



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102071136 A

(43) 申请公布日 2011. 05. 25

(21) 申请号 200910241536. 1

(22) 申请日 2009. 11. 25

(71) 申请人 中国科学院电子学研究所

地址 100080 北京市海淀区北四环西路 19  
号

(72) 发明人 赵湛 丁国杰 于留波 方震

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任  
公司 11021

代理人 周国城

(51) Int. Cl.

*C12M 1/38* (2006. 01)

*C12M 1/34* (2006. 01)

*C12M 1/00* (2006. 01)

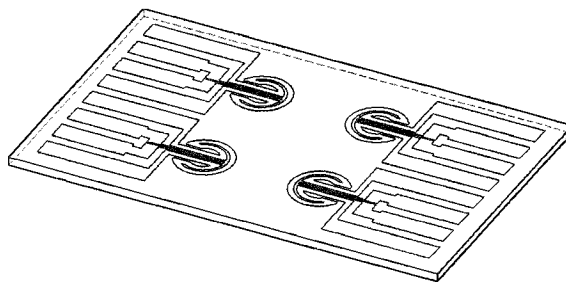
权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 3 页

### (54) 发明名称

一种阵列式微聚合酶链式反应芯片

### (57) 摘要

本发明公开了一种阵列式微聚合酶链式反应芯片,涉及脱氧核糖核酸(DNA)扩增技术,包括温控系统、加热芯片和反应腔;其加热芯片和反应腔是分离设置,使用时,将反应腔框架套于绝缘基片外圆后,按下,使反应池底面下表面与加热电极上表面紧密贴连,向反应池内注入样品液,然后启动。每次只需取一块干净的一次性聚二甲基硅氧烷(PDMS)微腔阵列粘在加热芯片上即可进行扩增反应。本发明的反应芯片,既可将聚合酶链式反应(PCR)微型化,实现小、轻、快、省的目的,又可解决微型化难以克服的生物兼容性和聚合酶链式反应(PCR)污染的问题。



1. 一种阵列式微聚合酶链式反应芯片,包括温控系统、加热芯片和反应腔;其特征在于:加热芯片和反应腔是分离设置;

加热芯片与温控系统电连接,加热芯片包括绝缘基片、加热电极和温度传感器,其中,在绝缘基片上表面溅射有加热电极和温度传感器;加热电极为环形圆盘状,环形圆盘的中间径向、在绝缘基片上表面有一条沟道,温度传感器探头嵌入在沟道中;绝缘基片下表面,相对于加热电极和温度传感器设有凹槽,使绝缘基片侧剖面为倒凹形;

反应腔包括框架和反应池,框架包括侧边、顶面,侧边固接于顶面周缘、正交向下,侧边围成的形状与绝缘基片的形状相适配;反应池口设于顶面,池体向下延伸,反应池为圆柱体,反应池底面为平面,反应池底面面积与加热电极面积相适配;

加热芯片和反应腔中反应池数目相等,至少为四个,成阵列设置;

使用时,将反应腔对准加热电极后按下,使反应腔下表面与加热电极上表面紧密贴连,向反应池内注入样品液,然后启动。

2. 如权利要求 1 所述的阵列式微聚合酶链式反应芯片,其特征在于:所述绝缘基片为硅片;加热电极和温度传感器为铂制作,阵列中每个加热芯片的形状、大小、加热电极的电阻值和温度传感器的电阻值都相同;反应腔为聚二甲基硅氧烷材料制作的一次性器件,阵列中每个反应池的形状和容积完全相同。

3. 如权利要求 1 所述的阵列式微聚合酶链式反应芯片,其特征在于:所述温控系统,包括多路温度采集电路、信号放大电路、A/D 转换电路、微控制器比例积分微分 (PID) 调节器、执行器件;其中,多路温度采集电路经信号放大电路、A/D 转换电路与微控制器比例积分微分调节器输入端电连接,微控制器比例积分微分调节器输出端与执行器件电连接;

微控制器比例积分微分调节器设有触摸屏;

多路温度采集电路的多个输入端与温度传感器电连接,执行器件的多个输出端与加热电极电连接。

4. 如权利要求 3 所述的阵列式微聚合酶链式反应芯片,其特征在于:所述微控制器比例积分微分调节器或外接计算机,并与计算机双向通讯;微控制器比例积分微分调节器输出端发出 PWM 调制信号,以控制执行器件对阵列中每一路加热芯片的温度升温或降温进行顺序控制。

