

Аннотация.

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

- микроканала, по которому движется аналит,
- флуоресцентных микросфер, находящихся в анализируемом растворе.

С помощью данных моделей удалось показать справедливость представлений о вязкостном и диффузионном граничных 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 физико-химических про- цессов	10
2.6. Моделирование в микрофлюидике	15
3. Модели	19
3.1. Описание задач	19
3.2. Адсорбция на поверхность бесконечно высокого канала с одним видом сайтов связывания	20
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	39
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 микроканала, 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 теоретических тарелок при времени анализа 1 и 5 минут соответственно.

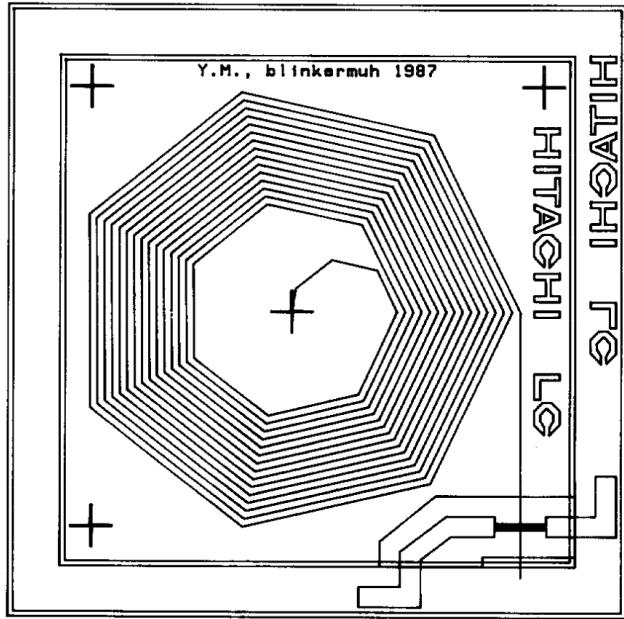


Рисунок 1 – Схема устройства миниатюрного жидкостного хроматографа, представленного в 1990 году; спиральная геометрия колонки (**посередине**)

Зачастую микрофлюидные аналитические чипы носят название лабораторий-на-чипе (ЛНЧ, LOC) — небольших устройств (чипов), содержащих 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). Вопрос о соответствии реальных устройств названию «лаборатория-на-чипе» оставим за пределами данной работы.

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 серебряным 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.

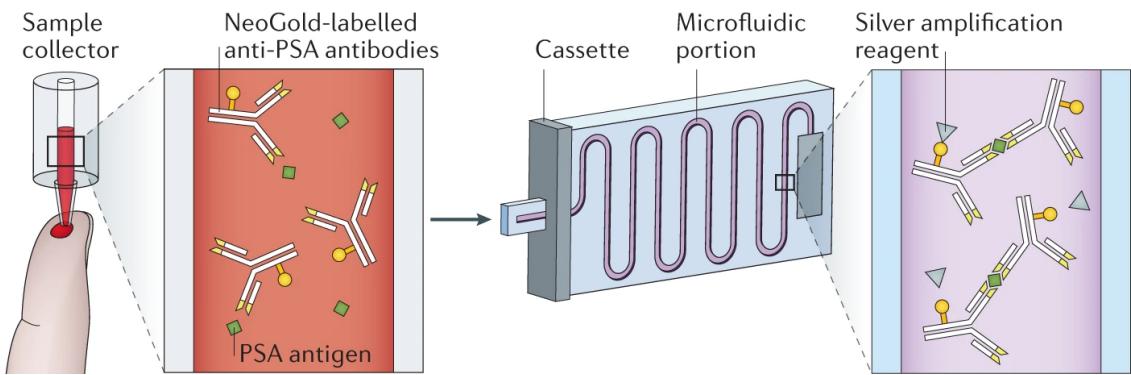


Рисунок 2 – Пример микрофлюидной диагностической системы — РоС (point-of-care) устройства, способного обнаружить простатический специфический антиген (ПСА) менее, чем за 15 минут

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[13]).

Отдельного внимания заслуживают биосенсоры на поверхностных оптических волнах (ПВ). К ним относятся как биосенсоры, основанные на поверхностном плазмонном резонансе (ППР)[14–16], так и более новые биосенсоры на поверхностных волнах в одномерном фотонном кристалле (ОФК)[17]. 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[18].

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 (за счёт 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)[19].



Рисунок 3 – Области применения биосенсоров

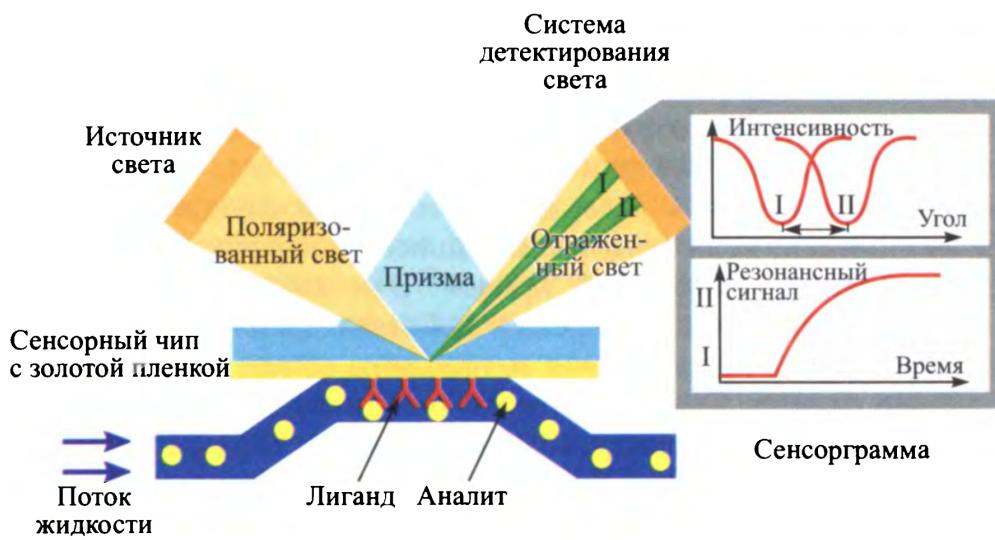


Рисунок 4 – Принцип работы биосенсора на поверхностных оптических волнах на примере биосенсора, основанного на поверхностном плазмонном резонансе; световая волна (**снизу**) на некоторую глубину проникает в раствор (**сверху**), связывание аналита с антителами на границе раздела фаз (**сверху справа**)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

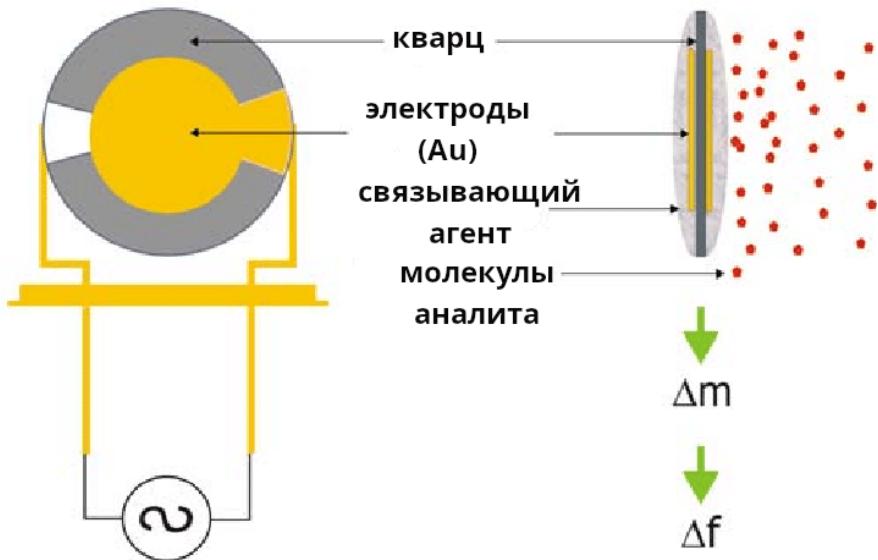


Рисунок 5 – Схема устройства КМ-биосенсора; связывание аналита с поверхностью сенсора приводит к изменению массы резонатора и, следовательно, к изменению резонансной частоты, измеряемой непосредственно

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[20].

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).

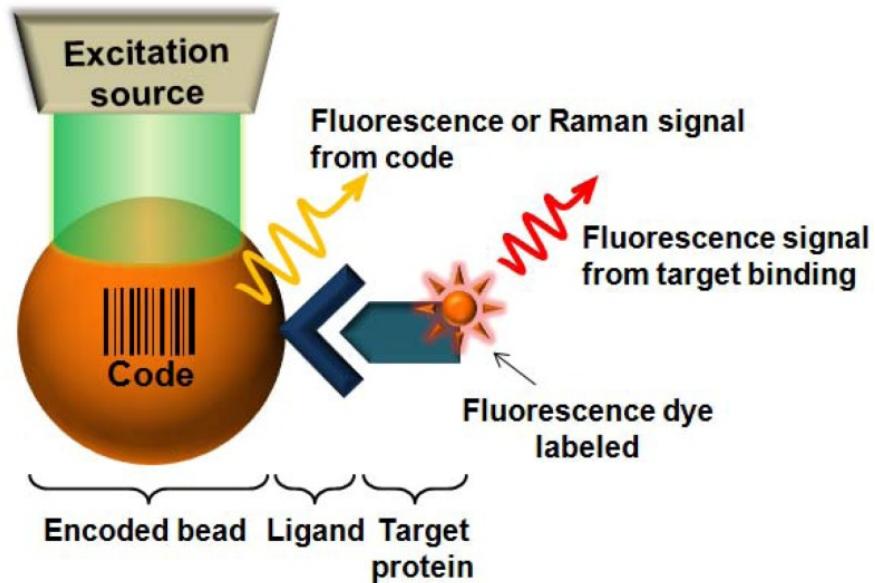


Рисунок 6 – Мультиплексный анализ, основанный на применении флуоресцентных микросфер; флуоресценция показывает как спектральный адрес типа микросфер (код) и соответствующий тип маркера, так и само наличие связавшегося маркера

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[21]

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

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 -ого вещества в растворе [мМ], \mathbf{j}_i — поток i -ого вещества в растворе [$\text{мМ}/(\text{мм}^2 \cdot \text{с})$], R_i — изменение концентрации i -ого 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

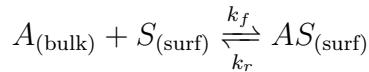
Под изотермой адсорбции будем понимать всякое уравнение $F(c_{i=1,n}, \gamma_{i=1,n}) = 0$, где c_i — равновесная концентрация i -ого вещества в растворе, γ_i — равновесная (поверхностная) концентрация i -ого вещества на поверхности, или параметрические семейства таких уравнений, параметрами в которых 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

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

[22], 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^* , $n > 1$ — константы для фиксированных веществ при фиксированной температуре. Учёт насыщения адсорбирующей поверхности приводит к уравнению изотермы Фрейндлиха-Ленгмюра

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

где K — константа, равная концентрации $c_{1/2}$, при которой занята половина сайтов связывания, возведённой в степень $1/n$.

