

生物信息学导论

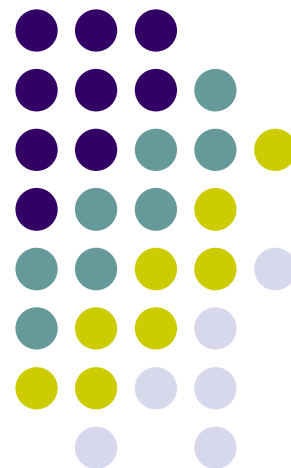
第四讲 芯片制作及加工技术

主讲教师：陈鹏

联系地址：生命学院, 东11楼511

Tel: 18771038706

Email: gwchenpeng@mail.hust.edu.cn





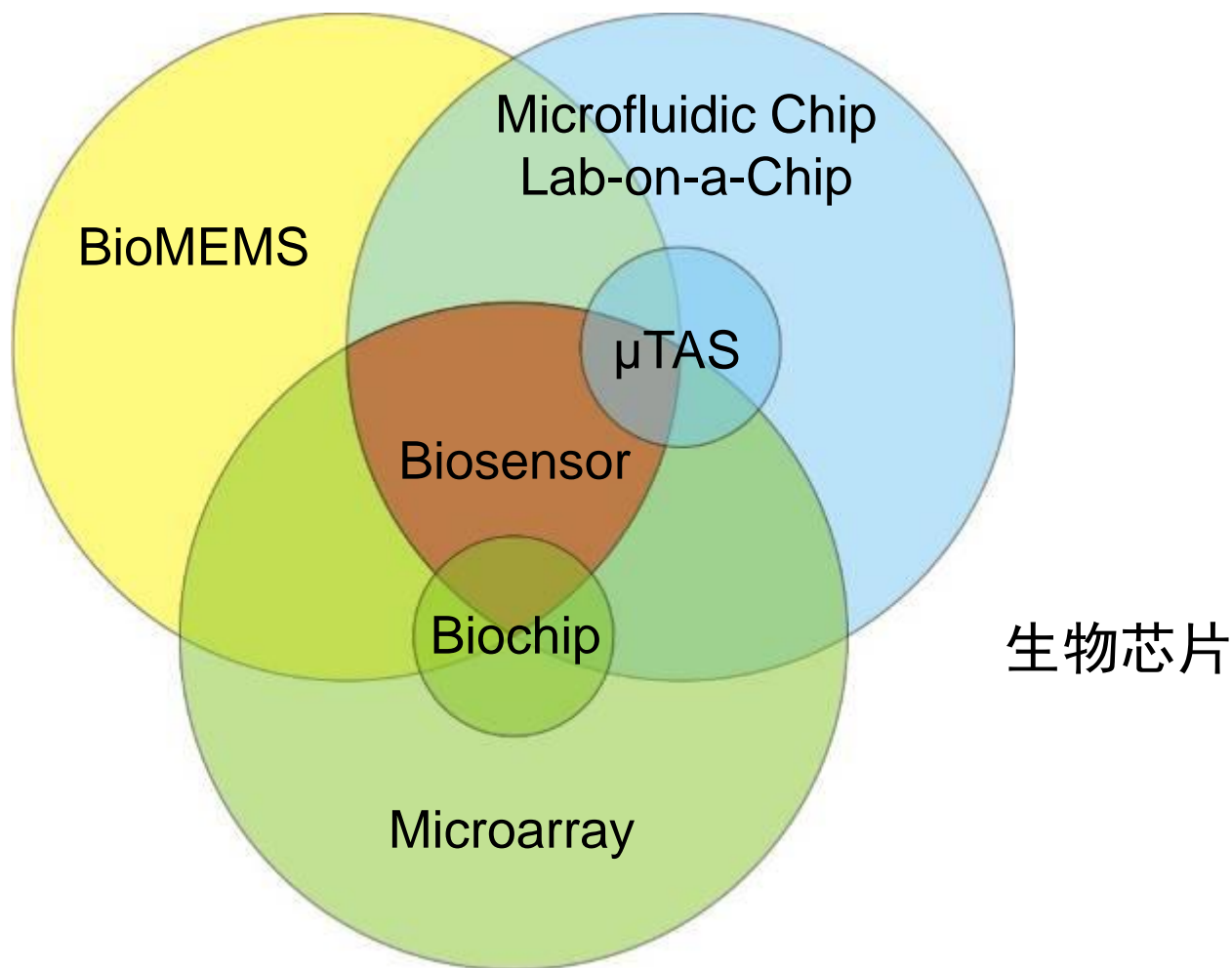
基本概念及相关称谓

生物芯片，广义上指芯片技术在生物学、医学及相关领域的应用。

◆ BioMEMS	生物微机电系统
◆ Microfluidic Chip	微流控芯片
◆ Lab-on-a-Chip	芯片实验室
◆ μ TAS	微全分析系统
◆ Microarray	微阵列芯片
◆ Biochip	生物芯片
◆ Biosensor	生物传感器



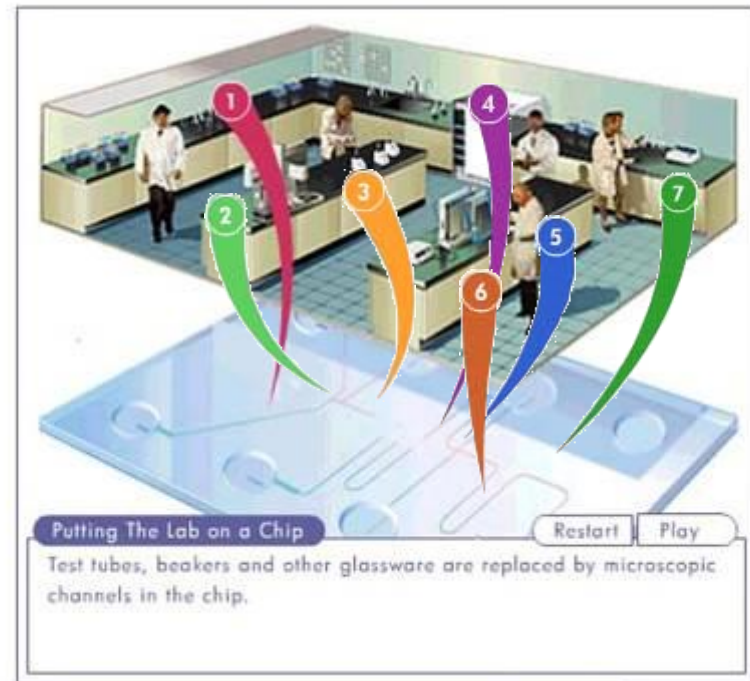
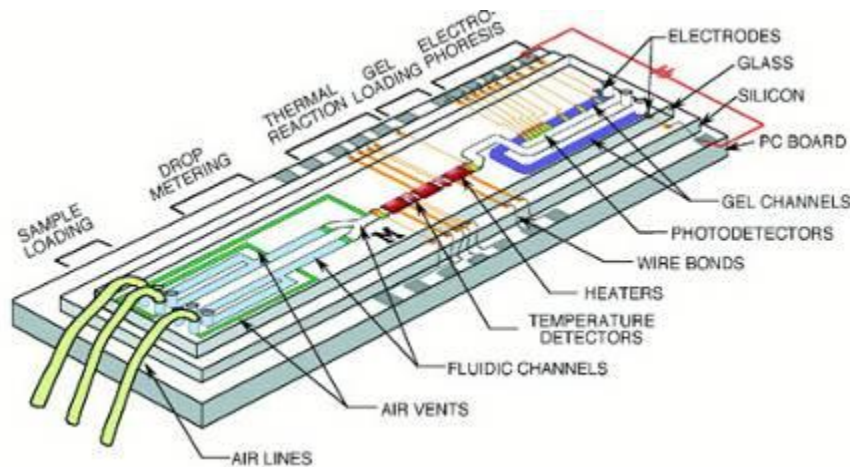
生物芯片相关概念的关系



Microfluidic Chip & Lab-on-a-Chip



Microfluidic Chip (微流控芯片), 或称Lab-on-a-Chip (芯片实验室), 指将传统化学和生物学试验中的样品预处理、反应、分离、检测等单元, 通过微型化集成到厘米见方的芯片上, 并以微通道网络贯穿各个实验环节, 实现传统化学或生物学实验室的各项功能。





芯片实验室的基本特征

- ◆ 微型化
- ◆ 自动化
- ◆ 低成本
- ◆ 低消耗
- ◆ 高通量
- ◆ 高效率



微流体的基本特征

- ◆ 层流效应
- ◆ 扩散效应
- ◆ 电渗流
- ◆ 表面张力及毛细效应
- ◆ 快速热传导效应



芯片实验室的应用领域

芯片实验室的应用领域主要包括生物学、医学、化学、光学、信息学。

➤ 生物学

- 分子生物学
 - 核酸
 - 蛋白质
 - 代谢小分子
- 细胞生物学
- 模式生物学

➤ 医学

- 临床诊断
- 药物筛选
- 医学成像



第四讲 芯片制作及微流体控制

4.1 芯片材料

4.2 芯片制作环境

4.3 硅、玻璃及石英芯片制作

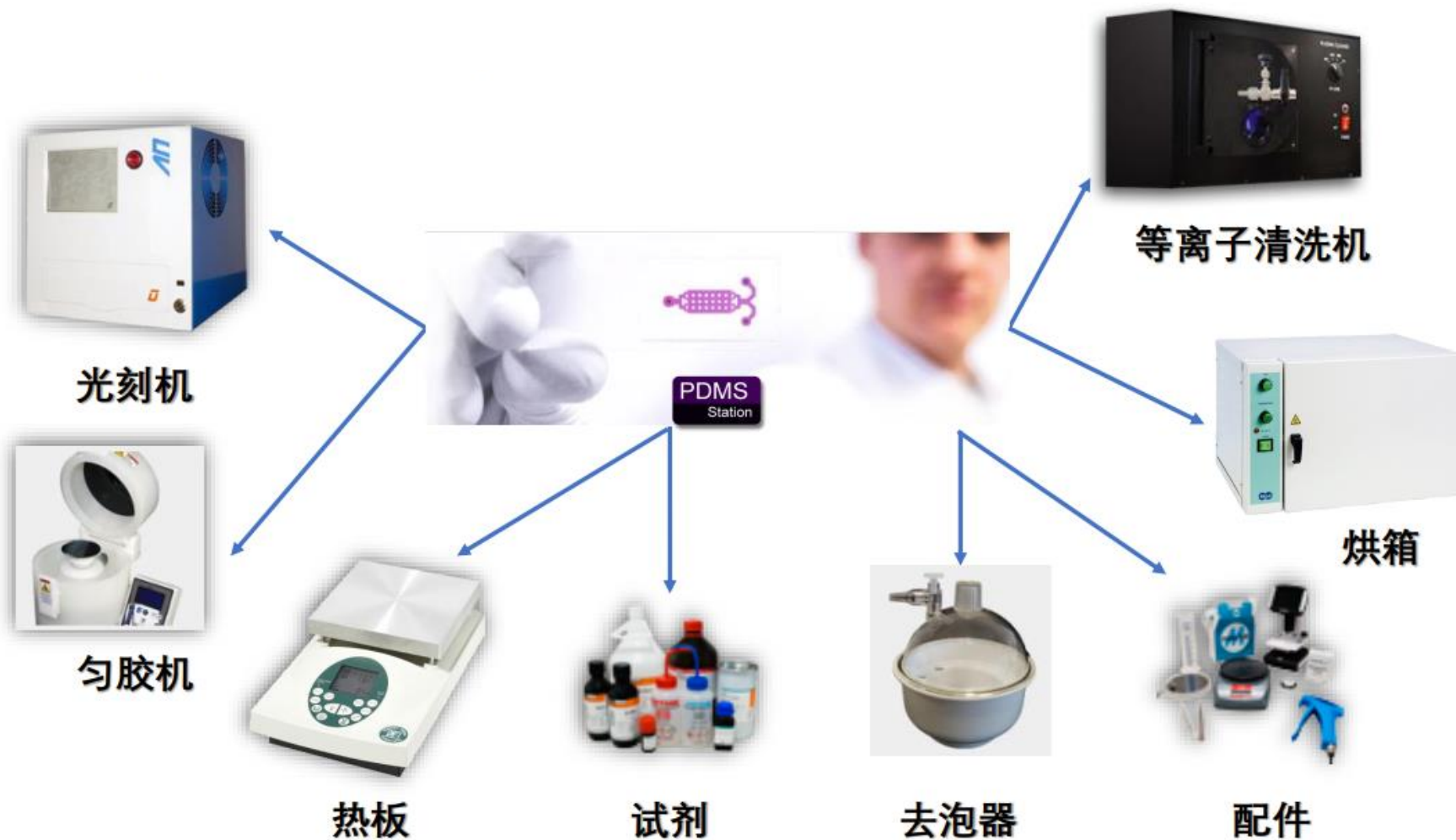
4.4 高分子聚合物芯片制作

4.5 微流体驱动

4.6 微流体控制



PDMS芯片实验室整体解决方案





4.1 芯片材料

- ◆ 硅材料 (Si)
- ◆ 玻璃石英 (SiO_2)
- ◆ 有机聚合物 (PDMS、PMMA)

硅材料

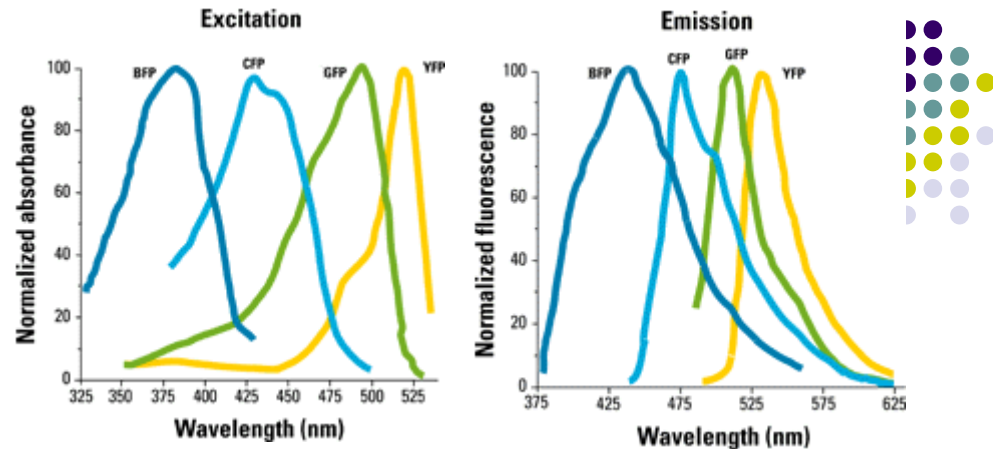


优点：具有化学惰性和热稳定性
加工工艺成熟，如微泵、微阀、芯片模具

缺点：易碎，价格贵
不能透过紫外光
电绝缘性能不够好
表面化学行为较复杂

玻璃石英

- 优点：
- 很好的电渗性质
 - 优良的光学性质 (300nm > 90%；全波段95%)
 - 可用化学方法进行表面改性
 - 可用光刻和蚀刻技术进行加工
- 缺点：
- 难以得到深宽比大的通道
 - 加工成本较高
 - 封接难度较大





有机聚合物

优点：成本低、品种多

能通过可见与紫外光 ($300\text{nm} > 90\%$)

可用化学方法进行表面改性

易加工得到宽深比大的通道

可廉价大量地生产

缺点：不耐高温

导热系数低

表面改性的方法尚不够成熟



芯片制作常见有机聚合物

➤ 热塑性聚合物

聚酰胺 (PA)、聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA)、聚碳酸酯 (PC)、聚苯乙烯 (PS) 等。

➤ 固化型聚合物

聚二甲基硅氧烷 (PDMS)、环氧树脂 (epoxy resin) 等。通过与固化剂混合，固化变硬后得到微流控芯片。

➤ 溶剂挥发型聚合物

丙烯酸 (acrylic acid)、橡胶、氟塑料 (如聚四氟乙烯, PTFE) 等。通过缓慢地挥发去溶剂而得到芯片。



选择有机聚合物材料的原则

- 聚合物材料应有良好的光学性质

能透过可见光与紫外光，入射光不能产生显著背景信号

- 聚合物材料应容易被加工

激光溅射法、热压法、模塑法

- 在分析条件下材料应是惰性的

要考虑芯片材料和可能使用的有机溶剂间的相容性

- 材料应有良好电绝缘性和热性能

- 聚合物材料的表面要有合适的修饰改性方法



聚二甲基硅氧烷 (PDMS)

优点：能重复可逆变形

用浇铸法高保真地制备微芯片

能通过可见与紫外光 ($300\text{nm} > 90\%$)

