

مروری بر روش‌های جداسازی ذرات زیستی بر پایه سامانه‌های میکروفلوئیدیک

سیده طیبه موسوی^۱، بهروز آفاجانلو^{۱،۲}، فاطمه اژتیان^{۱*}، مرضیه کریم زاده^۲، آلا فدایی تهرانی^۲، مریم منتظری^۲ علیرضا فدایی تهرانی^۲، محمد حسین نصر اصفهانی^۱

^۱ ایران، اصفهان، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست فناوری جهاددانشگاهی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، گروه زیست فناوری جانوری

^۲ ایران، اصفهان، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده مکانیک

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۱

چکیده

جداسازی ذرات زیستی یک گام کلیدی در بسیاری از زمینه‌های تحقیقات زیستی از جمله زیست فناوری، زیست پزشکی، صنایع غذایی و دارویی است. جداسازی باکتری‌های بیماری‌زا از غذا، گلوبول‌های سفید از خون، جداسازی سلول‌های تومور موجود در گردش خون در مراحل اولیه سرطان و... نمونه‌هایی از کاربرد جداسازی می‌باشند. از روش‌های مرسوم جداسازی ذرات می‌توان به چسبندگی، فیلتر کردن، سانتریفیوژ، جداسازی با استفاده از فلئورسانس فعال و مغناطیس فعال و... اشاره نمود. در حالی که روش‌های جداسازی مرسوم با بهره‌برداری از ویژگی‌های خاص ذرات به جداسازی با کارایی بالا منجر شده‌اند، با ظهور فناوری میکروفلوئیدیک، روش‌های کارآمد و کم هزینه‌تر ابداع شدند که با بهره‌برداری از اصول فیزیکی مختلف و استفاده از خواص مختلف ذرات، با ارزیابی حجم بسیار کم نمونه، سرعت و دقت جداسازی را بهبود بخشیدند. به طور کلی، رویکردهای جداسازی غیرفعال بر استفاده از نیروهای "ذاتی" ذرات و میکروسیال استوار است در حالی که روش‌های جداسازی فعال به واسطه به کارگیری نیروهای "خارجی" (مانند میدان مغناطیسی، الکتریکی و غیره) عمل می‌نمایند. از جمله مهمترین خواص ذرات می‌توان به اندازه، چگالی، تغییر شکل پذیری، شکل، و همچنین خواص الکتریکی، مغناطیسی، و آکوستیک اشاره نمود. هدف از این مقاله، بررسی اصول و کاربردهای متداول‌ترین روش‌های جداسازی ذرات مبتنی بر میکروسیال می‌باشد، که دریچه‌ای امیدوارکننده برای تحقیق در زمینه زیستی باز کرده است.

واژه های کلیدی: ذرات زیستی، جداسازی ذرات، سیالات زیستی، میکروفلوئیدیک

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: fatemeh.eje@Royaninstitute.org

مقدمه

روش‌هایی برای جداسازی این دارو از محیط‌های کشت کشف کرده‌اند، امکان‌پذیر نبود. طی چند دهه گذشته روش‌های مختلفی به منظور جداسازی ذرات زیستی استفاده شده است. روش‌های جداسازی به سه گروه طبقه‌بندی می‌شوند: الف) فرآیند جداسازی تعادل فاز؛ بر اساس رابطه تعادل بین دو فاز. ب) فرآیند جداسازی اختلاف سرعت؛ یا جداسازی میدان، در چنین فرآیندی یک

در قرن گذشته، جداسازی ذرات از نمونه‌های بیولوژیکی ناهمگن در تحقیقات زیستی، منجر به توسعه تکنیک‌های جدید به منظور جداسازی ذرات و سلول‌های مورد نظر از مخلوط‌های پیچیده، گردیده است. به عنوان مثال، جداسازی پنی‌سیلین، که در زمان جنگ جهانی دوم جان ده‌ها میلیون نفر را نجات داده است، بدون تلاش دانشمندانی که

¹ Phase equilibrium separation process

² Velocity difference separation process

ما در این مقاله به مرور انواع روش‌های مرسوم و جدید جداسازی ذرات زیستی و سلول‌ها می‌پردازیم.

اصول کلی جداسازی ذرات زیستی: فرایند جداسازی ذرات زیستی، شامل جداسازی ذرات خاص از یک بافت جامد یا یک سوسپانسیون می‌باشد. جداسازی گلوبول‌های سفید از خون (Antfolk, Magnusson, Augustsson, Lilja, & Furlani, 2007)؛ جداسازی سلول‌های بنیادی (Laurell, 2015; Furlani, 2007)؛ از یکدیگر (Zhu & Murthy, 2013) و بررسی دارویی، از مهمترین کاربردهای جداسازی ذرات زیستی می‌باشند.

به منظور انتخاب روش جداسازی، پارامترهای مختلفی از جمله مقدار تنش مکانیکی، شیمیایی، فیزیولوژیکی که ذره می‌تواند تحمل کند و آسیبی به آن وارد نشود، سطوح خلوص ذره و عملکردی که مورد نیاز است، میزان ریسک قابل قبول آلودگی، زمان و هزینه کار و... باید مورد بررسی قرار گیرد (Almeida, García-Montero, & Orfao, 2014).

جداسازی ذرات براساس دو معیار انجام می‌شود: در معیار اول جداسازی بر اساس نوع کنش ذره با سیستم می‌باشد؛ به این صورت که اگر یک ذره به وسیله یک مکانیزم حذفی، از سایر ذرات جدا شود انتخاب مثبت نامیده می‌شود، در حالیکه اگر چند نوع ذره برای جداسازی یک ذره حذف شوند، انتخاب منفی نامیده می‌شود. اما در معیار دوم جداسازی بر اساس میزان چسبندگی به پلاستیک و دیگر سطوح پلیمری، اندازه و چگالی، مورفولوژی و فیزیولوژی، اتصال به آنتی‌بادی‌ها و آنتی‌ژن‌ها انجام می‌شود (Chapter "Introduction," 2005).

روش‌های سنتی جداسازی ذرات زیستی: روش‌های مرسوم و متنوعی جهت جداسازی ذرات وجود دارد از جمله، روش تجزیه ی بافتی^۴ که در این روش ارتباطات بین سلولی توسط آنزیم‌های گوارشی و عوامل کلاته‌کننده^۵

گرا دیان خاص برای القای اختلاف سرعت ایجاد می‌شود. (ج) فرآیند جداسازی واکنش؛ که در آن از واکنش‌های شیمیایی یا بیوشیمیایی برای انجام جداسازی استفاده می‌شود. در اصل، این سه گروه جداسازی را می‌توان برای سیستم‌های همگن یا ناهمگن استفاده کرد (Chapter 1 "Introduction," 2005).

اندازه و چگالی ذرات زیستی، مورفولوژی و فیزیولوژی آن‌ها و میزان چسبندگی‌شان به پلاستیک و دیگر سطوح پلیمری، از ویژگی‌هایی است که می‌توان در جداسازی از آن‌ها بهره برد. روش‌هایی از قبیل سانتریفیوژ، جداسازی ذرات با استفاده از فلوتورسانس فعال و مغناطیس فعال، از روش‌های مرسوم جداسازی بر پایه خواص زیستی سلول، هستند. اگرچه روش‌های مرسوم با استفاده از مشخصات ویژه ذرات، جداسازی آن‌ها را با بازدهی بالا انجام می‌دهند؛ اما اغلب با هزینه‌های زیادی همراه بوده و نیازمند حجم بالایی از نمونه به منظور انجام فرایند جداسازی هستند (Bhagat et al., 2010).

امروزه سیستم‌های آزمایشگاه بر روی یک تراشه^۱، به عنوان یکی از روش‌های جدید جداسازی ذرات مطرح شده‌اند. اساس این روش بر پایه فناوری میکروفلوئیدیک^۲ است که با بهره‌گیری از خواص فیزیکی، مغناطیسی و شیمیایی ذرات و همچنین با استفاده از سیستم‌های الکتریکی، مکانیکی و... جداسازی را انجام می‌دهند. این روش‌ها راه را جهت استفاده از خواص چندگانه ذرات، هموار می‌کنند. روش میکروفلوئیدیک دارای مزایای متعددی نسبت به دیگر روش‌ها، از جمله: کاهش حجم نمونه و قیمت، پردازش سریع نمونه، کاهش زمان تجزیه و تحلیل، حساسیت بالا و افزایش دقت تشخیص، سیستم‌های مرجع یکپارچه با دخالت اندک انسان، در نتیجه کاهش احتمال آلودگی نمونه و افزایش قابلیت حمل به محیط‌های فاقد آزمایشگاه‌های بالینی و پرسنل ماهر، است (Bhagat et al., 2010).

¹ Reaction separation process

² lab on-a-chip systems

³ Microfluidic

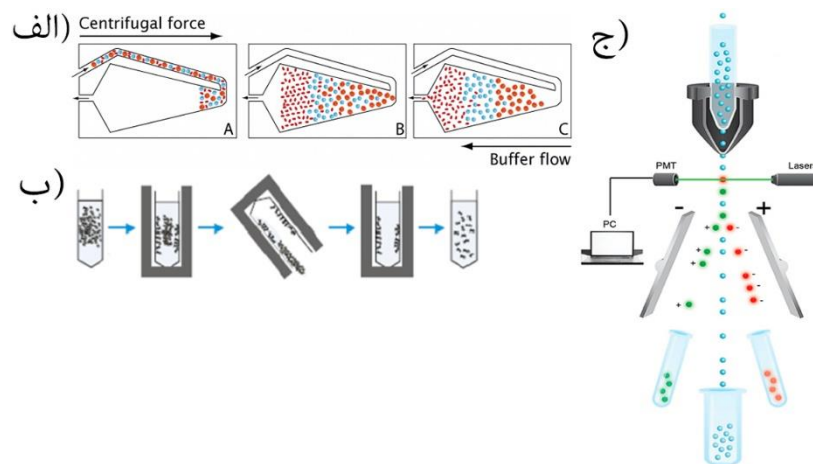
⁴ Tissue Disaggregation

⁵ Chelating Agents

و دارای اختلاف اندازه قابل توجه، صورت می‌گیرد، در روش توزیع جریان مخالف جداسازی بر اساس تفاوت در پراکندگی سلول‌ها و ذرات، بین دو مایع مخلوط نشدنی است، در روش فلوتورسانس فعال^۶ رنگ‌های فلوتورسانت مانند فلوتورسین^۸ با سطح سلول‌ها و برخی ذرات واکنش داده و به آن‌ها متصل شده، نوع و مقدار رنگ موثر، برای انواع مختلف این ذرات متفاوت است، و جداسازی صورت می‌گیرد (شکل ۱-ج) و در روش مغناطیس فعال^۹ ذرات در معرض دانه‌های مغناطیسی قرار گرفته و یک میدان مغناطیسی ایجاد شده و ذراتی که دانه‌های مغناطیسی را جذب کرده‌اند، جدا می‌شوند (شکل ۱-ب)؛ (Bonetta, 2005; Sheeler, 1983).

