



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ  
ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΝΑΝΟΕΠΙΣΤΗΜΗΣ & ΝΑΝΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ  
Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. 'ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ'



*ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ*  
*«ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΝΑΝΟΔΙΑΤΑΞΕΙΣ»*

*ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ*

*«Μαθηματική προτυποποίηση και προσομοίωση  
μικρορευστονικής διάταξης διαχωρισμού  
σπανίων κυττάρων με τη βοήθεια  
αλληλεπίδρασης κυττάρων-τοιχωμάτων»*

**ΣΑΒΡΑΝΑΚΗΣ ΜΑΡΙΟΣ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΚΟΚΚΟΡΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ**

ΑΘΗΝΑ 2021



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο **Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης & Νανοτεχνολογίας** του **Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. "Δημόκριτος"**, στα πλαίσια του διατμηματικού μεταπτυχιακού προγράμματος "**Μικροσυστήματα και Νανοδιατάξεις**" της Σχολής **Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Θετικών Επιστημών** του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Για την υλοποίηση της συγκεκριμένης εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλους εκείνους τους ανθρώπους που συνέβαλλαν καθοριστικά τόσο με τις γνώσεις τους όσο και με την στήριξη τους.

Πρωτίστως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. **Γεώργιο Κόκκορη**, συνεργαζόμενο ερευνητή του Ινστιτούτου Νανοεπιστήμης και Νανοτεχνολογίας του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. "Δημόκριτος", ο οποίος είχε την επίβλεψη της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας, καθώς και για την καθοριστική βοήθεια του, την καθοδήγηση του αλλά και τις γνώσεις του. Ένα μεγάλο ευχαριστώ στην κα. **Τσερέπη**, Διευθύντρια ερευνών στο Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης και Νανοτεχνολογίας του ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος και στον κ. **Μαθιουλάκη**, καθηγητή στη Σχολή Μηχανολόγων Μηχανικών του ΕΜΠ, ως μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής. Εν συνεχεία, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον διευθυντή του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών «Μικροσυστήματα και Νανοδιατάξεις» και καθηγητή κ. **Ιωάννη Ράπη**, της σχολής Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, για την απόφαση του να λάβω παράταση για την ολοκλήρωση των σπουδών μου.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την **μητέρα** μου για την ανατροφή και το ήθος που μου έδωσε, καθώς και για την στήριξη της καθόλη την διάρκεια της φοίτησης μου στο μεταπτυχιακό. Επιπλέον, θέλω να ευχαριστήσω τον **αδερφό** μου, ο οποίος αποτέλεσε και αποτελεί τον άνθρωπο που με την συμπαράσταση του και την εμπιστοσύνη του βρίσκεται πάντα στο πλευρό μου. Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω όλους αυτούς που βρίσκονται εκεί ψηλά και για όσο διάστημα είχα την τύχη να τους έχω στην ζωή μου, μου μετέδωσαν τις αρχές τους επιδρώντας θετικά σε πολλές πτυχές της ζωής μου.

*Σας ευχαριστώ όλους πολύ!*



# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ</b> .....	3
<b>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ</b> .....	5
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b> .....	7
<b>ABSTRACT</b> .....	8
<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	9
1.1 Μικρορευστονικές διατάξεις και εργαστήρια σε ψηφίδα.....	11
1.2 Σπάνια κύτταρα .....	13
1.3 Μέθοδοι διαχωρισμού .....	14
1.3.1 Μέθοδοι χωρίς επισήμανση .....	15
1.3.2 Μέθοδοι με επισήμανση.....	20
1.3.3 Αξιολόγηση μεθόδων διαχωρισμού.....	22
1.4 Διάταξη με ανάγλυφο ψαροκόκαλου .....	23
1.5 Σκοπός της εργασίας.....	25
<b>2. ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ</b> .....	27
2.1 Εισαγωγή.....	29
2.2 Διάταξη προσομοίωσης ροής.....	29
2.3 Περιγραφή του πεδίου ροής .....	31
2.4 Τροχιές σωματιδίων .....	31
2.5 Πιθανότητα προσκόλλησης σωματιδίου στα τοιχώματα.....	32
2.6 Η εξίσωση Eikonal .....	33
2.7 Μεθοδολογία .....	35
<b>3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b> .....	37
3.1 Αποτελέσματα για το πεδίο ροής - Ανεξαρτησία της λύσης από το υπολογιστικό πλέγμα .....	39
3.2 Απεικόνιση ροϊκών γραμμών διάταξης .....	43
3.3 Υπολογισμός της απόστασης από τα τοιχώματα του καναλιού – ανεξαρτησία της λύσης από το υπολογιστικό πλέγμα.....	44
3.4 Πλήθος σωματιδίων για ανεξάρτητη από το πλήθος λύση .....	45
3.5 Επίδραση της ακτίνας των σωματιδίων στην προσκόλληση τους στα τοιχώματα του καναλιού 49	
3.6 Μελέτη επίδρασης ύψους κύριου καναλιού στο ποσοστό προσκόλλησης των σωματιδίων....	50
3.7 Χαρτογράφηση συμπεριφοράς σωματιδίων στην είσοδο της δομικής μονάδας για διαφορετικές ακτίνες σωματιδίων. ....	52

<b>4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b> .....	55
<b>5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b> .....	60
<b>6. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ</b> .....	66
<i>6.1 Μελέτη προσκόλλησης σωματιδίων στα τοιχώματα της διάταξης για πιθανότητα προσκόλλησης 50%, 70% και 100%</i> .....	68

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο διαχωρισμός και η ανάλυση των σπανίων κυττάρων έχει προκαλέσει το ερευνητικό ενδιαφέρον, λόγω της ισχυρής τους διαγνωστικής και προγνωστικής αξίας. Πιο συγκεκριμένα, η χρήση τους ως βιοδείκτες για την ύπαρξη καρκινικών μεταστάσεων, καθώς και για την ανίχνευση μολυσμένων κυττάρων στο κυκλοφορικό σύστημα από ιό, όπως ο HIV, είναι μόνο μερικές από τις εφαρμογές τους, που συνηγορούν στην αναγκαιότητα εύρεσης μεθόδων για το διαχωρισμό τους και στη συνέχεια την ανάλυση τους. Διάφορες τέτοιες μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί από τους επιστήμονες για την απομόνωση και ανάλυση σπανίων κυττάρων. Κάποιες εκμεταλλεύονται τα φυσικά χαρακτηριστικά ή τις ηλεκτροχημικές ιδιότητες των σπάνιων κυττάρων και άλλες κάνουν χρήση φυσικών ή τεχνητών αντισωμάτων που τοποθετούνται στα εσωτερικά τοιχώματα των διατάξεων διαχωρισμού.

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η υπολογιστική ανάλυση διαχωρισμού σπανίων κυττάρων με ανοσοχημική μέθοδο (με χρήση αντισωμάτων) σε διάταξη με ανάγλυφο γεωμετρίας ψαροκόκαλου. Η χαοτική συναγωγή που προκαλείται από την ύπαρξη του ανάγλυφου αυξάνει την αλληλεπίδραση των κυττάρων με τα ενεργοποιημένα τοιχώματα της διάταξης. Η διάταξη με ανάγλυφο ψαροκόκαλου που μελετήθηκε, αποτελείται από μία δομική μονάδα, η οποία περιλαμβάνει 2 διαδοχικές σειρές με ανάγλυφα αυλάκια ψαροκόκαλου, ενώ οι σειρές ήταν ανεστραμμένες ως προς το κέντρο τους. Οι πλευρές των αυλακίων ήταν κατασκευασμένες με ένα παράγοντα ασυμμετρίας. Τα κύτταρα προσεγγίστηκαν ως σωματίδια αμελητέας μάζας. Επιλύθηκαν η εξίσωση της συνέχειας και οι εξισώσεις Navier-Stokes και υπολογίστηκαν οι τροχιές των σωματιδίων. Επιπλέον, επιλύθηκε και η εξίσωση Eikonal για την εύρεση της απόστασης από τα τοιχώματα της διάταξης. Για την επικόλληση των σωματιδίων στα τοιχώματα της διάταξης, έγινε η υπόθεση ότι όταν ένα σωματίδιο απέχει απόσταση από ένα τοίχωμα μικρότερη από την ακτίνα του, τότε αυτό κολλάει στο τοίχωμα.

Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική αλληλεπίδραση των σωματιδίων με το κάτω τοίχωμα της διάταξης (που περιέχει το ανάγλυφο ψαροκόκαλου), παρουσιάζοντας το μεγαλύτερο ποσοστό προσκόλλησης. Παρατηρήθηκε επίσης μείωση στο ποσοστό προσκόλλησης των σωματιδίων καθώς μειώνονται οι ακτίνες των σωματιδίων αλλά και καθώς αυξάνεται το ύψος του κύριου καναλιού. Τέλος, σύμφωνα με τα αποτελέσματα χρειάστηκαν 5 δομικές μονάδες (κανάλι με μήκος 10 mm), ώστε να επιτευχθεί προσκόλληση > 90% των εισερχόμενων σωματιδίων.

## ABSTRACT

Rare cells separation and analysis has received increasing research interest, due to their important diagnostic and prognostic value. Their use as cancer metastasis biomarkers, as well as detectors for virus infected cells presented in the circulatory system, such as HIV, are only some of their applications depicting the constant need to find the proper separation and analysis method. Several such methods have been developed by scientists for separating and analysing rare cells. Some of them exploit physical characteristics or electrochemical properties of rare cells and others make use of physical or artificial antibodies which are placed on the internal walls of microfluidic devices.

The purpose of this study was the computational analysis of rare cells separation, with the use of an immunochemical method (use of antibodies), in a microfluidic device with herringbone grooves on the bottom. Chaotic advection caused by the herringbone grooves increases the interaction of cells with the activated device walls. The herringbone pattern device is composed by a unit cell containing 2 sequential rows of herringbone grooves, reversed towards their centerline. The sides of herringbone grooves were generated with an asymmetry factor. Cells were approached as particles. Continuity and Navier-Stokes equations were numerically solved, in order to calculate particles trajectories. Moreover, Eikonal equation was solved, in order to calculate the distance between particle trajectories and device walls. A particle was considered as sticking, when its distance from the device walls was less than its radius.

The results showed important interaction of the particles with the bottom wall of the herringbone patterned device (including herringbone grooves), in which the percentage of sticking particles was maximum. In addition, results indicated a decrease in the percentage of sticking particles, while there was a decrease in their radius. Furthermore, as the height of main channel was increased, a drop in the percentage of sticking particles was found. Finally, it was determined that 5-unit cells (a channel with length of 10 mm), could result to a sticking particle percentage of more than 90%.



# **1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ**



## 1.1 Μικρορρευστονικές διατάξεις και εργαστήρια σε ψηφίδα

Τα τελευταία χρόνια η ολοένα και αυξανόμενη ανάπτυξη της επιστήμης της μικρορρευστονικής, έχει προσφέρει πλήθος εφαρμογών σε διάφορους τομείς με την φαρμακευτική, την ιατρική, την βιολογία και την τεχνολογία τροφίμων να είναι μόνο μερικοί στους οποίους έχει συμβάλλει σημαντικά. Ως επιστήμη, η μικρορρευστονική στοχεύει στην ανάπτυξη διατάξεων για την μελέτη των ιδιοτήτων και της συμπεριφοράς των ρευστών σε επίπεδο μικροκλίμακας.

Η κατασκευή τέτοιων μικρορρευστονικών διατάξεων, δηλαδή διατάξεων οι οποίες αποτελούνται από μικροκανάλια, επιτρέπει την εξέταση των ιδιοτήτων και της συμπεριφοράς των ρευστών, υγρών ή αερίων, απαιτώντας πολύ μικρές ποσότητες (από μικρόλιτρα ως και πικόλιτρα) [1]. Τυπικά, τέτοιες διατάξεις μπορούν να έχουν μέγεθος μερικά χιλιοστά μέχρι μερικά νανόμετρα και μπορούν να πραγματοποιήσουν πολλαπλές εργαστηριακές διεργασίες. Τέτοιες διεργασίες μπορεί να αφορούν το διαχωρισμό ρευστών ανάλογα με τις φυσικοχημικές ιδιότητες τους, την ανάμειξη διαλυμάτων ή ακόμη και την διεξαγωγή κάποιων χημικών αντιδράσεων.

Ο συνδυασμός μικρορρευστονικών διατάξεων συνθέτει ένα μικροεργαστήριο σε ψηφίδα (Lab-on-a-Chip, LoC), το οποίο βρίσκει εφαρμογή στο μοριακό και βιοχημικό τομέα, με παραδείγματα όπως η αλληλούχιση του DNA ή η ανίχνευση των μεταβολικών διεργασιών ενός οργανισμού για μία δεδομένη συνθήκη. Το μικροεργαστήριο σε ψηφίδα είναι ένα σύνολο διαφόρων μικρορρευστονικών διατάξεων κατάλληλα διευθετημένων σε μια ψηφίδα (chip), ώστε να λαμβάνει χώρα μία ολοκληρωμένη βιοχημική ανάλυση, όπως ακριβώς θα πραγματοποιούταν και σε ένα ερευνητικό εργαστήριο. Ωστόσο, για να πραγματοποιηθεί μια ολοκληρωμένη ανάλυση, δεν αρκεί μονάχα η ύπαρξη μικροκαναλιών, αλλά απαιτείται και η προσθήκη μικροαντλιών, ηλεκτροδίων, μικροβαλβίδων και διαφόρων ηλεκτρονικών κυκλωμάτων.

Οι ερευνητικές προσπάθειες για την ανάπτυξη και κατασκευή των μικροεργαστηρίων σε ψηφίδα που πραγματοποιούνται τα τελευταία χρόνια εντείνονται, καθώς αυτά παρουσιάζουν αρκετά πλεονεκτήματα [2] σε σχέση με τις συμβατικές διεργασίες που εκτελούνται σε ένα εργαστήριο. Αρχικά, το μικρό μέγεθος ενός LoC σε σχέση με ένα συμβατικό εργαστήριο πέραν του ότι είναι οικονομικότερο ως προς την κατασκευή [3] και συντήρηση, απαιτεί και λιγότερες ποσότητες δείγματος και αντιδραστηρίων. Οι λιγότερες ποσότητες που χρησιμοποιούνται στις

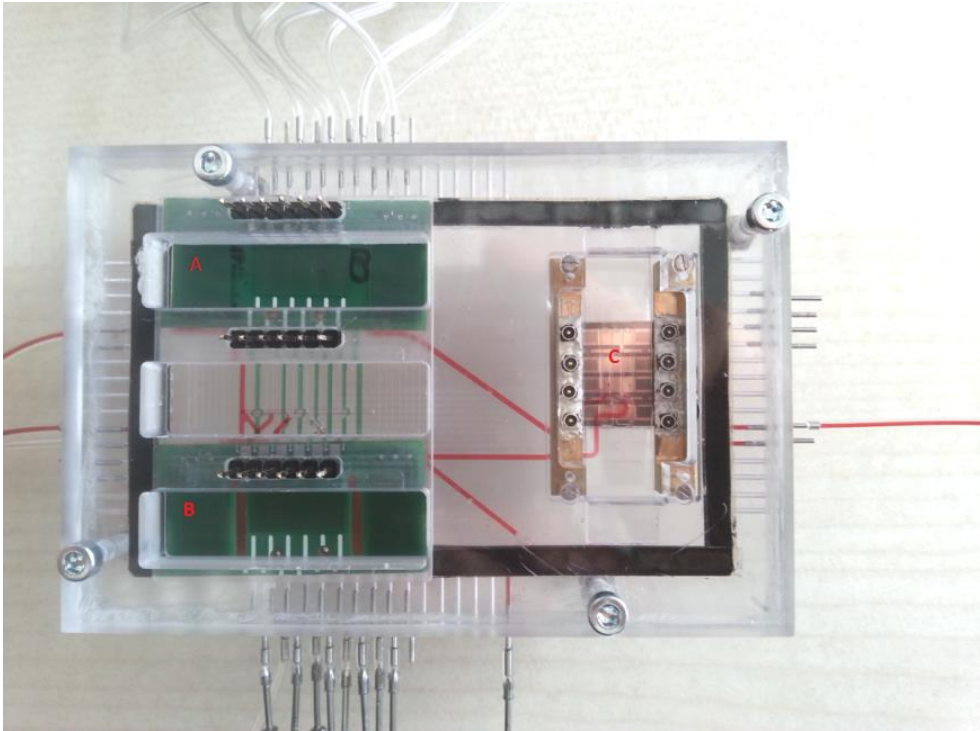
αναλυτικές διαδικασίες, έχουν σαν αποτέλεσμα, να πραγματοποιούνται οι αντιδράσεις γρηγορότερα, καθώς σε μικροκλίμακα η διάχυση των αντιδραστηρίων ολοκληρώνεται ταχύτερα και οποιαδήποτε αλλαγή συνθηκών, όπως η πίεση και η θερμοκρασία, έχει άμεσο αντίκτυπο στις αντιδράσεις. Επιπλέον, λόγω του ότι η ψηφίδα είναι μια συμπαγής και πολύπλοκη δομή και λόγω του πολύ μικρού μεγέθους των μικροκαναλιών, καθίσταται δυνατή η διεξαγωγή περισσότερων αναλυτικών διαδικασιών. Τέλος, λόγω του ότι τα LoC αποτελούν ένα αυτοματοποιημένο σύστημα διεξαγωγής αναλύσεων, ελαχιστοποιείται και ο παράγοντας του ανθρώπινου λάθους και γίνεται δυνατή η ευρεία χρήση του ακόμα και από μη εξειδικευμένο προσωπικό, όπως το μικροεργαστήριο σε ψηφίδα από χαρτί [4], που χρησιμοποιείται για την διάγνωση της ελονοσίας σε περιοχή της Ουγκάντας.

Όμως, παρά τα πολλά πλεονεκτήματα τους, τα μικροεργαστήρια σε ψηφίδα έχουν και κάποια μειονεκτήματα, τα οποία καθιστούν δύσκολη ως τώρα την παραγωγή τους σε βιομηχανική κλίμακα και την εκτεταμένη χρήση τους. Πρώτον, οι κατασκευαστικές δυσκολίες που υπάρχουν λόγω της μικροκλίμακας και η ακρίβεια η οποία περιορίζεται από τα εργαλεία [5], καθιστούν αδύνατη την μαζική παραγωγή και επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων. Δεύτερον, τα μικροεργαστήρια σε ψηφίδα είναι σχετικά καινούργια στον τομέα της έρευνας και χρειάζονται επιπλέον αποτελέσματα από συμβατικά εργαστήρια, τα οποία να επιβεβαιώνουν τα ευρήματα των LoC. Τέλος, λόγω της μεταφοράς των αναλύσεων σε μικροκλίμακα, παρατηρείται το φαινόμενο της ύπαρξης θορύβου, προκαλώντας αλλοίωση των αποτελεσμάτων.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα ενός μικροεργαστηρίου σε ψηφίδα, το οποίο μπορεί να αντικαταστήσει τα υπάρχοντα εργαστήρια είναι το LoC LOVEFOOD<sup>1</sup>, όπως φαίνεται και στο σχήμα 1. Το LOVEFOOD αποτελεί μια γρήγορη και αξιόπιστη λύση αξιολόγησης της διαδικασίας παστερίωσης του γάλακτος. Σκοπός του είναι η ανίχνευση παθογόνων μικροοργανισμών και βακτηρίων, σε δείγματα γάλακτος πριν διατεθούν στα καταστήματα. Η σημασία της χρήσης ενός τέτοιου συστήματος και οι διαφορές του με τα υπάρχοντα εργαστήρια, έγκειται στην ταχύτητα ανάλυσης των δειγμάτων, με το LOVEFOOD να μειώνει σημαντικά τον χρόνο αυτό. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα, να μειώνεται αρκετά ο χρόνος παράδοσης του γάλακτος στους καταναλωτές.

---

<sup>1</sup> Πρόκειται για μικροεργαστήριο σε ψηφίδα που αναπτύχθηκε κατά τη διάρκεια του έργου LOVEFOOD (<https://inn.demokritos.gr/lovefood-fp7-project/>)



**Σχήμα 1:** Διάταξη της εφαρμογής LOVEFOOD. (A), (B) Περιοχές διαχωρισμού και εφαρμογής PCR, (C) ηλεκτρονικός αισθητήρας.

Το παραπάνω μικροεργαστήριο σε ψηφίδα αποτελείται από 4 βασικά τμήματα. Το πρώτο μέρος, όπου διαχωρίζονται οι παθογόνοι μικροοργανισμοί και τα βακτήρια από το υπόλοιπο δείγμα, το δεύτερο μέρος όπου γίνεται η λύση τους και η εξαγωγή του γενετικού τους υλικού (DNA), το τρίτο μέρος όπου γίνεται η ενίσχυση του DNA με την μέθοδο PCR και τέλος ο ηλεκτρονικός αισθητήρας που το αντιλαμβάνεται.

## 1.2 Σπάνια κύτταρα

Ως **σπάνια κύτταρα**, ορίζονται τα κύτταρα τα οποία βρίσκονται σε αφθονία **μικρότερη των 1000** σε δείγμα ενός **χιλιοστόλιτρου** [6]. Η πρώτη παρατήρηση τους έγινε το 1869, από τον παθολόγο Thomas Ashworth, όταν παρατήρησε σε αίμα ασθενούς με καρκίνο, κάποια ασυνήθιστα κύτταρα τα οποία έμοιαζαν περισσότερο με καρκινικά κύτταρα του σώματος του ασθενούς, παρά με κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος. Ο Ashworth υπέθεσε, πως τα σπάνια αυτά κύτταρα πιθανότατα προέρχονται από τους δημιουργηθέντες όγκους, γεγονός το οποίο θα εξηγούσε την ύπαρξη του μεγάλου αριθμού όγκων στο σώμα του ασθενούς [7]. Από τότε ως και σήμερα, σπάνια κύτταρα σε δείγματα αίματος θεωρούνται τα **κυκλοφορούντα**

**καρκινικά κύτταρα (CTCs) [8], τα κυκλοφορούντα εμβρυϊκά κύτταρα [9], τα αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα [10] και τα κύτταρα που έχουν μολυνθεί από ιό ή παράσιτα [11].**

Η μελέτη των σπάνιων κυττάρων είναι μια πολύ σημαντική διαδικασία, κυρίως λόγω της υψηλής διαγνωστικής και προγνωστικής αξίας τους. Πιο συγκεκριμένα, μερικά παραδείγματα δείχνουν ότι μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο εργαλείο για την ανίχνευση μεταστάσεων καρκινικών κυττάρων, όπως στο στήθος [12] ή στο μυελό των οστών [13], την παρακολούθηση ατόμων που έχουν αναρρώσει από καρκίνο για τυχόν υποτροπιασμό και την ανίχνευση μολυσμένων κυττάρων από ιό στο κυκλοφορικό σύστημα, όπως ο HIV [14].

