

微流控技术研究的若干进展

秦建华

(中国科学院大连化学物理研究所, 辽宁 大连 116023)



秦建华:中国科学院大连化学物理研究所研究员,博士生导师,微流控芯片研究组组长,辽宁省微流控芯片重点实验室主任。加拿大多伦多大学细胞与生物分子研究中心博士后,中国科学院大连化学物理研究所理学博士,大连医科大学医学硕士,中国医科大学医学学士。加拿大多伦多大学化学系、香港大学理学院化学系和香港大学医学院玛丽医院访问学者。现任国际刊物 *Biomicrofluidics* 编委,国际刊物 *Electrophoresis* 编委和该刊“Miniaturization in Asia Pacific”年刊主编之一。主要从事微流控技术方法及其在生命科学中的应用研究。

微流控芯片(又称芯片实验室)是一种以在微米尺度空间对流体进行操控为主要特征的科学技术。它具有将化学和生物实验室的基本功能微缩到一个几平方厘米芯片上的能力,已经显示了重要的应用前景。作为一种新兴的科学技术,微流控研究已经涉及化学、生物学、工程学和物理学等诸多领域,学科交叉性强,分析化学则是其第一轮也是最直接的一个应用领域。近年来,微流控研究发展迅速,技术创新层出不穷,应用领域不断拓宽。本文仅以近期发表在本领域主要国际刊物的几个工作为典型案例,介绍微流控技术研究的若干进展。

1 液滴微流控技术用于液相色谱柱后的样品收集及离线质谱检测

液滴微流控技术是近年来发展起来的一种全新的操控微小体积液体的方法。芯片液滴体积小,环境封闭,易于实现高通量,已被视为极为重要的微反应器并开始用于样品的预处理、化学反应、颗粒合成和高通量分析等诸多方面,也在很大程度上弥补了收集经毛细管液相色谱分离后的样品再进行分析 and 表征所显示的局限性。近期,美国密西根大学的 Li 等发展了一种新的方法,将液滴微流控技术用于毛细管液相色谱柱后的微量样品收集与离线电喷雾离子质谱的检测。他们利用芯片微通道两相液体中的油相(如全氟萘烷)连续流分割内径为 $75\ \mu\text{m}$ 色谱柱的水相流出物并形成液滴,实现了毛细管液相色谱柱后纳升级样品片段的收集。他们把依此形成的液滴存贮在管内,并通过微泵灌入纳米喷雾发生器的尖端,再经电喷雾电离质谱(ESI-MS)实现样品的表征。该工作对实验中的各种参数包括油相、ESI电压和流速等的选择进行了详细讨论,结果发现,如果从尖端去除油相而不使其形成电喷雾,则可以得到最佳的检测信号。这种方法允许在分析过程中改变通道内液体流速,尤其是可通过降低流速来延长对选定片段的MS分析时间,提高结果的置信程度。该方法可以使样品的分析速率超过 $2\ \text{Hz}$,有可能拓展ESI-MS高通量筛选在药物开发等方面的应用。详见: *Anal Chem*, 2010, 82: 5260-5267。

2 数字液滴-通道微流控技术联用于复杂样品处理及分离

数字微流控(digital microfluidics)是最新发展起来的一种基于介质上电润湿效应的液滴操控技术。它可以在阵列电极表面对不连续的液滴进行灵活操控,以完成一系列生化反应,特别适合于诸如样品预处理等连续的复杂操作。数字微流控技术发展的瓶颈之一是如何实现样品分离,通道微流控电泳技术具有分离速度快、样品耗量低等优势,恰好能弥补这一不足。近期,加拿大多伦多大学 Wheeler 研究组等将数字液滴微流控技术与通道微流控电泳技术相结合,设计了一种多层的数字化液滴-通道

联用微流控芯片,实现了在线的多级样品处理和分离。该工作利用储液池将上层的双层数字微流控芯片和下层的分离通道连接,方便地实现了液滴分裂、融合、样品分配、存储及分离。他们用这种方法对荧光标记的牛血清白蛋白进行了多步酶解,并成功地对酶解产物中的各种肽进行了分离和检测。该工作显示了数字微流控和通道微流控联用技术在处理复杂样品的微全分析系统中的应用前景。详见: *Anal Chem*, 2010, 82: 6680 - 6686。