易加工得到宽深比大的通道

良好的化学惰性

耐用、无毒、价廉

缺点：不耐高温

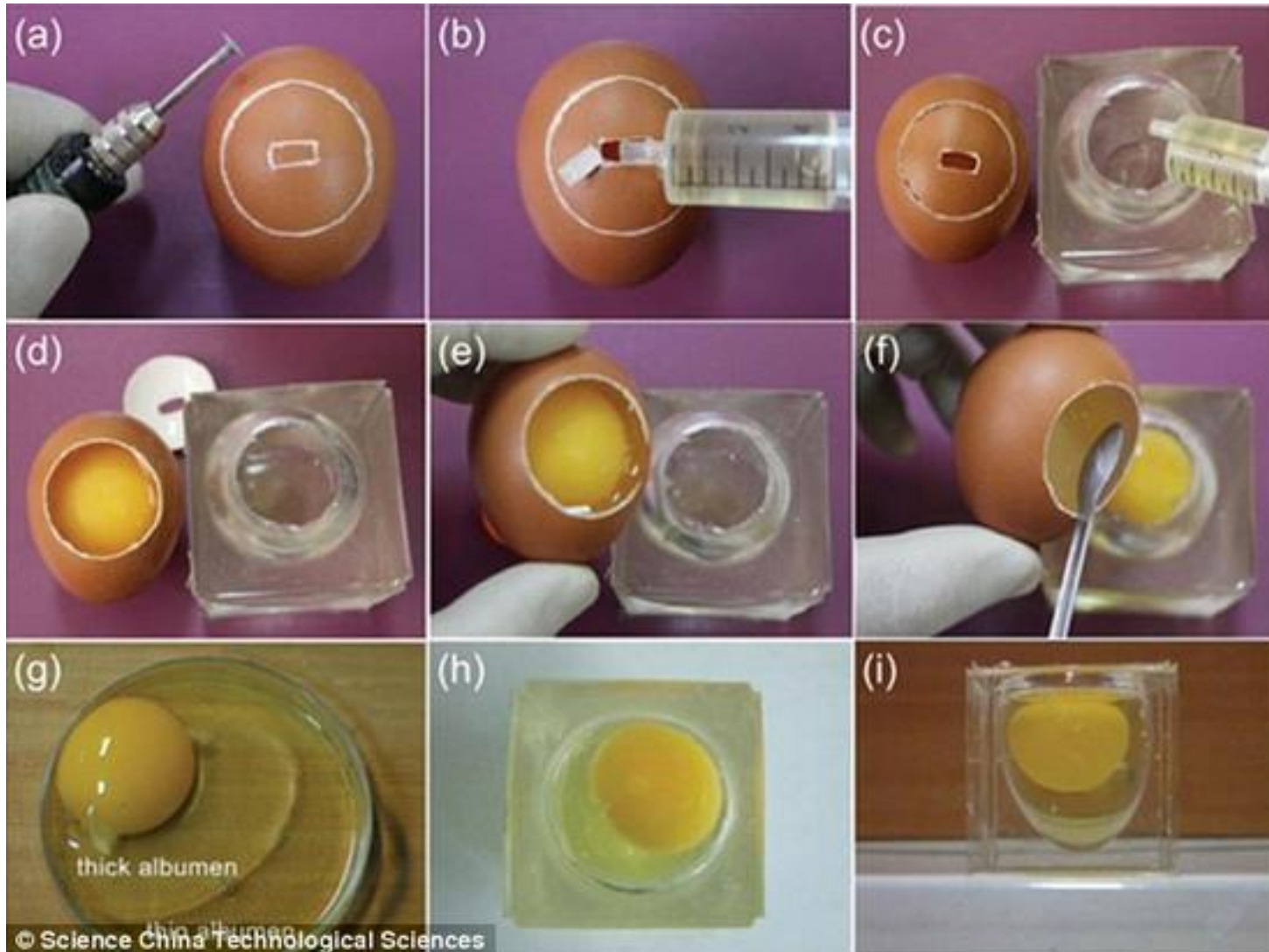
导热系数低

表面改性方法待进一步研究



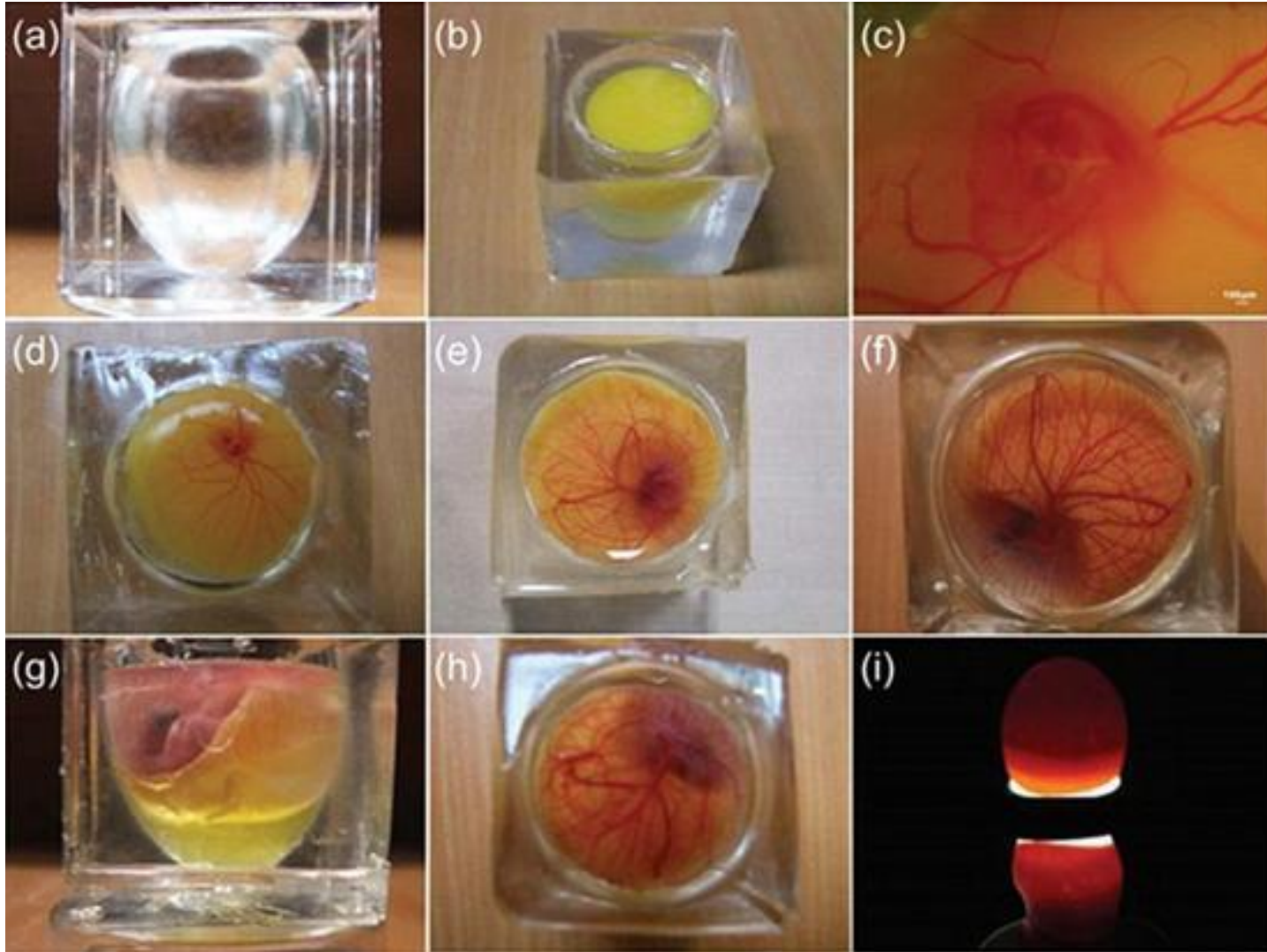


实例：清华设计开发透明蛋壳：研究鸟类胚胎发育





实例：清华设计开发透明蛋壳：研究鸟类胚胎发育





第四讲 芯片制作及微流体控制

4.1 芯片材料

4.2 芯片制作环境

4.3 硅、玻璃及石英芯片制作

4.4 高分子聚合物芯片制作

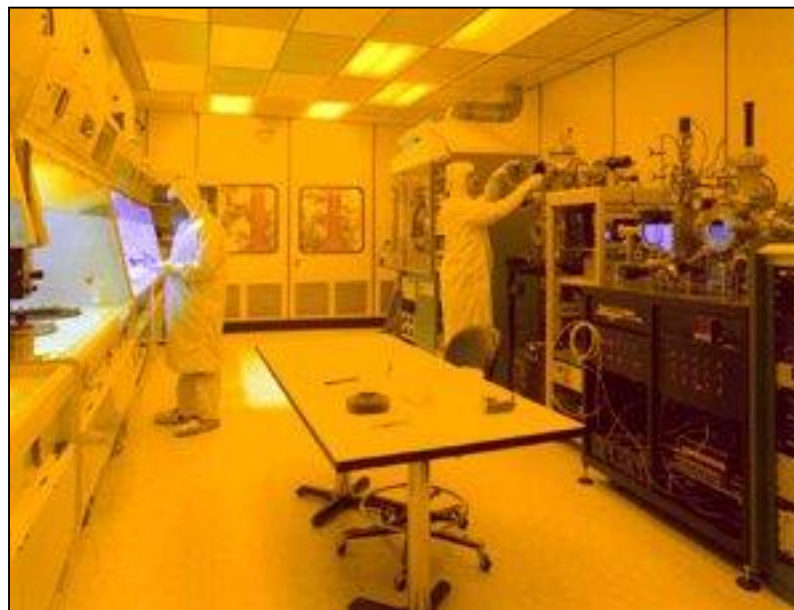
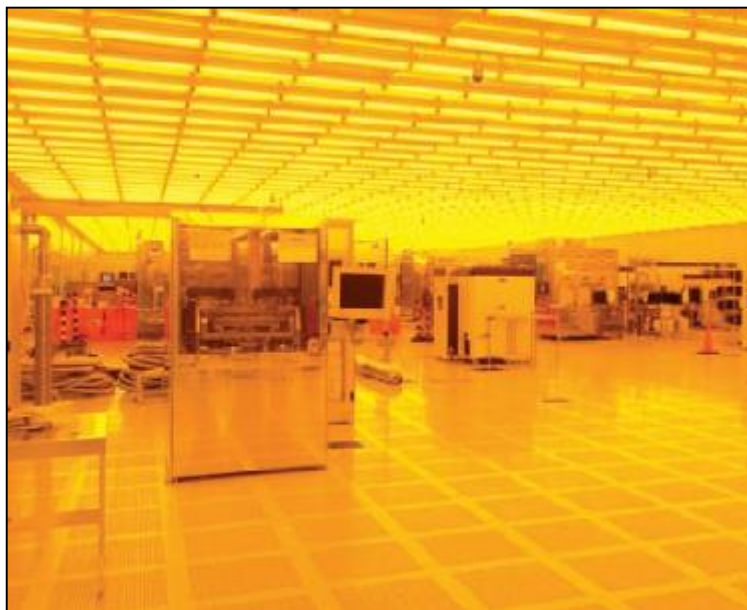
4.5 微流体驱动

4.6 微流体控制

4.2 芯片制作环境



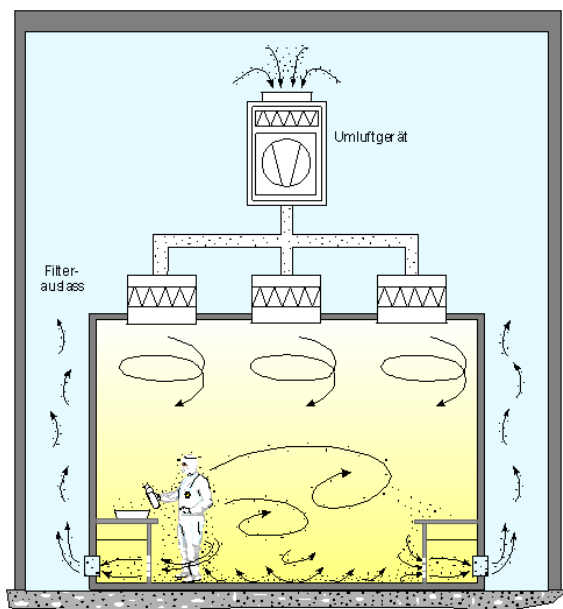
芯片制作主要在超净间(Clean Room)内完成。超净间亦称无尘室，是指将一定空间范围内空气中的微粒子、有害成分、细菌等污染物排除，并对室内温度、照明、压力、气流分布、静电等控制在某一需求范围内而特别设计的房间。



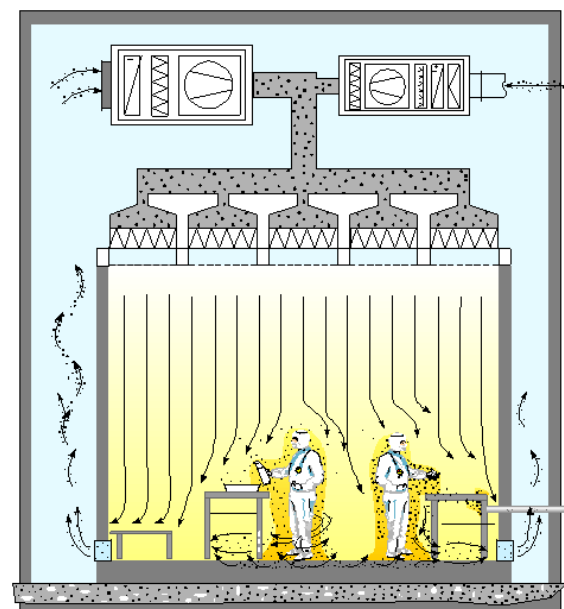
超净间除尘原理



芯片制作主要在超净间(Clean Room)内完成。超净间亦称无尘室，是指将一定空间范围内空气中的微粒子、有害成分、细菌等污染物排除，并对室内温度、照明、压力、气流分布、静电等控制在某一需求范围内而特别设计的房间。



Turbulent Flow



Laminar Flow

超净间等级



超净间的等级主要依照每立方英尺内**大于等于0.5 μm 颗粒**的数量来区分。

US FED STD 209E

Class	maximum particles/ft ³					ISO equivalent
	$\geq 0.1 \mu\text{m}$	$\geq 0.2 \mu\text{m}$	$\geq 0.3 \mu\text{m}$	$\geq 0.5 \mu\text{m}$	$\geq 5 \mu\text{m}$	
1	35	7	3	1		ISO 3
10	350	75	30	10		ISO 4
100		750	300	100		ISO 5
1,000				1,000	7	ISO 6
10,000				10,000	70	ISO 7
100,000				100,000	700	ISO 8

