



# (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 115491301 B

(45) 授权公告日 2023. 09. 15

(21) 申请号 202211077200.8

C12N 5/073 (2010.01)

(22) 申请日 2022.09.05

B01L 3/00 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 115491301 A

### (56) 对比文件

US 2015072374 A1, 2015.03.12

US 2020123484 A1, 2020.04.23

(43) 申请公布日 2022.12.20

CN 101947124 A, 2011.01.19

(73) 专利权人 武汉大学

CN 211445751 U, 2020.09.08

地址 430072 湖北省武汉市武昌区珞珈山

CN 116004387 A, 2023.04.25

街道八一路299号

CN 215440421 U, 2022.01.07

(72) 发明人 陈璞 陈司晗

CN 206266588 U, 2017.06.20

(74) 专利代理机构 武汉科皓知识产权代理事务

所(特殊普通合伙) 42222

CN 105960463 A, 2016.09.21

专利代理师 江慧

CN 101457203 A, 2009.06.17

CN 109943467 A, 2019.06.28

(51) Int. Cl.

C12M 3/00 (2006.01)

C12M 1/00 (2006.01)

C12M 1/12 (2006.01)

C12N 5/076 (2010.01)

Sandhya Sharma et al..Selection of healthy sperm based on positive rheotaxis using a microfluidic device.Analyst.2022, (第147期), 第1589-1597页.

审查员 解晓芬

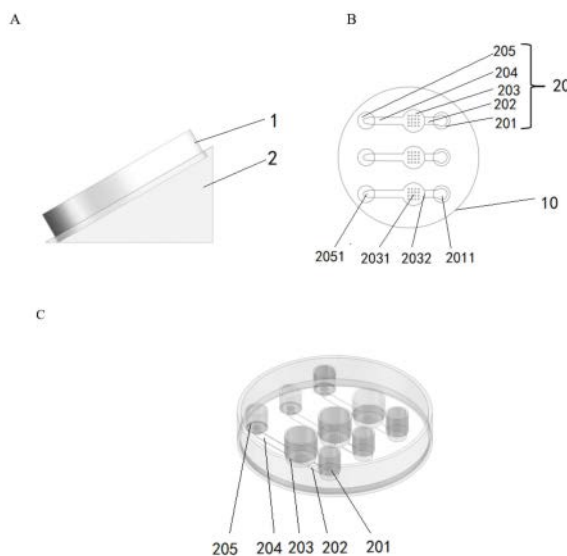
权利要求书1页 说明书8页 附图2页

### (54) 发明名称

一种集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片及其制备方法与应用

### (57) 摘要

本发明公开了一种集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片及其制备方法与应用,所述微流控芯片包括:集成式微流控芯片主体,包括基底、设于所述基底上的集成区,所述集成区包括依次设置并相连通的处理液进样池、处理液进样通道、精子富集及体外受精池、精子分选通道和精子获能池,所述精子富集及体外受精池的底部设有多个向内凹陷形成的卵细胞定位及胚胎培养单元;倾斜角度为5°~65°的倾斜底座,所述倾斜底座包括倾斜低端和倾斜高端,所述精子获能池位于所述倾斜低端,所述处理液进样池位于所述倾斜高端;在体外模拟精子选择微环境,优化精子选择过程,实现活性精子分选、体外受精和胚胎培养的集成。



1. 一种集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片,其特征在于,包括:

集成式微流控芯片主体,包括基底、设于所述基底上的集成区,所述集成区包括依次设置的处理液进样池、处理液进样通道、精子富集及体外受精池、精子分选通道和精子获能池,所述精子富集及体外受精池的底部设有多个向内凹陷形成的卵细胞定位及胚胎培养单元;所述处理液进样池的底部通过所述处理液进样通道与所述精子富集及体外受精池的底部相连通,所述精子获能池的底部通过所述精子分选通道与所述精子富集及体外受精池的底部相连通;

倾斜底座,可拆卸连接于所述集成式微流控芯片主体的底部,所述倾斜底座包括倾斜低端和倾斜高端,所述精子获能池靠近所述倾斜低端,所述处理液进样池靠近所述倾斜高端;所述倾斜底座的倾斜角度为 $5^{\circ}\sim 65^{\circ}$ ;

所述精子富集及体外受精池靠近处理液进样通道的一侧设有过滤网;所述过滤网孔径为 $0.1\sim 10\mu\text{m}$ ;