По всей видимости, если потребуется, имеет смысл считать, что кинетика, соответствующая изотерме (20) имеет вид[23]

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

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[24].

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 -ого вещества, адсорбированного на j -ом виде сайтов связывания, c_i — объёмная концентрация i -ого вещества, $r_{i,j}$ — скорость адсорбции i -ого 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))[25]. Пространство реактора разделяется на две области (два компартента): внешний — с постоянной концентрацией аналита c_0 , и внутренний — с концентрацией аналита c . Скорость обмена анализом между компартментами 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 компартента. Скорость адсорбции полагается равной

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

а скорость изменения концентрации аналита во внутреннем компартменте —

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

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

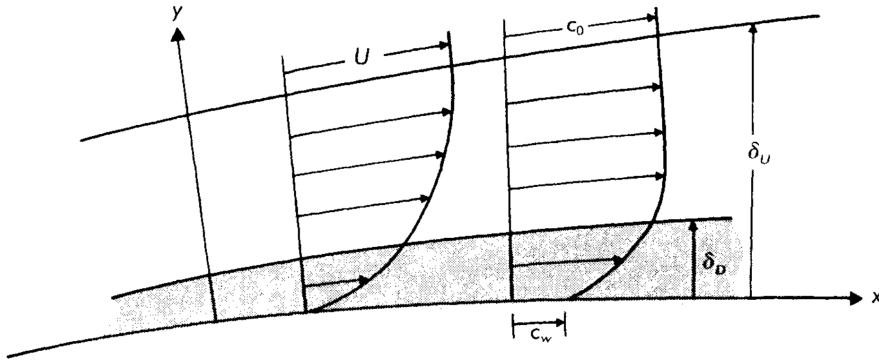


Рисунок 7 – Вязкостный и диффузионный слои; δ_U и δ_D — их толщины соответственно

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.

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[21, 26]

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

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

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 удашевляет разработку конечного функционального изделия,
- интерпретации данных, получаемых с помощью чипа,
- определения свойств исследуемой системы (путём решения обратных задач).

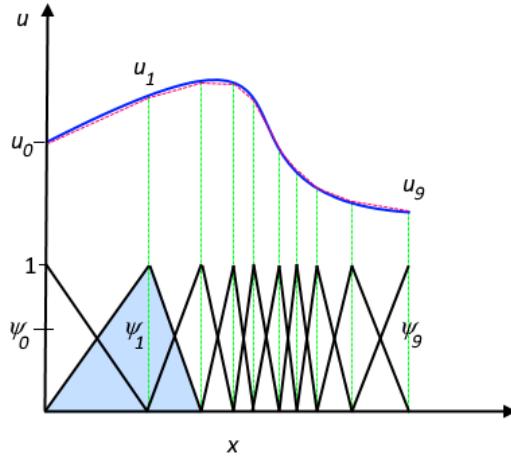


Рисунок 8 – Аппроксимация функции $u(x)$ линейной комбинацией финитных базисных функций $\psi_{i=\overline{0,9}}(x)$

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 под элементом)[27], 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 $u : \Omega \rightarrow \mathbb{R} \in H : \forall \psi \in H$

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

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

При применении методов конечных элементов в качестве H выбирается линейная оболочка набора финитных 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)

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

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))

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

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 $u_i(t)$:

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

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[28], 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[29].

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

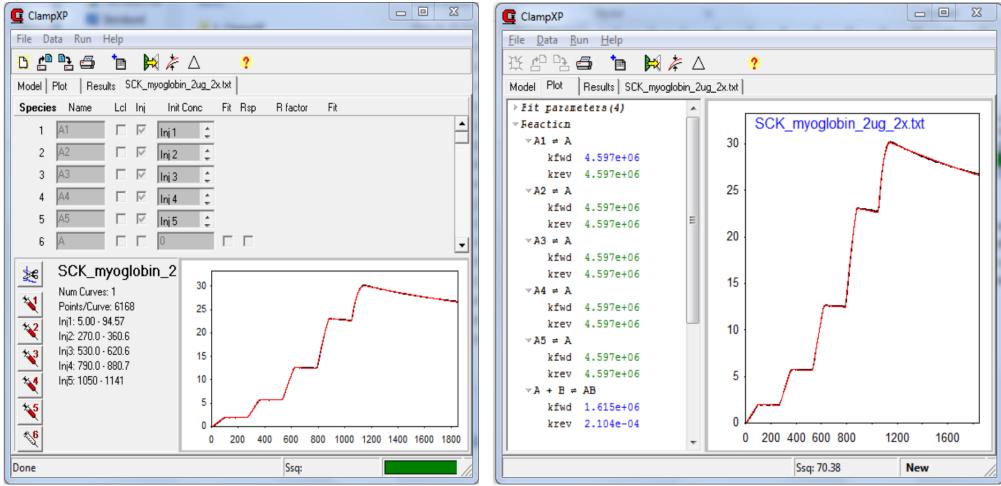


Рисунок 9 – Решение обратной задачи с помощью ClampXP: в левом окне задаётся концентрация аналита в растворе от времени, в правом окне внизу слева полученные оценки кинетических констант

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

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

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 [24] (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 рис. 7).

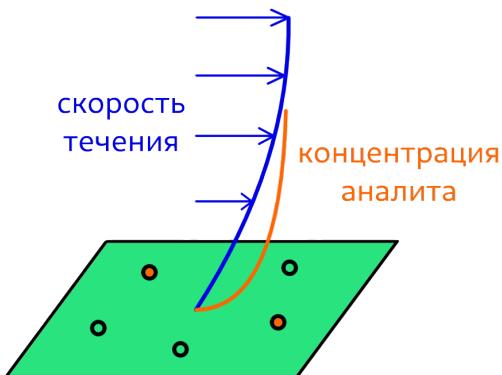


Рисунок 10 – Иллюстрация к задаче об адсорбции на поверхность; цветные кривые изображают зависимость скорости течения и концентрации аналита от расстояния до поверхности; оранжевые круги — сайты связывания, связавшиеся с анализом, салатовые — свободные сайты связывания

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 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 аналитом находятся в виде взвеси микросфера, 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 диффузионного 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 $m_{\text{str}} = 60\text{kДа}$. 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 [30] 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 истощиться 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.

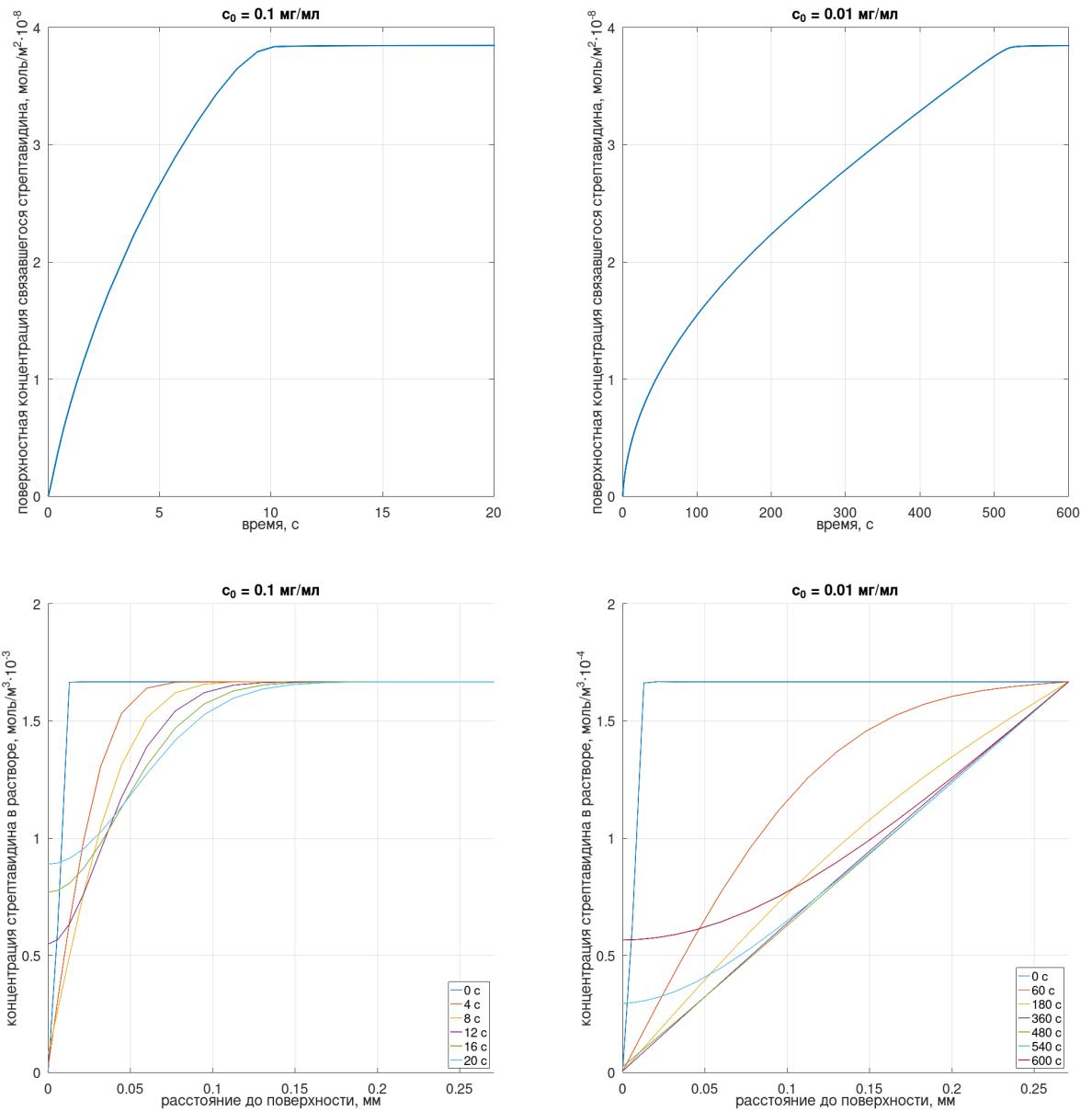


Рисунок 11 – Результаты расчётов в одномерной задаче об адсорбции на стенку бесконечно высокого канала; **сверху:** зависимость концентрации связавшегося стрептавидина от времени, **снизу:** пространственное распределение стрептавидина по объёму раствора; **слева:** $c_0 = 0.1 \text{ мг/мл}$, **справа:**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