در جدول ۱، مقایسه مختصری از پرکاربردترین تکنیک‌های جداسازی سلولی بر اساس چسبندگی، چگالی، اندازه و خواص اتصال به آنتی‌بادی ارائه شده است.

تضعیف شده و تجزیه بافت به سلول‌های منحصر به فرد، بدون تخریب سلول، به روش مکانیکی صورت می‌گیرد (Cunningham, 1999)، در روش چسبندگی^۱ جداسازی با استفاده از عبور دادن ذرات از یک ستون شیشه‌ای توخالی پوشانده شده با دانه‌های شیشه‌ای، پشم شیشه، پشم نایلون و... صورت می‌گیرد (Nagase et al., 2012)، در روش فیلترکردن جداسازی ذرات با استفاده از الک‌های دارای حفره‌هایی با قطر مختلف صورت می‌گیرد (Nasiri et al., 2020)، در روش سانتیفریوژ متداول و ناحیه‌ای جداسازی به وسیله سانتیفریوژ سوسپانسیون ذرات انجام می‌گیرد و رسوب ذرات بر اساس اختلاف در چگالی آن‌ها جدا می‌شوند، در روش سانتیفریوژ ضد جریان^۴ با استفاده از جابجایی ذرات بر اساس تاثیرات ترکیبی نیروی گریز از مرکز و جریان مرکزگرا صورت می‌گیرد (شکل ۱-الف)، در روش نیروی گرانش^۵ جداسازی ذرات بر اساس تفاوت نرخ رسوب، به منظور جدایی ذرات با اندازه بزرگ



شکل ۱-الف) سانتیفریوژ ضد جریان: تاثیرات ترکیبی نیروی گریز از مرکز و جریان مرکزگرا، ذرات را جا به جا می‌کند. ذرات کوچک به سمت روتور متقابل می‌شوند، در حالی که ذرات بزرگ تر در یک ناحیه باریک، متمرکز می‌شوند (Bergh Thorén, 2007). (ب) جداسازی با استفاده از مغناطیس فعال (Tomlinson, Tomlinson, Yang, & Kirkham, 2013; Hodne & Weltzien, 2015). (ج) جداسازی با استفاده از فلوتورسانس فعال

¹ Adherence

² Filtration

³ Conventional And Zonal Centrifugation

⁴ Counter-Streaming Centrifugation

⁵ Unit Gravity Separation

⁶ Counter Current Distribution (CCD)

⁷ Fluorescens-Activatad Cell Sorting (FACS)

⁸ Fluorescein

⁹ Magnetic-Activatad Cell Sorting (MACS)

فعال شده با دانه های مغناطیسی، برای جداسازی سلول های زنده با خلوص بسیار بالا کارآمد است، اما هر دو روش دارای محدودیت های متعددی هستند. از آنجایی که در این روش ها از حجم نمونه پایین استفاده می شود، معمولاً به زمان های جداسازی طولانی تری نیاز دارند و همچنین بازیابی سلولی و عملکرد کمتری نسبت به روش های قبلی دارند.

همانطور که نشان داده شده است، روش های جداسازی سلول زنده از حجم های بزرگ نمونه، بر اساس ویژگی های فیزیکوشیمیایی با بازده و توان عملیاتی بالا، صورت می گیرد. با این حال، یکی از مهمترین محدودیت های این روش ها، درصد خلوص، پایین است و برای اهدافی که اغلب درخواست خلوص سازی سلولی می شود، مناسب نیست. روش های جداسازی سلولی با واسطه آنتی بادی مانند جداسازی سلول های فعال شده با فلورسانس و سلول های

جدول ۱- ویژگی های مرتبط با تکنیک های مختلف جداسازی سلولی بر اساس چسبندگی، چگالی، اندازه و ویژگی های اتصال آنتی بادی به سلول های هدف و جمعیت های سلولی.

روش ها	تکنیک جداسازی سلول			
	چسبندگی	فیلتر کردن	سانتریفیوژ	مغناطیس فعال
قاعده جداسازی	چسبندگی	سایز	چگالی	آنتی بادی
خلوص	کم	کم	کم	زیاد
بازیابی	زیاد	زیاد	زیاد	متوسط
نرخ بازده	زیاد	زیاد	زیاد	کم
بهره وری	کم	کم	کم	زیاد
زنده مانی سلول	زیاد	زیاد	زیاد	زیاد
حجم نمونه	زیاد	زیاد	زیاد	متوسط
سرعت	زیاد	زیاد	زیاد	متوسط

اصول جداسازی ذرات زیستی بر پایه میکروفلوئیدیک: پژوهشگران برای اولین بار در ابتدای سال ۱۹۸۰، از روش میکروفلوئیدیک به منظور توسعه چاپگرهای جوهرافشان، تراشه های DNA، آزمایشگاه بر روی یک تراشه و فناوری های ریزگرمایی استفاده کردند (Kirby, 2010).

میکروفلوئیدیک علم دستکاری و کنترل سیالات است، که شامل شبکه ای از ده ها تا صدها کانال در محدوده ۶ الی ۱۰ میکرولیتر تا ۱۰ الی ۱۲ پیکولیتراست، که بر روی مواد مختلف از جمله شیشه، سیلیکون، کوارتز، پلی کربنات ها و

در حالی که رویکردهای مرسوم جداسازی ذرات و یا سلول ها با بهره برداری از ویژگی های خاص آن ها منجر به جداسازی با کارایی بالا شده است، میکروسیال ها با بهره برداری از اصول فیزیکی مختلف و استفاده از خواص مختلف سلول ها و ذرات، در این زمینه نقش پررنگ تری را ایفا می کنند. به طور کلی، رویکردهای جداسازی مبتنی بر میکروسیال ذرات و سلول ها را با استفاده از نیروهای "ذاتی" (به عنوان مثال، نیروهای دینامیکی سیال) در مقابل نیروهای خارجی (مانند میدان مغناطیسی، الکتریکی و غیره) و با استفاده از خواص مختلف سلول ها از جمله اندازه، جدا می کنند (Nasiri et al., 2020).

و به عنوان "پدر" میکروفلوئیدیک در نظر گرفته شد (Preetam et al., 2022).

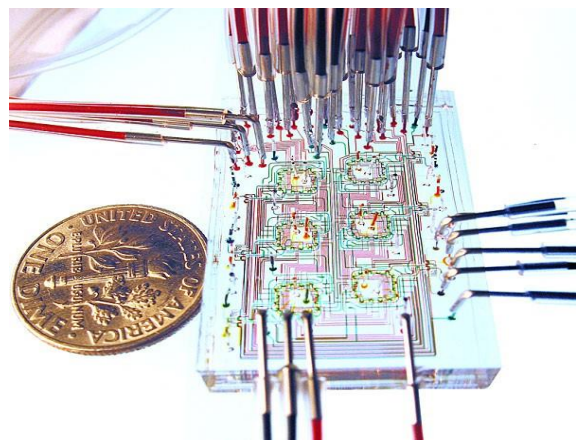
دستگاه‌ها و سیستم‌های میکروسیال، کاربردهای جدیدی در زیست‌پزشکی، داروسازی، علوم زیست محیطی و انرژی دارند. میکروفلوئیدیک در کاربردهای بالینی و زیست پزشکی اغلب به عنوان روش آزمایشگاه بر روی یک تراشه شناخته می‌شود که در این روش به منظور جداسازی، ذرات بر روی میکرو تراشه‌ها قرار گرفته و در اثر یک نیروی خارجی و یا برهم کنش با خود و هندسه تراشه، بر اساس خواص شیمیایی، مکانیکی و فیزیکی‌شان، از یکدیگر جدا می‌شوند. در این سیستم از ویژگی‌های مختلف ذرات مانند اندازه، شکل، تغییرشکل پذیری، تراکم پذیری، چگالی، ویژگی‌های چسبندگی، مغناطیسی، دی الکتریک و... به منظور جداسازی استفاده می‌شود. در مقایسه با سیستم‌های مرسوم جداسازی، این سیستم‌ها با سرعت بالاتر، ارزیابی حجم بسیار کمتری از نمونه، روش‌های ساده‌تر، حمل آسان‌تر، کاهش هزینه، کاهش خطرات زیست محیطی و بهبود خلوص نمونه‌های جدا شده همراه است. از سوی دیگر، انسداد میکروکانال‌ها توسط ذرات در حال عبور، نیاز به دقت بسیار بالا در طراحی و ساخت و یکبار مصرف بودن، از محدودیت‌های این سیستم جداسازی به شمار می‌آیند (Du, Fang, & den Toonder, 2016; Lee, Kim, Ahn, Lee, &)

(Park, 2015; Shields IV, Reyes, & López, 2015

به منظور درک قوانین فیزیکی حاکم بر میکروسیالات و کار با آن‌ها، باید پدیده‌های فیزیکی غالب در مقیاس میکرو را مورد بررسی قرار داد. قوانین فیزیک در مقیاس میکرو، مانند سیستم‌های ماکروسکوپی وجود دارد، اما ضریب مقیاس می‌تواند به نیروهای مختلف برتری یابد. اثراتی که در میکروسیال‌ها غالب می‌شوند شامل جریان آرام، انتشار،

پلیمرهایی مانند پلی‌دی‌متیل سیلوکسان^۱ و پلی‌متیل متاکریلات^۲ احکاک شده‌اند. میکروکانال‌های تشکیل دهنده تراشه میکروسیال، به منظور کاربردهای مورد نر، به یکدیگر متصل می‌شوند. با کمک یک پمپ، تراشه میکروسیال به تعیین تغییر رفتار میکروسیال‌ها کمک می‌کند. این کانال‌ها امکان پردازش سیال را فراهم می‌کند، به عنوان مثال، ترکیب و پاسخ‌های فیزیکوشیمیایی. می‌توان گفت در مقیاس‌های کوچک، برخی خواص جدید و گاه نامعقول ظاهر می‌شوند؛ به طور خاص عدد رینولدز^۳ بسیار کم می‌شود. در نتیجه سیالات، به دلیل ایجاد جریان آرام، با هم مخلوط نمی‌شوند و انتقال مولکولی بین آن‌ها عمدتاً از طریق نفوذ و انتشار صورت می‌پذیرد (Conlisk, 2007; Pattanayak et al., 2021).

