

## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102156158 B

(45) 授权公告日 2013. 03. 20

(21) 申请号 201010608561. 1

(22) 申请日 2010. 12. 28

(73) 专利权人 重庆大学

地址 400044 重庆市沙坪坝区沙正街 174 号

(72) 发明人 廖彦剑 吴泽志 钟冬火 杨国清  
郑小林 胡宁

(74) 专利代理机构 北京同恒源知识产权代理有  
限公司 11275

代理人 赵荣之

(51) Int. Cl.

G01N 27/416 (2006. 01)

G01N 27/30 (2006. 01)

C12Q 1/02 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101738463 A, 2010. 06. 16, 说明书全文.

WO 2005/099419 A2, 2005. 10. 27, 说明书全  
文.

CN 1427255 A, 2003. 07. 02, 说明书全文.

EP 1464952 A1, 2002. 11. 29, 说明书全文.

审查员 吴爱坪

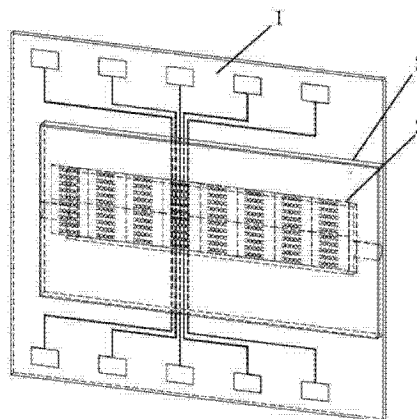
权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 4 页

(54) 发明名称

拓扑图式化神经细胞网络培养测量微流控芯  
片装置

(57) 摘要

本发明公开了一种拓扑图式化神经细胞网络培养测量微流控芯片装置,包括微电极阵列板、细胞培养池和盖玻片,细胞培养池采用可拆卸固定的方式覆盖在微电极阵列板上,盖玻片采用可拆卸固定的方式覆盖在细胞培养池上;细胞培养池包括固定外框,所述固定外框的尺寸与微电极阵列板相对应,在固定外框的中部设置凹槽培养区,所述凹槽培养区用于放置多组具有拓扑网络结构的培养孔板阵列,本发明结构紧凑,通过将微电极阵列板、细胞培养池和盖玻片结合在一起,能够构建一个三维细胞培养环境,结合微流控技术,可以进行体外微环境的仿生式的细胞培养,同时,通过微电极细胞电泳结合拓扑网络结构可以实现神经细胞的可控聚集,有助于形成特定神经网络结构,并进行相关测量。



1. 拓扑图式化神经细胞网络培养测量微流控芯片装置,其特征在于:所述拓扑图式化神经细胞网络培养测量微流控芯片装置包括微电极阵列板、细胞培养池和盖玻片,所述细胞培养池采用可拆卸固定的方式覆盖在微电极阵列板上,所述盖玻片采用可拆卸固定的方式覆盖在细胞培养池上;

所述微电极阵列板包括载玻片,所述载玻片上通过微电子加工技术形成电极和引线,所述电极为多个且分别设置于载玻片的边缘处,每一电极均延伸出一根引线,所述引线的末端集中于载玻片的中部,形成细胞接触刺激区;

所述细胞培养池包括固定外框,所述固定外框的尺寸与微电极阵列板相对应,在固定外框的中部设置凹槽培养区,所述凹槽培养区用于放置多个具有拓扑网络结构的培养孔板阵列,所述拓扑网络结构是指每组培养孔板阵列均包括多个相互平行且首尾平齐的连孔培养条,每一连孔培养条均包括多个相互连通的培养孔,多个培养孔板阵列组成一个与固定外框相平行的培养平面,所述固定外框的边缘上还设置有至少一个培养液进液口和至少一个培养液出液口。

