

University of Groningen

New strategies for (biological) particle handling and separation in microfluidic devices

Jellema, Laurens-Jan Cornelis

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2010

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Jellema, L.-J. C. (2010). *New strategies for (biological) particle handling and separation in microfluidic devices*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

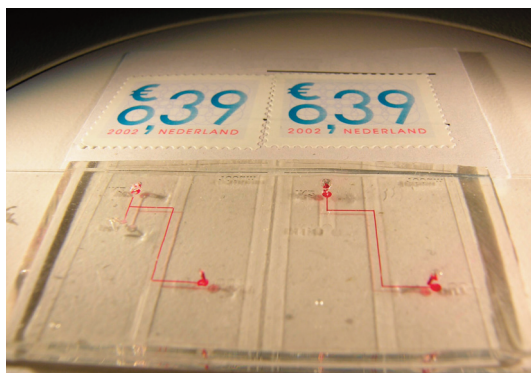
If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Chapter 7

Nederlandse Samenvatting

Het idee van Manz *et al.* om analytische processen te miniaturiseren en processen als monsternamen, reacties, scheidingen en detectie te integreren in één platform heeft geleid tot de term: miniaturized Total Analysis Systems (μ TAS).¹ Binnen deze nieuwe tak van chemie, ook wel microfluidica of lab-on-a-chip genoemd, worden netwerken van kleine kanalen gemaakt waarin kleine hoeveelheden vloeistoffen verschillende analytische handelingen kunnen ondergaan. Deze chips zijn vaak nog kleiner dan een postzegel, zoals te zien is in figuur 1.



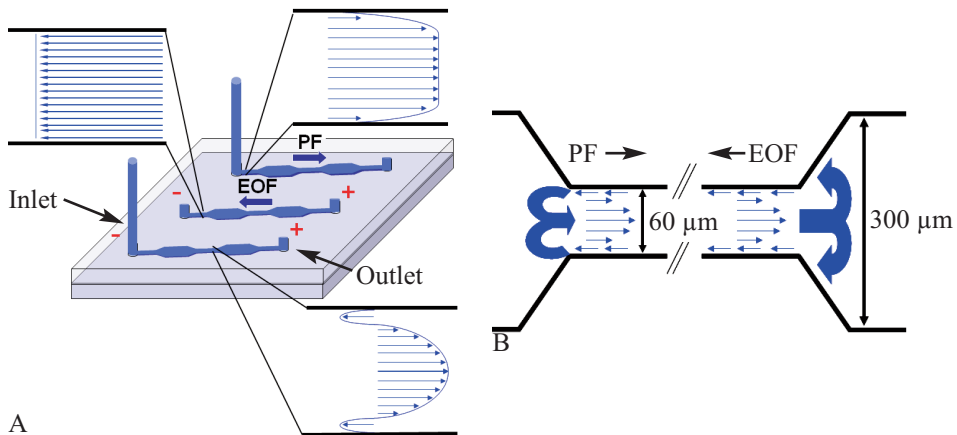
Figuur 1. Voorbeeld van twee microfluïde kanalen gemaakt in het laboratorium van Farmaceutische Analyse in Groningen. De kanalen zijn gevuld met rode kleurstof en zijn $100\ \mu\text{m}$ breed en hoog. Chip design: H.J. van der Linden, foto: L.C. Jellema

Microfluidica is door Whitesides dan ook omschreven als “de wetenschap en technologie van systemen die zich bezig houden met het manipuleren van kleine (nano- tot attoliters) hoeveelheden vloeistof in kanalen met dimensies van enkele honderden micrometers.”² Deze kanalen met de grootte van een menselijke haar, worden gebruikt om experimenten uit te voeren met kleine hoeveelheden vloeistof. Vele interessante monsters in het laboratorium bevatten deeltjes die moeten worden gescheiden van de vloeistof of van elkaar voordat verdere analyse van de deeltjes kan plaatsvinden. De ontwikkeling van nieuwe technieken om deze handelingen uit te voeren is in volle vaart. In dit proefschrift wordt een nieuwe manier voor het scheiden van micrometer grote deeltjes beschreven in zo’n microkanaal.

