



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109266552 B

(45) 授权公告日 2024.11.22

(21) 申请号 201811429374.X

(22) 申请日 2018.11.27

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 109266552 A

(43) 申请公布日 2019.01.25

(73) 专利权人 大连医科大学附属第一医院

地址 116000 辽宁省大连市西岗区中山路
222号

(72) 发明人 仲伟良 李颖 张卫国 李杰

(74) 专利代理机构 北京惠科金知识产权代理有

限公司 11981

专利代理师 瞿晓晶

(51) Int. Cl.

C12M 3/00 (2006.01)

C12M 1/04 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 101663585 A, 2010.03.03

CN 209193992 U, 2019.08.02

审查员 刘田元

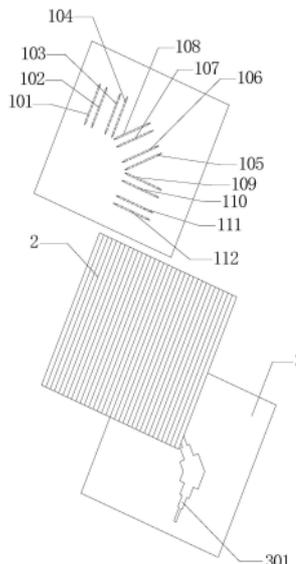
权利要求书2页 说明书4页 附图3页

(54) 发明名称

一种模拟组织微环境的微流控芯片及利用其诱导干细胞特异分化的方法

(57) 摘要

本发明涉及一种模拟组织微环境的微流控芯片及利用其诱导干细胞特异分化的方法,属于医学领域。该微流控芯片包括一面设有灌注培养通道的灌注培养通道层、覆有纳米纤维的薄膜层、一面设有气路通道的气路通道层,覆有纳米纤维的薄膜层设置在灌注培养通道层与气路通道层之间,使覆有纳米纤维的薄膜层中的纳米纤维与灌注培养通道层设置灌注培养通道的一面接触,覆有纳米纤维的薄膜层中的薄膜与气路通道层设置气路通道的一面接触,气路通道经过灌注培养通道且与灌注培养通道垂直,使气路通道中气体流动方向与灌注培养通道中液体流动方向垂直。本发明所述气路通道经过灌注培养通道,气压使覆有纳米纤维的薄膜层产生形变,从而实现张力刺激。



1. 一种模拟组织微环境的微流控芯片,其特征在于,所述微流控芯片包括灌注培养通道层(1)、覆有纳米纤维的薄膜层(2)、气路通道层(3);

灌注培养通道层1的一面设有3组形状相同的灌注培养通道;

第1组包括灌注培养通道I (101)、灌注培养通道II (102)、灌注培养通道III (103)、灌注培养通道IV (104);

第2组包括灌注培养通道V (105)、灌注培养通道VI (106)、灌注培养通道VII (107)、灌注培养通道VIII (108);

第3组包括灌注培养通道IX (109)、灌注培养通道X (110)、灌注培养通道XI (111)、灌注培养通道XII (112);

覆有纳米纤维的薄膜层(2)为若干个纳米纤维平行排列在薄膜上;

气路通道层(3)的一面设有气路通道(301);

覆有纳米纤维的薄膜层(2)设置在灌注培养通道层(1)与气路通道层(3)之间,使覆有纳米纤维的薄膜层(2)中的纳米纤维与灌注培养通道层(1)设置灌注培养通道的一面接触,覆有纳米纤维的薄膜层(2)中的薄膜与气路通道层(3)设置气路通道(301)的一面接触;

灌注培养通道I (101)、灌注培养通道II (102)、灌注培养通道III (103)、灌注培养通道IV (104)均与纳米纤维呈0度角,使灌注培养通道I (101)、灌注培养通道II (102)、灌注培养通道III (103)和灌注培养通道IV (104)中液体流动方向与纳米纤维的轴向呈0度角;

