

УДК 616.4

ЧИСЛЕННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕПРЕРЫВНОГО РАЗДЕЛЕНИЯ КЛЕТОК КРОВИ В МИКРОФЛЮИДНОМ УСТРОЙСТВЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДИЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИХ И ГИДРОДИНАМИЧЕСКИХ СИЛ

С. Бахрами, М. С. Феали

Исламский университет Азад, Керманшах, Иран
E-mails: bahrami.s@iran.ir, msaeed.feali@gmail.com

Представлена новая конструкция микрофлюидного устройства для непрерывного отделения клеток крови от разжиженной цельной крови. Работа устройства основана на явлении диэлектрофореза. В отличие от существующих предложенный сепаратор предназначен для одновременного разделения большего количества типов клеток крови с требуемой точностью. С использованием метода конечных элементов исследуется эффективность работы устройства при разделении клеток крови пяти типов. В предложенном сепараторе для разделения клеток крови используются как диэлектрофоретические, так и гидродинамические силы сопротивления. Выполнена оценка эффективности работы сепаратора при различных режимах эксплуатации.

Ключевые слова: кровь, разделение, диэлектрофорез.

DOI: 10.15372/PMTF20220207

Введение. Для работы с биочастицами разрабатываются различные устройства с использованием микрожидкостной технологии. Одним из основных элементов устройств, в которых используется микрожидкостная технология, являются микросепараторы. Процесс разделения биологических клеток в образце, являющийся исходным пунктом протоколов биологических и медицинских исследований, осуществляется с учетом размера, сжимаемости, плотности и других свойств клеток. Обычно разделение выполняется с использованием центрифуги или процессов фильтрации. Для реализации таких методов требуются большой объем подготовительной работы и большое количество реагентов. В последнее время при работе с биологическими частицами широко применяются микрофлюидные устройства, имеющие ряд преимуществ по сравнению с обычными устройствами: небольшое энергопотребление, возможность исследования небольших образцов, низкая стоимость, небольшое время реакции, простота конструкции и т. д.

При использовании микросистем можно применять различные методы разделения клеток, такие как акусто-, магнито-, электро-, диэлектрофорез и т. д. Для применения некоторых из этих методов необходима маркировка частиц. Например, при использовании магнитофореза к исследуемым биочастицам добавляются магнитные шарики. Маркировка частиц делает процесс их разделения более сложным и трудоемким. Кроме того, маркировка может приводить к уменьшению жизнеспособности биочастиц. В тех методах,

в которых не проводится маркировка частиц, используются их различные свойства. В акустофоретических сепараторах частицы разделяются с учетом их способности к акустическому поглощению. Также широко используются электрокинетические силы, поскольку при этом не требуется маркировка биологических клеток. Электрокинетическая сила действует на электрически заряженные или не заряженные частицы, находящиеся в электрическом поле [1]. Электрическое поле создает электрофорез (движение заряженных частиц под действием однородного или неоднородного электрического поля) или диэлектрофорез (движение незаряженных (поляризованных) частиц в неоднородном электрическом поле). Поскольку большинство биологических клеток не заряжены, при работе с ними обычно используется диэлектрофорез (ДЭФ) [2]. В зависимости от типа приложенного электрического поля такие устройства классифицируются следующим образом: ДЭФ при постоянном электрическом токе; ДЭФ при переменном электрическом токе; ДЭФ при постоянном и переменном электрическом токе; ДЭФ, обусловленный наличием бегущей волны [2]. ДЭФ зависит от формы и размера частиц, электрических свойств жидкости и частиц, а также от частоты и амплитуды приложенного неоднородного электрического поля [3]. При использовании микрофлюидных сепараторов на основе ДЭФ не требуется какой-либо модификации частиц и образцов, вследствие чего процесс разделения частиц является более простым и быстрым, чем в случае использования других методов разделения.

Кровь, являющаяся одной из наиболее важных жидкостей в организме человека, состоит из клеток четырех основных типов: белых кровяных клеток, красных кровяных клеток, плазмы и тромбоцитов. Объем, занимаемый лейкоцитами и тромбоцитами, составляет приблизительно 1 % объема крови, в то время как объем, занимаемый эритроцитами и плазмой, — 45–50 % и приблизительно 5 % объема крови соответственно [4].

При анализе состояния здоровья человека контролируется содержание этих составляющих в крови. Кроме того, при диагностике и лечении многих заболеваний необходимо разделение крови на составляющие. С помощью анализа крови могут быть диагностированы рак и различные инфекционные заболевания.

Как отмечено выше, ДЭФ является эффективным методом разделения клеток крови различного типа. По сравнению с сепараторами на основе центрифугирования и фильтрации сепараторы на основе ДЭФ имеют существенные преимущества, такие как возможность использования совместно с другими устройствами, спроектированными на основе микрожидкостной технологии, отсутствие необходимости модификации частиц, меньшее время, необходимое для разделения клеток, более простая конструкция, необходимость использования меньшего объема крови и т. д. В работе [5] описано микрофлюидное устройство на основе ДЭФ, отделяющее тромбоциты от других клеток крови в непрерывном потоке [5]. Различие размеров тромбоцитов и эритроцитов позволяет использовать диэлектрофоретические и гидродинамические силы для разделения этих клеток. В предлагаемом в [5] устройстве используются так называемые жидкие электроды, создающие низкое напряжение. Применение этого устройства позволяет эффективно и быстро отделять тромбоциты от других клеток крови. В работе [6] изложена численная модель сепаратора клеток, предназначенного для полной и непрерывной сортировки клеток крови с использованием ДЭФ. В этом устройстве при разделении красных, белых кровяных клеток и тромбоцитов учитывается различие размеров этих клеток. В [6] описаны также различные конструкции, обеспечивающие выход клеток крови из канала, и исследовано влияние количества входящих клеток и скорости потока на эффективность работы устройства. В [7] с помощью конечно-элементных моделей описано микрофлюидное устройство, в котором плазма отделяется от крови в микрофлюидном канале с тупиковыми ветвями, расположенными с обеих сторон канала. В этом устройстве для разделения клеток используются как диэлектрофоретические, так и гидродинамические силы. В работе [8] с помощью численных методов

выполнена оптимизация микрофлюидного устройства. Предложенный сепаратор может различать все клетки даже при низкой частоте переменного тока, подаваемого на электроды. В [9] представлена конструкция сепаратора для отделения тромбоцитов от других клеток крови в микрофлюидных каналах, работа которого основана на явлении диэлектрофореза [9]. Тромбоциты являются наименьшими клетками крови, поэтому под действием диэлектрофоретических сил эффективно отделяются по размеру от других клеток крови без использования маркировки. Микрофлюидный диэлектрофоретический сепаратор, в котором для отделения бесклеточной плазмы от цельной крови используются капиллярные силы, описан в [10]. При использовании этого метода не требуется предварительное разжижение крови. Также для работы предложенного устройства не нужен насос.

