

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

B01L 3/02 (2006.01)

G01D 15/00 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200580023025.2

[45] 授权公告日 2009 年 6 月 10 日

[11] 授权公告号 CN 100496749C

[22] 申请日 2005.7.6

[21] 申请号 200580023025.2

[30] 优先权

[32] 2004.7.6 [33] US [31] 60/585,697

[86] 国际申请 PCT/US2005/023895 2005.7.6

[87] 国际公布 WO2006/014460 英 2006.2.9

[85] 进入国家阶段日期 2007.1.8

[73] 专利权人 犹他大学研究基金会

地址 美国犹他州

[72] 发明人 布鲁斯·盖尔 大卫·章彦

大卫·米什卡

[56] 参考文献

US20020159918A1 2002.10.31

US2003215368 A1 2003.11.20

审查员 武立民

[74] 专利代理机构 南京经纬专利商标代理有限公司

代理人 楼高潮

权利要求书 7 页 说明书 34 页 附图 10 页

[54] 发明名称

对微阵列和其他微型装置进行高浓度点沉积
的点样装置及方法

[57] 摘要

本发明公开了一种制作微阵列、生物芯片、生物传感器和细胞培养物的点样装置和方法。该点样装置可以用于在微阵列片、芯片或其他基片上沉积高浓度的蛋白质或其他物质。它还可用于在相同点上实施多种化学步骤。该点样器通过在包埋预定物质的点面上引入流动溶液直至表面完全饱和，增加了每个点上物质的表面浓度。该点样器通过微流体管和微流体孔在分离的基片上点积蛋白质、其他生物分子、或化学制剂。每个孔都是含有进口管和出口管的流动通道的一部分。当该点样器一接触基片，在孔和基片之间形成密封。相同的或不同的物质可以流过每个孔。大量的孔组成点样器。由于该点样器可以放置在基片上延长一段时间，其特别对在基片上沉积蛋白质有用。

1、一种用于将物质在表面上沉积为有序图案的点样器，该点样器包括：多条流体通道，其中每条流体通道独立包括至少第一导管和第二导管，该第一和第二导管每条具有近端和远端，其中该第一导管的远端可操作地连接到一孔，并且第二导管的远端同样连接到上述孔，其中该孔适合于与表面形成密封，由此形成具有多条适合于与表面形成密封的孔的独立的多流体通道；

在静态阵列上排布的多个孔适应于将流体在表面上沉积为有序图案。

2、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，该流体通道进一步包括第三导管，该第三导管具有近端和远端，其中第三导管的远端连接到第一和第二导管的远端形成具有三流体流动管路的流体通道。

3、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，该第一导管环状地包含在第二导管内，以及该第二导管的远端适合于与表面形成密封。

4、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，多个孔的静态阵列被设置成棋盘式或蜂窝状。

5、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，每条独立流体通道的第一导管的两个或多个近端交互连接。

6、如权利要求5所述的点样器，其特征在于，每条流体通道的第二导管的两个或多个近端交互连接。

7、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，每条独立流体通道的第二导管的两个或多个近端交互连接。

8、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，独立流体通道中的两条

或多条交互连接以形成单条流体通道。

9、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，多条独立流体通道连接到一个流体泵。

10、如权利要求9所述的点样器，其特征在于，该泵为液压泵。

11、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，多条流体通道的至少一条进一步包括收缩部分。

12、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，孔的形状可分别为圆形、长方形或正方形。

13、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，其中的孔适应于与不均匀表面相配。

14、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，该第一导管的远端和第二导管的远端之间的可操作的连接适应于提供一种物质湍流流经表面。

15、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，该点样器设计成通过压力流流动物质。

16、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，该点样器设计成通过电动力学流动物质。

17、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，在靠近孔处进一步包括热量调整元件或气体扩散元件。

18、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，该热量调整元件被设计成加热孔附近流体通道中的溶液。

19、如权利要求18所述的点样器，其特征在于，该加热通过电阻完成。

20、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，该第二导管的近端连接贮液池。

21、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，第一导管的近端连接一个贮液池并且第二导管的近端连接第二贮液池。

22、如权利要求1所述的点样器，其特征在于，每条流体通道的第一导

管的每个近端单独连接到贮液池并且所有第二导管的近端连接到第二单独的贮液池。

23、如权利要求 1 所述的点样器，其特征在于，点样器材料选自硅、氧化硅、聚二甲基硅氧烷（PDMS）、砷化镓、玻璃、陶瓷、石英、氯丁二烯橡胶、TeflonTM、聚乙烯人造橡胶、聚丁二烯/SBR、腈、任何其他与流过该点样器的物质相兼容的物质，以及它们的组合。

24、如权利要求 1 所述的点样器，其特征在于，该导管为微通道、微管、或微通道和微管的组合。

25、如权利要求 1 所述的点样器，其特征在于，第一和第二导管刚性地设计成将流体在表面沉积为有序图案。

26、如权利要求 1 所述的点样器，其特征在于，多个孔的数目选自下列组：10、50、100、400、900、1,600、2,500、10,000、50,000、100,000、500,000、800,000、1,900,000、3,000,000、5,000,000、7,000,000、13,000,000 和 29,000,000。

27、一种沉积物质的方法，该方法包括：

提供权利要求 1 所述的点样器；

提供合适的基片；

在多个孔和基片的表面之间形成密封；

将至少一种物质通过多条独立的流体通道并将基片的表面与其至少一种物质接触；

以及将至少一种物质的至少一部分连接到基片的表面。

28、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，该基片选自组：76×26mm 的显微镜片、25mm 的晶片、50mm 的晶片、76.2mm 的晶片、100mm 的晶片、125mm 的晶片、150mm 的晶片、200mm 的晶片和 300mm 的晶片。

29、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，包括至少一种物质的至少一部分在表面上排列成棋盘形图案。

30、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，包括至少一种物质的至少一部分在表面上排列成蜂窝状。

31、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，进一步包括至少一种物质的至少一部分点排列在表面上，该表面每平方厘米的点的数目选自组：10、50、83、416、500、833、1,000、4,166、5,000、8,333、10,000、20,000、40,000 或 41,666。

32、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，其中至少一种物质单独选自 DNA 分子、RNA 分子、蛋白质和细胞组成的组。

33、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，至少一种物质单独选自蛋白质、核酸、细胞、凝集素、核苷酸、核苷、氨基酸、糖、脂类、脂质体、病毒以及它们的组合构成的组。

34、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，该基片的表面是非均匀的。

35、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，该基片的表面包含导管、腔室、凹陷、隆起或其组合。

36、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，至少一种物质的至少一部分与基片的表面连接包括通过独立流体通道连接至少两种物质。

37、根据权利要求 36 所述的方法，其特征在于，进一步包括改变流体通道中的流速来差别地连接至少两种物质。

38、根据权利要求 36 所述的方法，其特征在于，进一步包括通过在独立流体通道中的第一导管连接至少两种物质中的一种并且通过独立流体通道中的第二导管连接至少两种物质中的第二种物质。

39、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，将至少一种物质中的至少一部分连接到基片的表面包括在基片表面上不同的位置连接不同的物质。

40、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，在将至少一种物质中的至少一部分连接到基片的表面前，基片的表面已经有一种或多种物质。

41、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，进一步包括从基片表面移开多个孔。

42、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，进一步包括重复该方法至少一次。

43、根据权利要求 42 所述的方法，其特征在于，每次重复的方法步骤中使用不同的点样器。

44、根据权利要求 42 所述的方法，其特征在于，每次重复的方法步骤中使用相同的点样器。

45、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，其方法通过自动系统进行操作。

46、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，基片选自下列组：微整体分析系统、生物传感器、生物芯片或细胞培养物。

47、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，基片由硅、陶瓷、玻璃、石英、塑料、金属、氮化硅及其组合构成。

48、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，粘附在基片的表面的是抗生物素蛋白链菌素-生物素或抗生物素蛋白-生物素。

49、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，基片上涂覆光敏涂层。

50、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，构成基片的物质的化学反应性不同于构成点样器的物质。

51、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，其包括通过至少一种物质，其中至少一种物质通过多条独立的流体通道并将基片的表面与多种

物质连接。

52、根据权利要求 27 所述的方法，其特征在于，其包括间歇性地通入至少一种物质，其中至少一种物质通入多条独立的流体通道并将基片的表面与多种物质连接。

53、根据权利要求 52 所述的方法，其特征在于，间歇性地通入至少一种物质，包括首先从一个方向通入一种物质然后从相反方向通入该物质。

54、根据权利要求 52 所述的方法，其特征在于，间歇性地通入至少一种物质，包括将至少一种物质的塞子沿着多条独立流体通道通入到基片的表面上，等待一段时间，然后将至少一种物质的塞子通入剩余的多条独立的流体通道。

55、一种制备权利要求 1 所述的点样器的方法，该方法包括：

- a) 清洗适宜物质的晶片；
- b) 通过灌铸、成型、氧化、沉积及其组合对芯片添加一种或多种物质；
- c) 通过机械加工、打磨、蚀刻及其组合去除预定量的一种或多种物质；
- d) 操作步骤 b) 和 c) 以形成多条独立的流体通道。

56、一种制备权利要求 1 所述的点样器的方法，该方法包括：

形成多条流体通道的模型；

将合适的物质添加到模型中以制备该点样器；并且

从模型中取出点样器。

57、根据权利要求 56 所述的方法，其特征在于，其中流体通道形成的模型包括在模型中使用可以形成点样器的导管的丝线。

58、一种制备权利要求 1 所述的点样器的方法，该方法包括：

提供微管道；

蚀刻该微管道；并且

熔合该微管道。

59、一种制备权利要求 1 所述的点样器的方法，该方法包括：

形成根据权利要求 56 所述的方法的点样器部分；以及

形成根据权利要求 59 所述的方法的点样器的剩余部分。

60、根据权利要求 55 至 59 的任一方法其中电阻线结合到该点样器内。

对微阵列和其他微型装置进行高浓度点沉积的点样装置及方法

优先权

本申请要求在 35U.S.C. §119 (e) 条款下申请号为 US60/585,697, 申请日为 2004 年 7 月 6 日的美国的临时专利为优先权, 其通过引用全部包含在本申请中。

技术领域

本发明主要涉及生物技术、尤其是制作微阵列、生物芯片、和生物传感器。特别地, 本发明涉及一种在基片上沉积物质的微流体通道系统。

背景技术

近年来, 大量的生物学/化学分析技术使用微型系统进行了示范, 并且有的已经利用微机械加工技术得到了实施。在分析仪器上合理采用微型技术包括减少仪器尺寸和成本、减少样品和试剂的量、减少分析时间、增加分析处理量, 并且包括综合样品的制备和分析功能的可能性。

目前, 采用自动化的点样器系统制作高密度点样阵列, 例如 GENETIX QARRAY®。当前技术之一是使用点样“笔”将待沉积物收集于针上, 然后将该物质“点”到基片上。例如参见 Yamamoto 等人的美国专利 US6,733,968, (“’968 专利”) 名称为“Microarray, Method for Producing the Same, and Method for Correcting Inter-Pin Spotting Amount Error of the same.”(微阵列及其制作方法及其纠正包埋针点样量误差的方法)。该’968 专利指明当有多个“笔”用于制作阵列时, 并不是所有的“笔”

是相同的微型尺寸，并且因此每个“笔”点不同量的溶液。该专利披露了一种确定特定组的笔的误差原因的方法，而该误差可以数学计算出来。

Moynihan 等人的美国专利 US6,365,349，名称为“Apparatus and Methods for Arraying Solution onto a Solid Support”(在固体载体上阵列溶液的装置和方法)，其披露了采用弹簧探针在基片上给样。

类似“笔”的用途就是毛细管的用途。例如参见 Chen 等人的美国专利申请 20040014102，名称为“High Density Parallel Printing of Microarray”(微阵列的高密度平行印刷)。该申请披露了使用毛细管对微阵列进行点样。Chen 等人的美国专利 US6,594,432(“432 专利”)，名称为“Methods for Fabricating Microarrays of Biological Samples”(微阵列的制作技术和装置)，也披露了使用毛细管，如硅管，在基片上点探针。在该‘432 专利中毛细管的一端可连接到一个贮液池；但是对该待点物质没有回路，因此无法将该物质流过基片以增加点样沉积密度。所以，在‘432 专利中的毛细管的操作与笔所进行的操作是相似的。附例参见 Shalon 等人的美国专利，专利号为 US6,110,426；名称为“制作生物样品的微阵列的方法”。其揭示了在毛细血管末端制造弯液面将特定量样品物质输送到基片上的方法。

