的扰动力大于正介电泳力;

所述三级式非对称电极的频率为 $1 / 2\pi R_m C_D$;其中, R_m 为样本中溶液的电阻, C_D 为电双层电容;

所述出口(2)至少为2个,2个相邻的所述出口(2)之间的夹角 $< 60^\circ$ 。

2. 一种浓缩样本的装置,其特征在于,包括如权利要求1所述的微流控芯片。

3. 如权利要求1所述的微流控芯片或如权利要求2所述的装置在浓缩样本中的应用;所述样本包括核酸、细胞、细菌或蛋白质中的一种或多种的混合物。

4. 一种基于如权利要求1所述的微流控芯片或如权利要求2所述的装置浓缩样本的方法,其特征在于,包括如下步骤:

步骤1:获得液滴状态的样本;

步骤2:向所述进样口(1)通入所述液滴状态的样本;

步骤3:调整所述电极(4)的频率,产生交流电渗流扰动力和介电泳力对所述液滴状态的样本进行浓缩,经所述出口(2)之间的锐角切割,收集。

微流控芯片、含有该微流控芯片的装置及样本浓缩的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及微流控领域,特别涉及微流控芯片、含有该微流控芯片的装置及样本浓缩的方法。

背景技术

[0002] 微流控芯片技术(Microfluidics)又被称为芯片实验室(Lab-on-a-chip),能在一个几平方厘米的微小芯片上集成传统的生物和化学实验室的基本功能,包括样品分离、制备、化学反应、检测等操作。

[0003] 微流控芯片具有液体流动可控、消耗试样和试剂极少、分析速度成十倍上百倍地提高等特点,它可以在几分钟甚至更短的时间内进行上百个样品的同时分析,并且可以在线实现样品的预处理及分析全过程。

[0004] 液滴微流控技术是微流控芯片技术的一个重要分支。液滴微流控技术是在传统的单相微流控芯片技术发展而来的,最早由芝加哥大学Rustem F. Ismagilov教授首先提出三入口T型微液滴芯片设计,并在之后的几年中得到广泛关注和应用。与单相微流控系统相比,由于其水/油两相分离的特征,具有如消耗样品和试剂量更少,混合速度更快不易造成交叉污染,易于操控等优势。因此,在污染物快速高通量检测,生物样本分离、培育,观察化学反应进度等领域中有着重要的应用。微液滴因具有通量高,无交叉污染等优势,其在喷墨打印、微混合、DNA分析、材料合成、蛋白质结晶等领域呈现出巨大的应用潜力。

[0005] 为达到早期诊断的目的,通常样本中待测物的浓度都相当微量,微量样本(例:DNA,细胞,细菌,生物蛋白质)给检验通常带来相当大的挑战,因此,样本的浓缩尤为重要。

[0006] 电渗流驱动技术是微流控芯片重要的组成之一。电渗流微泵具有易于加工和控制、无需移动部件、较高的可重复性和可靠性等优点。目前,电渗流一般分为直流电渗和交流电渗两种方式。直流电渗需要在微通道施加几百甚至于几千伏的电压,这会导致电极与溶液发生电化学反应,产生气泡、焦耳热效应等现象,这些因素均限制了直流电渗微泵的发展。

发明内容

[0007] 有鉴于此,本发明提供一种微流控芯片、含有该微流控芯片的装置及样本浓缩的方法。本发明以浓缩样本并除去多余液体为目标,使用微流体芯片搭配电极对样本进行浓缩处理。

[0008] 为了实现上述发明目的,本发明提供以下技术方案:

[0009] 本发明提供了一种微流控芯片,包括基片,所述基片设置有进样口1、出口2以及设置于进样口1、所述出口2之间的微流道3;

