



High-throughput separation of cancer cells by a spiral microchannel with sharp curves

Vahid Omrani¹, Mohammad Zabetian Targhi^{2*}, Fatemeh Rahbarizadeh³, Reza Nosrati⁴

¹ Master of Mechanical Engineering, Department of Mechanical Engineering, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

² Associate Professor, Department of Mechanical Engineering, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

³ Department of Medical Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

⁴ Department of Mechanical Engineering, Monash University, Melbourne, Australia.

* 14115-111, Tehran, Iran, zabetian@modares.ac.ir

Article info

Article history:

Received: 5 Sep 2022

Revised: 17 Jan 2022

Accepted: 25 Jan 2022

Available online: 25 Jan 2022

Keywords:

Microfluidic

Simulation

Passive methods

Experimental separation

Circulating tumor cell

<https://doi.org/10.22077/AEC.2023.5625.1014>

Abstract

In recent years, cell focusing using microfluidic systems has been highlighted as an efficient method of counting and enriching circulating tumor cells (CTCs). In order to isolate cancer cells with high throughput and efficiency, using of passive, size-based, label free method based on hydrodynamic forces is preferred. This study showed that it was possible to isolate BCCs (MCF-7 and MDA-MB-231) and white blood cells (WBCs) from cell mixtures with high efficiency and high throughput using an unconventional spiral microchannel by means of combination of long loops and U turn with high curvature ratio at moderate Reynolds number (Re) about 90. Therefore we have designed an unconventional low-cost label free spiral microfluidic device for isolating both CTCs and lysed WBCs at a flow rate about 1.7 mL/min with high efficiency and Purity (more than 90%). Standard particles with a diameter in range of 2-20 μm (The range of all cells in the bloodstream) were initially used as alternative particles to optimize the design of microchannel and flow rate by imitating cell behavior. At the optimal flow rate, up to 92% of CTCs were separated from culture with high purification.

جداسازی سلول‌های سرطانی با کارایی بالا، توسط میکروکانال مارپیچی دارای منحنی تند

وحید عمرانی^۱، مجد ضابطیان طریقی^{۲*}، فاطمه رهبری زاده^۳، رضا نصرتی^۴

^۱ کارشناسی ارشد تبدیل انرژی، رشته مهندسی مکانیک، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

^۲ دانشیار، مهندسی مکانیک، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

^۳ گروه علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

^۴ گروه مهندسی مکانیک، دانشگاه موناش، ملبورن، استرالیا

* ۱۴۱۱۵-۱۱۱، تهران، ایران، zabetian@modares.ac.ir

چکیده

در سال‌های اخیر جداسازی سلولی با استفاده از سیستم میکروسیالی به عنوان روشی کارآمد برای شمارش و غنی‌سازی سلول‌های سرطانی گردشی در خون (CTCs) برجسته شده است. به منظور جداسازی سلول‌های سرطانی با عملکرد و بازده بالا، استفاده از روش غیرفعال، مبتنی بر اندازه و بدون برچسب بر اساس نیروهای هیدرودینامیکی ترجیح داده می‌شود. این مطالعه نشان داد که جداسازی سلول‌های سرطانی سینه (BCCs) و گلبول‌های سفید خون (WBC) با کارایی و عملکرد بالا و با استفاده از یک میکروکانال مارپیچی غیرمتعارف متشکل از حلقه‌های بلند و پیچ U شکل با نسبت انحنا بالا در عدد رینولدز متوسط حدود 90، امکان‌پذیر است. بنابراین ما یک دستگاه میکروسیالی مارپیچی، بدون برچسب و غیر متعارف برای جداسازی سلول‌های سرطانی سینه معلق در خون و گلبول‌های سفید با دبی حدود 1.7 میلی لیتر در دقیقه با راندمان و خلوص بالا (بیش از 90٪) طراحی کرده‌ایم. در ابتدا ذرات استاندارد با قطری در محدوده 2-20 میکرومتر (بازه تمامی سلول‌های موجود در جریان خون) به عنوان ذرات جایگزین سلول‌های سرطانی، برای بهینه سازی دبی و طراحی میکروکانال استفاده شدند. در دبی بهینه، تا 92 درصد از سلول‌های سرطانی با درصد خلوص بالا از مخلوط سلولی جدا شدند.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۰۶/۱۴/۲۰۲۲

بازنگری: ۰۱/۰۱/۲۷

پذیرش: ۰۱/۱۱/۰۵

نشر برخط: ۰۱/۱۱/۰۵

کلمات کلیدی:

ریزسیالی

شبیه سازی

روش‌های غیرفعال

جداسازی تجربی

سلول‌های سرطانی گردشی در

خون

در این پژوهش رفتار ذرات در تراشه‌های میکروسیالی، مورد بررسی قرار گرفته است. بر خلاف فناوری‌های میکروسیالی مرسوم، که در آن اینرسی سیال به دلیل رینولدز بسیار پایین، ناچیز است، روش اینرسی در محدوده رینولدز متوسط قرار دارد. در این محدوده، هر دو اثر اینرسی و لزجت سیال تأثیرگذار هستند که اساس کار روش اینرسی را تشکیل می‌دهند. هدف از این مطالعه جداسازی سلول‌های سرطانی بر اساس اندازه و شکل مختلف آنها توسط یک میکروکانال ماریپیچ غیر متعارف با چرخش U شکل و با استفاده همزمان از ویژگی‌های اینرسی سیال و جریان ثانویه دین، با نرخ جداسازی بالا می‌باشد. به منظور طراحی مناسب میکروکانال، رفتار ذرات در دبی‌های مختلف توسط نرم افزار COMSOL شبیه‌سازی شد. دبی بافر برابر 1150 میکرولیتر در دقیقه (بافر مایع بدون ذره ای است که در ابتدا با فشار ذرات را به سمت دیواره کانال سوق می‌دهد) و دبی نمونه 550 میکرولیتر در دقیقه در نظر گرفته شد که در مقایسه به کارهای قبلی دبی قابل توجهی به شمار می‌آید. سپس ذرات استاندارد، برای شبیه‌سازی رفتار سلول‌های واقعی استفاده شدند که آزمایش‌ها انجام شده عملکرد مناسب تراشه را ثابت کردند. در انتها جداسازی سلول‌های سرطانی واقعی انجام شد و مخلوط سلول سرطانی و گلبول سفید به عنوان یک سیستم مدل برای خالص سازی و جداسازی استفاده شد و ذرات مورد نظر با راندمان و خلوص بیش از 90 درصد از هم جدا شدند. تفاوت عمده این پژوهش با پژوهش‌های پیشین انجام شده توسط گروه مولفین، در نظر گرفتن تمامی جزئیات در شبیه‌سازی، افزایش بازده، افزایش چشمگیر دبی و تغییر در ساختار، الگوی هندسی و هدف تراشه می‌باشد.

