

微全分析系统中电泳芯片的一种制作方法

金庆辉 陈继锋 翁建华 章洪深 赵建龙* 徐元森

(中国科学院上海冶金研究所 上海 200050)

摘 要 微全分析系统中电泳芯片的基体材料主要有硅片、普通玻璃、优质石英和有机高聚物等。选用不同的材料其制作方法不一样。本文介绍了选用优质石英为芯片基体材料的一种制作方法, 关键技术包括标准的光刻, 湿法腐蚀, 键合等微加工技术。并给出了 100bp DNA Ladder 的芯片电泳图谱。

关键词 微全分析系统 电泳芯片 制作方法

A Fabricated Method of Electrophoresis Chip in μ -TAS

JIN Qinghui, CHEN Jifeng, WENG Jianhua,
ZHAN Hongshen, ZHAO Jianlong, XU Yuansen

(Shanghai Institute of Metallurgy, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050)

Abstract The material used in Electrophoresis Chip of Micro Total Analysis System (μ -TAS) is silicon, glass, fused silica and polymer, etc. The fabricated methods are different while different materials selected. This paper introduces a fabricated method of using fused silica as the chip material. It includes standard photolithography, wet chemical etching and bonding techniques. Also, it shows the electrophorograms of 100bpDNA Ladder.

Key words μ -TAS, Electrophoresis chip, Fabricated Method

微全分析系统(Micro Total Analysis Systems, μ -TAS)^[1]是以分析化学和生物化学及生物技术为基础, 以微光机电系统(MOEMS)技术为依托, 以微管道网络为结构特征, 将整个分析过程包括采样、稀释、进样、反应、分离、检测等集成在微芯片上, 实现分析系统从样品处理到检测的整体微型化、集成化与便携化。其最终目的是通过化学分析设备的微型化与集成化, 最大限度地使分析实验室的功能转移到便携的分析设备中(如各类芯片), 实现分析实验室的“个人化”、“家用化”。因此, 微全分析系统也被通俗地称为“芯片实验室”(Lab-on-a-chip)。电泳芯片(Electrophoresis Chip)是微全分析系统的重要组成部分, 是采用微加工技术, 在几平方厘米大小的芯片上刻蚀出微管道网络和其它功能单元, 形成进样、反应、分离、检测于一体的快速、高效、低耗的微型分析装置。它的关键技术不仅涉及到微加工技术和芯片材料性能, 以及信号的检测、采集和处理技术方面的知识, 还涉及到广泛的基础理论和应用基础知识, 例如微管道中粒子的运动规律、芯片的导电和导热性能、通道内壁吸附及微区反应规律等。本文介绍了系统中最基本的元件——芯片的一种制作方法, 并用制作好的芯片对 100bpDNA Ladder 进行了分析,

金庆辉 男, 29 岁, 博士生, 现从事生物微芯片系统的研究。 *联系人

上海市科技启明星计划和 973 项目 (G19999033107)

2001-06-25 收稿, 2001-07-27 修回

给出了芯片电泳图谱。

1 芯片的材料

制作芯片所用的材料可以是硅、普通玻璃、优质石英以及有机高聚物^[2-4]等。其中,硅材料具有良好的微加工性能,散热性好,也能与玻璃键合形成封闭管道网络,但硅基芯片不能承受高电压,所以不能直接用于实现高效电泳分离。普通玻璃和石英不仅具有良好的微加工性能,散热性、透光性和绝缘性均良好,而且管道内壁特性与常规毛细管相近,易于处理,所以是使用最多的一种材料。有机高聚物的优点是便宜,批量生产成本低,管道网络可以用压模技术制作,可以采用热封盖或用胶粘剂粘合;它的缺点是表面特性不是很清楚,而且不耐高温。实验中,笔者选择优质石英作为芯片基体材料,主要考虑石英良好的微加工性能、表面特性以及石英的光学特性,易于实现信号的高灵敏光学检测。

2 芯片的制作

芯片的制作主要是利用微电子机械加工技术(MEMS)在石英基片上加工出设计好的管道网络,关键技术包括光刻、湿法腐蚀、键合等。在设计芯片时考虑了以下几个参数:进样泳道和分离泳道的宽度、长度,进样泳道和分离泳道的形状等。将设计好的管道图形制作成掩膜版,以进一步光刻转移到基片上。

