

# 连续流动式聚合酶链式反应生物芯片/微装置中脱氧核糖核酸样品的驱动控制技术进展

章春笋<sup>1,2</sup>, 徐进良<sup>1\*</sup>

(1. 中科院广州能源研究所 微能源系统实验室, 广州 510640; 2. 中国科学技术大学 热科学和能源工程系, 合肥 230026)

**摘要:** 介绍国内外连续流动式聚合酶链式反应生物芯片/微装置中脱氧核糖核酸样品的驱动控制技术进展, 主要包括恒流泵(注射泵驱动和蠕动泵驱动)、旋转泵驱动、磁流体动力驱动以及自然对流驱动等。并对这几种驱动方式的优缺点作简要的讨论(引用文献 43 篇)。

**关键词:** 连续流动式 PCR 生物芯片/微装置; DNA 样品; 驱动控制技术

**中图分类号:** Q5; TP6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-4020(2006)12-1063-06

## PROGRESS OF ACTUATION CONTROL TECHNIQUE OF SAMPLES IN MICRO-DEVICE OF CONTINUOUS-FLOW POLYMERASE CHAIN REACTION BIOCHIP

ZHANG Chun-sun<sup>1,2</sup>, XU Jin-liang<sup>1</sup>

(1. *Micro-energy System Laboratory, Guangzhou Research Institute of Energy, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China;* 2. *Dept. of Thermal Science and Energy Engineering, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China*)

**Abstract:** A review of the recent progress of actuation control technique of DNA samples in micro-device of continuous-flow polymerase chain reaction biochip, covering mainly the years from 1985 to 2006 was presented in this paper, pertaining especially to the actuation by constant flow pumps (actuated with injection pump and peristaltic pump), by rotary pump, and magnetohydrodynamic actuation and natural convection actuation; and a brief discussion on the merits and defects of various ways of actuation was also given (43 ref. cited).

**Keywords:** Continuous-flow polymerase chain reaction Bio-chip; DNA sample; Actuation control technique

聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)<sup>[1]</sup>自 1985 年发明以来,已经在生物工程、临床医学诊断、环境检测等领域得到广泛的应用。传统的 PCR 装置一般通过金属块以及空气或液体循环来控制温度循环,系统通常具有较大的体积和热容,导致 PCR 速度很慢,通常需要 1~2 h。20 世纪 90 年代初,为了实现快速 PCR 扩增,Wittwer 等<sup>[2]</sup>将样品密封在玻璃毛细管中,通过热空气流控制温度循环,减少了系统的热容和样品体积,使脱氧核糖核酸(DNA)扩增反应所需时间显著缩短,30 个循环

扩增仅需 15 min 甚至更少。随着微电子机械系统(micro-electro-mechanical system, MEMS)技术的发展,Northrup 等<sup>[3]</sup>成功地在硅片上制作 PCR 微反应池,实现了芯片上 DNA 的扩增。这种反应池内固定扩增式(stationary-chamber PCR,即时域式 PCR, Time domain PCR)<sup>[4,5]</sup>实际上是传统 PCR 的微型化<sup>[4,6]</sup>,反应混合物固定在微反应池内,其温度不断地反复循环,这种方法需要对 PCR 系统的热容相当程度的优化才能缩短反应时间和减少能量消耗<sup>[4]</sup>。

早在 1993 年,Larzul<sup>[7]</sup>提出一种管式反应器装置,它通过磁场、泵(包括热泵效应和蠕动泵)以及非能动性毛细作用(即无需外界的额外动力源)来驱动管道中的样品流动。该装置适用于限制酶引起的 DNA 水解、DNA/核糖核酸(RNA)酶处理以及通过 PCR 进行 DNA 扩增等,这是以讨论的方式首次提

