



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114277347 B

(45) 授权公告日 2022. 07. 29

(21) 申请号 202111612835.9

G23C 14/16 (2006.01)

(22) 申请日 2021.12.27

G23C 14/58 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

G23C 14/54 (2006.01)

申请公布号 CN 114277347 A

G23C 14/24 (2006.01)

G01N 27/62 (2021.01)

(43) 申请公布日 2022.04.05

(56) 对比文件

(73) 专利权人 厦门金诺花生物技术有

US 2004/0038423 A1, 2004.02.26

限公司

US 2007/0075241 A1, 2007.04.05

地址 361100 福建省厦门市翔安区市头路

CN 209878665 U, 2019.12.31

98号二层B室

(72) 发明人 余竞雄 刘兰 沈杰晖

审查员 王蔚

(74) 专利代理机构 厦门原创专利事务所(普通

合伙) 35101

专利代理师 黄巧香

(51) Int. Cl.

G23C 14/35 (2006.01)

G23C 14/04 (2006.01)

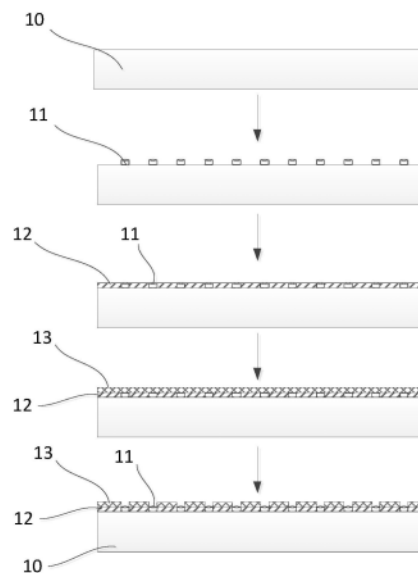
权利要求书2页 说明书5页 附图2页

(54) 发明名称

硅制靶板及其制备、再生方法

(57) 摘要

本发明提供了一种硅制靶板的制备方法,包括以下步骤:S1,提供硅基底,并在所述硅基底上使用掩模版结合磁控溅射技术表面沉积多个金质靶点;S2,将所述沉积有金质靶点的硅基底在无水汽氛围下高温下氧化处理,使所述硅基底的表面被氧化形成氧化硅层;S3,在所述氧化硅层表面形成疏水镀膜,其中,所述金质靶点被所述疏水镀膜包围;S4,去除所述金质靶点表面的疏水官能团,形成所述硅制靶板。本发明还进一步提供一种通过上述方法获得的硅制靶板及其再生方法。



1. 一种硅制靶板的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

S1,提供硅基底,并在所述硅基底上使用掩模版结合磁控溅射技术表面沉积多个金质靶点;

S2,将沉积有金质靶点的硅基底在无水汽氛围下高温下氧化处理,使所述硅基底的表面被氧化形成氧化硅层;

S3,在所述氧化硅层表面形成疏水镀膜,其中,所述金质靶点被所述疏水镀膜包围;

S4,去除所述金质靶点表面的疏水官能团,形成所述硅制靶板;

在步骤S1中,在硅基底上使用掩模版结合磁控溅射技术表面沉积多个金质靶点的步骤包括:在所述硅基底的表面预置掩模版,并通过磁控溅射在所述硅基底表面沉积直径为0.1-1mm,厚度为50-500nm的圆型金质靶点;

在步骤S2中,所述将沉积有金质靶点的硅基底在无水汽氛围下高温下氧化处理的步骤包括:将所述沉积有金质靶点的硅基底在800-1200℃及干燥氧气氛围下高温热处理,并通过控制生长时间使所述氧化硅层的厚度为50-500nm。

2. 如权利要求1所述的硅制靶板的制备方法,其特征在于,在步骤S2中,所述将所述沉积有金质靶点的硅基底在800-1200℃及氧气氛围下高温热处理的步骤包括:

将所述沉积有金质靶点的硅基底置于管式炉中,通入干燥氧气,控制氧气流速、反应温度、反应时长,从而生成厚度可控的所述氧化硅层;其中,所述氧气流速为0.1~5cm/s;所述反应时长为10~60min,反应温度为980~1020℃。

