

PDMS 微流体系统的加工制作

李 红, 蒋稼欢, 蔡绍哲*

(重庆大学生物工程学院, 教育部生物力学与组织工程重点实验室, 重庆 400044)

摘要: 目前, 微流体装置越来越多地应用到分析系统、生物医学、化学等基础研究领域。传统的微流体系统制作方法是玻璃和硅片进行刻蚀。用软刻法制作 PDMS (Poly (dimethylsiloxane): 聚二甲基硅氧烷) 微流体装置比传统的制作方法更快速, 成本更低廉, 并且对于通道的密封也不需要玻璃或硅芯片键合密封等复杂工艺。这类软刻法的核心技术是快速原样制作法和复制压模技术。相对于微电子加工工艺, 软刻法制作过程不需要超静环境, 化学家和生物学家可在普通的实验室实现加工制作。本文介绍了 PDMS 微装置在分离和生物材料模式化等方面的应用。

关键词: 微流体; 快速原样制作; PDMS; 综述

1 引言

微流体系统是指通道截面尺寸在 $10\sim 100\mu\text{m}$ 的可控制液体或气体流动的装置, 它是用于化学、生理学、药学等领域的微系统核心技术。微流体系统可应用于以下四大方面: 微分析系统、生物医学装置、化学及生物化学工具和基础研究系统。微系统制作材料应当能满足一些特殊要求, 例如: 光学性质和表面化学特性, 而且希望材料成本低廉、耐用、易于加工。本文将介绍如何用一种新型材料 PDMS (聚二甲基硅氧烷) 设计、加工制作微流体装置及微流体装置应用。首先介绍研制微流体装置的背景; 然后介绍 PDMS 微流体装置的制作方法, 着重介绍快速原样制作法^[1,2]; 最后将讨论 PDMS 微流体装置在分离和生物材料模式化等方面的应用。

1.1 研制微流体装置的动机

微流体装置有着广泛的应用前景。微装置有以下优势: 可大大地降低制作和使用成本; 缩短分析时间; 减少反应物和分析物的用量; 减少潜在有害副产物的生成; 提高了分离效率, 即可便携使用。另外, 用大型装置很难实现某些研究。例如, 微流体通道能模拟了体内血管^[3]的流动状况 ($\sim 10\mu\text{m}$, 0.1cm/s); 只有使用与生理环境相同尺寸和相似弹性模量的分析研究装置才能获得更准确的信息和对生理状态更深刻准确的理解。其次, 微通道可提高精确度并且缩小装置的体积。但微通道对检测要求更苛刻, 因为它易被颗粒堵塞, 而且其表面对材料吸收更敏感。

1.2 微流体系统的研究背景

第一个微流体装置是 70 年代美国斯坦福大学研制成功的^[4]。这个微系统为以后微流体系统发展积累了经验。早期从事微流体分析系统的实验室主要有以下四个: Manz^[5~8], Harrison^[9~11], Ramsey^[12], Mathies^[13]。早期的微系统大多应用微电子加工技术, 如光刻法。但硅片用于微流体系统中存在一些缺陷, 如不适用于光学检测系统。玻璃虽然是透明的, 但由于其不定形性, 其相对于硅片垂直截面刻蚀难度大。虽然硅片和玻璃均可批量加工, 但物件的密封工艺需在超静环境中进行并要求高电压或高温, 所以需要开发新型材料适应不同的需求。

基金项目: 国家自然科学基金 (39970202); 重庆市科委应用基础基金 (6952);

作者简介: 李红 (1976—), 女, 硕士研究生, 研究方向为细胞铺展控制下特异性蛋白分泌表达的时序变化。

* 通讯联系人: sxcai@cqu.edu.cn

1.3 制作装置的新材料

目前,新型材料的开发有了很大的进展,特别是聚合物材料^[14]。聚合物材料比硅片和玻璃价格低廉,可模压制作而不需刻蚀,密封可采取热密封或贴附的方式。聚合物材料的缺点是通常需要进行表面改性,而且大多数不耐高温。

本文着重介绍 PDMS 的聚合物系统。PDMS 可高保真的复制图形,通常采用复制压模技术制作,具有以下特点:(1)可实现微米级图案的高保真复制;(2)可在低温下固化;(3)无毒性,哺乳动物细胞可直接在 PDMS 上培养,而且该材料制作的装置可移植入体内;(4)可逆变形性;(5)可逆自密封和与其它材料通过表面的分子接触(范德华力)密封,或者用氧等离子体表面处理后实现不可逆的密封(参看 2.4 部分);(6)PDMS 的表面化学特性可进行修饰;(7)与平表面或曲面共形接触。

