

В.С. Топорков, А.А. Медведев, Т.С. Бакиров, В.М. Генералов

Разделение биологических частиц методом диэлектрфореза

ГНЦ ВВ «Вектор», НИИ аэриобиологии, пос. Кольцово, Новосибирская обл.

Поступила в редакцию 22.02.2000 г.

Проведено численное исследование разделения биологических частиц с помощью силы, возникающей вследствие поляризации частиц в переменном неоднородном электрическом поле, когда клеточная суспензия движется по разделительному каналу, предложенному нами ранее. Поскольку поляризуемость частиц зависит от их физических и биологических свойств, диэлектрфорез позволяет отделить биочастицы от частиц другой природы или интактные клетки от поврежденных. Электрические поля, траектории частиц, а также пороговые величины поляризуемости клеток, по которой происходит разделение частиц, рассчитаны для различных значений параметров канала и размера частиц. Предложен безразмерный критерий подобия, связывающий указанные выше величины, который может быть использован при выборе оптимальных параметров разделительного канала.

Введение

Возможность приводить в движение, притягивать или отталкивать биологические частицы очень важна для решения многих медицинских и биологических проблем, таких как выделение и идентификация биочастиц, обнаружение рассеянных раковых клеток, концентрирование клеток в разбавленных суспензиях и разделение клеток в соответствии с их специфическими свойствами. Для решения указанных проблем перспективным является использование эффекта диэлектрфореза (ДЭФ), который заключается в следующем.

В диэлектрической среде под воздействием переменного электрического поля частица поляризуется. Если электрическое поле неоднородно, то на поляризованную частицу действует ДЭФ-сила, которая в зависимости от частоты электрического поля, диэлектрических свойств клеток и среды может быть направлена вдоль градиента поля или против него, что соответствует положительному или отрицательному диэлектрфорезу [1, 2].

Диэлектрфорез позволяет отделить биочастицы от частиц другой природы или интактные клетки от поврежденных [1, 3]. В [4–6] описано применение ДЭФ для выделения различных типов раковых клеток из крови. Более того, чувствительность метода позволяет исследовать первые стадии вирус-клеточного взаимодействия [7, 8].

Устройство для разделения частиц с помощью диэлектрфореза [3, 4] содержит канал прямоугольного сечения, сформированный между двумя стеклянными пластинами. На внутренней поверхности одной из пластин расположено множество электродов, параллельных друг к другу. Поток жидкости со взвешенными в нем частицами движется по каналу перпендикулярно к электродам, на которые подано переменное напряжение с частотой 50–250 кГц. При этом на раковые клетки действует ДЭФ-сила, направленная к электродам, которые таким образом задерживаются в канале и могут быть удалены из него после выключения напряжения. Таким образом частицы будут разделены на две фракции в соответствии с их физическими и биологическими свойствами, влияющими на поляризуемость.

На рис. 1 изображен новый разделительный канал [9], основное отличие которого от канала, описанного выше, заключается в том, что электроды расположены на обеих пластинах друг против друга и под некоторым углом к направлению потока суспензии. Частота электрического поля соответствует области отрицательного ДЭФ, т. е. частицы отталкиваются от электродов. Если составляющая силы вязкого трения, перпендикулярная электроду, будет скомпенсирована ДЭФ-силой, то частица будет двигаться вдоль данного электрода к устройству для подсчета клеток. В противном случае частица будет двигаться вместе с потоком по направлению к следующему электроду. Чем ниже по течению расположен электрод, тем выше приложенное напряжение, что позволяет воздействовать на частицы с более низкой поляризуемостью. Описанный разделительный канал позволяет работать в непрерывном режиме, при этом число выделяемых фракций совпадает с числом электродов.