Note: 1立方米 \approx 35立方英尺



第四讲 芯片制作及微流体控制

4.1 芯片材料

4.2 芯片制作环境

4.3 硅、玻璃及石英芯片制作

4.4 高分子聚合物芯片制作

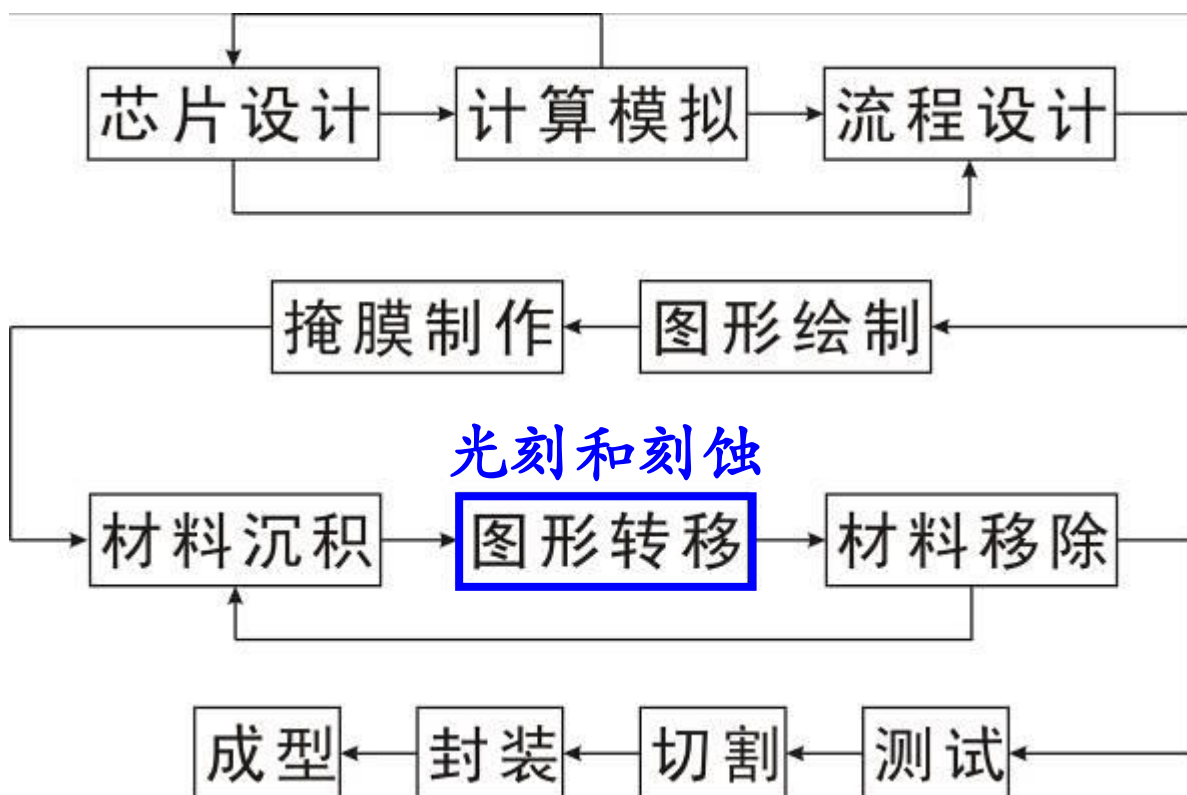
4.5 微流体驱动

4.6 微流体控制



4.3 硅、玻璃及石英芯片制作

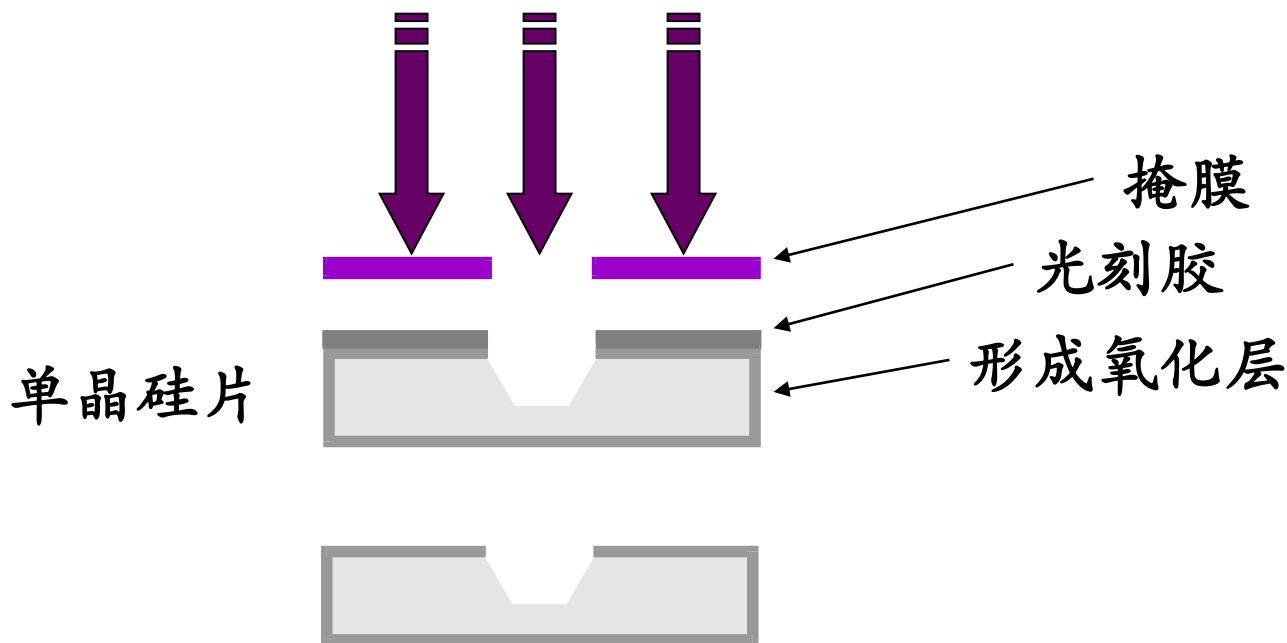
芯片制作主要依靠MEMS微机电加工技术，其基本制作过程如图所示。





4.3 硅、玻璃及石英芯片制作

芯片制作主要依靠MEMS微机电加工技术，其基本制作过程如图所示。





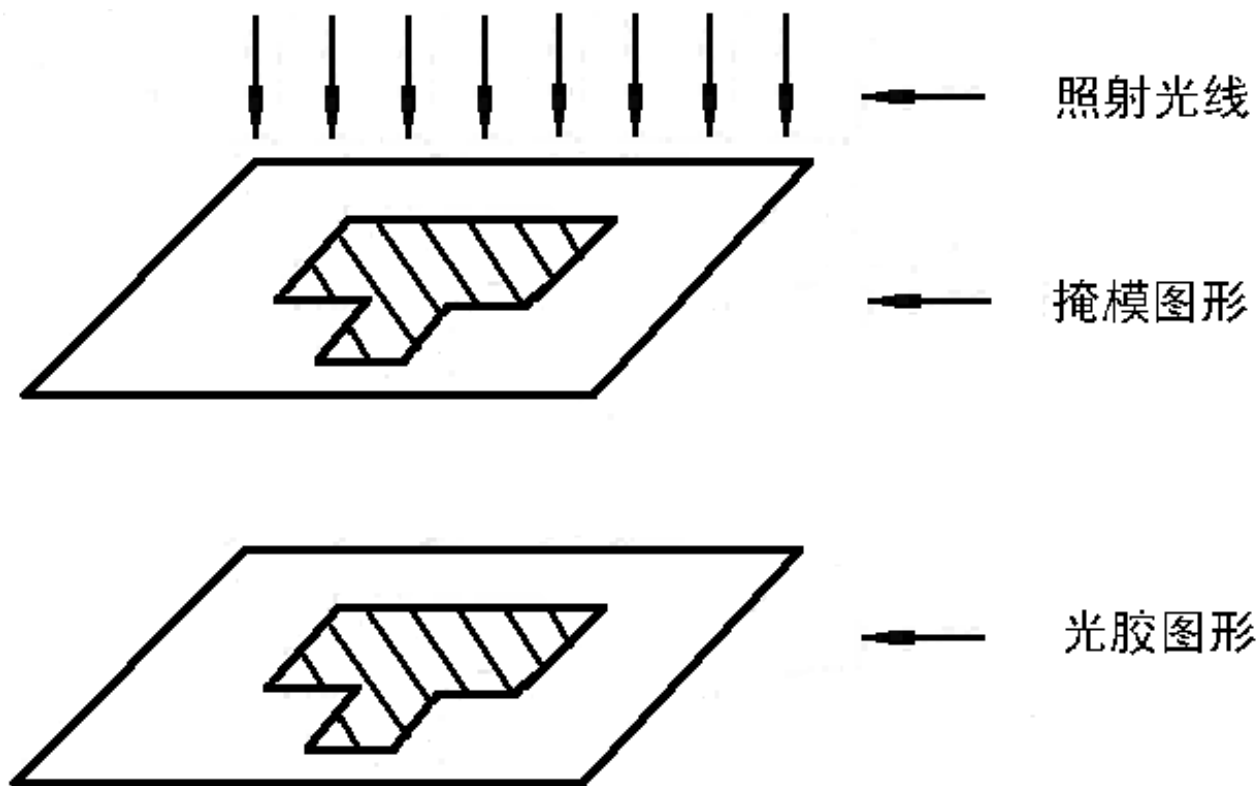
4.3 硅、玻璃及石英芯片制作

- ◆ 掩膜
- ◆ 光刻
- ◆ 刻蚀
- ◆ 打孔
- ◆ 封接



4.3.1 掩膜

掩膜在光刻中的作用





对掩膜的要求

- 掩模的图形区和非图形区对光线的吸收或透射的反差要尽量大。
- 掩模的缺陷如针孔、断条、桥连、脏点和线条的凹凸等要尽量少。
- 掩模图形精度要高。

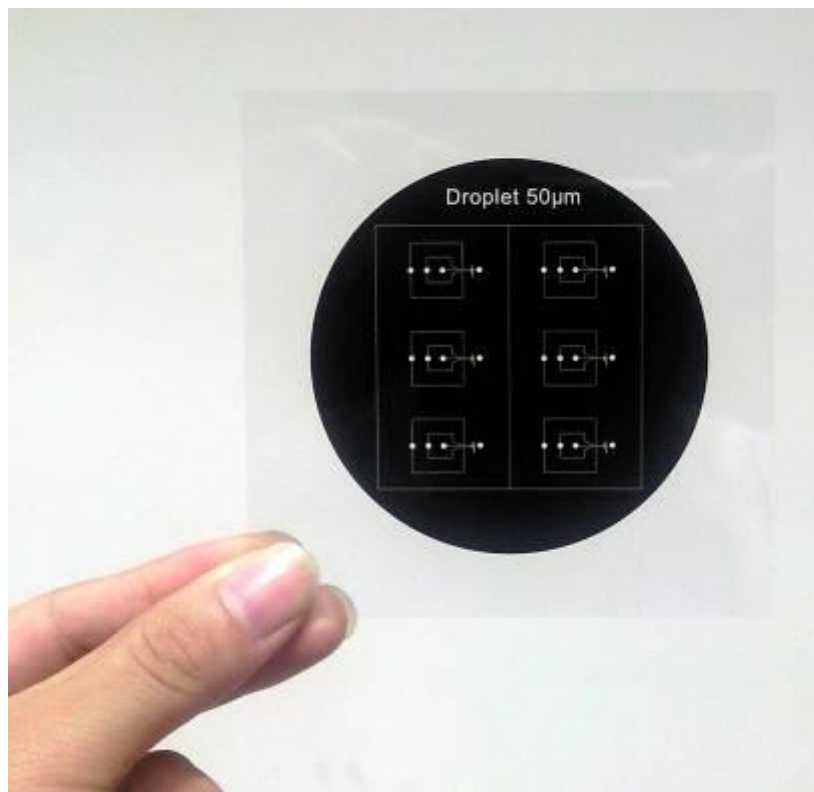
常用掩膜类型



铬板掩膜



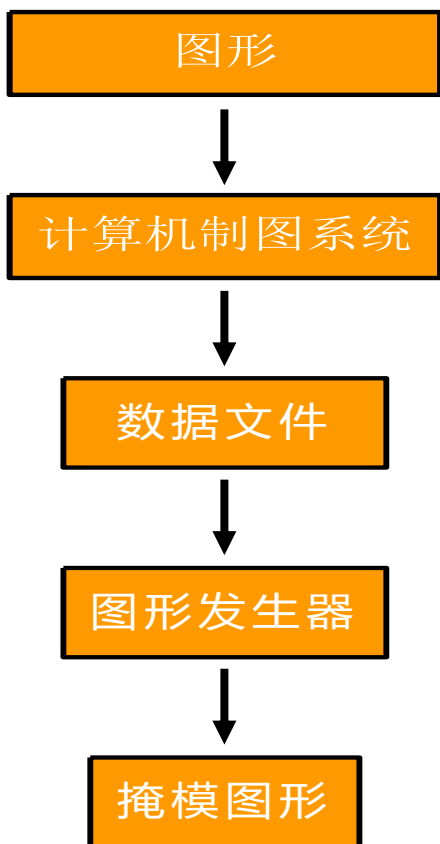
菲林掩膜



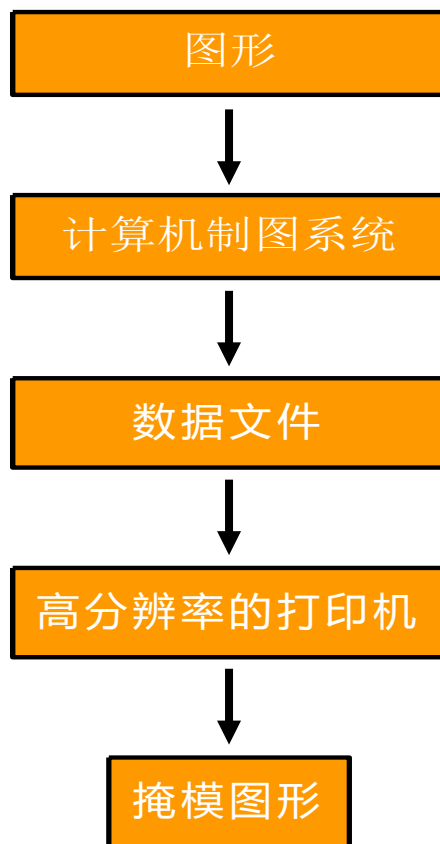
掩膜制备



铬板掩膜



菲林掩膜



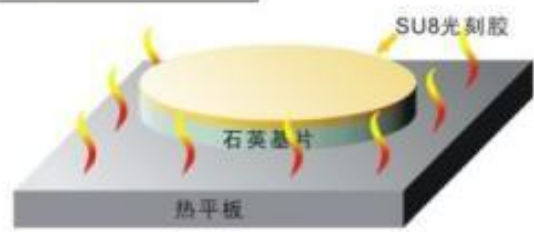


4.3.2 光刻的一般步骤

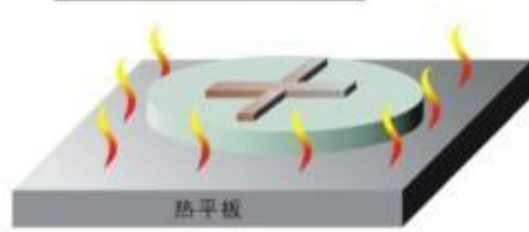
- 预处理：基片清洗，除去基片表面污染物。
- 涂胶：用高速(500-5000转/分)旋转的匀胶机在基片表面均匀地镀上一层对光敏感的有机聚合物乳胶，光胶。
- 前烘：除去光胶中的溶剂。
- 曝光：用光刻机通过曝光将光刻掩模上图案转移到光胶层上。
- 显影：用显影液溶解去掉未曝光的光胶层(负光胶)或已曝光的光胶层(正光胶)。
- 后烘：除去光胶中的剩余溶剂，交联有机分子。



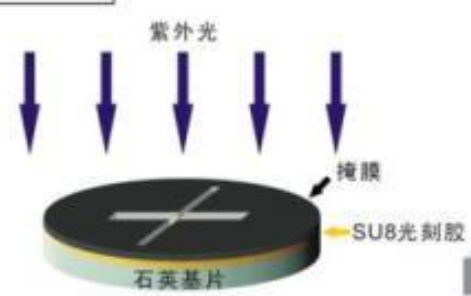
Step 1: 匀胶前烘



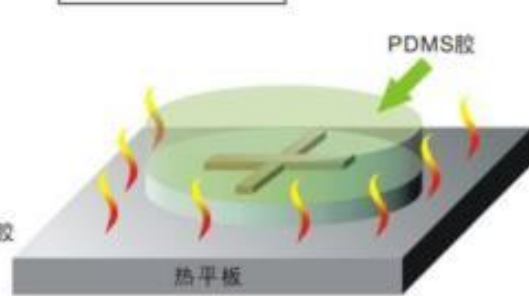
Step 5: 显影+坚模



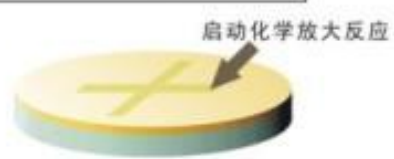
Step 2: 曝光



Step 6: 固化



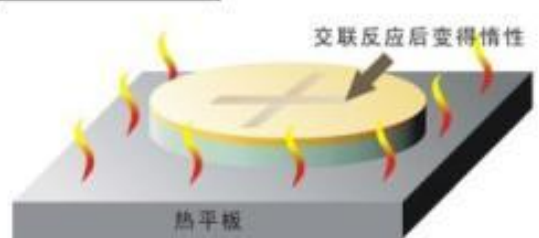
Step 3: 启动化学放大反应



Step 7: 剥胶



Step 4: 后烘



Step 8: 键合





基片的清洗

➤ 除去溶剂：

- 1、在沸腾的三氯乙烯（TCE）浸泡三分钟。
- 2、在沸腾的丙酮中浸泡三分钟。
- 3、在沸腾的乙醇浸泡三分钟。
- 4、用超纯水洗三分钟。

➤ 除去有机和无机污染物：

- 1、置于 H_2O - NH_4OH - H_2O_2 （5:1:1）溶液中，加热到 $75\text{-}80^\circ\text{C}$ ，浸泡十分钟。
- 2、用流动的超纯水冷却上述溶液一分钟。
- 3、用超纯水清洗五分钟。



基片的清洗

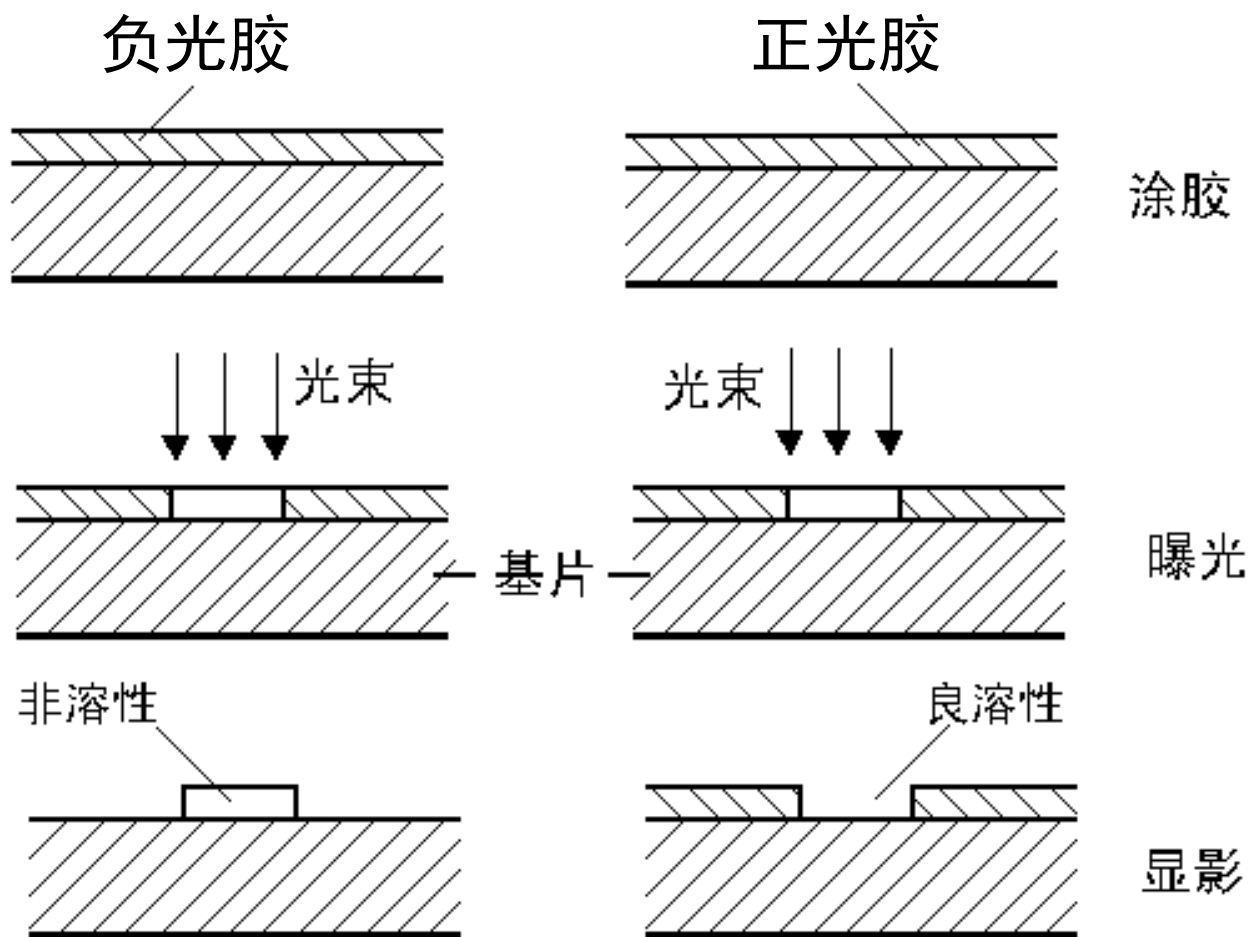
➤ 除去氧化物:

- 1、在 $\text{HF-H}_2\text{O}$ (1: 50) 浸泡15秒。
- 2、用流动的超纯水洗涤30秒。

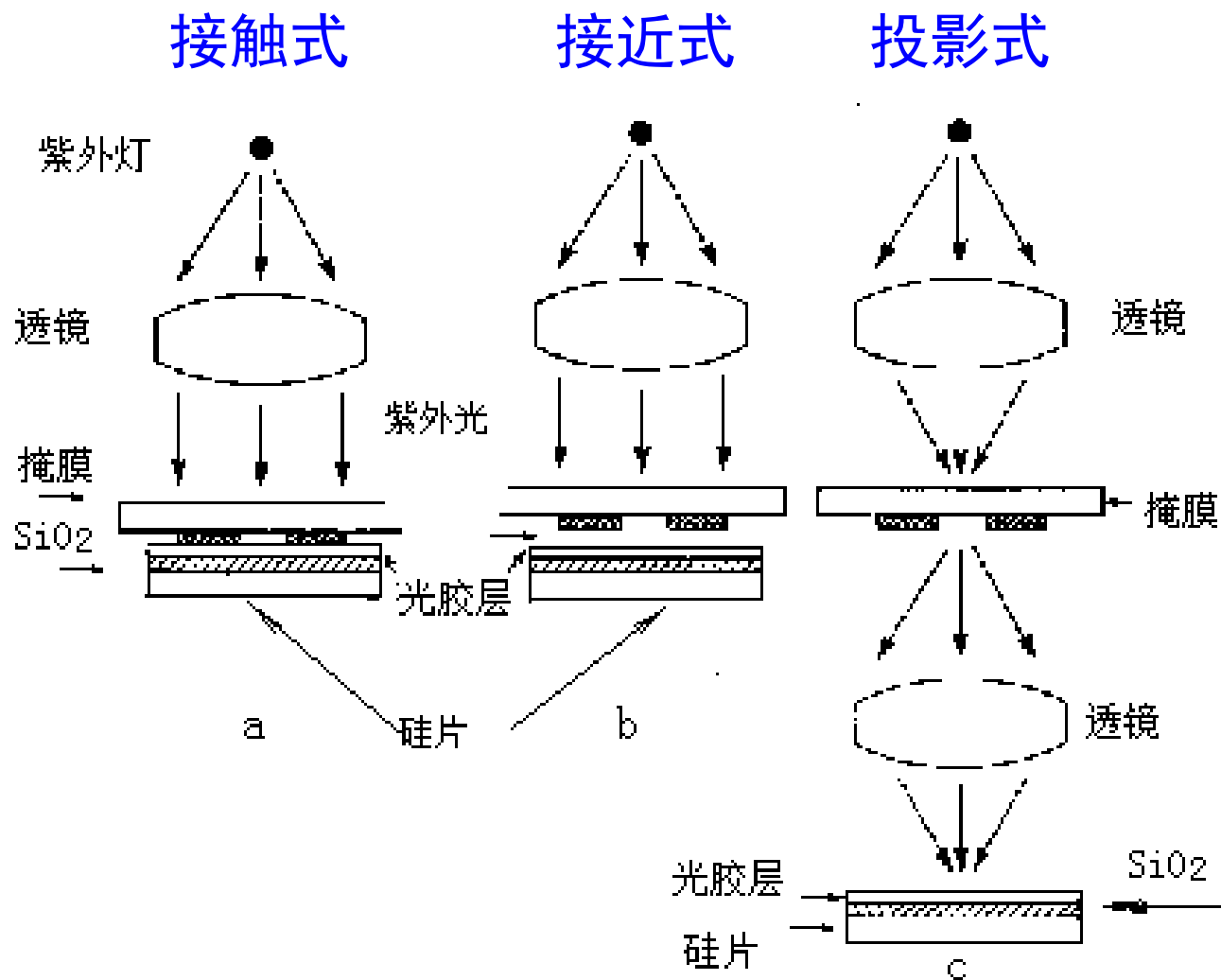
➤ 除去重金属:

- 1、置于 $75-80^\circ\text{C}$ 的 $\text{H}_2\text{O-HCl-H}_2\text{O}_2$ (6:1:1) 溶液中, 浸泡十分钟。
- 2、用流动的超纯水冷却上述溶液一分钟。
- 3、用流动的超纯水洗涤20分钟。

正负光胶的曝光变化



曝光方式





4.3.3 刻蚀方法

➤ 湿法刻蚀

HF/HNO₃

玻璃, 石英

各向同性

HF/NH₄F

玻璃, 石英

各向同性

KOH

硅

各向异性

EDP

硅

各向异性

(CH₃)₄NOH

硅

各向异性

➤ 干法刻蚀

SiF₆

硅

可变

SiF₆/C₄F₈

硅(DRIE)

各向异性


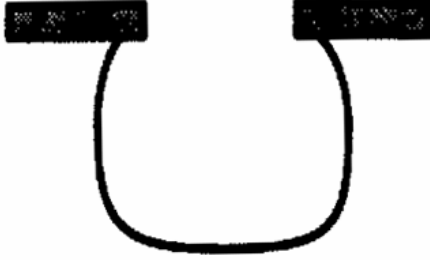
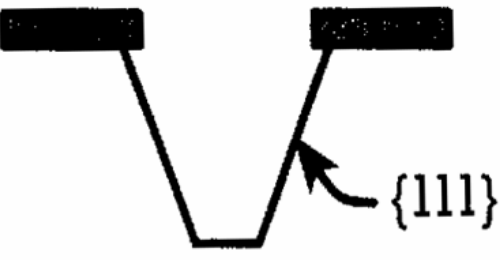
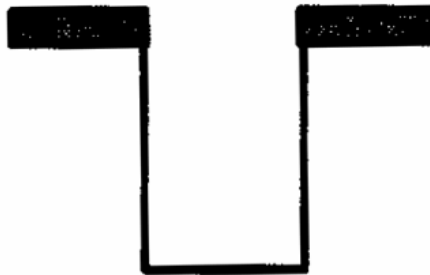


常用保护层刻蚀剂

	湿法刻蚀剂	刻蚀速率 nm/min
二氧化硅	HF	20-2000
	HF+NH ₄ F	100-500
氮化硅	H ₃ PO ₄	5
铝	H ₃ PO ₄ +HNO ₃ +CH ₃ COOH	660
	HF	5
金	KI	40
铬	Ce(NH ₄) ₂ (NO ₃) ₆ +HClO ₄	2
有机层	H ₂ SO ₄ +H ₂ O ₂	>1000
	CH ₃ COCH ₃ (丙酮)	>4000

各向同性和各向异性刻蚀的通道

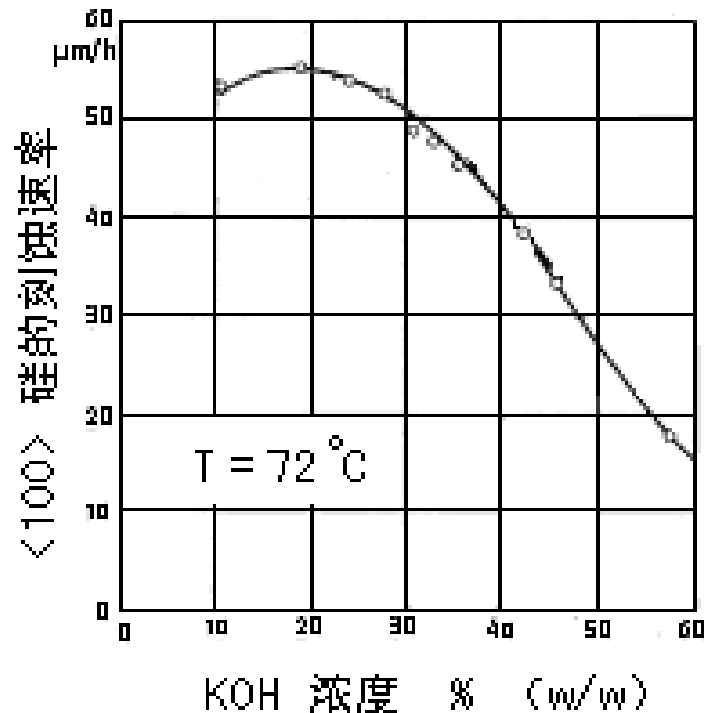
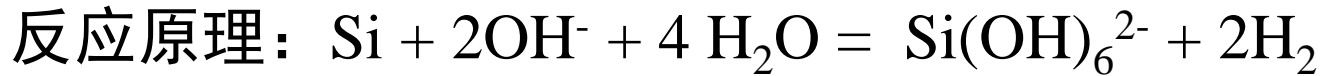


