



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101892285 A

(43) 申请公布日 2010. 11. 24

(21) 申请号 201010207379. 5

(22) 申请日 2010. 06. 23

(71) 申请人 西安交通大学

地址 710049 陕西省西安市碑林区咸宁西路
28 号

(72) 发明人 徐峰 卢天健 吴锦慧 周丽宏

(74) 专利代理机构 西安智大知识产权代理事务
所 61215

代理人 贺建斌

(51) Int. Cl.

C12Q 1/02 (2006. 01)

权利要求书 4 页 说明书 4 页

(54) 发明名称

一种三维细胞芯片的制备方法

(57) 摘要

一种三维细胞芯片的制备方法, 先制备用于形成微孔阵列的溶胶溶液, 制备与细胞培养液混合的溶胶溶液, 再制备微孔阵列, 然后制备含细胞的细胞培养液, 再制备细胞 - 溶胶的悬浮液, 最后打印细胞到微孔阵列中; 或者先制备用于形成微孔阵列的溶胶溶液, 再制备微孔阵列, 然后制备含细胞的细胞培养液, 最后打印细胞到微孔阵列中, 本发明制备的细胞芯片中, 细胞以三维培养的方式生长, 故而具有研究结果的可靠性和准确性高的优点。

1. 一种三维细胞芯片的制备方法,其特征在于:包括以下具体步骤:

第一步,制备用于形成微孔阵列的溶胶溶液,将水凝胶单体或水凝胶大分子单体、交联剂和水凝胶溶剂按质量比 1 : (0 ~ 0.5) : (10 ~ 200) 混合成第一溶胶溶液,水凝胶为聚乙二醇、聚乙烯醇、普朗尼克 (Pluronic)、透明质酸、琼脂糖、胶原、明胶、壳聚糖、基质胶、海藻酸钠或海藻酸钙,交联剂为 N- 亚甲基双丙烯酰胺 (NMBA)、戊二醛 (GDA)、二甲基丙烯酸酐、2- 羟基 - 甲基苯基丙烷 -1- 酮或 β - 甘油磷酸钠,水凝胶溶剂为去离子水、纯水或 PH 值为 5.7 ~ 8.0 的磷酸盐 (PBS) 缓冲溶液,

第二步,制备与细胞培养液混合的溶胶溶液,将水凝胶的单体或水凝胶大分子单体、交联剂和水凝胶溶剂按质量比 1 : (0 ~ 0.2) : (10 ~ 300) 混合成第二溶胶溶液,水凝胶为聚乙二醇、聚乙烯醇、普朗尼克 (Pluronic)、透明质酸、琼脂糖、胶原、明胶、壳聚糖、基质胶、海藻酸钠或海藻酸钙,交联剂为 N- 亚甲基双丙烯酰胺 (NMBA)、戊二醛 (GDA)、甲基丙烯酸酐、 β - 甘油磷酸钠或 2- 羟基 - 甲基苯基丙烷 -1- 酮,水凝胶溶剂为水、超纯水或 PH 值为 5.7 ~ 8.0 的磷酸盐 (PBS) 缓冲溶液,

第三步,制备微孔阵列,取 1ml ~ 50ml 第一溶胶溶液置于甲基化处理的载玻片上,并放置在带有小突起的硅胶模具中,利用温控或光照方式使溶胶溶液固化,弃去模具,即得微孔阵列,

第四步,制备含细胞的细胞培养液,将培养后的细胞置于其细胞培养液中,使细胞培养液中的细胞浓度达到 $1 \times 10^4 \text{ cells/ml}$ ~ $1 \times 10^7 \text{ cells/ml}$,制成含细胞的细胞培养液,

第五步,制备细胞 - 溶胶的悬浮液,将含细胞的细胞培养液与第二溶胶溶液按体积比 1 : (1 ~ 10) 进行混合,制成细胞浓度在 $1 \times 10^3 \text{ cells/ml}$ ~ $1 \times 10^7 \text{ cells/ml}$ 的细胞 - 溶胶悬浮液,

