

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810047875.1

[51] Int. Cl.

C12P 19/04 (2006.01)

G03F 7/00 (2006.01)

B82B 3/00 (2006.01)

C12R 1/01 (2006.01)

[43] 公开日 2008年10月15日

[11] 公开号 CN 101285083A

[22] 申请日 2008.5.30

[21] 申请号 200810047875.1

[71] 申请人 华中科技大学

地址 430074 湖北省武汉市洪山区珞喻路  
1037号

[72] 发明人 杨光 王刚 刘笔锋 史续典  
陈旭峰

[74] 专利代理机构 华中科技大学专利中心

代理人 曹葆青

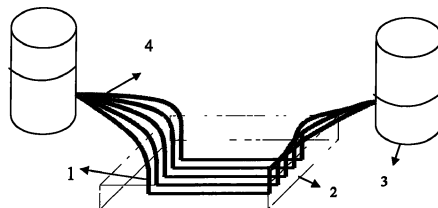
权利要求书2页 说明书9页 附图3页

[54] 发明名称

一种通过微流控芯片制备图案化纤维素的方法

[57] 摘要

本发明提供了一种通过微流控芯片制备图案化纤维素的方法，按照以下步骤进行：(1)依据预定图案制作阳膜；(2)制备与阳膜图案相匹配的聚二甲基硅氧烷(PDMS)模块；(3)在PDMS模块上打孔，将洁净的载波片压紧于PDMS模块有图案的一面，形成微流控芯片，其中PDMS模板上的图案化管道通过孔与外界相连通；(4)在两储液槽中装入细菌培养液，利用导管将微流控芯片的图案化管道分别与两储液槽连通，调节两储液槽之间的液面差控制图案化管道内的液体流速，其液面差为1~20cm，培养5~20天，揭开PDMS模块，得到图案化纤维素。采用本发明制得的细菌纤维素材料具有微观的有序性和宏观的图案性，并兼有生物相容性和生态相容性，是理想的环境友好材料。



1. 一种通过微流控芯片制备图案化纤维素材料的方法，按照以下步骤进行：

(1) 依据预定图案制作阳膜；

(2) 制备与阳膜图案相匹配的聚二甲基硅氧烷（PDMS）模块；

(3) 在 PDMS 模块上打孔，将洁净的载波片压紧于 PDMS 模块有图案的一面，形成微流控芯片，其中 PDMS 模块上的图案化管道通过孔与外界相连通；

(4) 在两储液槽中装入细菌培养液，利用导管将微流控芯片的图案化管道分别与两储液槽连通，调节两储液槽之间的液面差控制图案化管道内的液体流速，其液面差为 1~20 cm，培养 5~20 天，揭开 PDMS 模块，得到图案化纤维素。

2. 根据权利要求 1 所述的一种通过微流控芯片制备图案化纤维素材料的方法，其特征在于，所述步骤 (3) 在将载波片压紧于 PDMS 模块之前，首先在载波片表面镀金得到金片，在金片上制备与阳膜图案相对应的亲水疏水相间隔的条纹。

3. 根据权利要求 2 所述的一种通过微流控芯片制备图案化纤维素材料的方法，其特征在于，所述亲水疏水条纹宽度为 1~5 $\mu\text{m}$ 。

4. 根据权利要求2或3所述的一种通过微流控芯片制备图案化纤维素材料的方法，其特征在于，按照以下步骤在金片上制备亲水疏水相间隔的条纹：

- a) 用纯乙醇浸泡金片，然后超声清洗；
- b) 用氮气枪吹干金片；
- c) 制备第二PDMS模块，第二PDMS模块上的沟槽宽度和沟槽间隔为 $1\sim 5\mu\text{m}$ ，将第二PDMS模块蘸取疏水基团结尾的硫醇，吹干，印于金片表面，再将金片浸泡于亲水基团结尾的硫醇30分钟~2小时。

