



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105772116 B

(45)授权公告日 2017.12.05

(21)申请号 201410784602.0

(22)申请日 2014.12.17

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 105772116 A

(43)申请公布日 2016.07.20

(73)专利权人 中国科学院力学研究所  
地址 100190 北京市海淀区北四环西路15号

(72)发明人 胡国庆 刘超 孙佳姝

(74)专利代理机构 北京和信华成知识产权代理  
事务所(普通合伙) 11390  
代理人 胡剑辉

(51)Int.Cl.  
B01L 3/00(2006.01)  
C12M 1/00(2006.01)

(56)对比文件

CN 103977468 A,2014.08.13,说明书第15-18段、具体实施方式及附图1-4.

JP 特开2011-229410 A,2011.11.17,全文.  
CN 104111190 A,2014.10.22,全文.

审查员 严小妹

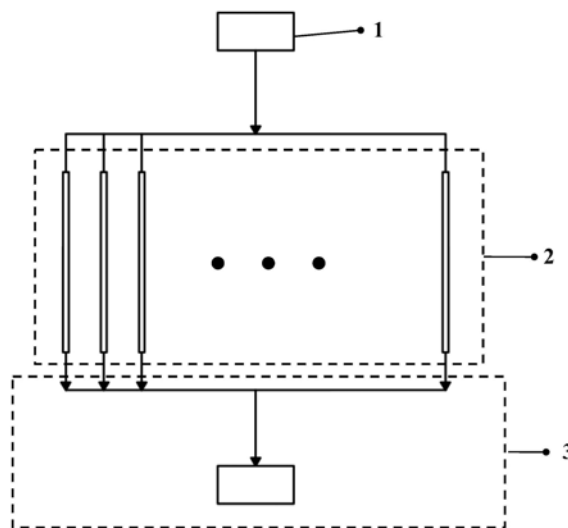
权利要求书2页 说明书10页 附图13页

(54)发明名称

基于非牛顿效应聚焦分离微纳米颗粒和细胞的系统及方法

(57)摘要

本发明公开了基于非牛顿效应聚焦分离微纳米颗粒和细胞的系统,其特征在于,包括:具有非牛顿流体效应的工作流体;工作流体输送装置,用于输送具有非牛顿流体效应的工作流体;包含微通道的微流控单元,并联设置在工作流体输送装置上,且微流控单元通过管道与工作流体输送装置相连通,用于对工作流体输送装置输送来的微纳米颗粒或细胞在微通道中进行聚焦或分离;出口,设置在微流控单元的末端,用于收集目标微纳米颗粒或细胞;当出口用于聚焦,则不设置分岔出口;当出口用于分离,则出口按照分离特性设置分岔出口的数量与宽度,使不同尺寸的微纳米颗粒或细胞流入不同的分岔出口。使分离和聚焦微纳米颗粒和细胞的操作更加简便,效果好。



1. 基于非牛顿效应聚焦分离微纳米颗粒和细胞的系统,其特征在于,包括:  
 具有非牛顿流体效应的工作流体;  
 工作流体输送装置,用于输送所述具有非牛顿流体效应的工作流体;  
 包含微通道的微流控单元,可以为单个,也可以为多个并联设置在所述工作流体输送装置上,且所述微流控单元通过管道与所述工作流体输送装置相连通,用于对所述工作流体输送装置输送来的所述微纳米颗粒或细胞在所述微通道中进行聚焦或分离;  
 出口,设置在所述微流控单元的末端,用于收集目标微纳米颗粒或细胞;  
 当所述出口用于聚焦,则不设置分岔出口;当所述出口用于分离,则所述出口按照分离特性设置所述分岔出口的数量与宽度,使不同尺寸的所述的微纳米颗粒或细胞流入不同的分岔出口。

2. 如权利要求1所述基于非牛顿效应聚焦分离微纳米颗粒和细胞的系统,其特征在於:实现所述微纳米颗粒的聚焦和分离时,所述工作流体为具有粘弹性的非牛顿流体;根据具体的聚焦和分离特性,所述工作流体还应具有剪切稀化的性质。

3. 如权利要求1所述基于非牛顿效应聚焦分离微纳米颗粒和细胞的系统,其特征在於:所述工作流体输送装置对工作流体的输送可以利用外加压力、重力或其他物理场实现,使所述微纳米颗粒或所述细胞流入到所述微通道中。

4. 如权利要求1所述基于非牛顿效应聚焦分离微纳米颗粒和细胞的系统,其特征在於:所述微流控单元的所述微通道中微纳米颗粒和细胞的位置以及流出所述出口端的选择由动力学模型

$$\frac{d\mathbf{v}_p}{dt} = \frac{6\mathbf{F}_e}{\pi a^3 \rho_p} + \frac{18\mu}{\rho_p a^2} (\mathbf{v} - \mathbf{v}_p) + \frac{6\mathbf{F}_L}{\pi a^3 \rho_p} \text{确定,}$$

其中, $\mathbf{v}_p$ 是工作流体中微纳米颗粒或细胞的速度矢量, $\mathbf{F}_e$ 是弹性力矢量, $\mu$ 是工作流体的动力学粘度, $\rho_p$ 是颗粒或细胞的密度, $a$ 是颗粒或细胞的直径, $\mathbf{v}$ 是工作流体的速度矢量, $\rho$ 是工作流体密度, $\mathbf{F}_L$ 是惯性力。

5. 如权利要求1至4任一项所述基于非牛顿效应聚焦分离微纳米颗粒和细胞的系统,其特征在於:所述微流控单元的所述微通道呈直线形,变截面形,蜿蜒形,螺旋形。

6. 如权利要求5所述基于非牛顿效应聚焦分离微纳米颗粒和细胞的系统,其特征在於:所述微通道的截面形状为正方形、矩形、梯形、三角形或凹凸字形。

7. 如权利要求6所述基于非牛顿效应聚焦分离微纳米颗粒和细胞的系统,其特征在於:当所述微纳米颗粒或细胞用于聚焦时,所述微通道截面的宽高比可为任意数值;当所述微纳米颗粒或细胞用于分离时,所述微通道截面的宽高比可为任意大于1的数值。

8. 使用如权利要求1-4任一所述的系统进行聚焦分离微纳米颗粒和细胞的方法,其特征在於,包括:

制备含有待聚焦和分离微纳米颗粒和细胞的工作流体;  
 在所述工作流体中加入适量的高分子聚合物,使之具有非牛顿流体效应;  
 在所述工作流体不同的流速下追踪微纳米颗粒和细胞流出时的运动行为,以评价聚焦和分离的效果;  
 通过理论模型和数值模拟优化微通道和出口的几何参数设计。

9. 如权利要求8所述聚焦分离微纳米颗粒和细胞的方法,其特征在于:所述高分子聚合物为人工合成的或天然的均可。

## 基于非牛顿效应聚焦分离微纳米颗粒和细胞的系统及方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及基于非牛顿效应聚焦分离微纳米颗粒和细胞的系统及方法。

### 背景技术

[0002] 连续地操控(如聚焦、分离)微纳米颗粒和细胞在医疗、制药、血液学、微生物学等诸多应用和研究领域有重要意义。这些领域中广泛使用流式细胞仪,在流式细胞仪中微纳米颗粒和细胞需要先被聚焦到空间上的单一队列,才能被有效地用荧光激活和激光散射方法去探测和分析。聚焦的位置当以颗粒和细胞间距平均和深度方向上一致为佳。