۲ مواد و روش

۲-۱- روابط حاکم

جداسازی ذرات بر اساس اندازه در کانال‌های منحنی شکل، به تعادل بین نیروهای برآ (F_L) و پسا (F_D) بستگی دارد که منجر به انتقال ذرات می‌شود. در این انتقال، نیروی گرادین برشی ذرات را به سمت دیواره کانال و نیروی دیواره‌ای ذرات را به سمت خط مرکزی سوق می‌دهند. این نیروها ذرات را در یک کانال مستقیم به چندین موقعیت تعادلی محدود می‌کنند. برآیند این نیروها به فرم زیر گزارش شده است که Re_p عدد رینولدز ذره، Re_c عدد رینولدز کانال و ρ چگالی سیال است. C_L ضریب برآ نام دارد که تابعی از موقعیت نرمال شده ذرات در مقطع کانال (x_c) و عدد رینولدز است. ضریب برآ یک تابع ناشناخته است که می‌توان آن را از طریق شبیه سازی عددی یا اندازه گیری‌های تجربی به دست آورد ولی در کاربردهای رایج، مقدار این ضریب را می‌توان 0.5 فرض کرد [۱۱].

$$F_L = \frac{\mu^2}{\rho} Re_p^2 C_L(Re_c, x_c) \quad (1)$$

$$F_L = \rho a^4 \left(\frac{U_m}{D_h}\right)^2 C_L(Re_c, x_c) \quad (2)$$

جریان دین در کانال‌های منحنی شکل به دلیل اثرات گریز از مرکز رخ می‌دهد و با گردابه‌های خلاف جهت مشخص می‌شود، جریان در خط مرکزی کانال به سمت بیرون و در بالا و پایین کانال به سمت داخل هدایت می‌شود. تعادل بین نیروهای برآی اینرسی و نیروی پسا دین را می‌توان اساس مرتب سازی ذرات بر اساس اندازه دانست. نیروی پسا ناشی از جریان دین به اندازه ذرات و انحنای کانال مربوط می‌شود. جایی که حداکثر سرعت کانال، a قطر ذره، D_h قطر هیدرولیکی و r شعاع انحنای کانال باشد، موقعیت تعادلی ذرات را می‌توان از نسبت F_L به F_D تخمین زد، که در آن δ نسبت انحنای است [۱۲].

$$F_D \sim \frac{a}{r} (U_m D_h)^2 \quad (3)$$

$$\frac{F_L}{F_D} = \frac{Re_c^n}{\delta} \left(\frac{a}{D_h}\right)^3 \quad (4)$$

$$\delta = \frac{D_h}{2r} \quad (5)$$

سرطان به عنوان دومین عامل مرگ در جهان شناخته می‌شود، تخمین زده می‌شود که حداقل 30 درصد از این مرگ‌ها در صورتی که بیماران قبل از وقوع متاستاز تشخیص داده و تحت درمان قرار گیرند قابل پیشگیری است. سلول‌های سرطانی گردشی در خون حدود نیم قرن پیش کشف شدند، اما اهمیت آنها در تشخیص و درمان سرطان به تازگی آشکار شده است. این تاخیر تا حد زیادی به عدم توانایی جداسازی دقیق آنها به دلیل تعداد بسیار کم آنها نسبت داده می‌شود. بنابراین، انگیزه زیادی برای یافتن یک تکنیک جداسازی سلولی قوی وجود دارد که امکان جداسازی سریع و کارآمد سلول‌های سرطانی را برای تجزیه و تحلیل در مراحل بعد فراهم کند. استراتژی‌های مرسوم برای تشخیص تومورهای اولیه شامل ارزیابی علائم بالینی براساس نوع و محل سرطان، با تکیه بر تکنیک‌های تصویربرداری هستند، این روش‌ها فقط زمانی قابل استفاده هستند که تومور به اندازه معینی رسیده باشد و نمی‌توان از آنها برای تشخیص سرطان در مراحل اولیه استفاده کرد [۱].

با توجه به این نکته که سلول‌های سرطانی رها شده از تومورهای اولیه بزرگتر از سایر سلول‌های موجود در خون هستند، محققان رویکردهای خود را به جداسازی مبتنی بر اندازه تغییر داده‌اند. در دهه گذشته، تراشه‌های میکروسیالی و به خصوص روش اینرسی توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند، این روش‌ها مزایای بسیاری نسبت به روش‌های معمولی دارند، مانند حجم نمونه کوچک‌تر، هزینه‌های کمتر و سرعت بالاتر. اصول جداسازی میکروسیالی بسته به مصرف انرژی به دو دسته روش فعال و غیرفعال طبقه بندی می‌شود، روش‌های فعال برای جداسازی سلولی به نیروهای خارجی نیاز دارند، در حالی که روش‌های غیرفعال عمدتاً از نیروهای هیدرودینامیکی برای این کار استفاده می‌کنند. روش‌های فعال می‌توانند جداسازی دقیق‌تری را ارائه دهند، اما فرآیند تولید گران قیمت، اجزای پیچیده‌تر و سرعت کمتری دارند، زیرا زمان بیشتری برای اعمال نیروهای خارجی روی ذرات و غلبه آن‌ها بر نیروهای هیدرودینامیکی مورد نیاز است. در میان روش‌های غیرفعال برای جداسازی سلول‌های سرطانی، میکروکانال‌های اینرسی یکی از جذاب‌ترین روش‌های جداسازی مبتنی بر اندازه محسوب می‌شود، این تراشه‌ها در طیف وسیعی از علوم پزشکی و تشخیصی کاربرد دارند [۲] و [۳].

جداسازی ذرات با استفاده از میکروکانال‌های ماریپیچ اولین بار در سال 2006 توسط ستو و همکارانش انجام شد، سپس این میکروکانال‌ها در سال 2008 توسط پاپایوتسکی و همکاران برای جداسازی ذرات 1.9 و 7.32 میکرومتری از یکدیگر استفاده شد [۴]. در سال 2009، دیکارلو و همکاران نشان دادند که این جداسازی به دلیل تعادل بین نیروهای برآ و پسا ناشی از انحنای میکروکانال ماریپیچ است [۵]. از سال 2010، تلاش‌های زیادی برای افزایش کارایی و خالص سازی این روش‌ها با استفاده از پلتفرم ساده و کم هزینه انجام شده است [۶]. سان و همکاران در سال 2012، میکروکانال ماریپیچ را طراحی کردند که در پایان مسیر، میکروکانال یک چرخش S شکل داشته و دوباره مسیر ماریپیچ را طی می‌کند. در حالی که این میکروکانال دارای راندمان و خلوص بالایی بود، معایبی نیز داشت، مهمترین مشکل آن نرخ جداسازی پایین در حدود 0.5 میلی لیتر در دقیقه بود [۷]. در سال 2017، روسوم و همکاران موفق به جداسازی سلولی با بازده 88 درصد و خلوص 91 درصد با سرعت جریان بالاتر از 1 میلی لیتر در دقیقه با استفاده از این نوع میکروکانال شدند [۸].

در سال‌های آینده، دانشمندان با ادغام خلاقانه میکروکانال‌های آرایه‌ای و ماریپیچ موفق به جداسازی سلول‌ها با توان و کارایی بالا شدند و در سال 2017، لین و همکاران برای اولین بار شروع به ساخت تراشه‌های ماریپیچ با حلقه‌های بلند، زوایای تند و الگوی هندسی خاص کردند و موفق شدند سلول‌های بین 2 تا 18 میکرومتر که کل محدوده سلول‌های خونی است را با سرعت و دقت بالای 90 درصد جدا کنند [۹]. در سال 2019، اوزبی و همکاران یک تراشه میکروسیالی طراحی کردند که با ایجاد تغییراتی در ابعاد و الگوی میکروکانال آرایه‌ای، سلول‌های سرطانی را به طور دقیق جدا کردند. ارزش کار این گروه، سادگی و کم‌هزینه بودن تراشه است که یکی از معیارهای مهم در ساخت تراشه‌های میکروسیالی محسوب می‌شود [۲]. در سال 2021، وارکیانی و همکاران از مقاطع ذوزنقه‌ای شکل با الگوهای هندسی متنوع برای جداسازی سلول‌ها استفاده کردند که برای جداسازی دو نوع سلول از یکدیگر بسیار مناسب هستند [۱۰].

نزدیک به دیواره‌های بالایی و پایینی میکروکانال، نیروی برآ و نیروی پسای دین را همزمان تجربه کنند. در نیمه بیرونی کانال، جهت یکان F_D و F_L باعث می‌شود که ذرات از جریان دین پیروی کنند، درحالی‌که در نیمه داخلی کانال، F_D و F_L در جهت مخالف هم عمل می‌کنند که منجر به تمرکز ذرات در نزدیکی دیواره داخلی می‌شود [۱۶] و [۱۷].

