



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200410073348. X

[43] 公开日 2005 年 8 月 31 日

[11] 公开号 CN 1661039A

[22] 申请日 2004. 12. 6

[21] 申请号 200410073348. X

[71] 申请人 李文生

地址 710061 陕西省西安市雁塔区青松路陕西省人民医院朱雀苑小区 4 号楼 1 单元 5 号

共同申请人 陈 倩

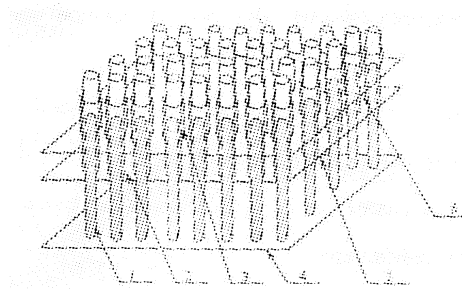
[72] 发明人 李文生 陈 倩

权利要求书 2 页 说明书 4 页 附图 1 页

[54] 发明名称 一种制备细胞芯片的方法及其装置

[57] 摘要

本发明属于生物医学领域，本发明公开了一种细胞芯片新的制备方法，具体涉及一种细胞芯片的制备方法及其实现该方法的装置，本发明通过阵列管与内芯之间形成的空腔结构，将细胞样本通过琼脂糖包埋于空腔内，细胞琼脂糖包埋块在外套与底层固定板之间形成的带微孔结构的扩大的空腔内进行脱水、透明、浸蜡等处理，而后利用阵列管装置在形成石蜡空心小孔的同时，轻推柱芯使细胞琼脂糖包埋块落入阵列小孔内，制成了细胞芯片石蜡包埋块，再经过切片、染色即可完成细胞芯片的制备。使用本装置及方法能够迅速大量的一次成型制备出几十、上百种不同细胞类型的细胞芯片。本装置构造简单，使用方便，非常适合于在医学诊断、药物开发、细胞生物学等领域推广使用。



1. 一种制备细胞芯片的方法，其特征在于，该方法包括下列步骤：

1) 收集多份（2份以上）培养细胞或脱落细胞、穿刺液等于离心管内，2000—5000转/分离心5分钟，弃上清，加入适量10%福尔马林或95%酒精固定30—60分钟，离心弃上清，用少许PBS溶解沉淀；

2) 1—3%优质琼脂糖微波加热溶解后置于55—60℃水浴锅中保持熔化状态；

3) 根据欲制备芯片中所含细胞数量及琼脂糖包埋块的大小选择相应标号的制备器并调节内芯的位置，预留制备器顶端适当大小的空心管腔；

4) 用微量加样器将少许熔化的琼脂糖加至相对应的制备器顶端空心管腔内，稍等，加入少量溶解细胞，然后再加入少量熔化的琼脂糖封闭管口，按对应位置一一加样，直至完成最后一例细胞样本的琼脂糖包埋；

5) 琼脂糖冷却凝固后，将外层套管向上推2—10mm，使带有微孔的一段外套管暴露，同时固定阵列管固定板，向上推内芯固定板，使成形的细胞琼脂糖包埋小柱落入带有微孔的外套管腔内，然后在外套管上面放置带有微孔的底层固定板，两侧用橡皮筋将底层固定板与外套管固定板固定牢靠；

6) 将制备器倒置，底层固定板位于最下层；

7) 按石蜡切片制备流程常规脱水、透明、浸蜡；

8) 将制备器正置，取下底层挡板，用少许溶解状态琼脂糖或石蜡一一封固外套层管口；

9) 在包埋框下置一包埋用平板，将制备器平放其上，在平板上倾倒少许熔化专用石蜡，待其冷却凝固后，缓慢向上拔出制备器，同时轻轻压下内芯，使外套层管腔内的细胞琼脂包埋小柱按相同的方向在同一平面整齐的落入已经形成的小孔中；

10) 小心缓慢加入熔化的石蜡，待其冷却凝固后即可将所在细胞包埋小柱按规则的阵列方式固定于同一蜡块，将其从包埋框中取出即可得到细胞芯片的蜡块；

11) 冷却凝固蜡块后即可进行切片，染色，并可进行免疫细胞化学、原位杂交等检测。

2. 一种实现权利要求1的制备细胞芯片方法的装置，其特征在于：该装置包括，阵列管2及其固定板5，阵列管内芯1及其固定板4，阵列管外套3及其固定板6，底层固定板7，两根固定用橡皮筋10，阵列管2在中央，内有内芯1，外有外套管3。