所述卵细胞定位及胚胎培养单元为圆柱形或圆锥形或圆台形;所述卵细胞定位及胚胎培养单元的高度为 $100\sim 1000\mu\text{m}$ ;所述处理液进样池的高度为 $1\sim 10\text{mm}$ ;所述精子分选通道的宽度为 $0.5\sim 5\text{mm}$ ,长度为 $5\sim 25\text{mm}$ ,高度为 $50\sim 500\mu\text{m}$ ;所述处理液进样通道的宽度为 $0.5\sim 5\text{mm}$ ,长度为 $5\sim 25\text{mm}$ ,高度为 $50\sim 500\mu\text{m}$ 。

2. 根据权利要求1所述的一种集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片,其特征在于,对于人类精子,所述集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片的所述倾斜底座的倾斜角度为 $15^{\circ}\sim 25^{\circ}$ 。

3. 根据权利要求1所述的一种集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片,其特征在于,所述精子获能池的顶端的中部设有精子进样孔。

4. 根据权利要求1所述的一种集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片,其特征在于,所述处理液进样池的顶端的中部设有处理液进样孔。

5. 一种权利要求1-4任一所述集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片的制备方法,其特征在于,所述方法包括:

获得倾斜角度为 $5^{\circ}\sim 65^{\circ}$ 的所述倾斜底座;

用软光刻技术或者微注塑成型方法获得所述集成区;

将所述集成区设于所述基底上,所述集成区的底部与所述基底叠合形成封闭通道,获得集成式微流控芯片主体。

6. 权利要求1-4任一所述集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片在精子分选、体外受精和胚胎培养中的应用。

## 一种集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片及其制备方法与应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及辅助生殖技术领域,特别涉及一种集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片及其制备方法与应用。

### 背景技术

[0002] 辅助生殖技术可以帮助不育不孕患者繁育后代,极大地促进人口的增长。然而,辅助生殖过程中一系列的体外操作导致生殖细胞受到损伤,使得辅助生殖技术成功率一直比较低。这不仅导致了大量生殖细胞的浪费,也对患者造成巨大的精神及经济压力。由于卵母细胞资源有限,优选精子及体外受精优化成为改善辅助生殖技术的关键突破口之一。

[0003] 近年来,微流控芯片技术因其独特的优势被用于精子分选研究。基于微流控芯片技术的精子分选,能够有效提升活性精子分选效率。然而现有精子分选芯片分选得到的精子浓度有限,影响了体外受精的成功率。此外,目前临床上缺乏精子分选和体外受精一体化操作平台,复杂且耗时长长的操作流程会导致精子机械损伤和氧化应激反应,进而影响受精卵质量。

[0004] 因此,有必要研发集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片。

### 发明内容

[0005] 本发明目的是提供一种集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片及其制备方法与应用,在体外模拟精子选择微环境,优化精子选择过程,实现活性精子分选、体外受精和胚胎培养的集成。

[0006] 为了实现上述目的,本发明采用如下技术方案:

[0007] 在本发明的第一方面,提供了一种集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片,包括:

[0008] 集成式微流控芯片主体,包括基底、设于所述基底上的集成区,所述集成区包括:处理液进样池、处理液进样通道、精子富集及体外受精池、精子分选通道和精子获能池,所述精子富集及体外受精池的底部设有多个向内凹陷形成的卵细胞定位及胚胎培养单元;所述处理液进样池的底部通过所述处理液进样通道与所述精子富集及体外受精池的底部相连通,所述精子获能池的底部通过所述精子分选通道与所述精子富集及体外受精池的底部相连通;

[0009] 倾斜底座,可拆卸连接于所述集成式微流控芯片主体的底部,所述倾斜底座包括倾斜低端和倾斜高端,所述精子获能池位于所述倾斜低端,所述处理液进样池位于所述倾斜高端;所述倾斜底座的倾斜角度为 $5^{\circ}\sim 65^{\circ}$ 。

[0010] 进一步地,对于人类精子,所述集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片的所述倾斜底座的倾斜角度为 $15^{\circ}\sim 25^{\circ}$ 。

[0011] 进一步地,所述精子获能池的顶端的中部设有精子进样孔。

[0012] 进一步地,所述处理液进样池的顶端的中部设有处理液进样孔,所述处理液进样池的高度为1~10mm。

[0013] 进一步地,所述精子富集及体外受精池靠近处理液进样通道的一侧设有过滤网。

[0014] 进一步地,所述卵细胞定位及胚胎培养单元为圆柱形或圆锥形或圆台形;所述卵细胞定位及胚胎培养单元的高度为100~1000 $\mu\text{m}$ 。