همانطور که در شکل (۲) نشان داده شده است، فلش‌های قرمز نشان دهنده نیروی برآ و فلش‌های آبی نشان دهنده نیروی پسا هستند، ذرات بزرگتر تحت نیروی برآی بزرگتری قرار می‌گیرند بنابراین قادر به عبور از نیمه درونی نیستند و ذرات بزرگی که در ابتدا در نیمه بیرونی قرار دارند همزمان توسط نیروهای برآ و پسا به سمت نیمه داخلی کانال رانده می‌شوند. از طرف دیگر، نیروی برآی عمودی روی ذرات کوچک به اندازه ای نیست که ذرات را به سمت بالا و پایین کانال انتقال دهد تا تحت تاثیر گردابه دین قرار گیرند، در نتیجه در دیواره بیرونی باقی می‌ماند. با یکنواخت‌تر شدن پروفیل سرعت برای کانال‌های عریض‌تر، نرخ گردادیان برشی کاهش می‌یابد، بنابراین در کانال‌های عریض‌تر، نیروی پسای دین روی ذرات غالب می‌شود. افزودن انحنا به میکروکانال‌ها نه تنها به تشکیل جریان‌های ثانویه دین کمک می‌کند، بلکه نیروی گردادیان برشی را از طریق توزیع مجدد پروفیل و تغییر محل بیشینه سرعت تغییر می‌دهد به نحوی که انحنای کانال باعث می‌شود حداکثر سرعت به نیمه بیرونی کانال منتقل شود، این اتفاق جداسازی ذرات کوچک را بهبود می‌بخشد [۱۸] و [۱۹].

در این تحقیق از نرم افزار COMSOL Multiphysics 6 برای تجزیه و تحلیل جریان سیال در داخل میکروکانال استفاده شد. جریان به صورت تک فاز و تراکم ناپذیر در نظر گرفته شده و معادلات ناویر-استوکس با استفاده از جریان آرام حل شد. به عنوان شرایط مرزی، دبی ثابت در ورودی میکروکانال در نظر گرفته شد و فشار صفر در خروجی اعمال شد. شرط عدم لغزش و ذرات جهشی نیز بر روی دیواره‌ها اعمال شد. مدل به صورت سه بعدی در نظر گرفته شد و برای شبکه‌بندی آن از حدود 500000 المان استفاده شده است و در انتها حلگر GMRES از میان دیگر حلگرهای پیش فرض انتخاب شد. سپس ذرات از ورودی تا خروجی ردیابی شدند که نتایج شبیه‌سازی شده مطابقت بسیار خوبی با تئوری داشت.

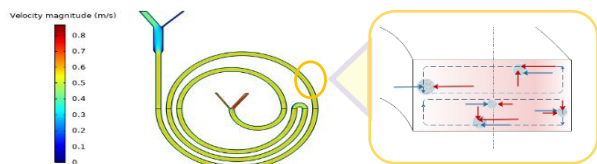


Fig. 2. The shift of the location of the maximum velocity and its effect on the magnitude of the forces acting on the particles.

شکل ۲. شیفت شدن مکان سرعت بیشینه و تاثیر آن روی بزرگی نیروهای وارده بر ذرات.

۲-۲-۱- اعتبارسنجی

اعتبار سازی عددی با استفاده از آزمایش تجربی گزارش شده توسط ورکیانی و همکاران ارزیابی شد. برای این منظور، میکروکانال ماریچی که در شکل (۳) نشان داده شده است، در نرم افزار کامسول شبیه‌سازی شد و مشاهده شد که مسیر حرکت سلول‌ها شباهت زیادی با آزمایش تجربی دارد. همچنین مشابه آزمایش تجربی، سلول‌های خونی و سرطانی از خروجی موردنظر خود به بیرون رفتند. از آنجایی که شبیه‌سازی استفاده شده در این پژوهش، حالت بهبودیافته و با جزئیات بیشتر شبیه‌سازی دکتر ضابطیان و همکاران در مقاله "مطالعه عددی روی جداسازی کامل سلول‌های خونی با استفاده از روش یکپارچه دیالکتروفورسیس-فوتوفورسیس در یک میکروکانال جدید" با تغییراتی در فیزیک مسئله می‌باشد، بنابراین می‌توان گفت با توجه به انطباق شبیه‌سازی با فیزیک مسئله، روش عددی استفاده شده معتبر است. به منظور بررسی مستقل از شبکه بودن حل، برای 6 نقطه از میدان حل، مقدار سرعت و فشار، به ازای شبکه‌بندی‌های مختلف اندازه‌گیری شد، با توجه به نتایج، شبکه‌بندی fine با 492651 المان برای کل هندسه، شبکه مناسبی بود، در این شبکه‌بندی مقدار خطای نسبی به کمتر از 5 درصد می‌رسید. بنابراین برای حل مسئله از این شبکه بندی استفاده شد [۲۰] و [۲۱].

نیروهای برآی اینرسی را می‌توان به عنوان نیروی محرکی در نظر گرفت که ذرات را متمرکز می‌کنند، درحالی که نیروی پسای دین نیروی است که باعث می‌شود ذرات به سمت دیواره داخلی و دیواره بیرونی کانال حرکت کرده و منجر به جداسازی بر اساس اندازه شود. با توجه به اینکه F_L متناسب با توان چهارم قطر ذره است، متمرکز کردن سلول‌های خونی به دلیل اندازه کوچک‌ترشان در مقایسه با سلول‌های سرطانی دشوارتر است، نسبت انحنای بالا تمرکز ذرات کوچکتر را افزایش می‌دهد، بنابراین برای جداسازی سلول‌های کوچک‌تر، بهتر است سامانه میکروسیالی منحنی‌هایی با نسبت انحنای بالا داشته باشد [۱۳].

۲-۲-۲- شبیه سازی عددی

در نسبت انحنای بسیار بالا، جایی که F_D غالب است، ذرات به دلیل F_L ناکافی پراکنده می‌شوند. در یک نسبت انحنای بسیار کم، که در آن F_L غالب است، ذرات با اندازه‌های مختلف به دلیل نیروی پسای محدود در موقعیت‌های تعادلی مشابه باقی می‌مانند. در نتیجه، سیستم‌های ماریچی معمولی در جداسازی سلول‌های کوچک‌تر موفقیت کمتری دارند. تفاوت اصلی طرح ارائه شده با طرح‌های ماریچی دیگر، پیچ تند واقع در مسیر حرکت ذرات است. این چرخش، منحنی تندتری نسبت به انحنای یکنواخت‌تر حلقه‌ها در کانال‌های ماریچی معمولی دارد و در نتیجه نیروهای پسا دین را برای حرکت ذرات به سمت موقعیت‌های تعادلی افزایش می‌دهد. ترکیب حلقه‌های بلند و چرخش تند باعث جداسازی بهتر سلول‌های بزرگتر (CTCs) و سلول‌های کوچکتر (WBC) می‌شود [۱۴].