Ωστόσο, λόγω του ότι τα σπάνια κύτταρα σε ένα δείγμα αίματος βρίσκονται σε μικρούς αριθμούς και λόγω του ότι αποτελούν ένα πολύ μικρό ποσοστό σε σχέση με τα υπόλοιπα κύτταρα, είναι αναγκαίο να απομονωθούν, να αναγνωριστούν και μετέπειτα να αναλυθούν. Για αυτόν το λόγο, έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι διαχωρισμού, οι οποίες αναλύονται εκτενώς στη συνέχεια.

### *1.3 Μέθοδοι διαχωρισμού*

Ο διαχωρισμός και η απομόνωση των σπανίων κυττάρων ενός υπό μελέτη δείγματος, συνιστά μία περίπλοκη διαδικασία αφού εξαρτάται από ένα πλήθος διαφόρων παραγόντων. Για την επιλογή της κατάλληλης μεθόδου διαχωρισμού λαμβάνονται υπόψη όχι μόνο τα φυσικά χαρακτηριστικά των κυττάρων όπως μέγεθος, ηλεκτροχημικές ιδιότητες και δυνατότητα παραμόρφωσης αλλά και οι νόμοι που διέπουν την κίνηση τους μέσα σε μία μικρορευστονική διάταξη. Οι μέθοδοι διαχωρισμού χωρίζονται σε αυτές **με επισήμανση** (label methods) και σε μεθόδους **χωρίς επισήμανση** (label-free methods). Σε αντίθεση με την μέθοδο χωρίς επισήμανση, η μέθοδος **με επισήμανση** χρησιμοποιεί εξωτερικούς παράγοντες, αντισώματα ή παραμαγνητικά σφαιρίδια, με τα οποία επικαλύπτονται οι διατάξεις αναφοράς, ώστε να είναι δυνατόν να προσκολλώνται επάνω σε αυτές, τα προς μελέτη κύτταρα. Μερικές από τις σημαντικότερες μεθόδους χωρίς επισήμανση είναι η **υδροδυναμική, η ντετερμινιστική πλευρική μετατόπιση** και η **διηλεκτροφορική**, ενώ μέθοδοι με επισήμανση είναι η **ανοσοχημική** και η **μαγνητοφορική** [15]. Επίσης, μπορούν να χωριστούν σε **παθητικές** και **ενεργητικές** μεθόδους. Οι **παθητικές μέθοδοι** στηρίζονται στα φυσικά

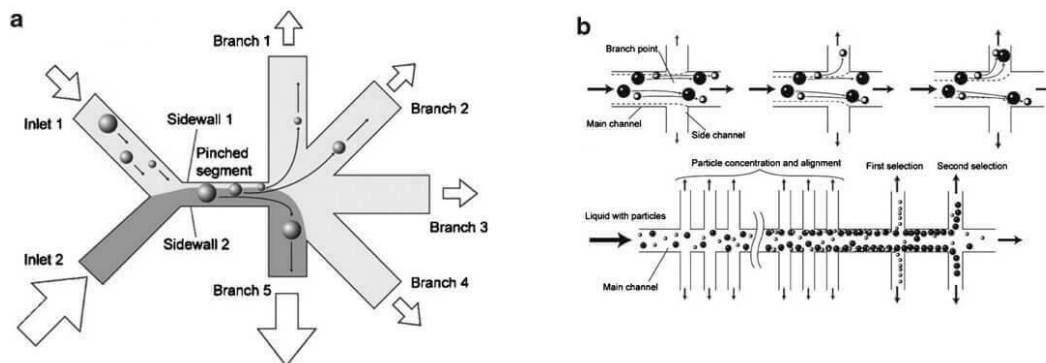
χαρακτηριστικά των κυττάρων όπως μέγεθος, ακτίνα, πυκνότητα, παραμορφωσιμότητα, ελαστικότητα[16,17] και δεν απαιτούν καμία εξωτερική χημική, ηλεκτρική ή μαγνητική επέμβαση για τον διαχωρισμό[18,19]. Ο διαχωρισμός των κυττάρων εκμεταλλεύεται τις διαφορετικές μικροδομές στις διατάξεις, παρέχοντας έτσι το πλεονέκτημα του μικρού χρόνου προετοιμασίας των δειγμάτων και της υψηλής βιωσιμότητας των κυττάρων. Αντίθετα, οι **ενεργητικές μέθοδοι**, οι οποίες χαρακτηρίζονται από υψηλή ακρίβεια, στηρίζονται σε χαρακτηριστικά των κυττάρων όπως την ικανότητα συμπίεσης, την πόλωση και την μαγνητική ευαισθησία[20], ενώ χρησιμοποιούν εξωτερικούς παράγοντες (ηλεκτρικό-μαγνητικό πεδίο, χρήση ακουστικών κυμάτων) για τον διαχωρισμό των κυττάρων.

### 1.3.1 Μέθοδοι χωρίς επισήμανση

#### Υδροδυναμική μέθοδος

Η **υδροδυναμική** μέθοδος απομόνωσης των σπανίων κυττάρων, είναι η μέθοδος που υποθέτει ότι για κίνηση ρευστού με χαμηλούς αριθμούς Reynolds, τα σωματίδια ακολουθούν τις ροϊκές γραμμές. Πιο συγκεκριμένα, η ροή είναι ικανό μέσο διαχωρισμού των σωματιδίων με διαφορετικό μέγεθος αφού με την χρήση μίας ή περισσοτέρων εισόδων του ρευστού, κατάλληλης γεωμετρίας αλλά και κατάλληλης τοποθέτησης των εξόδων του, μπορεί να ελέγξει την κίνηση τους και επομένως τον διαχωρισμό τους. Τέτοιες τοπογραφίες στις μικρορευστονικές διατάξεις πρότειναν οι Yamada et al. [21], όπως φαίνεται στο Σχήμα 2.

Η παραπάνω μέθοδος δεν παρουσιάζει κανέναν περιορισμό, όσον αφορά την ποσότητα του δείγματος προς μελέτη. Ωστόσο δεν υπάρχει ακόμη εμπορική ανάπτυξη.

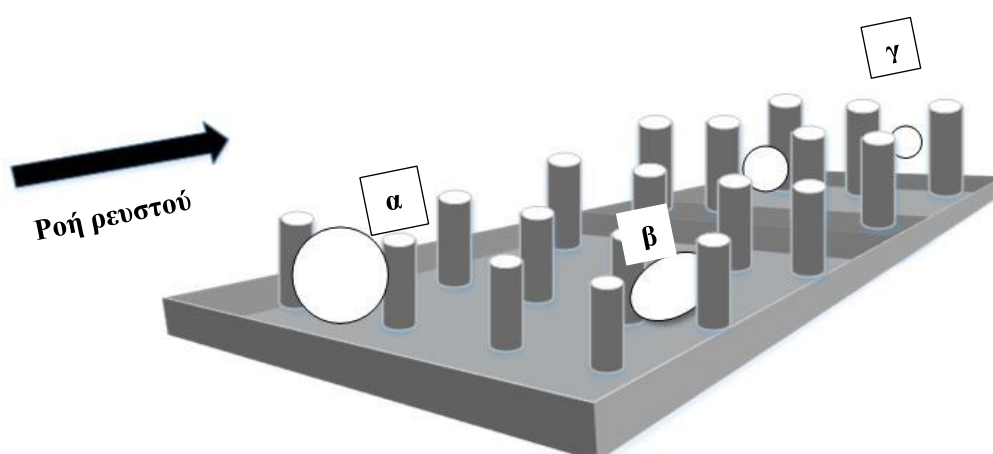


**Σχήμα 2:** α) Διάταξη υδροδυναμικής μεθόδου με 2 εισόδους. β) Διάταξη υδροδυναμικής μεθόδου με πολλαπλές εξόδους.[21]

## Μέθοδος διήθησης

Η διήθηση ή διαχωρισμός μέσω φίλτρων, ως μέθοδος στηρίζεται στα φυσικά χαρακτηριστικά των κυττάρων και πιο συγκεκριμένα στο μέγεθος και την παραμόρφωση. Για την τεχνική αυτή κατασκευάζονται μικρορευστονικές διατάξεις, όπως φαίνεται στο Σχήμα 3 που περιέχουν μικροκολώνες, φράγματα ή πορώδεις μεμβράνες [22], οι οποίες επιτρέπουν την διέλευση μόνο εκείνων των κυττάρων που έχουν το κατάλληλο μέγεθος ή την ικανότητα παραμόρφωσης. Συνήθως διαχωρίζονται τα μεγαλύτερης διαμέτρου κύτταρα από τα μικρότερα, μέσω του κενού μεταξύ των δομών. Από την άλλη πλευρά, τα κύτταρα που έχουν μεγαλύτερο μέγεθος ή δυσκολία στην παραμόρφωση τους κολλάνε και δεν συνεχίζουν μέχρι την έξοδο της διάταξης.

Κύρια πλεονεκτήματα αυτής της τεχνικής είναι ότι η δομή τους είναι απλή, καθιστώντας την ως μια οικονομική τεχνική και εύκολη στην κατασκευή της. Ωστόσο, αν και παρουσιάζει αρκετά μεγάλη απόδοση, κύρια μειονεκτήματα της είναι ότι σταδιακά, ορισμένα κύτταρα κολλάνε στους πόρους της μεμβράνης ή στις μικροκολώνες, με αποτέλεσμα την μείωση της καθαρότητας και την αλλοίωση των αποτελεσμάτων. Αυτό, οδηγεί συχνά και σε καταστροφή των κυττάρων, αφού όταν συμπιεστούν, αλλοιώνεται η δομή τους, με αποτέλεσμα να οδηγείται σε απόφραξη η διάταξη. Τέλος, η κατασκευή αυτών των μικροδομών (μικροκολώνες, φράγματα ή πορώδεις μεμβράνες) επάνω στην μικρορευστονική διάταξη, αποτελεί από μόνη της μία διαδικασία που απαιτεί μεγάλη ακρίβεια, γεγονός αποτρεπτικό για μαζική παραγωγή.



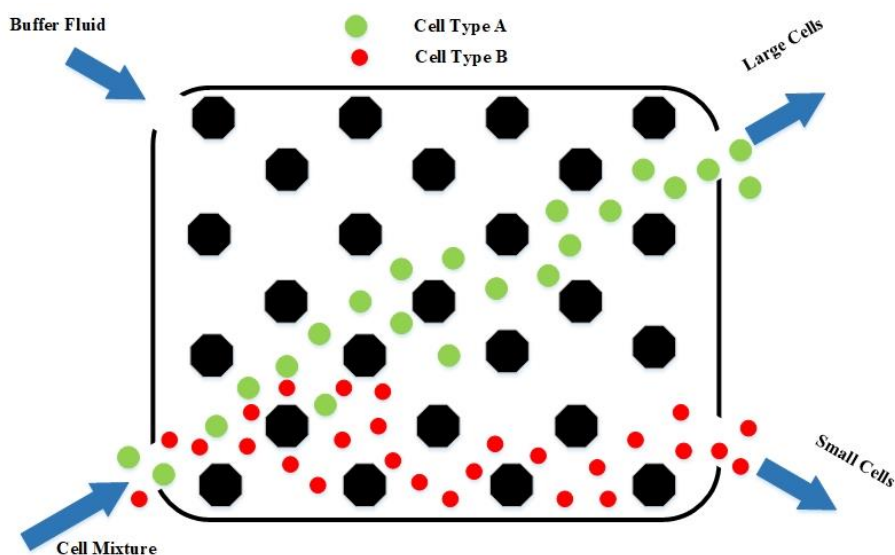
**Σχήμα 3:** Σχηματική απεικόνιση μίας διάταξης διαχωρισμού με χρήση της τεχνικής διήθησης. Διακρίνονται 3 περιπτώσεις κατάστασης των κυττάρων: α) Κύτταρο που δεν μπορεί να περάσει λόγω μεγέθους, β) κύτταρο που συμπιέζεται για να περάσει και γ) κύτταρο που έχει περάσει λόγω του μεγέθους του.



## Ντετερμινιστική πλευρική μετατόπιση

Η ντετερμινιστική πλευρική μετατόπιση είναι και αυτή μία τεχνική διαχωρισμού σπανίων κυττάρων. Διαχωρίζει σπάνια κύτταρα, όπως τα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα από τα κύτταρα του αίματος, ανάλογα το μέγεθος τους και την παραμορφωσιμότητα τους[23]. Πιο συγκεκριμένα, το ρευστό αφού εισαχθεί στην διάταξη, περνά από ένα μοτίβο πλάγια μετατοπισμένων κολόνων ή άλλων δομών όπως φαίνεται στο Σχήμα 4. Με αυτό τον τρόπο, επιτρέπει μόνο στα κύτταρα με την ιδανική υδροδυναμική διάμετρο να ακολουθήσουν την κατεύθυνση των ροϊκών γραμμών, ενώ σε αντίθετη περίπτωση απλά μετατοπίζει τα άλλα κύτταρα παράλληλα[24]. Η παραπάνω τεχνική έχει χρησιμοποιηθεί για διαχωρισμό αιμοπεταλίων, ερυθρών αιμοσφαιρίων και λευκών αιμοσφαιρίων [25,26].

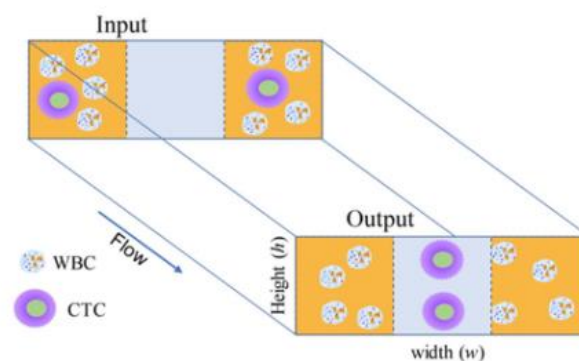
Χαρακτηρίζεται μέθοδος μεγάλης αποδοτικότητας, ενώ ένα κύριο πλεονέκτημα της μεθόδου έναντι άλλων είναι ότι καταφέρνει να διαχωρίζει κύτταρα με διαφορετικά μεγέθη, σε όλη τη διάρκεια της κίνησης του ρευστού μέσα στη διάταξη. Ωστόσο, για να επιτευχθεί υψηλό ποσοστό διαχωρισμού, συνήθως χρειάζεται μεγάλο μήκος καναλιών. Παράλληλα, λόγω της πολύπλοκης δομής δημιουργείται αρκετή αντίσταση, η οποία απαιτεί υψηλή πίεση κατά την είσοδο των σωματιδίων. Τέλος, ένα ακόμη σημαντικό μειονέκτημα είναι ότι η διάταξη οδηγείται σταδιακά σε απόφραξη.



Σχήμα 4: Σχηματική απεικόνιση μίας διάταξης ντετερμινιστικής πλευρικής μετατόπισης.

## Μέθοδος Αδρανειακών δυνάμεων

Η τεχνική της χρήσης **αδρανειακών δυνάμεων** στηρίζεται σε αδρανειακές δυνάμεις που εφαρμόζονται πάνω στα κύτταρα ανάλογα με το μέγεθος τους και τη δυνατότητα παραμορφώσής τους. Η αδρανειακή δύναμη ανύψωσης είναι ικανή να διαχωρίσει διαφορετικά κύτταρα λόγω των διαφορετικών τάσεων που ασκούνται σε αυτά. Μία τέτοια τεχνική, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 5, χρησιμοποίησαν και οι Kulasinghe et al. [27], καταφέροντας να διαχωρίσουν κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα από λευκά αιμοσφαίρια. Σε αντίθεση με τις άλλες τεχνικές, δεν γίνεται επαφή των κυττάρων με τα τοιχώματα και ο διαχωρισμός γίνεται κατά την αιώρηση τους. Παρόλο που δεν επηρεάζεται η λειτουργία του κυττάρου με την χρήση της συγκεκριμένης τεχνικής, παράγοντες όπως η συγκέντρωση των κυττάρων στο δείγμα αλλά και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων, μπορούν να επηρεάσουν τόσο τον διαχωρισμό όσο και την καθαρότητα του αποτελέσματος.

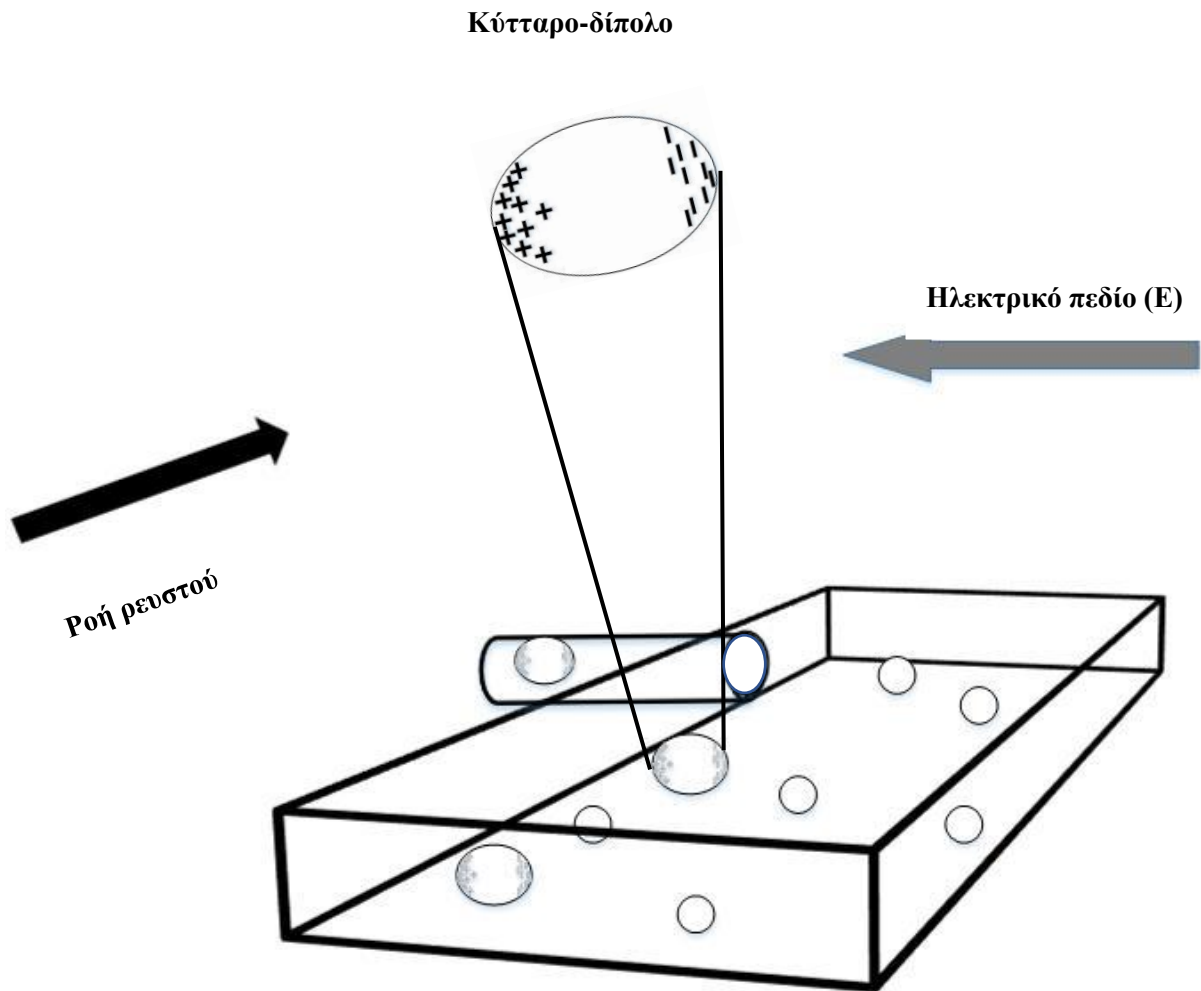


**Σχήμα 5:** Διαχωρισμός κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων από λευκά αιμοσφαίρια με χρήση αδρανειακών δυνάμεων [27]

## Διηλεκτροφορητική μέθοδος

Μία ακόμη μέθοδος χωρίς επισήμανση είναι η **διηλεκτροφορητική**. Η μέθοδος αυτή αξιοποιεί τις διαφορετικές διηλεκτρικές ιδιότητες των κυττάρων, εφαρμόζοντας μη ομοιόμορφα ηλεκτρικά πεδία. Η διηλεκτροφορική επαγωγική δύναμη που δημιουργείται από το πεδίο στο κύτταρο-δίπολο, υπερνικώντας την όποια δύναμη δημιουργείται από την ταχύτητα ροής, καταφέρνει είτε να έλξει είτε να απωθήσει τα κύτταρα στόχους, διαχωρίζοντας έτσι το υπό μελέτη δείγμα, όπως φαίνεται στην Σχήμα 6. Αποτελεί μία μέθοδο μεγάλης ακρίβειας, αφού γνωρίζοντας ότι όλοι οι τύποι κυττάρων έχουν διαφορετικό δυναμικό είναι εύκολο να χρησιμοποιηθεί το κατάλληλο ηλεκτρικό πεδίο για να διαχωρίσει τα κύτταρα-

στόχους. Από την άλλη πλευρά, η μέθοδος αυτή με την χρήση των ηλεκτρικών πεδίων, είναι ικανή να δημιουργήσει προβλήματα στην ορθή λειτουργία του κυττάρου, οδηγώντας ακόμη και στην καταστροφή του.