收稿日期: 2006-07-31

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(50476088)。

作者简介: 章春笋(1974-),男,江苏省淮安市人,博士研究生,主要从事生物微电子机械系统以及生物微流控系统的研究。

\* 联系人

出连续流动式 PCR (continuous-flow PCR, CF-PCR, 即空域式 PCR, Space domain PCR)<sup>[4,5]</sup> 思想。1994 年, Nakano 等<sup>[8]</sup> 首次在聚四氟乙烯毛细管反应器中通过 CF-PCR 成功地进行 DNA 扩增。1998 年, Kopp 等<sup>[9]</sup> 采用 MEMS 技术在玻璃板上刻蚀出微流路通道作 CF-PCR 反应池。该 CF-PCR 芯片特点是体积小、变温迅速、延迟小、样品液体蒸发性小, 而且样品在 CF-PCR 芯片中的滞留时间主要决定于在每个温度区通道的长度、横截面以及样品流过通道的速度, 其原理图见图 1。CF-PCR 是通过 DNA 样品和反应物连续流过三个不同的恒温带, 从而达到 DNA 片段热循环扩增的目的。由于它不需要反复加热或冷却 PCR 装置, 尽管所需样品体积较大, 但反应速度较快, 整个反应时间仅为 12~18 min, 大约是金属块加热的传统 PCR 装置的 1/10<sup>[8]</sup>。国内已有学者对上述两种结构形式的 PCR 扩增反应进行了研究<sup>[6,10-14]</sup>。在 CF-PCR 芯片/微装置中, 为了成功地实现 DNA 扩增, 微通道中 DNA 样品必须得到精确的驱动控制。

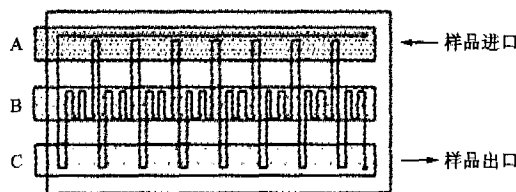


图 1 CF-PCR 芯片原理图

Fig. 1 Schematic diagram of CF-PCR chip

A——解链(De-chaining) B——延伸(Extension)  
C——退火(Annealing)

DNA 样品在 CF-PCR 微通道中流动状况直接影响 PCR 的扩增过程, 这主要体现在 DNA 样品和反应物在微通道中的流动速度、流动稳定性以及串行流动方式(该方法能提高样品数目量和减少与热滞后相关的问题)等, 而流动状况与 DNA 样品流体的驱动控制方式密切相关, 下面讨论 CF-PCR 芯片/微装置中 DNA 样品的几种驱动控制方式。

## 1 恒流泵驱动

### 1.1 注射泵驱动

注射泵是一种控制注射器完成样品液体输送的容积泵, 已成为 CF-PCR 芯片/微装置中经常使用的一种驱动方式。特点是进样速度精确、操作简单、智能化和自动化程度较高, 而且流速范围广(0.1~400 mL·h<sup>-1</sup>), 因此非常适合用来驱动 DNA 样品

在微流体通道中流动。目前已有许多研究者采用注射泵驱动 DNA 样品和反应物在 CF-PCR 芯片/微装置中的流动以实现 DNA 扩增复制<sup>[11,13,14,15-22]</sup>。

对于注射泵驱动 DNA 样品和反应物而言, 为了成功进行 PCR 扩增反应, 不同的通道系统一般采用不同的流速, 即使注射泵采用相同的流速, 样品流体在通道中的滞留时间通常是不一样的, 这主要取决于通道的长度和横截面积。但在同一通道中, 样品流速大, 滞留时间短; 反之则滞留时间长(表 1)。然而, 一个 PCR 循环过程所需要的反应时间取决于聚合酶的合成速度以及热扩散时间<sup>[28]</sup>, 由于 CF-PCR 芯片/微装置的通道截面积很小, 热扩散时间几乎可以忽略, 因此 DNA 样品流体的流速理论上可以优化以到达酶的合成速度<sup>[23]</sup>。Schneegaß 等<sup>[23]</sup> 对 DNA 样品在通道中的流动速度进行了优化, 对于所研究的系统而言, 存在一个最优速度量 1 μL·s<sup>-1</sup>, 此时 DNA 扩增产量(或扩增产物信号强度)最大。Park 等<sup>[17]</sup> 让 DNA 样品以不同流速(0.3, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0 μL·min<sup>-1</sup>) 流过 PCR 微反应通道。结果发现: CF-PCR 的扩增量随着流速的增加而减少, 这种现象也许是由于流速较大时 DNA 样品在 PCR 微反应通道中解链、退火和延伸时间减少而引起的。

