



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107828655 A

(43)申请公布日 2018.03.23

(21)申请号 201711132453.X

(22)申请日 2017.11.15

(71)申请人 大连理工大学

地址 116024 辽宁省大连市高新园区凌工
路2号

(72)发明人 罗勇 曲玥阳 安凡 高志刚
赵伟杰 林炳承

(74)专利代理机构 大连星海专利事务所有限公
司 21208

代理人 王树本 徐雪莲

(51)Int.Cl.

C12M 3/00(2006.01)

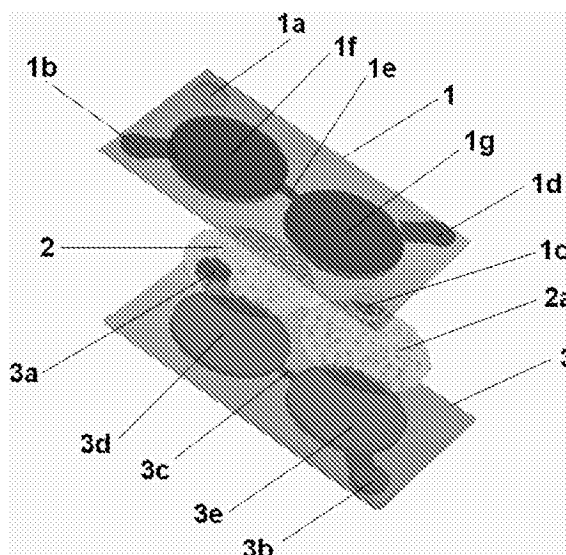
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54)发明名称

一种微流控芯片及其应用

(57)摘要

本发明涉及微流控技术领域,一种微流控芯片及其应用,其中微流控芯片包括上、下层基板、第一、二多孔膜,所述上层基板设置有第一、二进液口,第一、二出液口,第一、二腔室及第一微通道,所述第二进液口,第一、二腔室及第二出液口通过第一微通道依次连通,所述下层基板设置有第三进液口、第三出液口,第三、四腔室及第二微通道,所述第三进液口,第三、四腔室及第三出液口通过第二微通道依次连通。本发明的一种微流控芯片形成了四个腔室,上、下流体可在分隔四个腔室的多孔膜上发生两次物质交换,从而能高仿真度的模拟肾单位的肾小球滤过肾小管分泌和重吸收的血液净化过程。



1. 一种微流控芯片,包括上、下层基板、第一、二多孔膜,所述第一、二多孔膜位于上、下层基板中间并通过上、下层基板压紧,其特征在于:所述上层基板设置有第一、二进液口,第一、二出液口,第一、二腔室及第一微通道,所述第二进液口,第一、二腔室及第二出液口通过第一微通道依次连通,所述下层基板设置有第三进液口、第三出液口,第三、四腔室及第二微通道,所述第三进液口,第三、四腔室及第三出液口通过第二微通道依次连通,所述第一进液口贯穿上层基板并与设置在下层基板上的第三进液口上、下对应,所述第一出液口贯穿上层基板并与设置在下层基板上的第三出液口上、下对应;所述第一、二、三、四腔室形状选自矩形、半圆形或半椭圆形中的一种;所述上、下层基板的材料选自石英、玻璃、PMMA、PDMS聚合物、聚碳酸酯、聚酯、琼脂糖、壳聚糖或海藻酸钠中的一种;所述第一、二多孔膜的材料选自PDMS、聚偏氟乙烯或聚碳酸酯中的一种;所述上层基板,第一、二多孔膜及下层基板之间可拆卸连接,便于维护;所述第一多孔膜上、下两表面可分别接种肾小球血管内皮细胞、肾足细胞,所述第二多孔膜上、下两表面可分别接种肾小管管周血管内皮细胞、肾小管上皮细胞,这些细胞根据需求,可以是来源于人或任何一种动物,可以是原代细胞,细胞系以及干细胞诱导分化的功能细胞。

2. 根据权利要求1所述一种微流控芯片,在模拟肾单位的肾小球和肾小管方面中的应用。

一种微流控芯片及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种微流控芯片及其应用,属于微流控技术领域。

