

Аннотация.

Целью данной работы является освоение методов математического моделирования применительно к массопереносу в микрофлюидных системах. Для достижения этой цели были с помощью пакета программ COMSOL MultiphysicsTM смоделированы специфическое связывание аналита из анализируемого раствора с модифицированной поверхностью:

- канала, через который протекает раствор,
- микросфер, находящихся в растворе.

С помощью данных моделей удалось показать справедливость представлений о вязкостном и диффузионном приграничных слоях, как об одномерных приближениях в задаче об адсорбции на стенке канала.

Оглавление

1. Введение	4
2. Обзор литературы	4
2.1. Микрофлюидика	4
2.2. Микрофлюидные аналитические системы	5
2.3. Биосенсоры	7
2.4. Флуоресцентные микросферы	9
2.5. Математическое описание релевантных физическо-химических про- цессов	10
2.6. Моделирование в микрофлюидике	15
3. Модели	18
3.1. Описание задач	18
3.2. Адсорбция на поверхность бесконечно высокого канала с одним видом сайтов связывания	19
3.3. Адсорбция на поверхность бесконечно высокого канала с двумя ви- дами сайтов связывания	24
3.4. Адсорбция на поверхность канала конечной высоты с двумя видами сайтов связывания	30
3.5. Адсорбция на микросферах	33
4. Материалы и методы	38
5. Результаты	38
6. Выводы	38
7. Благодарности	39

Обозначения и сокращения

УрЧП: уравнение в частных производных, уравнение математической физики.

(Не)специфическая адсорбция: (не)специфическое связывание молекулы из раствора с молекулой на поверхности или с самой поверхностью, НЕ имеется в виду разница между адсорбцией, обусловленной электростатическим притяжением иона к поверхности и обусловленной силами Ван-дер-Ваальса.

Уравнение: под уравнением зачастую имеется в виду система уравнений.

ППР: поверхностный плазмонный резонанс.

ОФК: одномерный фотонный кристалл.

КМ (QCM): кварцевые микровесы (quartz crystal microbalance).

ЛНЧ (LOC): лаборатория на чипе (lab-on-a-chip).

СМТА (μ TAS): система микрототального анализа (micro total analysis system).

1. Введение

Микрофлюидика — научно-инженерная область, посвящённая поведению малых объёмов жидкости при малых потоках. Микрофлюидика применяется в биологии, медицине и нанотехнологиях.

В связи с малыми размерами микрофлюидных систем, их поведение не интуитивно, а наблюдения за состоянием и поведением таких систем затруднены. Из-за этого в микрофлюидной практике для создания систем с предсказуемыми свойствами, а также для интерпретации получаемых с их помощью данных применяется математическое моделирование.

Целью работы является освоение методов математического моделирования массопереноса в микрофлюидных системах. В задачи работы входит создание моделей специфического связывания аналита с:

- модифицированной поверхностью канала, через который протекает раствор аналита: в двумерной и одномерной постановках, при наличии и отсутствии неспецифически связывающихся молекул в растворе, при наличии и отсутствии сайтов неспецифического связывания на поверхности;
- модифицированной поверхностью микросфер, находящихся в растворе аналита в потоке и при отсутствии течения.

2. Обзор литературы

2.1. Микрофлюидика

Микрофлюидика — наука о поведении малых объёмов жидкостей (от микро- до фемтолитров) при малых потоках. Малость объёмов и потоков можно определять значимостью эффектов масштаба: ламинарные потоки, определяющая роль капиллярных явлений, большое отношение площади поверхности к объёму.

Микрофлюидика может применяться [1]:

- для создания диагностических систем (**lab-on-a-chip**)
- для создания и исследования культур клеток (**organ-on-a-chip**),
- для адресной доставки лекарственных веществ (drug delivery),
- для синтеза наноматериалов.

Для данной работы интерес представляют, в первую очередь, диагностические системы. Диагностическими здесь и далее называются системы, позволяющие обнаружить (по возможности, определить/оценить количественно) содержание конкретного вещества в некотором растворе (зачастую — в биологической жидкости, например, в крови, моче, слюне, лимфе и т. д.) К возможным преимуществам использования микрофлюидных диагностических систем относятся [2, 3]:

- работа с малыми объёмами исследуемой жидкости,
- использование малых количеств веществ-детекторов,
- минимизация потерь жидкости на стенках реактора ввиду отсутствия необходимости переноса веществ между сосудами,
- увеличенная скорость диффузационного массопереноса,
- портативность,
- простота в использовании.

Последние два пункта являются ключевыми для создания диагностических устройств, которые можно использовать вдали от оснащённых лабораторий и квалифицированных специалистов (**РоС** (point-of-care) devices). Эти устройства могут обеспечивать быструю диагностику инфекционных заболеваний, что способствует более эффективному наблюдению за распространением этих заболеваний и более эффективной борьбе с ними [4].

Далее будем подразумевать, что ключом к детекции так или иначе является специфическая адсорбция анализа, что исключает из числа рассматриваемых диагностических методик, например, ПЦР.

2.2. Микрофлюидные аналитические системы

Примерами применения микрофлюидных аналитических систем являются (капиллярный) электрофорез [5], микрофлюидная хроматография [6], цифровой ПЦР [7], биосенсинг [8]. К преимуществам использования таких систем относятся малое количество исследуемого вещества, малое количество веществ-детекторов, высокая чувствительность, а в случае с безмаркерным биосенсингом — отсутствие влияния маркера на исследуемую кинетику [9].

Одной из первых микрофлюидных аналитических систем принято считать представленный в 1990 году хроматограф [10]. У этого хроматографа в чипе размером $5 \times 5\text{мм}$ была расположена колонка с размерами $6\text{мкм} \times 2\text{мкм} \times 15\text{см}$ со спиральной геометрией (рис. 1). Теоретическая эффективность разделения составила 8000 и 25000 тарелок при времени анализа 1 и 5 минут соответственно.

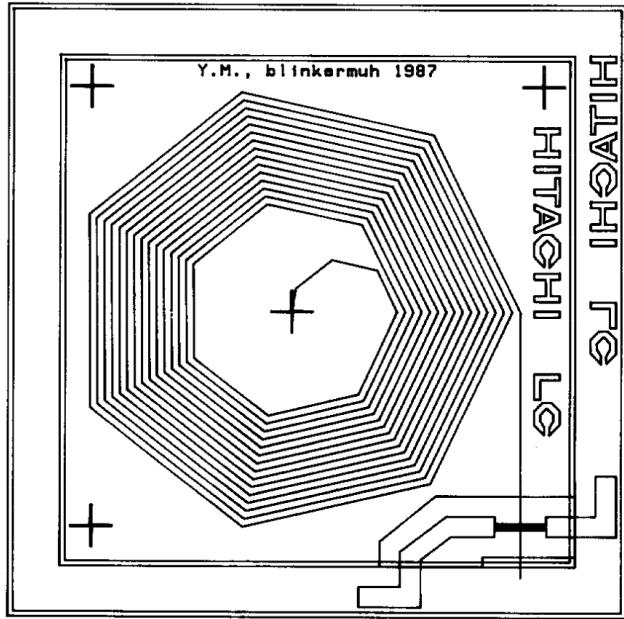


Рисунок 1 – Схема устройства миниатюрного жидкостного хроматографа, представленного в 1990 году; спиральная геометрия колонки (**посередине**)

Зачастую микрофлюидные аналитические чипы представляют из себя лаборатории-на-чипе (ЛНЧ, LOC) — небольшие устройства (чипах), содержащие множественные механизмы, позволяющие работать с исследуемым образцом. В идеале, все необходимые манипуляции с образцом должно быть возможно произвести без помощи сторонних устройств. ЛНЧ так же называют системами микрототального анализа (СМТА, μ TAS).

Существенным преимуществом микрофлюидных диагностических устройств может являться возможность их применения в целях медицинской диагностики вдали от лабораторий и специально обученного персонала — там, где находится пациент. Такие устройства называют point-of-care (PoC) устройствами [11].

Примером служит устройство под названием Sangia (Silver Amplified NeoGold ImmunoAssay) [12], схема работы которого изображена на рисунке 2. Сборщик крови содержит помеченные золотом антитела к простатическому специальному антигену (ПСА); кровь, в которой антитела связались с ПСА поступает в канал, на стенках которого расположены такие же антитела — образуется «сэндвич» антитело-ПСА-антитело; затем происходит реакция с серебрянным амплификатором, приводящая к регистрируемому изменению оптической плотности. Данное устройство способно обнаружить ПСА менее, чем за 15 минут, что позволяет как обнаружить рак предстательной железы, так и наблюдать за состоянием пациента после лечения.

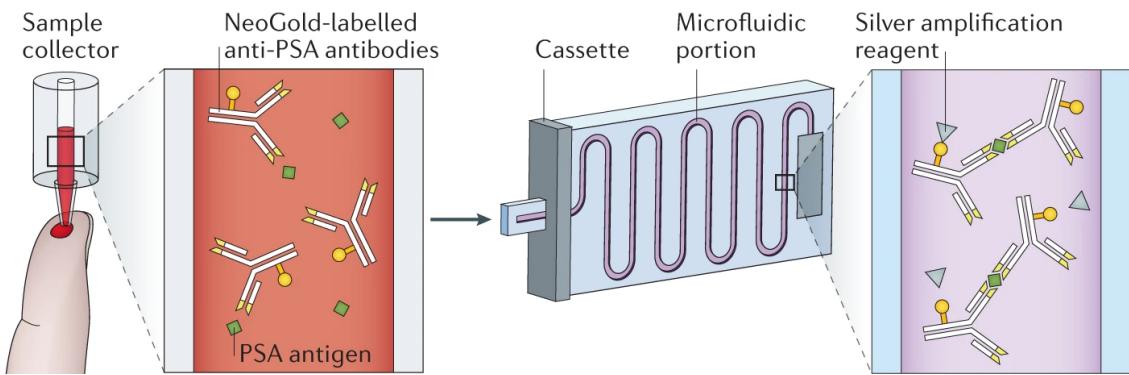


Рисунок 2 – Пример микрофлюидной диагностической системы — РоС (point-of-care) устройства, способного обнаружить простатический специфический антиген (ПСА) менее, чем за 15 минут

2.3. Биосенсоры

Биосенсоры — устройства для измерений, связанных с биохимическими реакциями, обычно переводят количество аналита в зоне реакции в регистрируемый сигнал. К областям применения биосенсоров относятся обнаружение болезней и токсинов, мониторинг окружающей среды, контроль качества воды и еды [8] и другие (см. рис. 3).

Отдельного внимания заслуживают биосенсоры на поверхностных оптических волнах (ПВ). К ним относятся как биосенсоры, основанные на поверхностном плазмонном резонансе (ППР) [13–15], так и более новые биосенсоры на поверхностных волнах в одномерном фотонном кристалле (ОФК) [16]. Принцип работы ППР-биосенсора изображён на рисунке 4. Световая волна, источник которой находится противоположной от исследуемого раствора стороны металлической пленки (ППР-биосенсор), на некоторую глубину проникает в раствор; связывание аналита с антителами на границе раздела фаз локально изменяет показатель преломления раствора, что приводит к изменению угла, под которым интенсивность отражённого излучения оказывается минимальной [17].

Преимущество ОФК-биосенсора перед ППР-биосенсором в том, что глубина проникновения световой волны в раствор для него больше, что позволяет исследовать реакции, происходящие на большем удалении от поверхности. ПВ-биосенсоры являются безмаркерными.

Стоит также упомянуть КМ-биосенсоры (кварцевые микровесы). В кристалле кварца (пьезоэлектрика) путём прикладывания переменного напряжения ($\sim 4\text{--}6$ МГц) возбуждаются вынужденные механические колебания и с высокой точностью (засчёт высокой добротности $\sim 10^6$) измеряется резонансная частота таких колебаний. При связывании молекул исследуемого вещества с поверхностью кристалла изменяется масса резонатора, а вместе с ней и измеряемая напрямую величина — резонансная частота (рис. 5) [18].



Рисунок 3 – Области применения биосенсоров, источник: biomolecula.ru

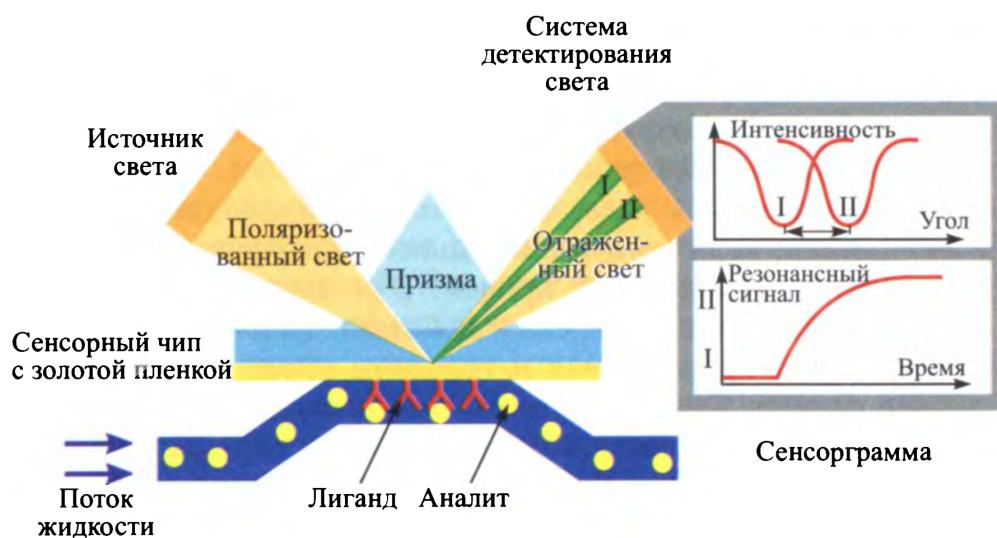


Рисунок 4 – Принцип работы биосенсора на поверхностных оптических волнах на примере биосенсора, основанного на поверхностном плазмонном резонансе; световая волна (**снизу**) на некоторую глубину проникает в раствор (**сверху**), связывание аналита с антителами на границе раздела фаз (**сверху справа**) локально изменяет показатель преломления раствора, что приводит к изменению угла, под которым интенсивность отражённого света минимальна

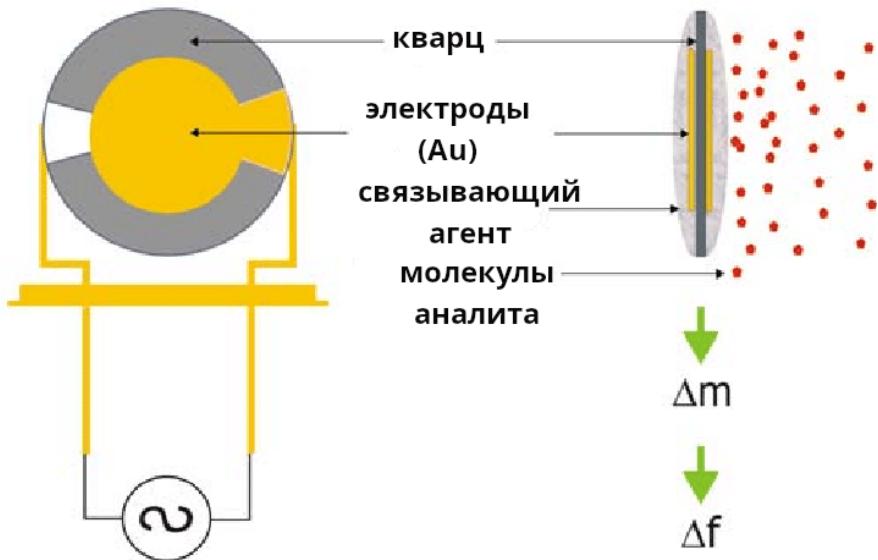


Рисунок 5 – Схема устройства КМ-биосенсора; связывание аналита с поверхностью сенсора приводит к изменению массы резонатора и, следовательно, к изменению резонансной частоты, измеряемой непосредственно

2.4. Флуоресцентные микросфераы

Мультиплексный анализ — вид иммуноферментного анализа, позволяющий одновременно обнаруживать сразу несколько целевых маркеров. Важная разновидность мультиплексного анализа основана на применении флуоресцентных микросфер [19].

