

# 磁场在微流控芯片中颗粒分离的发展和应

张杰 王成

(密苏里科技大学航空与机械系)

## 一、流控芯片技术与磁分离

在过去的20年里,随着微纳米先进制造水平的提高,微流控技术作为微电机系统(microelectromechanical systems 或 MEMS)的一个重要分支,也得到了前所未有的快速发展。微流控(Microfluidics)是指在微尺度条件下(通常在微尺度管道网络内)对流体(体积在 $10^{-12}$ 到 $10^{-6}$  L之间)进行精确操控所涉及的科学与技术。微流控技术具有以下优点使其在电子、生物、化工、医学、环境等领域具有较好的应用前景。第一,微流控技术能处理微量的样品。这样可以加速化学分析和反应、减少试剂的消耗、同时产生比较少的废料。同时,这种技术可以用于贵重和危险试剂的测试,降低成本和危害。第二,在微通道中,传热传质会明显提高,这将会降低化学分析和反应的时间。第三,在微尺度条件下,流体都处于层流状态,使得精准操控更容易实现。第四,微流控芯片尺寸小,便于同步分析处理,与手持设备如智能手机结合,可提供便携式医疗诊断的功能。

近年来在微流控芯片中操控微米颗粒和细胞被广泛地应用于工程、自然科学、医学相关领域的研究。微米颗粒是指尺寸在0.1微米到100微米之间的颗粒。多种生物颗粒如细菌、病毒、高分子蛋白质分子及细胞都属于微米颗粒。基于微流控的生物和医学应用通常需要对悬浮在液体环境中的各种微米颗粒进行精准操控,如提纯、分离和聚集

等。在微流控芯片中操控微米颗粒的方法主要分为被动和主动这两种操控方法。被动方法是通过改变微流控芯片中微尺度通道的分布和几何形状、流体物性的参数等来控制颗粒在微通道中的运动轨迹实现操纵颗粒。主动方法是通过施加外部力场,比如热场、电场、磁场、声场对微颗粒施加外力来操控微通道中的颗粒轨迹。

磁学是物理学的一个重要分支,在高能物理、天体物理、计算机及生物科技如磁共振成像等领域有着重要的应用。早在微流控概念提出之前,用磁场力进行粒子操控已被广泛用于金属提纯、采矿和细胞分离等科学和工业应用。近年来,因其非接触性和无损性等特点,磁场被广泛的用于微流控芯片中的微米和纳米颗粒的分离。传统的颗粒磁操控大多基于磁场力。颗粒在粘性流体中受到磁场力产生的运动被称之为磁泳(Magnetophoresis)现象。相比其他外场产生的运动如电泳,磁泳对样品溶液的属性比如pH、离子浓度、表面电荷、温度影响不敏感。另外,易于操作、造价低廉和设计简单让基于磁泳原理的技术成为科学研究中操控颗粒/细胞的最佳选择。磁泳还是一种温和无损的方法,非常适用于蛋白质的生物分析,甚至适用于传统柱层析法中易破坏的高蛋白质复合物的分析。磁泳方法分析细胞不破坏细胞的完整性,只要简单步骤就能直接分析原始生物样品。另外,近年来,一种非常规、基于磁场力矩在微流控芯片中操控微米颗粒/细胞的方法越来越受到国内外研究者的关注。本文

主要介绍磁分离的基本原理,器件与制备和应用前景。

## 二、磁分离的基本原理

传统的磁分离方法主要利用非均匀磁场对颗粒产生的磁场力这一基本原理对颗粒/细胞进行分离。在微通道流体中颗粒/细胞受到多种力作用,主要有磁场力、粘性阻力、重力、浮力、布朗运动力等。就微尺度颗粒而言,磁场力和粘性阻力是主要影响颗粒运动轨迹的力,因此下文主要对这两种力进行讨论。

由于特征尺度小、流速慢,微通道中流体的雷诺数通常远小于1,处在层流状态。因此,颗粒所受的粘性阻力可用斯托克斯公式(Stokes law)表示:

$$F_d = 3\pi\eta d_p(\mathbf{u}_f - \mathbf{u}_p)C_w, \quad (1)$$

其中, $\eta$ 是动力粘度, $d_p$ 是颗粒的直径或等效直径, $\mathbf{u}_f$ 、 $\mathbf{u}_p$ 分别是流体和颗粒/细胞的流动速度, $C_w$ 是阻力系数,主要考虑微通道壁面对颗粒的影响。

