

文章编号 1004-924X(2018)07-1672-08

细胞三维动态培养微器件的设计与制作

刘冲¹, 刘涛¹, 魏娟¹, 江洋¹, 梅学翠², 李经民^{1*}

(1. 大连理工大学 辽宁省微纳材料及系统重点实验室, 辽宁 大连 116024;
2. 厦门大学 机电工程系, 福建 厦门 361005)

摘要: 细胞培养是进行细胞研究的基础, 为了在细胞体外培养时提供一种近似于体内的微环境, 设计了一种可供细胞三维动态培养的微器件。首先设计了用于输运流体的微通道网络, 培养池对称布置于微通道网络中, 通过一系列“多进多出”型微通道分别与进样口和出样口相连。利用 Comsol 软件中的层流物理场和多孔介质物理场耦合对培养池内的流场进行仿真, 通过比较流场的均一性和稳定性优化微通道网络结构。然后, 采用静电直写技术在培养池内集成聚己内酯 (PCL) 三维支架, 构建细胞三维培养空间。最后, 封合微器件, 检测微器件培养池内的流体流动情况, 并进行细胞实验。实验结果表明, “2×2”型微器件培养池内的流体稳定性和均一性较好; PCL 三维支架的纤维间距 400 μm, 纤维直径 80 μm, 孔隙率 64%, 细胞存活率达到 90% 以上。该细胞三维动态培养微器件更好地模拟了生物体内细胞生存所需的微环境, 培养池内的细胞生长良好, 满足设计要求。

关键词: 微器件; 微流控; 三维动态培养; 多孔介质; 静电直写; 三维支架

中图分类号: TB559; TN405 **文献标识码:** A **doi:** 10.3788/OPE.20182607.1672

Design and fabrication of three-dimensional dynamic cell culture micro-devices

LIU Chong¹, LIU Tao¹, WEI Juan¹, JIANG Yang¹, MEI Xue-cui², LI Jing-min^{1*}

(1. Key Laboratory of Micro/Nano Technology and System of Liaoning Province,
Dalian University of Technology, Dalian 116024, China;
2. Department of Mechanical and Electrical Engineering,
Xiamen University, Xiamen 361005, China)

* Corresponding author, E-mail: jingminl@dlut.edu.cn

Abstract: Cell culture is the basis of cell research. In order to provide an approximate microenvironment for cell culture, a micro-device for three-dimensional and dynamic cell culture was designed. First, a micro-channel network was designed for transportation of liquid. The cell culture chamber was symmetrically arranged in the micro-channel network. A series of “multiple input and multiple output” micro-channels were connected with the inlet and outlet of the cell culture chamber. Second, the physical fields of laminar and porous media in the COMSOL software were coupled, which was used to simulate the velocity of the liquid in the cell culture chamber of the micro-device. The network structure of micro-channels was optimized by comparing the homogeneity and stability of

收稿日期: 2018-01-03; 修订日期: 2018-02-15.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 51475079, No. 51375076)

the flow field. Third, the electrohydrodynamic direct-writing technology was used to integrate polycaprolactone (PCL) three-dimensional scaffolds in the cell culture chamber, which constructed the three-dimensional culture space. Finally, after the welding of the micro-device, the fluid flow condition in the cell culture chamber of the micro-device was tested, and cell experiments were performed. The results show that the fluid stability and homogeneity in the cell culture chamber of a "2×2" micro-device are appropriate. The fiber spacing of the three-dimensional scaffolds is 400 μm, the diameter is 80 μm, and the porosity is 64%. Besides, the cell survival rate is more than 90%. The micro-device, which can be used for three-dimensional dynamic cell culture, precisely simulates the microenvironment needed for the survival of cells in vivo. Cells in the culturing chamber grew well; therefore, the micro-device can satisfy the design requirements.

Key words: micro-devices; microfluidics; three-dimensional dynamic culture; porous media; electrohydrodynamic direct-writing; three-dimensional scaffolds