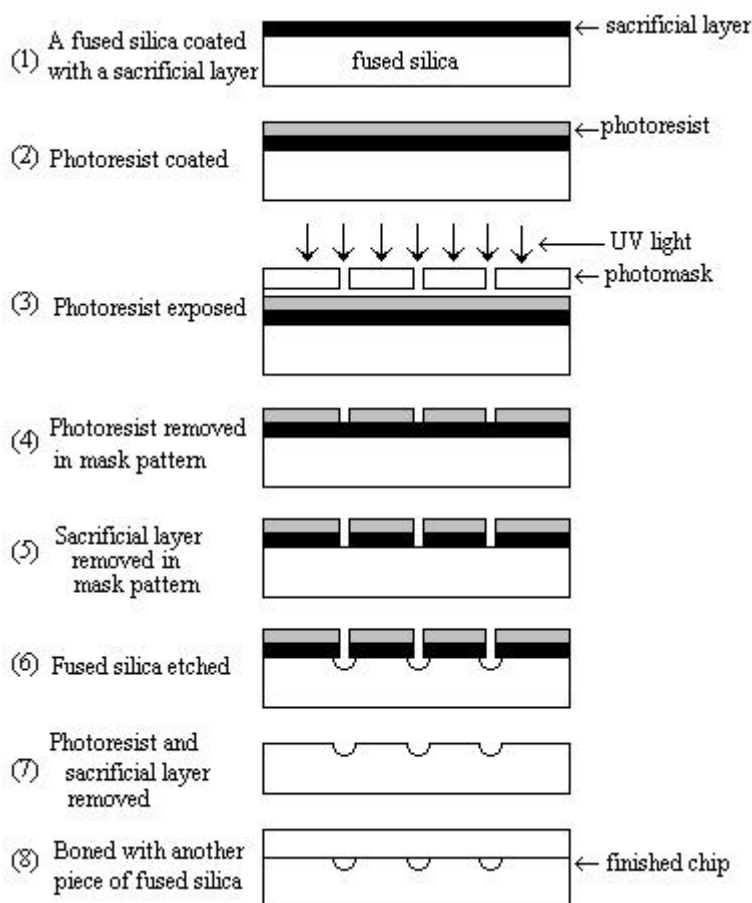


图 1 芯片制作流程图

制作流程如图 1 所示。将石英片按要求裁剪成一定规格如 $5\text{cm}\times 5\text{cm}$ ，清洗干净后，用 N_2 流吹干， 80°C 预烘 10min；之后在表面镀上一层金属铬作为腐蚀图形时起保护作用的牺牲层（图 1 第 1 步）。然后在甩胶机上涂上一层光刻胶（正胶），转速 $3000\text{r}/\text{min}$ ， 80°C 烘 15min（图 1 第 2 步）。在光刻机中将掩模版与基片对准，紫外曝光，将掩模版上的泳道图形转移到石英基片上（图 1 第 3 步）；显影去掉曝光部分的光刻胶，氮气流吹干后在显微镜下检查泳道图形是否良好（图 1 第 4 步）。 100°C 坚膜 1h。用铬腐蚀液去掉铬保护层（图 1 第 5 步），再用腐蚀液（氢氟酸：冰醋酸：过氧化氢 = 2：1：1）， 40°C 水浴条件下腐蚀石英，用台阶仪测量腐蚀深度，最终深度为 $20\sim 40\mu\text{m}$ （图 1 第 6 步）。在泳道的顶端各打一个直径 1mm 的孔（图 1 中未画出）。用丙酮清洗去表层的光刻胶，再用铬腐蚀液腐蚀去掉余下的铬保护层（图 1 第 7 步）。另一片相同材料相同尺寸的盖片清洗干净后与刻蚀好的基片一起用亲合溶液（氨水：水：过氧化氢 = 2：5：1）进行亲合处理，之后清洗甩干，再进行预键合，在常温下将两片对齐、加压挤出其中的气泡，键合好。最后在 1000°C 的退火炉中高温烧结，缓冷出炉。至此便完成了电泳芯片的制作（图 1 第 8 步）。

