

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

介電泳力式之微分類器研究：3D 數值模擬及實驗 研究成果報告(精簡版)

計畫類別：個別型
計畫編號：NSC 96-2221-E-041-001-
執行期間：96年08月01日至97年07月31日
執行單位：嘉南藥理科技大學職業安全衛生系

計畫主持人：陳鴻瑩
共同主持人：呂宗行
計畫參與人員：碩士班研究生-兼任助理人員：宋宏建
碩士班研究生-兼任助理人員：白璟宜

處理方式：本計畫可公開查詢

中華民國 97 年 10 月 27 日

行政院國家科學委員會專題研究計劃成果報告
介電泳力式之微分類器研究：3D 數值模擬及實驗
**The Study of Dep-based Microsorter：3D Numerical
Simulation and Experiment**

計畫編號:96-2221-E-041-001

執行期間:96年8月1日至97年7月31日

主持人: 陳鴻瑩 助理教授 嘉南藥理科技大學

共同主持人: 呂宗行 副教授 成功大學航空太空科系

目錄：

一、中文摘要.....	2
二、緣由與目的.....	2
三、研究方法.....	3
四、結果與討論.....	5
五、計畫成果自評.....	6
六、參考文獻.....	7

行政院國家科學委員會專題研究計劃成果報告

介電泳力式之微分類器研究：3D 數值模擬及實驗

The Study of DEP-based Microsorter：3D Numerical Simulation and Experiment

計畫編號:96-2221-E-041-001

執行期間:96年8月1日至97年7月31日

主持人: 陳鴻瑩 助理教授 嘉南藥理科技大學

共同主持人: 呂宗行 副教授 成功大學航空太空科系

一、中文摘要

在生物科技領域及醫藥研究中必須的重要步驟之一，是能將所要研究分析的細胞或粒子，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]，及磁力激發原理(MACS)[5,6]的細胞分類晶片方法，需用到複雜實驗控制平台，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)篩選及與其他生物粒子分離。

關鍵詞：微管道，三維聚焦，生醫晶片，介電泳力，分類晶片

Abstract:

In the field of biotechnology and medical applications, that needs the ability to sort out the cells of interest from the sample mixture. The traditional sorter such as fluorescence-activated cell sorter (FACS), and magnetic-activated cell sorter (MACS), micro-fabricated flow switches. They all need complex and expensive equipment to sort out the targets. In this study, the ideas of using MEMS technology to design a sorter simply apply the DEP force to separate the cell from the mixture.

Keywords: Microfluidics, Focusing, Bio-chip, Electrophoresis, Microsorter

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，微機電系統製程具有與積體電路(IC)一樣可大量製造之優點，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，微機電系統製作的微細胞偵測晶片或分類晶片，將可提供一般醫院、診所或檢驗所，具有和大型醫學研究中心一樣高靈敏及可靠的檢驗儀器。因此本計畫的研究主題在發展介電泳力分類晶片，來探討細胞或生物粒子在微管流內傳輸現象及分類機制，主要的研究目地如下(a)建立新型介電泳力場數值分析。(b)探討介電泳力在分離粒子的物理機制。(c)探討晶片微管道內介電泳力聚焦設計(DEP focusing)。(d)仔細研究介電泳力機制及細胞或微生物粒子在分類晶片微管流內傳輸現象及分類性能(e)發展新的、有創性的分類技術。

本研究計畫工作包括介電泳力分類晶片數值分析模型，探討電極設計與介電泳力場關係，以得到最佳化目標粒子操縱方法，來發展新的分類技術

三、研究方法

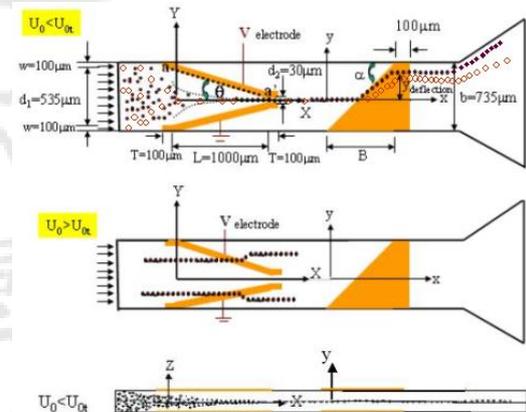
1. 設計原理

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，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)，當入口速度大於釋放流速($U_0 > U_{or}$)時，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)。