背景技术

[0002] 微流控芯片(Microfluidics)又称芯片实验室(Lab-on-a-chip),是在微米量级空间操控流体的一种科学与技术,可将生物和化学实验室的基本功能微缩到一个数平方厘米的芯片上,是21世纪最为重要的前沿技术之一,被认为是解决创新药物、化妆品和保健品研发成本过高、周期过长等关键问题,革新原有技术体系的关键技术,正面临着重大的发展机遇和挑战。

[0003] 器官微流控芯片(Organ on a chip)是微流控芯片的一个亚类,它是在一块几平方厘米薄片内培养一种或多种功能细胞,从而模拟器官的一种仿生技术,器官芯片里的“器官”非常微小,但是具备真实器官的基本生理功能。器官芯片能仿真地模拟器官原因在于:(1)它不但同时培养器官所包含的多种细胞,而且细胞的空间排列可以模仿器官的生理结构;(2)它可以重建器官在体内的生理环境,比如流体剪切力、信号分子浓度梯度。可以说器官芯片从“组成”、“结构”和“环境”三方面对器官进行了模拟,仿真程度很高。

[0004] 器官芯片的用途是代替真实的人体或动物的器官进行化学品的测试,常见的化学品包括药物、保健品、化妆品和环境毒物。它可以测定药物的药效、毒性和药代,可以测定保健品在肠道的吸收、肝脏里的代谢和对肠道菌群的保护作用,可以测定化妆品在皮肤内的吸收以及对皮肤的刺激性,还可以测定环境毒物对肾脏的伤害作用。

[0005] 肾单位是肾脏的结构和功能单元,其实现血液净化的方式是血液通过肾小球的血管内皮细胞-足细胞膜结构发生选择性滤过,之后通过肾小管的管周血管内皮细胞-肾小管上皮细胞膜结构发生分泌或重吸收,从而实现血液和尿液的第二次物质交换。

[0006] 现有的用于模拟肾脏系统物质交换膜结构的芯片主要有,三层单通道夹膜结构,例如Ingber利用三层单通道夹膜结构模拟肾小球的血管内皮细胞-足细胞形成的膜结构,在另一份工作中,Ingber利用该结构芯片模拟肾小管结构单层通道芯片,该结构通过通道中间的基质胶将两种液体隔离,细胞种植在基质胶两侧,例如Qin利用该结构模拟肾小球的血管内皮细胞-足细胞形成的膜结构,这些结构单元只能为两种流体提供一个物质交换的区域,不能有效的同时将肾小球和肾小管的结构构建在芯片上,从而使所模拟的肾单元结构单一,不能有效模拟血液净化的过程。

发明内容

[0007] 为了克服现有技术中存在的不足,本发明目的是提供一种微流控芯片及其应用。该微流控芯片具有三层四腔室结构,上、下层基板中的流体可通过分隔腔室的多孔膜发生两次物质交换,搭配上肾小球和肾小管的相应细胞后,可以在一定范围内有效模拟肾单位的滤过分泌和重吸收过程。

[0008] 为了实现上述发明目的,解决已有技术中所存在的问题,本发明采取的技术方案

是：一种微流控芯片，包括上、下层基板、第一、二多孔膜，所述第一、二多孔膜位于上、下层基板中间并通过上、下层基板压紧，所述上层基板设置有第一、二进液口，第一、二出液口，第一、二腔室及第一微通道，所述第二进液口，第一、二腔室及第二出液口通过第一微通道依次连通，所述下层基板设置有第三进液口、第三出液口，第三、四腔室及第二微通道，所述第三进液口，第三、四腔室及第三出液口通过第二微通道依次连通，所述第一进液口贯穿上层基板并与设置在下层基板上的第三进液口上、下对应，所述第一出液口贯穿上层基板并与设置在下层基板上的第三出液口上、下对应；所述第一、二、三、四腔室形状选自矩形、半圆形或半椭圆形中的一种；所述上、下层基板的材料选自石英、玻璃、PMMA、PDMS聚合物、聚碳酸酯、聚酯、琼脂糖、壳聚糖或海藻酸钠中的一种；所述第一、二多孔膜的材料选自PDMS、聚偏氟乙烯或聚碳酸酯中的一种。所述上层基板，第一、二多孔膜及下层基板之间可拆卸连接，便于维护；所述第一多孔膜上、下两表面可分别接种肾小球血管内皮细胞、肾足细胞，所述第二多孔膜上、下两表面可分别接种肾小管管周血管内皮细胞、肾小管上皮细胞，这些细胞根据需求，可以是来源于人或任何一种动物，可以是原代细胞，细胞系以及干细胞诱导分化的功能细胞。

