

[研究快报]

# 光刻蚀法制备水凝胶微图案及其应用

刘欣<sup>1,2</sup>, 沈峰<sup>1,2</sup>, 吴大朋<sup>1,2</sup>, 王琪<sup>3</sup>, 秦建华<sup>1</sup>, 林炳承<sup>1</sup>

(1. 中国科学院大连化学物理研究所, 大连 116023; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039;  
3. 大连医科大学附属第二医院, 大连 116027)

关键词 水凝胶; 光刻蚀法; 微图案; 表面与界面

中图分类号 O652.7

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2008)02-0298-03

近年来,以软刻蚀为代表的新技术的发展以及微图案化材料选用的多样化使得各种微图案化表面日益成为认识表面和界面基本现象<sup>[1]</sup>,考察微尺度流体流动行为<sup>[2]</sup>以及发现和解决细胞生物学中各种新问题<sup>[3]</sup>等研究过程中的技术平台.目前,较为通行的表面图案化方法是采用软刻蚀技术<sup>[4]</sup>,通过弹性印章将特定分子转印到基底表面,形成图案化分子涂层.该类方法虽比传统光刻法具有操作简便、灵活、适用材料范围广以及成本低廉等特点,但用于所需的弹性印章仍需通过传统光刻工艺制备,实施过程繁琐.采用光定位分解<sup>[5]</sup>、光接枝<sup>[6]</sup>及等离子体氧化<sup>[7]</sup>等方法制备微图案化表面,或需合成专门试剂,或需制作特殊的漏印板掩模,不易普及.本文采用光刻技术,通过光引发单体聚合,在硅烷化玻片表面原位制备水凝胶微图案.该法简便易行,无需复杂的仪器设备和操作过程,且所制微图案具有较好的稳定性.通过细胞微图案化和液滴微结构制备展示了该技术的实用性和潜在的应用方向.

## 1 实验部分

1.1 试剂与仪器 水凝胶单体丙烯酰胺(AAM)、*N,N'*-亚甲基双丙烯酰胺(BIS)、聚乙二醇二丙烯酸酯(PEGDA)、光引发剂2,2-二甲氧基-2-苯基苯乙酮(DMAP)、硅烷化试剂3-(三甲氧基甲硅烷基)丙基-甲基丙烯酸酯(TPM)均购自Sigma-Aldrich.所需微图形用Freehand软件设计,以商用激光照排机(5000dpi)输出的胶片作为掩模.紫外光源采用Oriel 87436紫外光照系统.该系统配备500 W汞灯.

1.2 实验过程 (1)玻片硅烷化:将醋酸(1 μL/mL)和TPM(30 μL/mL)溶入95%(体积分数)乙醇水溶液中,制得硅烷化反应液.将清洗干净的载玻片浸没于硅烷化反应液中孵育5 min,用无水乙醇冲洗、吹干,于120 °C脱水4 h,制得表面疏水且富含双键基团的玻片.(2)水凝胶反应液的配制:所用溶剂均为1,2-丙二醇/水溶液(体积比1/1).丙烯酰胺反应液中单体 $[m(\text{AAM})/m(\text{BIS}) = 19/1]$ 总量为5%~8%(质量体积分数).PEGDA反应液中PEGDA含量为5%~6%(体积分数).将DMAP按240 mg/mL溶于*N*-甲基吡咯烷酮,制得光引发剂储液,曝光前将其按25 μL/mL配成光敏单体溶液.