3. 如权利要求1所述的硅制靶板的制备方法,其特征在于,在步骤S3中,在氧化硅层表面形成疏水镀膜的步骤包括:

对所述氧化硅层表面进行表面Anti-Fingerprint镀膜,形成所述疏水镀膜,其中,所述疏水镀膜的表面接触角大于等于115°。

4. 如权利要求3所述的硅制靶板的制备方法,其特征在于,在步骤S3中,所述对所述氧化硅层表面进行表面Anti-Fingerprint镀膜的步骤包括:

使用AF药丸作为镀膜原材料,蒸发AF药丸,控制束流40-120mA及镀膜速度0.8-2.4nm/s,镀膜20-40分钟后取出,并常温静置。

5. 如权利要求1所述的硅制靶板的制备方法,其特征在于,在步骤S4中,所述去除所述金质靶点表面的疏水官能团的步骤包括:

在所述疏水镀膜表面设置所述掩模版以暴露所述金质靶点;

在臭氧气氛下使用紫外灯对所述金质靶点进行表面清洗处理,以去除所述金质靶点表面的疏水官能团,并使所述金质靶点表面吸附更多的羟基实现效果更佳的亲水效果。

6. 一种硅制靶板,其特征在于,所述硅制靶板为通过权利要求1-5任一项所述的制备方法制备获得,其包括:

硅基底;

间隔布设于所述硅基底表面的多个金质靶点;

形成于所述金质靶点周边的氧化硅层,定义所述金质靶点的厚度为H,且所述氧化硅层的厚度为h,其中, $H \leq h \leq 3H$;以及

覆盖于所述氧化硅层表面的疏水镀膜。

7. 如权利要求6所述的硅制靶板,其特征在于,所述金质靶点的直径为0.1-1mm,厚度为50-500nm。

8. 如权利要求6所述的硅制靶板,其特征在于,所述疏水镀膜的表面接触角大于等于 115° 。

9. 一种如权利要求6所述的硅制靶板的再生方法,其特征在于,包括以下步骤:

S1,将使用后的硅制靶板用易挥发有机溶剂清洗;

S2,然后再使用过氧化氢水溶液进行快速冲洗,最后室温自然干燥。

硅制靶板及其制备、再生方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种硅制靶板及其制备、再生方法；尤其涉及一种用于基质辅助解吸电离质谱检测的靶板及其制备、再生方法。

背景技术

[0002] 近年来,伴随着基质辅助激光解吸电离质谱技术(MALDI-MS)在灵敏度,分辨率,检测质量范围的提升,其被广泛应用于蛋白质组学,基因组学,微生物检测等生物分子检测领域。相比于传统的蛋白与核酸检测手段,基于MALDI-MS的检测手段具有高速率,高精度的特征,MALDI-MS可以在飞摩尔至阿摩尔的水平下检测相对分子质量最高可达数十万的生物大分子同时检测时间仅需数秒。MALDI-MS检测方案凭借其操作简单,高可重复性,高精度的优点已成为未来微生物以及核酸质谱的检测的趋势。

[0003] MALDI-MS的基本工作流程可分为四部分,样品的制备与基质选择,样品与基质共结晶,质谱分析,数据统计与处理。其中,样品与基质共结晶的过程直接决定着质谱检测结果的准确性与灵敏度,不均匀的共结晶会直接导致样品无法集中结晶于靶点,同时高低不够平整的结晶表面会导致激光能量的分散以及产生形成离子过程中过高的空间分散降低质谱分析的分辨率。理想情况下样品与基质的应当具备靶点整体结晶表面平整,结晶颗粒细致,样品与基质混合均匀的特征,作为样品与基质结晶的载体MALDI-MS靶板的表面特性直接决定着最终的制样结果。目前市场上的商用MALDI-MS靶板主要具两种类型1以Shimadzu的DE1580TA为代表的钢片靶,其可以反复使用但是表面未有化学改性处理,结晶情况差,质谱检测中准确度低,性噪比低,基线高2以Agena生产的L24 SpectroCHIP为代表的硅制靶板,该类型靶板靶点与靶面经过表面化学处理结晶情况理想,但是其具体技术被国外垄断,价格昂贵且只能一次性能用,为保持靶点表面的修饰官能团不在保存过程中被空气氧化该类型硅制靶板在出厂时就已涂抹基质保护靶点的表面修饰,这极大的限制了硅制靶板的广泛适用性。