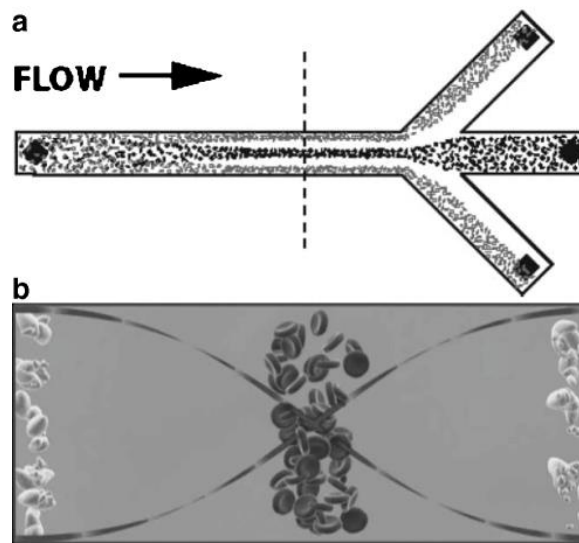
**Σχήμα 6:** Σχηματική απεικόνιση μίας διάταξης με χρήση διηλεκτροφορητικής μεθόδου διαχωρισμού.

### Ακουστικοφορική

Η ακουστικοφορική μέθοδος ανήκει στην κατηγορία των μεθόδων χωρίς επισήμανση και εξαρτάται από τις διαφορές στα χαρακτηριστικά των κυττάρων (σχήμα, παραμορφωσιμότητα) [28]. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην χρήση υπερήχων (ηχητικών κυμάτων) και την εφαρμογή πίεσης, τα οποία σε συνδυασμό με τη δημιουργία μίας μικρορευστονικής διάταξης, η οποία περιλαμβάνει λίγο πριν την έξοδο της ένα σταυροδρόμι καναλιών [29], επιτυγχάνει διαχωρισμό των σωματιδίων του ρευστού, ανάλογα το μέγεθος και την παραμορφωσιμότητα

τους [30]. Τα σωματίδια του ρευστού με την εφαρμογή του στάσιμου ηχητικού κύματος καταλήγουν να παίρνουν θέσεις, ανάλογα με το μέγεθος, είτε στους κόμβους είτε στους αντίκομβους [31].

Παρά την πολυπλοκότητα της, καθώς απαιτείται η ύπαρξη πολλών ηλεκτρονικών αισθητήρων, η μέθοδος αυτή είναι μια γρήγορη και ακριβής μέθοδος διαχωρισμού σπανίων κυττάρων. Σημαντικό πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι δεν αλλοιώνει την φυσιολογική λειτουργία και έκφραση των κυττάρων, συμβάλλοντας έτσι στην απομόνωση και επιβίωση των σπανίων κυττάρων, όπως τα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα [32,33].

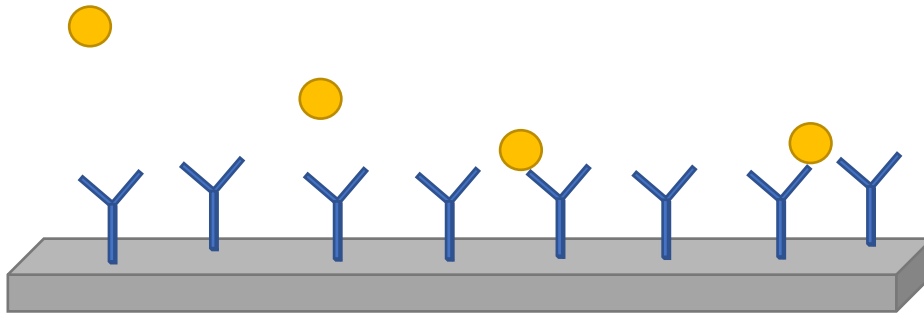


Σχήμα 7: Διάταξη διαχωρισμού με την χρήση της ακουστικοφορικής μεθόδου[31]

### 1.3.2 Μέθοδοι με επισήμανση

#### Ανοσοχημική μέθοδος

Η **ανοσοχημική μέθοδος** είναι μία μέθοδος διαχωρισμού σπάνιων κυττάρων με επισήμανση. Στηρίζεται στην επικάλυψη κατάλληλων αντισωμάτων στις επιφάνειες των μικροδιατάξεων, ώστε να έλκουν και τελικά να συγκρατούν τα υπό μελέτη κύτταρα. Χωρίζονται σε **θετικού τύπου**, όταν τα σπάνια κύτταρα παραμένουν εντός των διατάξεων και σε **αρνητικού τύπου**, όταν τα κύτταρα στόχοι είναι τα μόνα που εξέρχονται αυτών. Βασικό ζήτημα της παραπάνω μεθόδου είναι να αξιοποιήσει ολόκληρη την επιφάνεια της μικρορευστονικής διάταξης και όχι ατομικά το κάθε κύτταρο, αυξάνοντας με αυτόν τον τρόπο την πιθανότητα αλληλεπιδράσεων μεταξύ κυττάρων και επιφανείας.



**Σχήμα 9:** Διάταξη διαχωρισμού με ανοσοχημική μέθοδο. Τα κύτταρα προσκολλώνται επάνω στην επιφάνεια που πρώτα έχει επικαλυφθεί με αντισώματα.

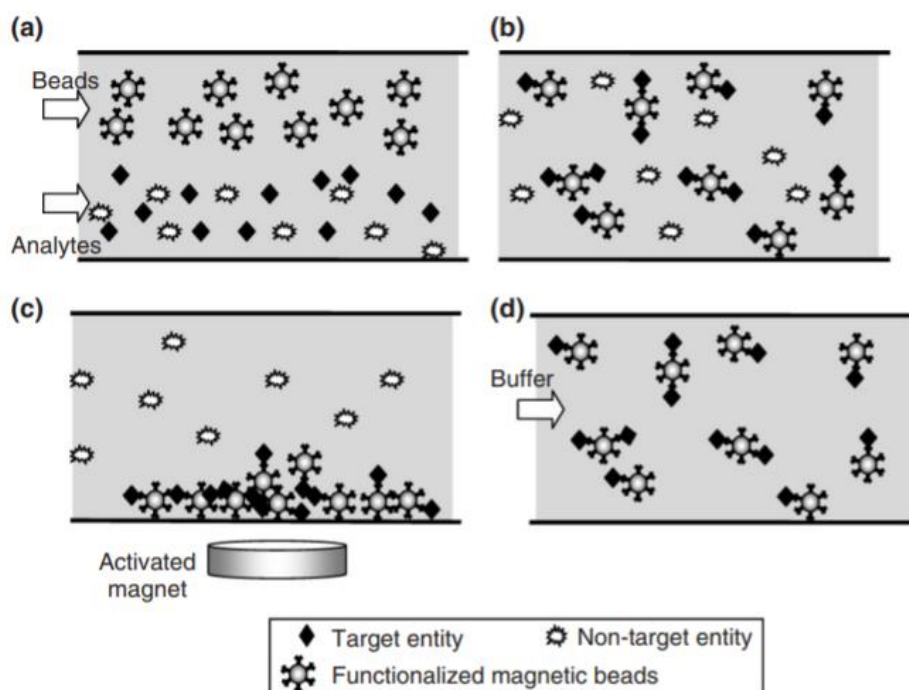
Για να είναι αποδοτική η μικρορευστονική κατασκευή, η επισήμανση πρέπει να γίνεται με αντισώματα σε όλη την επιφάνεια της. Επιπλέον, η επιλογή των αντισωμάτων πρέπει να γίνεται με ιδιαίτερη προσοχή, αφού για κάθε κύτταρο-στόχο αντιστοιχούν συγκεκριμένα αντισώματα, τα οποία θα σχηματίσουν σύμπλοκο με τους αντίστοιχους υποδοχείς των κυττάρων. Σε σύγκριση με άλλες μεθόδους, η ανοσοχημική μέθοδος απαιτεί ελάχιστη προετοιμασία του δείγματος [32,33], καθώς η σήμανση γίνεται στην επιφάνεια της διάταξης, μειώνοντας σημαντικά τον χρόνο διαχωρισμού και απλοποιώντας την όλη διαδικασία.

Ωστόσο, ένας ακόμη παράγοντας που παρατηρήθηκε πως έχει ιδιαίτερη σημασία για τον βαθμό απόδοσης μιας μικρορευστονικής διάταξης, είναι τα γεωμετρικά της χαρακτηριστικά, το υλικό κατασκευής καθώς και η τοπογραφία της. Αυτό συμβαίνει γιατί τα κύτταρα που κινούνται εντός της διάταξης, λόγω του πεδίου στρωτής ροής (χαμηλός αριθμός Reynolds), τείνουν να κινούνται πάνω στις ροϊκές γραμμές. Αποτέλεσμα ήταν να μην ευνοούνται οι αλληλεπιδράσεις των κυττάρων με τις επιφάνειες της μικρορευστονικής διάταξης. Επομένως, αποτελεί ιδιαίτερης σημασίας ο σχεδιασμός μίας τέτοιας μικρορευστονικής διάταξης (κανάλια, υλικό κατασκευής, γεωμετρικά χαρακτηριστικά), με τρόπο τέτοιο που να βοηθά την ανάπτυξη τέτοιων αλληλεπιδράσεων.

### Μαγνητοφορική μέθοδος

Η μαγνητοφορική μέθοδος είναι μια παθητική μέθοδος διαχωρισμού των κυττάρων. Αποτελεί και αυτή μία ειδική κατηγορία ανοσοχημικής μεθόδου και βασίζεται στην χρήση και ικανότητα χειραγώγησης ειδικά διαμορφωμένων παραμαγνητικών σωματιδίων, κάτω από την επίδραση ενός εξωτερικού μαγνητικού πεδίου. Για την ανίχνευση κυττάρων, όπως τα σπάνια κύτταρα, τοξινών ή άλλων μακρομορίων χρησιμοποιείται η τεχνική του ανοσομαγνητοφορικού διαχωρισμού. Η τεχνική αυτή, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 8, απαιτεί

την χρήση παραμαγνητικών σφαιριδίων μεγέθους 10 $\mu$ m-10nm, τα οποία είναι επικαλυμμένα με αντισώματα και ανιχνεύουν συγκεκριμένα αντιγόνα [34].



**Σχήμα 8:** Διάταξη διαχωρισμού με την χρήση της μαγνητοφορικής μεθόδου. α) Εισαγωγή του διαλύματος με τις υπό διαχωρισμό οντότητες και των μαγνητικών νανοσωματιδίων, β) Πρόσδεση μαγνητικών νανοσωματιδίων επάνω στις οντότητες-στόχους, γ) Ενεργοποίηση μαγνητικού πεδίου, δ) Τελικός διαχωρισμός οντοτήτων διαλύματος.

Ένα από τα κύρια πλεονεκτήματα της μεθόδου αυτής, είναι ότι οι μαγνητικές δυνάμεις δεν εφαρμόζονται κατευθείαν πάνω στο κύτταρο. Επιπλέον, η μαγνητική δύναμη που ασκείται στα σωματίδια δεν επηρεάζεται από το βιοχημικό περιβάλλον ή άλλες φυσικές δυνάμεις, όπως η ηλεκτροστατική δύναμη, η επιφανειακή τάση και οι δυνάμεις Brownian ή van der Waals, οι οποίες είναι σημαντικές στην μικροκλίμακα. Τέλος, είναι μια γρήγορη τεχνική σε σύγκριση με την ανοσοχημική μέθοδο Elisa [22,23].

### 1.3.3 Αξιολόγηση μεθόδων διαχωρισμού

Για την επιλογή της κατάλληλης μεθόδου διαχωρισμού και επομένως και του κατάλληλου σχεδίου της μικρορευστονικής διάταξης, είναι σημαντικό να αξιολογηθεί η λειτουργία της. Για

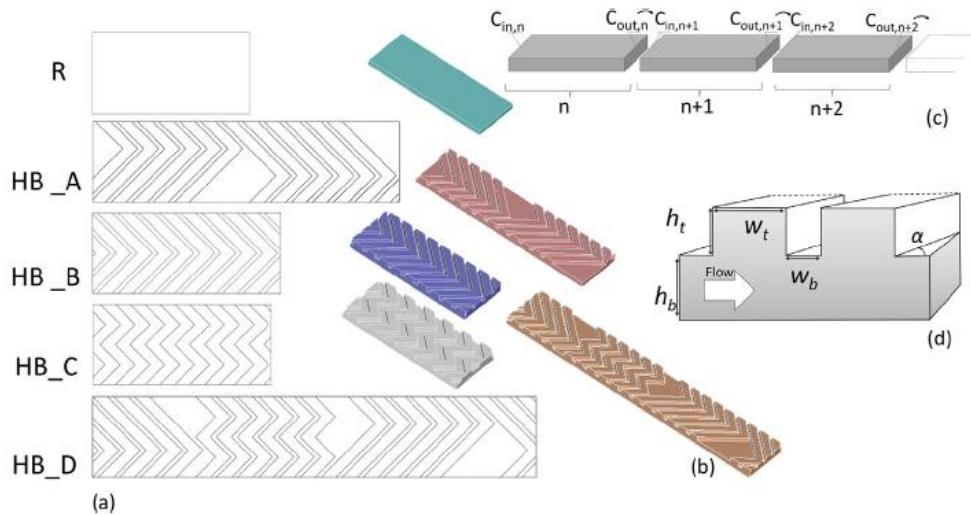
να γίνει αυτό έχουν καθοριστεί οι παρακάτω παράμετροι αξιολόγησης[15,35]: **Η απόδοση ή ρυθμός ανάκτησης** αποτελεί τον λόγο των απομονωμένων κυττάρων προς το σύνολο των κυττάρων στην είσοδο. **Ο εμπλουτισμός** που είναι ο λόγος της ογκομετρικής συγκέντρωσης των απομονωμένων κυττάρων προς τον αρχικό όγκο του δείγματος. **Η καθαρότητα** που αποτελεί τον λόγο του πλήθους των κυττάρων-στόχων προς το συνολικό πλήθος των απομονωμένων κυττάρων. Τέλος, υπάρχει και **η βιωσιμότητα**, η οποία είναι ο λόγος των κυττάρων-στόχων που επιζούν προς το συνολικό πλήθος των κυττάρων-στόχων. Αυτά τα 4 χαρακτηριστικά καθορίζουν τελικά, την ικανότητα μιας μικρορευστονικής διάταξης στον διαχωρισμό σπάνιων κυττάρων.

#### *1.4 Διάταξη με ανάγλυφο ψαροκόκαλου*

Μία εκ των διατάξεων διαχωρισμού σπάνιων κυττάρων με τη χρήση ανοσοχημικής μεθόδου, που αποτελεί και αντικείμενο μελέτης της παρούσας εργασίας, είναι αυτή με ανάγλυφα αυλάκια γεωμετρίας ψαροκόκαλου. Ιδιαιτερότητα αυτής της διάταξης είναι η παρουσία **χαστικής συναγωγής** [36]. Η χαστική συναγωγή συμβαίνει όταν υπάρχουν συνιστώσες της ταχύτητας του ρευστού στο κανάλι, κάθετες στην κύρια διεύθυνση της ροής. Το αποτέλεσμα της, είναι η αύξηση της αλληλεπίδρασης των κυττάρων με τα τοιχώματα της διάταξης.

Πολλές ερευνητικές ομάδες ασχολούνται με την κατασκευή διατάξεων με ανάγλυφο ψαροκόκαλου, όχι μόνο για διαχωρισμό σπάνιων κυττάρων αλλά ακόμη και για ανάμιξη διαλυμάτων. Οι περισσότερες βασίζονται στην εργασία των Stroock et al. [37], οι οποίοι πρότειναν ένα από τα βασικότερα σχέδια διατάξεων με ανάγλυφα γεωμετρίας ψαροκόκαλου. Η πρότασή τους αφορούσε την κατασκευή, στον πυθμένα ενός κύριου καναλιού, αυλακίων ψαροκόκαλου, των οποίων οι 2 πλευρές θα είχαν αναλογία μεγέθους 1:2 και η μεταξύ τους γωνία θα είχε διαφορά 90°. Επίσης θα αποτελούνταν από 2 σειρές αυλακίων συμμετρικές η μία ως προς το κέντρο της άλλης. Στόχος της εργασίας τους ήταν να διαχωρίσουν κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα στο αίμα. Το αποτέλεσμα της μελέτης τους ήταν να παρατηρήσουν ότι η χρήση ανάγλυφου ψαροκόκαλου ενίσχυσε την απόδοση και την καθαρότητα του διαχωρισμού.



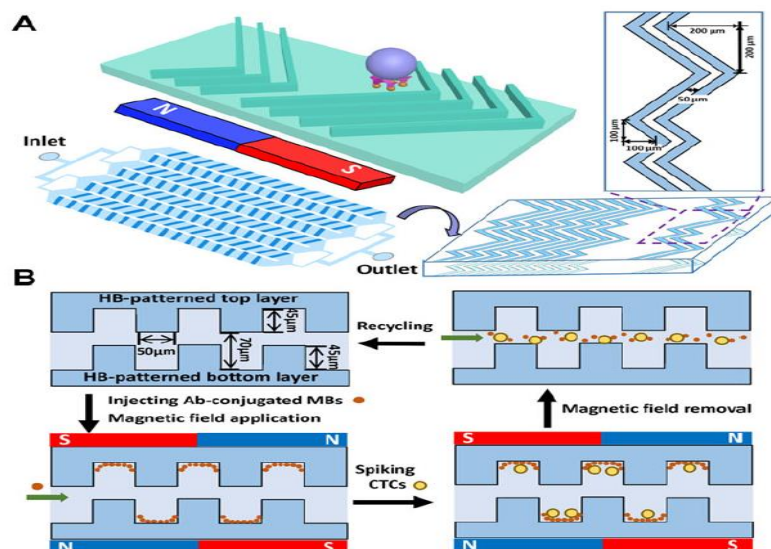


**Σχήμα 10:** α) Μελέτη διαφορετικών διατάξεων με τοπογραφία ανάγλυφου ψαροκόκαλου, β) 3D παρουσίαση των διαφορετικών ανάγλυφων ψαροκόκαλου, γ) Μελέτη καναλιών με ανάγλυφο μεγαλύτερο ενός cell, δ) Διαστάσεις ανάγλυφου ενός μόνο cell. [38]

Στην παραπάνω εργασία, στηρίχθηκαν πολλές επιστημονικές προσπάθειες που προσέβλεπαν στην βελτιστοποίηση αυτών των μηχανισμών αξιολόγησης, δηλαδή στην απόδοση και την καθαρότητα. Η προσπάθεια των Bianchi et al. [38], οι οποίοι εκτέλεσαν προσομοιώσεις για να ελέγξουν την αύξηση της προσκόλλησης μίας πρωτεΐνης (streptavidin) σε επιφάνειες που έχουν καλυφθεί με βιοτίνη. Η μελέτη έγινε για 4 περιπτώσεις με διαφορετικό ανάγλυφο ψαροκόκαλου (Σχήμα 10) και τις συνέκριναν μεταξύ τους καθώς και με μία επιφάνεια χωρίς κανάλια. Αυτό που παρατήρησαν, ήταν ότι τα ανάγλυφα αποτελούν σημαντικό εργαλείο για την αύξηση της προσκόλλησης των σωματιδίων, ενώ από τις 4 περιπτώσεις αυτή με τα καλύτερα αποτελέσματα ήταν η HB\_C.

Σε μία άλλη περίπτωση, οι Lei Zhang et al. [39], κατασκεύασαν μία μικρορευστονική διάταξη από πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (PDMS) για την βελτίωση της προσκόλλησης (spiked) καρκινικών κυττάρων με την χρήση μαγνητικών σωματιδίων. Η διάταξη που παρουσιάστηκε αποτελούνταν από διπλό στρώμα με ανάγλυφο ψαροκόκαλου για να αυξηθεί η αλληλεπίδραση κυττάρων με τις επιφάνειες όπως φαίνεται και στο Σχήμα 11, ενώ παράλληλα γίνεται και χρήση μαγνητικού πεδίου. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα η απόδοση προσκόλλησης ξεπέρασε το 90%. Επιπλέον η επαναφορά των διαχωρισμένων καρκινικών κυττάρων, για επιπλέον βιοχημικές αναλύσεις, έγινε απλά με την αναστροφή του εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου





**Σχήμα 11:** A) Διάταξη με ανάγλυφο ψαροκόκαλου για τον διαχωρισμό σπάνιων κυττάρων spiking CTCs με χρήση μαγνητικών νανοσωματιδίων, B) Διατομή της διάταξης διαχωρισμού και βήματα λειτουργίας [39]

## 1.5 Σκοπός της εργασίας

Η παρούσα εργασία εστιάζει σε μικρορευστονική διάταξη διαχωρισμού σπάνιων κυττάρων με ανάγλυφο ψαροκόκαλου, η οποία ανήκει στην κατηγορία των ανοσοχημικών μεθόδων διαχωρισμού: Αντισώματα ακινητοποιούνται στις εσωτερικές επιφάνειες της διάταξης, ενεργοποιώντας τα. Η διάταξη αυτή, χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά από τους Stroock et al. [37] σε εφαρμογές ανάμιξης διαλυμάτων. Έχουν δημοσιευτεί αρκετές εργασίες βελτίωση του αρχικού σχεδίου με το βάρος του στην ενίσχυση της ανάμιξης [38][39], ενώ υπάρχουν λιγοστές υπολογιστικές μελέτες [40–42] για το διαχωρισμό σπάνιων κυττάρων μέσω αλληλεπίδρασης με τα τοιχώματα της διάταξης.

