

微流控芯片的研究及产业化

林炳承

(中国科学院大连化学物理研究所, 大连 116023)

摘 要 以大连研究团队的近期工作为基础,结合 2015 年末召开的“深圳-大连微流控芯片及其产业化战略研讨会”内容,扼要阐述作者对近期微流控芯片的研究及产业化的基本看法。鉴于微流控芯片研究的主流已从平台构建和方法发展转为不同领域的广泛应用,本文重点介绍了微流控芯片在现代生物化学分析、即时诊断、材料筛选-材料合成以及组织-器官仿生等 4 个应用领域的研究趋势,讨论了 3D 打印技术的崛起对微流控芯片的影响和挑战,阐述了微流控芯片作为当代极为重要的新兴科学技术平台和国家层面产业转型的潜在战略领域,在全球范围内产业化发展势头。全文引用文献 69 篇。

关键词 微流控芯片; 产业化; 综述

1 引 言

微流控芯片作为当代极为重要的新兴科学技术平台和国家层面产业转型的潜在战略领域,已处于一个重要发展阶段。本文以大连研究团队的近期工作为基础,结合 2015 年 12 月 12 ~ 13 日在南方科技大学召开“深圳-大连微流控芯片及其产业化战略研讨会”内容及手头材料,扼要阐述作者对近期微流控芯片的研究及产业化的基本看法。

作为一个已有二十余年发展历史的科学技术,微流控芯片研究的主流已从平台构建和方法发展转为不同领域的广泛应用,并从应用的需求中寻求解决其中的科学问题,进而带动产业化的迅速发展^[1,2]。

2 现代生物化学分析

自 20 世纪 90 年代起很长一段时间,微流控芯片常被称之为微全分析系统(μ -TAS),经过 20 多年的发展,微流控芯片的功能扩大,应用增多,已远远超出了“分析系统”的范畴,成为多学科交叉的强大科学技术平台,但即便如此,包括核酸分析,蛋白质分析和代谢物分析在内的生物化学分析依然是微流控芯片的重要应用领域,只是,基于微流控芯片的现代生物化学分析把它的对象更多地从分子扩展到细胞,并以单个细胞的分析为重要特征^[3]。

单个细胞是生命活动的基本功能单位。群体细胞的研究结果只能得到一群细胞的平均值,往往会掩盖个体之间的信息差异,而正是各个不同的单个细胞间个体化的差异,对于生命和健康的各个单元过程有重要的甚至是决定性的影响。

有很长一段时期,单细胞分析技术受制于其内在基因和蛋白质等物质的极低含量,检测困难。这一领域的突破性进展在很大程度上得益于近年来两种技术的迅速进步,其一是成像技术,包括成像时空分辨率和通量的显著改善;其二则是微流控芯片技术。经过近些年的努力,微流控芯片的潜力已经在细胞研究中得到淋漓尽致的发挥,目前,光镊或超声捕获、光穿孔、电穿孔、细胞裂解、电泳分离和细胞流失计数等单元操作已被尽可能的集成到一块微流控芯片上,并把从互补的各种单元技术得到的信息汇集在一起,用以完成对单个细胞的精准操控分析^[4]。单细胞水平核酸分析通常涉及到不同的 PCR 技术,而

单细胞测序则包括单细胞液滴包裹、分选,细胞裂解与磁珠法 DNA 纯化,DNA 洗脱与全基因组扩增,扩增产物收集,建库和测序分析。就这样,借助于微流控芯片和成像技术对微量流体的精准操控和超灵敏观察,现代生物化学分析迅速把单个细胞,甚至单个分子作为自己的对像^[5]。

北京大学黄岩谊等借助于微流控芯片和成像技术,稳定进行单细胞俘获和定量观测,单细胞测序的样品前处理,实现了高质量的哺乳动物单细胞全基因组和全转录组的测序,以及极其微量细胞的表观遗传组测序^[6,7]。大连化学物理研究所陆瑶等在耶鲁大学期间设计开发了一种基于微流控芯片的高通量、高内涵单细胞蛋白分析平台,可对数以千计的活体单细胞所分泌的 42 种蛋白分子分别进行同时检测。他们利用这一平台深入系统地研究了人体巨噬细胞在不同 TLR (Toll like receptor) 配体刺激下的单细胞免疫应答,以及这种应答所呈现的取决于细胞本身状态的丰富而有规律的异质性^[8,9]。青岛生物能源研究所马波等将微流控芯片技术用于高通量微生物单细胞分析,工作涉及到了非标记微生物单细胞功能分选、单细胞水平基因型分析和功能单细胞培养放大等 3 个方面^[10]。

华中科技大学刘笔锋等提出了一个基于琼脂糖微卫星 DNA 阵列的超高通量的分析单细胞基因损伤的方法,可平行检测最高到 10000 个单一细胞的基因损伤^[11]。清华大学林金明等致力于微流控芯片和质谱的联用及其应用研究,他们设计了一种包括控制器,毛细管,PDMS 微流控芯片和离子化单元在内的多通道微流控芯片-质谱分析系统,实现了基于“弹筒式”液滴生成技术的微取样,完成了细胞分析及非共价蛋白-蛋白相互作用研究^[12]。