In **hoofdstuk 2** worden verschillende technieken binnen de microfluidica besproken die vandaag de dag worden gebruikt voor het scheiden van deeltjes. Deze technieken maken gebruik van de unieke eigenschappen van de lab-on-a-chip technologie, namelijk dat de vloeistofstromen laminair zijn en daardoor via een voorspelbare route door een kanaal stromen. De besproken mechanismen zijn gebaseerd op de effecten

van de vloeistofstromen in het kanaal. Hierbij valt te denken aan hydrodynamische chromatografie waarbij in een lang kanaal deeltjes op grootte worden gescheiden doordat ze een verschillende gemiddelde snelheid krijgen. Andere mechanismen zijn gebaseerd op de stroming van de vloeistof door een speciaal ontworpen kanaal. Zo kunnen deeltjes niet tussen twee pilaren door, die minder dan de diameter van het deeltje van elkaar staan, zoals bekend van het filteren. Ook kunnen pilaren in het kanaal speciale stroomlijnen in een kanaal creëren of secundaire vloeistofstromen induceren waarmee deeltjes kunnen worden gescheiden van elkaar. Als deeltjes gevoelig zijn voor een externe kracht kunnen ze daarmee beïnvloed worden. Zo kunnen bijvoorbeeld verschillende soorten magnetisch gevoelige deeltjes van elkaar gescheiden worden in een microkanaal door een magnetisch veld aan te brengen. Voor alle besproken technieken is tevens gekeken naar de toepassing van de technieken op biologisch deeltjes zoals bloedcellen of DNA.

In een microkanaal kunnen op verschillende manieren vloeistofstromen worden opgewekt. In dit onderzoek zijn twee verschillende manieren gebruikt, namelijk de druk gedreven (PF) en de electro-osmotische vloeistof (EOF) stromen. Deze twee vloeistofstromen zijn weergegeven in Figuur 2. De PF ontstaat door een hoogte verschil tussen de kolommen op de ingang en uitgang van het kanaal. De EOF ontstaat doordat de vloeistof in het kanaal de kanaalwand deprotoneerd en er een tegenlading in de buurt komt. Als er een elektrische potentiaal wordt aangebracht over het kanaal be-

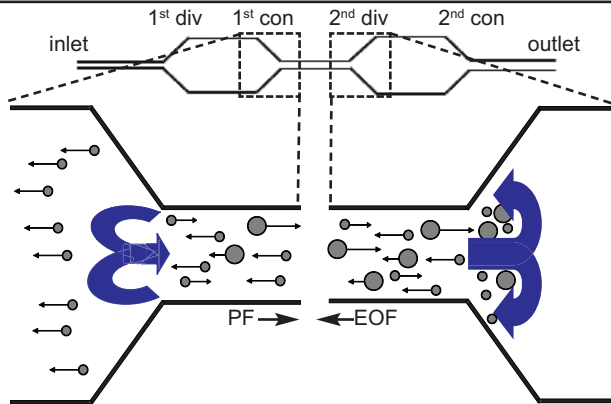


Figuur 2. (A) Schematische weergave van de verschillende gebruikte vloeistof stromen in de kanalen. Van boven naar onder de PF, EOF en “bidirectional flow” (B) Schematisch weergave van de recirculerende vloeistof stroom in een kanaal met veranderende geometrie.

gint deze lading te verplaatsen, die de rest van de vloeistof in het kanaal mee sleept, dit wordt de electro-osmotische vloeistof stroming genoemd. Als in een microkanaal de PF en EOF tegen elkaar in worden gegenereerd, ontstaat er een stroming in twee richtingen, “bi-directional flow”. Aan de wand is de EOF dominant terwijl in het centrum van het kanaal de PF domineert. Wanneer deze “bi-directional flow” wordt gegenereerd in een kanaal met divergerende en convergerende geometrie (non-uniform) kan de stroming recirculerend worden. Dit hydrodynamische effect gecombineerd met de elektrokinetische eigenschappen van de deeltjes resulteert in het vangen van de deeltjes in het kanaal dat aan beide uiteinden breder wordt (“trapping” kanaal). Dit is als eerste beschreven door Lettieri *et al.* en gebruikt voor het uitvoeren van een model immunoassay.³ Het vangen van de geladen deeltjes in de recirculerende stroming gebeurt onder condities waar de gemiddelde netto snelheid van de deeltjes nul benadert. Dit fenomeen is door ons “flow induced electrokinetic trapping” (FIET) genoemd. Het is belangrijk om te beseffen dat het vangen van de deeltjes afhankelijk is van de lading van de deeltjes (die mobiliteit van de deeltjes bepaalt).