本研究便是利用上述之介電泳力原理，去設計為粒子或細胞分類器的設計。圖一為介電泳力分類晶片操作示意圖，含有不同大小粒子紅色實點及空心粒子之混合檢體由上下兩層底材所形成的三明治結構所包含，利用注射式幫浦驅動，含有生物粒子之檢測流體以一入口速度 U_0 由左邊進入微分類器內，在漸縮管道側壁的一對電極產生一非均勻電場，造成生物粒子將受到 X 方向介電泳把持力作用，隨著

平均入口速度 U_0 增加，微分類器有下列不同操作情況：

- (1) 當平均入口速度大於粒子之釋放流速而小於穿透流速 ($U_{0r} < U_0 < U_{0t}$) 時：此時流場於空心粒子作用力將大於介電泳力把持力，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漸縮式電極。



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

檢體細胞在全介電泳分類晶片管道中傳輸(transport)及聚焦(focusing)，利用目標細胞之大小及其電性不同，經由微機電製程技術在分類晶片管道中製作介電泳力電極(Dielectrophoretic electrode)，而達成細胞分離(cell separation)之功能。為能精確量測分類晶片之特性，本計畫將著重於介電泳力電極之設計。為達成低成本，快速平行檢測及高靈敏度之微流分類晶片要求，在晶片設計、及測試時我們必需考慮下列問題及其解決途徑：

- a. 因傳統之螢光激發細胞分類(FACS)分離技術需要外界元件配合，造成成本高、不易製作。本計畫利用微機電技術製作介電泳力之電極，整合於分類晶片上，介電泳力細胞分類公認是

一種非侵入式細胞偵測分離工具，本計畫嘗試以此方法做目標細胞之分析及辨識，並用來做生物粒子的分離，其主要原理為利用兩電極產生電場造成粒子移動，介電泳力量產生機制可用下列公式表示：

$$\vec{F}_{dep} = \frac{1}{4} \pi D^3 \varepsilon_m \varepsilon_0 \operatorname{Re}[K^*(\omega)] \nabla(E^2) \dots (1)$$

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

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

E 是電場， D 是粒子直徑， $\varepsilon_{m,p}$ 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 $\operatorname{Re}[K^*(\omega)]$ 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 $\operatorname{Re}[K^*(\omega)]$ 為正，便成為正的介電泳力。如果 $\operatorname{Re}[K^*(\omega)]$ 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。

Pohl[11, 12] 運用不均勻電場而誘發出來的偶力拒轉換成介電力，介電力可以用來操控粒子或用來分類不同型態細菌及細胞[13, 14] 等，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。

b. 介電泳力電極需整合於分類晶片上為一可行構想，所完成的系統可在快速分類晶片上，做檢體內病變細胞之快速篩選。由於微量病變細胞在微管道內藉介電泳力篩選，其詳細地篩選機制可由高解析度測試平台上量測到此一微小物理機制，因此本研究的重

要工作之一將發展介電泳力分類晶片實驗平台，證實分類效果。

c. 介電泳力 (dielectrophoresis) 為目前生物晶片研究領域生物粒子(細胞、細菌、病毒)操縱的重要工具，因隨著欲操縱之生物粒子尺寸由微米尺度的細胞(5~15 μm) 縮小至奈米尺度的病毒(0.01~0.1 μm)，粒子的布朗運動效應隨之增強，為使介電泳力產生足夠力量來操縱生物粒子，生物晶片需形成高電場密度設計，然而高強度電場作用下，微小空間內的液體將因焦耳加熱作用溫度場有機會對細胞造成破壞，如此高的能量將加熱而破壞細胞，本研究將完成建立數值分析模型，探討介電泳力場與溫度場關係，以得到目標生物粒子操縱限制。

