

谨以此文庆贺卢佩章院士 80 华诞！

微流控芯片实验室

林炳承，秦建华

(中国科学院大连化学物理研究所, 辽宁 大连 116023)

摘要 :以作者所在课题组近年来的研究工作为基础,就芯片实验室平台建设及相应的以系统生物学为最终目标的功能化研究作一说明,对在分子和细胞层面,甚至是单分子、单细胞水平上实现以规模集成为特征的临床诊断和药物筛选的努力予以特别的关注。

关键词 :芯片实验室 ;系统生物学 ;功能化 ;临床诊断 ;药物筛选

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713(2005)05-0456-08

Laboratory on a Microfluidic Chip

LIN Bingcheng, QIN Jianhua

(*Dalian Institute of Chemical Physics, The Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China*)

Abstract : The recent achievements of microfluidic chip and its applications, based on the works mainly carried out in the authors' lab are reviewed. The chip fabrication capabilities have been extended into design and fabricate chips with higher degree of complexity in different materials, such as quartz, glass, polymethyl methacrylate (PMMA), and polydimethyl siloxane (PDMS). A set of methods for surface modification of micro-channels on such materials have been developed, which results in better reproducibility and higher efficiency in protein and peptide analysis. The use of novel materials for chip fabrication is also under investigation. A series of microfluidic workstations with integrated chip manipulation as well as laser induced fluorescence (LIF), ultraviolet (UV), electrochemical and chemiluminescence detection modules have been developed to attain the abilities of complex microfluidic control and data acquisition schemes. A single cell/single molecule imaging system was built up for dynamic analysis of molecular or cellular events too. Based on the work mentioned above, different functional units, such as membrane, monolithic, isotachopheresis (ITP) etc were set up and integrated. Glycoform separation of turkey ovalbumin in a lectin monolithic column and an electrophoresis channel was performed on an integrated microchip. And a novel technique has been developed that allows for the coupling of ITP and non-gel sieving electrophoresis for protein analysis in a single microchip and resulting in ~50 fold increase of the sensitivity in comparison with the use of gel electrophoresis only. A single molecule detection (SMD) based technique was developed for simultaneously measuring both bulk flow and near-wall flow velocity in the microchannels. And more recently, an SMD based technology was developed for observing molecular interactions at single molecule level. An ultra-rapid microchip electrophoresis method was established for simultaneous determination intracellular reactive oxygen species (ROS) and reduced glutathione (GSH) related to apoptosis and oxidative stress. In an effort to develop a novel microfluidic based drug screening platform, systematic studies on the interaction between granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) and sulfated oligosaccharides were carried out at both molecular and cellular levels. Doxorubicin induced apoptosis of human hepatocellular carcinoma (HepG₂) was studied using the integrated microfluidic device with concentration generator. In the application phase, severe acute respiratory syndrome (SARS) diagnosis based on reverse

收稿日期 2005-06-08

作者简介:林炳承,男,博士,研究员,E-mail: bclin@dicp.ac.cn.

基金项目:国家自然科学基金面上基金项目(No. 20275039)、国家自然科学基金重点项目(No. 20035010)、国家自然科学基金重大项目(No. 20299035)和大连化学物理研究所创新基金资助项目。

transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and microfluidic chip electrophoresis (MCE) with 18 cases , methylation analysis of the P16 gene in 159 samples of patients and references for cancer diagnosis and polymorphism analysis of angiotenigen gene in 226 patients and references with essential hypertension are described. Forty-three up to date references are cited.

Key words : lab-on-a-chip ; systems biology ; integrated functionalities ; clinical diagnosis ; drug screening

微流控芯片实验室又称芯片实验室(lab-on-a-chip)或微流控芯片(microfluidic chip) ,指的是把生物和化学等领域中所涉及的样品制备、反应、分离、检测等基本操作单元集成或基本集成到一块几平方厘米(甚至更小)的芯片上 ,由微通道形成网络 ,以可控流体贯穿整个系统 ,用以取代常规生物或化学实验室的各种功能的一种技术。微流控芯片实验室的基本特征和最大优势是多种单元技术在微小平台上的灵活组合和大规模集成 ,高通量是大规模集成的一种形式。

微流控芯片实验室以微流控技术为基础 ,它有别于另一类以静态亲和杂交技术为核心的微孔板芯片 ,后者通常被国内的大众媒体称之为“ 生物芯片 ” ,以脱氧核糖核酸(DNA)芯片为典型代表 ,不在本文所讨论的范围之内。在一段时期的学术刊物中 ,微全分析系统(μ -TAS)往往和微流控芯片实验室混用。事实上 ,较之微全分析系统 ,微流控芯片实验室的外延更宽 ,内涵更为丰富。微流控芯片实验室的最早期形式是芯片毛细管电泳 ,芯片毛细管电泳至今仍是芯片实验室中分离部分的主体。

微流控芯片实验室是微纳米技术的重要组成部分 ,也是系统生物学研究的主要技术平台之一 ,有重大应用前景 ,尚未真正产业化。2004 年 9 月美国 Business 2.0 杂志的封面文章称 ,芯片实验室是“ 改变未来的七种技术 ”之一。芯片实验室所具有的多种单元技术灵活组合和大规模集成的特点 ,使之不仅能以极少量的样品获得极大的信息量 ,更有可能超越单一的分析功能 ,而以一个整体微型多元操作平台的姿态直面市场。