3 液滴微流控技术用于超高通量的酶进化筛选

通量是高效药物筛选的基本要求。微流控技术有可能成为高通量,甚至超高通量筛选的主流平台。近期,美国哈佛大学的 Weitz 研究组构建了一套基于微流控芯片液滴技术的超高通量筛选平台,与现有设备相比,其筛选通量和速度均有明显的突破。该研究将分散在油相中的液滴作为纳升级反应器,每秒钟可筛选上千个反应,利用这一系统进行酶的定向进化筛选,筛选出的突变型辣根过氧化酶的催化速度较其亲代酶高 10 余倍。他们首先对约 10^7 个原始样本进行超高通量的初筛,得到大约 100 个活性较高的突变型辣根过氧化酶,进入第二轮筛选。通过第二轮更严格的筛选,得到了更高效的突变型辣根过氧化酶。他们仅仅用了 10 h 就完成了对 10^8 个酶反应的筛选,总试剂消耗量小于 150 μL 。与现有技术相比,该方法的筛选速度提高了 1 000 倍,而费用只是现有技术的 100 万分之一,显示了巨大的应用潜力。详见: *PNAS*, 2010, 107: 4004 - 4009。

4 液滴微流控技术用于模式生物线虫神经生物学研究

秀丽隐杆线虫是一种重要的模式生物,从 20 世纪 60 年代开始被广泛用于发育学、遗传学和神经生物学等研究。传统线虫研究通常采用手工操作,通量低,耗时长,难以实现对单个线虫的精确操控。微流控芯片的通道及液滴尺寸与线虫匹配,其微型化、规模集成和快速运行的特点为线虫生物学研究提供了一种新的技术平台。大连化学物理研究所 Shi 等以芯片上纳升级高通量液滴作为平台,以模式生物线虫帕金森病药理学模型为对象,建立了一种基于液滴微流控技术的模式生物药物筛选系统,用于研究神经毒素诱导线虫产生的运动、神经元变性和氧化应激等多种行为。该研究设计了一种多层微流控芯片,集成有液滴生成器、液滴捕获阵列和楔形通道阵列等结构,可以把单一线虫从群体中隔离出来,并逐一实现单个线虫液滴包裹、运动行为监测、线虫固定以及荧光成像等多个操作步骤。该工作首次利用微流控平台实现了对线虫帕金森病模型的运动缺陷、神经元变性及氧化应激水平等 3 个指标的单个线虫水平的同时检测。这极有可能使人们能够准确记录单个线虫在接受药物刺激后行为的瞬间变化,为研究神经退行性变疾病病因和模式生物高通量药物筛选提供了一个重要的平台。详见: *Lab Chip*, 2010, 10: 2855 - 2863。

5 基于喷蜡打印机的简易纸质微流控芯片制备方法

纸质微流控芯片是近期发展起来的一种新的微流控芯片形式。与普通意义上的微流控芯片基材相比,它具有成本低、制备简单、无需复杂外围设备等特点,非常适用于发展资源匮乏条件下的生化检测新方法。大连化学物理研究所 Lu 等以硝酸纤维素膜为基质材料,建立了一种基于喷蜡打印技术的简易纸质微流控芯片制备方法,其整个芯片制备过程(包括打印和烘烤)可以在 10 min 内完成。在这种新型的硝酸纤维素膜纸芯片上,利用蜡的疏水特性制备了不同形状、不同尺寸的图案化阵列,进而可实现对多种蛋白质的阵列化固定,以及对人免疫球蛋白 G (IgG) 的斑点免疫检测。该方法可显著降低常规方法中极易出现的咖啡环效应和交叉污染,可获得均匀的反应信号。它作为一种简捷、快速和低廉的微流控芯片制备方法,在现场实时检测和远程诊断中有重要的应用前景。详见: *Anal Chem*, 2010, 82: 329 - 335。

6 纸质微流控芯片与商用电化学检测器联用

纸质微流控芯片与电化学检测器联用为开发简易、便携化的诊断平台提供了一种新的手段。近期,美国哈佛大学的 Nie 等研制了一种新型纸质微流控芯片,可替代商品化的血糖试纸条,并与血糖检测仪配合使用,实现了对血液样本内葡萄糖的定量检测。该芯片化试纸条具有降低检测成本、扩展检测范围的潜力。利用这种新型芯片试纸条进行血糖检测,检出限可达 26 mg/dL,最小样品消耗量约为 1 μL ,与商用试纸条相当。此外,它还可以检测体液中的胆固醇和乳酸(检出限分别为 0.34 mmol/L 和 1.1 mmol/L),以及水中的酒精含量(检出限为 0.1 mmol/L)。该集成化微流控芯片装置具有方便携带、成本低廉、可多指标同时检测,与商业化血糖仪兼容等优点。若与手机相结合,则有利于家庭护理和远程诊断技术的发展。详见: *Lab Chip*, 2010, 10: 3163 - 3169。