2 PDMS 微流体装置的制作方法

2.1 软刻法

微流体装置制作方法是基于软刻法技术^[2],特别是快速原样制作法和复制压模技术。软刻法是指用非光刻方法复制图形,并把一种表面有凹凸结构的弹性材料作为图案转换介质。

2.2 快速原样制作法

最初,快速原样制作法是用 CAD(计算机辅助设计程序)进行装置设计,方法是把特定图形打印在透明胶片上,以替代传统光刻法的铬板光掩膜(见图 1)。快速原样制作法大大地缩短了制作时间,降低了制作成本,比传统光刻法的铬板光掩膜更有利于新构思的实践和评估,其缺陷是透明胶片的精度($> 20\mu\text{m}$)比铬掩膜($\sim 500\text{nm}$)低。但是,大多数微通道直径在 $50\text{-}100\mu\text{m}$ 范围内,都可采用快速原样制作法。

2.3 复制压模法

模板制作好后,可用复制压模法制作 PDMS 物件。复制压模法是将 PDMS 预聚物浇铸到模板上形成一个和模板图形相反的 PDMS 物件,然后将 PDMS 在烘箱中 80°C 固化 1h,脱模处理。通道进口孔和缓冲液槽可在复制压模过程中同时完成,如在模板上放置物件或用钻孔器在固化层打孔。可通过快速原样制作法制作光刻胶模板,也可用其它方法,如刻蚀硅片,电铸金属,或传统的硬材料加工制作模板。模板可多次使用从而降低了使用成本。

2.4 密封

复制压模法制作的 PDMS 物件是一个开放的通道,将其与平表面结合即形成了闭合的通道。这个平表面可以是 PDMS,也可用其它材料。通常有两种方法密封方式:(1)可逆密封;(2)不可逆密封,需密封的两种材料表面都进行氧等离子体处理^[15]。可逆密封是因为 PDMS 是弹性材料并通过范德华力与平表面作用。可逆密封不快易行,可在室温条件下完成。从表面上撕去 PDMS 即可去除可逆密封,在平表面上几乎没有任何残留 PDMS,并可再进行多次密封。

PDMS 由 $\text{O-Si(CH}_3)_2\text{-}$ 单体聚合而成。PDMS 物件用氧等离子体处理可在其表面引入极性基团 (Si-OH) ,从而取代了 (Si-CH_3) 基团^[15]。硅烷醇基团与另一表面的其它基团 $(\text{OH}, \text{COOH}, \text{C=O})$ 缩合形成共价键的紧密结合,即可实现不可逆密封。

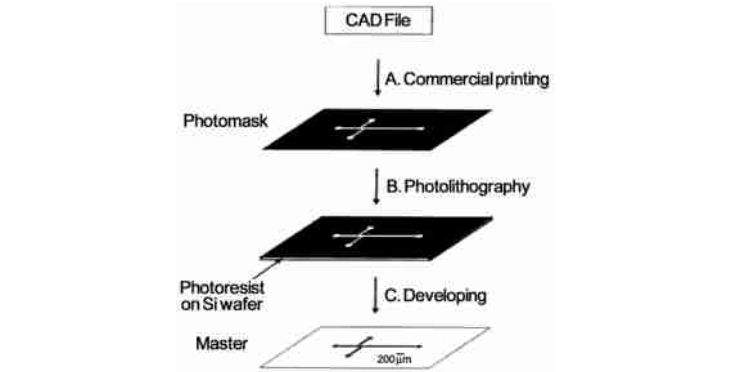


图 1 用快速原样制作法与复制压模技术制作 PDMS 微流体装置示意图
首先用 CAD 程序设计微流体通道:(A)设计图形打印在透明胶片上;(B)具有图形的透明胶片作为光掩膜;(C)溶解未聚合的光刻胶形成 PDMS 微流体通道的主模。

Figure 1. Scheme for rapid prototyping and replica molding of microfluidic devices in PDMS. A design for channels is created in a CAD program (A) This file is printed on a high-resolution transparency; (B) The transparency then serve as the photomask in contact photolithography; (C) Dissolving away the unpolymerized photoresist leaves a positive relief that serves as a master.