1 引言

细胞作为生命体的基本单元,在揭示生命规律、治疗疑难疾病、进行药物筛选方面有着重要的研究价值^[1]。将细胞在体外进行培养、观察和研究是目前最主要的细胞研究方法,其关键在于如何构建与生物体内细胞生存环境相似的微环境^[2-3]。细胞在培养皿、培养瓶和培养板中的二维静态培养虽然能够培养细胞,但细胞培养环境与生物体内的三维动态微环境差异太大。利用3D打印技术构建的三维支架结构,可实现组织结构中细胞的空间排布,使得细胞的三维培养具有可行性^[4],细胞在三维支架上黏附、铺展、生长,充分利用了三维空间,模拟了生物体内细胞生存的三维环境。华南理工大学的Pan等人^[5]利用3D打印技术成型了明胶/海藻酸钠三维支架,实现了mBMSC细胞在三维支架上的三维培养。Y. Wu等人^[6]利用静电拉丝技术成型了聚己内酯(PCL)三维支架,并在支架上成功培养了人体肌腱细胞。然而单独的三维支架细胞培养仍属于静态培养,与细胞在体内的真实环境仍有较大差异。微流控芯片^[7]可以将细胞培养和细胞分析处理等相关环节集成到一个芯片系统^[8],设计上采用了微通道结构,通过微通道对细胞进行灌注式培养^[9],使细胞在动态稳定的微环境中生长增殖。王桐等^[10]设计了一种圆形培养池微流控芯片,利用四条主通道为细胞换液,实现细胞的动态培养。Hung等^[11]设计了以10×10排列的细胞培养小室阵列式芯片,每个腔室周围有多条细小的液体进入通

道,实现细胞批量化培养,并实时观察和检测。微流控芯片为细胞培养提供了一种动态微环境,细胞在培养池内贴壁生长,实现了细胞在二维半动态微环境中的培养,是目前较为成熟的细胞培养技术^[12]。为了最大程度地接近生物体内细胞生存所需的三维动态稳定微环境,有必要对现有的细胞培养技术进行改进和完善。

近年来,3D打印技术和微流控技术在国内外取得了一系列突破性进展,将这两种技术结合的细胞培养技术已经成为当前的研究热点^[13]。国内浙江大学的卢泳庄等^[14]利用3D打印技术,制作双层带细胞培养池的微流控芯片,成功进行了乳腺癌细胞的培养。日本京都大学的Ken等人^[15]利用3D打印技术打印了聚二甲基硅氧烷(PDMS)微流控芯片,成功培养了人体胚胎干细胞。意大利的Sara Coppola等人^[16]利用3D打印技术在PDMS上成型支架,再经PDMS复制获得微流控芯片结构。由此可见,当前的研究更偏向于采用3D打印技术直接打印制作微流控芯片或者打印出可以使用PDMS倒模的微流控芯片模具^[14],而在PDMS芯片内直接成型三维支架的研究还比较少。

本文设计并制作了一种可实现细胞三维动态培养的微器件,其特点在于:结构设计上,培养池对称布置于微通道网络中,通过一系列“多进多出”型微通道分别与进样口和出样口相连,同时利用Comsol软件仿真分析微器件培养池内流场的均一性和稳定性,进而优化微通道网络结构。制作方法上,以微流控芯片为基础,利用静电直写技术^[17]在微器件上打印聚己内酯(PCL)三维支架,

使三维支架集成在培养池中。该支架内部形成大大小小的孔隙,当细胞培养液流经培养池时,流体在支架内部形成间隙流动,构造出一种近似生物体内的三维动态微环境^[18]。此外,三维支架增大了培养池内的比表面积,为细胞提供了多个黏附点,细胞在支架上生长、增殖、铺展和基因表达,对于生命特征的研究有着重要的意义。

2 细胞三维动态培养微器件的设计

2.1 微器件的总体构成及工作原理

该微器件选择聚二甲基硅氧烷(PDMS)作为成型材料,PDMS具有良好的生物兼容性、无毒性,适合作为细胞培养的基底,并且易加工、透光性好,便于观察液体流动和细胞生长状态^[3]。图1为细胞三维动态培养微器件的整体结构图,它主要由细胞进样层、中间连接层和三维培养层3部分组成。利用氧等离子体去胶机对三层PDMS微结构进行表面改性,在可视化对准机上进行三层PDMS微结构的封合。微器件工作时,在微型注射泵1的驱动下,细胞悬浮液通过细胞进样孔注入芯片,通过中间连接层上与培养池对应的通孔的定位作用,使细胞悬浮液准确到达培养池中(避免其进入通道)。在微型注射泵2的驱动下,细胞培养液经过培养液进样孔到达三维培养层,培养池内集成有三维支架,当流体经过支架时,在其内部形成间隙流动,细胞在三维动态稳定的微环境中黏附、增殖和铺展,细胞产生的代谢废物通过废液排出孔流出,保证了培养池内较高的换液效率。

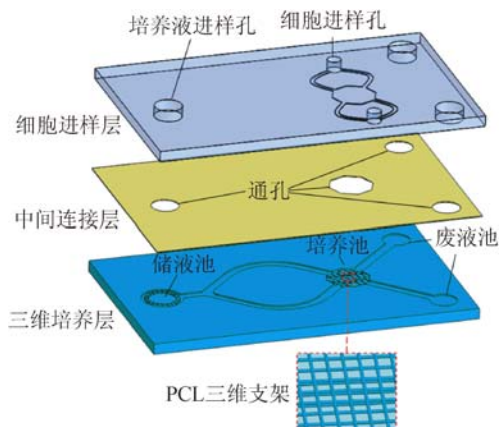


图1 细胞三维动态培养微器件

Fig. 1 Schematic diagram of three-dimensional and dynamic cell culture micro-devices