注射泵驱动虽然具有操作简单、速度调节范围广等优点, 但其集成化程度低, 所占空间体积较大, 难于实现真正意义上的“微全分析系统”(Micro Total Analysis Systems, μ-TAS)<sup>[29, 30]</sup>。

### 1.2 蠕动泵驱动

蠕动泵具有流量控制精确、污染小、使用和维修方便等特点, 已在食品、制药生产以及基因研究等领域得到广泛的应用。Chou 等<sup>[31]</sup> 将蠕动泵(流速 8~15 μL·min<sup>-1</sup>) 与 CF-PCR 芯片装置的进/出口连接来实现 DNA 样品在微通道中的流动。这种应用常规蠕动泵作为 CF-PCR 的驱动方式, 系统所占空间较大、集成化程度不高。最近, Bu 等<sup>[32]</sup> 首次将双向蠕动泵集成到 CF-PCR 芯片中, 以实现 DNA 样品的驱动, 并提出一种基于板壳理论的分析模型。

## 2 压力差驱动

在 CF-PCR 芯片/微装置中也常采用通道两端的压力差来驱动样品在微反应通道中运动。Burns 等<sup>[33]</sup> 利用气压差和一些憎水性区段来驱动微量样品(<1 nL) 在微通道中流动, 气压由外源或集成在芯片上的气体膨胀室提供, 而且气压增大多少对微

表 1 DNA 样品在 CF-PCR 芯片/微装置通道中的滞留时间与流速、通道截面以及通道长度的关系

Tab. 1 Relationship among the time of detainment, flow-rate, cross-section and length of channel of DNA sample in the channel of the CF-PCR biochip micro device

流速 Flow rate $q_v/(\text{nL} \cdot \text{s}^{-1})$	滞留时间 <sup>4)</sup> Time of detainment $t/\text{min}$	循环数 Number of cycling	通道截面 Cross section of channel		通道长度(m)/解链、退火 以及延伸区通道长度比(m) Ratio of the length of channel (m) to the length of de-chaining extension and annealing zones in the channel	文献 Literature
			宽度 Width $D/\mu\text{m}$	深度 Depth $h/\mu\text{m}$		
1~16 <sup>1)</sup>	40~2	不详	60	40	2	[6]
5.8~72.9	18.7~1.5	20	90	40	2.2/4:4:9	[9]
16.7 <sup>6)</sup>	35	25	250	100	1.512	[23]
27.8 <sup>6)</sup>	14.8	30	100	100	2:2:3	[24]
0.9/2.5 <sup>6)</sup>	90/45 <sup>2)</sup>	30	120	40	不详	[25]
不详	8~30	30	200	75	不详	[22]
21	5/6/7/8/9	20/25/30/35/40	120	55	4:4:9	[15,26]
166.7 <sup>6)</sup>	90 <sup>2)</sup>	30	200/400 <sup>3)</sup>		44 <sup>5)</sup> /1:1:2	[27]
5.0~83.3 <sup>6)</sup>	92~5.5	33	100/240 <sup>3)</sup>		3.5/1:1:1	[17]
502.4 <sup>6)</sup>	不详	35	800/不详		1:1:2	[19]

注: 1), 2), 3) 分别表示其单位为  $\text{mm} \cdot \text{h}^{-1}$ ,  $\text{s}/\text{circle}$ ,  $\mu\text{m i. d.}/\text{o. d.}$ ; 4) 表示 DNA 样品在微通道中的流动时间; 5) 表示每个 PCR 循环的通道长 44 cm, 其中第一循环的解链区通道长 33 cm, 最后一个循环的延伸区通道长 66 cm; 6) 表示转化后的流速(四舍五入法)。

Note: The units of values marked with 1), 2) and 3) are  $\text{mm} \cdot \text{h}^{-1}$ ,  $\text{s}/\text{circle}$  and  $\mu\text{m}$  for the ratio of i. d. to o. d. respectively; 4) denoting the time of flowing of DNA sample in the channel; 5) 44 cm is the length of microchannel in each PCR circle, 33 cm is the length of de-chaining zone in the 1st PCR circle of microchannel, and 66 cm is the length of extension zone in the last PCR circle; 6) denoting the rounded values of flow-rate after conversion; and 7) denoting that no definite data are given in literature.