用磁场在微通道中进行颗粒/细胞分离,作用在颗粒/细胞上的磁场力可以表示为

$$\mathbf{F}_m = \nabla(\mathbf{m} \cdot \mathbf{B}) = \frac{\Delta\chi \cdot V_p}{\mu_0}(\nabla\mathbf{B}) \cdot \mathbf{B}, \quad (2)$$

其中, $\mathbf{B}$ 和 $\nabla\mathbf{B}$ 分别是磁感应强度及其梯度, $\mathbf{m}$ 是颗粒的磁矩, $\Delta\chi = \chi_p - \chi_m$ 是颗粒/细胞的磁化率( $\chi_p$ )与媒介(如周围的液体)的磁化率( $\chi_m$ )之差, $V_p$ 是颗粒/细胞的体积, $\mu_0$ 是真空中磁导率。按磁化率不同,磁性材料可分为抗磁体,顺磁体和铁磁体。抗磁体在磁场作用下会对磁场有微弱的排斥力,比如水、金、银、铜都是抗磁体。由于抗磁体的磁化率一般在 $10^{-5}$ 数量级左右,因此一般称之为非磁性材料。顺磁体在磁场作用下对磁场有吸引力并具有磁性,但移除磁场,其磁性会消失。顺磁体通常具有比较小的磁化率,常见的铝、镁、锂都是顺磁体。铁磁体在磁场作用下对磁场具有强烈的吸引作用,即使移除磁场,铁磁体也能保持磁化状态。常见的永久磁体就是铁磁体。

根据微颗粒的磁属性,可通过磁场及调节悬浮

液体的磁属性进行颗粒操控。当磁性颗粒/磁标记细胞( $\chi_p > 0$ )悬浮在非磁性溶液( $\chi_f \approx 0$ ),作用在颗粒/细胞的磁场吸引力致使颗粒/细胞向磁场源的方向移动,这种操控颗粒/细胞的技术称之为正磁泳法,如图1(a)所示。正磁泳通常用来操控磁性微米颗粒或者具有磁属性的生物个体,比如红细胞或趋磁细菌。然而大多数的生物颗粒(含病菌、蛋白质和细胞)的磁化率非常小可以近似为零,为了用正磁泳法操控非磁性细胞,需要在细胞表面依附磁性纳米颗粒(磁标记)。磁性纳米颗粒和细胞通常需要放置在一起培养几小时,然后需要多步骤的清洗过程。正磁泳法的分离效率取决于依附在纳米颗粒的数量及分布,而纳米颗粒的存在会影响细胞的内吞能力和配体-受体相互作用。

当非磁性颗粒/细胞( $\chi_p \approx 0$ )悬浮在磁性溶液( $\chi_f > 0$ ),作用在颗粒/细胞的磁场排斥力致使颗粒/细胞被推离磁源的方向移动。这种操控颗粒/细胞的技术称之为负磁泳法,如图1(b)所示。作用在颗粒/细胞上的排斥力可以通过提高磁场强度和梯度获得。使用磁化率高的磁性溶液是一种简单有效的增强磁场力方法。磁性溶液通常有两类:顺磁性盐溶液和磁流体。有些过渡金属的盐类溶液在磁场作用下会产生磁性,比如硫酸铜溶液。磁流体是由磁性纳米颗粒组成的胶体悬浮液。相比顺磁性盐溶液,磁流体具有更好的生物相容性和更大的磁化率,因此负磁泳法很适合某些活细胞的操控。磁流体中纳米颗粒的直径一般在10 nm左右,通常表面依附一层表面活性剂使其稳定和防止其团聚。磁流体被应用于很多应用,比如微阀、微型混合器、磁性药物靶向治疗和细胞分离等领域。磁流体对生物样品干扰性小,因此,随着生物相容性更好的磁流体发展,负磁泳方法操控生物细胞的应用越来越广。

