



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 106807459 B

(45) 授权公告日 2023. 06. 27

(21) 申请号 201611146452.6

(22) 申请日 2016.12.13

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106807459 A

(43) 申请公布日 2017.06.09

(73) 专利权人 中国科学院苏州生物医学工程技术研究所

地址 215163 江苏省苏州市高新区科技城科灵路88号

(72) 发明人 李章剑 李培洋 徐杰 王策
崔嵘峣

(74) 专利代理机构 北京三聚阳光知识产权代理有限公司 11250

专利代理师 李静

(51) Int.Cl.

B01L 3/00 (2006.01)

G01N 15/14 (2006.01)

审查员 金律

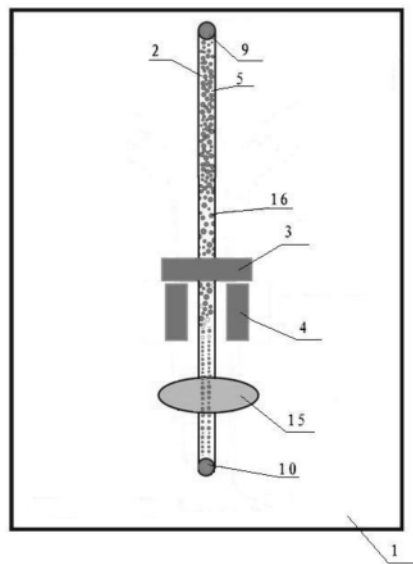
权利要求书1页 说明书12页 附图9页

(54) 发明名称

一种微流控芯片及其制备方法、应用

(57) 摘要

本发明所述的一种微流控芯片及其制备方法、应用,包括微流控基板,微流控基板上设置至少一个样品通道,每个样品通道上设置至少三个超声换能装置;其中,至少一个超声换能装置设置在样品通道的上方,至少一个超声换能装置设置在样品通道的侧部;上述超声换能装置组列产生的声波在样品通道内能够形成稳定的声场,而中心位置处的声场最弱,受到的声场作用力最小,有利于细胞等微颗粒的二维聚焦,使其聚焦在样品通道的中心处,保证在样品通道内形成单细胞流,细胞呈逐个排列进入流式细胞仪检测的检测位置,实现提高检测精度、灵敏度和效率的作用,同时还可以分析高通量的样品,且保证检测精度和高灵敏度。



1. 一种微流控芯片,包括微流控基板(1),其特征在于,所述微流控基板(1)上设置至少一个样品通道(2),每个所述样品通道(2)上设置至少三个超声换能装置;其中,至少一个所述超声换能装置设置在所述样品通道(2)的正上方,至少一个所述超声换能装置设置在所述样品通道(2)的侧部;设置在所述样品通道(2)的正上方的所述超声换能装置为纵向超声换能装置(3),设置在所述样品通道(2)的侧部的所述超声换能装置为横向超声换能装置(4),沿着样品流动方向所述纵向超声换能装置(3)和所述横向超声换能装置(4)交错分布在所述样品通道(2)上。

2. 根据权利要求1所述的微流控芯片,其特征在于,沿着所述样品流动方向相邻的两个所述超声换能装置之间的间距为小于1mm。

3. 根据权利要求1或2所述的微流控芯片,其特征在于,所述样品通道(2)的截面为矩形,所述样品通道(2)的宽度为700-800微米,所述样品通道(2)的高度为200-300微米。

4. 一种制备权利要求1-3任一项所述的微流控芯片的方法,其特征在于,包括如下步骤:

采用湿法刻蚀方法制备包括至少一个第一凹槽(5)的微流控基板(1),在每个所述第一凹槽(5)的侧部切割至少一个第二凹槽(6),然后将横向超声换能装置(4)固定安置在所述第二凹槽(6)中,然后在所述第一凹槽(5)上粘接盖板(8),所述第一凹槽(5)形成样品通道(2),所述样品通道(2)的两端分别设有样品进口(9)和废液出口(10),在与所述样品通道(2)正对的所述盖板(8)上方固定连接纵向超声换能装置(3),即得所述微流控芯片。

5. 一种利用权利要求1-3任一项所述的微流控芯片进行细胞筛查的方法,其特征在于,取待测的样品悬浊液通入所述样品通道(2),经过纵向超声换能装置(3)和横向超声换能装置(4)的聚焦,聚焦后的所述样品悬浊液经流式细胞仪检测。

6. 根据权利要求5所述的细胞筛查的方法,其特征在于,所述纵向超声换能装置(3)的聚焦声波频率为2.5-3.5MHz,所述横向超声换能装置(4)聚焦声波频率为 $N \times (0.8-1.2)$ MHz,所述N为所述横向超声换能装置(4)在所述样品通道形成的驻波波节个数。

7. 根据权利要求5或6所述的细胞筛查的方法,其特征在于,所述超声换能装置输入功率为13-17W。

8. 根据权利要求5或6所述的细胞筛查的方法,其特征在于,所述样品悬浊液的通量为0.8-1.2mL/min。

9. 根据权利要求5或6所述的细胞筛查的方法,其特征在于,所述样品悬浊液中粒子浓度为 (10^5-10^7) 个/mL,所述 $N \leq 10$ 。

一种微流控芯片及其制备方法、应用

技术领域

[0001] 本发明属于流式细胞筛查领域,具体涉及一种微流控芯片及其制备方法、应用。

背景技术

[0002] 流式细胞仪能够对每个细胞进行多种定量分析,是在血液、骨髓等组织中检测稀有细胞的有力工具。当样本溶液进入到流式细胞仪时,细胞在管道内呈三维空间的随机分布,使细胞逐个穿过激光束,才能保证数据采集的准确性。目前,传统的流式细胞仪通过流体动力聚焦技术实现细胞在管道内逐个穿过激光束,即通过鞘液带动细胞并将其限制在管道的中心位置,建立起单细胞流。但是稀有细胞的检测往往需要大量样本才能采集到足够的细胞,而传统的流体动力聚焦技术此时则遇到了限制,因为大样本意味着处理时间长,若减少时间,则需要加快进样速率,样本流速的提高会增大样本流的宽度,造成细胞偏离激光中心甚至发生淤积,使得细胞的聚焦效果下降,而细胞偏离激光中心越远,激发光强度变化就越大,CV值也越高,造成检测灵敏度的下降。因此,传统方法的分析通量和分析精度之间存在着较大的矛盾关系。

[0003] 与传统流体动力聚焦不同的是,声波聚焦技术利用超声波将细胞紧密聚集在样本流中间,汇聚成一条直线。这种技术基本不受进样速率的影响,能使细胞强聚焦于激光检测点,与样本-鞘液的比率无关,不论样本流与鞘液流的比例如何,都能使细胞紧密地聚集于激光检测焦点,避免分散。这样可以采集更多光子,在极高的样本通量下保证高精度分析。此外,声波聚焦流式细胞仪处理全血样本可省去样本制备的步骤,既没有样本损失,也不会影响数据质量。因此,目前声波聚焦技术越来越广泛的应用于流式细胞筛查领域。

[0004] 微流控(Microfluidics)芯片技术通过微纳技术在芯片上形成微管道(尺寸为数十到数百微米),可用于处理或操纵微小流体(体积为纳升到阿升),借助其独特的流体现象,微流控可以实现一系列常规方法所难以完成的微加工和微操作。因其具有微型化、集成化等特征,微流控装置非常适合于流式细胞仪的细胞分析之中。综合声波聚焦技术和微流控芯片的优势,越来越多的技术人员将声波聚焦技术与微流控技术结合并应用于流式细胞仪之中,以实现高通量、高精度、和高灵敏度的流式细胞筛查。

[0005] 如中国专利文献CN101881779A公开的一种超声驻波式微流控芯片及其制备方法,该芯片由载玻片、微流控芯片、印刷电路板(PCB板)、压电陶瓷和控制电路所构成,微流控芯片结构中包含有驻波反应腔,由聚二甲基硅氧烷(PDMS)液态预聚物通过阳模模板固化成型,并在其固化前将载玻片放置其上,待其固化连为一体后脱模;PCB板的正面镀有一层导电层,其通过该导电层和微流控芯片的非载玻片面与微流控芯片连成一体,且在PCB板的正面设置有与微流控芯片结构相对应的孔位,其对应驻波反应腔的孔位安装有压电陶瓷;控制电路布设在PCB板的背面。上述方案中即将声波聚焦技术与微流控技术结合实现对细胞等生物活体样品的分离、捕获和操纵,然而由于上述方案中的微流控芯片中采用压电陶瓷片作为超声驻波的声源,输出的声波频率较小,而且当样品经过驻波反应腔时,其对样品的聚集仅是一个方向的聚焦,导致声波对于高通量的样品中的细胞等微颗粒的聚焦能力有

限,不能完全的将高通量的样品中的细胞完全聚焦于管道的中心点进行检测,影响检测的精度和灵敏度,分析高通量效果较差。

发明内容

[0006] 因此,本发明要解决的技术问题在于克服现有技术中的超声驻波式微流控芯片微流控芯片用于流式细胞检测时,分析样品的通量不高和检测精度和灵敏度低,从而提供一种流式细胞检测时分析通量高、检测精度和灵敏度高的微流控芯片及其制备方法和应用。

[0007] 为此,本发明提供了一种微流控芯片,包括微流控基板,所述微流控基板上设置至少一个样品通道,沿着所述样品流动方向每个所述样品通道上设置至少三个超声换能装置;其中,至少一个所述超声换能装置设置在所述样品通道的上方,至少一个所述超声换能装置设置在所述样品通道的侧部。

[0008] 所述的微流控芯片,设置在所述样品通道的上方的所述超声换能装置为纵向超声换能装置,设置在所述样品通道的侧部的所述超声换能装置为横向超声换能装置,沿着所述样品流动方向所述纵向超声换能装置和所述横向超声换能装置交错分布在所述样品通道上。

[0009] 所述的微流控芯片,沿着所述样品流动方向相邻的两个所述超声换能装置之间的间距小于1mm。

[0010] 所述的微流控芯片,所述样品通道的截面为矩形,所述样品通道的宽度为700-800微米,所述样品通道的高度为200-300微米。

[0011] 优选的,所述样品通道的宽度为750微米,所述样品通道的高度为250微米。

[0012] 本发明提供了一种制备所述的微流控芯片的方法,包括如下步骤:

[0013] 采用湿法刻蚀方法制备包括至少一个第一凹槽的微流控基板,在每个所述第一凹槽的侧部切割至少一个第二凹槽,然后将横向超声换能装置固定安置在所述第二凹槽中,然后在所述第一凹槽上粘接盖板,所述第一凹槽形成样品通道,所述样品通道的两端分别设有样品进口和废液出口,在与所述样品通道正对的所述盖板上方固定连接纵向超声换能装置,即得所述微流控芯片。

[0014] 本发明还提供了一种利用所述的微流控芯片进行细胞筛查的方法,取待测的样品悬浊液通入所述样品通道,分别经过所述纵向超声换能装置和所述横向超声换能装置的聚焦,聚焦后的所述样品悬浊液经流式细胞仪检测。所述样品悬浊液为细胞或其他微颗粒构成的悬浊液。

[0015] 所述的细胞筛查的方法,所述纵向超声换能装置的聚焦声波频率为2.5-3.5MHz,所述横向超声换能装置聚焦声波频率为 $N*(0.8-1.2)$ MHz,所述N为横向超声换能装置在所述样品通道形成的驻波波节个数,所述驻波波节个数即为样品悬浊液中的微颗粒在样品通道中形成的单粒子流或单细胞流的数目;优选的,所述纵向超声换能装置的聚焦声波频率为3MHz,所述横向超声换能装置聚焦声波频率为 $N*1$ MHz。

[0016] 所述的细胞筛查的方法,所述超声换能装置输入功率为13-17W;优选的,所述超声换能装置输入功率为15W。

[0017] 优选的,所述压电陶瓷层采用PZT4或PZT8压电材料制成。

[0018] 所述的细胞筛查的方法,所述样品悬浊液的通量为0.8-1.2mL/min;优选的所述样

品悬浊液的通量为1mL/min。

[0019] 所述的细胞筛查的方法,所述样品悬浊液浓度为 (10^5-10^7) 个/mL,所述 $N \leq 10$ 。优选的,所述样品悬浊液浓度为 10^6 个/mL,所述 N 为3。

[0020] 本发明技术方案,具有如下优点:

[0021] (1) 本发明所述的微流控芯片,包括微流控基板,所述微流控基板上设置至少一个样品通道,每个所述样品通道上设置至少三个超声换能装置;其中,至少一个所述超声换能装置设置在所述样品通道的上方,至少一个所述超声换能装置设置在所述样品通道的侧部;通过在所述样品通道的上方设置至少一个超声换能装置,在所述样品通道的侧部设置至少一个超声换能装置,上述超声换能装置组列产生的声波在样品通道内能够形成稳定的声场,而中心位置处的声场最弱,受到的声场作用力最小,这样的声场非常有利于细胞等微颗粒的二维聚焦,使其聚焦在样品通道的中心处,保证在样品通道内形成单粒子流或单细胞流,细胞或其他粒子呈逐个排列进入流式细胞仪检测的检测位置进行检测,实现提高检测精度、灵敏度和效率的作用,同时由于在样品通道侧部设置超声换能装置,可以根据需要调整该超声换能装置的频率,使其在所述样品通道内的横向方向形成多个驻波波节,将高浓度的样品在所述样品通道的中心处的横向方向形成多个单细胞流或单粒子流,一个所述驻波波节对应形成一个单细胞流或单粒子流,多个单细胞流或单粒子流可以进入流式细胞仪检测的检测位置进行检测,既保证了能够分析高通量的样品,且保证检测精度和灵敏度高。

[0022] (2) 本发明所述的微流控芯片,设置在所述样品通道的上方的所述超声换能装置为纵向超声换能装置,设置在所述样品通道的侧部的所述超声换能装置为横向超声换能装置,沿着所述样品流动方向所述纵向超声换能装置和所述横向超声换能装置交错分布在所述样品通道上;通过所述纵向超声换能装置和所述横向超声换能装置交错设置,纵向换能器负责纵向方向的聚焦,横向换能器负责横向方向的聚焦,防止两个方向的超声换能装置产生的声场之间叠加干扰,更加有利于细胞等微颗粒的二维聚焦。

[0023] (3) 本发明所述的微流控芯片,所述样品通道的截面为矩形,所述样品通道的宽度为700-800微米,所述样品通道的高度为200-300微米,通过将样品通道的截面为矩形,使得外置的超声换能装置组列产生的声波在矩形样品通道内能够形成更加稳定的声场,进一步有利于细胞等微颗粒的二维聚焦,同时保证样品悬浊液在所述样品通道内的横向方向能够形成多个单细胞单粒子流,进而实现高通量的分析。

[0024] (4) 本发明所述的微流控芯片的制备方法,采用湿法刻蚀方法制备包括至少一个第一凹槽的微流控基板,在每个所述第一凹槽的侧部切割至少一个第二凹槽,然后将横向超声换能装置固定安置在所述第二凹槽中,然后在所述第一凹槽上粘接盖板,所述第一凹槽形成样品通道,所述样品通道的两端分别设有样品进口和废液出口,在与所述样品通道正对的所述盖板上粘接纵向超声换能装置,即得所述微流控芯片,上述方法简单、易行,操作简单。

[0025] (5) 本发明所述的微流控芯片进行细胞筛查的方法,取待测的样品悬浊液通入所述样品通道,分别经过纵向超声换能装置和横向超声换能装置的聚焦,聚焦后的样品悬浊液经过流式细胞仪进行检测,样品悬浊液经过横向和纵向的超声换能装置聚焦,实现了样品悬浊液的二维聚焦,使其聚焦在样品通道的中心处,保证在样品通道内形成单细胞流,细

胞呈逐个排列进入流式细胞仪检测的检测位置,实现提高检测精度、灵敏度和效率的作用,同时还可以分析高通量的样品,且保证检测精度和灵敏度高。

[0026] (6) 本发明所述的微流控芯片进行细胞筛查的方法,所述纵向超声换能装置的聚焦声波频率为2.5-3.5MHz,所述横向超声换能装置聚焦声波频率为 $N*(0.8-1.2)$ MHz,所述N为横向超声换能装置在样品通道形成的驻波波节个数,既样品悬浊液形成的单细胞流或单粒子流的数目,通过控制所述纵向超声换能装置和所述横向超声换能装置的聚焦声波频率,进一步使得细胞等微颗粒聚焦在样品通道的中心处,控制在所述样品通道内中心位置的横向方向形成的单细胞流或单粒子流的个数,显著提高检测精度、灵敏度和效率,保证高通量分析时检测精度和灵敏度高。

[0027] (7) 本发明所述的微流控芯片进行细胞筛查的方法,所述超声换能装置输入功率为13-17W,进一步保证能够精度和灵敏度高的进行高通量分析。

[0028] (8) 本发明所述的微流控芯片进行细胞筛查的方法,所述样品悬浊液的通量为0.8-1.2mL/min,进一步保证能够精度和灵敏度高的进行高通量分析。

附图说明

[0029] 为了更清楚地说明本发明具体实施方式或现有技术中的技术方案,下面将对具体实施方式或现有技术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方式,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的附图。

[0030] 图1为本发明的实施例3中所述的微流控芯片的结构示意图;

[0031] 图2为本发明的实施例4中所述的微流控芯片的结构示意图;

[0032] 图3为本发明的实施例6中所述的微流控芯片的结构示意图;

[0033] 图4为本发明的实施例7中所述的微流控芯片的结构示意图;

[0034] 图5为本发明的实施例8中所述的微流控芯片的结构示意图;

[0035] 图6为本发明的实施例12中所述的微流控芯片的制备流程图;

[0036] 图7为本发明的实施例1-11中所述的微流控芯片的剖面图;

[0037] 图8(a)为本发明的实施例16中所述的微流控芯片的纵向超声换能装置在矩形的样品通道内部中轴线上的声强时间变化图;

[0038] 图8(b)为本发明的实施例16中所述的微流控芯片的横向超声换能装置在矩形的样品通道内部中轴线上的声强时间变化图;

[0039] 图9为本发明的实施例16中所述的微流控芯片的纵向超声换能装置和横向超声换能装置在矩形的样品通道内形成的声场分布仿真示意图;

[0040] 图10为本发明的实施例15中所述的微流控芯片的样品通道内对细胞聚焦前后的显微镜观察图;

[0041] 图11为本发明的实施例18中所述的微流控芯片的样品通道内对细胞聚焦效果图。

[0042] 附图标记说明:

[0043] 1-微流控基板,2-样品通道,3-纵向超声换能装置,4-横向超声换能装置,5-第一凹槽,6-第二凹槽,7-第三凹槽,8-盖板,9-样品进口,10-废液出口,11-鞘液通道,12-鞘液进口,13-光刻胶,14-掩膜,15-光斑区,16-细胞。

具体实施方式

[0044] 下面将结合附图对本发明的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0045] 在本发明的描述中,需要说明的是,术语“中心”、“上”、“下”、“左”、“右”、“竖直”、“水平”、“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发明和简化描述,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发明的限制。此外,术语“第一”、“第二”、“第三”仅用于描述目的,而不能理解为指示或暗示相对重要性。

[0046] 在本发明的描述中,需要说明的是,除非另有明确的规定和限定,术语“安装”、“相连”、“连接”应做广义理解,例如,可以是固定连接,也可以是可拆卸连接,或一体地连接;可以是机械连接,也可以是电连接;可以是直接相连,也可以通过中间媒介间接相连,可以是两个元件内部的连通。对于本领域的普通技术人员而言,可以根据具体情况理解上述术语在本发明中的具体含义。

[0047] 此外,下面所描述的本发明不同实施方式中所涉及的技术特征只要彼此之间未构成冲突就可以相互结合。

[0048] 实施例1

[0049] 本实施例所述的微流控芯片,包括微流控基板1,所述微流控基板1上设置一个样品通道2,所述样品通道2的截面为方形,所述样品通道2的宽度为500微米,所述样品通道2的高度为500微米,沿着所述样品流动方向所述样品通道2上依次设置三个超声换能装置,其中两个所述超声换能装置沿着所述样品流动方向依次设置在上游的所述样品通道2的上方,位于所述样品通道2的下游在所述样品通道2的侧部设置一个所述超声换能装置设置,相邻的两个所述超声换能装置之间的间距为2mm。