市场化对微流控芯片实验室的基本要求是它的功能化。功能化分通用型和专用型两类 ,按照目前的理解 ,一个功能化芯片实验室系统应包括芯片分析器、芯片及试剂盒等 3 个部分 ,试剂盒内包含有实现芯片功能化的方法和材料。

国内外已有很多研究小组在微流控芯片领域做了许多出色的工作^[1-5] ,但限于篇幅 ,又为避免挂一漏万 ,本文仅拟以作者所在课题组近年来的研究工作为基础 ,就芯片实验室平台建设及相应的以系统

生物学为最终目标的功能化研究作一说明 ,对在分子和细胞层面 ,甚至是单分子、单细胞水平上实现以不同操作单元规模集成为特征的临床诊断和药物筛选的努力予以特别的关注。

1 芯片分析仪

芯片分析仪主要由两部分组成 :一是动力源。广义的动力源包括电、磁、声、光、热 ,现阶段仍以电源为主。二是检测器。电源提供包括流体驱动在内的各种动力 ,检测器则用于捕捉微流控芯片产生的信号。检测器是微流控芯片实验室的重要组成部分 ,最常用的是激光诱导荧光检测器 ,此外还有紫外、电化学、质谱、化学发光检测器等。目前市场上还缺乏真正意义上的微流控芯片仪器 ,在中国市场上能见到的仅有的两种均采用激光诱导荧光检测 ,有很大的局限性。其中一种是加拿大 Albert 大学衍生出的 Micralyne 公司生产的名为 Microfluidic Tool Kit 的仪器 ,其聚焦为手动式 ,操作不便 ,软件简单 ;另一种是 Agilent 公司的 Bioanalyzer 2100 ,其芯片、电极以至试剂盒均为固定模式 ,不能调节变更 ,不适用于通用型实验室。Agilent 公司的芯片高效液相色谱-质谱仪(HPLC-MS)尚未真正面世。作者所在课题组已设计研制了分别采用激光诱导荧光、紫外、电化学和化学发光等 4 类不同检测器的 7 台微流控芯片分析仪 ,其中一台装有 8 个电极和 2 个微泵的激光诱导荧光(473 nm)芯片分析仪(见图 1-a) ,可支撑多种功能的规模集成芯片实验室运行^[6] ;另一台配有电荷耦合器件(CCD)并以线性聚焦为特征的激光诱导荧光(473 nm)阵列芯片仪 ,则可支撑很高通量的芯片实验室运行^[7]。还有一台可扩展到 8 个电极并因此具有更普适功能的紫外微流控芯片仪(见图 1-b) ,由一体化的芯片平台、高压电源、紫外检测器和相应软件组成。该紫外检测器通用性很强 ,适用范围很宽 ,检测灵敏度较高 ,接近或超过常规毛细管电泳用紫外检测器的水平 ;采用石英芯片或聚二甲基硅氧烷(PDMS)-石英复合芯片 ,制作简便 ,并可重复使用^[8]。本课题组还按承担的奥林匹克项目的要求 ,研制了微型化便携式电

化学微流控芯片仪(见图 1-c),仪器结构紧凑,外观尺寸仅为 9.5 cm × 11 cm × 6.5 cm (W × L × H),重量轻,采用 USB 接口与上位机通讯,同时为电化

学检测系统供电;采用特殊设计的 PDMS 电化学检测芯片。仪器操作简单,成本低廉,携带方便,适合于实时检测或野外使用^[9]。



图 1 作者所在课题组研制的多功能微流控芯片分析仪(a)、紫外微流控芯片分析仪(b)和电化学微流控芯片分析仪(c)
 Fig.1 Multipurpose microfluidic chip analyzer (a), microfluidic chip analyzer with UV detector (b) and microfluidic chip analyzer with electrochemical detector (c) developed in the authors' lab

2 芯片及其表面改性

芯片本身有两个方面值得关注:一是尺寸;二是材料^[10]。作者所在的课题组已自行设计研制了 5 种不同材料、不同结构和不同集成度的微流控芯片,包括玻璃芯片^[11]、石英芯片及聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)、PDMS 等塑料芯片(见图 2)^[12,13],并自

给有余;注塑型 PMMA 塑料芯片已有自制模具,具备规模生产的能力。本课题组还建立了一套水凝胶材料的加工方法,并采用该技术研制出以水凝胶材料为基础的一类新型微流控芯片。自制的玻璃芯片表面性质稳定,重复性较好,曾在同一块芯片上连续运行罗丹明样品 200 次,峰形基本保持对称,柱效无明显下降。



图 2 作者所在课题组研制的玻璃芯片(a)、PMMA 芯片(b)和 PDMS 芯片(c)
 Fig.2 Glass microfluidic chip (a), PMMA microfluidic chip (b) and PDMS microfluidic chip (c) developed in the authors' lab