然而，现有技术的系统能够制造可控大小的多种点，如果当前待沉积的预定分子的浓度非常低，可沉积在表面上的理想分子的整体数目被严格限制于单个点。点上物质的浓度受到原始物质的浓度和点尺寸大小的限制。Perkin-Elmer BIOCHIP ARRAYER®使用“喷墨打印技术”(ink jet printing)，但是这种技术具有与“笔”一样的浓度限制。

已经开发的其他系统可在基片上使用微流体通道设计基因阵列、蛋白质阵列、如 RNA、DNA 的核苷酸阵列、寡核苷酸阵列、或其他阵列。这种系统的例子参见 Gold 等人的美国专利，US6,503,715，名称为：“Nucleic acid ligand diagnostic biochip”。已开发的生物芯片制造方法试图移动单个

微分析点；但是，这种系统常常要求机械操控生物芯片，例如参见 Kim 等人的美国专利，US6,623,696, 名称为：“Biochip, Apparatus for Detecting Biomaterials Using the Same, and Method Therefor”。其披露了旋压生物芯片目的是加速反应时间。要求简化生物芯片和生物传感器的制作过程并对生物芯片和生物传感器上的单个点提供了更多控制。

理想地，如果将基片处理的只连接预期的分子，并使大部分不需要的材料洗掉，流动沉积系统可以产生高的表面密度。但是，流动沉积系统基本上不能产生点阵列，更不用说阵列的单独编址。例如参见 Tomoko 等人的日本专利申请，JP10084639, 名称为：“Method and Apparatus for Adding Sample”。该申请披露了一种方法，其中旋转生物芯片并使用离心力将样品均匀喷到生物芯片的整个表面上。类似地，Park 等人的美国专利，US6,391,625, 名为：“Biochip and Method for Patterning and Measuring Biomaterial of the Same”，其披露了一种通过激光照射部分基片制备生物芯片然后在基片上旋转涂布探针分子的方法。

此外，当前技术不能用化学方法逐点进行处理，或进行层层自组装（LBL）以增加点浓度。所需要的是将分子从溶液中取出并将那些具有高浓度的分子连接到基片上的方法。这在研究蛋白质性能上非常有用。

此外，微阵列型结构应用于制造生物传感器，以及与生物芯片应用于生物传感器相关的相同问题。参见 Yamazaki 等人的美国专利，US6,699,719, 名称为：“Biosensor Arrays and Methods”(生物传感器阵列与方法)。它涉及使用微阵列建构技术建立生物传感器。仍然存在需要简化生物传感器的制作过程。

而且，需要在处理微阵列过程中减少成本和时间。人们曾尝试对所需要的地址进行编址。参见 Bass 等人的美国专利，US2003/0068253A1, 名称为：“Automation-Optimized Microarray Package”，其披露了一种自动化的微阵列处理方法，这种方法是通过处理过程组装成一直线的微阵列

线性条带实现。

发明内容

本发明涉及一种能将单独编址的高浓度点在微阵列的表面形成图案的点样器，以及该点样器的使用及其制作方法。这种点样器能够实现以单个高浓度点样的方法来安排微阵列的表面。该点样器通过直接将点样物质通入点样区域，如探针或靶化合物，直至高浓度点形成，来增加每个点的表面密度。例如，在表面上点样的探针包括：蛋白质，核苷酸，包括脱氧核糖核酸的 DNA 以及核糖核酸的 RNA，细胞，缩氨酸、凝集素、修饰的多聚糖、合成复合高分子(synthetic composite macromolecule)、功能性纳米结构、合成聚合物、修饰/阻断的核苷酸/核苷、合成的寡核苷酸、修饰/阻断的氨基酸、荧光团、发色团、配体、螯合剂、半抗原、药物化合物、抗体、糖类、脂类、脂质体、组织、病毒、任何纳米或微观物体、以及它们的组合。当物质流过微阵列基片的表面时，它可以连接或吸附到该基片的表面上，这取决于系统的化学属性。

点样器中的导管，例如微通道或微管，包含在点样器内用于将点样物质引入基片上的点沉积区域，其中流经该微通道或微管在特定区域产生高的表面浓度。每个沉积区域都可由它自己的微流体通道来独立编址。将这些微流体通道组合在一起，以至于大量的沉积区域可以平行编址。微流体通道上的孔适于与基片表面形成密封，使得微流体通道内的溶液与基片表面接触，溶液中的物质沉积到基片表面上。溶液可从第一导管的进口注入，通过第一微流体通道的孔到达沉积点，然后由第二导管流出。

在一个实施例中，第一导管和第二导管连接到同一贮液池，从而使溶液和里面含有的任意溶质实现循环流动。

在另一实施例中，微流体通道的第一导管连接于第一贮液池，微流

体通道的第二导管连接于第二贮液池。多条微流体通道配置成，每个微流体通道的第一导管都连接于共用的第一贮液池，每个微流体通道的第二导管都连接于共用的第二贮液池。在另一实施例中，微流体通道的每个独立的第一和第二导管连接到隔开的第一和第二贮液池。

在一个实施例中，在某一持续时间内，含有待沉积物质的连续液流保持流动，以便表面沉积形成高密度点。此实施例允许用户自我控制，以减少溶质在基片表面的连接效率，从而形成含有更高信号的阵列（例如，在使用荧光物质，化合光物质，染色物质，其他基于光学的微阵列传感技术，或者辐射测量技术时）。在另一实施例中，每平方厘米至少配置 10 条微流体通道，用来制造能够在基片表面单独编址的沉积点的打印头。该点的二维排列意味着，同时具有不同沉积物质的无限数量的点形成沉积，每个点的在表面上的位置可以是任意或者不是任意的（并非必须按照网格形状），每个点可以为不同的尺寸和/或形状或者相同的尺寸和/或形状。

在另一实施例中，采用热量调节元件和气体扩散元件来连接一条或多条微流体通路，并且可使用这些元件控制接近表面的溶液的温度。仍然在另一实施例中，该流体通道（例如微流体通道）在点样区域可能包含流体混合结构，例如利用对流加强表面沉积作用的漩涡引流结构。

在另一实施例中，点样器在汇编沉积点样地址时，可以实现层层自组装。例如，相同或不同物质的成层可通过改变流经点样点的溶液（溶质）轻松实现。在一个实施例中，第一层为核苷酸沉积点，第二层或第二步为 DNA 连接蛋白质沉积点。在另一实施例中，可以通过点样器将适当物质连接到基片表面对其进行修饰。该点样器和微流体通路可以用多种材料制成，并且因此，优选不与流经溶液发生发应或不与点样器操作时所使用的设备发生发应的物质。

这里披露的通过系统制备的点阵列适用于接下来插入微型整体分析

系统 (μ TAS) [1] 的表面, 该系统使阵列暴露于通过微通道能被精确控制的流体中。该系统使用微通道在基片上使基因图形化, 蛋白质, 核酸 (例如 RNA, DNA, 聚核苷酸), 或者其他物质 (例如细胞, 脂类, 糖类, 和其他以阵列形式组装的生物分子), 可替代点样器进行相应操作。这个例子不需要在基片内建立微通道, 从而大大简化了制作过程, 节省了制作成本。该点样器可用于对其他微流体系统进行液体装载, 仅需要将点样器表面压靠到阵列的口处。该点样器也可以用于构建和测试生物传感器。也可以用于沉积, 生长, 维持细胞培养。

该点样器也适用于不平整的基片表面, 例如内嵌结构的基片。该点样器可以为配合多孔性或非多孔性的刚性或韧性基片而进行设计。该基片可由本领域中已知的任何材料制造。点样器的表面可以根据与多种不同基片配合的需要而进行必要的修饰。

在制造该点样器的过程中, 通过改变孔的大小和几何形状, 可改变点的大小和几何形状。点的状况会根据点样器设计进行变化。例如, 制造过程中选择的孔可包含收缩和动荡引流设备。点样器内部的流体可通过多种方式进行控制, 例如, 通过液压, 电动, 重力, 渗透压, 或其组合。

该点样器可以用任何与点样溶液相适合的材料来制造, 这些材料包括 (但不局限于): 硅; 二氧化硅; 聚二甲基硅氧烷 (PDMS); 砷化镓; 玻璃; 陶瓷; 石英; 聚合物如氯丁二烯橡胶、聚四氟乙烯™、聚乙烯人造橡胶、聚丁二烯/SBR、腈、尼龙的聚合物; 金属, 以及以上的组合。为了减少点样器微通道内物质的连接, 它将希望使制备点样器的物质与流过其的物质具有低的亲和力。此外, 该导管的内径可以涂布合适的物质以降低将要流过的物质与导管本身之间的亲和力。

该点样器的制备方法有多种。例如, 可通过清洁适宜物质的晶片, 沉积、或任意其他适宜的方法, 经加工减去物质, 打磨, 或蚀刻或一些

其他适合的方法进行制作。任选地，附加的晶片可以结合到第一晶片，并可以根据需要添加或去掉附属物质，或者可根据需要加入附属晶片和物质的组合来制备点样器。上述步骤也可以以任意需要的顺序进行操作以制作预定的点样器对本领域技术人员来说是公知。

也可用附加的制作方法。例如，与其使用半导体制作方法，不如使用不锈钢微金属丝模型。在适当的物质固定后，移掉该微金属丝留下空间形成微通道。换句话说，采用模型制作点样器表面以及和/或与微管相配合的孔，任选地，微管或微通道装配在做成模型的点样器或打印头的表面的背面。在一个实施例中，该点样器几乎完全由微管构成。现有技术已知可以采用多种如硅的物质通过多种半导体制作技术创制、修饰、连接微管以制作带有孔阵列的点样器。生产的带有较大微管的点样器可不通过半导体制作技术进行制作，而是简单将其固定在一起。

实际上，本发明具有生产带有无限量确定的点的微阵列的潜力，每个点是为特定的物质制作并具有特定的沉积密度。该点样器也可以用于对单个点进行逐点化学处理，然而，也可以使用多个点样器。

附图说明

图 1 显示的是单孔点样器。

图 2 显示的是单孔点样器。

图 3 显示的是单孔点样器。

图 4 显示的是多孔点样器。

图 5 显示的是多孔点样器。

图 6 显示的是多孔点样器。

图 7 显示的是多个进口点样器以及环形点样器实施例的截面部分。

图 8A 显示了具有增强混合作用的叶片的微通道。

图 8B 显示了具有增强混合作用措施微通道的微通道。

图 8C 显示了形成带有侧向注射器及垂直口的棱柱的微通道。

图 9 显示的是给样和维持细胞培养的点样器。

图 10 显示的是带有韧性膜的点样器。

图 11 显示的是点样器制作的细胞点。

图 12 显示的是本发明点样器与针式点样器对照的沉积密度曲线。

图 13 显示的是对点样器和移液管染色沉积的密度进行对照的两条曲线。

图 14 显示的是图 13 中插入部分的标准化视图。

图 15 显示的是点样器表面的切割方法。

图 16 显示的是本发明点样器的分析操作。

图 17 显示的是单孔点样器在载玻片上进行染色溶液沉积。

图 18 显示的是点样器一个实施例中的等轴图，显示出孔。

图 15 和图 19—24 显示的是平板印刷术制备点样器的多种方法之一。

图 19 显示的是在晶片上旋转涂布光刻胶。

图 20 显示的是暴露光刻胶。

图 21 显示的是模型表面的修饰。

图 22 上从模型中去除铸模的例子。

图 23 显示的是流体口钻孔的方法。

图 24 显示的是通道密封的方法。

具体实施方式

本发明涉及一种能将单独编址的高浓度点在微阵列的表面形成图案的点样器，以及该点样器的使用及其制作方法。本发明的流体通道可以用于通过直接通入包埋有预定物质的溶液增加每个点的表面密度，例如探针和/或靶分子直至高浓度点形成。这里使用的术语“物质”包括探针、靶化合物、细胞、培养基、和/或载体。“探针”的例子包括：蛋白质，脱

氧核糖核酸的 DNA 以及核糖核酸的 RNA 的核苷酸，细胞，缩氨酸、凝集素、修饰的多聚糖、合成高分子复合物、功能性纳米结构（functionalized nanostructure）、合成聚合物、修饰/阻断的核苷酸/核苷、合成的寡核苷酸、修饰/阻断的氨基酸、荧光团、发色团、配体、受体、螯合剂、半抗原、药物化合物、抗体、糖类、脂类、脂质体、细胞、病毒、任何纳米或微观物体、以及任何具有与其他探针物质连接、缔合、接触的缔合物的化合物。有代表性地，靶化合物流过探针或探针的组合已经与基片连接了。“载体”是指输送探针、细胞、靶化合物或培养基的运载工具。“载体”包括溶剂（例如，任意的水溶液或非水溶液的流体和/或胶体），并且在那里具有颗粒悬浮液。