3. 按照权利要求2所述的制备细胞芯片的装置，其特征在于：所述的阵列管2由多根（2根以上）长度相同，以行、列方式平行排列并固定于阵列管固定板的管构成，阵列管管口形状为圆形、椭圆形、正方形，右上方多一根阵列管。

4. 按照权利要求 2 所述的制备细胞芯片的装置, 其特征在于: 所述的阵列管内芯 1 其外径与阵列管内径相配合, 内芯长度长于阵列管长度, 内芯与相应阵列管形状相同, 右上方多一根阵列管内芯 1。此管内芯的外表面标记有垂直刻度, 内芯口与阵列管口相平行标记内芯从阵列管露出刻度为 0, 向阵列管方向为负, 远离阵列管方向为正。

5. 按照权利要求 2 所述的制备细胞芯片的装置, 其特征在于: 所述的阵列管外套 3 长度短于阵列管长度, 外套内径与阵列管外径相配合, 阵列管外套 3 形状与阵列管 2 相同, 右上方多一根阵列管外套 3, 阵列管外套 3 近管口 1cm 内管壁四周有许多微孔 8。

6. 按照权利要求 2 所述的制备细胞芯片的装置, 其特征在于: 所述的阵列管固定板 5、内芯固定板 4 及外套固定板 6 均大小相同、形状一致, 为长方形或正方形, 3 个固定板之间平行排列, 可以其中一个为支点上下互相移动。

7. 按照权利要求 2 所述的制备细胞芯片的装置, 其特征在于: 所述的底层固定板 7 大小与以上 3 个固定板相同, 其上有许多微孔 9。

8. 按照权利要求 2 所述的制备细胞芯片的装置, 其特征在于: 所述的装置可由金属材料或非金属材料制成。

## 一种制备细胞芯片的方法及其装置

### 一、所属技术领域

本发明属于生物医学领域的细胞芯片的制作及方法，特别涉及一种用于细胞芯片制备的装置，本发明的方法和装置可广泛应用于细胞芯片的制备过程。

### 二、背景技术

生物芯片是20世纪90年代中期发展起来的一项生物高科技技术，是以玻片、硅、硝酸纤维素膜、尼龙膜等为载体，在单位面积上高密度的排列大量生物材料，从而达到一次试验同时检测多种疾病或分析多种生物样品的目的，根据其材料的不同可分为多种，如组织芯片、细胞芯片、基因芯片、蛋白芯片等，可广泛应用于基因研究、医学诊断、药物开发、农业等多个领域。

细胞芯片作为生物芯片的一种，因为其在医学研究领域、诊断领域、农业研究领域尤其是新药开发、药物试验、细胞生物学研究等方面具有非常重要的意义，近年来也引起了人们越来越多的关注。目前在细胞芯片的研究、开发中，最常使用的方法是制备多孔检测板（类似96孔板），或通过微加工技术在硅、玻璃、塑料等基片表面制造出点阵更多的微孔检测板，将不同细胞培养或固化于孔中，加入不同的试剂、化学物等，通过各种不同的化学方法或非化学法检测效应细胞的反应。还有人在此基础上研制了各种不同的微槽反应器、反应室等装置来制备细胞芯片。

用目前技术研制的各种细胞芯片在检测中存在以下的缺陷和不足：首先难以保证所有样品细胞被检时处在同一细胞生长周期、相同的细胞生长条件下，因而也就难以实现标准化、批量化生产；其次，每种样品细胞每次只能检测一项指标，再次检测时培养细胞的生长状态已经发生了变化，因此样品细胞不具有可重复性；再次，利用培养细胞进行检测，因为细胞膜完整，不利于进行组织化学、免疫细胞化学及原位杂交检测；另外，现有的细胞芯片检测装置往往较复杂，操作过程比较复杂，条件不好控制，尤其反应后检测常需要昂贵仪器，检测成本高。