В данной работе описана новая конструкция микрофлюидного устройства для непрерывного отделения клеток крови различного типа от разбавленной цельной крови. Для оценки эффективности работы устройства используются численные методы. В отличие от других устройств предлагаемый сепаратор предназначен для одновременного разделения большого количества типов клеток крови с необходимой точностью. В этом микрофлюидном устройстве для эффективного разделения клеток используются как диэлектрофоретические, так и гидродинамические силы сопротивления. При моделировании движения частиц и жидкости, электрического поля и траекторий клеток крови в канале сепаратора применяется программное обеспечение COMSOL. Полученные результаты сравниваются с известными экспериментальными данными.

1. Проектирование микрофлюидных устройств и численное моделирование процесса разделения клеток. Ниже изложены математические модели, используемые для вычисления характеристик электрического поля в микроканале, определения диэлектрофоретических и гидродинамических сил, а также траекторий движения частиц крови.

1.1. Конструкция устройства и метод разделения клеток. Геометрия предлагаемого сепаратора показана на рис. 1. Разбавленная кровь вводится в канал сепаратора через среднее входное отверстие. Через другие входные отверстия вводится буферный раствор, что позволяет выстроить клетки крови в линию. Ширина входных отверстий 1 и 2 составляет 40 мкм, ширина выходных отверстий для клеток U937, красных кровяных клеток, В- и Т-клеток, тромбоцитов равна 15, 20, 15, 40, 55 мкм соответственно. Одним из способов создания неравномерного электрического поля, необходимого для генерации диэлектрофоретической силы, является подача напряжения на электроды изогнутого микроканала, в котором они расположены с двух сторон [11]. В предлагаемой конструкции сепаратора несколько выходных отверстий расположены на стенках микроканала на различных расстояниях от входного отверстия. Клетки каждого типа выходят из предназначенного для них отверстия. Клетки крови выходят из каналов на различном расстоянии от входа. В зависимости от расстояния от входов канал делится на несколько областей (см. рис. 1). В предлагаемой конструкции предусмотрена возможность использования различных напряжений и частот электродов в различных областях микроканала. Выбор сигнала напряжения для каждой области канала зависит от типа клетки, которая выходит из канала в этой области. Иными словами, в каждой области канала происходит отделение определенного типа клеток крови за счет подачи соответствующего сигнала напряжения. На клетки, движущиеся в канале сепаратора, действуют две силы: диэлектрофоретическая и гидродинамическая сила сопротивления. Сначала под действием диэлектрофоретической силы клетки каждого типа отклоняются в канале в направлении конкретного выхода, а затем вследствие наличия градиента давления вблизи отверстия клетки втягиваются в выходное отверстие.

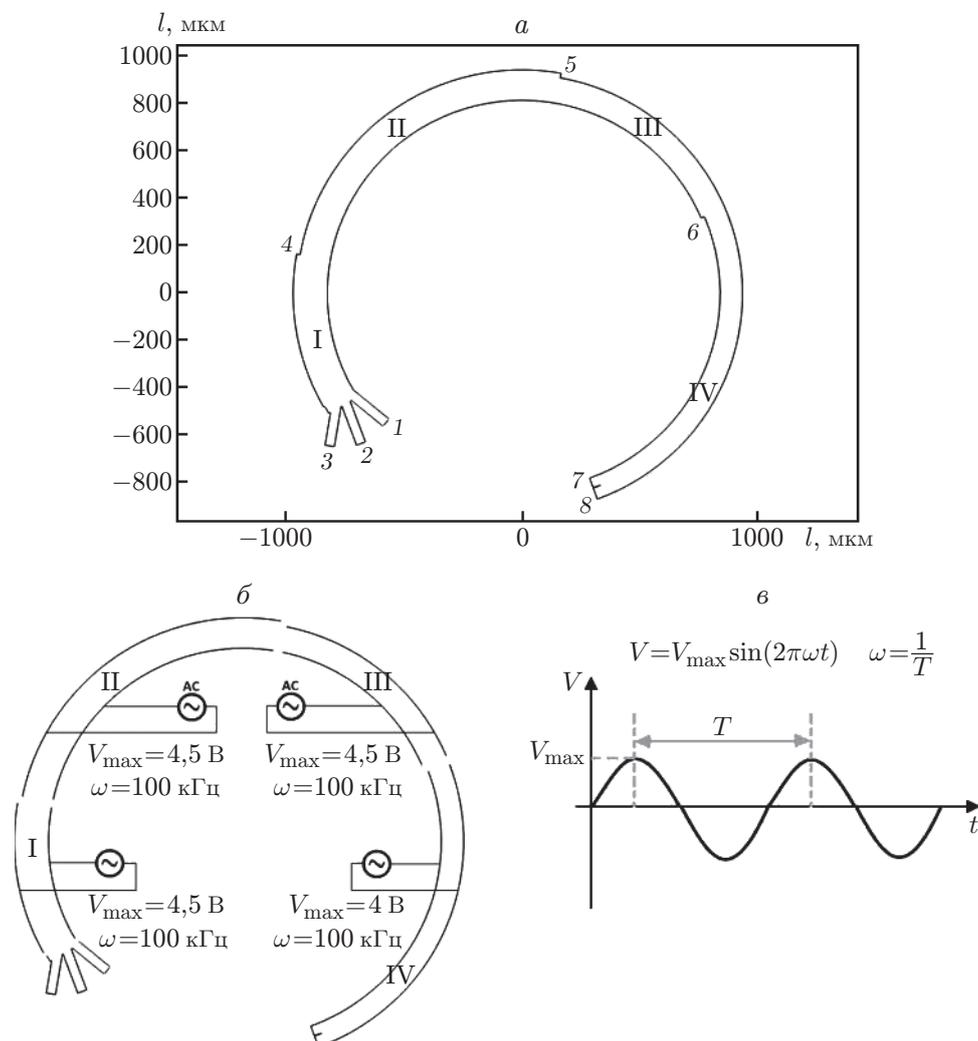


Рис. 1. Геометрия предлагаемого устройства (а), расположение электродов на стенке канала (б) и форма сигнала напряжения, приложенного к электродам (в): 1 — входное отверстие 1, 2 — входное отверстие для крови, 3 — входное отверстие 2, 4 — выходное отверстие для клеток U937, 5 — выходное отверстие для красных кровяных клеток, 6 — выходное отверстие для В-клеток, 7 — выходное отверстие для Т-клеток, 8 — выходное отверстие для тромбоцитов; I — область 1, II — область 2, III — область 3, IV — область 4