[0003] 空间上聚焦微纳米颗粒和细胞目前主流的方法是使用鞘流,两侧鞘液由鞘液管从四周流向喷孔,包围在样品外周后从喷嘴射出。这种方式难以达到真正的三维空间上的聚焦,可能导致光学探测中焦点外存在颗粒对探测产生干扰。为了保证液流是稳液限制液流速度小于10m/s,难以继续提高通量。

[0004] 目前分离微纳米颗粒或细胞的方法有离心法、膜孔过滤、基于特异性免疫反应的免疫磁珠分离和流式细胞仪。这些方法普遍存在捕获效率低、操作步骤繁琐、灵敏度低,易于对样品造成不可逆性破坏等缺点。成熟商业化的流式细胞仪需要高昂的成本(仪器造价,试剂消耗,熟练的操作人员),限制了其广泛普及。

### 发明内容

[0005] 本发明要解决的技术问题是提供基于非牛顿效应的聚焦分离微纳米颗粒和细胞的系统及方法,使分离和聚焦微纳米颗粒和细胞的操作更加简便,效果好,同时也可避免对样品造成的不可逆性的破坏。

[0006] 为了解决上述技术问题,本发明提供了基于非牛顿效应的聚焦分离微纳米颗粒和细胞的系统,包括:

[0007] 具有非牛顿流体效应的工作流体;

[0008] 工作流体输送装置,用于输送所述具有非牛顿流体效应的工作流体;

[0009] 包含微通道的微流控单元,可以为单个,也可以为多个并联设置在所述工作流体输送装置上,且所述微流控单元通过管道与所述工作流体输送装置相连通,用于对所述工作流体输送装置输送来的所述微纳米颗粒或细胞在所述微通道中进行聚焦或分离;

[0010] 出口,设置在所述微流控单元的末端,用于收集目标微纳米颗粒或细胞;

[0011] 当所述出口用于聚焦,则不设置分岔出口;当所述出口用于分离,则所述出口按照分离特性设置所述分岔出口的数量与宽度,使不同尺寸的所述的微纳米颗粒或细胞流入不同的分岔出口。

[0012] 同时,基于非牛顿效应的聚焦分离微纳米颗粒和细胞的方法。包括如下步骤:

[0013] 制备含有待聚焦和分离微纳米颗粒和细胞的工作流体;

[0014] 在所述工作流体中加入适量的高分子聚合物,使之具有非牛顿流体效应;

[0015] 在所述工作流体不同的流速下追踪微纳米颗粒和细胞流出时的运动行为,以评价

聚焦和分离的效果；

[0016] 通过理论模型和数值模拟优化微通道和出口的几何参数设计。

[0017] 本发明利用粘弹性流体对悬浮于其中的微纳米颗粒和细胞施加的弹性力,调控流体的流变性质和通道设计聚焦和分离微纳米颗粒和细胞。优势在于不使用鞘流、不利用特异性免疫反应、制造和操作简单,方便并行。工作流体输送装置将含有待分离聚焦的微纳米颗粒和细胞的工作流体通入微流控单元,能够有效实现颗粒和细胞在三维空间上聚焦在通道轴线上,并且操作简便,聚焦效果好;同时,通过调控流体的流变性质和通道设计能够有效实现不同尺寸的微纳米颗粒和细胞汇聚在微通道的不同位置,在微流控单元末端的分岔出口流向不同的出口实现分离,操作简便,分离效率高,不借助鞘流或特异性免疫反应;由于本发明利用流体流动自然施加的弹性力对微纳米颗粒和细胞进行聚焦和分离,不借助外加电磁场、声场、热场或其他物理场,因此能够避免对敏感工作流体(如血液)和敏感颗粒(如细胞)造成不可逆性破坏。并且微流控单元易于实现并行结构,大大提高了分离通量的可拓展性。

## 附图说明

[0018] 图1是本发明实施例一提供的用于聚焦微纳米颗粒的系统结构示意图；

[0019] 图2是本发明实施例一提供的用于聚焦微纳米颗粒在聚焦前的效果示意图；

[0020] 图3是本发明实施例一提供的用于聚焦微纳米颗粒在聚焦后的实验效果示意图；

[0021] 图4是本发明实施例二提供的用于聚焦血液中红细胞和白细胞的系统的结构示意图；

[0022] 图5是本发明实施例二提供的用于聚焦血液中红细胞和白细胞在聚焦前的效果示意图；

[0023] 图6是本发明实施例二提供的用于聚焦血液中红细胞和白细胞在聚焦后的实验效果示意图；

[0024] 图7是本发明实施例三提供的用于分离微纳米颗粒的系统结构示意图；

[0025] 图8是本发明实施例三提供的用于分离微纳米颗粒在分离前的效果示意图；

[0026] 图9是本发明实施例三提供的用于分离微纳米颗粒在分离后的实验效果示意图；

[0027] 图10是本发明实施例四提供的用于分离血液中大肠杆菌的系统结构示意图；

[0028] 图11是本发明实施例四提供的用于分离血液中大肠杆菌在分离前的效果示意图；

[0029] 图12是本发明实施例四提供的用于分离血液中大肠杆菌在分离后的效果示意图；

[0030] 图13是本发明用于制作微流控单元的流程图中；

[0031] 图14是本发明用于聚焦和分离微纳米颗粒和细胞方法的流程图。

## 具体实施方式

[0032] 下面结合附图并通过具体实施方式来进一步说明本发明的技术方案。

[0033] 实施例一：

[0034] 本实施例提出了基于非牛顿效应用于聚焦微纳米颗粒的系统和方法,如图1所示,该系统包括工作流体输送装置1,含有微通道的微流控单元2和收集聚焦后的微纳米颗粒的出口3。

[0035] 在本发明中,工作流体输送装置1,用于对工作流体的输送,可以为注射泵、蠕动泵或其他的以压力驱动工作流体并精确控制流量的仪器,也可以利用重力或其他物理场使微纳米颗粒或细胞以精确的流量流入到微通道中。

[0036] 在本实施例中,工作流体输送装置1为注射泵,用于输送含有待聚焦的微纳米颗粒工作流体。

[0037] 微流控单元2的芯片可由聚二甲基硅氧烷(PDMS)、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)、聚碳酸酯(PC)制作,微流控单元2的底部封接基片可使用PDMS、PMMA、PC、玻璃或硅片。微流控单元2的制作过程采用以软刻蚀法为代表的常规的微流控芯片制作方法,首先在玻璃片或者单晶硅片上光刻得到芯片图形,通过模板来实现图案的转移和复制形成包含平面或曲面上的微纳米图案的微流控芯片,更具体的,包括以下步骤,如图13所示:

[0038] 步骤S21,模板制备:在硅片上用SU-8光刻胶制备模板,通过软刻蚀技术在模板上刻蚀所需微通道的三维立体结构。

[0039] 步骤S22,通道形成:将液态PDMS与适量固化剂均匀混合后,均匀地浇筑在模板上。并在一定温度下经过一定时间固化,从模板上剥离得到包含微通道的芯片。

[0040] 步骤S23,芯片封接:用等离子体束将含有微通道的芯片键合在玻璃或硅基底上,将半固化的液态PDMS作为粘合剂,封合芯片并连接芯片出口和入口,再烘烤进行加固。

[0041] 为提高分离通量,微流控单元2使用并行结构,并在工作流体输送装置1连接处设置分支,每一分支对应一个微流控单元2。微流控单元2的微通道呈直线形;微通道的截面形状为矩形。