## 一种阵列式微聚合酶链式反应芯片

### 技术领域

[0001] 本发明涉及脱氧核糖核酸 (DNA) 扩增技术领域,主要内容是利用聚合酶链式反应技术实现特定脱氧核糖核酸 (DNA) 片段的体外快速扩增。

### 背景技术

[0002] 聚合酶链式反应技术可以实现特脱氧核糖核酸 (DNA) 片段的体外快速扩增,在生命科学、生物医学、法医鉴定等众多领域中的应用十分广泛。

[0003] 经过几十年的发展,聚合酶链式反应 (PCR) 技术已经日趋成熟。现在市场上销售的台式聚合酶链式反应 (PCR) 扩增仪也是种类繁多,功能各异。但它们一般都有体积大、质量重、升降温速率慢、所需试剂量多等缺点。利用微电子机械系统 (MEMS) 技术把传统聚合酶链式反应 (PCR) 扩增实验从台式扩增仪移到微小的生物芯片上实现,即制作成芯片上的实验室 (Lab-on-Chip),可以很好的弥补台式仪的缺陷,具有小、轻、快、省等等诸多优点。

[0004] 但不可否认的是,基于微电子机械系统 (MEMS) 技术的聚合酶链式反应 (PCR) 芯片在使用和推广的过程中,也面临着诸多困难和挑战。譬如,微电子机械系统 (MEMS) 工艺材料 (如硅、玻璃等) 和聚合酶链式反应 (PCR) 试剂的生物兼容性问题、聚合酶链式反应 (PCR) 的污染问题等。这些问题的存在严重制约了微型化聚合酶链式反应 (PCR) 的发展和应用,

[0005] 综上所述,研制一种新型的聚合酶链式反应 (PCR) 扩增方法,使其既能克服传统台式扩增仪的缺点,又能避免微电子机械系统 (MEMS) 工艺带来的新问题,有着重要的理论意义和实用价值。

### 发明内容

[0006] 本发明的目的是公开一种阵列式微聚合酶链式反应 (PCR) 芯片,以克服传统台式扩增仪的缺点以及解决微型化聚合酶链式反应 (PCR) 面临的问题,该芯片性能稳定、价格低廉、体积小,把微加热芯片和微反应腔阵列相分离,做扩增反应简单快捷。

[0007] 为达到上述目的,本发明的技术解决方案是:

[0008] 一种阵列式微聚合酶链式反应芯片,包括温控系统、加热芯片和反应腔;其加热芯片和反应腔是分离设置;

[0009] 加热芯片与温控系统电连接,加热芯片包括绝缘基片、加热电极和温度传感器,其中,在绝缘基片上表面溅射有加热电极和温度传感器;加热电极为环形圆盘状,环形圆盘的中间径向、在绝缘基片上表面有一条沟道,温度传感器探头嵌入在沟道中;绝缘基片下表面,相对于加热电极和温度传感器设有凹槽,使绝缘基片侧剖面为倒凹形;

[0010] 反应腔包括框架和反应池,框架包括侧边、顶面,侧边固接于顶面周缘、正交向下,侧边围成的形状与绝缘基片的形状相适配;反应池口设于顶面,池体向下延伸,反应池为圆、方或多边形柱体,反应池底面为平面,反应池底面面积与加热电极面积相适配;

[0011] 加热芯片和反应腔中反应池数目相等,至少为四个,成阵列设置;

[0012] 使用时,将反应腔对准加热电极后按下,使反应腔下表面与加热电极上表面紧密贴连,向反应池内注入样品液,然后启动。

[0013] 所述的阵列式微聚合酶链式反应芯片,其所述绝缘基片为硅片;加热电极和温度传感器为铂制作,阵列中每个加热芯片的形状、大小、加热电极的电阻值和温度传感器的电阻值都相同;反应腔为聚二甲基硅氧烷(PDMS)材料制作的一次性器件,阵列中每个反应池的形状和容积完全相同。

