

嘉南藥理科技大學補助專題研究計畫 成果報告

計畫名稱：介電泳力式之微分類器研究：3D 數值模擬及實驗
(II)

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：

執行期間： 2009 年 01 月 01 日至 2009 年 12 月 01 日

計畫主持人：陳鴻瑩

計畫研究助理：



處理方式： 涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

執行單位：嘉南藥理科技大學

中 華 民 國 2009 年 12 月 31 日

嘉南藥理科技大學補助專題研究計畫 成果報告
介電泳力式之微分類器研究：3D 數值模擬及實驗(II)
The Study of Dep-based Microsorter：3D Numerical
Simulation and Experiment(II)

計畫編號：150100-CN9819

執行期間：98 年 1 月 1 日至 98 年 12 月 31 日

主持人：陳鴻瑩 助理教授 嘉南藥理科技大學

目錄：

一、中文摘要.....	2
二、緣由與目的.....	2
三、研究方法.....	2
四、結果與討論.....	3
五、計畫成果自評.....	4
六、參考文獻.....	6

嘉南藥理科技大學補助專題研究計畫 成果報告

介電泳力式之微分類器研究：3D 數值模擬及實驗(II)

The Study of Dep-based Microsorter : 3D Numerical Simulation and Experiment(II)

計畫編號: 150100-CN9819

執行期間: 98 年 1 月 1 日至 98 年 12 月 31 日

主持人: 陳鴻瑩 助理教授 嘉南藥理科技大學

一、中文摘要

在生物科技領域及醫藥研究中，必須且重要步驟之一，是能將所要研究分析的目標微粒，從一群混和物中分離分類出來[1-4]。由於雷射誘導螢光微細胞分類(FACS)[5-9]、磁力激發原理(MACS)[5, 6]、及一般醫療單位所配備的微細胞偵測器(micro flow cytometer)[10]，等均需用到複雜並昂貴的實驗控制平台，方能達到上述分類功能。本研究靠簡單微流道及電極設計，可針對目標細胞(target cell)篩選及與其它生物粒子分離。

關鍵詞：微管道，三維聚焦，生醫晶片，介電泳力，分類晶片

二、緣由與目的

細胞偵測(flow cytometry)及分類(cell sorter)所用的儀器[10]在生醫研究應用上非常廣大，但由於儀器複雜、價格昂貴，通常這些儀器只在大型醫學中心的實驗室中，用於基本生物醫學的研究，而近年來運用微機電系統製程製作實驗整合晶片已蔚然成為各研究單位發展的指標。微機電系統製程具有與積體電路(IC)可批次大量製造之優點，其單位成本可比傳統方式製作之大型元件或系統大幅降低，且具有高靈敏度，此微細胞偵測晶片或分類晶片，將可提供一般醫院或檢驗所等醫學研究中心提供一個可

靠的檢驗儀器。因此本計畫的研究延續第一期的研究計劃，主要的研究目的地如下(a)建立分類晶片介電泳力場之 3D 模型建構、網格化分析、及計算參數等模擬分析。(b)探探討介電泳力電極在分離分類晶片之最佳化設計。(c)完成實驗晶片設計微機電製程製作。(d)完成介電泳力分類晶片實驗平台。(e)測試所製作分類晶片內介電泳力移動目標粒子的性能。