[0009] 所述一种微流控芯片，在模拟肾单位的肾小球和肾小管方面中的应用。

[0010] 本发明有益效果是：一种微流控芯片，包括上、下层基板、第一、二多孔膜，所述第一、二多孔膜位于上、下层基板中间并通过上、下层基板压紧，所述上层基板设置有第一、二进液口，第一、二出液口，第一、二腔室及第一微通道，所述第二进液口，第一、二腔室及第二出液口通过第一微通道依次连通，所述下层基板设置有第三进液口、第三出液口，第三、四腔室及第二微通道，所述第三进液口，第三、四腔室及第三出液口通过第二微通道依次连通，所述第一进液口贯穿上层基板并与设置在下层基板上的第三进液口上、下对应，所述第一出液口贯穿上层基板并与设置在下层基板上的第三出液口上、下对应；所述第一、二、三、四腔室形状选自矩形、半圆形或半椭圆形中的一种；所述上、下层基板的材料选自石英、玻璃、PMMA、PDMS聚合物、聚碳酸酯、聚酯、琼脂糖、壳聚糖或海藻酸钠中的一种；所述第一、二多孔膜的材料选自PDMS、聚偏氟乙烯或聚碳酸酯中的一种。所述上层基板，第一、二多孔膜及下层基板之间可拆卸连接，便于维护；所述第一多孔膜上、下两表面可分别接种肾小球血管内皮细胞、肾足细胞，所述第二多孔膜上、下两表面可分别接种肾小管管周血管内皮细胞、肾小管上皮细胞，这些细胞根据需求，可以是来源于人或任何一种动物，可以是原代细胞，细胞系以及干细胞诱导分化的功能细胞。与已有技术相比，本发明的一种微流控芯片形成了四个腔室，上、下流体可在分隔四个腔室的多孔膜上发生两次物质交换，从而能高仿真度的模拟肾单位的肾小球滤过肾小管分泌和重吸收的血液净化过程，进而可进行生物标记物的测试，实现对药物、化妆品、保健品、环境毒物的有效评价。另外本发明的芯片可拆卸链接，更加方便对多孔膜上的细胞进行成像检测。除此之外，上下基板经过处理，可以重复利用，节约经济。

附图说明

[0011] 图1是本发明的一种微流控芯片结构示意图。

[0012] 图中：1、上层基板，1a、第一进液口，1b、第二进液口，1c、第一出液口，1d、第二出液口，1e、第一微通道，1f、第一腔室，1g、第二腔室，2、第一多孔膜，2a、第二多孔膜，3、下层基

板,3a、第三进液口,3b、第三出液口,3c、第二微通道,3d、第三腔室,3e、第四腔室。

[0013] 图2是本发明用于模拟肾单位的肾小球和肾小管的结构示意图。

[0014] 图3是利用本发明模拟的肾单位测试不同浓度顺铂对四种细胞的毒性影响图。

[0015] 图4是利用本发明模拟的肾单位测试1.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的阿霉素对四种细胞的毒性影响图。

具体实施方式

[0016] 下面结合附图及实施例对本发明作进一步说明。

[0017] 如图1所示,一种微流控芯片,包括上、下层基板1、3、第一、二多孔膜2、2a,所述第一、二多孔膜2、2a位于上、下层基板1、3中间并通过上、下层基板1、3压紧,所述上层基板1设置有第一、二进液口1a、1b,第一、二出液口1c、1d,第一、二腔室1f、1g及第一微通道1e,所述第二进液口1b,第一、二腔室1f、1g及第二出液口1d通过第一微通道1e依次连通,所述下层基板3设置有第三进液口3a、第三出液口3b,第三、四腔室3d、3e及第二微通道3c,所述第三进液口3a,第三、四腔室3d、3e及第三出液口3b通过第二微通道3c依次连通,所述第一进液口1a贯穿上层基板1并与设置在下层基板3上的第三进液口3b上、下对应,所述第一出液口1c贯穿上层基板1并与设置在下层基板3上的第三出液口3b上、下对应;所述第一、二、三、四腔室1f、1g、3d、3e的形状选自矩形、半圆形或半椭圆形中的一种;所述上、下层基板1、3的材料选自石英、玻璃、PMMA、PDMS聚合物、聚碳酸酯、聚酯、琼脂糖、壳聚糖或海藻酸钠中的一种;所述第一、二多孔膜2、2a的材料选自PDMS、聚偏氟乙烯或聚碳酸酯中的一种。所述上层基板1,第一、二多孔膜2、2a及下层基板3之间可拆卸连接,便于维护;所述第一多孔膜2的上、下两表面可分别接种肾小球血管内皮细胞、肾足细胞,所述第二多孔膜2a的上、下两表面可分别接种肾小管管周血管内皮细胞、肾小管上皮细胞,这些细胞根据需求,可以是来源于人或任何一种动物,可以是原代细胞,细胞系以及干细胞诱导分化的功能细胞。