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η υπολογιστική ανάλυση διαχωρισμού σπάνιων κυττάρων με ανοσοχημική μέθοδο σε διάταξη με ανάγλυφο γεωμετρίας ψαροκόκαλου. Πιο συγκεκριμένα, εξετάζεται α) με ποια τοιχώματα είναι σημαντικότερη η αλληλεπίδραση με τα σπάνια κύτταρα, β) ποιο ποσοστό κυττάρων θα προσκολληθούν αν όλες οι επιφάνειες είναι κατάλληλα ενεργοποιημένες, γ) ποια είναι η επίδραση της ακτίνας των κυττάρων και του ύψους του καναλιού στα ποσοστά προσκόλλησης δ) τι ποσοστό θα προσκολληθούν σε

διαδοχικές δομικές μονάδες της διάταξης και πόσες μονάδες απαιτούνται για την προσκόλληση > 90% των κυττάρων.

Για το σκοπό αυτό, αναπτύχθηκε υπολογιστικό πλαίσιο το οποίο επιτελεί α) τον υπολογισμό του πεδίου ροής με την επίλυση των εξισώσεων συνέχειας και Navier-Stokes, β) τον υπολογισμό των τροχιών των σωματιδίων, γ) τον υπολογισμό της απόστασης από τα τοιχώματα της διάταξης, δ) τον έλεγχο προσκόλλησης των σωματιδίων στα τοιχώματα. Ο απώτερος στόχος είναι η εφαρμογή αυτού του υπολογιστικού πλαισίου για το σχεδιασμό αποδοτικών διατάξεων διαχωρισμού με την ανοσοχημική μέθοδο.

Η παρούσα εργασία αποτελείται από τις εξής ενότητες: **Στο κεφάλαιο 2** πραγματοποιείται ανάλυση του **μαθηματικού μοντέλου**, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την υπολογιστική μελέτη. Πιο συγκεκριμένα, αναλύεται η διάταξη, το σύνολο των εξισώσεων και των παραδοχών. **Τα αποτελέσματα** της υπολογιστικής μελέτης περιλαμβάνονται **στο κεφάλαιο 3** ενώ η ανάλυση τους και η εξαγωγή συμπερασμάτων **στο κεφάλαιο 4**.

## **2. ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ**



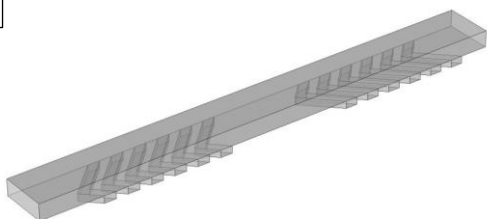
## 2.1 Εισαγωγή

Το μαθηματικό μοντέλο στο οποίο στηρίχτηκαν οι προσομοιώσεις διαχωρισμού των σπάνιων κυττάρων, βασίζεται στη μέθοδο της ιχνηλασίας (particle tracing). Η μέθοδος αυτή βοηθά τον υπολογισμό της τροχιάς των κυττάρων στο πεδίο ροής. Τα κύτταρα προσεγγίστηκαν ως σωματίδια, των οποίων υπολογίστηκαν οι τροχιές. Η εξέταση προσκόλλησης ενός σωματιδίου στα τοιχώματα της διάταξης, γινόταν με βάση την απόσταση που απείχε το σωματίδιο από τα τοιχώματα της. Όταν ένα σωματίδιο απείχε μικρότερη ή ίση απόσταση της ακτίνας του από τα τοιχώματα της διάταξης, τότε θεωρούνταν ότι αυτό κολλούσε. Για την επιβεβαίωση των παραπάνω, επιλύθηκε πρώτα η εξίσωση Eikonal, με την οποία υπολογίστηκε η προσημασμένη απόσταση από τα τοιχώματα της διάταξης.

## 2.2 Διάταξη προσομοίωσης ροής

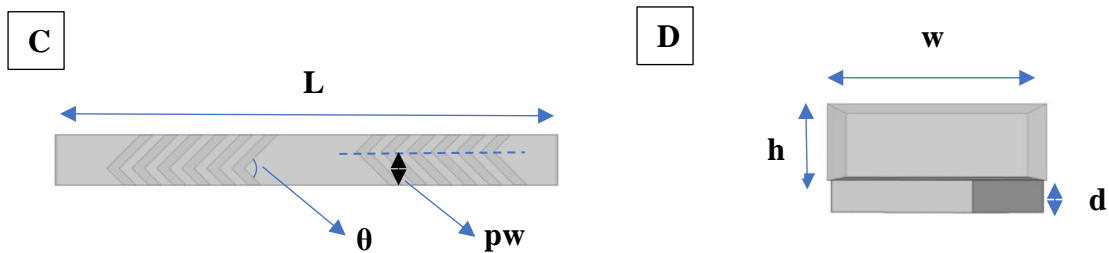
Η διάταξη προσομοίωσης ροής που χρησιμοποιήθηκε ήταν η μικρορευστονική διάταξη με ανάγλυφο γεωμετρίας ψαροκόκαλου και σχεδιάστηκε σύμφωνα με την πρόταση των Stroock et al. [40]. Ο σχεδιασμός του καναλιού έγινε με τέτοιο τρόπο, ώστε με την χρήση των αυλακιών να αξιοποιηθεί το φαινόμενο της χαοτικής συναγωγής. Στην παρούσα εργασία, η διάταξη αποτελούταν μόνο από μία δομική μονάδα όπως φαίνεται στο Σχήμα 12. Η δομική μονάδα, περιλάμβανε 2 σειρές ανάγλυφων ψαροκόκαλων, την μία πίσω από την άλλη. Επίσης, οι σειρές αυτές ήταν ανεστραμμένες ως προς το κέντρο τους, ενώ η γωνία που δημιουργούσαν οι 2 πλευρές του ψαροκόκαλου ήταν  $90^\circ$ . Η κάθε σειρά αποτελούνταν από 6 ίδιας μορφολογίας ανάγλυφα. Τέλος, οι πλευρές τους εμφάνιζαν αναλογία μεγέθους μεταξύ τους 1:2.

**A**



**B**





**Σχήμα 12:** **A)** Διάταξη με ανάγλυφο ψαροκόκαλου. **B)** Διατομή της διάταξης ψαροκόκαλου. **C)** Κάτοψη διάταξης ψαροκόκαλου όπου φαίνεται το μήκος  $L$ , η γωνία  $\theta$ , ο παράγοντας ασυμμετρίας των αυλακιών και το πλήθος τους ( $\delta$ ) σε κάθε σειρά. **D)** Διατομή εισόδου της διάταξης ψαροκόκαλου όπου φαίνεται το ύψος και το πλάτος του κύριου καναλιού καθώς και το βάθος των αυλακιών.

Οι τιμές του πλάτους,  $w$ , του ύψους,  $h$ , και του μήκους,  $L$  του κύριου καναλιού, καθώς και το βάθος των αυλακιών,  $d$ , η γωνία τους,  $\theta$  και ο παράγοντας ασυμμετρίας τους,  $p$ , οι οποίες επιλέχθηκαν για την παρούσα μεταπτυχιακή εργασία, λαμβάνονται από την μελέτη των Stroock et al. [40], όπως φαίνονται στον Πίνακα 1.

**Πίνακας 1:** Πίνακας γεωμετρικών χαρακτηριστικών της δομικής μονάδας της διάταξης με ανάγλυφο ψαροκόκαλου

Γεωμετρικές παράμετροι της δομικής μονάδας της διάταξης ψαροκόκαλου των Stroock et al.	
Πλάτος κύριου καναλιού, $w$	200 $\mu\text{m}$
Ύψος κύριου καναλιού, $h$	69,7 $\mu\text{m}$
Μήκος κύριου καναλιού, $L$	2 mm
Βάθος αυλακιών, $d$	30.6 $\mu\text{m}$
Γωνία αυλακιού ψαροκόκαλου, $\theta$	90°
Παράγοντας ασυμμετρίας, $p$	2/3
Κυματάρηθος, $q$	2 $\pi$ /100
Πλήθος αυλακιών σε μία δομική μονάδα	12

## 2.3 Περιγραφή του πεδίου ροής

Για την επίλυση του προβλήματος του διαχωρισμού των κυττάρων στην παρούσα εργασία, χρειάστηκε να γίνουν ορισμένες παραδοχές. Αρχικά, τα κύτταρα θεωρήθηκαν σωματίδια με ουδέτερη πλευστότητα. Δηλαδή, είχαν την ίδια πυκνότητα με το ρευστό και άρα μπορούν να κινούνται επάνω στις ροϊκές γραμμές. Το πεδίο ροής υπολογίστηκε από τις εξισώσεις Navier-Stokes και την εξίσωση συνέχειας. Η εξίσωση της συνέχειας εκφράζεται με τον παρακάτω τύπο:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot \rho \mathbf{u} = 0 \quad (2.1)$$

όπου  $\rho$  η πυκνότητα του ρευστού και  $\mathbf{u}$  το διάνυσμα της ταχύτητας.

Οι εξισώσεις Navier-Stokes αφορούν την διατήρηση της ορμής και ικανοποιούνται όταν μελετάται νευτώνικό ρευστό σε ασυμπίεστη ροή και σταθερό ιξώδες, ενώ γράφονται σε καρτεσιανές συντεταγμένες ως εξής:

$$\rho \left( \frac{\partial u_x}{\partial t} + u_x \frac{\partial u_x}{\partial x} + u_y \frac{\partial u_x}{\partial y} + u_z \frac{\partial u_x}{\partial z} \right) = -\frac{\partial p}{\partial x} + \rho g_x + \mu \left( \frac{\partial^2 u_x}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u_x}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 u_x}{\partial z^2} \right) \quad (2.2)$$

$$\rho \left( \frac{\partial u_y}{\partial t} + u_x \frac{\partial u_y}{\partial x} + u_y \frac{\partial u_y}{\partial y} + u_z \frac{\partial u_y}{\partial z} \right) = -\frac{\partial p}{\partial y} + \rho g_y + \mu \left( \frac{\partial^2 u_y}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u_y}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 u_y}{\partial z^2} \right) \quad (2.3)$$

$$\rho \left( \frac{\partial u_z}{\partial t} + u_x \frac{\partial u_z}{\partial x} + u_y \frac{\partial u_z}{\partial y} + u_z \frac{\partial u_z}{\partial z} \right) = -\frac{\partial p}{\partial z} + \rho g_z + \mu \left( \frac{\partial^2 u_z}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u_z}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 u_z}{\partial z^2} \right) \quad (2.4)$$

## 2.4 Τροχιές σωματιδίων

Η μέθοδος της ιχνηλασίας των σωματιδίων [41] αποτελεί την προσέγγιση για την επίλυση του προβλήματος της παρούσας εργασίας και χρησιμοποιήθηκε για να βρεθούν οι τροχιές τους. Σύμφωνα με αυτήν, η κίνηση των μικροσκοπικών και μακροσκοπικών σωματιδίων ενός ρευστού καθορίζεται, κατά ένα πολύ μεγάλο βαθμό, από την οπισθέλκουσα δύναμη που τους ασκείται. Το σύστημα μελέτης αποτελείται από 2 φάσεις, την διακριτή και την συνεχή. Η

διακριτή αφορά φυσαλίδες σωματίδια και σταγονίδια ενώ η συνεχής από σωματίδια που βυθίζονται. Για να είναι σωστή η χρήση της μεθόδου ιχνηλασίας, το σύστημα θα πρέπει να αποτελείται από μία πιο αραιή ροή. Επομένως το κλάσμα όγκου της διακριτής φάσης θα πρέπει να είναι αρκετά μικρότερο (<1%), από το κλάσμα όγκου της συνεχούς φάσης. Εάν αυτό δεν ισχύει, τότε χαρακτηρίζεται ως πυκνή ροή και δεν είναι σωστή η προσέγγιση που ακολουθείται. Με την χρήση της μεθόδου ιχνηλασίας τα σωματίδια δεν μετατοπίζουν το ρευστό που καταλαμβάνουν. Στην παρούσα εργασία τα σωματίδια (σπάνια κύτταρα), επιτρέπουν την χρήση της μεθόδου ιχνηλασίας αφού βρίσκονται σε πολύ μικρή συγκέντρωση(<1000/ml).

Επειδή τα σωματίδια έχουν θεωρηθεί ότι είναι ουδέτερης πλευστότητας, δηλαδή ότι η μάζα τους είναι αμελητέα σε σχέση με του ρευστού, οι τροχιές των σωματιδίων υπολογίστηκαν από την επίλυση της διανυσματικής εξίσωσης της κίνησης για κάθε σωματίδιο:

$$\frac{dx}{dt} = \mathbf{u}(\mathbf{x}) \quad (2.5)$$

Στην πράξη, λόγω μόνιμης ροής, οι τροχιές των σωματιδίων ταυτίζονται με τις ροϊκές γραμμές, οι οποίες υπολογίζονται από τις εξισώσεις

$$\frac{du_x}{dx} = \frac{du_y}{dy} = \frac{du_z}{dz} \quad (2.6)$$

## 2.5 Πιθανότητα προσκόλλησης σωματιδίου στα τοιχώματα

Ένα σωματίδιο μπορεί να θεωρηθεί ότι έχει προσκολληθεί στην επιφάνεια της διάταξης, όταν η απόσταση μεταξύ αυτής και του σωματιδίου είναι μικρότερη της ακτίνας του. Ωστόσο, αυτό δεν είναι αρκετά ακριβές αφού η επικόλληση ενός σωματιδίου είναι μία δυναμική διαδικασία. Μία πιο ακριβής μελέτη περιλαμβάνει τις αλληλεπιδράσεις των δεσμών μεταξύ των αντισωμάτων και των κυττάρων και πιο συγκεκριμένα μεταξύ των ενζύμων και των υποδοχέων τους. Η συνεχής σύνδεση και αποσύνδεση μεταξύ ενζύμων και υποδοχέων επηρεάζει καθοριστικά την πιθανότητα προσκόλλησης του σωματιδίου στην επιφάνεια της διάταξης [42], και στηρίζεται στην εξίσωση (2.7),

$$P = m_r m_l K_a^0 A_c \exp\left(-\frac{\lambda}{k_B T} \frac{F_{dis}}{m_r A_c}\right) \quad (2.7)$$



όπου  $m_r$  και  $m_l$  είναι η συγκέντρωση των υποδοχέων και των ενζύμων,  $K_a^0$  η σταθερά μεταξύ υποδοχέα και ενζύμου χωρίς να ενεργεί καμία δύναμη,  $A_c$  η επιφάνεια σύνδεσης,  $\lambda$  το μήκος του δεσμού,  $k_B T$  η θερμική ενέργεια και  $F_{dis}$  η δύναμη διάσπασης.

Όμως λόγω της μελέτης κυττάρων, δεν υπήρξαν ακριβείς πληροφορίες σχετικά με τα  $m_r$ ,  $m_l$ ,  $K_a^0$  και  $\lambda$ . Υπήρξε μία προσπάθεια των Smith et al. [43], οι οποίοι αφού μετέτρεψαν την εξίσωση (2.10) ως εξής:

$$P = A \exp ( B \tau ) \quad (2.8),$$

όπου  $A = m_r m_l K_a^0 A_c$  και  $B = - \frac{\lambda}{k_B T} \frac{\kappa}{m_r A_c}$ , υπέθεσαν ότι η δύναμη διάσπασης του δεσμού είναι ανάλογη της τάσης του ρευστού. Επομένως  $F_{dis} = \kappa \tau$ , με  $\kappa$  σταθερά και  $\tau$  την διατμητική τάση του ρευστού. Με αυτό τον τρόπο μειώθηκαν οι ζητούμενες μεταβλητές και το επόμενο βήμα ήταν η εύρεση της διατμητικής τάσης του ρευστού. Μια προσπάθεια έγινε από τους Wang et al [44], οι οποίοι αφού κράτησαν σταθερή την συγκέντρωση των σωματιδίων διαπίστωσαν ότι η πιθανότητα προσκόλλησης είναι ανάλογη του πλήθους των επικολλημένων σωματιδίων στην επιφάνεια για κάθε διατμητική τάση.

Στην παρούσα εργασία, δεν χρησιμοποιήθηκε η περίπτωση της πιθανότητας προσκόλλησης με βάση τις σχέσεις υποδοχέων-ενζύμων αλλά της απλής σύνδεσης με βάση την απόσταση από τις επιφάνειες και ελέγχθηκαν οι περιπτώσεις πιθανότητας προσκόλλησης ίσης με 0,5 (50%) και 1(100%).

## 2.6 Η εξίσωση Eikonal

Για τον υπολογισμό της απόστασης από τα τοιχώματα της διάταξης με ανάγλυφο γεωμετρίας ψαροκόκαλου χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση Eikonal. Η εξίσωση αυτή, χρησιμοποιείται για την επίλυση ενός προβλήματος συνοριακών τιμών και διατυπώνεται με την μορφή (2.9)

$$\begin{cases} |\nabla u(\mathbf{x})| = f(\mathbf{x}), & f(\mathbf{x}) > 0, \quad \mathbf{x} \in \Omega \\ u(\mathbf{x}) = g(\mathbf{x}), & \mathbf{x} \in \partial\Omega \end{cases} \quad (2.9)$$

όπου  $g(\mathbf{x})$  γνωστή συνάρτηση. Η εξίσωση Eikonal συμπεριλαμβάνεται στις εξισώσεις Hamilton-Jacobi.

Στην περίπτωση που  $g(\mathbf{x}) = 0$ , το σύνορο της εξελίσσεται με ταχύτητα κάθετη σε αυτό και ίση  $F(\mathbf{x})=1/f(\mathbf{x})$  και η συνάρτηση  $u(\mathbf{x})$  αποτελεί τον χρόνο στον οποίο το σύνορο φτάνει στην θέση  $\mathbf{x}$ .

Αν επίσης  $F(\mathbf{x})=1$  και  $g(\mathbf{x}) = 0$  τότε  $f(\mathbf{x})=1$  και η (2.10) γίνεται

$$\begin{cases} |\nabla u(\mathbf{x})| = 1, & \mathbf{x} \in \Omega \\ u(\mathbf{x}) = 0, & \mathbf{x} \in \partial\Omega \end{cases} \quad \Omega \in R^n \quad (2.10)$$

Η επίλυση της εξίσωσης (2.10) [26] [45–48] δίνει την απόσταση από το σύνορο  $\partial\Omega$ .

Για να γίνει επιλογή της καταλληλότερης επίλυσης της εξίσωσης Eikonal, πρέπει να προσδιοριστούν τα εξής βασικά χαρακτηριστικά: **Η ιδανικότερη ασθενής λύση, η μέθοδος διακριτοποίησης και η επίλυση του συστήματος μη γραμμικών εξισώσεων** [26].

Οι τρεις περιπτώσεις επιλογής χαρακτηριστικών που έχουν προταθεί είναι:

1. Για την ασθενή λύση χρησιμοποιείται η μέθοδος εξάλειψης ιξώδους όρου, για την μέθοδο διακριτοποίησης επιλέγεται η Galerkin-πεπερασμένων στοιχείων και για την επίλυση του συστήματος μη γραμμικών εξισώσεων η μέθοδος Newton-Raphson.
2. Για την ασθενή λύση χρησιμοποιείται η συνθήκη εντροπίας, για την μέθοδο διακριτοποίησης επιλέγεται η Godunov με χρήση των πεπερασμένων διαφορών κατά την κατεύθυνση διάδοσης της πληροφορίας (upwind) και για την επίλυση του συστήματος μη γραμμικών εξισώσεων η μέθοδος Newton-Raphson
3. Για την ασθενή λύση χρησιμοποιείται η μέθοδος ταχυβηματισμού, για την μέθοδο διακριτοποίησης επιλέγεται η μέθοδος Godunov, ενώ για την διαδικασία επίλυσης των μη γραμμικών εξισώσεων γίνεται χρήση της μονοτονίας της λύσης κατά μήκος των προβολών των χαρακτηριστικών [49].

Στην παρούσα εργασία για την επίλυση της εξίσωσης Eikonal, χρησιμοποιείται η πρώτη επιλογή κατάλληλων χαρακτηριστικών. Με τη μέθοδο εξάλειψης ιξώδους, στην εξίσωση Eikonal προστίθεται ιξώδης όρος με παράγοντα την παράμετρο  $\varepsilon > 0$ , όπως φαίνεται παρακάτω:

$$\begin{cases} |\nabla u_\varepsilon(\mathbf{x})| + \varepsilon \nabla^2 u_\varepsilon(\mathbf{x}) - 1 = 0, & \mathbf{x} \in \Omega \\ u(\mathbf{x}) \equiv 0, & \mathbf{x} \in \partial\Omega \end{cases} \quad (2.11)$$

Για κάθε  $\varepsilon > 0$  υπάρχει μοναδική λύση  $u_\varepsilon$  η οποία θα συγκλίνει στην λύση της αρχικής εξίσωσης για  $\varepsilon \rightarrow 0$ , απαλείφοντας τον ιξώδη όρο. Η επίλυση ακολουθεί τα εξής τρία βήματα: Αρχικά γίνεται επίλυση με ένα αρκετά μεγάλο  $\varepsilon$  ώστε να φανεί η σύγκλιση της Newton-Raphson, έπειτα γίνεται επανυπολογισμός του αποτελέσματος με ένα μικρότερο  $\varepsilon$  κρατώντας όμως την αρχική εκτίμηση  $u_\varepsilon$ . Τέλος, η διαδικασία γίνεται όσες φορές χρειαστεί έως ότου η λύση προσεγγίσει την λύση για  $\varepsilon=0$ .

## 2.7 Μεθοδολογία

Η παρούσα εργασία αφορούσε τον διαχωρισμό σπανίων κυττάρων με την χρήση της μεθόδου ιχνηλασίας. Για τον υπολογισμό των προσκολλημένων σωματιδίων στη δομική μονάδα της διάταξης ακολουθήθηκαν τα παρακάτω βήματα:

α) Υπολογίστηκε το πεδίο ροής με την επίλυση των εξισώσεων συνέχειας και Navier-Stokes με τη βοήθεια του λογισμικού COMSOL Multiphysics<sup>®</sup>. Το υπολογιστικό πλέγμα που επιλέχθηκε για την επίλυση του προβλήματος αποτελούταν από τετραεδρικά στοιχεία 8 κόμβων και χρειάστηκαν 2912678 στοιχεία.