1.2. *Математическое моделирование процесса разделения клеток.* Для расчета электрического поля и силы тока в микрофлюидном канале сепаратора используются следующие уравнения:

— закон Ома

$$J = \sigma E; \quad (1)$$

— уравнение неразрывности

$$\nabla \cdot J = 0; \quad (2)$$

— уравнение для напряженности электрического поля

$$E = -\nabla V \quad (3)$$

(J — плотность тока; σ — электропроводность; E — напряженность электрического поля; V — электрический потенциал).

В микрофлюидном канале поток является ламинарным, поскольку число Рейнольдса в нем невелико ($Re < 1$), а силы вязкости значительно больше сил инерции. Поэтому при моделировании потока в микроканале используются уравнения Навье — Стокса

$$\nabla[-PI + \mu(\nabla u + (\nabla u)^T)] + F = 0; \quad (4)$$

$$\rho \nabla u = 0, \quad (5)$$

где ρ , u , μ , P — плотность, скорость, динамическая вязкость, давление жидкости; I — единичный тензор; F — объемная сила.

Сила ДЭФ, действующая на поляризованные сферические частицы, находящиеся в неоднородном электрическом поле, вычисляется по формуле [3, 12]

$$F_{ДЭФ} = 2\pi\varepsilon_m r^3 \operatorname{Re}(f_{CM}) \nabla E_{rms}^2, \quad (6)$$

где ε_m — диэлектрическая проницаемость суспензии; r — радиус частицы; E_{rms} — среднеквадратичное значение напряженности электрического поля; $\operatorname{Re}(f_{CM})$ — действительная часть коэффициента Клаузиуса — Моссотти. Коэффициент Клаузиуса — Моссотти вычисляется по формуле

$$f_{CM} = \frac{\varepsilon_{eq}^* - \varepsilon_m^*}{\varepsilon_{eq}^* + 2\varepsilon_m^*}; \quad (7)$$

$$\varepsilon^* = \varepsilon - j\sigma/\omega, \quad (8)$$

где ε_m^* — средняя комплексная диэлектрическая проницаемость; ε_{eq}^* — эквивалентная комплексная диэлектрическая проницаемость ячейки в соответствии с моделью клетки с одной оболочкой [12]; ε^* — комплексная диэлектрическая проницаемость, зависящая от проводимости σ и диэлектрической проницаемости ε клетки и окружающей среды; ω — круговая частота электрического поля; j — мнимая единица.

Согласно закону Стокса гидродинамическая сила сопротивления жидкости, действующая на клетки в микроканале при малых числах Рейнольдса, вычисляется по формуле

$$F_{Drag} = 6\mu r_c \pi (u_c - u_f), \quad (9)$$

где r_c — радиус клетки; u_c — скорость клетки; u_f — скорость жидкости.

В микросепараторе инерционные силы, такие как сила Саффмана, сила сдвига и т. п., малы, поскольку число Рейнольдса в микроканале мало и диаметр биологических клеток очень мал (порядка 10^{-6} м). В микросепараторе сила ДЭФ, действующая на частицы, существенно больше сил инерции, поэтому инерционными силами можно пренебречь [13].

При моделировании клеток крови используется модель сферических клеток с одной оболочкой [12]. Для того чтобы рассчитать силу ДЭФ более точно, рассматриваются тонкие внешние слои клеток крови (оболочка). Эквивалентная комплексная диэлектрическая проницаемость клеток крови с учетом наличия как оболочки, так и внутренней части клетки, входящая в уравнение (7), вычисляется по формуле

$$\varepsilon_{eq}^* = \varepsilon_s^* \frac{(r/(r-d))^3 + 2(\varepsilon_{cyt}^* - \varepsilon_s^*)/(\varepsilon_{cyt}^* + 2\varepsilon_s^*)}{(r/(r-d))^3 - (\varepsilon_{cyt}^* - \varepsilon_s^*)/(\varepsilon_{cyt}^* + 2\varepsilon_s^*)},$$

где d — толщина оболочки; ε_{cyt}^* — комплексная относительная диэлектрическая проницаемость цитоплазмы; ε_s^* — диэлектрическая проницаемость оболочки клетки крови.

В таблице приведены размеры и диэлектрические характеристики клеток крови. Следует отметить, что в плазме крови существенна концентрация (0,15 моль/л) ионов, в основном Na^+ и Cl^- . При моделировании проводимость среды с учетом влияния ионов хлора Cl^- и натрия Na^+ полагается равной 0,01 См/м.

Диэлектрические характеристики клеток крови и среды

Тип клеток	r , мкм	d , нм	σ_s , См/м	ε_s^* , Ф/м	σ_{cyt} , См/м	ε_{cyt}^* , Ф/м	σ_m , См/м	ε_m^* , Ф/м
Красные кровяные клетки	2,80	4,5	10^{-6}	$4,44\varepsilon_0$	0,31	$59\varepsilon_0$	0,01	$80\varepsilon_0$
U937	7,00	7,0	10^{-6}	$12,5\varepsilon_0$	0,50	$50\varepsilon_0$	0,01	$80\varepsilon_0$
T-клетки	3,29	7,5	$2,7 \cdot 10^{-5}$	$8,89\varepsilon_0$	0,65	$103,9\varepsilon_0$	0,01	$80\varepsilon_0$
B-клетки	3,29	7,5	$5,6 \cdot 10^{-5}$	$10,67\varepsilon_0$	0,73	$154,4\varepsilon_0$	0,01	$80\varepsilon_0$
Тромбоциты	0,90	8,0	10^{-6}	$6\varepsilon_0$	0,25	$50\varepsilon_0$	0,01	$80\varepsilon_0$

Примечание. σ_s — проводимость оболочки, σ_{cyt} — проводимость цитоплазмы, σ_m — проводимость среды, $\varepsilon_0 = 8,85 \cdot 10^{-12}$ Ф/м — диэлектрическая проницаемость свободного пространства.

