

学校编码: 10384
学号: 200425128

分类号__密级__
UDC__

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

中低密度生物芯片点样仪研制及亲疏水基底研究

**Fabrication of middle/low density biochip micromarrayer
and research for hydrophilic/hydrophobic biochip substrate**

张润香

指导教师姓名: 林华水 教授级高工

专 业 名 称: 应用化学

论文提交日期: 2007 年 6 月

论文答辩时间: 2007 年 6 月

学位授予日期: 2007 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2007 年 6 月

**Fabrication of middle/low density biochip micromarrayer
and research for hydrophilic/hydrophobic biochip substrate**



A Thesis

Submitted to the Graduate School of Xiamen University
for the Degree of
Master of Engineering

By

Zhang Run-xiang

Directed by

professorate senior engineer Lin Hua-shui

Department of Chemistry, Xiamen University

Xiamen, Fujian, P. R. China

June 2007

厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版,有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅,有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索,有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1. 保密 (), 在年解密后适用本授权书。
2. 不保密 ()

(请在以上相应括号内打“√”)

作者签名: 日期: 年 月 日

导师签名: 日期: 年 月 日

目录

摘要.....	I
abstract.....	III
第一章 绪论.....	1
§1-1 微阵列生物芯片的历史及研究现状.....	2
§1.1.1 微阵列生物芯片的发展简史.....	2
§1.1.2 微阵列生物芯片的研究现状.....	3
§1.1.2.1 国外研究现状.....	3
§1.1.2.2 国内研究现状.....	4
§1-2 微阵列生物芯片的基本原理及关键技术.....	4
§1-3 微阵列生物芯片制备技术.....	5
§1.2.1 原位合成法.....	5
§1.2.1.1 光导化学合成法.....	5
§1.2.1.2 点合成法.....	8
§1.2.1.3 微电子刻蚀技术合成法.....	9
§1.2.1.4 分子印章法.....	10
§1.2.2 合成后微点样法.....	11
§1.2.2.1 非接触式喷点.....	11
§1.2.2.2 接触式点样.....	13
§1-4 微阵列生物芯片检测方法.....	15
§1.4.1 荧光检测法.....	15
§1.4.2 光散射检测法.....	17
§1.4.3 化学发光检测法.....	18
§1.4.4 金胶银染检测法.....	18
§1.4.5 薄膜技术.....	19
§1.4.6 电化学检测法.....	19
§1-5 微阵列生物芯片的应用.....	20
§1.5.1 生物芯片在生命科学研究中的应用.....	20
§1.5.2 生物芯片在药物研究与开发领域中的应用.....	20

§1.5.1 生物芯片在农业领域的应用.....	20
§1.5.2 生物芯片在其他领域的应用.....	21
§1-6 本论文课题的提出、意义及研究内容	21
参考文献	23
第二章 集成化低密度生物芯片点样头制作	27
§2-1 激光加工简介	27
§2.1.1 激光加工的特点.....	28
§2.1.2 激光加工的原理.....	28
§2.1.2.1 激光加工的物理基础.....	28
§2.1.2.2 吸收率.....	29
§2.1.3 激光与高聚物材料的相互作用.....	30
§2-2 实验材料、试剂及仪器	30
§2.2.1 实验材料.....	30
§2.2.2 实验试剂.....	31
§2.2.3 实验仪器.....	31
§2-3 实验部分	32
§2.3.1 GCC LaserPro Spirit速倍特激光雕刻机激光加工工艺的摸索	32
§2.3.1.1 激光输出功率的影响.....	32
§2.3.1.2 工作速度的影响.....	33
§2.3.1.3 DPI值的影响	34
§2.3.1.4 PPI值的影响.....	35
§2.3.1.5 其他因素的影响.....	36
§2.3.2 两种激光加工仪器对实验影响比较.....	36
§2.3.3 激光加工制作点样头.....	38
§2.3.3.1 表面聚合PDMS对加工的影响.....	40
§2.3.3.2 储液槽加工参数的选择.....	40
§2.3.3.3 激光加工制作点样头.....	41
§2.3.3.4 微通道的填充.....	42
§2.3.3.5 储液槽微通道内溅射金.....	43