[0050] 实施例2

[0051] 本实施例所述的微流控芯片,包括微流控基板1,所述微流控基板1上设置一个样品通道2,所述样品通道2的截面为矩形,所述样品通道2的宽度为680微米,所述样品通道2的高度为320微米,所述样品通道2上设置四个超声换能装置,设置在所述样品通道2的上方的所述超声换能装置为纵向超声换能装置3,设置在所述样品通道2的侧部的所述超声换能装置为横向超声换能装置4,沿着所述样品流动方向在所述样品通道2的上游依次设置两个所述纵向纵向超声换能装置3,位于所述样品通道2的下游在所述样品通道2的一侧沿着所述样品流动方向依次设置两个所述横向超声换能装置4,相邻的两个所述超声换能装置之间的间距为1mm。

[0052] 实施例3

[0053] 本实施例所述的微流控芯片,如图1所示,包括微流控基板1,所述微流控基板1上设置一个样品通道2,所述样品通道2的截面为矩形,所述样品通道2的宽度为820微米,所述样品通道2的高度为180微米,所述样品通道2上设置三个超声换能装置,设置在所述样品通道2的上方的所述超声换能装置为纵向超声换能装置3,设置在所述样品通道2的侧部的所述超声换能装置为横向超声换能装置4,沿着所述样品流动方向在所述样品通道2的一侧依次设置两个所述横向超声换能装置4,位于所述样品通道2的下游在所述样品通道的上方设

置一个所述纵向超声换能装置3,相邻的两个所述超声换能装置之间的间距为0.9mm。

[0054] 实施例4

[0055] 本实施例所述的微流控芯片,如图2所示,包括微流控基板1,所述微流控基板1上设置一个样品通道2,所述样品通道2的截面为矩形,所述样品通道2的宽度为800微米,所述样品通道2的高度为200微米,所述样品通道2上设置五个超声换能装置,设置在所述样品通道2的上方的所述超声换能装置为纵向超声换能装置3,设置在所述样品通道2的侧部的所述超声换能装置为横向超声换能装置4,在所述样品通道2上游,沿着所述样品流动方向分别在所述样品通道2的两侧排列设置两个所述横向超声换能装置4,所述样品通道2的一侧的所述横向超声换能装置4与所述样品通道2的一侧的所述横向超声换能装置4相对,位于所述样品通道2的下游在所述样品通道2的上方设置一个所述纵向超声换能装置3,沿着样品流动方向相邻的两个所述超声换能装置之间的间距为0.8mm。

[0056] 实施例5

[0057] 本实施例所述的微流控芯片,包括微流控基板1,所述微流控基板1上设置一个样品通道2,所述样品通道2的截面为矩形,所述样品通道2的宽度为700微米,所述样品通道2的高度为300微米,所述样品通道2上设置三个超声换能装置,设置在所述样品通道2的上方的所述超声换能装置为纵向超声换能装置3,设置在所述样品通道2的侧部的所述超声换能装置为横向超声换能装置4,沿着所述样品流动方向所述纵向超声换能装置3和所述横向超声换能装置4交错分布在所述样品通道2上,在本实施例中,沿着所述样品流动方向在上游的所述样品通道2的一侧设置一个所述横向超声换能装置4,位于所述样品通道2的中游在所述样品通道2的上方设置一个所述纵向超声换能装置3,位于所述样品通道2的下游在所述样品通道2的另一侧设置一个所述横向超声换能装置4,沿着样品流动方向相邻的两个所述超声换能装置之间的间距为0.8mm。

[0058] 实施例6

[0059] 本实施例所述的微流控芯片,如图3所示,包括微流控基板1,所述微流控基板1上设置一个样品通道2,所述样品通道2的截面为矩形,所述样品通道2的宽度为750微米,所述样品通道2的高度为250微米,所述样品通道2上设置三个超声换能装置,设置在所述样品通道2的上方的所述超声换能装置为纵向超声换能装置3,设置在所述样品通道2的侧部的所述超声换能装置为横向超声换能装置4,沿着所述样品流动方向所述纵向超声换能装置3和所述横向超声换能装置4交错分布在所述样品通道2上,在本实施例中,沿着所述样品流动方向在上游的所述样品通道2的上方设置一个所述纵向超声换能装置3,位于所述样品通道2的下游在所述样品通道2的两侧分别设置一个所述横向超声换能装置4,两个所述横向超声换能装置4相对,沿着样品流动方向相邻的两个所述超声换能装置之间的间距为0.8mm。

[0060] 实施例7

[0061] 本实施例所述的微流控芯片,如图4所示,包括微流控基板1,所述微流控基板1上设置一个样品通道2,在所述样品通道2的两侧对称设置一个鞘液通道11,所述鞘液通道11的出液端与所述样品通道2连通,所述样品通道2的截面为矩形,所述样品通道2的宽度为750微米,所述样品通道2的高度为250微米,位于所述鞘液通道11与所述样品通道2连通处的下游的所述样品通道2上设置三个超声换能装置,设置在所述样品通道2的上方的所述超声换能装置为纵向超声换能装置3,设置在所述样品通道2的侧部的所述超声换能装置为横

向超声换能装置4,沿着所述样品流动方向所述纵向超声换能装置3和所述横向超声换能装置3交错分布在所述样品通道2上,在本实施例中,沿着所述样品流动方向在上游的所述样品通道2的上方设置一个所述纵向超声换能装置3,位于所述样品通道2的下游在所述样品通道2的两侧分别设置一个所述横向超声换能装置4,两个所述横向超声换能装置4相对沿着样品流动方向相邻的两个所述超声换能装置之间的间距为0.8mm。

[0062] 实施例8

[0063] 本实施例所述的微流控芯片,如图5所示,包括微流控基板1,所述微流控基板1上设置三个样品通道2,每个所述样品通道2的截面为矩形,所述样品通道2的宽度为750微米,所述样品通道2的高度为250微米,每个所述样品通道2上设置三个超声换能装置,设置在所述样品通道2的上方的所述超声换能装置为纵向超声换能装置3,设置在所述样品通道2的侧部的所述超声换能装置为横向超声换能装置4,沿着所述样品流动方向所述纵向超声换能装置3和所述横向超声换能装置4交错分布在所述样品通道2上,在本实施例中,沿着所述样品流动方向在上游的所述样品通道2的上方设置一个所述纵向超声换能装置3,位于所述样品通道2的下游在所述样品通道2的两侧分别设置一个所述横向超声换能装置4,两个所述横向超声换能装置4相对,沿着样品流动方向相邻的两个所述超声换能装置之间的间距为0.7mm。

[0064] 实施例9

[0065] 本实施例所述的微流控芯片,包括微流控基板1,所述微流控基板1上设置三个样品通道2,在每个所述样品通道2的两侧对称设置一个鞘液通道11,所述鞘液通道11的出液端与所述样品通道2连通,每个所述样品通道2的截面为矩形,所述样品通道2的宽度为750微米,所述样品通道2的高度为250微米,位于所述鞘液通道11与所述样品通道2连通处的下游的每个所述样品通道2上设置三个超声换能装置,设置在所述样品通道2的上方的所述超声换能装置为纵向超声换能装置3,设置在所述样品通道2的侧部的所述超声换能装置为横向超声换能装置4,沿着所述样品流动方向所述纵向超声换能装置3和所述横向超声换能装置4交错分布在所述样品通道2上,在本实施例中,沿着所述样品流动方向在上游的所述样品通道2的上方设置一个所述纵向超声换能装置3,位于所述样品通道2的下游在所述样品通道2的两侧分别设置一个所述横向超声换能装置4,两个所述横向超声换能装置4相对,沿着样品流动方向相邻的两个所述超声换能装置之间的间距为0.8mm。

[0066] 实施例10

[0067] 本实施例所述的微流控芯片,包括微流控基板1,所述微流控基板1上设置三个样品通道2,在每个所述样品通道2的两侧对称设置一个鞘液通道11,所述鞘液通道11的出液端与所述样品通道2连通,每个所述样品通道2的截面为矩形,所述样品通道2的宽度为750微米,所述样品通道2的高度为250微米,位于所述鞘液通道11与所述样品通道2连通处的下游的每个所述样品通道2上设置五个超声换能装置,设置在所述样品通道2的上方的所述超声换能装置为纵向超声换能装置3,设置在所述样品通道2的侧部的所述超声换能装置为横向超声换能装置4,沿着所述样品流动方向所述纵向超声换能装置3和所述横向超声换能装置4交错分布在所述样品通道2上,在本实施例中,沿着所述样品流动方向在上游的所述样品通道2的上方设置一个所述纵向超声换能装置3,位于所述样品通道2的下游在所述样品通道2的两侧分别排列设置两个所述横向超声换能装置4,两个所述横向超声换能装置4相

对,沿着样品流动方向相邻的两个所述超声换能装置之间的间距为0.7mm。

[0068] 实施例11

[0069] 本实施例所述的微流控芯片,包括微流控基板1,所述微流控基板1上设置五个样品通道2,每个所述样品通道2的截面为矩形,所述样品通道2的宽度为750微米,所述样品通道2的高度为250微米,每个所述样品通道2上设置三个超声换能装置,设置在所述样品通道2的上方的所述超声换能装置为纵向超声换能装置3,设置在所述样品通道2的侧部的所述超声换能装置为横向超声换能装置4,沿着所述样品流动方向所述纵向超声换能装置3和所述横向超声换能装置4交错分布在所述样品通道2上,在本实施例中,沿着所述样品流动方向在上游的所述样品通道2的上方设置一个所述纵向超声换能装置3,位于所述样品通道2的下游在所述样品通道2的两侧分别设置一个所述横向超声换能装置4,两个所述横向超声换能装置4相对,沿着样品流动方向相邻的两个所述超声换能装置之间的间距为0.5mm。

[0070] 实施例12

[0071] 本实施例提供了一种制备上述实施例1-11所述的微流控芯片的方法,制备流程如图6-7所示,具体包括如下步骤:

[0072] 采用湿法刻蚀方法制备包括至少一个第一凹槽5的微流控基板1,在每个所述第一凹槽5的侧部切割至少一个第二凹槽6,然后将横向超声换能装置4固定安置在所述第二凹槽6中,然后在所述第一凹槽5上粘接盖板8,所述第一凹槽5形成样品通道2,所述样品通道2的两端分别设有样品进口9和废液出口10,在与所述样品通道2正对的所述盖板8上方固定连接纵向超声换能装置3,即得所述微流控芯片,具体步骤为:

[0073] (1) 选择石英玻璃为微流控基板1,在所述微流控基板1一面喷涂光刻胶13;