5. 根据权利要求1或2或3或4所述的通过微流控芯片制备图案化纤维素材料的方法，其特征在于，所述步骤(1)采用二级以上抛光的硅片制作阳膜。

## 一种通过微流控芯片制备图案化纤维素的方法

### 技术领域

本发明属于高分子材料和生物制造的技术领域，具体涉及到一种制备图案化纤维素材料的方法。

### 背景技术

纤维素是自然界中最丰富且具有生物可降解性的天然高分子，将成为未来主要的化工原料之一。细菌纤维素纤维具有许多独特的性质。除具有高纯度、高结晶度、高聚合度的基本特质外，它还是自然界中最精细的纳米纤维，由多层次微纤维组合形成了相互交织的发达的超精细网络结构；“纳米效应”使其具有高吸水性、高保水性、对液体和气体的高透过率、高湿态强度、尤其在湿态下可原位加工成型等特性。优异的综合性能使细菌纤维素纤维被广泛地应用于特殊领域，特别是作为医用材料。在人工软组织（如人工皮肤，人工血管）方面的应用已取得突破进展，并已应用于临床。此外，在食品、造纸和高级音响制品中均已实现大规模产业化。

近年来，由于细菌纤维素纤维具有特异的结构和优异的性能，对其形成机制和制备工艺的研究成为材料科学领域的前沿课题之一。微流控技术在生物和药物化学分析及大规模平行化学反应等领域广泛应用，因为在该尺度有层流等一些在大尺度空间无法轻易达到的控制方法，也可以用来制备微纳米结构。例如：1) 申请日 2003.11.11, 申请号 200310105075.8 的中

国专利申请文件“一种基于微流控芯片的细胞定性分析方法”通过在微流控芯片两端加上电压来实现细胞在其中的定向移动,并借此对细胞进行定性分析;2)申请日2004.11.25,申请号200410084562.5的中国专利申请文件“利用激光制备的纳米沟槽调控细胞定向排列的方法”采用激光扫描辐射的方法对培养基质表面进行处理,使其形成微米/纳米或亚微米/纳米表面沟槽结构,然后在其上接种生长状态良好的贴壁依附型生长的细胞,借助培养基质表面沟槽形貌对细胞生长的调控作用,使细胞沿着微沟槽的方向定向生长和排列;3)申请日2006.12.31,申请号200610135430.X的中国专利申请文件“一种基于超亲/超疏水特性模板的纳米有序结构生物材料膜层的制备方法”将钛基材料进行电化学阳极氧化所获的纳米有序TiO<sub>2</sub>纳米管阵列膜层,经FSA-13修饰后获得超疏水化的TiO<sub>2</sub>纳米管阵列膜层,然后通过覆盖光掩模经紫外光照射,在基底表面获得图案尺寸和形貌与光掩模一致的超疏-超亲水图案,最后通过阴极电化学沉积或电泳定向沉积在膜层表面构筑结构有序纳米钙磷陶瓷涂层。本发明提供了一种细菌纤维素有序规则组装的新工艺,由于该技术是原创性成果,因此尚未检索到国内有关专利申请和授权。如今,国内细菌纤维素产业刚刚兴起,大量的研究集中在发酵条件的优化与改进方面,对微生物在生物合成工艺中的动态有序调控的研究是本发明人自主创新的成果。该方向也是目前欧美及日本均在大力研究的前沿课题。

## 发明内容

本发明的目的在于提供一种通过微流控芯片制备图案化纤维素材料的

方法，采用该方法制得的细菌纤维素材料具有微观的有序性和宏观的图案性，并兼有生物相容性和生态相容性，是理想的环境友好材料。

一种通过微流控芯片制备图案化纤维素材料的方法，按照以下步骤进行：

(1) 依据预定图案制作阳膜；

(2) 制备与阳膜图案相匹配的聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 模块；

(3) 在 PDMS 模块上打孔，将洁净的载波片压紧于 PDMS 模块有图案的一面，形成微流控芯片 2，其中 PDMS 模块上的图案化管道通过孔与外界相连通；

(4) 在两储液槽 3 中装入细菌培养液，利用导管 4 将微流控芯片 2 的图案化管道 1 分别与两储液槽 3 连通，调节两储液槽 3 之间的液面差控制图案化管道 1 内的液体流速，其液面差为 1~20 cm，培养 5~20 天，揭开 PDMS 模块，得到图案化纤维素。

作为本发明的改进，所述步骤 (3) 在将载波片压紧于 PDMS 模块之前，首先在载波片表面镀金得到金片，在金片上制备与阳膜图案相对应的亲水疏水相间隔的条纹，亲水疏水条纹宽度为 1~5 $\mu\text{m}$ 。