2.5 表面化学特征

PDMS 表面具有疏水性, 很难润湿亲水溶液, 而容易吸收疏水性物质。氧等离子体处理可明显改善 PDMS 表面特性, 使其具有亲水性。另外, PDMS 通道表面的硅烷醇基团是可分离基团($\text{SiOH} \leftrightarrow \text{SiO}^- + \text{H}^+$), 当与中性溶液接触时, 形成了向阴极方向很强电渗流, 可用于毛细管区带电泳(CZE)。PDMS 的氧化表面层在空气中是不稳定的, 在 30min 内即变为疏水性^[1, 15], 需将氧化的 PDMS 放置于极性溶液中保存。目前, 也有紫外处理或 HCl 溶液对 PDMS 表面改性的报道^[16]。

3 PDMS 微流体装置的应用

PDMS 微流体系统可用于分离和生物材料表面模式化等领域。以下将依次讨论其在这两方面的应用。

3.1 分离

3.1.1 微电泳系统 第一个 PDMS 微电泳系统是 Effenhauser 等^[17]研制的。该装置用于分离 DNA 限制酶片段和荧光标记的多肽, 其显著优势在于可拆卸, 易清洗, 并能重复使用。目前研制的 PDMS 电泳装置和 Effenhauser 等的装置有很大的不同^[1], 并成功地用于分离荧光标记的氨基酸及分析蛋白电荷梯度等。

3.1.2 细胞分选 Bakajin 等^[18]用 PDMS 微装置分选白细胞。他们制作不同长度的通道结构, 模拟载体不同尺寸的血管对细胞的分选作用。PDMS 对细胞吸附力较小, 所以比玻璃和氧化硅更适合用于细胞分选。已经用该装置分离了两类白细胞: T 淋巴细胞和巨噬粒细胞, 实验证明细胞在通道中的流动由其大小和细胞核的形态决定。

3.1.3 DNA 分离及长度测量 Chou 等^[19]开发了基于单个 DNA 分子的 DNA 限制酶片段分离及长度测量的 PDMS 微流体装置。采用硅模板制作 PDMS 微通道, 图形尺寸在 5~100 μm 之间, 通道深 3 μm 。PDMS 通道可逆地密封在玻璃盖玻片上, 可逆密封使所有实验能在同一装置中进行。该装置在 T 型通道处利用 DNA 片段的荧光强度来测量 DNA 片段的长度, 然后分离 DNA 限制酶片段。Teruo Fujii^[20]用 PDMS 微芯片制作的 DNA 毛细管凝胶电泳装置, 整个芯片结构置于一个热电装置上进行加热循环以实现基因扩增反应, 在 PDMS 微流体装置上实现基因扩增和该扩增片段检测的顺序操作。

3.2 生物材料表面模式化

材料表面模式化对于化学和细胞生物学的微系统装置有着重要的意义, 很多阵列都是基于材料表面定位吸附特定物质实现的。表面模式化的方法很多, 如溶液模式化(包括喷墨打印、印章等)和血管模式化。本文将重点讨论微流体通道实现细胞和蛋白模式化的方法。

Delamarche 等^[21]首次报道用 PDMS 通道与基底可逆密封以进行材料表面蛋白模式化。通道尺寸为 1.5 $\mu\text{m} \times 1\mu\text{m}$, 模式化区域为几个平方毫米, 通道允许不同蛋白在不同区域同时模式化, 并可用于生物阵列模式化。为了避免 PDMS 通道表面对蛋白的吸附造成与基底反应的蛋白量减少, 可先用牛血清白蛋白溶液处理通道表面, 从而减少通道表面对需模式化蛋白的吸附, 也有利于 PDMS 通道表面微亲水性增加^[22]。

Folch 和 Toner^[23]和 Folch 等^[24]用 PDMS 微通道来模式化蛋白和细胞。首先在基底上模式化胶原蛋白和纤粘蛋白, 将细胞接种到模式化图形上。再将不需要特异蛋白促进吸附的细胞接种到未模式化的区域^[17], 从而实现细胞模式化。

Takayama 等^[25]用微流体通道模式化蛋白和细胞的方式与上述方法有所不同, 即在单个通道中模式化多种类型细胞。这种方法运用层流流动(雷诺数 <2000)的性质: 当多个层流合成一股时, 在无扰动情况下流体不会混合。在 PDMS 微流体通道中, 平行层流的多种蛋白溶液即形成条纹形的模式化表面。