量样品的体积没有任何影响。Chiou 等<sup>[34]</sup>通过计算机控制的电磁阀将油箱分别和 34.5, 51.7 kPa 的大气压连接, 利用油箱两端的压力差来驱动微量样品在毛细管中运动。

对于压力差驱动 DNA 样品和反应物, DNA 样品在微通道中准确位置较难控制。目前, 通常采用二极管探测器<sup>[33]</sup>、光电二极管<sup>[34]</sup>来控制 DNA 样品的位置, 以便自动控制加热过程。前者控制 DNA 样品位置的过程是: 由于样品溶液的折射率和空气的折射率不同引起受照二极管电流呈阶跃式变化, 从而放置于通道下部的二极管探测器能很容易确定通道中样品的位置<sup>[33]</sup>。后者控制 DNA 样品位置的基本过程是: 通过采用矿物油的折射率( $n=1.48$ )比聚四氟乙烯的折射率( $n=1.376$ )高的物理性质实现 He-Ne 激光束波导进入毛细管中矿物油里, 当到达弯曲的油/样品塞界面时发生散射, 和光电二极管一起实现光检测系统自动追踪样品塞的位置<sup>[34]</sup>。

## 2.1 旋转泵驱动

DNA 样品的扩散率很小, 1-kbp 长的 DNA 分子扩散常数为  $10 \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ <sup>[35]</sup>, 扩散  $100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$  面积需要时间长达 1 000 s。在集成化的 PCR 微流控芯片中样品的快速混合和反应是非常必要的。为了克服微样品流体操作受低扩散率的限

制, Chou 等<sup>[36]</sup>在芯片上开发一种旋转泵, 以连续流动以及容积固定两种方式混合反应物。这种泵主要由两层组成: 下面的流体通道层和上面的气动驱动通道层, 它们之间任何一个交叉点都可形成一个微阀。当微阀关闭时, 空气通道加压; 微阀打开时, 空气通道释放压力。流体通道层中的中心圆环通道和指状空气通道构成旋转泵的主要部件。当一系列开/关序列应用到空气通道中时, 中心圆环通道中的微流体会以顺流或逆流方向流动。气动驱动频率越高, 微流体在圆环通道中的流速就越快, 图 2 为计算微流体旋转流动时混合效应的模型, 微流体在圆环通道中流动时的角速度为:

$$\omega = \frac{v_0}{R} \left[ 1 - \left( \frac{r}{r_0} \right)^2 \right] \quad (1)$$

式中:  $\omega$ 、 $v_0$ 、 $R$ 、 $r_0$ 、 $r$  分别指角速度、圆环通道中心处最大线速度、圆环半径、圆环通道内(外)壁面到中心处的距离以及圆环通道中任一位置离中心处的距离。

Liu 等<sup>[4]</sup>首次将旋转泵集成到 PCR 芯片上, 开发一种到目前为止所需 DNA 样品体积最小的 CF-PCR 芯片(仅 12 nL)。该 PCR 芯片由于采用旋转泵驱动环通道中的 DNA 样品, 它具有两重性, 既可作 CF-PCR 又可作反应池内固定扩增式 PCR。

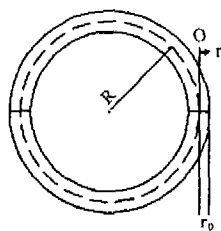


图2 循环泵驱动样品混合原理图  
Fig. 2 Schematic diagram of mixing of sample actuated by rotary pump