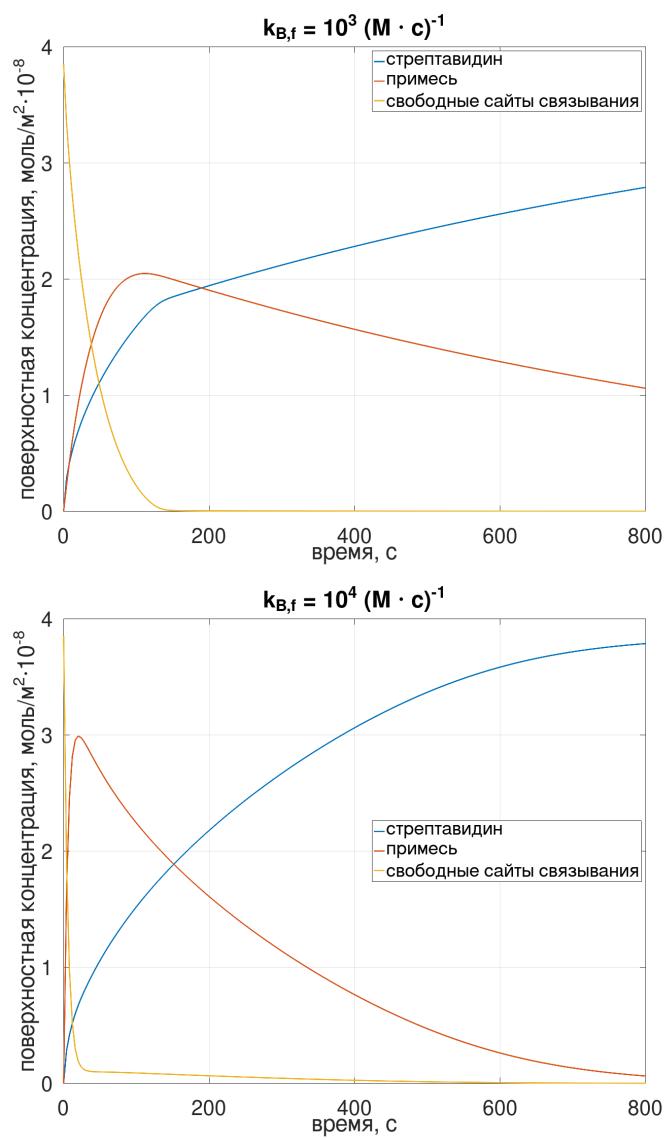


Рисунок 12 – Одномерная постановка задачи об адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии примеси; зависимость поверхностных концентраций стрептавидина, примеси и свободных сайтов связывания от времени

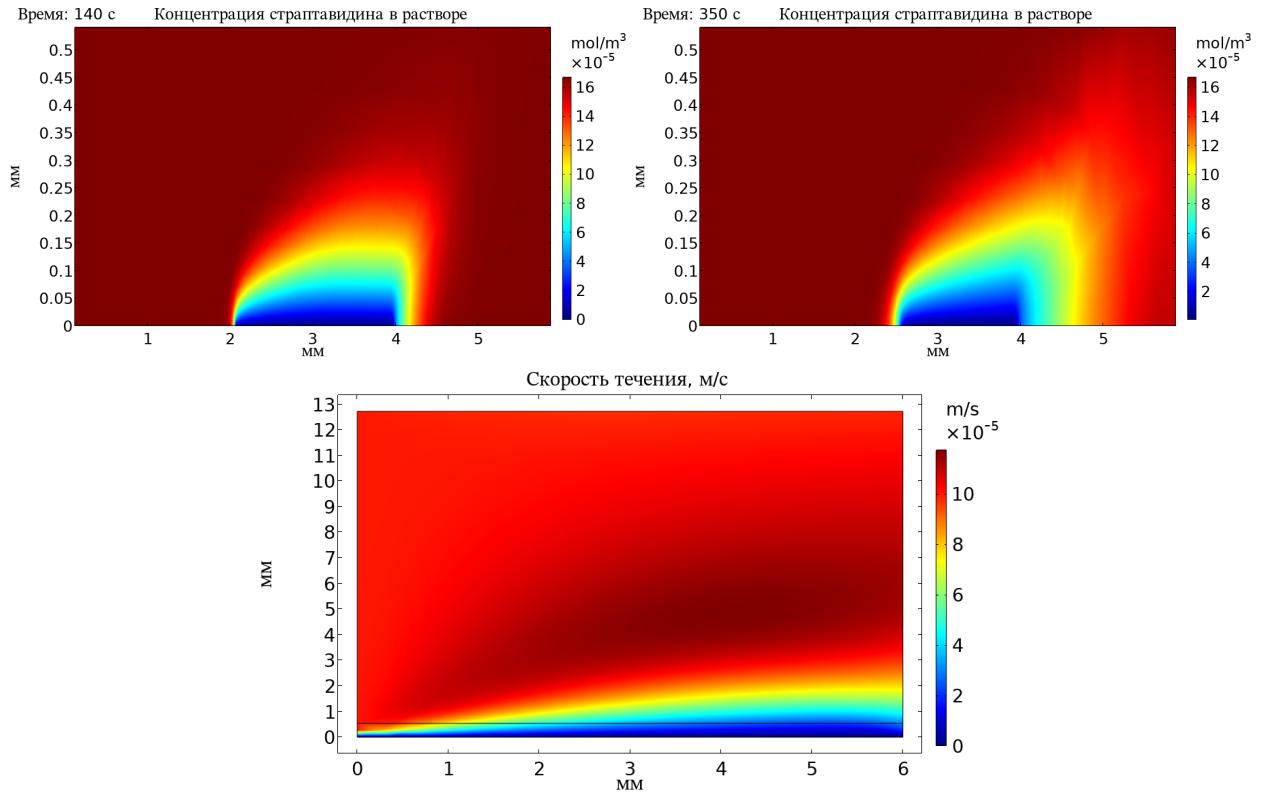


Рисунок 13 – Иллюстрация к двумерной постановке задачи об адсорбции на стенке бесконечно высокого канала; **сверху:** концентрация стрептавидина в растворе спустя 140с (слева) и 350с (справа) после нулевого момента времени, **снизу:** распределение скорости течения в объёме раствора

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 диффузационного слоёв.

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 $\alpha = \sqrt{2}$.

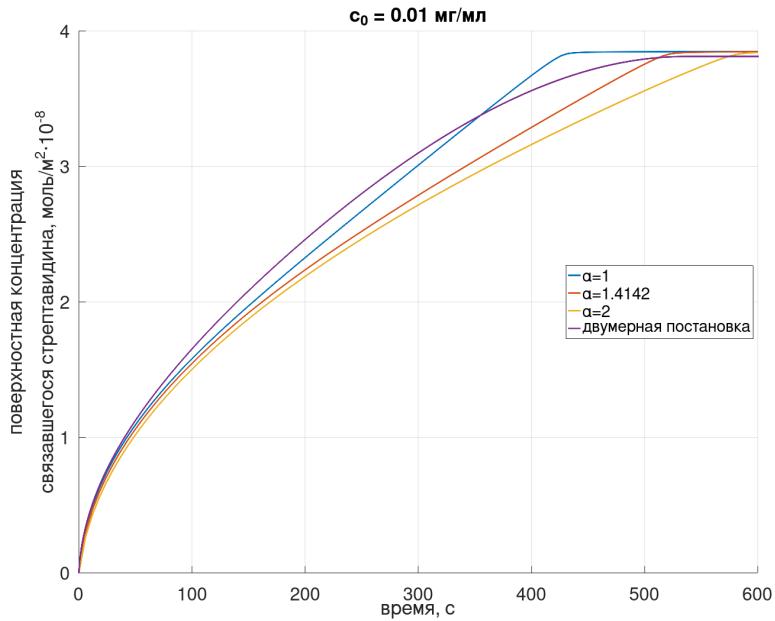


Рисунок 14 – Сравнение зависимости средней концентрации связавшегося стрептаведина в двумерной постановке от времени с аналогичными зависимостями в одномерной постановке при значениях параметра $\alpha \in \{1, \sqrt{2}, 2\}$

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: A и B, 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 A и белка G с иммуноглобулином G, взятой из [31], 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 A и B варьируются, но всегда $a + b = 1$ (количество сайтов A $\Gamma_A = a\Gamma$, сайтов B — $\Gamma_B = b\Gamma$). 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:

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

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 диффузационного 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 которой будет сказано далее.

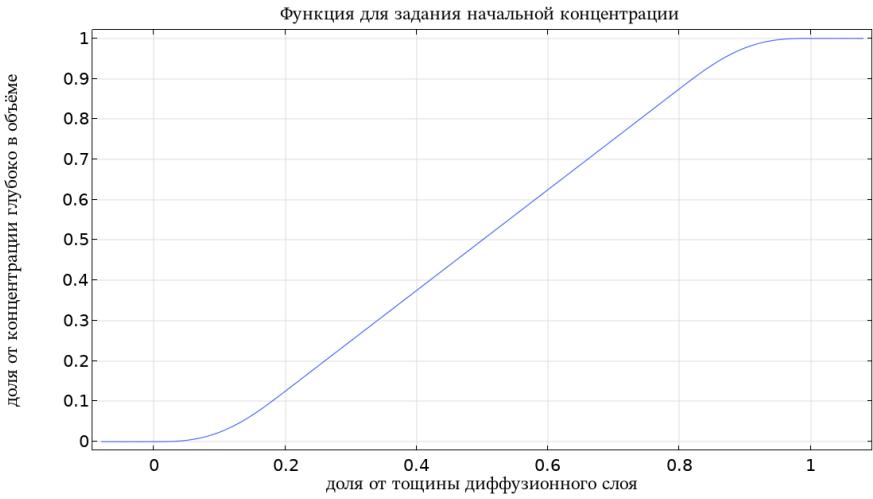


Рисунок 15 – Иллюстрация к неоднородным начальным условиям в одномерной постановке задачи об адсорбции на поверхность канала

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 показано для наглядности.