按照以下步骤在金片上制备亲水疏水相间隔的条纹：

a) 用纯乙醇浸泡金片，然后超声清洗；

b) 用氮气枪吹干金片；

c) 制备第二 PDMS 模块，第二 PDMS 模块上的沟槽宽度和沟槽间隔为 1~5 $\mu\text{m}$ ，将第二 PDMS 模块蘸取疏水基团结尾的硫醇，吹干，印于金片表

面，再将金片浸泡于亲水基团结尾的硫醇 30 分钟~2 小时。

所述步骤（1）采用二级以上抛光的硅片制作阳膜。

本发明公开了一种通过微流控芯片制备图案化纤维素的方法。通过生物技术与纳米技术的有机结合，以细菌为纳米机器人，用分子模板、微流控制的方法在微纳米尺寸范围内诱导微生物的运动，获得以纤维素纳米纤维为构筑单元的图案化功能材料。该方法采用微流控的技术动态控制流体，导向微生物的大规模运动，同时采用分子模板技术在微管道的底面刻上亲疏水条纹，当细菌在模板上分泌纤维素纤维时，通过亲水条纹与微纤维的强相互作用，可进一步调控细菌的运动。经设计不同微流管和分子模板的模式，可“自下而上”自动构筑具有特定规则图案的三维功能材料。

## 附图说明

图 1 为本发明培养系统示意图；

图 2 为实施例一中微流控芯片管道的图案示意图；

图 3 为实施例一和三中制作分子模板用到的 PDMS 模块示意图；

图 4 为实施例二中微流控芯片管道的图案示意图；

图 5 为实施例二中制作分子模板时用到的 PDMS 模块的图案示意图；

图 6 为实施例三中微流控芯片管道的图案示意图；

图 7 为实施例三中通过微流控芯片制备得到的图案化纤维素示意图。

## 具体实施方式

下面结合具体实施例对本发明做进一步阐述。

## 实施例 1

(1) 图案化阳膜的制备：制备如图 2 所示的光掩膜，用甩胶机在 2 级抛光的硅片上均匀的涂布一层光刻胶 SU8-GM1070，甩胶机转数设定为：500r/min, 30S；1700 r/min,48S。由此在硅片上得到深度为 50 $\mu$ m 的光刻胶涂层。该硅片经过前烘（先 65 $^{\circ}$ C 持续 15 分钟, 再 95 $^{\circ}$ C 持续 2 小时），紫外曝光 85 秒，后烘（先 65 $^{\circ}$ C 持续 15 分钟, 再 95 $^{\circ}$ C 持续 40 分钟），PGMEA 显影 2 分钟，在 135 $^{\circ}$ C 坚膜 2 小时，得到图案化如图 2 所示的阳膜。该阳膜图案由粗细两种条纹组成，粗条纹宽 a 为 40 微米，细条纹宽 b 为 20 微米，条纹间距 c 为 2 毫米，条纹长 d 为 2cm。

(2) 制备 PDMS 模块：将 PDMS 单体（Sylgard 184 silicone elastomer base）和促凝剂（Sylgard 184 silicone elastomer curing agent）按照质量比 10:1 组成的混合物搅拌抽真空，倾倒入阳膜表面（厚度为 2mm），放入 65 $^{\circ}$ C 烘箱中 4 小时，待 PDMS 混合物凝固后将其与阳膜剥离即得到有沟槽的 PDMS 模块，其图案如图 2 所示。