近年来,国内外科研组提出了利用均匀磁场对非球形颗粒进行操控的方法。值得一提的是,在均匀磁场下,作用在颗粒上的磁场力非常小接近为零,因此该方法非常不同于传统的磁操控。其原理

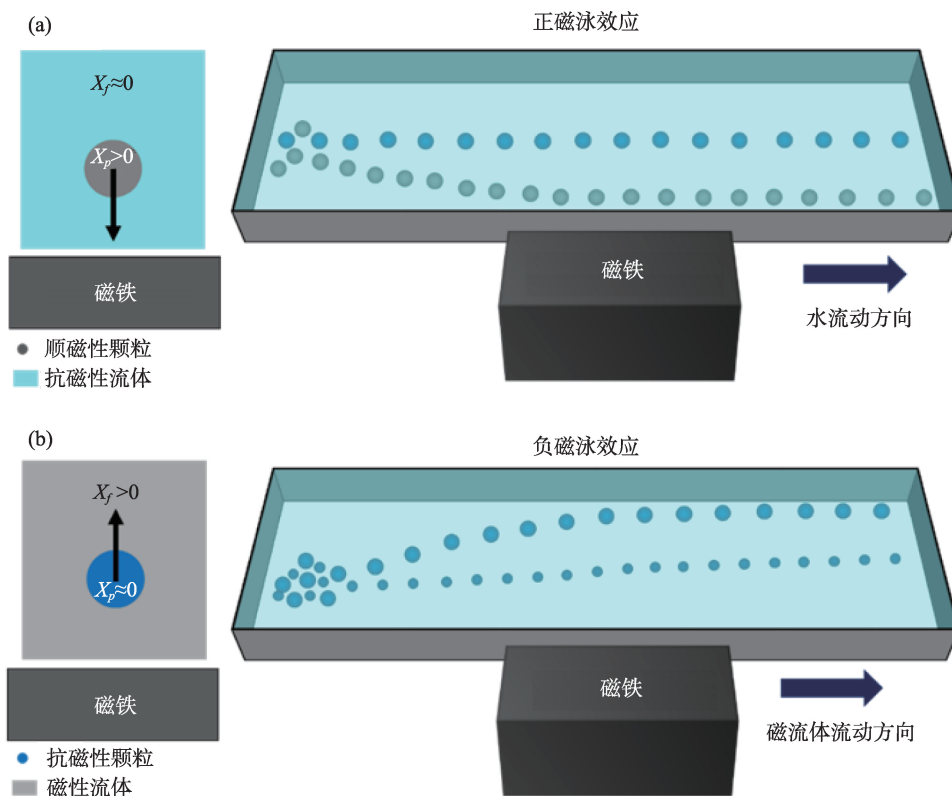


图1 正磁泳效应(Positive magnetophoresis)和负磁泳效应(Negative magnetophoresis)及其在颗粒分离中的应用

则主要依赖作用颗粒上的磁力矩：

$$T_m = m \times B, \quad (3)$$

并结合颗粒与微通道壁面之间的水利相互作用达到控制颗粒侧向位移和分离。如图2(a)所示,在均匀磁场的作用下,微通道中椭球颗粒受到两种力矩作用:流体对颗粒的水利力矩  $T_h$  和磁场对颗粒的磁

力矩  $T_m$ 。没有磁场作用下,颗粒只是受到水利力矩作用,由于颗粒与微通道壁面的相互作用,颗粒在流体中旋转向前运动,但不会产生侧向位移。当均匀磁场作用在垂直方向,磁力矩破坏了颗粒旋转的对称性使其产生侧向运动,如图2(b)所示。利用此种均匀磁场方法,可以有效的分离相同体积的顺磁