	Wet etch	Plasma (dry) etch
Isotropic		
Anisotropic		



KOH刻蚀硅

各向异性刻蚀，KOH刻蚀速率 $\langle 100 \rangle / \langle 111 \rangle$ 约为100/1。

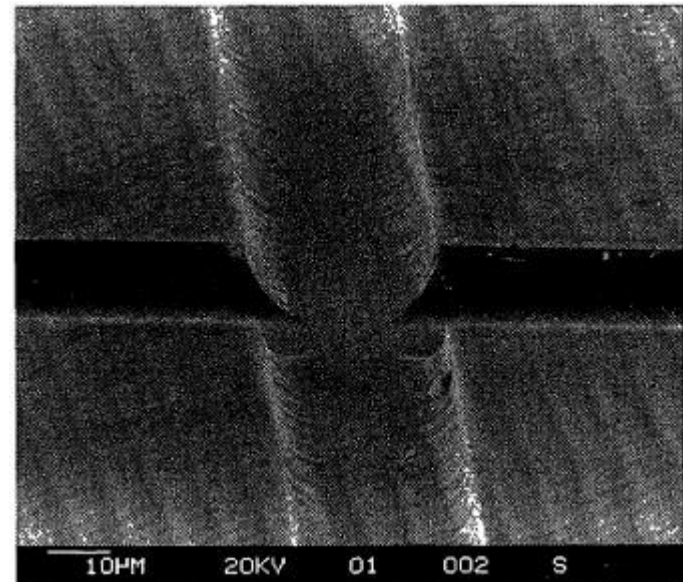
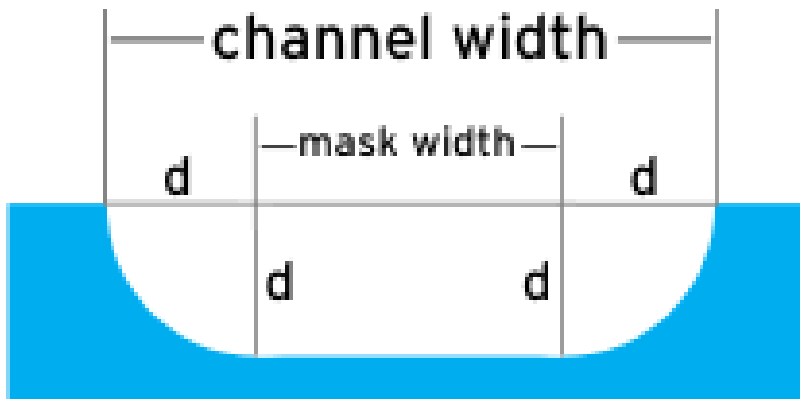




HF刻蚀玻璃

各向同性刻蚀。

反应原理： $4 \text{ HF} + \text{SiO}_2 = \text{SiF}_4 + \text{H}_2\text{O}$





干法刻蚀

➤ 等离子体刻蚀

刻蚀气体分子在高频电磁场作用下发生碰撞，产生自由离子(如 SiF_x^+)、自由电子、分子和中性的游离基组成的等离子体。常用的刻蚀气体有 SiF_6 、 CF_4 、 Cl_2 、 CClF_3 和 NF_3 等F系和Cl系气体。等离子体中的游离基化学性质十分活泼，利用它和被刻蚀材料之间的化学反应，达到刻蚀微流控芯片的目的。因此通常称干法刻蚀为等离子体刻蚀。

➤ 反应离子刻蚀

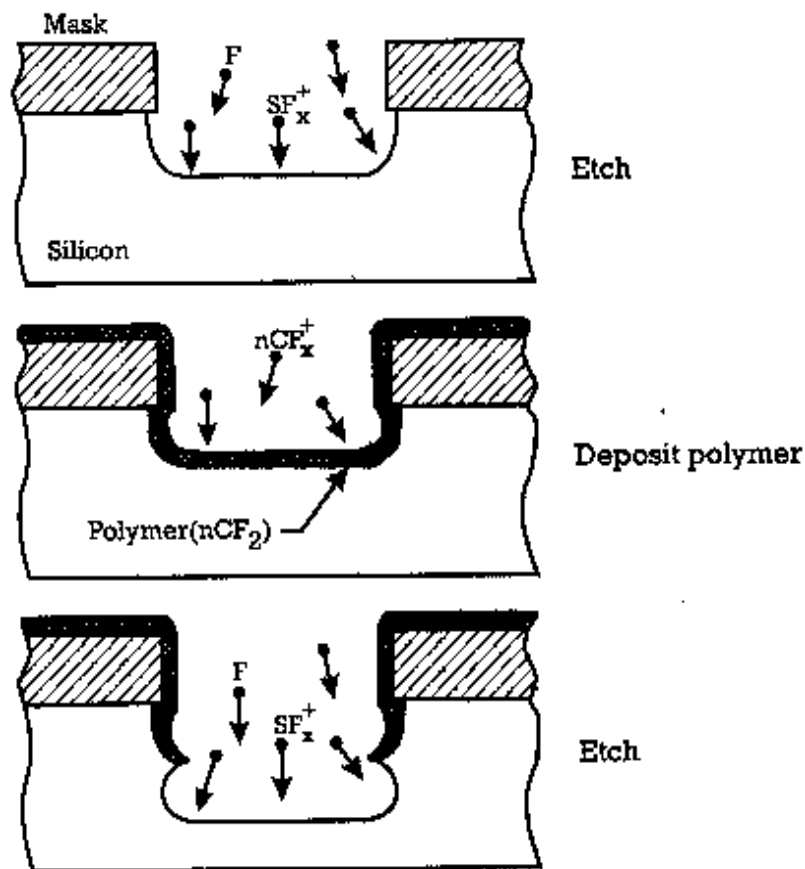
如果除了游离基化学腐蚀外，还有带电离子的轰击作用，从而提高样品的刻蚀速率。这类刻蚀方法叫做反应离子刻蚀(RIE)。反应离子刻蚀的特征是使用不对称电极和低的反应室压力(5 Pa)，使离子垂直轰击被刻蚀材料表面。反应离子刻蚀各向异性的特性来源于加速离子的方向性。

干法刻蚀



➤ 深度反应离子刻蚀

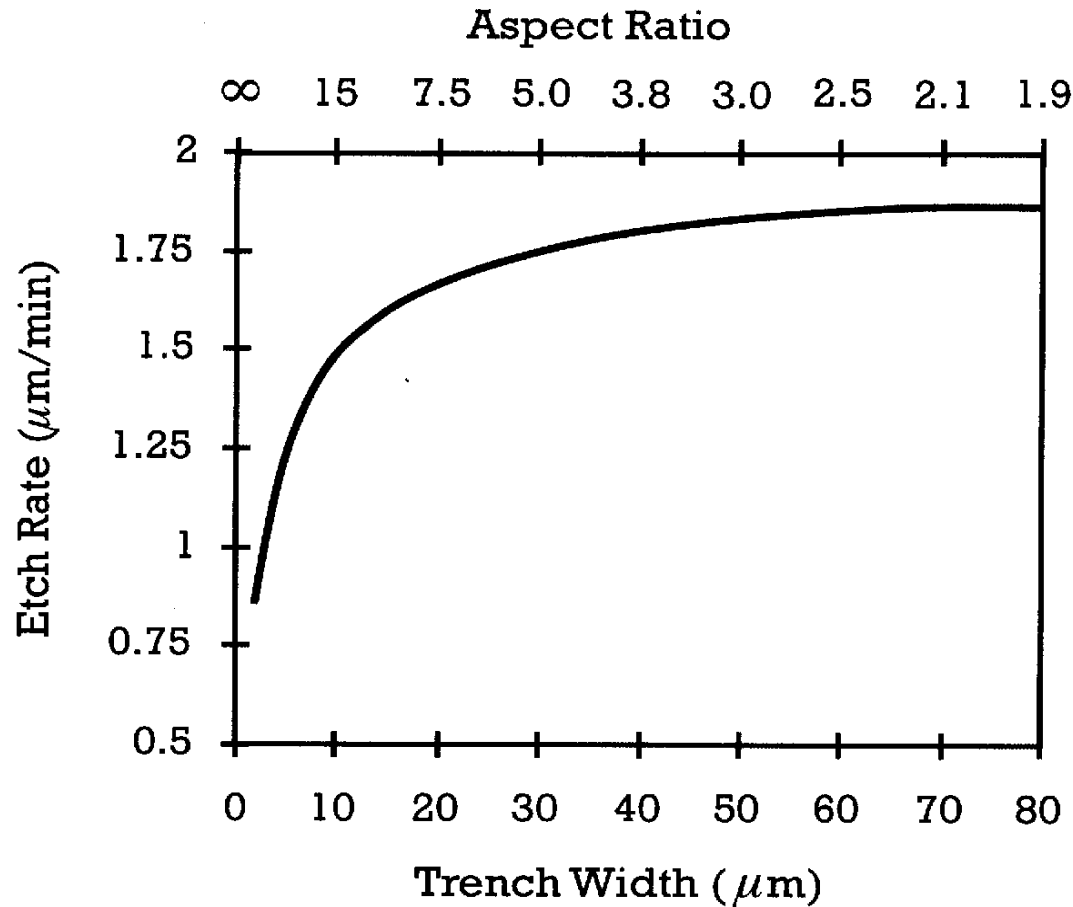
交替使用等离子体-反应离子刻蚀进行刻蚀和沉积。刻蚀循环持续时间为5-15秒，在此循环中，通入 SiF_6 气体，用它产生的等离子体刻蚀硅。在沉积循环中，使用 C_4F_8 气体，通过等离子体反应，在刻蚀的表面上沉积上一层10 nm厚的组成类似Teflon的聚氟乙烯保护层。在紧接的下一个刻蚀循环中， SF_x^+ 高能粒子除去了刻蚀通道底部的聚合物保护层进一步向下刻蚀，而侧壁的保护层依然完整。如此重复刻蚀和沉积钝化的过程，可以产生定向刻蚀，刻蚀速率为 $1.5\text{-}4\ \mu\text{m}/\text{min}$ ，侧壁不平整度小于50 nm。





干法刻蚀

- DRIE刻蚀速率与深宽比的关系(通道深150 μm)





4.3.4 硅、玻璃芯片打孔方法

➤ 金刚石打孔法

优点：设备简单，打孔速度快。

缺点：钻头质量直接影响打孔质量。

➤ 超声波打孔法

优点：孔边缘光滑、整齐，孔径最小达200 μm 。

缺点：较难自动化。

➤ 激光打孔法

优点：适合熔点高、硬度大的材料，孔径深宽比高、质量好，可自动化。

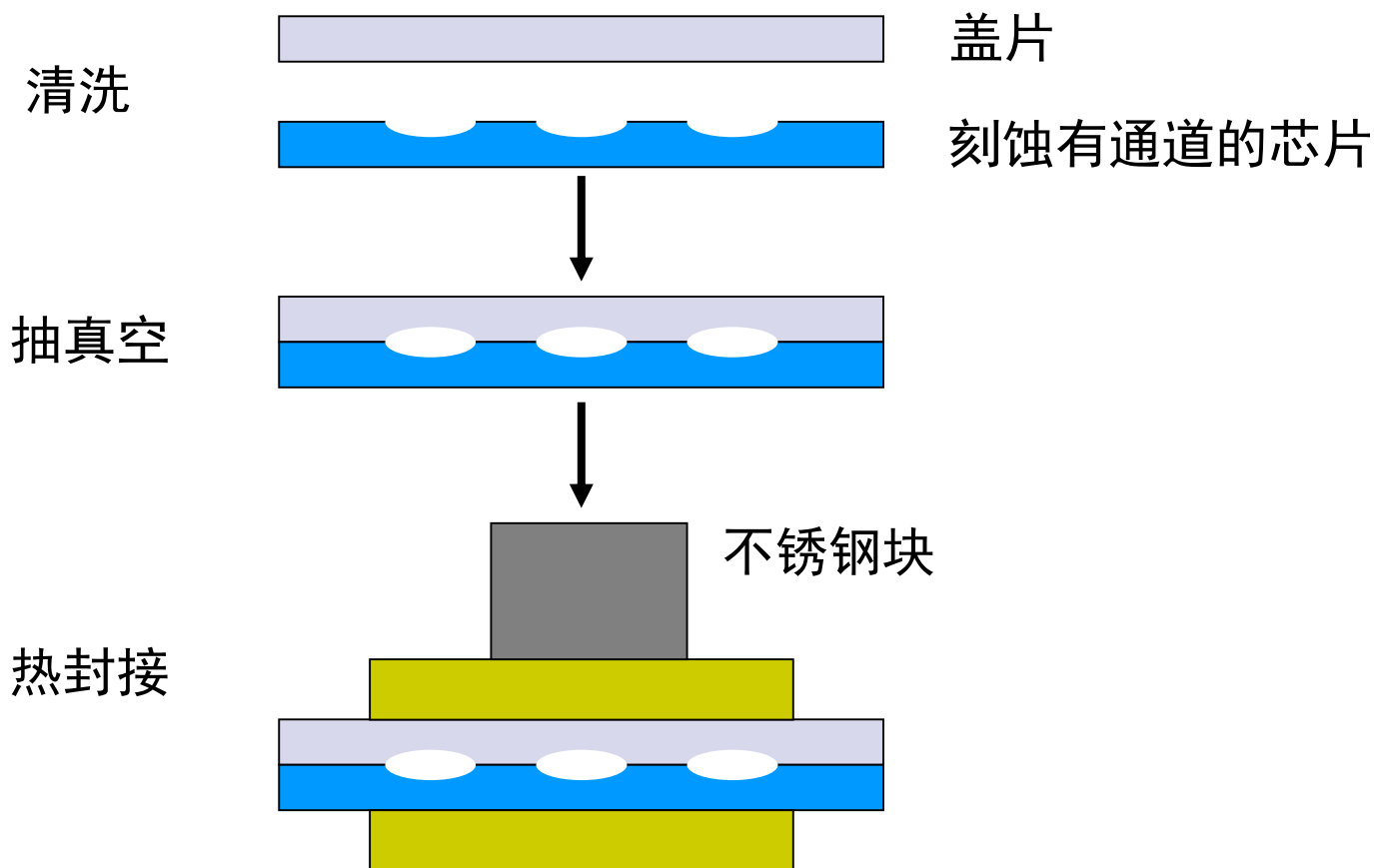
缺点：设备昂贵，颗粒易沉积在孔边缘。



4.3.5 硅、玻璃芯片的封接

➤ 热封接

热封接是玻璃芯片封接中最常用的方法。

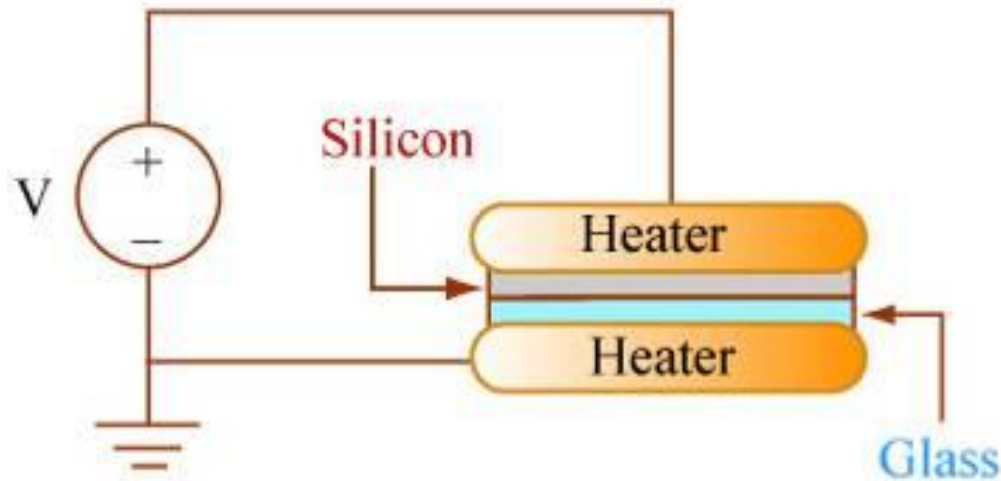




4.3.5 硅、玻璃芯片的封接

➤ 阳极键合

玻璃与负极相连，硅片与正极相连，500~1000V 高压，300~500℃。玻璃中Na离子向阴极移动，界面处玻璃面产生负电荷，硅片正电荷，静电吸引力促使玻璃与硅片间的形成化学键。

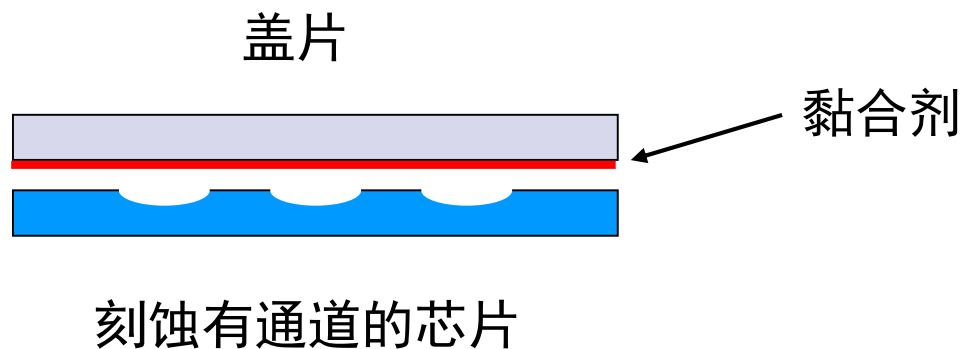




4.3.5 硅、玻璃芯片的封接

➤ 低温黏接

低温黏接是以氢氟酸(HF)和硅酸钠为粘合剂的封接方法，主要用于玻璃芯片的封接。1% 氢氟酸，室温下施加压力若干小时。





4.3.6 小结

- ◆ 掩膜
- ◆ 光刻
- ◆ 刻蚀
- ◆ 打孔
- ◆ 封接



第四讲 芯片制作及微流体控制

4.1 芯片材料

4.2 芯片制作环境

4.3 硅、玻璃及石英芯片制作

4.4 高分子聚合物芯片制作

4.5 微流体驱动

4.6 微流体控制



4.4.1 高分子聚合物芯片制作

芯片制作主要依靠MEMS微机电加工技术，其制作过程中常需要制作芯片模具，模具的材料可以是硅、玻璃或其它有机高分子聚合物。

- 热压法：聚合物基片与模具对准加热加压成型。
- **模塑法**：在光胶模具上固化液态高聚物获得芯片。
- 注塑法：液体原料于注射机注入模具，冷却后得芯片。
- LIGA：X射线深刻及电铸制作精密模具。
- 激光烧蚀法：非接触式、直接依据图形文件制作芯片。
- **软光刻法**：以菲林掩膜代替传统铬板制作光胶模具。

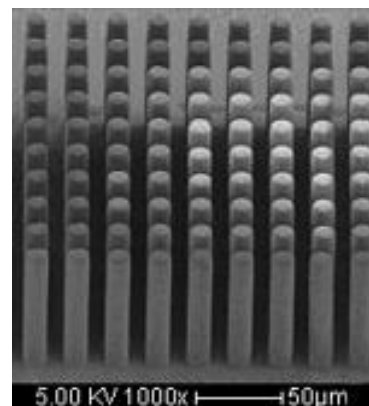


4.4.2 PDMS芯片制作

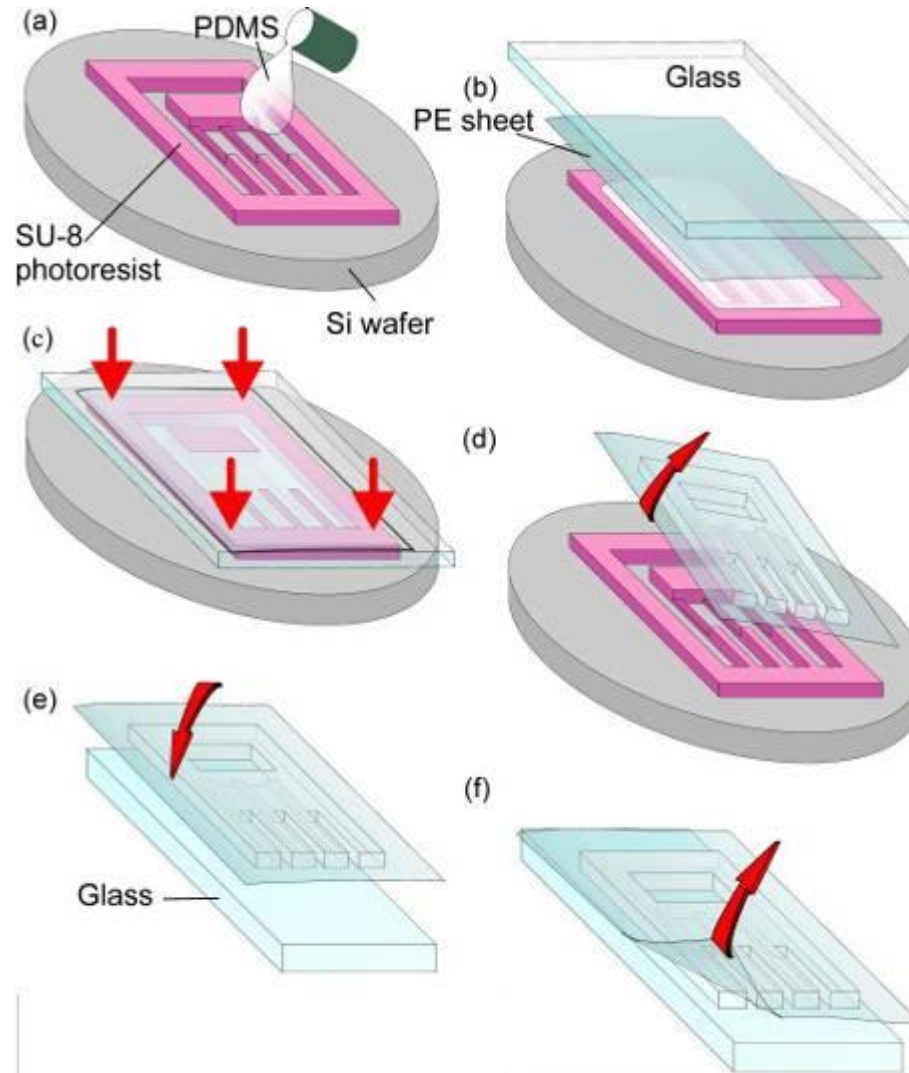
- PDMS是目前微流控芯片最常用的制作材料。
- 制作方法：通常先采用软光刻法制作光胶模具，然后通过模塑法完成芯片制作。
- 常用模具为SU-8负光胶