[0015] 进一步地,所述精子分选通道的宽度为0.5~5mm,长度为5~25mm,高度为50~500 $\mu\text{m}$ 。

[0016] 进一步地,所述处理液进样通道的宽度为0.5~5mm,长度为5~25mm,高度为50~500 $\mu\text{m}$ 。

[0017] 进一步地,所述基底为细胞培养皿。

[0018] 在本发明的第二方面,提供了所述集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片的制备方法,所述方法包括:

[0019] 制备获得倾斜角度为 $5^{\circ}$ ~ $65^{\circ}$ 的所述倾斜底座;

[0020] 用软光刻技术或者微注塑成型方法获得所述集成区;

[0021] 将所述集成区设于所述基底上,所述集成区的底部与所述基底叠合形成封闭通道,获得集成式微流控芯片主体。

[0022] 在本发明的第三方面,提供了所述集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片在精子分选、体外受精和胚胎培养中的应用。

[0023] 本发明实施例中的一个或多个技术方案,至少具有如下技术效果或优点:

[0024] 本发明提供一种集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片及其制备方法与应用,在体外模拟精子选择微环境,优化精子选择过程,实现活性精子分选、体外受精和胚胎培养的集成;具体地:

[0025] (1)将精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养集成在同一微流控芯片上,在完成精子分选后无需将精子引出芯片外即可进行精卵结合,更好地实现标准化体外受精过程,节省工序步骤,去除人工主观干扰因素。

[0026] (2)本发明通过设计底座的倾斜角度来控制流体的流速,在体外模拟精子选择和胚胎发育微环境,基于精子的趋流性对活性精子进行分选,有效提高了活性精子率和受精率;通过灌流对受精卵进行动态培养,有效提高了囊胚发育率。

[0027] (3)本发明通过设计卵细胞定位及胚胎培养单元,在体外受精和胚胎培养过程,有效提高了受精率和囊胚发育率。

[0028] (4)本发明在精子分选、体外受精和胚胎培养过程中,只需要换液,操作简便,便于相关领域人员操作,用户友好性更强,便于产业化,具有巨大的应用前景和商业价值。

## 附图说明

[0029] 为了更清楚地说明本发明实施例中的技术方案,下面将对实施例描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图是本发明的一些实施例,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它的附图。

[0030] 图1为本发明实施例中集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯

片的装置示意图;图1A为整体侧视图;图1B为俯视图;图1C为结构示意图;

[0031] 其中,附图标记为:1-集成式微流控芯片主体;10-基底;20-集成区;201-处理液进样池;2011-处理液进样孔;202-处理液进样通道;203-精子富集及体外受精池;2031-卵细胞定位及胚胎培养单元;2032-过滤网;204-精子分选通道;205-精子获能池;2051-精子进样孔;2-倾斜底座;

[0032] 图2为本发明实施例1中芯片进行精子分选时人类精子运动轨迹分析;左图为分选前精子运动轨迹分析;中图为上游法分选精子运动轨迹分析;右图为集成式微流控芯片分选精子运动轨迹分析;

[0033] 图3为本发明实施例1中芯片进行人类精子分选时人类精子质量分析;左图为精子活性对比;中图为精子DFI对比;右图为精子正常形态率对比;

[0034] 图4为本发明实施例2芯片进行小鼠类精子分选、体外受精和胚胎培养;左图为小鼠芯片内受精;右图为小鼠胚胎培养。

### 具体实施方式

[0035] 下文将结合具体实施方式和实施例,具体阐述本发明,本发明的优点和各种效果将由此更加清楚地呈现。本领域技术人员应理解,这些具体实施方式和实施例是用于说明本发明,而非限制本发明。

[0036] 在整个说明书中,除非另有特别说明,本文使用的术语应理解为如本领域中通常所使用的含义。因此,除非另有定义,本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域技术人员的一般理解相同的含义。若存在矛盾,本说明书优先。

[0037] 需要说明的是,当元件被称为“固定于”或“设于”另一个元件上,它可以直接在另一个元件上或者间接设在另一个元件上;当一个元件被称为是“连接于”另一个元件,它可以是直接连接到另一个元件或间接连接至另一个元件上。