第六步,打印细胞到微孔阵列中,将第五步制好的细胞 - 溶胶悬浮液放入注射器,再将注入器与可产生含细胞的液滴装置相接,利用此装置将细胞 - 溶胶的悬浮液或将未与溶胶混合的含细胞的细胞培养液的液滴打印至微孔阵列中,制成三维细胞芯片,细胞打印的方法可采用喷墨打印、电喷射打印、同轴空气辅助喷射、空气动力辅助喷射、空气挤压、喷雾输送、基体辅助激光脉冲打印、激光诱导直写打印、生物激光打印或声控打印。

2. 一种三维细胞芯片的制备方法,其特征在于:包括以下具体步骤:

第一步,制备用于形成微孔阵列的溶胶溶液,将水凝胶单体或水凝胶大分子单体、交联剂和水凝胶溶剂按质量比 1 : (0 ~ 0.5) : (10 ~ 200) 混合成第一溶胶溶液,水凝胶为聚乙二醇、聚乙烯醇、普朗尼克 (Pluronic)、透明质酸、琼脂糖、胶原、明胶、壳聚糖、基质胶或海藻酸,交联剂为 N- 亚甲基双丙烯酰胺 (NMBA)、戊二醛 (GDA)、二甲基丙烯酸酐、2- 羟基 - 甲基苯基丙烷 -1- 酮或 β - 甘油磷酸钠,水凝胶溶剂为去离子水、纯水或 PH 值为 5.7 ~ 8.0 的磷酸盐 (PBS) 缓冲溶液,

第二步,制备微孔阵列,取 1ml ~ 50ml 第一溶胶溶液置于甲基化处理的载玻片上,并放置在带有小突起的硅胶模具中,利用温控或光照方式使溶胶溶液固化,弃去模具,即得微孔阵列,

第三步,制备含细胞的细胞培养液,将培养后的细胞置于其细胞培养液中,使细胞培养液中的细胞浓度达到 $1 \times 10^4 \text{ cells/ml}$ ~ $1 \times 10^7 \text{ cells/ml}$,制成含细胞的细胞培养液,

第四步,打印细胞到微孔阵列中,将第三步制好的含细胞的细胞培养液放入注射器,再

将注入器与可产生含细胞的液滴装置相接,利用此装置将含细胞的细胞培养液的液滴打印至微孔阵列中,制成三维细胞芯片,细胞打印的方法可采用喷墨打印、电喷射打印、同轴空气辅助喷射、空气动力辅助喷射、空气挤压、喷雾输送、基体辅助激光脉冲打印、激光诱导直写打印、生物激光打印或声控打印。

3. 根据权利要求1所述的一种三维细胞芯片的制备方法,其特征在于:包括以下具体步骤:

第一步,制备用于形成微孔阵列的溶胶溶液,将水凝胶大分子单体、交联剂和水凝胶溶剂按质量比1:0.1:100混合成第一溶胶溶液,水凝胶为聚乙二醇,交联剂为2-羟基-甲基苯基丙烷-1-酮,水凝胶溶剂为PH值为7.5的磷酸盐(PBS)缓冲溶液,