§2.3.3.6 激光加工对亲水膜影响.....	43
§2.3.4 点样头后制作.....	45
§2-4 本章小结.....	45
参考文献.....	46
第三章 点样系统研制及调试.....	47
§3-1 点样系统研究背景.....	47
§3.1.1 点样仪结构与特点.....	47
§3.1.1.1 点样仪器一般结构.....	47
§3.1.1.2 点样仪器特点.....	47
§3.1.2 点样仪研究进展.....	48
§3.1.2.1 国外动态.....	48
§3.1.2.2 国内动态.....	48
§3-2 系统设计.....	50
§3-3 系统研制及调试.....	50
§3.3.1 机械部分改装.....	50
§3.3.2 控制部分.....	52
§3.3.3 周边设备.....	52
§3.3.4 性能指标.....	53
§3.3.5 操作方法.....	54
§3-4 本章小结.....	56
参考文献.....	57
第四章 自制生物芯片点样仪点样.....	58
§4-1 实验材料、试剂和仪器.....	58
§4.1.1 实验材料.....	58
§4.1.2 实验试剂.....	59
§4.1.3 实验仪器.....	59
§4-2 实验部分.....	59
§4.2.1 点样实验.....	59

§4.2.2 点样结果分析	60
§4-3 结果及讨论	60
§4.3.1 点样原理.....	60
§4.3.2 样点图像及结果.....	61
§4.3.3 样点质量的影响因素.....	67
§4.3.3.1 点样头本身及基底因素.....	67
§4.3.3.2 点样过程中的因素.....	68
§4.3.3.3 样品性质及其他因素.....	69
§4-4 本章小结	69
参考文献	70
第五章 生物芯片亲疏水阵列基底初步探讨	71
§5-1 表面浸润性基础	71
§5.1.1 固体表面的一些特性.....	71
§5.1.2 湿润现象和接触角	72
§5-2 实验材料、试剂及仪器	76
§5.2.1 实验材料.....	76
§5.2.2 实验试剂.....	76
§5.2.3 实验仪器.....	76
§5-3 超疏水基底制作	76
§5.3.1 超疏水氧化铝制作	77
§5.3.1.1 实验部分.....	77
§5.3.1.2 结果与讨论.....	77
§5.3.1.3 小结.....	78
§5.3.2 超疏水铜表面制作.....	78
§5.3.2.1 实验部分.....	78
§5.3.2.2 结果与讨论.....	79
§5.3.2.3 小结.....	80
§5.3.3 超疏水PDMS表面制作.....	80

§5.3.3.1、实验部分.....	80
§ 5.3.3.2 实验结果与讨论.....	81
§ 5.3.3.3 结论.....	85
§5-4 亲/疏水图案构筑.....	85
§5.4.1 亲/疏水氧化铝图案构筑.....	85
§5.4.1.1 实验部分.....	85
§5.4.1.2 结果与讨论.....	85
§5.4.1.3 小结.....	86
§5.4.2 亲疏水PDMS图案构筑.....	86
§5.4.2.1 氧等离子体轰击活化法.....	86
§5.4.2.2 氧等离子体活化PDMS接枝 3-APS法.....	90
§5.4.2 亲疏水PMMA图案构筑.....	92
§5.4.2.1 实验部分.....	92
§5.4.2.2 结果与讨论.....	92
§5-5 亲疏水阵列作用.....	92
§5.5.1 实验部分.....	93
§5.5.2 结果与讨论.....	93
§5-6 本章小结.....	97
参考文献.....	98
第六章 结论与展望.....	101
附录.....	102
作者在攻读硕士期间发表的论文.....	103
致谢.....	104

Table of Contents

Abstract in Chinese	I
Abstract in English	III
Chapter 1 Introduction	1
§1-1 The history and research situation of micromarrays biochips	2
§1.1.1 The brief development history of micromarrays biochips	2
§1.1.2 The research situation of micromarrays biochips	3
§1.1.2.1 The research situation abroad	3
§1.1.2.2 The research situation at home.....	4
§1-2 The basic principle and key technologists of micromarrays biochips	4
§1-3 Fabrication methods of micromarrays biochips	5
§1.2.1 In-situ synthesis	5
§1.2.1.1 Light-directed chemical synthesis.....	5
§1.2.1.2 Spot-synthesis	8
§1.2.1.3 Synthesis by microelectronic etching techniques	9
§1.2.1.4 Synthesis using molecular stamps	10
§1.2.2 Micro spotting.....	11
§1.2.2.1 Non-contact ink jet printing	11
§1.2.2.2 Contact printing	13
§1-4 Detection methods of micromarrays biochips	15
§1.4.1 Fluorescence detection.....	15
§1.4.2 Light scatter detection.....	17
§1.4.3 Chemiluminescence	18
§1.4.4 Scanometric DNA array detection	18
§1.4.5 Thin film technology.....	19
§1.4.6 Electrochemistry detection.....	19
§1-5 The applications of micromarrays biochips	20
§1.5.1 The applications in life research	20