In **hoofdstuk 3** is beschreven, hoe door middel van FIET, deeltjes met dezelfde grootte gescheiden kunnen worden op basis van ladingsverschillen. Het hoofdstuk omschrijft de theoretische aspecten van de verschillende mechanismen die betrokken zijn bij FIET. In het kanaal met non-uniforme geometrie, “trapping kanaal”, kan één soort deeltjes gevangen worden met het FIET systeem. Deeltjes met een hogere of lagere lading zullen respectievelijk met de PF of EOF worden meegevoerd. De scheiding is uitgevoerd met deeltjes van 3 μm diameter en ladingsverschillen van 25-40 mV. Om meer inzicht in het scheidingsprincipe te krijgen is de scheiding ook uitgevoerd in een recht kanaal met “bidirectional flow”. De mogelijkheid om deeltjes te vangen is dan niet beschikbaar. De resultaten van de scheidingsexperimenten in de verschillende kanaalvormen zijn met elkaar vergeleken. Vanuit de resultaten en theorie bleek dat het vangen van deeltjes mogelijk is als de elektrokinetische en PF snelheden die de deeltjes krijgen gelijk, maar tegengesteld van richting zijn in het divergerende deel van het kanaal.

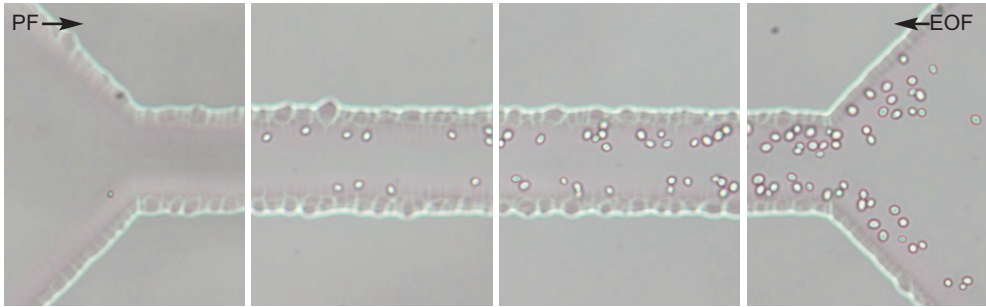
Als deeltjes dezelfde lading hebben, zal het elektrokinetische effect van FIET op de deeltjes gelijk zijn. Echter, het hydrodynamische effect van FIET kan dan worden gebruikt om deeltjes te scheiden op basis van grootte in plaats van lading, dit is beschreven in **hoofdstuk 4**. De gevangen deeltjes recirculeren in het “trapping kanaal”



Figuur 3. Bovenaan de weergave van de gebruikte kanaal geometrie, hierbij zijn de termen in- en outlet gedefinieerd aan de hand van de stromingsrichting van de PF (div staat voor divergerend en con voor convergerend). Onder de schematische weergave van het scheidingsprincipe op basis van grootte. De pijlen zijn de vectoren van de netto drift snelheid van de deeltjes. Grote deeltjes blijven gevangen in het “trapping” kanaal en kleine deeltjes worden in de richting van de EOF getransporteerd.

en krijgen een netto drift snelheid in de richting van de PF. Als door een verandering in de PF of het elektrisch veld, het teken van de netto drift snelheid verandert, kunnen deeltjes ontsnappen uit het “trapping” kanaal in de richting van de EOF, zie ook figuur 3. Aangezien grote deeltjes een hogere netto drift snelheid krijgen, zullen kleine deeltjes eerder een verandering van teken hebben en dus met de EOF worden meegevoerd. Een monster met deeltjes van 2.33 en 2.82 μm diameter is gescheiden op basis van dit principe, waarbij de grote deeltjes gevangen bleven. Dit kon gedaan worden met een analytische resolutie vergelijkbaar met “baseline separation” in chromatografie. Deze manier van scheiden lijkt op hydrodynamische chromatografie, echter met FIET kan de scheiding uitgevoerd worden in een 3-mm-lang in plaats van een 80-mm-lang kanaal. Tevens is het systeem afstelbaar (tunable) doordat het elektrisch veld gemakkelijk kan worden aangepast. Daarom hebben we deze manier van scheiden “tunable hydrodynamic chromatography” genoemd.