### 三、发明内容

本发明与细胞芯片的制备方法和装置有关，针对上述现有技术存在的缺陷和不足，本发明的一个目的是，提供一种制备细胞芯片的新方法，通过该方法制备的细胞芯片可以消除上述缺陷；本发明的另一个目的是，提供一种实现上述方法的装置，为实现上述目的，本发明采取的技术方案是可用于制备细胞芯片的方法包括下列步骤：

1) 收集多份（2份以上）培养细胞或脱落细胞、穿刺液等于离心管内，2000—5000转/分离心5分钟，弃上清，加入适量10%福尔马林或95%酒精固定30—60分钟，离心弃上清，

用少许 PBS 溶解沉淀；

2) 1—3% 优质琼脂糖微波加热溶解后置于 55—60℃ 水浴锅中保持熔化状态；

3) 根据欲制备芯片中所含细胞数量及琼脂糖包埋块的大小选择相应标号的制备器并调节内芯的位置，预留制备器顶端适当大小的空心管腔；

4) 用微量加样器将少许熔化的琼脂糖加至相对应的制备器顶端空心管腔内，稍等，加入少量溶解细胞，然后再加入少量熔化的琼脂糖封闭管口，按对应位置一一加样，直至完成最后一例细胞样本的琼脂糖包埋；

5) 琼脂糖冷却凝固后，将外层套管向上推 2—10mm，使带有微孔的一段外套管暴露，同时固定阵列管固定板，向上推内芯固定板，使成形的细胞琼脂糖包埋小柱落入带有微孔的外套管腔内，然后在外套管上面放置带有微孔的底层固定板，两侧用橡皮筋将底层固定板与外套管固定板固定牢靠；

6) 将制备器倒置，底层固定板位于最下层；

7) 按石蜡切片制备流程常规脱水、透明、浸蜡；

8) 将制备器正置，取下底层挡板，用少许溶解状态琼脂糖或石蜡一一封固外套层管口；

9) 在包埋框下置一包埋用平板，将制备器平放其上，在平板上倾倒少许融化专用石蜡，待其冷却凝固后，缓慢向上拔出制备器，同时轻轻压下内芯，使外套层管腔内的细胞琼脂包埋小柱按相同的方向在同一平面整齐的落入已经形成的小孔中；

10) 小心缓慢加入熔化的石蜡，待其冷却凝固后即可将所在细胞包埋小柱按规则的阵列方式固定于同一蜡块，将其从包埋框中取出即可得到细胞芯片的蜡块；

11) 冷却凝固蜡块后即可进行切片，染色，并可进行免疫细胞化学、原位杂交等检测。

实现上述制备细胞芯片的方法的装置，该装置包括：

阵列管及其固定板，阵列管内芯及其固定板，阵列管外套及其固定板，底层固定板，两根固定用橡皮筋，阵列管在中央，内有内芯，外有外套管；

阵列管由多根（2 根以上）长度相同，以行、列方式平行排列并固定于阵列管固定板的管构成，阵列管管口形状可为圆形或椭圆形或正方形，右上方多一根阵列管。

阵列管内芯其外径与阵列管内径相配合，内芯长度长于阵列管长度，内芯与相应阵列管形状相同，右上方多一根阵列管内芯，此管内芯的外表面标记有垂直刻度，内芯口与阵列管口相平时标记内芯从阵列管露处刻度为 0，向阵列管方向为负，远离阵列管方向为正；

阵列管外套长度短于阵列管长度，外套内径与阵列管外径相配合，阵列管外套形状与阵列管相同，右上方多一根阵列管外套，阵列管外套近管口 1cm 内管壁四周有许多微孔；

阵列管固定板、内芯固定板及外套固定板均大小相同、形状一致，为长方形或正方形，

3个固定板之间平行排列，可以其中一个为支点上下互相移动：

底层固定板大小与以上3个固定板相同，其上有许多微孔。

本发明通过阵列管及管内芯之间形成的空腔结构，可将多份（2份以上）细胞样本通过琼脂糖一次成型包埋于空腔内，通过阵列管外套及底层固定板使其内的细胞琼脂包埋块封固于带有微孔的外套及底层固定板腔内，其扩大的空间及四周微孔有利于细胞琼脂包埋块的脱水、透明、浸蜡等处理，而后利用阵列管装置在形成石蜡空心小孔的同时，轻推柱芯使其内细胞琼脂包埋块整齐的落入阵列小孔内，制成了细胞芯片石蜡包埋块，再经过切片、染色即可完成细胞芯片的制备。

