

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

G01N 27/22

G01N 27/30 G01N 35/00

G01N 33/50 G01N 33/68

C12Q 1/68



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03129410.3

[43] 公开日 2003 年 12 月 24 日

[11] 公开号 CN 1462878A

[22] 申请日 2003.6.20 [21] 申请号 03129410.3

[71] 申请人 复旦大学

地址 200433 上海市邯郸路 220 号

[72] 发明人 孔继烈 林殷茵 刘宝红 张松  
李爱珍 黄宜平

[74] 专利代理机构 上海正旦专利代理有限公司

代理人 姚静芳 王福新

权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 2 页

[54] 发明名称 微电极阵列芯片传感器

[57] 摘要

本发明是微电极阵列芯片传感器。现有该类芯片传感器制备复杂、成本高、灵敏度不高。本发明提供了一种硅基表面的微电极阵列芯片传感器，该微电极阵列由叉指状微电极组成，该结构使正负电极之间距离足够小，保证了正负极之间电沉积聚合功能分子时，膜厚度均匀可控；同时正负极发生反应时电子传输速率远高于平面电极，被测物在电极表面的传输速度也很快，因而这种叉指状设计优于平面电极，从而大大提高了检测灵敏度；该芯片运用 MEMS 技术，使制备工艺简单，操作方便，若将芯片表面作各种用途的修饰，本发明可用于不同用途的芯片传感器制作。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1、一种微电极阵列芯片传感器，由硅片基材上的微电极芯片和检测池组成，其特征是芯片上的微电极阵列是叉指状，即每对电极的正电极（1）、负电极（2）是叉指状迂回排列，正负电极之间的间距是 10~100  $\mu\text{m}$ ，线宽是 10~50 $\mu\text{m}$ ，叉指数 4~10 个，微电极的引出线（3）位于芯片两边；检测池（4）位于芯片上，并通过透明盖板（5）的封装与芯片呈一体，检测池的面积与芯片的微阵列面积相当，即芯片微电极阵列面是检测池的底，检测池的上面是透明盖板（5），参比电极孔（6）位于透明盖板上，检测池对应两边分别是流动液体的进口（7）、出口（8），通过电分析仪检测信号。

2、根据权利要求 1 所述的微电极阵列芯片传感器，其特征是正负微电极之间的距离是 10-50  $\mu\text{m}$ 。

3、根据权利要求 1 所述的微电极阵列芯片传感器，其特征是芯片上微电极阵列是 1-20 对。

4、根据权利要求 1 所述的微电极阵列芯片传感器，其特征是检测池与透明盖板之间是密封垫（9）。

5、根据权利要求 1 所述的微电极阵列芯片传感器，其特征是芯片与透明盖板之间是螺钉（10）固定。

## 微电极阵列芯片传感器

### 技术领域

本发明是一种基于微机械加工技术的微电极阵列的芯片传感器。

### 背景技术

芯片传感器是当前国际发展非常迅速的一种化学分析手段。它具有许多独特的优点，如灵敏度极高，可大批量生产（价格低廉），动态响应性能好，尺寸大大缩小，精度高，可靠性好，易制作成多元素的传感器阵列，可实现和电子，机械系统集成在一起的芯片等。由于其应用范围极广，可作为多种化学生物传感器，可以工作在气体，真空和液体的环境。所以它可成为对化学成分生物分子作实时、在线的探测工具。这些特点是其他许多类型传感器难以做到的。

过去 10 年中，关于微阵列芯片的中国专利达 83 项，如中国专利“多次压印定点合成法制备化合物微阵列芯片的方法”（申请号 98111220，公开号 1193049），其首先根据所需化合物的微阵列设计制备一套微印章，然后根据原先的设计在制备的各微印章上涂上一层对应的化学反应物，最后按照设计的顺序将涂有化学反应物的微印章逐个依次压印在同一个基片上，利用微印章的凸凹来控制基片上化学反应的位置，最后在基片上形成所需的化合物微阵列芯片。再如“基于电子网板和丝网印刷技术的高密度化合物微阵列芯片制备方法”（申请号 99114435，公告号 1096627），其特点在于：（1）根据所需的基因芯片设计和制备具有微反应通道系统的反应模板；（2）利用微反应模板与基片之间的准确定位形成密封的微反应区，利用丝网印刷或喷淋的方法在微反应区加入对应的化学反应物；（3）按照设计的顺序，通过定位装置，更换模板，变换微反应区，从而在基片上形成所需的含不同化合物微单元的微阵列芯片。又如“制备化合物微阵列芯片的方法及由该方法制备的化合物微阵列芯片”（申请号 99106790，公开号 1274758），系采用微反应池母板分步定位在基片上合成制备化合物微阵列芯片的方法。