第二步,制备与细胞培养液混合的溶胶溶液,将水凝胶大分子单体、水凝胶溶剂按质量比1:200混合成第二溶胶溶液,水凝胶为胶原,水凝胶溶剂为纯水,

第三步,制备微孔阵列,取1ml第一溶胶溶液置于甲基化处理的载玻片上,并放置在带有小突起的硅胶模具中,利用光照方式使溶胶溶液固化,弃去模具,即得微孔阵列,

第四步,制备含细胞的细胞培养液,将培养后的细胞置于其细胞培养液中,使细胞培养液中的细胞浓度达到 1×10^6 cells/ml,制成含细胞的细胞培养液,

第五步,制备细胞-溶胶的悬浮液,再将含细胞的细胞培养液与第二溶胶溶液按体积比1:1进行混合,制成细胞浓度在 5×10^5 cells/ml的细胞-溶胶悬浮液,

第六步,打印细胞到微孔阵列中,将第五步制好的2ml的细胞-胶原溶胶悬浮液放入10ml的注射器中,再将注入器与可产生含细胞的液滴装置相接,利用此装置将细胞-溶胶悬浮液的液滴打印至微孔阵列中,制成三维细胞芯片,细胞打印采用空气挤压。

4. 根据权利要求1所述的一种三维细胞芯片的制备方法,其特征在于:包括以下具体步骤:

第一步,制备用于形成微孔阵列的溶胶溶液,将水凝胶单体和水凝胶溶剂按质量比1:200混合成第一溶胶溶液,水凝胶为胶原,水凝胶溶剂为纯水,

第二步,制备与细胞培养液混合的溶胶溶液,将水凝胶大分子单体、交联剂和水凝胶溶剂按质量比1:0.05:100混合成第二溶胶溶液,水凝胶为透明质酸,交联剂为二甲基丙烯酸酐,水凝胶溶剂为PH值为8.0的磷酸盐(PBS)缓冲溶液,

第三步,制备微孔阵列,取2ml第一溶胶溶液置于甲基化处理的载玻片上,并放置在带有小突起的硅胶模具中,利用温控使溶胶溶液固化,弃去模具,即得微孔阵列,

第四步,制备含细胞的细胞培养液,将培养后的羊骨髓多潜能基质细胞置于其细胞培养液中,使细胞培养液中的细胞浓度达到 3.0×10^5 cells/ml,制成含细胞的细胞培养液,

第五步,制备细胞-溶胶的悬浮液,将含羊骨髓多潜能基质细胞的细胞培养液与第二溶胶溶液按体积比1:2进行混合,制成细胞浓度在 1.0×10^5 cells/ml的细胞-溶胶的悬浮液,

第六步,打印细胞到微孔阵列中,将5ml第五步制好的细胞-溶胶悬浮液放入10ml的注射器中,再将注入器与可产生含细胞的液滴装置相接,利用此装置将细胞-溶胶悬浮液的液滴打印至微孔阵列中,制成三维细胞芯片,细胞打印的方法采用声控打印。

5. 根据权利要求1所述的一种三维细胞芯片的制备方法,其特征在于:包括以下具体步骤:

第一步,制备用于形成微孔阵列的溶胶溶液,将水凝胶大分子单体、交联剂和水凝胶溶剂按质量比 1 : 0.5 : 50 混合成第一溶胶溶液,水凝胶为壳聚糖,交联剂为 β -甘油磷酸钠,水凝胶溶剂为去离子水,

第二步,制备与细胞培养液混合的溶胶溶液,将水凝胶大分子单体、交联剂和水凝胶溶剂按质量比 1 : 0.01 : 10 混合成第二溶胶溶液,水凝胶为聚乙二醇,交联剂为 2-羟基-甲基苯基丙烷-1-酮,水凝胶溶剂为 PH 值为 5.7 的磷酸盐 (PBS) 缓冲溶液,

第三步,制备微孔阵列,取 10ml 第一溶胶溶液置于甲基化处理的载玻片上,并放置在带有小突起的硅胶模具中,利用温控方式使溶胶溶液固化,弃去模具,即得微孔阵列,

第四步,制备含细胞的细胞培养液,将培养后的人神经干细胞细胞置于其细胞培养液中,使细胞培养液中的细胞浓度达到 2×10^6 cells/ml,制成含细胞的细胞培养液,

第五步,制备细胞-溶胶的悬浮液,将含人神经干细胞的细胞培养液与第二溶胶溶液按体积比 1 : 3 进行混合,制成细胞浓度在 5×10^5 cells/ml 的细胞-溶胶的悬浮液,