2.2 三维培养层的结构设计

本文设计了一系列“多进多出”型微通道的三维培养层,根据与培养池微通道相连的进样微通道与出样微通道的数量分别命名为“ 1×1 、 2×2 、 3×3 、 4×4 ”。微通道宽 $750 \mu\text{m}$,深 $100 \mu\text{m}$,培养池是内切圆直径为 3 mm 的正八边形。储液池直径为 3 mm ,储液池中的微柱高 $100 \mu\text{m}$,间隙为 $10 \mu\text{m}$,用来过滤培养液中可能存在的杂质,防止通道堵塞。废液池直径为 2 mm ,用于废液的排出。正八边形培养池中的PCL支架中心间距设计为 $400 \mu\text{m}$,支架直径为 $80 \mu\text{m}$,支架堆叠高度为 $100 \mu\text{m}$ 。此外,进口通道在设计上采用“归一化”原则,多个入口汇集于一处,保证流体同时进入微通道中。整个三维培养层大小为 $25 \text{ mm} \times 28 \text{ mm} \times 0.8 \text{ mm}$ 。

2.3 微器件内的流体仿真

为了研究微器件培养池内流体的稳定性和均一性,本文采用 Comsol 4.3a 仿真软件对微器件进行流体仿真分析。图2(a)~2(d)分别为“ 1×1 、 2×2 、 3×3 、 4×4 ”型微器件的流速仿真图。利用 Comsol 4.3a 软件中的层流物理场和多孔介质物理场耦合,通过求解 Navier-Stokes 方程获得流体的速度场。边界条件设置如下:(1)微通道流体的流动类型为层流,培养池内流体的流动类型为多孔介质流;(2)多孔介质渗透率为 $2 \times 10^{-10} \text{ m}^2$,孔隙率为 64% ;(3)出口处零牵引力且出口压力为0(无黏滞应力);(4)壁面无滑移;(5)流体为定常不可压缩液体。

设置入口速度分别为 $93, 185, 278$ 和 $370 \mu\text{m/s}$,微器件培养池内的平均流速变化曲线如图3所示。由图可知,“多人多出”型微器件培养池内的流体稳定性大于“单入单出”型微器件的稳定性;进出口通道数的增加提高了培养池内的流速稳定性;“ 3×3 ”型微器件培养池连接的直通道进口对培养池内流体的冲击较大,稳定性有所降低,“ 2×2 和 4×4 ”型微器件培养池内流体的稳定性较好。设置入口速度为 $185 \mu\text{m/s}$,图4为“ 2×2 、 3×3 、 4×4 ”型微器件培养池内截线a和b处的速度场分布,由图可知“ 2×2 ”型微器件培养池内的流速均一性较“ 4×4 ”型微器件更好,且“ 4×4 ”型微器件的结构复杂,不利于对准与键合。本文综合考虑微器件培养池内流体的稳定性和均一性,选择“ 2×2 ”型结构作为细胞三维动态微器件。