[0038] 需要理解的是,术语“长度”、“宽度”、“上”、“下”、“前”、“后”、“第一”、“第二”、“竖直”、“水平”、“顶”、“底”、“内”、“外”等指示的方位或位置关系为基于附图所示的方位或位置关系,仅是为了便于描述本申请和简化描述,而不是指示或暗示所指的装置或元件必须具有特定的方位、以特定的方位构造和操作,因此不能理解为对本申请的限制。

[0039] 此外,在本申请的描述中,“多个”、“若干个”的含义是两个或两个以上,除非另有明确具体的限定。

[0040] 本申请的技术方案总体思路如下:

[0041] 根据本发明的一种典型的实施方式,提供一种集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片,如图1所示,包括:

[0042] 集成式微流控芯片主体1,包括基底10、设于所述基底上的集成区20,所述集成区20包括:处理液进样池201、处理液进样通道202、精子富集及体外受精池203、精子分选通道204和精子获能池205,所述精子富集及体外受精池203的底部设有多个向内凹陷形成的卵细胞定位及胚胎培养单元2031;所述处理液进样池201的底部通过所述处理液进样通道202与所述精子富集及体外受精池203的底部相连通,所述精子获能池205的底部通过所述精子分选通道204与所述精子富集及体外受精池203的底部相连通;

[0043] 倾斜底座2,可拆卸连接于所述集成式微流控芯片主体1的底部;所述倾斜底座2的

倾斜角度为 $5^{\circ}\sim 65^{\circ}$ 。

[0044] (1)该技术方案中,完成精子获能和分选的原理为:

[0045] 首先,将处理液加入到所述处理液进样池201中,处理液依次通过处理液进样通道202、精子富集及体外受精池203、精子分选通道204和精子获能池205,此时处理液充满精子分选通道204。为后续加入精子提供所需环境。所述处理液可以选自精子培养液、精子获能液或人类输卵管液。

[0046] 然后,将处理过的人类精子样本加入精子获能池205;

[0047] 接着,将集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片置于培养箱内,精子获能后基于趋流性逆流而上从精子获能池205游到精子富集及体外受精池203中,死精子和活力较差的精子无法逆流游进精子富集及体外受精池203中,从而实现对活性精子的分选。

[0048] (2)该技术方案中,体外受精和胚胎培养的原理为:

[0049] 首先,将处理液加入到所述处理液进样池201中,处理液依次通过处理液进样通道202、精子富集及体外受精池203、精子分选通道204和精子获能池205,此时处理液充满精子分选通道204。为后续加入精子提供所需环境。

[0050] 然后,将处理后的小鼠成熟卵细胞种植在卵细胞定位及胚胎培养单元2031内,将处理过的人类精子样本加入精子获能池205;

[0051] 接着,将集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片置于培养箱内,精子基于精子趋流性逆流而上从精子获能池205游到精子富集及体外受精池203中,并通过进入卵细胞定位及胚胎培养单元内与卵细胞进行体外受精;

[0052] 受精完成后,将整个装置内的处理液和未受精的精子吸走,向处理液进样池201注入胚胎培养液,对卵细胞定位及胚胎培养单元2031内的受精卵进行灌流培养。

[0053] 综上所述,完成精子分选、体外受精和胚胎培养的发明点之一在于:

[0054] 倾斜底座2给予集成式微流控芯片主体1倾斜角度,使得在精子分选的时候精子能够基于精子趋流性逆流游动完成精子分选,精子与卵细胞结合后形成受精卵,并且倾斜角度有利于后期胚胎灌流动态培养。总之倾斜角度满足精子基于精子趋流性进行精子分选以及胚胎灌流动态培养的需求;

[0055] 不同物种精子运动能力不一样,优选地对应的角度也不一样,但对于不同类型的精子,总体倾斜角度均需控制在 $5^{\circ}\sim 65^{\circ}$ ;

[0056] 优选地,对于人类精子,所述集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片的所述倾斜底座的倾斜角度为 $15^{\circ}\sim 25^{\circ}$ 。倾斜底座的倾斜角若小于 $15^{\circ}$ ,分选后的精子活性较低,降低了体外受精成功率;若大于 $25^{\circ}$ ,分选后的精子浓度太低,无法满足体外受精的需求;

[0057] 优选地,对于鼠类精子,所述集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片的所述倾斜底座的倾斜角度为 $25^{\circ}\sim 35^{\circ}$ 。

[0058] 上述技术方案中,

[0059] 所述精子获能池205的顶端的中部设有精子进样孔2051。所述精子获能池的形状可以为圆形、也可以为正方形、长方形等任意形状。所述精子获能池205的高度为 $1\sim 10\text{mm}$ ,所述精子进样孔2051的高度为 $0.1\sim 1\text{mm}$ 。