Суть метода состоит в создании нескольких типов микросфер. Разные типы содержат разные составы флуорофоров, задающие уникальные спектральные адреса (коды) своим типам, и разные типы антител, задающие соответствие типов микросфер специфически связываемым маркерам. После инкубации в исследуемой жидкости со сферами, часть из которых связалась со своими целевыми маркерами, связываются молекулы сигнального флуорофора (напр., фикоэритрина). Дальнейший анализ может быть проведен, например, методами проточной цитометрии: каждый тип микросфер флуоресценцией обнаруживает как тип маркера (по спектральному адресу микросферы), так и наличие связавшегося маркера (по наличию излучения сигнального флуорофора) (рис. 6).

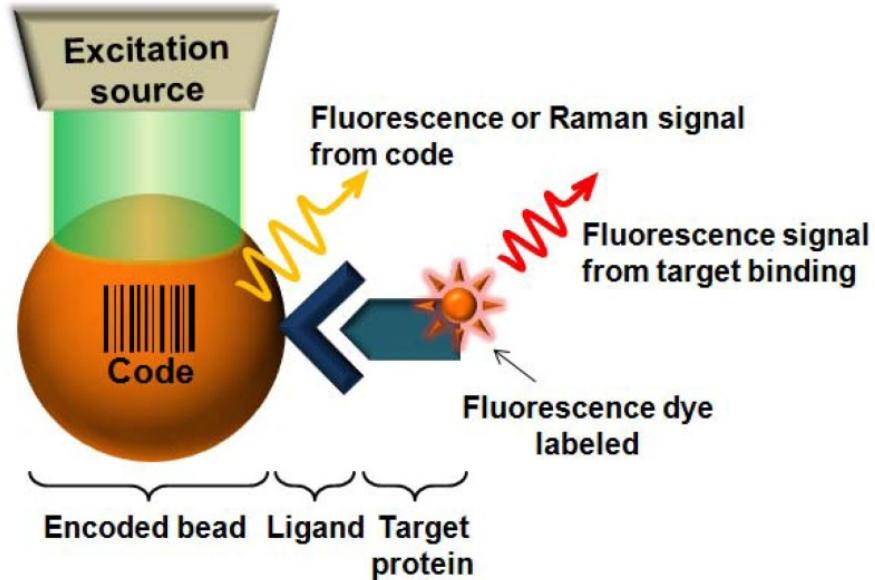


Рисунок 6 – Мультиплексный анализ, основанный на применении флуоресцентных микросфер; флуоресценция показывает как спектральный адрес типа микросфер (код) и соответствующий тип маркера, так и само наличие связавшегося маркера

2.5. Математическое описание релевантных физико-химических процессов

Гидродинамика

Рассмотрим течение жидкости с плотностью ρ [кг/м³] и скоростью течения \mathbf{v} [м/с]. Для изменения плотности во времени в элементарном объёме справедливо уравнение непрерывности

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} = -\nabla \cdot \rho \mathbf{v}, \quad (1)$$

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \rho \nabla \cdot \mathbf{v} + \mathbf{v} \cdot \nabla \rho = 0. \quad (2)$$

Как правило, воду (и водные растворы) считают несжимаемой жидкостью, полагая $\rho = \text{const}$, $\partial \rho / \partial t = 0$, $\nabla \rho = 0 \Rightarrow \nabla \cdot \mathbf{v} = 0$.

Когда на движущийся элементарный объём раствора действует сила \mathbf{f} [Н/м³], согласно второму закону Ньютона полная производная импульса этого объёма по времени (при неизменной плотности) равна

$$\rho \frac{d\mathbf{v}}{dt} = \mathbf{f}. \quad (3)$$

Для перехода к частной производной скорости течения по времени в точке (x, y, z) достаточно раскрыть производную

$$\frac{d}{dt} = \frac{\partial x}{\partial t} \frac{\partial}{\partial x} + \frac{\partial y}{\partial t} \frac{\partial}{\partial y} + \frac{\partial z}{\partial t} \frac{\partial}{\partial z} + \frac{\partial}{\partial t} = \mathbf{v} \cdot \nabla + \frac{\partial}{\partial t}, \quad (4)$$

тогда (3) переходит в уравнение Эйлера

$$\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + (\mathbf{v} \cdot \nabla) \mathbf{v} = \frac{1}{\rho} \mathbf{f}. \quad (5)$$

Для ньютоновской несжимаемой жидкости при отсутствии дополнительных внешних сил (гравитационная, электростатическая и т. п.) $\mathbf{f} = -\nabla P + \eta \Delta \mathbf{v}$, P — гидростатическое давление [Па], η — динамическая вязкость жидкости [Па · с]; что приводит к уравнению Навье-Стокса [20]

$$\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + (\mathbf{v} \cdot \nabla) \mathbf{v} = \frac{1}{\rho} (-\nabla P + \eta \Delta \mathbf{v}) = -\frac{\nabla P}{\rho} + \nu \Delta \mathbf{v}, \quad (6)$$

где ν — кинематическая вязкость жидкости [$\text{м}^2/\text{с}$]. В случае малых скоростей членом $(\mathbf{v} \cdot \nabla) \mathbf{v}$ в левой части можно пренебречь, как это сделано ниже, что даст уравнение Стокса

$$\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} = -\frac{\nabla P}{\rho} + \nu \Delta \mathbf{v}. \quad (7)$$

Основная система уравнений

Течение жидкости в микрофлюидных системах характеризуется малыми числами Рейнольдса $Re = uL/\nu = \rho uL/\mu$, u — скорость течения [$\text{м}/\text{с}$], L — характерный размер задачи [м], ν — кинематическая вязкость жидкости [$\text{м}^2/\text{с}$] ρ — плотность жидкости [$\text{кг}/\text{м}^3$], μ — динамическая вязкость жидкости [Па · с]. Таким образом, поток в микроканалах можно считать ламинарным и использовать уравнение Стокса (7).

Жидкость можно считать несжимаемой, что приводит к системе уравнений

$$\begin{cases} \rho \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} = -\nabla P + \eta \Delta \mathbf{v} + \mathbf{f} & \text{(уравнение Стокса)} \\ \nabla \cdot \mathbf{v} = 0 & \text{(несжимаемость)} \\ \frac{\partial c_i}{\partial t} = -\nabla \cdot \mathbf{j}_i + R_i & \text{(массоперенос + химия)} \\ \mathbf{j}_i = -D_i \nabla c_i + c_i \mathbf{v} & \text{(конвекция-диффузия)} \end{cases} \quad (8)$$

где ρ — плотность раствора [$\text{г}/\text{мл}$], \mathbf{v} — скорость ламинарного течения [$\text{мм}/\text{с}$], P — гидростатическое давление [Па], η — динамическая вязкость раствора [Па · с], \mathbf{f} — внешняя сила, действующая на элемент объёма раствора [дина/мл] (например, сила тяжести), c_i — концентрация i -го вещества в растворе [мМ], \mathbf{j}_i — поток i -го вещества в растворе [$\text{мМ}/(\text{мм}^2 \cdot \text{с})$], R_i — изменение концентрации i -го вещества в растворе, связанное с химическими реакциями [$\text{мМ}/\text{с}$].

По всей видимости, (существенных для микрофлюидики) границ применимости у системы (8) две:

1. концентрации растворённых веществ должны быть достаточно большими, чтобы было допустимым не переходить к статистическому описанию движения их молекул, а остаться в рамках непрерывного приближения,
2. характерный размер λ (ширина) микрофлюидного канала должен значительно превосходить длины свободного пробега молекул, чтобы течение жидкости было вязкостным, а не переходным или молекулярным (Кнудсеновским); на практике, для водоподобных сред, это ограничение $\lambda \gtrsim 300\text{нм}$.

Границные условия

Далее приняты следующие обозначения: Ω — расчётная область, $\mathcal{W} \subset \partial\Omega$ — стенка (на ней обнуляется скорость течения), $\mathcal{S}_i \subset \mathcal{W}$ — часть стенки, содержащая сайты

связывания i -ого вещества, $\mathcal{I} \subset \partial\Omega$ — входное отверстие (inlet), $\mathcal{O} \subset \partial\Omega$ — выходное отверстие (outlet).

Границные условия для системы (8) на стенке \mathcal{W} :

$$\begin{cases} \mathbf{v}|_{\mathcal{W}} = \mathbf{0} \\ \mathbf{n} \cdot \mathbf{j}_i|_{\mathcal{W}} = r_i \chi_{\mathcal{S}_i} \end{cases} \quad (9)$$

где r_i — скорость адсорбции i -ого вещества, $\chi_{\mathcal{S}_i}$ — характеристическая функция части стенок, на которой адсорбция вообще происходит, \mathbf{n} — поле единичных внешних нормалей к $\partial\Omega$. Такое описание несколько избыточно: действительно, можно сделать замену $r_i = r_i \chi_{\mathcal{S}_i}$.

Границные условия на входном/выходном отверстиях \mathcal{I}/\mathcal{O} :

$$\begin{cases} \mathbf{v}|_{\mathcal{I}/\mathcal{O}}(t, x, y, z) \\ P|_{\mathcal{I}/\mathcal{O}}(t, x, y, z) \\ c_i|_{\mathcal{I}}(t, x, y, z) \\ \mathbf{n} \cdot \nabla c_i|_{\mathcal{O}} = 0 \end{cases} \quad (10)$$

здесь отсутствие правой части равенства подразумевает, что зафиксирована (известна) «стоящая в левой части равенства» функция.

Изотермы адсорбции

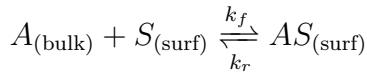
Под изотермой адсорбции будем понимать всякое уравнение $F(c_{i=1,n}, \gamma_{i=1,n}) = 0$, где c_i — равновесная концентрация i -ого вещества в растворе, γ_i — равновесная (поверхностная) концентрация i -ого вещества на поверхности, или параметрические семейства таких уравнений, параметрами в которых будут такие величины как поверхностная концентрация сайтов связывания и равновесные химические константы (например, константа диссоциации). Дополнительно потребуем, чтобы такие уравнения задавали функции $\gamma_i(c_{i=1,n}, \gamma_{j \neq i})$.

Изотермы адсорбции здесь представляют интерес с точки зрения получения выражений для скоростей реакций r_i в граничных условиях (9). Они также могут использоваться для приближений.

Простейшей (не считая изотерму адсорбции Генри) изотермой адсорбции является изотерма **Ленгмюра** для одного вещества с единственным видом сайтов связывания с поверхностной концентрацией Γ

$$\gamma = \frac{\Gamma c}{K_d + c} \quad (11)$$

[21], где K_d — константа диссоциации вещества и сайтов связывания на поверхности. Изотерме Ленгмюра соответствует кинетика, описываемая законом действующих масс



$$r = k_f c (\Gamma - \gamma) - k_r \gamma, \quad K_d = \frac{k_r}{k_f}. \quad (12)$$

Усложнением будет многокомпонентная изотерма Ленгмюра с единственным видом сайтов связывания

$$\gamma_i = \frac{\Gamma K_{a,i} c_i}{1 + \sum_{j=1}^n K_{a,j} c_j}, \quad (13)$$

где $K_{a,i} = 1/K_{d,i}$ — константа аффинности i -ого вещества и сайтов связывания. Этой изотерме соответствует кинетика, схожая с (12)

$$r_i = k_{f,i} c_i \left(\Gamma - \sum_{j=1}^n \gamma_j \right) - k_{r,i} \gamma_i = k_{f,i} c_i \Gamma_{\text{free}} - k_{r,i} \gamma_i. \quad (14)$$

При наличии m видов сайтов связывания изотерма Ленгмюра усложнится до

$$\gamma_i = \sum_{k=1}^m \frac{\Gamma^k K_{a,i}^k c_i}{1 + \sum_{j=1}^n K_{a,j}^k c_j}, \quad (15)$$

а кинетика — до

$$r_i = \sum_{k=1}^m \left[k_{f,i}^k c_i \left(\Gamma^k - \sum_{j=1}^n \gamma_j^k \right) - k_{r,i}^k \gamma_i^k \right] = \sum_{k=1}^m [k_{f,i}^k c_i \Gamma_{\text{free}}^k - k_{r,i}^k \gamma_i^k]. \quad (16)$$

Другой пример изотермы адсорбции — **БЭТ**-изотерма (Брунауэр-Эммет-Теллер). Эта изотерма, в отличие от Ленгмюровской, описывает полислойную адсорбцию. При наличии единственного вида сайтов связывания и единственного аналита скорость образования i -ого адсорбционного слоя считается равной

$$r_i = k_{f,i} c \gamma_{i-1} - k_{r,i} \gamma_i, \quad (17)$$

где $\gamma_{i \neq 0}$ — поверхностная концентрация аналита в i -ом адсорбционном слое, а γ_0 — концентрация свободных сайтов связывания. Скорость адсорбции в таком случае равна $r = \sum_{i=1}^{\infty} r_i$.

Если предположить, что $\forall i \in \mathbb{N} \quad i > 1 \Rightarrow k_{f,i}/k_{r,i} = K_a = \text{const}$, то в равновесии получится уравнение изотермы БЭТ

$$\gamma = \sum_{i=1}^{\infty} \gamma_i = \Gamma \frac{c k_{f,1} / k_{r,1}}{(1 - c K_a) [1 - c (K_a - k_{f,1} / k_{r,1})]}. \quad (18)$$

Изотерма **Фрейндлиха** описывает ситуацию, когда энергия адсорбции распределена по сайтам связывания неравномерно. Изотерма Фрейндлиха — эмпирическое соотношение, что затрудняет его физическую интерпретацию.

Сама изотерма:

$$\gamma = K^* c^{1/n}, \quad (19)$$

где K^* — константа, $n > 1$ — число. Учёт насыщения адсорбирующими поверхности приводит к уравнению изотермы Фрейндлиха-Ленгмюра

$$\gamma = \Gamma \frac{c^{1/n}}{K + c^{1/n}}, \quad (20)$$

где K — константа.

По всей видимости [22], если потребуется, имеет смысл считать, что кинетика, соответствующая изотерме (20) имеет вид

$$r = k_f c^{1/n} (\Gamma - \gamma) - k_r \gamma. \quad (21)$$

Приближения

Решение системы (8) в сложной геометрической области не всегда целесообразно, в связи с чем для упрощения задачи моделирования может быть использован ряд приближений. В частности, решение обратных задач для ОДУ (обыкновенных дифференциальных уравнений) значительно проще, чем для УрЧП (уравнений в частных производных), так что, например, для определения кинетических параметров исследуемой системы по данным, полученным с помощью биосенсора, предпочтительнее может оказаться использование приближения, описывающего исследуемую систему как ОДУ, а не как УрЧП [23].

Простейшее приближение состоит в пренебрежении диффузионными и конвекционными процессами. Реактор идеально перемешан и описывается системой ОДУ

$$\begin{cases} \dot{\gamma}_{i,j} = r_{i,j} \\ \dot{c}_i = \frac{S}{V} \sum_{j=1}^m -r_{i,j} \end{cases} \quad (22)$$

где m — поверхностная концентрация i -го вещества, адсорбированного на j -ом виде сайтов связывания, c_i — объёмная концентрация i -го вещества, $r_{i,j}$ — скорость адсорбции i -го вещества на j -ом виде сайтов связывания, S и V — площадь поверхности и объём реактора соответственно. Всего в реакторе n веществ, а на его поверхности m видов сайтов связывания.