آزمایشگاه روی یک تراشه (شکل ۲) و سیستم‌های میکروآنالیز کامل^۴، دو فناوری میکروسیال رایج هستند. پیشرفت‌های آزمایشگاه روی یک تراشه و فوتولیتوگرافی در طول تاریخ دست به دست هم داده‌اند.



شکل ۲- آزمایشگاه بر روی یک تراشه (Oosterbroek, & van den Berg, 2003).

(Oosterbroek, & van den Berg, 2003).

ورنر جاکوبی^۵ یک مهندس آلمانی بود که در سال ۱۹۴۹ نمونه‌های اولیه آزمایشگاه روی یک تراشه‌ها را توسعه داد

¹ Polydimethylsiloxane (PDMS)
² Polymethylmethacrylate (PMMA)
³ Reynolds number
⁴ Complete microanalysis systems
⁵ Werner Jacobi

مقاومت سیال، نسبت سطح به حجم و کشش سطحی است (Beebe, Mensing, & Walker, 2002).

جریان آرام؛ شرایطی است که در آن سرعت یک ذره در یک جریان سیال تابع تصادفی زمان نیست. کاهش اندازه، به دلیل اندازه کوچک میکروکانال ها، تأثیر نیروهای اینرسی را در مقایسه با نیروهای اصطکاکی کاهش می دهد و منجر به تشکیل جریان آرام در کانال های میکروسیال می شود. یکی از پیامدهای جریان آرام این است که دو یا چند جریان در تماس با یکدیگر به جز انتشار با یکدیگر مخلوط نمی شوند. انتشار بین جریان های آرام در یک میکرو دستگاه برای انجام سنجش و جداسازی ذرات بر اساس اندازه استفاده می شود. (Beebe, Velve-Casquillas, Le Berre, Piel, & Tran, 2010) (et al., 2002).

انتشار؛ فرآیندی است که طی آن یک گروه متمرکز از ذرات در یک حجم، با حرکت براونی، در طول زمان پخش می شوند به طوری که میانگین غلظت ذرات در سراسر حجم ثابت است. انتشار را می توان در یک بعد با معادله $d^2 = 2Dt$ مدل کرد، که در آن d فاصله ای است که یک ذره در یک زمان t حرکت می کند و D ضریب انتشار ذره است. از آنجا که فاصله به توان مربع متفاوت است، انتشار در مقیاس میکرو بسیار مهم است. از آنجایی که زمان انتشار می تواند در مقیاس میکرو کوتاه باشد، می توان از میکروکانال ها برای ایجاد گرادیان های غلظت با پروفایل های پیچیده استفاده کرد (Beebe et al., 2002).

نسبت سطح به حجم؛ مساحت سطح عامل دیگری است که در مقیاس میکرو اهمیت پیدا می کند. هنگامی که از مقیاس کلان به مقیاس میکرو می رویم، افزایش نسبت سطح به حجم، الکتروفورز مویرگی را در میکروکانال ها با حذف سریعتر گرمای اضافی، کارآمدتر می کند (Beebe et al., 2002).

کشش سطحی؛ نتیجه انسجام بین مولکول های مایع در سطح مشترک مایع/گاز است. ارتفاعی که آب از طریق یک موین عبور می کند، ارتباط مستقیمی با انرژی آزاد سطح آب دارد و با شعاع موین رابطه معکوس دارد. هنگامی که از میکروکانال هایی با ابعاد میکرون استفاده می شود، طولی که مایعات بر اساس نیروهای مویرگی به تنهایی طی می کنند قابل توجه است (Beebe et al., 2002).

انواع روش های جداسازی ذرات زیستی بر پایه میکروفلوئیدیک: تکنیک های جداسازی بر پایه میکروسیال را به طور گسترده به دو دسته، تکنیک های جداسازی فعال^۱ و غیرفعال^۲ طبقه بندی کرد. تکنیک های فعال برای عملکرد به یک میدان نیروی خارجی متکی هستند، در حالی که تکنیک های غیرفعال برای عملکرد کاملاً به هندسه کانال و نیروهای هیدرودینامیکی ذاتی متکی هستند (Bhagat et al., 2014; McGrath, Jimenez, & Bridle, 2014).

روش های فعال: تکنیک های میکروسیال فعال برای جداسازی ذرات زیر میکرومتری به میدان های خارجی وابسته هستند. این بخش سه نوع رویکرد اصلی شامل استفاده از میدان مغناطیسی، نیروی الکتروفورسیس^۳، نیروی دی الکتروفورز^۴، امواج آکوستوفورز^۵ و امواج نوری را مورد بحث قرار می دهد (Zhang et al., 2020).

استفاده از دانه های مغناطیسی: جداسازی فعال با استفاده از دانه های مغناطیسی بر پایه تعامل بین آنتی ژن های سطح سلول و آنتی بادی های کوئزوگه شده با ذرات مغناطیسی استوار است، که جداسازی سلول به یک میدان مغناطیسی خارجی متکی است (Liang et al., 2020).

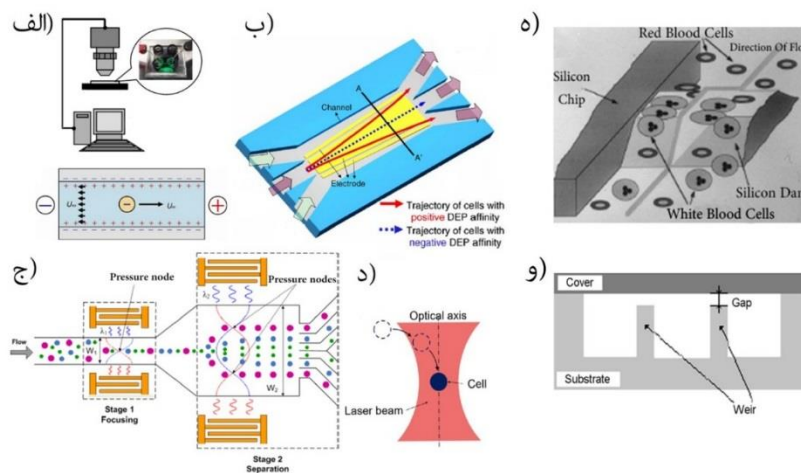
¹ Active
² Passive
³ Electrophoresis
⁴ Dielectrophoresis (DEP)
⁵ Acoustophoresis
⁶ Optical Sorting

غشاهای پلاسمایی ذرات زیستی از جمله سلول‌ها، شامل گروه‌های یونیزه شده مانند پروتئین، سیالیک‌اسید و زنجیره‌های کربوهیدرات کوتاه است، که موجب جابه‌جایی الکترواستاتیک سلول‌ها می‌شود و همچنین با باردار کردن انتخابی ذرات به وسیله افزودن مواد شیمیایی مختلف، جداسازی آن‌ها را به روش الکتروفورسیس تسهیل می‌کنند. به این ترتیب انواع مختلف ذرات و سلول‌ها دارای بارهای خالص متفاوتی هستند، در نتیجه در روش الکتروفورسیس، زمانی که ذرات در یک میدان الکتریکی یکنواخت و در معرض جریان الکتریکی AC قرار می‌گیرند، با نرخ‌های متفاوتی در محیط حرکت می‌کنند و بنابراین از یکدیگر جدا شده و برای مطالعات بیشتر جمع‌آوری می‌شوند (شکل ۳-الف) (Sheeler, 1983).

میکروچیپ‌های برپایه الکتروفورز، به عنوان یک فناوری امیدوارکننده برای تشخیص بیومارکر نمونه‌های بالینی مانند ادرار، سرم، مایع مغزی نخاعی و بزاق در حال توسعه و آزمایش است.

ناگرس^۱ و همکاران، جداسازی موثر و انتخابی سلول‌های اپیتلیال مشتق از تومور موجود در خون محیطی، با واسطه برهم‌کنش CTC های هدف با میکروحفرة‌های پوشش داده شده با آنتی‌بادی را مورد بررسی قرار دادند. با استفاده از تراشه، CTCها با خلوص ۵۰٪ از خون محیطی بیماران مبتلا به سرطان ریه، پروستات، پانکراس، سینه و روده بزرگ جداسازی شدند. بنابراین، تراشه CTC، ابزاری جدید و موثر برای شناسایی و اندازه‌گیری دقیق CTC در بیماران مبتلا به سرطان است که این امر پیامدهای گسترده‌ای در کشف، تشخیص و نظارت بر سرطان دارد (Nagrath et al., 2007).

استفاده از نیروی الکتروفورسیس: تراشه میکروسیالی الکتروفورزی، به دلیل مزایای آن در مصرف نمونه کم، هزینه کم، تجزیه و تحلیل سریع، توان عملیاتی بالا و قابلیت یکپارچه سازی، به طور گسترده برای جداسازی گونه‌های مختلف بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفته است (Chen, Huang, Li, & Liu, 2020).



شکل ۳-الف) روش استفاده از نیروی الکتروفورسیس (Akagi & Ichiki, 2008). ب) روش استفاده از نیروی دی الکتروفورسیس (Doh & Cho, 2005). ج) روش استفاده از امواج آکوستیک (Guldiken, Jo, Gallant, Demirci, & Zhe, 2012). د) روش جداسازی نوری (Lee et al., 2015). ه) روش جداسازی با مانع (Wilding et al., 1998). و) روش جداسازی با مانع (Chen, Liu, & Li, 2008).

¹ Sunitha Nagrath

² Circulating Tumour Cells (CTCs)

به عنوان مثال، میترا^۱ و همکاران (Mitra et al., 2013) با جداسازی N-گلیکان‌ها و گلیکوپروتئین‌های موجود در سرم خون بیمار مبتلا به سرطان تخمدان و یک فرد عاری از بیماری با استفاده از ریزتراشه‌های مبتنی بر الکتروفورز، میزان آن‌ها را در فرد بیمار قبل و بعد و از درمان مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند (Pagaduan, Sahore, & Woolley, 2015).