[0060] 所述处理液进样池201的顶端的中部设有处理液进样孔2011。所述处理液进样池的形状可以为圆形、也可以为正方形、长方形等任意形状。所述处理液进样池的高度为1~10mm,该高度范围可以在装置高端与低端之间产生一定的液位差,保证精子分选通道中的流体流速稳定,有利于精子分选;所述处理液进样孔2011的高度为0.1~1mm。

[0061] 所述精子富集及体外受精池203靠近处理液进样通道202的一侧设有过滤网2032。用于阻挡精子进入处理液进样通道202。所述过滤网孔径为0.1~10 $\mu$ m;该孔径若过大无法阻挡精子进入处理液进样通道202,若孔径过小会影响处理液进入处理液进样通道202的流速,进而影响精子分选的效果;

[0062] 所述卵细胞定位及胚胎培养单元为圆柱形或圆锥形或圆台形;这些形状方便卵细胞定位;所述卵细胞定位及胚胎培养单元的竖直方向的高度为100~1000 $\mu$ m。若高度过小,则无法实现卵细胞定位,若高度过大,会阻碍精子与受精卵结合,降低了体外受精成功率。

[0063] 所述精子分选通道的宽度为0.5~5mm,长度为5~25mm,高度为50~500 $\mu$ m。所述精子分选通道的长宽高范围内的精子分选效果较好。

[0064] 所述处理液进样通道的宽度为0.5~5mm,长度为5~25mm,高度为50~500 $\mu$ m。所述处理液进样通道长宽高范围内的精子分选效果较好。

[0065] 所述基底为细胞培养皿。所述基底用于和所述集成区相叠合组成封闭通道。以细胞培养皿为基底,有利于维持精子活性和胚胎培养,生物相容性更强。所述细胞培养皿的尺寸可以为3.5 cm 培养皿、6 cm培养皿、10 cm培养皿。

[0066] 作为一种具体的实施方式,所述基底为6cm细胞培养皿。在该具体实施方式下,所述精子获能池205为圆形,直径为2~10mm,高度为1~10mm;所述精子进样孔2051为圆形,用于精液样本进样,直径为0.1~1mm,高度为0.1~1mm;所述处理液进样池201为圆形,用于储存处理液,直径为2~10mm,高度为1~10mm;所述处理液进样孔2011为圆形,用于处理液进样,直径为0.1~1mm,高度为0.1~1mm;

[0067] 所述基底为其他尺寸的细胞培养皿(比如3.5 cm培养皿、10 cm培养皿)时,所述精子获能池205和所述精子进样孔2051的直径、所述处理液进样池201和所述处理液进样孔2011若采用圆形时也可采用上述直径。

[0068] 根据本发明实施例另一种典型的实施方式,提供所述集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片的制备方法,所述方法包括:

[0069] 步骤S1、获得倾斜角度为5°~65°的所述倾斜底座;

[0070] 作为一种具体的实施方式,所述步骤S1具体包括:

[0071] 步骤S11、对于不同的人类或其他动物精子样本,依据其尺寸通过CAD软件设计相应的倾斜角度的底座;

[0072] 步骤S12、用激光雕刻技术或者数控机床雕刻技术加工聚甲基丙烯酸甲酯制作底座单元,然后用3M胶将聚甲基丙烯酸甲酯单元封装成可以支撑集成式微流控芯片的底座;

[0073] 步骤S2、用软光刻技术或者微注塑成型方法获得所述集成区;

[0074] 具体地,根据CAD软件绘制好预期的微图案,然后根据微图案制作掩膜;将微图案显影于硅片,得到微图案的硅片模具;使用有机材料聚二甲基硅氧烷,在硅片模具上浇注未凝固的聚二甲基硅氧烷,在80℃的温度下热烘1小时即可凝固,得到带有若干微通道的集成区;对微通道结构进行切割以及打孔器打孔,然后通过等离子清洗机表面处理后将微通道

结构与基底粘合在一起。

[0075] 步骤S3、所述集成区的底部与所述基底叠合形成封闭通道,获得集成式微流控芯片主体。

[0076] 下面将结合附图对本申请的一种集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片及其制备方法与应用进行详细说明。作为一种具体的实施方式,本发明实施例的处理液为Vitrolife辅助生殖IVF-洗精受精液,产品型号:G-IVF PLUS/60 mL-10136。