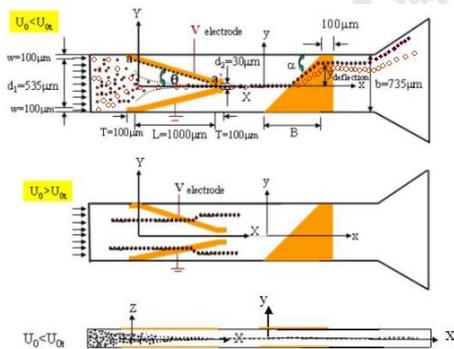
三、研究方法

1. 設計原理

本研究應用介電泳力原理，提出一種新的細胞分類方法，將介電泳力(dielectrophoretic force)整合於細胞或懸浮粒子篩選之分類晶片中，圖一為新型介電泳力微分類晶片原理結構示意圖，介電泳力微分類晶片主要為二維漸縮流道結構，在漸縮管道側壁由一對電極所製成，在施予一交流電訊號電壓 V 伏特下，漸縮非平行電極設計主要是產生一非均勻電場。利用注射式幫浦驅動，將含有細胞或懸浮生物粒子之檢測流體以一平均入口速度 U_0 由左邊進入微分類器內，細胞或懸浮生物粒子於此非均勻電場作用下將產生 X 及 Y 方向介電泳力作用，於此分類晶片中， X 方向介電泳力被設計用為把持力(holding force)，此把持力被用來作生物粒子抵抗流場作用力(hydrodynamic force)，此把持力的大小隨著粒子大小及其導電常數有

關，不同細胞或生物粒子有不同把持力，因此每一生物粒子可找到一相對的釋放流速 U_{or} (release velocity)或釋放流率(release flow rate)(1)當入口速度(U_o)大於釋放流速(U_{or})時小於穿透流速(U_{0t})，此時流場作用力將突破把持力而粒子開始向下游釋放，釋放之粒子再經 y 與 z 方向方向介電泳力作用，生物粒子將聚焦排列成一直線，因此 y 與 z 方向介電泳力被設計用來作為粒子聚焦力(focusing force)。圖一(a)與(c)中介電泳力粒子被釋放，並聚集成為一直線通過下游斜板電極(counting electrodes)及偏移電極，實點及空心粒子將因不同電特性及粒子大小作不同的橫向偏移而達到分離分類的效果。

(2)當平均入口速度大於粒子穿透流速($U_{0t} < U_0$)時。粒子將不會被聚焦且流穿透漸縮式電極如圖一(a)所示，此操作條件下將無法作粒子分類。



圖一、介電泳力原理分類晶片結構示意圖

2. 問題分析及其解決途徑

介電泳力場產生機制為

Pohl[11, 12]所提出，可用下列公式表示：

$$F_{dep} = \frac{1}{4} \pi D^3 \epsilon_m \epsilon_0 \text{Re}[K^*(\omega)] \nabla(E^2) \dots (1)$$

$$K^*(\omega) = \frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + 2\epsilon_m^*} \dots \dots \dots (2)$$

$$\epsilon_p^* = \epsilon_p - j \frac{\sigma_p}{\omega}; \epsilon_m^* = \epsilon_m - j \frac{\sigma_m}{\omega} \dots \dots (3)$$

E 是電場， D 是粒子直徑， $\epsilon_{m,p}$ 是流體及粒子的介電常數， $\sigma_{m,p}$ 是流體及粒子的

導電常數。 ω 是所施加電場的角度頻率。介電泳力的方向完全取決於 $\text{Re}[K^*(\omega)]$ 的正負值。它的值為在1到-1/2的區間，取決於電場的頻率、外界流體和粒子的介電常數、和導電常數。如果 $\text{Re}[K^*(\omega)]$ 為正，便成為正的介電泳力。如果 $\text{Re}[K^*(\omega)]$ 為負，便成為負的介電泳力。正介電泳力的結果會使被極化的中性粒子偏向電場密度過高的區域，而負介電泳力的結果會使被極化的中性粒子偏向電場密度低的區域。

由理論公式可知細胞或微粒在介電泳分類晶片管道中傳輸(transport)及聚焦(focusing)，依細胞之大小及其電性不同，當微管道尺寸縮小時，介電泳力篩選檢體受微管道影響程度亦同時提高。然而微電極之幾何形狀、尺寸大小，操作電壓等因素均可能對細胞分類產生影響，因而造成分離結果之不同，因此本研究將利用微粒子影像技術來詳細探討微流分類器內的物理機制。