第六步,打印细胞到微孔阵列中,将 3ml 第五步制好的细胞-溶胶悬浮液放入 10ml 的注射器中,再将注入器与可产生含细胞的液滴装置相接,利用此装置将细胞-溶胶悬浮液的液滴打印至微孔阵列中,制成三维细胞芯片,细胞打印的方法采用激光诱导直写打印。

6. 根据权利要求 2 所述的一种三维细胞芯片的制备方法,其特征在于:包括以下具体步骤:

第一步,制备用于形成微孔阵列的溶胶溶液,将水凝胶的大分子单体、交联剂和水凝胶溶剂按质量比 1 : 0.2 : 50 混合成第一溶胶溶液,水凝胶为聚乙二醇,交联剂为 2-羟基-甲基苯基丙烷-1-酮,水凝胶溶剂为去离子水,

第二步,制备微孔阵列,取 5ml 第一溶胶溶液置于甲基化处理的载玻片上,并放置在带有小突起的硅胶模具中,利用光照使溶胶溶液固化,弃去模具,即得微孔阵列,

第三步,制备含细胞的细胞培养液,将培养后的鼠心房心肌细胞置于其细胞培养液中,使细胞培养液中的细胞浓度达到 4×10^4 cells/ml,制成含鼠心房心肌细胞的细胞培养液,

第四步,打印细胞到微孔阵列中,将 5ml 第三步制好的含细胞的细胞培养液放入注射器中,再将注入器与可产生含细胞的液滴装置相接,利用此装置将含细胞的细胞培养液的液滴打印至微孔阵列中,制成三维细胞芯片,细胞打印的方法采用电喷射打印。

7. 根据权利要求 1 所述的一种三维细胞芯片的制备方法,其特征在于:包括以下具体步骤:

第一步,制备用于形成微孔阵列的溶胶溶液,将水凝胶的大分子单体、交联剂和水凝胶溶剂按质量比 1 : 0.05 : 25 混合成第一溶胶溶液,水凝胶为明胶,交联剂戊二醛,水凝胶溶剂为去离子水,

第二步,制备微孔阵列,取 50ml 第一溶胶溶液置于甲基化处理的载玻片上,并放置在带有小突起的硅胶模具中,利用温控使溶胶溶液固化,弃去模具,即得微孔阵列,

第三步,制备含细胞的细胞培养液,将培养后的人上皮卵巢癌细胞置于其细胞培养液中,使细胞培养液中的细胞浓度达到 2×10^6 cells/ml,制成含人上皮卵巢癌细胞的细胞培养液,

第四步,打印细胞到微孔阵列中,将 5ml 第三步制好的含细胞的细胞培养液放入注射器中,再将注入器与可产生含细胞的液滴装置相接,利用此装置将含细胞的细胞培养液的

液滴打印至微孔阵列中,制成三维细胞芯片,细胞打印的方法采用空气动力辅助喷射。

一种三维细胞芯片的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及细胞芯片的制备领域,具体涉及一种三维细胞芯片的制备方法。

背景技术

[0002] 生物芯片是指将大量探针分子固定于支持物上,然后加入标记的样品分子进行杂交,通过检测每个探针分子的信号强度从而获得样品分子的数量和序列信息,以实现对细胞、蛋白质、基因以及其他生物组分的准确、快速、大信息量的检测,利用生物芯片技术研究细胞代谢机制,生物电化学喜好传导机制以及细胞内环境等方面都具有其他传统方法无法比较的优越性。目前,细胞芯片在国内外已经有大量报道,现有的细胞芯片技术主要是利用显微技术或者纳米技术,采用一系列几何学、力学、电磁学等原理,对芯片进行修饰,从而完成对细胞的捕捉、固定、平衡、运输、刺激以及培养等精确控制,并且通过微小的电化学分析方法,实现对细胞样品的高通量、多参数、连续原委信号检测和细胞组分的分析。现有的细胞芯片主要有以下几类:整合的微流体细胞芯片、微量电穿孔细胞芯片和细胞免疫芯片,然而,现有的细胞芯片中,细胞在芯片中的培养方式为二维的,也就是说,细胞只有一面与外界环境发生作用,而细胞在体内的生存环境都是四周都有刺激因子对其发生作用,另外,由于细胞二维的培养方式,特别是对一些特殊的原代培养细胞,细胞本身的一些生物特性已经消失,存在研究结果的可靠性和准确性低的缺点。