[0074] (2) 然后在喷涂的所述光刻胶13表面粘贴掩膜14,在所述掩膜14上绘制所述第一凹槽5的走向,根据所述样品通道2的个数绘制,若是分别制备1、3、5个样品通道2的微流控基板,则在所述掩膜14上分别绘制1个、3个、5个所述第一凹槽5,如制备实施例6的微流控芯片,则在所述掩膜14上绘制一个所述第一凹槽5,控制所述第一凹槽5的宽度为750微米,所述第一凹槽5宽度即为所述样品通道2的宽度,然后将绘制的所述第一凹槽5处的所述掩膜14去除;

[0075] (3) 然后将步骤(2)的所述微流控基板1进行曝光,对应绘制的所述第一凹槽5部位的光刻胶13消失;

[0076] (4) 然后将步骤(3)的所述微流控基板1上无所述光刻胶13的部位即绘制的所述第一凹槽5部位进行刻蚀,根据设定的所述样品通道2的规格,在所述微流控基板1上刻蚀得到一定高度的所述第一凹槽5,如实施例6中的样品通道2的高度为250微米,则在所述微流控基板1上刻蚀得到高度为250微米的所述第一凹槽5;

[0077] (5) 然后去除所述基板上的光刻胶13,然后根据所述横向超声换能装置4的设置,如在实施例6中在位于所述样品通道2的下游在所述样品通道2的两侧分别设置一个所述横向超声换能装置4,即在所述微流控基板1的上沿着样品流动方向的下游的所述样品通道2的两侧分别激光切割一个第二凹槽6,两个所述第二凹槽6相对,然后将所述横向超声换能装置4固定安置在所述第二凹槽6中;

[0078] (6) 将步骤(5)所得的微流控基板1的所述第一凹槽的上方覆盖粘接盖板8,所述盖板8为石英玻璃,所述第一凹槽5的两端分别设有样品进口9和废液出口10,在本实施例中可

以在所述第一凹槽5的两端上对应的所述石英玻璃板上分别设置通孔,两个通孔分别为样品进口9和废液出口10,通过所述通孔将所述样品悬浊液注入所述样品通道2或通过所述通孔将所述样品通道2中的废液排出,所述第一凹槽5形成所述样品通道2,得到相应个数的所述样品通道2的微流控基板1,然后根据所述纵向超声换能装置3的设置,在与所述样品通道2正对的盖板8上方粘接所述纵向超声换能装置3,即得所述微流控芯片。在本实施例中,所述超声换能装置为压电陶瓷片,所述压电陶瓷片可以与外设的控制电路连接,通过将所述超声换能装置设置为压电陶瓷片,可以保证所述压电陶瓷片在微流控芯片上所占用的空间更小。所述超声波的声源由所述压电陶瓷片提供,所述压电陶瓷片的功率和频率可以通过调节外设的控制电路的输入的功率和频率获得。所述压电陶瓷片为采用PZT4或PZT8压电陶瓷(由美国CTS公司提供)制成。

[0079] 进一步的,如在实施例7、9、10中的微流控芯片上还设置鞘液通道11,所述微流控芯片与上述的微流控芯片制备方法基本相同,区别仅在于在步骤(2)中还包括在所述掩膜14上绘制第三凹槽7的走向,根据鞘液通道11的设置,在所述掩膜14上的对应位置进行绘制,如制备实施例7的微流控芯片,在所述掩膜14上绘制完一个所述第一凹槽5后,在所述第一凹槽5的两侧对称绘制第三凹槽7,两个所述第三凹槽7的一端与所述第一凹槽5相连,然后将绘制的所述第一凹槽5处以及所述第三凹槽3处所述掩膜14去除。

[0080] 实施例13

[0081] 本实施例所述的利用上述实施例1的微流控芯片进行细胞筛查的方法,本实施例所采用的所述样品悬浊液浓度为 0.5×10^5 个/ml,细胞为CHO Cells(中国仓鼠卵巢细胞),所述样品悬浊液购自中国科学院细胞库,取待测的样品悬浊液通过所述样品进口9通入所述样品通道2,所述样品悬浊液的通量为0.5ml/min,所述样品悬浊液在所述样品通道2内流动,依次经过两个所述纵向超声换能装置3和一个所述横向超声换能装置4的聚焦,所述超声换能装置输入功率为12W,所述纵向超声换能装置3的聚焦声波频率为2.3MHz,所述横向超声换能装置4聚焦声波频率为1.3MHz,聚焦后的所述样品悬浊液经过流式细胞仪进行检测,具体为聚焦后的所述样品悬浊液中形成1个单细胞流,细胞16在所述样品通道2内流动经过光斑区15进行检测,所述光斑区位于所述超声换能装置下游的所述样品通道2上,所述废液出口10的上游,所述光斑区15为流式细胞仪中光学检测系统检测光束照亮区域,经检测后的样品悬浊液由所述废液出口10排出。

[0082] 实施例14

[0083] 本实施例所述的利用上述实施例3的微流控芯片进行细胞筛查的方法,本实施例所采用的所述样品悬浊液浓度为 1.2×10^7 个/ml,细胞为CHO Cells(中国仓鼠卵巢细胞),所述样品悬浊液购自中国科学院细胞库,取待测的样品悬浊液通过所述样品进口9通入所述样品通道2,所述样品悬浊液的通量为1.3ml/min,所述样品悬浊液在所述样品通道2内流动,依次经过两个所述横向超声换能装置4和一个所述纵向超声换能装置3的聚焦,所述超声换能装置输入功率为18W,所述纵向超声换能装置3的聚焦声波频率为3.7MHz,所述横向超声换能装置4聚焦声波频率为0.7MHz,聚焦后的所述样品悬浊液经过流式细胞仪进行检测,具体为聚焦后的所述样品悬浊液中形成1个单细胞流如图1所示,单个细胞16在所述样品通道2内流动逐个经过光斑区15进行检测,所述光斑区位于所述超声换能装置下游的所述样品通道2上,所述废液出口19的上游,所述光斑区15为流式细胞仪中光学检测系统检测

光束照亮区域,经检测后的样品悬浊液由所述废液出口排出。

[0084] 实施例15

[0085] 本实施例所述的利用上述实施例4的微流控芯片进行细胞筛查的方法,本实施例所采用的所述样品悬浊液浓度为 10^5 个/ml,细胞为CHO Cells(中国仓鼠卵巢细胞),所述样品悬浊液购自中国科学院细胞库,取待测的样品悬浊液通过所述样品进口9通入所述样品通道2,所述样品悬浊液的通量为0.8mL/min,所述样品悬浊液在所述样品通道2内流动,依次经过两组相对的四个所述横向超声换能装置4和一个所述纵向超声换能装置3的聚焦,所述超声换能装置输入功率为13W,所述纵向超声换能装置3的聚焦声波频率为3.5MHz,所述横向超声换能装置4聚焦声波频率为1.2MHz,聚焦后的所述样品悬浊液经过流式细胞仪进行检测,具体为聚焦后的所述样品悬浊液中形成1个单细胞流如图2所示,单个细胞16在所述样品通道2内流动逐个经过光斑区15进行检测,所述光斑区15位于所述超声换能装置下游的所述样品通道2上,所述废液出口10的上游,所述光斑区15为流式细胞仪中光学检测系统检测光束照亮区域,经检测后的样品悬浊液由所述废液出口10排出。所述样品悬浊液聚焦前后细胞粒子的聚集情况见图10(采用的是Olympus IX83型荧光显微镜观察),其中图10(a)为所述的微流控芯片对细胞的聚焦前的图,图10(b)为所述的微流控芯片对细胞的聚焦后的图。

[0086] 实施例16

[0087] 本实施例所述的利用上述实施例6的微流控芯片进行细胞筛查的方法,如图3所示,本实施例所采用的所述样品悬浊液浓度为 10^6 个/ml,细胞为CHO Cells(中国仓鼠卵巢细胞),所述样品悬浊液购自中国科学院细胞库,取待测的样品悬浊液通过所述样品进口9通入所述样品通道2,所述样品悬浊液的通量为1mL/min,所述样品悬浊液在所述样品通道2内流动,依次经过一个所述纵向超声换能装置3和一组相对的两个所述横向超声换能装置4的聚焦,所述超声换能装置输入功率为15W,所述纵向超声换能装置3的聚焦声波频率为3MHz,所述横向超声换能装置4聚焦声波频率为2MHz,聚焦后的所述样品悬浊液经过流式细胞仪进行检测,具体为聚焦后的所述样品悬浊液中形成2个单细胞流,单个细胞16在所述样品通道2内流动逐个经过光斑区15进行检测,所述光斑区15位于所述超声换能装置下游的所述样品通道2上,所述废液出口10的上游,所述光斑区15为流式细胞仪中光学检测系统检测光束照亮区域,经检测后的样品悬浊液由所述废液出口10排出,所述的微流控芯片的超声换能装置组列在矩形的样品通道2内中轴线上的声强时间变化图见图8,所述的微流控芯片的超声换能装置组列在矩形的样品通道2内形成的声场分布仿真示意图见图9,由图8-图9可以看到,外置的超声换能装置组列产生的声波在矩形样品通道2内能够形成稳定的声场,中心位置处的声场最弱,受到的声场作用力最小,这样的声场非常有利于细胞等微颗粒的二维聚焦,由图8(a)、图9)可知,所述纵向超声换能装置3在所述样品通道2内在纵向方向(竖直方向)形成1个驻波波节,由图8(b)、图9)可知,所述横向超声换能装置4在所述样品通道2内在横向方向(水平方向)形成2个驻波波节。

[0088] 实施例17

[0089] 本实施例所述的利用上述实施例7的微流控芯片进行细胞筛查的方法,本实施例所采用的所述样品悬浊液浓度为 10^7 个/ml,细胞为CHO Cells(中国仓鼠卵巢细胞),所述样品悬浊液购自中国科学院细胞库,取待测的样品悬浊液通过所述样品进口9通入所述样品

通道2,所述样品悬浊液的通量为1mL/min,所述样品悬浊液在所述样品通道2内流动,所述样品悬浊液先与所述鞘液通道11流入的鞘液相遇,然后所述样品悬浊液依次经过一个所述纵向超声换能装置3和一组相对的两个所述横向超声换能装置4的聚焦,所述超声换能装置输入功率为15W,所述纵向超声换能装置3的聚焦声波频率为3MHz,所述横向超声换能装置4聚焦声波频率为1MHz,聚焦后的所述样品悬浊液经过流式细胞仪进行检测,具体为聚焦后的所述样品悬浊液中形成的1个单细胞流如图4所示,单个细胞16在所述样品通道2内流动经过光斑区15进行检测,所述光斑区15位于所述超声换能装置下游的所述样品通道2上,所述废液出口10的上游,所述光斑区15为流式细胞仪中光学检测系统检测光束照亮区域,经检测后的样品悬浊液由所述废液出口10排出。