2. 根据权利要求1所述的拓扑图式化神经细胞网络培养测量微流控芯片装置,其特征在于:所述培养液进液口和培养液出液口在靠近培养平面的内侧设置有缓冲台阶。

3. 根据权利要求1或2所述的拓扑图式化神经细胞网络培养测量微流控芯片装置,其特征在于:所述引线除了其末端,均设置有钝化保护层。

4. 根据权利要求3所述的拓扑图式化神经细胞网络培养测量微流控芯片装置,其特征在于:所述细胞接触刺激区内的引线末端之间的空隙大小为80微米。

5. 根据权利要求1所述的拓扑图式化神经细胞网络培养测量微流控芯片装置,其特征在于:所述培养孔板阵列的长度范围为8~10毫米,宽度范围为2~4毫米。

6. 根据权利要求1或2或5所述的拓扑图式化神经细胞网络培养测量微流控芯片装置,其特征在于:所述培养孔为圆孔,其直径的数值范围为40~120微米。

7. 根据权利要求6所述的拓扑图式化神经细胞网络培养测量微流控芯片装置,其特征在于:所述每一培养孔板阵列上包括有3~10条连孔培养条,每一连孔培养条均包括了3~10个培养孔。

8. 根据权利要求7所述的拓扑图式化神经细胞网络培养测量微流控芯片装置,其特征在于:所述每一培养孔板阵列上包括有5条连孔培养条,每一连孔培养条均包括了5个培养孔。

9. 根据权利要求1所述的拓扑图式化神经细胞网络培养测量微流控芯片装置,其特征在于:所述微电子加工技术是指将Au、Ir或Pt沉积在玻璃或硅基底上,形成电极及引线。

10. 根据权利要求1所述的拓扑图式化神经细胞网络培养测量微流控芯片装置,其特征在于:所述微电极阵列板、细胞培养池和盖玻片均为透明材质结构。

## 拓扑图式化神经细胞网络培养测量微流控芯片装置

### 技术领域

[0001] 本发明涉及生物细胞培养测量领域,特别涉及一种采用拓扑图式化的神经细胞网络培养测量微流控芯片装置。

### 背景技术

[0002] 当今半导体微加工技术的发展已经可以满足现阶段生物芯片的设计和加工的技术要求,能够实现各种不同的生物芯片(如基因芯片和蛋白质芯片)的制备。在国际上,与基因芯片的普遍应用形成对比的是在细胞芯片领域研究的薄弱,而细胞芯片则还处于发展阶段。对于细胞芯片的构建而言,一个核心的问题是在芯片构型下细胞微环境的构建。一个公认的事实是体外二维平面条件下培养的细胞与体内组织环境下的细胞具有不同的功能特性。因此,工程化构建三维拓扑环境以模拟体内组织微环境将是细胞芯片研究的重要内容。

[0003] 神经细胞是体内重要的可兴奋细胞,其表达的丰富的离子通道是中枢神经系统和心血管系统药物效应和药物筛选的靶标。构建神经细胞芯片的一个显然优势是有关神经细胞的功能评价已经有成熟的光学(如荧光显微技术和激光共聚焦显微技术)和电生理(如微电极阵列技术、膜片钳技术)技术可供借鉴。现今有关体外神经细胞培养图式化的研究集中在细胞网络的二维图式化(如正交网格图式化及其与微电极的对接)。有关的研究显然未能解决神经细胞网络分布和有关数据的获取与处理的足够简化,以符合药物筛选在通量方面的期望。如何进一步获得更简化的尤其是模拟组织微环境条件下的、能与药物筛选技术平台(如荧光及微电极)相容的准一维分布的神经细胞网络,简化有关的数据获取与处理方式成为这一领域的应用研究的关键。

[0004] 构建神经细胞为基础的微系统或神经细胞为基础的细胞生物传感器的依据及优势是神经细胞为可兴奋细胞,其生理活动表现出可供检测和分析的电信号。在神经细胞芯片中研究最为重要的领域是采用微电极阵列技术对体外神经细胞网络的研究。由于微电极阵列对细胞网络的刺激与记录依赖于细胞网络的形态以及神经细胞与微电极的电学偶合,近年大量的研究集中在神经细胞网络的图式化以及神经细胞-电极偶合特性的研究上。但这些研究均以二维平面培养的神经细胞网络为研究对象。