发明内容

[0003] 为了克服上述现有技术的缺点,本发明的目的在于提供一种三维细胞芯片的制备方法,细胞以三维培养的方式生长在细胞芯片当中,具有研究结果的可靠性和准确性高的优点。

[0004] 为了达到上述目的,本发明采取的技术方案为:

[0005] 一种三维细胞芯片的制备方法,包括以下具体步骤:

[0006] 第一步,制备用于形成微孔阵列的溶胶溶液,将水凝胶单体或水凝胶大分子单体、交联剂和水凝胶溶剂按质量比 1 : (0 ~ 0.5) : (10 ~ 200) 混合成第一溶胶溶液,水凝胶为聚乙二醇、聚乙烯醇、普朗尼克 (Pluronic)、透明质酸、琼脂糖、胶原、明胶、壳聚糖、基质胶、海藻酸钠或海藻酸钙,交联剂为 N- 亚甲基双丙烯酰胺 (NMBA)、戊二醛 (GDA)、二甲基丙烯酸酐、2- 羟基 - 甲基苯基丙烷 -1- 酮或 β - 甘油磷酸钠,水凝胶溶剂为去离子水、纯水或 PH 值为 5.7 ~ 8.0 的磷酸盐 (PBS) 缓冲溶液,

[0007] 第二步,制备与细胞培养液混合的溶胶溶液,将水凝胶的单体或水凝胶大分子单体、交联剂和水凝胶溶剂按质量比 1 : (0 ~ 0.2) : (10 ~ 300) 混合成第二溶胶溶液,水凝胶为聚乙二醇、聚乙烯醇、普朗尼克 (Pluronic)、透明质酸、琼脂糖、胶原、明胶、壳聚糖、基质胶、海藻酸钠或海藻酸钙,交联剂为 N- 亚甲基双丙烯酰胺 (NMBA)、戊二醛 (GDA)、甲基丙烯酸酐、 β - 甘油磷酸钠或 2- 羟基 - 甲基苯基丙烷 -1- 酮,水凝胶溶剂为水、超纯水或 PH 值为 5.7 ~ 8.0 的磷酸盐 (PBS) 缓冲溶液,

[0008] 第三步,制备微孔阵列,取 1ml ~ 50ml 第一溶胶溶液置于甲基化处理的载玻片上,并放置在带有小突起的硅胶模具中,利用温控或光照方式使溶胶溶液固化,弃去模具,即得微孔阵列,

[0009] 第四步,制备含细胞的细胞培养液,将培养后的细胞置于其细胞培养液中,使细胞培养液中的细胞浓度达到 $1 \times 10^4 \text{ cells/ml} \sim 1 \times 10^7 \text{ cells/ml}$,制成含细胞的细胞培养液,

[0010] 第五步,制备细胞-溶胶的悬浮液,将含细胞的细胞培养液与第二溶胶溶液按体积比 1 : (1 ~ 10) 进行混合,制成细胞浓度在 $1 \times 10^3 \text{ cells/ml} \sim 1 \times 10^7 \text{ cells/ml}$ 的细胞-溶胶悬浮液,