Более сложным приближением является **модель двух компартментов** (two-compartment model (TCM)) [24]. Пространство реактора разделяется на две области (два компартимента): внешний — с постоянной концентрацией аналита c_0 , и внутренний — с концентрацией аналита c . Скорость обмена аналитом между компартиментами полагается равной

$$v_{\text{ex}} = k_m (c_0 - c) \quad (23)$$

где $k_m = 1.282 \sqrt[3]{D^2 v_{\text{fl}} / (L_s h_c)}$ [м/с], v_{fl} — скорость течения раствора, L_s — характерный размер адсорбирующей поверхности, h_c — высота внутреннего компартимента. Скорость адсорбции полагается равной

$$\dot{\gamma} = k_f c (\Gamma - \gamma) - k_r \gamma, \quad (24)$$

а скорость изменения концентрации аналита во внутреннем компартименте —

$$\dot{c} = \frac{v_{\text{ex}} - \dot{\gamma}}{h_c} = k_m^* (c_0 - c) - k_f c (\Gamma^* - \gamma^*) + k_r \gamma^*, \quad (25)$$

где $k_m^* = k_m / h_c$, $\Gamma^* = \Gamma / h_c$, $\gamma^* = \gamma / h_c$.

Вязкостный и диффузионный слои

В силу граничных условий, скорость течения жидкости около стенки равна нулю. В связи с этим вводят понятие вязкостного слоя, одна из границ которого совпадает с границей расчётной области, прилегающей к стенке, а около другой границы скорость течения практически не меняется в пространстве и совпадает со скоростью течения вне вязкостного слоя.

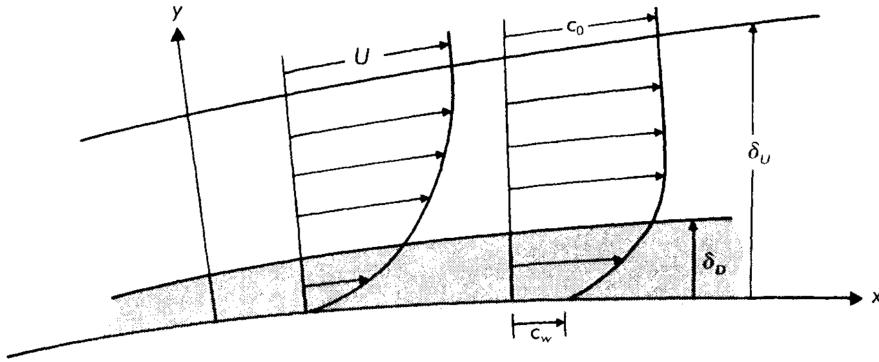


Рисунок 7 – Вязкостный и диффузионный слои; δ_U и δ_D — их толщины соответственно

Аналогично при наличии поглощения вещества на поверхности вводится понятие диффузионного слоя, не имеющее прямого отношения к аналогичному понятию из электрохимии. Аналогом величины скорости выступает концентрация реагента в объёме жидкости.

Вышесказанное проиллюстрировано на рисунке 7. Существуют формулы, позволяющие оценивать толщины вязкостного и диффузионного слоёв δ_U и δ_D соответственно [20, 25]

$$\delta_U \sim \sqrt{\frac{L\nu}{U}}, \quad (26)$$

$$\delta_D \sim \sqrt[3]{\frac{D}{\nu}} \delta_U. \quad (27)$$

Здесь U — скорость течения вне вязкостного слоя, L — характерный размер задачи (характерная длина вдоль потока), ν — кинематическая вязкость текущей жидкости, D — коэффициент диффузии растворённого реагирующего с поверхностью вещества. Отметим, что коэффициент $\sqrt[3]{D/\nu}$, связывающий δ_D с δ_U обычно имеет порядок 0.1.

2.6. Моделирование в микрофлюидике

Математическое моделирование микрофлюидных систем может быть использовано для:

- предсказания свойств чипа до его производства, что удешевляет разработку конечного функционального изделия,
- интерпретации данных, получаемых с помощью чипа,
- определения свойств исследуемой системы (путём решения обратных задач).

Решение системы (8)

Как правило, говорить об аналитическом решении системы (8) не приходится и система решается численно, например, методами конечных элементов.

Методы конечных элементов — семейство методов численного решения уравнений математической физики, состоящие в разбиении расчётной области на конечное число подобластей — конечных элементов, на которых выбираются базисные функции, равные нулю всюду кроме своих элементов (или конечного их числа, смотря что иметь в виду

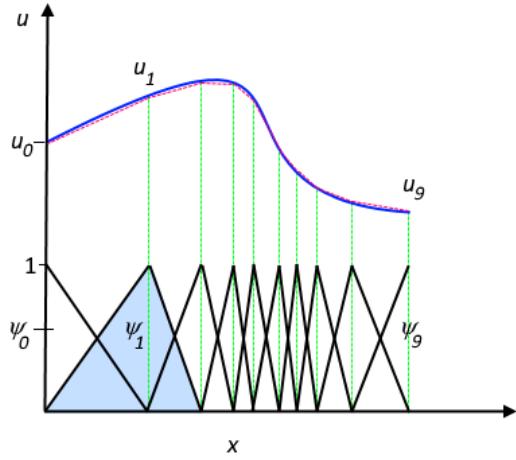


Рисунок 8 – Аппроксимация функции $u(x)$ линейной комбинацией фунитных базисных функций $\psi_{i=\overline{0,9}}(x)$ (www.comsol.com/multiphysics/finite-element-method)

под элементом), а решение ищется в виде линейной комбинации этих функций. Это проиллюстрировано на рисунке 8.

На примере уравнения Пуассона

$$\Delta u = f(\mathbf{x}) \quad (28)$$

выберем гильбертово пространство H и будем искать $u : \Omega \rightarrow \mathbb{R} \in H : \forall \psi \in H$

$$\int_{\Omega} \psi \Delta u d\mathbf{x} = \int_{\partial\Omega} \psi \nabla u \cdot d\mathbf{S} - \int_{\Omega} \nabla \psi \cdot \nabla u d\mathbf{x} = \int_{\Omega} \psi f d\mathbf{x}. \quad (29)$$

Здесь (29) — слабая (вариационная) формулировка, ψ — пробная функция.

При применении методов конечных элементов в качестве H выбирается линейная оболочка набора фунитных базисных функций ψ_i , о которых речь шла выше. Решение ищется в виде их линейной комбинации $u = \sum_i u_i \psi_i$. Уравнение (29) заменяется на систему (по индексу j)

$$\sum_i u_i \left(\int_{\partial\Omega} \psi_j \nabla \psi_i \cdot d\mathbf{S} - \int_{\Omega} \nabla \psi_j \cdot \nabla \psi_i d\mathbf{x} \right) = \int_{\Omega} \psi_j f d\mathbf{x}, \quad (30)$$

что можно записать в виде

$$\hat{A}\mathbf{u} = \mathbf{f}, \quad (31)$$

где \mathbf{u} — столбец с элементами u_i , \mathbf{f} — столбец с элементами $f_i = \int_{\Omega} \psi_i f d\mathbf{x}$, \hat{A} — матрица с элементами $A_{ij} = \int_{\partial\Omega} \psi_i \nabla \psi_j \cdot d\mathbf{S} - \int_{\Omega} \nabla \psi_i \cdot \nabla \psi_j d\mathbf{x}$. Таким образом, численное решение уравнения Пуассона методами конечных элементов запишется как

$$u(\mathbf{x}) = \sum_i \left[\hat{A}^{-1} \mathbf{f} \right]_i \psi_i(\mathbf{x}). \quad (32)$$

В случае с уравнением теплопроводности

$$\frac{\partial u}{\partial t} - \Delta u = f(\mathbf{x}, t, u(\mathbf{x}, t)) \quad (33)$$

имеет смысл (для уменьшения вычислительных затрат) искать приближённое решение в виде $u = \sum_i u_i(t) \psi_i(\mathbf{x})$ (вместо $\sum_i u_i \psi_i(\mathbf{x}, t)$). В таком случае уравнение (33) будет приближаться (аналогично (30))

$$\sum_i \frac{\partial u_i}{\partial t} \int_{\Omega} \psi_i \psi_j d\mathbf{x} + \sum_i u_i \left(- \int_{\partial\Omega} \psi_j \nabla \psi_i \cdot \mathbf{dS} + \int_{\Omega} \nabla \psi_j \cdot \nabla \psi_i d\mathbf{x} \right) = \int_{\Omega} \psi_j f_t d\mathbf{x}, \quad (34)$$

где $f_t(\mathbf{x}) = f(\mathbf{x}, t, \sum_i u_i \psi_i(\mathbf{x}))$. Выражение $\partial u_i / \partial t$ заменится конечной разностью, например

$$\frac{\partial u_i}{\partial t} \approx \frac{u_i(t + \Delta t) - u_i(t)}{\Delta t}, \quad (35)$$

в таком случае подстановка $u_i = u_i(t)$ в (34) позволит явно выразить $u_i(t + \Delta t)$ через $u_i(t)$:

$$\mathbf{u}(t + \Delta t) = \mathbf{u}(t) + \Delta t \hat{\Psi}^{-1} (\hat{A}\mathbf{u}(t) + \mathbf{f}_t(\mathbf{u}(t))), \quad (36)$$

где $\hat{\Psi}$ — матрица с элементами $\Psi_{ij} = \int_{\Omega} \psi_i \psi_j d\mathbf{x}$, $\mathbf{u}(t)$ — столбец с элементами $u_i(t)$, $\mathbf{f}_t(\mathbf{u}(t))$ — столбец с элементами $f_{t,i} = \int_{\Omega} \psi_i f_t d\mathbf{x}$, \hat{A} определена так же, как и для уравнения Пуассона выше.

Если пользоваться (35), и принять $u_i = u_i(t + \Delta t)$ в (34), то полученное уравнение будет задавать $u_i(t + \Delta t)$ как функцию $u_i(t)$ неявно. Неявная постановка вычислительно более затратна, но оказывается необходимой при решении так называемых *жёстких* систем [26], которые часто встречаются при наличии химических реакций (когда уравнение теплопроводности является, по сути, уравнением диффузии).

Методы конечных элементов реализованы, например, в программном обеспечении COMSOL Multiphysics™ (далее — COMSOL), которое и используется в этой работе.

Решение обратных задач

Как было сказано выше, для определения характеристик исследуемых систем могут решаться обратные задачи. Если решение прямой задачи состоит в предсказании поведения системы, про которую всё известно, то решение обратной задачи состоит в оценке параметров системы по её поведению [27].

Общий способ численного решения обратных задач состоит в минимизации некоторого функционала ошибки $Q : \mathbb{P} \rightarrow \mathbb{R}_+$, где \mathbb{P} — пространство параметров, $\mathbb{R}_+ = \{x \in \mathbb{R} | x \geq 0\}$. Если \mathbf{x}_t — состояние системы в момент времени t , а $\mathbf{f}(t, \mathbf{p})$ — предсказание состояния системы с параметрами $\mathbf{p} \in \mathbb{P}$ в момент времени t , то типичным функционалом ошибки будет

$$Q(\mathbf{p}) = \frac{\sum_{t \in T} (\mathbf{f}(t, \mathbf{p}) - \mathbf{x}_t)^2}{|T|}, \quad (37)$$

где T — конечное множество времён. Данный функционал гладкий, что позволяет для его оптимизации использовать градиентные методы; если аналитическое выражение для градиента не известно, он может быть в каждой точке оценён численно.

Например, при адсорбции из идеально перемешанного реактора согласно кинетике действующих масс, соответствующей изотерме Ленгмюра, поверхностная концентрация адсорбированного аналита в момент времени t будет равна

$$\gamma(t) = f[c](\Gamma_0, k_f, k_r, t), \quad (38)$$

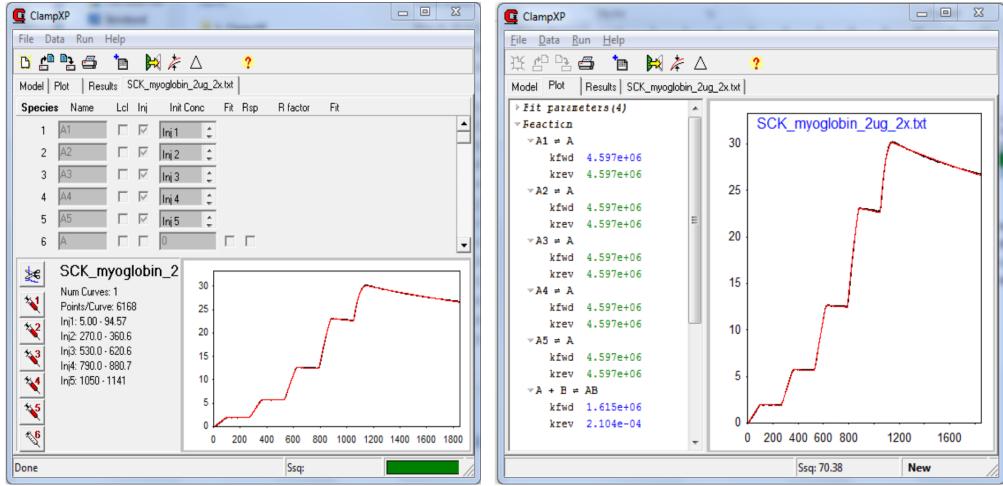


Рисунок 9 – Решение обратной задачи с помощью ClampXP: в левом окне задаётся концентрация аналита в растворе от времени, в правом окне внизу слева полученные оценки кинетических констант

где $c : T \rightarrow \mathbb{R}_+$ — концентрация аналита в растворе в зависимости от времени, Γ_0 — поверхностная концентрация сайтов связывания, k_f и k_r — кинетические константы, характеризующие адсорбцию и десорбцию, f — решение уравнения $\dot{\gamma} = k_f(\Gamma_0 - \gamma)c - k_r\gamma$, которое может быть получено численно. Пусть теперь в каждый момент времени известна концентрация $c(t)$ (например, через реакционную камеру протекают растворы с известными концентрациями) и имеется линейный по поверхностной концентрации адсорбировавшегося аналита сигнал с прибора $s(t) = \alpha\gamma(t)$. Тогда для сигнала будет справедливо

$$\begin{cases} \dot{s} = \alpha\dot{\gamma} = k_f(s_{\max} - s) - k_r s \\ s = s_t = s_0 + \int_{t_0}^t \dot{s} dt = g(t, s_{\max}, k_f, k_r) \end{cases} \quad (39)$$

и по набору значений $s_{t \in T}$ можно будет оценить параметры s_{\max} , k_f и k_r [23] (рис. 9).

3. Модели

3.1. Описание задач

Адсорбция на поверхность бесконечно высокого канала с одним видом сайтов связывания

Имеется раствор вещества А (аналит), в котором так же может присутствовать вещество В (примесь). На плоской поверхности канала, вдоль которой течёт этот раствор, имеются сайты связывания. Это проиллюстрировано на рисунке 10 (см. также 7).

Кинетика связывания соответствует изотерме Ленгмюра (см. (16)).

Адсорбция на поверхность бесконечно высокого канала с двумя видами сайтов связывания

Задача во многом аналогична предыдущей. В этот раз всегда имеется лишь одно вещество, способное связываться с модифицированной поверхностью канала. Однако

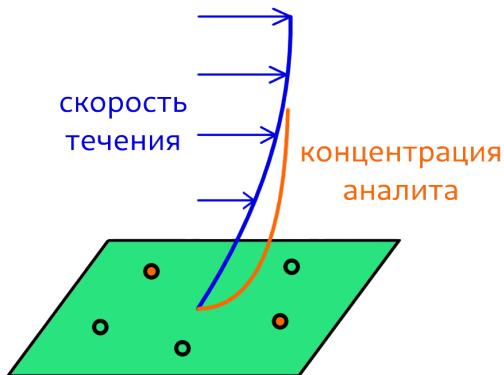


Рисунок 10 – Иллюстрация к задаче об адсорбции на поверхность; цветные кривые изображают зависимость скорости течения и концентрации аналита от расстояния до поверхности; оранжевые круги — сайты связывания, связавшиеся с анализом, салатовые — свободные сайты связывания

видов сайтов связывания в этом случае два: сайты специфического связывания (A) и сайты неспецифического связывания (B).