发明内容

[0004] 本发明提供了一种基质辅助解吸电离质谱检测靶板及其制备、再生方法,可以有效解决上述问题。

[0005] 本发明是这样实现的:

[0006] 本发明提供一种硅制靶板的制备方法,包括以下步骤:

[0007] S1,提供硅基底,并在所述硅基底上使用掩模版结合磁控溅射技术表面沉积多个金质靶点;

[0008] S2,将所述沉积有金质靶点的硅基底在无水汽氛围下高温下氧化处理,使所述硅基底的表面被氧化形成氧化硅层;

[0009] S3,在所述氧化硅层表面形成疏水镀膜,其中,所述金质靶点被所述疏水镀膜包围;

- [0010] S4, 去除所述金质靶点表面的疏水官能团, 形成所述硅制靶板。
- [0011] 本发明进一步提供一种硅制靶板, 包括:
- [0012] 硅基底;
- [0013] 间隔布设于所述硅基底表面的多个金质靶点;
- [0014] 形成于所述金质靶点周边的氧化硅层; 以及
- [0015] 覆盖于所述氧化硅层表面的疏水镀膜。
- [0016] 作为进一步改进的, 所述金质靶点的直径为0.1-1mm, 厚度为50-500nm。
- [0017] 作为进一步改进的, 所述疏水镀膜的表面接触角大于等于115°。
- [0018] 本发明进一步提供一种上述的硅制靶板的再生方法, 包括以下步骤:
- [0019] S1, 将所述使用后的硅制靶板用易挥发有机溶剂清洗;
- [0020] S2, 然后再使用过氧化氢水溶液进行快速冲洗, 最后自然烘干。。
- [0021] 本发明的有益效果是: 本发明提供的硅制靶板制备方法可制备出可重复使用, 同时无需预涂基质, 广泛兼容型的硅制靶板。从而可以有效解决目前MALDI-MS应用中靶板成本消耗过高, 应用范围受靶板预涂基质限制的缺点。另外, 本发明提供的硅制靶板经过表面处理可以实现均匀的共结晶。最后, 金质靶点具有优秀的物理化学稳定性无需提前涂抹基质, 应用场景更为灵活, 可同时满足核酸和蛋白的检测需求。

附图说明

[0022] 为了更清楚地说明本发明实施方式的技术方案, 下面将对实施方式中所需要使用的附图作简单地介绍, 应当理解, 以下附图仅示出了本发明的某些实施例, 因此不应被看作是对范围的限定, 对于本领域普通技术人员来讲, 在不付出创造性劳动的前提下, 还可以根据这些附图获得其他相关的附图。

[0023] 图1是本发明实施例提供的硅制靶板的制备方法的方法流程图。

[0024] 图2是本发明实施例提供的硅制靶板的结构示意图。

[0025] 图3是本发明实施例提供的硅制靶板的再生方法的方法流程图。

[0026] 图4是本发明实施例提供的硅制靶板上制样的照片。

具体实施方式

[0027] 为使本发明实施方式的目的、技术方案和优点更加清楚, 下面将结合本发明实施方式中的附图, 对本发明实施方式中的技术方案进行清楚、完整地描述, 显然, 所描述的实施方式是本发明一部分实施方式, 而不是全部的实施方式。基于本发明中的实施方式, 本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施方式, 都属于本发明保护的范围。因此, 以下对在附图中提供的本发明的实施方式的详细描述并非旨在限制要求保护的本发明的范围, 而是仅仅表示本发明的选定实施方式。基于本发明中的实施方式, 本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施方式, 都属于本发明保护的范围。