استفاده از نیروی دی الکتروفورسیس: دی الکتروفورز روشی برای دستکاری مسیر ذرات قابل قطبش در میدان‌های الکتریکی غیریکنواخت با استفاده از ویژگی‌های دی الکتریک منحصر به فرد است. به دلیل حساسیت، گزینش پذیری و ماهیت غیرتهاجمی آن، چندین مزیت برای مقابله با ذرات زیستی خشتی فراهم می‌کند. در نتیجه DEP حرکت ذرات قابل پلاریزه شدن در معرض میدان الکتریکی غیریکنواخت است. در این روش چندین ویژگی ذره به طور همزمان بررسی می‌شود و رفتار نیروی DEP به اندازه، شکل و ماهیت ذره بستگی دارد. این نیرو می‌تواند ذرات را به طور انتخابی بدون نیاز به بار ذرات یا برجسب گذاری جدا کند. در سال ۱۹۷۸، برای اولین بار، پول و شاگردش جداسازی سلول‌های مخمر زنده و مرده در میدان‌های الکتریکی ناهمگن را گزارش کردند که انگیزه تلاش‌های تحقیقاتی فوق‌العاده‌ای در DEP شد (Techaumnat, Panklang, Wisitsoraat, & Suzuki, 2020; Wu, Ozcelik, et al., 2019) (Farasat et al., 2022) (Pesch & Du, 2021).

هنگامی که یک ذره قطبش‌پذیر، در یک میدان الکتریکی غیریکنواخت، نیرو الکترواستاتیکی در دو طرف متفاوت هستند و نیروی خالص منجر به حرکت ذره می‌شود، معلق باشد؛ بارهایی به ذره القا شده و ذره در جهت میدان الکتریکی قطبی می‌شود. اگر قطبش‌پذیری الکتریکی ذره بیشتر از قطبش‌پذیری محیط بافر اطراف آن باشد، ذره به سمت میدان با شدت بالا حرکت می‌کند، به این فرایند

دی الکتروفورز مثبت^۲ گفته می‌شود. از طرف دیگر، اگر قطبش‌پذیری ذره کمتر از محیط اطراف باشد، ذره به سمت ناحیه‌ای با شدت کم حرکت کرده و دی الکتروفورز منفی^۳ نامیده می‌شود (شکل ۳-ب). بنابراین نیروی دی الکتروفورسیک به تفاوت در قطبش‌پذیری بین ذره و محیط اطراف بستگی دارد. در نتیجه بر اساس این نیروها ذرات در جهات متفاوتی حرکت کرده و به این ترتیب از یکدیگر جدا می‌شوند (Gascoyne et al., 2002; Pamme, 2007).

استفاده از خاصیت ذاتی ذرات و عدم استفاده از آنتی‌بادی‌ها و آنتی‌ژن‌ها از مزیت‌های این روش محسوب می‌شود. اما یکی از چالش‌های مهم جداسازی دی الکتروفورز، وابستگی شدید آن به اندازه است. علاوه بر این، دی الکتروفورز به شدت به رسانایی محیط (محلول خارج سلولی) بستگی دارد و جداسازی در بافرهای فیزیولوژیکی دشوارتر است. همچنین رسانایی محیط منجر به گرم شدن در نزدیکی الکترودها و تولید حباب و همچنین مرگ سلولی شود (Bhagat et al., 2010).

به عنوان مثال حدادی و همکارانش، اثر جریان‌های سیال و نیروهای دی الکتروفورز را به عنوان دو نیروی الکتروکینتیک اصلی، به منظور جداسازی ذرات در مقیاس نانو مطرح هستند را برای جداسازی وزیکول‌های خارج سلولی^۴ مشتق شده از سلول‌های SCAP، را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاکی از آن است که، جداسازی EV با استفاده از نیروهای الکتروکینتیک در یک دستگاه میکروسیال، یک روش تشخیص و به دام انداختن قابل اعتماد و حساس است (Hadady et al., 2021).

استفاده از امواج اکوستیک: تراشه‌های آکوستوفلویدیک، ذرات را بر اساس اندازه آن‌ها از طریق نیروی تابش صوتی جدا می‌کنند. در نتیجه، از امواج اکوستیک به منظور

¹ Mitra

² positive dielectrophoresis (pDEP)

³ negative dielectrophoresis (nDEP)

⁴ Extracellular vesicles (EVs)

بدون برجسب از طریق ترکیب میکروسیال‌های اینرسی و آکوستوفورز جداسازی کنند. دستگاه پیشنهادی دو تراشه میکروسیال را که یک تراشه کانال PDMS در بالای تراشه آکوستوفلوییدیک مبتنی بر سیلیکون بودند یکپارچه کرد. تراشه PDMS با پیش‌فوکوس کردن ذرات/سلول‌ها از طریق القای نیروی اینرسی ساختار کانال کار می‌کرد. تراشه‌های آکوستوفلوییدیک متصل ذرات را بر اساس اندازه آنها از طریق ماریچ شکل، ذرات دو خط با تمرکز در کانال را تشکیل دادند و یک تراشه آکوستوفلوییدیک به شکل سه شاخه ای ذرات را جابجا و جدا کرد که در آن ذرات بزرگتر روی کانال مرکزی متمرکز شده و ذرات کوچکتر به سمت کانال‌های جانبی حرکت کردند. کار سیال همزمان اجازه جداسازی ذرات با راندمان بالا را می‌دهد. با استفاده از این دستگاه آکوستوفلوییدیک جدید با میکروکانال اینرسی، جداسازی ذرات و سلول‌ها بر اساس اندازه آنها ارائه و تجزیه و تحلیل شد و کارایی دستگاه نشان داده شد. این دستگاه عملکرد جداسازی عالی را با نسبت بازیابی بالا (تا ۹۶٫۳٪)، راندمان جداسازی (تا ۹۹٪) و سرعت حجم بالا نشان داد (U. Kim, Oh, Ahn, Lee, & Cho, 2022).

جداسازی نوری: جداسازی ذرات با این روش نیازمند یک پرتوی لیزر متمرکز است در نتیجه ذرات به دلیل تفاوت در شاخص‌های انکساری‌شان به دام می‌افتند. تفاوت در ضریب شکست باعث دور شدن ذرات از منبع نور شده و برخی ذرات با حرکت به سمت نقطه تمرکز بیشینه، در دام‌های نوری^۵ گیر می‌افتند و به این ترتیب از سایر ذرات جدا می‌شوند (شکل ۳-د).

جداسازی ذرات معلق، در ابعاد میکرومتر و همچنین در به دام انداختن ذرات استفاده شده است. اخیراً، جداسازی مبتنی بر امواج اکوستیک توسط کاپیشنیکو^۱ همکارانش گزارش شده است. به طور کلی، در این روش از نیروی تابش اولیه آکوستیک محوری برای به حرکت درآوردن و یا به دام انداختن ذرات در جریان پیوسته استفاده می‌شود. سیستم‌های جداسازی برپایه امواج صوتی که توسط فناوری میکروفلوئید در کاربردهای مختلف مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این میکروساختارها دقت مورد نیاز برای ساخت تشدید کننده‌های صوتی با فرکانس بالا را فراهم می‌کنند. از جمله مزایای این سیستم‌ها می‌توان به مواردی از جمله، استفاده مداوم، اجرای نسبتاً آسان و برخورد آرام با مولکول‌های زیستی، را ذکر کرد. اما از نگرانی‌های موجود، افزایش درجه حرارت در اطراف ذرات توسط موج ایجاد شده و آسیب به آن‌ها است. بنابراین نکته‌ی مهم در ساخت تراشه‌های اکوستیک، استفاده از مواد مناسب با توجه به ماهیت سیستم برای عبور موج و عدم جذب آن می‌باشد (شکل ۳-ج) (Barani et al., 2016; Petersson, Åberg, Swärd- (Nilsson, & Laurell, 2007).

دستکاری ذرات مبتنی بر امواج صوتی اکوستیک در میکروسیالات در سال‌های اخیر توجه فزاینده‌ای را به خود جلب کرده است. وو^۲ و همکارانش، وزیکول‌های خارج سلولی و لیپوپروتئین‌ها را با استفاده از این روش جداسازی کردند. نتایج نشان می‌دهد که آکوستوفورز جریان آزاد می‌تواند برای انجام وظایف جداسازی پیچیده استفاده شود، در نتیجه جایگزینی برای روش‌های گران‌قیمت و زمان‌بر در حال حاضر در حال استفاده ارائه می‌شود (Wu, Chen, et al., 2019).

کیم^۴ و همکارانش، یک دستگاه میکروسیال یکپارچه را طراحی کردند که می‌تواند ذرات را به صورت غیر تماسی و

¹ Kapishnikov
² axial acoustic primary radiation force (PRF)
³ wu
⁴ Kim
⁵ Optical Tweezers

جداسازی با استفاده از پرتوهای نور، پتانسیل بالایی در جداسازی مولکول‌های زیستی دارد. ژائو^۱ و همکارانش یک ساختار میکروسیال-نانوفوتونیک^۲ یکپارچه، به نام SWANS^۳ به منظور جداسازی پیوسته مولکول‌های زیستی در مقیاس نانو طراحی کردند. در این روش ذرات ۲۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ نانومتری، در شبکه انحرافات مکرر را تجربه کرده، وارد مسیرهای متمایزی شده و در نهایت ذرات با خلوص ۹۴ درصد جدا شدند. روش SWANS روش جدیدی را برای جداسازی بیومولکول‌ها فراهم می‌کند و پیش بینی می‌شود که کاربردهای زیست پزشکی گسترده‌ای را تسهیل کند (H. Zhao et al., 2021).

روش‌های غیرفعال: برخلاف تکنیک‌های میکروسیال فعال، این روش‌ها مبتنی بر ویژگی‌های ذاتی سیالات هستند و برای تأمین نیروهای محرکه به میدان‌های خارجی متکی نیستند. در این بخش، پنج تکنیک میکروسیال غیرفعال، یعنی استفاده از سازه‌های با مانع^۴، جابجایی جانبی قطعی^۵، فیلتر هیدرودینامیک^۶، تجزیه جریان باریک^۷، نیروهای اینرسی^۸ و خاصیت اتصال مولکولی^۹ مورد بحث قرار می‌گیرند (Zhang et al., 2020).