Адсорбция на поверхность канала конечной высоты с двумя видами сайтов связывания

В предыдущих задачах предполагалось, что объём раствора можно считать бесконечным — ограниченным лишь со стороны одной поверхности канала. В данном случае канал имеет конечную высоту, что ограничивает рассматриваемый объём. Основное отличие в том, что профиль скоростей (с точностью до умножения на среднюю/максимальную скорость течения) задаётся геометрией канала, в то время как в предыдущих задачах толщина диффузационного слоя связана с формулой (26) и зависит от скорости течения.

С точки зрения химии задача полностью аналогична предыдущей.

Адсорбция на микросферах

В растворе с анализом находятся в виде взвеси микросферы, на поверхности которых находятся сайты связывания. Сфера могут покояться относительно раствора, а могут равномерно поступательно двигаться (например, сфера зафиксирована ловушкой, обтекается раствором). Броуновским движением пренебрегается.

3.2. Адсорбция на поверхность бесконечно высокого канала с одним видом сайтов связывания

Одномерная постановка без примеси

В качестве расчётной области берётся отрезок с длиной δ_D диффузационного слоя (см. (27)). На одном конце отрезка происходит химическая реакция связывания веществ из раствора с сайтами связывания на поверхности, на другом — фиксируется концентрация c_0 .

Изначально концентрация веществ в растворе однородна (всюду равна c_0) и все сайты связывания свободны (на поверхности нет связавшегося аналита).

Толщину вязкостного слоя δ_U можно представить в виде

$$\delta_U = \alpha \sqrt{\frac{L\nu}{U}}, \quad (40)$$

где α — безразмерный параметр порядка единицы. В этой части в формуле (27) для расчёта δ_D знак \sim заменён на знак равенства, а α в (40) принимается равным $\sqrt{2}$, последнее будет обосновано ниже.

Параметры задачи: скорость течения раствора равна $U = 0.1\text{мм}/\text{с}$, характерная длина $L = 2\text{мм}$, вязкость раствора равна вязкости воды (20°C). В качестве аналита принимается стрептавидин, его коэффициент диффузии оценён в $D = 8 \cdot 10^{-5}\text{мм}^2/\text{с}$, а молекулярная масса — в $m_{\text{стр}} = 60\text{кДа}$. Кинетические константы были приняты равными $k_f = 10^7 (\text{М} \cdot \text{с})^{-1}$ и $k_r = 10^{-7}\text{с}^{-1}$ в соответствии с оценкой из [28] кинетики связывания комплекса биотин-стрептавидин. Поверхностная концентрация сайтов связывания принята равной $\Gamma = 3.85 \cdot 10^{-8}\text{моль}/\text{м}^2 = 0.023\text{нм}^{-2} = 1/(43.5\text{нм}^2)$ (связывание со всеми сайтами будет соответствовать примерно 70% заполнения всей поверхности молекулами стрептавидина).

На рисунке 11 представлены результаты симуляций со значениями концентрации $c_0 = 0.1\text{мг}/\text{мл}$ и $c_0 = 0.01\text{мг}/\text{мл}$. Во втором случае диффузионный слой успевает истощаться до насыщения поверхности, после 100–200 секунд с нулевого момента времени адсорбции лимитируется максимальной возможной скоростью диффузии через диффузионный слой $j_{\max} = Dc_0/\delta_D$.

Одномерная постановка с примесью

Относительно стрептавидина, задача идентична предыдущей с $c_0 = 0.01\text{мг}/\text{мл}$. Добавляется примесь с начальной и граничной концентрациями $c_1 = 100c_0$. Константа диссоциации примеси и сайтов связывания равна $K_{B,d} = 10^{-3}\text{М}$, для кинетической константы $k_{B,f}$ рассматриваются значения $k_{B,f} = 10^3 (\text{М} \cdot \text{с})^{-1}$ и $k_{B,f} = 10^4 (\text{М} \cdot \text{с})^{-1}$. Полученные зависимости поверхностных концентраций стрептавидина, примеси и свободных сайтов связывания от времени приведены на рисунке 12.

Двумерная постановка (без примеси)

Расчётная область представляет из себя прямоугольник со сторонами $a = 3L$ и $b = 2\delta_U$. Значение δ_U рассчитывается по формуле (26) с заменой знака \sim на $=$. Значения всех параметров те же, что и в одномерной постановке; $c_0 = 0.01\text{мг}/\text{мл}$.

На поверхности канала (сторона a , нижняя граница расчётной области) сайты связывания расположены на отрезке длиной $L = 2\text{мм}$, отстоящем от обоих концов рассматриваемой части поверхности канала на расстоянии L (см. рис. 13 сверху слева). Вдоль левой границы расчётной области скорость потока равна $U = 0.1\text{мм}/\text{с}$ и направлена вдоль поверхности канала. На верхней границе расчётной области концентрация зафиксирована и равна $c_0 = 0.01\text{мг}/\text{мл}$.

На рисунке 13 изображены распределение концентрации стрептавидина в части объёма раствора в пределах $2\delta_D$ от стенки канала (в прямоугольнике со сторонами $a = 3L$ и $b = 2\delta_D$) в моменты времени 140с и 350с, а сверху — пространственное распределение скорости течения раствора во всей расчётной области. Этот рисунок подтверждает справедливость оценок (26) и (27) толщин δ_U и δ_D вязкостного и диффузионного слоёв.

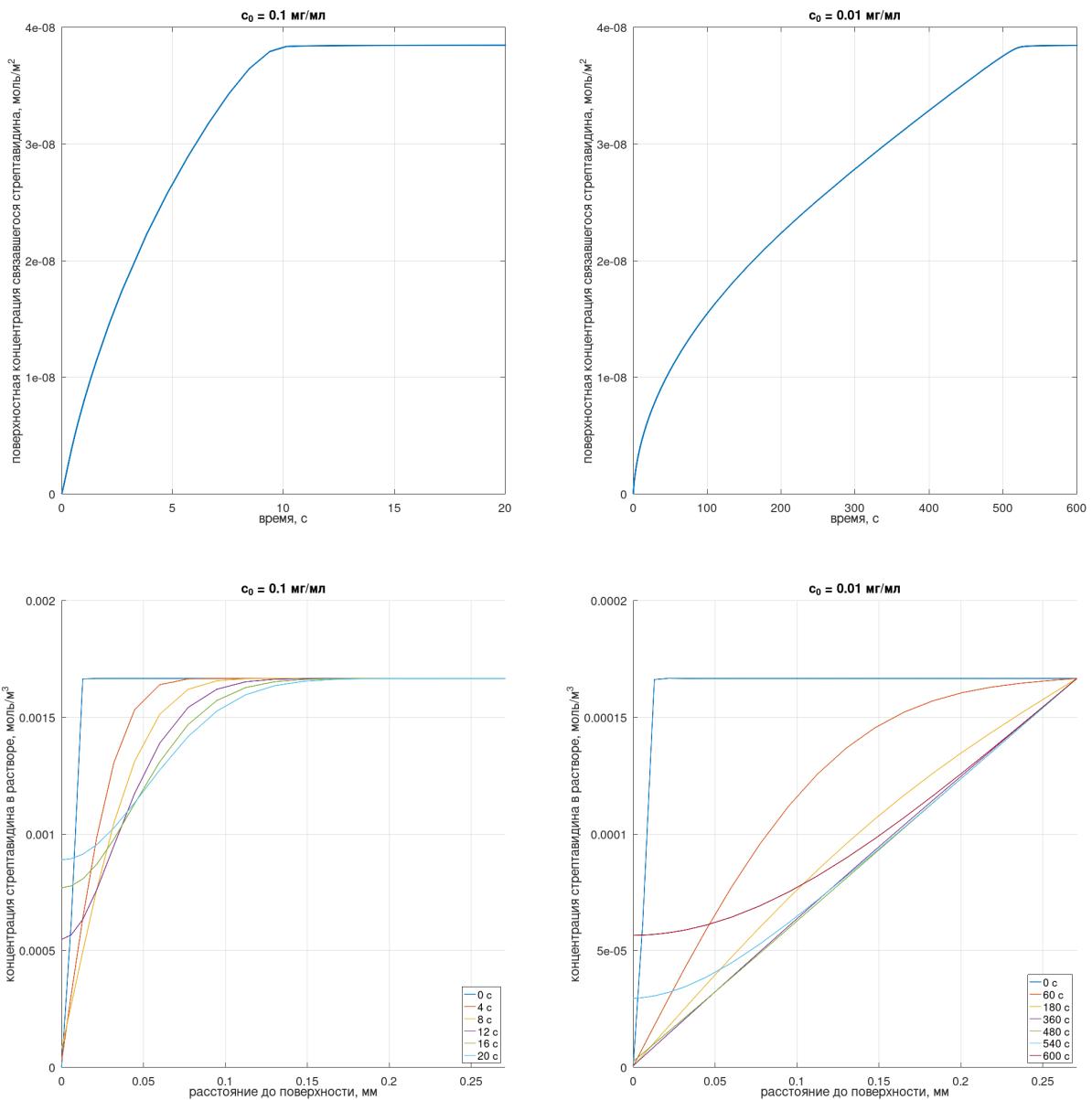


Рисунок 11 – Результаты расчётов в одномерной задаче об адсорбции на стенку бесконечно высокого канала; **сверху:** зависимость концентрации связавшегося стрептавидина от времени, **снизу:** пространственное распределение стрептавидина по объёму раствора; **слева:** $c_0 = 0.1 \text{ мг/мл}$, **справа:** $c_0 = 0.01 \text{ мг/мл}$

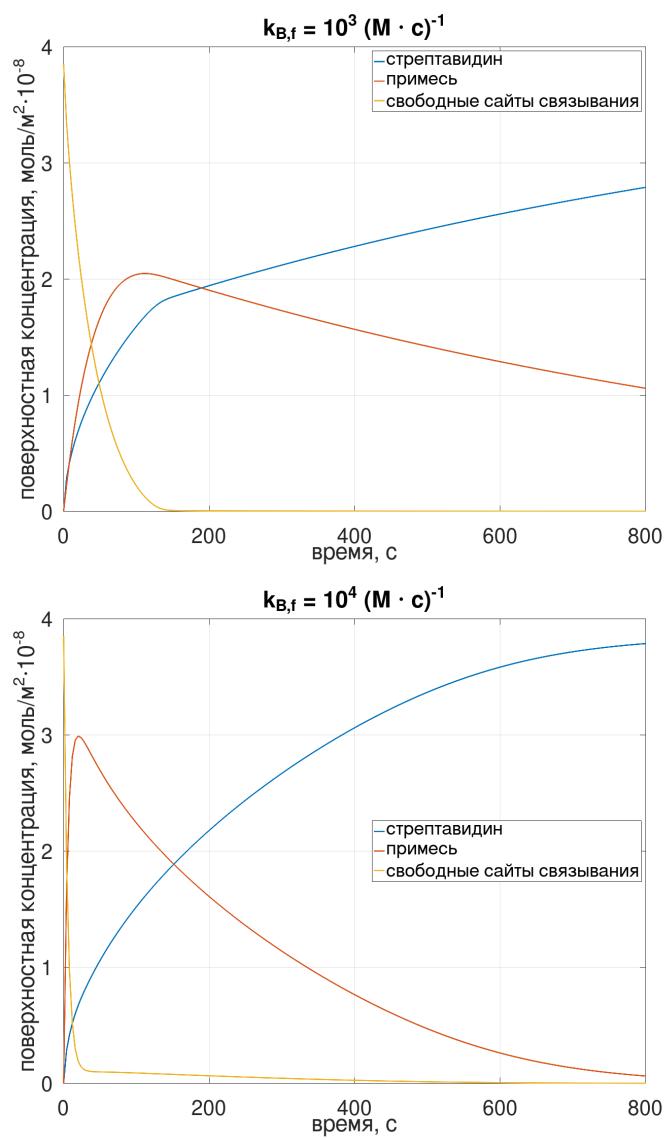


Рисунок 12 – Одномерная постановка задачи об адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии примеси; зависимость поверхностных концентраций стрептавидина, примеси и свободных сайтов связывания от времени

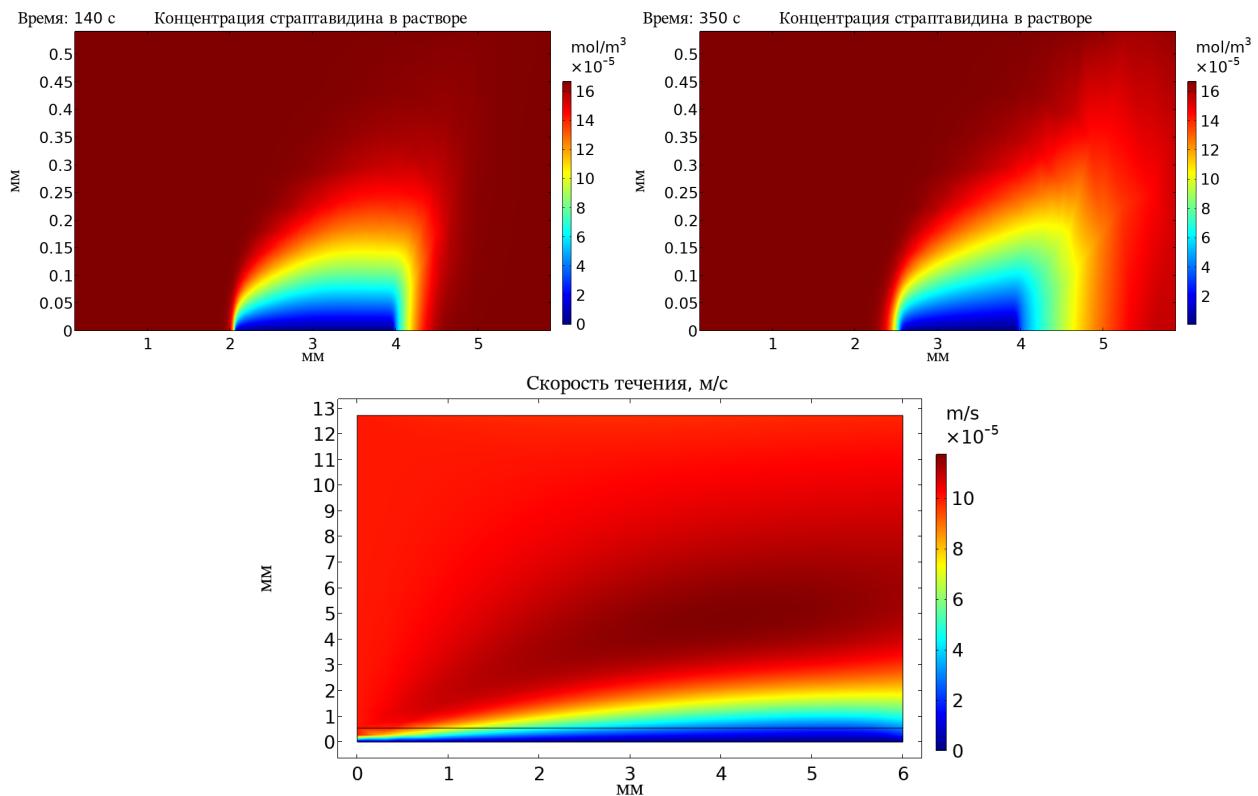


Рисунок 13 – Иллюстрация к двумерной постановке задачи об адсорбции на стенке бесконечно высокого канала; **сверху:** концентрация стрептавидина в растворе спустя 140с (слева) и 350с (справа) после нулевого момента времени, **снизу:** распределение скорости течения в объёме раствора

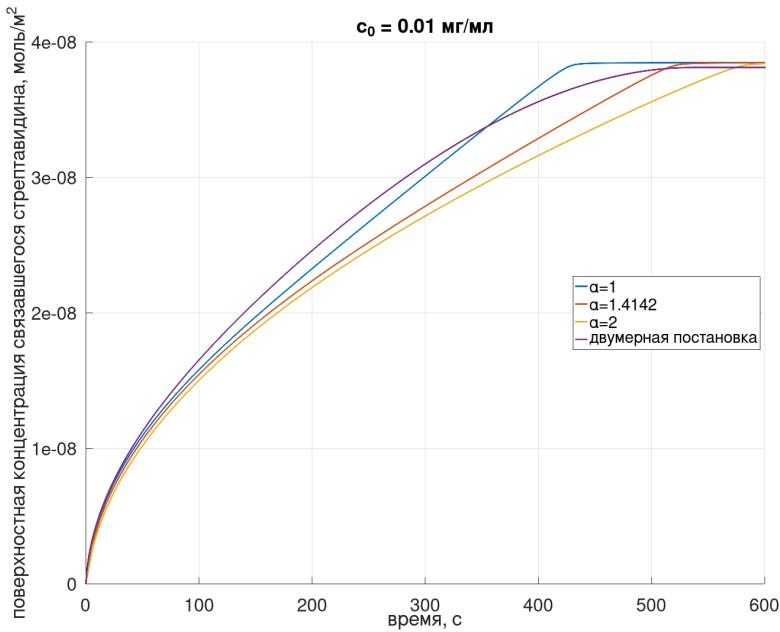


Рисунок 14 – Сравнение зависимости средней концентрации связывающегося стрептаведина в двумерной постановке от времени с аналогичными зависимостями в одномерной постановке при значениях параметра $\alpha \in \{1, \sqrt{2}, 2\}$

На рисунке 14 представлено сравнение зависимости средней концентрации связывающегося стрептаведина в данной (двумерной) постановке от времени с аналогичными зависимостями в одномерной постановке при значениях параметра $\alpha \in \{1, \sqrt{2}, 2\}$ (см. (40)). Этот рисунок говорит как о разумности применения одномерного приближения с оценками (26) и (27), так и о разумности выбора $\alpha = \sqrt{2}$.