§1.5.2 The applications in medicament research and discovery	20
§1.5.1 The applications in agriculture field	20
§1.5.2 The applications in other fields	21
§1-6 The backgroud, meaning and content of this dissertation	21
References	23
Chapter 2 Fabrication of integrate middle/low-density dispenser	27
§2-1 Brief introduction of laser ablation	27
§2.1.1 Characteristic of laser ablation	28
§2.1.2 Priciple of laser ablation	28
§2.1.2.1 Physics knowledge of laser ablation	28
§2.1.2.2 Absorptivity	29
§2.1.3 Interaction of laser on polymer	30
§2-2 Materials, reagents and instruments	30
§2.2.1 Materials	30
§2.2.2 Reagents	31
§2.2.3 Instruments	31
§2-3 Experiment	32
§2.3.1 Technology of ablate polymer using GCC LaserPro Spirit CO ₂ Laser Engravers study	32
§2.3.1.1 Influence of power	32
§2.3.1.2 Influence of speed	33
§2.3.1.3 Influence of DPI	34
§2.3.1.4 Influence of PPI	35
§2.3.1.5 Influence of other factors	36
§2.3.2 Differents of two CO ₂ laser ablation to experiment result	36
§2.3.3 Fabricate dispenser by CO ₂ laser ablation	38
§2.3.3.1 Influence of coating PDMS on PMMA	40
§2.3.3.2 Ablation parameter of reservoirs	40
§2.3.3.3 Fabricate dispenser by CO ₂ laser ablation	41

TABLE OF CONTENTS

§2.3.3.4 Filling channel	42
§2.3.3.5 Sputtering gold into channel	43
§2.3.3.6 Influence of CO ₂ laser ablation to hydrophilic membrane	43
§2.3.4 Fine-fabrication of dispenser	45
§2-4 Conslusions of this chapter	45
References	46
Chapter 3 Manufacture and debugging of micromarrayer system.....	47
§3-1 Backgroud of micromarrayer system	47
§3.1.1 Structure and characteristic of micromarrayer system.....	47
§3.1.1.1 General structure of miacromarrayer	47
§3.1.1.2 Characteristic of micromarrayer	47
§3.1.2 Recently achievement of micromarrayer	48
§3.1.2.1 Developments on abroad.....	48
§3.1.2.2 Developments at home.....	48
§3-2 Syetem design.....	50
§3-3 Manufacture and debugging of the system	50
§3.3.1 Machine re-design.....	50
§3.3.2 Controller.....	52
§3.3.3 Assistant equipment	52
§3.3.4 Performance	53
§3.3.5 Manipulation	54
§3-4 Conclusions	56
References	57
Chapter 4 Spotting using micromarrayer system of our own.....	58
§4-1 Materials, reagents and instruments	58
§4.1.1 Materials	58
§4.1.2 Reagents.....	59
§4.1.3 Instruments.....	59

§4-2 Experiment	59
§4.2.1 Spotting experiment	59
§4.2.2 Spot analysis	60
§4-3 Result and discussion	60
§4.3.1 Spotting principle.....	60
§4.3.2 Spot image and result.....	61
§4.3.3 Factors of influence to spot quality.....	67
§4.3.3.1 Substrate.....	67
§4.3.3.2 Spotting process	68
§4.3.3.3 Sample and other factors.....	69
§4-4 Conclusions	69
References	70
Chapter 5 Study of substrate with hydrophilic/hydrophobic patterns of micromarrays biochips	71
§5-1 Basic knowledge of wetting	71
§5.1.1 Characteristic of solid surface.....	71
§5.1.2 Wetting and contact angle	72
§5-2 Materials, reagents and instruments	76
§5.2.1 Materials	76
§5.2.2 Reagents.....	76
§5.2.3 Instruments.....	76
§5-3 Fabrication of surphydrophobic surface	76
§5.3.1 Fabrication of surphydrophobic alumina surface	77
§5.3.1.1 Experiment.....	77
§5.3.1.2 Results and discussion	77
§5.3.1.3 Conclusions.....	78
§5.3.2 Fabrication of surphydrophobic copper surface	78
§5.3.2.1 Experiment.....	78
§5.3.2.2 Results and discussion	79