优点：可制备高深宽比微流控芯片
能透过300nm以上的光线
化学惰性，耐高温200度

缺点：价格昂贵
制作过程较耗时



PDMS芯片制作流程





4.4.3 高分子聚合物芯片打孔方法

➤ 金刚石打孔法 (硬度较高的材料)

优点：设备简单，打孔速度快。

缺点：钻头质量直接影响打孔质量。

➤ 模具法 (注塑法、模塑法)

优点：孔边缘光滑、整齐，孔质量最好。

缺点：模具安放较复杂。

➤ 空心管切割法 (硬度较低的材料)

优点：设备简单、操作方便。

缺点：目前仅适用于PDMS芯片打孔。



4.4.4 高分子聚合物芯片的封接

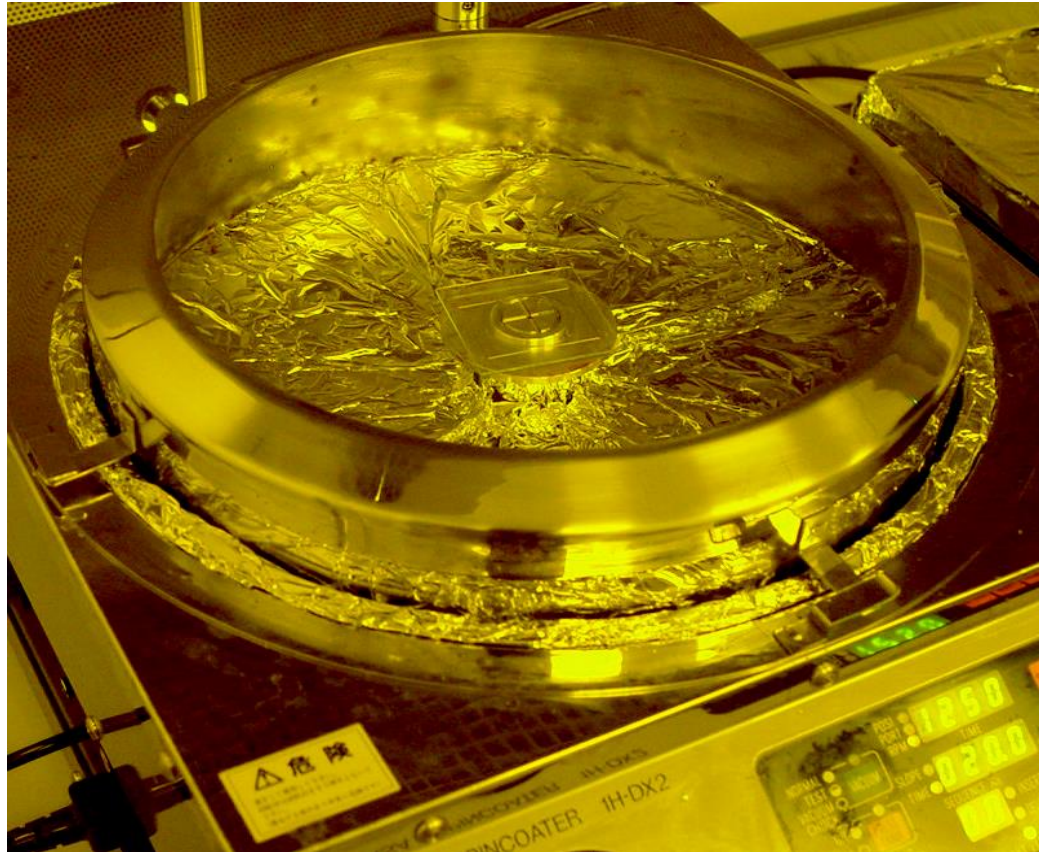
高分子聚合物芯片常用封接方法：

- 热压法
- 热或光催化黏合法
- 有机溶剂黏接法
- 自动黏接法
- 紫外照射法
- 交联剂调节法
- 等离子氧化封接法



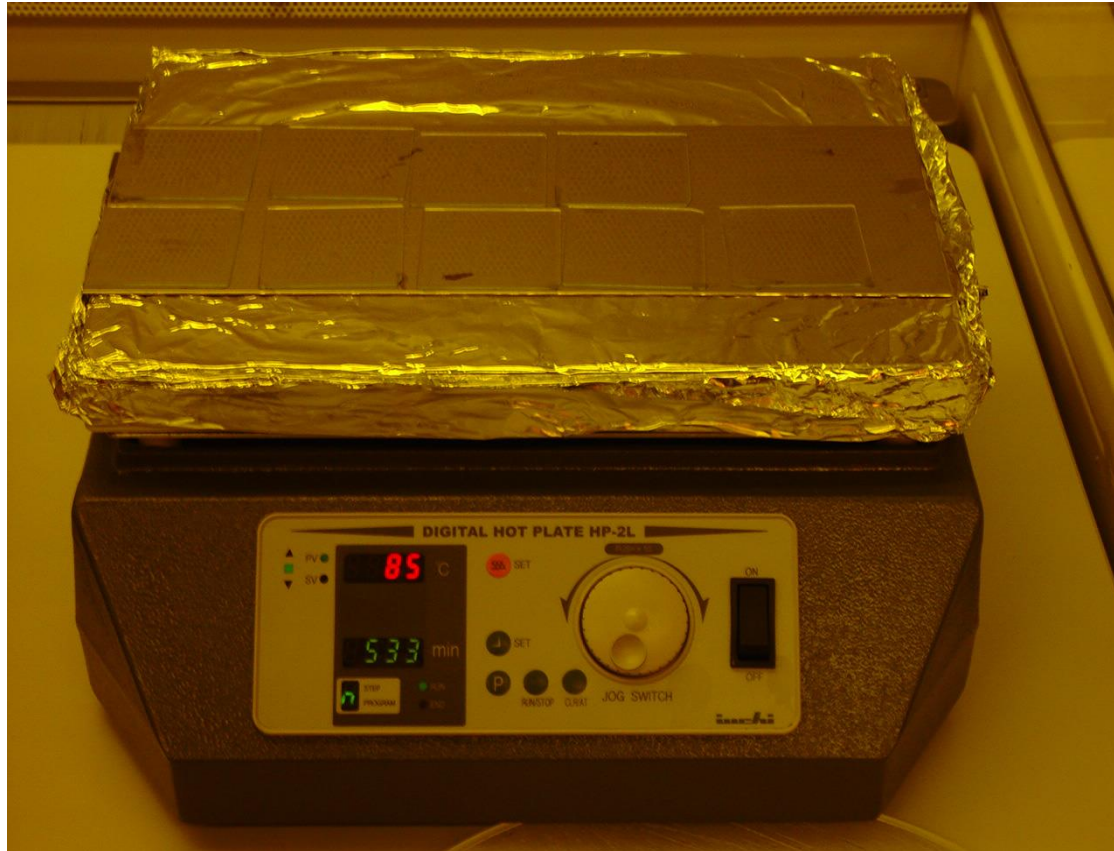
PDMS芯片制作流程演示

Spincoat SU-8



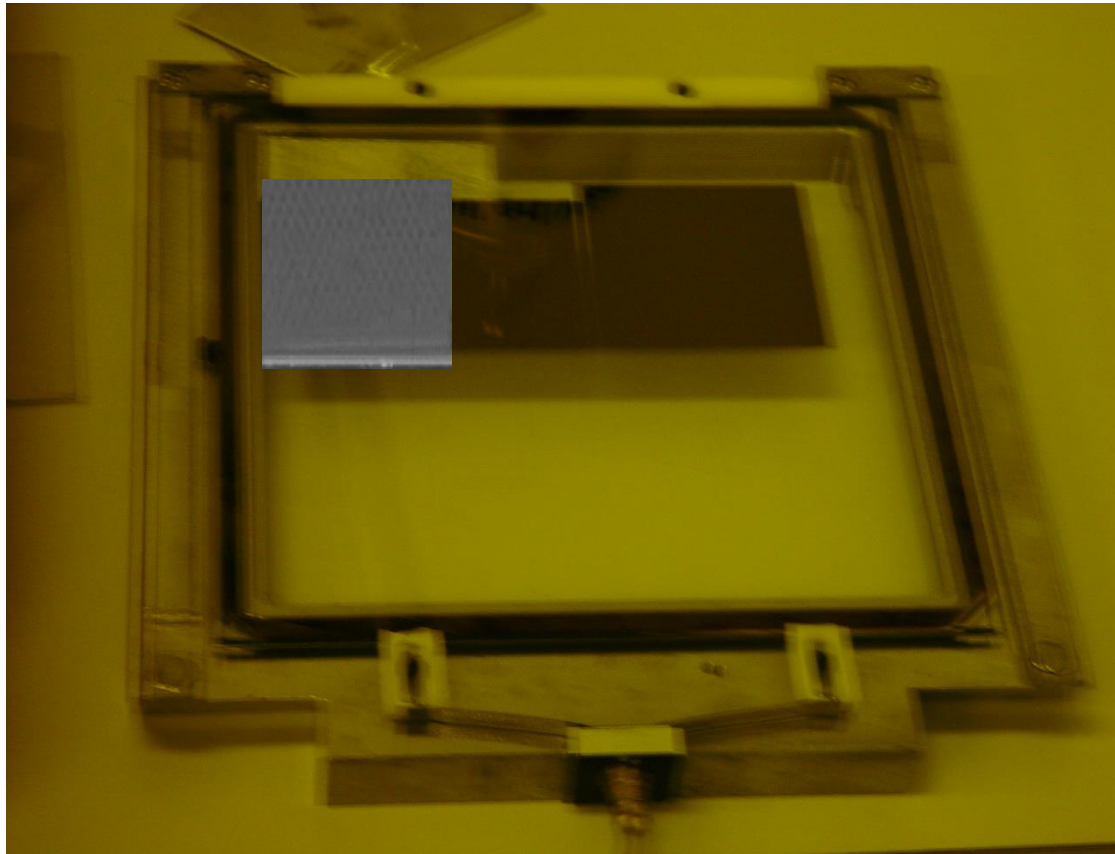


Pre-exposure baking





Fix mask and wafer to holder

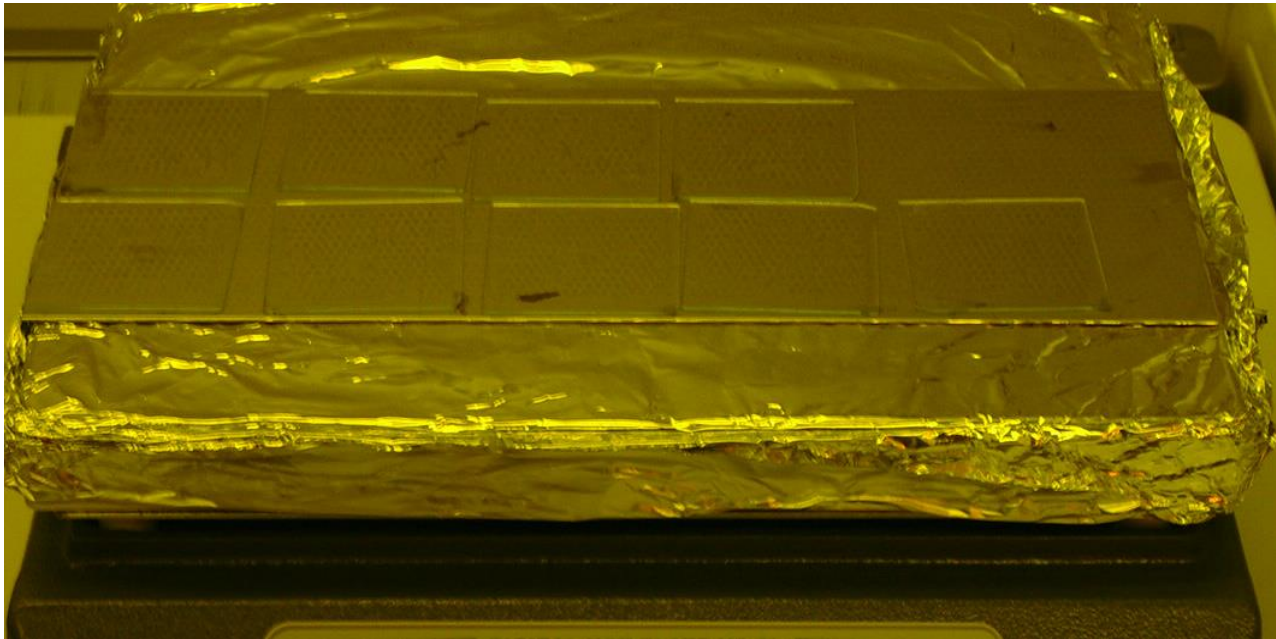


Exposure



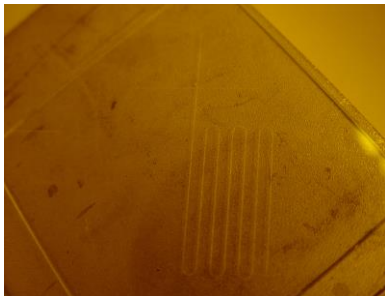
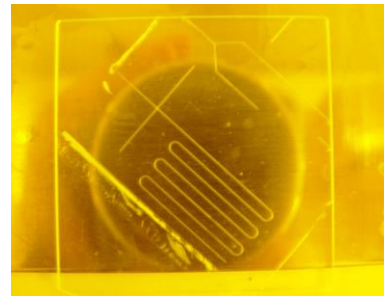
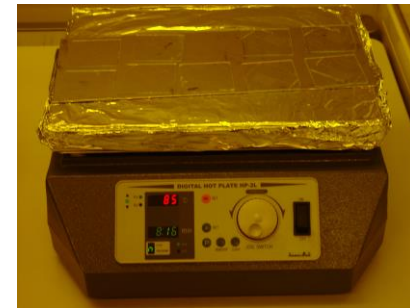