有可能广泛用于现代生物化学分析的微流控芯片数字液滴技术也值得关注。这种基于电润湿原理,在二维平面上运动的微流控数字液滴技术因其操控灵活、形状可变、大小均一,又有优良的传热传质性能,已经被应用于需大量使用微反应技术的现代生物化学分析领域^[13,14],其中包括全血和体液中血糖值测定^[15]、雌激素提纯^[16]、氨基酸代谢失调生物标记物检测^[17],新生儿溶酶体贮积症样本的提取及检测^[18]、细胞膜离子通道再造模拟^[19] 生物医疗检测,蛋白质微反应及 MALDI-MS 检测^[20]等;近期在 DNA 提取、修复和放大,以及基因测序文库制备上也见报道^[21]。在所有这些应用中,数字液滴已经显示了其借助于精准操控微反应器在二维平面上灵活处理微量,昂贵样本的独到能力,以及作为基因组学和蛋白质组学重要组成部分的大规模,高效的样本处理技术的潜在可能性。

与现代薄膜半导体技术相结合,以大幅度提高微流控芯片数字液滴通量的研究也正在进行之中^[22],该研究在一定程度上显示两种截然不同的芯片深度对接的可能性。一旦这种对接被普遍认同并全方位铺开,相对成熟的电子技术将会源源不断的涌入微流控芯片领域,由大规模集成电路控制的功能型大规模集成微流控芯片会在可以预见的将来变为现实,以“生物手机”等形式影响人类生活的方方面面^[2]。

3 即时诊断

即时诊断(Point of care technology, POCT,或称床边诊断)是上述现代生物化学分析第一轮应用的主要亮点之一。鉴于即时诊断在微流控芯片,特别是它的产业化进程中的重要位置,我们另辟一节专门叙述。

POCT 的原始含义是指在病人身边直接进行诊断的一种技术,广义的 POCT 仪器需直接置于家庭、社区、事故灾害现场或资源匮乏地区的被检对象身边,满足突发事件或公共健康需求。早在本世纪第一个十年,很多实验室即已开展基于微流控芯片的即时诊断研究,工作大多集中于以核酸分析为代表的分子诊断,以蛋白质分析为代表的免疫诊断和以代谢物分析为代表的生化诊断^[23,24]。近年来,基于微流控芯片的 POCT 研究开始挑战体量极小,预处理复杂的样本,并把对象从分子逐渐拓展到细胞,进而开始仿生人器官的各种感觉(包括嗅觉、视觉、味觉等);POCT 平台的发展趋势应是手持型、“傻瓜”式,特别是,更多采用纸质基体控制液流,使用用户现有的电子设备(如手机,google 眼镜,扫描器等)简化读出;POCT 开始和大数据,云计算结合,并寻求更加低廉的成本。POCT 操作简单,无需专业人员,直接输入体液样本,即可迅速得到诊断结果,并将信息上传至远程监控中心,由专业医生指导保健或治疗(处置),因此对于上述特定场所对象疾病的及时发现和治疗具有突破性的意义。即时诊断试验及其装置的精准有效是现代生命健康领域可能实现的一项重要变革,微流控检测分析芯片则是当今造就即时

诊断精准有效的主流技术^[25]。值得注意的是,广义的 POCT 技术还把应用对象扩展到食品安全和环境保护等领域,使微流控芯片功能的大规模扩大。

厦门大学杨朝勇等发展了一个多用途的基于微流控纸芯片的即时诊断平台,用适配体交联的水凝胶作靶标流体调控剂,调控流体和信号读出,同时检测多个靶标。这种装置便宜,简单,易于使用,可在 6 min 内用肉眼读出信号^[26]。Hsu 等发展了一种有效的基于纸芯片的酶联免疫系统和改性抗体,仅用 2 μ L 水溶性激素作样本即可测定血管内皮生长因子的水平,成功避免了传统酶联免疫和其它复合免疫方法样本用量偏大,可能造成眼内室体坍塌等不足,大大有助于因眼睛缺血和血管过多形成而导致的若干眼科疾病的诊断^[27]。Goldsmith^[28]和 Lim^[29]等把小分子或某些代谢物用于作为标记物,模拟人的嗅觉接收系统,他们把嗅觉接收系统连到一个碳纳米管场效应传感器,借助于静电原理,使化学键合能转化为一个电信号,由此在微流控芯片上构建出一种仿生电子鼻,用于“嗅”出肺部肿瘤,用作潜在的肺肿瘤诊断工具,具有样本用量少,检测速度快等优点。此外,Watkins 等把微流控液体处理和基于阻抗的电子显示相结合,研制出一种简单的自动化装置,实现了 10 μ L 全血中 T 淋巴 CD4+和 CD8+的快速计数,而 CD4/CD8 的比值是 HIV 诊断中一个能直接影响临床治疗决定的关键数据^[30]。广州医科大学的刘大渔等结合临床需求发展了一系列分子快速诊断技术^[31]。