[0005] 近十余年来,随着半导体微加工技术与神经生物学的结合,基底拓扑结构被用于神经细胞网络的图式化或引导神经细胞与微电极的对接。然而,在多数这类研究中,由于以微电极为主要记录方式以及以细胞与有限数量的电极对接和偶合为主要目标,神经细胞网络的规模小,可检测细胞数量少,加之网络图式不够简化,难于满足高通量药物筛选尤其是光学检测的要求。

### 发明内容

[0006] 有鉴于此,本发明的目的是提供一种基于 MEMS 技术的、拓扑结构图式化的神经细胞网络培养测量微流控芯片,通过该芯片能够提供三维微环境和构建三维细胞药物筛选体

系,对于提高药物筛选的准确率、降低后期动物实验成本以及加快药物开发速度具有重要的应用价值。

[0007] 本发明的目的是通过以下技术方案实现的:

[0008] 所述拓扑图式化神经细胞网络培养测量微流控芯片装置包括微电极阵列板、细胞培养池和盖玻片,所述细胞培养池采用可拆卸固定的方式覆盖在微电极阵列板上,所述盖玻片采用可拆卸固定的方式覆盖在细胞培养池上;

[0009] 所述微电极阵列板包括载玻片,所述载玻片上通过微电子加工技术形成电极和引线,所述电极为多个且分别设置于载玻片的边缘处,每一电极均延伸出一根引线,所述引线的末端集中于载玻片的中部,形成细胞接触刺激区;

[0010] 所述细胞培养池包括固定外框,所述固定外框的尺寸与微电极阵列板相对应,在固定外框的中部设置凹槽培养区,所述凹槽培养区用于放置多组具有拓扑图式化的培养孔板阵列,所述拓扑图式化是指每组培养孔板阵列均包括多个相互平行且首尾平齐的连孔培养条,每一连孔培养条均包括多个相互连通的准一维分布的培养孔,多个培养孔板阵列组成一个与固定外框相平行的培养平面,所述固定外框的边缘上还设置有至少一个培养液进液口和至少一个培养液出液口。

[0011] 进一步,所述培养液进液口和培养液出液口在靠近培养平面的内侧设置有缓冲台阶;

[0012] 进一步,所述引线除了其末端,均设置有钝化保护层;

[0013] 进一步,所述细胞接触刺激区内的引线末端之间的空隙大小为 30~100 微米;

[0014] 进一步,所述培养孔板阵列的长度范围为 8~10 毫米,宽度范围为 2~4 毫米;

[0015] 进一步,所述培养孔为圆孔,其直径的数值范围为 40 ~120 微米;

[0016] 进一步,所述每一培养孔板阵列上包括有 3~10 条连孔培养条,每一连孔培养条均包括了 3~10 个培养孔;

[0017] 进一步,所述每一培养孔板阵列上包括有 5 条连孔培养条,每一连孔培养条均包括了 5 个培养孔;

[0018] 进一步,所述微电子加工技术是指将 Au、Ir 或 Pt 沉积在玻璃或硅基底上,形成电极及引线;

[0019] 进一步,所述微电极阵列板、细胞培养池和盖玻片均为透明材质结构。

[0020] 本发明的有益效果是:

[0021] 1. 本发明结构紧凑,通过将微电极阵列板、细胞培养池和盖玻片结合在一起,能够构建一个三维细胞培养环境,结合微流控技术,可以进行体外微环境的仿生式的细胞培养,同时,通过微电极细胞电泳结合拓扑图式化结构可以实现神经细胞的可控聚集,有助于形成准一维分布的神经网络;

[0022] 2. 另外,微电极阵列可以提供对所形成神经细胞网络的电生理特性测量(包括刺激),并且本发明的芯片采用透明电极结构,可以兼容其他细胞生物学测量方法(如荧光等),扩大了本发明的适用范围;