Из уравнений (7), (8) следует, что коэффициент Клаузиуса — Моссогги зависит от электропроводности как частицы, так и суспензии. Следовательно, при изменении проводимости суспензии изменятся коэффициент f_{CM} и действующая на частицы сила ДЭФ (см. (6)). В соответствии с уравнениями (7), (8) разность проводимостей среды и частиц определяет абсолютное значение и знак силы ДЭФ. Поэтому при заданной угловой частоте с изменением проводимости среды сила ДЭФ, действующая на частицу, может уменьшиться или увеличиться и даже изменить знак.

1.3. *Численное моделирование процесса разделения клеток.* Численное моделирование двумерной задачи выполнено с помощью программного обеспечения COMSOL Multiphysics. При этом для расчета электрических токов использовался модуль *es*, для расчета ламинарного потока — модуль *spf*, для определения траекторий частиц в потоке жидкости — модуль *fpt*. Сначала с использованием стационарного решателя *spf* моделируется ламинарный поток жидкости, с помощью решателя *es* моделируется электрическое поле. Затем с использованием модуля *fpt* определяются траектории частиц, движущихся в канале сепаратора под действием силы ДЭФ. Модуль *fpt* вычисляет траекторию клеток крови в канале с использованием данных об электрическом поле и потоке жидкости. В расчетах использовалась сетка с мелкими треугольными ячейками. Моделирование проводилось с помощью процессора Core i5-2500k (частота — 3,30 ГГц, объем оперативной памяти — 8 ГБ).

1.4. *Постановка задачи.* Ниже описывается принцип работы сепаратора. Разжиженная кровь вводится в канал сепаратора через входное отверстие (см. рис. 1). Вследствие изогнутой формы канала и наличия электродов, расположенных определенным образом на стенках канала, в нем создается неоднородное электрическое поле, в результате чего на клетки, находящиеся в канале, действует сила ДЭФ. Поскольку физические и электрические свойства клеток различаются, на них действует сила ДЭФ различной интенсивности, в результате чего разные частицы направляются к разным выходным отверстиям. В канале клетки движутся в основном под действием силы ДЭФ (см. (6)) и гидродинамической силы сопротивления (см. (9)). Влияние других сил незначительно. Для расчета ДЭФ и сил гидродинамического сопротивления в канале сепаратора необходимо рассчитать поле потока (см. (4), (5)) и напряженность электрического поля (см. (1)–(3)). Затем с помощью модуля *fpt* можно определить траекторию движения клеток в канале. Для всех уравнений ставятся соответствующие граничные условия. При моделировании потока жидкости (см. (4), (5)) задаются следующие граничные условия: 1) на стенках канала отсутствует скольжение; 2) во входных отверстиях канала (см. рис. 1) имеет место нормальная скорость потока (во входном отверстии, через которое поступает кровь, скорость равна $v_{in} = 150$ мкм/с, в выходных отверстиях 1 и 2 $v_{out} = 150, 600$ мкм/с соответственно); 3) в выходных отверстиях давление P равно атмосферному. При моделировании элек-

трического поля (см. (1)–(3)) ставятся следующие граничные условия: 1) на каждую пару электродов, установленных на стенке канала сепаратора в областях 1–3 (см. рис. 1), действует синусоидальное напряжение с максимальной амплитудой $4,5V_{\max}$ и частотой $\omega = 100$ кГц, а в области 4 канала — синусоидальное напряжение с максимальной амплитудой $4V_{\max}$ и частотой $\omega = 100$ кГц; 2) стенки канала, входные и выходные отверстия являются изолированными.

Также задаются условия упругого столкновения частиц со стенкой. Частицы с заданным временем высвобождения, находящиеся в растворителе, попадают в канал через входное отверстие. На входе начальное положение частиц считается случайным.

2. Результаты численного моделирования и их обсуждение. Проведем сравнение результатов, полученных с использованием представленной модели, и экспериментальных данных, приведенных в работе [5]. На каждую пару облицовочных электродов сепаратора подается синусоидальный сигнал напряжения 5 с максимальной амплитудой $5V_{\max}$ и частотой $\omega = 100$ кГц. На рис. 2 показаны траектории движения клеток, полученные в результате численного моделирования и в эксперименте. Соответствие этих результатов свидетельствует о точности результатов численного моделирования.

На рис. 3 представлены зависимости действительной части коэффициента Клаузиуса — Моссотти $\text{Re}(f_{\text{CM}})$ от частоты для клеток крови различного типа, приведенные в работах [5, 14, 15]. Видно, что для клеток каждого типа сила ДЭФ зависит от частоты приложенного напряжения.

Для повышения эффективности процесса разделения клеток выходные отверстия размещаются на обеих сторонах канала и на различных расстояниях от входных отверстий. Электрическое поле, генерируемое внутри канала, показано на рис. 4. Видно, что неоднородное электрическое поле генерируется в канале таким образом, что интенсивность электрического поля является максимальной (минимальной) на внутренней (внешней) стороне канала. Поэтому, в случае если на клетку действует положительная (отрицательная) сила ДЭФ, клетка движется к внутренней (внешней) стороне канала. Профиль скорости в канале показан на рис. 5. Видно, что вблизи выходных отверстий жидкость движется к отверстиям с большой скоростью.