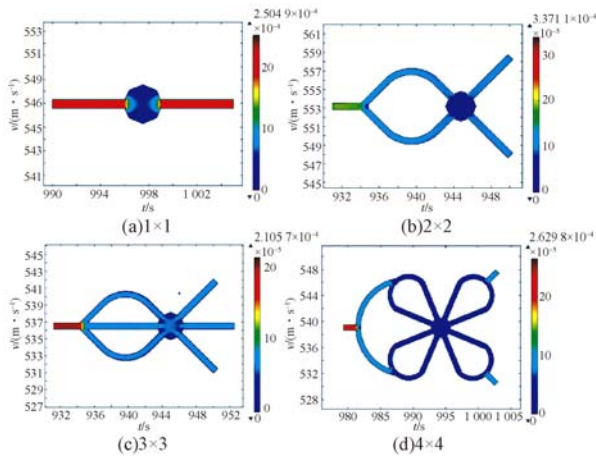


图 2 微器件培养池流体仿真

Fig. 2 Simulation of fluid in micro-devices

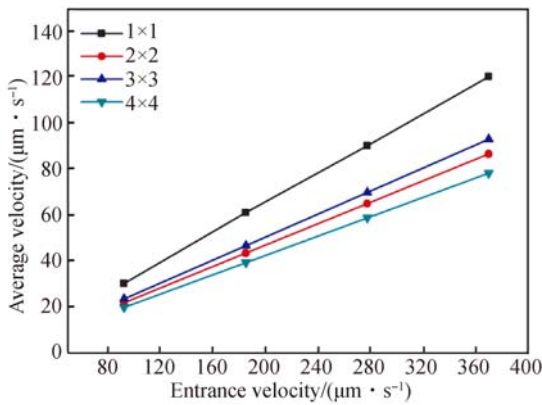


图 3 培养池内平均速度变化曲线

Fig. 3 Average velocity in cell culture chamber

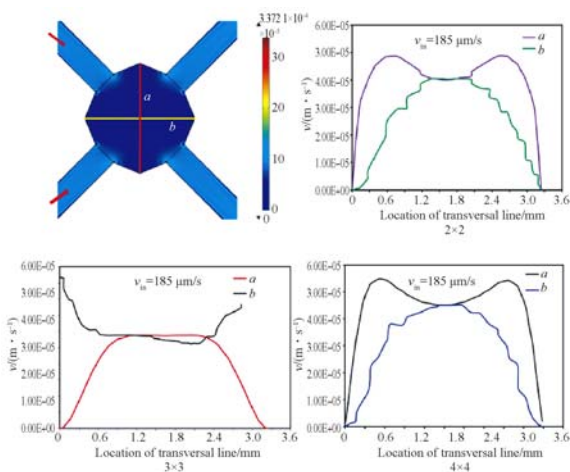


图 4 微器件培养池 a 和 b 截线处的速度场分布

Fig. 4 Velocity field distribution along transversal lines a and b in micro-device culture chamber

3 细胞三维动态培养微器件的制作

3.1 微通道结构的制作方法

本文中细胞三维动态培养微器件的微通道结构在超净实验室内制作。首先,设计和制作所需微结构的掩模板,并在白板玻璃上甩胶 BN-303 增加黏附性;然后,在 BN-303 上甩胶 SU-8,利用 MEMS 工艺经曝光、显影、烘干后,制作 SU-8 模具^[19];最后,在 SU-8 模具上浇注 8 mL 的 PDMS,80 °C 下加热固化 2 h 后模塑法拔模,获得厚度为 800 μm 的 PDMS 微通道结构。

3.2 PCL 三维支架的成型

本设计利用静电直写机(多轴微纳喷印控制系统)来成型三维支架,如图 5 所示。将聚己内酯(PCL)溶于冰乙酸,磁力搅拌 8 小时至溶液混合均匀,配制成 25% 的 PCL 打印溶液,将溶液装载到 2.5 mL 的注射器中并固定在精密注射泵(美国 Harvard 公司)上,设置精密注射泵的供液量为 300 μL/hr,调节升降台使打印头与基底之间的高度为 3 mm,选择内径为 210 μm 外径为 410 μm 的打印针头,通过导线连接至高压电源(东文高压电源),调节电压至 2.0 kV,开始 PCL 三维支架的打印。

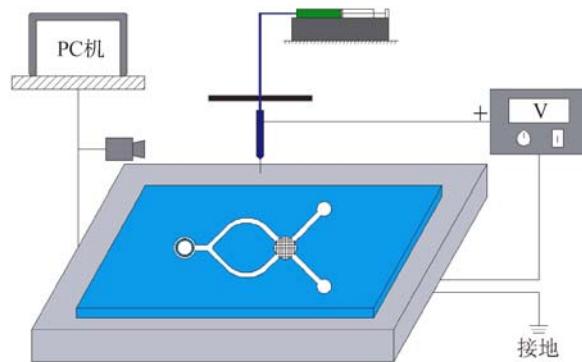


图 5 静电直写示意图

Fig. 5 Schematic diagram of electrohydrodynamic direct-writing technology

由于 PDMS 的绝缘性较强,静电直写时对电场的影响较大。这是因为:施加电压时,聚集在打印针头的电荷无法向绝缘的 PDMS 转移,导致电场失衡,打印错乱。为了保证打印过程中电场的稳定输出,在 PDMS 表面图案化一层双面导电的铜箔胶带作为掩模层,掩蔽不需要成型 PCL 三维

支架的部分,工艺流程如图 6 所示。将带有掩模层的 PDMS 固定在 XMS50 型 X-Y 轴移动基台上(法国 Newport 公司),将掩模层表面接地线以转移电荷,这样不但使整个打印过程电场能够稳定输出,而且保证了 PDMS 表面的洁净度。X-Y 轴移动平台可通过 PC 端软件精确控制,设置平台移动速度为 50 mm/s,在微器件培养池上方直写 20 mm×20 mm 的 PCL 支架。静电直写打印时,湿度对支架的成型有较大的影响,当湿度较大时,冰乙酸溶剂挥发速度慢,不利于支架的堆叠。采用热光灯照射的方法可以加快溶剂的挥发,提高成型质量。