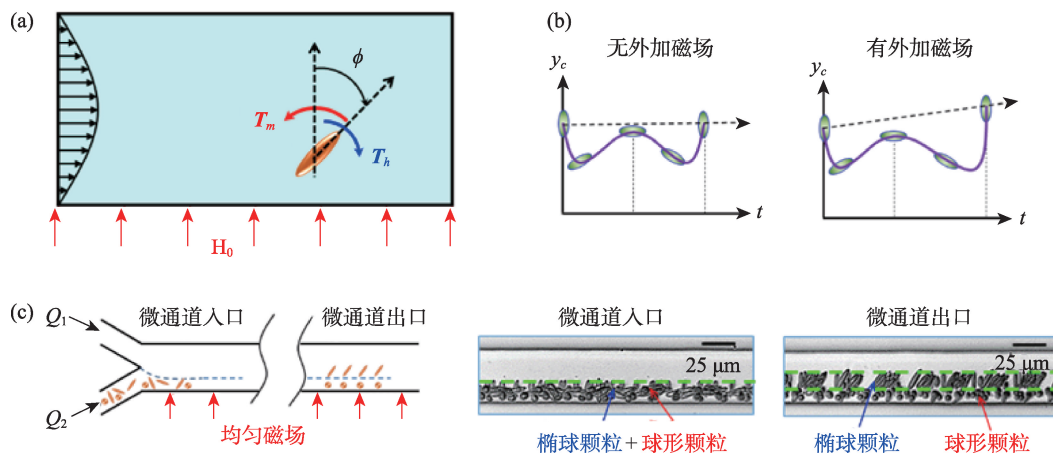


图2 根据颗粒形状进行分离方法: (a) 作用在微颗粒上的磁力矩和水利力矩示意图; (b) 椭球颗粒在垂直于管流方向的位置; (c) 实验装置示意图及实验测量的结果

性椭球颗粒和球形颗粒,如图2(c)所示。该原理可应用到顺磁、铁磁颗粒上,还可以用于悬浮在磁流体中的非磁性颗粒。该方法预期会在生物颗粒分离上有较为广泛的应用。

### 三、微流控磁分离的器件与制备

微流控磁分离的主要组件包括微流体芯片和磁源。最初发源于微电子机械系统,微流控芯片的制造工艺也大多基于微电子加工技术和半导体工艺。随着微电子科技的发展,微流控芯片在各个制造和工业领域快速发展。常见制造方法有基于模的光刻技术,干法和湿法蚀刻技术和薄膜沉积技术。常用于微流控芯片制造的材料有聚二甲基硅氧烷 (polydimethylsiloxane, PDMS)、SU-8、晶体硅、玻璃、金属和非金属薄膜。PDMS是一种高分子有机硅化合物,通常称之为有机硅。在软光刻技术制造微流控芯片过程中,PDMS具有快速、容易和效率高等优点。另外,PDMS具有光学透明、稳定、在室温PDMS可以转化为固态弹性体等特点被广泛用于微流控芯片的制造。在大学和研究所等机构,PDMS是一种较为常用的软光刻技术材料。软光刻技术是1993年由美国哈佛大学的怀赛德 (Whitesides) 研究小组发展的一种快速低成本工艺。主要利用PDMS材料和具有微观图案的模具来复制微

通道结构。模具可以通过不同的微加工工艺获取,如光刻技术、3D打印、激光加工等。PDMS的复制过程则大体相同。

图3显示了一种利用软光刻技术制造微流控芯片过程。第一步通过传统光刻方法制作SU-8微通道模具。流程包括在硅基板上镀上一层SU-8光刻胶。通道结构光掩膜放置在光刻膜上,在UV-LED光源下进行曝光。受到UV照射后的SU-8膜放置在SU-8冲洗液中冲洗合适的时间,从而得到主模具 (Master Mold)。第二步是进行PDMS复制。配制PDMS溶液,倒在SU-8模具上并进行加热,等PDMS固化了以后,揭开PDMS,并固定在干净的玻璃上。这样一个新的微流控芯片就制造完成。

在微流控芯片磁分离中的常见磁源有永久磁铁、电磁铁和软铁磁微结构。钕铁硼(NdFeB)永久磁铁是最方便、最常用的磁源。永久磁铁具有价格低廉、无焦耳热效应、产生的磁场强等特点。把永久磁铁放置在微通道附近可以产生0.5~1 T的磁场和几百 T/m 磁场梯度。因此,不需要外部电源和设置就能获得想达到的磁场力。如图4(a)所示,厘米级大小的永久磁铁可以直接放到微流控外面进行颗粒分离。另外,采用先进的微加工技术,高磁场梯度的微磁铁可以放置到离微通道很近的位置整合到微流控芯片中。电磁铁包括微型电磁铁是实现磁场及其梯度第二个选择。导电线圈通电后就