灌注培养通道V (105)、灌注培养通道VI (106)、灌注培养通道VII (107)、灌注培养通道VIII (108)均与纳米纤维呈45度角,使灌注培养通道V (105)、灌注培养通道VI (106)、灌注培养通道VII (107)和灌注培养通道VIII (108)中液体流动方向与纳米纤维的轴向呈45度角;

灌注培养通道IX (109)、灌注培养通道X (110)、灌注培养通道XI (111)、灌注培养通道XII (112)均与纳米纤维呈90度角,使灌注培养通道IX (109)、灌注培养通道X (110)、灌注培养通道XI (111)和灌注培养通道XII (112)中液体流动方向与纳米纤维的轴向呈90度角;

气路通道(301)经过各组灌注培养通道且与各组灌注培养通道垂直,使气路通道(301)中气体流动方向与各组灌注培养通道中液体流动方向垂直;

气路通道(301)经过灌注培养通道I (101)的宽度 $>$ 气路通道(301)经过灌注培养通道II (102)的宽度 $>$ 气路通道(301)经过灌注培养通道III (103)的宽度 $>$ 气路通道(301)经过灌注培养通道IV (104)的宽度;

气路通道(301)经过灌注培养通道V (105)的宽度 $=$ 气路通道(301)经过灌注培养通道IX (109)的宽度 $=$ 气路通道(301)经过灌注培养通道I (101)的宽度;

气路通道(301)经过灌注培养通道VI (106)的宽度 $=$ 气路通道(301)经过灌注培养通道X (110)的宽度 $=$ 气路通道(301)经过灌注培养通道II (102)的宽度;

气路通道(301)经过灌注培养通道VII (107)的宽度 $=$ 气路通道(301)经过灌注培养通道XI (111)的宽度 $=$ 气路通道(301)经过灌注培养通道III (103)的宽度;

气路通道(301)经过灌注培养通道VIII (108)的宽度 $=$ 气路通道(301)经过灌注培养通道XII (112)的宽度 $=$ 气路通道(301)经过灌注培养通道IV (104)的宽度。

2. 一种利用权利要求1所述微流控芯片诱导干细胞特异分化的方法,其特征在于:所述

方法为：

先将干细胞加入到各个灌注培养通道内,使干细胞在覆有纳米纤维的薄膜层(2)中的纳米纤维上,再向各个灌注培养通道内泵入培养液进行灌注培养,然后向气路通道(301)内通入空气,使覆有纳米纤维的薄膜层(2)产生不同程度的形变。

一种模拟组织微环境的微流控芯片及利用其诱导干细胞特异分化的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种模拟组织微环境的微流控芯片及利用其诱导干细胞特异分化的方法,属于医学领域。

背景技术

[0002] 组织微环境模拟是一种诱导干细胞特异分化的重要手段,动态协调的三维微环境对调控干细胞的生长和分化具有重要的作用。近年来越来越多的研究表明,力学微环境及力学信号转导在干细胞自我更新、分化、衰老和凋亡等细胞生理过程中起到重要的作用,由于肌腱结构的特殊性,所以一直处于机械负荷状态,少量肌腱细胞沿长轴纵行排列于胶原纤维之间,肌腱的新陈代谢及各种生理活动与机械物理微环境刺激息息相关。目前许多研究表明间充质干细胞(Mesenchymal stem cells, MSCs)能够在体外诱导分化为肌腱细胞,仿生性基质结构刺激或机械牵张力刺激有助于干细胞向肌腱细胞分化。然而,人体内肌腱/韧带细胞外的力学微环境是由一系列多因素组成的复杂综合系统,涉及基质结构性刺激,机械力刺激,组织间隙流等方面。

[0003] 力学微环境刺激在诱导MSCs成肌腱分化的过程中具有重要作用。然而在向肌腱细胞分化的过程中剪切流的刺激强度,流体的刺激方式,机械牵张力的刺激强度及刺激频率等一系列最佳的力学微环境参数还不是十分清楚。因此,若能筛选出干细胞定向分化的最佳微环境条件,进而对提高干细胞向肌腱分化的效率具有重要意义。

