

“Инерцийн хүчийг ашиглан цусны цагаан, улаан эсийг ялгах био-чипын дизайныг хөгжүүлэх нь”.

Докторант Ломбодорж Батзориг^а, Доктор Баатар Зоригтбаатар^б, Ахлах багш Дондов Долгорсүрэн^в,

Доктор Fan-Gang Tseng^г.

ШУТИС. Мэдээлэл, Холбооны Технологийн Сургууль. Электроникийн салбар^{а,б,в}

Тайваны Цин-Хуагийн Их сургууль^г

batzorig.l2007@must.edu.mn, bzorig@yahoo.com, dondov@yahoo.com, fangang@ess.nthu.edu.tw

Хураангуй

Энэхүү өгүүлэлд эгэл-бөөмс хэсгүүдийг ялгах байгууламж буюу био-чипийг онол болон практик тооцооны үндсэн дээр хийж гүйцэтгэлээ. Үүнд шингэний инерцийн хүч, шингэн дэх эгэл-бөөмсийн харилцан үйлчлэлийн зуурамхайн хүч, ханын урсгалд нөлөөлөх үрэлтийн хүчнүүдийг тооцон лабораторт туршилтыг хийж гүйцэтгэсэн.

Цусан дахь цагаан болон эгэл бөөмсын $<1\%$ ихгүйгээр, цусны 1 миллитр дэх нийт эсийн тоо 4.3×10^6 эсүүд/миллирт байх үе дэх ялгалтын процесс нь дараах үр дүнг үзүүлсэн.

Суваг дотор шингэний урсах урсгалын хурд 200 микролитр/сек буюу 10 миллитр/мин байхад цагаан болон улаан эсийн ялгалтын ашигт үйлийн коэффициент нь $\sim 85\%$ болж байгааг туршилт болон онолын тооцоон дээр тогтоосон [1,2].

Түлхүүр үг: инерцийн хүч, улаан эс, био-чип, эгэл эсүүд.

Оршил

Микро-шингэнд эгэл-бөөмсийн харилцан үйлчлэл, хөдөлгөөн, шингэний үрэлтийн хүч, сувгийн өндөр болон өргөний харьцаанаас хамаарч өөрчлөгдөж байдгийг өмнөх судалгааны ажлуудын үр дүнгээс харагдаж байсан. Эгэл-бөөмсийг ялгах болон шүүх техникийг улам сайжруулах, цусыг ашиглан биологийн бодит орчинд судалгааг хийж гүйцэтгэх нь үр дүнг бодиттой болгоход чухал ач холбогдолтой юм. Уламжлалт аргыг ашиглан хүрдний төвөөс зугтах болон татах хүчний үйлчлэлийг ашиглан эгэл-бөөмсүүдийг 70% ашигтайгаар ялгалтын процессыг хийдэг. Сүүлийн үед шүүх, ялгах процессыг гурван хүчний үйлчлэлийг ашиглаж хийж гүйцэтгэж байна [3]. Үүнд:

Нэгд нь инерцийн хүчний хүчний хуулийг ашиглан эгэл бөөмсийг ялгах,

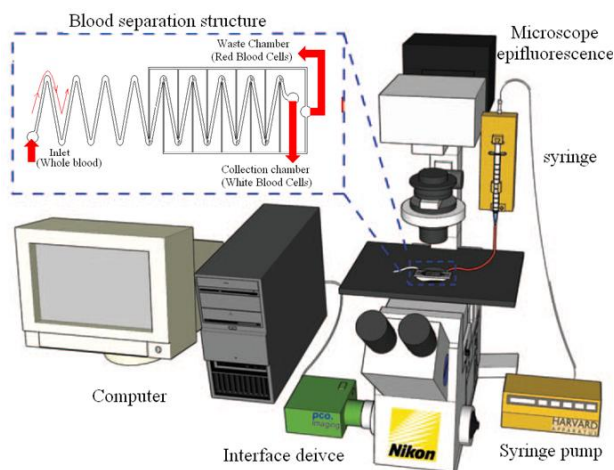
Хоёрт цахилгаан хүчийг ашиглаж ялгалтыг процессыг хийх,

Гуравт нь соронзон хүчийг ашиглан ялгах процессыг хийж байна.