[0090] 实施例18

[0091] 本实施例所述的利用上述实施例8的微流控芯片进行细胞筛查的方法,本实施例所采用的所述样品悬浊液浓度为 5×10^6 个/ml,细胞为CHO Cells(中国仓鼠卵巢细胞),所述样品悬浊液购自中国科学院细胞库,分别取待测的样品悬浊液通过三个样品通道2各自所述样品进口9通入每个所述样品通道2,所述样品悬浊液的通量为1.2mL/min,所述样品悬浊液在所述样品通道2内流动,依次经过一个所述纵向超声换能装置3和一组相对的两个所述横向超声换能装置4的聚焦,所述超声换能装置输入功率为17W,所述纵向超声换能装置4的聚焦声波频率为2.5MHz,所述横向超声换能装置3聚焦声波频率为2.4MHz,聚焦后的所述样品悬浊液经过流式细胞仪进行检测,具体为聚焦后的所述样品悬浊液中形成3个单细胞流如图5所示,单个细胞16在所述样品通道2内流动经过光斑区15进行检测,所述光斑区15位于所述超声换能装置下游的所述样品通道2上,所述废液出口10的上游,所述光斑区15为流式细胞仪中光学检测系统检测光束照亮区域,经检测后的样品悬浊液由所述废液出口10排出,所述样品悬浊液在所述样品通道2内的聚焦效果图见11,如图11所示,其中的聚焦区域为单细胞流,所述样品悬浊液在所述样品通道2的中心位置形成3个单细胞流。

[0092] 实施例19

[0093] 本实施例所述的利用上述实施例9的微流控芯片进行细胞筛查的方法,本实施例所采用的所述样品悬浊液浓度为 2×10^6 个/ml,细胞为CHO Cells(中国仓鼠卵巢细胞),所述样品悬浊液购自中国科学院细胞库,分别取待测的样品悬浊液通过三个样品通道2各自所述样品进口9通入每个所述样品通道2,所述样品悬浊液的通量为1.2mL/min,所述样品悬浊液在所述样品通道2内流动,所述样品悬浊液先与所述鞘液通道11流入的鞘液相遇,然后所述样品悬浊液依次经过一个所述纵向超声换能装置3和一组相对的两个所述横向超声换能装置4的聚焦,所述超声换能装置输入功率为17W,所述纵向超声换能装置3的聚焦声波频率为2.5MHz,所述横向超声换能装置4聚焦声波频率为12MHz,聚焦后的所述样品悬浊液经过流式细胞仪进行检测,具体为聚焦后的所述样品悬浊液中形成10个单细胞流,单个细胞在所述样品通道2内流动经过光斑区15进行检测,所述光斑区15位于所述超声换能装置下游的所述样品通道2上,所述废液出口10的上游,所述光斑区15为流式细胞仪中光学检测系统检测光束照亮区域,经检测后的样品悬浊液由所述废液出口10排出。

[0094] 对比例1

[0095] 本实施例为按照中国专利文献CN101881779A中实施例2制备的微流控芯片,所述微流控芯片的制备方法如下:1、用软光刻的方法制取超声驻波微流控芯片用的玻璃阳模模

板,此模板中设计有三个驻波反应腔4,形成1×3的驻波反应腔阵列;2、在表面镀有一层铂的PCB板1上加工出与微流控芯片中结构相对应的孔位,在与超声驻波反应腔相对应的孔位里安装固定上三个PZ26压电陶瓷片5,作为超声驻波的声源,同时在PCB板1的背面进行布线,将所有的压电陶瓷片5输入信号连接到三路开关电路的输出端,并将焊接有三路开关的电路板固定在PCB板1的两侧,作为支架;3、将PDMS液态预聚物2倒在阳模模板上,再将一块载玻片3放入阳模模板上的PDMS液态预聚物2上,待反应固化后,一起脱模成型,制成与载玻片一体的微流控芯片,用打孔器打孔;4、将以上制得的与载玻片一体的微流控芯片和已安装有支架的PCB板1用螺丝固定在一起,即得到集成有三个驻波反应腔4的微流控芯片。

[0096] 采用上述的微流控芯片进行细胞筛查,本实施例所采用的所述样品悬浊液浓度为 10^6 个/ml,细胞为CHO Cells(中国仓鼠卵巢细胞),所述样品悬浊液购自中国科学院细胞库,取待测的样品悬浊液通过其中一个所述进液孔7进入,然后在另两个进液孔7中注入鞘液,所述样品悬浊液的通量为1mL/min,所述样品悬浊液先与鞘液通道汇聚,然后依次经过3个超声驻波反应腔4,所述超声波的频率为3MHZ,聚焦后的所述样品悬浊液经过流式细胞仪进行检测,经检测后的样品悬浊液由所述出液孔7排出。

[0097] 对比例2

[0098] 本实施例与实施例8基本相同,区别仅在于所述的微流控芯片的样品通道2上仅设置两个横向超声换能装置4,所述横向超声换能装置4与实施例8中设置的位置相同。利用上述的微流控芯片进行细胞筛查的方法与实施例18的方法相同,区别仅在于无需控制所述纵向超声换能装置4的聚焦声波频率。

[0099] 效果例

[0100] 比实施例13、16、18以及对比例1、2的检测效果,采用流式细胞仪(美国贝克曼库尔特MoFlo XDP型流式细胞仪)对上述实施例中的聚焦后的所述样品悬浊液中形成的单细胞流进行检测,各自显示CV值如下:

[0101]	CV值
实施例13	<1.5%
实施例16	<1%
实施例18	<1%
对比例1	<2%
对比例2	<2%

[0102] 由上述比较可知,采用本发明的微流控芯片进行高通量细胞筛查时流式细胞仪的CV值明显低于对比例1中的CV值,说明采用本发明的微流控芯片进行高通量细胞筛查检测精度和灵敏度显著提高,检测效率大大提高。

[0103] 显然,上述实施例仅仅是为清楚地说明所作的举例,而并非对实施方式的限定。对于所属领域的普通技术人员来说,在上述说明的基础上还可以做出其它不同形式的变化或变动。这里无需也无法对所有的实施方式予以穷举。而由此所引伸出的显而易见的变化或变动仍处于本发明创造的保护范围之内。