[0014] 所述的阵列式微聚合酶链式反应芯片,其所述温控系统,包括多路温度采集电路、信号放大电路、A/D转换电路、微控制器比例积分微分(PID)调节器、执行器件;其中,多路温度采集电路经信号放大电路、A/D转换电路与微控制器比例积分微分(PID)调节器输入端电连接,微控制器比例积分微分(PID)调节器输出端与执行器件电连接;

[0015] 微控制器比例积分微分(PID)调节器设有触摸屏;

[0016] 多路温度采集电路的多个输入端与温度传感器电连接,执行器件的多个输出端与加热电极电连接。

[0017] 所述的阵列式微聚合酶链式反应芯片,其所述微控制器比例积分微分(PID)调节器或外接计算机,并与计算机双向通讯;微控制器比例积分微分(PID)调节器输出端发出脉宽调制(PWM)信号,以控制执行器件对阵列中每一路加热芯片的温度升温或降温进行顺序控制。

[0018] 本发明充分综合了微电子机械系统(MEMS)技术的优点和聚二甲基硅氧烷(PDMS)材料的优良特性,既实现了聚合酶链式反应(PCR)的微型化,具有小、轻、快、省等诸多优点;同时又避免了生物兼容性和聚合酶链式反应(PCR)污染的问题。由于温控系统的智能化、自动化以及操作界面的人性化,微型聚合酶链式反应(PCR)的使用灵活方便,容易上手。

## 附图说明

[0019] 图1是本发明中单个加热电极和温度传感器的集成结构示意图;

[0020] 图2是本发明中微加热芯片的制作工艺流程示意图,其中:

[0021] 图2(a)在硅片的两面上都生长二氧化硅和氮化硅;

[0022] 图2(b)在硅片正面甩胶并光刻出图案;

[0023] 图2(c)在硅片的正面溅射铂;

[0024] 图2(d)在硅片的背面腐蚀挖坑;

[0025] 图3是本发明中微加热芯片的阵列结构示意图;

[0026] 图4是本发明中制作聚二甲基硅氧烷(PDMS)微反应腔阵列的模具结构示意图;

[0027] 图5是本发明中聚二甲基硅氧烷(PDMS)微反应腔阵列的结构示意图;

[0028] 图6是本发明中温控系统的总体结构方块图。

## 具体实施方式

[0029] 一种阵列式微聚合酶链式反应(PCR)芯片,利用微电子机械系统(MEMS)工艺和材料(如硅、铂等)制作微加热芯片,利用性能稳定、价格低廉的聚二甲基硅氧烷(PDMS)材料制作微反应腔阵列,并把微加热芯片和微反应腔阵列相分离。每次做扩增反应时,取一块干

净的微反应腔阵列粘在微加热芯片上,通过温控系统控制微加热芯片进行温度循环,便可实现扩增反应。

[0030] 本发明的一种阵列式微聚合酶链式反应 (PCR) 芯片,主要包括以下三个部分,每部分的结构和功能如下:

[0031] (1) 微加热芯片。微加热芯片是利用微电子机械系统 (MEMS) 技术和材料制作的,主要工艺过程包括生长二氧化硅和氮化硅薄膜、甩胶光刻、溅射、去胶等步骤。为了实现一次扩增多个样品的目的,将芯片上的微加热电极做成阵列式。为了使每个加热电极的温度分布更加均匀,将加热器设计成环形圆盘状。在圆盘中间留出一个沟道,通过此沟道将温度传感器嵌入加热电极之中,这样便可以实时准确的监测和控制加热电极的温度。

[0032] (2) 微反应腔阵列。为了解决微型化聚合酶链式反应 (PCR) 存在的生物相容性差和聚合酶链式反应 (PCR) 污染的问题,本发明采用性能优良的聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 材料来制作微反应腔。聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 是一种高分子有机聚合物,它具有良好的生物相容性、耐高低温性和耐腐蚀性,不会与聚合酶链式反应 (PCR) 试剂发生化学反应;同时它的价格低廉,用它制作一次性使用的微反应腔阵列成本很低,而且制作工艺简单。因此,聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 是一种非常适合做微反应腔阵列的材料。