سازه‌های با مانع: استفاده از سازه‌های با مانع یکی از روش‌های شناخته شده جداسازی ذرات و سلول‌ها می‌باشد. در این روش، بین موانع و پوشش بالایی تراشه شکافی وجود دارد که این شکاف به عنوان فیلتر عمل کرده و ذرات کوچکتر، از آن عبور می‌کنند در حالی که ذرات بزرگ‌تر، به دام می‌افتند و به این ترتیب، جداسازی انجام می‌شود (شکل ۳-ه، ۳-و).

و یلدینگ^۱ و همکاران، از این روش به منظور جداسازی گلبول‌های سفید از خون استفاده کردند؛ به این صورت که شکاف بین موانع و پوشش بالایی را حدود ۳/۵ میکرومتر در نظر گرفتند تا گلبول‌های قرمز با ابعاد ۲ میکرومتر از شکاف عبور کرده و گلبول‌های سفید به دام بیفتند. به این دلیل که موانع عمود بر مسیر جریان هستند، ممکن است شکاف دچار انسداد شده و فرایند جداسازی به طور موثر دنبال نشود. به منظور رفع این مشکل، چن^۱ و همکاران، تراشه‌ای را طراحی کردند که موانع به صورت موازی با مسیر جریان قرار می‌گیرد. این تراشه از سه میکروکانال ساخته شده که توسط موانع جدا شده‌اند. گلبول‌های سفید در کانال اصلی حرکت کرده و گلبول‌های قرمز و سایر سلول‌های کوچکتر از طریق شکاف بین موانع و پوشش بالایی، به کانال‌های فرعی جابجا شده و فرایند جداسازی تکمیل می‌گردد (Bhagat et al., 2010).

جابجایی جانبی قطعی: یک روش میکروفلوئیدیک هیدرودینامیکی است که برای اولین بار در سال ۲۰۰۴ توسط هوانگ^۲ و همکارانش به منظور جداسازی ذرات بر اساس اندازه، در جریان پیوسته با قدرت تفکیک ۱۰ نانومتر، ارائه شد. این روش جداسازی بر مبنای برخورد سیال با موانعی با هندسه مشخص می‌باشد؛ که با کنترل هندسه موانع، شکل و طراحی کانال و تعریف یک مقدار مشخصه به نام قطر بحرانی^۳ جداسازی ذرات بزرگتر و کوچکتر از قطر بحرانی صورت می‌گیرد (شکل ۴-الف) (Huang, Cox, Austin, & Sturm, 2004) (Hochstetter et al., 2020).

فاصله جانبی هر ردیف از موانع که در فاصله مشخصی نسبت به ردیف قبل قرار دارند، باعث ایجاد خطوط جریان

¹ Haitao Zhao

² Microfluidic-nanophotonic

³ Silicon Waveguide-pair Array-based Nanophotonic Sorting

⁴ Weir Structures

⁵ Deterministic Lateral Displacement (DLD)

⁶ Hydrodynamic Filtration

⁷ Pinched Flow Fractionation

⁸ Inertial Forces

⁹ Affinity-based Separation

¹ Wilding

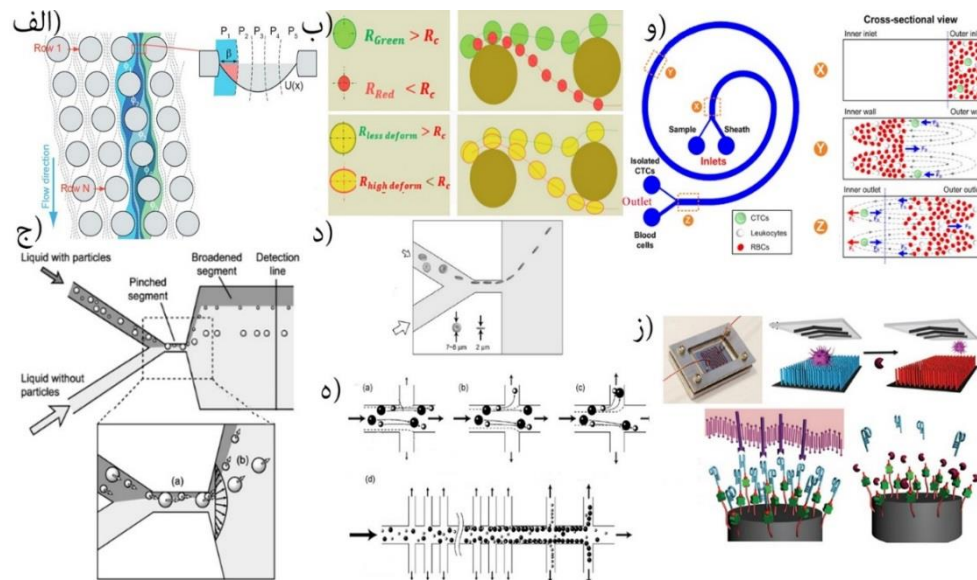
¹ Chen

¹ Huang

¹ Critical Diameter³

اولین خط جریان باقی می ماند و اصطلاحاً گفته می شود ذره، در حالت زیگ زاگ^۱ قرار دارد. ذره با قطر بزرگتر از مقدار بحرانی، در طول مسیر، به خطوط جریان اطرافش جابجا شده و در حالت جابجایی^۲ قرار می گیرد (شکل ۴-ب) (Tran, 2017).

تکی می شود که این خطوط مسیره‌های مشخصی را دنبال کرده و تعدادشان بین هر دو مانع، قابل تعیین و اندازه‌گیری می‌باشد. از این ویژگی به منظور آسان کردن جداسازی استفاده می‌شود به این صورت که وقتی، دو ذره صلب و کروی شکل با اندازه مختلف از موانع عبور می‌کنند، ذره‌ای که کوچکتر از قطر بحرانی باشد در تمام طول مسیر، در



شکل ۴- الف) خطوط جریان در جابجایی جانبی قطعی (Beech, Jönsson, & Tegenfeldt, 2009). ب) چگونگی حرکت ذرات از میان موانع (Tran, 2017). ج) تجزیه جریان باریک (Yamada et al., 2004). د) تجزیه جریان باریک (Takagi et al., 2005). ه) فیلتر هیدرودینامیک (Yamada & Seki, 2005) و استفاده از نیروهای اینرسی (Hou et al., 2013). ز) جداسازی بر اساس خاصیت چسبندگی (Shen et al., 2013)

و ایجاد تمرکز هیدرودینامیکی حالت پایدار را نشان می‌دهند که برای جداسازی خوب، مورد نیاز است. آزمایش‌های کمی با ریزدانه‌های فلورسنت نشان داد که جمع‌آوری نمونه با استفاده از لوله ثابت بسیار قابل اعتمادتر از لوله‌گذاری دستی بود، و نسبت نرخ جریان تأثیر قوی‌تری بر بازده جداسازی نسبت به مقادیر مطلق نرخ جریان دارد. گزارش کردند که نتیجه‌گیری‌ها احتمالاً برای اکثر دستگاه‌های DLD درست است (Aghajianloo et al., 2022).

آقاجانلو و همکارانش، پارامترهای تأثیرگذار در فرایند جداسازی، با روش DLD را مورد بررسی قرار دادند. به این منظور، سه آزمایش طراحی گردید. در آزمایش اول، از محلول‌های رنگی برای تجسم شکل‌گیری جریان نمونه متمرکز هیدرودینامیکی استفاده شد. در آزمایش دوم، عملکرد جداسازی ذرات (ذرات ۷ و ۱۵ میکرومتر) تحت تأثیر جمع‌آوری سیالات خروجی مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت، در آزمایش سوم به راندمان جداسازی ذرات با تغییر نرخ‌های جریان ورودی و نسبت بافر به نمونه نگاه گردید. آزمایش‌های کیفی یک مرحله گذار بین شروع جریان

^۱ Zig-Zag Mode
^۲ Displacement Mode

استفاده از نیروهای اینرسی: در این روش، جداسازی بر اساس اندازه ذرات و ابعاد کانال انجام می‌شود؛ از آنجا که ذرات با استفاده از خواص ذاتی سیستم و به صورت کاملاً مکانیکی و بر اثر تعامل نیروهای جلوبر^۲ و نیروهای بالابر^۳ از یکدیگر جدا می‌شوند، می‌توان میزان آسیب به آن‌ها با توجه به ابعاد بزرگ کانال به حداقل رساند و سرعت و دقت جداسازی را افزایش داد. تنها مشکل موجود در این روش برخورد بین ذره‌ای است که باعث کاهش بازده جداسازی می‌شود؛ به همین دلیل نمونه قبل از انجام آزمایشات باید رقیق گردد (شکل ۴-و) (G.-Y. Kim, Han, & Park, 2018).

از مطالعات انجام شده در این زمینه می‌توان به سیستم طراحی شده توسط ورکیانی^۴ و همکاران اشاره کرد، بر اساس چرخش نمونه در کانال منحنی شکل و به صورت کاملاً مکانیکی به جداسازی پرداخته و سلول‌های سرطانی را از دیگر سلول‌ها جدا کرده است. موفقیت این آزمایشات بر روی سرطان‌های سینه و پروستات حدود ۸۰ درصد بوده است (Warkiani, Tay, Guan, & Han, 2015).

در پژوهشی دیگر، رضوی و همکارانش؛ با استفاده از یک چاپگر سه بعدی قطعات دستگاه را با وضوح بالا چاپ و سپس با استفاده از یک نوار چسب حساس به فشار دو روکش را به یک صفحه شفاف پلی متیل متاکریلات^۵ متصل کردند. با استفاده از این روش، مجموعه‌ای از دستگاه‌های میکروسیال اینرسی موجود را، چه به صورت منفرد یا چندگانه، مانند آرایه‌های مستقیم، ماریپیچ، منحنی، و انقباض-انبساط ساخته و به منظور جداسازی سلول‌ها، مورد آزمایش قرار دادند. نشان داده شد که تراشه‌های تولید شده می‌توانند فشاری تا ۱۵۰ psi را با حداقل تداخل در عملکرد کلی دستگاه و زنده بودن سلول‌ها تحمل کنند (Razavi Bazaz et al., 2020).

تجزیه جریان باریک: یک روش جدید هیدرودینامیکی است که به جداسازی ذرات بر اساس اندازه می‌پردازد و توسط یامادا و همکاران ارائه شده است (Yamada, Nakashima, & Seki, 2004). مطابق شکل ۴-ج و ۴-ه، دستگاه از دو ورودی باریک تشکیل شده که یکی از آنها مخصوص بافر و دیگری محل ورود نمونه است. با شروع حرکت، جریان باعث می‌شود ذرات کوچک‌تر نزدیک به دیواره کانال قرار گرفته و ذرات در این محل به خط شده و از نمونه جدا شوند. محدودیت این روش در نرخ‌های بالاتر جریان است که حرکت ذرات تحت تاثیر نیروهای اینرسی قرار گرفته و بازده جداسازی پایین می‌آید (Takagi, Yamada, Yasuda, & Seki, 2005).