Эдгээр гурван хүчийг ашиглан ялгах процессыг хийх нь давуу болон дутагдалтай талуудтай.

Цахилгаан болон соронзон хүчнүүдийг ашиглан эгэл-бөөмсийг ялгах ялгалтын ашигт үйлийн коэффициент нь инерцийн хүчнийхээс хамаагүй илүү байдаг бол дутагдалтай тал нь энергийн

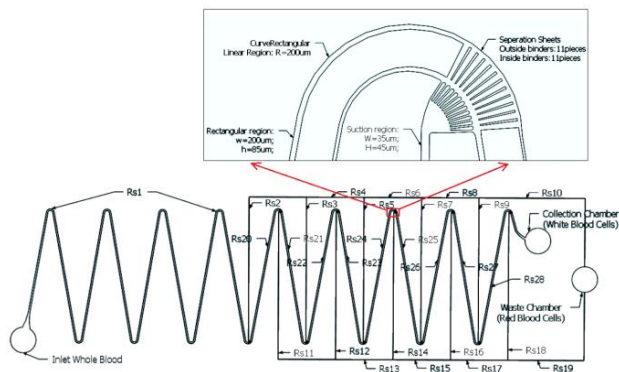
үүсгүүр ашигладагт байдаг. Инерцийн хүчийг ашиглаж эгэл-бөөмс болон жижиг эсүүдийн ялгах болон шүүхдээ шингэний уян харимхайн харилцан үйлчлэл хөдөлгөөны тооцоо, микро-хэмжээст бүхий сувагт шингэний урсгалын хурд зэргийг нарийн тооцож хийж өгөх шаардлагатай болдог [4,5].



Зураг 1. Микро-скоп, компьютер, шингэн шахах төхөөрөмж, өндөр хурдтай камер, био-чип зэрэг төхөөрөмжүүдийг ашиглаж холбосон байдлыг үзүүлэв.

Микро-чип дэх эгэл-бөөмсийн тэгш өнцөгт сувгаар урсах шингэний урсгал, мурий суваг дахь урсгал нь Ренолдсын тогтмол тоогоор (Reynolds number, Re) илэрхийлэгдэнэ.

Сувгийн ханан болон шингэний уян харимхайн харилцан үйлчлэлийн хүчний үйлчлэлээр жижиг эгэл-бөөмсүүд нь сувгийн төв хэсгээрээ хуйларан урсана. Микро-шингэн дэх эгэл-бөөмсийн хэмжээ



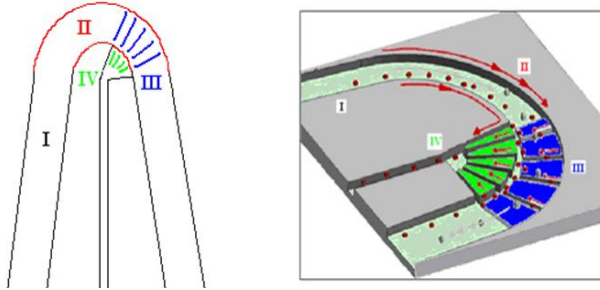
Зураг 2. Био-чипын бүтэц

болон шингэний урсгалын хурдаас хамаарч эгэл-бөөмс нь янз бүрийн байрлалд байрлана.

Загварын үндсэн зарчим

Био-чип дотор тэгш өнцөгт сувгаар урсах микро-шингэн дэх эс болон эгэл-бөөмсүүдийг хэмжээсээр нь ялгах, шүүх үйл явцыг түргэн шуурхай хийж гүйцэтгэн, үр дүнд нь анализ хийнэ.