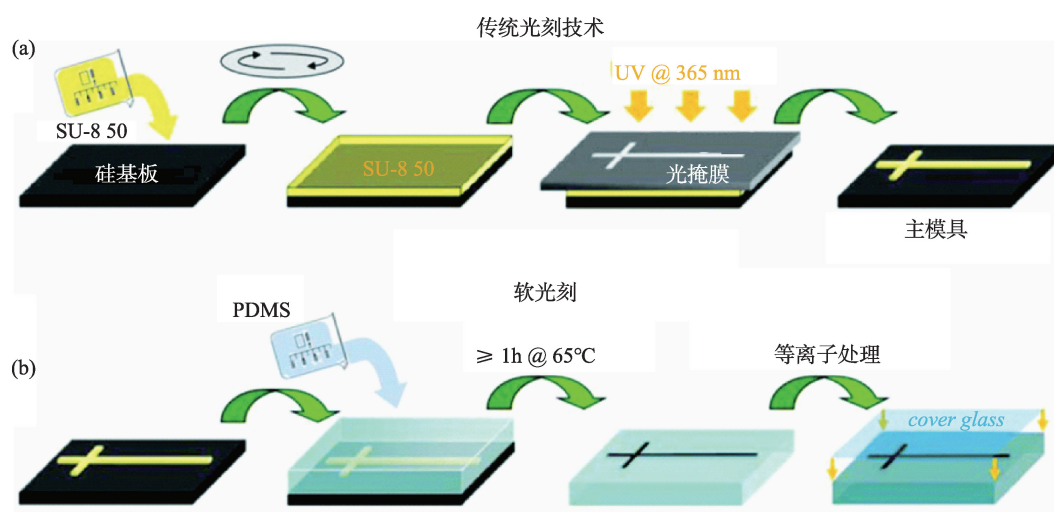


图3 软光刻技术(a)通过传统光刻技术(Photolithography)制作SU-8主模具;(b)利用软光刻(Soft lithography)制作PDMS微流控芯片

