

文章编号 1004-924X(2019)06-1237-08

高通量数字化毛细管微阵列芯片

邱亚军^{1,2}, 李金泽¹, 李传宇^{1,2}, 张芷齐^{1,3}, 周连群^{1*}

- (1. 中国科学院苏州生物医学工程技术研究所
中国科学院生物医学检验技术重点实验室, 江苏 苏州 215163;
2. 中国科学院大学生命科学学院, 北京 100049;
3. 中国科学技术大学, 安徽 合肥 230026)

摘要:针对数字 PCR 体系样品的分割方式, 开发了一款数字 PCR 体系样品分割芯片, 用于微量生物样品检测。利用微机电系统(MEMS)制备阵列化的硅基片, 采用硅片高效低损伤超精密磨削减薄工艺对硅基片进行减薄, 结合化学改性方法, 成功制备了表面疏水孔壁亲水的毛细管微阵列芯片。通过扫描电子显微镜(SEM)对芯片结构进行表征, SEM结果显示, 芯片结构为通孔微阵列。通过接触角表征芯片表面的疏水性, 对比化学处理前后芯片表面的接触角, 结果表明化学处理后芯片表面疏水, 接触角为 118°。通过能谱(EDS)表征芯片孔壁的亲水性, 结果表明, 芯片孔壁只有 Si、O 两种元素, 形成亲水基团, 因此, 芯片孔壁亲水。通过测量显微镜和荧光显微镜表征芯片的样品分割性能, 结果表明芯片将样品分割为均一的独立单元。通过激光共聚焦扫描仪表征, 直观地反应了芯片的整体样品分割效果, 通过计算芯片的样品填充率为 93.8%。本文成功制备了表面疏水孔壁亲水的毛细管微阵列芯片, 该芯片具有优异的样品分割性能, 在生物学领域具有广阔的应用前景。

关键词:微阵列芯片; 高通量; 数字化; 毛细管; 化学改性; 亲疏水

中图分类号: TP212.3 **文献标识码:** A **doi:** 10.3788/OPE.20192706.1237

High-throughput digital capillary microarray

QIU Ya-jun^{1,2}, LI Jin-ze¹, LI Chuan-yu^{1,2}, ZHANG Zhi-qi^{1,3}, ZHOU Lian-qun^{1*}

- (1. Key Laboratory of Biomedical Detection Technology,
Suzhou Institute of Biomedical Engineering and Technology,
Chinese Academy of Sciences, Suzhou 215163, China;
 2. College of Life Science, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;
 3. University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China)
- * Corresponding author, E-mail: zhoulq@sibet.ac.cn

Abstract: A digital Polymerase Chain Reaction (PCR) system sample segmentation chip was developed for the “division” method for samples of a digital PCR system, and a capillary microarray was used for trace biological sample detection. First, arrayed silicon substrates were fabricated using Micro-electron-mechanical Systems (MEMS) technology, subsequently silicon wafers were thinned by the

收稿日期: 2018-12-05; **修订日期:** 2019-01-02.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 51675517); 江苏省自然科学基金资助项目 (No. BK20160057); 苏州市医工结合专项项目 (No. SS2017); 中国博士后科研基金资助项目 (No. 2018K071C)

process of high-efficiency, low-damage, and ultra-precision grinding and then combined through chemical modification methods. A capillary microarray with a hydrophobic surface and hydrophilic inner wall was successfully prepared. The structure of the capillary microarray was characterized by scanning electron microscopy (SEM). SEM results showed that the structure of the capillary microarray is a through-hole microarray. The hydrophobicity of the surface of the capillary microarray was characterized by the contact angle, and the contact angles of the surface before and after chemical treatment were compared. The results show that the surface of the capillary microarray is hydrophobic after chemical treatment, and the contact angle is 118° . The hydrophilicity of the inner walls of the capillary microarray was characterized by an energy dispersive spectrometer (EDS). The results show that only Si and O elements are present in the inner walls of the capillary microarray, forming a hydrophilic group ($-\text{Si}-\text{OH}$). Thus, the inner walls of the capillary microarray were hydrophilic. The sample segmentation performance of the capillary microarray was characterized by measurement microscopy and fluorescence microscopy. The results show that the capillary microarray divided the sample into uniform independent units. Characterized by the laser confocal scanner, the overall sample segmentation effect of the capillary microarray is intuitively reflected, and the sample addition rate of the chip is 93.8% by counting and calculation. Finally, a capillary microarray chip with a hydrophobic surface and hydrophilic inner wall was successfully prepared and exhibited excellent sample segmentation performance, which offers broad application prospects for the field of biomedics.