打印完成后,用生物芯片激光加工机切割分离培养池内外的 PCL 支架,去除掩模层,得到细胞三维动态培养微器件的三维培养层结构。将细胞进样层、中间连接层和三维培养层置于 K1050X(英国 Quorum 公司)氧等离子体去胶机中进行表面处理,利用可视化对准机进行三层结构的对准键合,完成细胞培养微器件的制作,微器件实物如图 7 所示。

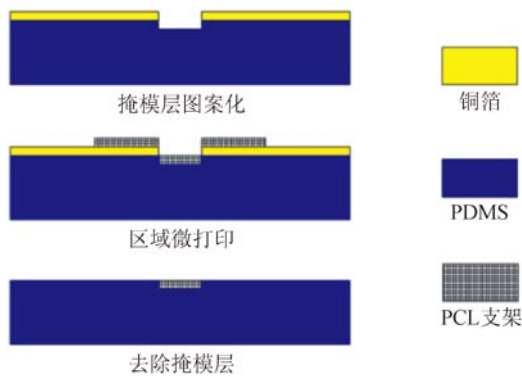


图 6 三维支架制作工艺流程

Fig. 6 Fabrication process of three-dimensional scaffolds

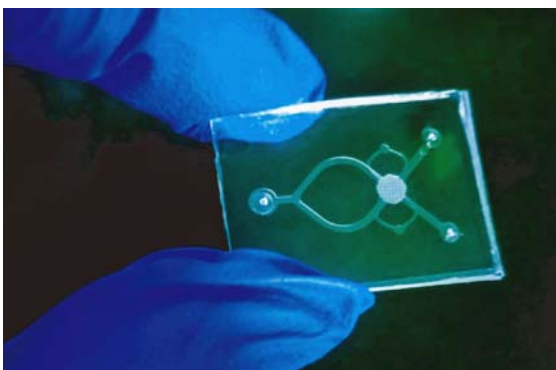


图 7 细胞三维动态培养微器件实物图

Fig. 7 Photo of three-dimensional and dynamic cell culture micro-device

4 实验与结果

由于实验中所用的材料在射流时呈现的是一种凝胶状,结构不稳定,在多层累加时会在自身重力的作用下产生一定程度的形变,从而造成支架的高度、孔隙以及线宽等不均匀^[4]。

4.1 三维支架的高度表征

如图 8 所示,用 STM6 工具显微镜(日本 Olympus 公司)测量了 1~15 层支架的高度变化。由图可知,当打印层数为 12~13 时,支架高度分别为 97.1 μm 和 105.4 μm ,因此选择高度小于 100 μm 的 12 层支架作为打印支架层数。图 9(a)和 9(b)为激光共聚焦显微镜(OLS4000,日本)下的单层支架和 12 层支架形貌图,从图中可以看出:单层支架的高度约为 30 μm ,当三维支架堆叠至 12 层时高度约为 100 μm ,此时三维支架可以集成在微器件培养池内,构造培养池内的三维微环境。

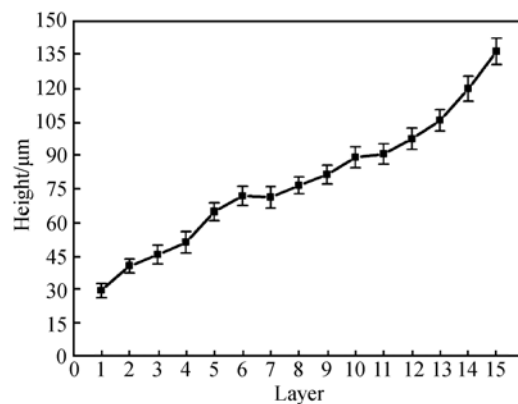
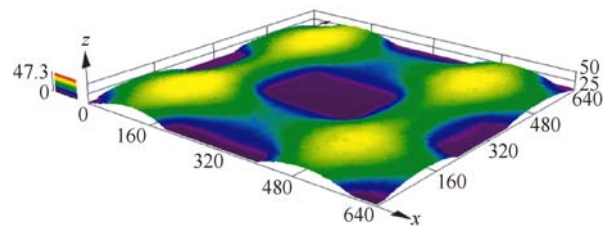


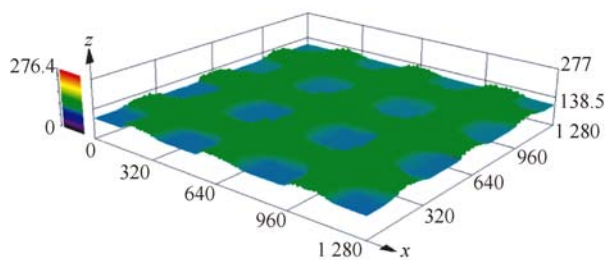
图 8 三维支架高度曲线图

Fig. 8 Height graph of three-dimensional scaffolds



(a)单层 PCL 三维支架(400×)