Тэгш өнцөгт хэлбэртэй сувгын уртыг багасгахын тулд түлхэх хүчийг их байхаар сонгож авна. Энэ нь эс болон эгэл-бөөмсүүдийг хэмжээсээр нь ялгаатайгаар сувгийн

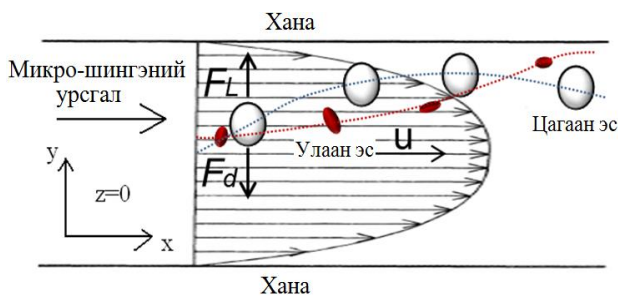


Зураг 3. Муруй суваг дахь шүүлтүүр болон ялгах хэсгүүдийг харуулсан байдал.

ханыг даган урсах боломжийг олгож, богино зайд ялгалтын ашигт үйлийн коэффициентийг нэмэгдүүлж өгөх үндсийг бий болгоно. Микро-суваг дахь муруй сувгын загварын дизайныг дараах байдлаар, хэсгүүдэд хуваана[6,7].

1. Шулуун тэгш өнцөгт суваг дахь микро шингэн дэх эсэд үйлчлэх инерцийн хүчний үйлчлэл бүс.
2. Тойрог дээр гүнийн шахалтын хүчийг тооцон “Dean drag”-т суурилсан анализын хэсэг.
3. Том, жижиг эсүүдийн ялгалт хийх микро-саадын хэсэг.
4. Сорох сувгийн хэсэг.

Микро-суваг дахь шингэний урсгалын эгэл-бөөмсүүдэд түлхэх болон татах хүчнүүд үйлчилнэ.



Зураг 4. Микро-суваг дахь жижиг эсүүдэд үйлчлэх татах (F_d) болон түлхэх (F_L) хүчнүүдийн үйлчлэлүүдийг үзүүлэв.

Стоксийн хуулийг (Stoke's law) ашиглан тайлбарласан Папацкийн өгүүлэлийн эгэл-бөөмст татах болон түлхэх хүчний харилцан үйлчлэлийн динамик загварыг ашигласан[8].

$$F_d = 3\pi\mu a_p U_L \quad (1)$$

Энд:

μ - микро-шингэний зуурамтгай чанар.

a_p - эгэл-бөөмсийн диаметр.

U_L - эгэл-бөөмсийн хурд.

$$F_L = \frac{2\rho U_f^2 a_p^4}{D_h^2} \quad (2)$$

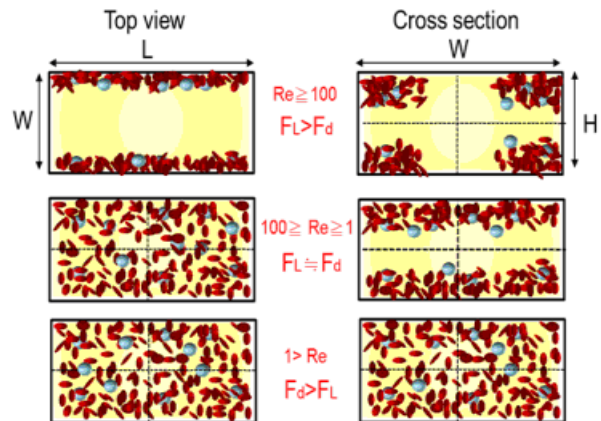
$$D_h = \frac{4A}{P} = \frac{2WH}{(W+H)} \quad (3)$$

Энд:

ρ - микро-шингэний нягт.

U_f - микро суваг шингэний урсгалын хурд.

D_h - эгэл-бөөмсийн тэнцвэртэй оршиход шаардлагатай приметр.



Зураг 5. Шулуун суваг дахь цусны эсүүдийн (эгэл-бөөмс) инерцийн хүчний эффект:

(a) $Re < 1$ Шингэн дэх эгэл хэсгүүдийн хурд шингэний урсгалтай ижил байна.

(b) $1 < Re < 100$ Эгэл хэсгүүд нь дээд доод хана руу шахагдана.

(c) $Re >$ Бага радиустай эргэлтийн хэсэг дээр эгэл хэсгүүд том хэсгүүд нь татах хүчний нөлөөгөөр хана тэмүүлнэ.