此外在大部分公开的微阵列芯片发明中，有不少均与生物芯片有关，这类芯片的制备方法均采用化学/生物反应固定生物物质如 DNA、RNA、细胞、组织等，芯片本身与检测系统分离，并不涉及的信号检测部分。对于芯片上反应的信号需要借助荧光标记后用荧光光谱仪检测。如“自身免疫性疾病联合诊断的蛋白质芯片”（申请号 01126929，公开号 1338633）

主要是将与自身免疫病各项指标相应的蛋白质通过化学键连接于固相载体上而被固定,将所述蛋白质样品点阵于多样品微阵列生物芯片的同一个腔室内,使多样品微阵列生物芯片的每一个腔室均点阵了上述多项指标的抗原。检测方法使用标记荧光检测法,再如基于自身抗体谱抗原微阵列的制作方法(申请号 01127073,公开号 1343887),通过点样设备将不同的生物大分子抗原点阵至上述修饰后的基片表面,制成所需芯片,对芯片信号进行检测,用显微镜或荧光扫描采集样本信息。此外,申请号为 01132492 至 01132499,01135856-01135877,01137660-01137677 的数十个专利均是与水稻基因芯片有关的专利,新的表达序列标签应用微阵列技术制成表达序列标签组合基因芯片,检测手段均未采用电化学检测技术。

现有该类芯片成本高、操作复杂、被分析对象有一定限制。

### 发明内容

本发明的目的是提供一种利用现有技术制备得到的结构新颖、简单实用、操作方便、灵敏度高、可用于多种检测对象的微电极阵列芯片传感器。

本发明微电极阵列芯片传感器,由硅片基材上的微电极阵列芯片和检测池组成。芯片上的微电极阵列是叉指状,即每对电极的正电极、负电极是叉指状迂迴排列,微电极的引出线位于芯片两边。检测池位于芯片上,并通过透明盖板的封装与芯片呈一体,检测池的面积与芯片的微阵列面积相当,即芯片微电极阵列面是检测池的底,检测池的上面覆有透明盖板,电极孔在透明盖板上,参比电极与检测仪的连接线自孔中引出,检测池对应两边分别是流动液体的进口(7)和出口(8)。检测样品时,待测液体可以是流动相,若进出口关闭,待测液体是非流动相。

上述微电极阵列中,正、负微电极之间的距离在 10~50  $\mu\text{m}$  较好,在不增加工艺制备难度的基础上,使传感器灵敏度增加。

电极以 1~20 对为适,根据检测要求的不同决定电极的对数。随着电极对的变化,检测池大小(尤其是底面积)也作相应的改变。

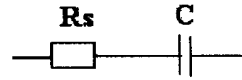
在芯片封装时,以芯片作为检测池底部一体封装,检测池上部凸起在封装完毕的芯片上,其上面用透明盖板盖严,周围用密封垫封闭,以防待测液体流动时的泄露。透明盖板与芯片之间通过螺钉固定。

上述微电极阵列芯片传感器制作时采用微电子机械加工技术(MEMS),即在硅片上使用物理表面制膜方法分别制得 10~200 nm 的钛膜、50~500 nm 的金膜,将电极阵列制照相阴版掩膜,然后光刻,再用化学沉积法(PECVD)制 100~300 nm 的二氧化硅绝缘层,退火,将电极引出线用环氧树脂封闭即可。

本发明测定传感器电容的方法使用电位阶跃法，其原理如下：

电位阶跃法：

该方法基于将电极体系视为一简单 RC 串联电路



对此电路施加一个小电压脉冲（如 50mV）后，其放电电流将指数衰减。表达式如下：

$$i(t) = u/R_s \exp(-t / R_s C_s)$$

$i(t)$  为电极电流响应值， $u$  为施加到电极表面电压， $R_s$  为电解液电阻， $C_s$  为电极电容。对响应电流取对数并对时间作图，将得一线性曲线。从该曲线的斜率和截距可计算电极电容值。该方法的优点在于：可在微秒级的时间内通过电极电流衰减测定电极电容，便于实现多通道、多目标临床检测；同时拟合过程简便，易于实用化。