1.0 结构

该点样器包括多条流体通道，其中每条流体通道包括第一导管和第二导管，该第一和第二导管每个具有近端和远端，在该第一导管内有确定该第一导管通道的壁，在该第二导管内有确定该第二导管通道的壁，其中该第一导管的远端可操作地连接到第二导管的远端，其中该第一导管的远端和/或第二导管可设置成具有一个孔，并且其中该孔可操作地用表面形成密封；静态阵列中设置的多个孔适应于在基片表面上处理流体。该流体通道设置成流体可以流经该第一和第二导管，当该孔封靠到表面上时，与基片表面接触。

导管也可以称作通道、微通道、管道、微管道、微管、管和/或管道，这些术语用于描述流体通道。术语“进口导管”、“进口微通道”或“进口微管道”也可以是指第一和第二导管，并且术语“出口导管”、“出口微通道”或“出口微管道”作为通道的导管。在一些实施例中，其导管是进口导管不同于作为物质在中间来回流动的导管。为了描述本发明的目的，“进口”和“出口”可用于指相关导管的近端。

1.1 导管

图 1—3 显示了点样器中的两种微通道将物质导入导出基片表面的点样沉积区域。这里使用的“点样沉积区域”也指作“点”“被点区域”和/或“井”。物质从点样器微通道的进口流入，到达孔，接触基片表面，并流过点样器微通道的出口。这种流体通道提供了物质被连接或吸附到表面上的机会，这取决于系统的化学性质。这里所用的术语“连接”指的是“连接”“附着”、“粘”、“缔合”，或者其它任何使点样物质留在表面的化学的或物理的过程。所用的“特定连接”是指像蛋白质这样的物质以一种有规律的方式的连接，“非特定连接”指本领域中理解的不想看到的连接和吸附。

根据本发明显而易见的是，该进口和出口（第一和第二）导管就是独立的带有孔（洞）的弯曲通道，以便在基片表面上沉积物质。但是，为了描述本发明的目的，这些实施例中所指的除了单通道或导管，采用“组”或“对”导管描述带有孔的通道。这里所讨论的，通道组（例如微通道）内部的各种各样的连接，以及通道上孔的各种各样的形成方式，都是有可能的。

在一个实施例中，点样器的每条通道或者流体通道都包含将物质传送到基片表面的设置，在基片表面的点样区域建立密封的设置和从基片表面传送未连接物质的设置。微通道的长度和/或直径是任意的。在一个实施例中，导管/或通道的内径是 100 μm ，90 μm ，80 μm ，70 μm ，60 μm ，50 μm ，40 μm ，30 μm ，20 μm 和/或 10 μm 。此外，本领域已知还有纳米范围的微通道，在当前的发明当中也有可能被使用。在一个实施例中，点样器的微流体通道包含多种规格的内径。

图 4 显示了一种多孔点样器的实施例。这个实施例的每对微通道都有不同于其它微通道进口和出口的进口和出口。图 4 显示了一排这样的成对的微通道，即如图 1—3 中显示的那样的微通道对。根据本领域的公知常识，图 4 中显示的一排微通道对有可能是多排微通道对中的一排，

同样地，相同排和不同排微通道对之间的空间可能不同，这样能够得到想要的打印头和点样图式。点样器的总体大小可以根据所需微通道对的不同进行调整。

图 5 显示了一种多孔点样器实施例。在这个实施例中，每对微通道的进口和出口都连接于单独的进口贮液池和出口贮液池。图 5 还显示了将导管连接到贮液池上的两种可能的方式，例如，所示“出口通道”作为内接通道，而“进口通道”通过集合管连接。在一个实施例中，单排的进口和/或出口可以连接到统一的进口和/或出口，其中多排实施例可具有单排独立的连接。例如，具有 1000 孔的点样器在 100×10 结构中可以有 10 排进口和 10 排出口，而不是 1000 进口和 1000 出口。当每排被点相同的探针时这个实施例可以优选，而不是不同的探针点在每一排上。换句话说，所有排的出口和进口可以连接到单个点样器的进口和点样器出口。当制作的整个阵列用同一种物质处理时，这个实施例非常有用。

图 6 显示了一排微通道上进口和出口都连接在一排出口上的结构。这种结构可以用于不同物质流入单独进口，但是这样的设备不能够实现流出物质的循环，所以，只需要一个单独的出口。

在另一实施例中，其出口导管连接于与其相邻的进口导管，产生一系列连续的孔。这种点样器点数为 10×100 ，1000 个点。在这个实施例中，每条单独的流动通道上都排有 100 个孔并有 10 条流动通道。这种结构优选用于整排进行相同物质点样的情况。

图 7 显示了两种实施例。第一个实施例显示一条有两个进口的流动通道，点样物质经两个进口到达同一点样区域，再从唯一的出口流出。这个实施例适用于：同一点由两种不同探针在不需要改变溶液的情况下点样的情形；或者两种需要不同流动通道的物质，它们在与基片或基片上已存探针接近处发生反应的情况。在这种结构中，可能使用多于两条的进口微通道，例如 3 条，4 条，5 条，6 条，7 条，或者 8 条。

图 7 也可以被认为是一种环形实施例的横切面图。环形实施例是在一个稍大一点的微导管（或微通道）内部置放一个很窄的微导管。在一个大一些的微通道内也可能含有很多条微通道，例如 2 条，3 条，4 条，5 条，6 条，7 条，或者 8 条进口微通道，每一条都有不同的点样物质，而大一些的微通道则起到了出口的作用。

此外，与图 7 实施例相关的实施例也可以用于在点样区域创建想要的点样图式。例如，不同的进口微通道可以每条都携带相同的物质，但是多条不同的进口微通道被配置的，以影响基片上的点样形状。当两条或者更多的进口微通道携带同样物质在基片上点样时，物质的直接撞击在基片上形成湍流，这种湍流加以控制后可以用来影响物质在基片上的连接。

尽管如此，多条最终在点样孔处连到一起的进口微通道也可以用于不同物质在不同时间的点样。例如图 7，一种物质从左边的进口微通道流进，经过基片，从出口微通道流出，然后另一种物质从右边的进口微通道流入，经过基片，从出口流出。

在另一个典型实施例中，有多个孔，每个孔有多条微通道，例如，每条微通道分别以 A,B,C 标记，然后将所有的 A 通道连接起来，所有的 B 和 C 等微通道也都分别连接起来。

图 4—图 7 显示的任何实施例的组合都可能构成一个单独的点样器。例如，一个点样器可能同时有图 4 中显示的流体通道，图 5 和图 6 中显示的有进口和出口的流体通道，图 7 显示的有多进口的流体通道，或者任何它们的组合。

对点样器表面的孔进行安排，就能够在点样区域得到如棋盘形状的微阵列。换言之，点样区域的中心与其它的中心最后在表面上形成方形的小栅格。同样，对设备上的孔进行安排，使得点样区域的点呈蜂窝形，这样每个点样区域的中心与其相邻的中心形成等边三角形的形状。此外，

也可以将点样设备上的孔安排的使点样区域为棋盘和蜂窝相混合的形状。

一排孔的数量是任意的，同样一个点样器中孔的排数也是任意的。一个点样器可以选择至少含有孔数为：10、50、100、400、900、1,600、2,500、10,000、50,000、100,000、500,000、800,000、1,900,000、3,000,000、5,000,000、7,000,000、13,000,000、29,000,000。点样器也可以选择每平方厘米至少含有大约 10、50、83、416、500、833、1,000、4,166、5,000、8,333、10,000、20,000、40,000 或者 41,666 个孔。例如，如果孔是由外径为 $50\mu\text{m}$ 的微导管形成，并组成棋盘的形状，那么每平方厘米点样器表面应该含有 40,000 个微导管。孔的直径也可以是任意的。孔的内径一般小于 $300\mu\text{m}$ ，一般在 $100\mu\text{m}$ 左右。

在垂直定向中显示微通道，使得微通道的近端垂直升起高出微通道的远端，形成孔。例如，制作的点样器使孔和微通道连接并结合到表面上，如图 8A—8C 所示。但是，微通道的走向可能会很多，包括水平的走向。根据这里所示的已知，流动通道可能会有弯曲，拐弯，或者与点样器的孔耦合，到任何其它流动通道的接头。术语流体通道和微通道意思是指从溶液的入口点的管路，例如，贮液池连接到点样器，连接到孔，并远离由孔待接触的表面，例如，第二贮液池。图 2 显示单流体通道，其中的注射针作为贮液池（例如注射腔）和点样器之间的流体连接方式。仍旧参照图 2，术语“进口微通道”包括从“流进”点到孔的通道，以及术语“出口微通道”包括从孔到“流出”点的通道。

从以上描述可以明显地看出，导管的长度是任意的。一条导管的长度可以是 500 微米，1 毫米，5 毫米，1 厘米，5 厘米，10 厘米，20 厘米，或者 100 厘米，甚至更长。导管长度与其内径的比率可以是 5，10，15，20，100，500，1,000，10,000 或者 30,000。点样器所有的微通道都不需要有固定的长度。

施加同样的压力，长的微通道的流速低于较短的微通道。流速低的原因是因为点样物质流经较长的一部分时产生了额外的摩擦。用修正的 Bernoulli 方程来计算流速。

不同的流动通道有时可以设计不同的流速，因为探针对基片或表面的连接能力会受到流速的影响。当设计合适的流速时应该考虑两个因素。首先，探针在基片上的停留时间是由含有探针的溶液流速决定的。有些探针根据其对基片优先连接作用的不同而需要不同的流速。因此，根据是否需要一种探针在基片表面连接，需要改变溶液的流速。第二，随着溶液流速的增加，流过基片表面的剪力增大，这也将影响探针在基片表面的连接力。如果流速太过，将出现非特异性连接和/或结块。结块或者非特异性连接会对最终制造出来的阵列的效力产生有害的影响。例如，在不希望的时间使探针不结块。换句话说，如果流速过高，可能导致探针的无效连接（例如，表面的探针可能被冲走；产生的连接也可能使得表面附近的停留时间不够，导致点样不成功）。因此，为了点样溶液或者悬浮液的优先连接，当前的发明提供一种控制不同探针流速的机制和方法。应当注意，本文所说的“溶液”包含悬浮液，为了说明本发明的目的，使用术语溶液。

以用 8 个孔的点样器制造蛋白质 A（纯免疫蛋白质 A, 编号 No.21181, Pierce Inc.）阵列为例，来说明流速的作用。这个点样器包含 4 个流速，分别为 20 μ L/分钟，16 μ L/分钟，13 μ L/分钟，和 12 μ L/分钟。流速的不同是通过成比例地改变微通道的长度实现的，这些微通道通向或源自每对孔。表面等离子共振技术分析连接结果显示, 第一对(20 μ L/分钟)与基片上的链霉亲和素—胶体金复合体连接率低。第四对连接效率也低，但是第二和第三对较第一和第四对有较好的连接效率，这解释了流速的优化。

图 16 显示了以上点样器所制作的阵列。从上到下都是点的镜像，点

2 和点 9，点 3 和点 8，是以相同的流速点出的。点 3，4，7，8 显示了最高的连接率（颜色较深），这说明了此样品连接率最高时，需要的最佳流速大约在 13 μ L/分钟到 16 μ L/分钟。

试验也说明了有不同长度导管的点样器，可以用来产生每条输送路径的最优流速。当然，也可以通过其他方法来改变流速，包括加压，或者同时改变导管的长度、直径并且加压。在已知导管长度和直径的情况下，用修正的 Bernoulli 方程来计算流速。凭经验也可以知道流速的大小，例如，预先确定一个或多个流速点样标本，然后检测连接效率，就可以确定最优流速。

流速也可以用来控制同种溶液的不同物质的点样。例如，如果一种溶液含有两种不同的蛋白质，第一种蛋白质在较低的流速下有较好的连接效率，第二种蛋白质则是在高流速下连接效率最优，那么这两种物质的连接就可以通过改变流速来控制。当前发明同样也支持先将第一种物质放在第一层，然后在第一种物质上面叠上第二种物质，可以分别用两种溶液进行沉积，也可以用同时含有两种物质的同一溶液进行沉积。