值得注意的还有纳流控技术对 POCT 的影响。通常把 100 nm 以下的流体控制技术称之为纳流控技术,这种技术已经通过单纳米孔,纳米多孔膜和浓差极化等渗透到 POCT 中,其中尤以纳米孔单分子核酸测序最受重视。纳米孔单分子核酸测序是第三代测序的一种,核酸测序则是分子诊断的一个重要分支。单纳米孔可被看作是库尔德计数器的一个变种,只是后者通过的电流被分析对象代替。库尔德计数器使用微孔检测微米尺度的粒子比如细胞,而纳米孔则能检测纳米尺度的粒子,比如核酸分子。这种类型的传感装置可以和微流控芯片集成完成上样过程并以极高通量检测、表征单个分子。它的一个附加优点是一旦得到多种单一分子的信息,这些分子和其它定制配基相互作用的信息也会被同时检测,因此,有可能在未知总体状况时对基因测序。当 DNA 模板进入纳米孔时,孔中的外切酶会抓住 DNA 分子,逐一剪去组成 DNA 分子的碱基,被剪去的碱基在通过纳米孔时和环糊精分子作用,产生特异性电流,由此得到特定的碱基信号并转化成 DNA 序列信息^[32]。这种纳米孔单分子测序技术和其它第三代测序技术一起,正力图凭借其可能更加便宜、准确的优势,逐步进入医院的标准实验室,进一步降低目前每人 \$ 1000 的测序价格,以期在不久的将来,使基因测序用于每个新生婴儿。

4 材料的筛选与合成

微流控液滴芯片是微流控芯片的一种重要模式,液滴的核心功能是微反应器。微流控芯片液滴通量极高,体积极小,它当然应该在以反应为基础的材料筛选和材料合成领域找到应用出口。

对不同材料作高通量筛选是微流控液滴芯片应用的一个重点领域。比如,对基于小分子库的新药筛选而言,体量大到百万级别,如果采用常规方法筛选,成本极高,耗时极长,作为已知的最小微反应器的微流控液滴芯片,应是解决这一类问题理想的替代技术。

一般而言,液滴的直径从 5 μ m 到 120 μ m,也即体积从 0.05 pL 到约 1 nL,通常的产生速率为 1 kHz,一天处理的样本量多达 10^8 ^[33],如果用一个有缺口的分配器代替原有的硬质分配器,分选过程更可提高 10 倍^[34];液滴运行过程的噪声很低,稀有粒子的有效浓度可以提高,液滴的包裹又杜绝了液滴内的物质和通道壁接触的机会,因此使液滴内的物质的检测灵敏度得以保证;微流控液滴芯片还有一个特别重要的优点,即承载所有这些液滴运动的流体精准可控。

Staffan 等把液滴微流控芯片用于工业酶的筛选。他们用紫外光照射可产生全基因变性的酵母细胞库,加入溶剂使酵母溶解,经超声分散和再稀释后,将其和荧光酶底物一起包进液滴,被包进液滴的酵母细胞产生酶,消化底物,因此增加液滴的荧光,在孵化后,将液滴按荧光强度的不同分开^[35]。另一个例子是分选抗生素抗性不同的细菌,细菌按抗生素抗性不同可分为强弱两类,通常较弱的会过度生长,常规分类的做法是培养,稀释,并涂布在琼脂板上,使之相互隔离,这种方法耗时长达数天,Balaban 等用微流控芯片液滴把单一的细菌包裹在液滴中,在 1000 Hz 频率下把不同抗生素抗性的细菌检测出来,并

按抗性强弱分开^[36]。

除了上述酶筛选、细菌筛选外,液滴微流控芯片也已被广泛用于抗体筛选^[37],甚至是对循环肿瘤细胞 CTC 等单个细胞和单个分子的高通量筛选^[38]。浙江大学方群等发展了一种基于液滴顺序操作阵列的系统,可自动顺序完成超微量液体的复杂操控,并将其成功应用于酶和细胞的筛选^[39],蛋白质结晶条件的筛选^[40],以及单个 Huh 细胞内 miRNA-122 的实时定量 RT-PCR 检测^[41]。

除了材料筛选,当然还有材料合成。事实上,液滴操控灵活,形状可变,大小均一,又有优良的传热传质性能,可灵活调节被合成颗粒大小、粒径分布、形貌、组成、结构以及物理化学性质,因此在材料领域,特别高附加值微颗粒材料的合成领域,显示出有别于现有技术的巨大潜力,其中,复杂形状微粒因其特殊的形态和在一个单一粒子上集成不同功能的能力,在很多科学技术领域备受关注^[42],而与工业接近的部门甚至提出了规模量产的要求。

张清泉等采用微阀控制法,严格控制单个液滴的形成和大小变化,单独或者组合调节长度、键合角度、内部大小序列和化学组成序列等 4 种参数,准确制备了多种具有不同各向异性特征的微颗粒^[43]。他们还建立了一种基于双乳液的形貌可控微颗粒合成的方法:设计并制作了一种双乳液形成芯片,利用芯片通道内的局部表面修饰,以及 T-通道和流动聚焦的两级液滴形成单元产生双乳液(O/W/O),在微通道的几何限制和界面聚合反应抑制的协同作用下,制备了弯月形或多足形的水凝胶微颗粒,克服了采用单一效应对颗粒形貌控制的局限性^[44]。Nisisako 等采用三元液滴结构,在中间的液滴进行选择性的聚合反应,同时在通道内灌注一种对光敏感的流体和两种对光不敏感的流体,借助于混流液体表面张力和剪切力所导致的不稳定性,使多元液流分散进入三元液滴,三元液滴中对光不敏感的流体被固定在圆柱型微毛细管内,用紫外照射得到了球型或均一的两面凹型粒子^[45]。大连化学物理研究所李春林等采用微流控液滴技术,使来自沉淀相的沉淀剂经液滴界面进入,提升 pH 值,沉淀固化液滴,根据液滴中所含溶质沉淀快慢等参数的不同,分别制得实心微球,空心微球和二面空心微球,所得微球的比表面积不同,尺寸均一^[46]。