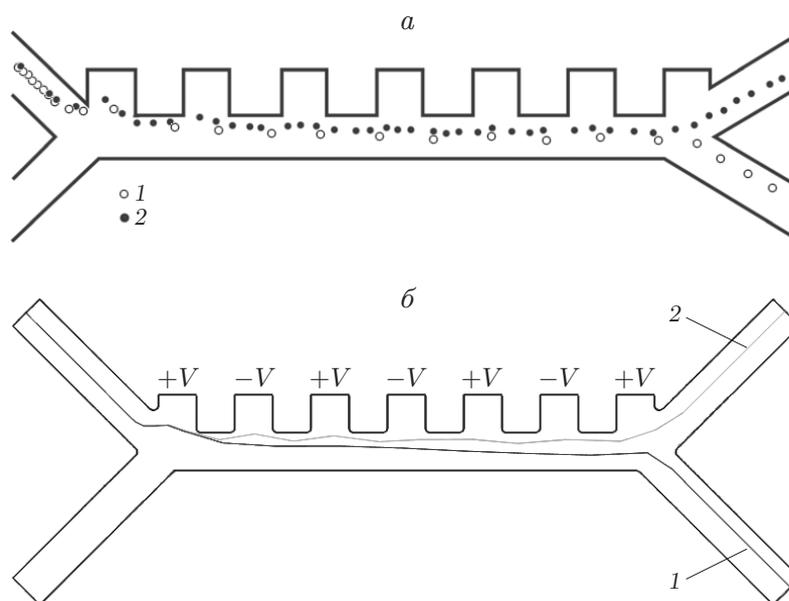


Рис. 2. Траектории движения красных кровяных клеток (1) и тромбоцитов (2):
a — эксперимент, *б* — численное моделирование

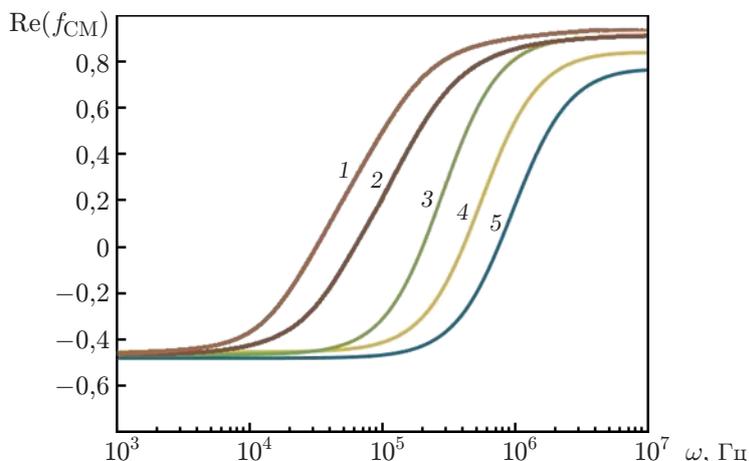


Рис. 3. Зависимость действительной части коэффициента Клаузиуса — Моссоцци $\text{Re}(f_{\text{CM}})$ от частоты для В-клеток (1), Т-клеток (2), клеток U937 (3), красных кровяных клеток (4) и тромбоцитов (5) [5, 14, 15]

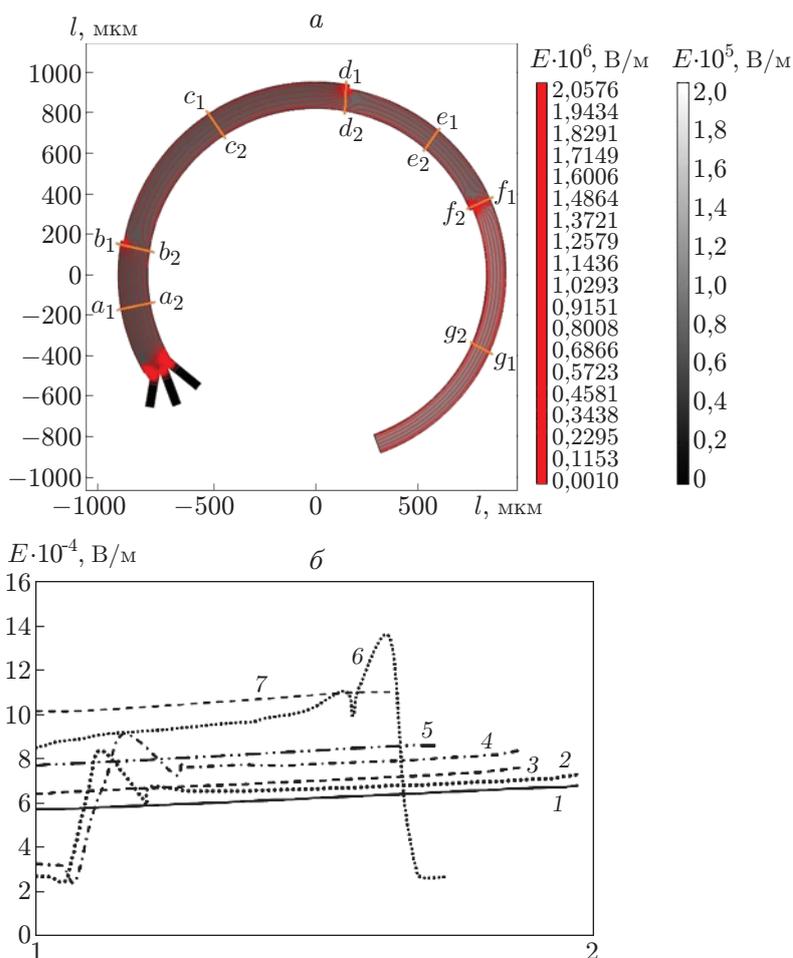


Рис. 4. Электрическое поле, генерируемое в микроканале сепаратора: *a* — изолинии напряженности электрического поля внутри микроканала, *б* — распределение напряженности электрического поля в различных сечениях микроканала; 1 — сечение a_1-a_2 , 2 — сечение b_1-b_2 , 3 — сечение c_1-c_2 , 4 — сечение d_1-d_2 , 5 — сечение e_1-e_2 , 6 — сечение f_1-f_2 , 7 — сечение g_1-g_2