(a)Image of PCL three-dimensional scaffold with single layer



(b)十二层 PCL 三维支架(200×)

(b) Image of PCL three-dimensional scaffold with twelve layers

图 9 三维支架形貌图

Fig. 9 Topography of three-dimensional scaffolds

4.2 三维支架的尺寸表征

在工具显微镜下对三维支架的孔隙尺寸进行计数和测量。由表 1 可知,三维支架的纤维间距为 $400\ \mu\text{m}$,且随着孔隙统计数的增加,纤维直径基本维持在 $80\ \mu\text{m}$ 左右,孔隙率维持在 64% 。

表 1 三维支架孔隙大小

Tab.1 Hole size of three-dimensional scaffolds

统计数	间距/mm	线宽/mm	孔隙率/%
20	0.4 ± 0.005	0.08 ± 0.012	64 ± 4.8
40	0.4 ± 0.005	0.08 ± 0.006	64 ± 2.4
60	0.4 ± 0.004	0.08 ± 0.004	64 ± 1.6

4.3 微器件内的流体实验

本文中利用荧光测速法检测流体速度,用荧光素钠配制荧光液,在微量注射泵(NE-1000,美国)的驱动下流体由培养液进样口进入芯片,在CKX41型倒置荧光显微镜(日本 Olympus 公司)下观察培养池内流体的流动。当荧光液进入到芯片内的微通道时在蓝光激发下发出白色,通过电脑显示器可以观察到流体的流动过程,整个流动过程由倒置荧光显微镜自带的 CCD 相机记录,从而得到待处理的数据图像。为得到更可靠的实验数据,将微量注射泵的供液速度分别设为 $0.25, 0.5, 0.75$ 和 $1.0\ \mu\text{L}/\text{min}$,将测速结果和仿真结果进行对比,结果如表 2 所示。

表 2 实验结果与仿真结果对照表

Tab.2 Comparison of simulation and experimental results ($\mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$)

供液速度/ ($\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$)	1.0	0.75	0.5	0.25
输入速度	370	278	185	93
仿真结果	86.54	64.88	43.23	21.61
测速结果	50.78	39.63	27.08	14.77

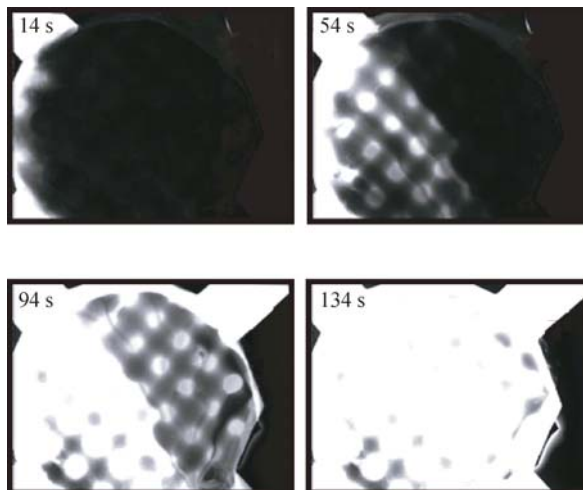


图 10 流体的荧光测速

Fig.10 Fluorescent speed measurement of fluid

图 10 为进样速度为 $0.5\ \mu\text{L}/\text{min}$ 时,CCD 相机记录的“ 2×2 ”型微器件培养池内的流体流动情况。当流体经过培养池内的三维支架时逐渐渗流并充满整个培养池(培养池内逐渐变为白色)。根据 CCD 相机记录的时间,可测算出流体流经培养池的平均速度为:

$$v = \frac{L}{t}, \quad (1)$$

式中: v 为培养池内流体的平均速度; L 为培养池的有效宽度; t 为 CCD 相机记录的时间差。由于培养池内切圆直径为 $3\ \text{mm}$,则 $L = 3.25\ \text{mm}$,CCD 相机记录的时间差 $t = 120\ \text{s}$,可求得此时的平均流速 v 为 $27.08\ \mu\text{m}/\text{s}$ 。

在进行流体实验时,流体与器件壁、三维支架间的边界摩擦、流体中夹杂的气泡、三维支架的结构不均匀性等都会影响流体速度,导致实际测速的结果要比仿真结果要小。流体实验表面流体流经培养池时速度冲击较小,满足细胞生存所需的动态微环境。