1.3 光刻法制备水凝胶微图案 如图1所示,将两块经TPM处理的载玻片两端以聚四氟生料带隔开,

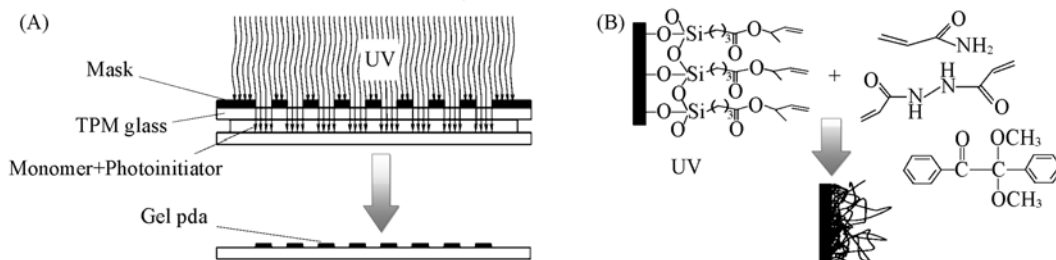


Fig. 1 Fabrication procedure(A) and mechanism(B) of hydrogel micropatterns

收稿日期: 2007-08-20.

基金项目: 国家自然科学基金重点项目基金(批准号: 20635030, 20575067)及中国科学院大连化学物理研究所创新基金资助.

联系人简介: 林炳承, 男, 博士, 研究员, 主要从事微流控芯片研究. E-mail: bclin@dicp.ac.cn.

秦建华, 女, 博士, 研究员, 主要从事微流控芯片研究. E-mail: jhqin@dicp.ac.cn.

形成高度约 100  $\mu\text{m}$  的反应腔; 通过毛细作用将光敏单体溶液注入其中; 以紫外光透过掩模照射到反应液中, 曝光数秒, 在曝光区域, 引发剂 (DMAP) 光解产生初级自由基, 进而引发溶液中含双键单体以及玻片表面的双键基团发生自由基聚合反应, 从而生成共价锚联于玻片表面的图案化水凝胶涂层; 先后以丙酮及去离子水清洗玻片, 去除未反应单体, 制得水凝胶微图案化基片。

## 2 结果与讨论

2.1 水凝胶微图案制备的影响因素 通过在其上形成凝结图案<sup>[8]</sup>对所得二维微图案加以确认和考察: 图 2(A) 是以本法获得的几种典型的凝结图案显微镜照片. 初步考察了单体种类、单体浓度及曝光时间、硅烷化质量对图案化质量的影响, 得出如下结论: (1) 单体浓度范围适宜, 以本法可制得聚丙烯酰胺 (PAAM, 单体质量体积分数 5% ~ 8%) 和聚乙二醇 (PEG, 单体体积分数 5% ~ 6%) 水凝胶微图案; (2) 图案化精度主要受曝光时间影响. 分别以 6% 的 AAM-BIS 和 PEGDA 制备设计尺寸为 200  $\mu\text{m}$  宽的微线条, 以实测线条宽度与设计宽度的比值确定图案化精度. 图 2(B) 表明, 微线条宽度随曝光时间增加而逐渐展宽, 曝光期间自由基和活性单体的扩散对图案化精度有较大影响<sup>[9]</sup>, TPM 硅烷化质量对图案化的精度、所需曝光时间的重现性以及所得微图案的稳定性均有较大影响。

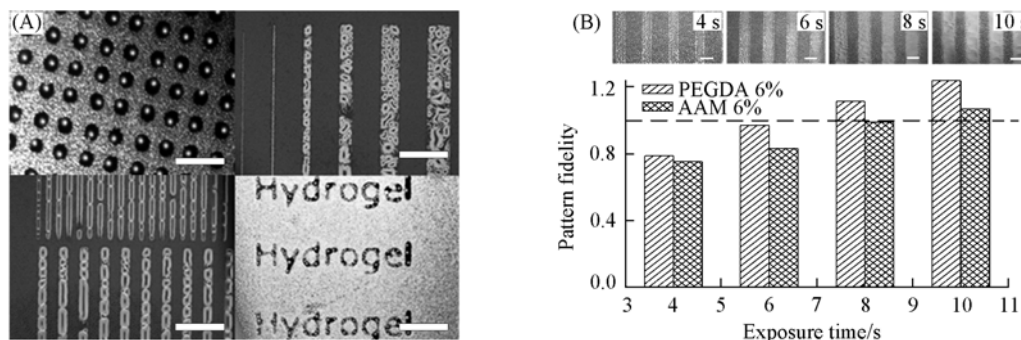


Fig. 2 Examples of condensation figures formed on hydrogel patterned surfaces (scale bar = 1 mm) (A) and influence of exposure time on pattern fidelity (B)

Insertions shows 200  $\mu\text{m}$  PAAM gel patterns formed at different exposure time.