Key words: microarray; high-throughput; capillary; digitization; chemical modification; hydrophilic and hydrophobic

1 引言

为了满足微量生物样品检测的高灵敏度^[1]和准确性^[2-4],数字 PCR(digital Polymerase Chain Reaction, dPCR)技术被应用到生物研究领域,在分子水平可以对脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)进行绝对定量,这使得 dPCR 优于定量 PCR。它是将含有核酸分子的 PCR 反应体系“分割”成数量众多、纳升甚至是皮升级的反应单元,核酸分子在每个反应单元中随机分布,单个分子在反应单元中扩增和终点检测。通过统计阳性点的个数来确定样品浓度。由于高灵敏度与准确性, dPCR 是检测稀有突变^[5-6]、拷贝数变异^[7-9]和等位基因失衡^[8,15]的实用且不可或缺的工具,作为基因诊断技术在基础研究和临床领域^[14]具有很大前景,如基因突变检测,下一代测序^[16-18]的样品制备等。

由于 PCR 反应体系的分割是 dPCR 技术的第一步也是最核心的技术步骤。目前, dPCR 反应体系的分割方式主要包括:微孔式^[19]、微腔

式^[20]和微滴式^[21]。其中,微液滴式体系分割在通量方面具有很大的优势, Rain Dance ©公司(美国)正式推出了名为 Rain Drop™的数字检测系统,每次可将反应体系分割成 10^5 个微液滴。但是微液滴易破裂,会造成微反应单元之间的融合。2017年,浙江大学牟颖等制备了微腔式芯片^[22]。微腔式反应体系分割解决了微反应单元之间的融合问题,但是芯片加工步骤复杂,芯片进行 PCR 体系分割时需要配备相关的设备。由于微孔式分割 PCR 体系时形成的微反应单元是完全的物理分割,避免了液体之间的屏障,并且是一次性将 PCR 体系分割成一定数量的微反应单元,此种分割方式能够避免管道造成的样本损失,具有微液滴体积均一、结果稳定等优点。

鉴于微孔芯片样品分割的优势,很多研究者制作了不同的芯片。Stephen R. Quake 研究组的 Marc A. Unger 等人^[23]在 2000 年提出了多层结构的聚二甲基硅氧烷(Polymethylmethacrylate, PDMS)芯片,采用软刻蚀(Multilayer Soft Lithography, MSL)技术^[23]设计并制作了上下两

层交叉通道,形成PDMS微泵与微阀结构。根据这一技术,Hansen等人^[24]在2011年制作了百万像素的数字微流控芯片。他们使用PDMS制作微流控芯片,结合Parylene-C涂层进行防蒸发处理,同时添加水网补充蒸发的水分。但此种芯片的制作工艺有缺陷,因此所制备的芯片有部分通道被破坏,导致样品分割不均一,实验结果不准确。基于Quake阀的dPCR芯片发展迅速,并已实现诸多应用,但由于芯片在进样与数字PCR反应期间都需要保持外部施加稳定且不间断的气压,芯片的使用离不开繁杂庞大且价格昂贵的外围设备,因此限制了该方法的推广和应用。2009年,Rusyem F. Ismagilov制作了滑动芯片^[25],他们在两块玻璃上分别刻蚀相互对应的反应腔室、通道等结构,通过移动两片玻璃,改变反应腔室与通道的位置,实现待测溶液的加入、混合及分隔等目的。滑动芯片的局限性是微孔数量是有限的,当微孔尺寸小于100 μm时,芯片不可能滑动,难以实现每个微孔的对准。Eiichi Tamiya研究组^[26-27]利用光刻和双面湿法刻蚀制备了玻璃基芯片。此芯片的缺点是多余的样品要从芯片表面刮掉,这将导致样品损失以及交叉污染。因此,芯片的结构设计与制作显得尤为重要。