[0042] 待聚焦的微纳米颗粒在工作流体中运动受到流动条件、流体流变性质的影响。粘弹性流体(一类非牛顿流体)对悬浮在其中的颗粒施加弹性力使之向剪切率较小处(主要为通道中心)迁移。在相同的流动条件下,普通的牛顿流体(典型的为水)中的微纳米颗粒经过微流控芯片没有明显的位置变化。根据此原理,利用工作流体的粘弹性实现微纳米颗粒在微通道中的三维聚焦。为验证该结论并进行参数的优化,做了相应的模拟实验,如图14所示,包含如下步骤:

[0043] 步骤S1,制备待聚焦模拟流体,包含直径为 $1\mu\text{m}$ 的聚苯乙烯微球;

[0044] 步骤S2,在模拟流体中加入适量的高分子聚合物,使之具有粘弹性;

[0045] 步骤S3,在不同的流体流速下追踪各颗粒流出时的位置以及微流控芯片的聚焦效果;

[0046] 步骤S4,通过理论模型计算优化微通道的几何参数。

[0047] 在本实施例中,微通道的截面形状为宽 $10\text{--}60\mu\text{m}$ ,优选为 $20\mu\text{m}$ ,高 $10\text{--}20\mu\text{m}$ ,优选为 $10\mu\text{m}$ 的矩形。

[0048] 在步骤S2中具体为,在模拟流体中加入质量百分比 $3\%\text{--}10\%$ 的聚乙烯吡咯烷酮(PVP)

[0049] 在步骤S4中,理论模型为动力学模型,具体为:

[0050] 通过动力学模型

[0051] 
$$\frac{d\mathbf{v}_p}{dt} = \frac{6\mathbf{F}_e}{\pi a^3 \rho_p} + \frac{18\mu}{\rho_p a^2} (\mathbf{v} - \mathbf{v}_p) + \frac{6\mathbf{F}_L}{\pi a^3 \rho_p}$$
 确定颗粒流出的位置。

[0052] 其中,  $v_p$  是工作流体中微纳米颗粒的速度矢量,  $F_e$  是弹性力矢量,  $\mu$  是工作流体的动力学粘度,  $\rho_p$  是颗粒的密度,  $a$  是颗粒的直径,  $v$  是工作流体的速度矢量,  $\rho$  是工作流体密度,  $F_L$  是惯性力;

[0053] 第一项  $\frac{6F_e}{\pi a^3 \rho_p}$  与弹性力相关, 第二项  $\frac{18\mu}{\rho_p a^2} (v - v_p)$  与粘性力相关, 第三项  $\frac{6F_L}{\pi a^3 \rho_p}$  与惯性力相关。

[0054] 所述模拟流体中的颗粒从出口流出时的运动行为受到的弹性力, 粘性力和惯性力的影响。弹性力由公式  $F_e = f_e(Wi, x_L) \cdot a^3 \nabla N$  确定, 其中,  $f_e(Wi, x_L)$  为与维森博格数(也可为德伯哈数)和颗粒在管截面的位置相关的函数,  $N$  为主应力差与剪切率的平方成正比。可知弹性力的方向指向剪切率较小的位置, 本实例中为通道的中心和四角。同时惯性力  $F_L$  的作用使颗粒不能靠近壁面, 因此颗粒在弹性力的作用下向通道中心迁移。粘性力由公式  $F_D = 3\pi a \mu (v - v_p)$  确定, 粘性力的作用方向与颗粒的迁移方向相反, 最终颗粒在通道中心达到弹性力和粘性力平衡的状态。在流经所述微流控单元2的微通道之后, 所述模拟流体中的颗粒聚焦到通道中心。

[0055] 另外, 如图2所示, 为本实施例聚焦微米颗粒在入口的叠加效果图, 如图3所示, 为本实施例聚焦微米颗粒在聚焦后的叠加效果图, 通过观察、分析得出, 待分离聚焦的微纳米颗粒的工作流体通入微流控单元2, 能够有效实现微纳米颗粒在三维空间上聚焦在通道轴线上, 并且操作简便, 聚焦效果好。

[0056] 实施例二:

[0057] 本实施例提出了用于聚焦全血中红细胞和白细胞的系统和方法, 如图3所示, 该系统包括工作流体输送装置1、微流控单元2和收集红细胞和白细胞的出口3。

[0058] 在本发明中, 工作流体输送装置1, 对工作流体的输送, 可以为注射泵、蠕动泵或其他以压力驱动工作流体并精确控制流量的仪器, 也可以利用重力或其他物理场使微纳米颗粒或细胞精确地流入到微通道中。工作流体输送装置1是通过注射泵驱动工作流体, 用于输送待聚焦的细胞; 本例中为血液在微通道中的流动并调整血液在微通道中的流速。

[0059] 微流控单元2的芯片可由PDMS、PMMA、PC制作, 微流控单元2的底部封接基片可使用PDMS、PMMA、PC、玻璃或硅片。微流控单元2的制作过程采用以软刻蚀法为代表的常规的微流控芯片制作方法, 首先在玻璃片或者单晶硅片上光刻得到芯片图形, 通过模板来实现图案的转移和复制形成包含平面或曲面上的微米或纳米图案的微流控芯片, 更具体的, 包括以下步骤:

[0060] 步骤S21, 模板制备: 在硅片上用SU-8光刻胶制备模板, 通过软刻蚀技术在模板上刻蚀所需微通道的三维立体结构。

[0061] 步骤S22, 通道形成: 将液态PDMS与适量固化剂均匀混合后, 均匀地浇筑在模板上。并在一定温度下经过一定时间固化, 从模板上剥离得到包含微通道的芯片。

[0062] 步骤S23, 芯片封接: 用等离子体束将含有微通道的芯片键合在玻璃或硅基底上, 将半固化的液态PDMS作为粘合剂, 封合芯片并连接芯片出口和入口, 再烘烤进行加固。

[0063] 为提高分离通量, 微流控单元2使用并行结构, 并在于工作流体输送装置1连接处

设置分支,每一分支对应一个微流控单元2。微流控单元2的微通道呈直线形;微通道的截面形状为矩形。

[0064] 血液在微通道中流动时受到流动条件、流体性质的影响,因此,不同直径的细胞在微通道中的流动路径和速度大小是不同的,在出口处流出的方向也是不同的。为验证该结论并进行参数的优化,做了相应的模拟实验。

[0065] 步骤S1,制备待聚焦模拟流体,包含不同大小(1-10 $\mu\text{m}$ )的聚苯乙烯微球模拟血样中的血小板、红细胞、白细胞;

[0066] 步骤S2,在模拟流体中加入适量的高分子聚合物,使之具有粘弹性;

[0067] 步骤S3,在不同的流体流速下追踪各颗粒(细胞)流出时的运动行为以及微流控芯片的聚焦效果;

[0068] 步骤S4,通过理论模型计算优化微通道的几何参数。

[0069] 在本实施例中,微通道的截面形状为宽10-60 $\mu\text{m}$ ,优选为20 $\mu\text{m}$ ,高10-20 $\mu\text{m}$ ,优选为10 $\mu\text{m}$ 的矩形。

[0070] 在步骤S2中具体为,在模拟流体中加入质量百分比3%-10%的聚乙烯吡咯烷酮(PVP)

[0071] 在步骤S4中,理论模型为动力学模型,具体为:

[0072] 可通过动力学模型

$$[0073] \quad \frac{d\mathbf{v}_p}{dt} = \frac{6\mathbf{F}_e}{\pi a^3 \rho_p} + \frac{18\mu}{\rho_p a^2} (\mathbf{v} - \mathbf{v}_p) + \frac{6\mathbf{F}_L}{\pi a^3 \rho_p} \text{ 确定各类细胞流出的位置,}$$