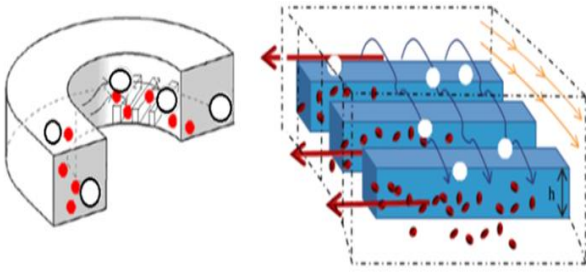
$$U_L = \frac{F_L}{3\pi\mu a_p} = \frac{2\rho U_f^2 a_p^3}{3\pi\mu \left(\frac{2WH}{W+H}\right)} \quad (4)$$

$$L = \frac{U_{\max} \left(\frac{1}{2}W\right)}{U_L} = \frac{3\pi W}{2R_e} \left(\frac{D_h}{a_p}\right)^3 \quad (5)$$

L - эгэл хэсгүүдийн тэнцвэртэй болох үеийн урт.

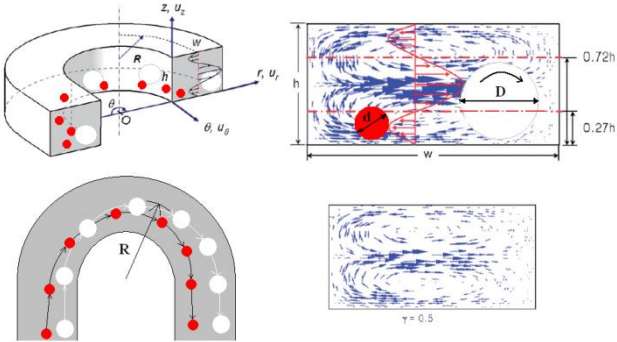
Муруй суваг дотор том хэмжээтэй эгэл хэсгүүд нь шулуун сувгийнхаас илүү их хурдасгасан хурдтайгаар урсаж байгаа нь Диний тоогоор (Dean's number) батлагдаж байгаа юм.

Энэ томьёолол нь нийтээр хүлээн зөвшөөрөгдсөн.



Зураг 6. Тэгш өнцөгт сувгийн микро-саадын загвар.

Диний тоо (Dean's number) бол маш чухал параметр, үүнийг ренолдсын тоо (Reynolds number, Re), тэгш өнцөгт сувгын диаметр (Dh), сувгийн муруйлтын радиус (R), суваг дахь шингэний урсгалын хурд (U) гэсэн дөрвөн параметруудээр тодорхойлогдоно [9,10].



Зураг 7. Эгэл хэсгүүдийн ялгалтыг харуулсан тэгш өнцөгт микро-сувгийн загвар.

Хэрэв сувгийн мурилтын радиус нь багасвал ренолдын тоо нэмэгдэж, Диний тоо ихсэнэ.

Диний тоо (Dean number):
$$D_e = Re \sqrt{\frac{D_h}{R}} \quad (6)$$

Сувгийн диаметр (Hydraulic diameter):
$$D_h = \frac{2WH}{W + H} \quad (7)$$

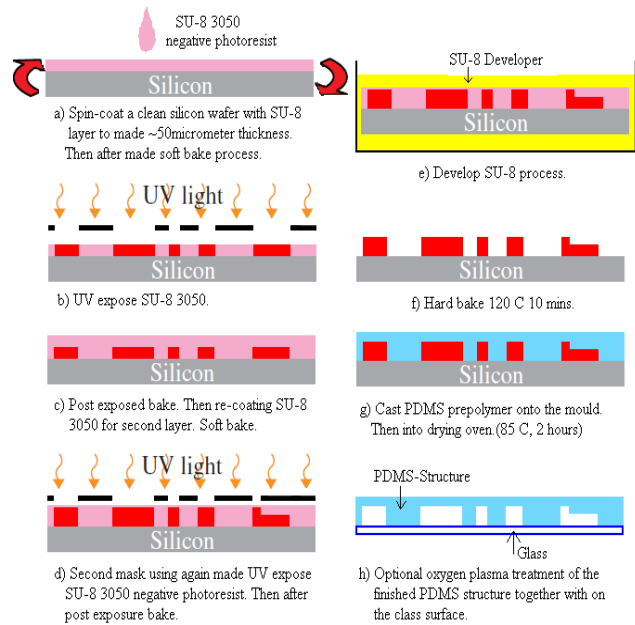
Ренолдын тоо (Reynolds number):
$$R_e = U_\theta D_h / \nu \quad (8)$$