[0023] 3. 本发明能够提供三维微环境和构建三维细胞药物筛选体系,通过结合外部的电输入装置和测量装置,本发明能够完成细胞的培养和测量工作,其测得的结果对于提高药物筛选的准确率、降低后期动物实验的成本以及加快药物开发速度,都具有重要的应用价

值；

[0024] 4. 本发明的培养孔板阵列均设置安装在固定外框的凹槽培养区内,该培养孔板阵列的大小可以根据实验的要求进行制作,同时其安装和拆卸都较为容易,增加了装置使用的灵活性。

[0025] 本发明的其他优点、目标和特征在某种程度上将在随后的说明书中进行阐述,并且在某种程度上,基于对下文的考察研究对本领域技术人员而言将是显而易见的,或者可以从本发明的实践中得到教导。本发明的目标和其他优点可以通过下面的说明书和权利要求书来实现和获得。

## 附图说明

[0026] 为了使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚,下面将结合附图对本发明作进一步的详细描述,其中:

[0027] 图 1 为本发明结构示意图;

[0028] 图 2 为微电极阵列板的结构示意图;

[0029] 图 3 为细胞培养池的结构示意图;

[0030] 图 4 为培养孔板的结构示意图。

## 具体实施方式

[0031] 以下将参照附图,对本发明的优选实施例进行详细的描述。应当理解,优选实施例仅为了说明本发明,而不是为了限制本发明的保护范围。

[0032] 如图 1 所示,本发明的拓扑图式化神经细胞网络培养测量微流控芯片装置包括微电极阵列板 1、具有拓扑网络结构的细胞培养池 2 和盖玻片 3,细胞培养池 2 采用可拆卸固定的方式覆盖在微电极阵列板 1 上,盖玻片 3 采用可拆卸固定的方式覆盖在细胞培养池 2 上;作为进一步的改进,本实施例中,微电极阵列板、细胞培养池和盖玻片均为透明材质结构,从而本发明可以兼容其他细胞生物学测量方法(如荧光等)。

[0033] 如图 2 所示,微电极阵列板 1 包括载玻片 11,载玻片 11 上通过微电子加工技术形成电极 12 和引线 13,本实施例中是将 Au、Ir 或 Pt 沉积在玻璃或硅基底上,形成电极及引线。

[0034] 电极 12 为多个且分别设置于载玻片 11 的边缘处,每一电极均延伸出一根引线 13,引线 13 的末端集中于载玻片 11 的中部,形成细胞接触刺激区;其中,引线 13 除了其设置在细胞接触刺激区内部的末端,均设置有钝化保护层。作为进一步的改进,以载玻片的横向中心线为对称轴,两侧的电极和引线相互对称,细胞接触刺激区内的引线末端之间的空隙大小为 80 微米,供细胞生长及进行测量。

[0035] 如图 3 所示,细胞培养池 2 包括固定外框 21,固定外框 21 的尺寸与微电极阵列板 1 相对应,在固定外框的中部设置凹槽培养区,凹槽培养区用于安放多个具有拓扑图式化结构的培养孔板阵列 22,本实施例中,培养孔板阵列 22 为矩形且以边缘连接的方式形成一个与固定外框相平行的培养平面;固定外框 21 的边缘上还设置有一个培养液进液口 23 和一个培养液出液口 24;培养液进液口和培养液出液口在靠近培养平面的内侧设置有缓冲台阶,以保证细胞悬浮液及细胞生长所需营养液在腔内均匀分布。

[0036] 如图4所示,上述的拓扑图式化结构是指每组培养孔板阵列22均包括多个相互平行且首尾平齐的连孔培养条,每一连孔培养条均包括多个相互连通的培养孔25,本实施例中,所述细胞接触刺激区内的引线末端之间的空隙大小为80微米。本实施例中,培养孔板阵列的长度为8毫米,宽度为4毫米,培养孔为圆孔,其直径为100微米,凹槽培养区内包括有16个培养孔板阵列,共80条连孔培养条26,每一连孔培养条均包括了5个培养孔。