Hoofdstuk 5 gaat in op de toepassing van FIET voor het vangen van biologische deeltjes. Dit is een eerste stap richting de ontwikkeling van FIET voor medische en biologische toepassingen. Drie verschillende soorten biologische deeltjes zijn gevangen. Allereerst zijn gistcellen (*Saccharomyces Cerevisiae*) gevangen. Gistcellen zijn interessant omdat ze bijvoorbeeld gemodificeerd kunnen worden en dan kunnen fungeren als detector in assays. De proof-of-principle experimenten laten zien dat



Figuur 4. Frames van de video waarin gist cellen zijn gevangen in het “trapping” kanaal. De PF is gegenereerd door 4 mbar hydrostatische druk, er is een potentiaal van 200 volt aangelegd over het kanaal. De gist cellen zijn tussen de 2 en 8 μm in diameter.

scheiding op grootte ook hier mogelijk zou moeten zijn.

Tevens laten we zien dat ook één van de meest geanalyseerde monsters met deeltjes, namelijk bloed, gevangen kan worden door middel van FIET. Het preliminair werk laat zien dat rode bloed cellen worden uitgelijnd op het moment dat ze door FIET het “trapping” kanaal weer worden ingebracht. Hierbij is de langste as van rode bloedcel parallel met de stroming.

Als laatste is een onderzoek van Lettieri *et al.* herhaald waarbij DNA strengen zijn gevangen in het “trapping” kanaal.⁴ Hierbij zijn twee verschillende soorten DNA gebruikt, namelijk het 48.000 baseparen (48 kbp) lange λ -DNA en het 168 kbp lange T4-GT7 DNA. Hierbij is het effect van de concentratie en het elektrisch veld onderzocht bij het vangen van de DNA strengen en het ontstaan van clusters DNA in de recirculerende vloeistofstroming.

Er kan worden geconcludeerd dat biologische deeltjes zich niet gedragen als perfect ronde deeltjes zoals gebruikt in het onderzoek naar de scheiding op lading (**hoofdstuk 3**) en grootte (**hoofdstuk 4**). De verschillende biologische deeltjes werden bij verschillende elektrische velden gevangen met FIET, mits de PF gelijk was tussen de verschillende experimenten. Op basis van deze resultaten zou het mogelijk moeten zijn om FIET systemen te ontwikkelen waarin cellen worden gevangen en gelyseerd waarna DNA extractie wordt uitgevoerd om tot een μTAS te komen.

Zowel voor de scheiding op lading, als voor de scheiding op grote is het belangrijk om te bestuderen welke aspecten de selectiviteit, efficiëntie en resolutie beïnvloeden.

Voor de ontwikkeling van toepassingen waarin biologische monsters worden gebruikt is het van belang om de invloeden van de gebruikte vloeistoffen en het elektrisch veld op te bekijken. Daarnaast moet er meer onderzoek worden gedaan hoe deze niet perfect ronde biologische deeltjes zich gedragen in de vloeistof stromen in dit systeem. **Hoofdstuk 6** beschrijft een aantal ideeën voor verder onderzoek, gebaseerd op de resultaten uit de eerdere hoofdstukken.

References

1. A. Manz, N. Graber and H. M. Widmer, *Sens. Act, B*, 1990, 1, 244-248.
2. G. M. Whitesides, *Nature*, 2006, 442, 368-373.
3. G. L. Lettieri, A. Dodge, G. Boer, N. F. De Rooij and E. M. J. Verpoorte, *Lab Chip*, 2003, 3, 34-39.
4. G. L. Lettieri, L. Ceriotti, N. F. De Rooij and E. Verpoorte, in *Micro Total Analysis Systems 2003*, eds. M. A. Northrup, K. F. Jensen and D. J. Harrison, Transducers Research Foundation Inc., Squaw Valley, California, USA, 2003, pp. 737-740.