本发明提供了一种硅基表面的微电极阵列芯片传感器，该微电极阵列由叉指状微电极组成，该结构使正负电极之间距离足够小，保证了正负极之间电沉积电聚合功能分子时，膜厚度均匀可控；同时正负极发生反应时电子传输速率远高于平面电极，被测物在电极表面的传输速度也很快，因而这种叉指状设计优于平面电极，从而大大提高了检测灵敏度；该芯片运用 MEMS 技术，使制备工艺简单，操作方便，若将芯片表面作各种用途的修饰，本发明可用于不同用途的芯片传感器制作。

表 1-3 列出了本发明传感器实验结果。

其中表 1 芯片阵列电极编号如下：左部分为 A 系列，从  $A_1$  到  $A_9$ ， $A_0$ ，右部分为 B 系列，从  $B_1$  到  $B_9$ ， $B_0$ 。第一次设计制作的芯片上每对电极规格如表一所示：

表 1 叉指状电极阵列的几何尺寸和面积

	线宽 ( $\mu\text{m}$ )	间距 ( $\mu\text{m}$ )	叉指数目	电极面积 ( $\text{cm}^2$ )
A12, B12	10	30	4×2	$8 \times 10^{-4}$
A34, B34	10	20	8×2	$1.6 \times 10^{-3}$
A56, B56	10	10	8×2	$1.6 \times 10^{-3}$
A78, B78	20	20	8×2	$3.2 \times 10^{-3}$
A90, B90	20	20	4×2	$1.6 \times 10^{-3}$

表 2 不同规格的叉指电极检测抗原 HABP 和 LN 的灵敏度和响应范围的比较((nF/cm<sup>2</sup>)/(ng/mL))

	灵敏度 ((nF cm <sup>-2</sup> )/(ng mL <sup>-1</sup> ))		响应范围 (ng mL <sup>-1</sup> )	
	HABP	LN	HABP	LN
A12, B12	0.6106	5.119	0.5-88	0.1-35
A34, B34	0.2345	1.989	0.5-188	0.1-55
A56, B56	0.2890	1.219	2-88	0.8-35
A78, B78	0.4718	2.220	0.5-188	0.1-55
A90, B90	0.3287	2.069	0.5-188	0.5-55

表 3 叉指状电极修饰的阻抗、容抗及时间常数

	阻抗	容抗	时间常数
	(KΩ)	(nF)	(R×C) (μs)
A12,B12	85.5	1.5131	129.3
A34,B34	52.2	1.9474	101.6
A56,B56	120.2	0.8805	105.8
A78,B78	38.8	3.6581	142.1
A90,B90	49.9	2.6832	133.9

### 附图说明

图 1 是本发明微电极阵列芯片传感器的平面图。

图 2 是本发明微电极阵列芯片电极放大图。

图 3 是与本发明微电极阵列芯片传感器相结合的检测池结构图。

图 4 是本发明对 HABP、LN 抗原分子检测的电容响应图。

曲线 a、b 显示了电极规格为线宽、线间距均为 20 μm 的梳状电极在分别修饰了 HABP、LN 抗体分子后,对溶液中的 HABP、LN 抗原分子检测的电容响应图,为了给出更清晰的信

号,此图纵坐标为电容变化值。由图可看出,线宽和线间距均为  $20\ \mu\text{m}$  的梳状电极对于 HABP 分子的检测范围为  $0.5\text{--}188\ \text{ng/ml}$ ,对 LN 分子的检测范围则为  $0.1\text{--}55\ \text{ng/ml}$ 。需要注意的是,使用平面电极测得的同样抗原体系的单位面积的电容变化(灵敏度)远不如上表所列数据,后者对 HABP 及 LN 的响应范围分别为  $2\text{--}50\ \text{ngmL}^{-1}$ ,  $1\text{--}50\ \text{ngmL}^{-1}$ ,仅为前者的  $1/4$  和  $1/10$ 。再与目前这两种抗原的常规测定方法(即酶联免疫法)的灵敏度分别为  $5\ \text{ng/ml}$  和  $1\ \text{ng/ml}$  相比,因此,本发明对抗原的检测灵敏度提高了 10 倍。