[0010] 所述基片还设置有电极4,所述电极4施加交流电渗流扰动力和/或介电泳力于所述微流道3。

[0011] 在本发明的一些具体实施方案中,所述电极4为非对称交流电极。

[0012] 在本发明的一些具体实施方案中,所述电极4为三级式非对称电极,所述电极4包括中间电极和两边电极,所述中间电极的宽度大于所述两边电极的宽度。

[0013] 在本发明的一些具体实施方案中,所述中间电极的宽度至少为所述两边电极的宽度的2倍。

[0014] 在本发明的一些具体实施方案中,所述中间电极的宽度至少为所述两边电极的宽度的 $2\sqrt{2}$ 倍。

[0015] 在本发明的一些具体实施方案中,两边电极施加同相电压,中间电极施加与两边电极反相的电压。

[0016] 在本发明的一些具体实施方案中,所述电极4的频率为:能够产生交流电渗流的流场;且能够产生正介电泳力;且交流电渗流的扰动力大于正介电泳力,有效操控直径2微米以下的粒子($d < 2 \mu\text{m}$)。

[0017] 在本发明的一些具体实施方案中,所述电极4的频率为 $1 / 2\pi R_m C_D$;其中, R_m 为样本中溶液的电阻, C_D 为电双层电容。

[0018] 在本发明的一些具体实施方案中,所述出口2至少为2个,2个相邻的所述出口2之间的夹角 $< 60^\circ$ (本发明实施例优选使用夹角 30°)。

[0019] 在本发明的另一些具体实施方案中,所述电极4为连续偏斜交流电极;所述连续偏斜交流电极的频率能够产生负介电泳力,有效操控直径0.5微米以上的粒子 ($d > 0.5 \mu\text{m}$)。

[0020] 在此基础上,本发明还提供了一种浓缩样本的装置,包括所述的微流控芯片。

[0021] 本发明还提供了所述的微流控芯片或所述的装置在浓缩样本中的应用;所述样本包括核酸、细胞、细菌或蛋白质中的一种或多种的混合物。

[0022] 本发明还提供了一种基于所述的微流控芯片或所述的装置浓缩样本的方法,包括如下步骤:

[0023] 步骤1:获得基于油包水(water-in-oil)乳化液滴状态的样本;

[0024] 步骤2:向所述进样口1通入所述液滴状态的样本;

[0025] 步骤3:调整所述电极4的频率,产生交流电渗流扰动力和/或介电泳力对所述液滴状态的样本进行浓缩,经所述出口2之间的锐角切割,收集,以减少产物液滴的液体量,达到提升液滴内待测样本浓度的效果。

[0026] 本发明的有益效果包括但不限于:

[0027] A. 交流电渗流是一种不影响样本并且广泛运用于操控,浓缩,运输样本(DNA,细胞,细菌,生物蛋白质等)的方法。由于交流电渗流是先扰动流体在藉由流体去带动样本因此可说样本是保持原始状态。

[0028] B. 本发明为连续流体(continuous flow)状态下使用交流电渗流配合正介电泳力进行液滴相对区域集中,而后通过出口之间的锐角进行多余液滴液体切割,得到浓缩的样本液滴。

[0029] C. 浓缩的液滴样本有广泛的用途,假设样本为细胞/细菌时可进行药物敏感试验或样本数少量可提浓后进行分析与培养。若样本为DNA时因提浓后于液滴中的高浓度可有效提升后续的扩增,分析或节省杂交(Hybridization)的效率,并因液滴内的样本浓度提高而增加碰撞机率,可缩短反应时间。

附图说明

[0030] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍。

[0031] 图1示本发明提供的微流控芯片的工作原理示意图;图1包括(a)、(b)和(c);其中(a)示交流电渗流的扰动力与正介电泳力的示意图;(b)示样本为DNA或蛋白质时,蓝色曲线为交流电渗流的扰动力,绿色曲线为样本受到的正介电泳力,浓缩样本时,选择交流电渗流的扰动力大于正介电泳力的频率;(c)示样本为细菌时,蓝色曲线为交流电渗流的扰动力,紫色曲线为样本受到的正介电泳力,浓缩样本时,选择交流电渗流的扰动力大于正介电泳力的频率;

[0032] 图2示本发明提供的微流控芯片结构示意图;图2包括A和B;其中A示俯视图;B示于管道横切面(绿色虚线方向)的电极4的示意图;此芯片结构与设计适用于核酸分子、蛋白质、细菌等小于2微米的粒子;

[0033] 图3示本发明提供的另一种以纯负介电泳浓缩细胞/细菌的微流控芯片结构示意图;此芯片结构与设计适用于尺寸大于0.5微米以上有明显介电泳力的粒子,如细菌、细胞等;