本文开发了一种硅基毛细管微阵列芯片(表面疏水孔壁亲水),通过负载水溶性样品验证芯片的样品分割性能。该微阵列芯片通过微机电系统(Micro-electro-mechanical System, MEMS)技术^[28-29],结合表面化学改性方法,制备得到表面疏水孔壁亲水的毛细管微孔阵列芯片。选取硅基材料,结合化学改性方法实现了芯片表面疏水,孔壁亲水。由于芯片是通孔以及孔壁亲水,水溶性样品受到毛细管力很容易进入微孔;另外,芯片表面疏水,起到自清洁和自驱动的作用,样品很容易被分割到每一个微孔,微孔之间是完全的物理分割,所以,此种芯片在样品分割性能方面体现出了独特的优势^[30],样品分割均一,微孔反应单元具有高稳定性和重复性。此种芯片只需要一步就完成了样品分割与进样,实验流程简单易行,因此,该芯片在生物医学检测领域具有广阔的应用前景。

2 实验

2.1 主要试剂和材料

丙酮(≥99.5%,国药集团),无水乙醇(≥99.5%,国药集团),正己烷(≥97.0%,国药试剂),超纯水机(Milli-Q, MERCK MILLIPORE),十七癸基全氟三甲氧基硅烷(≥98%, sigma-aldrich公司),氨水(25%~28%,国药集团),双氧水(≥30.0%),光刻胶(AZ 5214 E),显影液(AZ 300 MIF Developer),滤膜(新亚,上海),硅胶滚轮(裕多安,昆山),工业日化色素粉水溶性颜料(欧邦日化),Cy3荧光染料(生工生物工程股份有限公司),单晶硅片(苏州研材微纳科技有限公司)。

2.2 芯片的制备

毛细管微阵列芯片的制作主要包括掩膜制作与芯片制作两部分。图1为表面疏水孔壁亲水的高通量数字化毛细管微阵列芯片的结构示意图。

2.2.1 掩膜版的制作

绘制掩膜版。涂胶进行光刻,但光刻后经过溅射金属薄膜使得图形再次经过翻转,所以掩膜版的图形和芯片的图形是一致的,即掩膜版为负版。

2.2.2 芯片加工工艺

光刻包括:清洗、镀铬、涂胶、前烘、曝光显影和后烘。

首先,将硅片依次放入丙酮、无水乙醇中各超声清洗10 min,然后用去离子水冲洗,氮气吹干。Cr薄膜在日本ANELVA公司生产的SPF-430H溅射系统中用射频磁控溅射法制备,设定的射频功率为100 W,真空度为 2×10^{-4} Pa,氩气气压为 5.33×10^{-2} Pa,基片冷却方式为水冷。溅射速率约为14 nm/min,溅射时间为13 min。Cr膜厚为100 nm左右。将硅片置于140 °C的热板上烘焙10 min。匀胶过程分两阶段进行,第一阶段的匀胶转速为1 000 r/min,时间为30 s;第二阶段的匀胶转速为4 000 r/min,时间为60 s。匀胶结束后附着在硅片上的光刻胶厚度约为2.0 μm。使用热板在100 °C下对涂有光刻胶的硅片烘焙5 min。烘好的硅片与掩膜版按照光刻机的操作顺序与流程载入光刻机,调整相应的光刻参数,曝光190 s。将显影液倒入培养皿中,将后烘过的带光胶的硅片浸没在显影液中。匀速缓慢晃动培养

皿,进行显影。待未曝光部分的光胶完全被显影液溶解,硅片上仅剩下曝光部分的图形,使用异丙醇对模具表面进行冲洗,完成显影;将显影后的芯片静置避光晾干,务必保证芯片上不能有水滴,烘干 15 min。将基片浸入质量分数为 30%,温度为 80 °C 的浓盐酸溶液中 20 min,即可除去 Cr。电

感耦合等离子体(Inductive Coupled Plasma, ICP)刻蚀机的相关参数设置为:ICP 功率为 800 W,RF 偏执功率:钝化 20 W,刻蚀为 35 W,氦气压为 2.67 Pa,总气压为 6.67 Pa,基片温度为 50 °C。通过硅片高效低损伤超精密磨削减薄工艺对硅片减薄。