[0018] 如图2所示,将肾小球血管内皮细胞、肾足细胞、肾小管管周血管内皮细胞和肾小管上皮细胞种在多孔膜上,仿血液流体培养液通过上层基板的进液口进入上层基板通道,流经肾小球血管内皮细胞和肾小管管周血管内皮细胞侧的腔室,通过上层基板的出液口离开芯片,仿尿液流体培养液通过贯穿上层基板的下层基板进液口进入下层基板通道,流经肾足细胞和肾小管上皮细胞侧的腔室,通过贯穿上层基板的下层基板出液口离开通道。仿血液和仿尿液流体在正面种有肾小球血管内皮细胞,背面种有足细胞的多孔膜处发生第一次物质交换,模拟肾单位血液净化中的肾小球滤过过程,在正面种有肾小管管周血管内皮细胞,背面种有肾小管上皮细胞的多孔膜处发生第二次物质交换,模拟肾单位血液净化中的肾小管分泌和重吸收过程。根据具体需要,仿血液流体和选择循环流动或者单向流动,仿尿液流体可选择单向流动。

[0019] 实施例1

[0020] 以用芯片肾单位检测不同浓度的顺铂对肾单位细胞的极性毒性反应为例,如附图3所示,在血液极入口加入0 $\mu\text{g}/\text{ml}$,3 $\mu\text{g}/\text{ml}$,10 $\mu\text{g}/\text{ml}$,30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 顺铂,24小时后,可以观察到当系统内加入30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 顺铂时,肾小球血管内皮细胞,肾足细胞,肾小管上皮细胞活性有显著性下降,说明30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 顺铂对肾小球血管内皮细胞,肾足细胞,肾小管上皮细胞有明显毒性。

[0021] 实施例2

[0022] 以用芯片肾单位检测1.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的阿霉素对肾单位细胞的极性毒性反应为例,如附图4所示,在血液极入口加入1.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的阿霉素,48小时后,可以观察到,肾小球血管内皮细胞、肾足细胞,管周血管内皮细胞活性有明显下降,说明在48小时,1.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的阿霉素对肾小球血管内皮细胞、肾足细胞,管周血管内皮细胞有明显毒性,对肾小管上皮细胞影响较小。