本领域普通技术人员也能够辨别改变输送通道长度只是改变点样器中物质流速的一种方法。其他的方法还有改变管道气压，改变贮液池位置，改变微通道直径等其他合适的方法。

微通道可以是长方形的，环形的（如图 1 所示），三角形的，或者其他需要的形状。

图片说明了点样器使用微通道或微导管将物质携带到阵列上的点。但是，任何传送管道都可以实现。通过提供多种流体通道将液体传送到阵列上的一个特定点，将点样物质也携带到这一点，实现的方法有很多种。有小孔的弹性管也是可以被使用的。还有一种选择，就是“V”形刚性导管，在“V”的底部有小孔。微通道的组合走向和实施例也是很重要的，例如点样器的设备本身。当然，很多导管可以束在一起形成一个点样器。

在现有技术中还有许多连接微导管的方法。

在另外一种示例性实施例中，使用微通道和微导管的组合形成点样器。例如，多条微通道组合起来构成图 8 中所示的实施例，微导管也可以被连接到微通道的末端。微导管可以被垂直，水平安排，只要需要，也可以成任意角度。

通过液压，重力，电动，气压或者其他适合的方法以及所说的这些方法的组合，都可以使物质通过导管进行点样。已知由多种方式实现液压和重力的方法，例如泵或者真空室，如果出口导管的近端低于与它相连接的导管的近端，就会形成一个虹吸管来输送点样器中的物质。许多经导管输送的物质是有电荷的，例如，DNA 带有负电荷，因此，电动泵可以用来使导管中的带电荷物质运动。也会用到气压，例如，将一个粘性塞子推入流体通道来排除溶液，或者给贮液池加压来排出溶液。此外，应该将导管内径润滑或加涂层，来增加导管的负电荷，这样就可以减少负电荷物质与导管内部的摩擦。

1.2 孔

本发明设计了多种孔。图 8A-8C 仅显示了一部分可能的孔结构。本发明仅仅要求流体通道上有小孔，以用来进行物质在表面的沉积。图 8A 和 8B 显示了在微通道上位置几乎相同的小孔装置。但是，孔的横截面区域可能比流体通道的横截面区域大一些，就像图 8C 和图 9 所显示的，或者有一个较窄的横截面（未示出）。孔的形状可以是正方形，矩形，环形，或者任意需要的几何形状。

导管远端在小孔处的交汇构成一个腔，此腔可以有很多形状而且包含很多结构。此腔可以由导管单独形成，也可以由导管的交汇形成，可以设计有流动阻力引流器或者湍流引流器以在基片的点样区域上形成不同的流动图式或剪力。此外，如果只有一种物质溶液在设备中，图 7 所

显示的实施例可以用来处理不同物质的点。当然，两个以上的微通道进口被连接于腔上。更进一步，两条导管不是非得物理连接成一条导管。例如，图 7 也可以被认为是一条较大微导管中的导管的横切面切片，其中第一导管和第二导管并不是非得连接形成一个腔。

图 8A 显示了一个腔，其中进口微通道与基片形成一定角度，在这个腔里有混合叶片。图 8B 显示可以循环注入物质的与基片呈 90 度的微通道进口，这种实施例可以增强对流，加强混合。图 8C 显示了可以环形注射的腔，腔体内的物质流过基片表面，然后与基片表面相垂直。此外，图 8C 所显示的腔可以用来修饰基片表面。该结构通过点样器微模型化，作为光学引导结构用来作输送装置或细胞培养器的微支架（microscaffold）。

点样器表面指的是与物质进行点样的基片表面（例如微阵列基片）相匹配的点样器的表面。图 15 显示单孔点样器表面实施例。图 15 显示了一种制造点样器方法的一个步骤，这里的点样器表面就是如图 15 所示，在最后的材料被拿走后，制造的点样器的表面。图 4 中可以看到，点样器表面可以是一个平的表面，不用考虑点样器中孔的数量。从水平表面看点样器表面，需要的时候，点样器表面是一个平的面，孔和孔间的间距小于 1 毫米，优选小于 100 μm ，更优选小于 50 μm ，再优选小于 20 μm 更优选小于 5 μm 。

但是，点样器表面并不一定是平表面，点样器表面可以是一束管道的远端，或者微导管的远端。在这种实施例中，如果孔是环形的，那么点样器表面就是很多环的集合。一束微导管的孔的外部边缘之间是空隙而不是固体的表面。这些空隙在需要的情况下也可以由工艺中的一些方法添上。例如，微导管实施例中，微导管可以通过环氧化作用将微导管之间的空隙添上。这些导管然后可以被切为或者打磨为光滑的表面。

此外，点样器表面也可设计为与基片的任意结构相符合。例如，如

果基片有脊，点样器表面就可以被设计为有凹陷的形状。有时点样器表面也可以用刚性的或者韧性足够强的材料来制造，以与基片表面相匹配

点样器的表面的大小和几何形状是任意的。点样器表面的大小可能要覆盖一个 76cm×26cm 的薄片，或者是一张为 25mm、50.8mm、76.2mm、100mm、125mm、150mm、200mm 或者 300mm 的薄片。本发明一流的简化使得点样器的表面几乎为任意尺寸大小或任意几何形状。

1.3 附件结构

热量调节和/或气体交换元件也可应用于点样器，其包括一种微通道，这种微通道不通到表面孔，即也不直接与基片点样区域接触。图 9 显示了一个与点样器结合的附加微通道，其在接近孔的表面是封闭的。图 9 中显示的用来控制点样区域气体数量的附加微通道，例如当检验细胞或者点样的时候它控制二氧化碳的浓度。这个实施例的微通道应该与点样区域足够近，从而能够让气体通过点样材料的通道壁扩散出去，而且微通道还要与点样区域足够远，从而能够保证点样器的整体性。图 9 涉及的比微通道窄的通到点样区域的附加微通道，根据应用的不同来确定元件的型号和实施例。图 9 显示了每个点样区域的附加微通道；但是，对点样器进行设计，从而使得附加微通道可以对多个点样区域的气体扩散进行控制。例如，可以设计一个微通道，它与第 2、3、4 号孔的距离是相同的。图 9 显示了在孔的一侧的附加微通道；附加微通道可以设计为把整个孔包围。

在点样器中可能采用附加微通道或者热量调节元件来进行温度控制。附加微通道和热量调节元件可以用来对点样器进行热量交换，例如，将电阻线插入点样器以加热点样器表面和流体通道。如有必要，可以在点样器内置入温控微通道和热量调节元件。温控微通道和热量调节元件应该在孔周围呈螺旋状放置，或者沿着导管进口，亦或围绕整个点样装置。

点样装置本身也可以包括其他结构在其中。例如热线圈和泵。热线圈的装配方法是在制造点样器的时候装入一个预先绕好的线圈，或者用一种电阻足够大的金属和半导体的合金丝来绕成并放入点样装置中。图10显示了泵实施例，泵实施例为一个附有弹性膜的小室，与点样器的微通道出口相连接。通过弹性膜重复地施加压力或者释放压力，这样就能够使得物质通过导管在点样处向后或向前振荡。

此外，图10所显示的实施例可以改进成从导管的一个方向通入新物质。再参考图10，如果微通道出口加上一个弹性小腔和两个单向阀，例如浮体阀，在弹性小腔前或者后的几个点加上，一个单向泵就产生了。在这个实施例中，用一个小腔置入弹簧装置是必要的；但是，弹性膜可以提供足够的弹性以作为弹簧装置。此外，弹性膜可能会被活塞或者其他的橡胶泵装置所代替。点样器中的泵可添加附加阀，也可以不加。

点样器上可以被连接上任何数量的设备。例如泵，鼓风机，真空室，流体线路，加热/冷却用的外罩，托架，还有烧杯和浓度杯等贮液设备。所有微通道进口和出口微通道都连接于同一个贮液池，或者也可将微通道出口不连接贮液设备。基于此任何可能的变化都在本发明的范围内。

1.4 自动化系统

当前发明的点样器可以与自动点样系统结合。最简单的是与非接触式阵列连接，作为液体分配器件，液流控制，阀等已经与阵列器整合。但是，任何类型的自动化设备和系统都可以工作，所以也可以将点样器与接触式阵列器相结合，例如旋转点样器。非接触式阵列的例子：BioDot的 BioJet QuantiTM和 Cartesian Dispensing SystemsTM的 synQUADTM。许多接触式阵列的例子 Telechem International 的 SpotBot[®]， Genomic Solutions[®]的 MicroGrid， Genetix 的 Qarray[®]，以及 Radius Biociences 的 3XVP。

与本发明的点样器相结合的自动化系统的好处是不需要自动化设备

来完成从一边到另一边的旋转。自动化机器只需要将点样器上下移动，或者前后、翻转移动。例如，针式点样器，为了重新浸泡针，必须从一边到另一边进行旋转。

2.0 用途

2.1 微阵列

本发明的点样器提供的每个点都具有自己单独编址的微流体通道，并且大量的点阵列可以并联编址。持续的物质流体可以保持一定时间，使得点样区获得高密度的点样。这种技术可得到比使用传统点样器产生的标准浓度更高的信号。该较高信号增加了信噪比，并因此收集到更好的数据。较低浓度的溶液也可以用在点样器上同时产生满意的结果，由此可以节省成本。许多可以引入阵列的例子有荧光光谱分析、化学发光检测、着色、其他的光学基础的微阵列传感技术、或放射性测量。

该点样器可以用于制作二维阵列。这样的点样器具有制作无限量确定点的微阵列的潜力，每个点具有各自相应的特定沉积密度。该点样器还可以通过使用相同点样器或通过多重点样器对单个点继续化学处理。该点样器可以用于完成层层自组装（LBL）以增强点样的浓度，通过在该点样区域上改变流过该点的物质可以简单的进行多种成层和洗涤。而且，通过在该点样器上流动适当的物质可以对基片的表面进行修饰。点样器的微通道的内壁表面修饰可以采用溶液进行，例如 BSA (牛血清蛋白) 减少粘附物。在一个示例实施例中，该点样器是一种一次性的点样器，因此消除了污染问题。

优选的，基于密封该点样器具有的孔的微阵列，该点样器制作的点具有低串音干扰和低背景噪声。

在一个示例实施例中，有相应小孔的点样器导致有相应小的点样的微阵列，而且有较大孔的第二点样器可以置于相同微阵列的上面。这对

不同探针例如蛋白质点样到阵列上进行药物的交叉测试有用，然后将药物或化学物质流过该阵列上的蛋白质。

微阵列可以包含有任意数量的探针，在微阵列中优选的探针数目至少大约为 500、1,000、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、800,000、1,900,000、3,000,000、5,000,000、7,000,000、13,000,000 或 29,000,000。如探针的物质可以多种方式固定或绑缚到微阵列基片上：共价键，非共价键如离子键，极性，或范德华力或连接体（binding moities）的构象交互作用例如生物素-亲和素或生物素-链霉亲和素；该物质或探针连接到珠粒上（磁性或非磁性）；或任何其他方法。如果该物质或探针首先接触磁性珠，然后磁力作用可以用于将该珠固定到微阵列基片上。此外，一旦采用磁珠，就可用磁场控制探针在点样器的导管内流动。

Chen 等的美国专利 US6,594,432（“432 专利”），名称为“Microarray Fabrication Techniques and Apparatus”在这里通过引用结合，其披露了采用毛细管，如硅管，在基片上进行点探针。所述基片具有光敏涂层在暴露于适当波长的光线下可由疏水性变为吸水性。采用光导性能的管和具有最初为疏水性光敏涂层的基片，光可以透过光导管首先照到基片上。这使得基片上的区域立即变成吸水性的，然而围绕该区域的基片表面仍然为疏水性的。然后将在极性溶剂如水中的探针点到基片上。防止将疏水表面的区域扩展到整个基片面上。

如果需要，本发明也可以采用光导流体管通道结构实施例。已知有大量制备光导微型管和微通道的方法。例如，涂有比硅稍低折射率的聚合物的硅管可以制备光导微型管。换句话说，在管道制备过程中管的外表面可以涂布氟化物，这可以导致管的外层具有比管其他位置较低的折射率。最终，硅管中的流体具有比流体较高的折射率，可以用来透光。例如，在制备微通道时可以先涂合适的聚合物层，再涂硅层。其他折射率比硅低的物质也能导光并适应半导体制备技术。因此该微通道可以涂