[0077] 实施例1、一种集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片及其制备方法

[0078] 一、一种集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片,如图1所示,包括:

[0079] 集成式微流控芯片主体1,包括基底10、设于所述基底上的集成区20,所述集成区20包括依次连通的处理液进样池201、处理液进样通道202、精子富集及体外受精池203、精子分选通道204和精子获能池205,所述精子富集及体外受精池203的底部设有多个向内凹陷形成的卵细胞定位及胚胎培养单元2031;

[0080] 倾斜底座2,底座的倾斜角度改为 $20^{\circ}$ ,可拆卸连接于所述集成式微流控芯片主体1的底部。

[0081] 基底为6cm细胞培养皿,其型号为NEST-704001;

[0082] 精子获能池直径为4mm,高度为6mm;

[0083] 精子进样孔直径为0.2mm,高度为0.4mm;

[0084] 精子分选通道宽度为0.2mm,长度为15mm,高度为 $100\mu\text{m}$ ;

[0085] 处理液进样池直径为4mm,高度为6mm;

[0086] 处理液进样孔为直径0.2mm,高度为0.4mm;

[0087] 处理液进样通道宽度为0.2mm,长度为10mm,高度为 $100\mu\text{m}$ ;

[0088] 精子过滤器过滤网孔径为 $3\mu\text{m}$ ;

[0089] 所述精子富集及体外受精池直径为6mm,高度为6mm;

[0090] 卵细胞定位及胚胎培养单元直径为 $400\mu\text{m}$ ,高度为 $400\mu\text{m}$ ;

[0091] 二、所述集成精子获能、精子分选、体外受精和胚胎培养的微流控芯片的制备方法

[0092] 步骤1、根据CAD软件绘制好预期的微图案,然后根据微图案制作掩膜;

[0093] 步骤2、通过紫外光刻技术,将微图案显影于硅片,得到微图案的硅片模具;

[0094] 步骤3、使用有机材料聚二甲基硅氧烷,在硅片模具上浇注未凝固的聚二甲基硅氧烷,在 $80^{\circ}\text{C}$ 的温度下热烘1小时即可凝固,得到带有若干微通道的半成品;

[0095] 步骤4、对微通道结构进行切割以及打孔器打孔,然后通过等离子清洗机表面处理后将微通道结构与基底粘合在一起。

[0096] 对比例1

[0097] 该对比例中,底座的倾斜角度改为 $10^{\circ}$ 。其他结构和步骤均同实施例1。

[0098] 对比例2

[0099] 该对比例中,底座的倾斜角度改为 $30^{\circ}$ 。其他结构和步骤均同实施例1。

[0100] 对比例3

[0101] 该对比例中,没有倾斜底座,其他同实施例1。



[0102] 对比例4

[0103] 该对比例中,倾斜底座的角度为 $40^{\circ}$ ,其他同实施例1。

[0104] 实验例1、用于人类精子分选

[0105] 1、将各实施例和各对比例的芯片进行人的精子分选,统计各组别的精子分选效果(包括精子活性检测和精子DFI以及精子形态测试),其中精子分选的步骤包括:

[0106] 步骤1、将1mL人类输卵管液注入处理液进样池,并依次经过精子富集及体外受精池和精子获能池,直至充满精子分选通道,再将处理过的200 $\mu$ L人类精子样本注入精子进样孔进行获能;

[0107] 步骤2、将集成式微流控芯片放在底座上,并将整个装置放在 $37^{\circ}\text{C}$ ,二氧化碳浓度为5%的培养箱内,让精子逆流而上从精子进样孔游到精子富集及体外受精池;

[0108] 步骤3、30分钟后,从精子富集及体外受精池取5 $\mu$ L分选后的精子样本进行精子活性检测和精子DFI以及精子形态测试。

[0109] 对上述实施例和对比例的芯片的分选效果进行统计,如表1所示。

[0110] 表1

[0111]

组别	精子曲线速率( $\mu\text{m/s}$ )	精子直线速率( $\mu\text{m/s}$ )	精子平均速率( $\mu\text{m/s}$ )
分选前	$61.7 \pm 5.68$	$30.3 \pm 2.93$	$35.5 \pm 2.61$
实施例1	$119.9 \pm 6.66$	$79.8 \pm 1.18$	$87.5 \pm 2.16$
对比例1	$101.4 \pm 2.32$	$76.3 \pm 6.19$	$79.8 \pm 4.31$
对比例2	$104.0 \pm 0.84$	$69.3 \pm 2.15$	$74.1 \pm 1.81$
对比例3	$97.5 \pm 5.80$	$72.2 \pm 8.40$	$74.8 \pm 8.56$
对比例4	$107.7 \pm 4.73$	$66.4 \pm 4.75$	$70.1 \pm 5.65$