我们建立了 PMMA 和 PDMS 微流控芯片管壁涂层修饰方法,使疏水的塑料芯片内表面高度亲水化,强烈抑制电渗流,并减少蛋白质等在塑料芯片内表面的吸附。对不同材料单元部件的表面修饰工作也已取得重要进展。在对 PDMS 芯片表面进行改性后 40 s 内成功地实现了碱性蛋白核糖核酸酶和溶解酵素的基线分离,最高柱效达 100 万/m 以上,重复 70 余次性能基本不变^[14]。在 PMMA 表面作静态修饰后,产生了一个均匀的涂层,连续运行肽样品 40 余次,柱效和分离度均无明显下降,现已成功

地用于蛋白质、核酸等芯片电泳的分离^[15]。

3 功能单元及其集成

前已提及,芯片实验室的基本特点是多种单元技术的灵活组合和规模集成。目前,芯片实验室制作的趋势是:被集成的单元部件和技术越来越多,规模也越来越大。其中涉及到和进样及样品处理有关的透析、膜、固相萃取,用于流体控制的微阀、微泵以及微混合器、微反应器、微分离器和微检测器等。这样一种微操作单元的规模集成能力是微流控芯片之

所以能成为系统生物学研究的主要技术平台之一的基本原因。按照现代生物学的观点,生物体是一个系统、一个网络,人们研究的不仅是其中某一个静态的“组学”,更重要的是要考虑系统中各个单元之间各种组成的动态的相互联系及相互作用,因此,不仅要测定关于生物体同一参数在不同时刻的变化,更要注意不同参数在同一时刻的数值。人类认识上的这么一种变化无疑为微流控芯片提供了一个极为广阔的舞台,尽管总体而言,它尚处于发展阶段的前期。

目前,膜、电泳、整体柱亲和色谱、聚合酶链反应(PCR)、酶反应、细胞培养、单细胞分析等单元操作及它们的初步集成已在本课题组自制的芯片上实现。我们建立了以原位聚合整体柱为载体,固定化凝集素为配体,集成有毛细管电泳和柱长仅为 500 μm 的凝集素亲和色谱功能的微流控芯片平台,成功地实现了糖蛋白中糖型的分析(见图 3)^[16]。整个过程所用时间仅为液相色谱的 3%,所用样品量仅为 3 μg ,体现了微流控集成芯片操作简单、分析过程短、样品消耗量少的优点。

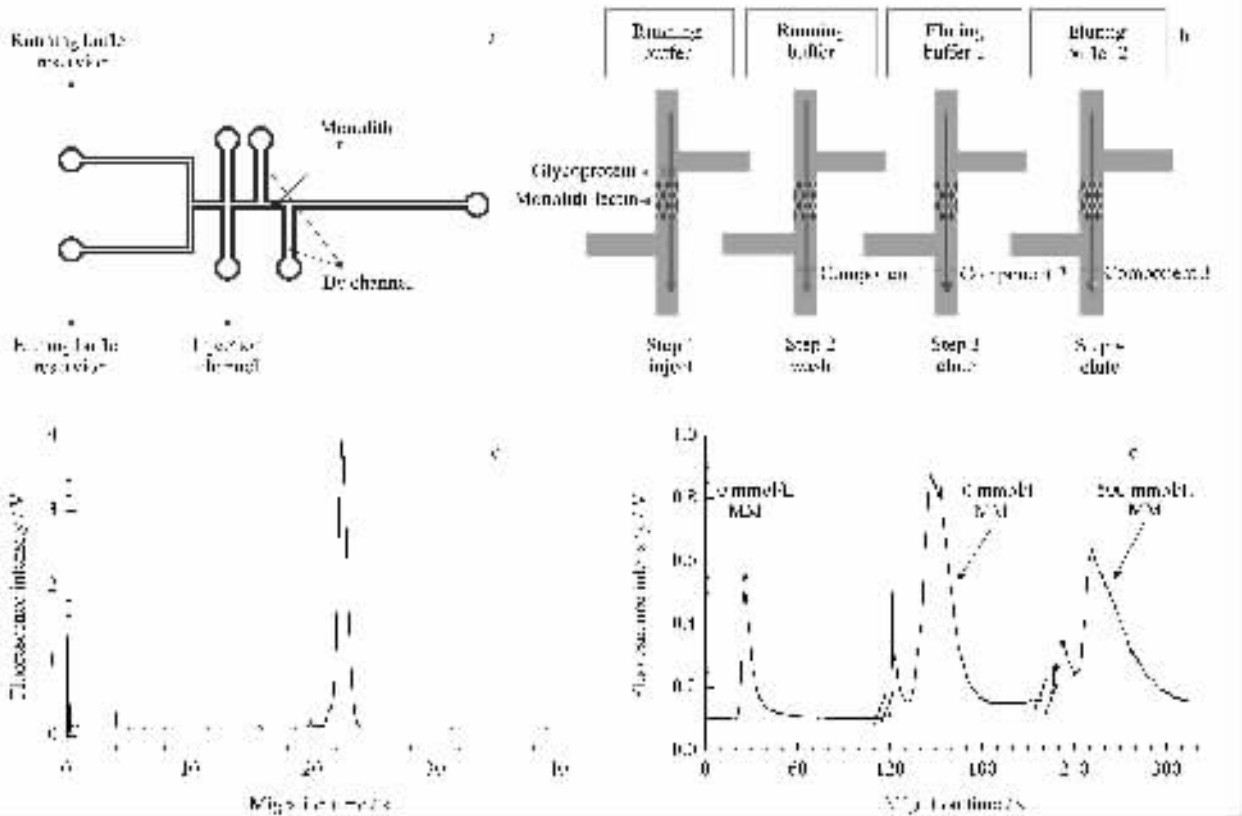


图 3 在微流控芯片平台上实现糖蛋白的糖型分析

Fig.3 Glyco-protein analysis with microfluidic system

a. Layout of the microfluidic chip. b. Operation sequence of *Pisum sativum* agglutinin-affinity microfluidic chip (PSA-AMC). The arrows indicate the movement of solutions. c. Electropherogram of chicken ovalbumin by chip-based capillary electrophoresis. d. Electropherogram of chicken ovalbumin by the PSA-AMC-based method. MM : methyl- α -D-mannopyranoside.