[0004] 细胞微环境是一个多因素组成的、时空可变的复杂集合,对细胞的行为和功能发挥着决定性作用。但传统的细胞生物学研究方法很难在体外为细胞提供这样一个复杂的、微尺度的生长环境,致使许多体外研究结果与在体情况相差甚远。

发明内容

[0005] 本发明通过将灌注培养通道层、覆有纳米纤维的薄膜层与气路通道层集成,不仅实现了不同角度的培养液对干细胞的刺激,还实现了薄膜不同形变对干细胞的刺激,解决了上述的问题。

[0006] 本发明提供了一种模拟组织微环境的微流控芯片,所述微流控芯片包括灌注培养通道层、覆有纳米纤维的薄膜层、气路通道层;所述灌注培养通道层的一面设有灌注培养通道;所述气路通道层的一面设有气路通道;所述覆有纳米纤维的薄膜层设置在灌注培养通道层与气路通道层之间,使覆有纳米纤维的薄膜层中的纳米纤维与灌注培养通道层设置灌注培养通道的一面接触,覆有纳米纤维的薄膜层中的薄膜与气路通道层设置气路通道的一面接触;所述气路通道经过灌注培养通道且与灌注培养通道垂直,使气路通道中气体流动方向与灌注培养通道中液体流动方向垂直。

[0007] 本发明优选为所述灌注培养通道层的一面设有若干个灌注培养通道;所述气路通道经过各个灌注培养通道且与各个灌注培养通道垂直,使气路通道中气体流动方向与各个

灌注培养通道中液体流动方向垂直,所述气路通道经过各个灌注培养通道的宽度不同。

[0008] 本发明优选为所述覆有纳米纤维的薄膜层为若干个纳米纤维平行排列在薄膜上;不同的所述灌注培养通道与纳米纤维呈不同角度,使不同的灌注培养通道中液体流动方向与纳米纤维的轴向呈不同角度。

[0009] 本发明优选为所述灌注培养通道层的一面设有若干组的灌注培养通道,每组包括若干个灌注培养通道;同组所述灌注培养通道与纳米纤维呈相同角度,使同组灌注培养通道中液体流动方向与纳米纤维的轴向呈相同角度;不同组的所述灌注培养通道与纳米纤维呈不同角度,使不同组的灌注培养通道中液体流动方向与纳米纤维的轴向呈不同角度;所述气路通道经过各组灌注培养通道且与各组灌注培养通道垂直,使气路通道中气体流动方向与各组灌注培养通道中液体流动方向垂直。

[0010] 本发明优选为所述气路通道经过同组灌注培养通道中各个灌注培养通道的宽度不同。

[0011] 本发明另一目的为利用上述微流控芯片诱导干细胞特异分化的方法,其特征在于:所述方法为:先将干细胞加入到各个灌注培养通道内,使干细胞在覆有纳米纤维的薄膜层中的纳米纤维上,再向各个灌注培养通道内泵入培养液进行灌注培养,然后向气路通道内通入空气,使覆有纳米纤维的薄膜层产生不同程度的形变。

[0012] 本发明有益效果为:

[0013] ①本发明所述灌注培养通道与纳米纤维的设计,使培养液流动方向与纳米纤维的轴向形成不同角度,不同角度的微流体对纳米纤维上的干细胞产生不同的刺激,同时,本发明所述气路通道经过同一组灌注培养通道中各个灌注培养通道的宽度不同,不同的气压使覆有纳米纤维的薄膜层产生不同程度的形变,从而实现不同强度的张力刺激。

[0014] ②本发明所述的微流控芯片充分利用微流控技术平台的集成化特点,形成一种高效调节干细胞力学微环境的有效方法,利用少量的干细胞即可摸索出“菜单”式的培养方案,为优化筛选干细胞向腱系分化的微环境、提高其分化效率提供新的技术方法和干预靶点。