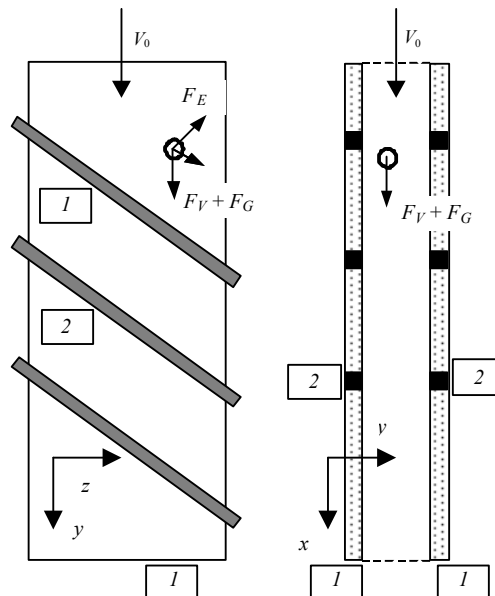


Рис. 1. Канал для разделения частиц с помощью диэлектрфореза: 1 – пластины; 2 – электроды

Эффективность разделения частиц на фракции и пороговые значения поляризуемости частиц зависят от ширины зазора между пластинами, расстояния между электродами и их ширины, напряжения на электродах, скорости течения жидкости, размера частиц. Для выбора оптимальной конструкции подобных устройств необходимо знать зависимости между указанными параметрами. При этом целесообразно использовать математическое моделирование, поскольку оно позволяет оценивать характеристики различных вариантов устройства без их изготовления и трудоемких экспериментов. Целью данной работы является численное исследование разделения частиц по их поляризуемости в описанном выше устройстве.

Методы расчетов

Потенциал ϕ электрического поля был рассчитан в двумерной области, показанной на рис. 2, путем численного решения уравнения Лапласа

$$\Delta\phi = 0 \quad (1)$$

с помощью конечно-разностного итерационного метода Либмана [10]. Граничные условия определялись геометрическими параметрами разделительного канала и напряжением на электродах. На рис. 2 представлены эквипотенциальные линии, рассчитанные для следующих параметров канала: расстояние между пластинами $H = 100$ мкм; ширина отдельного электрода и расстояние между ними $D = 100$ мкм; напряжение на электродах $U = \pm 20, \pm 40, \pm 60$ В.

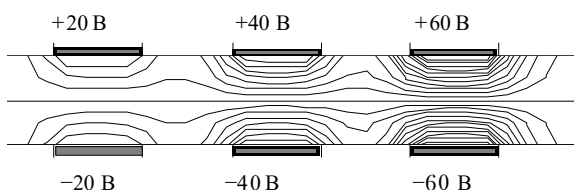


Рис. 2. Эквипотенциальные линии электрического поля в разделительном канале ($H = 100$ мкм, $D = 100$ мкм; $U = \pm 20, \pm 40, \pm 60$ В)

В электрическом поле частица поляризуется, т.е. приобретает дипольный момент:

$$\mathbf{p} = \varepsilon_0 \varepsilon \alpha_P \mathbf{E}, \quad (2)$$

где ε_0 – электрическая постоянная; ε – диэлектрическая проницаемость среды; α_P – поляризуемость клетки; $\mathbf{E} = -\text{grad } \phi$ – напряженность электрического поля. Сила, действующая на поляризованную частицу со стороны неоднородного электрического поля, пропорциональна градиенту потенциальной энергии диполя:

$$\mathbf{F} = \text{grad}(\mathbf{p}\mathbf{E}) = \varepsilon_0 \varepsilon \alpha_P \text{grad}(\mathbf{E} \cdot \mathbf{E}). \quad (3)$$

Результирующая ДЭФ-сила, действующая на частицу, погруженную в воду, может быть записана в следующем виде:

$$\mathbf{F} = \varepsilon_0 \varepsilon (\alpha_P - \alpha_W n) \text{grad}(\mathbf{E} \cdot \mathbf{E}) = \varepsilon_0 \varepsilon \alpha_E \text{grad}(\mathbf{E} \cdot \mathbf{E}), \quad (4)$$

где α_W – поляризуемость молекулы воды; n – количество молекул воды, вытесненных клеткой; α_E – эффективная поляризуемость частицы.