本课题组将等速电泳浓缩与无胶筛分电泳分离相结合,在一块多功能集成芯片上一步实现了蛋白质的浓缩和分离,灵敏度较十字进样分离的结果提高了约 50 倍^[17]。众所周知,等速电泳是在由前导电解质和尾随电解质所组成的非连续介质中进行电泳的分离技术,它可将分离后的组分压缩为一个个很窄的区带,从而达到柱上浓缩的目的。我们将纳米孔径的微膜置于两层芯片之间,通过调节孔径大小截留不同大小的分子,已经用 0.01 μm 孔径的膜截留了急性早幼粒白血病细胞(NB4)悬浮液中的大分子,测到流出液中的小分子谷胱甘肽

(GSH)^[18]。在集成有 4 个平行通道的芯片上,一次同时成功地测定了 4 种不同的氨基酸、胰蛋白酶,实现了胰蛋白酶抑制剂与胰蛋白酶相互作用的并行研究,完成了手性拆分剂在 4 个通道上的同时筛选(见图 4)。

本课题组以两种来自不同物种的卵白蛋白(鸡卵白蛋白和火鸡卵白蛋白)为对象,进行了糖蛋白中的糖链结构和糖型分析,对两种糖蛋白中的糖链结构以及糖型进行了比较^[19]。与此同时,在芯片平台上建立了一种可同时测定细胞活性氧(ROS)和还原型谷胱甘肽的芯片电泳方法,并将其应用于

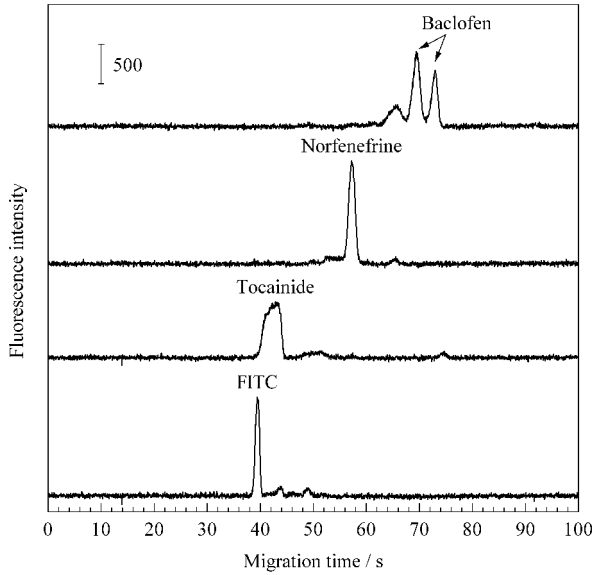


图 4 手性拆分剂在同一芯片 4 个通道上的同时筛选
Fig. 4 Electropherograms of chiral separations

Running buffer: 20 mmol/L phosphate containing 2 mmol/L γ -cyclodextrin, pH 9. 2.

As₂O₃ 诱导 NB₄ 细胞凋亡过程中氧化-还原状态的评价^[20, 21]和运动员体能训练的结果评价。已知活性氧和还原型谷胱甘肽是与细胞氧化应激和凋亡密切相关的两类重要信号物质。传统的检测 ROS 和 GSH 的方法所需样品量大,分析时间长,而且难以对两种物质同时测定。

4 疾病诊断和药物筛选

前已提及,市场化对微流控芯片的基本需求是它的功能化,现阶段功能化的两个重要出口是疾病诊断和药物筛选。我们研究了以基因多态性分析、外源性基因检测和基因表达为基础的基因诊断的可行性^[22, 23],并进行了临床样品严重急性呼吸系统综合征(SARS)病毒、细胞周期蛋白激酶抑制物基因(P16 基因)甲基化、高血压易感基因等的规模检测。利用逆转录多重 PCR 扩增 SARS 基因序列,在自制微流控芯片及相应的芯片分析器上实现了 PCR 反应和电泳检测。由芯片过程测定的 PCR 扩增产物长度和序列得到了测序结果的确认。测定了 18 例疑似 SARS 患者咽拭子样品,其中 17 例用二重逆转录(RT)-PCR 芯片电泳证实为阳性^[24]。采用微流控芯片技术与 PCR-限制性片段长度多态性方法相结合,对大连地区 123 例原发性高血压及 103 例正常人血管紧张素原(AGT)基因核心启动子区-6A/G 基因多态性进行分析,并对两组人群 AGT 基因的 3 种基因型(AA, AG, GG)及等位基因(A, G)频率分布进行了比较(见图 5)^[25]。同样在自行