[0037] 本实施例中的培养孔板使用PDMS通过倒模制作而成。首先在硅材料表面进行蚀刻,将需要的孔型结构蚀刻到硅材料表面,得到该结构的阴模。然后将PDMS(聚二甲基硅氧烷)预聚物与固化剂按重量10:1比例混合,在干净的培养皿中均匀搅拌。将混合好的PDMS混合液放入真空泵中抽真空,使得里面没有气泡。将获得的阴模表面清理干净,利用倒模法制作所需阳模。用同样的方法使用该阳模即可获得所需的五连孔阵列结构。将多个这种五连孔结构连接并固定密封入外框,即形成细胞培养池结构。

[0038] 本发明的芯片使用如下:首先通过细胞悬浮液,在使用电极加电的情况下细胞会向引线末端暴露处的圆孔内聚集。使用不含细胞的液体进行冲刷,使多余的细胞被冲走。在往里通培养液,使得细胞生长并断电。当细胞形成所需组织后,将电极连接到测量装置进行测量,并可在加刺激的情况下进行测量对比。

[0039] 最后说明的是,以上实施例仅用以说明本发明的技术方案而非限制,尽管参照较佳实施例对本发明进行了详细说明,本领域的普通技术人员应当理解,可以对本发明的技术方案进行修改或者等同替换,而不脱离本技术方案的宗旨和范围,其均应涵盖在本发明的权利要求范围当中。