3. 研究方法與步驟

研究方法與步驟如下：

a. 發展介電泳力分類晶片介電泳力場模擬，本研究之執行將使用 CFD RC 套裝軟體，建立主要介電泳力場數值分析模型，探討電極設計與介電泳力場關係，以得到最佳化目標粒子操縱方法。

b. 由於此介電泳力電極是用來提供微流分類晶片做細胞分離，如何設計介電泳力電極在微管道內能產生足夠的把持力(holding force)來做單一生物粒子篩選為本研究的主要挑戰，考慮的設計參數包括電極之幾何形狀和尺寸大小，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。

c. 發展分類晶片內介電泳力移動目標粒子的性能及其限制。本研究將建立介電泳力分類晶片內介電泳力移動目標粒子的性能，對於介電泳力把持及聚焦目標粒子效果，主要控制不同入口速度，由於不同目標粒子對不均勻電場的不同響應，將不同目標粒子收集於不同位置，達到分類晶片分離粒子的目的。

四、結果與討論：

1. 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，從圖二及圖三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 $Z/h=0$ (在 Y , Z 分別除上微管道長 L , 寬 W , 及高 h 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，則由介電公式的理論方式，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。

2. 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，從理論及圖四(a)和圖四(b)的模擬力場可以看出負介電特性的微粒子要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。

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

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

$$\frac{L}{U_{0r}} = \frac{d_1/2}{U_Y} \left(\text{or } \frac{h/2}{U_Z} \right) \dots\dots\dots (5)$$

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參數。

5. 第二階段斜板電極的分離模擬：

斜板電極電場模擬的圖示如圖六，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。不同的微粒子的尺寸，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

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

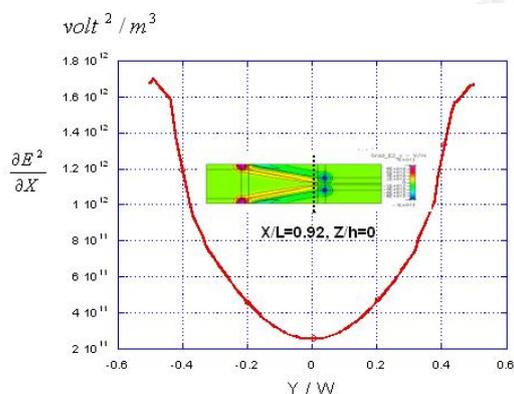
其中 $y_{\text{deflection}}$ 為粒子偏離後距離管道中心的間距， B 斜板電極 X 軸方向的寬度， $(F_{DEP})_y$ 是 Y 方向的介電泳力場， μ 是流體得黏度， U_x 和 U_y 分別是流場 X 軸與 Y 軸方向支流速。若固定金屬電極斜版的寬度 B ，流場的流速，則偏移的距離 $y_{\text{deflection}}$ 將反比於粒子的直徑。藉由此機制，即可依其不同的偏移位置(如圖七模擬結果所示)於微管道的出口作不同的收集槽，就可簡易的完成分離的成果。

五、計畫成果自評

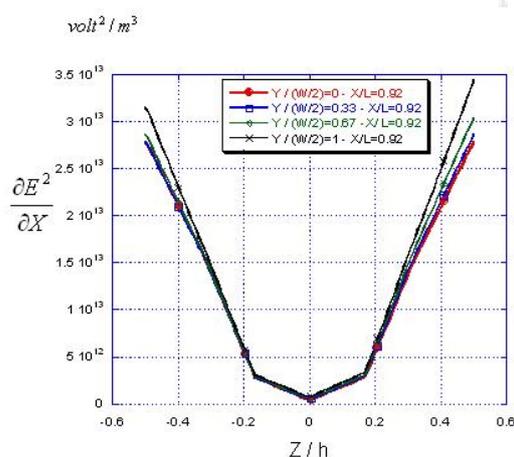
在介電泳力場的電場，無法以求

得的理論解的情況下，藉由模擬軟體的輔助，可求得其電力場的分布狀況，同時以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。