در یک سیال نیوتنی، هنگامی که ذرات به طور تصادفی در ورودی یک میکروکانال با سطح مقطع مستطیل رها می‌شوند، ذرات از تقارن سیستم پیروی می‌کنند و در دو موقعیت تعادلی متمرکز می‌شوند. در سیالات غیرنیوتنی که رفتار الاستیکی داشته و سلول‌ها تغییر شکل قابل توجهی از خود نشان می‌دهند، ذرات تمایل بیشتری به حرکت به سمت خط مرکزی کانال نشان می‌دهند. همانطور که در شکل (۱) مشاهده می‌کنید، تمرکز اینرسی در یک جریان پوزاری تحت تاثیر شش نیروی اصلی رخ می‌دهد. فلش‌های سبز نشان دهنده نیروی پسا استوکس است که ذرات را در امتداد میکروکانال حرکت می‌دهد. فلش‌های آبی نشان دهنده نیروی برآی دیواره است که ذرات را به سمت مرکز میکروکانال سوق می‌دهد. فلش‌های قهوه‌ای نشان دهنده نیروی برآی گردادیان برشی است که ذرات را به سمت دیواره میکروکانال سوق می‌دهد. فلش‌های نارنجی نشان دهنده نیروی برآی چرخشی است که ذرات را در وسط دیواره‌ها جمع می‌کند. فلش‌های بنفش نشان‌دهنده نیروی پسای دین است که ذرات را از دیواره داخلی به دیواره بیرونی سوق می‌دهد. در نهایت، فلش‌های قرمز نیز نیروی برآی الاستو-اینرسی را نشان می‌دهند که ذرات را به سمت خط مرکزی کانال سوق می‌دهد [۱۵].

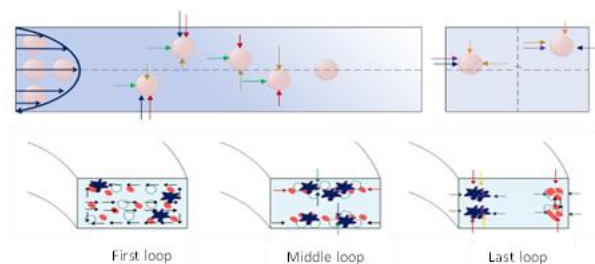


Fig. 1. Dominant forces applied on particles in a channel at different transverse and longitudinal positions, larger particles accumulate near the inner wall and smaller particles near the outer wall.

شکل ۱. نیروهای غالب به ذرات داخل میکروکانال در موقعیت‌های عرضی و طولی مختلف اعمال می‌شود. ذرات بزرگتر در نزدیکی دیواره داخلی و ذرات کوچکتر در نزدیکی دیواره بیرونی تجمع می‌کنند.

به طور کلی موازنه دو نیرو برآ و پسا موقعیت تعادلی ذرات در میکروکانال را تعیین می‌کند. در فاصله مشخصی از مرکز میکروکانال، ضریب برآ که تابعی از موقعیت ذرات در سطح مقطع کانال است، تغییر علامت می‌دهد، این تغییر علامت نشان دهنده بزرگی نیروی دیواره بر نیروی گردادیان برشی است. از طرفی دیگر در میکروکانال‌های منحنی شکل، دو گردابه دوار خلاف جهت تشکیل می‌شود که باعث می‌شود ذرات

شده است جلوگیری شود. آزمایش‌ها از دبی 500 میکرولیتر در دقیقه شروع و با افزایش تدریجی تا دبی 2500 میکرولیتر در دقیقه ادامه می‌یابند. قبل از تزریق نمونه-ها، سیستم با اتانول 70 درصد و آب مقطر برای حباب‌زدایی و استریل کردن میکروکانال و لوله‌ها شسته می‌شود. برای تعیین بازده جداسازی و میزان خالص‌سازی، نمونه‌ها از هر دو خروجی جمع‌آوری و شمارش می‌شوند. هر آزمایش سه بار تکرار می‌شود تا تکرارپذیری آزمایش اثبات شود. بازده جداسازی سلول‌های سرطانی، درصدی از سلول‌های سرطانی است که از خروجی تعبیه شده برای خروجی این سلول‌ها خارج می‌شوند. لازم به ذکر است که این درصد برابر با راندمان کلی آزمایش مورد نظر است. به طور مشابه، بازده جداسازی گلبول‌های سفید نیز به دست می‌آید. همچنین، درصد خالص سازی نشان می‌دهد که چند درصد از سلول‌هایی که از خروجی تعبیه شده خارج شده‌اند، سلول‌های سرطانی هستند. برای آنالیز تصاویر، ابتدا تصاویر به یک تصویر 8 بیتی تبدیل می‌شوند، سپس با اعمال یک محدوده مناسب توسط نرم‌افزار ImageJ سلول‌ها شمارش می‌شوند، با این روش تعداد و قطر ذرات محاسبه شدند. تصویری از طرح نهایی تراشه در شکل (۴) ارائه شده است [۲۱].

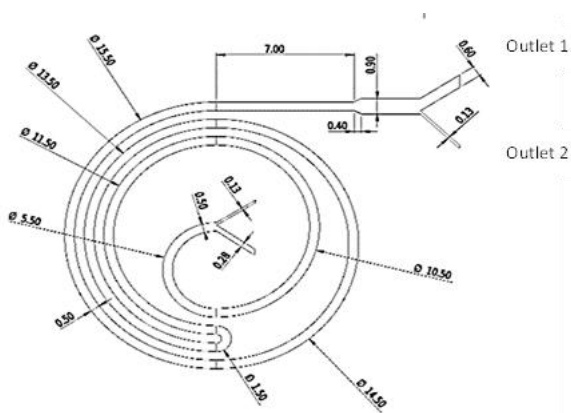


Fig. 4. Microchannel geometric pattern with full details (Units are in millimeters).

شکل ۴. الگوی هندسی میکروکانال با جزئیات کامل (واحدها به میلی‌متر است).

۳ نتایج

۳-۱- نتایج شبیه سازی

به منظور شبیه سازی نزدیک به واقعیت، از ذرات 12 و 18 میکرومتر به عنوان ذرات مشابه گلبول‌های سفید و سلول‌های سرطانی استفاده شده است. ابتدا جداسازی ذرات در یک میکروکانال مستقیم شبیه سازی شد، سپس به تدریج انحنا به کانال اضافه شد و مشاهده شد که ابتدا ذرات به سمت دیواره داخلی حرکت کرده و سپس در اثر نیروی پسا جریان‌های ثانویه، ذرات کوچکتر به سمت دیواره بیرونی حرکت می‌کنند. سپس آرایه ای از این قطعات منحنی شکل تشکیل شده و ذرات از ورودی تا خروجی ردیابی شدند. نتایج شبیه سازی در جدول (۱) نشان داده شده است. برای درک بهتر چگونگی تأثیر نیروهای لیفت و درگ روی حرکت سلولی در میکروکانال‌های منحنی شکل، جداسازی ذرات در چندین میکروکانال مارپیچ متداول و غیرمتداول با دبی‌های مختلف بررسی شد و پتانسیل جداسازی سلول‌های سرطانی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج شبیه سازی در جدول (۲) و همچنین شکل (۵) نشان داده شده است. ذرات قرمز 18 میکرومتر و ذرات آبی 12 میکرومتر قطر دارند. این ذرات به ترتیب رفتار WBC و CTC را تقلید می‌کنند. موقعیت تعادلی سلول‌ها که در دو بخش مجزا در خروجی وجود دارد، نشان دهنده وجود دو گردابه عرضی است که تئوری مسئله را تایید می‌کند.

برای جداسازی کامل، مسیر ذرات باید افزایش می‌یافت، برای این منظور کانال در حالت مارپیچی درحالی که شعاع انحنا تغییر قابل توجهی نمی‌کرد ادامه داده شد. انحنا تقریباً ثابت، می‌تواند هم یک مزیت و هم یک نقطه ضعف باشد، همانطور که قبلاً ذکر شد، اگر نیروی پسا دین بیش از یک مقدار باشد، باعث مخلوط شدن ذرات می‌شود، از طرفی دیگر در تراشه‌های مارپیچ معمولی راندمان چندان بالا نیست

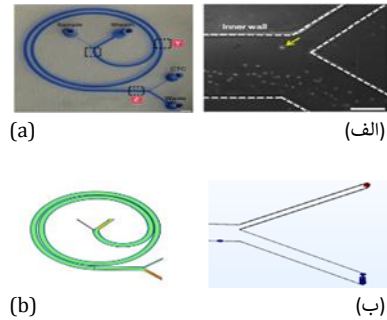


Fig. 3. (a) Experimental microchannel used for validation, (b) Microchannel simulated and the outlets of particles.