3.3. Адсорбция на поверхность бесконечно высокого канала с двумя видами сайтов связывания

Одномерная постановка

Задача во многом похожа на предыдущую, но теперь имеются 2 вида сайтов связывания: А и В, соответствующие специфическому и неспецифическому связыванию. Химические константы равны $k_{A,f} = 3 \cdot 10^4 \text{ (M} \cdot \text{c)}^{-1}$, $k_{B,f} = 10^3 \text{ (M} \cdot \text{c)}^{-1}$, $K_{A,a} = 10^8 \text{ M}^{-1}$, $K_{B,a} = 10^6 \text{ M}^{-1}$. Это соответствует примерно кинетике связывания белка А и белка G с иммуноглобулином G, взятой из [29], с понижением $k_{B,f} = k_{G,f}$ и $K_{B,a} = K_{G,a}$ на порядок. Коэффициент диффузии принимается равным $D = 2 \cdot 10^{-5} \text{ м}^2/\text{с}$, а масса молекулы аналита — $m = 50 \text{ кДа}$. Суммарная поверхностная концентрация сайтов связывания равна $\Gamma = 4.37 \cdot 10^{-8} \text{ моль/м}^2 = 0.026 \text{ нм}^{-2} = 1 / (38.5 \text{ нм}^2)$. Доли a и b сайтов А и В варьируются, но всегда $a + b = 1$ (количество сайтов А $\Gamma_A = a\Gamma$, сайтов В — $\Gamma_B = b\Gamma$). Характерная длина $L = 200 \text{ мкм}$, скорость течения в глубине раствора $U = 1.8 \text{ мм/с}$. Примеси нет.

Для расчёта толщины диффузационного слоя δ_D введём новый безразмерный параметр β порядка единицы:

$$\delta_D = \beta \sqrt[3]{\frac{D}{\nu}} \delta_U. \quad (41)$$

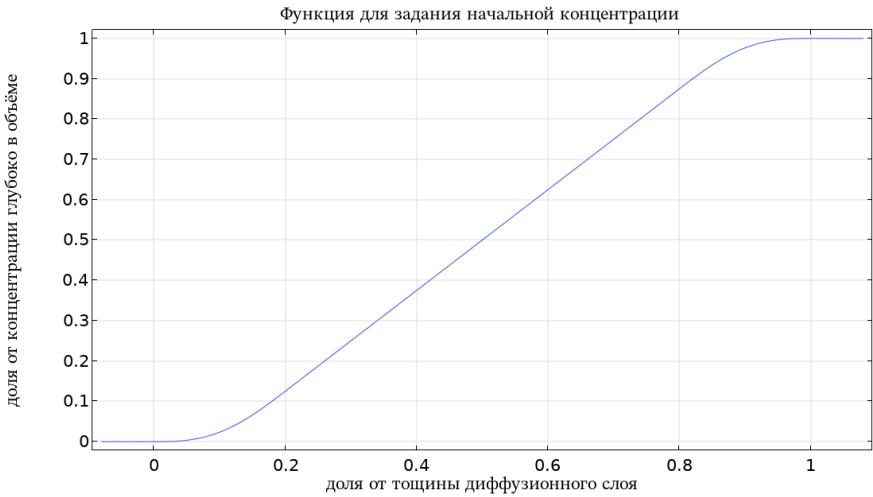


Рисунок 15 – Иллюстрация к неоднородным начальным условиям в одномерной постановке задачи об адсорбции на поверхность канала

Здесь этот параметр будет полагаться равным $1/\sqrt{2}$, что будет обосновано ниже. Заметим, что тогда произведение $\alpha\beta = 1$, т. е. в данной задаче для расчёта толщин вязкостного и диффузионного слоёв можно было бы с тем же успехом просто использовать формулы (26) и (27) с заменой знака \sim на $=$, но в двумерном случае есть разница, о чём ниже.

Начальные условия выставляются неоднородные, см. рис. 15. Границные условия меняются во времени: первые 1000с на границе фиксируется концентрация c_0 , следующие 7000с — нулевая концентрация, что соответствует отмытке неспецифически адсорбированного вещества.

На рисунке 16 представлена зависимость поверхностной концентрации аналита, связавшегося специфически (с сайтами А), неспецифически (с сайтами В), и их суммы при значении параметра $a = 0.5$, т. е. при одинаковом количестве сайтов А и В. Благодаря меньшему сродству аналита к сайтам В, чем к сайтам А, отмытка от неспецифически адсорбированного вещества возможна (с сохранением значимой части специфически адсорбированного).

На рисунке 17 представлены зависимости поверхностной концентрации связавшегося специфически (с сайтами А) и связавшегося всего (суммарно с сайтами А и В) аналита от времени при различных долях a сайтов А. Видно, что количество специфически связавшегося аналита существенно сильнее зависит от параметра a , чем общее количество связавшегося аналита, что может быть важно, если регистрируемый прибором сигнал пропорционален суммарному количеству связавшегося аналита или показания прибора иначе зависят от неспецифической адсорбции аналита. Это наблюдение говорит о возможной важности отмытки. Количество неспецифически связавшегося аналита не изображено, т. к. это сделало бы рисунок нечитаемым.

Двумерная постановка

Значения параметров те же, что и в одномерной постановке. Сайтов А и В специфической и неспецифической адсорбции поровну ($a = b = 0.5$). Параметр α из (40) принят равным $\sqrt{2}$. Расчётная область — прямоугольник со сторонами $a = 3L$ и $b = 2\delta_U$. Величина скорости течения, направленной вдоль стенки канала (нижней стороны пря-

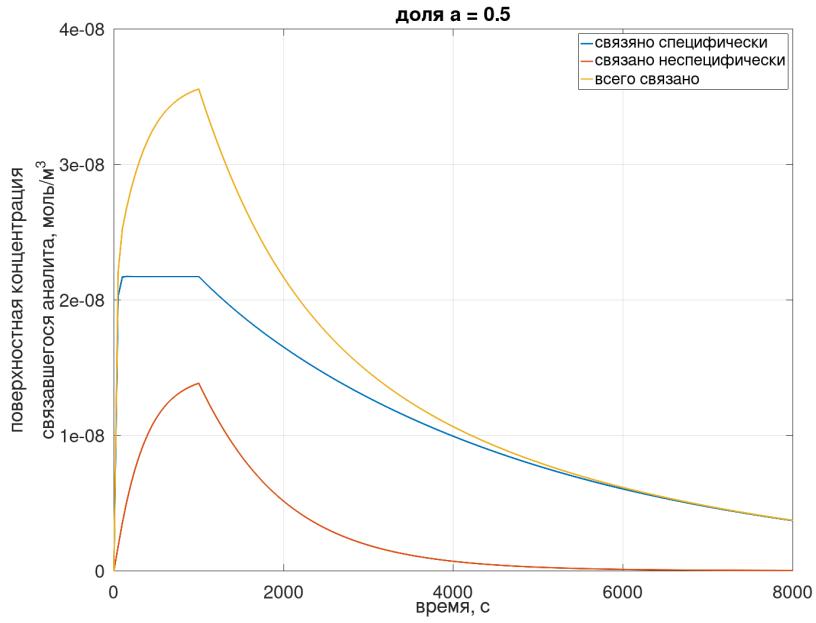


Рисунок 16 – Задача об одномерной адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; зависимость поверхностной концентрации аналита, связавшегося специфически, неспецифически, и суммарно; доля сайтов А $a = 0.5$, т. е. сайтов А и В поровну

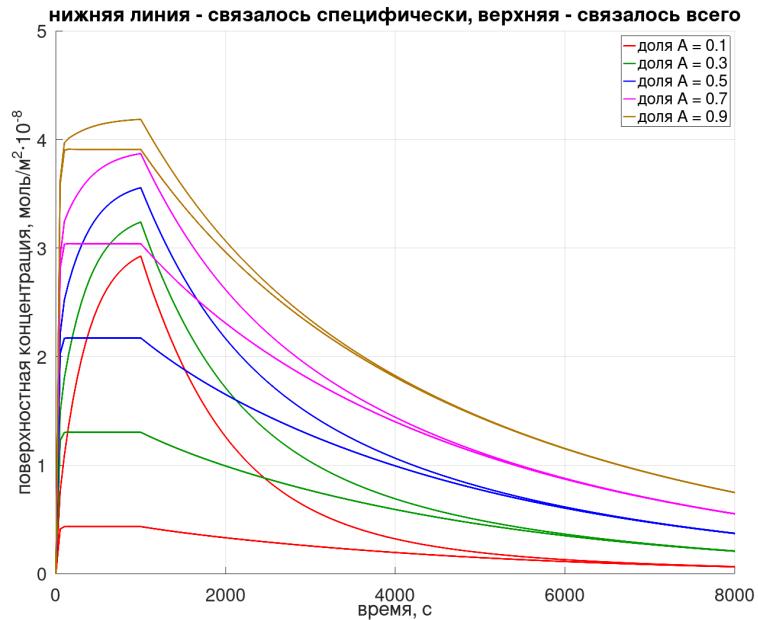


Рисунок 17 – Задача об одномерной адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; цветом объединены графики зависимости специфически адсорбированного и суммарно адсорбированного аналита при фиксированном параметре a – доле сайтов специфического связывания от общего количества сайтов связывания (включая неспецифические)

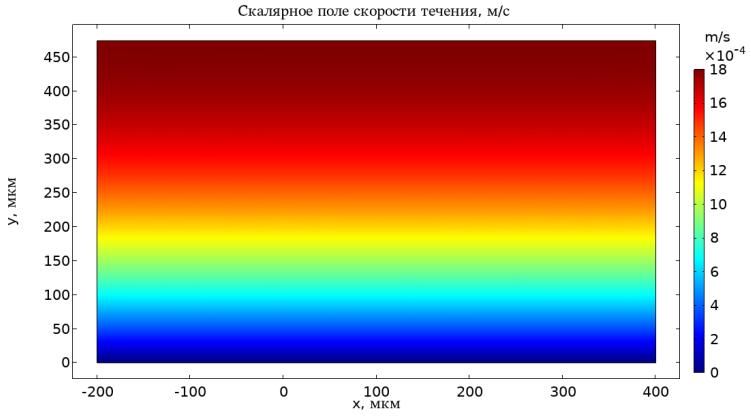


Рисунок 18 – Задача о двумерной адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; параболическое распределение скорости течения

моугольника) вправо, зависит от расстояния до этой стенки y как

$$v(y) = U \frac{\delta_U^2 - (y - \delta_U)^2}{\delta_U^2} = U \frac{2y\delta_U - y^2}{\delta_U^2}, \quad (42)$$

что изображено на рисунке 18.

Сайты связывания находятся на отрезке $[0; L]$, равноудалённом от левой и правой границ расчётной области. Изначально концентрация аналита в растворе равна нулю всюду, кроме левой границы. Спустя 1000с концентрация аналита на левой границе зануляется (см. рис. 19).

На рисунке 20 приведены рядом графики зависимостей от времени поверхности концентрации специфически и неспецифически связавшегося аналита для одномерной постановки и рассматриваемой двумерной. Схожесть свидетельствует в пользу употребимости одномерной модели.

Выбор значения параметра β

На рисунке 21 сравнены графики зависимостей поверхностных концентраций специфически, неспецифически и суммарно (специфически и неспецифически) связывающегося аналита в двумерной и в одномерной постановках при значениях параметра $\beta \in \{1, 1/\sqrt{2}, 1/2\}$ (все прочие параметры те же, что в описании одномерной и двумерной постановок). В случае специфического связывания и суммы специфического и неспецифического понятно, что наилучшим значением является $\beta = 1/\sqrt{2}$, а в случае неспецифического связывания влияние параметра β не наблюдается.

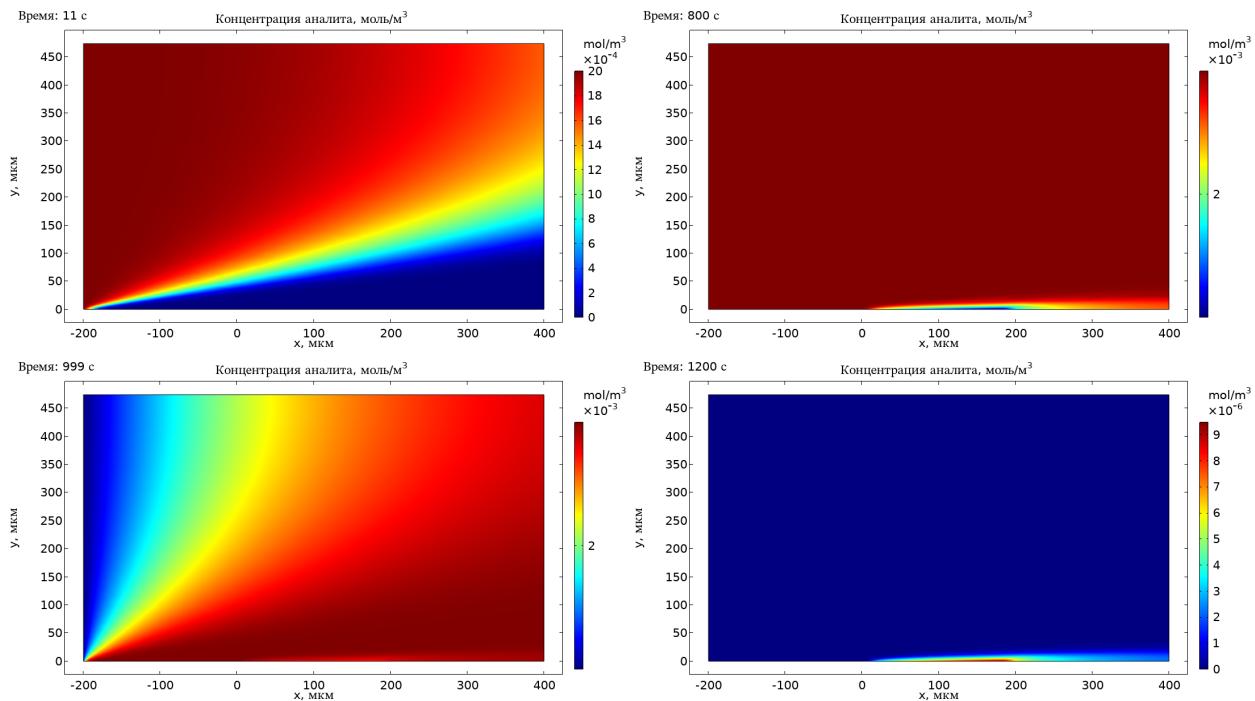


Рисунок 19 – Задача о двумерной адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; распределение концентрации аналита по объёму раствора в разные моменты времени