[0034] 其中,1-进样口;2-出口;3-微流道;4-电极。

具体实施方式

[0035] 本发明公开了一种微流控芯片、含有该微流控芯片的装置及样本浓缩的方法,本领域技术人员可以借鉴本文内容,适当改进工艺参数实现。特别需要指出的是,所有类似的替换和改动对本领域技术人员来说是显而易见的,它们都被视为包括在本发明。本发明的方法及应用已经通过较佳实施例进行了描述,相关人员明显能在不脱离本发明内容、精神和范围内对本文所述的方法和应用进行改动或适当变更与组合,来实现和应用本发明技术。

[0036] 本发明提供的微流控芯片、含有该微流控芯片的装置及样本浓缩的方法中所用部件、原料及试剂均可由市场购得。

[0037] 下面结合实施例,进一步阐述本发明:

[0038] 本发明提供了一种微流控芯片,包括基片,基片设置有进样口1、出口2以及设置于进样口1、出口2之间的微流道3;基片还设置有电极4,电极4施加交流电渗流扰动力和/或介电泳力于微流道3。

[0039] ACEO流量(AC electroosmosis flow)原理:交流电渗流(AC Electro-Osmosis, ACEO)的成因可归因为平行于平面电极的电场分量与邻近电极表面之带电离子的交互作用,电极表面之电双层(electric double layer)(厚度为1~100) nm)电荷所导致之库伦力(Coulombic forces)驱动流体所致。电渗流速度可由Smoluchowski方程式表示: $U = - \frac{\epsilon \zeta E}{\eta}$,其中 ϵ 为流体的介电常数, η 为黏度, ζ 为表面电位势,E为外加电场强度。在非均匀表面电荷(如非对称电极)的状态下,可借交流电场并控制其频率于适当的充电放电时间常数,使得电双层中的电荷不再处于泊松-波尔兹曼平衡而使电荷产生极化现象(极化)。结果,外加电场可穿透电双层而产生暂态电流,使得处于充电/放电状态的电双层就如同一电容。由于诱导于电极表面的大量电荷(field-induced charges)在交流电场不断以周期性变换方

向的过程中,始终与电场保持同向,故在综和平均电荷密度的变化牵引着流场扰动的状态下可呈现流体的净流动,即所谓交流电渗流(ACEO)。而电场频率 ω 对于操控交流电渗流扮演关键角色。若 ω 太高时,由于电场对电双层充放电时间过短,电双层无法形成明显的电荷极化交换来造成流动。然而,若 ω 太低时,电双层对外加电场有较强的屏蔽(筛选)效应,使作用于电流层中电荷的切线方向之及电阻之电路之充电/放电特征时间: $\tau = R_m C_D$,频率 $f = 1 / 2\pi R_m C_D$,其中 R_m 为溶液的电阻, C_D 为电双层电容: $C_D \sim \epsilon / \lambda$ 。

[0040] 本发明提供的非对称电极结构,通过在一组大、小电极施加余(正)弦电压驱动信号,双电层内反离子电荷在切向电场的作用下受到库伦力移动形成电渗流。

[0041] 电双层电容的原理是:在与电解液接触的直立电极上加电压,带相反电荷的离子积聚在电极表面,电荷载体的这种布置即称为电双层。

[0042] 交流电场机制下,极化的介电粒子会在偶极矩的作用下产生介电泳。介电泳力和速度的大小可以根据电磁场极化理论求得。

[0043] 将交流电场引入微流控芯片后,流体在交变电场的作用下会产生内部流动,表现为流场内部的局部漩涡或者流体的定向净流动。介电泳(Dielectrophoresis, DEP)技术是操控微纳尺度介电粒子的重要手段,利用该技术可以操纵和鉴别悬浮在流体介质中不同种类的粒子。外电场下微流体的流动受流体的电导率、电极结构、外电场、外加光源或热源等诸多因素的影响;微纳粒子介电泳力的大小和方向受流体介质与粒子的介电常数和电导率、粒子半径、电场分布电压幅值与频率等诸多因素的影响。相同条件下,随着粒子与电极之间距离的增加,介电泳力呈指数级衰减,只有电极附近区域的介电粒子才呈现出显著的介电泳效应,且亚微米或纳米尺度的粒子介电泳现象较弱。