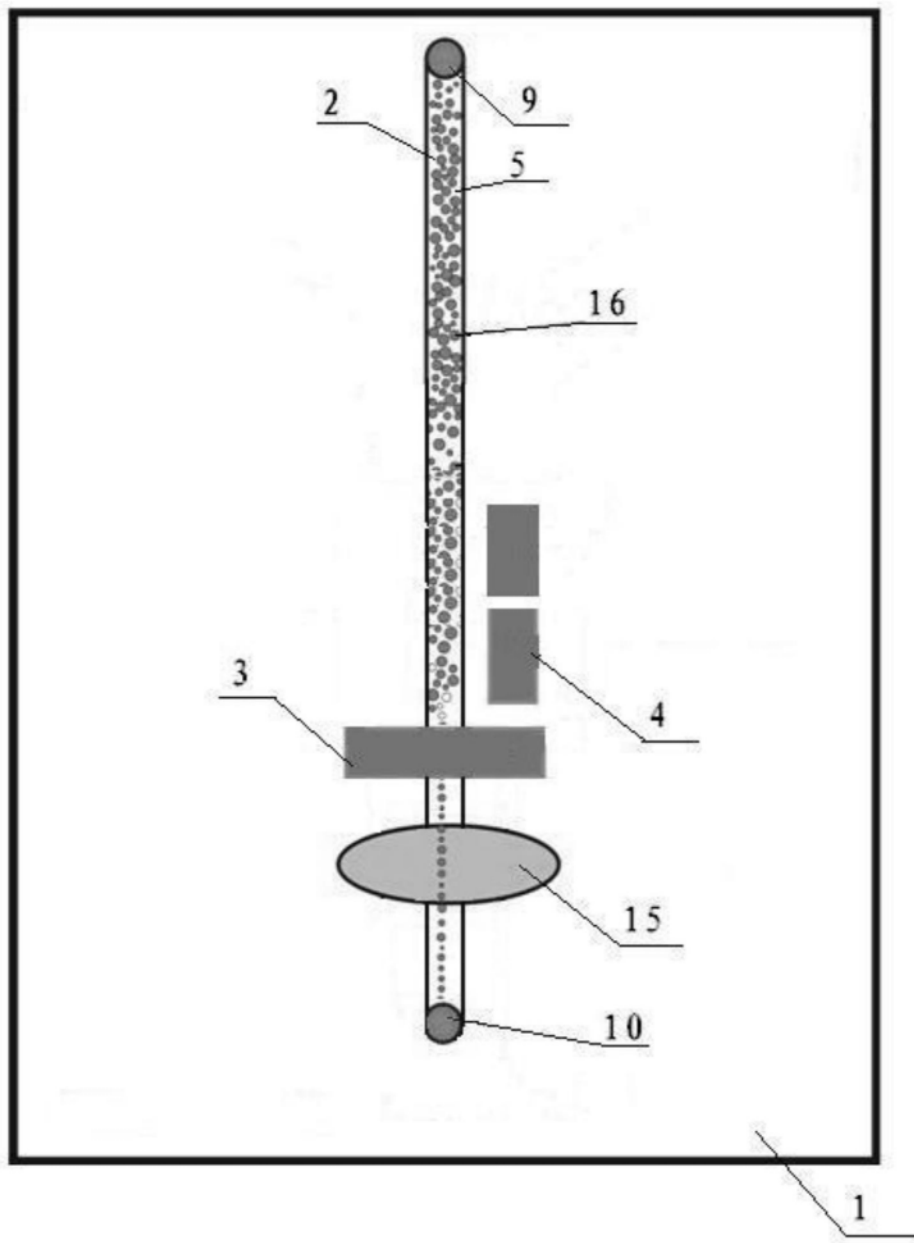


图1

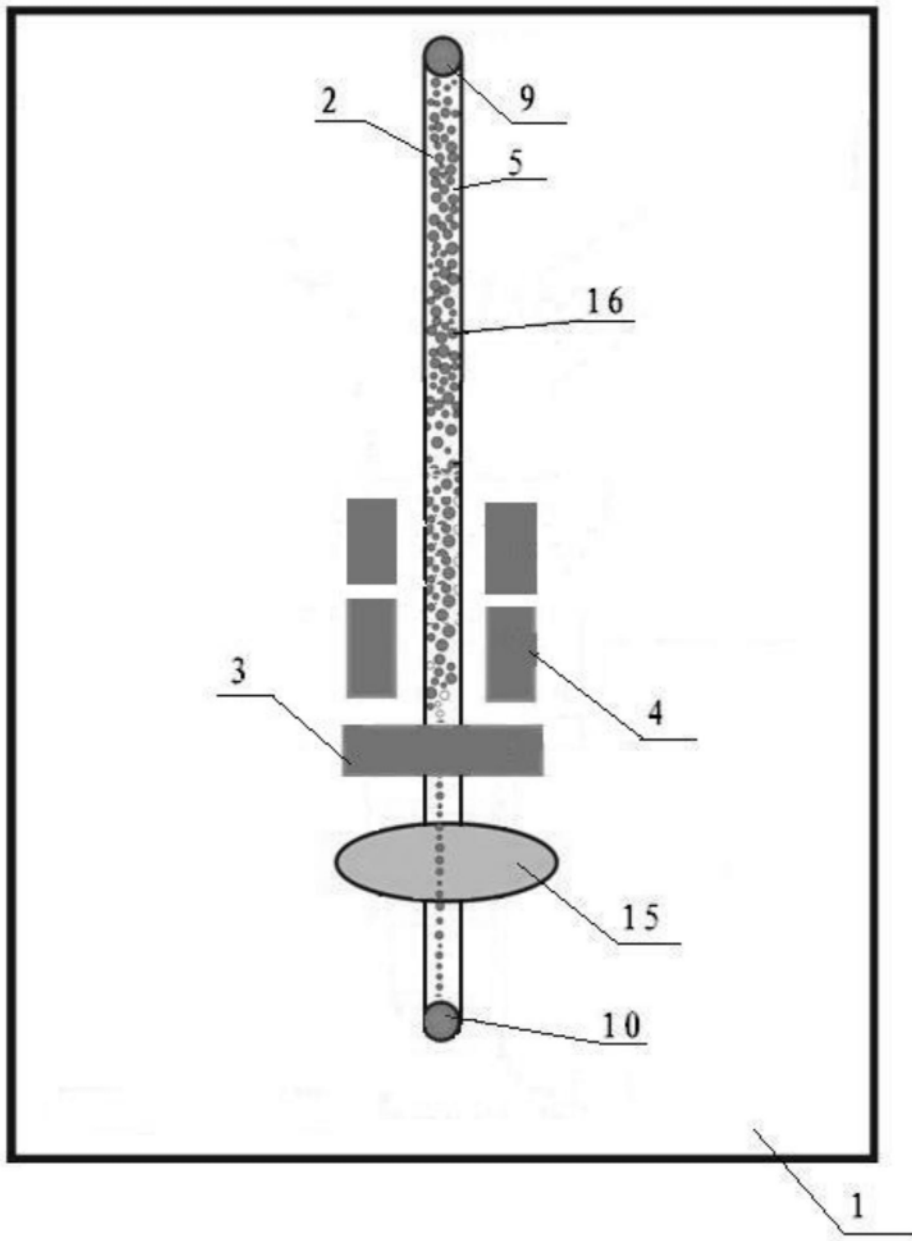


图2

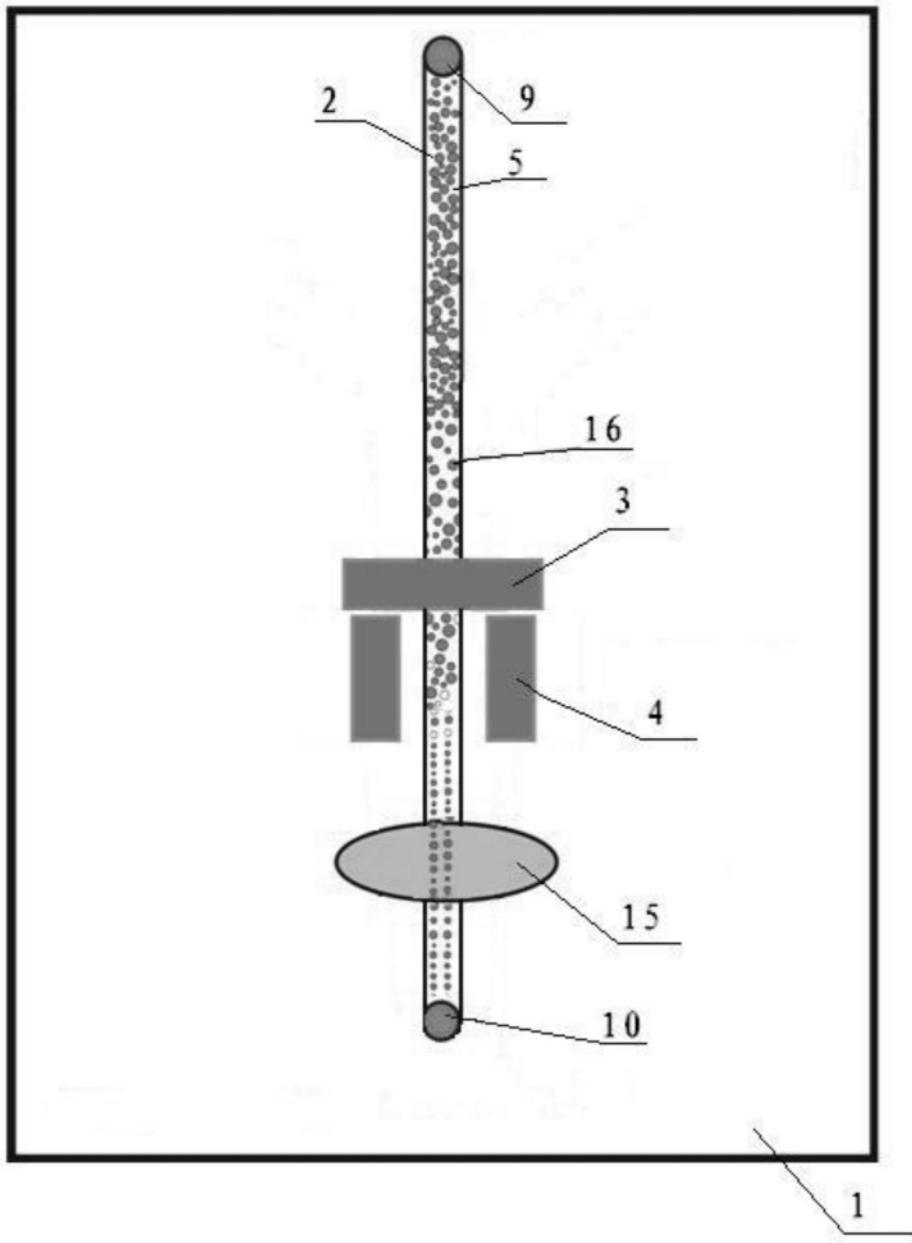


图3

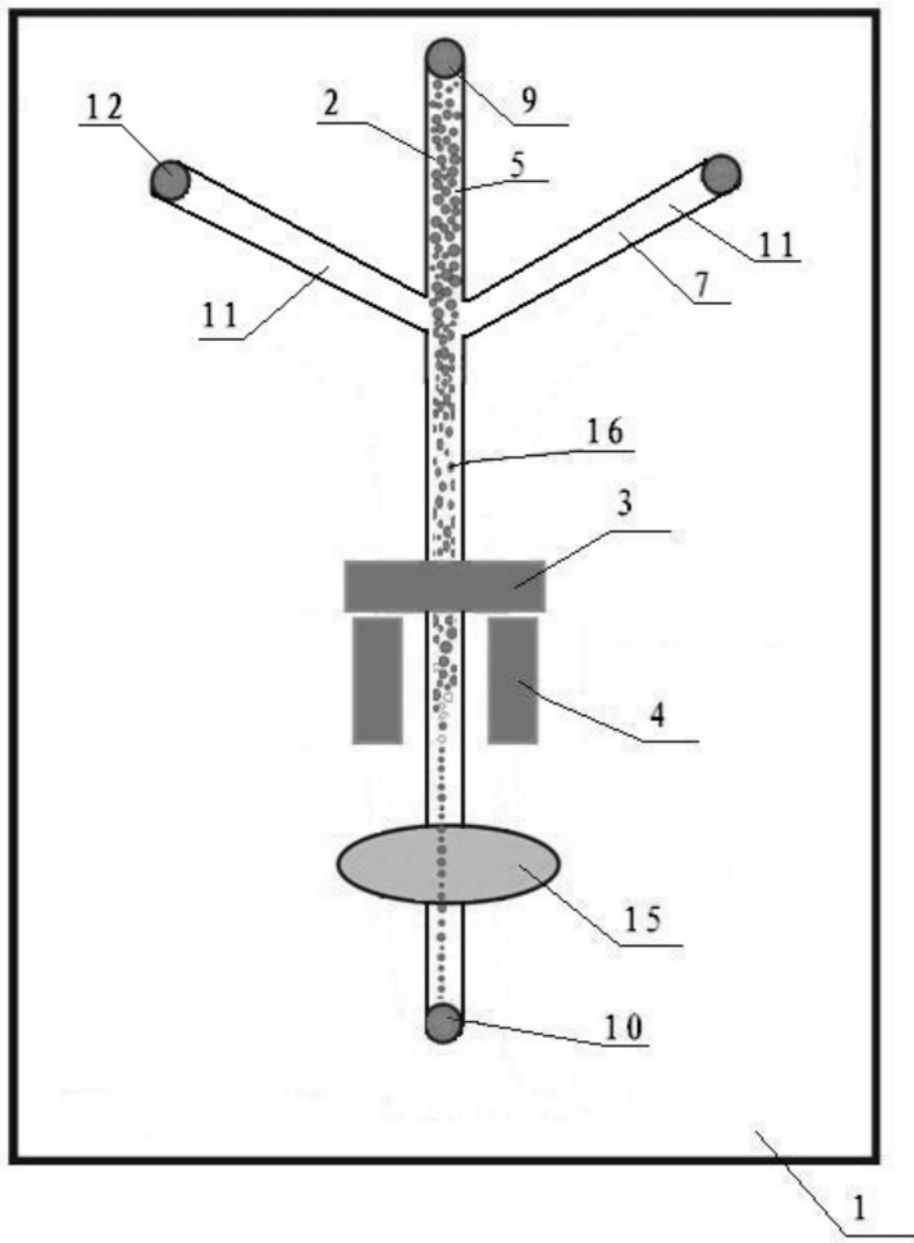


图4