شکل ۳. (الف) میکروکانال تجربی استفاده شده برای صحت سنجی، (ب) میکروکانال شبیه سازی شده در نرم افزار و مسیر خروج ذرات.

۳-۲- مشخصات تراشه

طول کل کانال 187 میلی متر و عرض آن 500 میکرومتر و ارتفاع آن 170 میکرومتر است که از 4 حلقه و یک دور چرخشی تشکیل شده است. برای به دست آوردن انحنا مناسب برای جداسازی کامل سلولی از پیچ تند U-turn که نسبت انحنای بالایی دارد و قدرت متمرکزکنندگی سلول‌های کوچکتر را افزایش می‌دهد استفاده شده است. عرض کانال قبل از رسیدن به خروجی‌ها از 500 میکرومتر به 900 میکرومتر افزایش می‌یابد تا علاوه بر راحت تر شدن طراحی خروجی‌ها تصویربرداری نیز تسهیل شود. سپس خروجی‌ها به گونه‌ای طراحی شدند که ذرات متمرکز را بتوان به طور جداگانه جمع‌آوری کرد [۲۲].

۴-۲- قطر سلول

تکنیک‌های ردیابی ذرات برای تجزیه و تحلیل رفتار سلول‌ها در شرایط مشابه جریان لنتاوی استفاده می‌شوند. برای این کار از ذرات جامد با قطرهای مختلف استفاده می‌شود، رفتار متفاوت سلول‌های سرطانی و ذرات نشان می‌دهد که شکل و اندازه سلول‌ها بر رفتار آن‌ها تأثیر می‌گذارد، این موضوع نشان می‌دهد که هنگام مدل سازی، اندازه و تغییر شکل پذیری سلول‌ها باید در نظر گرفته شود. در این مطالعه سلول‌های سرطان سینه MDA-MB-231 و MCF-7 (به ترتیب 11-19 و 22-11 میکرومتر) و گلبول‌های سفید خون (5-15 میکرومتر) استفاده شده‌اند.

۵-۲- آماده سازی نمونه‌ها و سامانه آزمایش‌های تجربی

برای ارزیابی عملکرد تراشه میکروسایلی، ذرات استاندارد چنددانه 20-2 میکرومتری با قطر متوسط 10 میکرومتری و تکدانه 15.6 میکرومتری استفاده شدند. این اندازه ذرات برای مطابقت با اندازه سلول‌های خونی داخل بدن انتخاب شدند. ذرات در آب مقطر معلق شده و مقداری سورفکتانت برای جلوگیری از چسبندگی ذرات به محلول اضافه شد، به دلیل اختلاف چگالی جزئی بین ذرات و آب مقطر، مقداری گلیسرول به محلول اضافه شد (چگالی 998 کیلوگرم بر متر مکعب و لزجت دینامیکی 0.00089 پاسکال ثانیه برای خواص سیال در داخل کانال در نظر گرفته شد). به منظور جلوگیری از تأثیر ذرات بر جریان سیال و سایر ذرات، غلظت مجاز نمونه ذرات باید به گونه ای باشد که برهمکنش ذرات در سوسپانسیون تهیه شده به حداقل برسد. نتایج این محاسبات، غلظت مجاز ذرات را در سیال نمونه حاوی ذرات تعیین می‌کند تا از اثرات کوپلینگ هیدرودینامیکی جلوگیری شود. برای تهیه نمونه سلولی، سلول‌ها در بافر PBS در غلظت 150000 سلول در میلی لیتر تنظیم شد. غلظت سلول‌های سرطانی به منظور تجزیه و تحلیل راحت‌تر داده‌ها، عمدتاً بالاتر از اعداد واقعی که در خون هستند انتخاب شدند. از میکروسکوپ Dino-lite برای تصویربرداری استفاده شد و تصاویر با استفاده از نرم افزار ImageJ 1.52a تجزیه و تحلیل شدند [۱۰] و [۲۱].

سوسپانسیون‌های سلولی توسط یک سرنگ پلاستیکی 10 میلی‌لیتری و با استفاده از پمپ سرنگی به داخل میکروکانال پمپ می‌شوند. قبل از تزریق سوسپانسیون سلولی، بافر PBS به داخل میکروکانال پمپ می‌شود تا از چسبندگی سلول‌ها به سطوح کانال، لوله و اتصالاتی که برای اتصال نوک سرنگ به ورودی و خروجی تراشه استفاده

کوچکتر را به سمت دیواره بیرونی فشار می‌دهند (دیواره داخلی به دیواره خارجی تبدیل می‌شود و بالعکس).

هنگامی که ذرات به منطقه 4 می‌رسند، ذرات کوچک می‌توانند به دلیل افزایش F_D و F_S بسیار نزدیک به دیواره بیرونی حرکت کنند. در این منطقه بزرگی نیروی F_S عمودی و افقی افزایش یافته است به طوری که ذرات بزرگتری که قبلاً در دیواره خارجی قرار دارند از موقعیت قبلی به بالا و پایین کانال حرکت می‌کنند زیرا نیروی بالابر مستقیماً با توان چهارم قطر ارتباط دارد. در شکل (9)، ذرات بزرگتر به بالا و پایین میکروکانال نزدیکتر می‌شوند، پس از آن ذرات بزرگتر به دلیل افزایش F_D و F_S شروع به حرکت به سمت دیواره داخلی می‌کنند. هنگامی که سلول‌ها به منطقه 5 می‌رسند، ذرات بزرگتر همچنان به سمت دیواره داخلی حرکت کرده و یک خط تعادل در نزدیکی دیواره داخلی ایجاد می‌کنند. از سوی دیگر، ذرات کوچکتر در خط تعادل نزدیک دیواره دیگر قرار دارند، به طوری که فاصله بین ذرات کوچکتر و ذرات بزرگتر به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد.

سلول‌های کوچکتر در Re پایین در یک باند وسیع در نزدیکی خط مرکزی متمرکز می‌شوند، با افزایش Re یا انحنای، تمرکز کمی بهبود می‌یابد. افزایش نرخ جریان منجر به افزایش F_D و F_S می‌شود. با این حال، F_S بیشتر از F_D افزایش می‌یابد زیرا F_D و F_S به ترتیب با ap^3 و ap تغییر می‌کنند و منجر به حرکت می‌شود. این رفتار مهاجرت در ذرات کوچکتر چندان واضح نیست، زیرا اندازه این سلول‌ها کوچکتر است و نه تنها جزء افقی بلکه عمودی F_S که بر روی ذرات کوچکتر عمل می‌کند کوچکتر از ذرات بزرگتر با دبی یکسان است.

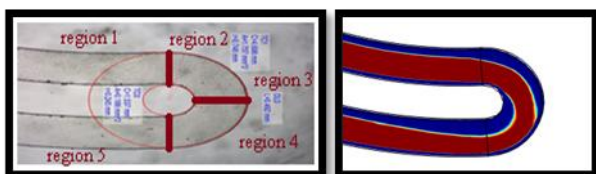


Fig. 6. Maximum velocity displacement due to high ratio turn in the microchannel.

شکل ۶. جابجایی حداکثر سرعت به دلیل چرخش با نسبت انحنا بالا در میکروکانال.