5 组织与器官仿生芯片

微流控芯片内单元构件的尺度使它有可能同时容纳分子、细胞、仿生的组织,甚至器官,而芯片特殊的操控体系又使它能同时测量物理量、化学量和生物量,因此,微流控芯片已被业界公认为当今对哺乳动物细胞及其微环境进行精准操控的主流平台,而细胞是生命存在的基础^[2]。

本世纪第一个十年的后期,哈佛大学 Ingber 等开展了一系列芯片器官的研究工作,并于 2010 年发表了关于芯片肺的代表性的文章^[47]。2011 年 9 月 16 日,美国总统奥巴马亲自宣布启动由 NIH, FDA 和国防部牵头,1.4 亿美金的基于芯片器官的“微生理系统研究项目”(Microphysiological system, MPS system),“以确保美国未来 20 年在新药发现领域的全球领先地位”,并认为,“仿生微流控芯片”能够以令人难以想象的幅度降低新药发现的成本和周期,给新药开发带来一次革命^[48]。项目自 2012 年启动,经费在此后的执行过程中被不断追加,哈佛、MIT、UC Berkley、Cornell 等十余个名校团队承担了其中的主要工作^[49]。

差不多在同一个时间段,中国科学院大连化学物理研究所的微流控芯片团队先后在微流控芯片上完成了一系列的细胞培养^[50],多种细胞的共培养和三维共培养^[51],兔软骨组织培养^[52],以及带有肝微粒体的药物代谢等^[24]工作,进而于 2010 年 10 月的香山会议上正式提出并启动微流控芯片仿生组织-器官的研究^[53]。

组织-器官芯片是继细胞芯片之后一种更接近仿生体系的模式。组织-器官芯片的基本思想是设计一种结构,可包含人体细胞、组织、血液、脉管,组织-组织界面以及活器官的微环境,或者说,在一块数平方厘米的芯片上模拟一个活体的行为,并研究活体中整体和局部的种种关系,验证以至发现生物体中体液的种种流动状态和行为^[2]。

微流控组织-器官芯片可被看成是一个由微流控芯片组建的仿生实验室,它提供了一种在相对简单的生物体体外对极其复杂的生物体体内开展模拟研究的途径。如果我们对实际问题的把握足够准确,

而物理抽象过程又尽可能合理的话,对于类似于药物毒性,个性治疗这样的困惑现代制药工业和现代临床医学的瓶颈问题,芯片上的仿生实验无异于一种天赐良机。“实际问题物理化,物理模型数学化”,以偏微分方程为代表的数学模拟曾经在解决一系列重大科学技术问题上作出了不可磨灭的贡献,类似于仿生模拟这样的专一性芯片实验室的出现,实际上可能催生另一种重要的研究模式,也即:“实际问题物理化,物理模型芯片化”^[2]。

在物理模型确定后,首先要做的是在芯片上构建生理模型并对它进行表征。以 Ingber 等的以芯片肺为例^[47],从人的气孔中取出细胞,置于膜的前部培养,而将人肺血管内皮细胞置于同一膜的背部培养,其间有介质流过,由此构建了一个组织-组织界面。此后,他们又设计了一个由弹性橡胶做成的侧孔,施加了循环的负压,使处于中间的膜及其两侧的细胞按人呼吸的频率不断舒张和收缩。这样,他们就把两种或两种以上的组织放在一起,实际上是创造了一个生理环境,使这些细胞能显示出其在人体内相似的功能,因此具备了人工器官的基本特征。

为进行不同阶段的药物试验,还需要在生理模型的基础上构建病理模型,并对病理模型进行表征。21 世纪初期,大连化学物理研究所微流控芯片团队组织-器官芯片的研究工作迅速向大连医科大学扩散,形成广义大连团队的重要一极。王琪等以微流控肺器官技术为基础开展了肺部慢性炎症向肺癌转化的研究,他们构建了用于香烟致气管炎-癌转化机制研究的微流控芯片仿生模型,研究香烟再暴露致慢性炎症支气管上皮细胞恶性转化的分子机制,进而应用芯片仿生气道模型研究巨噬细胞在香烟致支气管上皮细胞炎-癌转化中的作用和分子机制,取得了重要进展^[54];林洪丽等先后用微流控芯片技术构建仿生肾小管模型,体外模拟蛋白尿诱导肾小管上皮细胞-间充质转分化,构建肾小管-间质-微血管仿生模型,再现急性肾损伤后肾小管、微血管病理改变过程,进而利用仿生肾小球芯片模型,模拟高血压状态下肾小球高灌注、高滤过、高跨膜压微环境,展现流体因素对细胞蛋白的分布及表达的影响^[55,56];刘婷娇则着重于微流控肿瘤芯片的研究,分别构建了肿瘤细胞三维共培养模型,肿瘤多器官转移的模型及肿瘤诱导血管新生模型并开展了一系列的研究^[57,58]。