[0074] 其中, $\mathbf{v}_p$ 是工作流体中细胞的速度矢量, $\mathbf{F}_e$ 是弹性力, $\mu$ 是工作流体的动力学粘度, $\rho_p$ 是细胞的密度, $a$ 是细胞的直径, $\mathbf{v}$ 是工作流体的速度矢量, $\rho$ 是工作流体密度, $g$ 是重力加速度, $\mathbf{F}_L$ 是惯性力;

[0075] 第一项  $\frac{6\mathbf{F}_e}{\pi a^3 \rho_p}$  与弹性力相关,第二项  $\frac{18\mu}{\rho_p a^2} (\mathbf{v} - \mathbf{v}_p)$  与粘性力相关,第三项

$\frac{6\mathbf{F}_L}{\pi a^3 \rho_p}$  与惯性力相关。血液中的细胞从出口流出时的运动行为主要与所受到的弹性力、粘性力和惯性力。

粘性力由公式  $F_D = 3\pi a \mu (v - v_p)$  确定。弹性力由公式  $F_e = f_e(Wi, x_L) \cdot a^3 \nabla N$  确定,其中, $f_e(Wi, x_L)$  为与维森博格数(也可为德伯哈数)和细胞在管截面的位置相关的函数, $N$ 为主应力差与剪切率的平方成正比。可知弹性力的方向指向剪切率较小的位置,本实例中为通道的中心和四角。惯性力 $F_L$ 的作用使颗粒不能靠近壁面,因此颗粒在弹性力的作用下向通道中心迁移。

[0076] 可知细胞的直径越大,所受的弹性力和粘性力越大,弹性力的变化程度大于粘性力的变化程度 ( $|F_e| \propto a^3, |F_d| \propto a$ ),因此细胞的直径越大,弹性力对其运动的影响越重要。弹性力使颗粒向通道中心迁移。所以,细胞的直径越大,其从管出口流出时越靠近中间位置,细胞的直径越小,其从管出口流出时越散乱,而血清本身是流体,因此流出时与流入时没有位置变化。由此可知,在进行细胞聚焦时,血液中直径较大的红细胞和白细胞经微流控单元2后,聚焦到通道中心。而其他直径较小的成分如血小板和纯流体成分如血清则基本没



有位置变化。

[0077] 由于本实施例是基于弹性力对血液中的细胞进行聚焦,因此能够避免对血液造成不可逆性破坏。

[0078] 另外,如图5所示,为本实施例聚焦血液中红细胞和白细胞在聚焦前入口的叠加效果图,如图6所示,为本实施例聚焦血液中红细胞和白细胞在聚焦后的叠加效果图,通过观察、分析得出,待聚焦的细胞的工作流体通入微流控单元2,能够有效实现细胞在三维空间上聚焦在通道轴线上,并且操作简便,聚焦效果好,能够避免对血液造成不可逆性破坏。。

[0079] 实施例三:

[0080] 本实施例提出了用于分离微纳米颗粒的系统,如图7所示,该系统包括工作流体输送装置1、微流控单元2和收集不同尺寸颗粒的分岔出口3。

[0081] 在本发明中,工作流体输送装置1,对工作流体的输送,可以为注射泵、蠕动泵或其他的以压力驱动工作流体并精确控制流量的仪器,也可以利用重力或其他物理场使微纳米颗粒精确地流入到微通道中。工作流体输送装置1是通过注射泵驱动工作流体,用于输送微纳米颗粒;本例中为含有待分离的微纳米颗粒的工作流体在微通道中的流动并调整所述工作流体在微通道中的流速。

[0082] 微流控单元2的芯片可由PDMS、PMMA、PC制作,微流控单元2的底部封接基片可使用PDMS、PMMA、PC、玻璃或硅片。微流控单元2的制作过程采用以软刻蚀法为代表的常规的微流控芯片制作方法,首先在玻璃片或者单晶硅片上光刻得到芯片图形,通过模板来实现图案的转移和复制形成包含平面或曲面上的微米或纳米图案的微流控芯片,更具体的,如图13所示,包括以下步骤:

[0083] 步骤S21,模板制备:在硅片上用SU-8光刻胶制备模板,通过软刻蚀技术在模板上刻蚀所需微通道的三维立体结构。

[0084] 步骤S22,通道形成:将液态PDMS与适量固化剂均匀混合后,均匀地浇筑在模板上。并在一定温度下经过一定时间固化,从模板上剥离得到包含微通道的芯片。

[0085] 步骤S23,芯片封接:用等离子体束将含有微通道的芯片键合在玻璃或硅基底上,将半固化的液态PDMS作为粘合剂,封合芯片并连接芯片出口和入口,再烘烤进行加固。

[0086] 为提高分离通量,微流控单元2和分岔出口3使用并行结构,在于工作流体输送装置1连接处设置分支,每一分支对应一个微流控单元2;每一微流控单元2对应一个分岔出口3。所述分岔出口3包含三个分支,较大尺寸的微纳米颗粒从第一分支出口31和第三分支出口33流出,较小的微纳米颗粒从第二分支出口32流出。

[0087] 包含微纳米颗粒的流体在微通道中流动时受到流动条件、流体性质的影响。不同直径的颗粒在微通道中的流动路径和速度大小是不同的,在出口处流出的方向也是不同的。为验证该结论并进行参数的优化,做了相应的模拟实验,如图14所示,包括:

[0088] 步骤S1,首先制备包含微纳米颗粒的流体,包含不同大小(1-3 $\mu\text{m}$ )的聚苯乙烯微球;

[0089] 步骤S2,在包含微纳米颗粒流体中加入适量的高分子聚合物,使之具有粘弹性,同时具有剪切稀化性质;

[0090] 步骤S3,在不同的流体流速下追踪各尺寸颗粒流出时的位置以及微流控芯片的分离效果;

[0091] 步骤S4,通过理论模型计算优化微通道的几何参数和出口设计。

[0092] 需要指出的是,在本实施例中,微通道的截面形状为宽优选为40 $\mu\text{m}$ ,高优选为10 $\mu\text{m}$ 的矩形。所述第一分支出口31的截面宽度为微通道宽度的0.3倍,所述第二分支出口32的截面宽度为微通道宽度的0.4倍,所述第三分支出口33的截面宽度为微通道宽度的0.3倍。

[0093] 在步骤S2中具体为,在模拟流体中加入质量百分比为0.05%-0.5%的聚氧化乙烯(PEO)。

[0094] 在步骤S4中,理论模型为动力学模型,具体为:

[0095] 通过动力学模型

$$[0096] \quad \frac{d\mathbf{v}_p}{dt} = \frac{6\mathbf{F}_e}{\pi a^3 \rho_p} + \frac{18\mu}{\rho_p a^2} (\mathbf{v} - \mathbf{v}_p) + \frac{6\mathbf{F}_L}{\pi a^3 \rho_p}$$

确定各尺寸微纳米颗粒流出的位置,

其中, $\mathbf{v}_p$ 是工作流体中颗粒的速度矢量, $\mathbf{F}_e$ 是弹性力, $\mu$ 是工作流体的动力学粘度, $\rho_p$ 是颗粒的密度, $a$ 是颗粒的直径, $\mathbf{v}$ 是工作流体的速度矢量, $\rho$ 是工作流体密度, $g$ 是重力加速度, $\mathbf{F}_L$ 是惯性力;