#### 四、附图说明：

图1是本发明细胞芯片制备装置的结构示意图，图中的各符号分别为：1-内芯，2-阵列管，3-外套管，4-内芯固定板，5-阵列管固定板，6-外套管固定板。

图2是图1的纵剖示意图（装置倒置），图中的各符号分别为：1-内芯，2-阵列管，3-外套管，4-内芯固定板，5-阵列管固定板，6-外套管固定板，7-底层固定板，8-外套管微孔，9-底层固定板微孔，10-橡皮筋。

#### 五、具体实施方式：

以下结合附图和发明人依本发明的技术方案所完成的具体实施例对本发明作进一步的详细描述：

参见图1-2，图1-2也是本发明的一个具体实施例，但本发明不限于该实施例。

按本发明的技术方案，制备细胞芯片的方法，其特征在于：该方法包括下列步骤：

1) 收集多份（2份以上）培养细胞或脱落细胞、穿刺液等于离心管内，2000—5000转/分离心5分钟，弃上清，加入适量10%福尔马林或95%酒精固定30—60分钟，离心弃上清，用少许PBS溶解沉淀；

2) 1—3%优质琼脂糖微波加热溶解后置于55—60℃水浴锅中保持熔化状态；

3) 根据欲制备芯片中所含细胞数量及琼脂糖包埋块的大小选择相应标号的制备器并调节内芯的位置，预留制备器顶端适当大小的空心管腔；

4) 微量加样器将少许熔化的琼脂糖加至相对应的制备器顶端空心管腔内，稍等，加入少量溶解细胞，然后再加入少量熔化的琼脂糖封闭管口，按对应位置一一加样，直至完成最后一例细胞样本的琼脂糖包埋；

5) 脂糖冷却凝固后，将外层套管向上推2—10mm，使带有微孔的一段外套管暴露，同时固定阵列管固定板，向上推内芯固定板，使成形的细胞琼脂糖包埋小柱落入带有微孔的外套管腔内，然后在外套管上面放置带有微孔的底层固定板，两侧用橡皮筋将底层固定板与外

套管固定板固定牢靠；

6) 制备器倒置，底层固定板位于最下层；

7) 按石蜡切片制备流程常规脱水、透明、浸蜡；

8) 将制备器正置，取下底层挡板，用少许溶解状态琼脂糖或石蜡一一封固外套层管口；

9) 在包埋框下置一包埋用平板，将制备器平放其上，在平板上倾倒少许熔化专用石蜡，待其冷却凝固后，缓慢向上拔出制备器，同时轻轻压下内芯，使外套层管腔内的细胞琼脂包埋小柱按相同的方向在同一平面整齐的落入已经形成的小孔中；

10) 小心缓慢加入熔化的石蜡，待其冷却凝固后即可将所在细胞包埋小柱按规则的阵列方式固定于同一蜡块，将其从包埋框中取出即可得到细胞芯片的蜡块；

11) 冷却凝固蜡块后即可进行切片，染色，并可进行免疫细胞化学、原位杂交等检测；

实现上述方法的制备细胞芯片的装置，该装置包括：

阵列管 2 及其固定板 5，阵列管内芯 1 及其固定板 4，阵列管外套 3 及其固定板 6，底层固定板 7，两根固定用橡皮筋 10，阵列管 2 在中央，内有内芯 1，外有外套管 3。

阵列管 2 由多根（2 根以上）长度相同，以行、列方式平行排列并固定于阵列管固定板 5，阵列管管口形状为圆形、椭圆形、正方形，右上方多一根阵列管。

阵列管内芯 1 其外径与阵列管内径相配合，内芯长度长于阵列管长度，内芯与相应阵列管形状相同，右上方多一根阵列管内芯 1。此管内芯的外表面标记有垂直刻度，内芯口与阵列管口相平行标记内芯从阵列管露出刻度为 0，向阵列管方向为负，远离阵列管方向为正。

阵列管外套 3 长度短于阵列管长度，外套内径与阵列管外径相配合，阵列管外套形状与阵列管相同，右上方多一根阵列管外套 3，阵列管外套 3 上端四周管壁有许多微孔 8。