[0033] (3) 温控系统。为了实现一次扩增多个样品的目的,温控系统设计成可以多路采样和多路 A/D 转换的结构。由电桥电路采集到的微弱温度信号送仪表放大器进行放大处理,然后再送 A/D 转换器进行数模转换,根据转换的结果得到当前的温度值,然后再通过比较当前设定值进行比例积分微分 (PID) 调节,最后通过输出 PWM 信号控制加热电极的工作状态,从而实现实时调节加热器温度的目的。

[0034] 本发明的一种阵列式微聚合酶链式反应 (PCR) 芯片技术特点在于:

[0035] (1) 微加热芯片和反应腔阵列的分离性。为了既能实现聚合酶链式反应 (PCR) 的微型化,又能解决微型化带来的一些问题,本发明将微加热芯片和微反应腔阵列分离设计。利用微电子机械系统 (MEMS) 技术制作微加热芯片实现了聚合酶链式反应 (PCR) 的微型化,利用聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 材料制作一次性使用的微反应腔阵列解决了生物相容性和聚合酶链式反应 (PCR) 污染的问题。

[0036] (2) 阵列式。为了提升扩增的效率,本发明将加热电极以及微反应腔都设计成阵列式,这样一次便可以扩增多个样品。这在基因测序等需要进行大量脱氧核糖核酸 (DNA) 扩增的场合有着独特的优势。

[0037] (3) 加热电极和温度传感器的集成性。微加热芯片主要包括两个部分:加热电极和温度传感器,加热电极用来给试剂进行加热,而温度传感器用来实时控制当前温度。本发明在制作微加热芯片时将二者集成在了一起,这样温度传感器便能更加准确快速的反应出当前实际温度,改善扩增效果。

[0038] (4) 一次性使用的微反应腔阵列。微型化聚合酶链式反应 (PCR) 一个主要的问题就是容易受污染。如果每次在做扩增实验之前,都要花大量的时间和精力去清洗反应腔,这无疑会在很大程度上降低扩增的效率。而且随着微型化的发展,清洗工作会变得越来越困难,一旦清洗不干净,就会造成难以估计的后果。本发明利用价格低廉的聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 材料制作一次性使用的微反应腔阵列,每次反应时取一块干净的反应腔阵列粘在加热芯片上便可进行扩增反应。这样既省去了繁琐的清洗工作,也完全杜绝了聚合酶链式反

应 (PCR) 污染的发生。而且由于聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 的廉价性,即便一次性使用,也不会增加太多成本。

[0039] (5) 温控系统的多路性。为了配合微加热芯片和微反应腔阵列,将温控系统设计成了可多路采样、多路转换的控制系统。通过对每一路的循环控制,实现多个反应的同时进行。

[0040] (6) 温控系统的自动化和智能化。温度控制采用经典的比例积分微分 (PID) 调节算法,可以根据当前值和设定值的差值调节脉宽调制信号的占空比,从而控制加热电极的工作状态。只要在扩增前设置好比例积分微分 (PID) 调节参数和每个时间段的温度值,扩增过程中完全不需要人工操作,便可自动完成多次的扩增反应。

[0041] 下面结合附图进一步详细说明本发明的具体实施。

[0042] 如图 1 所示,将每个加热电极和温度传感器集成在一起做成一个加热单元。其中线条较粗的圆盘是加热电极,中间较细的线条便是温度传感器。由于二者紧密集成在一起,因此温度传感器可以实时准确的检测出加热器当前的温度,送至温控系统进行温度控制。

[0043] 图 2 是制作微加热芯片的一个大概流程图。(a) 在清洗干净的硅片上热氧化一层氧化硅薄膜,再低压化学气相淀积 (LPCVD) 一层氮化硅薄膜;(b) 在硅片正面甩胶、光刻、显影,得到加热电极和温度传感器的图案;(c) 利用 Lift\_Off 工艺溅射一层铂,用丙酮浸泡去胶后,便可得到加热电极和温度传感器;(d) 为了提高升降温的速率,将硅片背面腐蚀掉一部分。图 3 便是制作完成以后整个芯片的阵列结构图,从图中可见,每个芯片上面多个加热单元排成阵列,以便同时扩增多个样品。

[0044] 图 4 是制作聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 微反应腔阵列的模具结构示意图。制作聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 微反应腔阵列时,先将聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 液体和固化剂按 10 : 1 的比例完全混合均匀后放入真空腔中抽气以排除混合液里的气泡;然后将混合液灌入图 4 所示的模具中后,放入烘箱中烘烤大约 1 小时便可得到成型的聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 微反应腔阵列,如图 5 所示。由图 5 可知,每个微反应腔阵列上有多个反应池,而且反应池的结构、数量与微加热芯片阵列上加热单元的结构、数量相对应。