[0044] 亚微米和纳米尺度的粒子,或者处于介电泳效应有效作用范围之外的粒子,在较弱的电场强度下,有时也会表现出显著的介电泳效应。这表明,微纳粒子的介电泳效应和作用范围受到了其所处流场的干预。由于流体内部漩涡的存在,距离电极较远的粒子会被输送到电极附近区域,进而受介电泳力的作用。本发明以三级非对称交流电极对微纳粒子介电泳行为为例,可为细胞、蛋白质、核酸等微纳粒子的高效富集和操控提供理论参考。

[0045] 在本发明的一些具体实施方案中,电极4为非对称交流电极。作为优选,非对称电极为三级式非对称电极,包括中间电极和两边电极,中间电极的宽度大于两边电极的宽度。作为优选,中间电极的宽度至少为两边电极的宽度的2倍。更优选的,中间电极的宽度至少为两边电极的宽度的 $2\sqrt{2}$ 倍。作为优选,两边电极施加同相电压,中间电极施加与两边电极反相的电压。

[0046] 在本发明的一些具体实施方案中,电极4的频率为:能够产生交流电渗流的流场;且能够产生正介电泳力;且交流电渗流的扰动力大于正介电泳力。作为优选,电极4的频率为 $1 / 2\pi R_m C_D$;其中, R_m 为样本中溶液的电阻, C_D 为电双层电容。

[0047] 本发明主要提供——三级式非对称电极,其中,中央宽广电极的宽度需设计为两边较细电极宽度的2倍以上,使交流电渗流产生的涡流扰动效应可因中央宽电极产生的涡流较两边细电极所的涡流大而使净流动往中央的大电极集中,且最终将液滴内的待测粒子(如DNA,蛋白质,细菌等)集中于宽电极中央的流体停滞点,如图1(a)所示。而ACEO的强度与RC时间有关,也就是与频率相关($f = 1 / 2\pi R_m C_D$),如同前述,过度高于 $1 / 2\pi R_m C_D$ 的频率则

由于电场对电双层充电时间过短,电双层无法形成明显的电荷极化交换来造成流动,造成ACEO效应与流场相当弱;过于低于 $1/2\pi R_m C_D$ 的频率流场亦因电双层对外加电场有较强的屏蔽效应,使作用于电双层中电荷的切线方向之Maxwell force变弱或不足以驱动流体。故ACEO仅有在施加频率范围在 $1/2\pi R_m C_D$ 的频率范围附近才有明显较快流场的效应,由于施加交流电场亦存在着介电泳效应,而最佳的,若可使频率造成的机制存在于正介电泳力则可提供一吸附力使目标粒子/分子往电极表面吸引集中,如此若同时配合ACEO作用,即可提升ACEO将目标粒子带进中央电极表面的速度,且进入中央宽电极表面的中心流体停滞点后又可因正介电泳力将其维持于中央而不易被流场带出,故最佳粒子/分子提浓于液滴中央的电场频率条件为:

[0048] 1、有明显的交流电诱发ACEO流场;并且

[0049] 2、同时产生正介电泳力;并且

[0050] 3、ACEO流场作用力大于正介电泳力,如图1(b,c)。

[0051] 在本发明的一些具体实施方案中,出口2至少为2个,2个相邻的出口2之间的夹角 $<60^\circ$ 。

[0052] 在本发明的另一些具体实施方案中,电极4为连续偏斜交流电极;连续偏斜交流电极的频率能够产生负介电泳力。

[0053] 在此基础上,本发明还提供了一种浓缩样本的装置,包括本发明提供的微流控芯片。

[0054] 本发明还提供了上述微流控芯片或上述装置在浓缩样本中的应用;样本包括核酸、细胞、细菌或蛋白质中的一种或多种的混合物。任何基于本发明的工作原理能够分离的样本均在本发明的保护范围之内,本发明在此不做赘述。

[0055] 本发明还提供了一种基于上述微流控芯片或上述装置浓缩样本的方法,包括如下步骤:

[0056] 步骤1:获得乳化液滴状态的样本;

[0057] 步骤2:向进样口1通入液滴状态的样本;