۲-۳- نتایج تجربی

ابتدا ذرات استاندارد تک‌دانه و چنددانه مورد آزمایش قرار گرفتند. در دبی کمتر از 1 میلی لیتر در دقیقه، ذرات (15.6 و 20-2 میکرومتری) در کانال پراکنده می‌مانند. در دبی 1.25 میلی لیتر در دقیقه، این ذرات شروع به تمرکز تقریبی در کانال می‌کنند. خط تعادلی تمرکز در 1.5 میلی لیتر در دقیقه باریکتر می‌شود، به طوری که با افزایش دبی به 1.7 میلی لیتر بر دقیقه تقریباً همه ذرات به سمت خروجی مورد نظر هدایت می‌شوند. در دبی 1.7 میلی لیتر بر دقیقه راندمان جداسازی ذرات استاندارد تقریباً 94% است، در دبی‌های بالاتر، بازده کاهش می‌یابد. جدول (۳) جزئیات آزمایش‌ها تجربی با ذرات استاندارد را نشان می‌دهد. مقایسه بین نتایج ذرات نشان می‌دهد که مناسب‌ترین جداسازی سلولی بر اساس اندازه می‌تواند در دبی 1.7 میلی لیتر بر دقیقه به دست آید. با توجه به اینکه رفتار ذرات در میکروکانال‌های ایترسی به شدت به اندازه آن‌ها بستگی دارد، اولویت ما در تفسیر نتایج به نزدیکی اندازه بین سلول‌ها و ذرات پلی استایرن وابسته است.

در ادامه جداسازی سلول‌های واقعی انجام شد، به منظور تجزیه و تحلیل جداسازی سلول‌های سرطانی، از نمونه خونی که گلبول‌های قرمز آن جدا شده است استفاده شد. برای دبی 1.3 میلی لیتر در دقیقه، 80% از گلبول‌های سفید از طریق خروجی مطلوب جمع آوری شد. برای تمام دبی‌های بین 1.4-1.7 میلی لیتر در دقیقه، راندمان جداسازی گلبول‌های سفید بیش از 90 درصد بود. در همین محدوده جریان راندمان جداسازی سلول‌های سرطانی از 83% به 91% افزایش یافت. افزایش بیشتر در دبی باعث کاهش قابل توجهی در بازده جداسازی می‌شود، تا زمانی که در دبی 2 میلی لیتر در دقیقه تنها کمی بیشتر از 50% سلول‌ها از خروجی مطلوب خارج شدند. نتایج به دست آمده در محدوده 1.4-1.7 میلی لیتر بر دقیقه در مقایسه با دبی‌های پایین‌تر و بالاتر بهتر بود. شکل (۷) نتایج آزمایش تجربی ذرات با دبی 1.4، 1.55 و 1.7 میلی لیتر در دقیقه را نشان می‌دهد.

که در میکروکانال‌های آرایه‌ای این مشکل با انحنای ناگهانی و دلخواه حل می‌شود. می‌توان از ویژگی‌های این دو میکروکانال به طور همزمان استفاده کرد و یک میکروکانال مارپیچی غیر متعارف طراحی کرد که دارای مسیری با انحنای تقریباً ثابت و طولانی و تعدادی انحنای شدید، کوتاه و دلخواه باشد. بنابراین می‌توان انحنای U، L و S شکل را در مسیر حرکت ذرات تعبیه کرد.

نکات مهم دیگری مانند زمان لازم برای انجام تست، امکان ساخت تراشه با ابزارهای رایج، سادگی انجام تست و همچنین امکان تکرار آن نیز وجود دارند که باید به آن توجه کرد. زمانی که مسیر بیش از حد طولانی و تعداد پیچ‌ها از چند عدد بیشتر باشد، احتمال گرفتگی کانال، رسوب ذرات و تشکیل حباب افزایش می‌یابد که در روند انجام کار اختلال ایجاد می‌کند. بنابراین سعی شده است که تراشه ای طراحی شود که همزمان دارای بازده و نرخ جداسازی چشمگیر و ساخت آسان باشد. در این طرح علاوه بر راندمان بسیار بالا، میزان دبی نیز نسبت به نمونه‌های مشابه به طور چشمگیری افزایش یافته و مقدار آن تقریباً دو برابر شده است.

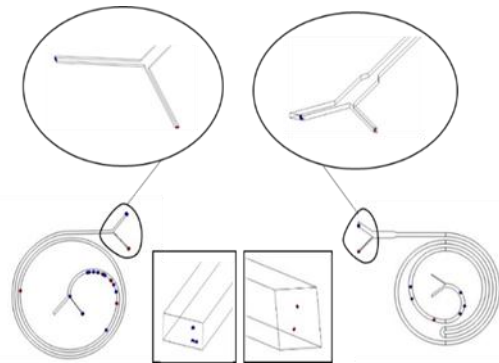


Fig. 5. The results simulated in Comsol software, particles were traced in a conventional microchannel at $0.9 \text{ mL}(\text{min})^{-1}$, and then U turn was added and showed that due to the higher curvature ratio, smaller particles completely migrate toward the outer wall at $1.7 \text{ mL}(\text{min})^{-1}$.





شکل ۵. نتایج شبیه‌سازی شده در نرم‌افزار Comsol، ذرات در یک میکروکانال معمولی با سرعت 0.9 میلی لیتر در دقیقه ردیابی شدند، سپس انحنا U شکل اضافه شد و نشان داد که به دلیل نسبت انحنای بالاتر، ذرات کوچکتر در دبی 1.7 میلی لیتر در دقیقه کاملاً به سمت دیواره بیرونی حرکت می‌کنند.

در میکروکانال دارای چرخش، به دلیل تغییرات ناگهانی در انحنا، جهت و بزرگی جریان دین به جای ثابت بودن تغییر می‌کند. به دلیل این تغییر در جریان دین، قبل از تفسیر نتایج، ذکر این نکته مفید است که سه پارامتر قابل توجه وجود دارد که برای تجزیه و تحلیل بهتر نیروهای وارد بر سلول‌ها باید در نظر گرفته شوند که عبارتند از: جهت و بزرگی نیروی پسا دین، که به موقعیت عمودی سلول‌ها بستگی دارد، و همچنین تغییر محل بیشینه سرعت جریان، که بر بزرگی نیروی گرادینان برشی (F_S) تأثیر می‌گذارد. با توجه به اینکه پروفیل سرعت در کانال‌های مستقیم سهموی است، حداکثر سرعت در خط مرکزی قرار دارد. با این وجود، افزودن انحنا به هندسه کانال نه تنها منجر به ایجاد F_D می‌شود، بلکه مکان حداکثر سرعت را نیز تغییر می‌دهد که به Re ، نسبت انحنا و سطح مقطع بستگی دارد.

تصویری از تراشه ساخته شده به روش لیتوگرافی در شکل (۶) نشان داده شده است و جابجایی حداکثر سرعت به دلیل چرخش U شکل، شبیه سازی شده است. هنگامی که ذرات کوچکتر در منطقه 1 قرار دارند، جایی که حداکثر سرعت در نیمه بیرونی کانال قرار دارد، سلول‌های کوچکتر با تأثیر F_D به سمت دیواره بیرونی رانده می‌شوند. تعادل F_D و F_S منجر به ایجاد یک خط سلولی متمرکز در نزدیکی خط مرکزی متمایل به دیواره بیرونی می‌شود. اما این نیرو نمی‌تواند ذرات بزرگتر را هل دهد زیرا نیروی برآ در ذرات بزرگتر غالب است. هنگامی که سلول‌ها به منطقه 2 می‌رسند، از آنجایی که حداکثر سرعت نزدیک به خط مرکزی است، ذرات کوچکتری که از موقعیت قبلی به دیواره خارجی نزدیک بود، شروع به حرکت به سمت دیواره داخلی توسط F_D و F_S می‌کنند، زمانی که سلول‌ها به منطقه 3 می‌رسند، حداکثر سرعت در خط مرکزی مانند یک میکروکانال مستقیم است. هر دو F_D و F_S تقویت شده ذرات







جدول ۱. خلاصه نتایج شبیه سازی برای میکروکانال‌های آرایه‌ای.

