

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101864360 B

(45) 授权公告日 2013. 06. 19

(21) 申请号 201010193890. 4

CN 1880473 A, 2006. 12. 20, 全文.

(22) 申请日 2010. 06. 01

US 2008057274 A1, 2008. 03. 06, 全文.

EP 1279639 A2, 2003. 09. 29, 全文.

(73) 专利权人 厦门大学

地址 361005 福建省厦门市思明南路 422 号

审查员 尹军团

(72) 发明人 陈宏 瞿祥猛

(74) 专利代理机构 厦门南强之路专利事务所

35200

代理人 马应森

(51) Int. Cl.

C12M 1/34 (2006. 01)

C12Q 1/68 (2006. 01)

G01N 21/64 (2006. 01)

G01N 35/00 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1645137 A, 2005. 07. 27, 全文.

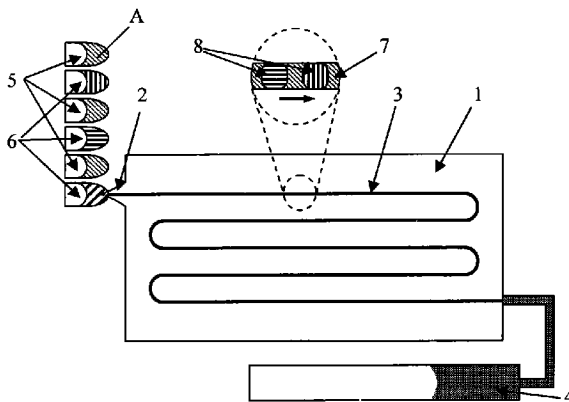
权利要求书1页 说明书3页 附图3页

(54) 发明名称

一种用于生物芯片分析的微流控芯片探针阵列的制备方法

(57) 摘要

一种用于生物芯片分析的微流控芯片探针阵列的制备方法, 涉及生物芯片。将溶液引入到微通道中; 将储有矿物油或其他不与水互溶的有机溶剂, 以及探针溶液的储液池或小试管间隔排列作为供液, 通过更换微通道入口的供液, 在微通道内实现“矿物油-探针溶液-矿物油-探针溶液-矿物油...”的液滴序列, 其中矿物油作为载流, 探针溶液作为在载流中流动的液滴; 在探针液滴序列流动到预定位置后, 停止流动, 液滴中的探针会自发或者在光、电、磁外界引发下通过反应或吸附而被固定到微通道内表面, 固定反应完成后, 排出矿物油和探针液滴, 然后用缓冲液进行清洗以完成整个步骤。



1. 一种用于生物芯片分析的微流控芯片探针阵列的制备方法,其特征在于包括以下步骤:

1) 将溶液引入到微通道中;

2) 将储有矿物油以及探针溶液的储液池或小试管间隔排列作为供液,通过更换微通道入口的供液,在微通道内实现“矿物油-探针溶液-矿物油-探针溶液-矿物油-...”的液滴序列,其中矿物油作为载流,探针溶液作为在载流中流动的液滴;

3) 在探针液滴序列流动到预定位置后,停止流动,液滴中的探针会自发或者在光、电、磁外界引发下通过反应或吸附而被固定到微通道内表面,固定反应完成后,排出矿物油和探针液滴,然后用缓冲液进行清洗以完成整个步骤。

2. 如权利要求 1 所述的一种用于生物芯片分析的微流控芯片探针阵列的制备方法,其特征在于在步骤 1) 中,所述将溶液引入到微通道中,是将微通道入口加工成尖针状,或连接毛细管作为入口,插入到储液池或小试管中将溶液通过入口引入到微通道中。

3. 如权利要求 1 所述的一种用于生物芯片分析的微流控芯片探针阵列的制备方法,其特征在于在步骤 1) 中,所述微通道为玻璃微通道、石英微通道、硅微通道或高聚物微通道。