Со стороны жидкости на частицу действует сила вязкого трения Стокса

$$F_V = 3\pi\eta d_p (V_W - V_P), \quad (5)$$

где η – вязкость воды; d_p – диаметр частицы; V_P – скорость частицы; V_W – скорость воды.

Учитываем также силу тяжести

$$F_G = \frac{\pi}{6} d_p^3 g (\rho_P - \rho_W), \quad (6)$$

где g – ускорение свободного падения; ρ_P – плотность частицы; ρ_W – плотность воды.

Инерцией частиц в воде можно пренебречь, поскольку для характерных значений размера частиц, скорости и вязкости потока время релаксации частиц много меньше характерного времени движения частицы в устройстве.

Если направление силы тяжести совпадает с направлением потока суспензии в устройстве и направлением оси x , то уравнения движения частицы могут быть записаны следующим образом:

$$\frac{dx}{dt} = \frac{\alpha_E \text{grad}_x(\mathbf{E} \cdot \mathbf{E}) + \pi d_p^3 g (\rho_P - \rho_W) / 6}{3\pi\eta d_p} + V_W, \quad (7)$$

$$\frac{dy}{dt} = \frac{\alpha_E \text{grad}_y(\mathbf{E} \cdot \mathbf{E})}{3\pi\eta d_p}; \quad (8)$$

$$V_W = 1,5 V_0 \{1 - [(2y - H)/H]^2\}, \quad (9)$$

где V_W – скорость ламинарного вязкого течения, V_0 – средняя скорость потока в устройстве.

Уравнения движения частиц (7), (8) интегрировались численно с помощью метода Рунге–Кутты 4-го порядка

Результаты

Типичные траектории частиц представлены на рис. 3. Расчеты проведены для следующих параметров: расстояние между пластинами $H = 100$ мкм; ширина отдельного электрода и расстояние между ними $D = 100$ мкм; напряжение на электродах $U = \pm 20$ В; средняя скорость потока в устройстве $V_0 = 20$ мкм/с, диаметр частицы $d_p = 7,2$ мкм; плотность частиц $\rho_P = 1,05$ г/см³.

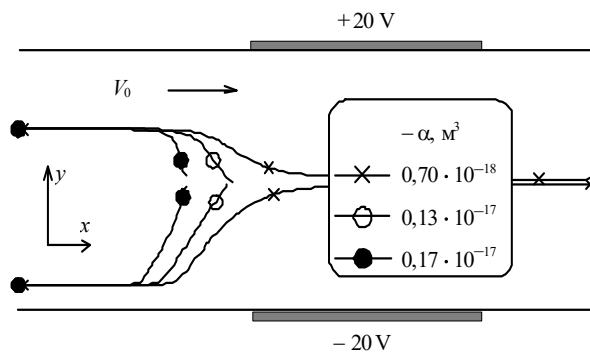


Рис. 3. Траектории частиц вблизи пары электродов ($U = \pm 20$ В)

Нетрудно заметить, что под действием ДЭФ-сил частицы смещаются к центральной плоскости канала незави-

симо от их стартового положения. Возле края электрода, где сила отталкивания максимальна, частица останавливается, если ДЭФ-сила равна сумме сил вязкого трения и тяжести. То, что частицы выталкиваются электрическим полем к центральной плоскости, обеспечивает высокое качество разделения частиц на фракции, поскольку все частицы вблизи электрода оказываются примерно в одинаковой позиции (по координате y) независимо от их стартовой координаты во входном сечении канала.

На рис. 4 представлены рассчитанные траектории частиц при напряжении на электродах 20, 40 и 60 В и различных значениях поляризуемости. Нетрудно заметить, что частицы с эффективной поляризуемостью $\alpha_E = -1,19 \cdot 10^{-18} \text{ м}^3$ останавливаются перед электродом с напряжением 20 В, частицы с $\alpha_E = -0,697 \cdot 10^{-18}$, $-0,349 \cdot 10^{-18} \text{ м}^3$ удерживаются возле электрода с напряжением 40 В и т. д. Видно также, что частицы останавливаются непосредственно перед краем электродов (по координате x). Если частица не задерживается здесь, то она движется вместе с потоком к следующему электроду.