[0058] 步骤3:调整电极4的频率,产生交流电渗流扰动力和/或介电泳力对液滴状态的样本进行浓缩,经出口2之间的锐角切割,将液滴中多余的液体去除即可将浓缩后的样本收集。

[0059] 本发明提供的微流控芯片的工作原理:本发明提供的微流控芯片如图2,举例来说以浓缩DNA溶液当作样本,首先先将样本转化为乳化液滴状态再注入芯片,使液滴充满管道随后液滴受到不对称电极所产生的交流电渗流(AC Electro-osmosis,ACEO)扰动力与介电泳力(介电泳),将液滴中的目标物(此例为DNA但也可细胞,细菌,等微粒)带至管道中中央电极的停滞区,停滞区范围是受制于交流电渗流与介电泳之间的抗衡,在理想状态为所有样本浓缩于中央电极的中间区域,最后液滴走至出口时会被出口结构的锐角所切割,将液滴中多余的液体去除即可将浓缩后的样本收集,利用此设计可有效提浓液滴中的检测目标物(DNA,RNA,蛋白质,细菌,细胞等)并且减少体积可搭配后续各项生化反应实验,同步减少加入的反应试剂的需求量。

[0060] 不对称电极的设计(图2B)是基于交流电渗流的基本结构上加以变化,基础型态为对称电极运行时会产生循环流场扰动溶液,基于此现象将电极设计为不对称型态此时流体

现象会因不对称电极所产生的流场扰动力大小不同加上电极表面诱发粒子产生的正介电泳吸引力,拮抗后而在电极上会有部分区域产生停滞区。若流场扰动力大于粒子正介电泳吸引力此时目标物会被强流场扰动力集中于中央电极的中间区域再加上弱正介电泳力将粒子吸附于电极表面此为理想停滞区目标物被集中于小区域,若流场扰动力小于粒子正介电泳吸引力此时目标物被弱流场扰动力带至中央电极但强正介电泳力会将粒子拉离电极中央区域吸附于电极边缘(电极边缘为强电场区),本发明通过此区来达成浓缩的目标。

[0061] 在另一些具体实施方案中,本发明的变化形态如图3,使用连续偏斜电极产生的负介电泳排斥力将粒子集中至管道中央在藉由出口结构切除多余液体,而集中区域大小与偏斜电极之间的距离呈正相关,偏斜电极之间距离大(小)集中区域就大(小),介电泳力只作用于强电场区而电场又呈指数衰减所以影响范围只在电极周围。但此方法只能影响尺寸大于500 nm的微粒样本($d > 500 \text{ nm}$)对于小分子类样本作用力不足,如生物蛋白质与DNA因体积为奈米等级,介电泳力过弱,无法将此类样本进行有效操控,也因此无法集中浓缩样本。