[0097] 第一项  $\frac{6\mathbf{F}_e}{\pi a^3 \rho_p}$  与弹性力相关,第二项  $\frac{18\mu}{\rho_p a^2} (\mathbf{v} - \mathbf{v}_p)$  与粘性力相关,第三项

$\frac{6\mathbf{F}_L}{\pi a^3 \rho_p}$  与惯性力相关。带分离的微纳米颗粒从出口流出时的运动行为主要与所受到的弹

性力、粘性力、惯性力。粘性力由公式 $F_D = 3\pi a \mu (\mathbf{v} - \mathbf{v}_p)$  确定。弹性力由公式 $F_e = f_e(Wi, x_L) \cdot a^3 \nabla N$  确定,其中, $f_e(Wi, x_L)$  为与维森博格数(也可为德伯哈数)和颗粒在管截面的位置相关的函数, $N$ 为主应力差与剪切率的平方成正比。可知弹性力的方向指向剪切率较小的位置,本实例中为通道的中心和四角。惯性力 $F_L$ 的作用使颗粒不能靠近壁面,因此在没有剪切稀化效应的粘弹性工作流体中,弹性力使颗粒向通道中心迁移。颗粒的直径只影响其迁移速率大小而不影响方向。在有剪切稀化效应的粘弹性工作流体中,剪切稀化效应使得颗粒向壁面运动,颗粒的直径越大,受到剪切稀化的作用越明显。颗粒的直径越大,越靠近两侧;颗粒的直径越小,越靠近中间。由此可知,在进行微纳米颗粒分离时,直径较大3 $\mu\text{m}$ 颗粒经微流控单元2后,移动到通道两侧。而直径较小1 $\mu\text{m}$ 颗粒移动到通道中间。如图3中所示,第一分支出口31和第三分支出口33将收集到3 $\mu\text{m}$ 颗粒,第二分支出口32将收集到1 $\mu\text{m}$ 颗粒。

[0098] 另外,如图8所示,为本实施例分离微纳米颗粒在分离前入口的叠加效果图,如图9所示,为本实施例分离微纳米颗粒在分离后的叠加效果图,通过观察、分析得出,通过调控流体的流变性质和通道设计能够有效实现不同尺寸的微纳米颗粒和细胞汇聚在微通道的不同位置,在微流控单元末端的分岔出口3流向不同的出口实现分离,操作简便,分离效率高,不借助鞘流或特异性免疫反应;

[0099] 实施例四:

[0100] 本实施例提出了用于分离全血中大肠杆菌的系统,如图10所示,该系统包括工作流体输送装置1、微流控单元2和收集大肠杆菌和其他成分岔出口3。

[0101] 在本发明中,工作流体输送装置1,对工作流体的输送,可以为注射泵、蠕动泵或其他的以压力驱动工作流体并精确控制流量的仪器,也可以利用重力或其他物理场使微纳米

颗粒或细胞精确地流入到微通道中。工作流体输送装置1是通过注射泵驱动工作流体,用于输送待分离的细胞和细菌;本例中为加入大肠杆菌的血液在微通道中的流动并调整血液在微通道中的流速。

[0102] 微流控单元2的芯片可由PDMS、PMMA、PC制作,微流控单元2的底部封接基片可使用PDMS、PMMA、PC、玻璃或硅片。微流控单元2的制作过程采用以软刻蚀法为代表的常规的微流控芯片制作方法,首先在玻璃片或者单晶硅片上光刻得到芯片图形,通过模板来实现图案的转移和复制形成包含平面或曲面上的微米或纳米图案的微流控芯片,更具体的,包括以下步骤,如图13所示:

[0103] 步骤S21,模板制备:在硅片上用SU-8光刻胶制备模板,通过软刻蚀技术在模板上刻蚀所需微通道的三维立体结构。

[0104] 步骤S22,通道形成:将液态PDMS与适量固化剂均匀混合后,均匀地浇筑在模板上。并在一定温度下经过一定时间固化,从模板上剥离得到包含微通道的芯片。

[0105] 步骤S23,芯片封接:用等离子体束将含有微通道的芯片键合在玻璃或硅基底上,将半固化的液态PDMS作为粘合剂,封合芯片并连接芯片出口和入口,再烘烤进行加固。

[0106] 为提高分离通量,微流控单元2和分岔出口3使用并行结构,在于工作流体输送装置1连接处设置分支,每一分支对应一个微流控单元2;每一微流控单元2对应一个分岔出口3。

[0107] 血液在微通道中流动时受到流体驱动力、流动条件、细胞间相互作用的影响,因此,不同直径的细胞在微通道中的流动路径和速度大小是不同的,在出口处流出的方向也是不同的。为验证该结论并进行参数的优化,做了相应的模拟实验,如图14所示,包含如下步骤:

[0108] 步骤S1,首先制备待分离的模拟流体,包含不同大小(1-6 $\mu\text{m}$ )的聚苯乙烯微球模拟血样中的红细胞、白细胞、大肠杆菌;

[0109] 步骤S2,在模拟流体中加入适量的高分子聚合物,使之具有粘弹性和剪切稀化性质;

[0110] 步骤S3,在不同的流体流速下追踪各细胞和细菌流出时的位置以及微流控芯片的分离效果;

[0111] 步骤S4,通过理论模型计算优化微通道的几何参数和出口设计。

[0112] 需要指出的是,在本实施例中,微流控单元2的微通道呈直线型,其微通道的截面形状为宽20-60 $\mu\text{m}$ ,优选为40 $\mu\text{m}$ ,高10-20 $\mu\text{m}$ ,优选为10 $\mu\text{m}$ 的矩形。

[0113] 第一分支出口31的截面宽度为微通道宽度的0.3倍,所述第三分支口33的截面宽度为微通道宽度的0.3倍,所述第二分支出口32的截面宽度为微通道宽度的0.4倍。

[0114] 在步骤S2中具体为,在模拟流体中加入质量百分比为0.05%-0.5%的聚氧化乙烯(PEO)。

[0115] 在步骤S4中,理论模型为动力学模型,具体为:

[0116] 通过动力学模型

$$[0117] \quad \frac{d\mathbf{v}_p}{dt} = \frac{6\mathbf{F}_e}{\pi a^3 \rho_p} + \frac{18\mu}{\rho_p a^2} (\mathbf{v} - \mathbf{v}_p) + \frac{6\mathbf{F}_L}{\pi a^3 \rho_p} \text{ 确定细胞和细菌的出口位置,}$$

[0118] 其中, $\mathbf{v}_p$ 是工作流体中细胞和细菌的速度矢量, $\mathbf{F}_e$ 是弹性力, $\mu$ 是工作流体的动力学

粘度,  $\rho_p$  是细胞和细菌的密度,  $a$  是细胞和细菌的直径,  $v$  是工作流体的速度矢量,  $\rho$  是工作流体密度,  $g$  是重力加速度,  $F_L$  是惯性力;

[0119] 第一项  $\frac{6F_e}{\pi a^3 \rho_p}$  与弹性力相关, 第二项  $\frac{18\mu}{\rho_p a^2} (\mathbf{v} - \mathbf{v}_p)$  与粘性力相关, 第三项  $\frac{6F_L}{\pi a^3 \rho_p}$  与惯性力相关。待分离的细胞和细菌从出口流出时的运动行为主要与所受到的弹性