Table 1. Summary of simulation results for serpentine microchannel.

Num.	Channel	Pattern	Explain	Advantage	Disadvantage	Flow rate
1	Straight		Straight channel with 500*170 μm rectangular cross section	Simplicity	Very low efficiency Very low throughput	200 μL(min) ⁻¹
2	Low curvature		Curvilinear channel with 500*170 μm rectangular cross section and low curvature	Simplicity	Very low efficiency Very low throughput	200 μL(min) ⁻¹
3	High curvature		Curvilinear channel with 500*170 μm rectangular cross section and high curvature	Simplicity	Very low efficiency Very low throughput	200 μL(min) ⁻¹
4	Serpentine		Serpentine channel with 500*170 μm rectangular cross section	Medium focusing Medium efficiency	Medium efficiency Low throughput	500 μL(min) ⁻¹

جدول ۲. خلاصه نتایج شبیه سازی برای میکروکانال‌های مارپیچ.

Table 2. Summary of simulation results for spiral microchannel.

Num.	Channel	Pattern	Explain	Advantage	Disadvantage	Flow rate
1	Conventional spiral		Conventional spiral channel with 500*170 μm rectangular cross section	Good focusing Approximately good efficiency	Approximately good efficiency Medium throughput	850 μL(min) ⁻¹
2	Unconventional spiral with one turn		Unconventional spiral channel with 500*170 μm rectangular cross section with one u turn	Very good focusing Very good efficiency Very high throughput	-----	1600 μL(min) ⁻¹
3	Unconventional spiral with two turns		Unconventional spiral channel with 500*170 μm rectangular cross section with two u turns	Good focusing Good efficiency Very high throughput	Design complexity Particle deposition Channel clogging	1800 μL(min) ⁻¹
4	Unconventional spiral with three turns		Unconventional spiral channel with 500*170 μm rectangular cross section with three u turns	Good focusing Good efficiency Very high throughput	Design complexity Particle deposition Channel clogging	1900 μL(min) ⁻¹
5	Unconventional spiral with multiple turns		Unconventional spiral channel with 500*170 μm rectangular cross section with multiple U,L, and S turns	Good focusing Good efficiency Very high throughput	Design complexity Particle deposition Channel clogging	2100 μL(min) ⁻¹
6	Modified Unconventional spiral with one turn		Modified unconventional spiral channel with 500*170 μm rectangular cross section with one u turn and expansion in outlet	Very good focusing Very good efficiency Very high throughput	-----	1700 μL(min) ⁻¹

جدول ۳. نتایج تجربی برای سلول‌ها با سرعت جریان متفاوت، در این بازه از دبی جریان، بازده و خلوص بیشتر از ۸۵ درصد می‌باشد.

Table 3. Experimental results for cells at different flow rate, in this range of flow rate, efficiency and purity are more than 85%.

n	Baffer mL(hr) ⁻¹	Sample mL(hr) ⁻¹	Outlet	Efficiency	Purification
1	42	20	Outlet 1	86	88
			Outlet 2	87	87
2	38	24	Outlet 1	91	89
			Output 2	90	91
3	55	27	Outlet 1	88	86.66
			Outlet 2	93	92.85

پذیر است. اما باید مطالعات بیشتری انجام شود تا بتوان تراشه مذکور را در شرایط بالینی استفاده کرد.

❖ برای جداسازی سلول‌های سرطانی، یک تراشه میکروسیالی توسعه داده شده است که نه تنها از تعادل نیروهای اینرسی و دین برای جداسازی سلول‌های سرطانی استفاده می‌کند، بلکه توسط چرخشی با انحنای بالا برخلاف سایر روش‌های جداسازی اینرسی باعث تغییر جهت مسیر ذرات از حلقه‌ی داخلی به حلقه‌ی بیرونی می‌شود. بنابراین در این تحقیق، جداسازی ذرات مبتنی بر اندازه در یک الگوی مارپیچ غیر متعارف با توان عملیاتی بالا بهبود یافت و رفتار گلبول‌های سفید و سلول سرطانی در یک میکروکانال مارپیچی با چرخش U شکل بررسی شد.

❖ نتایج شبیه‌سازی مطابقت بسیار بالایی با تئوری مسئله داشت و نشان دهنده امکان جداسازی سلول‌های سرطانی بود. هم در شبیه‌سازی و هم در آزمایش تجربی، بازده جداسازی سلول‌های سرطانی در دبی 1.7 میلی‌لیتر در دقیقه به حداکثر مقدار خود می‌رسد که در مقایسه با سایر تراشه‌های مشابه تقریباً مقدار 2 برابری را نشان می‌دهد. در این دبی به عنوان نرخ جریان طلائی، حدود 93% و 92% از CTCs و WBCs به ترتیب از مخلوط جدا شدند. شایان ذکر است که قدرت متمرکزسازی نیز به طور قابل توجهی افزایش یافته است بدون اینکه هیچ گونه کاهش قابل توجهی در زنده‌مانی سلول‌های سرطانی وجود داشته باشد. مقایسه موقعیت تعادلی سلول‌ها و ذرات استاندارد نشان می‌دهد که در شبیه‌سازی‌های آینده باید اثر تغییر شکل سلول‌ها در نظر گرفته شود.

۵ فهرست علائم و اختصارات

a	قطر ذره
C_L	ضریب برای نیروهای اینرسی
D_h	قطر هیدرولیکی کانال
F_D	نیروی پسای ناشی از جریان ثانویه دین
F_L	نیروی برای اینرسی
F_S	نیروی گرادیان برشی
r	شعاع انحنای کانال
Re_c	رینولدز کانال
Re_p	رینولدز ذره
U_m	بیشینه سرعت سیال
x_c	مختصات بی بعد ذره در میکروکانال

علائم یونانی

δ	نسبت انحنا
μ	ضریب لزجت دینامیکی
ρ	چگالی سیال

اختصارات

BCC	سلول‌های سرطانی سینه
CTC	سلول‌های سرطانی گردشی در خون
MCF-7	رده سلولی سرطان سینه
MDA-	
MB-	رده سلولی سرطان سینه
231	
PBS	محلول نمک فسفات با خاصیت بافری
WBC	سلول‌های سفید موجود در خون

۶ مراجع

- [1] H. Esmaeilsabzali, T. V. Beischlag, M. E. Cox, A. M. Parameswaran, and E. J. Park, "Detection and isolation of circulating tumor cells: Principles and methods", *Biotechnol. Adv.*, Vol. 31, No. 7, pp. 1063–1084, 2013.

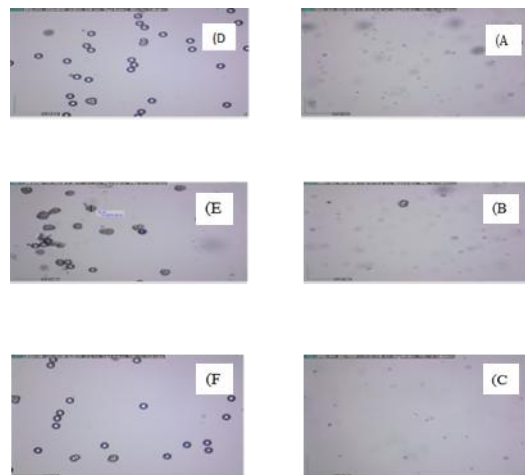


Fig. 7. Experiment results for particles at appreciate flow rates. A and D illustrated the desire outlets for smaller particles and bigger particles respectively at $1.4 \text{ mL}(\text{min})^{-1}$. B, E and C, F showed the same result at $1.55 \text{ mL}(\text{min})^{-1}$ and 1.7 respectively. The result for $1.7 \text{ mL}(\text{min})^{-1}$ was better compared to other flow rates.