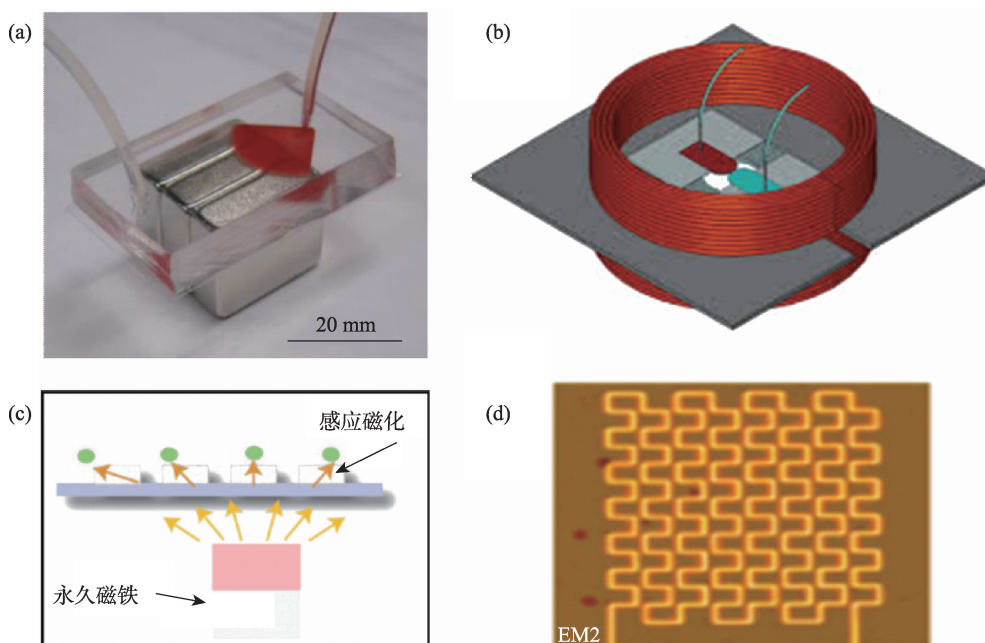


图4 常用磁源(a)厘米级大小的永久磁铁;(b)电线圈磁铁;(c)微尺度软磁结构;(d)微尺度电磁线

能产生磁场及其梯度,如图4(b)所示。电磁铁的优点是可以很容易的控制其开关;磁场强度大小可以通过改变电流大小来控制。另外,电磁铁也可以通过微加工技术整合微通道内,如图4(d)所示。微尺度电线能够产生较大的磁场梯度,且靠近颗粒,因此能够在局部进行颗粒的精准操控。电磁铁需要额外的电源,这样会产生焦耳热。如果热量过大,则不太适合大多数生物的应用。即使电磁铁能产生很高的磁场梯度,其产生的磁场强度却很小,通常比永久磁铁要小100倍左右。另外,设计和制造电磁铁的过程很复杂。第三种实现磁场梯度的方法是通过在微流控芯片上整合软磁铁微结构。在外在大尺度磁场的作用下,软磁结构将会改变其附近的磁场从而产生非均匀磁场。这种方法的优点是可以通过控制外部磁场可以容易的控制微通道附近的磁场和梯度。另外,微结构可以产生较大的磁场梯度,从而产生较大的作用在颗粒/细胞上磁场力。

#### 四、微流控磁分离的应用

生物细胞通常需要分离出来进行进一步的分析处理,一种好的分离方法既能有效的分离又能保

持生物细胞的活性。近年来,微流控磁分离技术以其生物相容性比较好,不会破坏细胞活力而成为一个热门的研究课题。

可以应用磁场方法分离的细胞可以分为两类。第一类是具有磁性属性的细胞,比如红细胞、趋磁细菌,如图5(a),(b)所示。哺乳动物体内大约45%的血液是由红细胞、白细胞和血小板等细胞组成。剩余的55%是液体介质,称之为血浆。红细胞传输氧气,白细胞抵御疾病,血小板促进凝血,而血浆是实现这些功能的基础。分离血液中的细胞并分析可以用于一些疾病,如肿瘤、HIV、疟疾的诊断。熟知血液细胞的属性有助于分离设备的设计。红细胞中的脱氧血红蛋白使其具有顺磁性,而其他血液细胞是抗磁体,因此磁分离技术不需要在其表面标记磁性颗粒就能从血液中分离出红细胞。一些研究者已经发展出利用微流控芯片进行血液细胞的磁分离技术。富拉尼(Furlani)等人提出了一种无标记的方法,利用微型装置和磁场力实现了血浆中的红细胞和白细胞分类筛选,并建立了预测血液细胞传输和分离的数学模型。在另外两个独立的研究中,徐(Seo)等人提出了一种利用流体动