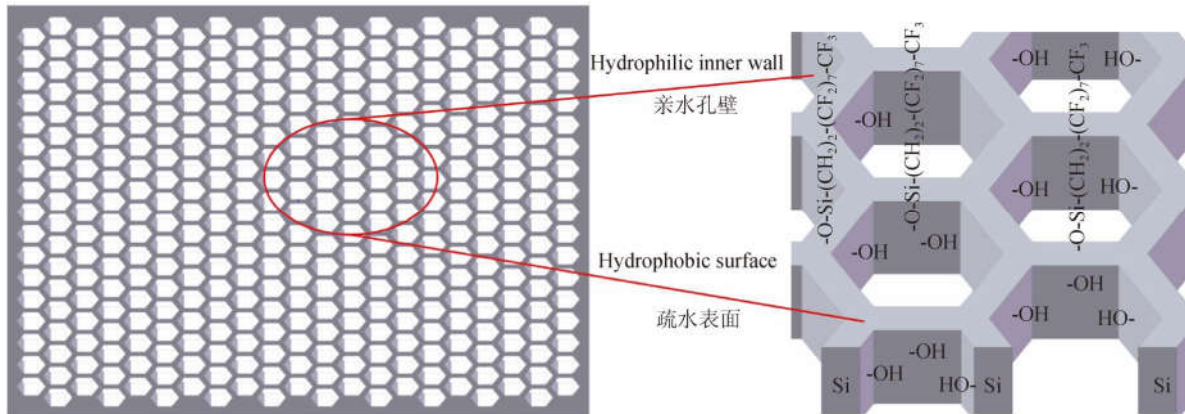


图 1 毛细管微阵列芯片结构示意图

Fig. 1 Schematic diagram of capillary microarray structure

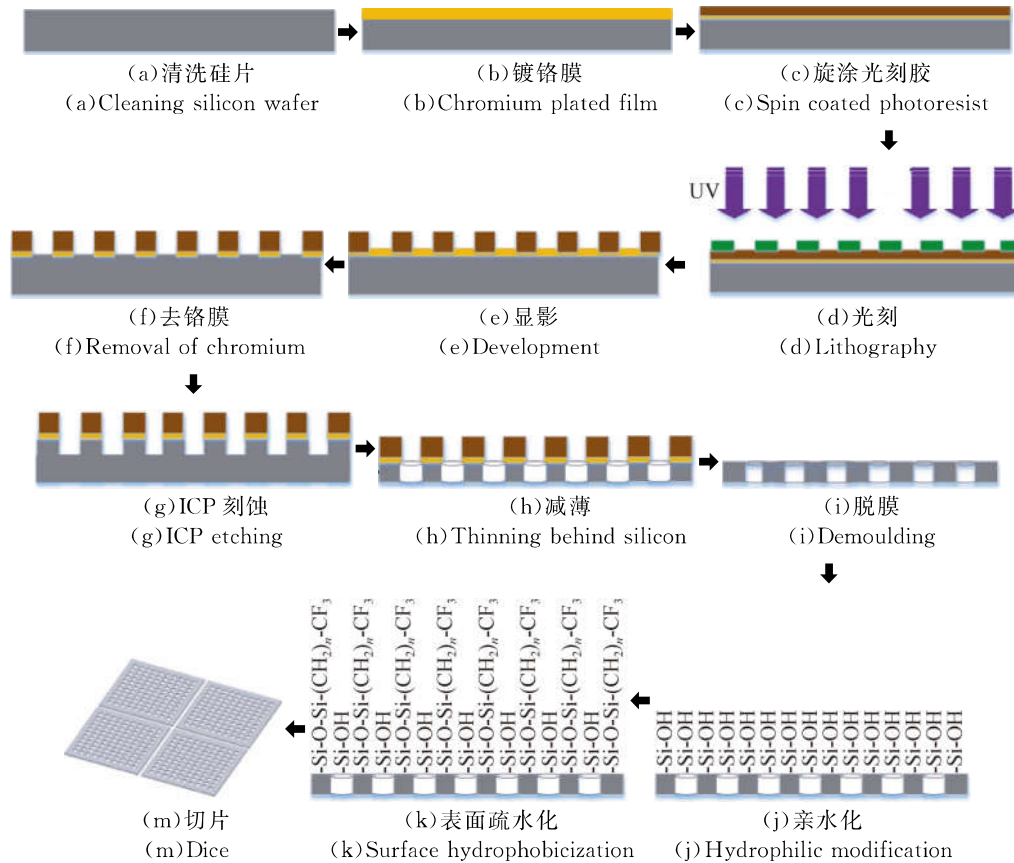


图 2 毛细管微阵列芯片的制备工艺流程

Fig. 2 Preparation process of capillary microarray

2.3 样品制备

称取 0.2 g 的色素粉溶于超重水配制成 5% (质量分数) 的荧光黄染料水溶液, 超声混匀。用移液枪取 14.5 μL 荧光黄染料水溶液, 用进样器将色素溶液负载到固定好的芯片上, 加油密封, 将封装好的芯片用测量显微镜观察样品的分割效果。