力、粘性力、惯性力。粘性力由公式  $F_D = 3\pi a \mu (v - v_p)$  确定。弹性力由公式  $F_e = f_e(Wi, x_L) \cdot a^3 \nabla N$  确定, 其中,  $f_e(Wi, x_L)$  为与维森博格数 (也可为德伯哈数) 和细胞在管截面的位置相关的函数,  $N$  为主应力差与剪切率的平方成正比。可知弹性力的方向指向剪切率较小的位置, 本实例中为通道的中心和四角。惯性力  $F_L$  的作用使细胞和细菌不能靠近壁面, 因此在没有剪切稀化效应的粘弹性工作流体中, 弹性力使细胞和细菌向通道中心迁移。细胞和细菌的直径只影响其迁移速率大小而不影响方向。

[0120] 而在有剪切稀化效应的粘弹性工作流体中, 剪切稀化效应使得细胞和细菌向壁面运动, 细胞和细菌的直径越大, 受到剪切稀化的作用越明显。细胞和细菌的直径越大, 越靠近两侧; 细胞和细菌的直径越小, 越靠近中间。由此可知, 在进行细胞分离时, 血液中直径较大的红细胞和白细胞经微流控单元2后, 移动到通道两侧。而直径较小的大肠杆菌移动到通道中间。如图4中所示, 第一分支出口31和第三分支出口33将收集到红细胞和白细胞, 第二分支出口32将收集到大肠杆菌。

[0121] 由于本实施例是基于弹性力对血液中的细胞和细菌进行分离, 因此能够有效避免对细菌和血液造成不可逆性破坏。

[0122] 另外, 如图11所示, 为本实施例分离血液中大肠杆菌在分离前入口的叠加效果图, 如图12所示, 为本实施例分离血液中大肠杆菌在分离后的叠加效果图, 通过观察、分析得出, 通过调控流体的流变性质和通道设计能够有效实现不同尺寸的微纳米颗粒和细胞汇聚在微通道的不同位置, 在微流控单元末端的分岔出口3流向不同的出口实现分离, 操作简便, 分离效率高, 不借助鞘流或特异性免疫反应; 同时也有效的避免了对细菌和血液造成不可逆性破坏。

[0123] 本发明中, 微流控聚焦/分离单元和微流控芯片的数量不局限, 可根据具体所需要的聚焦/分离通量设定; 微流控芯片的微通道也不局限于直通道结构, 可以根据具体需要的聚焦/分离加入或改为弯曲、单螺旋、双螺旋或蜿蜒结构; 微通道的截面形状不局限于矩形, 也可以是正方形、梯形、三角形或其他形状。

[0124] 本技术还可以用在生物、医学和工业等诸多领域。比如, 医学从患者全血中提取循环肿瘤细胞在临床与基础医学研究领域都有重大意义: 以血液中查出循环肿瘤细胞为依据比常规检测手段确诊癌症更加精确。根据循环肿瘤细胞的数量可判断愈后情况和存活时间, 培养循环肿瘤细胞做药理实验有助于医生选取最佳的治疗方案。因此分离提取外周血中循环肿瘤细胞有助于实现肿瘤的早期诊断、个体化治疗和复发转移监控。从人类全血中分离T淋巴细胞 (CD4+) 是艾滋病诊断与治疗中的关键步骤。分离成神经细胞肿瘤和神经胶质瘤细胞在治疗帕金森症和阿尔兹海默症等疾病方面有重要价值。分离并除去水中的微纳米颗粒和细菌直接决定了水处理的质量。

[0125] 以上结合具体实施例描述了本发明的技术原理。这些描述只是为了解释本发明的原理,而不能以任何方式解释为对本发明保护范围的限制。基于此处的解释,本领域的技术人员不需要付出创造性的劳动即可联想到本发明的其它具体实施方式,这些方式都将落入本发明的保护范围之内。