β) Υπολογίστηκαν οι τροχιές των σωματιδίων στο κανάλι (στη δομική μονάδα της διάταξης) με τη βοήθεια του λογισμικού COMSOL Multiphysics<sup>®</sup>. Αρχικά, επιλέχθηκε το προφίλ εισόδου των σωματιδίων να είναι ομοιόμορφο για όλη την επιφάνεια εισόδου της διάταξης. Με τον όρο ομοιόμορφο προφίλ, εννοούμε ισαπέχοντα σωματίδια στην είσοδο του καναλιού. Για να γίνει αυτό δημιουργήθηκε κώδικας σε γλώσσα προγραμματισμού C++ [50], ο οποίος εκτύπωνε όλες τις συντεταγμένες εισόδου για όλες εκείνες τις αποστάσεις μεταξύ των σωματιδίων που θα παρουσίαζαν ομοιομορφία στην είσοδο. Στην συνέχεια και αφού έγινε εισαγωγή των δεδομένων στο λογισμικό COMSOL Multiphysics<sup>®</sup> [51], επιλύθηκε το πρόβλημα εύρεσης των ροϊκών γραμμών με βάση τις συντεταγμένες εισόδου αλλά και τις εξισώσεις συνέχειας και Navier-Stokes.

γ) Επιλύθηκε το πρόβλημα της ελάχιστης απόστασης από τα τοιχώματα της διάταξης με βάση την εξίσωση Eikonal με τη βοήθεια του λογισμικού COMSOL Multiphysics<sup>®</sup>.

δ) Πραγματοποιήθηκε έλεγχος για το ποια από τα σωματίδια, τα οποία κινούνται πάνω στις ροϊκές γραμμές, απέχουν απόσταση από τα τοιχώματα της διάταξης μικρότερη της ακτίνας τους. Αυτά θεωρήθηκε ότι προσκολλώνται στις επιφάνειες. Έγιναν προσομοιώσεις και για 3

μεγέθη σωματιδίων με ακτίνες 10, 5 και 2  $\mu\text{m}$  ενώ μελετήθηκε και η περίπτωση της αύξησης του ύψους του κύριου καναλιού. Οι παραπάνω διαδικασίες εκτελέστηκαν σε κώδικα που αναπτύχθηκε στο λογισμικό MATLAB. Αποτέλεσμα του κώδικα ήταν η εκτύπωση ενός αρχείου το οποίο περιείχε πληροφορίες για όλες τις ροϊκές γραμμές. Πιο συγκεκριμένα, περιείχε ποια από τα σωματίδια των ροϊκών γραμμών κολλούσαν στις επιφάνειες ενώ παράλληλα εμφανιζόταν και το τοίχωμα προσκόλλησης, καθώς και οι αρχικές και οι τελικές συντεταγμένες. Στην περίπτωση που ένα σωματίδιο δεν «κατάφερνε» να προσκολληθεί, τότε εμφανίζονταν οι συντεταγμένες εισόδου και εξόδου από τη δομική μονάδα. Μία ακόμη διαδικασία που περιείχε ο κώδικας ήταν η εύρεση όλων εκείνων των ροϊκών γραμμών που οι συντεταγμένες τους στην είσοδο ήταν πολύ κοντά στις επιφάνειες της διάταξης. Αυτό έγινε για να βρεθούν εκείνα τα σωματίδια που κολλάνε με την είσοδο τους σε αυτήν και να αφαιρεθούν από την μελέτη.

Ακολούθησε και μία ακόμη υπολογιστική μελέτη σχετικά με το πλήθος των δομικών μονάδων που χρειάζεται, ώστε να γίνει η προσκόλληση όλων των σωματιδίων. Για αυτή χρησιμοποιήθηκαν μόνο οι συντεταγμένες εισόδου και εξόδου των σωματιδίων από την 1<sup>η</sup> δομική μονάδα. Αρχικά βρέθηκαν οι θέσεις στην είσοδο που οδηγούν σε προσκόλληση. Έπειτα προσδιορίστηκαν οι θέσεις των μη προσκολλημένων σωματιδίων στην έξοδο και συγκρίθηκαν με τις θέσεις εισόδου που οδηγούν σε προσκόλληση. Με δεδομένο ότι η έξοδος της 1<sup>ης</sup> δομικής μονάδας είναι η είσοδος της 2<sup>ης</sup>, αν η θέση εξόδου ενός σωματιδίου στην 1<sup>η</sup> δομική μονάδα αντιστοιχεί σε θέση που οδηγεί σε προσκόλληση, τότε το σωματίδιο αυτό θα προσκολληθεί στη 2<sup>η</sup> δομική μονάδα. Με την επανάληψη της διαδικασίας και αφαιρώντας πάντα τα σωματίδια που θεωρούνται προσκολλημένα, η διαδικασία οδηγεί σε υπολογισμό των προσκολλημένων σωματιδίων σε διαδοχικές δομικές μονάδες.

Οι συντεταγμένες εξόδου της 1<sup>ης</sup> δομικής μονάδας, αποτελούν τις συντεταγμένες εισόδου της 2<sup>ης</sup> δομικής μονάδας και αντίστοιχα για όσες δομικές μονάδες χρησιμοποιηθούν, οι συντεταγμένες εξόδου των προηγούμενων είναι οι συντεταγμένες εισόδου των επόμενων. Επομένως, αξιοποιώντας την ήδη υπάρχουσα χαρτογράφηση από την συμπεριφορά των σωματιδίων στην 1<sup>η</sup> δομική μονάδα, μπορούμε να εξάγουμε την συμπεριφορά των σωματιδίων (προσκόλληση ή μη) για τις επόμενες δομικές μονάδες. Με αυτό τον τρόπο, είναι δυνατόν όχι μόνο να δούμε πόσες δομικές μονάδες χρειάζονται για την προσκόλληση όλων των σωματιδίων, αλλά και τα ποσοστά προσκόλλησης σε κάθε μια από αυτές, καθώς και σε ποια τοιχώματα των δομικών μονάδων προσκολλώνται τα σωματίδια. Η μελέτη αυτή έγινε και για 3 περιπτώσεις μεγέθους σωματιδίων ακτίνας 10  $\mu\text{m}$ , 5  $\mu\text{m}$  και 2  $\mu\text{m}$ .

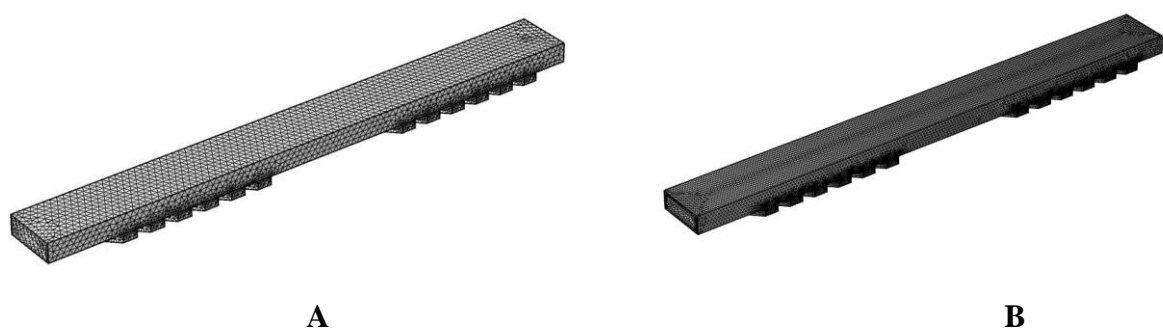
### **3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**



### 3.1 Αποτελέσματα για το πεδίο ροής - Ανεξαρτησία της λύσης από το υπολογιστικό πλέγμα

Η μελέτη του προβλήματος της ροής πραγματοποιήθηκε μέσω του υπολογιστικού προγράμματος COMSOL Multiphysics®, ενώ η διάταξη που σχεδιάστηκε ήταν αυτή των Stroock et al [40]. Στη συνέχεια, ακολούθησε ο υπολογισμός του πεδίου ταχύτητας και πίεσης. Για την επίλυση του προβλήματος έγινε χρήση προσεγγιστικών αριθμητικών λύσεων, οι οποίες εξαρτώνται από το εκάστοτε υπολογιστικό πλέγμα. Όσο περισσότερο πυκνώνει το υπολογιστικό πλέγμα, τόσο οι προσεγγιστικές αριθμητικές λύσεις τείνουν προς την πραγματική λύση με μεγαλύτερη ακρίβεια,. Για τον λόγο αυτό, ακολουθείται σταδιακή πύκνωση του πλέγματος και ελέγχεται κάθε φορά το αποτέλεσμα έως ότου σταθεροποιηθεί. Μετά την σταθεροποίηση του αποτελέσματος, επιλέγεται η αντίστοιχη λύση, αφού όσο περισσότερο και να πυκνώσει το πλέγμα οι διαφορές είναι αμελητέες. Με αυτό τον τρόπο καθορίζεται η ανεξαρτησία της λύσης από το υπολογιστικό πλέγμα.

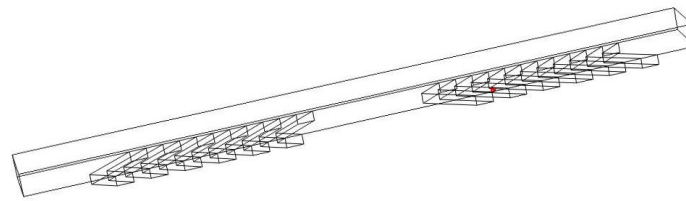
Για την μελέτη ανεξαρτησίας της λύσης από το υπολογιστικό πλέγμα, χρησιμοποιήθηκαν περιπτώσεις πλεγμάτων με πλήθος στοιχείων ίσο με 115597(extra coarse), 233615(coarser), 585890(coarse), 1140534(normal), 2912678(fine) και 8483638(finer) όπως φαίνεται στο Σχήμα 13. Τα στοιχεία αυτά ήταν τετραεδρικά και ορθογωνικά ενώ η κατασκευή τους κοντά στα τοιχώματα ήταν πυκνότερη λόγω της υψηλότερης βαθμίδας των συνιστωσών της ταχύτητας της. Ο αριθμός Reynolds για τον οποίο πραγματοποιήθηκαν οι υπολογισμοί ήταν 5.



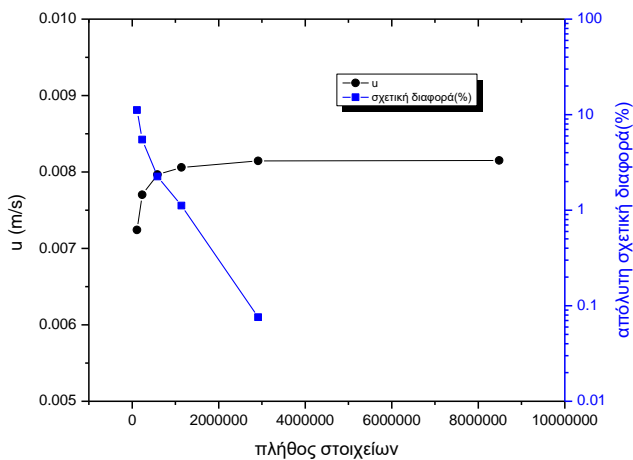
**Σχήμα 13 :** **A)**Υπολογιστικό πλέγμα διάταξης ψαροκόκαλου με αριθμό στοιχείων 115 k (extra coarse), **B)**Υπολογιστικό πλέγμα διάταξης ψαροκόκαλου με αριθμό στοιχείων 585 k (coarse)

Για τη μελέτη ανεξαρτησίας της λύσης, εξετάστηκαν 2 διαφορετικά σημεία εντός της δομικής μονάδας της διάταξης. Το σημείο A με  $(x,y,z)=(\frac{7L}{10}, 0, \frac{d}{2})$  βρισκόταν μέσα στα αυλάκια (Σχήμα 14α), ενώ το σημείο B με  $(x,y,z)=(\frac{3L}{20}, \frac{3w}{8}, d+\frac{h}{7})$  βρισκόταν στο κύριο κανάλι (Σχήμα 15α). Για όλες τις περιπτώσεις υπολογίστηκε η ταχύτητα σε όλες τις διευθύνσεις ( $u_x=u$ ,  $u_y=v$ ,  $u_z=w$ ).

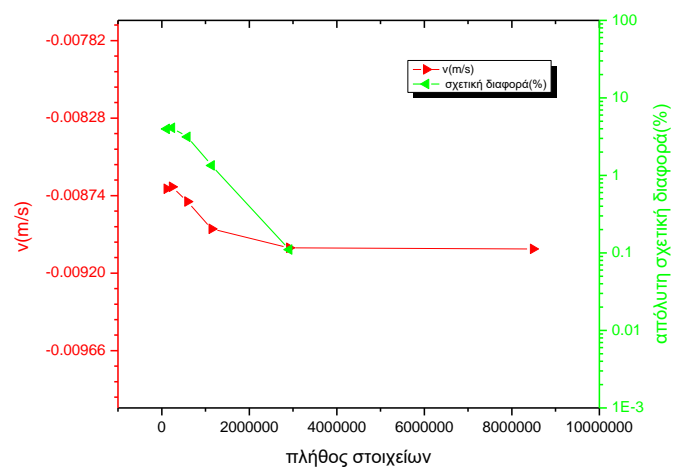
Στο σχήμα 14, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των ταχυτήτων  $u$ ,  $v$  και  $w$  για το σημείο A  $= (\frac{7L}{10}, 0, \frac{d}{2})$ , καθώς και η απόλυτη τιμή της % σχετικής διαφοράς από την ακριβέστερη λύση. Ως απόλυτη τιμή της % σχετικής διαφοράς από την ακριβέστερη λύση, ορίστηκε η απόλυτη τιμή του λόγου της διαφοράς της εκάστοτε λύσης από την ακριβέστερη του πυκνότερου πλέγματος, προς την ακριβέστερη λύση του πυκνότερου πλέγματος πολλαπλασιασμένη με 100.



α

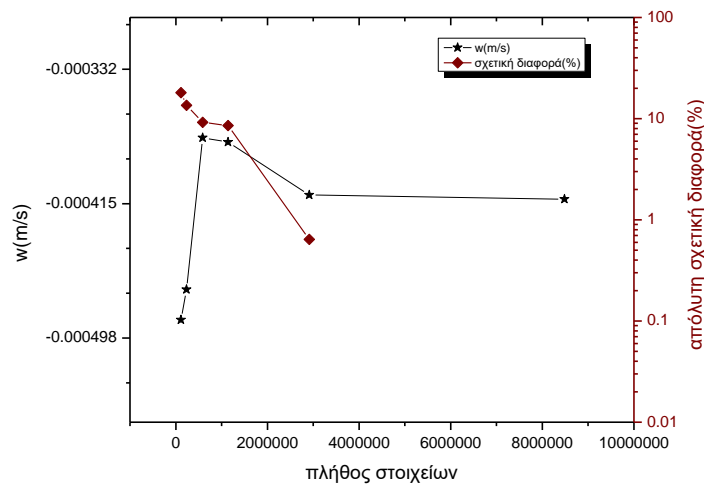


β



γ



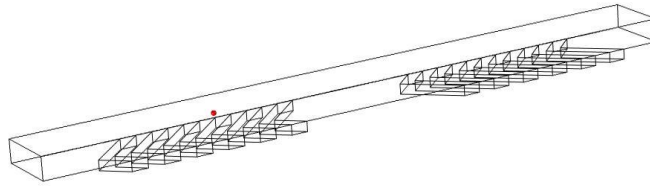


δ

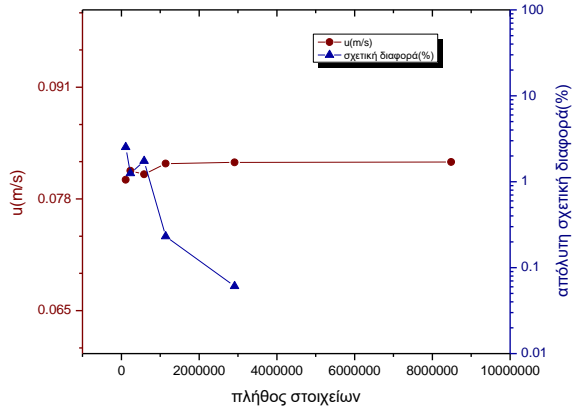
**Σχήμα 14:** α) Απεικόνιση του σημείου A ( $7L/10, 0, d/2$ ) στην διάταξη, εντός των αυλακίων, β) Ταχύτητα κατά τον άξονα β) x, γ) y και δ) z στο σημείο A και % σχετική απόλυτη διαφορά από την ακριβέστερη λύση συναρτήσει του πλήθους των στοιχείων του υπολογιστικού πλέγματος.

Στην περίπτωση του σημείου A, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 14, οι γραφικές παραστάσεις των ταχυτήτων u και v σταθεροποιούνται αρκετά γρήγορα. Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με το Σχήμα 14β, η u έχει προσεγγίσει την ακριβέστερη λύση από το πλέγμα με 1140534 στοιχεία παρουσιάζοντας σχετική διαφορά 1.1%. Επίσης από το Σχήμα 14γ, φαίνεται ότι η v έχει προσεγγίσει και αυτή την ακριβέστερη λύση στο πλέγμα με 1140534 στοιχεία, έχοντας σχετική διαφορά 0.9%. Στην περίπτωση της ταχύτητας w, όπως φαίνεται και από το Σχήμα 14δ, εμφανίζεται μία καθυστέρηση ως προς την εμφάνιση της ακριβέστερης λύσης, αφού μόλις στην περίπτωση του πλέγματος με τα 2912678 στοιχεία παρουσιάζει σχετική διαφορά 6.75%. Επομένως σύμφωνα με τα παραπάνω δεδομένα, η καταλληλότερη επιλογή του πλέγματος ήταν αυτή με τα 2912678 στοιχεία.

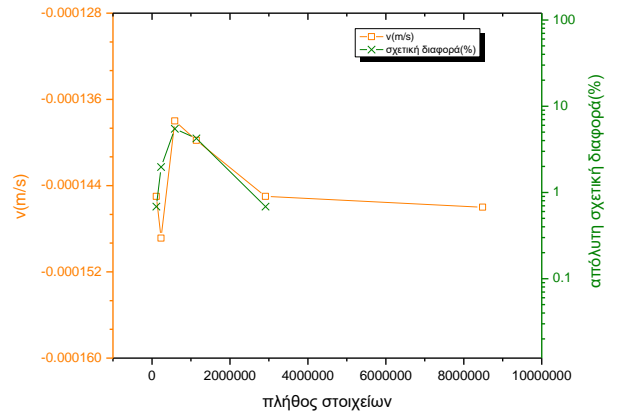
Στο Σχήμα 15 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των ταχυτήτων u, v και w για το σημείο B  $(\frac{3L}{20}, \frac{3w}{8}, d+\frac{h}{2})$ , καθώς και η απόλυτη τιμή της % σχετικής διαφοράς από την ακριβέστερη λύση.



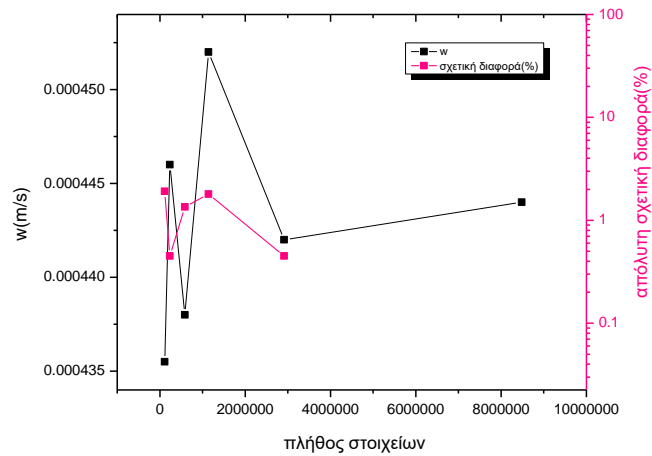
**α**



**β**



**γ**



**δ**

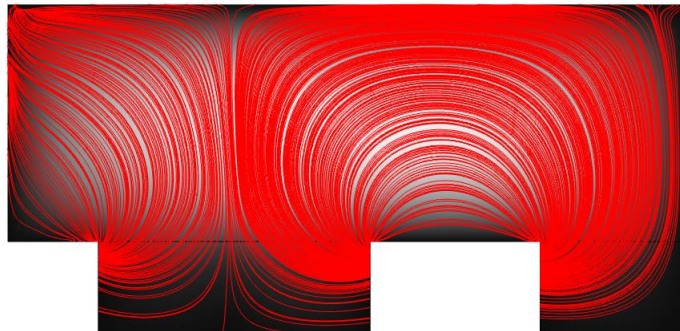
**Σχήμα 15:** α) Απεικόνιση του σημείου B ( $3L/20, 3w/8, d+h/2$ ) στην διάταξη, εντός του κύριου καναλιού, β) Ταχύτητα κατά τον άξονα β) x, γ) y και δ) z στο σημείο B και % σχετική απόλυτη διαφορά από την ακριβέστερη λύση συναρτήσει του πλήθους των στοιχείων του υπολογιστικού πλέγματος

Στην περίπτωση του σημείου B, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 15, οι γραφικές παραστάσεις των ταχυτήτων u και v σταθεροποιούνται αρκετά γρήγορα. Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με το

Σχήμα 15β, η  $u$  έχει προσεγγίσει την ακριβέστερη λύση από το πλέγμα με τα 233615 στοιχεία παρουσιάζοντας σχετική διαφορά 2%. Επίσης η  $v$  από το Σχήμα 15γ έχει προσεγγίσει την ακριβέστερη λύση στο πλέγμα με τα 1140534 στοιχεία, έχοντας σχετική διαφορά 3%. Στο επόμενο πλέγμα η σχετική διαφορά είναι κάτω από 3%. Στην περίπτωση της ταχύτητας  $w$ , όπως φαίνεται και στο Σχήμα 15δ, η εμφάνιση της ακριβέστερης λύσης γίνεται στην περίπτωση του πλέγματος με τα 1140534 στοιχεία όπου παρουσιάζει σχετική διαφορά 2%. Επομένως σύμφωνα με τα παραπάνω δεδομένα, η καταλληλότερη επιλογή του πλέγματος ήταν αυτή με τα 1140534 στοιχεία.