布任何适宜的光导物质。

2.2 细胞培养

参照图 9，该点样器可以用来在水凝胶基片上成组或成一个矩阵沉积活体细胞，或者单个地沉积，这样制备具有高分析量的细胞阵列，例如药物的筛选和发明。如果每个点样区域单独编址，那么不同类型的细胞可以沉积在不同点和/或每个细胞点的地址具有不同的化学物质。这使得从微阵列里可以获得比一致细胞阵列或半一致细胞阵列更多的信息。此外，当孔密封在基片上时采用导管培养细胞，该细胞可以保持稳定。围绕细胞介质中的溶解气体可以通过在该点样器孔连接附件导管进行控制。这将使该点样器具有高气体渗透型物质如 PDMS[2]组成时特别有益。细胞可以在如下培养器中进行光学监测，或者借助于结合到该点样器本体上的光导/光纤进行。

图 11 是一幅由本发明点样器制作的。中国仓鼠卵巢细胞 (CHO) 以 $500\mu\text{m}\times 750\mu\text{m}$ 的点样沉积到聚苯乙烯基片上。该溶液中的细胞流到孔内，停止流动使细胞附着到基片上，然后通过流经该点样的细胞培养介质将过量未附着的细胞冲洗掉。当该点样器被压到基片上时，这些所有的操作进行实施。为了防止细胞附着到该点样器微通道的内表面上，将 0.63mol/L 的 F108Prill 的非离子型表面活性剂 (BASF) 流入微通道，并且使其培养过夜。

在点细胞之前，先将细胞培养介质以 6mL/hr 的速度通过该点样器的基片 4 分钟。将制备的 655×10^4 细胞/mL 悬浮液中的 $300\mu\text{L}$ CHO 细胞用注射泵以 3mL/hr 的流速持续 8 分钟泵入该点内。采用低流速可以防止流体剪切力对细胞的损伤。然后流动停止 20 分钟使细胞附着到基片上。然后将细胞培养介质以 3mL/hr 的流速流过该点样器 8 分钟冲洗掉过量细胞。为了防止细胞干燥，当细胞倒置显微镜上观测时，该点样器的界面对着表面，图 11 是一幅细胞沉积到基片上的图。

大量细胞结合基片是可能的。如果需要，该点样器可以结合类似加热线圈的升温装置。

2.3 生物传感器

该点样器和系统可以用于制备生物传感器，其基片为传感器并且准备键合到该传感器上的生物层由点样器输送到传感器上。此外，该系统 and 点样器可用于培育生物分子和化学物质以测试存在的生物传感器。

生物传感器可被当作放大的微分析。该生物传感器的表面是一种探针阵列。当靶化合物与传感器表面的特定点的探针反应时，产生的电信号可以识别该表面上的特定点。该特定点的探针通常在一种流体溶剂内。探针和靶化合物的反应可由光检测器检测到，其记录了在发生反应后反射光强度的变化。另一种检测选项是监测围绕该探针的流体溶剂的电学性质的变化。

该点样器可以用于更快捷、造价便宜和易于操作的生物传感器。关于如何完成的一个例子将在相关的 Yamazaki 等的美国专利 US6,699,719 中进行描述，（“719 专利”），名称为“Biosensor Arrays and Methods”。该‘719 专利披露了一种生物传感器其单个的阵列点具有表面性质类似于活体细胞的流体双分子层膜。有意义的是其双分子层膜可由类似的不同的人体细胞构成，例如 T 细胞、肌细胞、神经细胞、精细胞等等。该‘719 专利披露了在该双分子层膜内含有特定受体，然后将该受体暴露于宽范围的配体中以确定那种配体将键和该受体。该‘719 专利给出的例子是其至少部分双分子层膜包含乙酰胆碱受体（AChR），并且接着该生物传感器被未知组分的溶液充满以检测乙酰胆碱（ACh）的存在。相似地，该 AChRs 可用于测试类似 ACh 化合物的相容性。这样的过程在药物发明上是有用的。

该‘719 专利披露了如下方法制备生物传感器。首先，将基片修饰成凸起或凹陷结构的腔室。该腔室需要那种与“双分子层兼容性”的物质并

且该腔室要通过没有“双分子层兼容性”的“双分子层栅栏”彼此隔开。该双分子层形成于含有预定受体的脂质体。该脂质体悬浮液必须应用到潮湿腔室的基片上以避免流体的蒸发损失。脂质体悬浮液以微滴加入基片的腔室内。该专利中对微滴操作的所述两种选择采用修饰的墨水喷射打印装置和微移液管。然后将基片的整个表面充满水溶液直至该基片的腔室注满但不要溢出。该腔室喷出同样水溶液的薄雾直至展开的脂质体的微滴成膜。下一步，在基片上添加额外的水溶液。存在足够力量将前述的双分子层膜的脂质体保持在基片的腔室中。至此该生物传感器制备可用了。

本发明的点样器对制备类似‘719 专利公开的生物传感器具有很大的帮助。首先，该点样器靠近基片时其孔形成密封。因此，全部为“双分子层兼容性”物质的平的基片可以使用，例如硅。该“腔室”通过点样器的孔和导管壁形成于表面上。使用平面基片可以更加简化制备过程。第二，不需要对整个基片充满水溶液。该点样器导管可以输送适宜量的水溶液。第三，输送水溶液的同样的点样器导管可以输送微滴脂质体溶液，或者换句话说，分离的导管可以输送微滴。该点样器具有的优点是不需要必须封闭微滴实施装置的分离潮湿腔室。该点样器导管的最近端和任意流体连接到存储池易于密封，将点样器本身的导管插入潮湿的腔室。此外，在尝试排列基片“腔室”与墨水喷射、微移液管、笔等时不再需要任何固有的校准。不再需要潮湿腔室和避免了校准是更大的裨益。第四，喷射脂质体微滴也可以在点样器的孔和导管制备的腔室内完成。导管可以结合进点样器内，其管口对准孔。该水溶液可以流过该管口以雾化成微滴。第五，最终量的水溶液可以通过点样器的导管加入。

至此生物传感器可以含有靶化合物了，例如通过该点样器导管输送的配体。精确组分或未知混合物可以通入每个“腔室”。使用该点样器将减少污染的风险，因为生物传感器的“腔室”从不暴露于点样器外可能存

在灰尘和其他污染物的环境中。当然，在生物传感器形成步骤中间的任何需要的保温培养期也可以由该点样器完成。进一步说，使用该点样器可以促进第二和第三步骤的联合。该点样器降低了水溶液漫布整个基片的要求。因此它可以用一步而不是两步将具有水溶液的脂质体微滴通过基片。而且，如果需要，可涂布该点样器导管的末端以增加该导管的“双分子层兼容性”。这将有益的使得在第五步之后，当最后量的水溶液被加入“腔室”时该脂质体没有达到水溶液的表面，但是代替保持浸没在该点样器导管涂布区域的水平。

2.4 生物芯片

该点样器可以用于简化生物芯片。尝试用生物芯片制作“芯片上的实验室”并作为微观整体分析系统(μ TAS)也已经公知了。XEOTRON XEOCHIP®是一种 DNA 生物芯片的例子，作为 DNA 芯片[4]也已经公知。该 XEOCHIP®可以用于在一段时间内在一种碱基上构造例如 DNA 和 RNA 化合物。例如，制作的阵列在 XEOCHIP®上具有 254 个基因的 30 个基因复本。该 XEOCHIP®的基片使用微导管将碱基导入单个腔室。相同的碱基在相同的时间通入所有的单独腔室。然而，如果照射腔室，该碱基只连接到生长的 DNA 和 RNA 链上。因此，即使不同的寡核苷酸正在生长，所有的腔室可导入相同的碱基，例如鸟嘌呤，但是该鸟嘌呤只会连接到照射的腔室内生长的寡核苷酸上。这是由于光致酸(PGA)在照射的腔室内形成。本发明的点样器可以用于简化 XEOCHIP®的操作。

采用本发明点样器的一种可能的简化结果是 XEOCHIP®不再需要照射腔室。该 XEOCHIP®腔室占据了大约一角钱硬币大小的区域。需要一种精密的显微镜系统只对特定腔室进行适当的照射。本发明点样器的点样器表面可被修饰，使得 XEOCHIP®的各个腔室周围的各个点样孔密封。在这个实施例中，传统的 DMT-保护的含有适当酸的核苷亚磷酸胺可以只流入待修饰的腔室，代替照射腔室以形成 PGA。然而，那将导致一些

腔室不能被供给碱基。具有该点样器的另一种选择是给每个腔室供给适当的碱基。因此，寡核苷酸一直在生长，除非它已经完成。在那个实施例中，因为可以快速给一个腔室供给碱基，而不供给其他腔室，不但不需要任何镜子，而且该寡核苷酸还能快速生长。

此外，一旦寡核苷酸长成，就可以借助点样器将任意的靶化合物流过寡核苷酸。因此，不同的靶化合物可在同一时间供给相同的寡核苷酸的复本。或者，所有的寡核苷酸可供给同样的靶化合物。该点样器用于生长该寡核苷酸而不是用于接下来的测试。或者，寡核苷酸的生长和测试都可用该点样器。

本发明的点样器甚至也可用于进一步简化核苷酸的生长。该 XEOCHIP® 需要构成具有微导管和腔室的络合物基片。本发明的点样器也可以在一个不复杂的基片上，例如载玻片，以上所述的方式进行寡核苷酸的生长。本发明的点样器可完成微导管和腔室的功能。

2.5 其他基片

任何物质只要可以连接探针都可以被制成基片。多孔性或非多孔性基片可以用。同样地，软的或硬的基片也可以用，优选的基片物质为硅、玻璃、金属、塑料、和聚合物。

为了固定多聚核苷酸和多肽，由于多聚核苷酸和多肽可以共价连接到处理的玻璃表面上而且玻璃具有最小的荧光噪声信号，因此玻璃是一种优选的物质。该玻璃可以层叠在另一种物质上面，或者它可以是核心或基础物质，或者二者兼有。基片的另一个例子包括塑料或聚合物带作为带有硅涂层的基础基片。此外，可以进一步加上一层金属材料，或者加入与硅层带相对的背面上，或者夹在硅层和聚合物或塑料层中间。

该点样器导管和孔也可以在基片上设计成成型结构，例如在图 8C 中所示的孔和微通道。

3.0 沉积密度测试

最初的测试操作是将生物素酰化的蛋白质沉积在具有抗生物素蛋白链菌素/金涂层的基片上。该蛋白的吸附密度通过表面等离子体共振 (SPR) 进行测量, 并且伴随 Genetix Qarray Mini pin 点样器产生相对可变溶液浓度曲线。结果如图 12 所示, 0.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 溶液循环通过该点样器得到跟 13 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 点样针溶液相同的结果, 86-fold (8500%) 增加。这些测试中的后续步骤在下面进行描述。

蛋白质 A (免疫纯蛋白 Immunopure Protein A, 目录号 21181, Pierce Inc.) 用生物素 (EZ-Link Sulfo-NHS-Biotin, 目录号为 21217, Pierce Inc.) 酰化。目的是对抗生物素蛋白链菌素金芯片 (8500 抗生物素蛋白链菌素亲和芯片, Part No.4346388.AB) 的表面等离子体共振 (SPR) 提供特定的粘合。该蛋白质溶液溶解在浓度为 0.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 0.1X PBS 的缓冲溶液 (0.19mM NaH_2PO_4 , 0.81 mM Na_2HPO_4 , pH 为 7.4 和 15 mM NaCl) 中, 并且添加 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 BSA 以防止非特定的粘合。为了在芯片表面上重复循环溶液, 将 200 μL 的蛋白质 A 溶液加入 Phynexus MicroExtractor 100 注射泵中并且持续不断地来回以 75 $\mu\text{g}/\text{min}$ 的速度通入点样器 1 小时。然后用含有 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 BSA 的 800 μL 的 0.1X PBS 进行洗涤步骤。最后, 通过对组件上抽出气体将表面样品去除并用水洗涤芯片。为了比较连续流动固定的结果, 蛋白质 A 也可以采用固体针点样到相同芯片上进行固定。以相同浓度 (0.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的样品作为连续流动分配测试的样品点到芯片上。连接两组点对两种固定方法的准确性进行比较。采用 Genetix Qarray Mini 点样器进行固体针点样。为了沉积蛋白质 A 的浓度, 一系列增长的蛋白质浓度采用针点样器进行沉积以创制 SPR 响应的校准曲线。这种曲线用于计算该点样器的共价浓度, 以确定增加沉积密度的因素。

