

文章编号: 2096-0387 (2020) 01-0133-03

# 微系统中细胞分选方法浅析

李备<sup>1,2</sup>, 张来明<sup>1</sup>, 李文杰<sup>1,2</sup>, 杨畅<sup>2</sup>

(1. 中国科学院长春光学精密机械与物理研究所, 吉林长春 130033;

2. 长春光辰英生物科学仪器有限公司, 吉林长春 130033)

**摘要:** 近十年来, 研究人员广泛将微加工与微流体技术相结合, 应用于细胞生物学。利用这些新技术, 已经对干细胞、免疫细胞、癌症、神经元等进行了深度的研究。在应用微技术平台的各种生物和医学领域中, 细胞分离技术于分类或寻找循环肿瘤细胞 (CTCs)、血细胞分离等方面受到了高度重视。细胞分离微系统的不断发展将为诊断 CTCs、癌症转移以及血液中的其他元素带来新的途径。基于此, 介绍近年来形成的细胞分离微系统的物理原理, 为工程师开发多样化分离系统提供理论依据。

中图分类号: R197.39

文献标志码: A

关键词: 细胞分选; 激光与物质相互作用; 可视化分选

## Methods for Sorting Cells in Microsystems

Li Bei<sup>1,2</sup>, Zhang Lai-ming<sup>1</sup>, Li Wen-jie<sup>1,2</sup>, Yang Chang<sup>2</sup>

(1. Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Jilin Changchun 130033;

2. HOOKE Instruments Co. Ltd., Jilin Changchun 130033)

**Abstract:** In the last decade, researchers have combined micromachining and microfluidics technologies for a wide range of applications in cell biology. Stem cells, immune cells, cancer, neurons and so on have been studied in depth using these new technologies. In a variety of biological and medical fields using microtechnology platforms, cell separation techniques have received great attention in the classification or search for circulating tumor cells (CTCs), blood cell separation and other aspects. The continued development of cell separation Microsystems will lead to new ways of diagnosing CTCs, cancer metastasis, and other elements in the blood. Based on this, the physical principle of cell separation microsystem formed in recent years is introduced to provide theoretical basis for engineers to develop diversified separation system.

**Key words:** Cell sorting, Laser and matter interaction, Visual sorting

## 1 单细胞弹射分选技术

单细胞弹射分选技术是一种基于激光与物质相互作用的精准分离技术, 可实现对复杂生物样本中单细胞的精准分选与分离, 具有可视化、无标记、非接触、准确率高、广泛适用等特点。如图 1 所示, 为单细胞弹射分选原理图。将细胞群放置在分选新品上, 然后翻转, 脉冲激光经过倒置物镜聚焦到样品上, 透过玻璃基板与介质层的相互作用, 将目标细胞弹射下来。

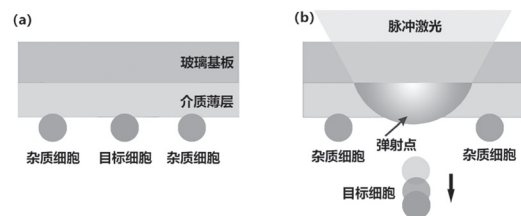


图 1 单细胞弹射分选原理图

单细胞弹射分选技术为环境、临床等复杂生物样本中的单细胞, 特别是微生物分选提供了先进可靠的工具。在医疗领域, 单细胞精准分选仪可通过单细胞

作者简介: 李备 (1983—), 男, 陕西宝鸡人, 博士, 研究员, 研究方向: 复杂光学系统开发及其在生命科学领域中的应用。

智能识别及分选功能,从血液、尿液等成分复杂的临床样本中,快速定位并分离病原微生物,替代耗时长的微生物纯培养过程,大大缩短感染性疾病的致病菌诊断周期,从而指导用药,为患者特别是重症感染患者争取黄金治疗期,直接防止抗生素滥用。在生物制药领域,单细胞精准分选仪可实现对具有特殊生理功能或代谢产物的工程微生物的快速筛选,缩短工程菌制备周期。如图 2 所示,为单细胞弹射分选前后的细胞芯片显微图像和接收器显微图像。通过精准单细胞分选过程,可以看见经过分选的细胞处已经没有细胞,而在接收器中可观察到细胞的存在。对比说明了细胞的精准分选。