شکل ۷. نتایج آزمایش ذرات در نرخ جریان مناسب. D و A خروجی منتخب برای ذرات کوچکتر و خروج ذرات بزرگتر با $1.4 \text{ mL}(\text{min})^{-1}$ نشان داده شد. B, E, C, و F همان نتیجه را در $1.55 \text{ mL}(\text{min})^{-1}$ و $1.7 \text{ mL}(\text{min})^{-1}$ نشان دادند. نتیجه برای 1.7 میلی لیتر در دقیقه در مقایسه با سایر نرخ‌های جریان بهتر بود.

در بخش‌های قبلی مشخص شد که بالاترین راندمان در دبی 1.7 میلی لیتر در دقیقه اتفاق می‌افتد، این نتیجه تأییدی بر این است که ذرات استاندارد می‌توانند به عنوان مرجع برای تقلید رفتار سلول‌ها استفاده شوند. تعداد سلول‌های سرطانی در این نمونه‌ها 10-100 سلول سرطانی در هر میلی لیتر خون را نشان می‌دهد، در حالی که در افراد سالم این تعداد کمتر از 2 سلول در میلی لیتر است که دلیل این کار سادگی در انجام تصویربرداری می‌باشد. شکل (۸) و جدول (۳) نتایج تجزیه و تحلیل کمی عملکرد میکروکانال مارپیچ برای جداسازی سلول‌ها بر اساس اندازه آن‌ها را نشان می‌دهد. علاوه بر نیروهای لیفت، تغییر شکل سلول‌های زیستی می‌تواند منجر به نیروهای برای اضافی شود، برخلاف یک ذره جامد، یک سلول تغییر شکل پذیر ممکن است دارای نیروی برآبی باشد که منجر به حرکت جانبی ذرات شود که می‌تواند یکی از دلایل وجود تفاوت در عملکرد تراشه برای جداسازی ذرات جامد و سلول‌های واقعی به شمار رود.

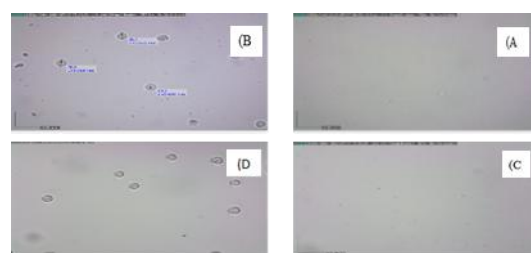


Fig. 8. Experiment results for cell at golden flow rate.

شکل ۸. نتایج آزمایش برای سلول‌های سرطانی در دبی طلائی.

۴ بحث و نتیجه‌گیری

اگرچه استفاده از تراشه‌ها در تحقیقات سرطان در مراحل ابتدایی است، با پیشرفت‌های اخیر در ابزارهای تعیین خصوصیات ژنومی، بررسی کردن تومورها برای درک پیشرفت تومور یا مقاومت آن در برابر درمان‌ها در دسترس‌تر از همیشه است. این روش را می‌توان در مطالعات بالینی آینده به عنوان نشانگرهای پاسخ یا مقاومت برای درمان‌های هدفمند در سرطان‌ها به کار برد.

❖ با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که جداسازی CTC-ها از جریان خون بیمار با استفاده از یک میکروکانال ریزسیالی امکان

- [21] Z. Siani, O. Zahedi, M. Zabetian Targhi, M. Sojoodi, and M. Movahedin, "Numerical Study on the Complete Separation of Blood Cells using the Integrated Dielectrophoretic-Photophoretic Method in a New Microchannel". Amirkabir Journal of Mechanical Engineering Vol. 53, No. 1 (Special Issue) 2021, [in Persian فارسی].
- [22] S. A. Tabatabaei and M. Zabetian Targhi, "Design and experimental investigation of a novel spiral microfluidic chip to separate wide size range of micro-particles aimed at cell separation", Proc. Inst. Mech. Eng. Part H J. Eng. Med., Vol. 235, No. 11, pp. 1315–1328, 2021.
- [2] A. Ozbey et al., "Inertial focusing of cancer cell lines in curvilinear microchannels", Micro Nano Eng., Vol. 2, pp. 53–63, 2019.
- [3] G. Y. Kim, J. I. Han, and J. K. Park, "Inertial Microfluidics-Based Cell Sorting", Biochip J., Vol. 12, No. 4, pp. 257–267, 2018.
- [4] A. A. S. Bhagat, S. S. Kuntaegowdanahalli, and I. Papautsky, "Continuous particle separation in spiral microchannels using dean flows and differential migration", Lab Chip, Vol. 8, No. 11, pp. 1906–1914, 2008.
- [5] D. Di Carlo, "Inertial microfluidics", Lab Chip, Vol. 9, No. 21, pp. 3038–3046, 2009.
- [6] M. E. Warkiani, L. Wu, A. K. P. Tay, and J. Han, "Large-Volume Microfluidic Cell Sorting for Biomedical Applications", Annu. Rev. Biomed. Eng. 2015.
- [7] J. Sun et al., "Double spiral microchannel for label-free tumor cell separation and enrichment", Lab Chip, Vol. 12, No. 20, pp. 3952–3960, 2012.
- [8] H. Ramachandraiah, H. A. Svahn, and A. Russom, "Inertial microfluidics combined with selective cell lysis for high throughput separation of nucleated cells from whole blood", RSC Adv., Vol. 7, No. 47, pp. 29505–29514, 2017.
- [9] E. Lin et al., "High-Throughput Microfluidic Labyrinth for the Label-free Isolation of Circulating Tumor Cells", Cell Syst., Vol. 5, No. 3, pp. 295-304.e4, 2017.
- [10] A. Mihandoust, S. R. Bazaz, N. Maleki-Jirsaraei, M. Alizadeh, R. A. Taylor, and M. E. Warkiani, "High-throughput particle concentration using complex cross-section microchannels", Micromachines, Vol. 11, No. 4, 2020.
- [11] J. Zhang et al., "Fundamentals and applications of inertial microfluidics: A review", Lab Chip, Vol. 16, No. 1, pp. 10–34, 2016.
- [12] D. Di Carlo, D. Irimia, R. G. Tompkins, and M. Toner, "Continuous inertial focusing, ordering, and separation of particles in microchannels", Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., Vol. 104, No. 48, pp. 18892–18897, 2007.
- [13] M. Rafeie, J. Zhang, M. Asadnia, W. Li, and M. E. Warkiani, "Multiplexing slanted spiral microchannels for ultra-fast blood plasma separation", Lab Chip, Vol. 16, No. 15, pp. 2791–2802, 2016.
- [14] Y. Gou, Y. Jia, P. Wang, and C. Sun, "Progress of inertial microfluidics in principle and application", Sensors (Switzerland), Vol. 18, No. 6, 2018.
- [15] M. Jofre, L. Jofre, and L. Jofre-roca, "On the wireless microwave sensing of bacterial membrane potential in microfluidic-actuated platforms", Sensors, 1–23, 2021.
- [16] M. S. Syed et al., "Selective separation of microalgae cells using inertial microfluidics", Bioresour. Technol., Vol. 252, pp. 91–99, 2018.
- [17] J. Zhou and I. Papautsky, "Fundamentals of inertial focusing in microchannels", Lab Chip, Vol. 13, No. 6, pp. 1121–1132, 2013.
- [18] J. M. Martel and M. Toner, "Particle focusing in curved microfluidic channels", Sci. Rep., Vol. 3, pp. 1–8, 2013.
- [19] J. M. Martel and M. Toner, "Inertial focusing in microfluidics", Annu. Rev. Biomed. Eng., Vol. 16, pp. 371–396, 2014.
- [20] M. E. brahim. Warkiani et al., "Ultra-fast, label-free isolation of circulating tumor cells from blood using spiral microfluidics", Nat. Protoc. 134–148, 2016.