3. 研究方法與步驟

研究方法與步驟如下：

- 延續第一期的研究計劃，建立3D介電泳力場數值分析模型。
- 利用不同電極之幾何形狀和尺寸大小設計，經由模擬分析，詳細探討介電泳力電極在分類晶片上最佳化設計。
- 發展分類晶片內介電泳力移動目標粒子的性能及其限制。

四、結果與討論：

1. 微粒子流通過漸縮式電極的力場，並且在流場中聚焦；

當流場的流速增加，其流力超過了介電泳力的攔阻，負介電特性的微粒子便會通過漸縮式的電極，並由於此漸縮式的電極設計，從圖二(a)和(b)的模擬顯示負介電特性的微粒子遠離電場密度高的區域及電極的附近，便會在 Y 軸方向及 Z 軸方向往管

道中央聚焦。圖中不同顏色顯示不同大小之微粒子經漸縮式的電極聚焦於微管道中心。

2. 負介電特性的微粒子被設計電極控制及控制距離的比較；
當流體速度小於負介電特性微粒子可穿透電極的流速時，微粒子將被停止於流到的某處，從圖三及圖四可以得到的模擬結果是，此漸縮式的電極設計而產生的電場特性，在 $X/L=0.92$, $Y/W=0$, and $Z/h=0$ (X, Y, Z 分別除上微管道長 L , 寬 W , 及高 h 作無因次化) 處會有最大負介電泳力場。如果流場的流力沒有辦法踰越此一力場，則微粒子將會被把持住 (holding) 在微管道內。若分離分類的粒子中，是分離正負介電特性的微粒子，則正電特性的微粒子會通過而負介電特性的微粒子將被停住。若分類分離的粒子是相同的負介電特性，則由介電泳力的理論公式，可知介電泳力與微粒子的體積成正比，也會因輸入適當的電場將大微粒子停住，而讓小的微粒子通過。

3. 微粒子穿越漸縮式電極並不聚焦；
當繼續增加流速，使得流力遠超過電極的電場。微粒子直接流通整個流道，此等流速並不附合，此微分類器的需求。

4. 粒子聚焦的最大流速限制；
從以上討論的結果可以求得符合微分類器適合流速與匹配的漸縮式電極的設計 (其 θ 為漸縮式電極與水平的夾角)。若欲將微粒子做第一階段的聚焦，則從理論上，微粒子必須在抵達最大攔阻力的 X 軸位置時的距離，在 Y 軸上必須同時到達管道的中心時的距離，由理論可得

$$\frac{L}{U_0} \geq \frac{d_1/2}{U_Y} \left(\text{or } \frac{h/2}{U_Z} \right) \dots\dots\dots(4)$$

$$\frac{L}{U_0} = \frac{d_1/2}{U_Y} \left(\text{or } \frac{h/2}{U_Z} \right) \dots\dots\dots(5)$$

由此可求得可將粒子聚焦的最大流速限制。由模擬結果圖五可得其粒子聚焦與不聚焦的經晶片操作參數。

5. 第二階段斜板電極的分離模擬：
由介電泳力場理論，在選擇的負介電性質微粒子，將偏離電場密度高的區域。所以經過第一階段的漸縮式電場的聚焦後，微粒子將由微流管道的中心進入斜板式電極。不同的微粒子的大小，仍有依其不同的體積大小及產生不同的介電力大小而有不同的偏移距離，其偏移的距離，由流場及電場的力場平衡公式得

$$y_{\text{deflection}} = \int U_y dt = \int \frac{(F_{DEP})_y}{3\pi\mu D} dt \cong \frac{(F_{DEP})_y}{3\pi\mu D} \cdot \frac{B}{U_x} \dots\dots\dots(6)$$

其中 $y_{\text{deflection}}$ 為粒子偏離後距離管道中心的間距， B 斜板電極 X 軸方向的寬度， $(F_{DEP})_y$ 是 Y 方向的介電泳力場， μ 是流體得黏度， U_x 和 U_y 分別是流場 X 軸與 Y 軸方向之分量。若固定金屬電極斜版的寬度 B ，流場的流速，則偏移的距離 $y_{\text{deflection}}$ 將反比於粒子的直徑。藉此機制，即可依其不同的偏移位置 (如圖六模擬結果所示) 於微管道的出口作不同的收集槽，就可完成分離的成果。