4.4 微器件内的细胞实验

以 HeLa 细胞为研究对象,在大连理工大学干细胞与组织工程研究室进行细胞培养,验证所设计的微器件是否适合细胞生长。细胞实验前,先用 75% 的酒精溶液对细胞三维动态培养微器件进行消毒处理,再用 PBS 缓冲液冲洗干净。提取处于对数生长期的 HeLa 细胞,离心并配制细胞悬浮液,通过细胞进样层向微器件中接种细胞,待细胞黏附后,利用微量注射泵(NE-1000,美国)将细胞培养液($89\% \text{ DMEM} + 10\% \text{ FBS} + 1\% \text{ PS}$)以 $0.5\ \mu\text{L}/\text{min}$ 的速度对微器件中的 HeLa 细胞进行三维动态培养,并观察细胞的存活状态。利

用细胞活死染色剂(FDA 和 PI)对 HeLa 细胞进行标记,图 11 所示分别是 4 倍和 20 倍镜头下 CKX41 型荧光显微镜(日本 Olympus 公司)拍摄的细胞存活状态图(彩图见期刊电子版),其中活细胞被标记为绿色,死细胞被标记为红色,由图可知细胞生长状态良好,存活率达到 90%以上。

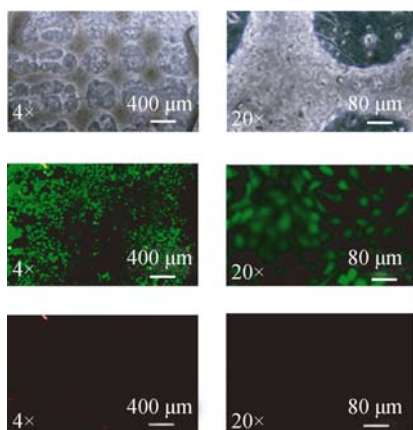


图 11 HeLa 细胞的 FDA(绿色)和 PI(红色)荧光染色图(活细胞和死细胞分别被 FDA 和 PI 着色)

Fig. 11 Fluorescence images of HeLa cells stained with FDA (green) and PI (red) which depicted live cells and dead cells respectively

参考文献:

- [1] 王洪成,朱丽,杨利军,等.基于微流体脉冲惯性力驱动卵细胞的液滴包裹[J].光学精密工程,2015,23(10):286-290.
WANG H CH, ZHU L, YANG L J, *et al.*. Drop-let-based encapsulating of shrimp oocyte actuated by microfluidic pulse inertial force [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2015, 23 (10): 286-290. (in Chinese)
- [2] 刘海侠,刘冲,魏娟,等.新型网状通道微流控细胞培养芯片设计与制作[J].纳米技术与精密工程,2017,15(4):273-279.
LIU H X, LIU CH, WEI J, *et al.*. Design and fabrication of a novel microfluidic cell culture chip for mesh channel [J]. *Nanotechnology and Precision Engineering*, 2017, 15 (4):273-279. (in Chinese)
- [3] 马亚会,刘冲,魏娟,等.稳定微环境微流控细胞培养芯片的设计与制备[J].纳米技术与精密工程,2016,14(4):246-250.
MA Y H, LIU CH, WEI J, *et al.*. Design and fabrication of microfluidic cell culture chip for stable microenvironment [J]. *Nanotechnology and Precision Engineering*, 2016, 14 (4):246-250. (in Chinese)

5 结 论

本文设计了一种可供细胞三维动态培养的微器件。结构上培养池对称布置于微通道网络中,通过一系列“多进多出”型微通道分别与进样口和出样口相连。该细胞培养微器件在微流控芯片细胞动态培养的基础上引入 3D 打印技术,在细胞培养区构造一种三维的动态稳定微环境。通过仿真分析得到了最优结构,利用软刻蚀技术和 3D 打印技术制作了微器件结构。该微器件实现了细胞的灌注式三维培养,能够模拟生物体内细胞生活所需的微环境。在细胞实验室进行 HeLa 细胞培养,细胞在培养池支架上黏附、增殖和铺展良好。用细胞活死染色剂对细胞的存活情况进行标记(绿色为活细胞,红色为死细胞),结果显示:细胞在微器件中的生存状况良好,存活率达到 90%以上。本文设计的细胞三维动态培养微器件结构新颖、操作简单、细胞存活率高。

- [4] 刘翀,徐铭恩,王玲,等.基于 3D 打印细胞培养支架内部血管通道的模拟与构建[J].中国生物医学工程学报,2017,36(1):67-74.
LIU CH, XU M E, WANG L, *et al.*. Simulation and fabrication of vascular network in biological scaffolds based on three-dimensional cell printing technique [J]. *Chinese Journal of Biomedical Engineering*, 2017,36(1):67-74. (in Chinese)
- [5] PAN T, SONG W J, GAO X D, *et al.*. 3D bio-plotting of gelatin/alginate scaffolds for tissue engineering: influence of crosslinking degree and pore architecture on physicochemical properties [J]. *Journal of Materials Science & Technology*, 2016, 32: 889-900.
- [6] WU Y, JYH F H, SUN J, *et al.*. Fabrication of 3D scaffolds via E-jet printing for tendon tissue repair [C]. *ASME 2015 International Manufacturing Science and Engineering Conference*, 2015.
- [7] 林路遥,林金明.微流控芯片上细胞培养与分析方法研究进展[J].分析科学学报,2017,33(5):707-714.
LIN L Y, LIN J M. Development of cell culture and analysis on microfluidic devices [J]. *Journal of Analytical Science*, 2017, 33 (5): 707-714. (in Chinese)
- [8] 施鏐佳,谭映军,董景新,等.空间细胞培养芯片系统的弹性膜驱动样品更换[J].光学精密工程,