[0062] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

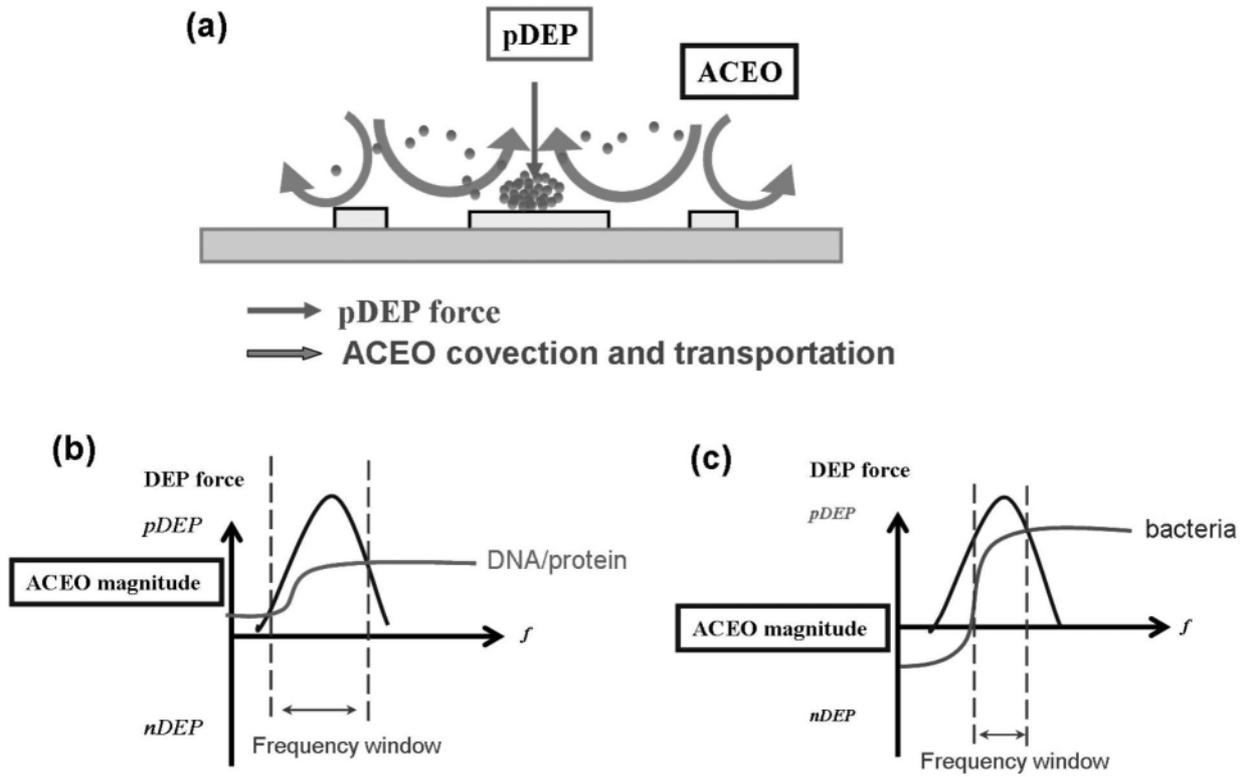