第二种测试用通过在铜丝模型周围铸造 PDMS 通道而制备的微型单孔点样器进行操作。通过将模型丝的端点插入 2mm $\times$ 2mm 的 PDMS 立方体确定点样区域, 并且将制备的大尺寸的点与使用的荧光测试装置相一

致。参考图 2、17 和 18。2 $\mu\text{g/L}$ 的荧光染料溶液在载玻片上以 2mL/hr 重复循环 60 分钟，目的是使得整个 2mL 的溶液中出现沉积。为了模仿上面的技术，将 3 μL 相同的溶液滴在载玻片上并晾干以形成与点样器相同面积的点。

微型点样器系统与现存的沉积技术比较得出点样器的沉积密度有大约 5 倍的增加，如图 13 所示，被比喻为典型的针式点样器系统。图 13 的条线图上的误差条显示数据集的一种标准偏差。图 13 的插入图显示了每种测试样品的分光光谱图。插入图中最重要的数据在 614nm（荧光输出的中心）。它们当中显露的峰形都不是滤除干扰峰留下的峰。图 14 是图 13 的插入部分图的标准形式。

4.0 制作

点样器可由任何与流过该点样器的物质相兼容的物质以适宜的制作方法进行制作，例如硅、二氧化硅、聚二甲基硅氧烷（PDMS）、砷化镓、玻璃、陶瓷、石英、如氯丁二烯橡胶、TeflonTM、聚乙烯人造橡胶、聚丁二烯/SBR、腈、尼龙的聚合物、金属、任何其他与流过该点样器的物质相兼容的物质，以及它们的结合。为了减少点样器微通道内物质的连接，希望制备点样器的物质与流过其的物质具有低的亲和力。此外，该导管的内径可以涂布合适的物质以降低将要流过的物质与导管本身之间的亲和力。

本发明的点样器将有多种制备方法。点样器可通过清洁适宜物质的晶片制作，如果需要，在晶片上涂底漆，通过铸造在芯片里添加物质，成型，氧化，沉积、或任意其他适宜的方法，经加工减去物质，打磨，蚀刻或一些其他适合的方法。附加的晶片可以结合到修饰过的晶片。此外，上述步骤也可以以任意需要的顺序进行操作。

也可用附加的制作方法。例如，不使用半导体制作方法，而使用不锈钢微金属丝模型。在适当的物质固定后，移掉该微金属丝留下空间形

成微通道。

或者采用模型形成点样器表面，然后将微管道装配在模型点样器表面的背面。如果在固化制作点样器表面物质之前插入微管道这样将使操作顺利。

此外，该点样器几乎全部由微管道制作。本领域中可以采用已知广泛的多种半导体制作技术，不但用氧化硅，而且也可用其他物质的管，来制备、修饰、和连接本发明的微型管。一种蚀刻氧化硅的技术是在氧化硅管的部分上涂布锗，这样比不涂布的区域蚀刻的更快。因此，如果需要，以一种预定方式，在相应区域涂布的管将被蚀刻并连接。在环形实施例中的微型管不需要全部蚀刻，而是将窄的微型管保护在较大微型管里面。

下面讨论一些采用标准半导体制作技术的制作实例。

4.1 实例 I

4.1.1 概要

下列实例 I 制作 4 孔点样器。下列的制作工艺可以分为五个主要步骤：SU-8 模型制作和准备；PDMS 的铸造和固化；射流口的钻孔；用 PDMS 板密封通道；用剃刀边缘切割点样器的表面。这个实施例中整个制备工艺包括该 SU-8 模型的成型，该成型过程大约花费 10 个小时。

通过由平板印刷了图案的 SU-8 模型铸造 PDMS 通道来制作 4 个 $100\mu\text{m}$ 大小通道的线性阵列[3]。一旦该微观通道从模型中释放出来，它们将被使用氧等离子体的 PDMS 板紧紧密封住。通过微通道基片上钻孔采用修饰的 20 号规格的注射针完成填充并将一未修饰的针插入该钻出的空洞中。它的微通道可以成对排列在每个孔处，每对交叉于一个特定点。每个点区域利用微通道对交叉点来裂开 PDMS 确定，在劈开的面上制备孔来连接一对微通道管。由于所有的交叉点排成一直线，可采用单纹锉打开所有的点成劈开的面，产生线性阵列。然后将劈开的点样器的面压

靠到沉积物基片上，并且该劈开面上孔的截面将确定出该点的沉积面积。更多的描述将在下文给出。

4.1.2 SU-8 模型制作和准备

该 SU-8 模型由照相平板印刷制成。在使用高分辨率打印机（Lithopointe）制备模型之前，优先制备乳胶掩膜并用于模型制备工艺。该流体微通道成对安排在掩膜上，每一微通道的一端指向一出口，并且另一端在孔处与其成对的微通道连接。所有的微通道为 $100\mu\text{m}$ 宽并且交叉点的孔的宽度也是 $100\mu\text{m}$ 宽。简单地改变掩膜设计可使孔的周围轻易地改变，例如收缩和紊流发生。安排成一直线的四个点，该点样口由 $500\mu\text{m}$ 的间距隔开。为了易于填充，微通道的另一端指向的出口以 5mm 空间分隔开。在图 15、19、20 和 22—24 中清楚地示出了仅有单孔的实施例。

一种 76.2mm 单边抛光的硅晶片用作 SU-8 模型的基片。该晶片在 95°C 下预热 10 分钟以去除表面的水分并提高粘附力。一旦晶片冷却，SU-8 50（Microchem）以 1300rpm 旋制 60 秒以产生一 $100\mu\text{m}$ 厚的层，参考图 19。该晶片在 65°C 下软烤 3 分钟并在 95°C 下保持 2 小时以尽可能多地固化光刻胶溶剂。该微通道结构具有 1: 1 的纵横比。软烤工艺之后，将晶片冷却用于曝光。

该晶片暴露于 365nm 的光源校准器（EVG）下，但是该曝光过程将选择允许使用乳胶掩膜。该掩膜直接放置在该晶片的大约中心处，使乳胶侧对着 SU-8 并用 101.6mm 的玻璃板覆盖，参见图 17。然后将晶片插入光刻机并在 $430\text{mJ}/\text{cm}^2$ 剂量下曝光。在 65°C 下曝光后烘烤 3 分钟，并在 95°C 下、15 分钟以内完成暴露的抗蚀剂的交联。将该晶片展开浸入丙二醇甲醚醋酸酯（PGMEA）（Microchem）20 分钟，在异丙醇中洗涤并喷射氮气进行干燥。

硅晶片通常在表面上具有薄的天然氧化层，它可以很牢固地连接

PDMS，防止铸件从模型中脱落。为了防止这些，用氟硅烷化试剂（fluorosilanizing）十三烷基-1,1,2,2-四羟辛基（tridecafluoro-1,1,2,2-tetrahydrooctyl）三乙氧基硅烷（Gelest）的碳氟化合物层覆盖天然氧化物，参见图 21。该氟硅烷在含有晶片的真空室中蒸发 2 小时，使表面反应以控制的速率出现并形成单分子表面层。该硅烷基团优先连接到氧化物层，剩下碳氟化合物的残基粘附到晶片表面，防止结合 PDMS。一个空白的 76.2mm 的晶片也可以连同 SU-8 模型一起涂布以提供该微通道盖片。

4.1.3 PDMS 的铸造和固化

使用的 PDMS 来自供应者（Dow Corning），并被直接使用。将 40mL 的基础树脂以体积比为 10:1 的比例混合进固化试剂并进行完全混合。将预聚物混合物置于真空中 1 小时以去除所有的气泡，然后将其分成两个相等的部分给每一模型。将该预聚物浇注在每个晶片上并使其放置均匀。然后将该晶片置于真空中放置 1 小时以去除模型和预聚物之间截留的所有气泡。一旦所有气体从模型中排出，将其放入 65℃ 的烘干炉中固化 2 小时。固化完成后马上将铸模从模型上剥除，在异丙醇中洗涤并通过喷氮气干燥，参见图 22。

4.1.4 射流口的钻孔

将 PDMS 盖片放置于密封的容器内以防止在口的钻孔工艺中灰尘的污染。从 PDMS 的微通道板中切割出通道口在铸模微通道一侧，带有简单微通道的空洞成队排列。采用改进的 20 规格的注射针进行钻孔工艺，该注射针的前端被削尖，呈斜坡刃口，参见图 23。这种刃口使钻孔工具将 PDMS 切割整齐，在板片的微通道面上形成圆柱孔，使其外面与针的镗孔有大概相同的直径（0.58mm）。为了将现存的流体通道系统连接到微通道上，将未改进的 20 规格的针插入空洞中，并将适宜的 LUER™ 接到针上。在针和 PDMS 之间的密封是纯粹的机械操作，通过收缩较大外

径针（0.91mm）周围的较小孔径（0.58mm）进行。已经证明这种流体接头非常的结实耐用，并能经受住剧烈的撞击和处理，也能经受住针的多次插入和拔出。在微通道密封之前，将该针的接头移开使 PDMS 板片水平放置在氧等离子室内进行表面处理。

4.1.5 通道密封

为了在 PDMS 微通道铸模和 PDMS 盖片之间形成密封，采用氧等离子在密封表面上形成一层薄的二氧化硅层，参见图 24。一旦将该氧化表面按压到一起立即形成隔绝空气的密封，有效地密封了微通道。然而，这种表面处理必须在从模型中剥除 PDMS 铸模的数小时内进行。在刚好进入氧等离子室之前将 PDMS 铸模再次全部放入异丙醇中洗涤并喷氮气干燥。氧等离子在 125W RF 功率下并在 75sccm 纯氧及 300milliTorr 室压下运行 45 秒。在从室中移开数秒内，该 PDMS 表面对准并压到一起，密封微通道。为了确保板片密封彻底，将它们夹紧置于室温中放置 2 天时间。一旦密封过程完成，用刀片将该板片修整齐整以备点样器表面的切割。

4.1.6 点样器表面的切割

该点样器的表面通过流体微通道对的交叉点的截面进行确定。四对微通道交叉点排列成一直线使得所有四个交叉点可以被一次切开并且在单面上形成四个点，参见图 15。为了较容易地切割整齐，微通道对的交叉端拉制成 $100\mu\text{m}\times 100\mu\text{m}$ 和大约 2mm 长的通道。切割通过通道，并尽可能靠近交叉点使得点样表面的死角最小化。通过多个点样器上可重复点样器表面位置的校直叶片使得这种切割的准确位置可以得到精确的控制。一旦将点样器的表面切出，将注射针流体接头放回原处，该点样器可以使用了。

4.1.7 点样器的操作

这个实施例中点样器的操作需要被点样表面相对干净且平滑，使得

该点样器面形成液封。然后必须将该点样器面压在所需区域上并在流体流动过程中保持住，参见图 3。每条微通道对连接到流体接口使流体进口和出口成直线。将新的和重复循环的流体泵入流体进口并同时将废弃物和过量流体泵出。在较高的流速沉积中，在点样器中注入和抽取流体将防止在只注入时出现的裂缝。在点样区域上的多种成层和洗涤也可以通过改变流过该点的流体进行简化操作。此外，该点样器可以用于给其他微流体系统输入流体，简单地将该点样器面压靠到通道阵列表面上。微通道内壁的表面修饰易于使用溶液操作，例如 BSA（牛血清蛋白）减少物质的堵塞。另一方面，该点样器造价便宜可作一次性的，消除了污染问题。

4.2 实施例 II

点样器制作可分为三步过程。首先，PDMS，或任何其他适合的物质用来在模型（例如确定的平板印刷模型）上形成膜。模型里的凸出用于确定点样孔。这个步骤制作了点样器的表面。第二，将微通道形成于第二模型上以连接流体交叉点。第三，该微通道层连接到点样器表面的背面，该点样器表面和微通道层同时从模型中剥除出来。

铸模过程产生一个平滑的下表面，当基片是平滑的时候使点样器和基片更易于液封。流过每个点的流体受单独控制并且点样的形状、数目和排列可根据需要定做。合适的模型使得点样器的表面可密封靠到不平坦的基片上，例如微整体分析系统、生物传感器、核传感器。

在实施例 I 中该点样器表面和点样器导管可同时形成或在实施例 II 中分开进行。总之，两种情况该部分都可以通过灌铸、平板印刷形成、或一些其他方法形成模型。

这里通过引用结合的所有的参考文献，包括出版物、专利和专利申请，同样的范围就像每篇参考文献单独及特别结合和在这里它的全部进

行说明一样。

然而特别提出，前述的技术和实施例已被充分公开以及本发明由如下权利要求进行描述。对前述技术和实施例的大量的和可变的选择对任一本领域技术人员来说是显而易见，并不脱离本发明的本质和范围，因此，本发明仅用权利要求进行限制。

参考文献

- [1] I. Papautsky et al. Parallel Sample Manipulation Using Micromachined Pipette Arrays Microfluidic Devices and Systems, Proceedings SPIE, Vol. 3515 (September 1998), pp. 104-114. TS510.S63x vol.3515.
- [2] Charati et al. Diffusion of Gases in Silicone Polymers: Molecular Dynamics Simulations, Macromolecules, Vol. 31 (1998), pp.5529-5535.QD 380.M2x.
- [3] Anderson et al. Fabrication of Topologically Complex Three-Dimensional Microfluidic Systems in PDMS by Rapid Prototyping, Anal Chem, Vol.72,no. 14(July 15, 2000), pp.3158-3164.TP1.I615.
- [4] <http://www.invitrogen.com/content.cfm?pageid=10620>, downloaded June 30, 2005.