- 2015, 23 (5): 1340-1346.
- SHI L J, TAN Y J, DONG J X, *et al.*. Elastic membrane actuated sample replacement for space cell culture microchips [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2015, 23 (5): 1340-1346. (in Chinese)
- [9] ESCH E W, BAHINSKI A, HUH D. Organs-on-chips at the frontiers of drug discovery [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2015, 14 (4): 248-260.
- [10] 王桐. 干细胞微流控芯片的设计、制备、检测与应用研究[D]. 北京:北京工业大学, 2013.
- WANG T. *Research on Design, Fabrication, Detection, Application of Microfluidic Bio-chips for Stem Cells* [D]. Beijing: Beijing University of Technology Institute, 2013. (in Chinese)
- [11] PAUL J H, PHILIP J L, *et al.*. Continuous perfusion microfluidic cell culture array for high-throughput cell-based assays [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2005, 89 (1): 1-8.
- [12] LI J M, WEI J, LIU Y C, *et al.*. A microfluidic design to provide a stable and uniform in vitro microenvironment for cell culture inspired by the redundancy characteristic of leaf areoles [J]. *Lab on a Chip*, 2017, 17:3921-3933.
- [13] 范一强,王玫,张亚军. 3D打印微流控芯片技术研究进展[J]. 分析化学, 2016, 14 (4): 551-561.
- FAN Y Q, WANG M, ZHANG Y J. Jun recent progress of 3D printed microfluidics technologies [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2016, 14 (4): 551-561. (in Chinese)
- [14] 卢泳庄,任伊娜,宫明华,等. 基于3D打印技术的微流控芯片及其初步药效筛选[J]. 中国药理学杂志, 2015, 50 (24):2124-2129.
- LU Y ZH, REN Y N, GONG M H, *et al.*. 3D-printing microfluidicdevice for breast cancer cell culture and pharmacological research [J]. *Chin. Pharm. J.*, 2015, 50 (24): 2124-2129. (in Chinese)
- [15] KEN-ICHIRO K, YASUMASA M, YOSHIE K, *et al.*. 3D printing of soft lithography mold for rapid production of polydimethyl siloxane-based microfluidic devices for cellstimulation with concentration gradients[J]. *Biomed Microdevices*, 2015, 10: 17-36.
- [16] SARA C, GIUSEPPE N, MICHELE T, *et al.*. Direct writing of microfluidic footpaths by pyro-EHD printing [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9: 16488-16494.
- [17] ZHENG G F, SUN L L, WANG X, *et al.*. Electrohydrodynamic direct-writing microfiber pattern-sunder stretching[J]. *Applied Physics A*, 2016, 122 (112): 2-9.
- [18] 刘军山,张洋洋,王忠,等. 用于细胞三维培养的集成微柱阵列的微流控芯片设计与验证[J]. 分析化学, 2016, 45(8): 1109-1115.
- LIU J SH, ZHANG Y Y, WANG ZH, *et al.*. Design and validation of a microfluidic chip with micropillar arrays for three-dimensional cell culture [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2016, 45(8): 1109-1115. (in Chinese)
- [19] 马雅丽,刘文开,刘冲,等. UV-LIGA技术在制作细胞培养器微注塑模具型腔中的应用[J]. 光学精密工程, 2013, 21(5): 1229-1233.
- MA Y L, LIU W K, LIU CH, *et al.*. Application of UV-LIGA technology to machining micro-injection mold cavity of cell culture device [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2013, 21(5): 1229-1233. (in Chinese)

作者简介:



刘冲(1963—),男,四川成都人,博士,教授,博士生导师,1989年于华中科技大学获得硕士学位,1993年于华南理工大学获得博士学位,主要从事微机电工程领域的研究工作。E-mail: chongl@dlut.edu.cn

通讯作者:



李经民(1979—),男,辽宁抚顺人,博士,教授,博士生导师,2010年于大连理工大学获得博士学位,2012年于博士后出站,主要从事微机电工程、机电一体化、反求工程等方面的研究。E-mail: jingminl@dlut.edu.cn