## 2.2 磁流体动力学驱动

Lemoff 等<sup>[37]</sup>首次将磁流体动力(magneto-hydrodynamic, MHD)微泵集成到芯片上以便驱动生物样品连续流动。MHD微泵是一种新型非机械泵,是利用洛伦兹力来驱动生物样品在通道中流动(图3),其原理是在正交磁场中,当电流垂直通过充有导电液体的通道时将产生一洛伦兹力,在洛伦兹力作用下,通道中流体的流量可表示为:

$$Q = \frac{IBd^3h^2}{8\mu L(d+h)^2} \quad (2)$$

式中: $Q$ 为样品流体的体积流速; $I$ 、 $B$ 分别是垂直于通道的电流(A)、磁场(T); $d$ 、 $h$ 分别为电极间距离和电极高度; $\mu$ 为流体的粘度; $L$ 为微通道的长度。

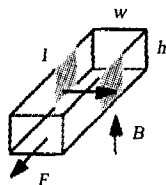


图3 MHD微泵矢量图  
Fig. 3 Vector diagram of MHD pump

West 等<sup>[38]</sup>首次利用MHD原理开发一种CF-PCR芯片,通过MHD驱动DNA样品在硅圆环通道中流动来实现DNA扩增反应。但忽略样品流体运动对磁场和电场的影响提出一种含有洛伦兹力的纳维-斯托克斯方程(Navier-Stokes equation):

$$\rho \frac{D\vec{v}}{Dt} + \nabla p = \vec{j} \times \vec{B} + \eta \Delta \vec{v} \quad (3)$$

式中: $\vec{v}$ 、 $\vec{B}$ 、 $\vec{j}$ 是样品流体的速度、磁场、电流密度;而 $\rho$ 、 $p$ 和 $\eta$ 分别是样品流体的密度、压力以及绝对粘度。对于圆柱形轴对称的稳态样品流体,径向速度和轴向速度为零,且样品流体方位角速度 $v$ 和压力 $p$ 仅取决于 $r$ 和 $z$ (圆柱坐标系),式(3)可以简化为稳态方位角速度泊松方程(poisson equation):

$$\Delta v - \frac{v}{r^2} = \frac{BI}{4\pi r h \eta} \quad (4)$$

式中: $B$ 、 $I$ 分别是磁场和交流电(AC)的峰值振幅。式(4)成为CF-PCR扩增过程中DNA样品在SU-8圆环通道中连续流动模型,它的边界条件由粘滞流不可滑移条件(no-slip boundary condition for viscous flow)确定。

磁流体动力学驱动是一种较为理想的非机械驱动,与DNA样品兼容性较好。但在较高温下,尽管工作电压相当低,CF-PCR微反应器仍然容易发生电解,从而产生气泡阻塞样品流动通道,而且产生的电解副产品能阻碍PCR反应<sup>[38]</sup>,因此该驱动技术需要进一步研究开发。

## 2.3 自然对流驱动

自然对流驱动是由于温度差引起流体内部密度差从而引起流体运动的一种驱动方式。这种自然对流驱动方式由于不需要外界提供动力源(泵、风机等)而在自然界中经常出现,例如雷诺-贝纳尔(Rayleigh-Bénard, RB)对流驱动和层流热对流(laminar thermal convection)驱动等。

### 2.3.1 雷诺-贝纳尔对流驱动

RB对流是有限空间中的浮力驱动的不稳定性引起的,它受无量纲雷诺数

$$Re = \frac{g\alpha(T_2 - T_1)h^3}{\nu k} \quad (5)$$

所控制,体现了浮力引起的不稳定性与起反作用的扩散恢复力之间的相互作用。式中: $\alpha$ 为流体的热膨胀系数; $g$ 为重力加速度; $h$ 为有限空间高度; $T_1$ 、 $T_2$ 为有限空间上、下表面的温度; $\nu$ 为动力粘度; $k$ 为热扩散率,这种两个固定温度表面之间的RB对流(即稳定循环流动)很适合具有热循环特性的化学反应<sup>[39]</sup>。