当然,所有的器官都不可能脱离身体的其他部位而孤立存在,因此最终我们必需考虑人体这个整体。大连微流控芯片团队的另一极,大连理工大学药学院罗勇等构建了一个有高集成度的三维组织-器官微流控芯片系统,用于药物研发中的临床前试验。该芯片系统由多种模块自上而下依次叠加构成,集成了肠、血管、肝、肿瘤、心、肺、肌肉和肾等细胞或组织,并有“消化液”,“血液”和“尿液”贯穿其中。被测试药物由蠕动泵注入“消化液”,被“肠”吸收,通过“血管”,被“肝”代谢,药物及其代谢物再通过“血管”扩散进入“血液”,与“肿瘤”一起孵育,再行分配到“心”、“肺”和“肌肉”,最后,经“肾”进入“尿液”排出。他们进一步利用该组织-器官芯片系统测定了多种药物的吸收,分布,代谢和消除数据,绘制了药时曲线,评价了毒性和活性,并与现有动物试验结果比对,证明了二者的基本一致性^[59]。这一模型的初步实验结果表明,多组织、器官集成的微流控芯片具有部分代替小白鼠功能的潜在可能,是开展微流控芯片药学研究的重要平台,特别是,对于诸如抗辐射试剂和抗病毒试剂这类通常难以在生物实体上开展试验的药剂,芯片器官的出现更无疑是一个天赐良机。

6 芯片和 3D 打印芯片

越来越多的 3D 打印技术正迅速进入这一领域研究人员的视野,成为广义微流控芯片的重要组成部分。3D 打印技术至少会在两个方面对微流控芯片造成影响,一是芯片制备,二是生物打印^[60]。一般 3D 打印已有能力制造出有很高分辨率,结构复杂的芯片,制作时间很短,单元操作简单,易学易用。因此有可能成为现有芯片制作方法的重要补充甚至挑战,而被不同应用领域,特别是生物医学领域的研究人员所接受。目前通用的芯片制作过程涉及到涂胶、曝光、显影、腐蚀、去胶、等离子体清洗和封接等步骤,耗时过长,其中若干步骤还需要人工操作,严重影响加工精度,一旦精度要求偏高(例如, $<10\text{ }\mu\text{m}$),工艺困难加剧,成本骤增。在很多情况下,如用 3D 打印制作,时间可大大缩短,芯片会高度重复,一些重要参数,诸如成本,材料,分辨率和速度等都可尽量优化,以达到最佳结果。现在已可在 3D 打印机上打印各种结构而不增加制作的复杂性和时间,例如,Spivey 等已打印出一种有复杂几何结构,通量很

高,微米量级的微流控芯片,用于酵母的单细胞分析和抗衰老研究^[61]。

在基于微流控芯片的细胞-组织-器官研究领域,3D生物打印更需引起重视。3D生物打印可为细胞和生物材料设计特别的空间布局,重现复杂的细胞结构。用生物3D打印能为客户定制用于组织再生的支架或者把生物材料(如DNA,细胞)图案化^[62],特别是,它还可利用不同的打印头打印不同的材料,比如不同的细胞微环境。一般而言,常规的PDMS芯片不能形成复杂几何结构的器官芯片,但3D生物打印可用全功能水凝胶打印出微通道,让细胞在这种微通道内培养,进而在体外形成“血管”。Bertassoni等对细胞生存能力测定表明,在体外通道内培养的细胞比普通水凝胶中培养的要好^[63]。罗勇等用自行研发的生物相容性好,性状稳定的3D生物墨水,在自行改制的3D生物打印机上成功打印出Mcf-7细胞,活性可达85%,为动物组织的打印创造了条件。从现有的结果来看,生物打印的微芯片能创造更接近于体内的微环境,有利于细胞的生存和分化^[1]。

7 芯片的产业化

微流控芯片相关产业的急剧增长已是不争的事实。Yole 2015年9月的报告指出,2015年微流控芯片产业的产值应为25.6亿美元,到2020年将会达到59.5亿美元,年增长率为18%,主要增长点是医/药学研究和即时诊断^[64]。仅在液滴微流控芯片领域,已涌现出诸如从事基因测序样本制备的Illumina,从事集成流路生产的Fluidigm,生产数字PCR仪的Rain Dance和老牌的Bio-Rad等公司,其中有的已经上市。中国也已有很多微流控芯片公司面世,虽然大都还处于小微规模。受精准治疗等概念的影响,陆续出现了一批以即时诊断为主攻方向的小型公司,深圳微点生物技术股份有限公司近期已在新三板挂牌上市。在原来大连团队的成员中,已建立包括北京的百康芯生物和杭州的霆科生物在内的多家公司,他们成功地实现了融资,并开始商品化生产^[65,66]。

近年来,POCT技术一改其以发展中国家为主要对象的定位,开始向发达国家的正规医院渗透。德国莱比锡管理学院学术院长Wilfried von Eiff说,他们曾随机检查了两个基层医院的检验科使用POCT技术的结果,并将其和中心实验室的相应结果对比,证明POCT技术能提高医疗质量,改善预后,降低医疗成本。而在当地的急救中心,他们更看到了因广泛采用POCT技术而带来的避免拥挤,减少候诊时间,降低费用等优点^[67]。最近,两个体外诊断的重要公司Bio-Rad和Illumina宣布合作,共同寻求单细胞基因组测序的全面解决方案,一个双赢的合作使Bio-Rad能重新使用他们的液滴技术进入一个新的极有前景的应用领域,而Illumina则可进一步推进他们的下一代测序平台。Yole期待在未来几年这一领域将会有大的突破^[68]。