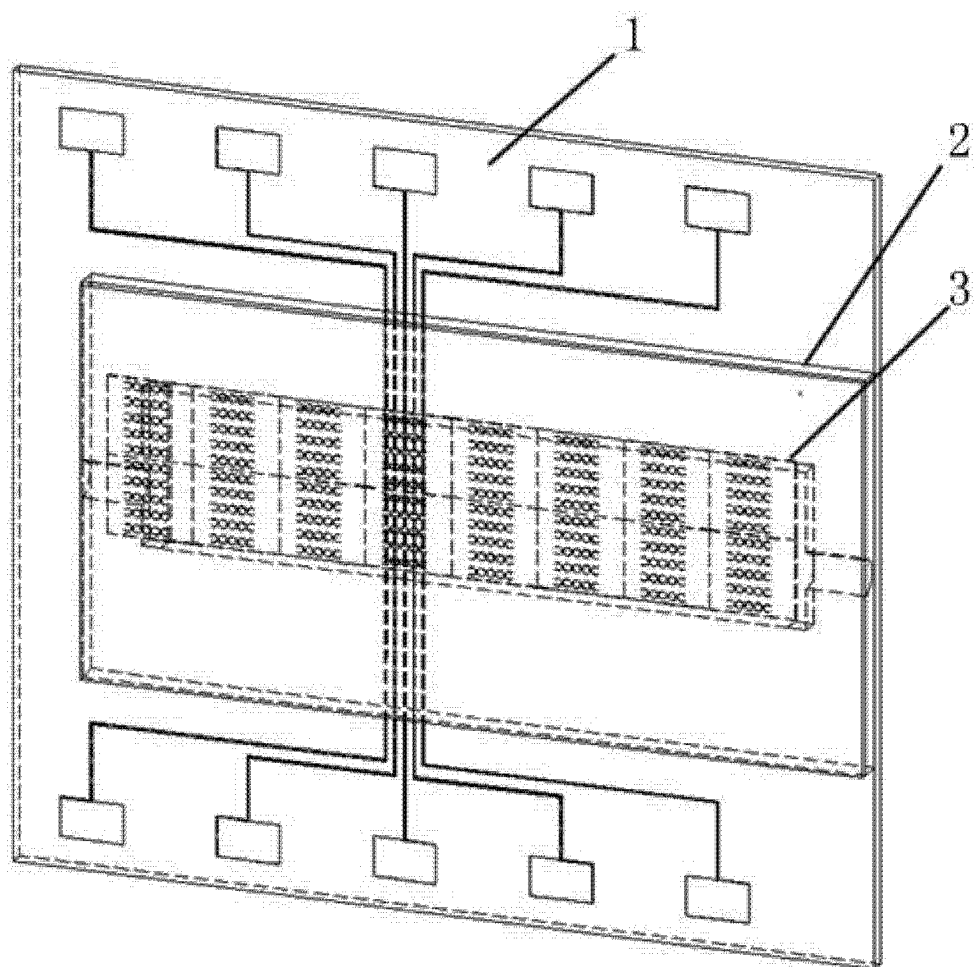


图 1