附图说明

[0015] 本发明附图6幅,

[0016] 图1为实施例1所述模拟组织微环境的微流控芯片的平面示意图;

[0017] 图2为实施例1所述模拟组织微环境的微流控芯片的结构示意图;

[0018] 图3为实施例2通入空气后所述覆有纳米纤维的薄膜层在灌注培养通道I内的结构示意图;

[0019] 图4为实施例2通入空气后所述覆有纳米纤维的薄膜层在灌注培养通道II内的结构示意图;

[0020] 图5为实施例2通入空气后所述覆有纳米纤维的薄膜层在灌注培养通道III内的结构示意图;

[0021] 图6为实施例2通入空气后所述覆有纳米纤维的薄膜层在灌注培养通道IV内的结构示意图;

[0022] 其中,1、灌注培养通道层,101、灌注培养通道I,102、灌注培养通道II,103、灌注培

养通道Ⅲ,104、灌注培养通道Ⅳ,105、灌注培养通道Ⅴ,106、灌注培养通道Ⅵ,107、灌注培养通道Ⅶ,108、灌注培养通道Ⅷ,109、灌注培养通道Ⅸ,110、灌注培养通道Ⅹ,111、灌注培养通道Ⅺ,112、灌注培养通道Ⅻ,2、覆有纳米纤维的薄膜层,3、气路通道层,301、气路通道。

具体实施方式

[0023] 下述非限制性实施例可以使本领域的普通技术人员更全面地理解本发明,但不以任何方式限制本发明。

[0024] 实施例1

[0025] 一种模拟组织微环境的微流控芯片,如图1和图2所示,所述微流控芯片包括灌注培养通道层1、覆有纳米纤维的薄膜层2、气路通道层3;

[0026] 灌注培养通道层1的一面设有3组形状相同的灌注培养通道;

[0027] 第1组包括灌注培养通道Ⅰ101、灌注培养通道Ⅱ102、灌注培养通道Ⅲ103、灌注培养通道Ⅳ104;

[0028] 第2组包括灌注培养通道Ⅴ105、灌注培养通道Ⅵ106、灌注培养通道Ⅶ107、灌注培养通道Ⅷ108;

[0029] 第3组包括灌注培养通道Ⅸ109、灌注培养通道Ⅹ110、灌注培养通道Ⅺ111、灌注培养通道Ⅻ112;

[0030] 覆有纳米纤维的薄膜层2为若干个纳米纤维平行排列在薄膜上;

[0031] 气路通道层3的一面设有气路通道301;

[0032] 覆有纳米纤维的薄膜层2设置在灌注培养通道层1与气路通道层3之间,使覆有纳米纤维的薄膜层2中的纳米纤维与灌注培养通道层1设置灌注培养通道的一面接触,覆有纳米纤维的薄膜层2中的薄膜与气路通道层3设置气路通道301的一面接触;

[0033] 灌注培养通道Ⅰ101、灌注培养通道Ⅱ102、灌注培养通道Ⅲ103、灌注培养通道Ⅳ104均与纳米纤维呈0度角,使灌注培养通道Ⅰ101、灌注培养通道Ⅱ102、灌注培养通道Ⅲ103和灌注培养通道Ⅳ104中液体流动方向与纳米纤维的轴向呈0度角;

[0034] 灌注培养通道Ⅴ105、灌注培养通道Ⅵ106、灌注培养通道Ⅶ107、灌注培养通道Ⅷ108均与纳米纤维呈45度角,使灌注培养通道Ⅴ105、灌注培养通道Ⅵ106、灌注培养通道Ⅶ107和灌注培养通道Ⅷ108中液体流动方向与纳米纤维的轴向呈45度角;

[0035] 灌注培养通道Ⅸ109、灌注培养通道Ⅹ110、灌注培养通道Ⅺ111、灌注培养通道Ⅻ112均与纳米纤维呈90度角,使灌注培养通道Ⅸ109、灌注培养通道Ⅹ110、灌注培养通道Ⅺ111和灌注培养通道Ⅻ112中液体流动方向与纳米纤维的轴向呈90度角;