6. 由圖七實驗結果顯示，在操作條件 $V_{pp}=10$ volt AC signal 1MHz and $U_0=83\mu\text{m}/\text{sec}$, $25\mu\text{m}$ 乳膠粒子經漸縮式電極介電泳力聚焦於管道中心。

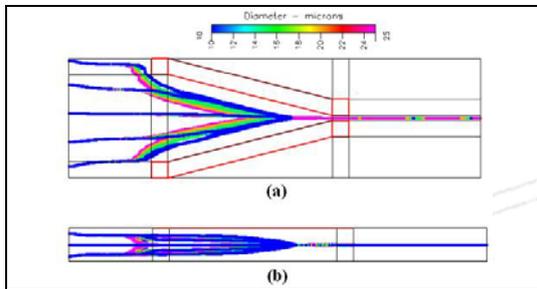
7. 由圖七實驗結果顯示，在操作條件 $V_{pp}=10$ volt AC signal 1MHz, and $U_0=332\mu\text{m}/\text{sec}$, $25\mu\text{m}$ 乳膠粒子經斜板電極電極介電泳力偏離管道的中心

五、計畫成果自評

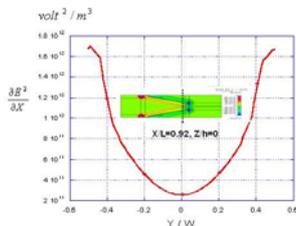
在介電泳力場的電場，無法以求得的理論解的情況下，可藉由模擬軟體的輔助，求得其電力場的分布，同

時因流場與介電泳力場的抗衡及運用，可作為粒子移動的控制，達成其分類器分離的設計。以此模擬分析的結果，再投入晶片的製作，將可以節省 try and error 的時間浪費及金錢的耗費。

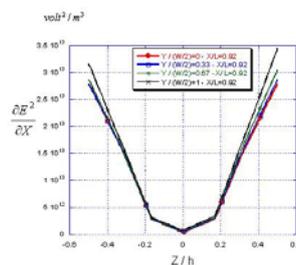
本計劃在實驗的部分已可達成定性分析，未來仍然可以目前的基礎完成定量分析及最後的分類收集。另外在製作品片過程，以特殊的可拋棄式實驗晶片設計申請通過新型專利一件，專利編號為經濟部智慧財產局 098218581。



圖二、晶片設計 3D 模擬結果電壓值 $V_{pp}=10$ 伏特交流電訊號 1 MHz (a) 晶片模擬上視圖 (b) 晶片模擬上下視圖

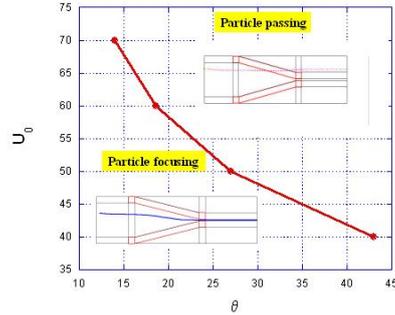


圖三、介電泳力場 $\frac{\partial(E)^2}{\partial X}$ 在 Y 軸沿 $X/L=0.92$ 和 $Z/h=0$ 的分佈在電壓值 $V_{pp}=10$ 伏特交流電訊號 1 MHz

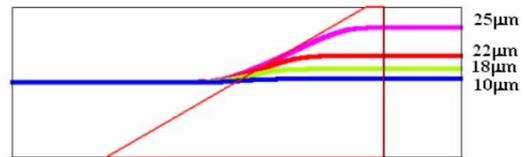


圖四、介電泳力場 $\frac{\partial(E)^2}{\partial X}$ 在 Y 軸沿 $X/L=0.92$ 和 $Z/h=0, 0.33, 0.67, 1$