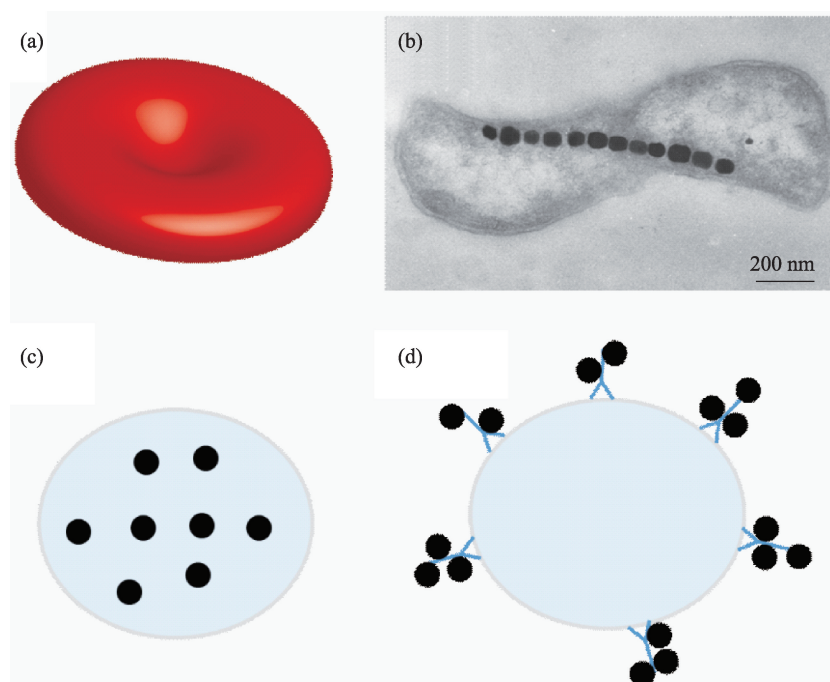


图5 细胞类型示意图(a)红细胞;(b)趋磁细菌;(c)体内含有磁性纳米颗粒的细胞;(d)通过受体-配体作用依附了磁性纳米或微米颗粒的细胞

力学和磁泳分离红细胞和白细胞的混合方法。实验结果表明分离效率可以通过控制磁场力的大小来进行控制。韩(Han)和弗雷泽(Frazier)报道了应用连续流动磁泳分离方法在微流控芯片中实现了血液中红细胞和白细胞的分离。分析模型、数值模拟和实验结果表明这种方法可以用于实际应用。在他们另一个研究中,对比了抗磁性和顺磁性捕捉模型,结果表明这两种方法都可以实现高浓度全血样品中白细胞的提取。趋磁细菌是第二种磁性细胞,如图5(b)所示。趋磁细菌能感应地磁场的磁感线并随着磁感线而定向移动,这种现象被称为趋磁性。这些细菌体内有一种叫磁小体的细胞器来储存磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 晶体。近年来,研究人员还提出并探索了利用趋磁细菌来实现靶向药物输送的全新应用。费尔富(Felfoul)和马特尔(Martel)等人提出了一种趋磁细菌导航与聚集技术,这种技术可以实现靶向药物传输到肿瘤中而不需要了解血管网络的具体构造。相同的课题组,提出了利用趋磁细菌——海洋磁球菌MC-1菌株的趋磁趋氧移动行为,实现了载药纳米脂质体传输到肿瘤中缺氧区。传

统治疗方法通常无法实现肿瘤中缺氧区的治疗,利用MC-1趋磁细菌可以实现靶向治疗。大约55%依附了大约70个载药纳米脂质体的MC-1细菌进入了HCT116结直肠癌缺氧区,这种方法可以显著提高了肿瘤缺氧区各种纳米载体的治疗指标。

第二类细胞是没有磁性的普通细胞,一般需要通过吞噬纳米或微米颗粒或者通过配体-受体相互作用在表面依附上纳米或微米颗粒实现磁性,如图5(c),(d)所示。大部分文献主要应用磁场把肿瘤细胞或细菌分离出血清或血液。血液中的循环肿瘤细胞的出现是肿瘤或者转移瘤的信号。循环肿瘤细胞的扩散会导致人体其他器官中肿瘤的形成。因此,提取循环肿瘤细胞是诊断和发现靶向药物的重要步骤之一。为了利用磁场方法分离循环肿瘤细胞,通常在其表面标记上磁性颗粒是很必要的。普劳夫(Plouffe)等人设计了微流控装置对悬浮液中肿瘤细胞进行了分离,并直接从全血中提取了高纯度肿瘤细胞。这种装置可以从血液中提取造血干细胞和内皮祖细胞。这个装置是一个可以高纯度、高效率、快速分类筛选、实际可行的平台。星野

(Hoshino) 等人测试在微流体装置中对标记了磁性纳米颗粒的肿瘤细胞进行磁分离的方法。该装置对结肠癌细胞 COLO205 有 90% 的提取率,对乳腺癌细胞 SKBR3 有 86% 的提取率。韩(Han) 等人报道了一种非标记的方法。在磁泳分离器的连续顺磁性捕捉模式下,用 0.2T 的外部永久磁铁,首先从外周细胞分离了红细胞,余下的细胞通过电阻抗图谱设备进行检测。血液样品中大约 94.8% 的乳腺癌细胞成功的分离和检测到。