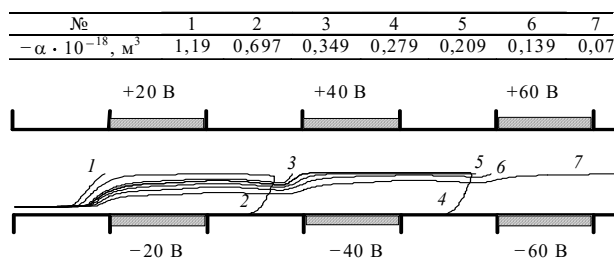


Рис. 4. Траектории частиц в разделительном канале

Пороговое значение эффективной поляризуемости α_{EC} может быть определено следующим образом. Частицы с $\alpha_E \leq \alpha_{EC}$ удерживаются перед электродом ДЭФ-силой, тогда как частицы с $\alpha_E \geq \alpha_{EC}$ движутся вместе с потоком дальше. Пороговые значения эффективной поляризации были рассчитаны методом деления пополам для различных величин напряжения U , высоты канала H , диаметра частицы d_p , средней скорости потока V_0 и ширины и расстояния между электродами D . Кроме того, для каждого набора параметров был рассчитан безразмерный параметр EV , представляющий собой отношение характерной ДЭФ-силы, действующей на частицу, к силе вязкого трения:

$$EV = \frac{\alpha_{EC} U^2 / (H^2 D)}{3\pi\eta d_p V_0} \quad (10)$$

В таблице в качестве иллюстрации представлены некоторые результаты этих расчетов для различных сочетаний определяющих параметров.

Результаты расчетов показали, что пороговое значение эффективной поляризации при постоянных величинах параметров разделительного канала H , D и V_0 зависит только от напряжения на электродах U и размера частицы. Пороговое значение эффективности поляризации α_{EC} для частиц одинакового размера может быть настроено с помощью установки соответствующего напряжения U . Результаты расчетов (в частности, приведенные в таблице) показывают, что если плотности частицы и воды совпадают (влияние силы гравитации отсутствует), то параметр $EV \cong -0,24$ не зависит от значений H , D , U и V_0 , т. е. является параметром подобия для разделительного канала дан-

ного типа. Величины EV , рассчитанные для частиц плотностью $1,05 \text{ г/см}^3$, зависят от диаметра частиц, но это влияние очень мало (различие между значениями EV , рассчитанными при $d_p = 5$ и 10 мкм , составляет приблизительно 6%). Следовательно, величина безразмерного параметра $EV \cong -0,24$ может быть использована для оценки порогового значения эффективной поляризации α_{EC} при различных геометрических параметрах разделительного канала и электродов, напряжениях и размерах частиц.

Пороговые значения эффективной поляризации и безразмерный параметр подобия EV

$\alpha_{EC}, \text{ м}^3$	$U, \text{ В}$	$H \cdot 10^6, \text{ м}$	$D \cdot 10^6, \text{ м}$	$d_p \cdot 10^6, \text{ м}$	$V_0 \cdot 10^6, \text{ м/с}$	EV
$\rho_p = 1 \text{ г/см}^3, \rho_w = 1 \text{ г/см}^3$						
$-4,87 \cdot 10^{-20}$	80	100	50	10	20	-0,237
$-4,33 \cdot 10^{-20}$	60	100	50	5	20	-0,237
$-4,88 \cdot 10^{-19}$	40	100	50	10	20	-0,238
$-1,56 \cdot 10^{-17}$	20	200	100	10	50	-0,237
$\rho_p = 1,05 \text{ г/см}^3, \rho_w = 1 \text{ г/см}^3$						
$-1,06 \cdot 10^{-19}$	80	100	100	10	20	-0,258
$-2,49 \cdot 10^{-20}$	80	100	50	5	20	-0,242
$-1,69 \cdot 10^{-18}$	20	100	100	10	20	-0,259
$-3,98 \cdot 10^{-19}$	20	100	50	5	20	-0,242