### 3.2 Απεικόνιση ροϊκών γραμμών διάταξης

Για τον υπολογισμό των τροχιών των σωματιδίων, οι οποίες συνέπεσαν με τις ροϊκές γραμμές λόγω μόνιμης ροής, χρησιμοποιήθηκαν οι εξισώσεις κίνησης. Οι ροϊκές γραμμές της διάταξης με ανάγλυφο ψαροκόκαλου παρουσιάζονται σε διατομή ( $y-z$ ) στο Σχήμα 16. Πιο συγκεκριμένα φαίνονται οι ροϊκές γραμμές για διατομή στην περιοχή της πρώτης σειράς αυλακίων ( $x=350\mu\text{m}$ ).



**Σχήμα 16:** Απεικόνιση ροϊκών γραμμών για διατομή ( $y-z$ ) στην περιοχή της πρώτης σειράς αυλακίων ( $x=350\mu\text{m}$ ).

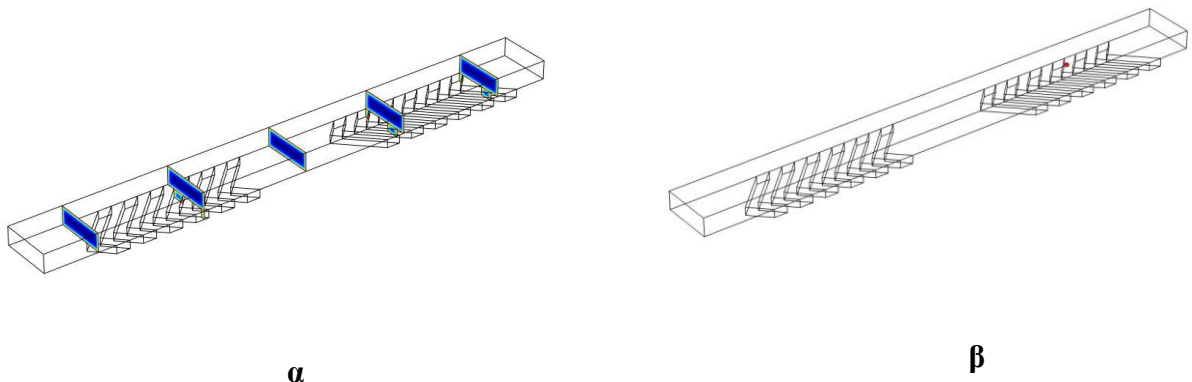
Παρατηρείται ότι η ύπαρξη αυλακίων προκαλεί δευτερογενή ροή κάθετη στην κύρια κατεύθυνση (χαοτική συναγωγή), με αποτέλεσμα την αύξηση της αλληλεπίδρασης των σωματιδίων με τα τοιχώματα.

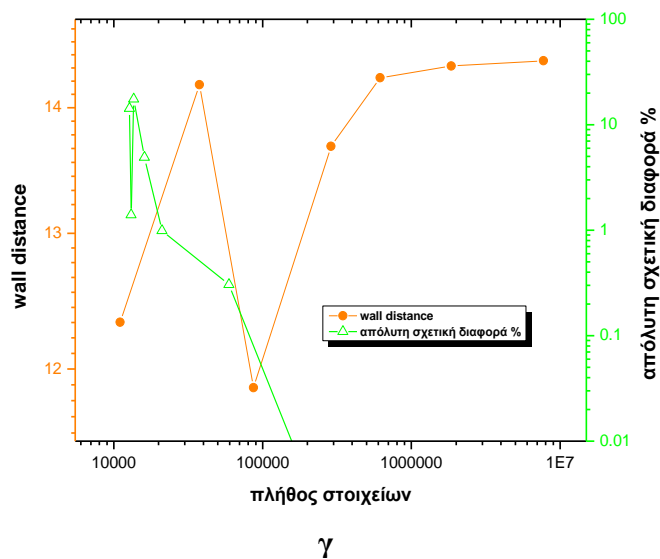
### 3.3 Υπολογισμός της απόστασης από τα τοιχώματα του καναλιού – ανεξαρτησία της λύσης από το υπολογιστικό πλέγμα

Για τον υπολογισμό της απόστασης σημείου, από τα τοιχώματα του καναλιού, χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση Eikonal. Η λύση της έγινε με τη μέθοδο εξάλειψης ιξώδους όρου (βλ. παράγραφο 2.5). Για την ανεξαρτησία της λύσης από το υπολογιστικό πλέγμα, ακολουθείται και σε αυτή την περίπτωση σταδιακή πύκνωση του πλέγματος μέχρις ότου φτάσει σε μία σταθεροποιημένη τιμή η λύση της εξίσωσης. Όταν συμβεί αυτό, τότε υπάρχει ανεξαρτησία της λύσης από το υπολογιστικό πλέγμα.

Για το παρόν πρόβλημα, η απόσταση μελετήθηκε και υπολογίστηκε με την χρήση του λογισμικού COMSOL Multiphysics® για 1 σημείο στο κύριο κανάλι. Το σημείο  $\Gamma$  με συντεταγμένες  $(x,y,z) = (\frac{4L}{5}, \frac{3w}{8}, d+\frac{3h}{14})$  (Σχήμα 17β) βρισκόταν στο κύριο κανάλι. Για το συγκεκριμένο πρόβλημα μελετήθηκαν περιπτώσεις πλεγμάτων διαδοχικά, με πλήθη στοιχείων 11006, 37581, 86906, 287789, 615784, 1855238, 7717086 (από extra coarse, coarser, coarse, normal, fine, finer και extra fine). Για όλες τις περιπτώσεις υπολογίστηκε η προσημασμένη απόσταση.

Στο Σχήμα 17 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της επίλυσης του προβλήματος της απόστασης για το σημείο  $\Gamma = (\frac{4L}{5}, \frac{3w}{8}, d+\frac{3h}{14})$ , καθώς και η % απόλυτη τιμή της σχετικής διαφοράς από την ακριβέστερη λύση.





**Σχήμα 17:** α) Η προσημασμένη απόσταση από τα τοιχώματα του καναλιού σε διαφορετικές διατομές. β) Σημείο  $\Gamma = \left( \frac{4L}{5}, \frac{3w}{8}, d + \frac{3h}{14} \right)$  που χρησιμοποιείται για τη μελέτη της ανεξαρτησίας της λύσης. γ) Προσημασμένη απόσταση και % σχετική απόλυτη διαφορά από την ακριβέστερη λύση συναρτήσει του πλήθους των στοιχείων του υπολογιστικού πλέγματος.

Αναλύοντας τα αποτελέσματα του σημείου  $\Gamma \left( \frac{4L}{5}, \frac{3w}{8}, d + \frac{3h}{14} \right)$ , όπως φαίνεται και στο Σχήμα 17γ, παρατηρείται ότι από το πλήθος των 287789 στοιχείων του πλέγματος, ξεκινάει να σταθεροποιείται η λύση αφού η σχετική διαφορά είναι 5%. Στην επόμενη πυκνώση του πλέγματος, δηλαδή σε αυτό με τα 615784 στοιχεία η σχετική διαφορά πέφτει κάτω από το 1%. Άρα η λύση του προβλήματος της απόστασης από τα τοιχώματα είναι ανεξάρτητη από το υπολογιστικό πλέγμα και γίνεται επιλογή του πλήθους με τα 287789 στοιχεία για την επίλυση του προβλήματος.

### 3.4 Πλήθος σωματιδίων για ανεξάρτητη από το πλήθος λύση

Είναι γνωστό ότι η ταχύτητα του ρευστού σε μικροκανάλια υπό συνθήκες στρωτής ροής, είναι μεγαλύτερη στο κέντρο από ότι στα τοιχώματα. Για αυτό το λόγο, όταν υπάρχει δεξαμενή συνεχούς τροφοδοσίας σωματιδίων στη δομική μονάδα της διάταξης, περισσότερα σωματίδια εισέρχονται από το κέντρο της διατομής του καναλιού παρά από τις περιοχές κοντά στα τοιχώματα. Στην πραγματικότητα, το πλήθος των σωματιδίων σε κάθε σημείο στην είσοδο της

δομικής μονάδας είναι ανάλογο με τη ταχύτητα της ροϊκής γραμμής που ξεκινά από αυτό (Σχήμα 18β).

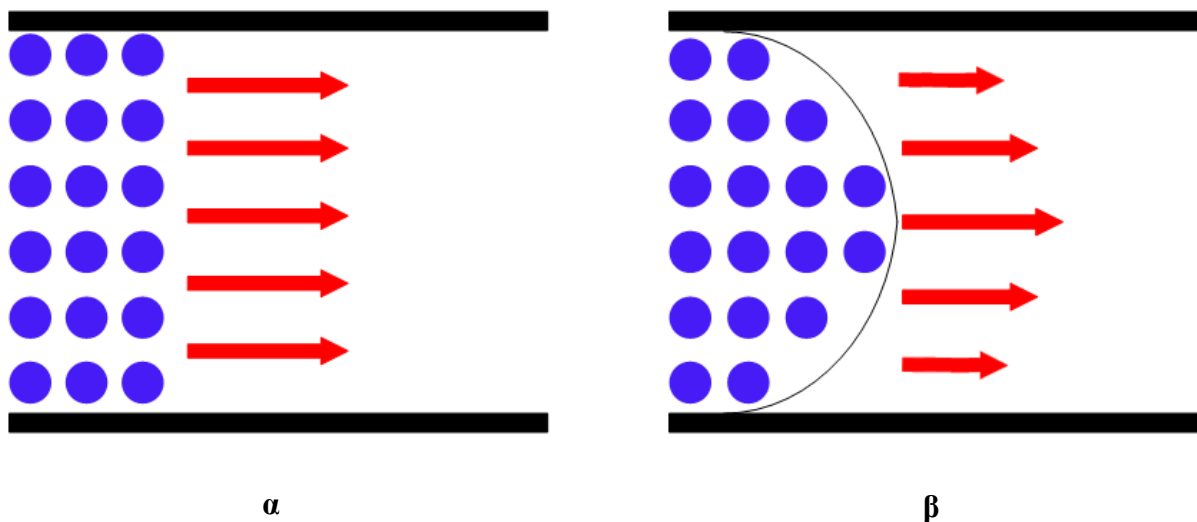
Αυτό το, ανάλογο της ταχύτητας, προφίλ εισόδου σωματιδίων ισχύει όταν έχουμε συνεχή τροφοδοσία σωματιδίων από κάποια δεξαμενή. Αν στη δομική μονάδα τροφοδοτείται μία μικρή ποσότητα σωματιδίων που δημιουργεί ένα plug σωματιδίων, τότε θα πρέπει να θεωρηθεί ομοιόμορφη κατανομή σωματιδίων στην είσοδο ανεξάρτητη της τοπικής ταχύτητας (Σχήμα 18α).

Στη συνέχεια εξετάζεται η επίδραση της κατανομής των σωματιδίων στην είσοδο καθώς και του συνολικού τους πλήθους στο ποσοστό των προσκολλημένων σωματιδίων σε μία δομική μονάδα. Αναπτύχθηκε κατάλληλος κώδικας σε C++ για την παραγωγή των συντεταγμένων εισόδου των σωματιδίων. Σε κάθε περίπτωση τα σημεία εισαγωγής ήταν ισαπέχοντα. Για την εύρεση των σωματιδίων που προσκολλώνται στα τοιχώματα της δομικής μονάδας αναπτύχθηκε κώδικας στο λογισμικό MATLAB. Σύμφωνα με αυτόν, τα σωματίδια που προσεγγίζουν τα τοιχώματα σε απόσταση μικρότερη των ακτινών τους, προσκολλώνται. Επίσης, ελέγχεται η απόσταση αυτή από ποιο τοίχωμα είναι και γίνεται ένας ακόμη διαχωρισμός του πλήθους των σωματιδίων που προσκολλώνται σε κάθε τοίχωμα.

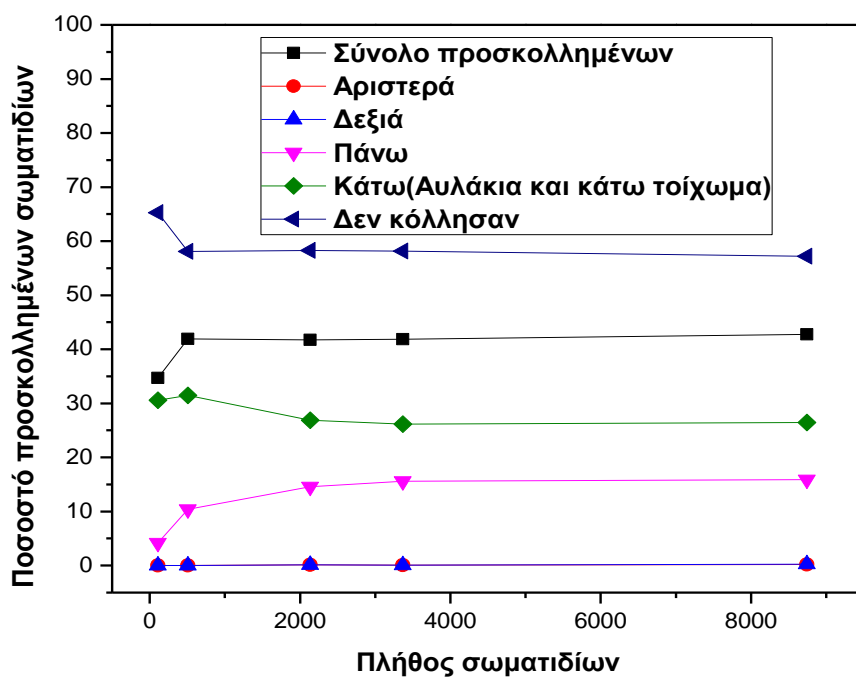
Η μελέτη με την ομοιόμορφη και μη κατανομή σωματιδίων στην είσοδο έγινε για 5 διαφορετικά πλήθη σωματιδίων γραμμών ώστε να ελεγχθεί και η ανεξαρτησία της προσκόλλησης των σωματιδίων από το πλήθος τους. Τα πλήθη αυτά αφορούσαν 108, 507, 2133, 3366 και 8745 σωματίδια για την ομοιόμορφη κατανομή και 174, 1411, 7851, 17009, 92690 για την ανομοιόμορφη (την ανάλογη της τοπικής ταχύτητας). Τα σωματίδια είχαν ακτίνα 10  $\mu\text{m}$  και ο αριθμός Re ήταν ίσος με 5. Τα αποτελέσματα φαίνονται στα Σχήματα 19 και 20.

Ομοιόμορφο προφίλ

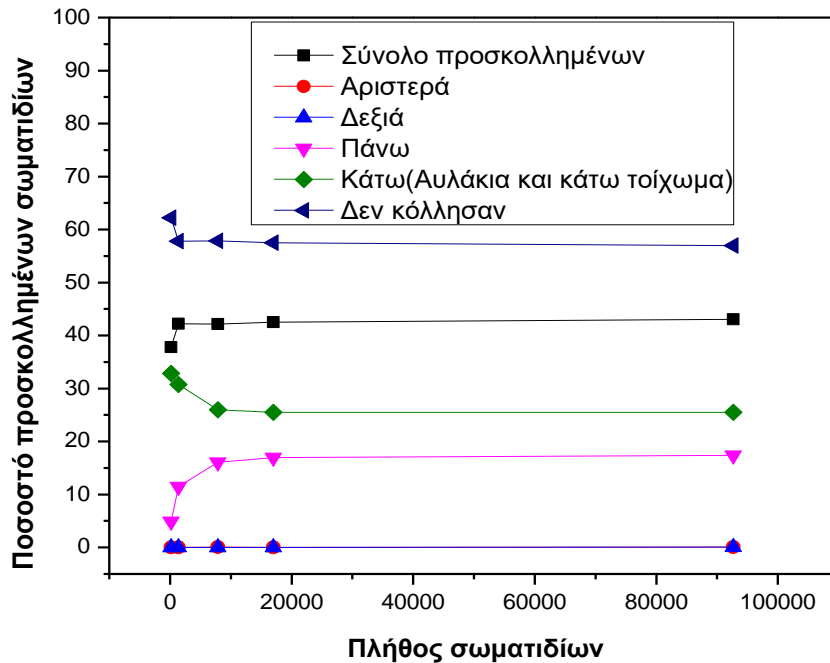
Προφίλ ανάλογο της ταχύτητας



Σχήμα 18: α) Ομοιόμορφο και β) ανάλογο της τοπικής ταχύτητας προφίλ πλήθους σωματιδίων στην είσοδο της δομικής μονάδας της διάταξης.



**Σχήμα 19:** Ποσοστό προσκολλημένων σωματιδίων στα διαφορετικά τοιχώματα μιας δομικής μονάδας για ομοιόμορφο προφίλ.



**Σχήμα 20:** Ποσοστό προσκολλημένων σωματιδίων στα διαφορετικά τοιχώματα μιας δομικής μονάδας για προφίλ εισόδου σωματιδίων ανάλογο της τοπικής ταχύτητας στην είσοδο

Όπως φαίνεται στα Σχήματα 19 και 20, το ποσοστό των σωματιδίων που προσκολλώνται σε κάθε τοίχωμα μίας δομικής μονάδας αρχίζει και σταθεροποιείται από τα 2133 σωματίδια για το ομοιόμορφο προφίλ (Σχήμα 19) και από τα 8753 σωματίδια για το προφίλ που είναι ανάλογο της τοπικής ταχύτητας εισόδου. Αυτό σημαίνει ότι από τα δύο αυτά πλήθη σωματιδίων και πάνω, η προσκόλληση είναι ανεξάρτητη από το πλήθος των σωματιδίων που μελετάται.

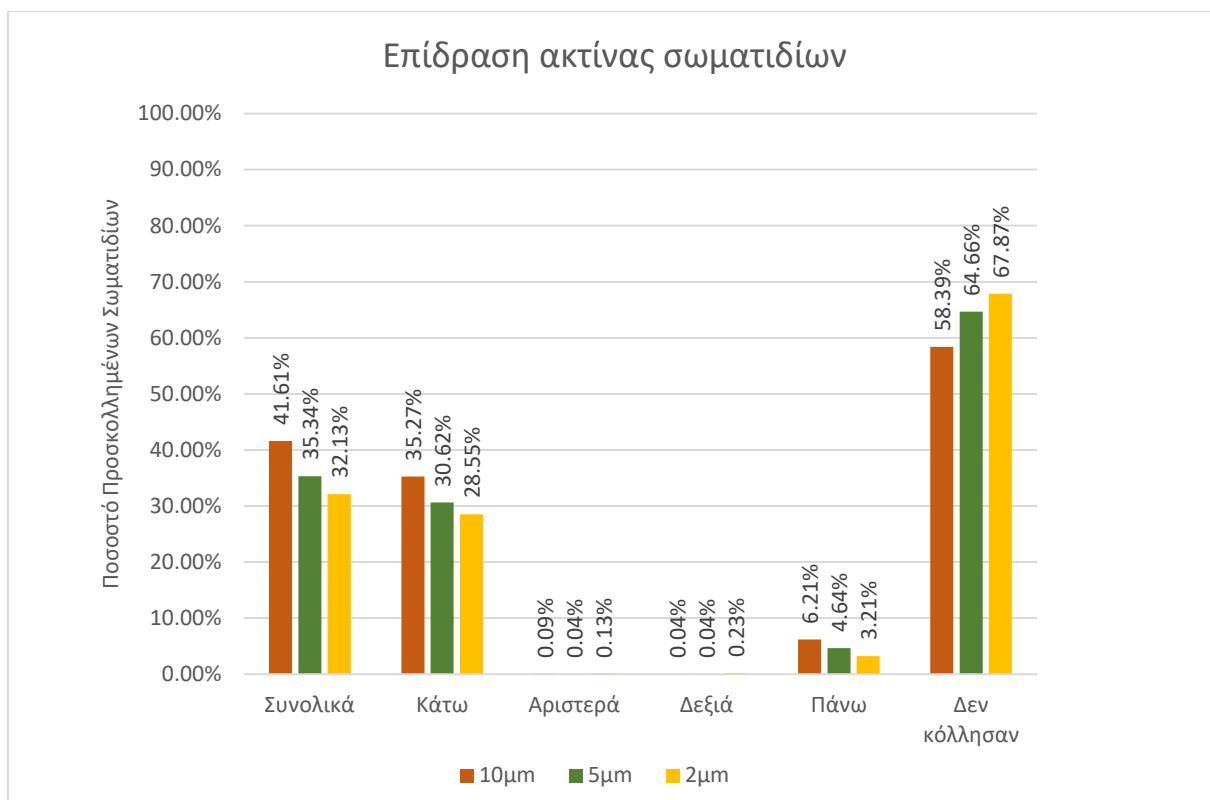
Παρατηρείται επίσης οι διαφορές στα ποσοστά προσκόλλησης είναι μικρές μεταξύ του ομοιόμορφου και του ανάλογου της ταχύτητας προφίλ. Πιο συγκεκριμένα το προφίλ που είναι ανάλογο της τοπικής ταχύτητας έχει αυξημένα ποσοστά σε όλες τις περιπτώσεις κατά 1% - 2%. Αναφορικά με τα ποσοστά προσκόλλησης, φαίνεται ότι και στις 2 περιπτώσεις ακολουθούν το ίδιο μοτίβο. Το ποσοστό των συνολικά προσκολλημένων σωματιδίων ήταν



42% ενώ αυτών που δεν κόλλησαν, ήταν 58%. Η μεγαλύτερη προσκόλληση των σωματιδίων γίνεται στο κάτω τοίχωμα, το οποίο περιλαμβάνει τα αυλάκια και τον πυθμένα της διάταξης, με ποσοστό προσκόλλησης 26,5%. Το αμέσως επόμενο μεγάλο ποσοστό είναι αυτό της πάνω επιφάνειας της διάταξης με 16%. Τέλος, τα χαμηλότερα ποσοστά προσκόλλησης τα έχουν τα πλάγια τοιχώματα της διάταξης, αριστερά και δεξιά με ποσοστά κάτω από 1%.