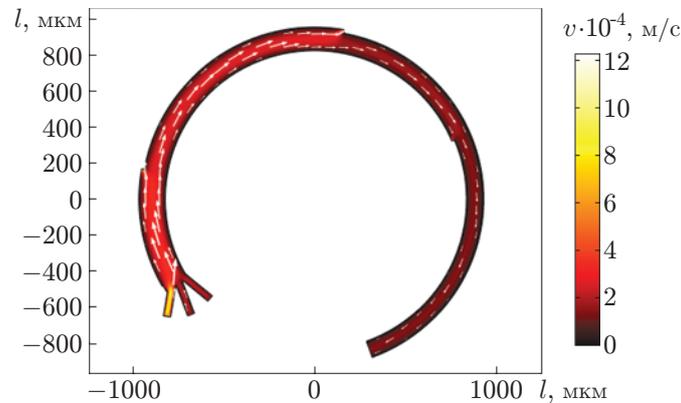


Рис. 5. Изолинии скорости жидкости в микроканале

Траектории движения клеток, полученные в результате численного моделирования, приведены на рис. 6 (D — диаметр частицы). В области 1 на клетки U937 действует отрицательная сила ДЭФ, поэтому они отклоняются к внешней стороне канала, где напряженность электрического поля меньше. Вследствие наличия градиента давления вблизи выходного отверстия клетки U937 втягиваются в него. В этой области канала направление движения других клеток практически не зависит от силы ДЭФ. Действительно, согласно уравнению (6) на клетки U937 в силу их большего размера действуют значительные диэлектрофоретические силы даже в области 1, где напряженность электрического поля сравнительно мала. В области 2 на красные кровяные клетки действуют отрицательные силы ДЭФ, и эти клетки отклоняются в направлении внешней стороны канала. Помимо силы ДЭФ вблизи выходного отверстия для красных кровяных клеток действуют гидродинамические силы, которые вынуждают красные кровяные клетки двигаться в это отверстие. В области 2 напряженность электрического поля больше, чем в области 1, так как в этой области ширина канала меньше ($E = V/d$). В отличие от области 1 в области 2 на красные кровяные клетки действуют значительные силы ДЭФ, поскольку градиент электрического поля в этой области достаточно большой. В силу малых размеров тромбоцитов и диэлектрических свойств Т- и В-клеток на них действуют силы ДЭФ, недостаточные для того, чтобы отклонить их от середины канала. В области 3 напряженность электрического поля больше, чем в области 2, так как в этой области ширина канала меньше ($E = V/d$). В области 3 на В-клетки действует достаточно большая положительная сила ДЭФ ($\text{Re}(f_{\text{CM}}) > 0$ при $\omega = 100$ кГц), вследствие чего эти клетки отклоняются к внутренней стороне канала в направлении выходного отверстия для них. Из результатов численного моделирования следует, что в области 4, так же как и в других областях, на тромбоциты и Т-клетки не действуют силы ДЭФ, несмотря на то что в этих областях напряженность электрического поля достаточно большая. Значение действительной части коэффициента Клаузиуса — Моссоги $\text{Re}(f_{\text{CM}})$ для Т-клеток и тромбоцитов при частоте $\omega = 100$ кГц небольшое (см. рис. 3). Кроме того, размер тромбоцитов очень мал, поэтому при сигнале напряжения с максимальной амплитудой, равной 4 В, и частотой, равной 100 кГц, приложенного к электродам в области 4, действующей силы ДЭФ недостаточно для отклонения тромбоцитов и Т-клеток от середины канала.

Одним из способов увеличения силы ДЭФ является увеличение напряжения, подаваемого на электроды. Однако вследствие наличия эффекта Джоуля высокое напряжение вызывает избыточное увеличение температуры внутри канала. Температура выше нормальной температуры тела человека вызывает повреждение биологических клеток. Поэтому вследствие наличия джоулева тепла напряжение, приложенное к электродам, ограничено.

