

## Microfluidic Pool Structure for Cell Docking and Solution Mixing<sup>\*</sup>

YANG Jun<sup>\*</sup>, ZHANG Li-guo, HOU Wen-sheng, ZHENG Xiao-lin,  
LIU Xiang-shao, ZHAI Sheng-jie, HOU Chang-jun  
(Bioengineering College of Chongqing University, Chongqing 400044, China)

**Abstract:** A microfluidic pool structure for cell docking and solution mixing is described. It is defined as a micro-chamber connected with two or more separated microchannels on another structural layer. Different from the turbulent flow in a naturally macroscopic pool, laminar streams enter and exit this microfluidic pool structure with definite and controllable orientation. The flow profile within this pool structure is sensitive to its geometry and location. Thus, the microfluidic pool structure can be used to realize a simpler flow-controlling method by changing its geometry and location. This method is of more advantages than traditional microfluidic control method such as valve and pressure. It is of some important application. For example, controllable streams within this structure can be used to immobilize biological cells at desired location. Rapid diffusion of analyte occurs between parallel streams within pool structure for short diffusion distance.

**Key words:** pool structure; microfluidic; cell docking

**EEACC:** 7230L; TP212.3

## 用于细胞固定及溶液混合的微水池结构<sup>\*</sup>

杨 军<sup>\*</sup>, 张丽果, 侯文生, 郑小林, 刘向绍, 翟盛杰, 侯长军

(重庆大学生物工程学院, 重庆 400044)

**摘要:** 一种用于细胞固定和溶液稀释的微流控水池结构是多层微流控芯片装置其中一层上的一个小的腔室, 覆盖相对结合的另一层基底上的两条或者多条微通道。与通常的宏观流动不同, 在微芯片内部的流动呈层流状态, 具有确定并可控制的方向。在这个微水池结构中的流动分布对水池结构和位置的变化很敏感。通过改变水池的形状或者位置就可以实现简单的流动控制。它比传统的流动控制方法, 如微阀或者压力控制, 更加简单, 因此具有广泛的用途。例如, 通过控制液体在水池中的流向可以固定细胞到特定的位置, 也可以通过不同结构层之间的快速扩散来实现快速的溶液混合。

**关键词:** 微水池; 微流控; 细胞固定

**中图分类号:** Q632; TP212.3

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1004-1699(2008)03-0377-04

本文介绍了一种微流控水池结构, 利用微流条件下的层流特性来控制流体运动, 从而实现细胞固定, 溶液混合及样品稀释等。层流是一种重要的流动状态, 它最主要的特征是雷诺数 (Reynolds number,  $Re$ ) 很小。雷诺数是一个描述流体运动状态的无量纲参数, 它表示惯性力与粘性力的比值。通常认为, 雷诺数小于 2 000 的流动是层流, 大于 2 000

的则是紊流<sup>[1]</sup>。在典型的微流环境中的流动都可以被认为是层流。与紊流不同的是, 几股层流可以并排流动而不混合, 物质交换是通过分子在邻近的层流间扩散来完成的。这种流动特性在微流控研究领域得到了广泛的应用, 如基于扩散的物质分离, 检测以及产生浓度梯度<sup>[2]</sup>。

层流的另一个重要特征是它的流线是规则的,

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目 (30500120, 30770568, 30770569); 国家 863 计划资助项目 (2006AA04Z343, 2006AA04Z349); 重庆市科委重点项目资助 (CSTC2006BA5005)

**收稿日期:** 2007-09-30 **修改日期:** 2008-01-04

方向确定而且可以控制<sup>[3]</sup>。作为分子偏离其在流层的主要原因,布朗(Brown)运动在高速或者大颗粒(如细胞)悬浮液往往可以忽略。在这种情况下,层流可以用来控制流动方向,实现特定的流体分布,表面处理甚至加工<sup>[4]</sup>。这些操作方法很简单,也不需要特殊的设备,在芯片加工,细胞研究和药物筛选方面都有潜在的应用前景。

目前,压力控制方法,如液体压力,电动控制力是主要的流体运动方向的控制方法。通常,它们是对这个流动系统进行控制,而且需要的控制源比较多。某些控制方法,如电动力控制会对实验或者检测带来干扰。一些微结构,如微阀也被用来实现局部的流体运动方向的控制<sup>[5]</sup>。但是,这些微结构非常精细,难于加工,也很容易造成微流动系统的堵塞。最近,Whitesides等人通过改变流动通道的形状来实现流动方向的控制<sup>[6]</sup>。通过改变弹性橡胶微流换向装置来改变液流在通道中的位置,实现流体控制。本文中,我们在此方法的基础上有所改进,通过改变一个微型水池结构来实现流体控制。该方法只需要改变一个小的微水池的形状而不是这个流动网络就可以得到想要的流动方向。利用该方法还实现了细胞固定和样品的混合。我们同样采用聚二甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane, PDMS)材料来加工芯片,可以用外加压力实时改变微水池结构的几何尺寸,从而影响通道中的流动状况。在与流路设计想结合,完全可以实现更加精确的流动控制。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料和试剂