[0112] 由表1可知:

[0113] 对比例1中,倾斜角度过低,分选所得精子的精子曲线速率、精子直线速率和精子平均速率较低;

[0114] 对比例2中,倾斜角度过高,分选所得精子的精子曲线速率、精子直线速率和精子平均速率较低;

[0115] 对比例3中,无倾斜角度,分选所得精子的精子曲线速率、精子直线速率和精子平均速率较低;

[0116] 对比例4中,倾斜角度过高,分选所得精子的精子曲线速率、精子直线速率和精子平均速率较低;

[0117] 本发明实施例1的芯片,分选所得精子的精子曲线速率、精子直线速率和精子平均速率较高。

[0118] 图2为本发明实施例1中人类精子运动轨迹分析,图3为本发明实施例1中精子质量分析,由此可知本发明较上游法分选所得的精子活性更高,DFI更低,精子正常形态率更高,整体精子质量更高。

[0119] 实验例2、用于鼠类精子体外受精和胚胎培养

[0120] 1、将各实施例和各对比例的芯片进行小鼠的体外受精和胚胎培养步骤如下:

[0121] 步骤1、将1mL小鼠输卵管液注入处理液进样池,并依次经过精子富集及体外受精池和精子获能池,直至充满精子分选通道;

[0122] 步骤2、将处理后的小鼠成熟卵细胞种植在卵细胞定位及胚胎培养单元内,再将处理过的200 $\mu$ L小鼠精子样本注入精子进样孔进行获能;

[0123] 步骤3、将集成式微流控芯片放在底座上,并将整个装置放在37 $^{\circ}$ C,二氧化碳浓度为5%的培养箱内,让精子逆流而上从精子进样孔游到精子富集及体外受精池与卵细胞进行体外受精;

[0124] 步骤4、4小时后,将整个装置内的小鼠输卵管液和未受精的精子吸走,向处理液进样池注入1mL小鼠胚胎培养液,对卵细胞定位及胚胎培养单元内的受精卵进行灌流培养;

[0125] 步骤5、每隔24小时对整个装置进行换液,将精子获能池收集的胚胎培养液废液吸走,向处理液进样池注入1mL小鼠胚胎培养液,直至胚胎发育成熟将其取出用于后续实验。

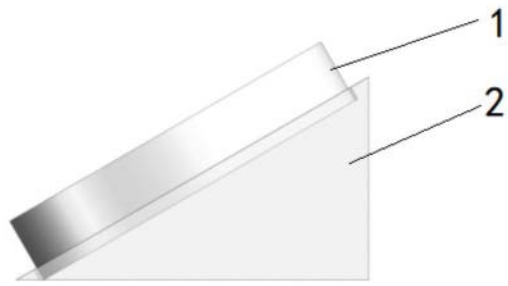
[0126] 2、实施例2的芯片进行小鼠精子分选、体外受精和胚胎培养的效果如图4所示,可知本发明可以实现小鼠的体外受精和胚胎的正常培养。

[0127] 最后,还需要说明的是,术语“包括”、“包含”或者其任何其他变体意在涵盖非排他性的包含,从而使得包括一系列要素的过程、方法、物品或者设备不仅包括那些要素,而且还包括没有明确列出的其他要素,或者是还包括为这种过程、方法、物品或者设备所固有的要素。

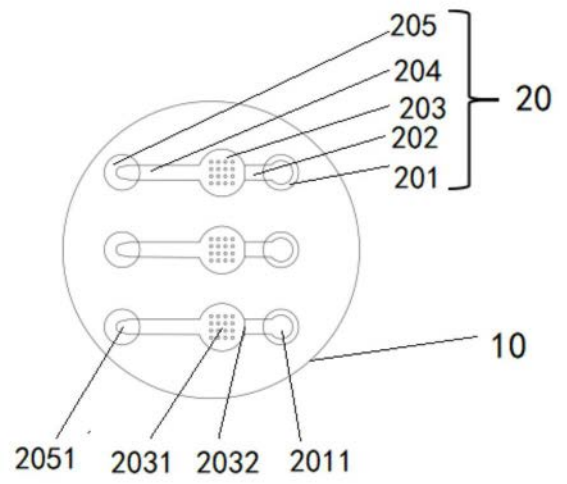
[0128] 尽管已描述了本发明的优选实施例,但本领域内的技术人员一旦得知了基本创造性概念,则可对这些实施例做出另外的变更和修改。所以,所附权利要求意欲解释为包括优选实施例以及落入本发明范围的所有变更和修改。