2.2 细胞微图案化 考察了 PEG 图案化表面用于细胞微图案化相关研究的可行性. 图 3(A) 为所制备 PEG 凝胶图案化表面经 FITC-BSA 孵育后的荧光显微照片. 由于 PEG 对蛋白吸附有显著的抑制作用<sup>[3]</sup>, 使得蛋白仅在 TPM 表面吸附. 依此原理可实现细胞在表面的微图案化生长: 用 75% (体积分数) 乙醇溶液清洗所制凝胶微图案化基片并以紫外光照射 20 min; 将经此灭菌处理的基片置于培养皿中, 以约  $5 \times 10^6/\text{cm}^3$  细胞悬液涂布于基片表面; 待细胞贴壁后, 冲洗表面以除去未贴壁细胞; 将基片浸没培养基中, 于培养箱中培养 24 ~ 72 h. 图 3(B) 为此法所得的成纤维细胞 (L929) 微图案的显微照片. 图 3(C) 和 (D) 为以此法图案化培养的细胞在 24 和 72 h 的显微照片, 说明在图案化培养条件下细胞仍能正常生长. 所制水凝胶微图案在细胞培养条件下具有良好的稳定性。

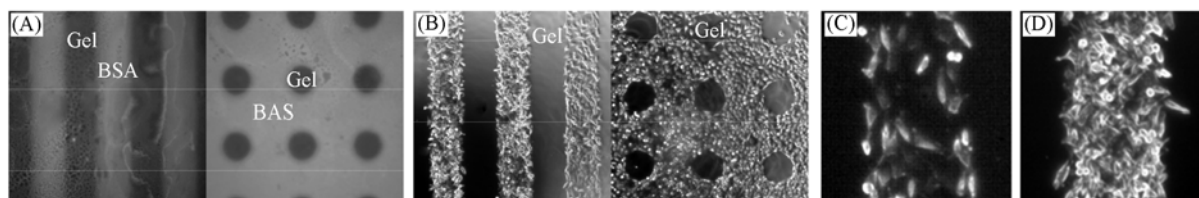
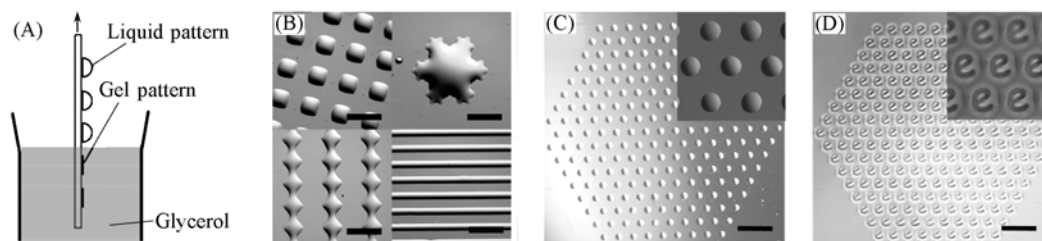


Fig. 3 Fluorescent micrograph showing the selective adsorption of FITC-BSA on PEG patterned surfaces (A), L929 cellular patterns formed on corresponding surfaces (B) and proliferation of the L929 cells on the gel patterned surface for 24 h after seeding (C) and 72 h after seeding (D)

2.3 结构化微液滴 以微图案化构建的亲、疏水异质性表面是在微小尺度上调控液体浸润/反浸润过程, 实现液体在二维平面上自组织的有效工具<sup>[10,11]</sup>. 本文报道的水凝胶微图案化表面在水凝胶区域形成亲水表面, 而 TPM 区域则表现为疏水. 以此表面为模板, 可制备具有特定尺寸、形状以及空间分布的结构化微液滴. 如图 4(A) 所示, 将聚丙烯酰胺凝胶微图案化基片浸没于 40% 丙三醇水溶液中, 沿