TABLE OF CONTENTS

§5.3.2.3 Conclusions.....	80
§5.3.3 Fabrication of surphydrophobic PDMS surface	80
§5.3.3.1 Experiment.....	80
§ 5.3.3. 2 Results and discussion	81
§ 5.3.3. 3 Conclusions.....	85
§5-4 Fabrication of hydrophilic/hydrophobic patterns	85
§5.4.1 Fabrication of hydrophilic/hydrophobic patterns on alumina surface	85
§5.4.1.1 Experiment.....	85
§5.4.1.2 Results and discussion	85
§5.4.1.3 Conclusions.....	86
§5.4.2 Fabrication of hydrophilic/hydrophobic patterns on PDMS surface ..	86
§5.4.2.1 Action by O ₂ plasma treatment	86
§5.4.2.2 Graft 3-APS on PDMS after O ₂ plasma treatment.....	90
§5.4.2 Fabrication of hydrophilic/hydrophobic patterns on PMMA surface.	92
§5.4.2.1 Experiment.....	92
§5.4.2.2 Results and discussion	92
§5-5 Application of hydrophilic/hydrophobic patterns	92
§5.5.1 Experiment.....	93
§5.5.2 Results and discussion	93
§5-6 Conclusions of this chapter	97
References	98
Chapter 6 Conclusions and next step	101
Appendix.....	102
publications list during M.D. study	103
Acknowledgements	104

摘要

生物芯片是指通过微加工工艺同时将大量的探针分子固定到固相支持物上后与标记的样品分子进行杂交配对,通过检测每个探针分子的杂交信号进而实现对细胞、蛋白、核酸以及其他生物组分的准确、快捷、大信息量的检测。它是集物理学、化学、微电子学、机械学和生命科学等相关学科交叉综合的高科技研究课题,是一门既具有重大的学术价值,又同时具有明显产业化前景的快速发展的高科技学科。随着研究的不断深入,人们发现低密度生物芯片是生物芯片进入临床检测的切入口,因此,作为生物芯片关键部分——点样头也随之进入中低密度的研究。针对国内外现有微阵列制备技术在中低密度存在的一些不足,主要研究内容及结果如下:

1. 提出一种新型的、实用的微阵列生物芯片制备技术——集成化低密度表面张力驱动微阵列液体转移芯片,根据实际需求与工作原理设计芯片结构由储液槽、微通道、亲水膜组成。实验使用 CO_2 激光为主要加工设备制作液体转移芯片,其主要参数:芯片大小为 $75\times 30\text{mm}^2$,内有 3×8 椭圆阵列,行中心间距为 4mm ,列中心间距为 8mm ,储液槽为 $5\times 3\text{mm}^2$,深 2mm ,微通道设计平均直径为 0.5mm ,长 1mm ,亲水膜附着于微通道尾端中心,平均直径为 1.97mm 。

2. 参照现有点样仪主要参数,组装点样仪并进行改进,调试。点样仪每次点样最多 2×6 片,在点样针高为 5mm 时,最高效率为 170 spots/s ,最低效率为: 17 spots/s 。分析了操作过程中各参数意义及其设定时应注意的事项。

3. 使用自制点样头及点样仪点样。在不同的基底材料上,点样参数相同,所得样点直径不同,样点直径 CV 值均在 0.3% 以下。采用 FITC 荧光物质样品点样发现,样点荧光强度基本相同,说明各样点点样体积基本一致;单一样点内荧光强度呈中间最大、扁平,边缘逐渐衰减,消除了传统针式点样样点内荧光“咖啡环”效应,样点中间荧光强度大且扁平说明样点内部样品分布均一,能显著提高样点质量。从点样原理和实验结论对点样过程中的影响因素进行讨论,影响样点质量的主要因素有点样头本身及基底表面性质、点样过程中因素如点样接触时间与间隔时间、点样环境因素及样品物化性质等。

4. 初步探索了超疏水表面的一般性质,模板法制备了间距 $6\mu\text{m}$,边长 $14\mu\text{m}$,

高 14 μm 微柱阵列的规则超疏水 PDMS 表面，其静态接触角为 151°。制备了亲疏水图案化基底，对并其在生物芯片点样中的应用作了初步考察，研究表明，亲疏水基底作为生物芯片基底比具有单一性质基底优越，具体表现为样点面积均一性良好，形状一致性加强，检测灵敏度得到提高，即很大程度上提高了样点质量。

关键词：微阵列生物芯片；CO₂激光加工；点样仪；点样；亲疏水基底

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库