(3) 在沟槽的末端即平行线末端打孔后，将一干净载波片放入等离子清洗器中处理 20S，将该载波片压紧于 PDMS 模块有沟槽一面，得到微流控芯片。

(4) 构建如图 1 所示的系统，在两储液槽中装入木醋杆菌培养液，控制两储水槽之间的液面差为 2 cm。

(5) 将该系统置于无菌环境下培养 5 天，揭开 PDMS 模块，在载波片上即得到我们需要的图案化纤维素。

由此得到的细菌纤维素，在亚微观上具有图案化，在微观上，纤维素



纤维的排列在一定程度上具有有序性，为了在更小尺度上控制纤维素纤维的排列，我们对微流控芯片作了进一步改进，在微流控的管道中添加了分子模版，即在步骤（3）将载波片压紧于 PDMS 模块之前，首先在载波片表面镀金得到金片；根据步骤（2）制备 PDMS 模块的方法，按需要制备如图 3 所示的第二 PDMS 模块，沟槽的宽度  $L_1$  为  $5\ \mu\text{m}$ ，沟槽间的间隔  $L_2$  也为  $5\ \mu\text{m}$ ；采用第二 PDMS 模块在金片上制备与阳膜图案相对应且亲水疏水相间隔的条纹，再将该金片压紧于 PDMS 模块有沟槽一面，形成微流控芯片。按照以下步骤在金片上制备亲水疏水相间隔的条纹：

- 1) 用纯乙醇浸泡金片，然后超声清洗；
- 2) 用氮气枪吹干金面；
- 3) 第二 PDMS 模块蘸取甲基结尾的硫醇（ $10\text{mmol/L}$ ）10S，吹干印于金面上，再将金片置于羟基结尾的硫醇（ $2\text{mmol/L}$ ）1h 左右即可。

## 实施例 2

（1）图案化阳膜的制备：用甩胶机在 2 级抛光的硅片上均匀的涂布一层光刻胶 SU8-GM1070，甩胶机转数设定为： $500\ \text{r/min}$ ，30S； $5000\ \text{r/min}$ ，48S。由此在硅片上得到深度为  $15\ \mu\text{m}$  的光刻胶涂层。该硅片经过前烘（先  $65^\circ\text{C}$  持续 15 分钟，再  $95^\circ\text{C}$  持续 35 分钟），紫外曝光 35 秒，后烘（先  $65^\circ\text{C}$  持续 15 分钟，再  $95^\circ\text{C}$  持续 40 分钟），PGMEA 显影 25 秒，在  $135^\circ\text{C}$  坚膜 2 小时后得到如图 4 所示的图案化阳膜：条纹宽度  $L_1$  为  $20\ \mu\text{m}$ ，条纹间隔  $L_2$  为  $40\ \mu\text{m}$ 。

（2）制备 PDMS 模块：将 Sylgard 184 silicone elastomer base 和 Sylgard 184 silicone elastomer curing agent (5:1 w/w) 的混合物搅拌抽真空，倾倒到阳

膜表面（厚度为 5mm），放入 95℃烘箱中 1.5 小时，待 PDMS 混合物凝固后将其与阳膜剥离即得到有沟槽的 PDMS 模块，其图案如图 4 所示。

(3) 在同心圆的末端和中心打孔后，将一干净载波片放入等离子清洗器中处理 60S，将该载波片压紧于 PDMS 有沟槽一面得到微流控芯片。

(4) 构建如图 1 所示的系统，控制两储水槽之间的液面差为 10 cm。

(5) 将该系统置于无菌环境下培养 10 天，揭开 PDMS，在载波片上即得到我们需要的图案化纤维素。

对步骤（3）中的微流控芯片进行改进：在载波片上镀金，制备沟槽平面如图 5 所示的第二 PDMS 模块，沟槽的宽度  $L_1$  为  $2\mu\text{m}$ ，沟槽间的间隔  $L_2$  为  $2\mu\text{m}$ ；采用第二 PDMS 模块在金片上制备亲水疏水相间隔的条纹，将该金片与图案化如图 4 所示的 PDMS 模块，对准圆心后，紧密接触，得到以分子模板为基底的微流控芯片。在金片上制备亲水疏水相间隔的条纹按照以下步骤完成：

- 1) 用纯乙醇浸泡金片，然后超声清洗；
- 2) 用氮气枪吹干金面；
- 3) 沟槽如图 5 所示的第二块 PDMS 模块蘸取甲基结尾的硫醇（ $10\text{mmol/L}$ ）10S，吹干印于金面上，再将金片置于羟基结尾的硫醇（ $2\text{mmol/L}$ ）2h 即可。