Post-exposure bake





Mold develop, rinse, dry and clear

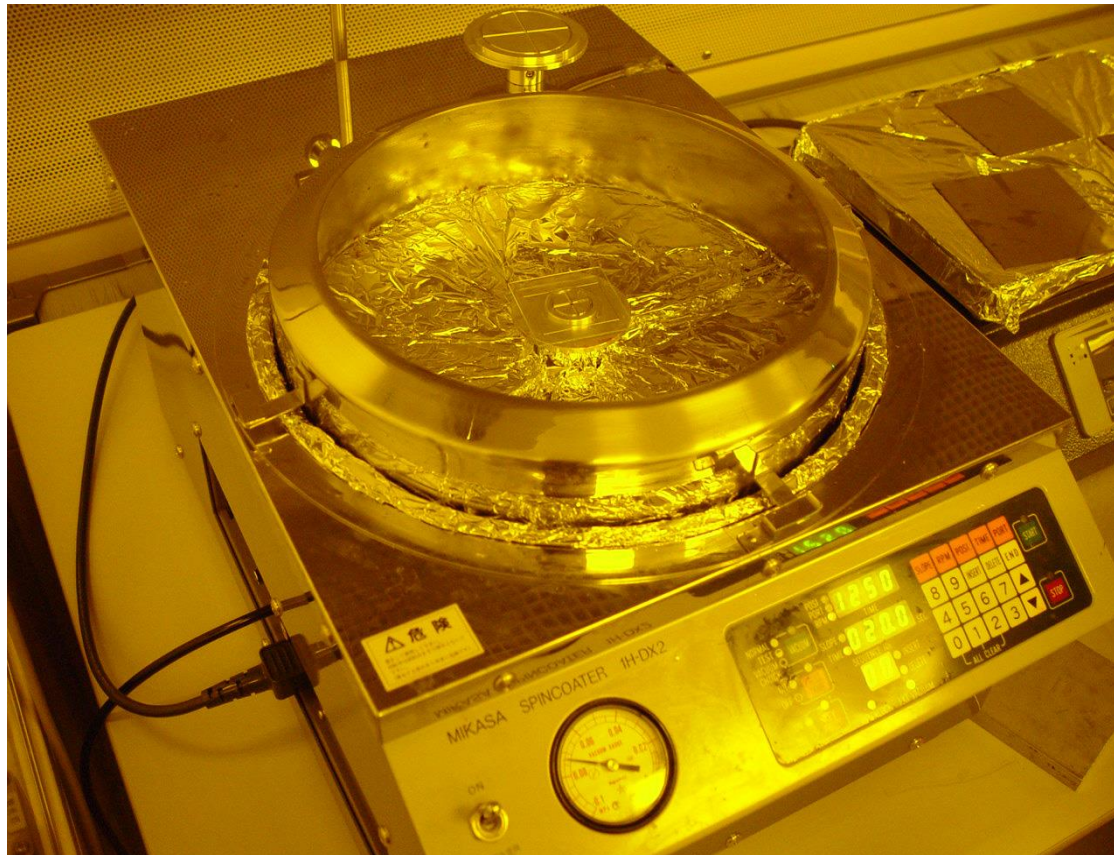


Apply PDMS



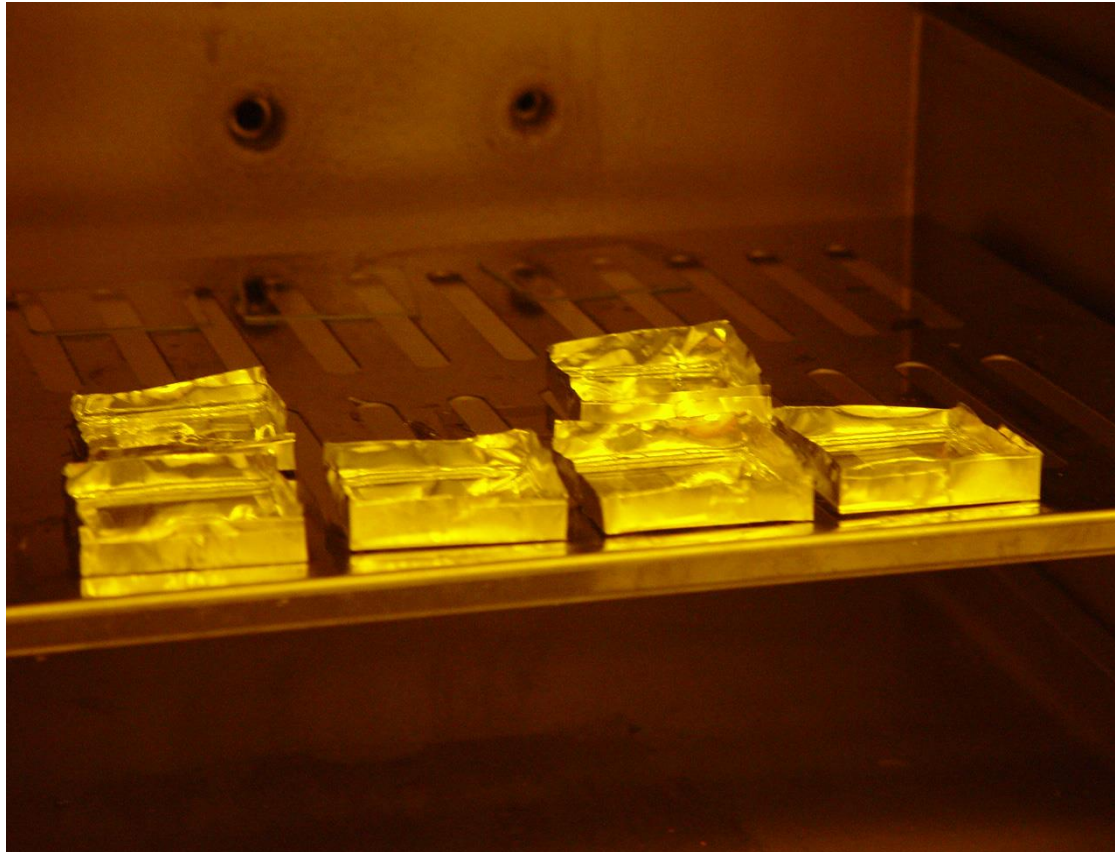


Spincoat PDMS layer





PDMS baking



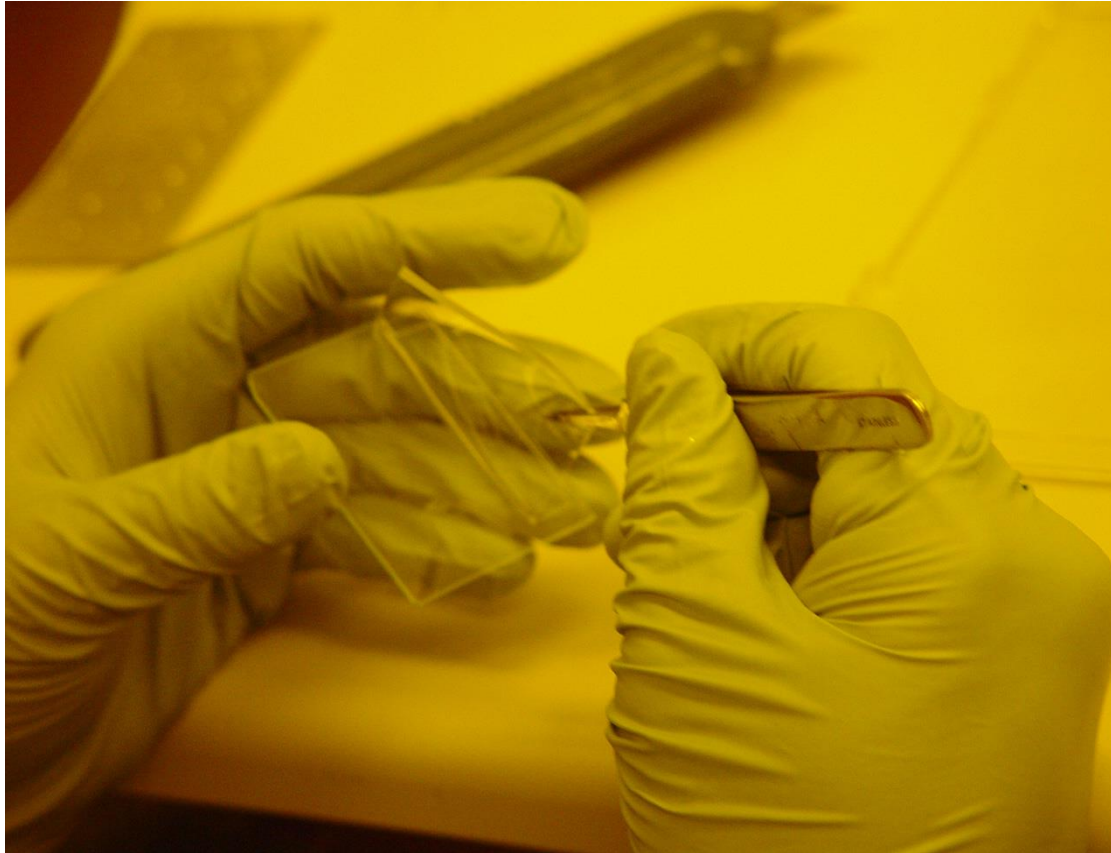


Cut the edge of PDMS layer



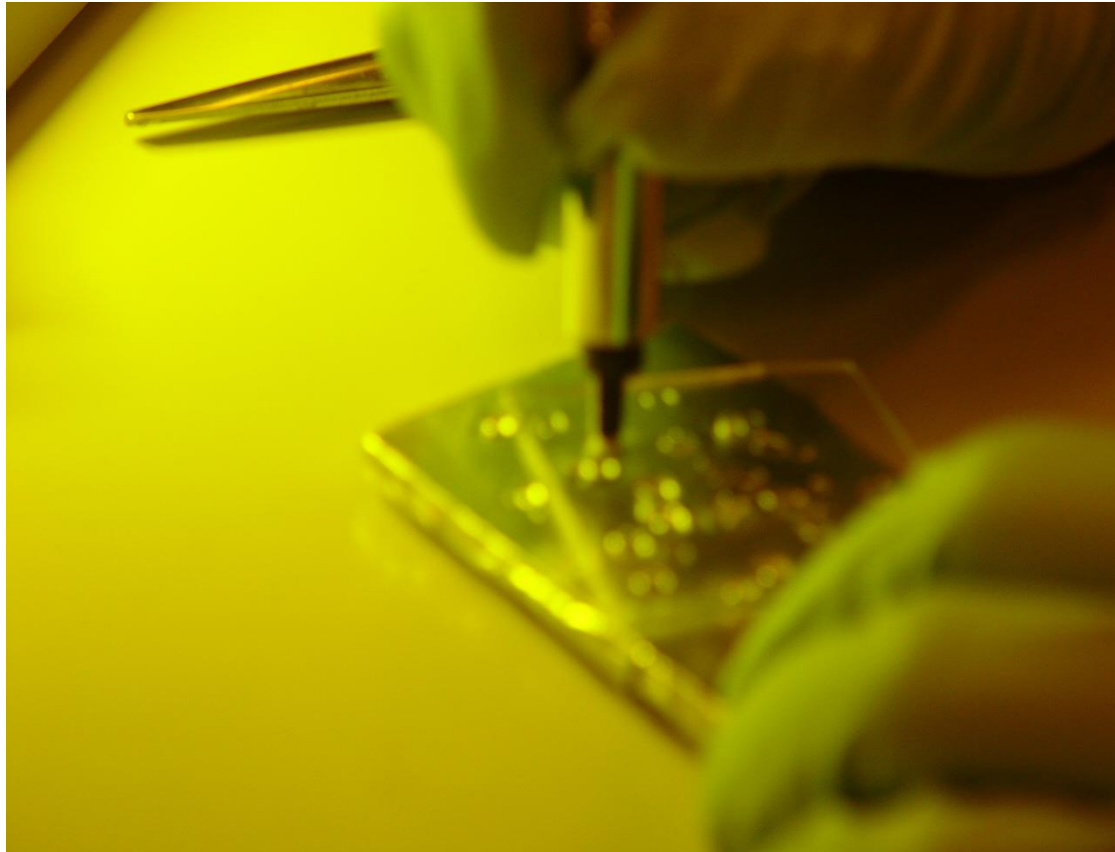


Peel off PDMS layer



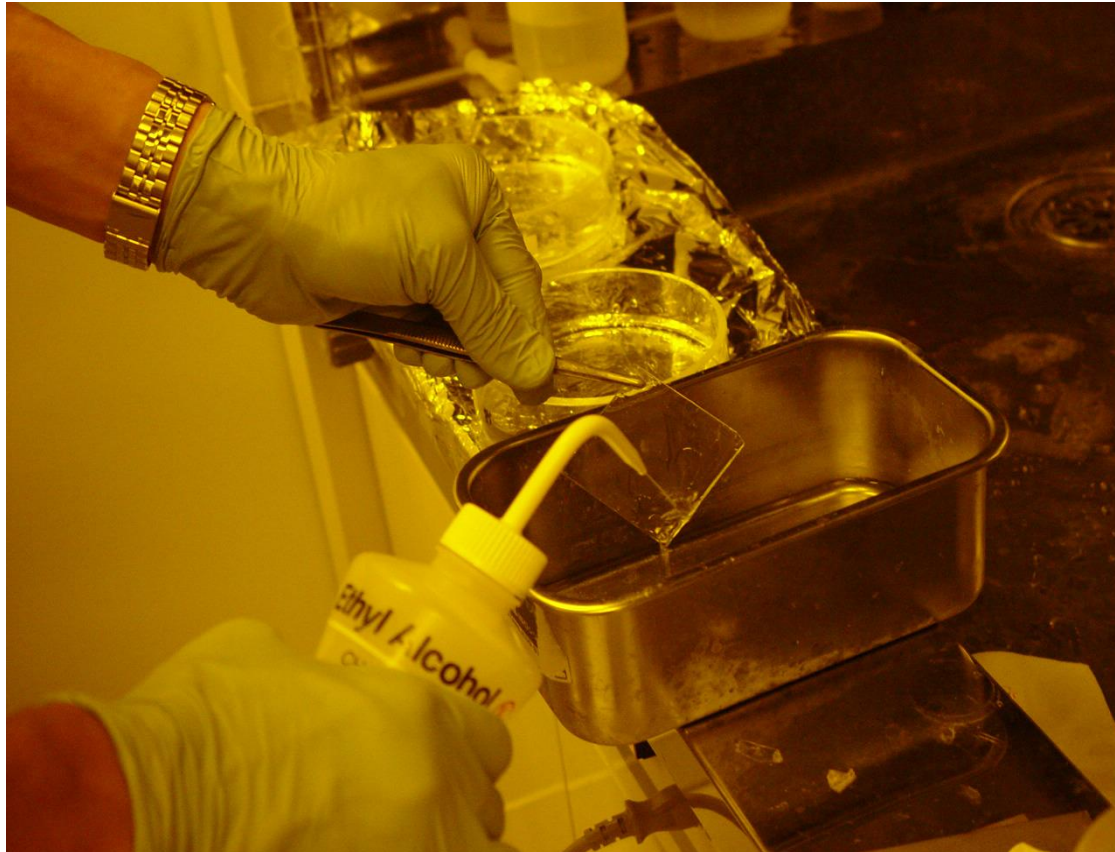


Drill holes





Wash





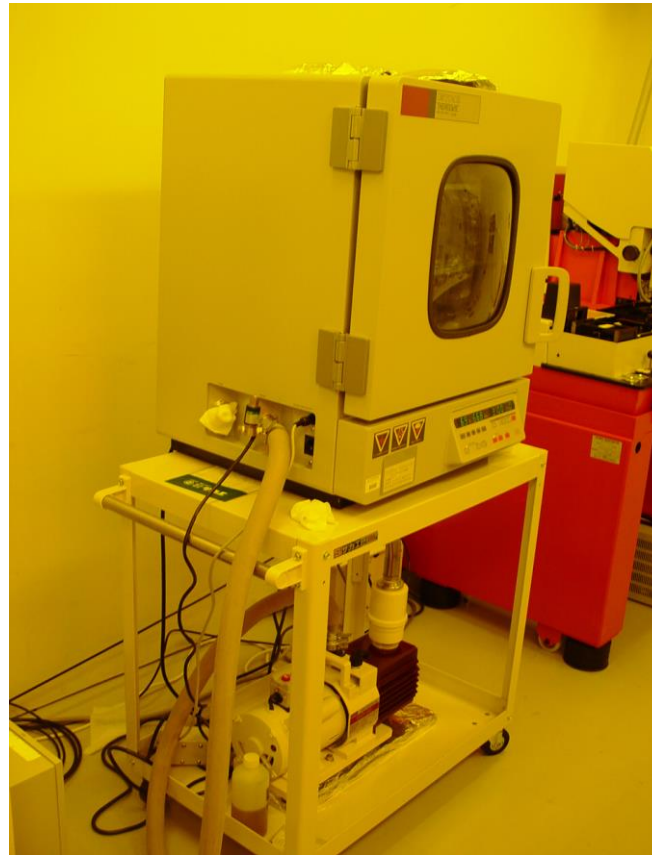
Plasma treatment



Attachment



Baking



Microchip





第四讲 芯片制作及微流体控制

4.1 芯片材料

4.2 芯片制作环境

4.3 硅、玻璃及石英芯片制作

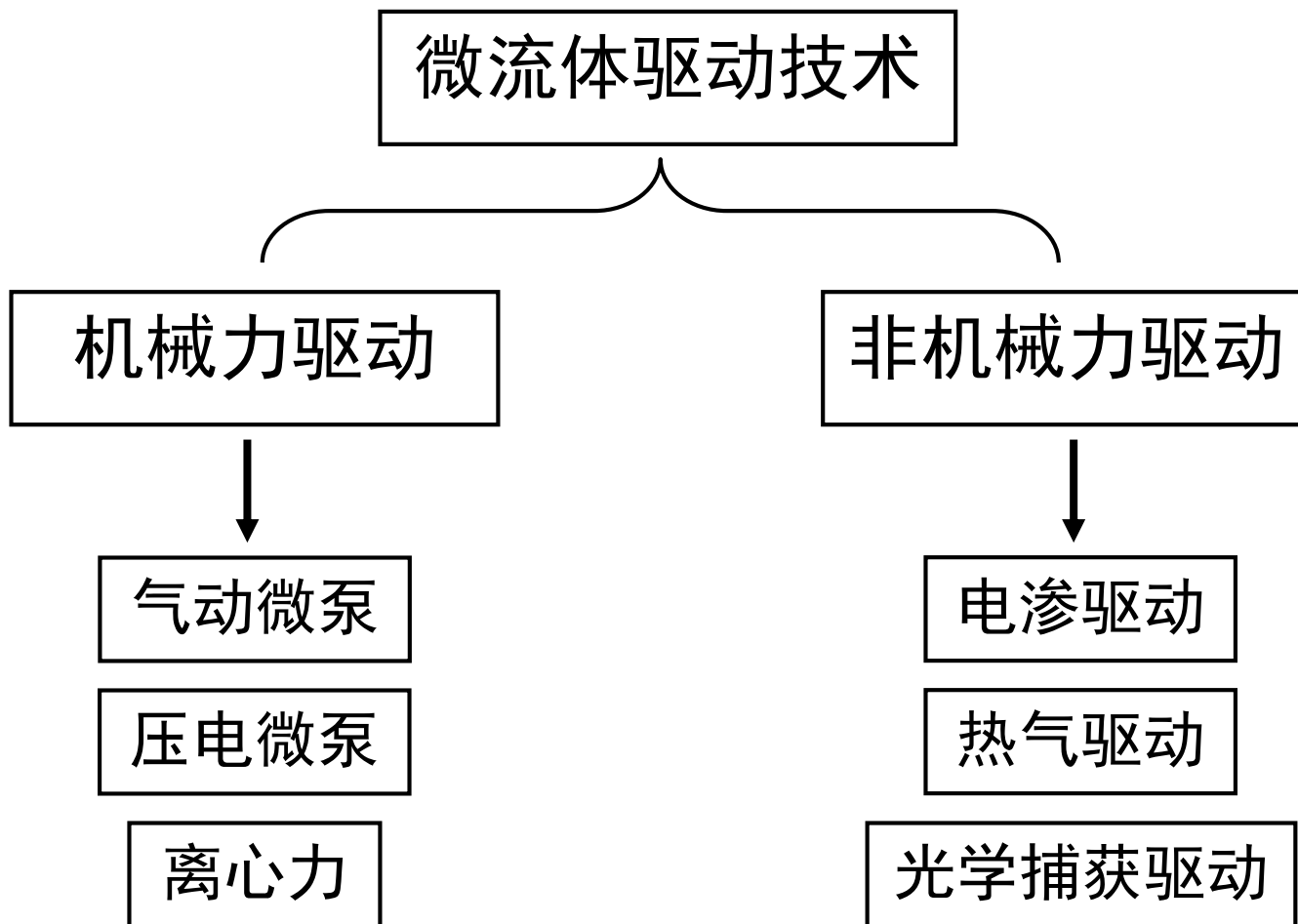
4.4 高分子聚合物芯片制作

4.5 微流体驱动

4.6 微流体控制



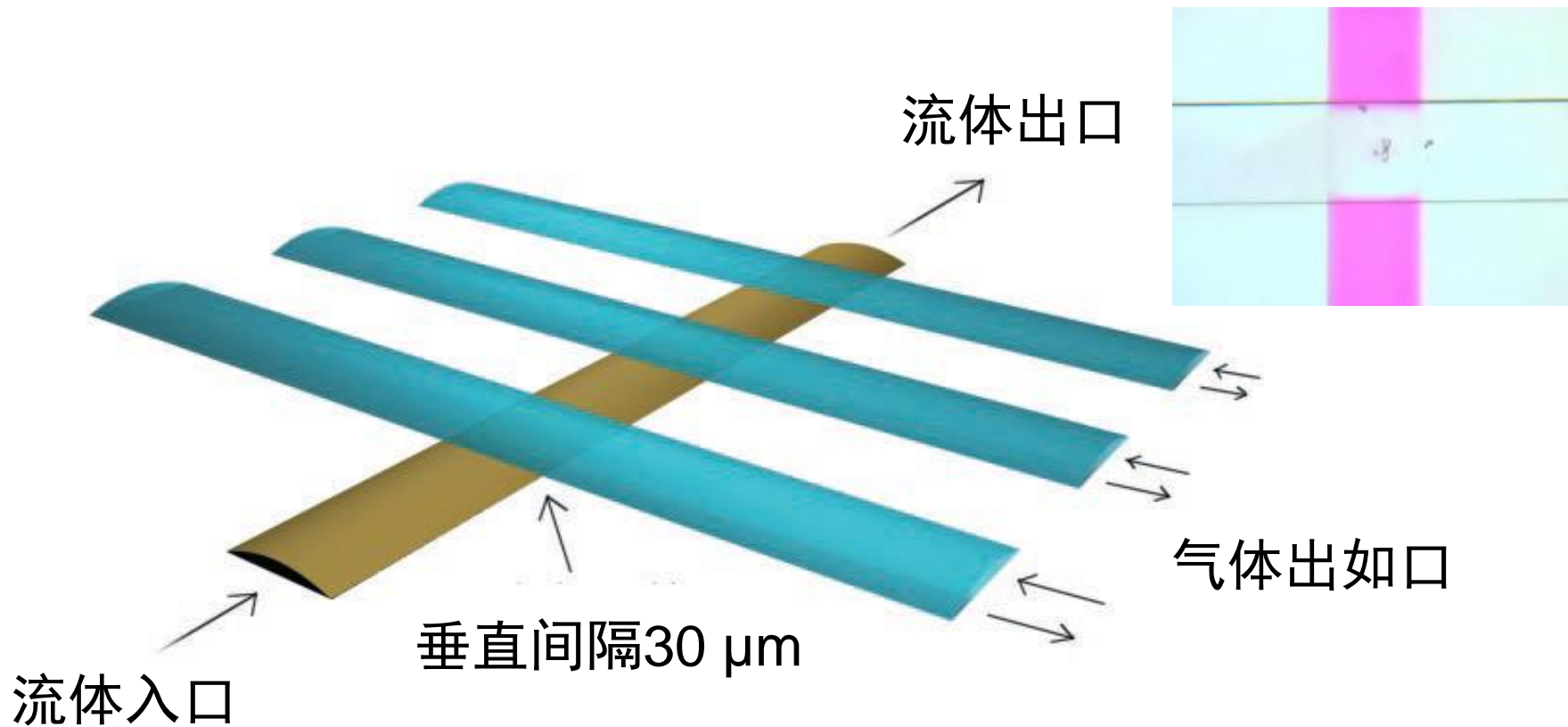
4.5 微流体驱动





4.5.1 PDMS气动微泵驱动

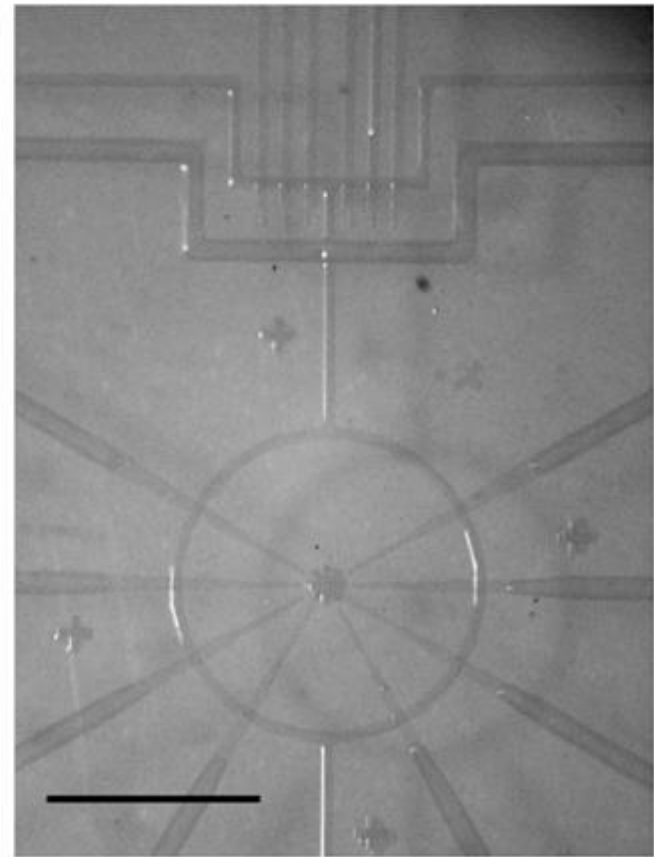
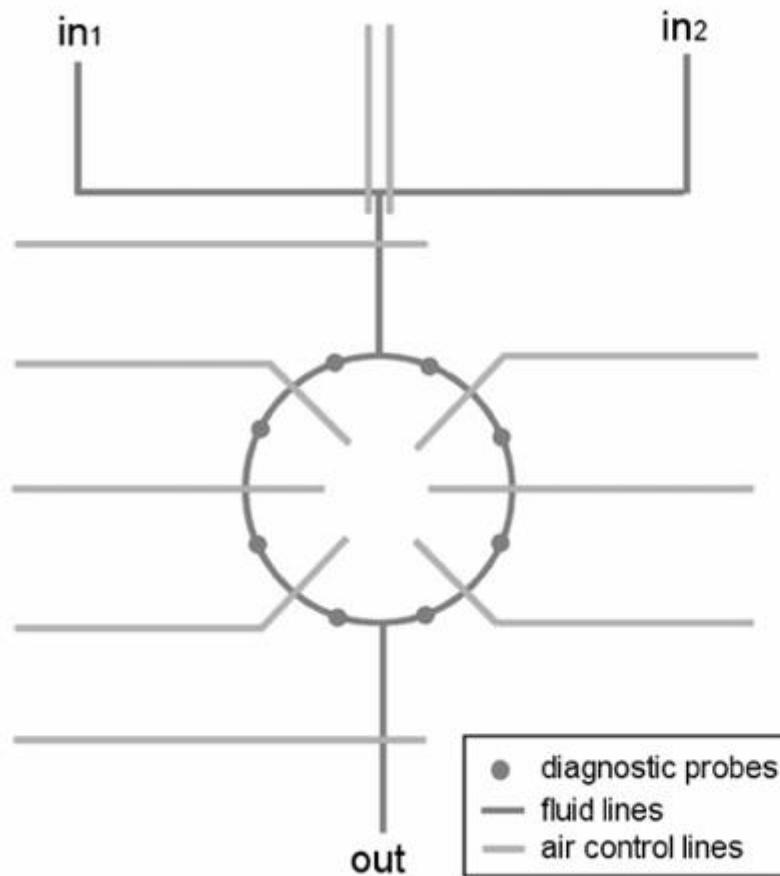
PDMS气动微泵由双层PDMS微通道结构组成，通过顺序控制气动阀的开启、关闭，实现对微通道中液体的驱动。