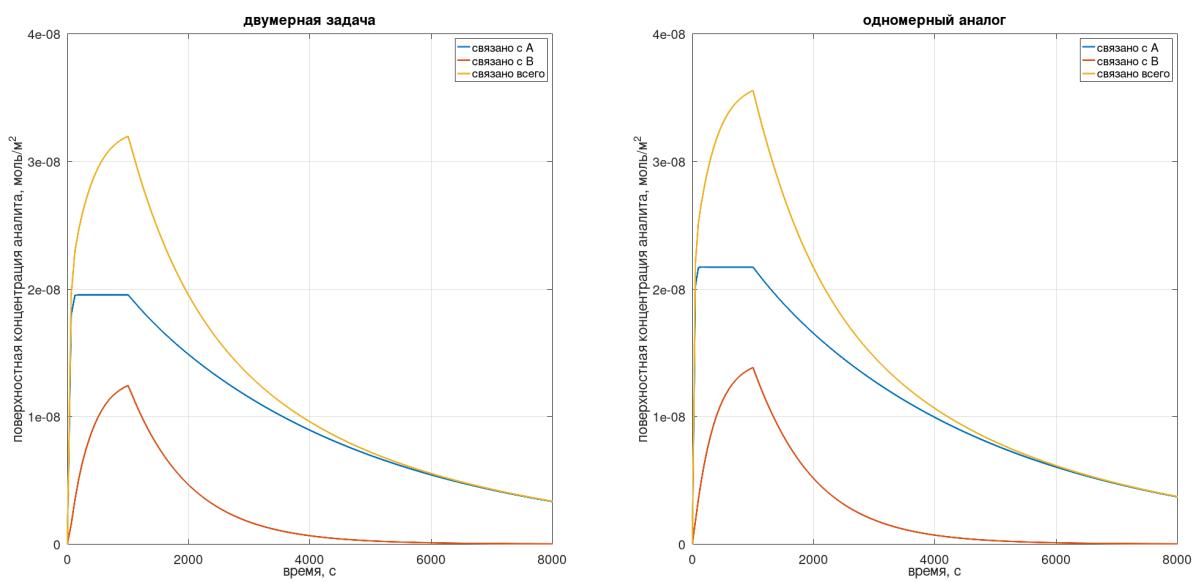


Рисунок 20 – Задача об адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; сравнение зависимостей поверхностных концентраций от времени для двумерной и одномерной постановок

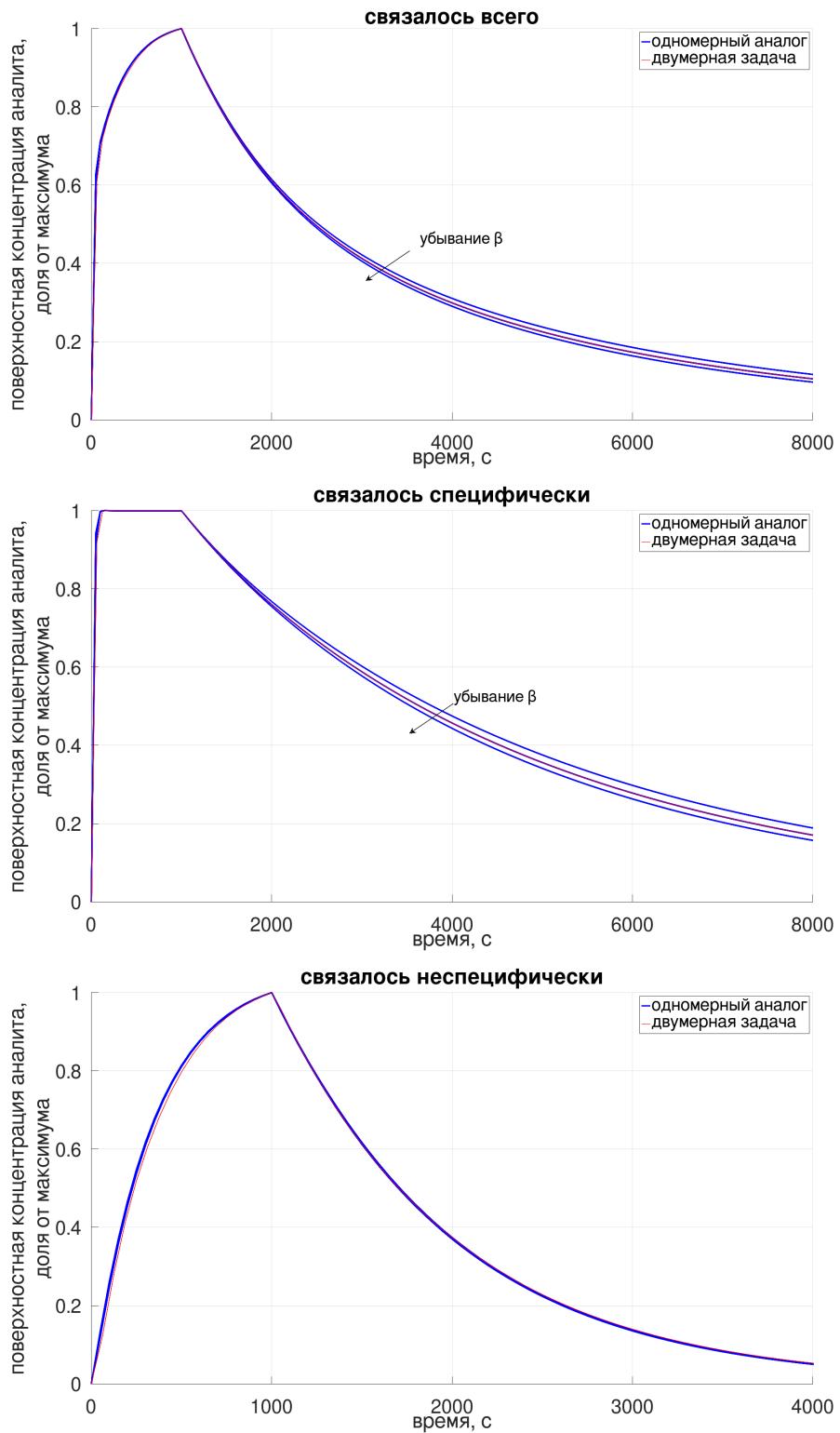


Рисунок 21 – Задача об адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; подбор параметра $\beta \in \{1, 1/\sqrt{2}, 1/2\}$; судя по двум верхним графикам, наилучшим является значение $\beta_{\text{opt}} = 1/\sqrt{2}$: синие линии, соответствующие этому значению практически идеально ложатся на красные — полученные решением двумерной задачи; на нижнем графике 3 синие линии неразличимы

3.4. Адсорбция на поверхность канала конечной высоты с двумя видами сайтов связывания

Задача почти полностью аналогична предыдущей, единственное изменение:

В двумерном случае: другая геометрия области — на верхней границе находится противоположная стенка канала, на которой скорость течения зануляется и отсутствуют сайты связывания;

В одномерном случае: фиксируется (вернее сказать, варьируется) ширина канала H (высота расчётной области в двумерном случае), а толщина вязкостного слоя полагается равной $\delta_U = H/2$.

Поле скорости течения жидкости, направленной вдоль стенок канала, задаётся формулой (42), что изображено на рисунке 22. Расчёт толщины диффузационного слоя происходит согласно (41). Скорость течения в центре канала (ранее — в глубине раствора) $U = 0.1\text{мм}/\text{с}$. Характерные распределения концентрации аналита в объёме раствора приведены на рисунке 23. Значения неупомянутых параметров те же, что и в предыдущей задаче.

В этой части рассматривается зависимость наилучшего значения β_{opt} параметра β от высоты канала H . На рисунке 24 приведено сравнение результатов моделирования в одномерном и двумерном случаях для значений высоты $H \in \{\delta_U^*, \delta_U^*/2, \sqrt{\delta_U^* \delta_D^*}, 2\delta_D^*\}$, где δ_U^* и δ_D^* рассчитаны по формулам (40) и (27) соответственно ($\alpha = \sqrt{2}$, в формуле (27) точное равенство). Значения β перебирались из $\{1, 2, 4, 8\}$, но на рисунке 24 приведены только результаты, полученные с ближайшими к наилучшему значению β_{opt} .

На рисунке 25 представлена приблизительная зависимость $\beta(H)$ в виде точек, полученных с помощью графиков на рис. 24, дополненных точкой $(H = 2\delta_U, \beta = 1/\sqrt{2})$, соответствующей графикам на рис. 21, что правомерно, т. к. участок с сайтами связывания не оказывает влияния на концентрацию аналита в верхней половине канала (см. рис. 23). Точки приведены в координатах $x = \log_{10}(H/1\text{мкм})$, $y = \log_2 \beta$ и не имеют размера.

Видно, что уменьшение высоты канала H , соответствующее уменьшению толщины вязкостного слоя δ_U не приводит к пропорциональному уменьшению толщины диффузационного слоя δ_D , что соответствовало бы $\beta = \text{const}$.

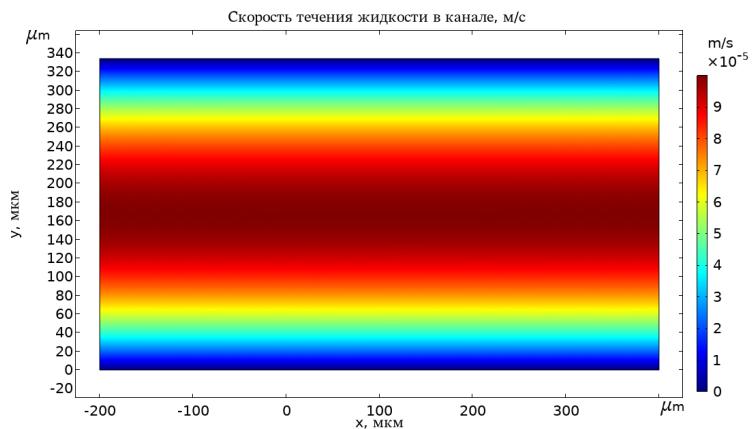


Рисунок 22 – Двумерная задача об адсорбции на стенке канала конечной высоты; параболическое распределение скорости течения раствора

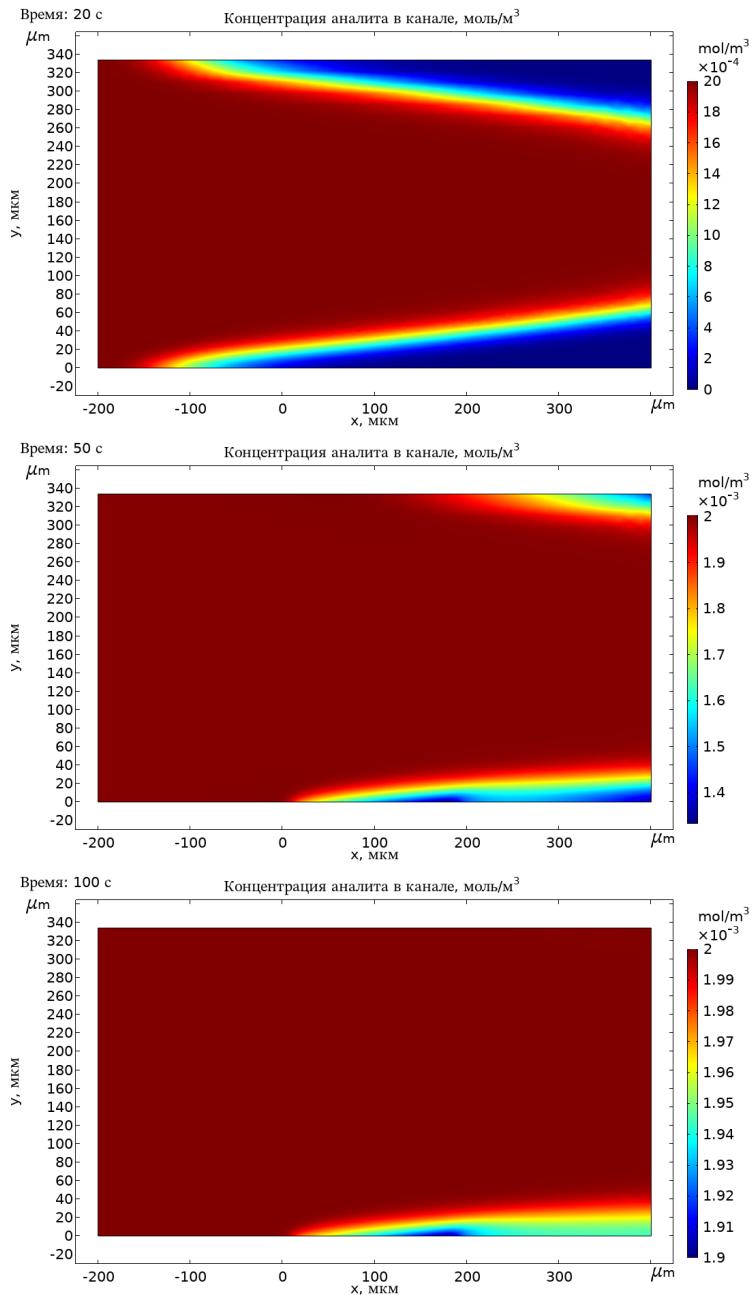


Рисунок 23 – Двумерная задача об адсорбции на стенке канала конечной высоты; характерные распределения концентрации аналита в объёме раствора

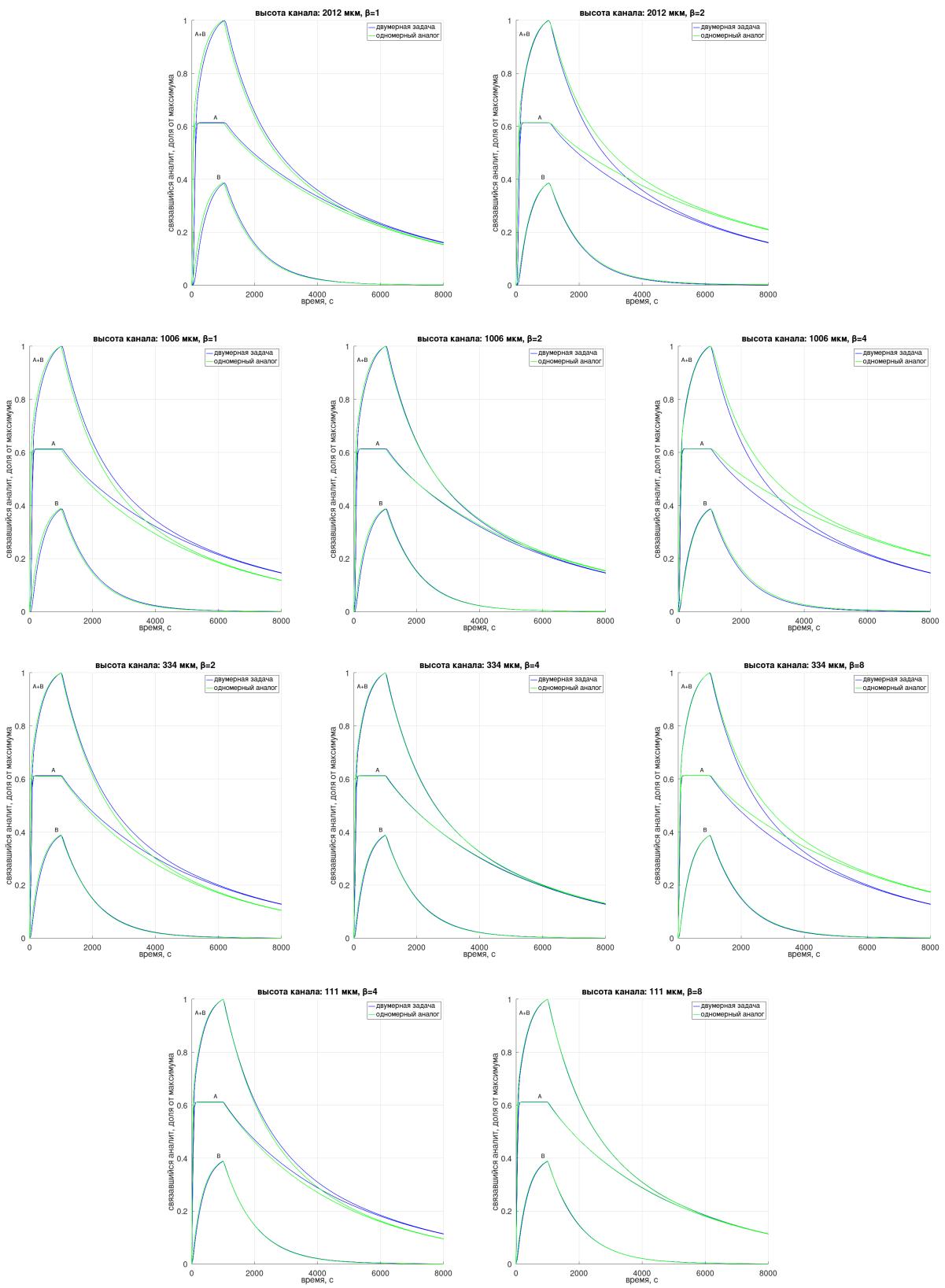


Рисунок 24 – Задача об адсорбции на поверхность канала конечной высоты; поиск зависимости $\beta_{\text{opt}}(H)$; сравнение результатов моделирования в одномерном и двумерном случаях для значений высоты $H \in \{\delta_U^*, \delta_U^*/2, \sqrt{\delta_U \delta_D}, 2\delta_D\}$ при различных $\beta \in \{1, 2, 4, 8\}$, (изображены только ближайшие к наилучшему варианты)