4. 如权利要求 1 所述的一种用于生物芯片分析的微流控芯片探针阵列的制备方法,其特征在于在步骤 1) 中,所述微通道为经可逆或不可逆键合组成完整的微通道。

5. 如权利要求 1 所述的一种用于生物芯片分析的微流控芯片探针阵列的制备方法,其特征在于在步骤 1) 中,所述微通道内表面进行表面处理。

6. 如权利要求 1 所述的一种用于生物芯片分析的微流控芯片探针阵列的制备方法,其特征在于在步骤 1) 中,所述微通道的尺寸为 1nm ~ 5cm。

7. 如权利要求 1 所述的一种用于生物芯片分析的微流控芯片探针阵列的制备方法,其特征在于在步骤 1) 中,所述微通道为直形通道、盘管形通道、矩形通道、螺旋形通道。

8. 如权利要求 1 所述的一种用于生物芯片分析的微流控芯片探针阵列的制备方法,其特征在于在步骤 1) 中,所述微通道为单根通道或多根平行通道。

9. 如权利要求 1 所述的一种用于生物芯片分析的微流控芯片探针阵列的制备方法,其特征在于在步骤 3) 中,所述液滴在微通道内流动的驱动力由重力或连接在通道出口的注射器提供。

10. 如权利要求 1 所述的一种用于生物芯片分析的微流控芯片探针阵列的制备方法,其特征在于在步骤 3) 中,所述探针为药物、细胞或组织。

11. 如权利要求 10 所述的一种用于生物芯片分析的微流控芯片探针阵列的制备方法,其特征在于所述药物为核酸、多肽、蛋白质、抗原、多糖、配体、受体。

一种用于生物芯片分析的微流控芯片探针阵列的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物芯片,特别是涉及一种用于生物芯片分析的微流控芯片探针阵列的制备方法。

背景技术

[0002] 生物芯片是将大量的生物分子或材料(如核酸片段、蛋白质、药物或受体、细胞或组织等)按照预先设计的排列方式固定在载体表面,以此作为探针,与样品中待测物进行特异性的吸附或反应,实现对样品信息的检测。成千上万的反应在一块芯片上同时进行,具有大规模并行分析的能力。生物芯片一般加工在玻璃片、硅片、尼龙膜等载体材料上,探针阵列的制作方法主要有点样法(Schena M, Shalon D, Davis R W. et al. Science., 1995, 20 :467-470)和原位合成法(Fodor S P A, Read J L, Pirrung M C, et al. Science, 1991, 251 :767-773),点样法是用点样仪将探针点在载体表面再进行固定反应从而将探针牢固结合在载体表面,原位合成主要用于寡聚核苷酸,利用多步反应,依次将脱氧核苷酸单体连接在探针尾部,实现在载体表面的延伸。这些方法技术要求高、加工成本高、制作速度慢,而且都需要比较昂贵的精密仪器。

[0003] 微流控芯片是利用各种微加工技术在芯片材料(如玻璃、PDMS 或 PMMA 等其他材料)上加工出具有各种功能的微结构,实现反应、分离、检测等功能,最大限度地把实验室的功能集成到便携的芯片上。自 20 世纪 90 年代初 Manz 和 Widmer 等(Manz A, Graber N, Widmer H M. Sens. Actuators, B, 1990, B1 :244)首次提出以来,微流控芯片技术得到了快速发展,已经从单纯的化学分析扩展到各个方向,包括核酸分析、蛋白质分析和细胞分析等。在微流控芯片上进行生物芯片分析,能够有效增强检测信号、提高灵敏度、减少试剂和样品消耗、缩短分析时间等(Chen H, Wang L, Li P C H. Lab Chip, 2008, 8 :826-829)。在微流控芯片上制作探针阵列主要有以下 3 种形式:

[0004] 1) 利用点样仪在一片微流控芯片材料表面制作高密度的探针阵列,然后再与另一块芯片材料组成完整的微流控芯片,整个探针阵列被完整的包含在较宽的微通道或杂交腔内(Noerholm M, Bruus H, Jakobsen M H, et al. Lab Chip, 2004, 4 :28-37)。