阵列管固定板 5、内芯固定板 4 及外套固定板 6 均大小相同、形状一致，为长方形或正方形，3 个固定板之间平行排列，可以其中一个为支点上下互相移动。

底层固定板 7 大小与以上 3 个固定板相同，其上有许多微孔 9。

上述装置在制作时可根据需要缩小或放大。

根据上述本发明原理，通过使用本发明的方法和装置，能够十分快速方便的制备出细胞芯片。

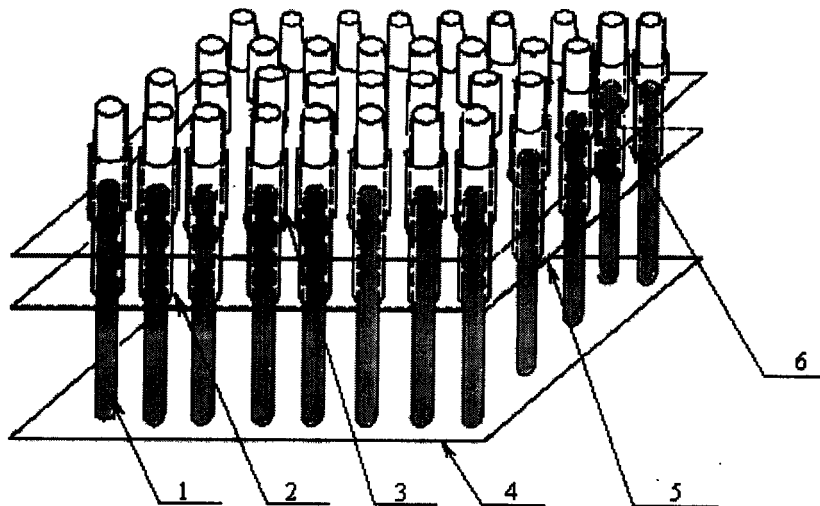


图 1

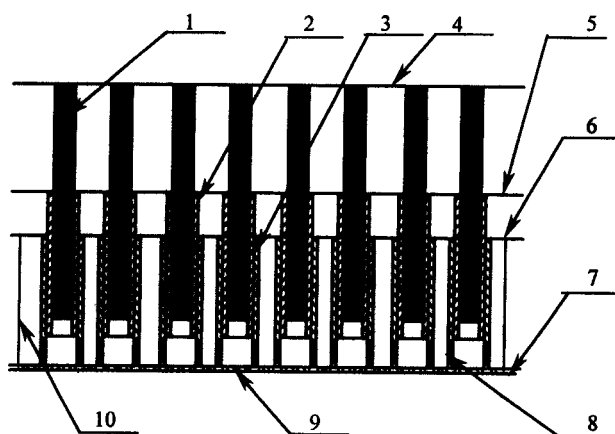


图 2

专利名称(译)	一种制备细胞芯片的方法及其装置		
公开(公告)号	<a href="#">CN1661039A</a>	公开(公告)日	2005-08-31
申请号	CN200410073348.X	申请日	2004-12-06
[标]申请(专利权)人(译)	李文生 陈倩		
申请(专利权)人(译)	李文生 陈倩		
当前申请(专利权)人(译)	李文生 陈倩		
[标]发明人	李文生 陈倩		
发明人	李文生 陈倩		
IPC分类号	C12Q1/00 G01N33/53		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明属于生物医学领域，本发明公开了一种细胞芯片新的制备方法，具体涉及一种细胞芯片的制备方法及其实现该方法的装置，本发明通过阵列管与内芯之间形成的空腔结构，将细胞样本通过琼脂糖包埋于空腔内，细胞琼脂糖包埋块在外套与底层固定板之间形成的带微孔结构的扩大的空腔内进行脱水、透明、浸蜡等处理，而后利用阵列管装置在形成石蜡空心小孔的同时，轻推柱芯使细胞琼脂糖包埋块落入阵列小孔内，制成了细胞芯片石蜡包埋块，再经过切片、染色即可完成细胞芯片的制备。使用本装置及方法能够迅速大量的一次成型制备出几十、上百种不同细胞类型的细胞芯片。本装置构造简单，使用方便，非常适合于在医学诊断、药物开发、细胞生物学等领域推广使用。