[0036] 气路通道301经过各组灌注培养通道且与各组灌注培养通道垂直,使气路通道301中气体流动方向与各组灌注培养通道中液体流动方向垂直;

[0037] 气路通道301经过灌注培养通道Ⅰ101的宽度>气路通道301经过灌注培养通道Ⅱ102的宽度>气路通道301经过灌注培养通道Ⅲ103的宽度>气路通道301经过灌注培养通道Ⅳ104的宽度;

[0038] 气路通道301经过灌注培养通道Ⅴ105的宽度=气路通道301经过灌注培养通道Ⅸ109的宽度=气路通道301经过灌注培养通道Ⅰ101的宽度;

[0039] 气路通道301经过灌注培养通道Ⅵ106的宽度=气路通道301经过灌注培养通道Ⅹ

110的宽度=气路通道301经过灌注培养通道II 102的宽度；

[0040] 气路通道301经过灌注培养通道VII107的宽度=气路通道301经过灌注培养通道XI 111的宽度=气路通道301经过灌注培养通道III 103的宽度；

[0041] 气路通道301经过灌注培养通道VIII108的宽度=气路通道301经过灌注培养通道XII 112的宽度=气路通道301经过灌注培养通道IV 104的宽度。

[0042] 实施例2

[0043] 一种利用实施例1所述微流控芯片诱导干细胞特异分化的方法,所述方法为:

[0044] 先将干细胞加入到各个灌注培养通道内,使干细胞在覆有纳米纤维的薄膜层2中的纳米纤维上,再向各个灌注培养通道内泵入培养液进行灌注培养,形成不同角度的培养液对于平行排列纳米纤维的刺激,然后向气路通道301内通入空气,如图3、图4、图5和图6所示,使覆有纳米纤维的薄膜层2产生不同程度的形变,从而实现不同强度的张力刺激。