Двумерная постановка

Значения параметров те же, что и в одномерной постановке. Сайты 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 прямоугольника) 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.

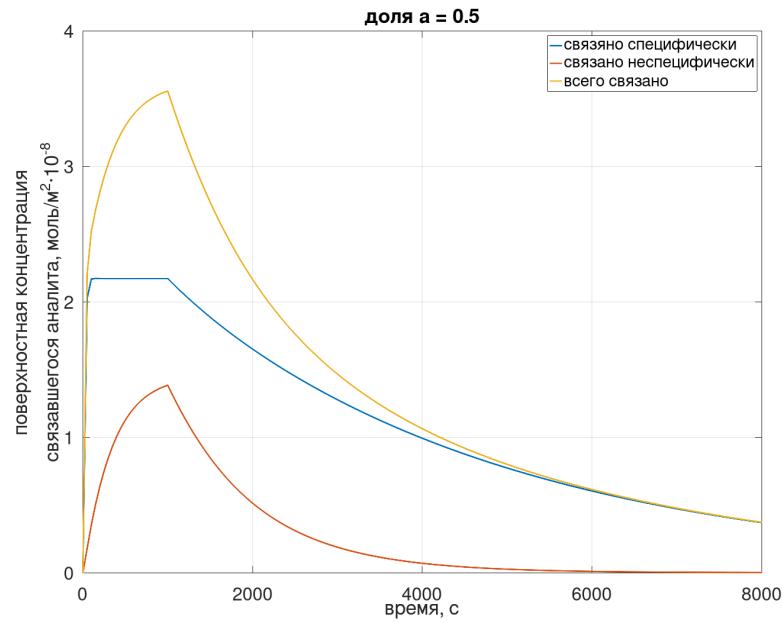


Рисунок 16 – Задача об одномерной адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; зависимость поверхностной концентрации аналита, связавшегося специфически, неспецифически, и суммарно; доля сайтов $A = 0.5$, т. е. сайтов А и В поровну

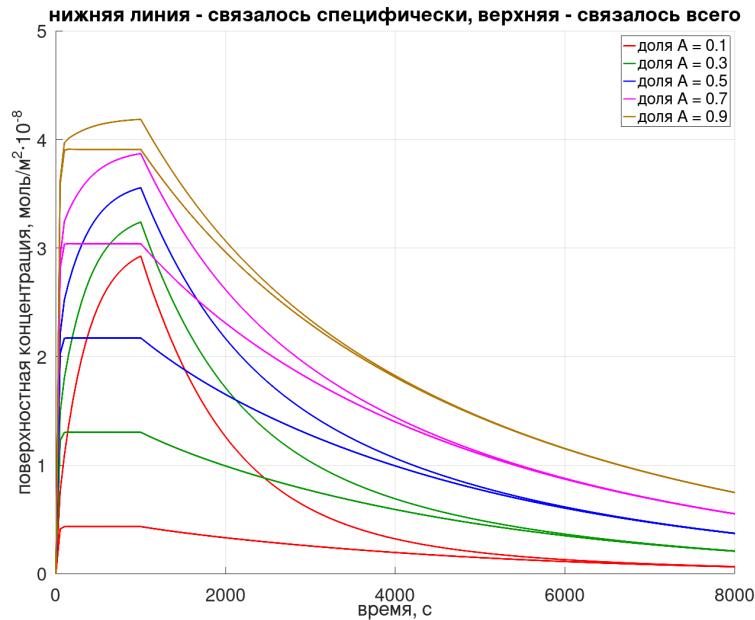


Рисунок 17 – Задача об одномерной адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; цветом объединены графики зависимости специфически адсорбированного и суммарно адсорбированного аналита при фиксированном параметре a – доле сайтов специфического связывания от общего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

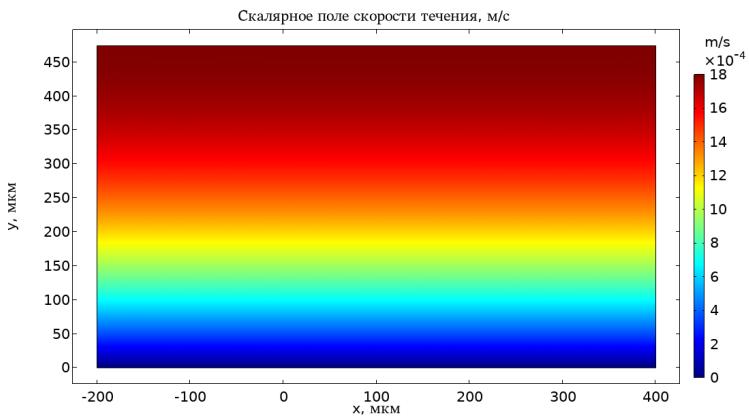


Рисунок 18 – Задача о двумерной адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; параболическое распределение скорости течения

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 поверхностной 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) связавшегося 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.

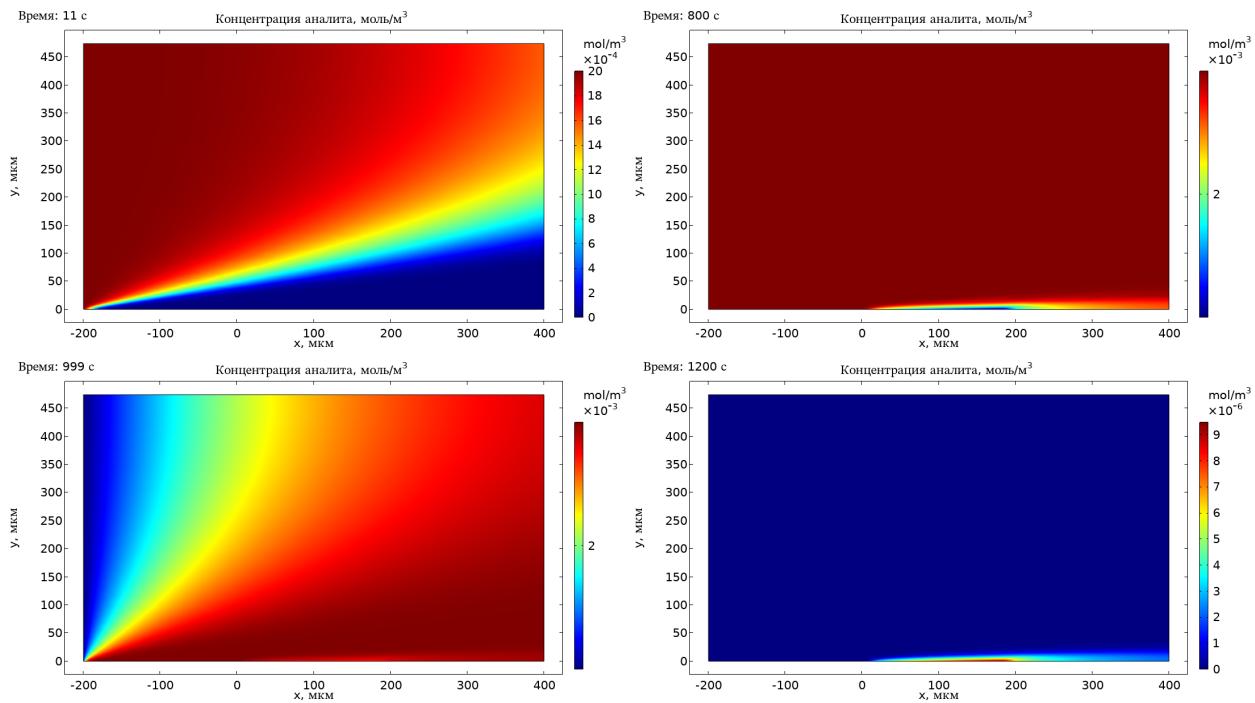


Рисунок 19 – Задача о двумерной адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; распределение концентрации аналита по объёму раствора в разные моменты времени

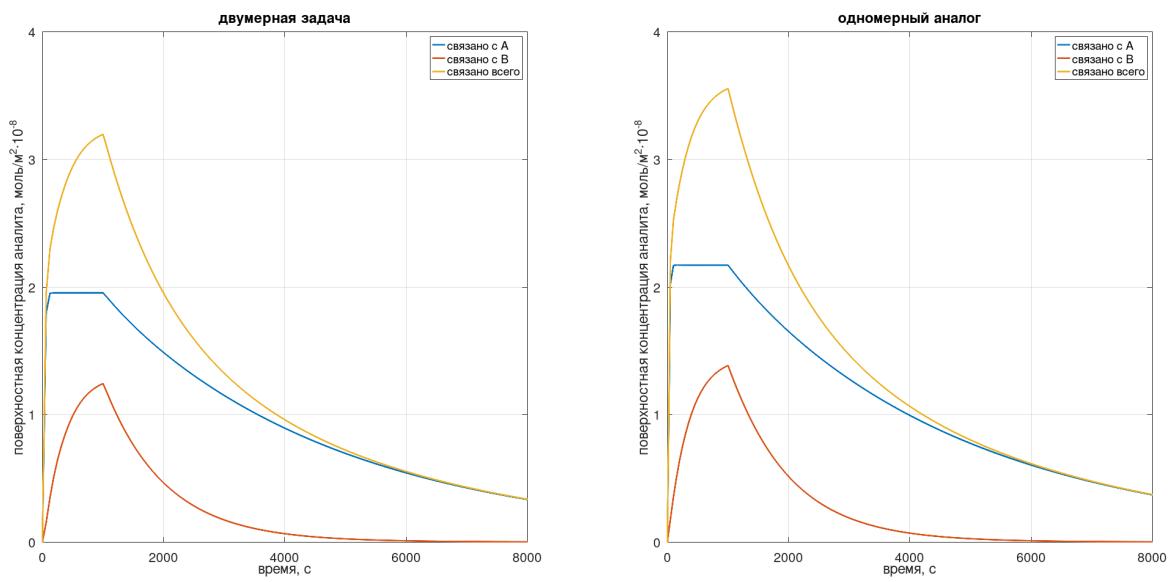


Рисунок 20 – Задача об адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; сравнение зависимостей поверхностных концентраций от времени для двумерной и одномерной постановок