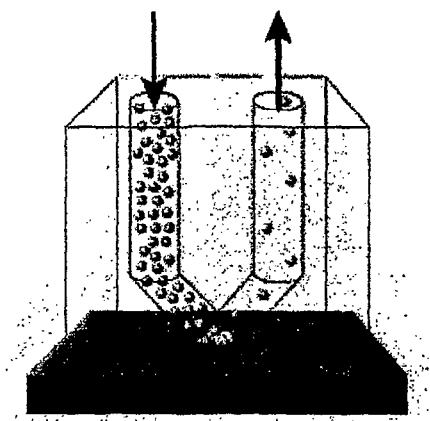


图1

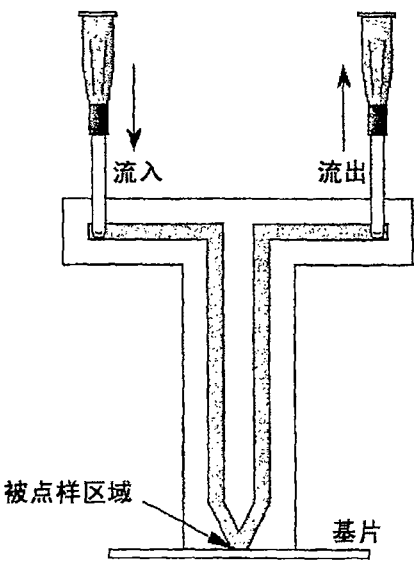


图2

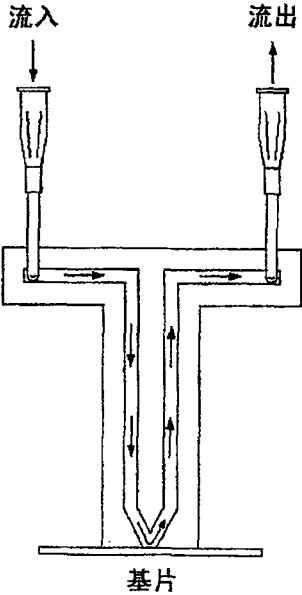


图3

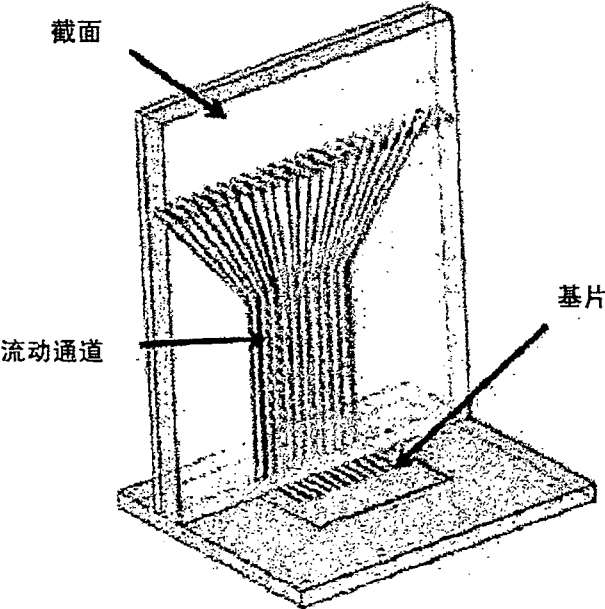


图4

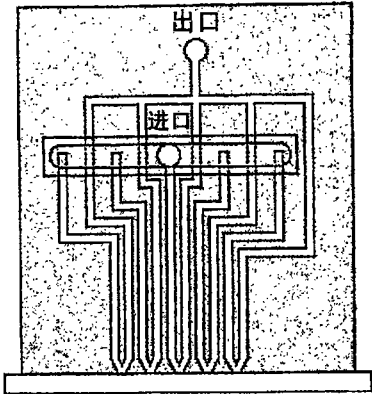


图5

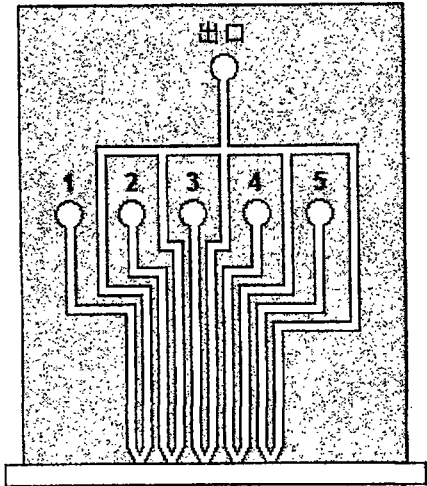


图6

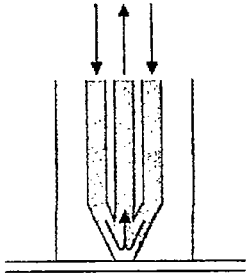


图7

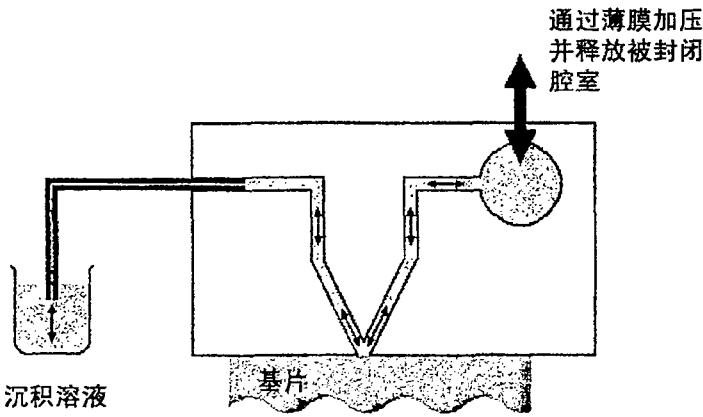
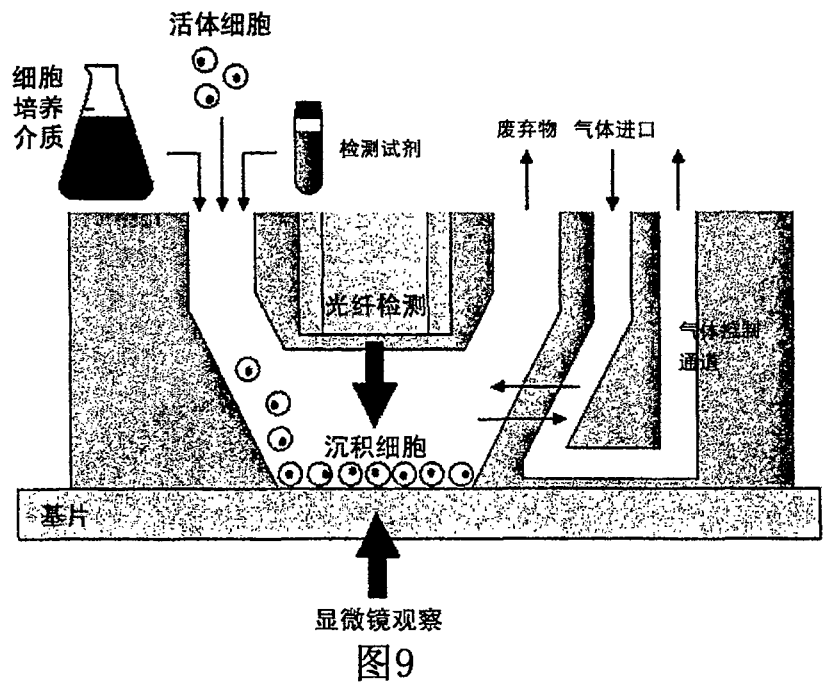
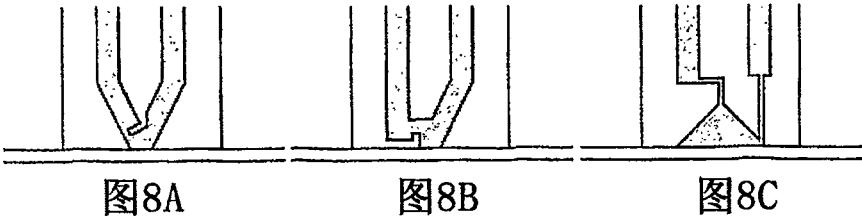