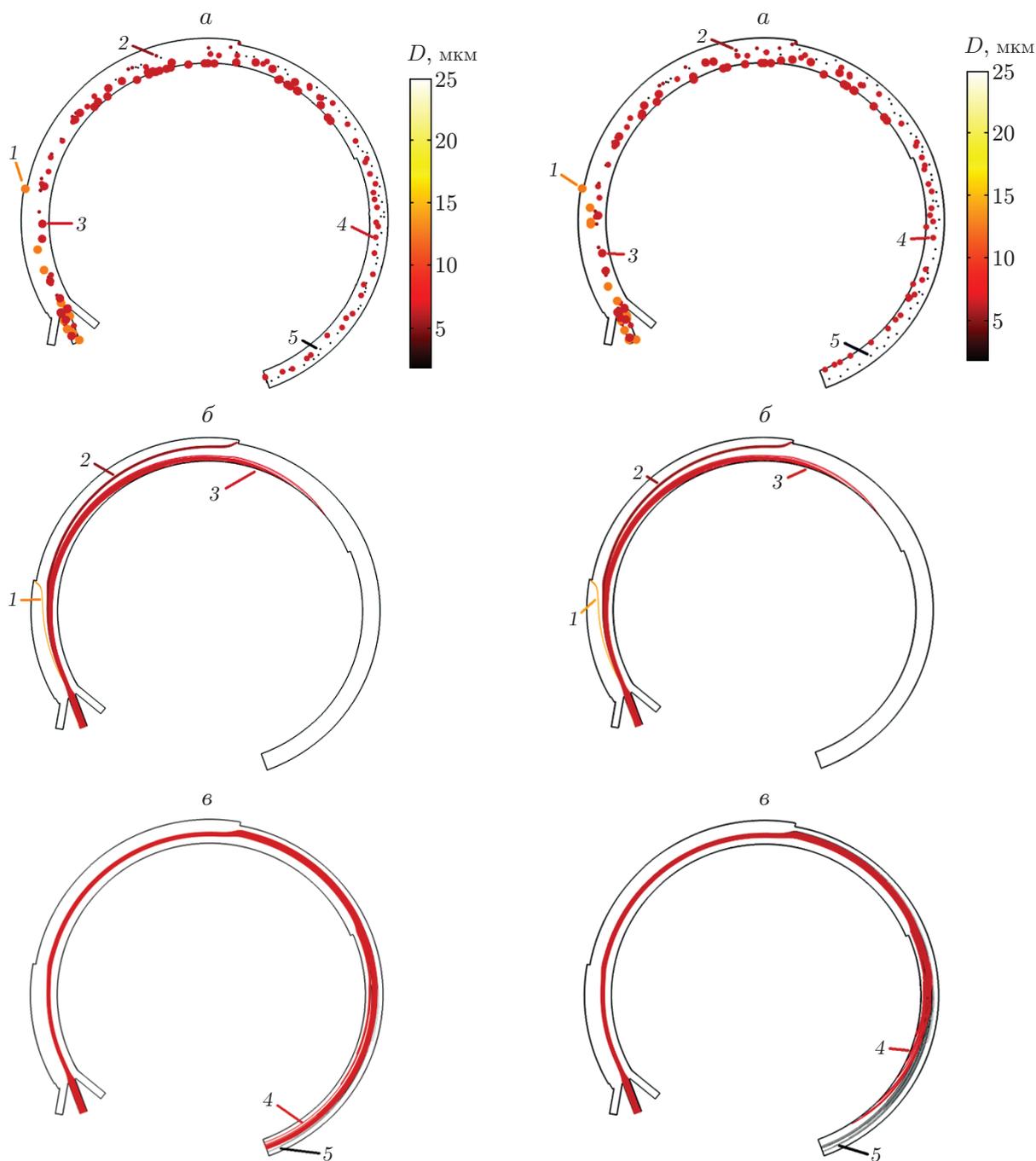


Рис. 6

Рис. 7

Рис. 6. Траектории движения клеток крови в микроканале при частоте сигнала напряжения в областях 1–5 порядка 100 кГц:

a — эксперимент, *б*, *в* — численное моделирование; 1 — клетки U937, 2 — красные кровяные клетки, 3 — В-клетки, 4 — Т-клетки, 5 — тромбоциты

Рис. 7. Схема движения клеток крови в микроканале при частоте сигнала напряжения в областях 1–3 порядка 100 кГц, в области 4 порядка 1 МГц:

a — эксперимент, *б*, *в* — численное моделирование; 1 — клетки U937, 2 — красные кровяные клетки, 3 — В-клетки, 4 — Т-клетки, 5 — тромбоциты

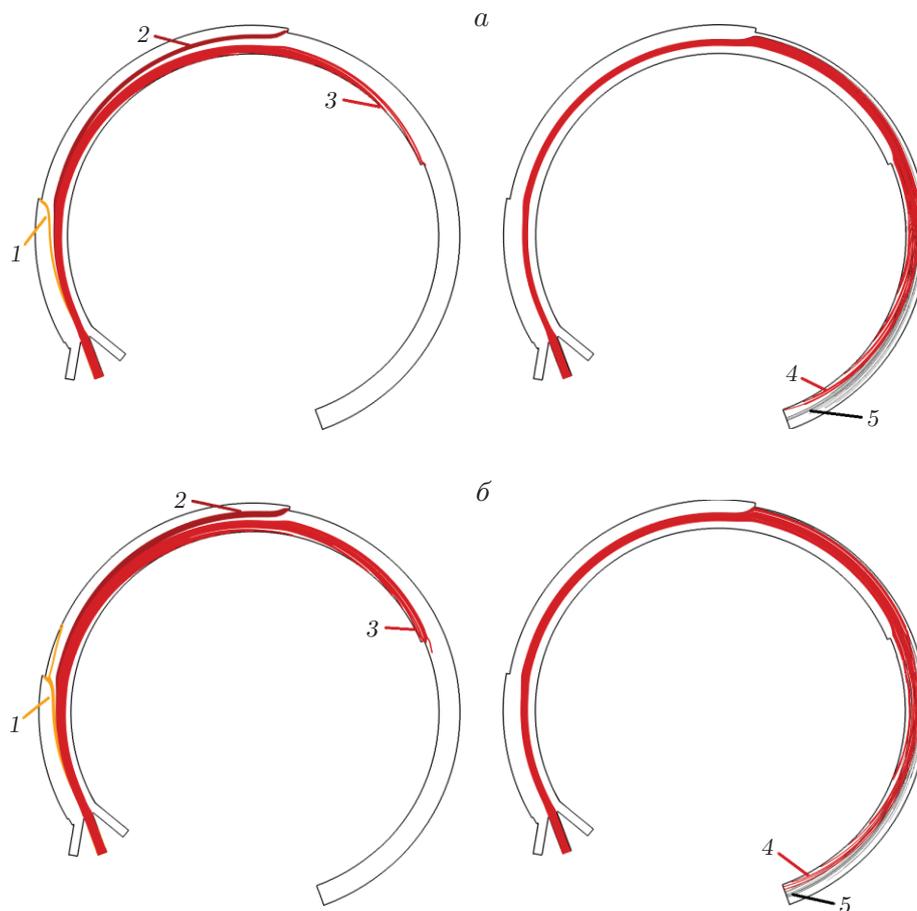


Рис. 8. Траектории движения клеток крови при скорости крови во входном отверстии 1, равной $v_{in} = 200$ мкм/с (а) и $v_{in} = 300$ мкм/с (б):

1 — клетки U937, 2 — красные кровяные клетки, 3 — В-клетки, 4 — Т-клетки, 5 — тромбоциты

Согласно уравнению (6) диэлектрофоретическая сила, приложенная к Т-клетке, увеличивается с увеличением величины $Re(f_{CM})$. Для Т-клеток величина $Re(f_{CM})$ начинает увеличиваться при значениях частоты, превышающих 10 кГц. В области 4 частота сигнала напряжения увеличивается до 1 МГц. В этой области канала имеются только тромбоциты и Т-клетки, на которые действует достаточно большая положительная сила ДЭФ, вследствие чего Т-клетки отклоняются к внутренней стороне канала и отделяются от тромбоцитов. Траектории движения клеток крови, полученные в результате численного моделирования, приведены на рис. 7. Т-клетки покидают канал через предназначенное для них выходное отверстие. Вследствие небольшого размера тромбоциты не подвержены действию силы ДЭФ в области 4 и покидают канал через выходное отверстие, предназначенное для них.