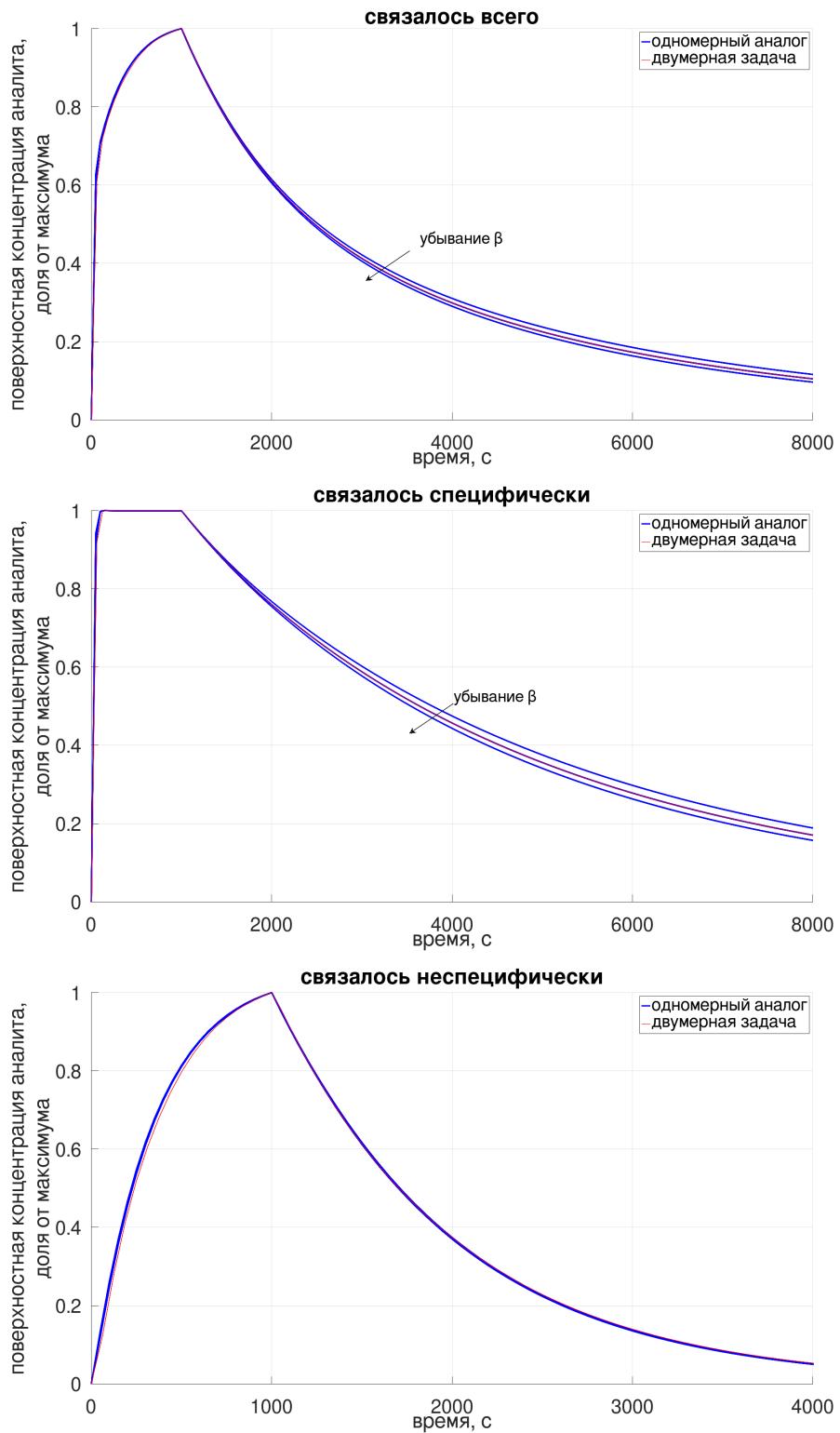


Рисунок 21 – Задача об адсорбции на стенку бесконечно высокого канала при наличии неспецифической адсорбции; подбор параметра $\beta \in \{1, 1/\sqrt{2}, 1/2\}$; судя по двум верхним графикам, наилучшим является значение $\beta_{\text{opt}} = 1/\sqrt{2}$: синие линии, соответствующие этому значению практически 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 $\beta = \text{const}$.

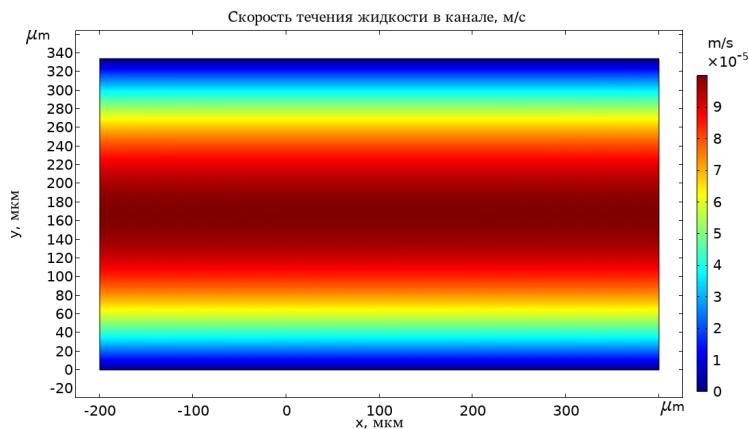


Рисунок 22 – Двумерная задача об адсорбции на стенке канала конечной высоты; параболическое распределение скорости течения раствора

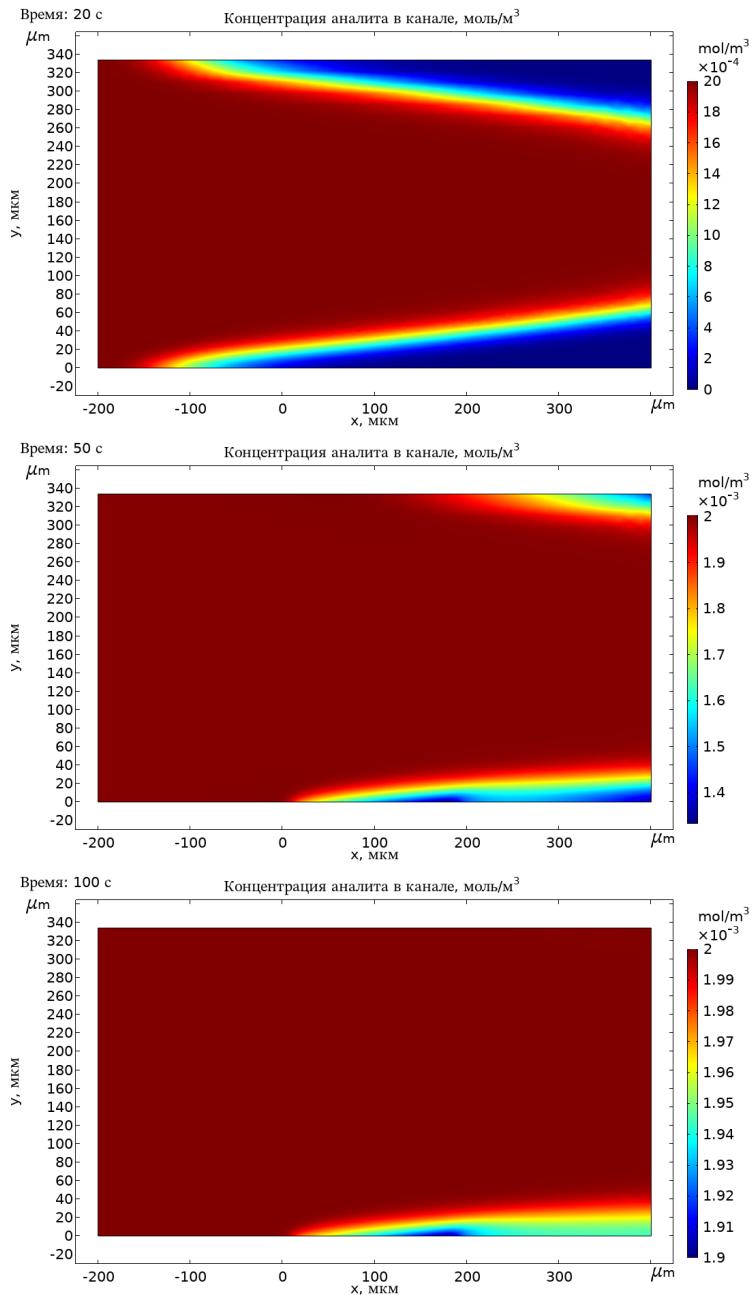


Рисунок 23 – Двумерная задача об адсорбции на стенке канала конечной высоты; характерные распределения концентрации аналита в объёме раствора