[0028] 在本发明的描述中, 术语“第一”、“第二”仅用于描述目的, 而不能理解为指示或暗示相对重要性或者隐含指明所指示的技术特征的数量。由此, 限定有“第一”、“第二”的特征可以明示或者隐含地包括一个或者更多个该特征。在本发明的描述中, “多个”的含义是两

个或两个以上,除非另有明确具体的限定。

[0029] 本发明靶板的基本设计理念是是基于构建表面超亲水的靶点以及超疏水的靶面从而实现样品与基质的混合溶液在靶点位置形成接触角小于 10° 液膜,干燥过程中可以在靶点位置均匀结晶。从而提供一种可重复使用,同时无需预涂基质,广泛兼容型的硅制靶板,解决目前MALDI-MS应用中靶板成本消耗过高,应用范围受靶板预涂基质限制的缺点。

[0030] 参照图1所示,一种硅制靶板的制备方法,包括以下步骤:

[0031] S1,提供硅基底10,并在所述硅基底10上使用掩模版结合磁控溅射技术表面沉积多个金质靶点11;

[0032] S2,将所述沉积有金质靶点11的硅基底10在无水汽氛围下高温下氧化处理,使所述硅基底的表面被氧化形成氧化硅层12;

[0033] S3,在所述氧化硅层12表面形成疏水镀膜13,其中,所述金质靶点11被所述疏水镀膜包围;

[0034] S4,去除所述金质靶点11表面的疏水官能团,形成所述硅制靶板。

[0035] 作为进一步改进的,在步骤S1中,所述在硅基底10的表面沉积多个金质靶点11的步骤之前,进一步包括:

[0036] 对所述硅基底10进行表面抛光,以及除蜡除油前处理。

[0037] 作为进一步改进的,所述在硅基底10上使用掩模版结合磁控溅射技术表面沉积多个金质靶点11的步骤包括:

[0038] 在所述硅基底10的表面预置掩模版(图中未画出),并通过磁控溅射在所述硅基底10表面沉积直径为0.1-1mm,厚度为50-500nm的圆型金质靶点11。

[0039] 金属金本身具有良好的亲水性同时具有化学惰性相比传统使用硅氧化层靶点具有更好的化学稳定性及机械稳定性。所述圆型金质靶点11的厚度太小容易导致附着力低,容易导致在后续的高温氧化过程中脱落;厚度太大,一方面成本高,另一方面需要较长的反应时间。优选的,所述圆型金质靶点11的厚度为100-300nm,直径为0.2-0.8mm。

[0040] 所述磁控溅射的条件为:真空室内抽至 5×10^{-3} Pa后通入氦气,气压维持在0.133-0.0133Pa之间;辅助阳极和阴极磁控靶之间加上900V直流电压,产生低压气体辉光放电。氦气离子在电场作用下轰击磁控靶面(金靶),金原子经过不锈钢基片的负偏转2500V的加速作用沉积于硅片表面形成Au靶点。当炉内温度低于 80°C ,向炉内充入空气,取出硅片。在这一步骤中,可以通过沉积反应时间的长短控制所述金质靶点11的厚度。在其中一个实施例中,沉积反应时间约为100min,金质靶点11的厚度约为100nm。

[0041] 在步骤S2中,所述将沉积有金质靶点11的硅基底10在无水汽氛围下高温下氧化处理,使所述硅基底的表面被氧化形成氧化硅层12的步骤包括:

[0042] 将所述沉积有金质靶点11的硅基底10在 $800-1200^\circ\text{C}$ 及氧气氛围下高温热处理,并通过控制生长时间使所述氧化硅层12的厚度与所述金质靶点11的厚度相当。当温度高,虽然可以减少氧化时间,但是容易使金质靶点11底部的硅基底10被氧化而造成所述金质靶点11附着力降低,并容易脱落。试验证明,当温度达到 1100°C 左右,所述金质靶点11的附着力下降到一半左右,当温度到 1200°C 左右,部分所述金质靶点11开始脱落。然而,当温度低于 800°C ,会造成反应速度过慢或难以形成足够厚的氧化层。故,优选的,反应温度为 $980 \sim 1020^\circ\text{C}$ 。