上述图中,1 是正电极、2 是负电极,3 是引出线,4 是检测池,5 是透明盖板,6 是电极孔,7 是检测池进口,8 是检测池出口,9 是密封垫,10 是螺钉,11 是安装基座,12 是线宽,13 是电极间距。

### 具体实施方式

微芯片的基材为一片 n-型或 p-型 100 单晶硅,尺寸为长度  $3\ \text{cm}$ ,宽度  $2.0\ \text{cm}$ 。使用物理表面制膜手段真空蒸镀法在该硅片表面可制备一层金属钛膜,厚度为  $100\ \text{nm}$ ,然后在其上采用同样方法制备一层厚度  $300\ \text{nm}$  的金薄膜。将根据需要设计的微电极阵列制作为照相阴版掩膜,使用光刻蚀技术将掩膜未遮盖部分的金属层(钛和金层)去掉。然后在去掉金属层的部位使用等离子增强的化学沉积法(PECVD, Plasma Enhance Chemical Vapor Deposition)制备一层厚度为  $150\ \text{nm}$  的二氧化硅绝缘层。然后,整个芯片置于氧气氛中于高温  $500$  度下褪火  $30$  分钟。叉指状微电极的引出线部分用环氧树脂封闭。

用 PET 膜制作一长  $x$  宽  $x$  高是  $1\ \text{cm} \times 0.5\ \text{cm} \times 0.1\ \text{cm}$  的  $50\ \mu\text{L}$  检测池(4),芯片封装时将其一同封装,该检测池以芯片为底,其上面盖一透明盖板(5),并有密封垫密封,参比电极引出线(3)从盖板上电极孔引出连至检测仪(11)。盖板与芯片之间用螺钉(10)固定,检测池的液体进口(7)出口(8)可通过微管道与传感器外部的微进样器连接。若将芯片作以下修饰,则可用于生物医药等多领域的各种样品检测:

本发明可以通过双功能试剂将肝病血清标志物单克隆抗体修饰到预先电聚合的绝缘膜的表面,也可采用电化学原位共沉积的方法将抗体包埋于电聚合的膜中,从而制备出用于不同目标抗原检测的芯片传感器。也可以制备聚邻苯二胺绝缘膜包埋的抗体膜并使用电位阶跃法测定结合抗原的电容变化。采用高分子溶胶-凝胶固定抗体膜也是尝试的手段之一,或者用于常规尺寸电极表面的生物酶和抗体的修饰固定。