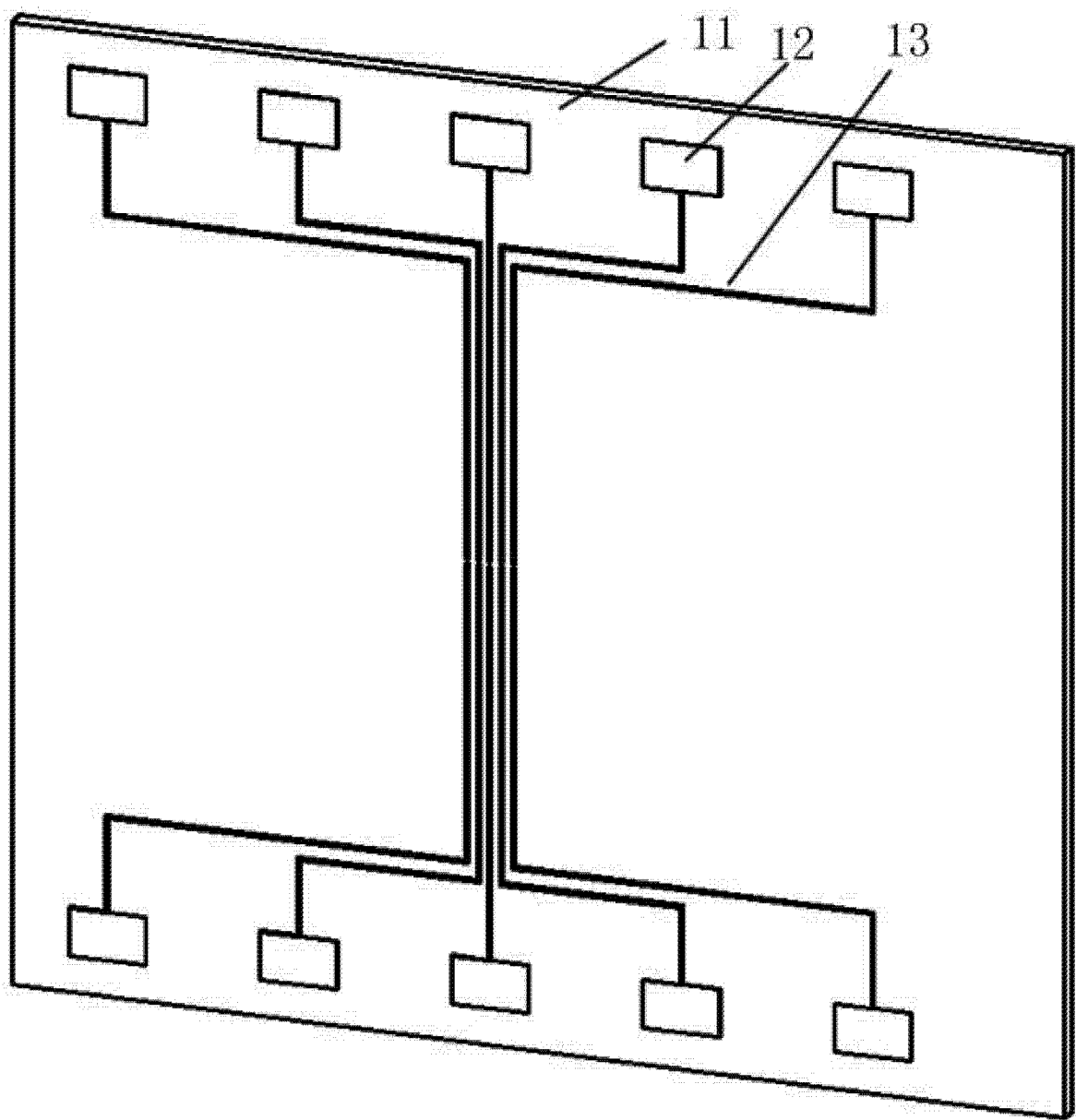


图 2



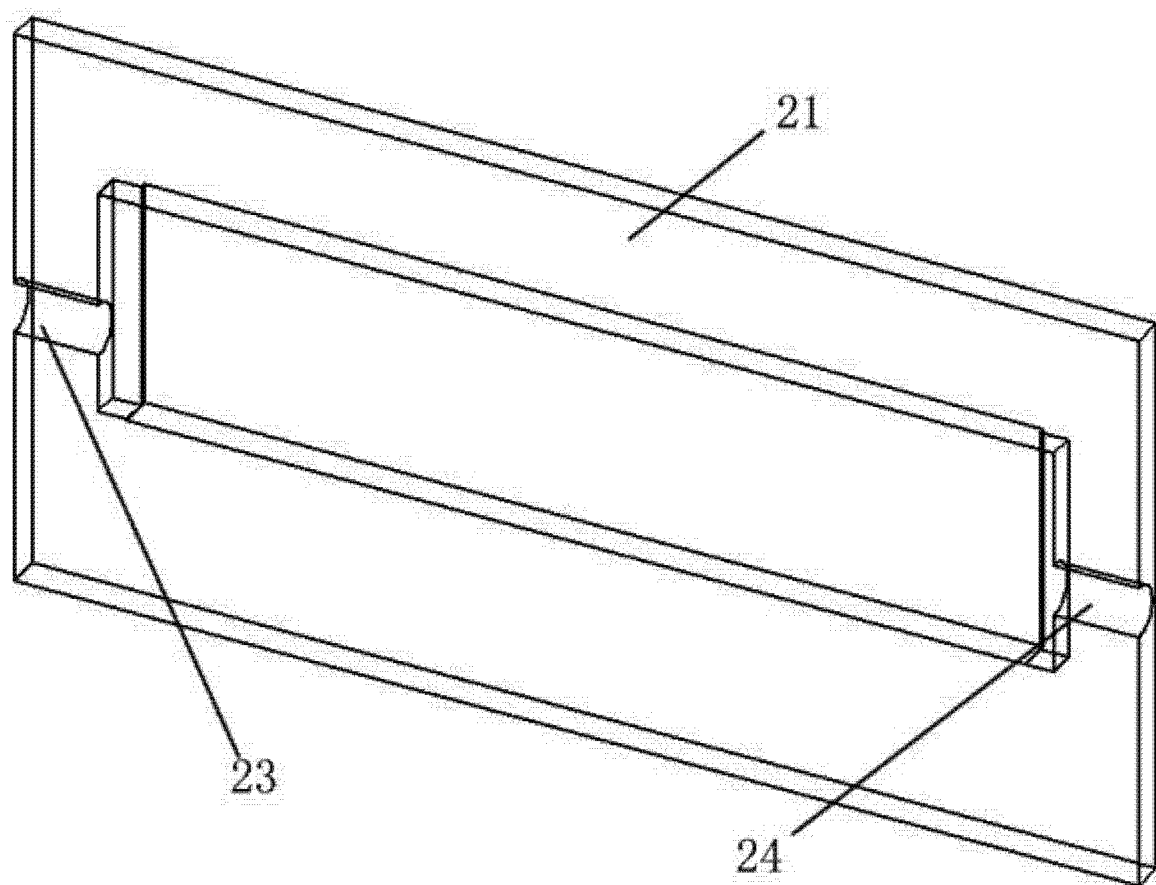