[0129] 显然,本领域的技术人员可以对本发明进行各种改动和变型而不脱离本发明的精神和范围。这样,倘若本发明的这些修改和变型属于本发明权利要求及其等同技术的范围之内,则本发明也意图包含这些改动和变型在内。

A



B



C

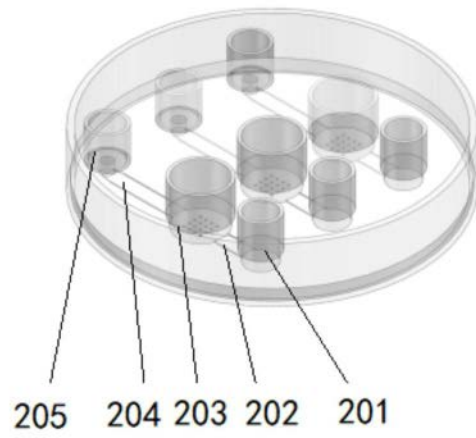


图1

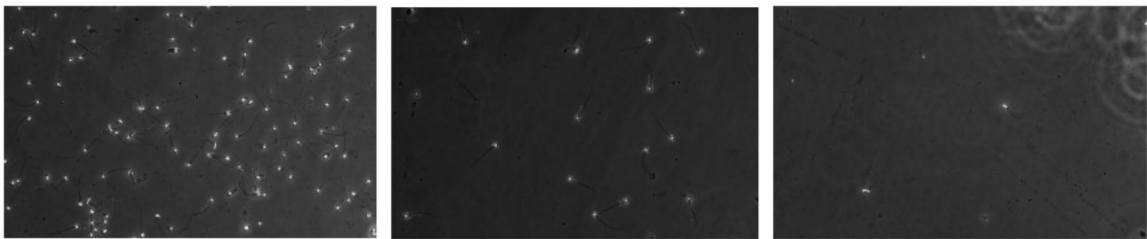


图2

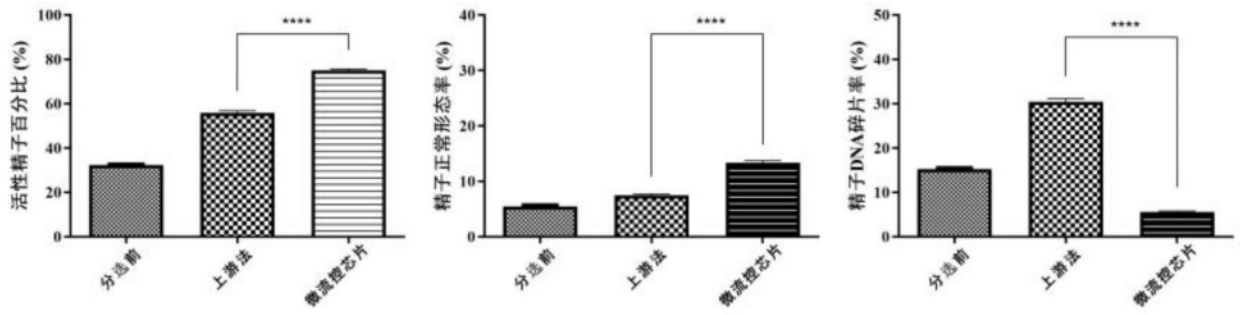


图3

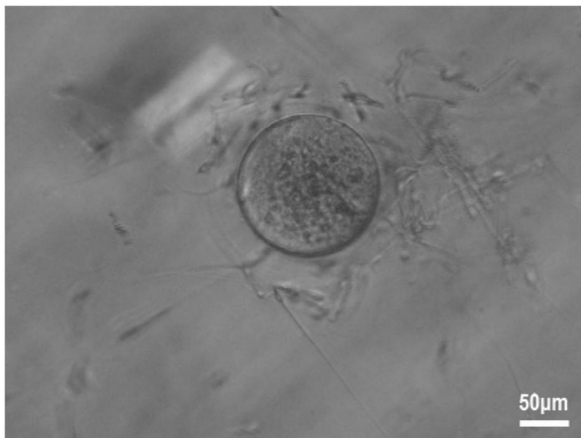


图4