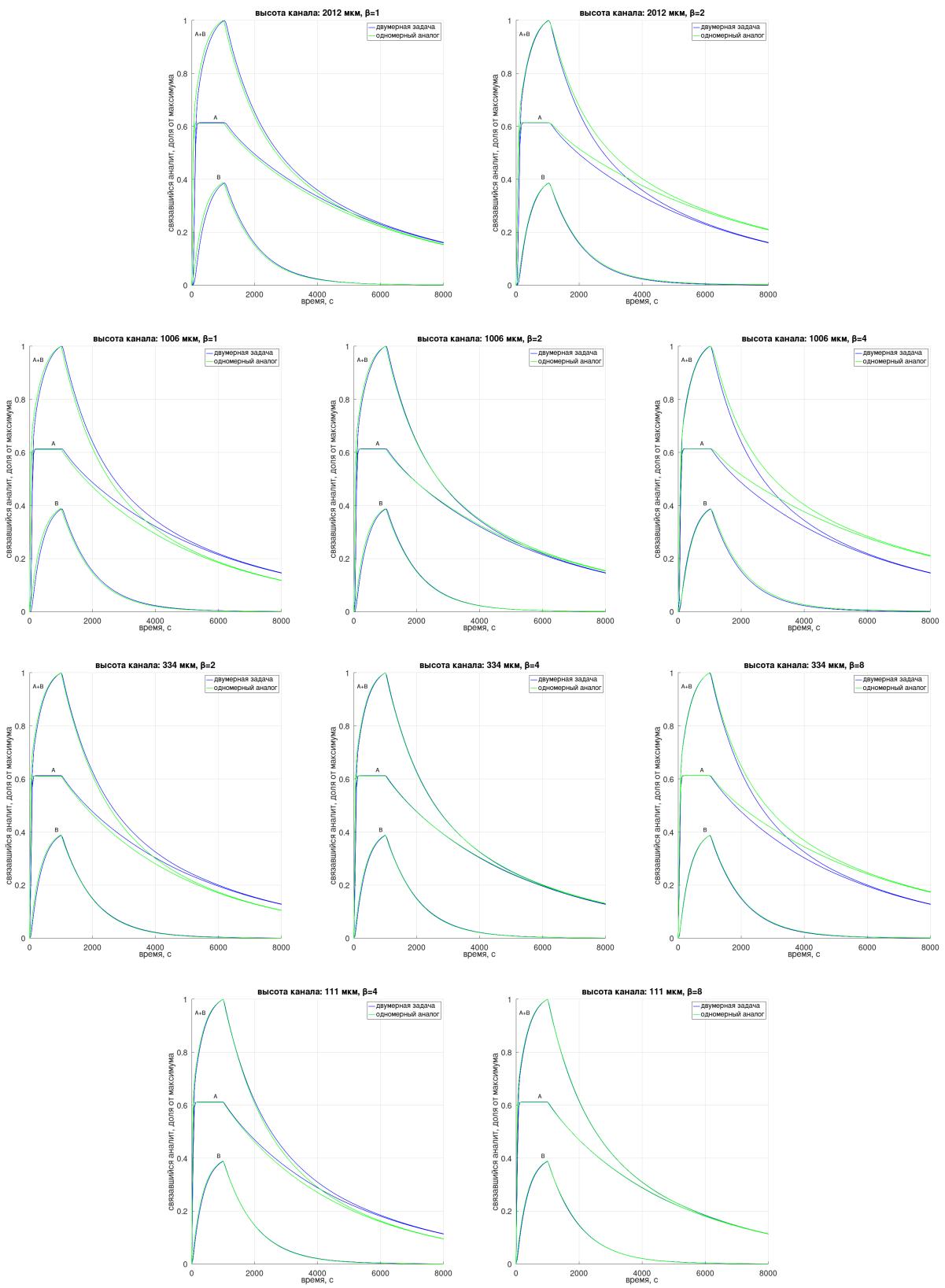


Рисунок 24 – Задача об адсорбции на поверхность канала конечной высоты; поиск зависимости $\beta_{\text{opt}}(H)$; сравнение результатов моделирования в одномерном и двумерном случаях для значений высоты $H \in \{\delta_U^*, \delta_U^*/2, \sqrt{\delta_U \delta_D}, 2\delta_D\}$ при различных $\beta \in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

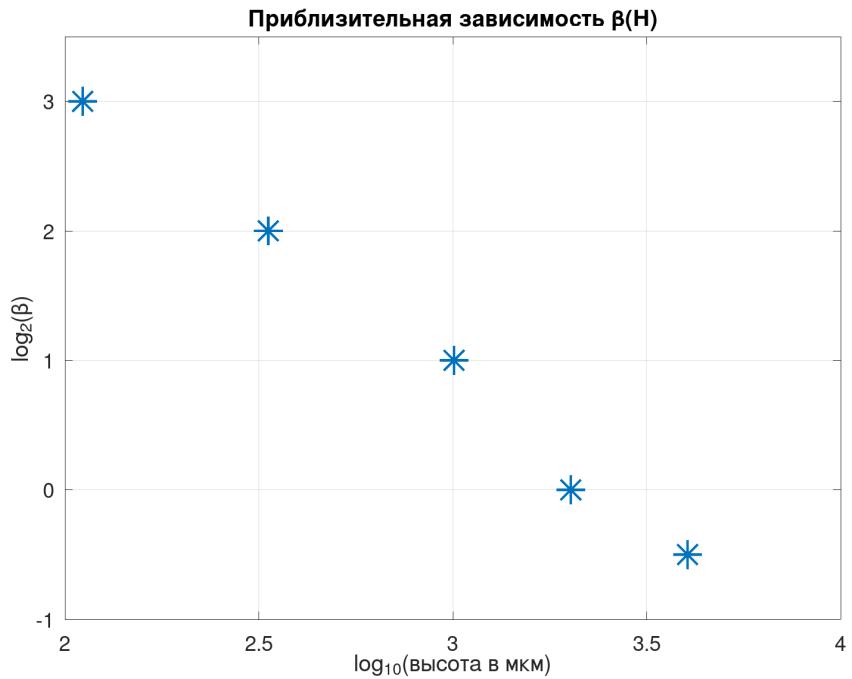


Рисунок 25 – Задача об адсорбции на стенке канала конечной высоты; приблизительная зависимость β_{opt} — наилучшего значения в формуле (41) для одномерного приближения, от высоты канала H ; точки не имеют размера

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

Для микросфер отдельно рассмотрены случаи, когда течение жидкости вокруг микросфер отсутствует, и когда микросфера обтекаются жидкостью.

В отсутствие течения

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

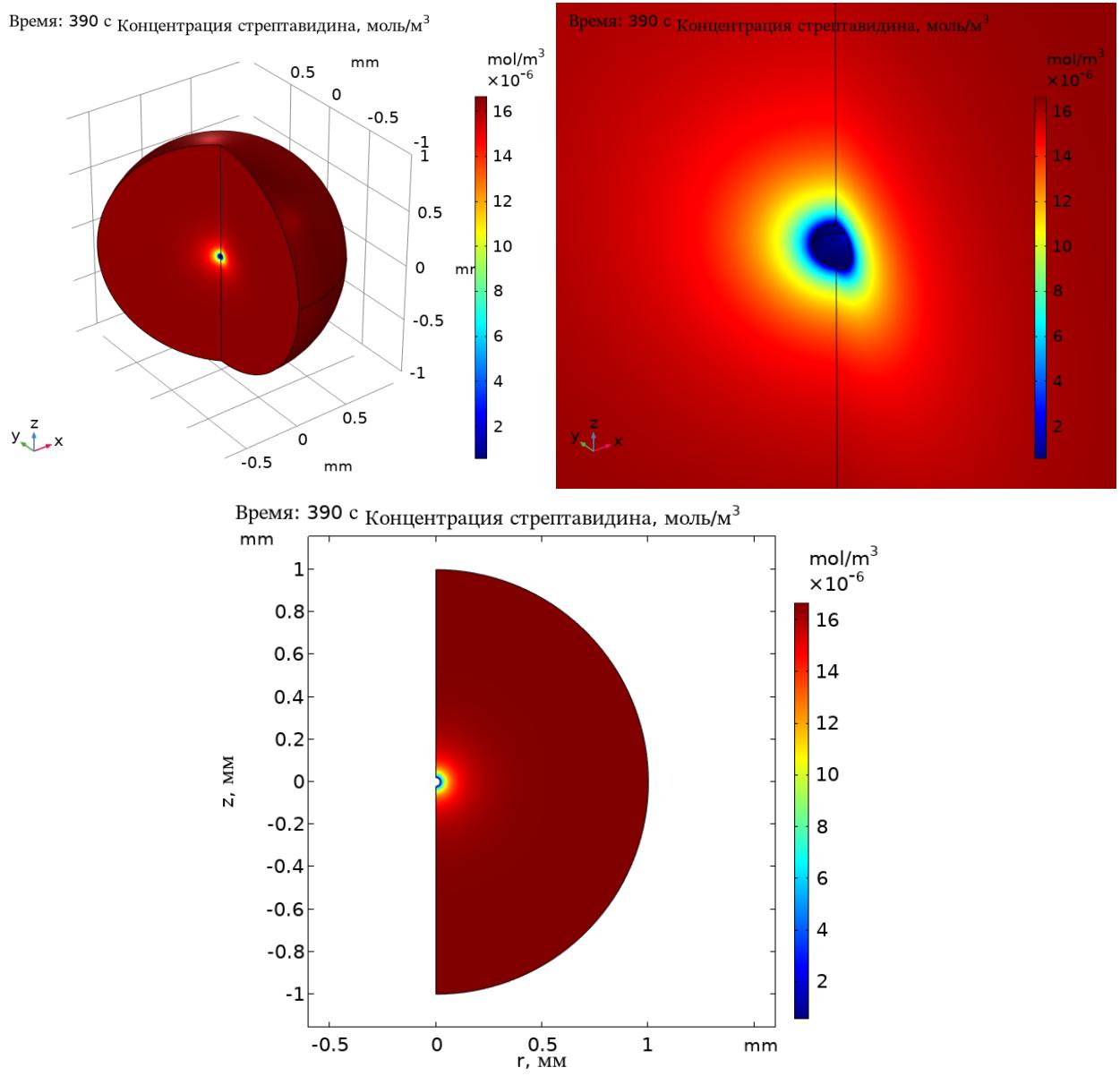


Рисунок 26 – Задача об адсорбции на микросферах; распределение концентрации стрептавидина спустя 390 секунд после начала симуляции при начальной концентрации стрептавидина $c_0 = 1\text{мкг/мл}$: **снизу** изображена в циллиндрических координатах (r, z) , **сверху** – трёхмерное изображение, **правое**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

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 также, что и на странице 20. Через границу внешней сферы радиусом $R_{\text{out}} = L$ потока 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.