[0043] 作为进一步改进的,在步骤S2中,所述将所述沉积有金质靶点11的硅基底10在800-1200℃及氧气氛下高温热处理的步骤包括:

[0044] 将所述沉积有金质靶点11的硅基底10置于管式炉中,通入干燥氧气,控制氧气流速、反应温度、反应时长,从而生成厚度可控的所述氧化硅层12。其中,所述氧气流速为0.1~5cm/s;所述反应时长为10~60min,反应温度为980~1020℃左右,从而可以生成氧化硅层12的厚度为50-500nm。

[0045] 优选的,定义所述金质靶点11的厚度为H,且所述氧化硅层12的厚度为h,其中, $H \leq h \leq 3H$ 。更优选的, $2H \leq h \leq 3H$ 。可以理解,通过所述氧化硅层12以及所述金质靶点11之间厚度以及直径的控制,从而可以使后续在检测核酸试样时,所制备的样品均匀且平整,有利于后续的检测结果的重现性。

[0046] 在步骤S3中,直接热氧化生成的硅氧化层本身具备亲水特性与靶面需求的疏水特性相反,决定界面物体表面疏水特性的特性是物体表面的表面能,表面能大小通过表面接触角反馈,表面能越大,物体表面越浸润,更易形成水膜,表面能越小,物体表面越不浸润,更易形成水珠。目前已知的低表面能材料主要为有机硅和有机氟材料,其分子基团的表面能从小到大依次为 $-\text{CH}_2>-\text{CH}_3>-\text{CF}_2>-\text{CF}_3$ 。在本发明中该阶段使用有机氟材料对硅氧化层的硅羟基(Si-OH)进行缩合使其表面均表现为氟有机基团,镀膜后表面接触角大于115°。

[0047] 具体的,所述在所述氧化硅层12表面形成疏水镀膜13的步骤包括:

[0048] 对所述氧化硅层12表面进行表面Anti-Fingerprint镀膜,形成所述疏水镀膜13,其中,所述疏水镀膜13的表面接触角大于等于115°。

[0049] 进一步的,所述对所述氧化硅层12表面进行表面Anti-Fingerprint镀膜的步骤包括:

[0050] 使用AF药丸作为镀膜原材料,蒸发AF药丸,控制束流及镀膜速度,镀膜20~40分钟后取出。优选的,所述束流控制在40~120mA,所述镀膜速度0.8~2.4nm/s,从而可以形成10-30nm厚度的疏水镀膜13。更优选的,所述疏水镀膜13的厚度为20~25nm左右。当所述疏水镀膜13的厚度过大时,不利于后续的臭氧氧化去除;当所述疏水镀膜13的厚度过小时,难以稳定存在,从而限制其重复使用。

[0051] 在步骤S4中,所述去除所述金质靶点11表面的疏水官能团的步骤包括:

[0052] 在所述疏水镀膜13表面设置所述掩模版以暴露所述金质靶点11;

[0053] 在臭氧气氛下使用紫外灯对所述金质靶点11进行表面清洗处理,以去除所述金质靶点11表面的疏水官能团,并使所述金质靶点11表面吸附更多的羟基实现效果更佳的亲水效果。通过紫外灯辅助可以促进臭氧的分解,从而有利于疏水官能团快速去除。

[0054] 请参见图2,本发明实施例进一步提供一种硅制靶板100,包括:

[0055] 硅基底10;

[0056] 间隔布设于所述硅基底10表面的多个金质靶点11;

[0057] 形成于所述金质靶点11周边的氧化硅层12,其中,所述氧化硅层12的厚度与所述金质靶点11的厚度相当;以及

[0058] 覆盖于所述氧化硅层12表面的疏水镀膜13。

[0059] 所述金质靶点11的直径为0.1-1mm,厚度为50-500nm。

[0060] 所述疏水镀膜13的表面接触角大于等于115°,厚度为10-30nm。

[0061] 请参见图3,本发明实施例进一步提供一种上述的硅制靶板100的再生方法,包括以下步骤:

[0062] S5,将所述使用后的硅制靶板100用易挥发有机溶剂清洗;