即使是在更晚形成的器官芯片领域,产业化的进程也在迅速推进。Oxford的CN Bio公司用装有12个微型肝脏的芯片做药物的毒性试验,目前一个单元的价格是\$22000,而做同样的试验,小鼠的价格为\$50000~\$1000000;Harvard的Emulate公司在做肺芯片试验,发现如果在气路中有细菌存在,装置就会发生像流感一样的症状;Emulate还在和Sony Biosciences合作,研究生产器官芯片“光盘”,让一个光盘代表一个器官,再把所有的15个光盘连起来,构成一个“人体芯片”;Berkeley的Kevin Healy等在做心脏芯片,他们和Emulate公司一样,采用病人的成人多功能干细胞,将其诱导回它们的胚胎状态,然后再将它们发展成不同的组织或器官,并由此构建“病人芯片”,因为所有的芯片器官都来自于同一个病人,因此有可能在芯片上做更为精准的剂量和毒性试验^[69]。

总之,微流控芯片作为当代极为重要的新兴科学技术平台和国家层面产业转型的潜在战略领域,正处于一个非常重要的发展阶段,值得引起广大学术界和产业界人士及青年学生的高度重视。

References

- 1 LIN Bing-Cheng. *Proceedings of the Shenzhen/Dalian Bilateral Conference on Microfluidics and Commercialization Strategy*, 2015; 6
林炳承. 深圳-大连微流控芯片及其产业化战略研讨会文集, 2015; 6

- 2 LIN Bing-Cheng. *Micro /Nanofluidic Chip Laboratory*, Beijing: Science Press, **2013**: 1–6
林炳承. 微纳流控芯片实验室. 北京: 科学出版社, **2013**: 1–6
- 3 Sjostrom S L, Bai Y, Huang M, Liu Z H, Nielsen J, Joensson H N, Svahn H A. *Lab Chip*, **2014**, 14(4): 806–813
- 4 Hümmer D, Kurth F, Naredi-Rainer N, Dittrich P S. *Lab Chip*, **2016**, 16(3): 447–458
- 5 Shi X B, Dong S L, Li M M, Liu X J, Zhang Q Q, Zhao W F, Zong C H, Zhang Y W, Gai H W. *Chem. Commun.*, **2015**, 51(12): 2353–2356
- 6 Fu Y S, Li C M, Lu S J, Zhou W X, Tang F C, Xie X S, Huag Y Y. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2015**, 112(38): 11923–11928
- 7 Streets A M, Zhang X N, Cao C, Pang Y H, Wu X L, Xiong L, Yang L, Fu Y S, Zhao L, Tang F C, Huang Y Y. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2014**, 111(19): 7048–7053
- 8 Lu Y, Xue Q, Eisele M R, Sulistijo E S, Kara B, Han L, El-ad David A, Dana Pe'er, Kathryn M J, Fan R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2015**, 112(7): E607–E615
- 9 Xue Q, Lu Y, Eisele M R, Sulistijo E S, Khan N, Fan R, Miller-Jensen K. *Sci. Signal.*, **2015**, 8(381): ra59
- 10 Zhang P R, Ren L H, Zhang X, Shan Y F, Wang Y, Ji Y T, Yin H B, Huang W E, Xu J, Ma B. *Anal. Chem.*, **2015**, 87(4): 2282–2289
- 11 Li Y W, Feng X J, Du W, Li Y, Liu B F. *Anal. Chem.*, **2013**, 85(8): 4066–4073
- 12 Liu W, Wang N J, Lin X X, Ma Y, Lin J M. *Anal. Chem.*, **2014**, 86(14): 7128–7134
- 13 Steve C C S, Philip C G, Jess S, Blake A S, Paul D A. *Lab Chip*, **2015**, 15: 225–236
- 14 Gao J, Liu X M, Chen T L, Mark P I, Du Y G, Vai MI, Lin B C, Martins R P. *Lab Chip*, **2013**, 13(3): 443–451
- 15 Srinivasan V, Pamula V K, Fair R B, *Lab Chip*, **2004**, 4(4): 310–315
- 16 Mousa N A, Jebrael M J, Yang H, Abdelgawad M, Metalnikov P, Chen J, Wheeler A R, Casper R F. *Sci. Transl. Med.*, **2009**, 1(1): 1ra2
- 17 Jebrael M J, Yang H, Mudrik J M, Lafrenière N M, McRoberts C, Al-Dirbashi O Y, Fisher L, Chakraborty P, Wheeler A R. *Lab Chip*, **2011**, 11(19): 3218–3224
- 18 Sista R S, Eckhardt A E, Wang T, Graham C, Rouse J L, Norton S M, Srinivasan V, Pollack M G, Tolun A A, Bali D, Millington D S, Pamula V K. *Clin. Chem.*, **2011**, 57(10): 1444–1451
- 19 Poulos J L, Nelson W C, Jeon T J, Schmidt J J. *Appl. Phys. Lett.*, **2009**, 95(1): 013706
- 20 TIAN Rui-Jun. *Proceedings of the Shenzhen/Dalian Bilateral Conference on Microfluidics and Commercialization Strategy*, **2015**: 29–30
田瑞军. 深圳-大连微流控芯片及其产业化战略研讨会文集, **2015**: 29–30
- 21 Boles D J, Benton J L, Siew G J, Levy M H, Thwar P K, Sandahl M A, Rouse J L, Perkins L C, Sudarsan A P, Jalili R, Pamula V K, Srinivasan v, Fair R B, Griffin P B, Eckhardt A E, Pollack M G. *Anal. Chem.*, **2011**, 83(22): 8439–8447
- 22 CHENG Xin. *Proceedings of the Shenzhen/Dalian Bilateral Conference on Microfluidics and Commercialization Strategy*, **2015**: 8
程鑫. 深圳-大连微流控芯片及其产业化战略研讨会文集, **2015**: 8
- 23 Zhou X M, Liu D Y, Zhong R T, Dai Z P, Wu D P, Wang H, Du Y G, Xia Z N, Zhang L P, Mei X D, Lin B C. *Electrophoresis*, **2004**, 25(17): 3032–3039
- 24 Ma B, Zhang G H, Qin J H, Lin B C. *Lab Chip*, **2009**, 9(2): 232–238
- 25 Weaver W, Kittur H, Dhar M, Di Carlo D. *Lab Chip*, **2014**, 14(12): 1962–1965
- 26 Wei X F, Tian T, Jia S S, Zhu Z, Ma Y L, Sun J J, Lin Z Y, Yang C Y. *Anal. Chem.*, **2015**, 87(8): 4275–4282
- 27 Hsu M Y, Yang C Y, Hsu W H, Lin K H, Wang C Y, Shen Y C, Chen Y C, Chau S F, Tsai H Y, Cheng C M. *Biomaterials*, **2014**, 35(12): 3729–3735
- 28 Goldsmith B R, Mitala J J, Josue J, Castro A, Lerner M B, Bayburt T H, Khamis S M, Jones R A, Brand J G, Sligar S G, Luetje C W, Gelperin A, Rhodes P A, Discher B M, Johnson A T C. *ACS Nano*, **2011**, 5(7): 5408–5416
- 29 Lim J H, Park J, Oh E H, Ko H J, Hong S, Park T H. *Adv. Healthc. Mater.*, **2014**, 3(3): 360–366
- 30 Watkins N N, Hassan U, Damhorst G, Ni H K, Vaid A, Rodriguez W, Bashir R. *Sci. Transl. Med.*, **2013**, 5(214): 214ra170