垂直方向缓慢提拉出液面, 流体剪切力以及液体在表面各区域浸润性的差异导致在亲水性区域形成立体式液滴微结构. 以此法制备微液滴其底面形状和尺寸与凝胶微图案相一致, 而界面张力使其表面具有复杂的曲面结构[图4(B)]. 此技术可直接用于制备如图4(C)所述的微透镜阵列<sup>[12,13]</sup>: 首先制备出圆形水凝胶微图案阵列, 再用浸涂法制得微液滴阵列, 液滴的曲面结构使其具备透镜的功能[图4(D)], 以平行光将一绘有单个字母“e”的胶片投射于微液滴阵列, 可将其成像为微小的字母阵列.



**Fig. 4 Formation of structured droplets on gel patterned surfaces (scale bar = 1 mm)**

(A) Schematic diagram shows the dip-coating procedure; (B) aqueous droplets of different shapes and dimension formed by dip-coating method; (C) aqueous microlens array formed on circular gel patches of 200 diameters; (D) projection of a single letter "e" through the microlens array formed an array of miniaturized letters.

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Dietrich S. , Popescu M. N. , Rauscher M. . J. Phys. Condes. Matter[J], 2005, **17**: S577—S593
- [ 2 ] Darhuber A. A. , Troian S. M. . Annu. Rev. Fluid Mech. [J], 2005, **37**: 425—455
- [ 3 ] Chen C. S. , Jiang X. Y. , Whitesides G. M. . MRS Bull. [J], 2005, **30**: 194—201
- [ 4 ] Ruiz S. A. , Chen C. S. . Soft Matter[J], 2007, **3**: 168—177
- [ 5 ] Zhao B. , Moore J. S. , Beebe D. . J. Anal. Chem. [J], 2002, **74**: 4259—4268
- [ 6 ] Rohr T. , Ogletree D. F. , Svec F. , *et al.* . J. Adv. Funct. Mater. [J], 2003, **13**: 264—270
- [ 7 ] Tourovskaia A. , Barber T. , Wickes B. T. , *et al.* . Langmuir[J], 2003, **19**: 4754—4764
- [ 8 ] Lopez G. P. , Biebuyck H. A. , Frisbie C. D. , *et al.* . Science[J], 1993, **260**: 647—649
- [ 9 ] Andrzejewska E. . Prog. Polym. Sci. [J], 2001, **26**: 605—665
- [ 10 ] Abbott N. L. , Folkers J. P. , Whitesides G. M. . Science[J], 1992, **257**: 1380—1382
- [ 11 ] Biebuyck H. A. , Whitesides G. M. . Langmuir[J], 1994, **10**: 2790—2793
- [ 12 ] Wu M. H. , Whitesides G. M. . J. Micromech. Microeng. [J], 2002, **12**: 747—758
- [ 13 ] Chan E. P. , Crosby A. . J. Adv. Mater. [J], 2006, **18**: 3238

## Photolithographic Patterning of Hydrogels and Their Applications

LIU Xin<sup>1,2</sup>, SHEN Zheng<sup>1,2</sup>, WU Da-Peng<sup>1,2</sup>, WANG Qi<sup>3</sup>, QIN Jian-Hua<sup>1\*</sup>, LIN Bing-Cheng<sup>1\*</sup>

(1. Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China;

2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China;

3. The Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116027, China)

**Abstract** Hydrogel micropatterns of poly(ethylene glycol) and polyacrylamide were prepared with a facile photolithographic method. Monomer solutions containing photoinitiator were directly polymerized by UV illumination through a transparency photomask, forming 2-dimensional gel patterns on silanized glass surfaces. The chemically patterned surfaces thus prepared could be used as the template for patterning mammalian cells and formation of structured droplets.

**Keywords** Hydrogel; Photolithographic method; Micropattern; Surface and interface

(Ed. : A, G)