فیلتر هیدرودینامیک: در این روش از یک کانال اصلی و تعدادی کانال جانبی به منظور جداسازی استفاده می‌شود، که به دلیل اختلاف در اندازه، ذرات کوچک‌تر در نزدیکی دیواره‌های کانال اصلی قرار گرفته و در نتیجه زودتر وارد کانال‌های جانبی شده و از ذرات بزرگ‌تر جدا می‌شوند. جداسازی در این روش کاملاً وابسته به جریان می‌باشد؛ بنابراین می‌توان از کانال‌هایی با ابعاد بزرگ‌تر از قطر ذرات به منظور کاهش انسداد کانال و افزایش راندمان جداسازی استفاده کرد (شکل ۴-ه) (Bhagat et al., 2010).

یامادا^۱ و همکارانش به منظور جداسازی سلول‌های مختلف کبدی از دستگاه‌های میکروسیال هیدرودینامیکی و وابسته به اندازه استفاده کردند. با وارد کردن مداوم سوسپانسیون سلولی به یک میکروکانال با کانال‌های شاخه جانبی متعدد، سلول‌های کوچک‌تر از یک اندازه خاص از جریان اصلی حذف شدند، در حالی که سلول‌های بزرگ روی دیواره جانبی در میکروکانال متمرکز و سپس به دو یا سه گروه جداسازی شدند (Yamada et al., 2007).

¹ Masumi Yamada
² Drag Forces
³ Lift Forces
⁴ Warkiani
⁵ polymethylmethacrylate (PMMA)

میکروسیال‌ها، مطالعه رفتار سلولی را تحت طیف وسیعی از پارامترها، ممکن می‌سازد. تطبیق پذیری این دستگاه‌ها تا حدی شبیه سازی ریزمحیط سلولی *in vivo* (رگ‌سازی، سه بعدی، استرس مواد مغذی، و غیره) را ممکن می‌سازد (Velve-Casquillas et al., 2010). همچنین این ریزمحیط‌های سلولی ایجاد شده برای تصویربرداری از سلول‌های زنده نیز مناسب هستند. کنترل مکانی و زمانی چنین سیستم‌هایی زیربنای مطالعه پدیده‌های پویا با وضوح بالا و در بلندمدت را فراهم می‌کند. به عنوان مثال، روندهای نسلی را می‌توان با ترکیب تصویربرداری با میکروسیال به منظور مشاهده طول عمر سلولی چندین سلول منفرد، مورد بررسی قرار داد. به عنوان مثال، از این ابزارها برای بررسی وراثت سلولی و پیری استفاده شده است. سلول‌های مخمر منفرد در یک دستگاه میکروسیال تجاری به دام افتادند و نسبت حجم میتوکندری به سلول به مدت ۵۰ ساعت کنترل شد، در این مدت تا ۴۰ نسل جوانه زدن مخمر مشاهده شد. محققان به کاهش مداوم نسبت حجمی میتوکندری به سلول، سلول‌های مادر با سن نسل اشاره کردند. جالب توجه است، نسبت حجم میتوکندری به سلول، سلول‌های دختر در طول زمان حفظ شد (Duncombe, Tentori, & Herr, 2015; Rafelski et al., 2012).

همچنین از میکروفلوئید در تشخیص بیماری‌های سیستم ایمنی استفاده می‌شود. ناهمگونی بین سلول‌های ایمنی یک چالش بزرگ برای درک توسعه سیستم ایمنی است. علاوه بر این، جمعیت‌های سلولی ناهمگن می‌توانند با ترکیب مجدد سلول‌های B و T ایجاد شوند، از این رو ویژگی‌های عملکردی سیستم ایمنی باید در سطح تک سلولی تجزیه و تحلیل شوند. اخیراً، فناوری‌های مبتنی بر میکروسیال با کنترل فضایی و زمانی و توان عملیاتی بالا، ایمونوترابی دقیق را ممکن می‌سازند. میکروسیال‌ها امکان تقسیم سلول‌های منفرد و تکثیر ژن‌های خاص یا حتی کل رونوشت را فراهم می‌کنند. بنابراین، فن‌آوری‌های میکروسیالی به درک این

خاصیت اتصال مولکولی: در این روش جداسازی با استفاده از مکانیزم‌های مولکولی و پوشاندن سطح کانال با آنتی‌ژن‌ها و یا آنتی‌بادی‌ها انجام می‌شود. هنگام عبور نمونه از کانال، تعدادی از ذرات با آنتی‌ژن‌های موجود در سطح پیوند شیمیایی برقرار کرده و به آن‌ها متصل شده و در نتیجه بقیه نمونه به راحتی از کانال عبور خواهد کرد. سپس ذرات به دام افتاده در کانال‌ها با استفاده از نیروی برشی قوی‌تر، القای حباب و یا آنزیم خاص، از جای خود خارج کرده و برای تجزیه و تحلیل بیشتر جمع‌آوری می‌شوند (شکل ۴-ز) (Hyun & Jung, 2013).

در سیستم طراحی شده توسط شن^۱ و همکاران، سطحی از سیلیکون توسط آنتی‌ژن مربوط به سرطان پوشیده شده و به هنگام عبور نمونه، سلول‌های سرطانی توسط آنتی‌ژن مربوطه جذب می‌شوند. آزمایش‌های انجام شده بر روی سرطان پروستات با استفاده از این روش، به بازدهی حدود ۸۵ درصد رسیده است (M.-J. Shen et al., 2021).

حیطه‌های کاربرد جداسازی ذرات زیستی بر پایه میکروفلوئیدیک: کاربرد سامانه‌های نوین میکروفلوئیدیک در حیطه‌های بسیار متنوعی از جمله داروسازی، مهندسی بافت، بیوتکنولوژی، زیست‌پزشکی و غیره در حال گسترش روز افزون می‌باشد.

جداسازی یک جمعیت سلولی از نمونه‌های بیولوژیکی ناهمگن، وظایف حیاتی در زیست‌پزشکی از جمله تشخیص و درمان سرطان، پزشکی ترمیم‌کننده، مهندسی بافت، زیست‌شناسی و سنجش‌های پزشکی دارد. برای مثال، جداسازی سلول‌های تومور موجود در گردش خون، از جریان خون دارای ارزش بالینی در نظارت بر مرحله متاستاتیک سرطان است، که یک پدیده پیچیده محسوب می‌شود. با استفاده از روش میکروفلوئید ارزیابی سلول‌های سرطانی آسان‌تر و سریع‌تر شده است (Nasiri et al., 2020).

موجود، نیاز به آزمایش‌های بالینی جایگزین بسیار زیاد است. سیستم‌های ارگان روی تراشه امکان مطالعه اثرات عوامل دارویی و توسعه مدل‌های بیماری برای اندام مرتبط را، فراهم می‌کنند. چنین سیستمی به منظور بررسی تأثیر داروهای جدید بر اندام‌های مربوطه مورد استفاده قرار می‌گیرد، بنابراین برای تحقیقات پزشکی و دارویی آتی از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است (Ortseifen, Viefhues, Wobbe, & Grünberger, 2020; Pattanayak et al., 2021).

تحریک شیمیایی توانایی کنترل دقیق جریان و ایجاد گرادیان با استفاده از سیستم‌های میکروسیال منجر به افزایش استفاده از این ابزارها برای بررسی تأثیر عوامل شیمیایی بر سیستم‌های بیولوژیکی شده است. نمونه‌های اخیر از میکروسیال‌ها برای مطالعه فرآیندهای بیولوژیکی پیچیده مانند بویایی، پاسخ به سموم، و تأثیر هورمون‌ها، از جمله موارد دیگر، استفاده می‌کنند (Frey, Sönmez, Minden, & LeDuc, 2022).

نتیجه‌گیری

از روش‌های مختلف جداسازی ذرات و سلول‌ها می‌توان در تحقیقات و درمان استفاده کرد. روش‌های جداسازی متداول شامل چسبندگی، فیلترکردن، ساتریفیوژ متداول و ناحیه‌ای، ساتریفیوژ ضد جریان، گرانش واحد و توزیع جریان مخالف می‌باشد. اگرچه این روش‌ها جداسازی سلول‌ها را با بازدهی بالا انجام می‌دهند؛ اما نیازمند هزینه‌های زیاد و حجم بالایی از نمونه هستند.

با ظهور میکروفلوئیدیک در دهه ۱۹۸۰ میلادی، روش‌های نوینی قدم به عرصه‌ی جداسازی گذاشتند؛ که روش‌های فعال و غیرفعال را شامل می‌شوند. روش‌های فعال مانند روش‌های نوری، الکتروفورسیس، دی‌الکتروفورسیس و امواج اکوستیک، بر مبنای نیروی محرکه‌ی خارجی و روش‌های غیرفعال مانند حاجبایی جانبی قطعی، فیلتر هیدرودینامیک و استفاده از نیروهای اینرسی، بر اساس طراحی هندسه کانال و نیروهای داخلی به جداسازی

موضوع کمک می‌کنند که چگونه سیستم ایمنی باعث ایجاد پاسخ‌های بالقوه متعدد در برابر پاتوژن‌های مختلف می‌شود (Zhou et al., 2021).

میکروسیال‌ها، سیال‌ها را با دقت، کنترل و دستکاری می‌کنند. در نتیجه از این روش به تدریج در زمینه توسعه حامل‌های دارو و غربالگری سمیت دارویی استفاده شده است. فناوری میکروسیال می‌تواند کنترل دقیقی بر محیط شکل‌گیری ذرات در یک الگوی جریان پیوسته اعمال کند. سرعت اختلاط و فرآیند انتقال گرما و جرم سیال روی یک تراشه میکروسیالی را می‌توان با طراحی ساختارهای میکروکانال، سرعت جریان و ویسکوزیته در سطح مشترک بین دو فاز به دقت کنترل کرد. بسیاری از نامزدهای دارویی به غربالگری سمیت برای تعیین سمیت آنها در مرحله پیش بالینی نیاز دارند، که برای توسعه ایمن داروهای جدید ضروری است. اخیراً پلتفرم‌های میکروسیالی برای رسیدگی به چالش‌های غربالگری دارویی مبتنی بر سلول ایجاد شده‌اند که مزایایی مانند کاهش حجم معرف‌های مورد نیاز و ایجاد یک کشت سلولی سه‌بعدی (D³) شبیه به ریزمحیط فیزیولوژیکی/پاتولوژیکی ارائه می‌کنند. تراشه‌های میکروسیال می‌توانند به کنترل مکانی-زمانی غلظت دارو دست یابند که نقش مهمی در غربالگری سمیت دارو ایفا می‌کند (P. Zhao et al., 2022).