[0011] 第六步,打印细胞到微孔阵列中,将第五步制好的细胞-溶胶悬浮液放入注射器,再将注入器与可产生含细胞的液滴装置相接,利用此装置将细胞-溶胶的悬浮液或将未与溶胶混合的含细胞的细胞培养液的液滴打印至微孔阵列中,制成三维细胞芯片,细胞打印的方法可采用喷墨打印、电喷射打印、同轴空气辅助喷射、空气动力辅助喷射、空气挤压、喷雾输送、基体辅助激光脉冲打印、激光诱导直写打印、生物激光打印或声控打印。

[0012] 本发明还能够通过下面的方法来实现。

[0013] 一种三维细胞芯片的制备方法,包括以下具体步骤:

[0014] 第一步,制备用于形成微孔阵列的溶胶溶液,将水凝胶单体或水凝胶大分子单体、交联剂和水凝胶溶剂按质量比 1 : (0 ~ 0.5) : (10 ~ 200) 混合成第一溶胶溶液,水凝胶为聚乙二醇、聚乙烯醇、普朗尼克 (Pluronic)、透明质酸、琼脂糖、胶原、明胶、壳聚糖、基质胶或海藻酸,交联剂为 N-亚甲基双丙烯酰胺 (NMBA)、戊二醛 (GDA)、二甲基丙烯酸酐、2-羟甲基-甲基苯基丙烷-1-酮或 β -甘油磷酸钠,水凝胶溶剂为去离子水、纯水或 PH 值在 5.7 ~ 8.0 的磷酸盐 (PBS) 缓冲溶液,

[0015] 第二步,制备微孔阵列,取 1ml ~ 50ml 第一溶胶溶液置于甲基化处理的载玻片上,并放置在带有小突起的硅胶模具中,利用温控或光照方式使溶胶溶液固化,弃去模具,即得微孔阵列,

[0016] 第三步,制备含细胞的细胞培养液,将培养后的细胞置于其细胞培养液中,使细胞培养液中的细胞浓度达到 $1 \times 10^4 \text{ cells/ml} \sim 1 \times 10^7 \text{ cells/ml}$,制成含细胞的细胞培养液,

[0017] 第四步,打印细胞到微孔阵列中,将第三步制好的含细胞的细胞培养液放入注射器,再将注入器与可产生含细胞的液滴装置相接,利用此装置将含细胞的细胞培养液的液滴打印至微孔阵列中,制成三维细胞芯片,细胞打印的方法可采用喷墨打印、电喷射打印、同轴空气辅助喷射、空气动力辅助喷射、空气挤压、喷雾输送、基体辅助激光脉冲打印、激光诱导直写打印、生物激光打印或声控打印。

[0018] 由于本发明制备的细胞芯片中,细胞以三维培养的方式生长,故而具有研究结果的可靠性和准确性高的优点。

具体实施方式

[0019] 下面结合具体实施例对本发明进行详细说明

[0020] 实施例 1:制备三维鼠膀胱平滑肌细胞芯片

[0021] 一种三维细胞芯片的制备方法,包括以下具体步骤:

[0022] 第一步,制备用于形成微孔阵列的溶胶溶液,将水凝胶大分子单体、交联剂和水凝

胶溶剂按质量比 1 : 0.1 : 100 混合成第一溶胶溶液,水凝胶为聚乙二醇,交联剂为 2- 羟基 - 甲基苯基丙烷 -1- 酮,水凝胶溶剂为 PH 值为 7.5 的磷酸盐 (PBS) 缓冲溶液。

[0023] 第二步,制备与细胞培养液混合的溶胶溶液,将水凝胶大分子单体、水凝胶溶剂按质量比 1 : 200 混合成第二溶胶溶液,水凝胶为胶原,水凝胶溶剂为纯水,

[0024] 第三步,制备微孔阵列,取 1ml 第一溶胶溶液置于甲基化处理的载玻片上,并放置在带有小突起的硅胶模具中,利用光照方式使溶胶溶液固化,弃去模具,即得微孔阵列,