[0005] 2) 同样使用点样仪制作中低密度的探针阵列,然后组成微流控芯片,不一定所有的探针都被包含在与通道,而且探针沿着通道呈线性排列(Wei C W, Cheng J Y, Huang C T, et al. Nucleic Acids Res., 2005, 33 :1-11)。

[0006] 3) 利用能可逆键合的微流控芯片的微通道在载体上固定线状的探针阵列,然后,微流控芯片的通道相对载体进行旋转后输送样品溶液与探针阵列线发生杂交反应(Wang L, Li P C H. J. Agric. Food Chem., 2007, 55 :10509-10516)。由于探针不耐高温,因此在这些方法中,微流控芯片都无法进行高温键合,给芯片制作、实验操作、系统集成和开发新应用带来了极大的困难;另一方面需手工对准微通道和探针阵列,探针阵列中必须出现大量的重复探针,以确保所需探针被包含在微通道内,探针的数目和密度受到极大限制,无法有效利用载体的表面。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于针对上述方法所存在缺点,提供一种用于生物芯片分析的微流控芯片探针阵列的制备方法。

[0008] 本发明包括以下步骤:

[0009] 1) 将溶液引入到微通道中;

[0010] 2) 将储有矿物油或其他不与水互溶的有机溶剂,以及探针溶液的储液池或小试管间隔排列作为供液,通过更换微通道入口的供液,在微通道内实现“矿物油或其他不与水互溶的有机溶剂-探针溶液-矿物油或其他不与水互溶的有机溶剂-探针溶液-矿物油或其他不与水互溶的有机溶剂-...”的液滴序列,其中矿物油或其他不与水互溶的有机溶剂作为载流,探针溶液作为在载流中流动的液滴;

[0011] 3) 在探针液滴序列流动到预定位置后,停止流动,液滴中的探针会自发或者在光、电、磁外界引发下通过反应或吸附而被固定到微通道内表面,固定反应完成后,排出矿物油和探针液滴,然后用缓冲液进行清洗以完成整个步骤。

[0012] 在步骤 1) 中,所述将溶液引入到微通道中,可将微通道入口加工成尖针状,或连接毛细管作为入口,插入到储液池或小试管中将溶液通过入口引入到微通道中;所述微通道可为玻璃微通道、石英微通道、硅微通道或高聚物微通道等,所述微通道可为经可逆或不可逆键合组成完整的微通道,所述微通道内表面可根据需要进行表面处理,所述微通道的尺寸可为 1nm ~ 5cm1;所述微通道可以是直形通道、盘管形通道、矩形通道、螺旋形通道等;所述微通道可以是单根通道,也可以是多根平行通道。

[0013] 在步骤 3) 中,所述液体在微通道内流动的驱动力由电场或者由连接在通道出口的注射泵、重力等提供;所述探针不仅可以是核酸,还可以是小分子化合物、多肽、蛋白质、抗原、多糖、配体、药物、受体、细胞或组织等。

[0014] 本发明的优点在于:在试剂消耗少的情况下,能简单有效地在封闭的微通道加工探针阵列,而且能通过供液切换的速度调节探针的密度,并降低对昂贵仪器的依赖,降低加工成本低,加快制作速度。

附图说明

[0015] 图 1 是本发明的在微流控芯片上加工探针阵列的示意图。

[0016] 图 2 是本发明的对多根平行通道同时加工探针阵列的示意图。

[0017] 图 3 是本发明的具有螺旋通道的微流控芯片上加工探针阵列的示意图。

[0018] 图 4 是本发明的采用毛细管入口的微流控芯片上加工探针阵列的示意图。

[0019] 图 5 是本发明的采用注射器作为驱动力的探针阵列加工示意图。

[0020] 图 6 是本发明的已固定的探针阵列荧光信号强度。在图 6 中,横坐标为探针浓度 (μm),纵坐标为荧光信号强度。

具体实施方式

[0021] 以下实施例将结合附图对本发明作进一步的说明。

[0022] 实施例 1

[0023] 参见图 1, 芯片 1 的微通道 3 呈盘管状, 其入口 2 加工成尖针状, 插入到储液小试管 A 中。储液小试管 A 间隔排列分别装有矿物油 5 和探针溶液 6。微通道的出口与一水平储液池 4 相连, 利用重力驱动液体流动, 在微通道 3 内实现矿物油 7 携带探针液滴 8 流动的形式。流动到预定位置后, 停止流动并进行探针的固定反应以完成探针阵列的加工。