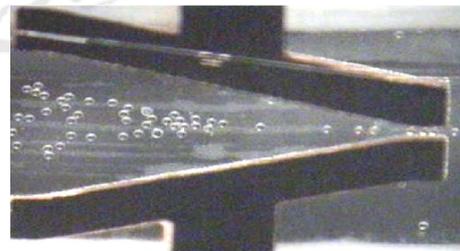
的分佈在電壓值 $V_{pp}=10$ 伏特交流電訊號 1 MHz



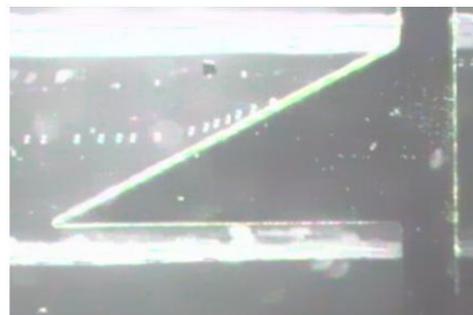
圖五、粒子聚焦與不聚焦的參數的模擬結果，於電壓值 $V_{pp}=10$ 伏特交流電訊號 1 MHz



圖六、粒子直徑分為 10, 18, 22, and 25 μm 流經斜板電擊的偏移模擬結果，電壓值 $V_{pp}=10$ 伏特交流電訊號 1 MHz



圖七、電壓值 $V_{pp}=10$ 伏特交流電訊號 1 MHz, $U_0=83 \mu m/sec$



圖八、電壓值 $V_{pp}=10$ 伏特交流電訊號 1 MHz, $U_0=332 \mu m/sec$

六、參考文獻

1. Catismpoolas, N. (Ed). (1977).
Methods of Cell Separation. *New York: plenum.*
2. Telleman, P., Larsen, U., Kutter, J., Friis, P. and Wolff, A. (2000). Micro tools for Cell Handling. Proc. in *SPIE conference on microfluidic devices and systems*, 4177, pp. 1-10.
3. Voldman, J., Rosenthal, A. (2005). Dielectrophoretic Traps for Pingle-particle Patterning. *Biophysical Journal*, 88, pp. 2193-2205.
4. Morgan, H., Hughes, M.P. (1998). Dielectrophoretic Trapping of Single sub-micrometre Scale Bioparticles. *Jorunal of Physics. D: Apply. Phys*, 31, pp. 2205-2210.
5. Chang, Sh. Lin, Ch. Lee, G. (2005). Micromachine-based Multi-channel Flow Cytometers for Cell/particle Counting and Sorting. *Journal of Micromech, Microeng*, 15, pp. 447-454.
6. Telleman, P., Larsen, U.D , Philip, J., Blankenstein, G., Wolff, A. (1998). Cell sorting based on continuous hydrodynamic parallel flow, in: *Proceedings of MicroTAS 1998*, Banff, Alberta, Canada, 13-16, pp. 39-44.
7. Chronis, N., Lam, W., Lee. (2001). A microfabricated bio-magnetic separator based *California, USA*, pp. 497-498.
8. Anne, Y.F., Spence, C. , Scherer, A., Arnold, F.H. and Quake, S.R., (1999). Amicrofabricated fluorescene-activated cell sorter. *Nano Biotechnology*, Nov. 17 (11), pp. 1109-1111.
9. Kruger, J. et. al. (2002). Development of a microfluidic device for fluorecence activated cell sorting. *Journal of Micromech, Microeng*, 12, pp. 486-494.
10. M. Melamed, T. Lindmo, and M. Mendelsohn, "Flow Cytometry and Sorting", 2PPndPP Edition, John Wiley & Sons, 1991
11. Pohl, H.A., "Some Effects of Nonuniform Field on Dielectrics", *J. Appl. Phys.* 29, 1182-1188, 1958
12. Phol, H.A., "Dielectrophoresis (Cambridge:Cambridge University Press)", 1978