از سوی دیگر، انواع مختلفی از سلول‌ها در دستگاه‌های میکروسیال ادغام شده‌اند تا اندام‌هایی روی تراشه تولید کنند که می‌توانند ساختارهای بافتی سه‌بعدی، جریان خون و حرکت مکانیکی را بازسازی کنند، و همچنین عملکردهای اندام را در شرایط آزمایشگاهی بازتولید کنند. قبل از اینکه یک داروی جدید توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده تأیید شود، باید آزمایش‌های پیش بالینی متعددی انجام شود تا علاوه بر عوارض جانبی ناخواسته، نتایج مورد نظر را ارزیابی گردد. تاکنون، آزمایش بر روی حیوانات، روشی است که مورد استفاده قرار گرفته است ولی به علت معایب

متداول فعلی، سهولت دسترسی برای عموم مردم و پیشرفت و توسعه هر چه بیشتر به خصوص در علوم پزشکی را داراست. همچنین به منظور تشخیص مراحل پیشرفت بیماری‌ها و حتی ارزیابی بازده داروهای مشخص برای مقابله با آن‌ها، این روش‌ها به کار گرفته می‌شود.

قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه خود را از کارکنان پژوهشکده زیست فناوری و رویان و دانشکده مکانیک دانشگاه صنعتی اصفهان که ما را در گردآوری مطالب و ارتقای کیفی این پژوهش یاری دادند، اعلام کنند.

می‌پردازند. از جمله مزیت‌هایی که پژوهشگران را به سمت استفاده از روش‌های جداسازی میکروفلوئیدیک سوق داد، کاهش هزینه‌ها، کاهش حجم نمونه، سرعت جداسازی بالاتر، صرفه جویی در زمان، بهبود خلوص نمونه‌های جدا شده، کاهش خطرات زیست محیطی و حمل و نقل آسان است که استفاده ی آن را در مناطق فاقد تجهیزات بالینی امکان‌پذیر می‌سازد. انتخاب مناسب‌ترین روش براساس نوع و حجم نمونه‌ی استفاده شده، هزینه‌ها، دقت و بازده جداسازی، بر حسب نیاز متغیر است.

به طور کلی جداسازی میکروفلوئیدیک قابلیت کاهش حجم نمونه، کاهش هزینه‌های گزاف در مقایسه با روش‌های

منابع

- 1- Aghajano, B., Inglis, D. W., Ejeian, F., Tehrani, A. F., Esfahani, M. H. N., Saghafian, M., . . . Marasso, S. L. (2022). Effect of process parameters on separation efficiency in a deterministic lateral displacement device. *Journal of Chromatography A*, 1, ۶۷۸-۶۳۲۹۵.
- 2- Akagi, T., & Ichiki, T. (2008). Cell electrophoresis on a chip: what can we know from the changes in electrophoretic mobility? *Analytical and bioanalytical chemistry*, 391(7), 2433-2441 .
- 3- Almeida, M., García-Montero, A. C., & Orfao, A. (۲۰۱۴) . Cell purification: a new challenge for biobanks. *Pathobiology*, 81(5-6), 261-275 .
- 4- Antfolk, M., Magnusson, C., Augustsson, P., Lilja, H., & Laurell, T. (2015). Acoustofluidic, label-free separation and simultaneous concentration of rare tumor cells from white blood cells. *Analytical chemistry*, 87(18), 9322-9328 .
- 5- Barani, A., Paktinat, H., Janmaleki, M., Mohammadi, A., Mosaddegh, P., Fadaei-Tehrani, A., & Sanati-Nezhad, A. (2016). Microfluidic integrated acoustic waving for manipulation of cells and molecules. *Biosensors and Bioelectronics*, 85, 714-725 .
- 6- Beebe, D. J., Mensing, G. A., & Walker, G. M. (2002). Physics and applications of microfluidics in biology. *Annual review of biomedical engineering*, 4(1), 261-286 .
- 7- Beech, J. P., Jönsson, P., & Tegenfeldt J. O. (2009). Tipping the balance of deterministic lateral displacement devices using dielectrophoresis. *Lab on a Chip*, 9(18), 2698-2706 .
- 8- Bergh Thorén, F. (2007). *Oxidant-induced cell death in lymphocytes: mechanisms of induction and resistance*: Inst of Biomedicine. Dept of Infectious Medicine.
- 9- Bhagat, A. A. S., Bow, H., Hou, H. W., Tan, S. J., Han, J., & Lim, C. T. (2010). Microfluidics for cell separation. *Medical & biological engineering & computing*, 48(10), 999-1014 .
- 10- Bonetta, L. (2005). Flow cytometry smaller and better. *Nature methods*, 2(10), 785-795 .
- 11- Chapter 1 Introduction. (2005). In S. Lu, R. J. Pugh, & E. Forssberg (Eds.), *Studies in Interface Science* (Vol. 20, pp. 1-7): Elsevier.
- 12- Chen, X., Liu, C. C., & Li, H. (2008). Microfluidic chip for blood cell separation and collection based on crossflow filtration. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 130(1), 216-221 .
- 13- Conlisk, A. (2007). Introduction to Microfluidics. By Patrick Tabeling. Oxford University Press, 2005. 312 pp. ISBN 019 856864 9.£ 4 ۹,۹۵(hardback). *Journal of Fluid Mechanics*, 570, 503-505 .
- 14- Cunningham, R. E. (1999). Tissue disaggregation. *Immunocytochemical Methods and Protocols*, 257-260 .
- 15- Doh, I., & Cho, Y.-H. (2005). A continuous cell separation chip using hydrodynamic dielectrophoresis (DEP) process. *Sensors and Actuators A: Physical*, 121(1), 59-65 .
- 16- Du, G., Fang, Q., & den Toonder, J. M. (2016). Microfluidics for cell-based high throughput screening platforms—A review. *Analytica chimica acta*, 903, 36-50 .

- 17- Duncombe, T. A., Tentori, A. M., & Herr, A. E. (2015). Microfluidics: reframing biological enquiry. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 16(9), 554-567 .
- 18- Farasat, M., Aalaei, E., Kheirati Ronizi, S., Bakhshi, A., Mirhosseini, S., Zhang, J., . . . Kashaninejad, N. (2022). Signal-Based Methods in Dielectrophoresis for Cell and Particle Separation. *Biosensors*, 12(7), 510 .
- 19- Frey, N., Sönmez, U. M., Minden, J., & LeDuc, P. (2022). Microfluidics for understanding model organisms. *Nature Communications*, 13(1), 3195 .
- 20- Furlani, E. (2010). Magnetophoretic separation of blood cells at the microscale. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 40(5), 1313 .
- 21- Gascoyne, P., Mahidol, C., Ruchirawat, M., Satayavivad, J., Watcharasit, P., & Becker, F. F. (2002). Microsample preparation by dielectrophoresis: isolation of malaria. *Lab on a Chip*, 2(2), 70-75 .
- 22- Guldiken, R., Jo, M. C., Gallant, N. D., Demirci, U., & Zhe, J. (2012). Sheathless size-based acoustic particle separation. *Sensors*, 12(1), 905-922 .
- 23- Hadady, H., Karamali, F., Ejeian, F., Haghjooy Javanmard, S., Rafiee, L., & Nasr Esfahani, M. H. (2021). AC electrokinetic isolation and detection of extracellular vesicles from dental pulp stem cells: Theoretical simulation incorporating fluid mechanics. *Electrophoresis*, 42(20), 2018-2026 .
- 24- Hochstetter, A., Vernekar, R., Austin, R. H., Becker, H., Beech, J. P., Fedosov, D. A., . . . Stolovitzky, G. (2020). Deterministic lateral displacement: Challenges and perspectives. *ACS nano*, 14(9), 10784-10795 .
- 25- Hodne, K., & Weltzien, F.-A. (2015). Single-cell isolation and gene analysis: pitfalls and possibilities. *International journal of molecular sciences*, 16(11), 26832-26849 .
- 26- Hou, H. W., Warkiani, M. E., Khoo, B. L., Li, Z. R., Soo, R. A., Tan, D. S.-W., . . . Lim, C. T. (2013). Isolation and retrieval of circulating tumor cells using centrifugal forces. *Scientific reports*, 3(1), 1-8 .
- 27- Huang, L. R., Cox, E. C., Austin, R. H., & Sturm, J. C. (2004). Continuous particle separation through deterministic lateral displacement. *Science*, 304(5673), 987-990 .
- 28- Hyun, K. A., & Jung, H. I. (2013). Microfluidic devices for the isolation of circulating rare cells: A focus on affinity-based, dielectrophoresis, and hydrophoresis. *Electrophoresis*, 34(7), 1028-1041 .
- 29- Kim, G.-Y., Han, J.-I., & Park, J.-K. (2018). Inertial microfluidics-based cell sorting. *BioChip Journal*, 12(4), 257-267 .
- 30- Kim, U., Oh, B., Ahn, J., Lee, S., & Cho, Y. (2022). Inertia-acoustophoresis hybrid microfluidic device for rapid and efficient cell separation. *Sensors*, 22(13), 4709 .
- 31- Kirby, B. J. (2010). *Micro-and nanoscale fluid mechanics: transport in microfluidic devices*: Cambridge university press.
- 32- Lee, G.-H., Kim, S.-H., Ahn, K., Lee, S.-H., & Park, J. Y. (2015). Separation and sorting of cells in microsystems using physical principles. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 26(1), 013003 .
- 33- Liang, W., Liu, J., Yang, X., Zhang, Q., Yang, W., Zhang, H., & Liu, L. (2020). Microfluidic-based cancer cell separation using active and passive mechanisms. *Microfluidics and Nanofluidics*, 24(4), 1-19- .
- 34- McGrath, J., Jimenez, M., & Bridle, H. (2014). Deterministic lateral displacement for particle separation: a review. *Lab on a Chip*, 14(21), 4139-4158 .
- 35- Mitra, I., Alley Jr, W. R., Goetz, J. A., Vasseur, J. A., Novotny, M. V., & Jacobson, S. C. (2013). Comparative profiling of N-glycans isolated from serum samples of ovarian cancer patients and analyzed by microchip electrophoresis. *Journal of proteome research*, 12(10), 4490-4496 .
- 36- Nagase, K., Kimura, A., Shimizu, T., Matsuura, K., Yamato, M., Takeda, N., & Okano, T. (2012). Dynamically cell separating thermo-functional biointerfaces with densely packed polymer brushes. *Journal of Materials Chemistry*, 22(37), 19514-19522 .
- 37- Nagraath, S., Sequist, L. V., Maheswaran, S., Bell, D. W., Irimia, D., Ulkus, L. . . . Muzikansky, A. (2007). Isolation of rare circulating tumour cells in cancer patients by microchip technology. *Nature*, 450(7173), 1235-1239 .
- 38- Nasiri, R., Shamloo, A., Ahadian, S., Amirifar, L., Akbari, J., Goudie, M. J., . . . Di Carlo, D. (2020). Microfluidic-based approaches in targeted cell/particle separation based on physical properties: Fundamentals and applications. *Small*, 16(29), 2000171 .
- 39- Oosterbroek, R. E., Oosterbroek, E., & van den Berg, A. (2003). *Lab-on-a-chip: miniaturized systems for (bio) chemical analysis and synthesis*: Elsevier.
- 40- Ortseifen, V., Viefhues, M., Wobbe, L., & Grünberger, A. (2020). Microfluidics for biotechnology: bridging gaps to foster microfluidic applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 5890 .
- 41- Ou, X., Chen, P., Huang, X., Li, S., & Liu, B. F. (2020). Microfluidic chip electrophoresis for biochemical analysis. *Journal of separation science*, 43(1), 258-270 .
- 42- Pagaduan, J. V., Sahore, V., & Woolley, A. T. (2015). Applications of microfluidics and microchip electrophoresis for potential clinical biomarker analysis.