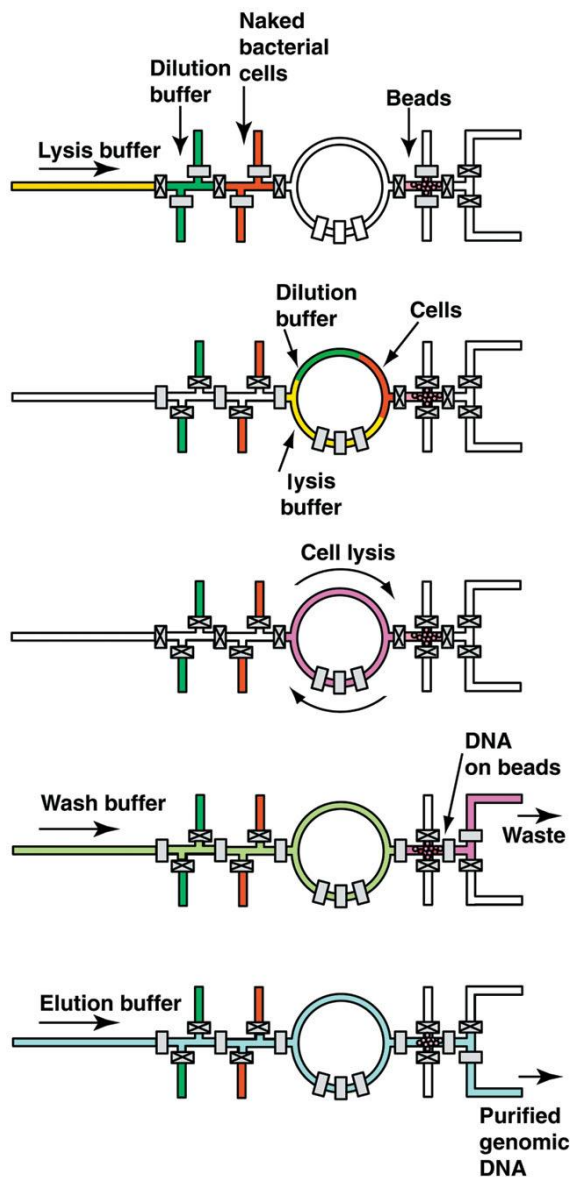
PDMS气动循环泵



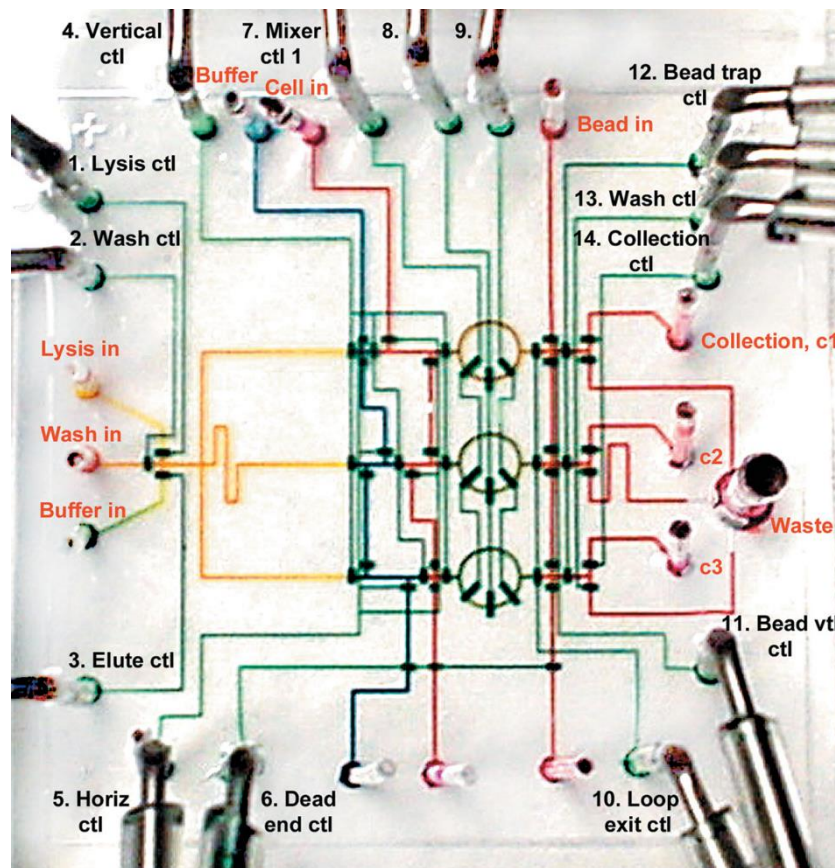
基于气动泵原理，循环泵可突破扩散限制，实现样品的快速混合等。



PDMS气动循环泵



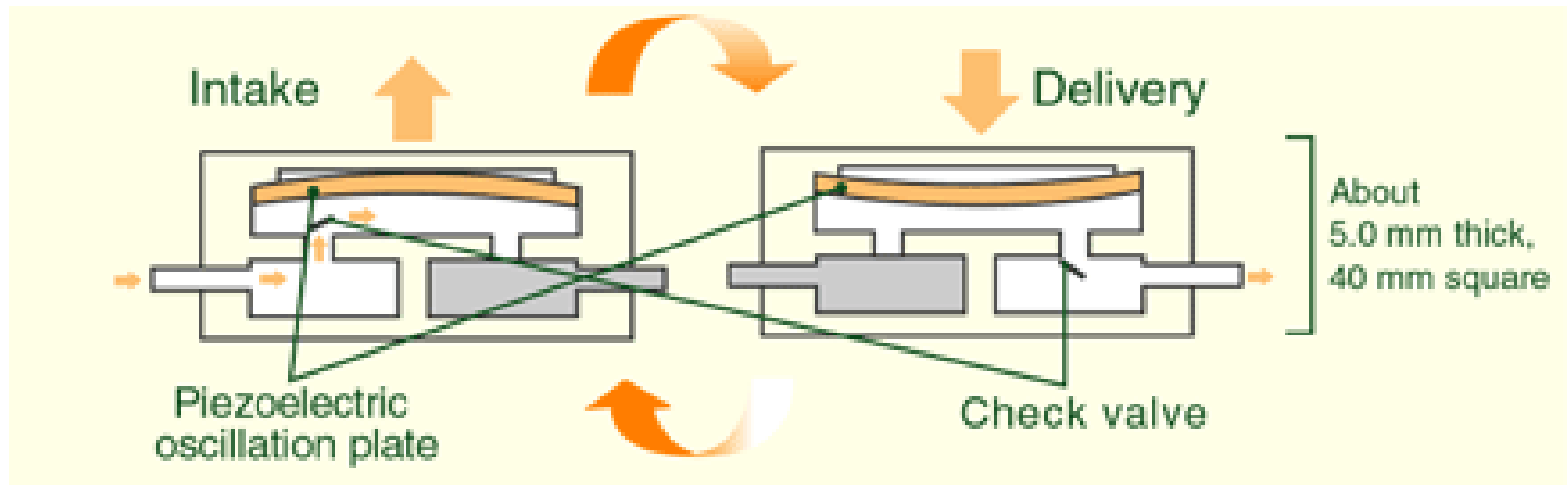
DNA纯化芯片





2.5.2 压电微泵驱动

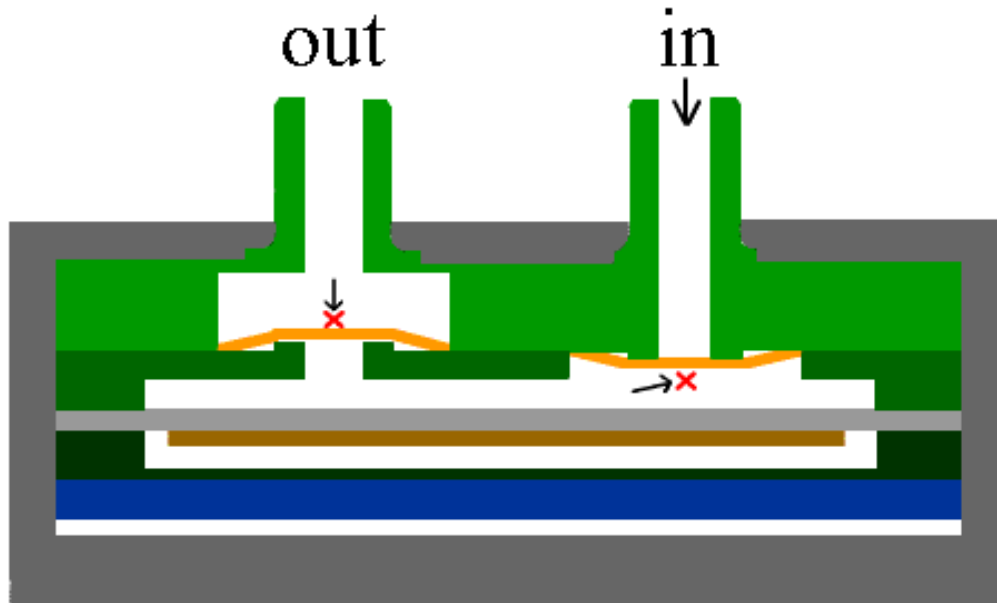
压电微泵通常由泵腔、一个单向进口阀和一个单向出口阀组成。





4.5.2 压电微泵驱动

压电微泵通常由泵腔、一个单向进口阀和一个单向出口阀组成。

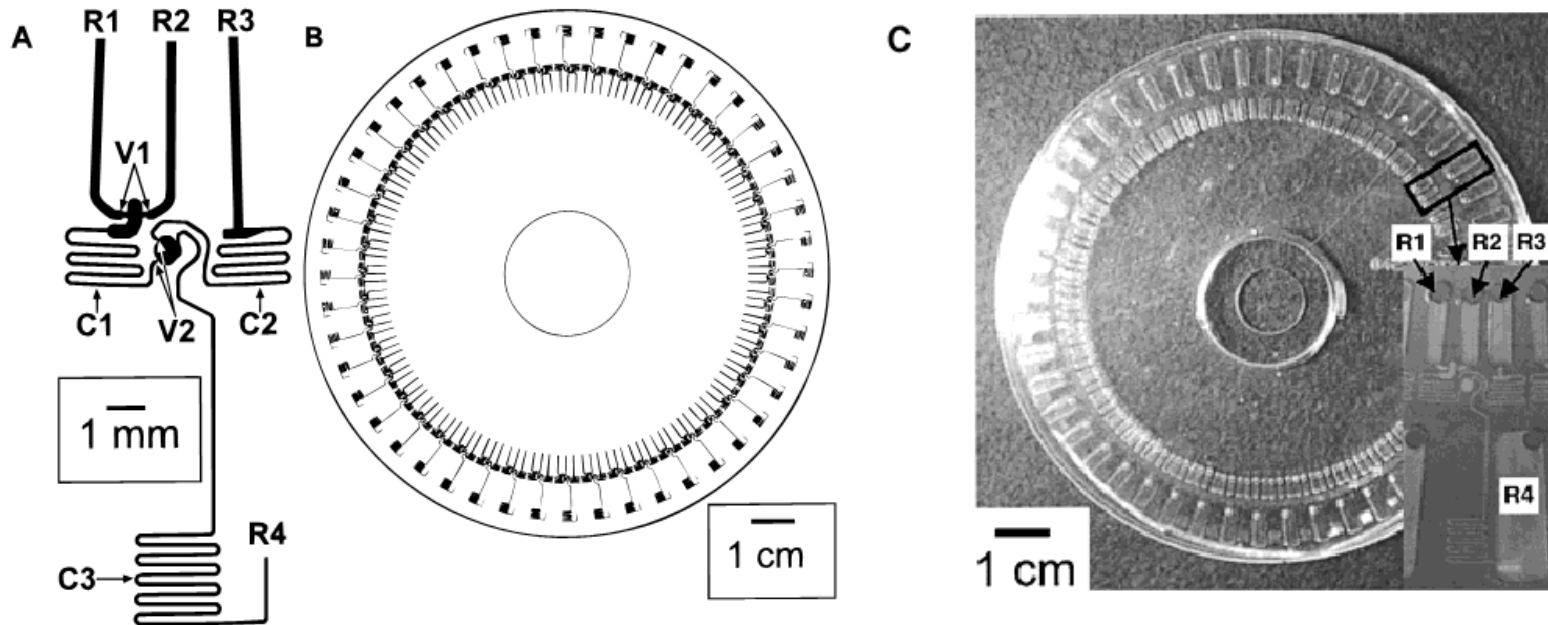


4.5.3 离心力驱动



在离心力驱动中，微电机带动芯片旋转产生离心力用作芯片实验室中流体的驱动力。

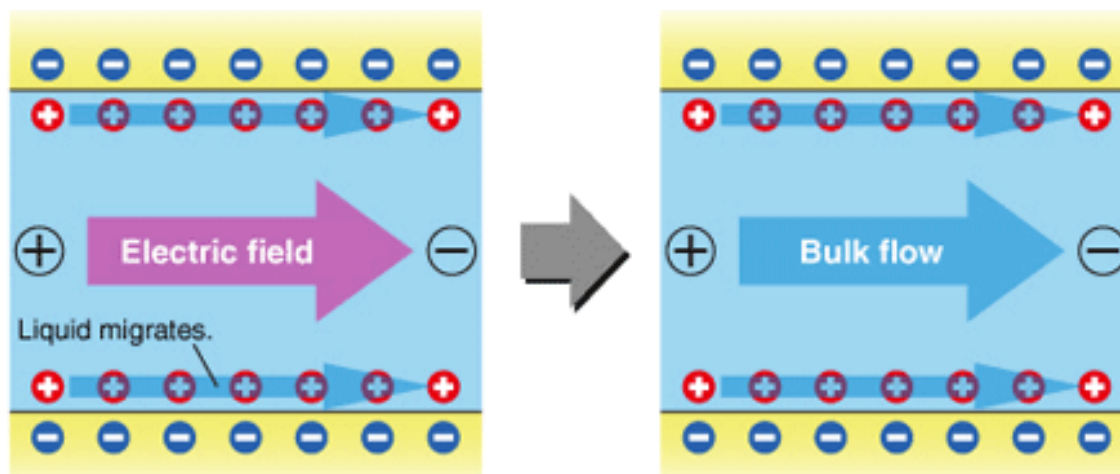
离心力驱动的特点是设备简单，流速稳定易调，单一电机可同时驱动多个独立结构单元，提高芯片的分析通量。



4.5.4 电渗驱动



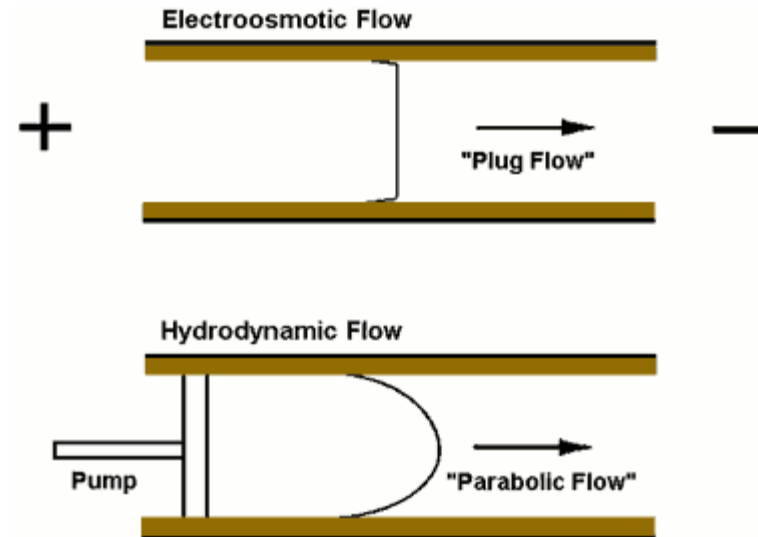
在溶液 $\text{pH} > 3$ 时，微通道内壁通常带负电，并在微通道表面形成一个带正电的偶电层 (e.g. glass, PDMS, PMMA, silicon)。当在平行于内壁的**外加电场**作用下，偶电层中的溶剂化阳离子或质子引起微通道内溶液**朝负极方向运动**。因电渗作用引起的运动流体被称为电渗流，Electroosmotic Flow。





4.5.4 电渗驱动

优点： 系统构架简单
操作方便
流型扁平
无脉动

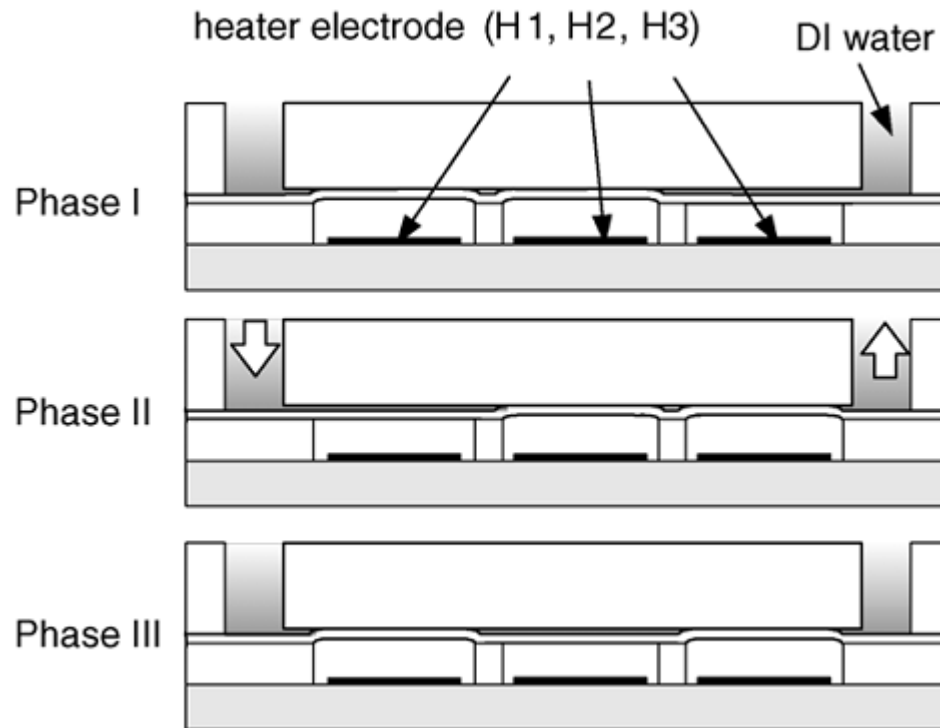


缺点： 易受外加电场强度、通道表面、微流体性质、传热效率等因素的影响



4.5.5 热气驱动

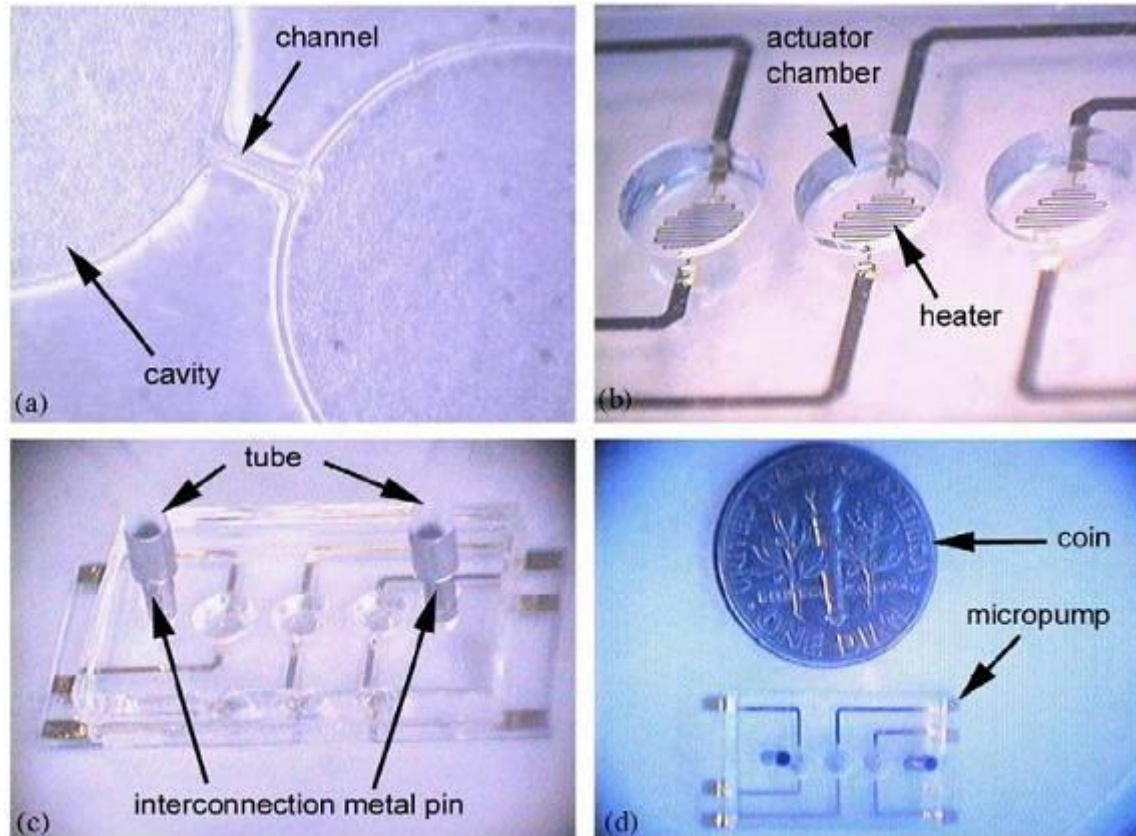
热气驱动原理类似于蠕动型气动微泵，主要通过气体加热膨胀导致弹性薄膜形变实现微流体的驱动。