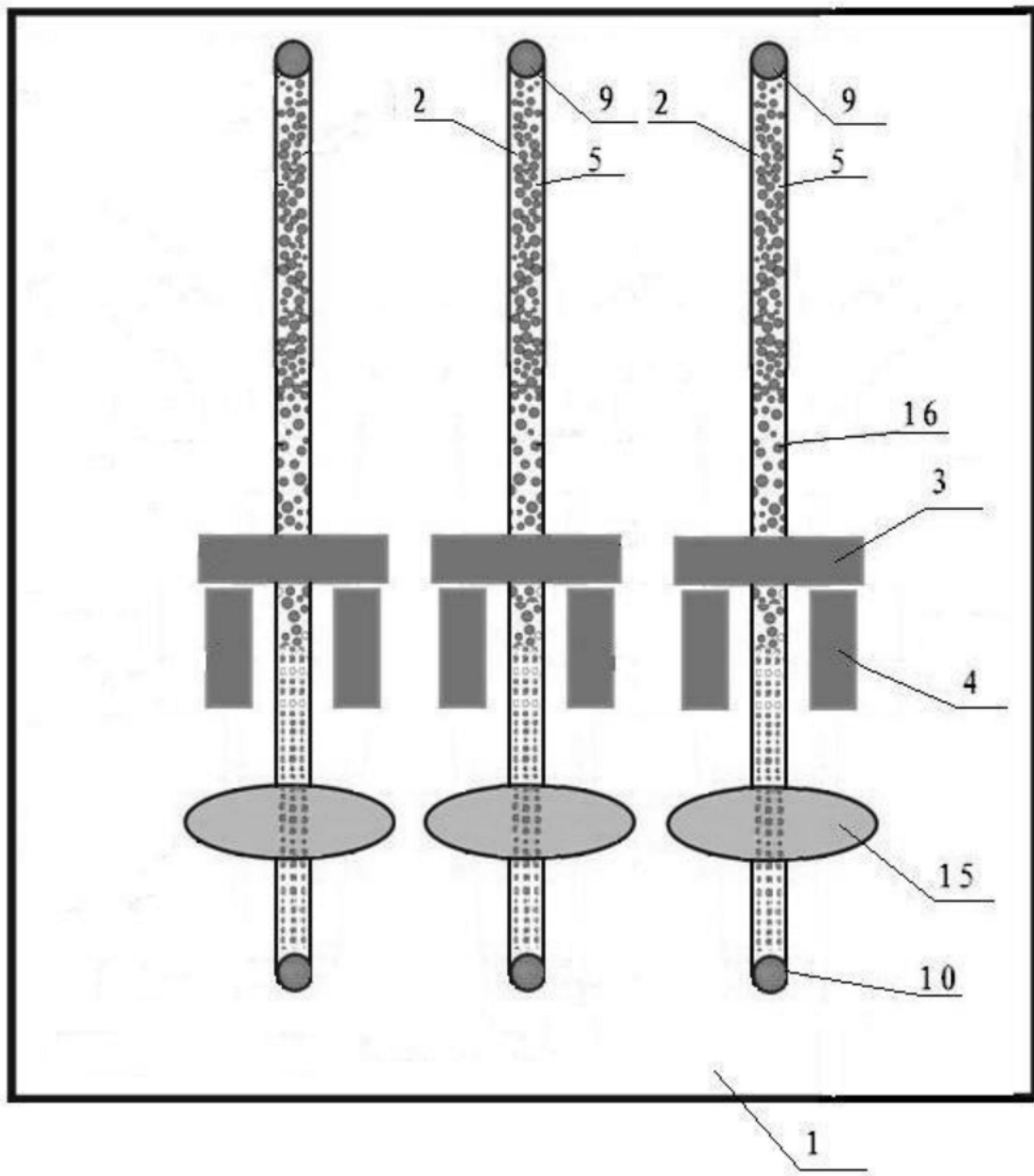


图5

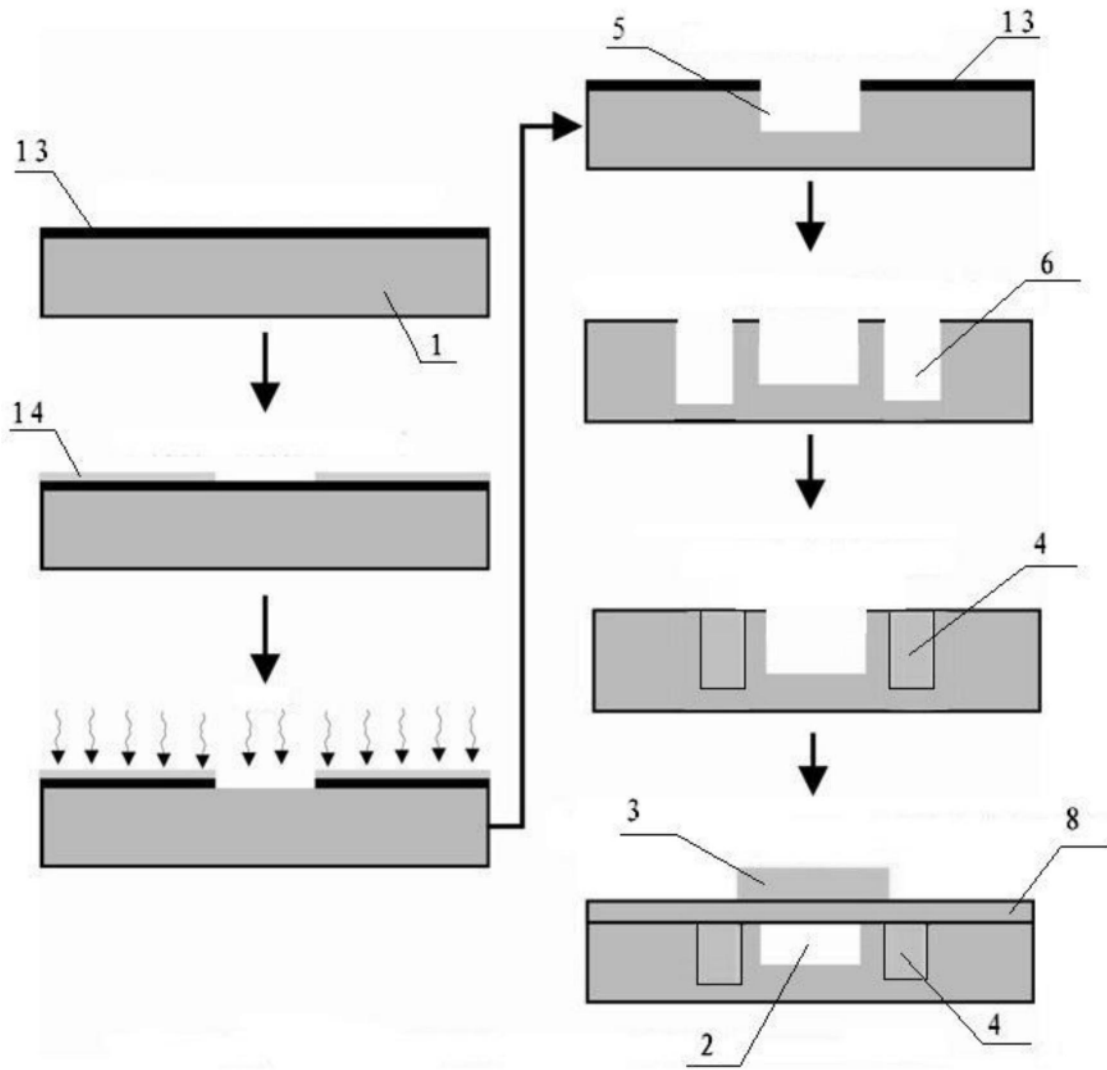


图6

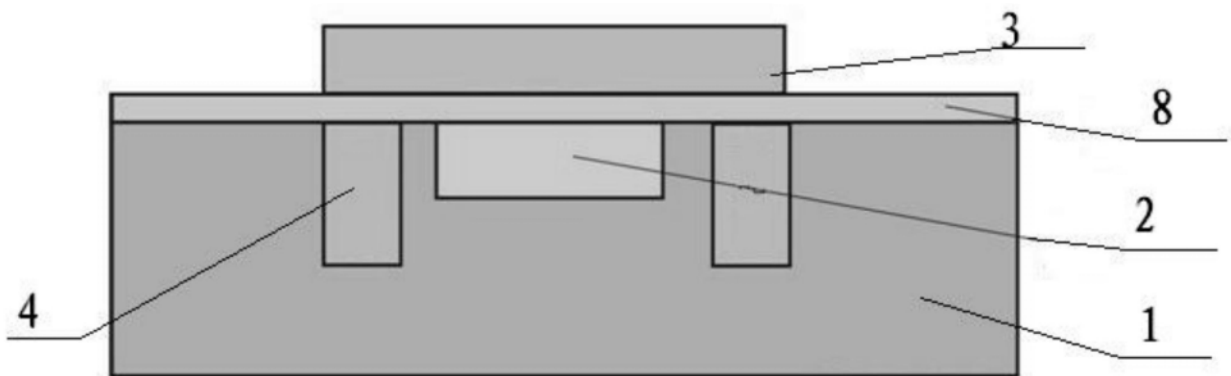


图7

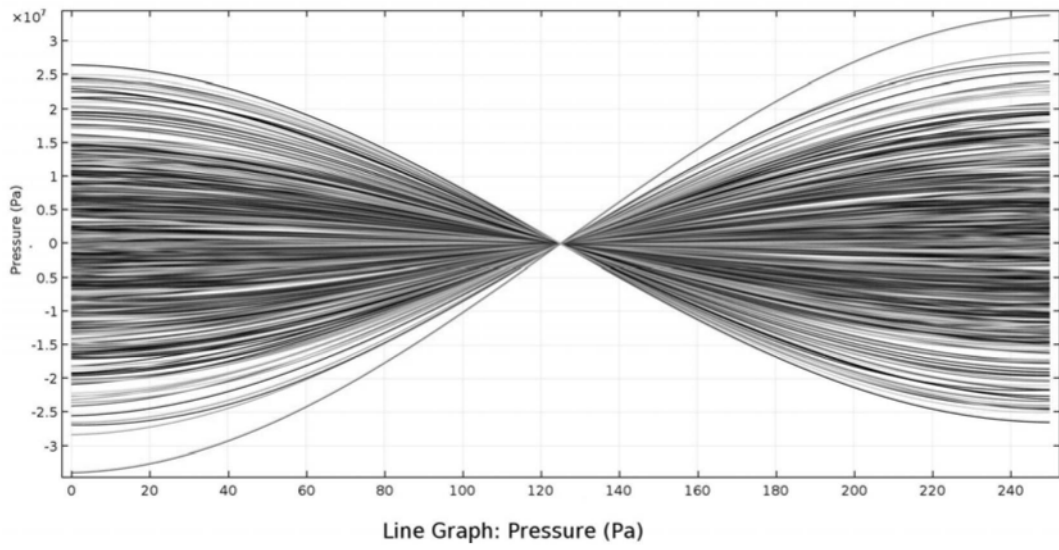


图8(a)