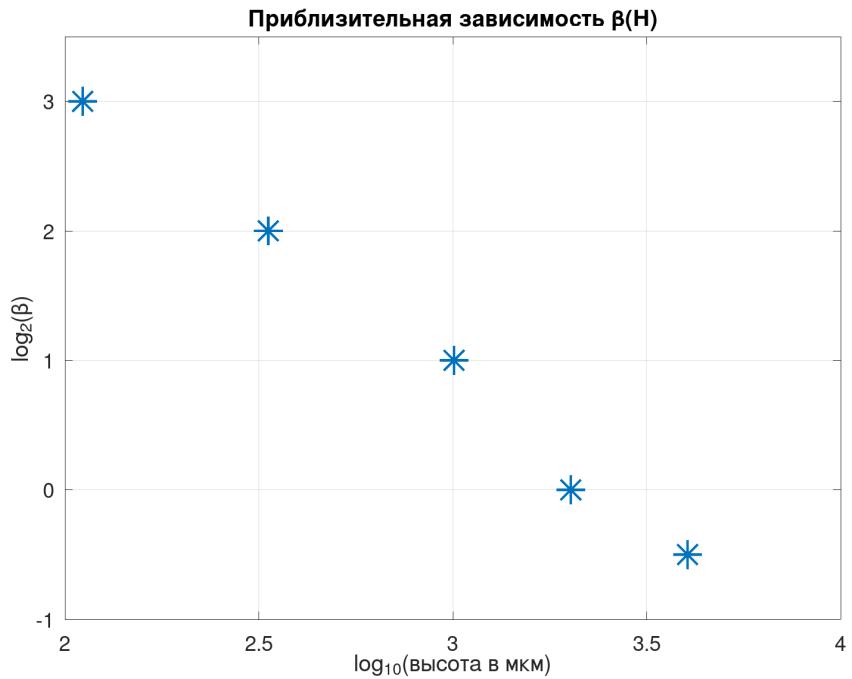


Рисунок 25 – Задача об адсорбции на стенке канала конечной высоты; приблизительная зависимость β_{opt} — наилучшего значения в формуле (41) для одномерного приближения, от высоты канала H ; точки не имеют размера

При дальнейшем уменьшении H значение β_{opt} превысит 8, тогда уже нельзя будет говорить о том, что параметр β имеет порядок единицы. Это сделает использование одномерной модели сомнительным.

3.5. Адсорбция на микросферах

В покое

Концентрация микросфер в растворе равна $n = 1000 \text{ шт/мл}$. Исходя из этого, характерное расстояние между сферами полагается равным $L = n^{-1/3} = 1 \text{ мм}$. Радиус сферы равен $r = 20 \text{ мкм}$.

Физически, расчётная область представляет из себя пространство между двумя концентрическими сферами с радиусами $R_{\text{in}} = r$ и $R_{\text{out}} = L$ (рис. 26 сверху). Математически, использование цилиндрической симметрии позволяет перейти к двумерному случаю, в котором расчётная область представляет из себя пространство между двумя концентрическими полуокружностями с теми же радиусами $R_{\text{in}} = r$ и $R_{\text{out}} = L$ (рис. 26 снизу). Строго говоря, в отсутствии течения в данной задаче имеется сферическая симметрия, что позволяет понизить размерность до 1 (вместо понижения только до 2 в случае цилиндрической симметрии), но COMSOL такой возможности не подразумевает.

Аналитом выступает стрептавидин, кинетика та же, что и в на странице 20. В качестве начальных условий фиксируется равномерная концентрация стрептавидина в объёме раствора $c_0 \in \{10 \text{ мкг/мл}, 1 \text{ мкг/мл}\}$, на поверхности микросферы изначально все сайты связывания свободны. Поверхностная концентрация сайтов связывания та же, что и на странице 20. Через границу внешней сферы радиусом $R_{\text{out}} = L$ потока

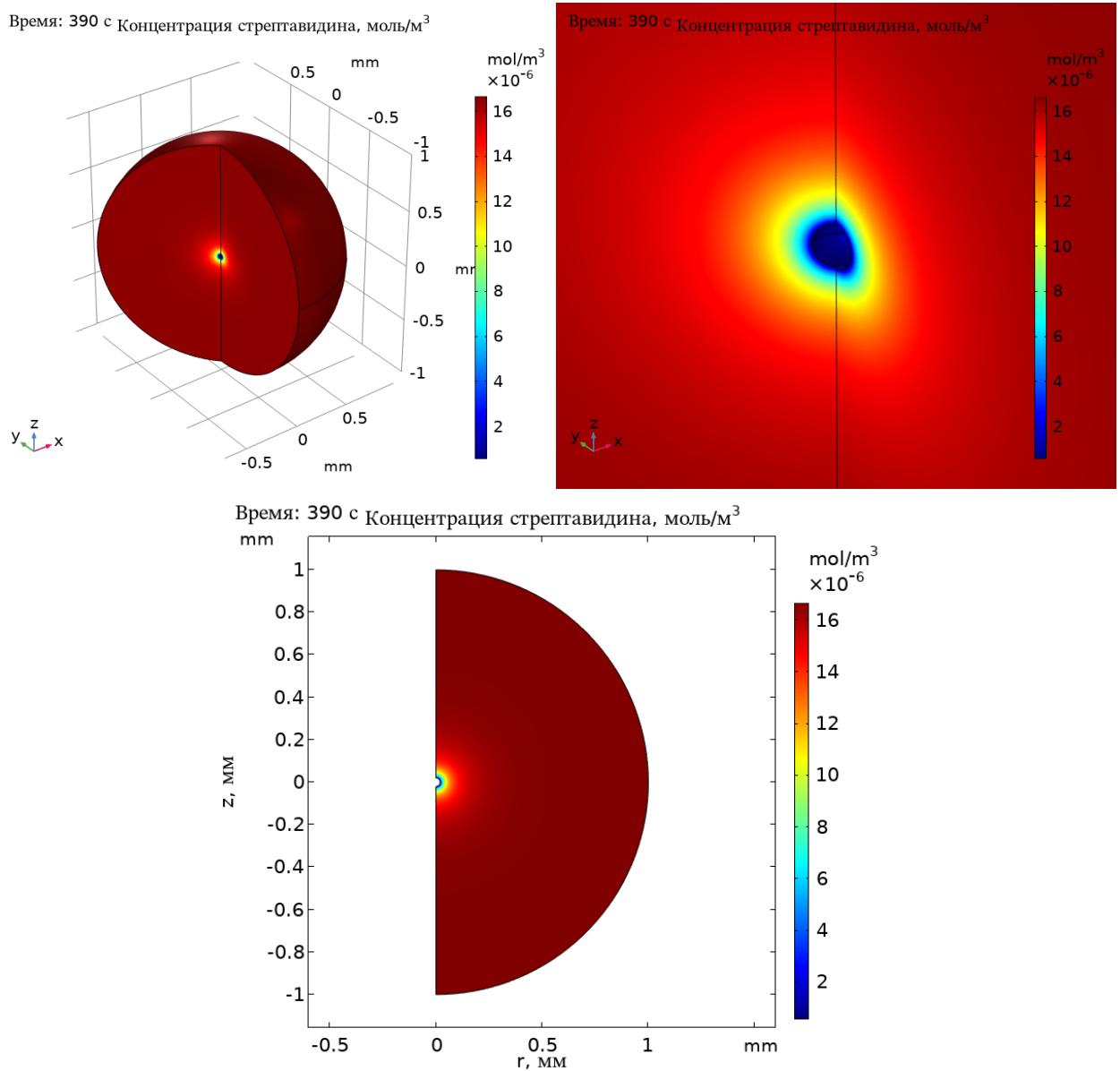


Рисунок 26 – Задача об адсорбции на микросфере; распределение концентрации стрептавидина спустя 390 секунд после начала симуляции при начальной концентрации стрептавидина $c_0 = 1\text{мкг/мл}$: **снизу** изображена в цилиндрических координатах (r, z) , **сверху** — трёхмерное изображение, **правое** изображение увеличено в 10 раз, сравнительно с **левым**

вещества нет (граничные условия второго рода).

На рисунке 27 приведены графики зависимости поверхностной концентрации свободных сайтов связывания от времени для концентраций $c_0 = 10\text{мкг/мл}$ и $c_0 = 1\text{мкг/мл}$. Примечательно, что пока свободных сайтов связывания достаточно много (больше 10% от начального количества), зависимости близки к линейным.

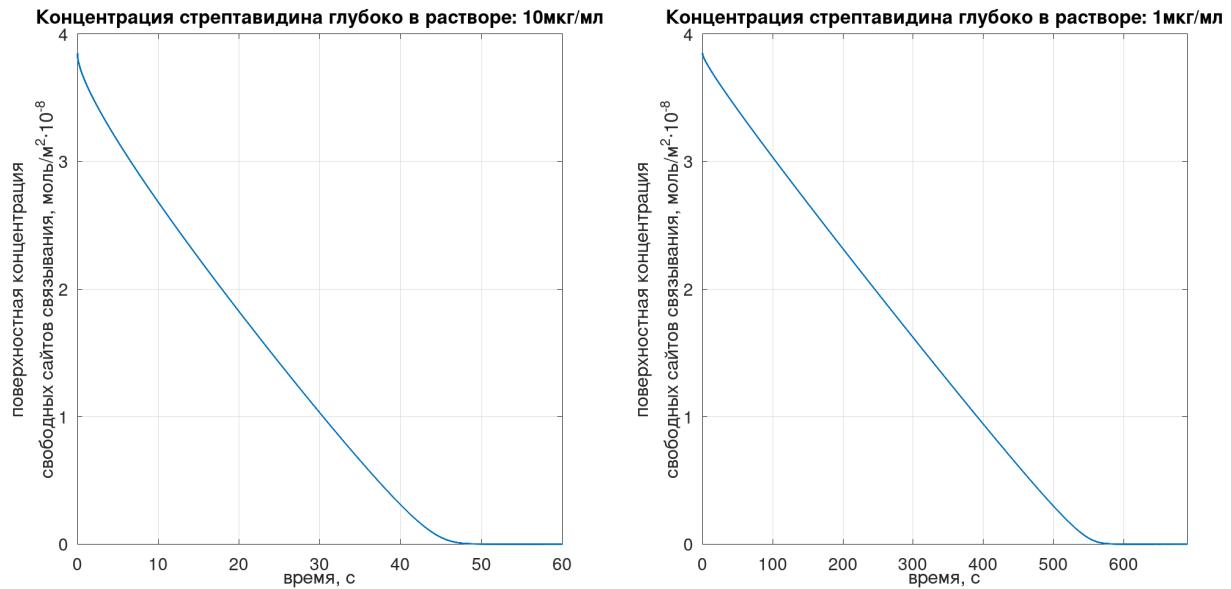


Рисунок 27 – Задача об адсорбции на микросферах; зависимости поверхностной концентрации свободных сайтов связывания от времени при значениях начальной концентрации стрептавидина $c_0 = 10\text{мкг/мл}$ слева и $c_0 = 1\text{мкг/мл}$ справа, внимание заслуживает почти линейный характер зависимостей до насыщения поверхности микросфер стрептавидином

На рисунке 28 приведены графики зависимости поверхностной концентрации свободных сайтов связывания от времени для концентрации $c_0 = 1\text{мкг/мл}$ и радиусов микросфер $r = 20\text{мкм}$ и $r = 10\text{мкм}$. Меньшие микросфераы насыщаются стрептавидином примерно в 2 раза быстрее.

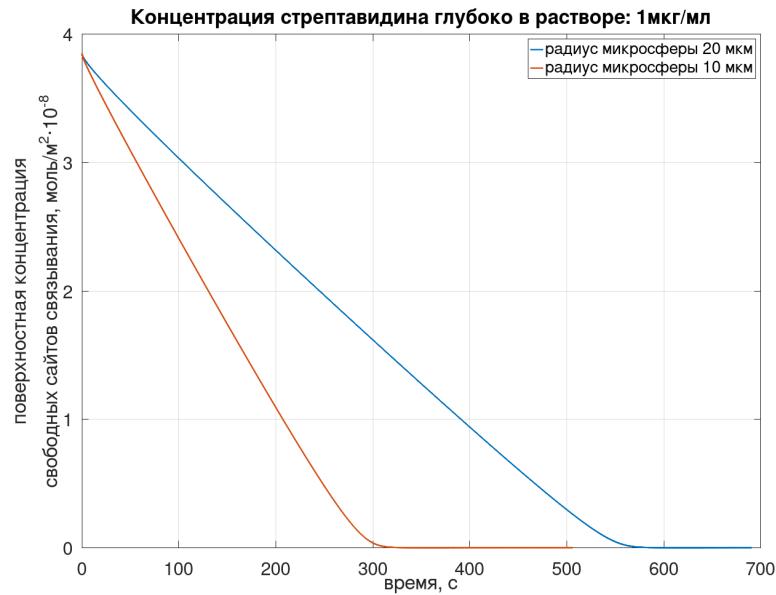


Рисунок 28 – Задача об адсорбции на микросферах; зависимости поверхностной концентрации свободных сайтов связывания от времени при значении начальной концентрации стрептавидина $c_0 = 1\text{мкг}/\text{мл}$ и радиусах микросфер $r = 20\text{мкм}$ и $r = 10\text{мкм}$, меньшие микросфера насыщаются стрептавидином примерно в 2 раза быстрее

В потоке

Теперь расчётная область физически представляет из себя круглый цилиндр с радиусом $R = L$ и высотой $H = L$, из середины которого вырезан шар радиусом $r = 20\text{мкм}$ — микросфера (рис. 29). По-прежнему используется циллиндрическая симметрия. Вдоль оси цилиндра течёт жидкость, сфера неподвижна и на её границе скорость течения зануляется, на стенках цилиндра скорость не зануляется (рис. 29 снизу). На входном отверстии скорость течения всюду равна U .

Начальная концентрация стрептавидина равна нулю во всей области. Границная концентрация стрептавидина на входном отверстии равна $c_0 = 1\text{мкг}/\text{мл}$.

На рисунке 30 приведены графики зависимости средней поверхностной концентрации свободных сайтов связывания на микросфере от времени для значений скорости течения жидкости $U = 0.1\text{мм}/\text{с}$ и $U = 1\text{мм}/\text{с}$. На этих же графиках имеются прямые, приближающие линейные участки этих зависимостей, согласно коэффициентам наклона этих прямых, увеличение скорости в 10 раз привело к увеличению скорости адсорбции аналита на поверхность микросфер в $0.038/0.015 \approx 2.5$ раза.