[0025] 第四步,制备含细胞的细胞培养液,将培养后的细胞置于其细胞培养液中,使细胞培养液中的细胞浓度达到 1×10^6 cells/ml,制成含细胞的细胞培养液,

[0026] 第五步,制备细胞 - 溶胶的悬浮液,再将含细胞的细胞培养液与第二溶胶溶液按体积比 1 : 1 进行混合,制成细胞浓度在 5×10^5 cells/ml 的细胞 - 溶胶悬浮液,

[0027] 第六步,打印细胞到微孔阵列中,将第五步制好的 2ml 的细胞 - 胶原溶胶悬浮液放入 10ml 的注射器中,再将注入器与可产生含细胞的液滴装置相接,利用此装置将细胞 - 溶胶悬浮液的液滴打印至微孔阵列中,制成三维细胞芯片,细胞打印采用空气挤压。

[0028] 实施例 2 :制备三维羊骨髓多潜能基质细胞芯片

[0029] 一种三维细胞芯片的制备方法,包括以下具体步骤:

[0030] 第一步,制备用于形成微孔阵列的溶胶溶液,将水凝胶单体和水凝胶溶剂按质量比 1 : 200 混合成第一溶胶溶液,水凝胶为胶原,水凝胶溶剂为纯水,

[0031] 第二步,制备与细胞培养液混合的溶胶溶液,将水凝胶大分子单体、交联剂和水凝胶溶剂按质量比 1 : 0.05 : 100 混合成第二溶胶溶液,水凝胶为透明质酸,交联剂为二甲基丙烯酸酐,水凝胶溶剂为 PH 值为 8.0 的磷酸盐 (PBS) 缓冲溶液,

[0032] 第三步,制备微孔阵列,取 2ml 第一溶胶溶液置于甲基化处理的载玻片上,并放置在带有小突起的硅胶模具中,利用温控使溶胶溶液固化,弃去模具,即得微孔阵列,

[0033] 第四步,制备含细胞的细胞培养液,将培养后的羊骨髓多潜能基质细胞置于其细胞培养液中,使细胞培养液中的细胞浓度达到 3.0×10^5 cells/ml,制成含细胞的细胞培养液,

[0034] 第五步,制备细胞 - 溶胶的悬浮液,将含羊骨髓多潜能基质细胞的细胞培养液与第二溶胶溶液按体积比 1 : 2 进行混合,制成细胞浓度在 1.0×10^5 cells/ml 的细胞 - 溶胶的悬浮液,

[0035] 第六步,打印细胞到微孔阵列中,将 5ml 第五步制好的细胞 - 溶胶悬浮液放入 10ml 的注射器中,再将注入器与可产生含细胞的液滴装置相接,利用此装置将细胞 - 溶胶悬浮液的液滴打印至微孔阵列中,制成三维细胞芯片,细胞打印的方法采用声控打印。

[0036] 实施例 3 :制备三维人神经干细胞芯片

[0037] 一种三维细胞芯片的制备方法,包括以下具体步骤:

[0038] 第一步,制备用于形成微孔阵列的溶胶溶液,将水凝胶大分子单体、交联剂和水凝胶溶剂按质量比 1 : 0.5 : 50 混合成第一溶胶溶液,水凝胶为壳聚糖,交联剂为 β - 甘油磷酸钠,水凝胶溶剂为去离子水,

[0039] 第二步,制备与细胞培养液混合的溶胶溶液,将水凝胶大分子单体、交联剂和水凝胶溶剂按质量比 1 : 0.01 : 10 混合成第二溶胶溶液,水凝胶为聚乙二醇,交联剂为 2- 羟基 - 甲基苯基丙烷 -1- 酮,水凝胶溶剂为 PH 值为 5.7 的磷酸盐 (PBS) 缓冲溶液,

[0040] 第三步,制备微孔阵列,取 10ml 第一溶胶溶液置于甲基化处理的载玻片上,并放置在带有小突起的硅胶模具中,利用温控方式使溶胶溶液固化,弃去模具,即得微孔阵列,