另一种应用磁场分离的微生物是细菌、病毒和寄生虫。大肠杆菌是一种革兰氏阴性的细菌,致病性大肠杆菌会导致很严重的疾病,甚至会导致死亡,并且具有极高的感染性。四种具有致病性的菌种是肠致病型、肠侵入型、产肠毒素型和肠出血型大肠杆菌。磁隔离大肠杆菌需要在其表面标记上磁性颗粒。基于负磁泳效应,朱(Zhu) 等人设计了可以分离大肠杆菌和酵母细胞的微流控装置。这种装置可达到  $10^7$  个细胞每小时的产出量,分离效率接近 100%。亚辛(Yassine) 等人发展了一种磁场微流控芯片,通过在大肠杆菌上标记超顺磁颗粒可以实现对其诱捕和隔离。软铁磁体结构被用于微通道中对标记细胞分离。疟疾是一种会感染人畜的全球性寄生虫传染病,全球每年大约有两亿人感染疟疾,一百万多人死于疟疾。至今任然没有有效预防疟疾的疫苗,因此治疗和预防疟疾的研究在全世界得到了广泛的展开。而疟原虫是感染疟疾的主要元凶,疟原虫吞噬红细胞中的血红蛋白并产生不溶于水的晶体状副产品——疟原虫色素。包含疟原虫色素的感染红细胞具有顺磁性的特征,因此可以利用电泳对其进行分离。南(Nam) 等人提出了一种无标记分离感染了疟原虫的红细胞的方法。这种方法不仅能分离感染晚期的红细胞,而且还能分离感染初期的红细胞。总体分离效率大约 99.2%,对感染晚期的红细胞有 98.3% 的恢复率,感染初期的红细胞有 73% 的恢复率。

磁分离技术在医学诊断上也有广泛的应用。在医学诊断中,检测细胞具有某种特殊的表现型具有巨大的挑战性,检测技术必须有效的隔离靶向细

胞同时消除非靶向细胞的影响。当前存在的大部分技术都需要很专业的知识、高费用和多步骤操作。实现这项技术的自动化、小型化和实用化是微流控芯片实验室(Lab-on-a-chip)的主要目标。格林(Glynn) 等人提出了利用离心磁泳法的一体化、双力细胞分离策略分离 HIV/AIDS 相关抗原决定簇(CD4)出全血的方法。具有 HIV/AIDS 表形型标记的目标细胞和顺磁性微米颗粒一起培养,在旋转过程中,所有细胞沉淀物进入一个与同向旋转磁铁相对的微腔室中,没被标记的细胞顺着径向矢量方向移动,而被标记的细胞被磁铁吸引到指定的微腔室中。这种方法的分离效率可达到 92%。周(Zhou) 等人报道了一种基于磁泳测定检测 DNA 的快速、敏锐的方法。通过磁性微米颗粒、靶向 DNA 和纳米金颗粒直接杂交培养可以获得微米颗粒-DNA-纳米金颗粒的三明治结构。含有 DNA 和纳米金团簇组成的微米颗粒的颜色可以通过肉眼观察区分。把样品放置在磁铁上两分钟,样品出现分层底层的含有微米颗粒的溶液可以很容易的与上层纳米金颗粒区分开来。通过类似的方法,金(Kim) 等人开发了一种检测标记蛋白 CFP-10 抗原的完全集成的即时诊断系统,其中 CFP-10 是来自结核分枝杆菌的 10kDa 分泌的抗原。金等人利用磁性微米颗粒、结核分支杆菌和纳米金颗粒的三明治结构开发了基于塑料芯片的磁泳免疫测定系统。该测定系统能有效的检测是否感染肺结核,同时该方法能区分结核分枝杆菌和非典型结核分枝杆菌,这对临床诊断及治疗具有重大的指导意义。

## 五、总结与展望

结合磁场和微流控技术,为微流控环境中的微颗粒分离开辟了一个新的思路。磁场微流控芯片有尺寸小,操控精准等特点。近年来,实现用颗粒的形状进行分离是微流控磁分离的重要发展里程碑。磁场微流控芯片有望成为生物、医疗诊断、药物输送等领域的重要工具。将来的集成化、高通量可连续操作化,会进一步提高应用的效率。