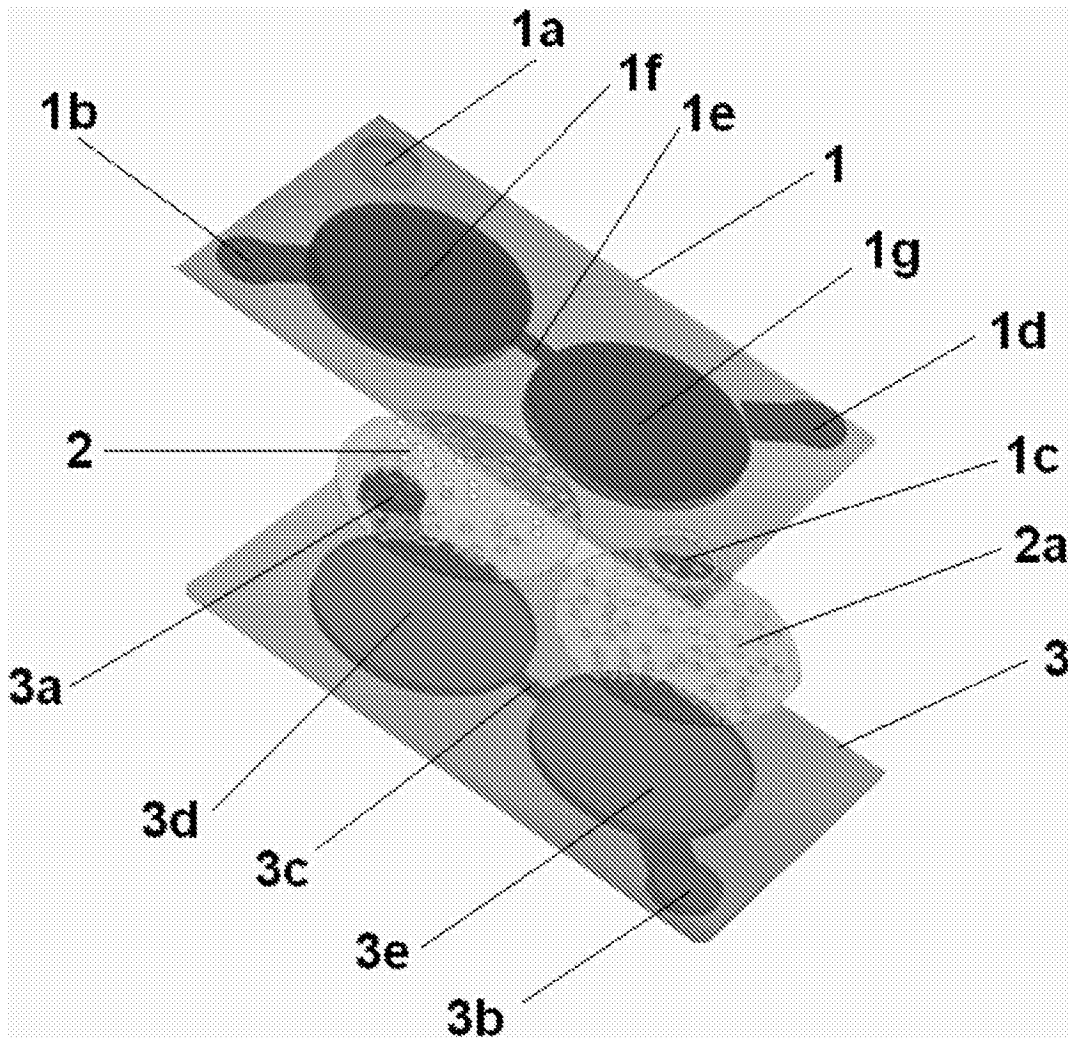


图1

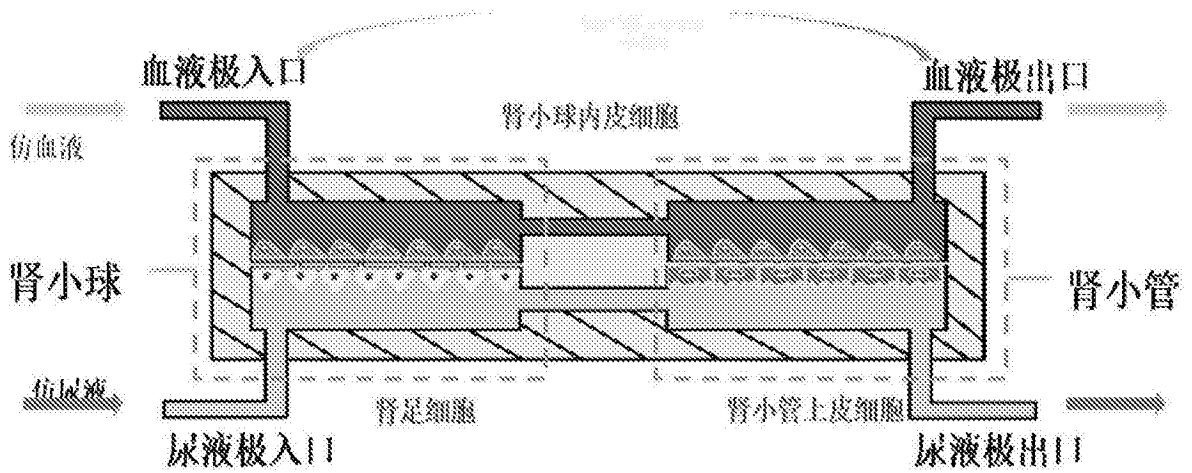


图2