配制 17.5 $\mu\text{m}/\mu\text{L}$ 的 Cy3 溶液, 用移液枪取 14.5 μL 的 Cy3 溶液, 用进样器将 Cy3 溶液负载到芯片, 将负载好 Cy3 溶液的芯片加油密封, 用倒置荧光显微镜观察封装好的芯片样品的分割效果。

2.4 仪器与表征方法

2.4.1 结构表征

将制作好的毛细管微阵列芯片用扫描电镜 (Scanning Electron Microscope, SEM) (S4800, 日立公司) 表征, 在扫描电镜下观察微孔的结构以及量取相关尺寸。

2.4.2 性能表征

将负载有荧光黄溶液的芯片封装好, 在测量显微镜 (Measuring Microscope, MM) (Union DH2, 上海拓精工业测定仪器有限公司) 下观察样品的分割效果, 每个样品重复制样 3 次, 在显微镜下观察不同区域的样品分割效果。

将负载有 Cy3 溶液的芯片封装好, 在荧光显微镜 (Fluorescence Microscope, FM) (Axio Observer A1, 蔡司) 观察样品的分割效果并统计样品的填充率, 每个芯片重复制样并验证 3 次。

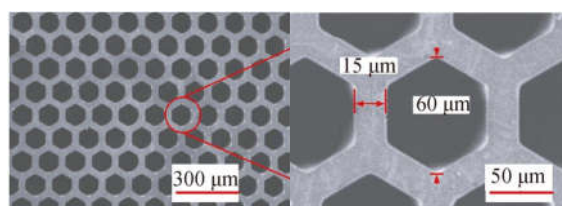
为了直观地说明芯片的样品分割效果, 通过激光共聚焦扫描仪 (GenePix400B, 美谷分子仪器有限公司) 观察芯片样品分割的整体效果, 并统计计算样品的填充率, 每个样品重复制样并扫描 3 次。

3 结果与分析

本文结合 MEMS 技术与化学改性方法制备了一种表面疏水孔壁亲水的毛细管微阵列芯片。在硅衬底上, 通过光刻技术使基片图案化, 利用深硅刻蚀技术剥离去除图案区域的硅衬底。通过硅片高效低损伤超精密磨削减薄工艺对硅基片进行减薄, 得到毛细管微阵列芯片。因此, 采用硅片高效低损伤超精密磨削减薄工艺改变芯片的厚度来

获得毛细管微阵列芯片是一种可行的方法。

将制备好的芯片通过 SEM 表征, 如图 3 所示, 其中图 3(a) 是毛细管微阵列芯片的局部 SEM 图像, 图 3(b) 是所制备的毛细管微阵列芯片的独立微孔的 SEM 图像。芯片的阵列由结构均一的正六边形组成, 每个微孔的最大直径为 60 μm , 孔间距为 15 μm 。



(a) 芯片局部 SEM 图 (b) 单独微孔的 SEM 图
(a) SEM image of capillary microarray (b) SEM image of microwell

图 3 芯片结构表征扫描电镜图像

Fig. 3 SEM characterization of capillary microarray

通过接触角表征芯片表面的疏水性, 通过 EDS 能谱测试表征芯片孔壁的亲水性。

通过接触角测量仪测量未经化学处理和化学处理后的毛细管通孔微阵列芯片的表面静态接触角, 在芯片表面不同区域测试接触角大小, 每个区域测试 3 次, 未经化学处理的芯片表面接触角为 70°, 化学处理后的芯片表面接触角为 118°, 如图 4 所示, 说明化学处理后芯片表面具有良好的疏水性。