[0041] 第四步,制备含细胞的细胞培养液,将培养后的人神经干细胞细胞置于其细胞培养液中,使细胞培养液中的细胞浓度达到 $2 \times 10^6 \text{ cells/ml}$,制成含细胞的细胞培养液,

[0042] 第五步,制备细胞-溶胶的悬浮液,将含人神经干细胞的细胞培养液与第二溶胶溶液按体积比 1 : 3 进行混合,制成细胞浓度在 $5 \times 10^5 \text{ cells/ml}$ 的细胞-溶胶的悬浮液,

[0043] 第六步,打印细胞到微孔阵列中,将 3ml 第五步制好的细胞-溶胶悬浮液放入 10ml 的注射器中,再将注入器与可产生含细胞的液滴装置相接,利用此装置将细胞-溶胶悬浮液的液滴打印至微孔阵列中,制成三维细胞芯片,细胞打印的方法采用激光诱导直写打印。

[0044] 实施例 4 :制备三维鼠心房心肌细胞芯片

[0045] 一种三维细胞芯片的制备方法,包括以下具体步骤:

[0046] 第一步,制备用于形成微孔阵列的溶胶溶液,将水凝胶的大分子单体、交联剂和水凝胶溶剂按质量比 1 : 0.2 : 50 混合成第一溶胶溶液,水凝胶为聚乙二醇,交联剂为 2-羟基-甲基苯基丙烷-1-酮,水凝胶溶剂为去离子水,

[0047] 第二步,制备微孔阵列,取 5ml 第一溶胶溶液置于甲基化处理的载玻片上,并放置在带有小突起的硅胶模具中,利用光照使溶胶溶液固化,弃去模具,即得微孔阵列,

[0048] 第三步,制备含细胞的细胞培养液,将培养后的鼠心房心肌细胞置于其细胞培养液中,使细胞培养液中的细胞浓度达到 $4 \times 10^4 \text{ cells/ml}$,制成含鼠心房心肌细胞的细胞培养液,

[0049] 第四步,打印细胞到微孔阵列中,将 5ml 第三步制好的含细胞的细胞培养液放入注射器中,再将注入器与可产生含细胞的液滴装置相接,利用此装置将含细胞的细胞培养液的液滴打印至微孔阵列中,制成三维细胞芯片,细胞打印的方法采用电喷射打印。

[0050] 实施例 5 :制备三维人上皮卵巢癌细胞芯片

[0051] 一种三维细胞芯片的制备方法,包括以下具体步骤:

[0052] 第一步,制备用于形成微孔阵列的溶胶溶液,将水凝胶的大分子单体、交联剂和水凝胶溶剂按质量比 1 : 0.05 : 25 混合成第一溶胶溶液,水凝胶为明胶,交联剂戊二醛,水凝胶溶剂为纯水,

[0053] 第二步,制备微孔阵列,取 50ml 第一溶胶溶液置于甲基化处理的载玻片上,并放置在带有小突起的硅胶模具中,利用温控使溶胶溶液固化,弃去模具,即得微孔阵列,

[0054] 第三步,制备含细胞的细胞培养液,将培养后的人上皮卵巢癌细胞置于其细胞培养液中,使细胞培养液中的细胞浓度达到 $2 \times 10^6 \text{ cells/ml}$,制成含人上皮卵巢癌细胞的细胞培养液,

[0055] 第四步,打印细胞到微孔阵列中,将 5ml 第三步制好的含细胞的细胞培养液放入注射器中,再将注入器与可产生含细胞的液滴装置相接,利用此装置将含细胞的细胞培养液的液滴打印至微孔阵列中,制成三维细胞芯片,细胞打印的方法采用空气动力辅助喷射。

[0056] 尽管以上实施例子中对本发明的实验方案进行了详细描述,但本发明并不限于上述具体实施例。