10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的溴乙啶用来观察流动情况,在实验前先需要进行过滤。人的早幼粒白血病细胞株 HL 60 用来进行细胞固定实验。

### 1.2 微流控芯片装置

根据实验目的的不同,芯片结构有少许差异。所有的芯片都由两层 PDMS 胶块结合而成。在上层基底上有 3 条平行的微通道,在下层基底上有一个微水池结构,两层基底结合在一起,微通道和微水池结构面对面结合,液体可以在两种微结构间流动(图 1)。在图中,液体进出芯片和流动方向由入口和出口来表示。其中,芯片 I 只有一个入口和一个出口,用来研究细胞的固定(图 1C)。而芯片 II 有三个入口和一个出口,不但可以用来固定不同种类的细胞,还用于溶液稀释实验(图 1D)。芯片上所有的微通道都是 20 mm 长  $\times$  100  $\mu\text{m}$  宽  $\times$  16  $\mu\text{m}$  深。而入口和出口的直径是 3 mm。

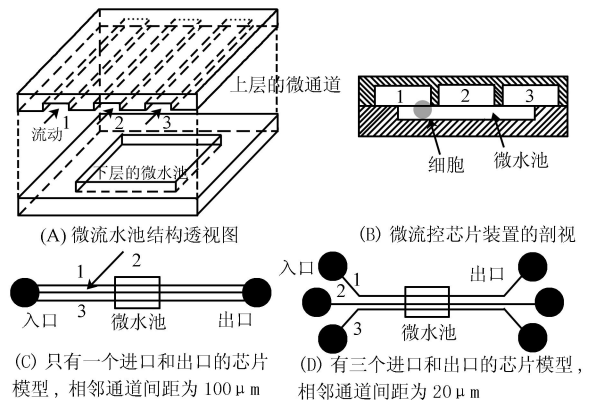


图 1 微流水池结构

### 1.3 芯片加工

本文中芯片的加工采用常见的复制模塑方法:先用电路板加工方法刻制一个凸的母板,然后让 PDMS 在母板上浇注复制成型。用打孔器在入口和出口处打孔,然后把两片 PDMS 胶块上有微结构的一侧用氧等离子处理后贴在一起。

### 1.4 实验方法

在入口处加入 10  $\mu\text{L}$  实验溶液,在毛细作用下迅速充满整个微流动网络。实验时使各入口与出口的压力差保持为 40 Pa。在细胞固定实验中,细胞用 Fluo3-AM 做荧光标记。随后,细胞溶液被滴加到入口,在液压的驱动下向出口方向流动。在微通道和微水池结构的接触区域,由于微水池的深度小于细胞的直径,液体可以从通过微水池结构流入旁边的微通道,细胞却会被挡在通道壁的上方。通过激光共聚焦显微镜来观测固定的细胞。

在溶液稀释实验中,有荧光的溴乙啶溶液从芯片 II 的入口 2 加入,而三蒸水从入口 1 和 3 加入,在压力作用下,不同溶液都从入口流向出口。通过激光共聚焦显微镜检测,可以得到溴乙啶分子在微通道中的扩散情况,而且可以检测其浓度分布。

## 2 结果和讨论

计算流体力学(CFD)方法在微流控研究领域得到了广泛的应用<sup>[7]</sup>。这里,我们采用 CFD 软件包 FLUENT 来实现微芯片中流动的仿真,仿真模型采用图 1 所示的微结构。其中,压力边界条件是入口压力 40 Pa,出口压力为 0。收敛条件是  $x, y, z$  方向的速度,连续性和样品浓度的残差都小于  $10^{-8}$ 。在模型的网格划分中,整个模型大约被分为  $2 \times 10^6$  个节点,其中最小的网格尺寸小于 1  $\mu\text{m}$ ,位于通道和微水池之间狭小的缝隙处,这里速度,压力和浓度梯度都很高。在微流控芯片中,流动被认为是稳态的层流,物质扩散是主要的混合方式。