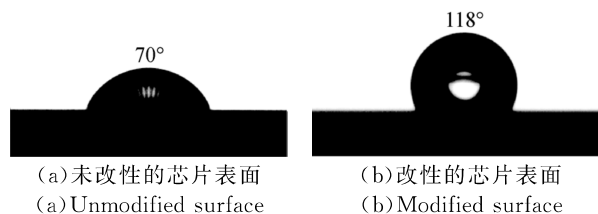


图 4 芯片表面的接触角

Fig. 4 Contact angles of capillary microarray surface

利用食人鱼溶液将毛细管芯片氧化处理后, 通过 EDS 表征毛细管芯片孔壁的亲水性, 结果表明毛细管芯片孔壁只有硅氧两种元素, Si 元素的质量分数为 88.21%, O 元素的质量分数为 11.79%, Si 元素的原子比为 80.99%, O 元素的原子比为 19.01%。

如图 5 所示, 孔壁上形成了亲水性的硅羟基,

因此芯片孔壁亲水。表面接触角和孔壁 EDS 的表征结果表明,成功制备出了表面疏水孔壁亲水的毛细管微阵列芯片。

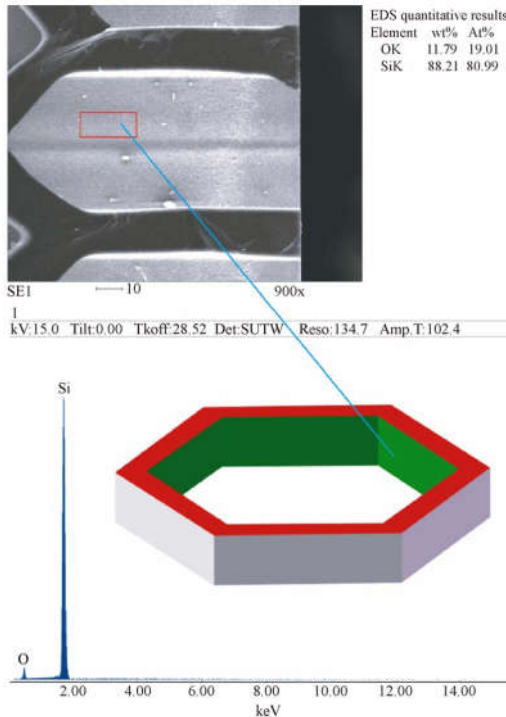
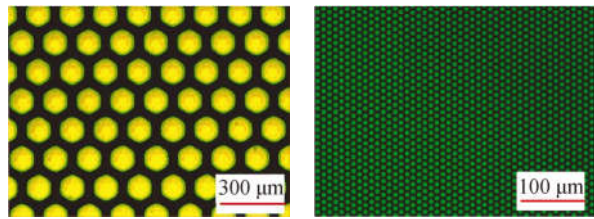


图 5 毛细管微阵列芯片孔壁的 EDS 表征

Fig. 5 EDS characterization of inner wall of capillary microarray

通过测量显微镜和荧光显微镜观察芯片的样品分割性能,结果分别如图 6(a)和 6(b)结果所示。将荧光黄水溶液通过进样器加入芯片,将芯片放在测量显微镜下观察芯片对样品的分割效果,每个微孔中的样品填充饱满,并且芯片表面无液体残留,这表明表面疏水孔壁亲水的毛细管微阵列芯片具有很好的样品分割功能。为了进一步证明表面疏水孔壁亲水的毛细管微阵列芯片的样品分割的可靠性,将 $17.5 \mu\text{m}/\mu\text{L}$ 的 Cy3 溶液通过进样器加入芯片,在荧光显微镜下观察芯片样品的分割效果,如图 6(b)所示,结果表明,样品被分割到每个独立的微孔单元中,每个微孔中的样品完全独立无连通。由此进一步说明表面疏水孔壁亲水的毛细管微阵列芯片具有良好的样品分割性能。