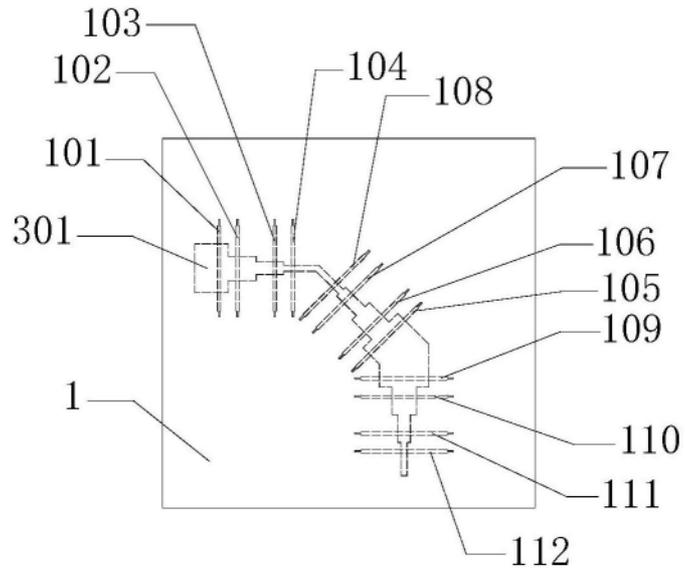


图1

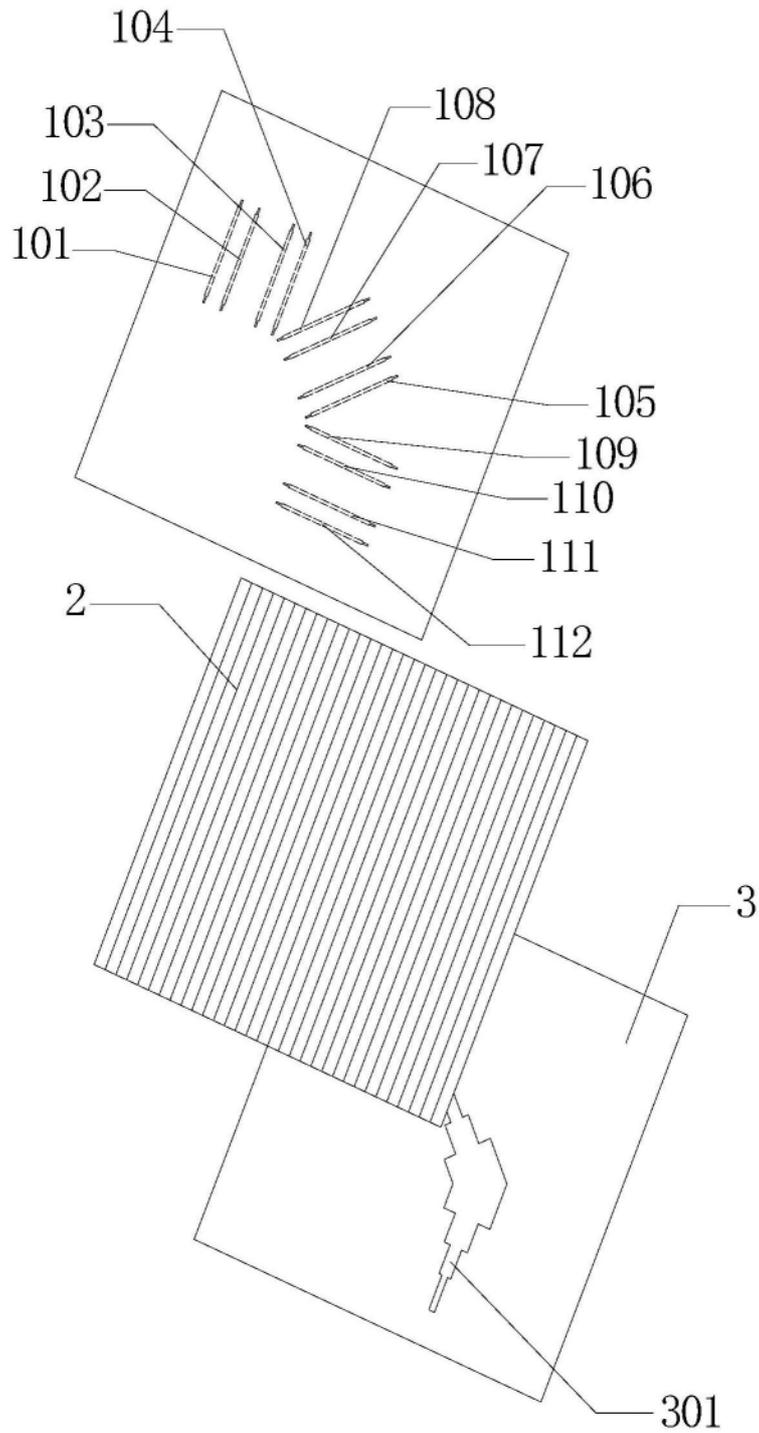


图2

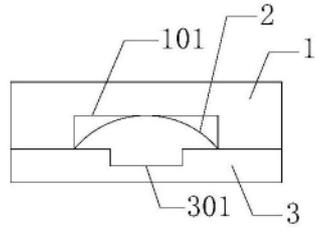


图3

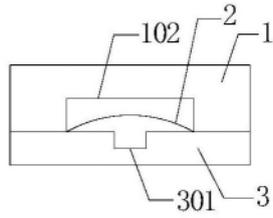


图4

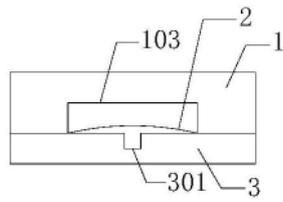


图5

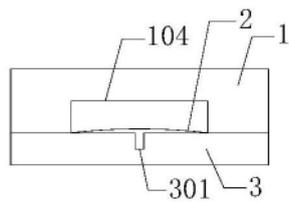


图6