Харьцаа (Aspect ratio):
$$\gamma = \frac{H}{W} \quad (9)$$

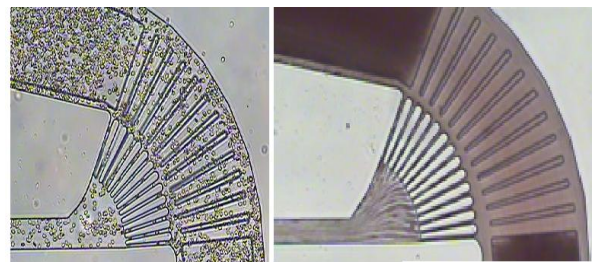
Зураг 7-д микро-сувгийн өндөр өргөний харьцаа $\gamma = 0.5$ үед Диний тооны (Dean number) өөрчлөлтийг үзүүлээ. Ренолдын тоо (Reynolds number) болон урсгал бага үед эгэл-бөөмс нь жолоодлогтойгоор микро-сувгийн дотор урсана. Гадаргуу дээр хэлгийлгэх нуруунуудын хоорондох зай нь жижиг микро-эсүүдийн өндрийн хэмжээтэй ижил байснаар жижиг эсийг ховилоор дамжуулан сорох суваг руу явуулаж, том эсийг давуулан гол суваг руу дамжуулна (зураг 6). Сорох сувгийн ажлын ашигт үйлийн коэффициент нь шулуун шугаман суваг болон муруй сувгийн харьцаа, сувагийн өндөр, өргөний харьцаанаас хамаарна.

Чип хийх дараалал.

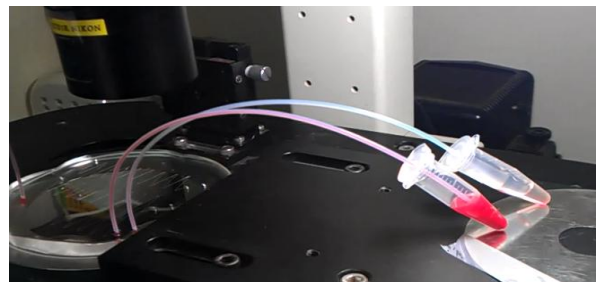
Тэгш өнцөгт шулуун болон муруй сувгийн хэвийг силикон хавтанцар дээр идэвхгүй фоторезистор (SU-8 3050)-ыг ашиглан нэгдүгээр үеийг гаргана. Дээрх үйлдлийг давтан хоёрдугаар үеийг хийнэ (Зураг 9-г үзүүлэв). Дараа нь (PDMS- polydimethylsiloxane) полимерыг 10:1 харьцаатай бэлдээд, силикон хавтанцар дээр бэлдсэн хэвэн дээр хийж, 85°C-ын градуст 2 цагийн турш зууханд тэгшэн байрлуулаж хатаана. Үүний дараа төхөөрөмжийг унтрааж өрөөний температурт хүртэл байлгаж байгаад PDMS-ыг цэвэрхэн жигд хуулж авна. Эцэст нь Oxygen plasma-г ашиглан гаргаж авсан хөндийн суваг бүхий PDMS-ыг тусгай шилэн дээр нааж 8 цагийн турш өрөөний температурт байлгана[11,12].



Зураг 8. Био-чипийн дэс дараалалыг харуулав.

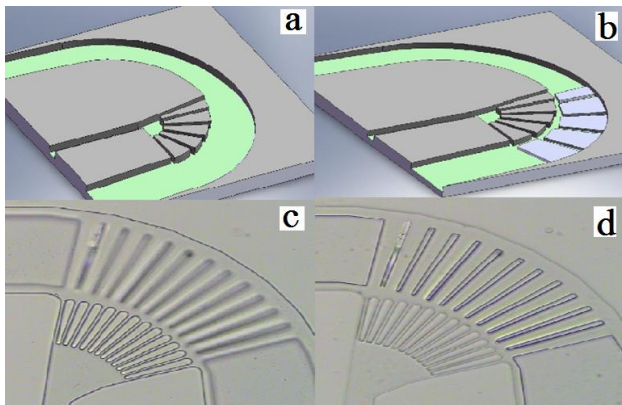


Зураг 9. Микро-суваг дахь эгэл-бөөмсийн бодит хөдөлгөөнийг



Үзүүлэв.