[0063] S6,然后再使用过氧化氢水溶液进行快速冲洗,最后自然烘干。由于靶面的超疏水特性存留液体仅存在于金质靶点待其自然干燥就可有效恢复金质靶点的亲水特性。

[0064] 在步骤S5中,所述易挥发有机溶剂可选自丙酮、乙醇、甲醇等。

[0065] 实施例1:将尺寸为50X120mm的单面进行表面抛光,经过除蜡除油前处理后与96孔掩膜版固定置于磁控溅射镀膜机内,真空室内抽至 5×10^{-3} Pa后通入氩气,气压维持在0.133-0.0133Pa之间。辅助阳极和阴极磁控靶之间加上900V直流电压,产生低压气体辉光放电。氩气离子在电场作用下轰击磁控靶面(金靶),金原子经过不锈钢基片的负偏转2500V的加速作用沉积于硅片表面形成Au靶点。当炉内温度低于80℃,向炉内充入空气,取出硅片。沉积反应时间100min,金质靶点厚度100nm;将硅片置于管式炉中,气氛为干燥氧气,氧气流速1cm/s,反应温度1000℃,反应时长30min,生成氧化层厚度为300nm;使用AF药丸作为镀膜原材料,使用石墨坩埚蒸发AF药丸,束流控制在40mA,镀膜速度0.8nm/s,镀膜30分钟后取出硅片,常温静置120分钟;UV/O₃金质靶点表面处理:将硅片重新与步骤1使用的掩膜版结合保护靶面暴露金质靶点,置于紫外臭氧清洗机(汇沃科技BZS250GF-TC)当中清洗30min。

[0066] 实施例2,制样:使用核酸试样以及龙胆酸基质于金质靶点表面制备,其结果如图4所示,可以获得均匀且平整的共结晶效果。

[0067] 实施例3,再生:将使用过的靶板使用丙酮超声清洗30min,取出后使用30%过氧化氢溶液淋洗20s,平置靶板,自然干燥后便可继续使用。过氧化氢的浓度以及淋洗时间不宜过长,否则会导致疏水层被破坏。试验证明,二次使用后其效果可以达到第一次使用的90%左右,并可连续使用5-10次左右。

[0068] 以上所述仅为本发明的优选实施方式而已,并不用于限制本发明,对于本领域的技术人员来说,本发明可以有各种更改和变化。凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