[0045] 图 6 是温控系统的总体结构方框图。从图中可知,温控系统大体上可以分成 4 个部分:温度信号输入部分、温度信号处理部分、控制信号输出部分和操作界面部分。其中,温度信号的输入又包括信号采集、信号放大以及信号的 A/D 转换三个部分。为了能采集到微弱的温度信号,将信号采集部分设计成双臂电桥结构,为了能尽可能的抑制共模、放大温度信号,信号放大部分采用仪表放大器。信号处理部分的主要作用是根据当前设定温度值与实际温度值之间的大小关系,利用比例积分微分 (PID) 调节算法,输出一个占空比可调的脉宽调制信号,控制加热电极的开关工作状态,进而调节加热电极的温度使其趋于设定值。操作界面也即人机接口部分,友好的人机接口是一个好的电子产品的重要组成部分,本发明的人机接口主要包括触摸屏和 PC 机两部分,用以实现参数设定、过程控制、实时监测等目的。

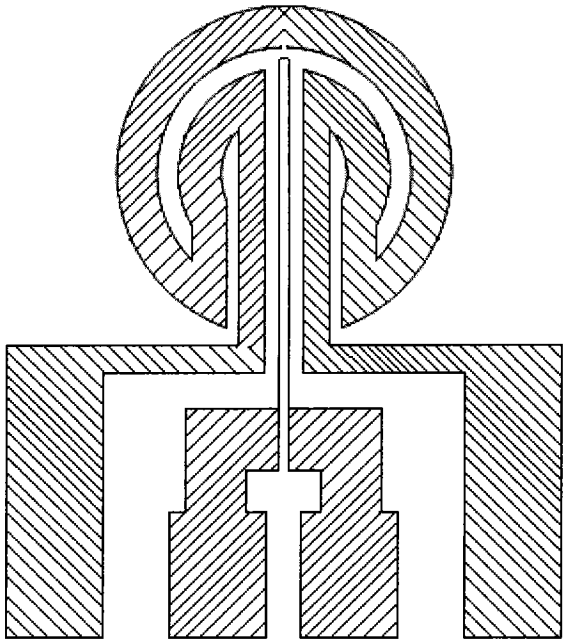


图 1

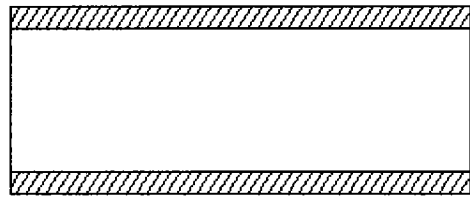


图 2(a)

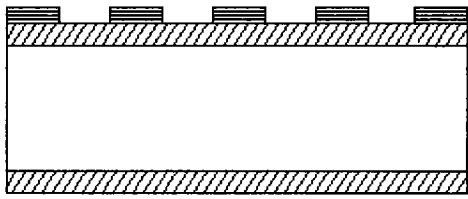


图 2(b)

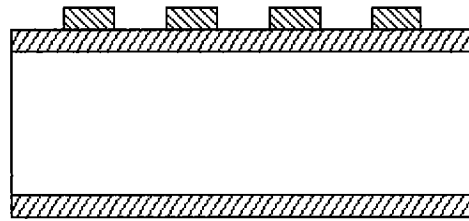


图 2(c)

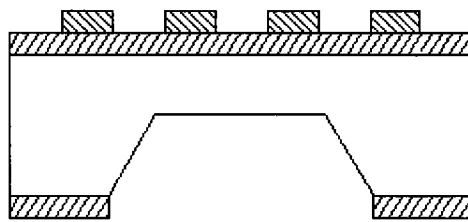


图 2(d)