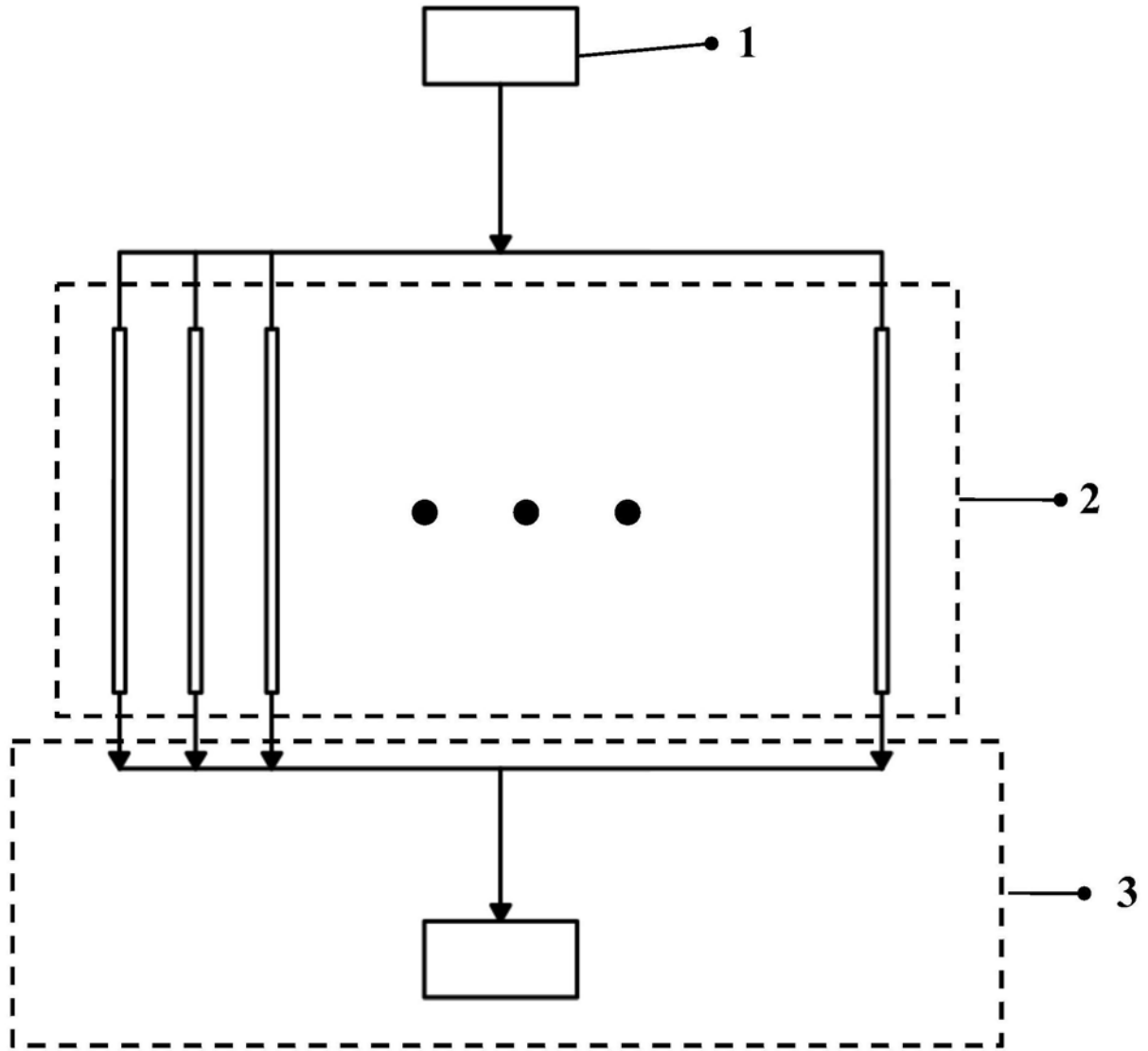


图1



图2



图3



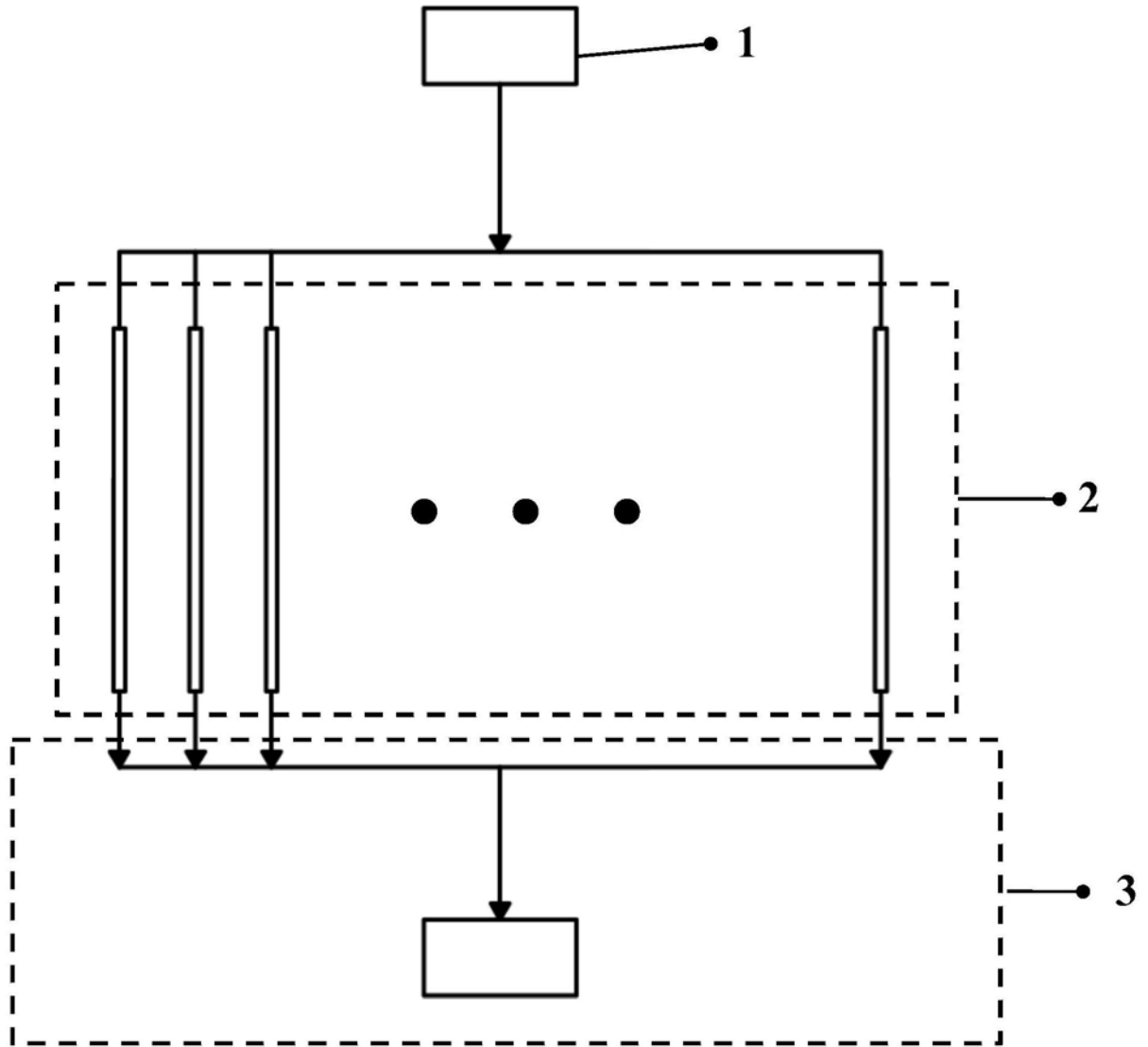


图4



图5



图6

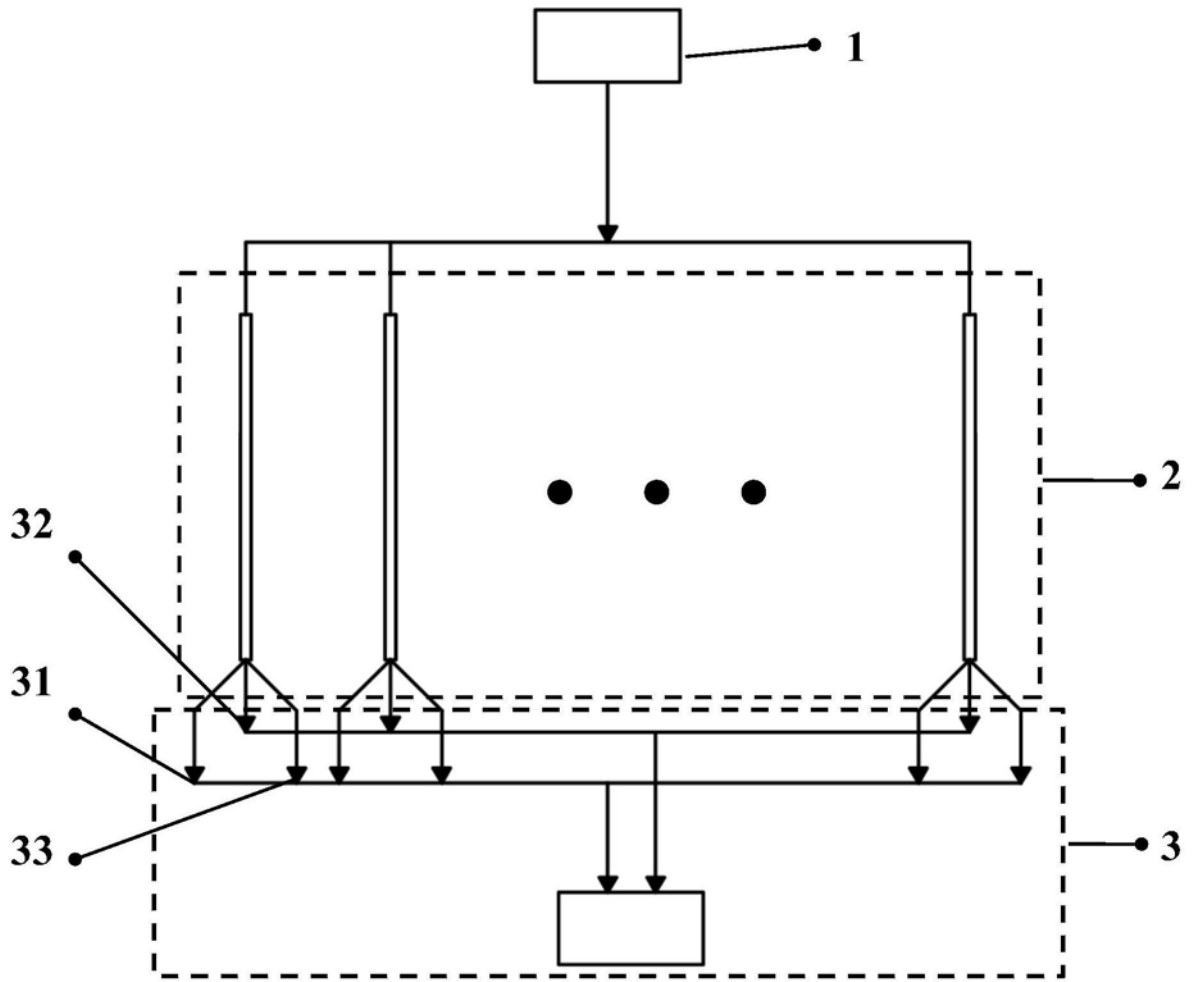


图7