### *3.5 Επίδραση της ακτίνας των σωματιδίων στην προσκόλληση τους στα τοιχώματα του καναλιού*

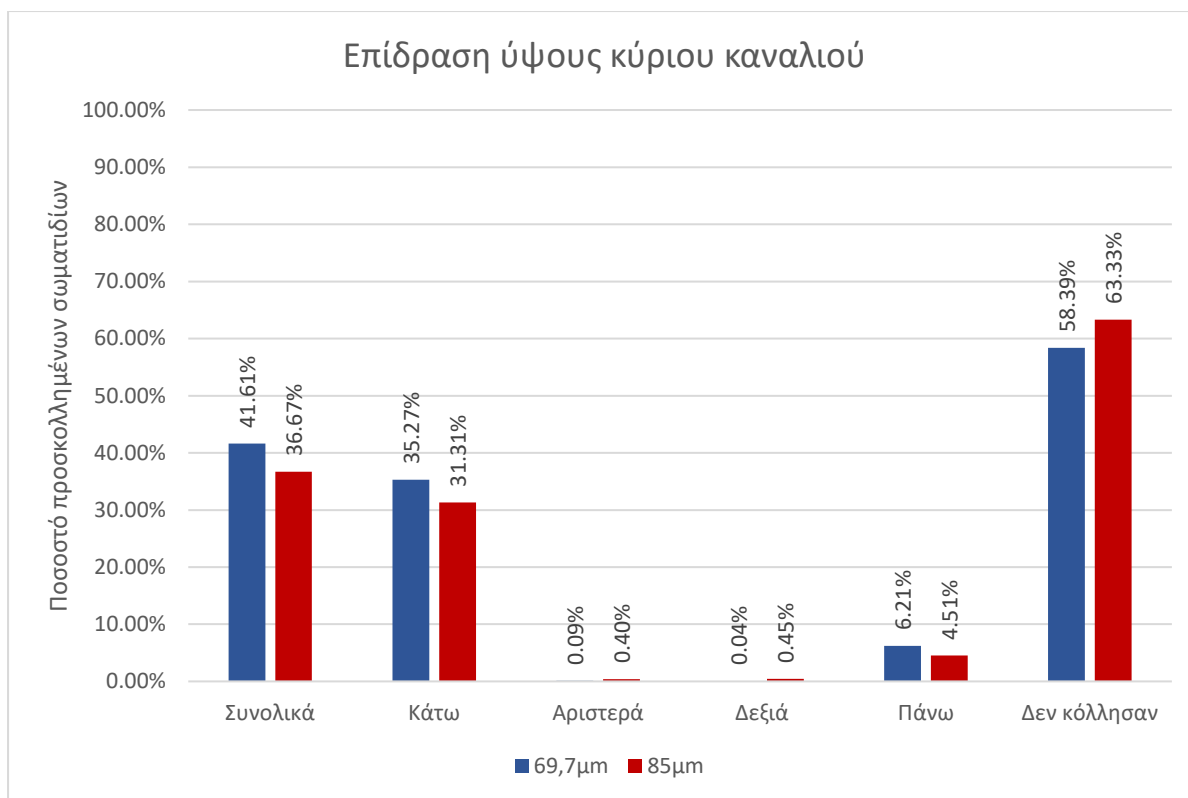
Στην συνέχεια, μελετήθηκε η επίδραση της ακτίνας των σωματιδίων στην προσκόλλησή τους στα τοιχώματα. Η μελέτη έγινε για αριθμό Re ίσο με 5 και για πλήθος σωματιδίων ίσο με 8745 με ομοιόμορφο προφίλ στην είσοδο. Οι ακτίνες των σωματιδίων που μελετήθηκαν ήταν 10  $\mu\text{m}$ , 5  $\mu\text{m}$  και 2,5  $\mu\text{m}$ . Στο Σχήμα 21 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για τις 3 ακτίνες. Αναλύοντας τα αποτελέσματα του Σχήματος 21, παρατηρείται ότι όσο μικραίνει η ακτίνα των σωματιδίων, ελαττώνεται το ποσοστό προσκόλλησης των σωματιδίων στις επιφάνειες της διάταξης. Πιο συγκεκριμένα το συνολικό ποσοστό των προσκολλημένων σωματιδίων ήταν 41,6% για ακτίνα 10  $\mu\text{m}$ , 35,34% για ακτίνα 5  $\mu\text{m}$  και 32,13% για ακτίνα 2  $\mu\text{m}$ . Ερευνώντας την κατανομή των προσκολλημένων σωματιδίων στις επιφάνειες της διάταξης παρατηρείται ότι για το κάτω τοίχωμα, δηλαδή για τον πυθμένα και τα αυλάκια, το ποσοστό των προσκολλημένων μειώνεται από τα 10  $\mu\text{m}$  στα 5  $\mu\text{m}$  και στα 2  $\mu\text{m}$ , ακολουθώντας το μοτίβο των συνολικών. Επίσης για το επάνω τοίχωμα, παρατηρείται η ίδια μείωση όπως και για το κάτω. Για την περίπτωση του προφίλ εισόδου των σωματιδίων που είναι αναλογικό με την ταχύτητα, οι υπολογισμοί δεν έδειξαν σημαντικές διαφορές, καθώς όλα τα ποσοστά διέφεραν μόλις κατά 1% – 1,5%, σε σχέση με αυτά του ομοιόμορφου προφίλ.



**Σχήμα 21:** Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκόλλησης σωματιδίων, ποσοστού προσκόλλησης στο άνω, κάτω και στα πλάγια τοιχώματα (δεξιά και αριστερά) πλαγίων τοιχωμάτων καθώς και ποσοστό μη προσκολλημένων σωματιδίων για σωματίδια ακτίνας 10 μm, 5 μm και 2μm.

### 3.6 Μελέτη επίδρασης ύψους κύριου καναλιού στο ποσοστό προσκόλλησης των σωματιδίων.

Στην συνέχεια, μελετήθηκε η επίδραση του ύψους του κύριου καναλιού στο ποσοστό των προσκολλημένων σωματιδίων. Πιο συγκεκριμένα, παρουσιάζεται μία σύγκριση μεταξύ διατάξεων με αυλάκια γεωμετρίας ψαροκόκαλου με ύψος κύριου καναλιού 69,7 μm όπως αναφέρεται στην εργασία των Stroock et al.[40] και με ύψος 85 μm όπως αναφέρεται στην εργασία των Gavriilidis et al [53]. Οι προσομοιώσεις έγιναν για αριθμό Re ίσο με 5, με σωματίδια ακτίνας 10 μm τόσο για ομοιόμορφο προφίλ όσο και για προφίλ εισόδου των σωματιδίων που εξαρτάται από την ταχύτητα και για τις 2 περιπτώσεις ύψους του κύριου καναλιού. Στο σχήμα 22, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για το ομοιόμορφο προφίλ εισόδου και για τις 2 περιπτώσεις ύψους των κύριου καναλιού της διάταξης.



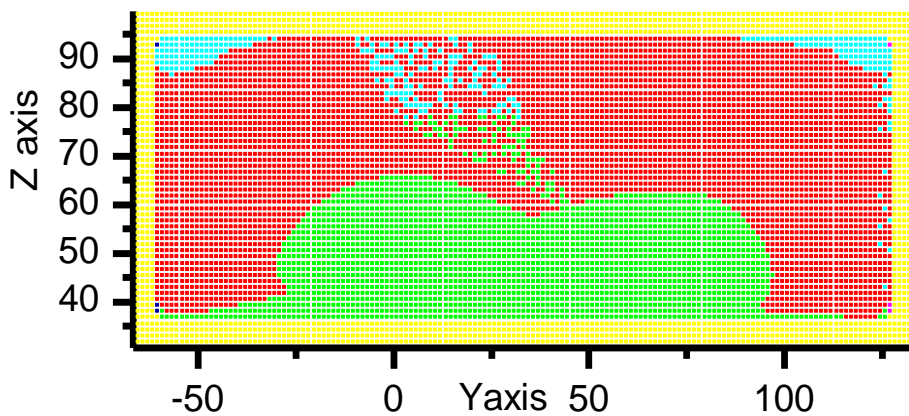
**Σχήμα 22:** Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκόλλησης σωματιδίων, ποσοστού προσκόλλησης στο άνω, κάτω και στα πλαγία τοιχώματα (δεξιά και αριστερά) καθώς και ποσοστό μη προσκολλημένων σωματιδίων για ομοιόμορφο προφίλ εισόδου, με σωματίδια ακτίνας 10μm και ύψη κύριου καναλιού 69,7μm και 85μm.

Αναλύοντας τα αποτελέσματα του Σχήματος 22, παρατηρείται ότι για την περίπτωση του μικρότερου ύψους του κύριου καναλιού, δηλαδή για τα 69,7 μm, το ποσοστό των συνολικά προσκολλημένων σωματιδίων είναι μεγαλύτερο κατά 5%, σε σχέση με το κύριο κανάλι ύψους 85 μm. Επίσης, όσον αφορά την προσκόλληση στα επιμέρους τοιχώματα, φαίνεται μία μείωση του ποσοστού προσκόλλησης για το κάτω τοίχωμα, δηλαδή τον πυθμένα και τα αυλάκια, στην περίπτωση των 85 μm φτάνοντας το ποσοστό 31,3% σε σχέση με τα 69,7μm που ήταν 35,2%. Παράλληλα παρατηρήθηκε και μία μείωση στο ποσοστό των σωματιδίων που προσκολλώνται στο επάνω τοίχωμα, όπου ενώ για τα 69,7 μm ήταν 6,21%, για τα 85μm έφτασε σε ποσοστό 4,51%. Για τις περιπτώσεις των αριστερών και δεξιών τοιχωμάτων παρατηρείται και στις 2 περιπτώσεις αρκετά χαμηλό ποσοστό, κάτω από 1%. Για την περίπτωση του προφίλ εισόδου των σωματιδίων που εξαρτάται από την ταχύτητα, οι υπολογισμοί δεν έδειξαν σημαντικές διαφορές, καθώς όλα τα ποσοστά διέφεραν μόλις κατά 1%–1,5% σε σχέση με αυτά του ομοιόμορφου προφίλ.

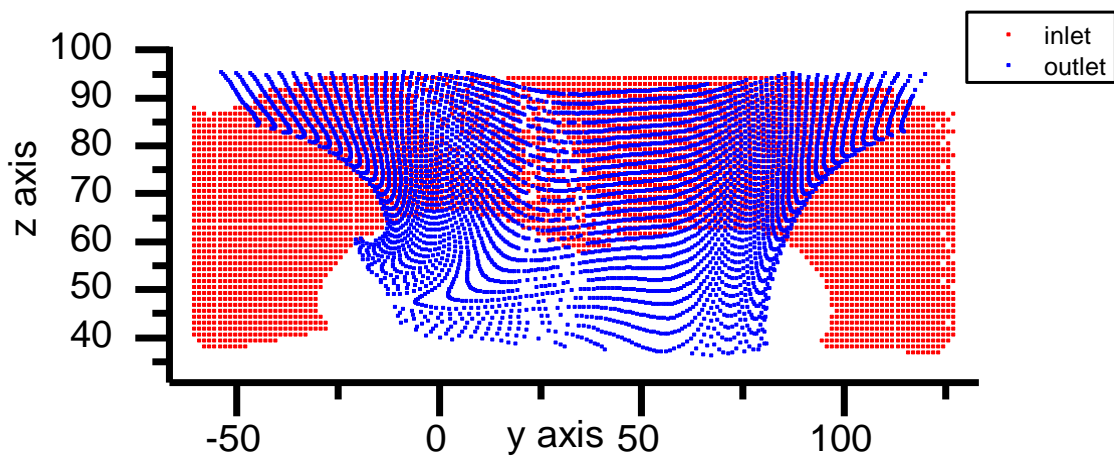
### *3.7 Χαρτογράφηση συμπεριφοράς σωματιδίων στην είσοδο της δομικής μονάδας για διαφορετικές ακτίνες σωματιδίων.*

Στην παρούσα παράγραφο παρουσιάζεται γραφικά το αποτέλεσμα της συμπεριφοράς σωματιδίων ακτίνας 5  $\mu\text{m}$  σε μία δομική μονάδα. Η συμπεριφορά χαρτογραφείται σημειώνοντας στη θέση εισόδου την κατάληξη του σωματιδίου δηλαδή αν κολλάει και σε ποιο τοίχωμα. Αυτή η χαρτογράφηση είναι δυνατόν να γίνει από την εξαγωγή αρχείου το οποίο περιέχει τις αρχικές και της τελικές συντεταγμένες των ροϊκών γραμμών καθώς και την πληροφορία, ποια από αυτές οδηγεί σε προσκόλληση και σε ποιο τοίχωμα. Παρουσιάζονται δηλαδή όχι μόνο ποια σωματίδια προσκολλώνται αλλά και πού γίνεται η προσκόλληση. Στο Σχήμα 23 φαίνονται οι θέσεις των σωματιδίων στην είσοδο. Με κίτρινο χρώμα παρουσιάζονται εκείνα που κατά την είσοδο τους κολλούν αμέσως (αποκλείονται από την καταμέτρηση και τα ποσοστά λόγω της μικρής απόστασής τους από το κοντινότερο τοίχωμα), με πράσινο χρώμα χαρακτηρίζονται αυτά που προσκολλώνται στο κάτω τοίχωμα, με γαλάζιο στο επάνω τοίχωμα, με σκούρο μπλέ αυτά που προσκολλώνται στο αριστερό τοίχωμα, με μώβ αυτά στο δεξιό και με κόκκινο εκείνα που δεν προσκολλώνται πουθενά.

Στην συνέχεια, χαρτογραφήθηκαν στο ίδιο διάγραμμα, τόσο οι συντεταγμένες εισόδου, όσο και οι συντεταγμένες εξόδου των σωματιδίων που δεν προσκολλώνται πουθενά. Στο Σχήμα 24, παρουσιάζονται με κόκκινο χρώμα οι συντεταγμένες εισόδου των σωματιδίων και με μπλε χρώμα οι συντεταγμένες εξόδου.



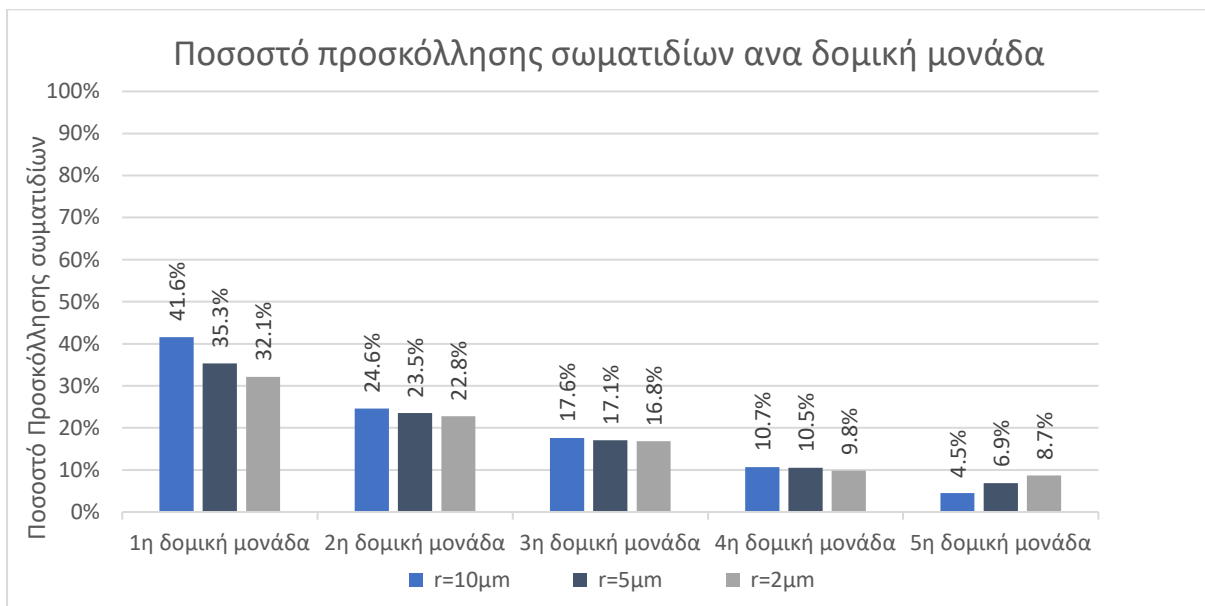
**Σχήμα 23:** Χαρτογράφηση εισόδου σωματιδίων για 5μm. Με κίτρινο χρώμα παρουσιάζονται εκείνες που κατά την είσοδο τους αποκλείονται λόγω της απόστασης τους από το κοντινότερο τοίχωμα, με πράσινο χρώμα χαρακτηρίζονται αυτές που προσκολλώνται στο κάτω τοίχωμα, με γαλάζιο στο επάνω τοίχωμα, με κόκκινο εκείνες που δεν προσκολλώνται κάπου και με άλλα χρώματα στο αριστερό και δεξιό τοίχωμα.



**Σχήμα 24:** Χαρτογράφηση εισόδου-εξόδου σωματιδίων που δεν προσκολλώνται για ακτίνα 5μm. Με κόκκινο χρώμα παρουσιάζεται η είσοδος εκείνων που δεν προσκολλώνται κάπου και με μπλέ χρώμα η έξοδος τους.

Με δεδομένη την χαρτογράφηση των θέσεων των σωματιδίων (είσοδος-έξοδος), αλλά και του αποτελέσματος (προσκολληση ή μη) που έχουν αυτά κατά την κίνηση τους μέσα σε μία δομική μονάδα, κατέστη δυνατή η εύρεση του πλήθους των δομικών μονάδων για να υπάρξει προσκόλληση σωματιδίων σε ποσοστό > 90%. Αυτό συνέβη καθώς οι συντεταγμένες εξόδου της 1<sup>ης</sup> δομικής μονάδας αποτελούν συντεταγμένες εισόδου για την 2<sup>η</sup> δομική μονάδα.

Αντίστοιχα για όσες δομικές μονάδες χρησιμοποιήθηκαν, οι συντεταγμένες εξόδου των προηγούμενων είναι οι συντεταγμένες εισόδου των επόμενων. Με την επανάληψη της διαδικασίας και αφαιρώντας πάντα τα σωματίδια που θεωρούνται προσκολλημένα, η διαδικασία οδηγεί σε υπολογισμό των προσκολλημένων σωματιδίων στις διαδοχικές δομικές μονάδες, όπως φαίνεται στο Σχήμα 25. Σε αυτό, παρουσιάζονται γραφικά τα ποσοστά προσκόλλησης για ακτίνες σωματιδίων 10, 5 και 2 $\mu\text{m}$  για 5 δομικές μονάδες.



**Σχήμα 25:** Ποσοστό προσκόλλησης σωματιδίων ανά δομική μονάδα για σωματίδια ακτίνας 10, 5 και 2  $\mu\text{m}$ .

Από το Σχήμα 25, παρατηρήθηκε ότι για όλες τις ακτίνες σωματιδίων χρειάζονται τουλάχιστον 5 δομικές μονάδες για να επιτευχθεί συνολικό ποσοστό προσκόλλησης >90%. Επίσης, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όσο μειώνεται η ακτίνα των κινούμενων σωματιδίων τόσο μικραίνει και το ποσοστό προσκόλλησης τους σε κάθε δομική μονάδα. Τέλος, φαίνεται μία φθίνουσα πορεία του ποσοστού προσκόλλησης, όσο προστίθενται δομικές μονάδες, κάτι το οποίο είναι λογικό, αφού μειώνονται συνεχώς τα σωματίδια που κινούνται μέσα σε αυτές.

## **4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΣΥΖΗΤΗΣΗ**





Σκοπός της παρούσας εργασίας, ήταν η μελέτη του διαχωρισμού σπανίων κυττάρων με τη χρήση μίας μικρορευστονικής διάταξης με ανάγλυφο πυθμένα γεωμετρίας ψαροκόκαλου. Η χαρακτηριστική αυτή διάταξη, που ανήκει στις ανοσοχημικές μεθόδους εκμεταλλεύεται την ύπαρξη χαοτικής συναγωγής [36], η οποία ωθεί στην δημιουργία περισσότερων αλληλεπιδράσεων με τα τοιχώματα της διάταξης. Η γεωμετρία της διάταξης που επιλέχθηκε, ήταν αυτή των Stroock et al. [40]. Αρχικά, υπολογίστηκε το πεδίο ροής σύμφωνα με τις εξισώσεις συνέχειας και Navier-Stokes, έπειτα έγινε υπολογισμός των τροχιών των σωματιδίων και στην συνέχεια ακολούθησε η επίλυση της εξίσωσης Eikonal για την εύρεση των αποστάσεων των τροχιών από τα τοιχώματα. Έγινε η υπόθεση ότι τα κύτταρα ήταν σωματίδια αμελητέας μάζας και ακολουθούν μία κίνηση επάνω στις ροϊκές γραμμές καθώς η ροή ήταν στρωτή σύμφωνα με την μέθοδο της ιχνηλασίας. Επίσης θεωρήθηκε ότι τα σωματίδια των οποίων η απόσταση από ένα τοίχωμα της διάταξης ήταν μικρότερη των ακτινών τους, κολλούσαν στα τοιχώματα.

Τα συμπεράσματα της παρούσας εργασίας συνοψίζονται στα παρακάτω:

A) Τα σπάνια κύτταρα παρουσιάζουν αλληλεπίδραση με όλα τα τοιχώματα της διάταξης καθώς σε όλα εμφανίζονται ποσοστά προσκόλλησης. Ωστόσο, το κάτω τοίχωμα (πυθμένας και αυλάκια) εμφανίζει τα μεγαλύτερα ποσοστά προσκόλλησης, αποτελώντας εκείνο το τοίχωμα που έχει την σημαντικότερη αλληλεπίδραση με τα σπάνια κύτταρα. Αυτό συμβαίνει καθώς η ύπαρξη των αυλακίων στον πυθμένα κάνει εντονότερα τα φαινόμενα των αλληλεπιδράσεων με αποτέλεσμα να προσκολλάται μεγαλύτερος αριθμός σωματιδίων.