- Analytical and bioanalytical chemistry*, 407(23), 6911-6922 .
- 43- Pamme, N. (2007). Continuous flow separations in microfluidic devices. *Lab on a Chip*, 7(12), 1644-1659 .
- 44- Pattanayak, P ., Singh, S. K., Gulati, M., Vishwas, S., Kapoor, B., Chellappan, D. K., . . . Gupta, P. K. (2021). Microfluidic chips: recent advances, critical strategies in design, applications and future perspectives. *Microfluidics and nanofluidics*, 25, 1-28 .
- 45- Pesch, G. R., & Du, F. (2021). A review of dielectrophoretic separation and classification of non-biological particles. *Electrophoresis*, 42(1-2), 134-152 .
- 46- Petersson, F., Åberg, L., Swärd-Nilsson, A.-M., & Laurell, T. (2007). Free flow acoustophoresis: microfluidic-based mode of particle and cell separation. *Analytical chemistry*, 79(14), 5117-5123 .
- 47- Preetam, S., Nahak, B. K., Patra, S., Toncu, D. C., Park, S., Syväjärvi, M., . . . Tiwari, A. (2022). Emergence of microfluidics for next generation biomedical devices . *Biosensors and Bioelectronics: X*, 100106 .
- 48- Rafelski, S. M., Viana, M. P., Zhang, Y., Chan, Y.-H. M., Thorn, K. S., Yam, P., . . . Marshall, W. F. (2012). Mitochondrial network size scaling in budding yeast. *Science*, 338(6108), 822-824 .
- 49- Razavi Bazaz, S ., Rouhi, O., Raoufi, M. A., Ejeian, F., Asadnia, M., Jin, D., & Ebrahimi Warkiani, M. (2020). 3D printing of inertial microfluidic devices. *Scientific reports*, 10(1), 5929 .
- 50- Sheeler, P. (1983). *Cell biology: Structure, biochemistry and function*. Retrieved from
- 51- Shen, M.-J., Olsthoorn, R. C., Zeng, Y., Bakkum, T., Kros, A., & Boyle, A. L. (2021). Magnetic-activated cell sorting using coiled-coil peptides: an alternative strategy for isolating cells with high efficiency and specificity. *ACS applied materials & interfaces*, 13(10), 11621-11630 .
- 52- Shen, Q., Xu, L., Zhao, L., Wu, D., Fan, Y., Zhou, Y., . . . Song, M. (2013). Specific capture and release of circulating tumor cells using aptamer-modified nanosubstrates. *Advanced materials*, 25(16), 2368-2373 .
- 53- Shields IV, C. W., Reyes, C. D., & López, G. P. (2015). Microfluidic cell sorting: a review of the advances in the separation of cells from debulking to rare cell isolation. *Lab on a Chip*, 15(5), 1230-1249 .
- 54- Takagi, J., Yamada, M., Yasuda, M., & Seki, M. (200 .) Continuous particle separation in a microchannel having asymmetrically arranged multiple branches. *Lab on a Chip*, 5(7), 778-784 .
- 55- Techaumnat, B., Panklang, N., Wisitsoraat, A., & Suzuki, Y. (2020). Study on the discrete dielectrophoresis for particle–cell separation. *Electrophoresis*, 41(10-11), 991-1001 .
- 56- Tomlinson, M. J., Tomlinson, S., Yang, X. B., & Kirkham, J. (2013). Cell separation: Terminology and practical considerations. *Journal of tissue engineering*, 4, 2041731412472690 .
- 57- Tran, T. S .(۲۰۱۷) *Deterministic Lateral Displacement for Cell Sorting*: Division of Solid State Physics and Nano Lund, Department of Physics, Lund....
- 58- Velve-Casquillas, G., Le Berre, M., Piel, M., & Tran, P. T. (2010). Microfluidic tools for cell biological research. *Nano today*, 5(1), 28-47 .
- 59- Warkiani, M. E., Tay, A. K. P., Guan, G., & Han, J. (2015). Membrane-less microfiltration using inertial microfluidics. *Scientific reports*, 5(1), 1-10 .
- 60- Wilding, P., Kricka, L. J., Cheng, J., Hvichia, G., Shoffner, M. A., & Fortina, P .(۱۹۹۸) Integrated cell isolation and polymerase chain reaction analysis using silicon microfilter chambers. *Analytical biochemistry*, 257(2), 95-100 .
- 61- Wu, M., Chen, C., Wang, Z., Bachman, H., Ouyang, Y., Huang, P.-H., . . . Huang, T. J. (2019). Separating extracellular vesicles and lipoproteins via acoustofluidics. *Lab on a Chip*, 19(7), 1174-1182 .
- 62- Wu, M., Ozcelik, A., Rufo, J., Wang, Z., Fang, R., & Jun Huang, T. (2019). Acoustofluidic separation of cells and particles. *Microsystems & nanoengineering*, 5 .۱۸-۱ (۱)
- 63- Yamada, M., Kano, K., Tsuda, Y., Kobayashi, J., Yamato, M., Seki, M., & Okano, T. (2007). Microfluidic devices for size-dependent separation of liver cells. *Biomedical microdevices*, 9(5), 637-645 .
- 64- Yamada, M., Nakashima, M., & Seki, M .(۲۰۰۴) Pinched flow fractionation: continuous size separation of particles utilizing a laminar flow profile in a pinched microchannel. *Analytical chemistry*, 76(18), 5465-5471 .
- 65- Yamada, M., & Seki, M. (2005). Hydrodynamic filtration for on-chip particle concentration and classification utilizing microfluidics. *Lab on a Chip*, 5(11), 1233-1239 .
- 66- Zhang, T., Hong, Z.-Y., Tang, S.-Y., Li, W., Inglis, D. W., Hosokawa, Y., . . . Li, M. (2020). Focusing of sub-micrometer particles in microfluidic devices. *Lab on a Chip* ۵۳-۳۵ ,(۱)۲۰ ,
- 67- Zhao, H., Chin, L. K., Shi, Y., Liu, P. Y., Zhang, Y., Cai, H., Liu, A.-Q. (2021). Continuous optical sorting of nanoscale biomolecules in integrated microfluidic-nanophotonic chips. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 331, 129428 .
- 68- Zhao, P., Wang, J., Chen, C., Wang, J., Liu, G., Nandakumar, K., . . . Wang, L. (2022). Microfluidic Applications in Drug Development: Fabrication of Drug

Carriers and Drug Toxicity Screening. *Micromachines*, 13(2), 200 .

high-throughput single cell sequencing. *Journal of Nanobiotechnology*, 19, 1-21 .

69- Zhou, W.-m., Yan, Y.-y., Guo, Q.-r ,Ji, H., Wang, H., Xu, T.-t., . . . Yu, X.-y. (2021). Microfluidics applications for

70- Zhu, B., & Murthy, S. K. (2013). Stem cell separation technologies. *Current opinion in chemical engineering*, 2(1), 3-7 .

A review of bioparticle separation methods based on microfluidic systems

Mousavi S.T.¹, Aghajanloo B.^{1and 2}, Azheiyani F.¹, Karimzadeh M.², Fadaei Tehrani A.², Montazeri M.², Fadaei Tehrani A.R.² and Nasr Isfahani M.H.¹

1 Royan Institute, Biotechnology Research Center of Jihad University, Cellular Sciences Research Center, Animal Biotechnology Group, Isfahan, I.R. of Iran

2 Isfahan University of Technology, Faculty of Mechanical Engineering, Isfahan, I.R. of Iran

Abstract

The separation of biological particles is a key step in many fields of biological research, including biotechnology, biomedicine, food, and pharmaceutical industries. Isolation of pathogenic bacteria from food, white blood cells from blood, isolation of circulating tumor cells in the early stages of cancer, etc. are examples of the application of isolation. Among the conventional methods of particle separation, we can mention adhesion, filtering, centrifugation, separation using active fluorescence and active magnetism, etc. While conventional separation methods exploit specific particle properties to achieve high-efficiency separations, with the advent of various microfluidics, less efficient methods have been devised that exploit natural principles and use different particle properties, with very high-volume evaluations. Fewer samples improved the speed and accuracy of separation. In general, passive separation methods are based on the use of several "intrinsic" particles and microfluidics, while active separation methods work by applying "external" forces (such as magnetic fields, electric fields, etc.). Among the most important properties of particles are size, density, deformation, and shape, as well as electrical, magnetic, and acoustic properties. The purpose of this article is to review the principles and common applications.

Key words: Bioparticles, Particle Separation, Biofluidic, Microfluidic