Заключение

Таким образом, разработана математическая модель разделения частиц в неоднородном электрическом поле. Предложен безразмерный параметр подобия EV , с помощью которого можно оценить геометрические размеры разделительного канала, скорость движения клеточной суспензии и напряжение на электродах, необходимые для разделения частиц при заданном пороговом значении эффективной поляризации.

Следует отметить, что ДЭФ-сила проявляется в различных непроводящих средах, что обеспечивает возможность использования указанного метода для разделения и идентификации частиц в воздухе (аэрозоли) или космосе [9, 11]. Поскольку вытесняемое частицей количество молекул в воздухе намного меньше, чем в воде, то ДЭФ-сила в воздухе зависит практически только от поляризуемости частицы, в силу чего последние всегда будут притягиваться к ближайшему электроду. При этом соотношение диэлектрической и вязкой сил, действующих на частицу, также может быть охарактеризовано параметром подобия EV с учетом вязкости, плотности и поляризуемости воздуха.

Работа была поддержана Программой индустриального партнерства (IPP) Министерства энергетики США по контракту № 325717-A-F1.

1. Бакиров Т.С., Генералов В.М., Топорков В.С. // Биотехнология. 1998. № 2. С. 73–82.
2. Wang X., Wang X.-B., Gascoyne P.R.C. // J. Electrostat. 1997. V. 39. P. 277–295.
3. Huang Y., Wang X.-B., Becker F.F., Gascoyne P.R.C. // Biophys. J. 1997. V. 73 P. 1118–1129.
4. Gascoyne P.R.C., Wang X.-B., Huang Y., Becker F.F. // IEEE Transactions on Industry Applications. 1997. V. 33. N 3. P. 670–678.
5. Becker F.F., Wang X.-B., Huang Y., Pathig R., Vykoukal J., Gascoyne P.R.C. // J. Phys. D: Appl. Phys. 1994. V. 27. P. 2659–2662.
6. Becker F.F., Wang X.-B., Huang Y., Pathig R., Vykoukal J., Gascoyne P.R.C. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995. V. 92. P. 860–864.

7. Бакиров Т.С., Чепурнов А.А., Тюнников Г.И., Генералов В.М. // Биотехнология. 1997. № 4. С. 47–54.
8. Бакиров Т.С., Генералов В.М., Чепурнов А.А., Тюнников Г.И., Порываев В.Д. // ДАН. 1998. Т. 363. № 2. С. 258–259.
9. Топорков В.С., Бакиров С., Генералов В.М., Сафатов А.С. // Оптика атмосферы и океана. 1999. Т. 12. № 6. С. 549–552.
10. Андерсон Д., Таннехилл Дж., Плетчер Р. Вычислительная гидромеханика и теплообмен. Т. 1. М.: Мир, 1990. 384 с.
11. Пат. 2105815 РФ, МКИ6, С12Q1/00.

V.S. Toporkov, A.A. Medvedev, T.S. Bakirov, V.M. Generalov. Separation of biological particles by the method of dielectrophoresis.

Separation of biological particles with the help of the dielectrophoretic force, which takes effect on the particles polarized by the alternating inhomogeneous electric field, has been studied numerically. As the polarizability of the particles depends on their physical and biological properties, the dielectrophoresis allows the bioparticles to be isolated and identified when the cell suspension flows through the separating device proposed by us earlier. The fields of electric potential, trajectories of particles, and the threshold values of polarizability, by which the particles were separated, have been calculated at various values of the device parameters and particle size. A dimensionless criterion of similarity which relates the above parameters has been derived. The criterion can be used for choose of optimal parameters of the separating device.