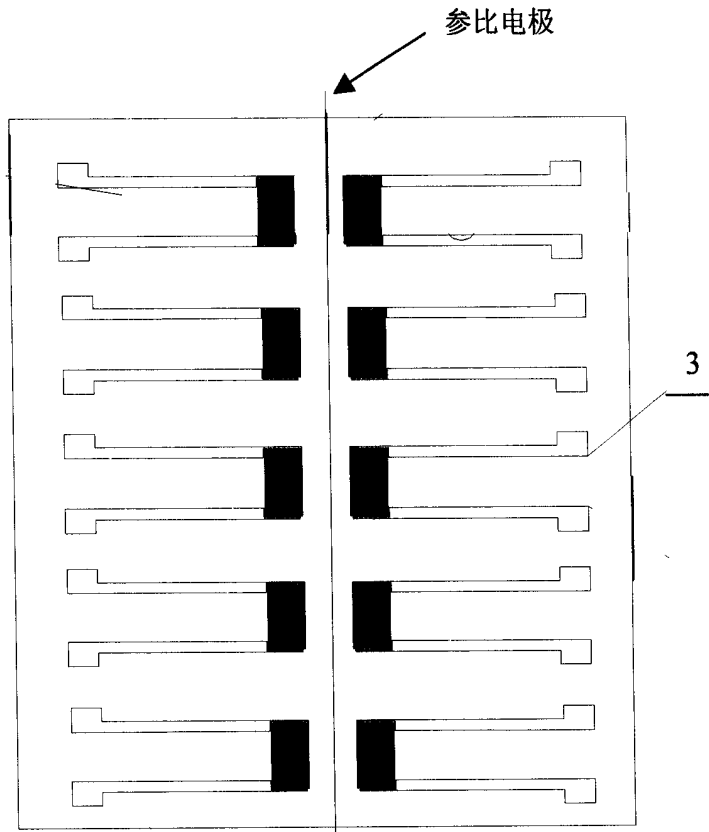


图 1

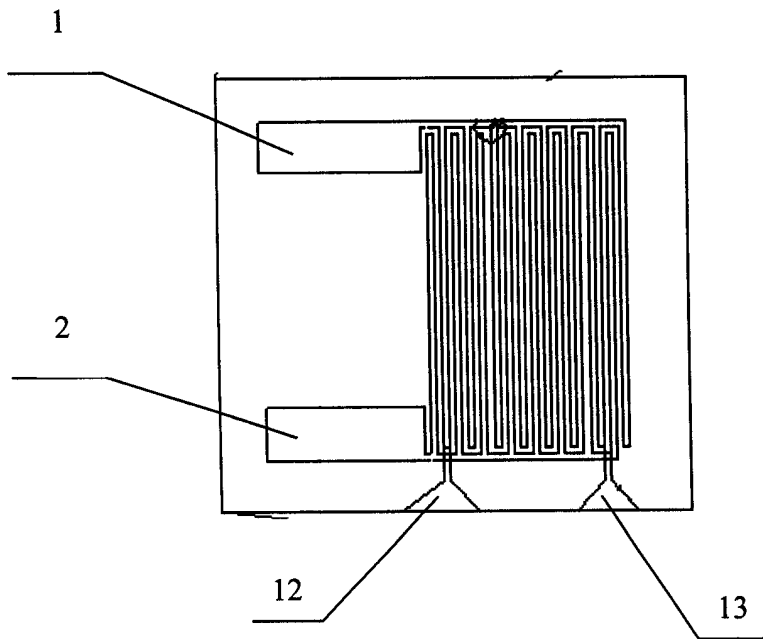


图 2



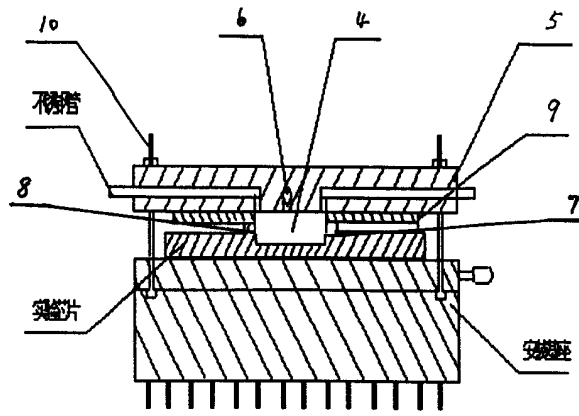


图 3

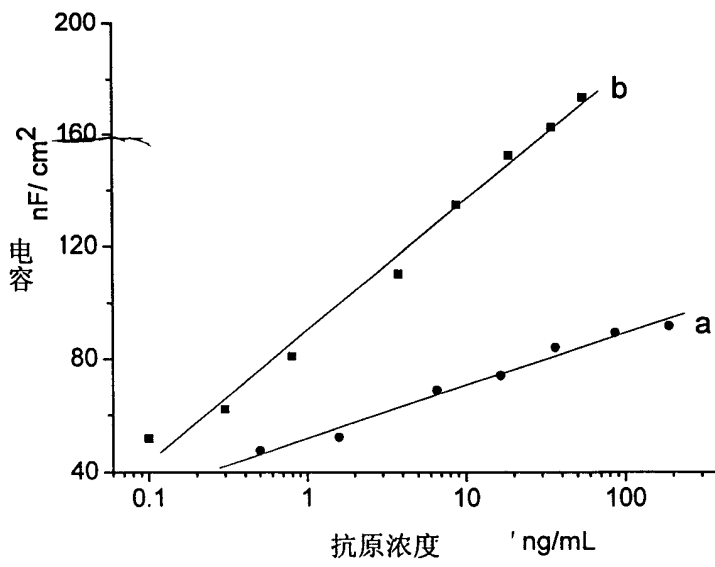


图 4