### 实施例 3

(1) 图案化阳膜的制备：制备如图 6 所示的光掩膜，用甩胶机在 2 级抛光的硅片上均匀的涂布一层光刻胶 SU8-GM1070，甩胶机转数设定为：

500 r/min, 30S; 900 r/min, 48S。由此在硅片上得到深度为 100 $\mu$ m 的光刻胶涂层。该硅片经过前烘（先 65 $^{\circ}$ C 持续 15 分钟, 再 95 $^{\circ}$ C 持续 2 小时），紫外曝光 100 秒, 后烘（先 65 $^{\circ}$ C 持续 15 分钟, 再 95 $^{\circ}$ C 持续 40 分钟），PGMEA 显影 7 分钟, 在 135 $^{\circ}$ C 坚膜 2 小时, 得到如图 6 所示的图案化阳膜：条纹宽度 L1 为 50 $\mu$ m, 条纹间隔 L2 为 200 $\mu$ m。

(2) 制备 PDMS 模块：将 Sylgard 184 silicone elastomer base 和 Sylgard 184 silicone elastomer curing agent (10:1 w/w) 的混合物搅拌抽真空, 倾倒入阳膜表面（厚度为 5mm），放入 75 $^{\circ}$ C 烘箱中 2.5 小时, 待 PDMS 混合物凝固后将其与阳膜剥离即得到有沟槽的 PDMS 模块, 其图案如图 6 所示。

(3) 在沟槽末端即曲线交汇处打孔后, 将一干净载波片放入等离子清洗器中处理 120S, 将该载波片压紧于 PDMS 有沟槽一面得到微流控芯片。

(4) 构建如图 1 所示的系统, 控制两储水槽之间的液面差为 20 cm。

(5) 将该系统置于无菌环境下培养 20 天, 揭开 PDMS, 在载波片上即得到我们需要的图案化纤维素, 如图 7 所示。

对步骤（3）中的微流控芯片进行改进：在载波片上镀金, 制备沟槽平面如图 3 所示的第二 PDMS 模块；采用第二 PDMS 模块在金片上制备亲水疏水相间隔的条纹, 将该金片与图案化如图 6 所示的 PDMS 模块紧密接触, 得到以分子模板为基底的微流控芯片。在金片上制备亲水疏水相间隔的条纹按照以下步骤完成：