- 31 LIU Da-Yu. *Proceedings of the Shenzhen/Dalian Bilateral Conference on Microfluidics and Commercialization Strategy*, **2015**: 33
刘大渔. 深圳-大连微流控芯片及其产业化战略研讨会文集, **2015**: 33
- 32 Abate A R, Hung T, Sperling R A, Mary P, Rotem A, Agresti J J, Weiner M A, Weitz D A. *Lab Chip*, **2013**, 13(24): 4864–4869
- 33 Guo M T, Rotem A, Heyman J A, Weitz D A. *Lab Chip*, **2012**, 12(12): 2146–2155
- 34 Sciambi A, Abate A R. *Lab Chip*, **2015**, 15(1): 47–51
- 35 Sjoström S L, Bai Y, Huang M, Liu Z, Nielsen J, Joensson H N, Svahn H A. *Lab Chip*, **2014**, 14(4): 806–813
- 36 Balaban N Q, Merrin J, Chait R, Kowalik L, Leibler S. *Science*, **2004**, 305(5690): 1622–1625
- 37 Yokoyama W M, Christensen M, Santos G D, Miller D. *Current Protocols in Immunology*. Hoboken. John Wiley & Sons Inc. **2006**: Chapter 2
- 38 Shields C W 4th, Reyes C D, López G P. *Lab Chip*, **2015**, 15(15): 1230–1249
- 39 Zhu Y, Zhang Y X, Cai L F, Fang Q. *Anal. Chem.*, **2013**, 85(14): 6723–6731
- 40 Zhu Y, Zhu L N, Guo R, Cui H J, Ye S, Fang Q. *Sci. Rep.*, **2014**, 4: 5046
- 41 Zhu Y, Zhang Y H, Liu W W, Ma Y, Yao B, Fang Q. *Sci. Rep.*, **2015**, 5: 9551
- 42 Seo K D, Kim D S, Sánchez S. *Lab Chip*, **2015**, 15(18): 3622–3626
- 43 Zhang Q Q, Zeng S J, Lin B C, Qin J H. *J. Mater. Chem.*, **2011**, 21(8): 2466–2469
- 44 Zhang Q Q, Lin B C, Qin J. *Microfluid. Nanofluid.*, **2012**, 12(1–4): 33–39
- 45 Nisisako T, Ando T, Hatsuzawa T. *Small*, **2014**, 10(24): 5116–5125
- 46 LI Chun-Lin. *Proceedings of the Shenzhen/Dalian Bilateral Conference on Microfluidics and Commercialization Strategy*, **2015**: 36
李春林. 深圳-大连微流控芯片及其产业化战略研讨会文集, **2015**: 36
- 47 Huh D, Matthews B D, Mammoto A, Montoya-Zavala M, Hsin H Y, Ingber D E. *Science*, **2010**, 328(5986): 1662–1668
- 48 NIH, DARPA and FDA Collaborate to Develop Cutting-edge Technologies to Predict Drug Safety, [sep 16th 2011], <http://www.nih.gov/news/health/sep2011/od-16.htm>
- 49 Webtin Fabre, *Proceedings of FAST Congress*, Boston, Nov. 1 Kris 7, **2014**
- 50 Ye N N, Qin J H, Shi W W, Liu X, Lin B C. *Lab Chip*, **2007**, 7(12): 1696–1704
- 51 Liu T J, Lin B C, Qin J H. *Lab Chip*, **2010**, 10(13): 1671–1677
- 52 Li Y C, Qin, J H, Lin B C, Zhang W G. *Tissue Eng. C*, **2010**, 16(6): 1267–1275
- 53 LIN Bing-Cheng. *Proceedings of the Xiangshan Conferences*, **2010**. 11.09
林炳承. 香山会议文集, **2010**. 11.09
- 54 Li E, Xu Z Y, Hui Z, Sun Z, Wang L, Guo Z, Zhao Y, Gao Z C, Wang Q. *Oncotarget*, **2015**, 6(11): 8900–8913
- 55 Zhou M Y, Ma H P, Lin H L, Qin J H. *Biomaterials*, **2014**, 35(5): 1390–1401
- 56 LIN Hong-Li. *Proceedings of the Shenzhen/Dalian Bilateral Conference on Microfluidics and Commercialization Strategy*, **2015**: 23–24
林洪丽. 深圳-大连微流控芯片及其产业化战略研讨会文集, **2015**: 23–24
- 57 JIN D, MA X C, LUO Y, FANG S M, XIE Z R, LI X J, QI D Y, ZHANG F Y, KONG J, LI J, LIN B C, LIU T J. *RSC Advances*, accepted
- 58 KONG J, LUO Y, JIN D, AN F, ZHANG W Y, LIU L L, LI J, FANG S M, LI X J, LIU T, WANG Y Z, ZHAO Y Z, YANG X S, LIN B C, LIU T J. *Oncotarget*, accepted
- 59 An F, Qu Y Y, Luo Y, Fang N, Liu Y, Gao Z G, Zhao W J, Lin B C. *SCI REP*. Accepted
- 60 Ho C M B, Ng S H, Li K H H, Yoon Y J. *Lab Chip*, **2015**, 15(18): 3627–3637
- 61 Spivey E C, Xhemalce B, Shear J B, Finkelstein I J. *Anal. Chem.*, **2014**, 86(15): 7406–7412
- 62 Kolesky D B, Truby R L, Gladman A, Busbee T A, Homan K A, Lewis J A. *Adv. Mater.*, **2014**, 26(19): 3124–3130
- 63 Bertassoni L E, Cecconi M, Manoharan V, Nikkhah M, Hjortnaes J, Cristino A L, Barabaschi G, Demarchi D, Dokmeci M R, Yang Y Z, Khademhosseini A. *Lab Chip*, **2014**, 14(13): 2202–2211