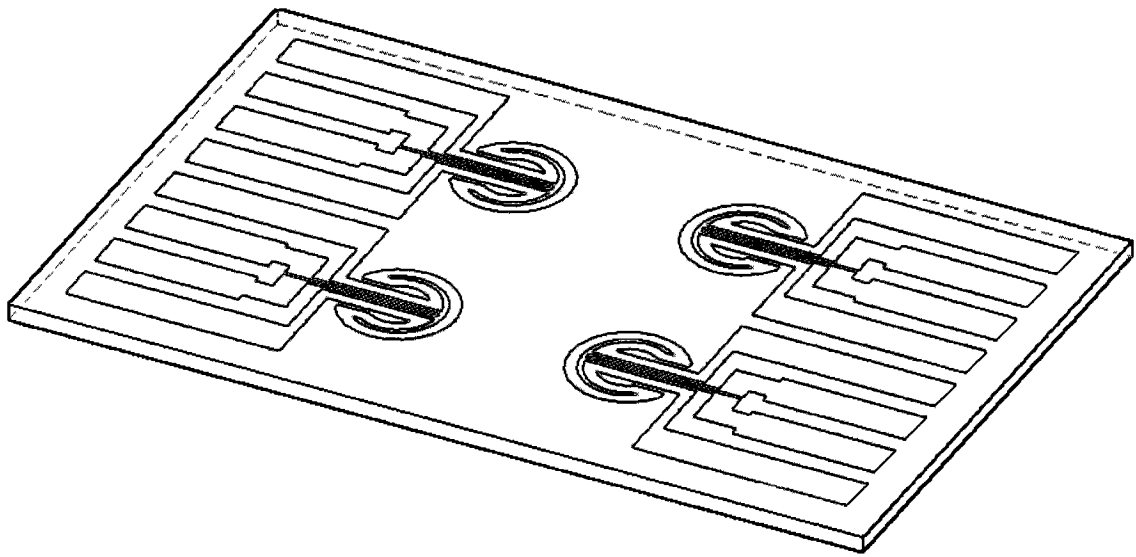


图 3

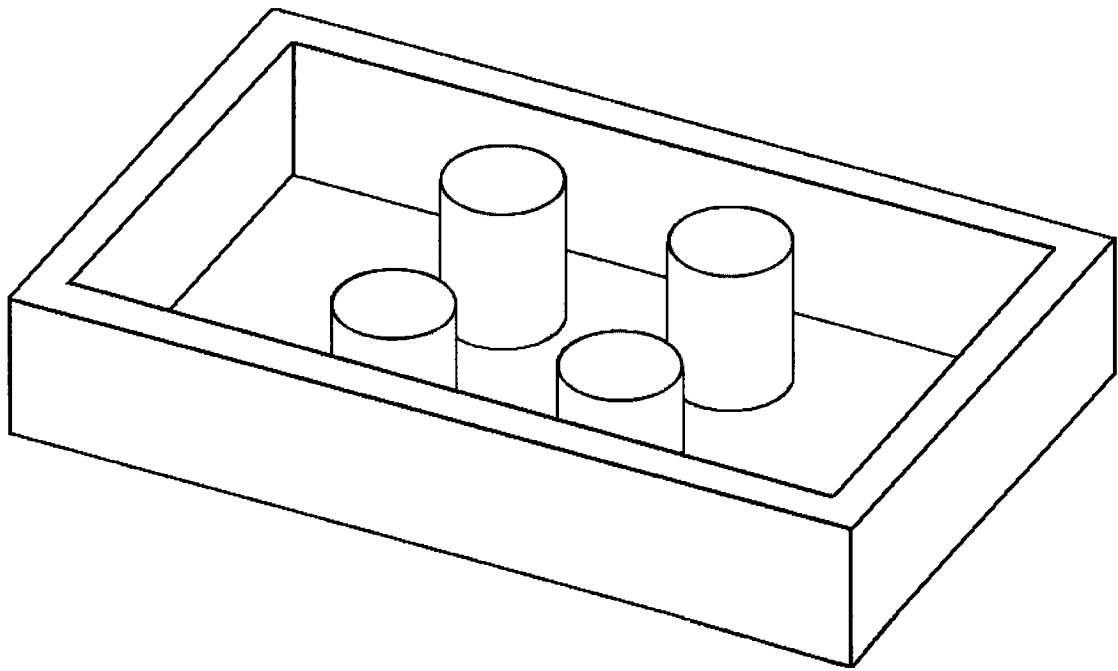


图 4