研制的芯片和芯片分析仪上,配之以自行开发的专用试剂盒,对 93 例肿瘤病人和 66 例对照人群进行较大样本量 P16 基因的 DNA 甲基化检测,并与凝胶电泳和 Agilent 2100 芯片电泳仪的结果作双盲对照,在相当程度上证明了这一技术用于肿瘤早期诊断的可行性^[26]。

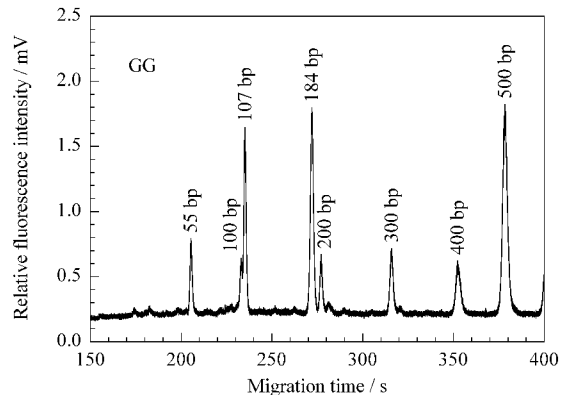
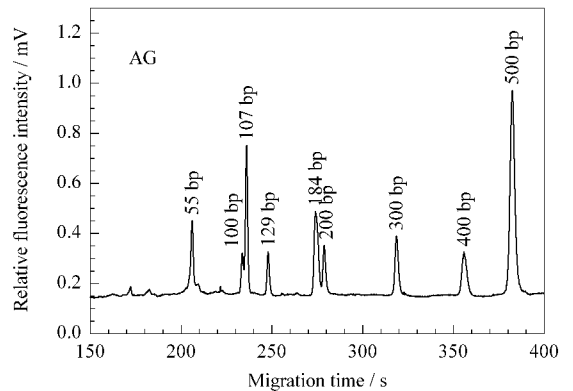
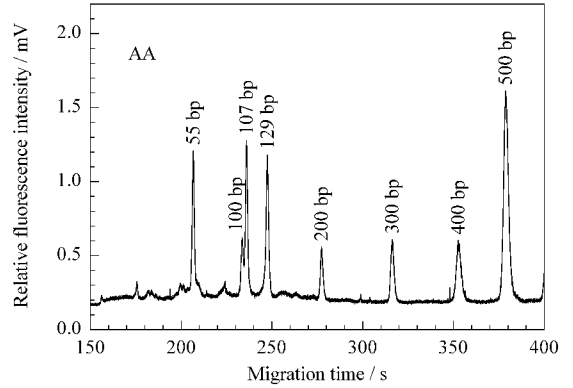


图 5 AGT 基因核心启动子区 -6A/G 3 种基因型 (AA, AG 和 GG) 的芯片电泳图

Fig. 5 Microchip electropherograms of the genotypes (AA, AG and GG) of AGT gene at position -6

除此之外,还开展了人参微卫星位点短串联重复序列多态性分析及在此基础上的东方参和西洋参的鉴别^[27],临床疑诊感染性疾病样品中结核杆菌、丙型肝炎病毒及疑诊强直性脊椎炎样品中白细胞相关抗原 B27 基因等的相关检测,同时完成了细胞或组织核糖核酸(RNA)的完整性评价、不同组织岩藻

糖基转移酶基因表达研究等工作^[28-32]。

药物筛选是现阶段新药开发的主要途径。高通量药物筛选(HTS)是近 10 年发展起来的药物筛选研究方式的主流。HTS 的基础之一是分子水平和细胞水平的相互作用研究。相互作用研究和单核苷酸多态性及蛋白质组研究被称之为后基因组时代工作的三大组成部分。以毛细管电泳为基础的技术是近年来相互作用研究中用得较多的一种,芯片电泳平台也已日趋活跃。毛细管电泳以及芯片毛细管电泳因其样品及试剂消耗少、分析速度快、效率高、操作模式灵活多变、可在生理环境或近生理环境下运行、可给出相互作用常数等特点,已逐渐成为研究生物分子间相互作用的重要手段。以包括高通量在内的大规模集成为特点的芯片实验室已被看成是最有可能满足高通量筛选要求的新兴技术平台之一。

我们以毛细管电泳研究相互作用的积累为基础^[33],搭建了基于多通道芯片电泳的药物筛选技术平台,开展分子水平和细胞水平的药物筛选工作。完成了放线菌素与单、双链 DNA 结合常数和化学计量结合比的测定,并用质谱验证了它的结果^[34]。利用毛细管区带电泳(CZE)研究了粒细胞集落刺激因子(G-CSF)和 15 种硫酸多糖的相互作用,计算了相互作用常数并发现 G-CSF 能和肝素、低分子量肝素、硫酸葡聚糖、卡拉胶等 10 种硫酸多糖结合,而且结合的强弱和糖的硫酸化程度、硫酸化位点、硫酸化类型,以及糖链的长度有关^[35,36]。用 10 种硫酸多糖和含有 G-CSF 受体的鼠骨髓细胞(NFC-60)作用,发现其中的 3 种具有抑制细胞生长并促进其分化的功能。在此基础上,用 Avidin-biotin 系统将肝素固定于芯片通道中的整体柱内,令异硫氰酸荧光素(FITC)标记的 G-CSF 流经肝素柱,与固定化的肝素结合。除去非特异性结合的 G-CSF 后,用一定浓度的糖进行竞争亲和洗脱。根据 G-CSF 能否被洗脱及洗脱时间的长短来确定所用的糖与 G-CSF 能否作用及作用的强弱,再次实现了芯片平台上的相互作用研究。