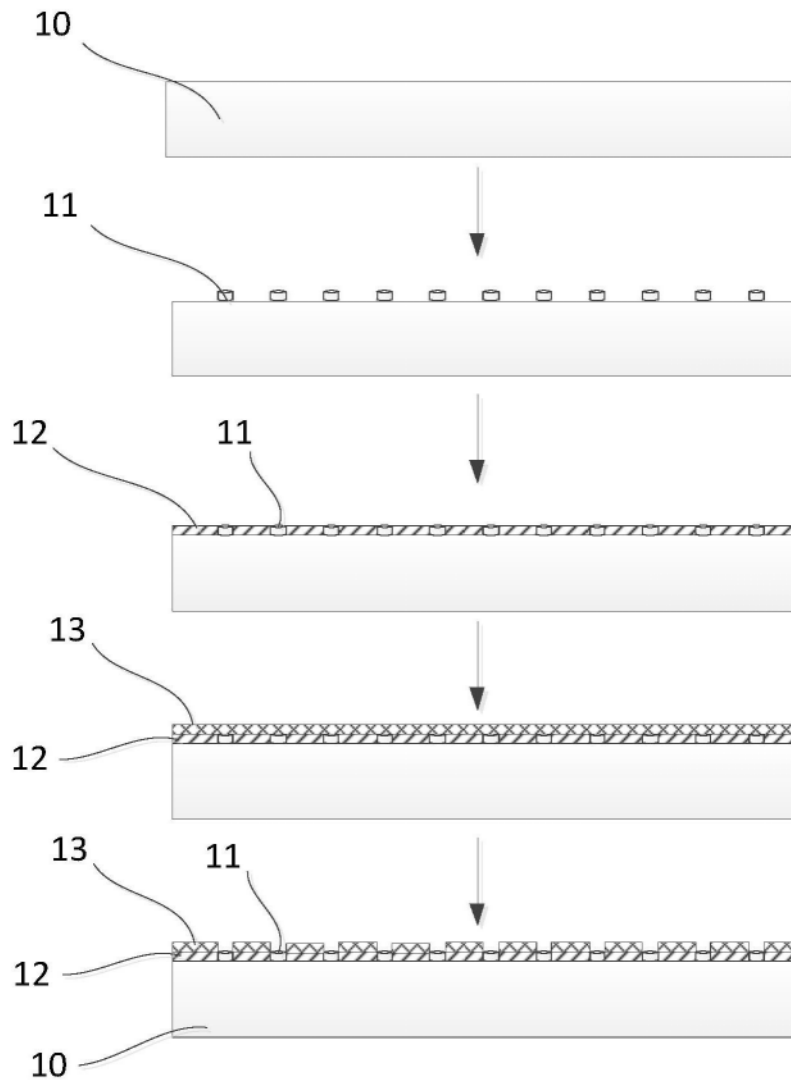


图1

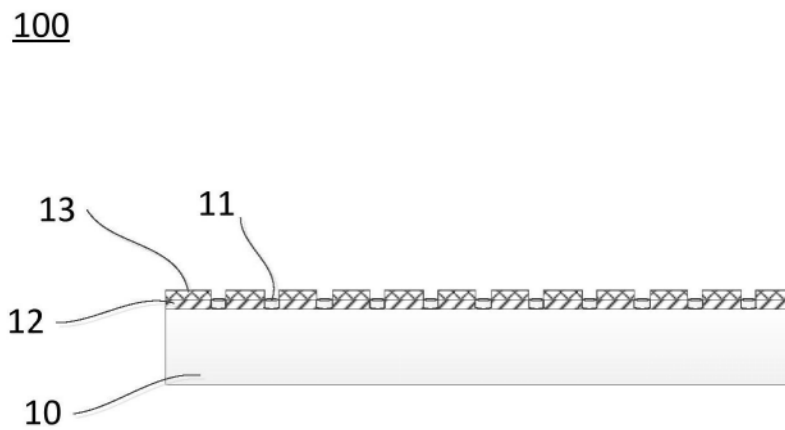


图2

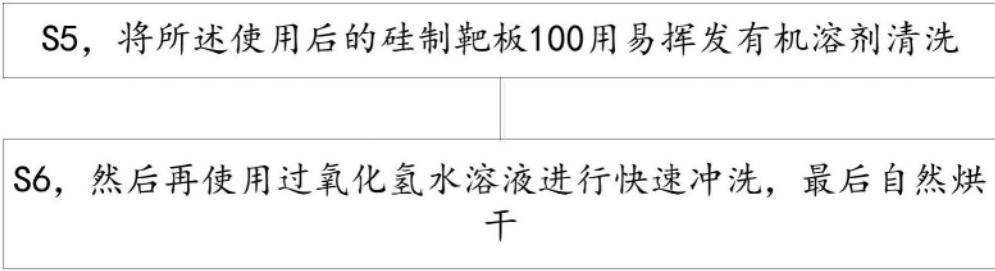


图3

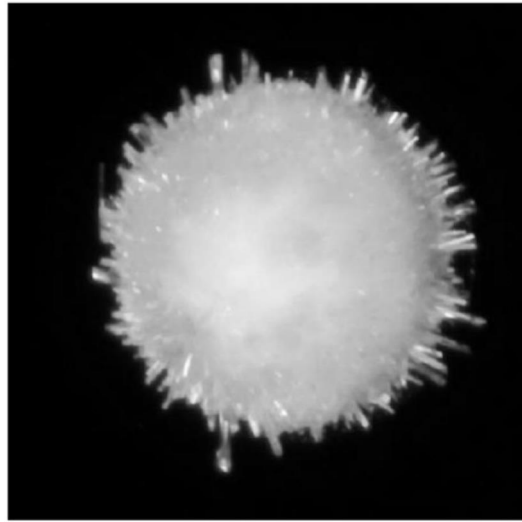


图4