图1

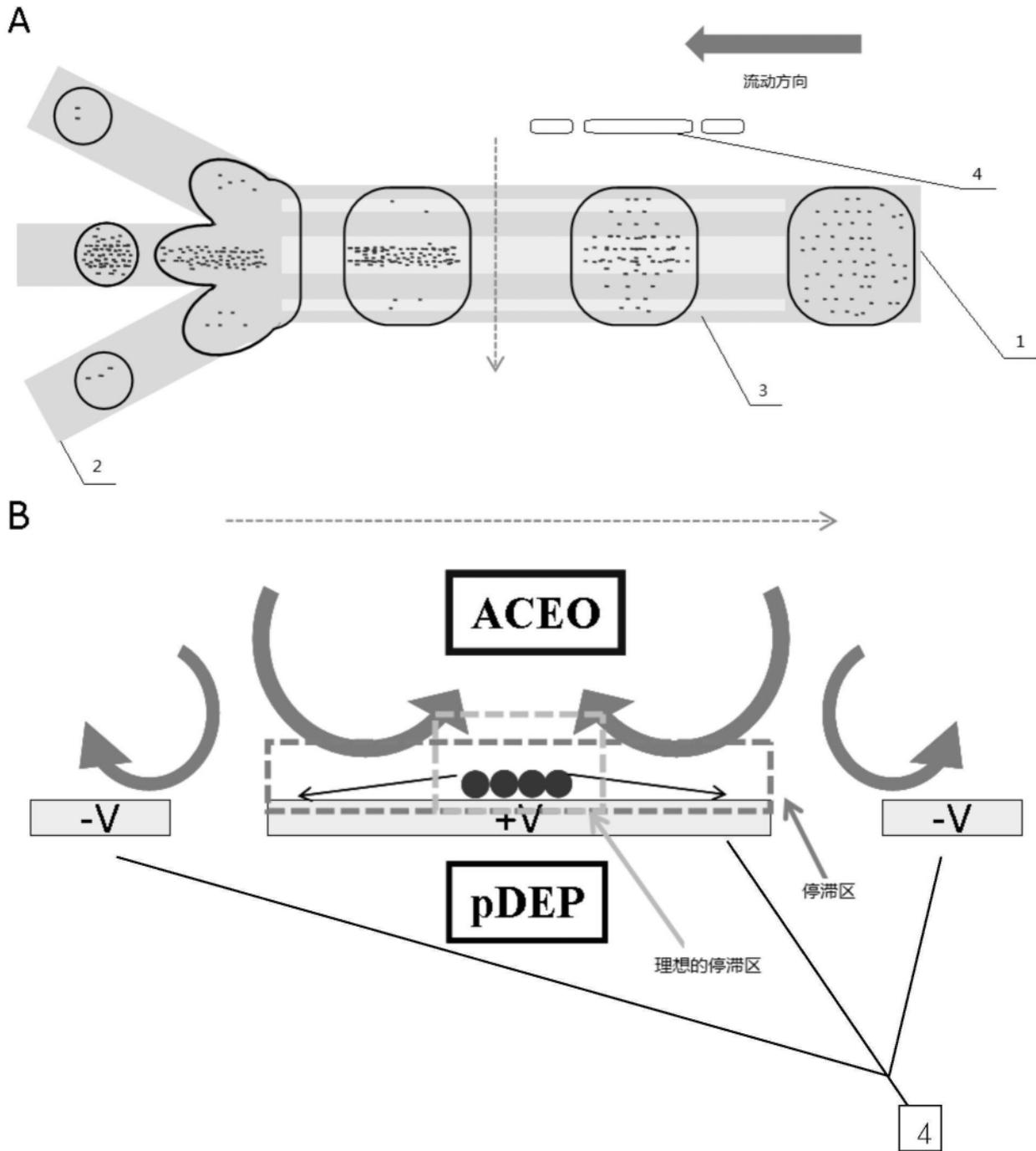


图2

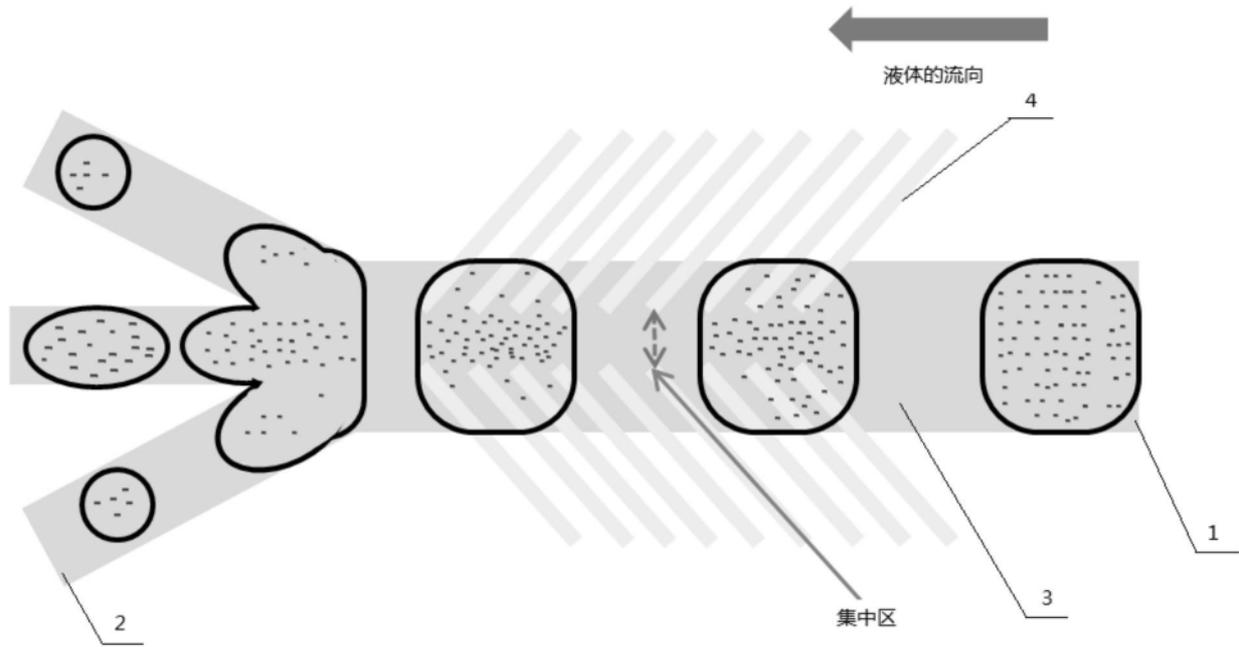


图3