Krishnan 等<sup>[39]</sup>开发一种微装置,首次采用RB对流来实现PCR扩增反应,图4为RB对流驱动PCR扩增过程示意图。DNA样品在 $T_1 = 61^\circ\text{C}$ 和 $T_2 = 97^\circ\text{C}$ 之间的密闭空间中依靠雷诺-贝纳尔对流不断地循环流动,雷诺数和纵横比 $h/d$ 控制并影响DNA样品流体的运动( $d$ 指有限空间直径),从而影响DNA的扩增效率<sup>[39]</sup>。

### 2.3.2 层流热对流驱动

Braun 等<sup>[40]</sup>报道了通过层流热对流驱动来实现DNA复制的链式反应。层流热对流是由恒定的水平温度梯度产生,它驱动DNA样品在微反应池中沿着定常路径在热区和冷区之间不断循环从而达到DNA样品高温解链、低温退火以及中温延伸热循环PCR扩增目的(图5)。这种层流热驱动PCR

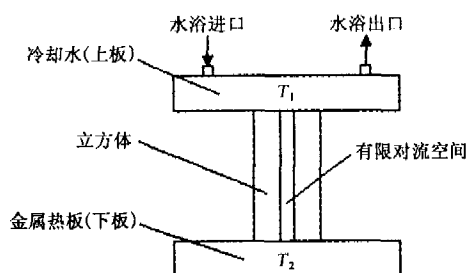


图4 RB对流驱动PCR扩增过程示意图

Fig. 4 Schematic diagram of PCR amplification process by RB convection actuation

微装置具有几个明显特点<sup>[40]</sup>:① 周期性温度循环的峰值温度取决于扩增反应池的垂直距离  $z_0$ , 随着  $z_0$  的增加, 峰值温度减少, 循环周期也随着缩短;② 在较小  $z_0$  条件下 ( $50 \mu\text{m}$ ), PCR 扩增产量随着热耗散的增加先逐渐增大, 然后又逐渐减少, 这也许是由于较大的热耗散在外围区产生大量的气泡, 减少层流空间;③ 层流热驱动 PCR 扩增同样证明是按指数扩增的反应;④ 由于这种微循环装置不仅加热/冷却整个反应容积, 而且加热周围的容器以及它所处环境, 热容较大, 倍增时间  $\tau$  高达 55 s。

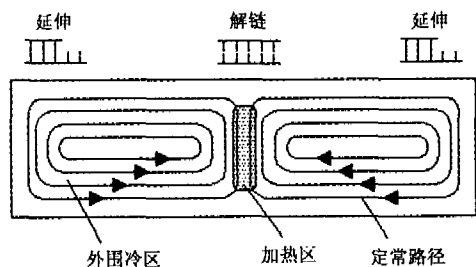


图5 层流热驱动PCR扩增示意图

Fig. 5 Schematic diagram of PCR amplification process by laminar thermal convection actuation

上述两种自然对流驱动实现了传热学、流体力学甚至工程热力学与 PCR 扩增技术的完美结合, 在 CF-PCR 生物芯片/微装置中是一种新型的 DNA 样品驱动技术, 实现了 DNA 样品在无泵驱动下 CF-PCR 扩增复制, 除此之外目前还出现了其它结构形式的自然对流驱动的 CF-PCR 微装置<sup>[41-43]</sup>。但是, 采用这种驱动技术的反应装置体积较大, 从而导致系统的热容较大, 反应速度较慢, 而且集成化程度也有待提高。

从 CF-PCR 芯片问世以来, 尽管 CF-PCR 芯片/微装置中 DNA 样品的驱动控制技术已经得到了快速的发展, 但还存在着一些问题有待解决。不过, 随着 MEMS 技术的不断发展, CF-PCR 生物芯片/

微装置中 DNA 样品的驱动控制技术会得到不断的发展和完善, 开发出一种集成化程度高、反应速度快、所需样品体积小、便携式 CF-PCR 生物芯片/微装置已成为可能。