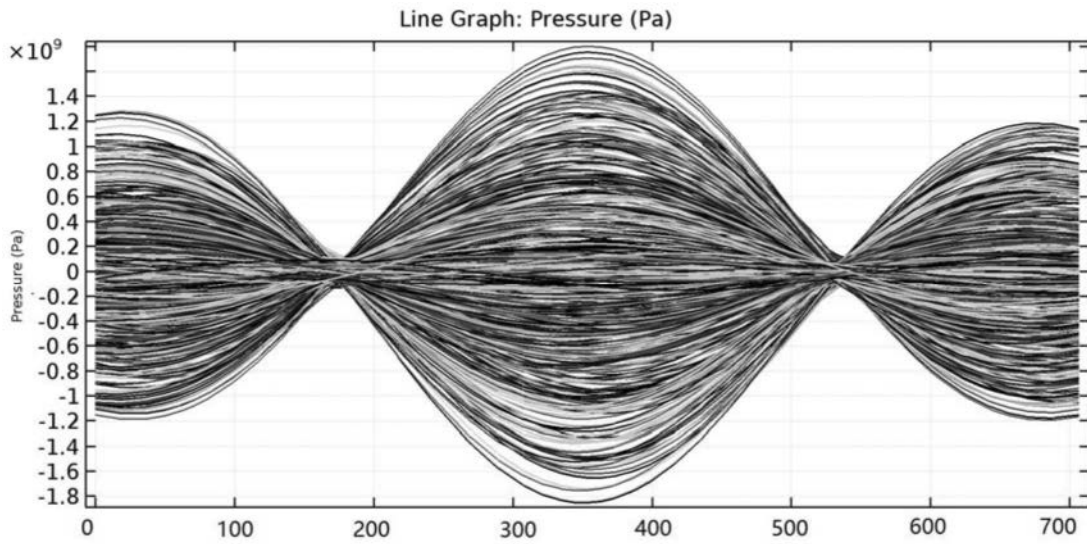


图8(b)

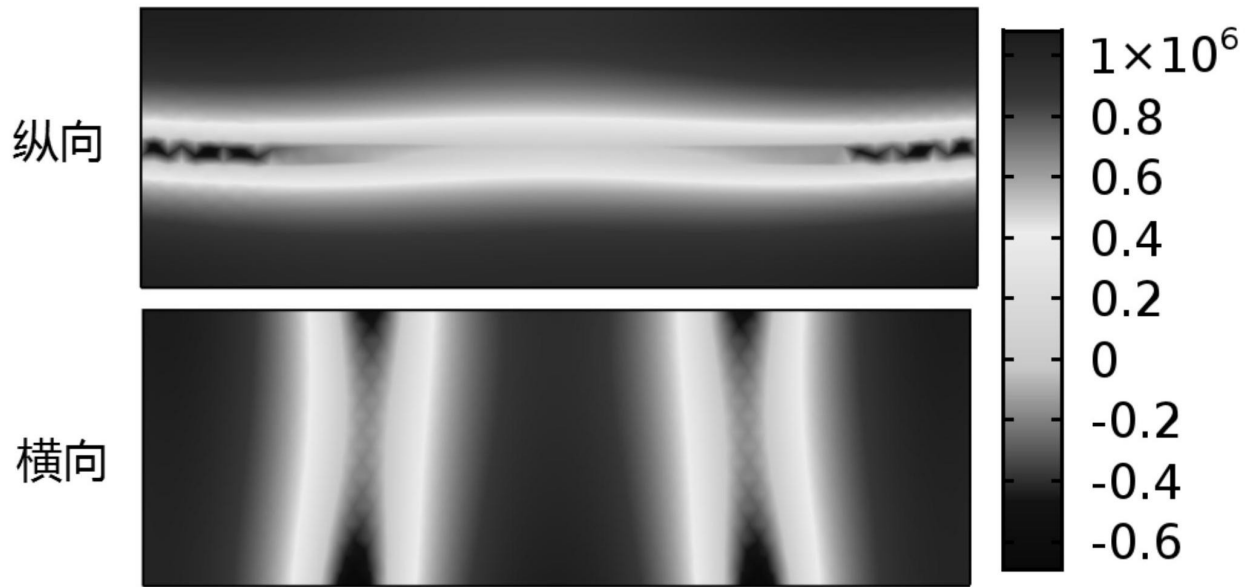


图9

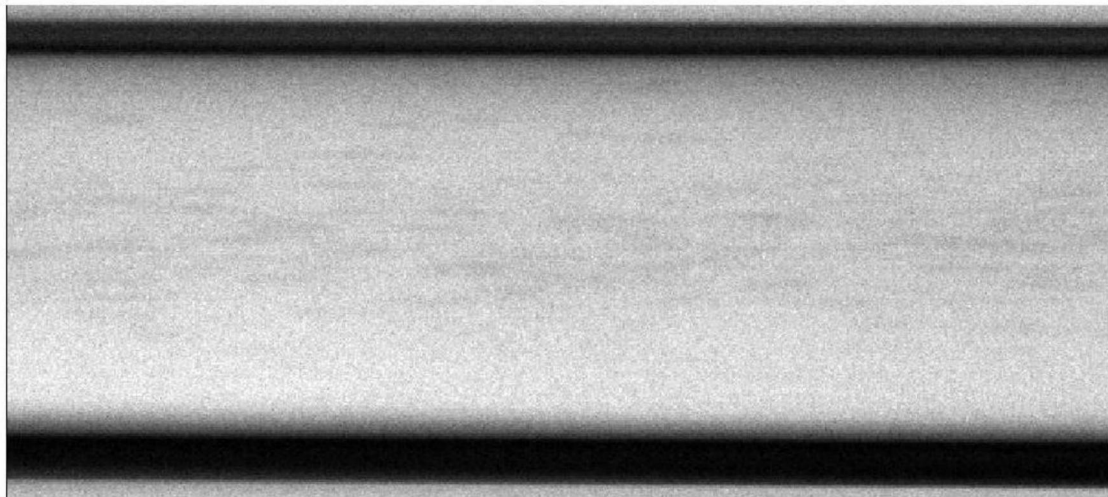


图10(a)

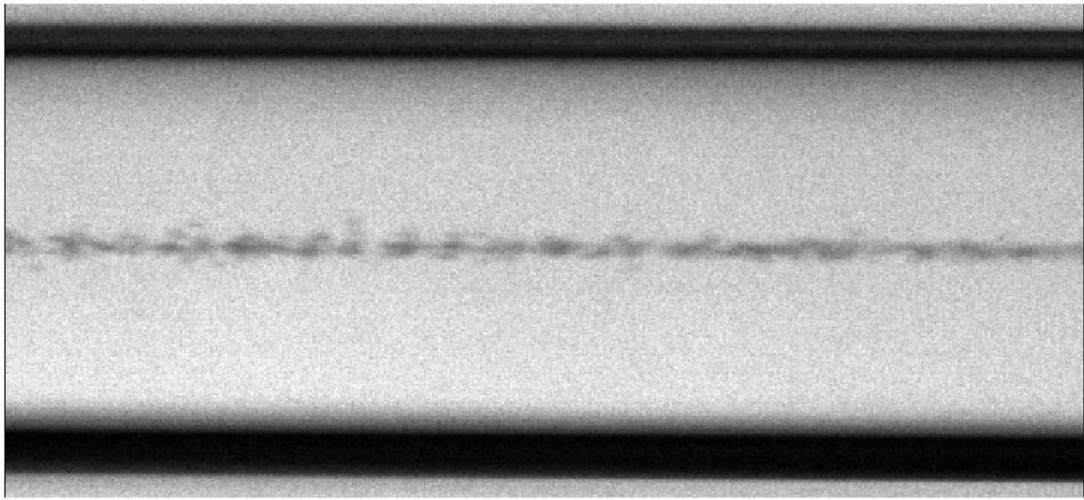


图10(b)

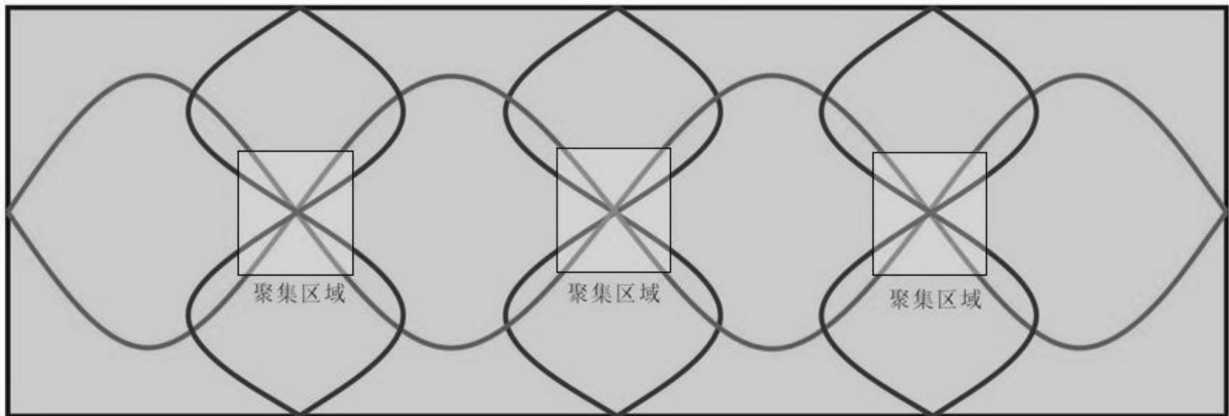


图11