B) Όταν οι επιφάνειες της διάταξης είναι κατάλληλα ενεργοποιημένες, παρατηρήθηκε ότι τα συνολικά ποσοστά προσκόλλησης για ακτίνες σωματιδίων 10, 5 και 2  $\mu\text{m}$  είναι 41,6%, 35,3% και 32,1% αντίστοιχα. Τα μεγαλύτερα ποσοστά προσκόλλησης παρατηρούνται στο κάτω τοίχωμα (πυθμένας και αυλάκια) για όλες τις περιπτώσεις ακτινών των σωματιδίων, ενώ το αμέσως επόμενο είναι το ποσοστό στο πάνω τοίχωμα. Τα ποσοστά προσκόλλησης στο αριστερό και δεξιό τοίχωμα είναι πολύ μικρά. Η ανάλυση έδειξε ότι η μείωση της ακτίνας των σωματιδίων, επιφέρει μείωση στα ποσοστά των προσκολλούμενων σωματιδίων. Η μείωση πραγματοποιείται αναλογικά σε όλα τα τοιχώματα της διάταξης.

Γ) Τα αποτελέσματα σχετικά με την μελέτη προσκόλλησης για 2 διαφορετικά ύψη κύριου καναλιού, 69,7 και 85  $\mu\text{m}$ , για την ίδια ακτίνα σωματιδίων ίση με 10 $\mu\text{m}$ , έδειξαν συνολικά ποσοστά 41,6% και 36,6% αντίστοιχα. Παρατηρήθηκε μείωση των προσκολλούμενων σωματιδίων με την αύξηση του ύψους του κύριου καναλιού. Η μείωση στα ποσοστά

προσκόλλησης γίνεται αναλογικά για όλα τα τοιχώματα της διάταξης. Δ)Τέλος, η ανάλυση των υπολογισμών σχετικά με το πλήθος των διαδοχικών μονάδων που χρειάζονται για να επιτευχθεί προσκόλληση σωματιδίων > 90% , έδειξε ότι χρειάζονται τουλάχιστον 5 διαδοχικές μονάδες και για τις 3 διαφορετικές ακτίνες σωματιδίων 10, 5 και 2 μm. Τα ποσοστά των προσκολλημένων σωματιδίων φθίνουν τόσο με την προσθήκη νέων δομικών μονάδων όσο και συγκριτικά μεταξύ των 3 διαφορετικών ακτίνων.

Ε) Έγιναν υπολογισμοί για ομοιόμορφο προφίλ εισόδου αλλά και για προφίλ εισόδου σωματιδίων ανάλογου της τοπικής ταχύτητας εισόδου στην διάταξη. Οι διαφορές στα ποσοστά προσκόλλησης ήταν σχεδόν αμελητέες, κυμαίνονταν περίπου στο 1%.

Η παρούσα εργασία συμπληρώνει τις λιγοστές εργασίες στη βιβλιογραφία που ποσοτικοποιούν την αλληλεπίδραση κυττάρων με τα τοιχώματα μικρορρευστονικών διατάξεων [52–54]. Σε σχέση με αυτές τις εργασίες, η μελέτη στην παρούσα είναι συστηματικότερη, αφού περιλαμβάνει μελέτες ανεξαρτησίας της λύσης από το υπολογιστικό πλέγμα και το πλήθος των σωματιδίων. Το υπολογιστικό πλαίσιο είναι γενικότερο από το αντίστοιχο των προγενέστερων εργασιών: Η επίλυση της εξίσωσης Eikonal για τον υπολογισμό της απόστασης από τα τοιχώματα επιτρέπει την εφαρμογή του πλαισίου σε οποιαδήποτε γεωμετρία, όσο πολύπλοκη κι αν είναι. Στην παρούσα εργασία επίσης μελετάται η επίδραση του προφίλ εισόδου των σωματιδίων στα αποτελέσματα. Τέλος, πολύ σημαντική διαφορά σε σχέση με τις προηγούμενες εργασίες είναι η μελέτη της συμπεριφοράς προσκόλλησης των σωματιδίων σε περισσότερες από μία δομικές μονάδες στη μικρορρευστονική διάταξη που μπορεί να δώσει το πλήθος των μονάδων που απαιτούνται (το μήκος της μικρορρευστονικής διάταξης) για επιθυμητό ποσοστό προσκόλλησης σωματιδίων.

Στην παρούσα μελέτη, η συνθήκη προσκόλλησης των σωματιδίων στα τοιχώματα ήταν η απόσταση (από τα τοιχώματα) να είναι μικρότερη από την ακτίνα των σωματιδίων. Έτσι, κάθε σωματίδιο που έρχεται κοντά στο τοίχωμα προσκολλάται. Σε μελλοντική εργασία, θα πρέπει να μελετηθεί ο μηχανισμός πρόσδεσης των σωματιδίων στα αντισώματα του τοιχώματος, το δίπολο υποδοχέα-ενζύμου. Οι δυνάμεις στο δίπολο καθορίζουν την πιθανότητα δημιουργίας αλλά και καταστροφής της σύνδεσης μεταξύ κυττάρου και αντισώματος. Παράλληλα, είναι σημαντική και η μελέτη της τοπικής διατμητικής τάσης που δημιουργείται στις περιοχές πρόσδεσης των κυττάρων με τα τοιχώματα καθώς επηρεάζει αρκετά την σύνδεση ή την αποσύνδεση αυτή. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των κυττάρων, αποτελεί ένα ακόμη παράγοντα

που μπορεί να έχει ενδιαφέρον, καθώς μπορεί να επηρεάσει την δυναμική της κίνησης μέσα στην διάταξη σε δείγματα όπου η συγκέντρωση των κυττάρων είναι υψηλή.

## **5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**



- [1] Hosokawa K, Fujii T and Endo I 1999 Handling of Picoliter Liquid Samples in a Poly(dimethylsiloxane)-Based Microfluidic Device *Anal. Chem.* **71** 4781–5
- [2] Ghallab Y and Badawy W 2004 Sensing methods for dielectrophoresis phenomenon: from bulky instruments to lab-on-a-chip *IEEE Circuits Syst. Mag.* **4** 5–15
- [3] Pawell R S, Inglis D W, Barber T J and Taylor R A 2013 Manufacturing and wetting low-cost microfluidic cell separation devices *Biomicrofluidics* **7** 056501
- [4] Reboud J, Xu G, Garrett A, Adriko M, Yang Z, Tukahebwa E M, Rowell C and Cooper J M 2019 Paper-based microfluidics for DNA diagnostics of malaria in low resource underserved rural communities *Proc Natl Acad Sci USA* **116** 4834–42
- [5] Anon geiger2001.pdf
- [6] Dharmasiri U, Witek M A, Adams A A and Soper S A 2010 Microsystems for the Capture of Low-Abundance Cells *Annual Rev. Anal. Chem.* **3** 409–31
- [7] ASHWORTH TR 1869 A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death *Aust Med J.* **14** 146
- [8] Pantel K, Brakenhoff R H and Brandt B 2008 Detection, clinical relevance and specific biological properties of disseminating tumour cells *Nature Reviews Cancer* **8** 329–40
- [9] Herzenberg L A, Bianchi D W, Schröder J, Cann H M and Iverson G M 1979 Fetal cells in the blood of pregnant women: detection and enrichment by fluorescence-activated cell sorting *PNAS* **76** 1453–5
- [10] Challen G A, Boles N, Lin K-Y K and Goodell M A 2009 Mouse hematopoietic stem cell identification and analysis *Cytometry Part A* **75A** 14–24
- [11] Chen Y, Li P, Huang P-H, Xie Y, Mai J D, Wang L, Nguyen N-T and Huang T J 2014 Rare cell isolation and analysis in microfluidics *Lab Chip* **14** 626–45
- [12] Leslie D S, Johnston W W, Daly L, Ring D B, Shpall E J, Peters W P and Bast R C 1990 Detection of Breast Carcinoma Cells in Human Bone Marrow Using Fluorescence-Activated Cell Sorting and Conventional Cytology *Am J Clin Pathol* **94** 8–13
- [13] Frantz C N, Ryan D H, Cheung N K, Duerst R E and Wilbur D C 1988 Sensitive detection of rare metastatic human neuroblastoma cells in bone marrow by two-color immunofluorescence and cell sorting *Prog Clin Biol Res* **271** 249–62
- [14] Cory J M, Ohlsson-Wilhelm B M, Brock E J, Sheaffer N A, Steck M E, Eyster M E and Rapp F 1987 Detection of human immunodeficiency virus-infected lymphoid cells at low frequency by flow cytometry *Journal of Immunological Methods* **105** 71–8
- [15] Gossett D R, Weaver W M, Mach A J, Hur S C, Tse H T K, Lee W, Amini H and Di Carlo D 2010 Label-free cell separation and sorting in microfluidic systems *Anal Bioanal Chem* **397** 3249–67
- [16] Myung J H and Hong S 2015 Microfluidic devices to enrich and isolate circulating tumor cells *Lab Chip* **15** 4500–11

- [17] Carey T R, Cotner K L, Li B and Sohn L L 2019 Developments in label-free microfluidic methods for single-cell analysis and sorting *WIREs Nanomed Nanobiotechnol* **11**
- [18] Tsutsui H and Ho C-M 2009 Cell separation by non-inertial force fields in microfluidic systems *Mechanics Research Communications* **36** 92–103
- [19] Viana A, Marchalot J, Fouillet Y, Digianantonio L, Claustre P, Cubizolles M and Achard JI 2013 A passive microfluidic fragmentation system for continuous fluid-particles separation SPIE Microtechnologies ed A Tserepi, M Delgado-Restituto and E Makarona (Grenoble, France) p 87650M
- [20] Wyatt Shields IV C, Reyes C D and López G P 2015 Microfluidic cell sorting: a review of the advances in the separation of cells from debulking to rare cell isolation *Lab Chip* **15** 1230–49
- [21] Yamada M, Nakashima M and Seki M 2004 Pinched Flow Fractionation: Continuous Size Separation of Particles Utilizing a Laminar Flow Profile in a Pinched Microchannel *Anal. Chem.* **76** 5465–71
- [22] Ji H M, Samper V, Chen Y, Heng C K, Lim T M and Yobas L 2008 Silicon-based microfilters for whole blood cell separation *Biomed Microdevices* **10** 251–7
- [23] Inglis D W 2009 Efficient microfluidic particle separation arrays *Appl. Phys. Lett.* **94** 013510
- [24] Huang L R, Cox E C, Austin R H and Sturm J C 2004 Continuous particle separation through deterministic lateral displacement *Science* **304** 987–90
- [25] Holm S H, Zhang Z, Beech J P, Gompper G, Fedosov D A and Tegenfeldt J O 2019 Microfluidic Particle Sorting in Concentrated Erythrocyte Suspensions *Phys. Rev. Applied* **12** 014051
- [26] Henry E, Holm S H, Zhang Z, Beech J P, Tegenfeldt J O, Fedosov D A and Gompper G 2016 Sorting cells by their dynamical properties *Sci Rep* **6** 34375
- [27] Kulasinghe A, Zhou J, Kenny L, Papautsky I and Punyadeera C 2019 Capture of Circulating Tumour Cell Clusters Using Straight Microfluidic Chips *Cancers* **11** 89
- [28] Li P, Mao Z, Peng Z, Zhou L, Chen Y, Huang P-H, Truica C I, Drabick J J, El-Deiry W S, Dao M, Suresh S and Huang T J 2015 Acoustic separation of circulating tumor cells *Proc Natl Acad Sci U S A* **112** 4970–5
- [29] Anon Free Flow Acoustophoresis: Microfluidic-Based Mode of Particle and Cell Separation | Analytical Chemistry
- [30] Dykes J, Lenshof A, Åstrand-Grundström I-B, Laurell T and Scheduling S 2011 Efficient removal of platelets from peripheral blood progenitor cell products using a novel micro-chip based acoustophoretic platform *PLoS One* **6** e23074
- [31] Lenshof A, Magnusson C and Laurell T 2012 Acoustofluidics 8: Applications of acoustophoresis in continuous flow microsystems *Lab Chip* **12** 1210–23

- [32] Wang L, Asghar W, Demirci U and Wan Y 2013 Nanostructured substrates for isolation of circulating tumor cells *Nano Today* **8** 347–87
- [33] Cheng X, Irimia D, Dixon M, Sekine K, Demirci U, Zamir L, Tompkins R G, Rodriguez W and Toner M 2007 A microfluidic device for practical label-free CD4(+) T cell counting of HIV-infected subjects *Lab Chip* **7** 170–8
- [34] Ganguly R and Puri I K 2010 Microfluidic transport in magnetic MEMS and bioMEMS: Microfluidic transport in magnetic MEMS and BioMEMS *WIREs Nanomed Nanobiotechnol* **2** 382–99
- [35] Anon Evaluation and comparison of two microfluidic size separation strategies for vesicle suspensions
- [36] Anon An Introduction to Chaotic Advection | SpringerLink
- [37] Stroock A D 2002 Chaotic Mixer for Microchannels *Science* **295** 647–51
- [38] Bianchi E, Piergiovanni M, Arrigoni C, Fukuda J, Gautieri A, Moretti M and Dubini G 2017 Herringbone-like hydrodynamic structures in microchannels: A CFD model to evaluate the enhancement of surface binding *Medical Engineering & Physics* **48** 62–7
- [39] Zhang L, Xu Z, Kang Y and Xue P 2018 Three-dimensional microfluidic chip with twin-layer herringbone structure for high efficient tumor cell capture and release via antibody-conjugated magnetic microbeads *ELECTROPHORESIS* **39** 1452–9
- [40] Stroock A D, Dertinger S K W, Ajdari A, Mezić I, Stone H A and Whitesides G M 2002 Chaotic Mixer for Microchannels *Science* **295** 647–51
- [41] Kerho M F and Bragg M B 1994 Neutrally buoyant bubbles used as flow tracers in air *Experiments in Fluids* **16** 393–400
- [42] Decuzzi P and Ferrari M 2006 The adhesive strength of non-spherical particles mediated by specific interactions *Biomaterials* **27** 5307–14
- [43] Smith J P, Lannin T B, Syed Y, Santana S M and Kirby B J 2014 Parametric control of collision rates and capture rates in geometrically enhanced differential immunocapture (GEDI) microfluidic devices for rare cell capture *Biomed Microdevices* **16** 143–51
- [44] Κόκκορης Γ 2005 *Ολοκληρωμένη προσομοίωση εξέλιξης τοπογραφίας κατά την εγχάραξη μικρο- και νανο-δομών με πλάσμα* Διδακτορική Διατριβή (Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο (ΕΜΠ). Σχολή Χημικών Μηχανικών. Τομέας Ανάλυσης, Σχεδιασμού και Ανάπτυξης Διεργασιών και Συστημάτων (II))
- [45] Richardson J F, Harker J H and Backhurst J R 2013 Chemical Engineering: Particle Technology and Separation Processes: Fifth Edition *Chemical Engineering: Particle Technology and Separation Processes: Fifth Edition* **2** 1–1156
- [46] Stokes G G 2009 *Mathematical and Physical Papers* (Cambridge: Cambridge University Press)



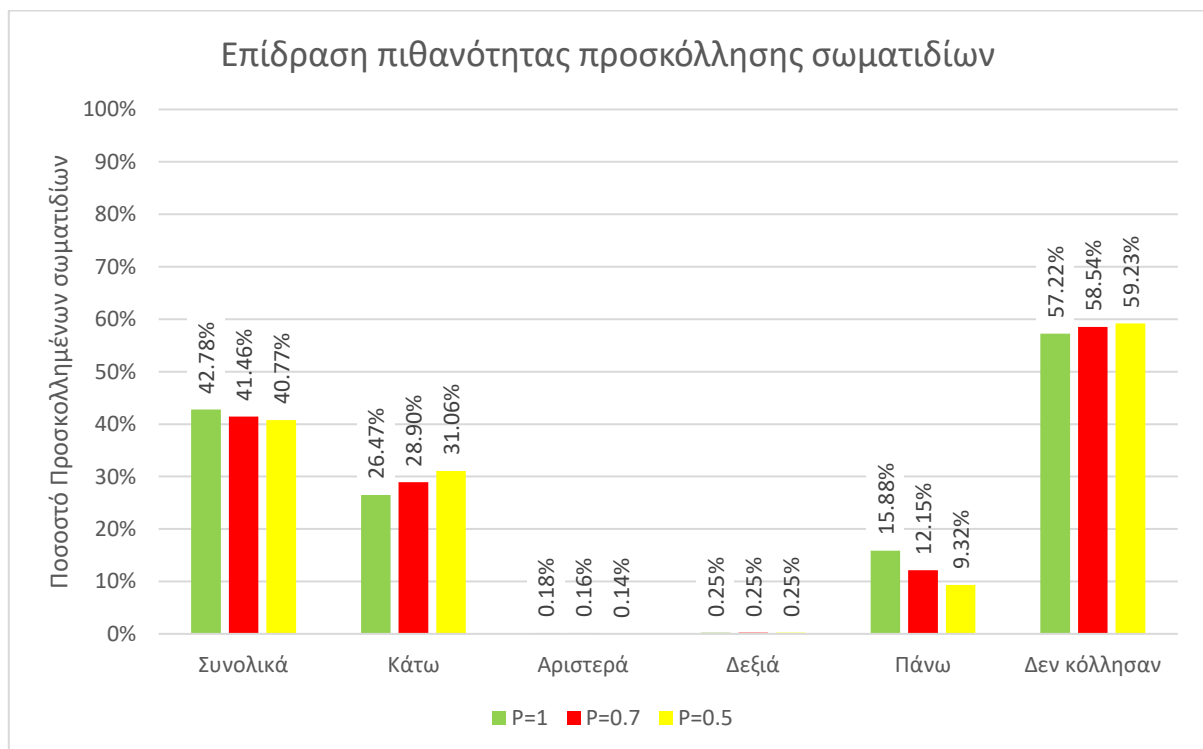
- [47] Kim M and Zydney A L 2004 Effect of electrostatic, hydrodynamic, and Brownian forces on particle trajectories and sieving in normal flow filtration *J Colloid Interface Sci* **269** 425–31
- [48] Lions M C P-L VISCOSITY SOLUTIONS OF HAMILTON-JACOBI EQUATIONS 42
- [49] Sethian J A Advancing Interfaces: Level Set and Fast Marching Methods 12
- [50] Soulie J The C++ Language Tutorial 144
- [51] Anon COMSOL Multiphysics Reference Manual 1742
- [52] Anon A microfluidic chip with double-sided herringbone microstructures for enhanced capture of rare tumor cells - PubMed
- [53] Forbes T P and Kralj J G 2012 Engineering and analysis of surface interactions in a microfluidic herringbone micromixer *Lab Chip* **12** 2634
- [54] Wang S, Sohrabi S, Xu J, Yang J and Liu Y 2016 Geometry design of herringbone structures for cancer cell capture in a microfluidic device *Microfluid Nanofluid* **20** 148

## **6. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ**



## 6.1 Μελέτη προσκόλλησης σωματιδίων στα τοιχώματα της διάταξης για πιθανότητα προσκόλλησης 50%, 70% και 100%

Μία επιπλέον παράμετρος που εξετάστηκε, ήταν αυτή της προσθήκης μίας ακόμη συνθήκης στο πρόβλημα η οποία αφορούσε την πιθανότητα προσκόλλησης του σωματιδίου στα τοιχώματα. Σύμφωνα με αυτήν, τα σωματίδια δεν αρκεί να έχουν απόσταση από τα τοιχώματα μικρότερη της ακτίνας τους, αλλά επιπλέον ορίζεται κάθε φορά και ένα ποσοστό προσκόλλησης τους στα τοιχώματα της διάταξης. Αυτό συνέβη χρησιμοποιώντας στον κώδικα που κατασκευάστηκε μία γεννήτρια τυχαίων αριθμών από το 0 έως το 1 και στη συνέχεια γινόταν ο έλεγχος αν ο συγκεκριμένος αριθμός βρισκόταν πάνω ή κάτω από το ποσοστό πιθανότητας που είχε οριστεί. Οι προσομοιώσεις έγιναν για αριθμό Re ίσο με 5, με σωματίδια ακτίνας 10μm και για πλήθος ροϊκών γραμμών ίσο με 8745. Η μελέτη έγινε για πιθανότητες προσκόλλησης 50%, 70% και 100% τόσο για ομοιόμορφο προφίλ εισόδου όσο και παραβολικό. Στο σχήμα 26, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για το ομοιόμορφο προφίλ εισόδου και για τις 3 περιπτώσεις πιθανοτήτων προσκόλλησης.



**Σχήμα 26:** Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκόλλησης σωματιδίων, ποσοστού προσκόλλησης άνω, κάτω και πλαγίων τοιχωμάτων καθώς και ποσοστού μη προσκολλημένων σωματιδίων για σωματίδια ακτίνας 10μm και πιθανότητες προσκόλλησης 100% και 50%.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, παρατηρείται μία μικρή μείωση στο ποσοστό των προσκολλημένων σωματιδίων καθώς μειώνεται το ποσοστό της πιθανότητας προσκόλλησης. Η μείωση αυτή ωστόσο είναι υπερβολικά μικρή. Παρατηρήθηκε ότι για να είναι τα αποτελέσματα ολοκληρωμένα, πρέπει ο χρόνος που διανύει το σωματίδιο από την μία συντεταγμένη στην επόμενη να είναι ο ίδιος για ολόκληρη την ροϊκή γραμμή. Έτσι εξασφαλίζεται ότι δεν υπάρχει μεροληψία ως προς την προσκόλληση σε μία θέση της ροϊκής γραμμής έναντι μιας άλλης. Αυτό μπορεί να ελεγχθεί σε μία επόμενη διερεύνηση, καθορίζοντας τον χρόνο από την μία συντεταγμένη της ροϊκής γραμμής στην επόμενη να είναι σταθερός.