Зураг 10. Ялгалтын үйл ажиллагааны бодит үр дүнг харуулав.



Зураг 11. Био-чипийн нэг, хоёрдугаар давхаргын силикон хавтанцаар дээр хэвийг хийж (a,b), полимер материал ашиглан хийсэн суваг үүсгэсэн (c,d) дүрсийг харуулав.

Бэлдэцийг бэлтгэх.

Цусыг 40x 20x 10x харьцаагаар цусыг шингэлэн туршилтад ашиглана. Улаан болон цагаан диаметрын эсийн хэмжээг 6.2–7.9 микрометр, 10-15 микрометр гэж тодорхойлж, урьдчилан бэлдсэн био-чипд хийж туршилтыг явууллаа. Ингэхдээ эсийг зунгаг байдал, амьдрах чадварыг хэвийн байлгах үүднээс тодорхой хүчлийн уусмалуудыг ашиглав. Бэлдэц нь 2-3 хоногийн дотор ашиглагдах боломжтой байдаг. Энэ нь эсийн гадаад орчинд амьдрах хугацаа юм. Нэг удаагийн туршилтад 1миллиметр цусыг ашиглаж хийсэн.

Туршилтын төхөөрөмжүүд.

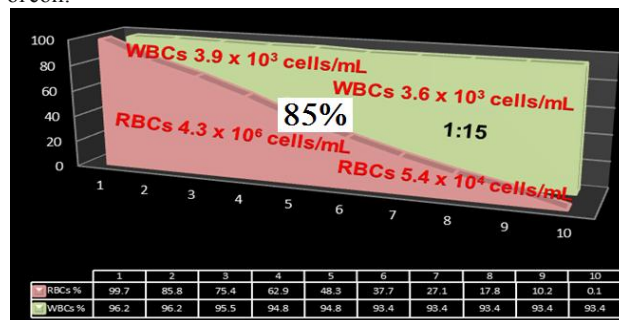
Шингэний урсгалыг удирдан шахах төхөөрөмж (syringe pump-KDS88), эсийн хөдөлгөөнийг ажиглах электрон микроскоп (Olympus IX71), өндөр хурдны камер, компьютер зэрэг төхөөрөмжүүдийг туршилтад ашигласан. Компьютерт микро-шингэн дэх эгэл-бөөмсийн урсгалыг 1024 x 768-ын нягтралтайгаар зургыг авч тоолуурын автомат аргыг ашиглаж, тоон боловсруулалтыг хийсэн. Туршилтад хэрэглэсэн төхөөрөмжүүдийн хооронд нь холбосон (Зураг 1-г үзүүлэв).

Үр дүн, хэлэлцүүлэг.

Микро-шингэний урсгалын хурд, сувгийн уртын харилцан хамааралаас хамааран микро-шингэний доторх эгэл бөөмсийн тархалтын үзэгдэл, байрлалыг тодорхойлох Reynolds number-ын тоо нэгээс их байх хэрэгтэй тогтоосон (Зураг 5-д үзүүлэв). Эгэл бөөмсийг ялгах ашигт үйлийн коэффициентыг ихэсгэх боломж нь сорох суваг болон оруулах сувгийн харьцаанаас хамаарч байгааг ажигласан. Шингэний урсгалын хурд нь бага 1 микролитр/минут, шүүлтгийн хугацаа их удаан, ашигт үйлийн коэффициент нь 76.8% байгаа нь өмнөх судалгааны ажлаас харагдаж байлаа [13,14,15,16]. Эдгээр асуудлыг дүгнэж хурдыг өндөр болгож, сувгийн харьцаануудыг маш нарийн судлаж, чипийг хоёр үе давхаргатай болгон тодорхой үр дүнд хүрсэн. Энэ судалгааны ажлаар шингэний урсгалын хурд нь 1 миллилитр/минутанд, ялгах үйл ажиллагааг 10 хэсэгтэйгээр, 1 (WBCs):15(RBCs) харьцаатайгаар ашигт үйлийн коэффициентыг 85%-д хүргэлээ.