通过激光共聚焦扫描仪观察毛细管微阵列芯片的整体样品分割效果,并统计芯片的样品填充率。



(a)测量显微镜图

(b)荧光显微镜图

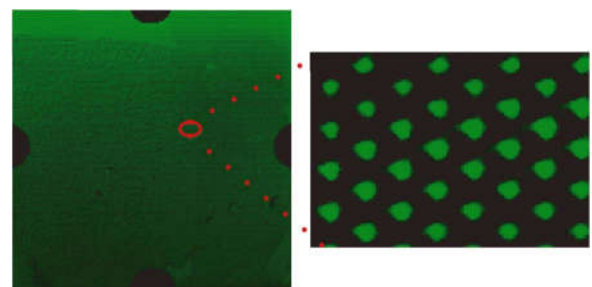
(a)Image of MM

(b)Image of FM

图 6 芯片样品的显微镜图像

Fig. 6 Micrographs of capillary microarray

为了直观地观察芯片分割样品的整体效果以及统计样品的填充率,这里将负载 $17.5 \mu\text{m}/\mu\text{L}$ 的 Cy3 溶液的芯片用封装装置封装,将整个芯片放在激光共聚焦扫描仪上对芯片进行扫描,如图 7(a)所示,芯片对样品分割均一。将芯片分成 12 等分,统计并计算每个区域的填充率,再结合每个区域的填充率计算整个芯片的平均填充率。通过统计与计算,芯片 93.8% 的微孔里都有荧光,这说明芯片具有良好的样品分割性能和高的填充率,局部放大扫描图如图 7(b)所示,芯片表面无液体残留。由此进一步说明表面疏水孔壁亲水的毛细管微阵列芯片具有良好的样品分割性能。



(a)芯片整体

(b)局部放大图

(a)Whole capillary microarray (b)Partially magnified image

图 7 芯片的扫描仪图像

Fig. 7 Scanning images of capillary microarray

4 结 论

本文利用 MEMS 技术和化学改性方法在硅基片上制备了表面疏水孔壁亲水的毛细管微阵列芯片。通过扫描电子显微镜对其结构进行了表征,通过光学显微镜、荧光显微镜以及激光共聚焦进行了样品分割性能表征。实验结果与理论预期一致,芯片表面疏水孔壁亲水,表面接触角为 118° ,样品的平均填充率为 93.8%,相较于自吸

式的芯片,样品的分割能力大大提高。由于每个分割单元是完全的物理隔离,避免了样品检测过

程中的交叉污染,这种芯片在生物医学检测领域具有重要的应用价值。

参考文献:

- [1] 吴太虎,毛佳文,陈锋,等. 痕量微生物快速检测系统[J]. 光学精密工程, 2015, 23(11): 3061-3068.
WU T H, MAO J W, CHEN F, *et al.*. Rapid trace-microbia detection system [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2015, 23(11): 3061-3068. (in Chinese)
- [2] KINZLER K W, VOGELSTEIN B. Digital PCR. *Proc [J]. Natl. Acad. Sci.*, 1999, 96(6): 1-6.
- [3] POHL G, SHIH I M, POHL G. Principle and applications of digital PCR [J]. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 2004, 4(1): 41-47.
- [4] BIASSONI R, RASO A. Quantitative Real-Time PCR [M]. *New York: Springer*, 2014: 1064-3745
- [5] WANG J, RAMAKRISHNAN R, TANG Z, *et al.*. Quantifying EGFR alterations in the lung cancer genome with nanofluidic digital PCR arrays [J]. *Clinical Chemistry*, 2010, 56(4): 623-632.
- [6] SANMAMED M E, FERNANDEZ-LANDAZURI S, RODRIGUEZ C, *et al.*. Quantitative cell-free circulating BRAFV600E mutation analysis by use of droplet digital PCR in the follow-up of patients with melanoma being treated with BRAF inhibitors [J]. *Clinical Chemistry*, 2015, 61(1): 297-304.
- [7] KAITU'U-LINO T J, HASTIE R, CANNON P, *et al.*. Stability of absolute copy number of house-keeping genes in preeclamptic and normal placentas, as measured by digital PCR [J]. *Placenta*, 2014, 35(12): 1106-1109.
- [8] MARQUES F Z, PRESTES P R, PINHEIRO L B, *et al.*. Measurement of absolute copy number variation reveals association with essential hypertension [J]. *BMC Medical Genomics*, 2014, 7(44): 1-8.
- [9] BHAT S, HERRMANN J, ARMISHAW P, *et al.*. Single molecule detection in nanofluidic digital array enables accurate measurement of DNA copy number [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2009, 394(2): 457-467.
- [10] LO Y M D, LUN F M F, CHAN K C A, *et al.*. Digital PCR for the molecular detection of fetal chromosomal aneuploidy [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007, 104(32): 13116-13121.
- [11] FAN H C, BLUMENFELD Y J, CHITKARA U, *et al.*. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, 105(42): 16266-16271.
- [12] DENNIS LO Y M. Noninvasive prenatal diagnosis in 2020 [J]. *Prenatal Diagnosis*, 2010, 30(7): 702-703.
- [13] BARRETT A N, CHITTY L S. Developing non-invasive diagnosis for single-gene disorders: the role of digital PCR [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2014, 1160: 215-228.
- [14] BIZOUARN F. Clinical applications using digital PCR [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2014, 1160: 189-214.
- [15] H ROBERTIS C, JIANG W, JAYARAMAN J, *et al.*. Killer-cell Immunoglobulin-like Receptor gene linkage and copy number variation analysis by droplet digital PCR [J]. *Genome Medicine*, 2014, 6(3): 1-9.
- [16] TEWHEY R, WARNER, J B, NAKANO M, *et al.*. Microdroplet-based PCR enrichment for large-scale targeted sequencing [J]. *Nature Biotechnology*, 2009, 27(11): 1020-1025.
- [17] EASTBURN D J, HUANG Y, PELLEGRINO M, *et al.*. SMicrofluidic droplet enrichment for targeted sequencing [J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(13): 80-86.
- [18] FU Y S, LI C M, LU S J, *et al.*. Uniform and accurate single-cell sequencing based on emulsion whole-genome amplification [J]. *Proceedings of the National Academy of Science*, 2015, 112(38): 11923-11928.
- [19] BRENAN C, MORRISON T. High throughput, nanoliter quantitative PCR [J]. *Drug Discovery Today: Technologies*, 2005, 2(3): 247-253.
- [20] UNGER M A. Monolithic microfabricated valves and pumps by multilayer soft lithography [J]. *Science*, 2000, 288(5463): 113-116.
- [21] TAWFIK D S, GRIFFITHS A D. Man-made cell-like compartments for molecular evolution [J]. *Nature Biotechnology*, 1998, 16(7): 652-656.
- [22] ZHU Q Y, XU Y N, QIU L, *et al.*. A scalable self-priming fractal branching microchannel net chip for digital PCR [J]. *Lab on a Chip*, 2017, 17