#### 参考文献:

- [1] Saiki R K, Scharf S, Faloona F, et al. Science[J], 1985,230:1350.
- [2] Wittwer C T, Fillmore G C, Garling D J. Anal Biochem[J], 1990,186:328.
- [3] Northrup M A, Ching M T. Proceeding of the 7th International Conference on Solid State Sensors and Actuators[C]. Japan, Yokohama, 1993:924.
- [4] Liu J, Enzelberger M, Quake S. Electrophoresis[J], 2002,23:1531.
- [5] Kricka L J, Wilding P. Anal Bioanal Chem[J], 2003, 377:820.
- [6] Zhang Qintao, Wang Wenhui, Zhang Hongshen, et al. Sens Actuat B[J], 2002,82:75.
- [7] Larzul M D. Apparatus for repeated automatic execution of a thermal cycle for treatment of samples; US patent 5176203[P]. 1993-05-01.
- [8] Nakano H, Matsuda K, Yohda M, et al. Biosci Biotechnol Biochem[J], 1994,58(2):349.
- [9] Kopp M U, de Mello A J, Manz A. Science[J], 1998,280:1046.
- [10] Yu Xiaomei, Zhang Dacheng, Li Ting, et al. Sens Actuat A[J], 2003,108:103.
- [11] Zhao Zhan, Cui Zheng, Cui Dafu, et al. Sens Actuat A[J], 2003,108:162.
- [12] 赵湛, 崔大付, 于中尧, 等. 传感器技术[J], 2001,20(6):56.
- [13] 徐静平, 黎沛涛, 甘侠林, 等. 华中科技大学学报[J], 2001,29(12):45.
- [14] 周天, 邹志清, 赵建龙, 等. 功能材料与器件学报[J], 2003,9(2):191.
- [15] Obeid P J, Christopoulos T K. Anal Chim Acta[J], 2003,494:1.
- [16] Belgrader P, Elkin C J, Brown S B, et al. Anal Chem[J], 2003,75(14):3446.
- [17] Park N, Kim S, Hahn J H. Anal Chem[J], 2003,75(21):6029.
- [18] Hashimoto M, Chen P C, Mitchell M W, et al. Lab Chip[J], 2004,4:638.
- [19] Dorfman K D, Chabert M, Codarbox J H, et al. Anal Chem[J], 2005,77(11):3700.
- [20] Hashimoto M, Hupert M L, Murphy M C, et al.



- Anal Chem[J], 2005,77(10):3243.
- [21] Hashimoto M, Barany F, Soper S A. Biosens Bioelectron[J], 2006,21(10):1915-1923.
- [22] Kim J A, Lee J Y, Seong S, et al. Biochem Eng J[J], 2006,29(1-2):91.
- [23] Schneegaß I, Bräutigam R, Köhler J M. Lab Chip[J], 2001,1:2.
- [24] Fukuba T, Naganuma T, Fujii T. Proceeding of the 2002 International Symposium on Underwater Technology[C]. Japan: Tokyo, 2002:101.
- [25] Sun K, Yamaguchi A, Matsuo S, et al. Sens Actuat B[J], 2002,84:283.
- [26] Obeid P J, Christopoulos T K, Crabtree H J, et al. Anal Chem[J], 2003,75(2):288.
- [27] Curcio M. Anal Chem[J], 2003,75(1):1.
- [28] Wittwer C T, Reed G B, Ririe K M. Rapid Cycle DNA amplification In: Mullis K B, Ferré F, Gibbs R A (eds). The polymerase chain reaction[M]. Boston: Birkhäuser, 1994:174-181.
- [29] Reyes D R, Iossifidis D, Auroux P A, et al. Anal Chem[J], 2002,74(12):2623.
- [30] Auroux P A, Iossifidis D, Reyes D R, et al. Anal Chem[J], 2002,74(12):2637.
- [31] Chou C F, Changrani R, Roberts P, et al. Microelectronic Engineering[J], 2002,61-62:921.
- [32] Bu M, Melvin T, Ensell G, et al. J. Micromech Microeng[J], 2003,13:S125.
- [33] Burns M A, Johnson B N, Brahmasandra S N, et al. Science[J]. 1998,282:484.
- [34] Chiou J, Matsudaira P, Sonin A, et al. Anal Chem[J], 2001,73(9):2018.
- [35] Bader J S, Hammond R W, Henck S A, et al. Proc Natl Acad Sci USA[J], 1999,96:13165.
- [36] Chou H P, Unger M A, Quake S R. Biomed Microdevices[J], 2001,3:323.
- [37] Lemoff A V. Sens Actuat B[J], 2000,63:178.
- [38] West J, Karamata B, Lillis B, et al. Lab on a chip[J], 2002,2:224.
- [39] Krishnan M, Ugaz V M, Burns M A. Science[J], 2002,298:793.
- [40] Braun D, Goddard N L, Libchaber A. Phys Rev Lett[J], 2003,91(15):1381031.
- [41] Wheeler E K, Benett W, Stratton P, et al. Anal Chem[J], 2004,76(14):4011.
- [42] Krishnan M, Agrawal N, Burns M A, et al. Anal Chem[J], 2004,76(21):6254.
- [43] Chen Z, Qian S, Abrams W R, et al. Anal Chem[J], 2004,76(13):3707.