图10

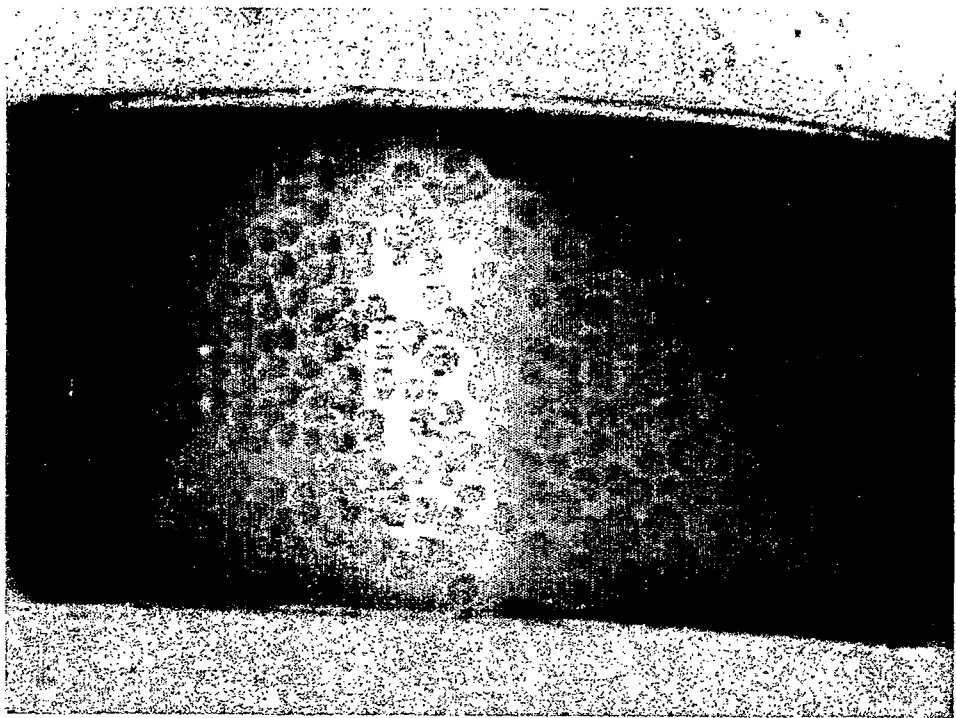


图11

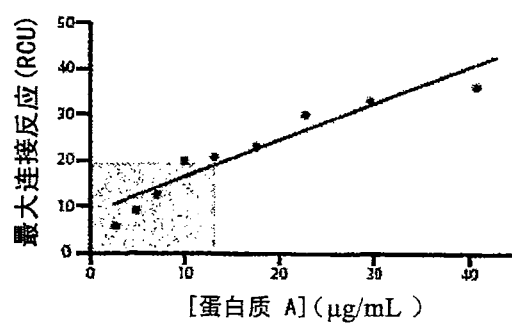


图12

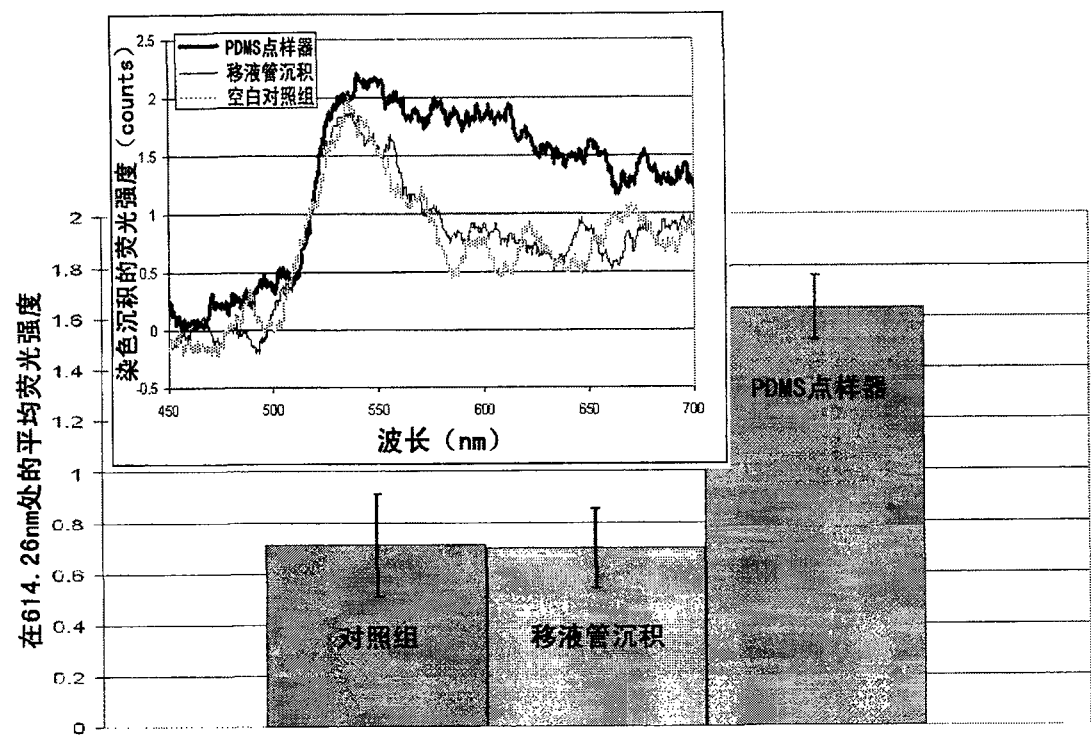


图13

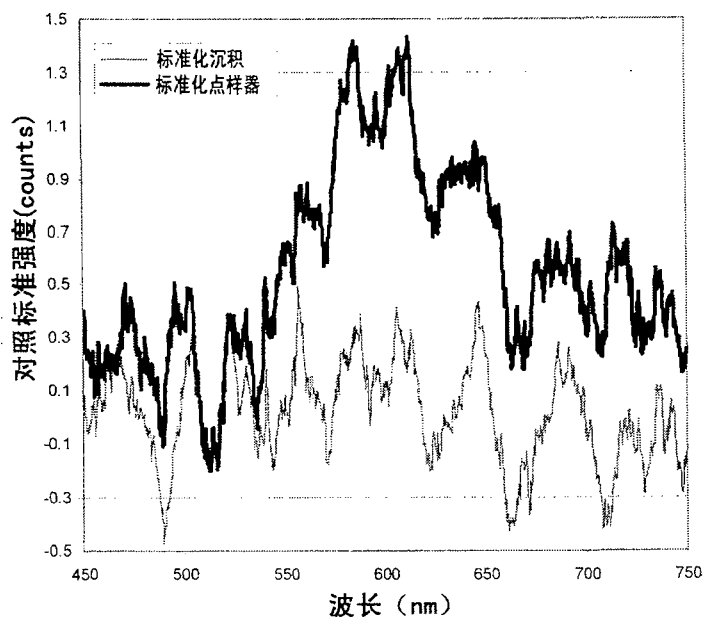


图14

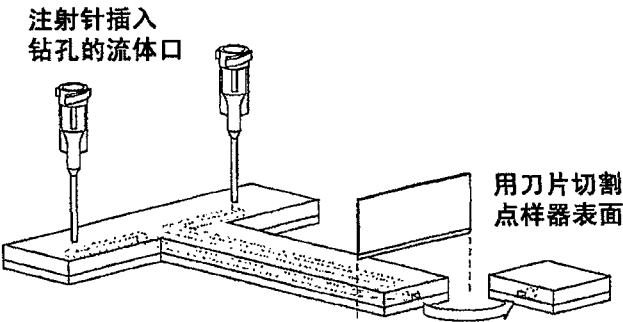


图15

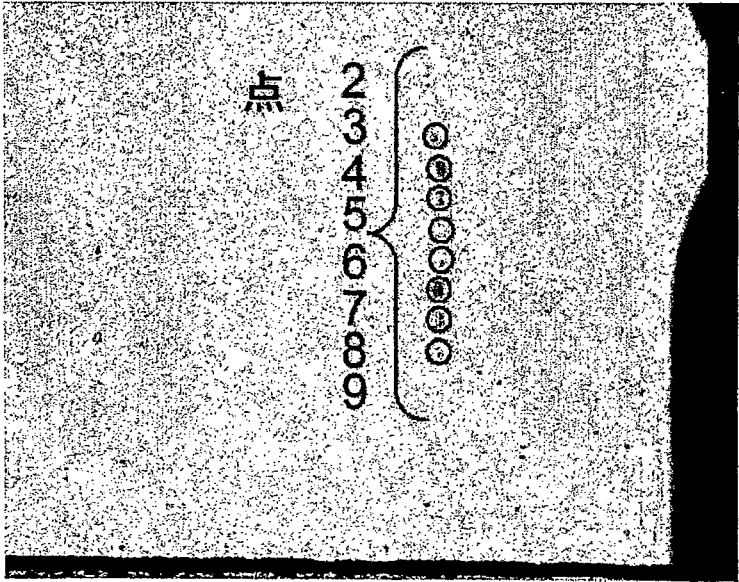


图16

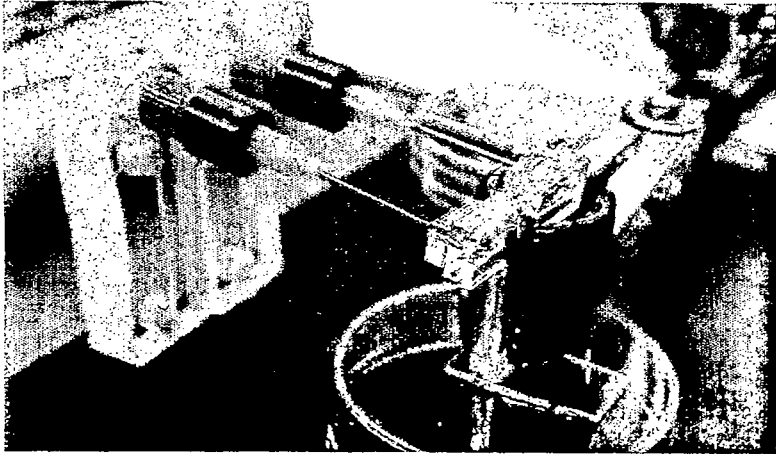


图17

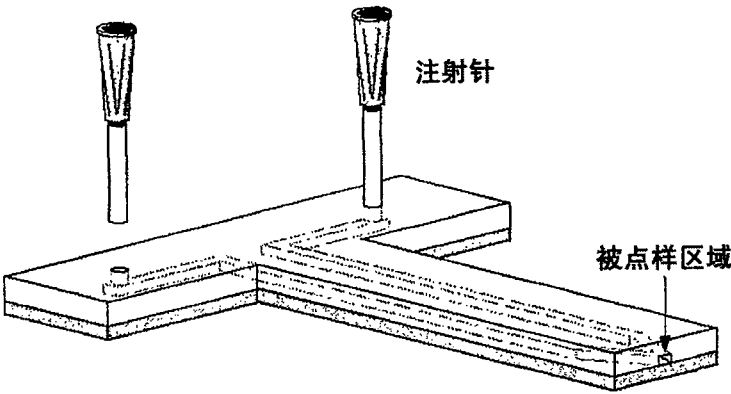


图18

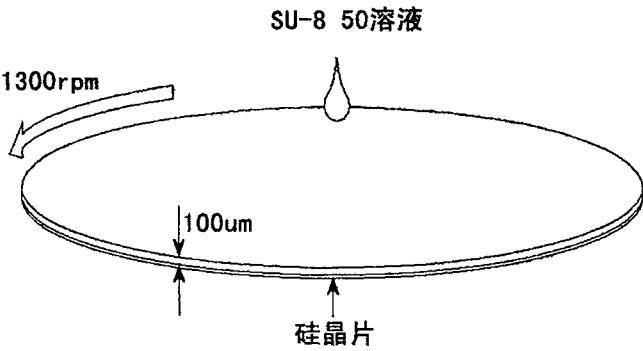


图19

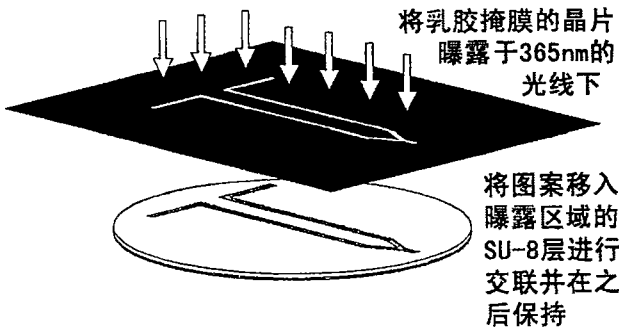


图20

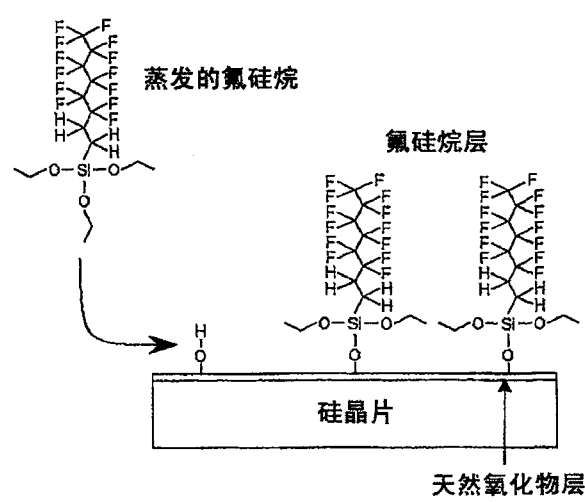


图21

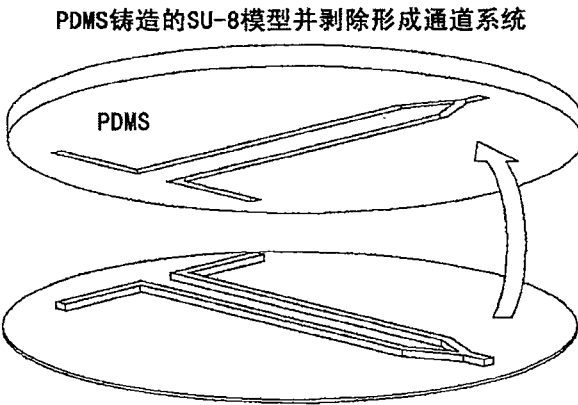


图22

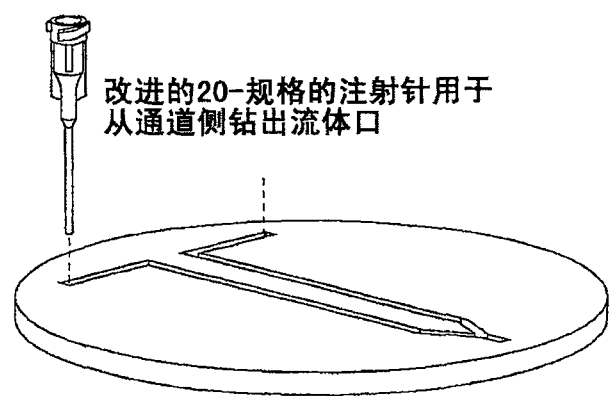


图23

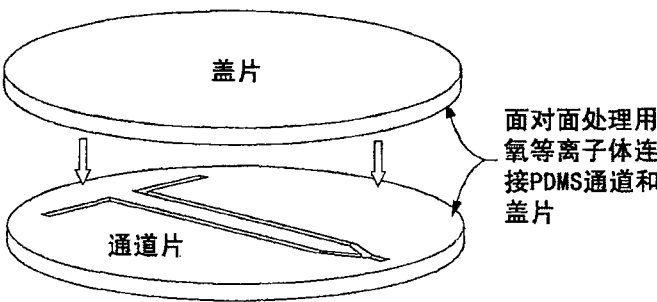


图24