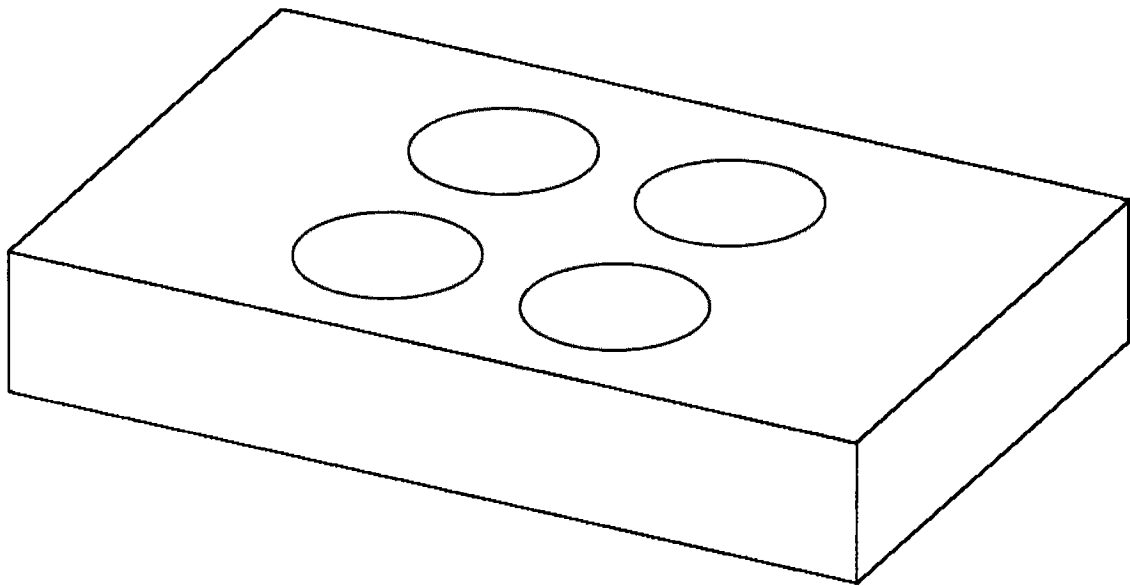


图 5

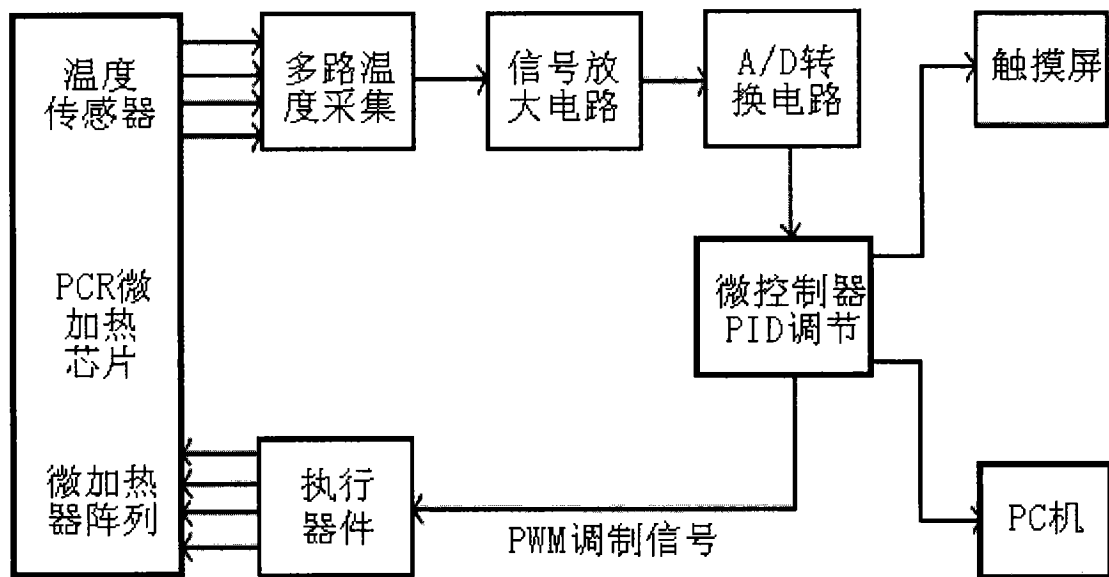


图 6