4 结论

虽然 PDMS 是制作微流体系统的优良材料, 但仍存在一些限制, 如大多有机溶液会使 PDMS 溶胀。虽然 PDMS 可高保真地复制图形, 但有些几何图形不易脱模^[24, 25]。另外其热导率($\sim 0.2 \text{ Wm/K}$)低和气体通透性高, 可能会对某些微系统造成不利因素, 如低热导率可能导致在电泳过程中电阻热引起的温度升高。PDMS 的开发和应用还处于起步阶段, 相信 PDMS 将会成为微流体系统最有前景的材料之一。

参考文献:

- [1] Duffy D C, McDonald J C, Schueller O J A, Whitesides G M. *Anal Chem*, 1998, 70, 4974~4984.
- [2] Qin D, Xia Y, Whitesides G M. *Adv Mater*, 1996, 8, 917~919.
- [3] Tortora G J, Grabowski S R. *Principles of Anatomy and Physiology* Haper Collins, New York 1996.
- [4] Terry S C, Jeman J H, Angell J B. *IEEE Trans Electron Devices*, 1979, ED-26, 1880~1886.
- [5] Manz A, Harrison D J, Verpoorte E, Widmer H M. *Adv Chromatogr*, 1993, 33, 1~65.
- [6] Seiler K, Harrison D, Manz A. *Anal Chem*, 1993, 65, 1481~1488.
- [7] Manz A, Graber N, Widmer H M. *Sens Actuators B*, 1990, 1, 244~248.
- [8] Kopp M U, Mello A J D, Manz A. *Science*, 1998, 280, 1046~1048.
- [9] Fluri K, Fitzpatrick G, Chiem N, Harrison D J. *Anal Chem*, 1996, 68, 4285~4290.
- [10] Salimi-Moosavi H, Tang T, Harrison D J. *J Am Chem Soc*, 1997, 119, 8716~8717.
- [11] Harrison D J, Fluri K, Seiler K, et al. *Science*, 1993, 261, 895~897.
- [12] Khandurina J, Jacobson S C, Waters L C, et al. *Anal Chem*, 1999, 71, 1815~1819.
- [13] Simpson P C, Roach D, Woolley A T, et al. *PNAS*, 1998, 95, 2256~2261.
- [14] Becker H, Gartner C. *Electrophoresis*, 2000, 21, 12~26.
- [15] Chaudhury M K, Whitesides G M. *Langmuir*, 1991, 7, 1013~1025.
- [16] Schnyder B, Lippert T, Köz R. *Surface Science*, 2003, 532~535, 1067~1071.
- [17] Effenhauser C S, Bruin G J M, Paulus A, Ehrat M. *Anal Chem*, 1997, 69, 3451~3457.
- [18] Bakajin O, Carlson R, Chou C F, et al. *Solid-State Sensor and Actuator Workshop*, June 1998, pp. 116~119.
- [19] Chou H P, Spence C, Schere A, Quake S. *PNAS*, 1999, 96, 11~13.
- [20] Teruo F. *Microelectron Eng*, 2002, 61~62, 907~914.
- [21] Delamarche E, Bernard A, Schmid H, et al. *Science*, 1997, 276, 779~781.
- [22] Delamarche E, Bernard A, Schmid H, et al. *J Am Chem Soc*, 1998, 120, 500~508.
- [23] Folch A, Toner M. *Biotechnol Prog*, 1998, 14, 388~392.
- [24] Folch A, Ayon A, Hurtado O, et al. *J Biomech Eng*, 1999, 121, 28~34.
- [25] Takayama S, McDonald J C, Ostuni E, et al. *PNAS*, 1999, 96, 5545~5548.

Fabrication of Microfluidic Systems in Poly (dimethylsiloxane)

LI Hong, JANG Jia-huan, CAI Shao-xi *

(*Bioengineering College of Chongqing University, Key Laboratory for Biomechanics
and Tissue Engineering under Ministry of Education, Chongqing 400044, China*)

Abstract: Microfluidic devices have increasing application as analytical systems, biomedical devices, tools for chemistry and biochemistry, and systems for fundamental research. Conventional methods of fabricating microfluidic devices have focused on etching in glass and silicon. Fabrication of microfluidic devices in poly (dimethylsiloxane) (PDMS) by soft lithography provides faster, less expensive routes than these conventional methods. These soft-lithographic methods are based on rapid prototyping and replica molding. At the same time, they are also more accessible for chemists and biologists to work under benchtop conditions because devices do not need to be fabricated in a cleanroom using soft lithography. This paper describes devices fabricated in PDMS for separations and patterning of biological material.

Key words: Microfluidics; Rapid prototyping; Poly (dimethylsiloxane); Review