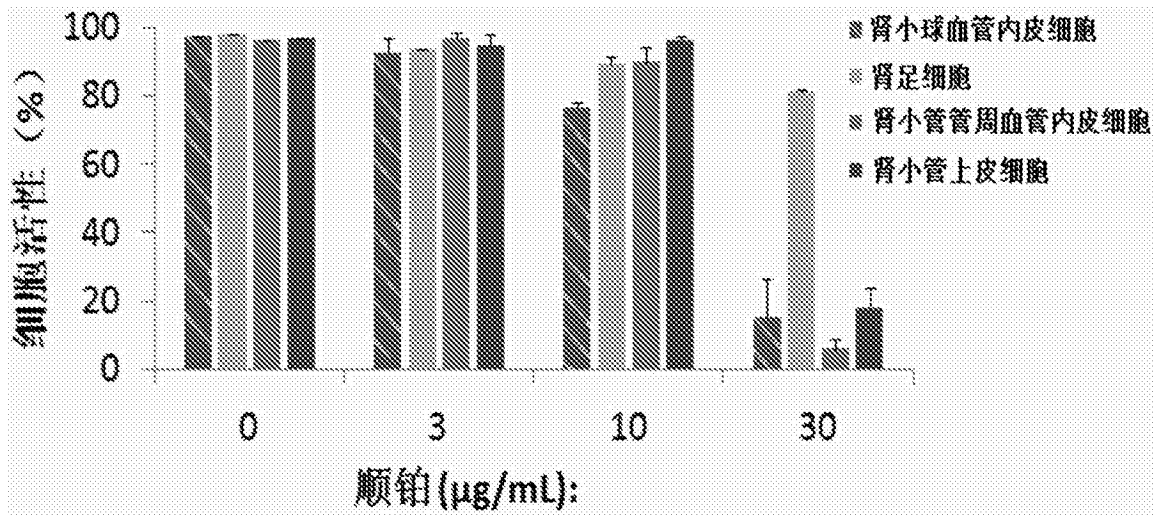


图3

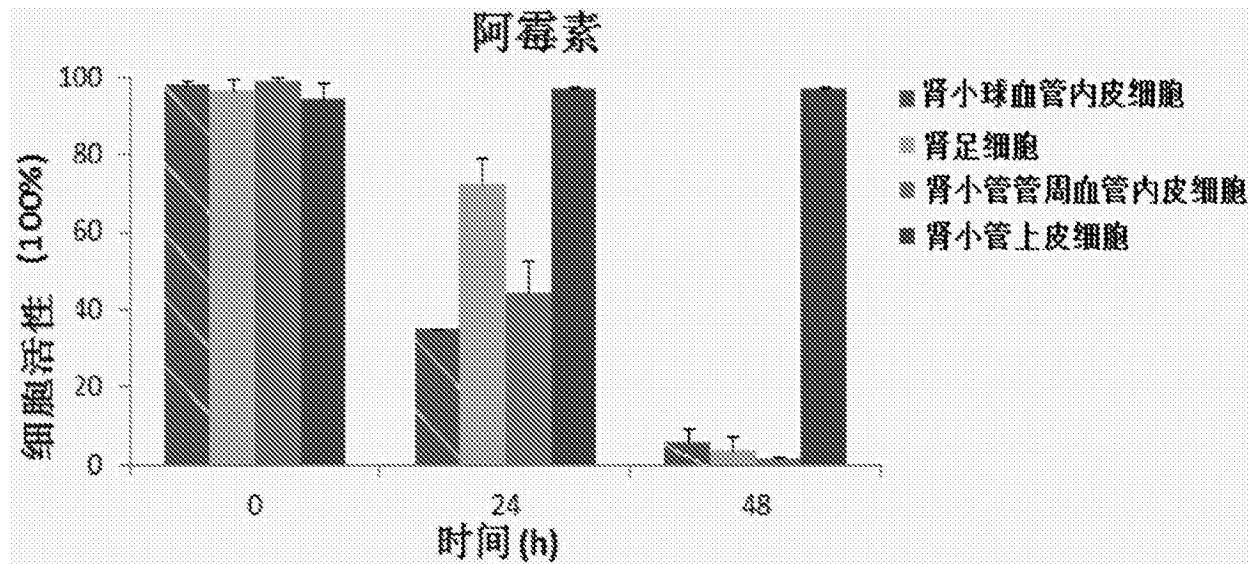


图4