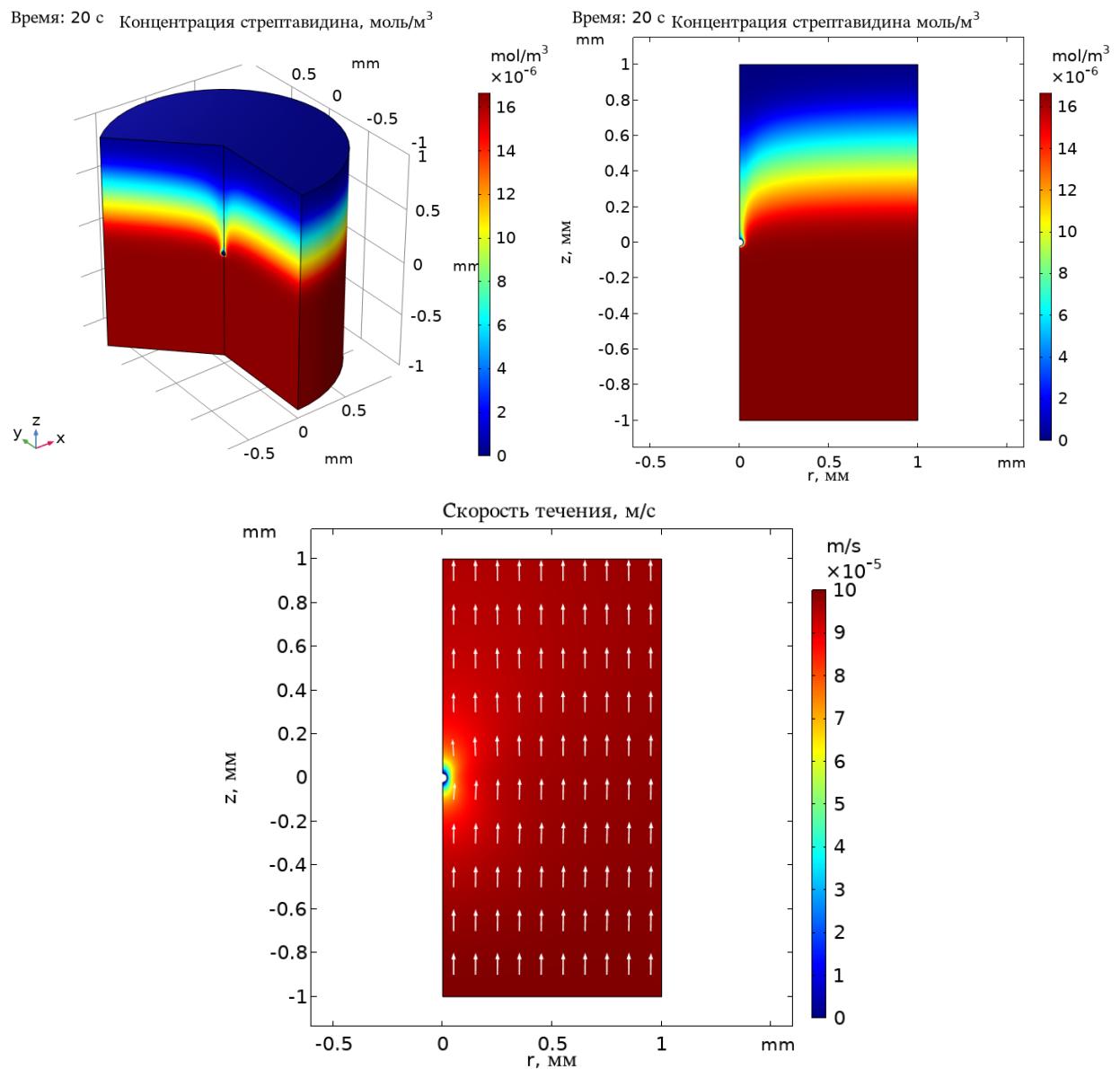


Рисунок 29 – Задача об адсорбции на поверхность микросферы, движущейся относительно потока жидкости; **сверху:** распределение концентрации аналита по объёму расчётной области спустя 20с после начала симуляции, **снизу:** распределение скорости течения; средняя скорость течения $U = 0.1\text{мм}/\text{с}$

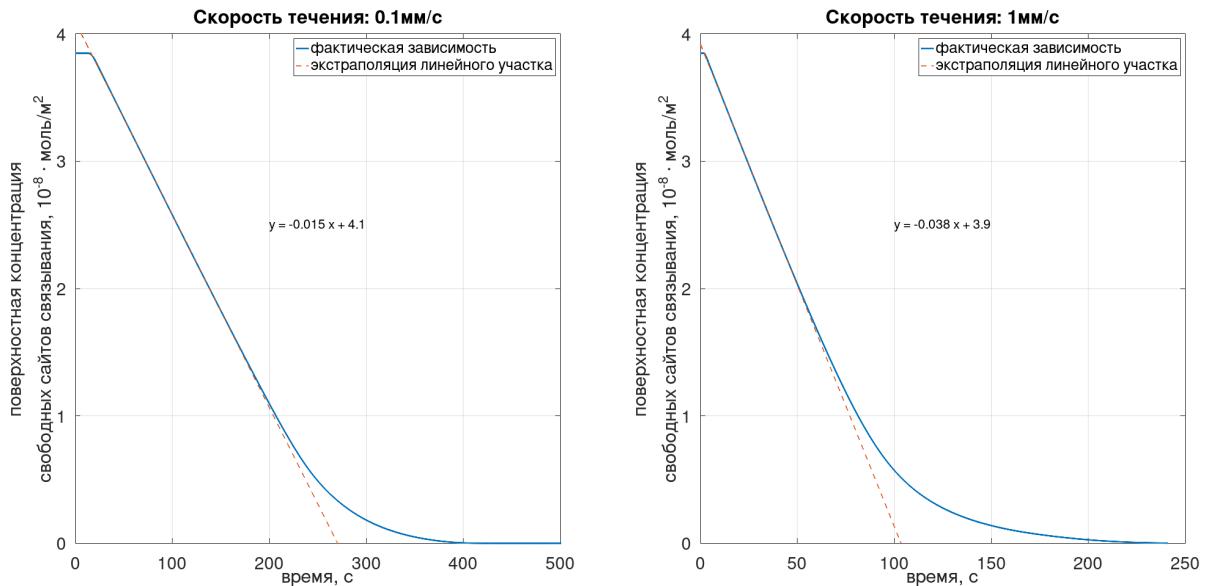


Рисунок 30 – Задача об адсорбции на поверхность микросферы, движущейся относительно потока жидкости; зависимость поверхностной концентрации свободных сайтов связывания от времени при скорости течения $U = 0.1\text{мм/с}$ (**слева**) и $U = 1\text{мм/с}$ (**справа**); линейные участки экстраполированы (**пунктир**), для них подписаны уравнения вида $y = ax + b$

4. Материалы и методы

В данной работе использовалось программное обеспечение COMSOL Multiphysics™ версии 5.6. Для расчёта диффузии был использован интерфейс Transport of Diluted Spices. Для расчёта конвекции — Transport of Diluted Spices и Laminar Flow. Для расчёта адсорбции — Transport of Diluted Spices и Surface Reactions.

Для расчётов была использована виртуальная машина на 12 ядер процессора и 16 Gb оперативной памяти.

5. Результаты

В данной работе средствами COMSOL Multiphysics™ были получены модели конвекции-диффузии-адсорбции. В случае адсорбции на плоскую поверхность канала были смоделированы двумерный и одномерный случай; в одномерном случае были рассмотрены модели с примесью и с наличием неспецифического связывания. В случае адсорбции на поверхность микросфер в отсутствие течения был проверен размер микросфер, а при наличии течения — скорость течения.

6. Выводы

В работе получены модели для массопереноса в канале микрофлюидного чипа с плоской стенкой и массопереноса из раствора на поверхность флуоресцентных микросфер. Полученные в данной работе модели позволяют расчитывать массоперенос в

канале микрофлюидного чипа с плоской стенкой, а также массоперенос из раствора на поверхность флуоресцентных микросфер.

Модель адсорбции на плоскую поверхность позволяет расчитывать влияние примеси на кинетику адсорбции целевого маркера, а также влияние неспецифической адсорбции на форму снимаемого сигнала. Также возможен расчёт влияния скорости течения жидкости вдоль поверхности канала и высоты канала на скорость адсорбции.

Модель адсорбции на поверхность микросфер позволяет расчитывать влияние скорости течения жидкости относительно микросфер и размера микросфер на время насыщения поверхности микросфер.

Использование этих моделей позволяет оценить границы диапазона таких параметров как концентрация аналита.... не прибегая к экспериментам требующим затрат дорогостоящих реагентов. При хорошем совпадении экспериментальных данных и модельных расчётов можно Данные модели станут основой дальнейших расчётов, связанных с решением обратных задач.

7. Благодарности

Автор этой работы выражает благодарность своему научному руководителю Басманнову Д. В. за чуткое и терпеливое руководство, своему старшему коллеге Прусакову К. А. за неоценимую помощь на всех этапах выполнения работы.

Литература

- [1] Adelina-Gabriela Niculescu, Cristina Chircov, Alexandra Cătălina Bîrcă, and Alexandru Mihai Grumezescu. Fabrication and applications of microfluidic devices: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 2021.
- [2] Евстратов А. А. Микрофлюидные чипы для биологических и медицинских исследований. *Рос. хим. жс. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева)*, LV(2), 2011.
- [3] Б. Е. Курочкин, А. А. Евстратов, В. Л. Суханов, Б. Г. Беленький, and Н. И. Ко-мяк. Микрофлюидные аналитические системы. *НАУЧНОЕ ПРИБОРОСТРОЕНИЕ НИЕ*, 10(3), 2000.
- [4] L. Hocking, J. George, E. K. Broberg, M. J. Struelens, K. C. Leitmeyer, A. Deshpande, S. Parkinson, J. Francombe, K. I. Morley, and H. de Carvalho Gomes. A scoping review of point-of-care testing devices for infectious disease surveillance, prevention and control. *European Centre for Disease Prevention and Control*, Apr 2022. [DOI:10.2900/443139] [ISBN:978-92-9498-569-9].
- [5] Z. Zhu, J. J. Lu, and S. Liu. Protein separation by capillary gel electrophoresis: a review. *Anal Chim Acta*, 709:21–31, Jan 2012. [PubMed Central:PMC3227876] [DOI:10.1016/j.aca.2011.10.022] [PubMed:11795513].
- [6] F. A. Gomez. Microfluidics in protein chromatography. *Methods Mol Biol*, 681:137–150, 2011. [DOI:10.1007/978-1-60761-913-0_8] [PubMed:20978964].
- [7] Pingan Zhu and Liqiu Wang. Passive and active droplet generation with microfluidics: a review. *Lab on a chip*, 17(1):34–75, December 2016.
- [8] N. Bhalla, P. Jolly, N. Formisano, and P. Estrela. Introduction to biosensors. *Essays Biochem*, 60(1):1–8, 06 2016. [PubMed Central:PMC4986445] [DOI:10.1042/EBC20150001] [PubMed:20151038].
- [9] Y. S. Sun, J. P. Landry, Y. Y. Fei, X. D. Zhu, J. T. Luo, X. B. Wang, and K. S. Lam. Effect of fluorescently labeling protein probes on kinetics of protein-ligand reactions. *Langmuir*, 24(23):13399–13405, Dec 2008. [PubMed Central:PMC2721158] [DOI:10.1021/la802097z] [PubMed:18566623].
- [10] A. Manz, Y. Miyahara, J. Miura, Y. Watanabe, H. Miyagi, and K. Sato. Design of an open-tubular column liquid chromatograph using silicon chip technology. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1(1):249–255, 1990.
- [11] Jorge Ricardo Mejía-Salazar, Kamilla Rodrigues Cruz, Elsa María Materón Vásques, and Osvaldo Novais de Oliveira Jr. Microfluidic point-of-care devices: New trends and future prospects for ehealth diagnostics. *Sensors*, 20(7), 2020.

- [12] A. R. Meyer and M. A. Gorin. First point-of-care PSA test for prostate cancer detection. *Nat Rev Urol*, 16(6):331–332, Jun 2019. [DOI:10.1038/s41585-019-0179-1] [PubMed:30948842].
- [13] Jian-Ying Jing, Qi Wang, Wan-Ming Zhao, and Bo-Tao Wang. Long-range surface plasmon resonance and its sensing applications: A review. *Optics and Lasers in Engineering*, 112:103–118, 2019.
- [14] Allen D. Taylor, Jon Ladd, Qiuming Yu, Shengfu Chen, Jiří Homola, and Shaoyi Jiang. Quantitative and simultaneous detection of four foodborne bacterial pathogens with a multi-channel spr sensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 22(5):752–758, 2006.
- [15] Marek Piliarik, Hana Vaisocherová, and Jiří Homola. *Biosensors and Biodetection*, pages 65–88. Humana Press, Totowa, NJ, 2009.
- [16] Irina Soboleva, Emiliano Descrovi, Lorenzo Dominici, Francesco Michelotti, Fabrizio Giorgis, and Andrey Fedyanin. Visualization of surface electromagnetic waves in one-dimensional photonic crystal by fluorescence dye. *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*, 7356, 05 2009.
- [17] Климов В. В. *Наноплазмоника*. М. ФИЗМАТЛИТ, 2009. ISBN 978-5-9221-1030-3.
- [18] Arief Yuwono and Peter Schulze Lammers. Odor pollution in the environment and the detection instrumentation. 6, 11 2003.
- [19] B. H. Jun, H. Kang, Y. S. Lee, and D. H. Jeong. Fluorescence-based multiplex protein detection using optically encoded microbeads. *Molecules*, 17(3):2474–2490, Mar 2012. [PubMed Central:PMC6268487] [DOI:10.3390/molecules17032474] [PubMed:15047203].
- [20] Лифшиц Е. М. Ландау Л. Д. *Теоретическая физика: Учеб. пособ.: Для вузов. В 10 т. Т. VI. Гидродинамика*. — 5-е изд., стереот. М. ФИЗМАТЛИТ, 2001. ISBN 5-9221-0121-8.
- [21] Richard I. Masel. Principles of adsorption and reaction on solid surfaces. Wiley Interscience, 1996.
- [22] Patiha, M Firdaus, S Wahyuningsih, K D Nugrahaningtyas, and Y Hidayat. Derivation and constants determination of the freundlich and (fractal) langmuir adsorption isotherms from kinetics. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 333:012010, mar 2018.
- [23] Fredrik Boström. Single-cycle kinetics for qcm biosensors for high throughput nanoparticle characterization application, 2016.
- [24] David G. Myszka, Xiaoyi He, Micah Dembo, Thomas A. Morton, and Byron Goldstein. Extending the range of rate constants available from biacore: Interpreting mass transport-influenced binding data. *Biophysical Journal*, 75(2):583–594, 1998.
- [25] Ronald F. Probstein. *Physicochemical Hydrodynamics*, chapter 4, pages 53–107. John Wiley & Sons, Ltd, 1994.
- [26] Ernst Hairer and Gerhard Wanner. Solving ordinary differential equations II: Stiff and differential-algebraic problems. 2002.

- [27] Victor Isakov. *Inverse Problems for Partial Differential Equations*. Applied Mathematical Sciences. Springer Cham, 3 edition, 2017. [DOI:10.1007/978-3-319-51658-5].
- [28] M. Srisa-Art, E. C. Dyson, A. J. deMello, and J. B. Edel. Monitoring of real-time streptavidin-biotin binding kinetics using droplet microfluidics. *Anal Chem*, 80(18):7063–7067, Sep 2008. [DOI:10.1021/ac801199k] [PubMed:18712935].
- [29] K. Saha, F. Bender, and E. Gizeli. Comparative study of IgG binding to proteins G and A: nonequilibrium kinetic and binding constant determination with the acoustic waveguide device. *Anal Chem*, 75(4):835–842, Feb 2003. [DOI:10.1021/ac0204911] [PubMed:12622374].