这样一种已被证实的 G-CSF-肝素相互作用体系又被用来验证本实验室发展的一种通过单分子记数的手段定性测定分子相互作用的方法。我们发现,隐失场中在样品荧光团浓度一致的情况下,随着被检测分子分子质量的增大,检测到的分子个数减小。FITC 标记的不同长度的系列寡核苷酸分子的记数结果均符合这一规律(见图 6)。据此我们推断,发生相互作用而结合的分子复合体的单分子个数应该小于发生相互作用前的单分子个数。肝素与 G-CSF 相互作用体系验证了上述推断。这一发现

有可能提供一种全新的检测相互作用的方法^[37]。在此基础上,灵活地实现了宽场检测和隐失场检测的切换,并以纳米颗粒和多染料标记的 λ -DNA 分子为流体示踪剂监测了压力驱动下微通道中主流流速和近壁流速的差别^[38,39]。

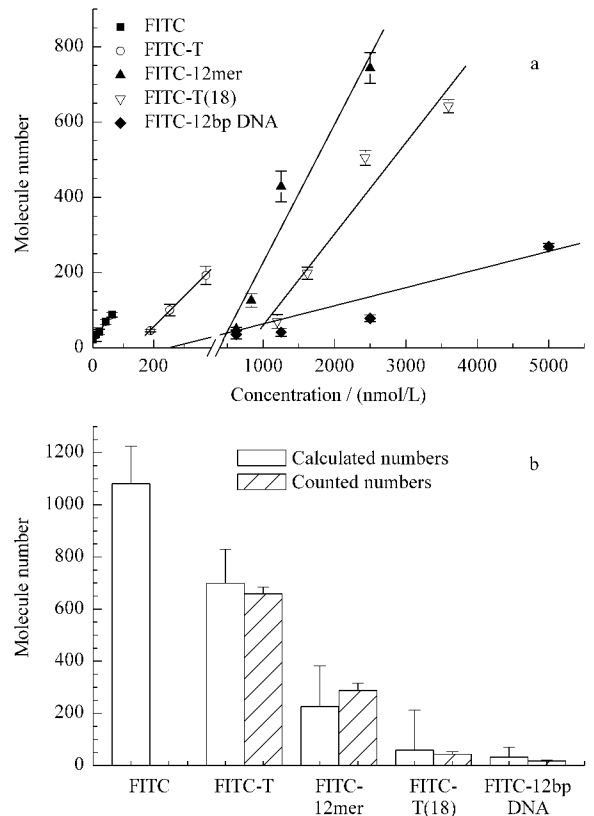


图 6 隐失场中分子个数的记数结果

Fig. 6 Molecule numbers in evanescent wave field

a. linear relationships between the numbers of molecules of oligonucleotides and different concentrations of each type of molecules; b. comparison of the experimental and calculated numbers of individual molecules of oligonucleotides at the same concentration (1 000 nmol/L).

本课题组还构建了一种集成化细胞水平的药物筛选微流控芯片(见图 7)。在已完成的浓度梯度阿霉素诱导肝癌细胞(HepG2)凋亡工作的基础上,增加细胞培养区平行的细胞池个数,使同一浓度药物对应多组不同细胞。这样一种以微流控芯片为基础的筛选平台,集细胞培养、浓度梯度加样、不同小分子-细胞相互作用等单元操作于一体,通过细胞毒性分析、细胞凋亡分析等筛选不同的先导化合物或抗凋亡药物^[40]。

目前,一种基于微流控芯片的 DNA 计算机研究工作在本课题组也已取得一定的进展^[41-43]。迄今为止报道的 DNA 计算机缺乏存储功能,难以将计算结果实时记录存储下来,成为影响该领域发展的瓶颈之一。我们提出了以微流控芯片为基础的 DNA 计算机的基本构想,将计算机的基本功能单元