图8



图9

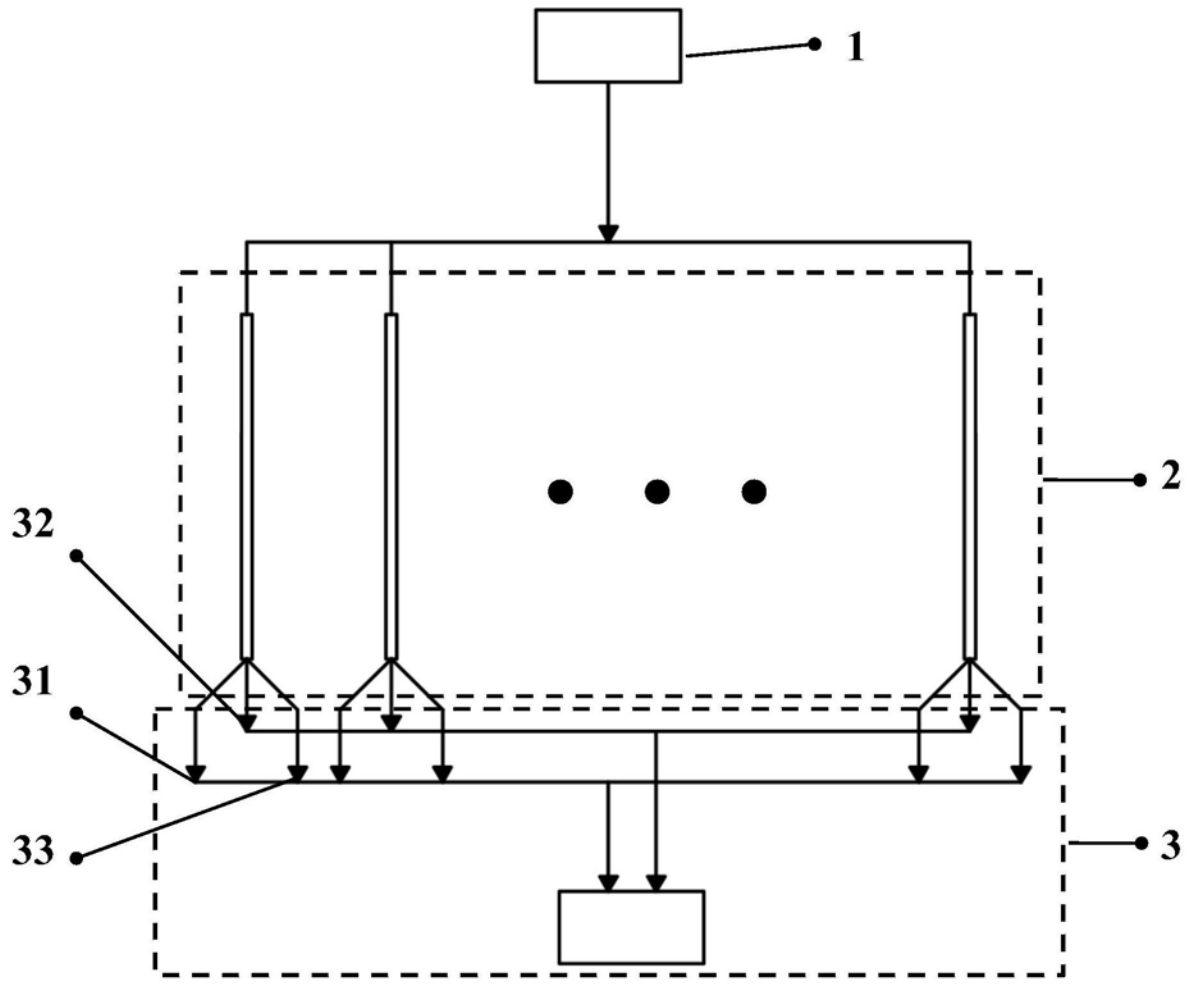


图10



图11





图12

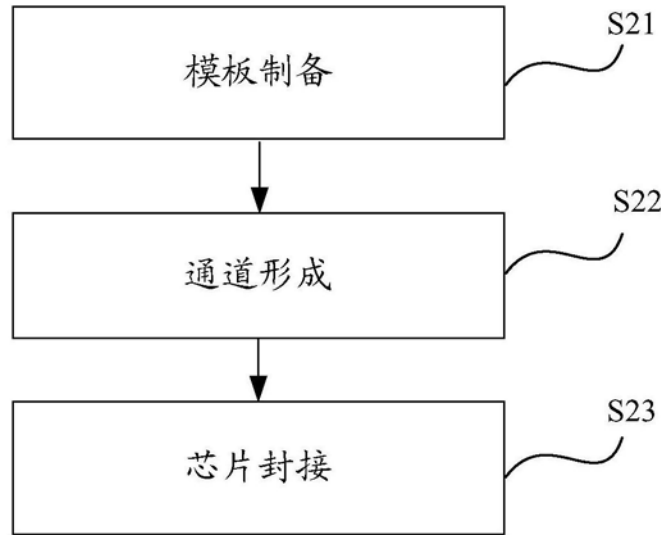


图13

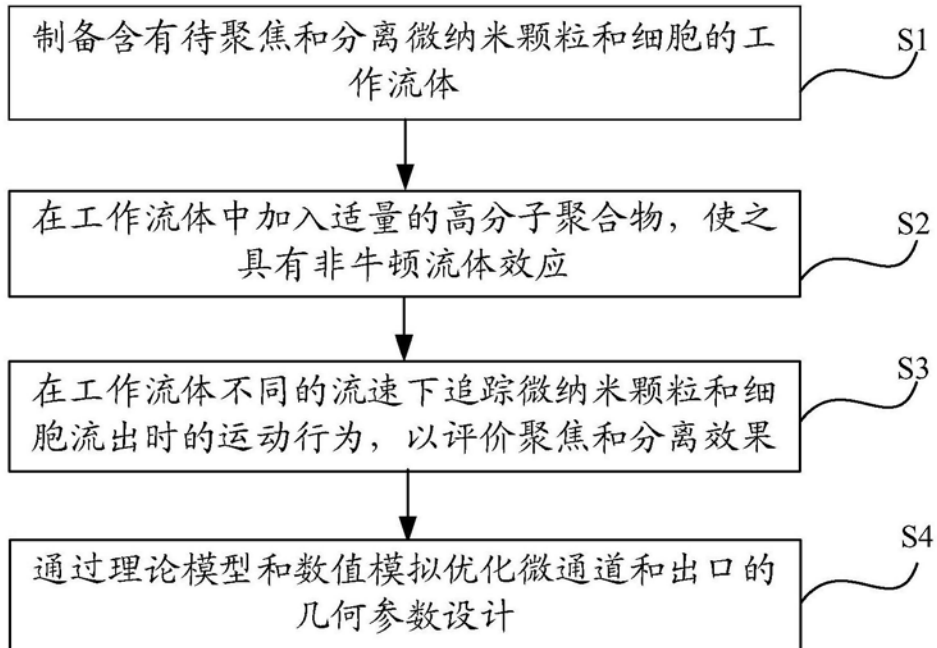


图14