- (9): 1655-1665.
- [23] THORSEN T. Microfluidic large-scale integration [J]. *Science*, 2002, 298(5593): 580-584.
- [24] HEYRIES K A, TROPINI C, VANINSBERGHE M, *et al.*. Megapixel digital PCR [J]. *Nature Methods*, 2011, 8(8): 649-651.
- [25] DU W B, LI L, NICHOLS K P, *et al.*. Slip chip [J]. *Lab on a Chip*, 2009, 9(16): 2286-2292.
- [26] MATSUBARA Y, KERMAN K, KOBAYASHI M, *et al.*. On-chip nanoliter-volume multiplex taqman polymerase chain reaction from a single copy based on counting fluorescence released microchambers [J]. *Analytical Chemistry*, 2004, 76: 1-6.
- [27] MATSUBARA Y, KERMAN K, KOBAYASHI M, *et al.*. Microchamber array based DNA quantification and specific sequence detection from a single copy via PCR in nanoliter volumes [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2005, 20(8): 1482-1490.
- [28] 孔慧, 李传宇, 周连群, 等. 薄膜谐振 Lamb 波传感器测量液体流速矢量的方法 [J]. *光学 精密工程*, 2017, 25(1): 155-162
- KONG H, LI CH Y, ZHOU L Q, *et al.*. A method for fluid velocity vector measurement using thin film Lamb wave resonator [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2017, 25(1): 155-162. (in Chinese)
- [29] 王永进, 张锋华, 高绪敏, 等. 面向可见光波段的非周期悬空 GaN 薄膜光栅 [J]. *光学 精密工程*, 2017, 25(12): 3020-3026.
- WANG Y J, ZHANG F H, GAO X M, *et al.*. Freestanding non-periodic GaN gratings in visible wavelength region [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2017, 25(12): 3020-3026. (in Chinese)
- [30] ZHU Q Y, QIU L, YU B W, *et al.*. Digital PCR on an integrated self-priming compartmentalization chip [J]. *Lab on a Chip*, 2014, 14(6): 1176-1185.

作者简介:



邱亚军(1990—),男,宁夏西吉人,硕士研究生,2015年于中南民族大学获得学士学位,主要从事芯片 PCR 关键技术的研究。E-mail: qiuyajun15@mails.ucas.ac.cn

导师简介:



周连群(1981—),男,山东金乡人,研究员,博士生导师,2010年分别于法国 Université de Franche-Comté 大学和中科院研究生院获得博士学位,主要从事微纳生物传感器及系统的研究。E-mail: zhoulq@sibet.ac.cn