如输入、输出、计算、控制单元,尤其是存储单元集成于微流控芯片上,解决了数学中的等腰三角形识别

问题,并尝试将微流控芯片 DNA 计算机用于疾病诊断和药物筛选。

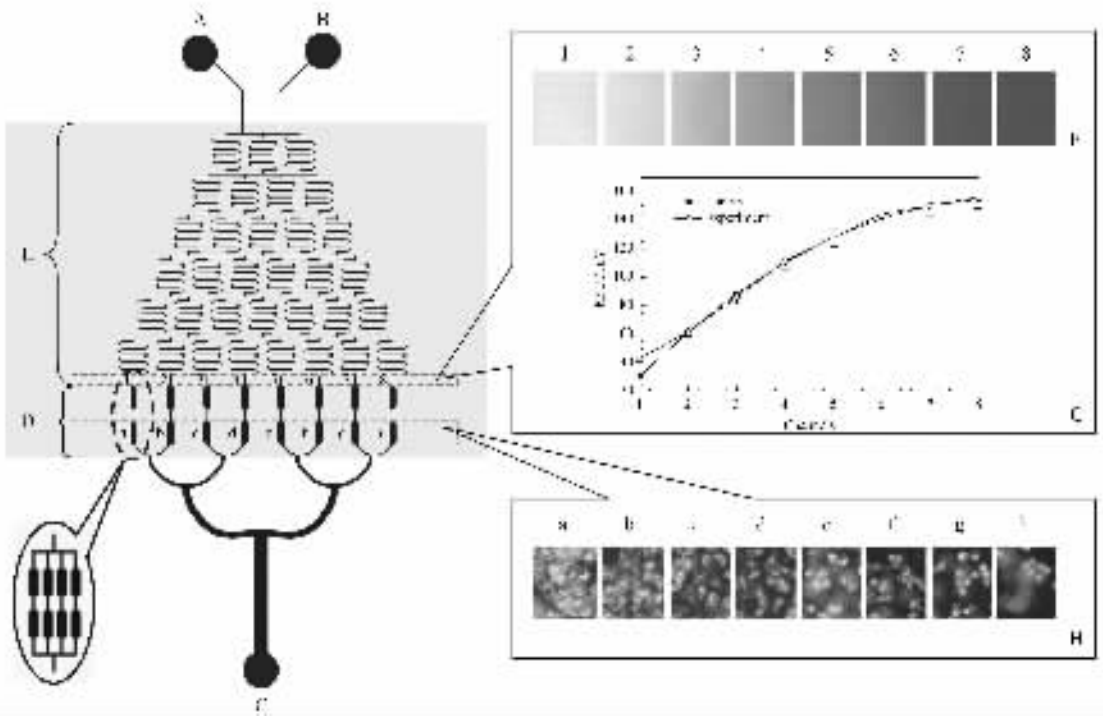


图 7 集成化细胞水平药物筛选微流控芯片

Fig. 7 Integrated microfluidic device for drug screening at cellular level

A : Inlet A (medium); B : Inlet B (medium + drug); C : Cell inlet ; D : Cell culture chamber ; E : Gradient generator ; F : The reagent gradient was visualized by injecting drug solution into inlet B and water into inlet A ; G : A comparison between theoretical estimates and experimentally obtained data ; H : The collapse of mitochondria membrane potential was found in apoptotic HepG2 cells by fluorescence microscope.

5 结语

微流控芯片是微纳米技术的重要组成部分,是一种正在蓬勃崛起的新的技术平台,其基本特征是多种单元操作在微小空间上的灵活组合和规模集成。微流控芯片研究已在非常广阔的领域取得了进展并显示了其在临床诊断、药物筛选等许多方面的应用潜力。研究人员应以更大的投入涉足于微流控芯片已提供但尚未被完全涉及的研究空间和应用领域,并加快这一技术平台的产业化进程。

致谢 参加此项工作的还有:戴忠鹏、时蔚、盖宏伟、王刚、毛秀丽、梁爱叶、刘大渔、姜雷、吴大朋、刘欣、刘晓君、罗勇、沈铮、龙志成、於林芬、黄淮青、钟润涛、马波、高雁、叶囡楠、解华、李博伟、李进、张宇、曾绍江、陆瑶、王琪、孙燕、周小棉、李大志、王辉、何新亚等,特此致谢!

参考文献:

[1] Vilknér T, Janásek D, Manz A. Anal Chem, 2004, 76(12): 3 373

[2] Minc N, Viovy J L. Comptes Rendus Physique, 2004, 5(5):

565

[3] Chen H, Fang Q, Yin X F, Fang Z L. Lab on a Chip, 2005, 5(7): 719

[4] Dou Y H, Bao N, Xu J J, Meng F, Cheng H Y. Electrophoresis, 2004, 25(17): 3 024

[5] Qiu H B, Yin X B, Yan J L, Zhao X C, Yang X R, Wang E K. Electrophoresis, 2005, 26(3): 687

[6] Shen Zheng, Li Yihai, Lin Bingcheng. China Patent (沈 铮, 李义海, 林炳承. 中国专利): 200420031589. 3, 2004

[7] Long Zhicheng, Lin Bingcheng, Zhou Xiaomian, Li Yihai. China Patent (龙志成, 林炳承, 周小棉, 李义海. 中国专利): 200410020885. 8, 2004

[8] Lin Bingcheng, Wang Gang, Zhou Xiaomian, Ni Chunqi, Dai Zhongpeng. China Patent (林炳承, 王 刚, 周小棉, 倪春起, 戴忠鹏. 中国专利): 200520088915. 9, 2005

[9] Jiang L, Lu Y, Dai Z P, Xie M H, Lin B C. Lab on a Chip, 2005, 5(9): 930

[10] Lin Bingcheng. Journal of China Pharmaceutical University (林炳承. 中国药科大学学报), 2003, 34(1): 1

[11] Wang Hui, Dai Zhongpeng, Wang Li, Bai Jiling, Lin Bingcheng. China Patent (王 辉, 戴忠鹏, 王 利, 白吉玲, 林炳承. 中国专利): 200310119466. 5, 2003

[12] Dai Zhongpeng, Luo Yong, Gai Hongwei, Lin Bingcheng. China Patent (戴忠鹏, 罗 勇, 盖宏伟, 林炳承. 中国专利): 2003111164. 5, 2003