4.5.5 热气驱动



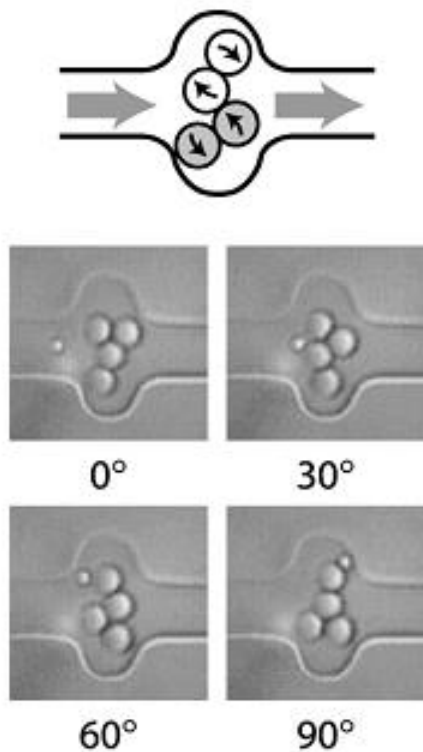
热气驱动原理类似于蠕动型气动微泵，主要通过气体加热膨胀导致弹性薄膜形变实现微流体的驱动。



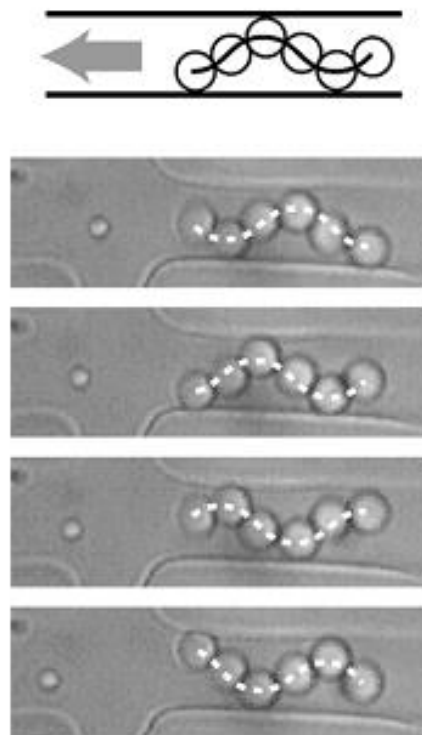
4.5.6 光学捕获驱动



光学捕获又称光镊或光钳，是指基于光辐射压原理，通过强汇聚的光束(如激光)实现对微小粒子控制的一种技术。



齿轮泵

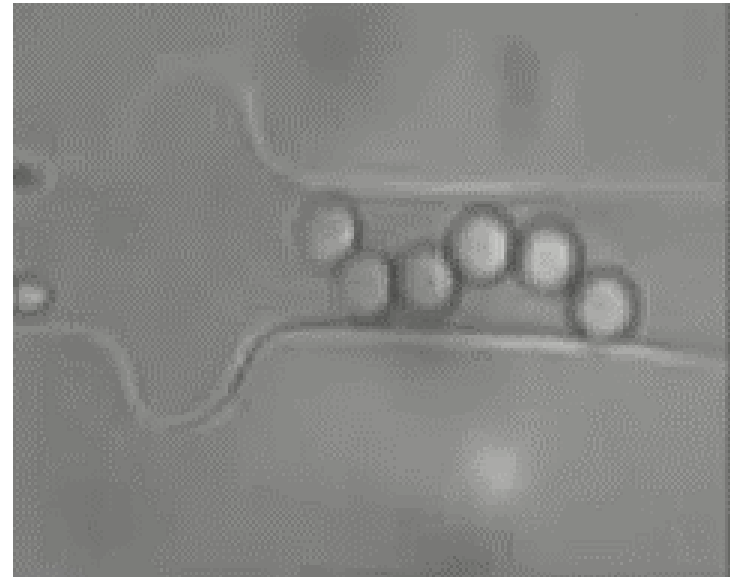
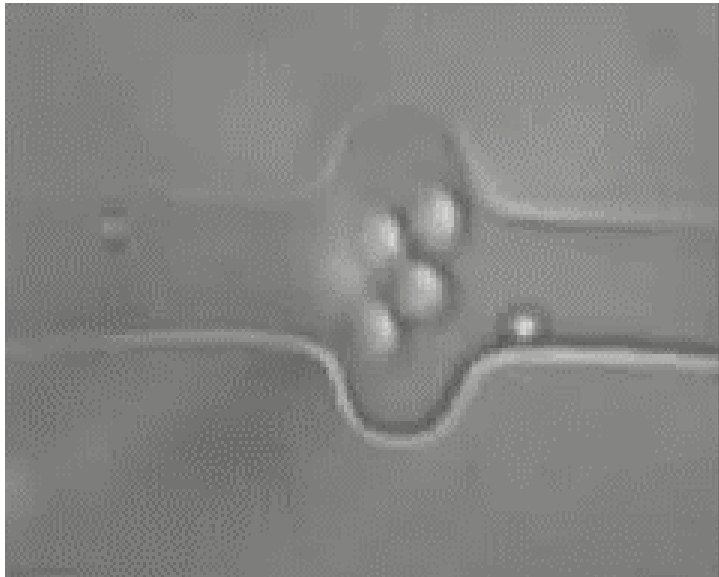


蠕动泵



4.5.6 光学捕获驱动

光学捕获又称光镊或光钳，是指基于光辐射压原理，通过强汇聚的光束(如激光)实现对微小粒子控制的一种技术。





第四讲 芯片制作及微流体控制

4.1 芯片材料

4.2 芯片制作环境

4.3 硅、玻璃及石英芯片制作

4.4 高分子聚合物芯片制作

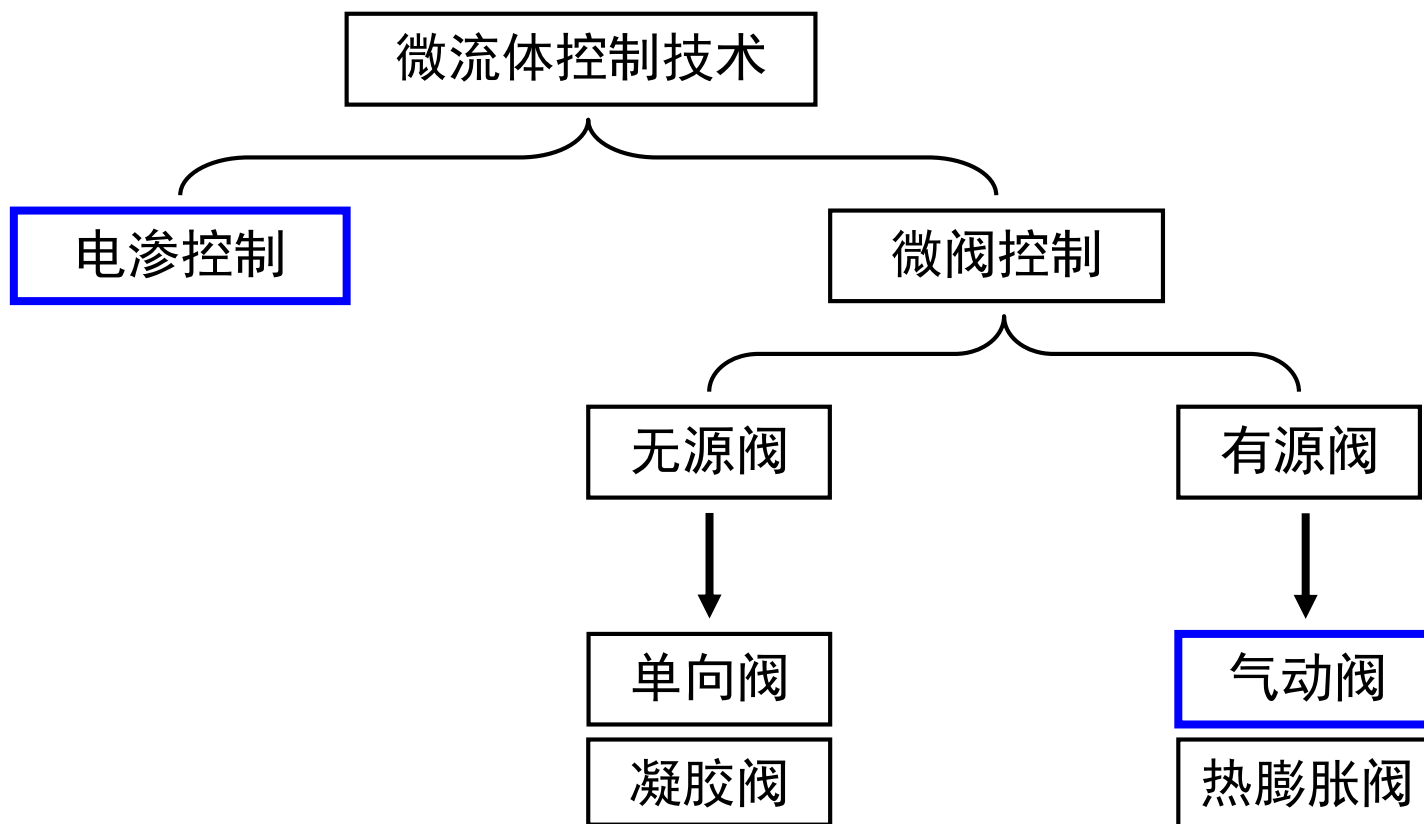
4.5 微流体驱动

4.6 微流体控制

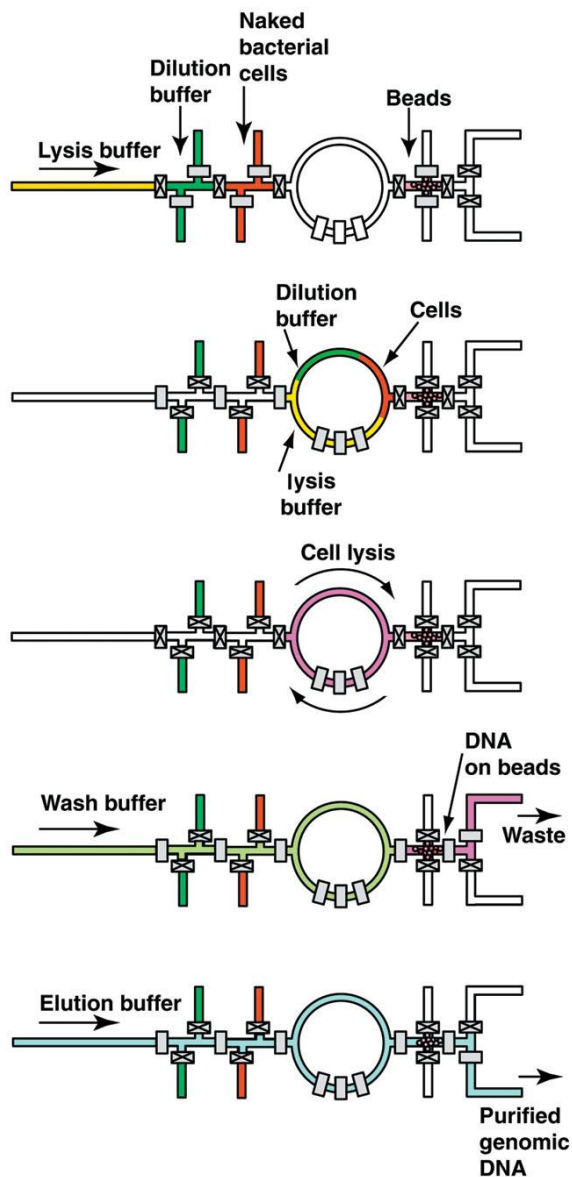


4.6 微流体控制

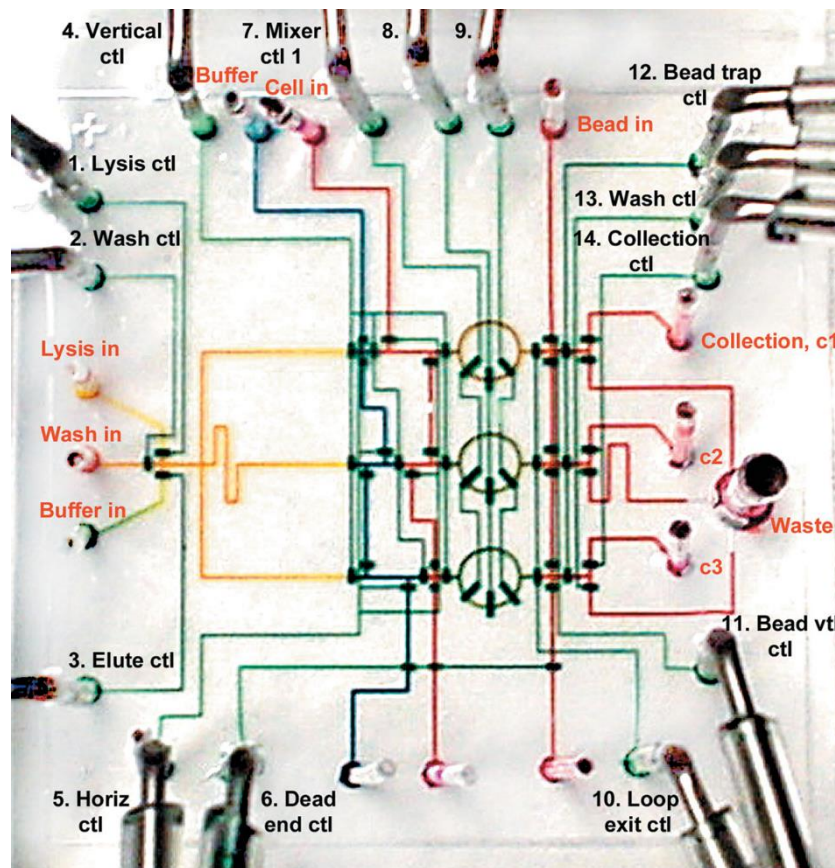
微流体控制是微流控芯片实验室的操作核心，芯片实验室中所涉及的进样、混合、反应、分离、检测等过程都需在可控的流体中完成。



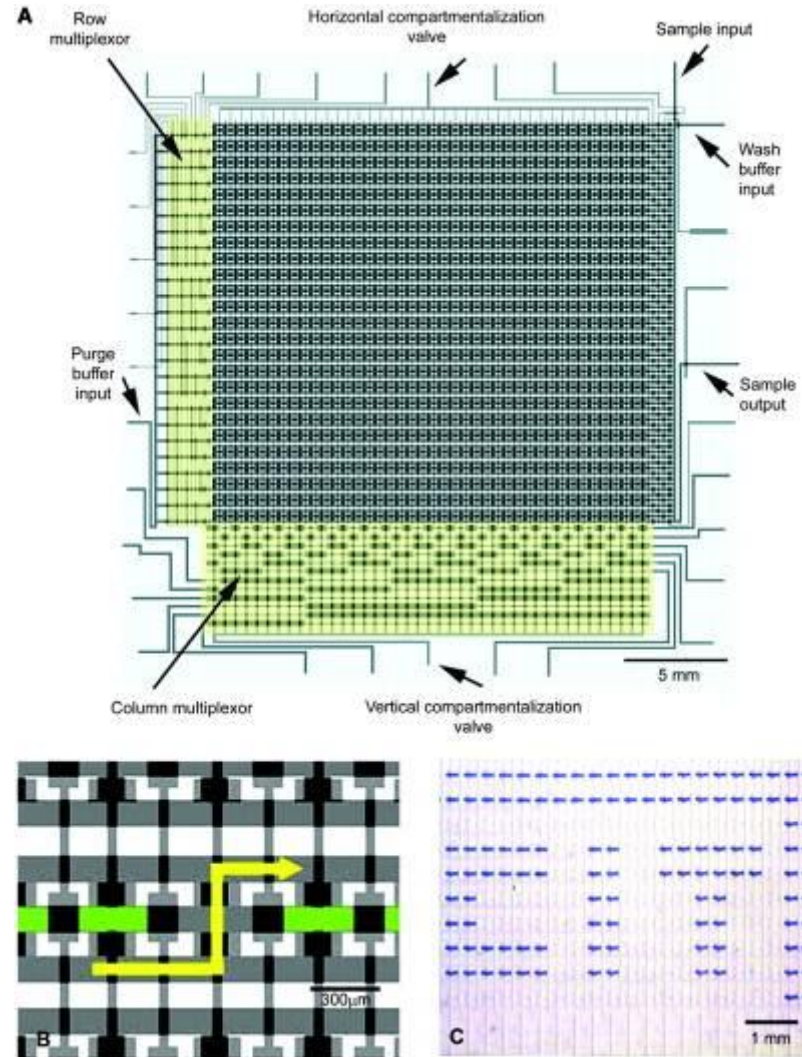
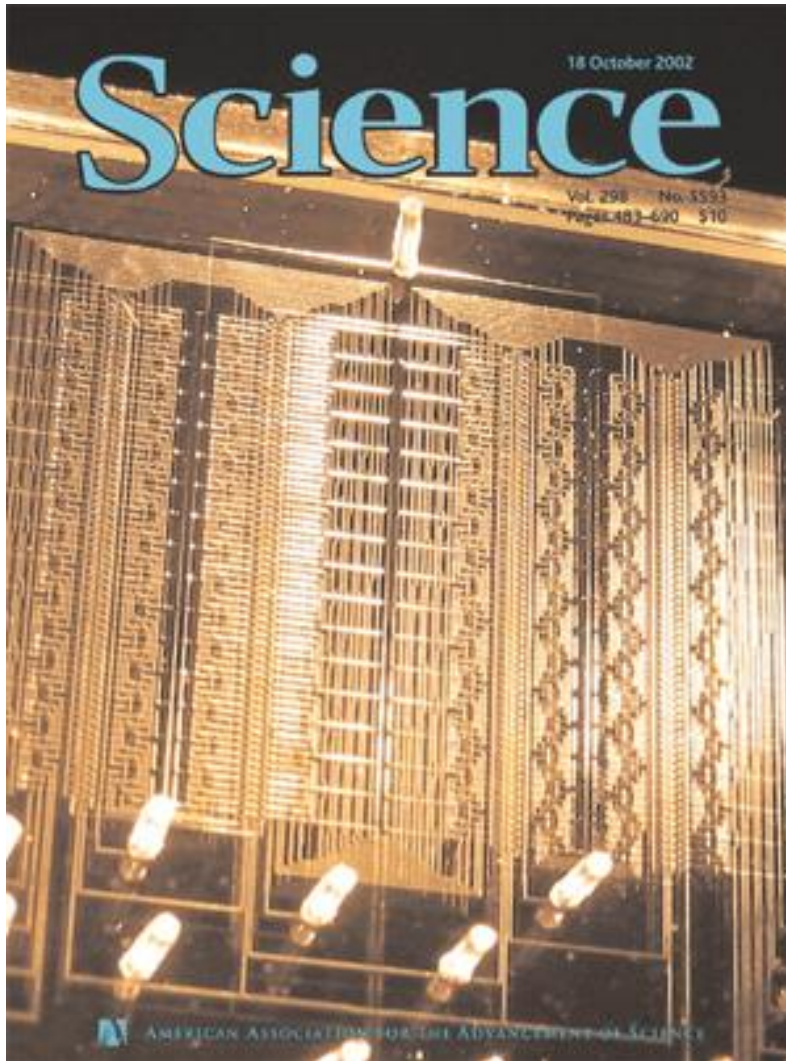
PDMS气动循环泵



DNA纯化芯片



PDMS气动阀集成



Thorsen et al., *Science* (2002) 298, 580-584



第四讲 小结

4.1 芯片材料

4.2 芯片制作环境

4.3 硅、玻璃及石英芯片制作

4.4 高分子聚合物芯片制作

4.5 微流体驱动

4.6 微流体控制