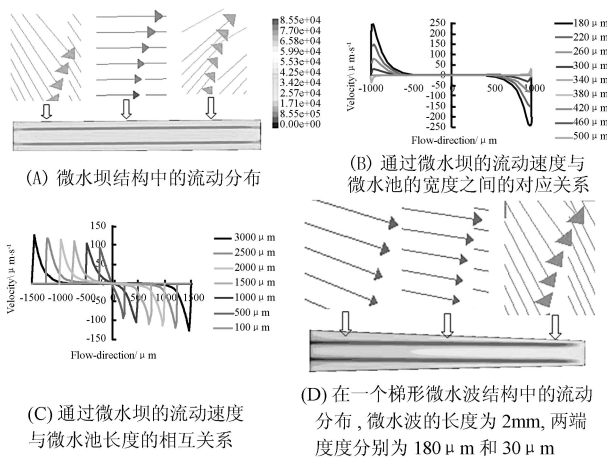


图 2 微水坝结构关系

通常情况下,微水池的中间线和中间那条微通道的中间线重合。当微水池可以与 3 条微通道接触,但其宽度又不足以跨越另一层基底上 3 条并列的微通道时(即宽度小于 3 条通道的宽度加上它们中间的间隔,340 μm),微水池中的流动仿真结果都与图 2A 类似。液流可以从上方直接越过两条通道间的通道壁(我们也称为“微水坝”<sup>[8]</sup>,图 1B)进入邻近的通道中。在微水池内部的流动受该结构的形状及位置的影响。此时,中间的微通道 2 与微水池连接的区域要大于两侧的微通道。由于在相同压力条件下,三条微通道中进入微水池中的流体大体相当,就有流体从两侧通道向中间通道方向流动,也就是有部分液体要翻越“微水坝”结构。显然,越窄的微水池中翻越“微水坝”结构的液体越多,即 y 方向的流动速度越大(图 2B)。在细胞固定中,y 方向流动产生的液体压力是细胞能被压在水坝上的主要原因。当微水池的宽度足够横跨 3 条微通道时,微水池与每个通道的接触面积相同,几乎没有 y 方向的液体流动。即使微水池宽度继续增加,也只是在流动开始的瞬间,有少量流体向外侧流动,填充旁边的狭小腔体。

通过 CFD 仿真,研究了 7 种宽度为 240 μm,长度各不相同的矩形微水池结构中的流动情况(图 2C)。除了特别短的微水池结构,其它的在 y 方向的流动情况都没有太大区别。液体在上游从水池外侧流向中间,而在下游从中间流回外侧通道。两端 y 方向流动速度最大,中间部分几乎没有 y 方向的流动。不同情况下 y 方向流动的最大值也相差不大。如果用于溶液混合,尽管从两侧通道向中间流动的水流量大体相同,但是由于长的水池滞留时间长,混合也更彻底些。如果水池的长度太短,如小于 100 μm,能够从外侧流入中间区域的液体很少,y 方

向的速度也很低,溶液混合也很少。

矩形的微水池结构产生的跨越水坝的流动基本相似,而用其它形状的微水池的流动情况则有所不同。例如,在一个尺寸比较大的矩形结构的微水池中,就只有从侧面流向中间的水流(图 2D)。选用合适的形状,可以实现更精确的流动控制,如沿 y 方向的等速流动,这在细胞固定上有很重要的意义。除了微水池的结构形状,它的位置也对其中的流动情况有影响。例如,沿 y 方向移动位置,就会对其中的流动产生比较大的影响。

如前所述,当微水池可以与 3 条微通道接触,但其宽度又不足以跨越另一层基底上 3 条并列的微通道时,液流在上游从两侧通道向中间流动,在下游正相反。通过改变形状和位置可以对这些流动状况进行调节。在细胞固定实验中,可以利用这些 y 方向的流动来固定细胞。例如,在上述流动条件下,可以在外侧通道的上游和内侧通道的下游固定细胞。在本文所述的这类细胞固定过程中,细胞固定的稳定程度主要依赖于细胞和水坝间的相互作用力,而这些力的大小又是由沿该方向的流动速度来决定的。根据仿真结果,对于矩形的微水坝结构,只有其宽度不足以横跨所有 3 条微通道的微水池才可以用来固定细胞。而且,越窄的水池 y 方向的流动越快,细胞固定越稳定。

在微水池结构中,来自不同微通道的流体并排流动,扩散是这些不同液流间混合的主要方式,它受流动状态和驻留时间的影响,而这些又受流动速度和微水池形状的影响。在实验中,把荧光染料溴乙啶溶液加入微通道 2 中,把水加入微通道 1 和 3 里面。在液压的驱动下,各种流体都从入口向出口方向流动,到达微水池的时候会从上游流入。荧光染料溶液和水并排流动,溴乙啶分子逐渐向邻近的水中扩散。由于微水池和微通道分别在两层基底上,这种分子扩散不但在水平方向的不同液流间进行,同样也在垂直方向的液流间进行。而且,由于垂直方向的扩散距离远远小于水平方向,因此,这种扩散比传统的通过水平方向的扩散混合更快,有利于提高混合效率。

参考文献:

[1] Weigl B H, Yager P. Science[J], 1999, 283: 346-347.  
 [2] Hatch A, Kamholz AE, Hawkins KR, et al. Nat. Biotechnol [J]. 1999, 19: 461-465.  
 [3] Takayama S, Ostuni E, LeDuc P, et al. Nature[J]. 2001, 411: 1016-1016.  
 [4] Kenis PJA, Ismagilov RF, Whitesides GM. Science[J]. 1999,

- 285: 83-85.
- [5] Unger MA, Chou HP, Thorsen T, et al. Science[J]. 2000, 288: 113-116.
- [6] Ismagilov RF, Rosmarin D, Kenis PJA, et al. Anal. Chem [J]. 2001, 73: 4682-4687.
- [7] Dutta D, Leighton DT. Anal. Chem[J]. 2001, 73: 504-513.
- [8] Yang MS, Li CW, Yang J. Anal. Chem[J]. 2002, 74: 3991-4001.



杨 军(1974-),男,博士,现为重庆大学生物工程学院副教授,研究方向为生物传感器、微流控生物芯片、生物微系统, yjun1999@hotmail.com

www.cnki.net