На рис. 8 показаны траектории клеток при больших скоростях кровотока во входном отверстии 1, равных 200 и 300 мкм/с. При таких скоростях жидкости на входе гидродинамическая сила сопротивления увеличивается в направлении, совпадающем с направлением потока жидкости. Поэтому для отклонения клеток в направлении к выходам требуется большая сила ДЭФ. Из результатов численного моделирования следует, что при скорости жидкости на входе, равной 200 мкм/с, процесс разделения клеток осуществляется достаточно эффективно. Однако при скорости 300 мкм/с некоторые клетки (U937 и В-клетки)

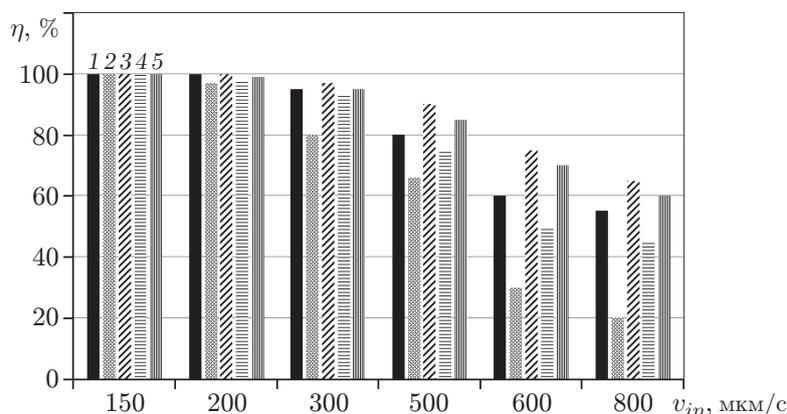


Рис. 9. Зависимость эффективности разделения клеток от скорости кровотока во входном отверстии 1:

1 — красные кровяные клетки, 2 — клетки U937, 3 — Т-клетки, 4 — В-клетки, 5 — тромбоциты

не попадают в выходные отверстия, предназначенные для них, а продолжают двигаться по каналу.

Эффективность отделения η клеток конкретного типа, например Т-клеток, может быть определена как отношение количества Т-клеток в выходном отверстии сепаратора, предназначенном для них, к общему количеству Т-клеток на входе.

На рис. 9 приведена зависимость эффективности разделения клеток от скорости кровотока во входном отверстии 1. При скорости кровотока на входе, равной 150 и 200 $\mu\text{m/s}$, эффективность разделения клеток сепаратором составляет практически 100 %. Если скорость кровотока на входе незначительно превышает 200 $\mu\text{m/s}$, то эффективность разделения уменьшается. Однако, в случае если скорость потока на входе 1 превышает 500 $\mu\text{m/s}$, эффективность разделения клеток уменьшается значительно.

Заключение. С использованием метода конечных элементов выполнена оценка эффективности работы предложенного сепаратора на микрофлюидной основе для отделения клеток крови пяти типов (красных кровяных клеток, Т-клеток, В-клеток, U937 и тромбоцитов) от разжиженной цельной крови. Из результатов численного моделирования следует, что предложенный сепаратор может быть эффективно использован для непрерывного разделения клеток крови нескольких типов. Расположение выходных отверстий сепаратора на различных расстояниях от входного отверстия обеспечивает возможность использования различных сигналов напряжения электродов с различной амплитудой и частотой. В различных областях канала сепаратора амплитуда и частота приложенного к электродам напряжения могут быть выбраны таким образом, чтобы определенные клетки крови в данной области отклонялись в сторону выходного отверстия, предназначенного для клеток этого типа. Из проведенных оценок следует, что при различных скоростях потока на входе в канал эффективность работы сепаратора может поддерживаться путем регулирования сигнала напряжения в каждой области канала. В отличие от существующих предлагаемый сепаратор позволяет одновременно разделять большее количество типов клеток крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Norde W.** Colloids and interfaces in life sciences. N. Y.: CRC Press, 2003.
2. **Cetin B., Li D.** Dielectrophoresis in microfluidics technology // Electrophoresis. 2011. V. 32, N 18. P. 2410–2427.

3. **Gascoyne P. R., Vykoukal J.** Particle separation by dielectrophoresis // *Electrophoresis*. 2002. V. 23, N 13. P. 1973–1983.
4. **Fung Y. C.** *Bio-viscoelastic solids* // *Biomechanics*. N. Y.: Springer, 1981. P. 196–214.
5. **Piacentini N., Mernier G., Tornay R., Renaud P.** Separation of platelets from other blood cells in continuous-flow by dielectrophoresis field-flow-fractionation // *Biomicrofluidics*. 2011. V. 5, N 3. 034122.
6. **Ali H., Park C. W.** Numerical study on the complete blood cell sorting using particle tracing and dielectrophoresis in a microfluidic device // *Korea-Australia Rheol. J.* 2016. V. 28, N 4. P. 327–339.
7. **Mohammadi M., Madadi H., Casals-Terré J., Sellarès J.** Hydrodynamic and direct-current insulator-based dielectrophoresis (H-DC-iDEP) microfluidic blood plasma separation // *Analyt. Bioanal. Chem.* 2015. V. 407, N 16. P. 4733–4744.
8. **Shamloo A., Kamali A.** Numerical analysis of a dielectrophoresis field-flow fractionation device for the separation of multiple cell types // *J. Separat. Sci.* 2017. V. 40, N 20. P. 4067–4075.
9. **Pommer M. S., Zhang Y., Keerthi N., et al.** Dielectrophoretic separation of platelets from diluted whole blood in microfluidic channels // *Electrophoresis*. 2008. V. 29, N 6. P. 1213–1218.
10. **Szydzik C., Khoshmanesh K., Mitchell A., Karnutsch C.** Microfluidic platform for separation and extraction of plasma from whole blood using dielectrophoresis // *Biomicrofluidics*. 2015. V. 9, N 6. 064120.
11. **Zhang L., Tatar F., Turmezei P., et al.** Continuous electrodeless dielectrophoretic separation in a circular channel // *J. Phys.: Conf. Ser.* 2006. V. 34, N 1. 527.
12. **Foster K. R., Sauer F. A., Schwan H. P.** Electrorotation and levitation of cells and colloidal particles // *Biophys. J.* 1992. V. 63, N 1. P. 180–190.
13. **Li D.** *Electrokinetics in microfluidics*. Burlington: Elsevier Acad. Press, 2004.
14. **Yang J., Huang Y., Wang X., et al.** Dielectric properties of human leukocyte subpopulations determined by electrorotation as a cell separation criterion // *Biophys. J.* 1999. V. 76, N 6. P. 3307–3314.
15. **Khoshmanesh K., Akagi J., Nahavandi S., et al.** Dynamic analysis of drug-induced cytotoxicity using chip-based dielectrophoretic cell immobilization technology // *Anal. Chem.* 2011. V. 83, N 6. P. 2133–2144.

*Поступила в редакцию 12/II 2021 г.,
после доработки — 7/V 2021 г.
Принята к публикации 30/VIII 2021 г.*