图 3

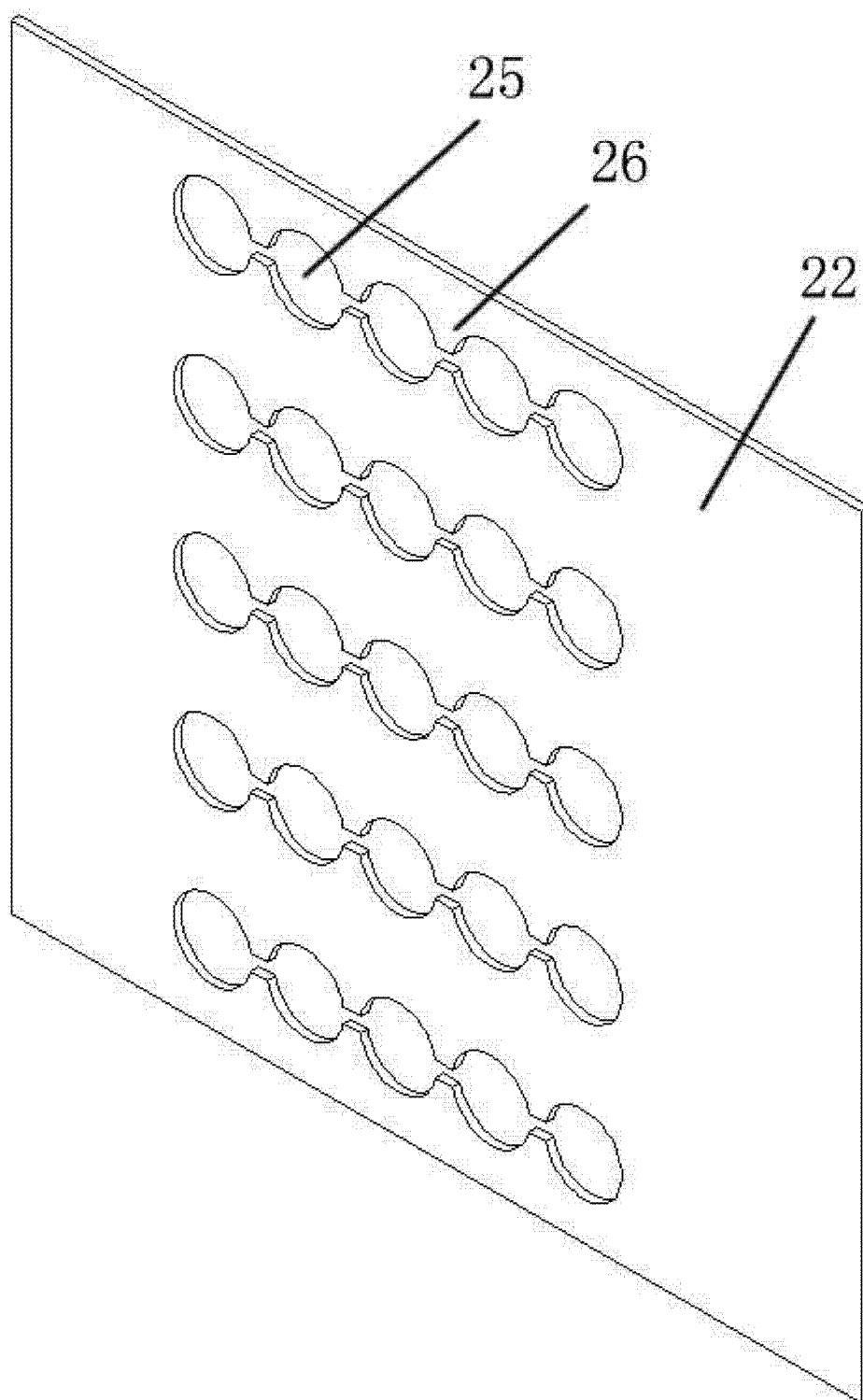


图 4