[0024] 图 6 是不同浓度的核酸探针固定 30min 所得的荧光信号强度, 探针含有 20 个碱基, 3' 标记有 FITC, 5' 标记有氨基, 通过与修饰在通道内表面的游离醛基发生的化学反应而被固定在通道内。

[0025] 实施例 2

[0026] 参见图 2, 芯片 1 的微通道 3 为一根或多根平行通道, 每根通道均加工有一个入口和出口, 加工多个平行的探针阵列用于多个平行的生物芯片分析。在图 2 中, 其它标记与图 1 相同。

[0027] 实施例 3

[0028] 参见图 3, 微通道 3 呈螺旋形, 用于加工探针阵列。在图 3 中, 其它标记与图 1 相同。

[0029] 实施例 4

[0030] 参见图 4, 其微通道入口由一小段石英毛细管代替, 加工方法为: 在芯片侧面对准微通道的位置, 利用钻头钻出一小孔, 插入一小段石英毛细管后用胶水固定作为通道入口。在图 4 中, 其它标记与图 1 相同。

[0031] 实施例 5

[0032] 参见图 5, 其出口连接有一根注射器 4, 注射器产生的负压提供驱动力, 驱动液体在微通道内流动。在图 5 中, 其它标记与图 1 相同。

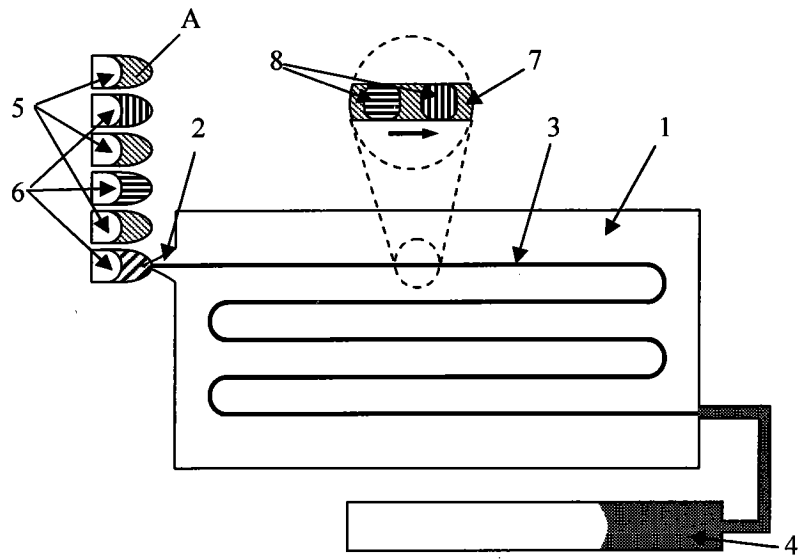


图 1

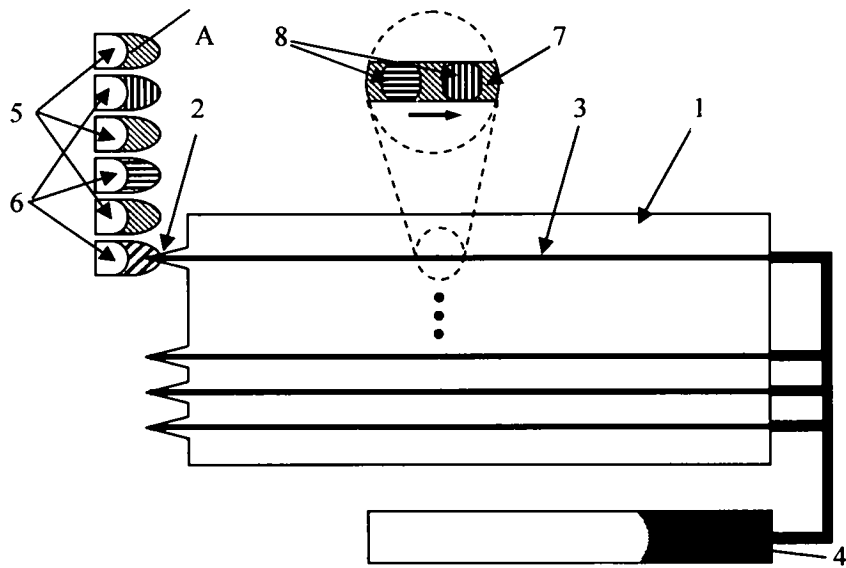


图 2

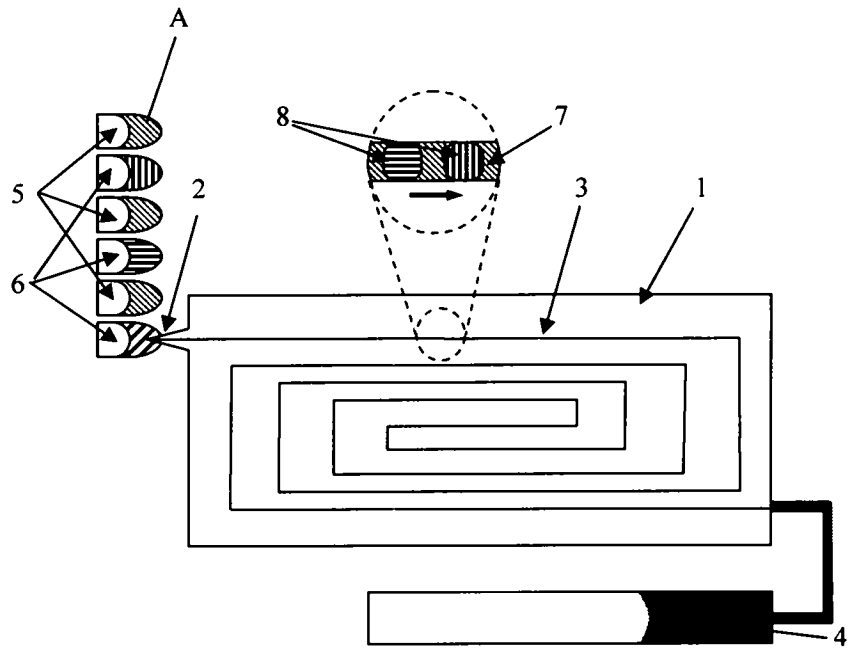


图 3

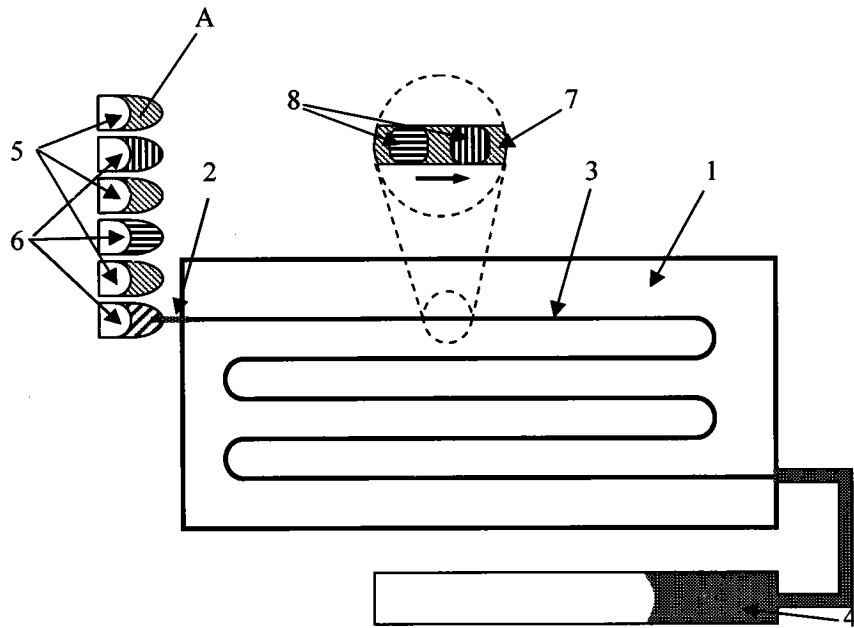


图 4

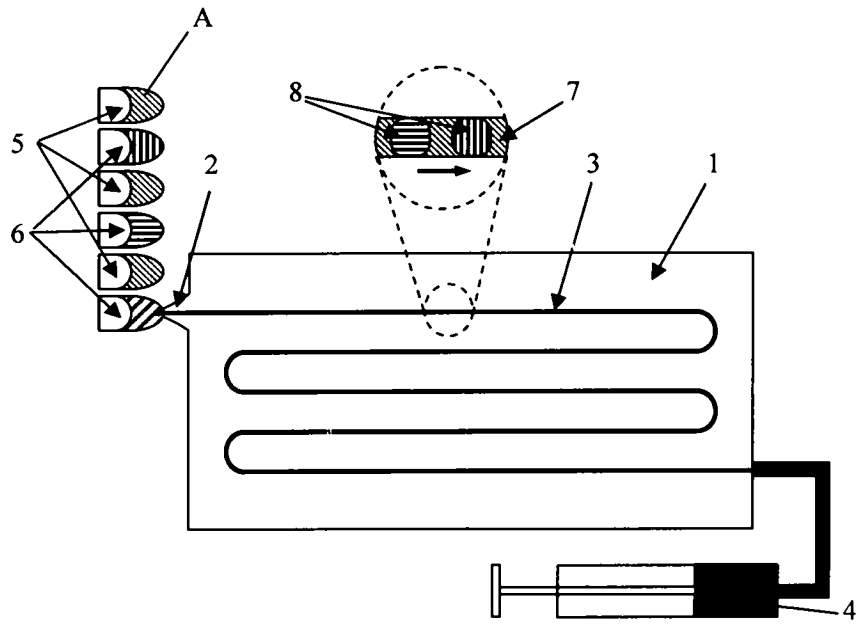


图 5

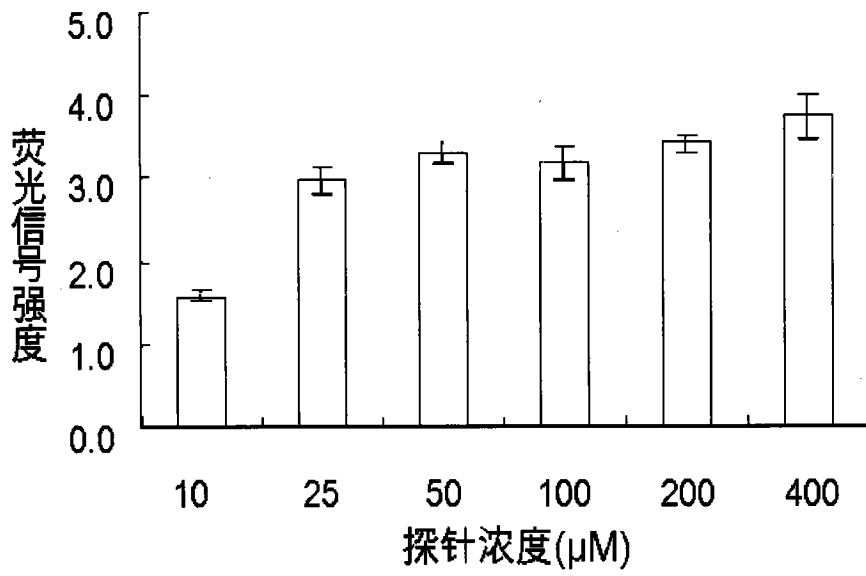


图 6