Энд хийгдэж байгаа үйл ажиллагаа нь харилцан үйлчлэлийн инерцийн хүч, чипийн гео-метр дизайн, шингэний байгууламжид орох, гарах хялбар бүтэцтэй, эгэл-бөөмсийг тоолох хялбар аргыг ашигласнаараа давуу талтай болно. Том хэмжээтэй эгэл-бөөмсийг ялгах үйл ажиллагааг

(хорт хавдарыг) өндөр мэдрэмжтэйгээр илрүүлж гол сувгаар ялгах үйл ажиллагааг хийх боломжийг бүрдүүлж өгсөн.



Зураг 12. Цусны эгэл-бөөмсийн ялгалтын үр дүнг 1 (WBCs) : 15 (RBCs) харьцаатайгаар ашигт үйлийн коэффициентыг (85%) үзүүлэв.

Био-чип нь үнэ багатай, үйлдвэрлэлд хэрэглэхэд хялбар хурдан зэрэг олон сайн давуу талуудтай.

Ашигласан материалууд

- 1 A.S. Kim, E.M.V. Hoek, *Environ. Eng. Sci.* 19 (2002) 373–386.
- 2 P. Bacchin, M. Meireles, P. Aimar, *Desalination* 145 (2002) 139–146.
- 3 A. Wolff, I.R. Perch-Nielsen, U.D. Larsen, P. Friis, G. Goranovic, C.R. Poulsen, J.P. Kutter, P. Telleman, *Lab Chip* 3 (2003) 22–27.
- 4 M.M. Wang, E. Tu, D.E. Raymond, J.M. Yang, H. Zhang, N. Hagen, B. Dees, E.M. Mercer, A.H. Forster, I. Kariv, P.J. Marchand, W.F. Butler, *Nat. Biotechnol.* 23 (2005) 83–87.
- 5 N. Pamme, A. Manz, *Anal. Chem.* 76 (2004) 7250–7256.
- 6 F. Petersson, A. Nilsson, C. Holm, H. Jhonsson, T. Laurell, *Lab Chip* 5 (2005) 20–22.
- 7 Y. Huang, S. Joo, M. Duhon, M. Heller, B. Wallace, X. Xu, *Anal. Chem.* 74 (2002) 3362–3371.
- 8 M. Yamada, M. Nakashima and M. Seki, *Anal. Chem.*, 2004, 76, 5465–5471.
- 9 J. El-Ali, P. K. Sorger and K. F. Jensen, *Cells on Chip, Nature*, 2006, 442, 403–411.
- 10 Dino Di Carlo, *Lab Chip*, 2009, 9, 3038–3046
- 11 J.S. Kuo, Yongxi Zhao, Pery G. Schiro, Laiying Ng, David S. W. Lim, J. Patrick Shelby and D.T. Chiu, *Lab Chip*, 2010, 10, 837–842
- 12 S. S. Kuntaegowdanahalli, A. A. S. Bhagat, G. Kumar, Jan Papautsky, *Lab Chip*, 2009, 9, 2973–2980
- 13 Sungyoung Choi and Je-Kyun Park, *Anal. Chem.* 2008, 80, 3035–3039
- 14 Sungyoung Choi, Taeyun Ku, Seungeong Song, Chulhee Choi and Je-Kyun Park, *Lab Chip*, 2011, 11, 413–418
- 15 P. I. Okagbare, J. Feng, M. L. Hupert, D. Patterson, J. Gottert, R. L. McCarley, D. Nikitopoulos, M. C. Murphy and S. A. Soper, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130, 8633–8641.
- 16 Ali Asgar S. Bhagat, Han Wei Hou, Leon D. Li, Chwee Teck Lim and Jongyoon Han, Pinched flow coupled shear-modulated inertial microfluidics for high-throughput rare blood cell separation, *Lab Chip*, 2011, 11, 1870