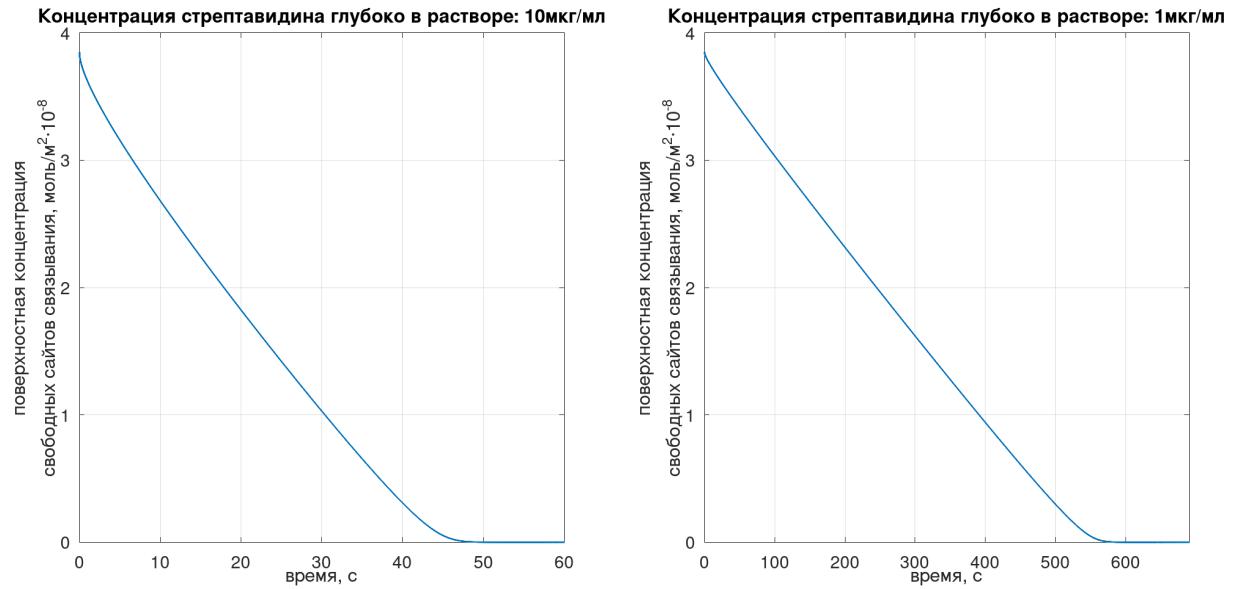


Рисунок 27 – Задача об адсорбции на микросфере; зависимости поверхностной концентрации свободных сайтов связывания от времени при значениях начальной концентрации стрептавидина $c_0 = 10\text{мкг/мл}$ **слева** и $c_0 = 1\text{мкг/мл}$ **справа**, внимания заслуживает почти линейный характер зависимостей 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 микросферы насыщаются стрептавидином примерно в 2 раза быстрее.

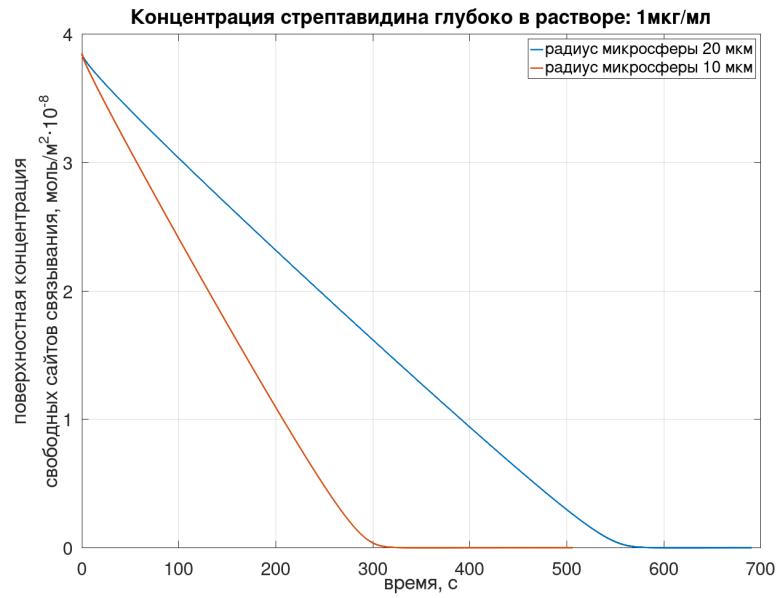


Рисунок 28 – Задача об адсорбции на микросферах; зависимости поверхностной концентрации свободных сайтов связывания от времени при значении начальной концентрации стрептавидина $c_0 = 1\text{мкг}/\text{мл}$ и радиусах микросфер $r = 20\text{мкм}$ и $r = 10\text{мкм}$, меньшие микросфера насыщаются стрептавидином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

При наличии течения

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. Границчная 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.

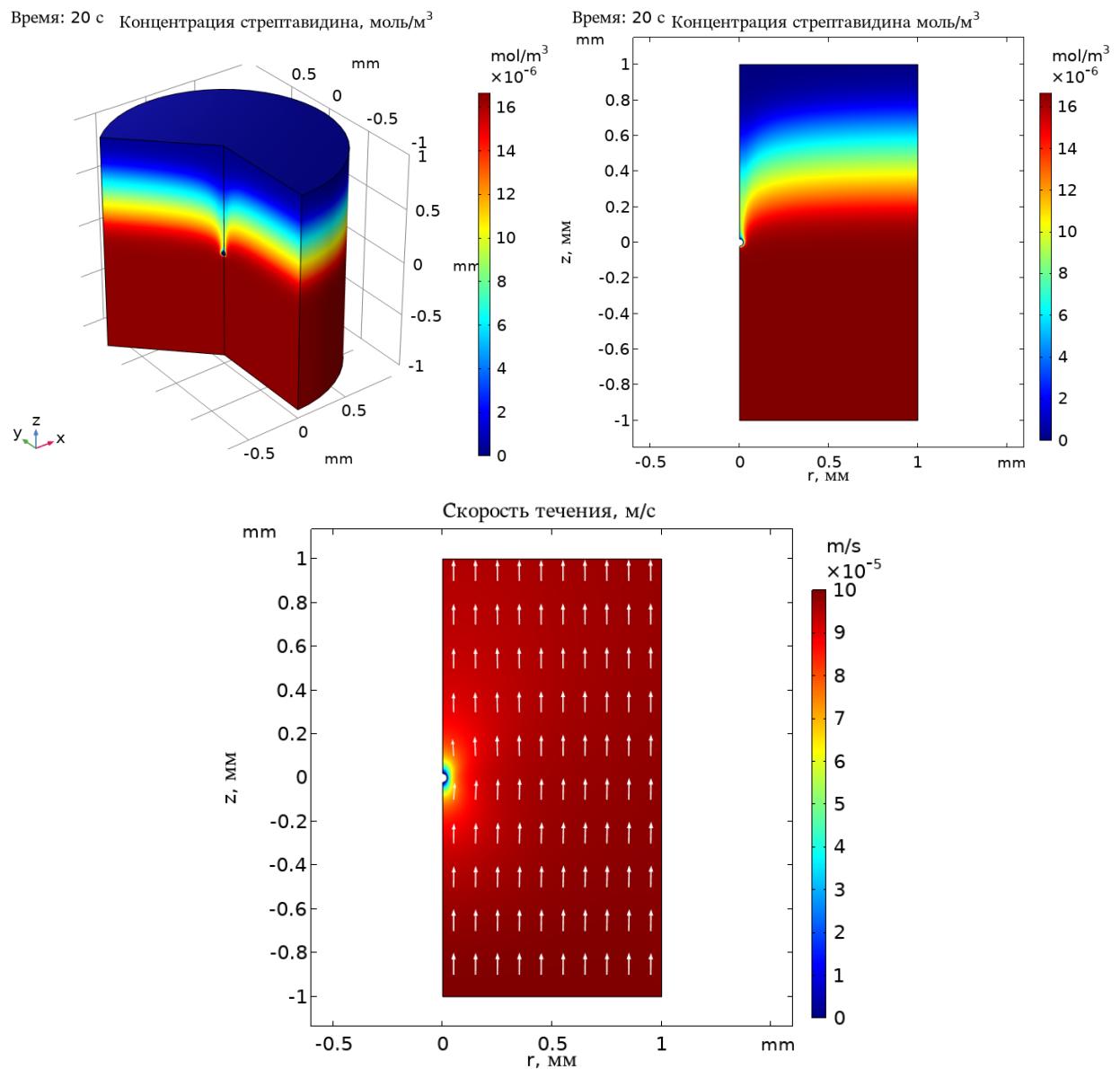


Рисунок 29 – Задача об адсорбции на поверхность микросферы, движущейся относительно потока жидкости; **сверху:** распределение концентрации аналита по объёму расчётной области спустя 20с после начала симуляции, **снизу:** распределение скорости течения; средняя скорость течения $U = 0.1\text{мм}/\text{с}$

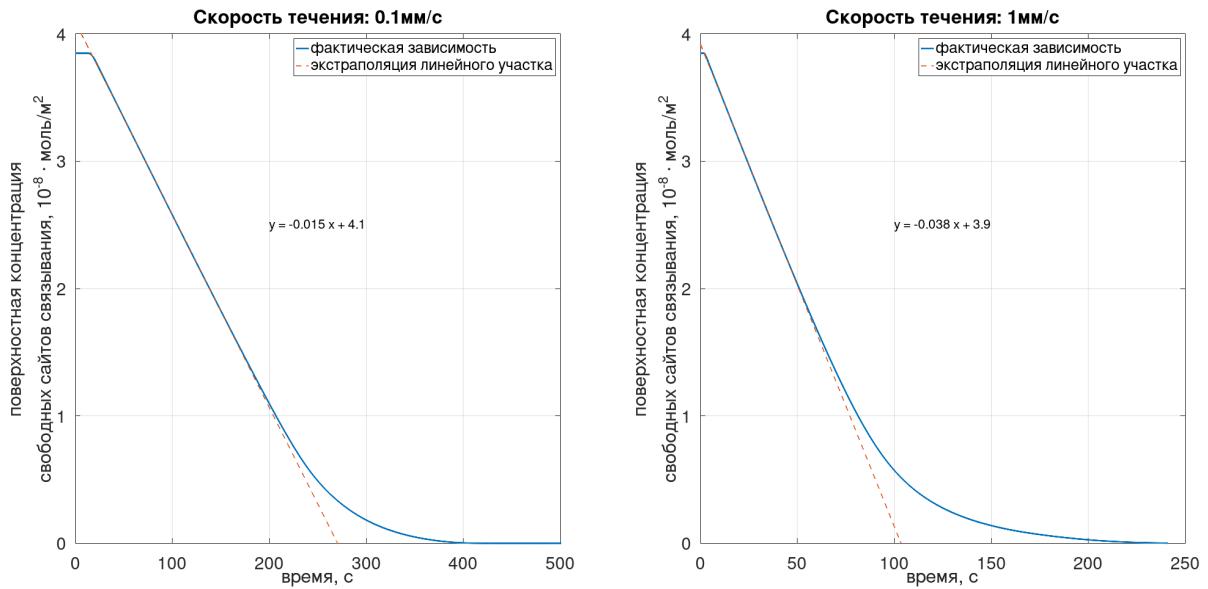


Рисунок 30 – Задача об адсорбции на поверхность микросферы, движущейся относительно потока жидкости; зависимость поверхностной концентрации свободных сайтов связывания от времени при скорости течения $U = 0.1\text{мм/с}$ (**слева**) и $U = 1\text{мм/с}$ (**справа**); линейные участки экстраполированы (**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 для микроканала с плоской стенкой, по которому проходит раствор с целевым маркером, и для микросфер, находящихся в растворе с целевым маркером.