(上接第 1036 页)

#### 参考文献:

- [1] Chignell C F, Haseman J K, Sik R H, et al. Photocarcinogenesis in the Tg. Ac mouse; Lomefloxacin and 8-methoxypsoralen[J]. Photochemistry and Photobiology, 2003,77(part1):429.
- [2] Naber, Kurt G. Lomefloxacin versus ciprofloxacin in the treatment of chronic bacterial prostatitis[J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2002, 20(1):18.
- [3] 高建华,陈彬,翟海云. 荷移分光光度法测定盐酸洛美沙星[J]. 郑州大学学报:自然科学版, 2001,33(3):71-74.
- [4] 杜黎明,许庆琴,曹玺珉,等. 胶束增稳荷移反应紫外分光光度法测定洛美沙星[J]. 分析化学, 2003,31(1):44-47.
- [5] 谭峰,郎惠云,李媛. 萃取分光光度法测定盐酸洛美沙星[J]. 分析化学, 2001,29(5):561-564.
- [6] 陈学锋,徐新元. 差示紫外分光光度法测定盐酸洛美沙星胶囊的含量[J]. 辽宁药物与临床杂志, 2001,4(4):171-172.
- [7] 张若燕,欧阳晓玫. 荧光分光光度法测定洛美沙星注射液及胶囊的含量[J]. 中国药房, 2002,13(1):45-46.
- [8] 冯琳,储秋萍,邵志高. 荧光分光光度法测定盐酸洛美沙星胶囊含量[J]. 中国抗生素杂志, 1996,21(1):17-19.
- [9] 李媛,郎惠云,谢志海. 间接原子吸收法测定药物中盐酸洛美沙星含量[J]. 西北大学学报:自然科学报, 2000,30(1):39-42.
- [10] 王君耀,刘放. RP-HPLC 测定盐酸洛美沙星及其制剂的含量[J]. 华西药学杂志, 2002,17(2):135-136.
- [11] 李建晴,冯小花,双少敏,等. 7 种喹诺酮类药物的光谱研究[J]. 分析化学, 2003,31(1):19-23.
- [12] 赵慧春,金林培. 镧系离子与氟喹诺酮类药物配合物的光化学敏化发光及其应用[J]. 中国科学基金, 2001(1):54-56.
- [13] 周万斌,王玉华,马文莲. 氧氟沙星与茜素的显色反应研究[J]. 锦州医学院学报, 1999,20(6):7-8.
- [14] 李华侃,柳越,王玉华,等. 氟哌酸与茜素的显色反应及其应用[J]. 锦州医学院学报, 1998,19(6):7-9.
- [15] 周静,晋卫军,杜黎明. 洛美沙星在酸性介质中的紫外光谱性质的研究及应用[J]. 山西师范大学学报:自然科学版, 2001,15(4):43-45.