3 结果与讨论

完成后的芯片如图 2 所示，腐蚀出的管道形状如图 3 所示。

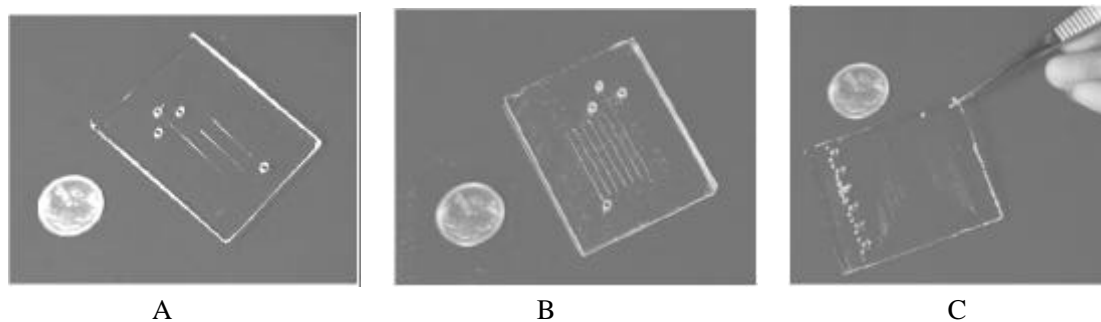


图 2 芯片的外观图

A 单泳道芯片，有效分离长度为 7.5cm ；B 单泳道芯片，有效分离长度为 15cm ；

C 12 根泳道芯片，有效分离长度均为 8cm

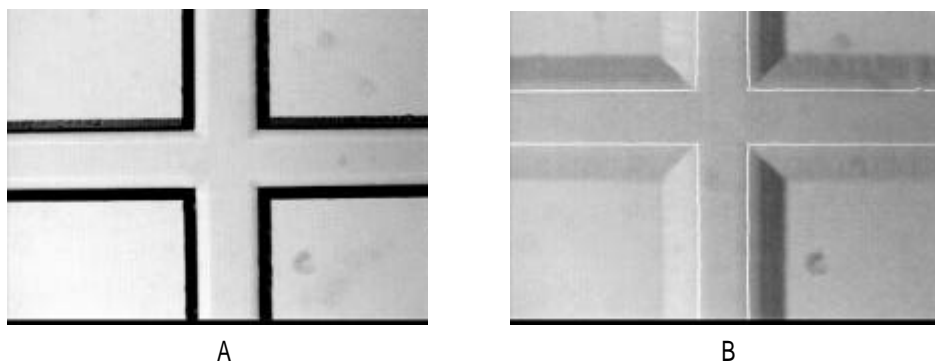


图 3 显微镜下观察到的芯片进样口的结构图，深度为 $30\mu\text{m}$ ，顶部宽度为 $90\mu\text{m}$

A 正面；B 反面

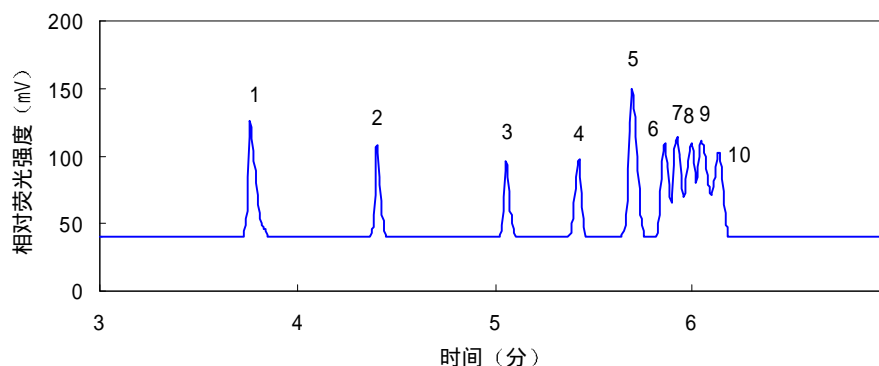


图 4 100bp DNA Ladder 芯片毛细管电泳图谱

分离条件: 筛分介质为 4% 线性聚丙烯酰胺, 分离场强为 200V/cm; 峰的序号分别为 1. 100bp;

2. 200bp; 3. 300bp; 4. 400bp; 5. 500bp; 6. 600bp; 7. 700bp; 8. 800bp; 9. 900bp; 10. 1000bp DNA 片段

芯片的外观尺寸可以根据实验要求改变, 管道网络的结构也可以根据具体的功能要求进行设计。对于优质石英和普通玻璃来说, 由于材料性能的各相同性, 在进行湿法腐蚀时, 管道宽度和腐蚀深度会成 1:1 展宽。图 3 所示芯片的管道设计宽度为 $30\mu\text{m}$, 腐蚀深度约为 $30\mu\text{m}$, 管道顶部宽度约为 $90\mu\text{m}$ 。实验中, 笔者用这种方法制作的芯片完成了 100bp DNA Ladder 样品的分析。管道内壁的修饰采用常规的方法, 筛分介质选用 4% 线性聚丙烯酰胺, 缓冲液为 $1\times\text{TBE}$, 信号通过共聚焦荧光检测系统进行采集, 电泳图谱如图 4 所示。结果表明该芯片系统能很好地对 DNA 片段进行分析。

微全分析系统中有不同的单元, 各单元完成不同的功能, 根据各单元的功能要求选用不同的材料作为芯片的基体。选用有机玻璃或其它高分子材料可以采用“模塑”或“模压”的方法加工管道网络。模塑方法^[5]即用刻蚀法制作出(硅)阴母模, 再采用电铸方法铸出(镍)阳母模, 用阳母模再电铸出阴子模注塑出芯片。该方法的缺点是制作出的管道精度略低。模压方法^[6]即用硅等材料制出阳模, 然后用热压把模板的图形复制到有机玻璃上。选用玻璃或优质石英作芯片的基体材料, 制作方法可以选用上文所述的微加工方法。笔者利用这种方法还完成了微流体 PCR 芯片, 细胞培养芯片、药物筛选芯片等。因此, 本文所介绍的制作方法可以通用于所有选用玻璃或石英作为基体材料的功能单元的芯片的制作。

参考文献

- [1] 方肇伦. 香山科学会议——微型全分析系统学术讨论会, 2001(5):1~6.
- [2] Fan Z H, Harrison D J. Anal. Chem. 1994, 66:177~184.
- [3] Jacobson S C, Hergenrader R, Moore A W et al. Anal.Chem., 1994, 66, 4127~4132.
- [4] Roberts M A, Rosser J S, Bercier P et al. Anal.Chem., 1997, 69, 2035~2042.
- [5] McCormick R M, Nelson R J. Anal. Chem., 1997, 69, 2626~2630.
- [6] Martyniva L, Locascio L E, Gaitan M. Anal. Chem., 1997, 69, 4783~4789.