Для модели адсорбции на плоскую поверхность микроканала были рассмотрены случаи, когда канал имеет бесконечную высоту и профиль скорости течения определяется величиной скорости течения в глубине раствора, и случай, когда канал имеет конечную высоту, а профиль скорости течения определяется геометрией канала с точностью до множителя (средней или максимальной скорости течения в канале). Задача была рассмотрена в двух постановках: двумерной и одномерной, где вторую можно считать приближением первой. Для этого были использованы представления о диффузионном и вязкостном граничных слоях. Оказалось, что уменьшение толщины вязкосного слоя, связанное с уменьшением высоты канала не приводит к пропорциональному уменьше-

нию диффузионного слоя. В одномерной постановке были дополнительно рассмотрены влияние примеси на кинетику связывания целевого маркера и влияние неспецифического связывания на регистрируемый биосенсором сигнал.

Для модели адсорбции на поверхность микросфер были рассмотрены случаи, когда отсутствует течение жидкости относительно микросфер и когда скорость этого течения отлична от нуля. С точки зрения физики, в первом случае — с нулевой скоростью течения — геометрия расчётной области сферическая; во втором — с ненулевой скоростью течения — цилиндрическая. Для снижения вычислительных затрат была использована цилиндрическая симметрия, что позволило производить вычисления в двумерной области (вместо трёхмерной) в обоих случаях. В отсутствие течения был проварирован размер микросфер, а при наличии течения — скорость течения.

6. Выводы

В работе получены модели, позволяющие рассчитать массоперенос в канале микрофлюидного чипа с плоской стенкой и массоперенос из раствора на поверхность флуоресцентных микросфер.

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

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

Данные модели лягут в основу дальнейших расчётов — как тех, которые позволяют уделешевить и ускорить проектирование микрофлюидных систем, т. к. создание компьютерной модели дешевле и быстрее, чем создание реального устройства, что существенно упрощает прототипирование; так и расчётов, связанных с решением обратных задач, что сделает возможным использование биосенсора для определения параметров, характеризующих взаимодействие исследуемых веществ.

7. Благодарности

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

Список литературы

- [1] Adelina-Gabriela Niculescu и др. “Fabrication and Applications of Microfluidic Devices: A Review”. B: *International Journal of Molecular Sciences* 22.4 (2021). ISSN: 1422-0067. DOI: 10 . 3390 / ijms22042011. URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/4/2011>.
- [2] Евстратов А. А. “Микрофлюидные чипы для биологических и медицинских исследований”. B: *Рос. хим. жс. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева)* LV.2 (2011).
- [3] Б. Е. Курочкин и др. “Микрофлюидные аналитические системы”. B: *НАУЧНОЕ ПРИБОРОСТРОЕНИЕ* 10.3 (2000).
- [4] L. Hocking и др. “A scoping review of point-of-care testing devices for infectious disease surveillance, prevention and control”. B: *European Centre for Disease Prevention and Control* (апр. 2022). [DOI:10.2900/443139] [ISBN:978-92-9498-569-9].
- [5] Z. Zhu, J. J. Lu и S. Liu. “Protein separation by capillary gel electrophoresis: a review”. B: *Anal Chim Acta* 709 (янв. 2012). [PubMed Central:PMC3227876] [DOI:10.1016/j.aca.2011.10.022] [PubMed:11795513], c. 21–31.
- [6] F. A. Gomez. “Microfluidics in protein chromatography”. B: *Methods Mol Biol* 681 (2011). [DOI:10.1007/978-1-60761-913-0_8] [PubMed:20978964], c. 137–150.
- [7] Pingan Zhu и Liqiu Wang. “Passive and active droplet generation with microfluidics: a review”. B: *Lab on a chip* 17.1 (дек. 2016), c. 34–75. ISSN: 1473-0197. DOI: 10.1039/c6lc01018k. URL: <https://doi.org/10.1039/c6lc01018k>.
- [8] N. Bhalla и др. “Introduction to biosensors”. B: *Essays Biochem* 60.1 (июнь 2016). [PubMed Central:PMC4986445] [DOI:10.1042/EBC20150001] [PubMed:20151038], c. 1–8.
- [9] Y. S. Sun и др. “Effect of fluorescently labeling protein probes on kinetics of protein-ligand reactions”. B: *Langmuir* 24.23 (дек. 2008). [PubMed Central:PMC2721158] [DOI:10.1021/la802097z] [PubMed:18566623], c. 13399–13405.
- [10] A. Manz и др. “Design of an open-tubular column liquid chromatograph using silicon chip technology”. B: *Sensors and Actuators B: Chemical* 1.1 (1990), c. 249–255. ISSN: 0925-4005. DOI: [https://doi.org/10.1016/0925-4005\(90\)80210-Q](https://doi.org/10.1016/0925-4005(90)80210-Q). URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/092540059080210Q>.
- [11] Jorge Ricardo Mejía-Salazar и др. “Microfluidic Point-of-Care Devices: New Trends and Future Prospects for eHealth Diagnostics”. B: *Sensors* 20.7 (2020). ISSN: 1424-8220. DOI: 10 . 3390 / s20071951. URL: <https://www.mdpi.com/1424-8220/20/7/1951>.

- [12] A. R. Meyer и M. A. Gorin. “First point-of-care PSA test for prostate cancer detection”. B: *Nat Rev Urol* 16.6 (июнь 2019). [DOI:10.1038/s41585-019-0179-1] [PubMed:30948842], с. 331—332.
- [13] LymeExpress — студенты в борьбе с клещевыми инфекциями. URL: <https://biomolecula.ru/articles/lymexpress-studenty-v-borbe-s-kleshchevymi-infektsiami> (дата обр. 15.06.2022).
- [14] Jian-Ying Jing и др. “Long-range surface plasmon resonance and its sensing applications: A review”. B: *Optics and Lasers in Engineering* 112 (2019), с. 103—118. ISSN: 0143-8166. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.optlaseng.2018.09.013>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0143816618306365>.
- [15] Allen D. Taylor и др. “Quantitative and simultaneous detection of four foodborne bacterial pathogens with a multi-channel SPR sensor”. B: *Biosensors and Bioelectronics* 22.5 (2006), с. 752—758. ISSN: 0956-5663. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2006.03.012>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095656630600090X>.
- [16] Marek Piliarik, Hana Vaisocherová и Jiří Homola. “Biosensors and Biodetection”. B: под ред. Avraham Rasooly и Keith E. Herold. Totowa, NJ: Humana Press, 2009, с. 65—88. ISBN: 978-1-60327-567-5. DOI: 10.1007/978-1-60327-567-5_5. URL: https://doi.org/10.1007/978-1-60327-567-5_5.
- [17] Irina Soboleva и др. “Visualization of surface electromagnetic waves in one-dimensional photonic crystal by fluorescence dye”. B: *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering* 7356 (май 2009). DOI: 10.1117/12.820711.
- [18] Клинов В. В. *Наноплазмоника*. ISBN 978-5-9221-1030-3. М. ФИЗМАТЛИТ, 2009.
- [19] Arief Yuwono и Peter Schulze Lammers. “Odor Pollution in the Environment and the Detection Instrumentation”. B: 6 (нояб. 2003).
- [20] B. H. Jun и др. “Fluorescence-based multiplex protein detection using optically encoded microbeads”. B: *Molecules* 17.3 (март 2012). [PubMed Central:PMC6268487] [DOI:10.3390/molecules17032474] [PubMed:15047203], с. 2474—2490.
- [21] Лифшиц Е. М. Ландау Л. Д. *Теоретическая физика: Учеб. пособ.: Для вузов. В 10 т. Т. VI. Гидродинамика*. — 5-е изд., стереотип. ISBN 5-9221-0121-8. М. ФИЗМАТЛИТ, 2001.
- [22] Richard I. Masel. “Principles of Adsorption and Reaction on Solid Surfaces”. B: Wiley Interscience, 1996. ISBN: 0-471-30392-5.
- [23] Patiha и др. “Derivation and constants determination of the Freundlich and (fractal) Langmuir adsorption isotherms from kinetics”. B: *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 333 (март 2018), с. 012010. DOI: 10.1088/1757-899x/333/1/012010. URL: <https://doi.org/10.1088/1757-899x/333/1/012010>.
- [24] Fredrik Boström. *Single-cycle kinetics for QCM biosensors for high throughput nanoparticle characterization application*. 2016.
- [25] David G. Myszka и др. “Extending the Range of Rate Constants Available from BIACORE: Interpreting Mass Transport-Influenced Binding Data”. B: *Biophysical Journal* 75.2 (1998), с. 583—594. ISSN: 0006-3495. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(98\)77549-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(98)77549-6). URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006349598775496>.

- [26] Ronald F. Probstein. “Physicochemical Hydrodynamics”. B: John Wiley & Sons, Ltd, 1994. Гл. 4, с. 53—107. ISBN: 9780471725138. DOI: <https://doi.org/10.1002/0471725137.ch4>. eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/0471725137.ch4>. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/0471725137.ch4>.
- [27] *The Finite Element Method (FEM)*. URL: <https://www.comsol.com/multiphysics/finite-element-method> (дата обр. 15.06.2022).
- [28] Ernst Hairer и Gerhard Wanner. “Solving Ordinary Differential Equations II: Stiff and Differential-Algebraic Problems”. B: 2002.
- [29] Victor Isakov. *Inverse Problems for Partial Differential Equations*. 3-е изд. Applied Mathematical Sciences. [DOI:10.1007/978-3-319-51658-5]. Springer Cham, 2017. ISBN: 978-3-319-51657-8.
- [30] M. Srisa-Art и др. “Monitoring of real-time streptavidin-biotin binding kinetics using droplet microfluidics”. B: *Anal Chem* 80.18 (сент. 2008). [DOI:10.1021/ac801199k] [PubMed:18712935], с. 7063—7067.
- [31] K. Saha, F. Bender и E. Gizeli. “Comparative study of IgG binding to proteins G and A: nonequilibrium kinetic and binding constant determination with the acoustic waveguide device”. B: *Anal Chem* 75.4 (февр. 2003). [DOI:10.1021/ac0204911] [PubMed:12622374], с. 835—842.