[13] Huia Y N, Wang G, Lin B C, Chan W T. Lab on a Chip, in

- press
- [14] Wu D P , Luo Y , Zhou X M , Dai Z P , Lin B C. Electrophoresis , 2005 , 26(1) : 211
- [15] Wang Hui. [PhD Thesis]. Dalian : Institute of Chemical Physics , CAS(王 辉. [博士学位论文]. 大连 : 中国科学院大连化学物理研究所) , 2005. 3
- [16] Mao X L , Luo Y , Dai Z P , Wang K Y , Du Y G , Lin B C. Anal Chem , 2004 , 76(23) : 6 941
- [17] Huang H Q , Xu F , Dai Z P , Lin B C. Electrophoresis , 2005 , 26(11) : 2 254
- [18] Long Zhicheng , Lin Bingcheng. China Patent(龙志成 , 林炳承. 中国专利) : 200310119149. 3 , 2003
- [19] Mao X L , Wang K Y , Du Y G , Lin B C. Electrophoresis , 2003 , 24(18) : 3 273
- [20] Qin J H , Ye N N , Yu L F , Liu D Y , Fung Y S , Wang W , Ma X J , Lin B C. Electrophoresis , 2005 , 26(6) : 1 155
- [21] Qin J H , Ye N N , Liu X , Lin B C. Electrophoresis , in press
- [22] Qin J H , Fung Y S , Lin B C. Expert Review of Molecular Diagnostics , 2003 , 3(3) : 387
- [23] Wang H , Qin J H , Dai Z P , Wang L , Bai J L , Lin B C. J Sep Sci , 2003 , 26(9-10) : 869
- [24] Zhou X M , Liu D Y , Zhong R T , Dai Z P , Wu D P , Wang H , Du Y G , Xia Z N , Zhang L P , Mei X D , Lin B C. Electrophoresis , 2004 , 25(17) : 3 032
- [25] Qin J H , Liu Z Y , Wu D P , Zhu N , Zhou X M , Fung Y S , Lin B C. Electrophoresis , 2005 , 26(1) : 219
- [26] Zhou X M , Shao S J , Xu G D , Zhong R T , Liu D Y , Tang J W , Gao Y N , Cheng S J , Lin B C. J Chromatogr B , 2005 , 816(1/2) : 145
- [27] Qin J H , Leung F C , Fung Y S , Zhu D R , Lin B C. Anal Bio Chem , 2005 , 381(4) : 812
- [28] Zhou X M , Dai Z P , Liu X , Luo Y , Wang H , Lin B C. J Sep Sci , 2005 , 28(3) : 225
- [29] Liu D Y , Zhou X M , Zhong R T , Ye N N , Chang G H , Xiong W , Mei X D , Lin B C. Talanta , in press
- [30] Du M , Flanagan J H , Lin B C , Ma Y F. Electrophoresis , 2003 , 24(18) : 3 147
- [31] Qin J H , Fung Y S , Zhu D R , Lin B C. J Chromatogr A , 2004 , 1 027(1/2) : 223
- [32] Qin Jianhua. [PhD Thesis]. Dalian : Institute of Chemical Physics , CAS(秦建华. [博士学位论文]. 大连 : 中国科学院大连化学物理研究所) , 2005. 6
- [33] He X Y , Ding Y S , Li D Z , Lin B C. Electrophoresis , 2004 , 25(4/5) : 697
- [34] Zhou Xiaomian. [PhD Thesis]. Dalian : Institute of Chemical Physics , CAS(周小棉. [博士学位论文]. 大连 : 中国科学院大连化学物理研究所) , 2005. 3
- [35] Liang A Y , He X Y , Du Y G , Wang K Y , Fung Y S , Lin B C. Electrophoresis , 2004 , 25(6) : 870
- [36] Liang A Y , Chao Y P , Liu X J , Du Y G , Wang K Y , Qian S J , Lin B C. Electrophoresis , in press
- [37] Gai H W , Wang Q , Ma Y F , Lin B C. Angewandte Chemie International Edition , 2005 , 44(32) : 5 107
- [38] Gai H W , Li Y , Silber-Li Z , Ma Y F , Lin B C. Lab on a Chip , 2005 , 5(4) : 443
- [39] Gai H W , Yu L F , Dai Z P , Ma Y F , Lin B C. Electrophoresis , 2004 , 25(12) : 1 888
- [40] Lin B C. The 11th Asian Chemical Congress for the Quantum Leap of Asian Chemistry. Seoul , Korea : [s. n.] , 2005. 26
- [41] Lin Bingcheng , Li Bowei , Xie Hua , Ding Yongsheng , Huang Zhende. China Patent(林炳承 , 李博伟 , 解 华 , 丁永生 , 黄振德. 中国专利) : 200410100842. 0 , 2004
- [42] Lin Bingcheng , Xie Hua , Li Bowei , Huang Zhende , Ding Yongsheng. China Patent(林炳承 , 解 华 , 李博伟 , 黄振德 , 丁永生. 中国专利) : 200410082860. 0 , 2004
- [43] Lin Bingcheng , Li Bowei , Xie Hua , Ding Yongsheng , Huang Zhende. China Patent(林炳承 , 李博伟 , 解 华 , 丁永生 , 黄振德. 中国专利) : 200410082858. 3 , 2004