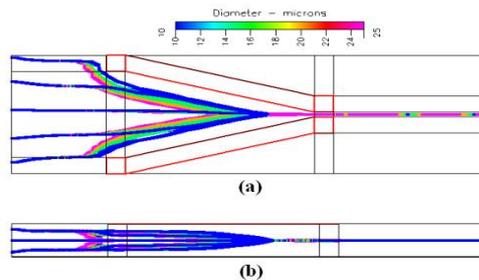
本計畫培育兩位研究生，在微機電領域等研究以模擬為預先探討的機制再導入晶片等實體設計，可以更經濟與快速完成符合微粒子及細胞的分類功能的需求。以上成果有合乎計畫預期的成果(第一年)。



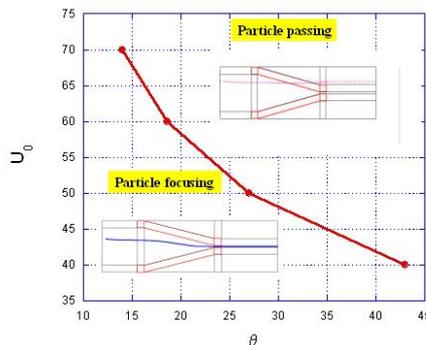
圖二、介電泳力場 $\frac{\partial(E^2)}{\partial X}$ 在 Y 軸沿 $X/L = 0.92$ 和 $Z/h = 0$ 的分佈在電壓值 $V_{pp} = 10$ 伏特交流電訊號 1 MHz



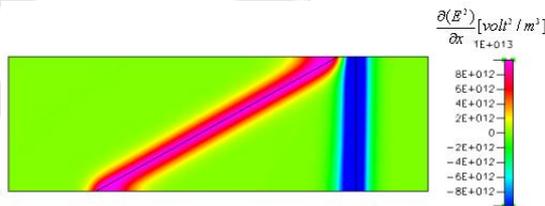
圖三、介電泳力場 $\frac{\partial(E^2)}{\partial X}$ 在 Y 軸沿 $X/L = 0.92$ 和 $Z/h = 0, 0.33, 0.67, 1$ 的分佈在電壓值 $V_{pp} = 10$ 伏特交流電訊號 1 MHz



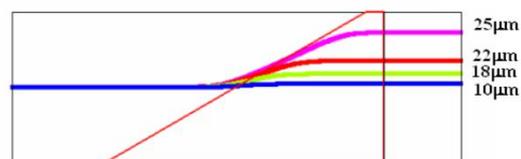
圖四、微粒子在 Y 軸方向及 Z 軸方向往管道中央聚焦，在電壓值 $V_{pp} = 10$ 伏特交流電訊號 1 MHz



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、斜板電極電場模擬的圖示 $\frac{\partial(E^2)}{\partial X}$ 在 $Z/h = 0$ 平面電壓值 $V_{pp} = 10$ 伏特交流電訊號 1 MHz



圖七、粒子直徑分為 $10, 18, 22,$ and $25 \mu m$ 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

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
13. Green, N.G., Morgan, H., and Milner, J. J., "Manipulation and Trapping of Submicron Bioparticles Using Dielectrophoresis", *J. Biochem. Methods*, 35, 89-102, 1997
14. Green, N.G., Morgan, H., and Milner, J.J., "Dielectrophoretic Investigations of Submicrometre Latex Spheres", *J. Phys., D: Appl., Phys.*, 30, 2626-2633, 1997