- 64 Point of Care Testing based on Microfluidics: Player consolidation is inevitable! http://www.i-micronews.com/medtech/6841-point-of-care-testing-based-on-microfluidics-player-consolidation-is-inevitable.html?utm_source=communication.yole.fr&utm_medium=email&utm_campaign=articlerelaunch_BRO_MicrofluidicsApplications_, 03 February 2016
- 65 ZHANG Guo-Hao. *Proceedings of the Shenzhen/Dalian Bilateral Conference on Microfluidics and Commercialization Strategy*, **2015**; 39
张国豪. 深圳-大连微流控芯片及其产业化战略研讨会文集, **2015**; 39
- 66 YE Jia-Ming. *Proceedings of the Shenzhen/Dalian Bilateral Conference on Microfluidics and Commercialization Strategy*, **2015**; 38
叶嘉明. 深圳-大连微流控芯片及其产业化战略研讨会文集, **2015**; 38
- 67 Wilfried von Eiff, Impact of POCT Technology on efficiency and effectiveness of clinical processes. <http://www.molecularxurope.com/point-of-care-dx/>
- 68 YoleReport, 2016. 1. 15"Sample Preparation Automation Through Emerging Microfluidic Technologies" Nov. 2015, <http://www.i-micronews.com/component/hikashop/product/sample-preparation-automation-through-emerging-microfluidic-technologies-report-2015.html#description>
- 69 The Economist-Bioengineering, Towards a Body-on-a-chip, (Jun 13th 2015), <http://www.economist.com/news/science-and-technology/21654013-first-organ-chips-are-coming-market-and-regulators-permitting-will-speed>

Research and Industrialization of Microfluidic Chip

LIN Bing-Cheng

(Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China)

Abstract A brief review and comment on recent development of microfluidic research and industrialization were given here. Minding the fact that the main-stream research in microfluidics has shifted from the establishment of platforms and the development of methodology to a broad spectrum of applications, our review focused on the trend in applications of Lab-on-a-chip in modern biochemical analysis, point of care, novel material screening/synthesis and tissue/organ bio-mimic construction. Also, in this review, the impact and challenge of 3D printing advances on microfluidics were addressed. And further, the global advances in the industrialization of microfluidics, which may emerge as a potential scientific and technical arena for national industrial transformation and upgrading, were discussed. 69 references were cited in this review.

Keywords Microfluidic chip; Industrialization; Review

(Received 24 February 2016; accepted 6 March 2016)