- 1) 用纯乙醇浸泡金片, 然后超声清洗；
- 2) 用氮气枪吹干金面；
- 3) 沟槽如图 3 所示的 PDMS 模块蘸取甲基结尾的硫醇（10mmol/L）

---

10S, 吹干, 印于金面上, 再将金片置于羟基结尾的硫醇 (2mmol/L) 30 分钟即可。

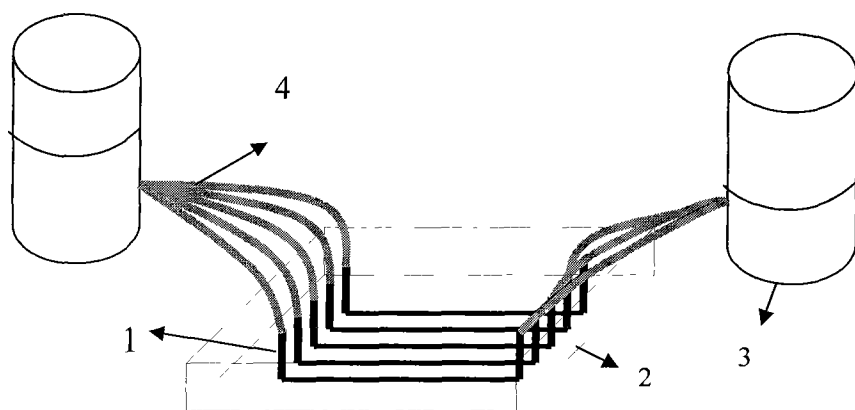


图 1

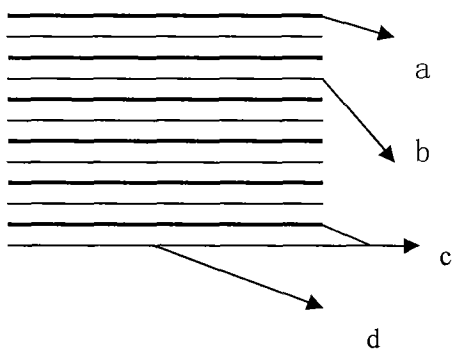


图 2

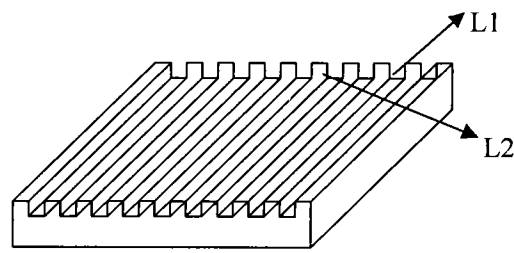


图 3

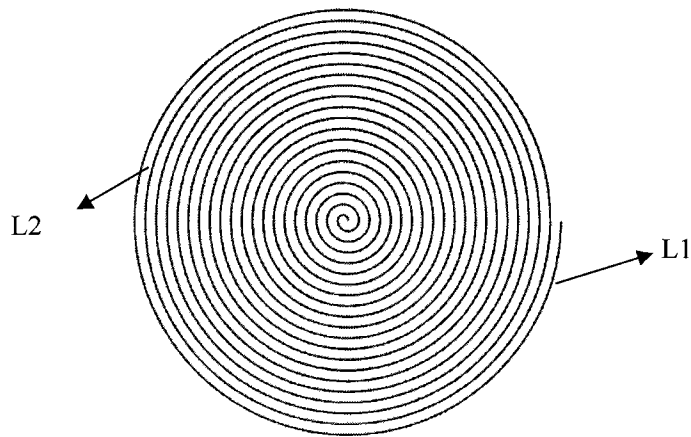


图 4

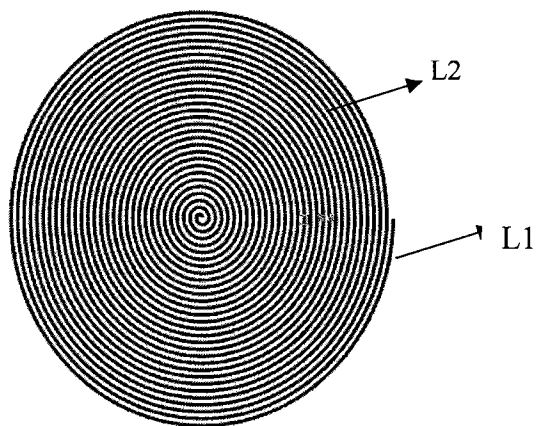


图 5

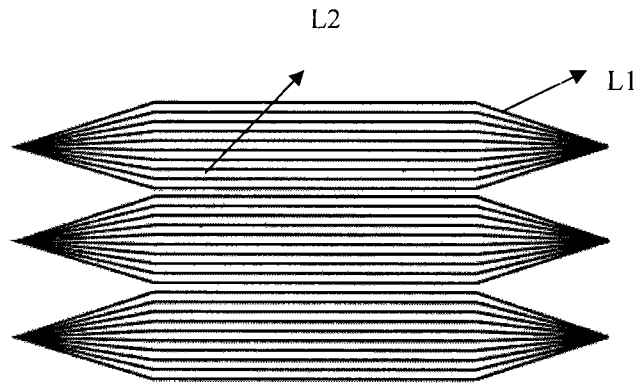


图 6

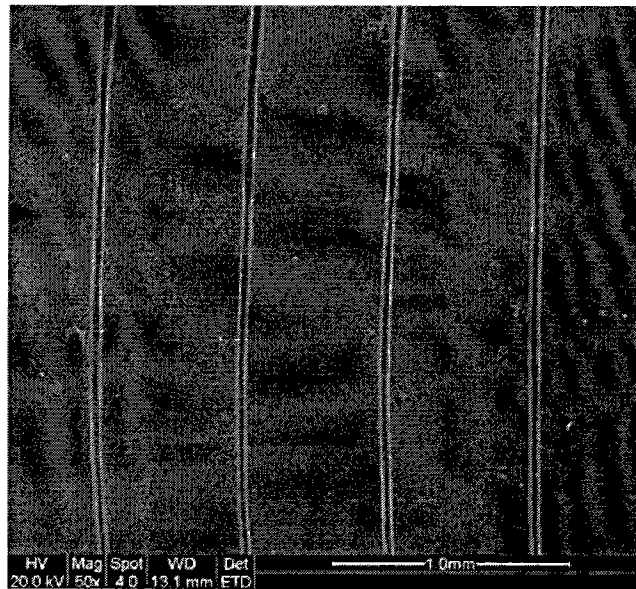


图 7