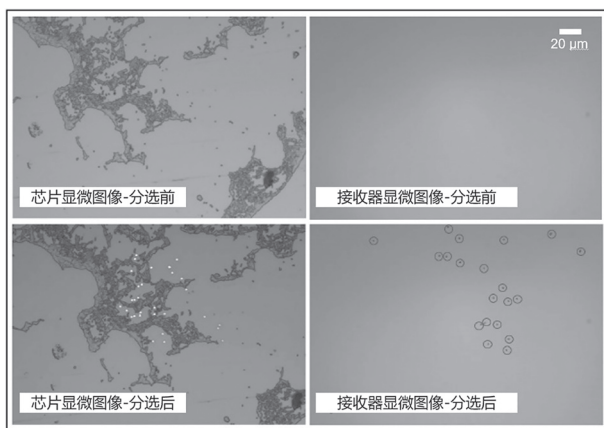


图 2 单细胞弹射分选结果

单细胞研究在国内外科科研和成果产业化中逐步趋热,必将是未来精准医疗、生物制药、全民健康、环境资源等众多行业的发展方向,为探索单细胞生命科学提供一个有效方法,为解密生命密码提供一个有力工具。

## 2 微滤分离和分选

分选微粒最传统的方法是微滤。该方法利用调整微孔的大小和微柱之间的间隙进行分选。因此,微滤高度依赖于微粒的大小。这种方法的优点是易于操作人员理解分离原理(这并不意味着制造或实验过程简单),并且易于添加到其他方法中。

另一种微流体细胞分离系统使用微柱作为全血细胞计数的过滤器。通过设计微柱与微柱大小之间的间隙,对微粒、血细胞进行分选和分析。微通道有 3 个区域,对应于有不同目标大小的微粒。每一种微观结构都有一个凹槽来捕捉目标微粒,并有一个小间隙连接凹槽,使小于目标尺寸的微粒通过。

## 3 磁力

红细胞的天然磁化率是由于血红蛋白的存在(红细胞中的脱氧血红蛋白是顺磁性的)。利用细胞的天然磁性,可以实现红细胞与全血的分离。有研究人员<sup>[1]</sup>利用同样的机制,报道了一种分离罕见有核红细胞的微系统。为了改善以往复杂系统的缺陷(回收率低、细胞纯度不理想),该研究采用磁性柱微流体系统,实现了从母体血液中高通量地分离稀有有核红细胞(NRBCs)。

另一种方法(颗粒磁分选法)是利用包覆靶向特异性细胞膜抗原的磁性颗粒进行分选。可以直接或间接地通过生物素-链霉亲和素偶联介导获得抗体涂层。涂层后,粒子和细胞混合并孵育,在微流控系统中利用磁铁可以快速回收。另一项研究表明,基于细胞的吞噬能力,纳米颗粒被吞噬化后可以分离单核细胞和巨噬细胞。单核细胞和巨噬细胞的吞噬能力差异较大<sup>[2]</sup>。

## 4 利用表面特性进行分选

还有其他利用表面支撑物,如疏水性和化学键分离细胞的例子。为了从血细胞中分离白细胞和红细胞,有研究者<sup>[3]</sup>在微通道中采用了双水相层流的方法,利用不同细胞对于不同细胞溶液的不同疏水性,将聚乙二醇(PEG)等疏水细胞溶液或亲水性细胞的右旋糖酐涂于微通道悬浮的血细胞上,诱导细胞运动。白细胞向 PEG 溶液移动,红细胞向右旋糖酐溶液移动,实现了用不同疏水性溶液分离两亲性细胞的目的。

CTCs 是血液中漂浮的肿瘤细胞,可从原发肿瘤细胞中脱离,引起肿瘤转移。检查患者血液中 CTCs 的数量可以为癌症的诊断提供一个很好的指标。然而,检测 CTCs 的主要问题之一是血液中 CTCs 的数量非常少,转移性疾病患者每毫升全血中仅观察到 1 至 10 个细胞。因此,开发 CTCs 分离技术是细胞分离研究的重要课题之一。为了检测和分离 CTCs,微系统需要具备以下能力:高流速、高分选精度、分离后 CTCs 的高存活率。钱伶俐等<sup>[4]</sup>提出了一种利用微柱的微流体平台。该系统由靶 CTCs 与上皮细胞粘附分子(EpCAM)包覆的微柱在精确控制的层流条

(下转第 137 页)

用于基因工程菌株的改造。

## 参考文献

- [1] Kröger A, Klingenberg M, et al. Further evidence for the pool function of ubiquinone as derived from the inhibition of the electron transport by antimycin[J].The FEBS Journal,1973,39(2):313–323.
- [2] Cluis C P, Ekins A, et al. Identification of bottlenecks in *Escherichia coli* engineered for the production of CoQ10[J].Metab Eng,2011,13(6):733–744.
- [3] Kim S W, Keasling J. Metabolic engineering of the nonmevalonate isopentenyl diphosphate synthesis pathway in *Escherichia coli* enhances lycopene production[J].Biotechnol Bioeng,2001,72(4):408–415.
- [4] Choi J H, Ryu Y W, Park Y C, et al. Synergistic effects of chromosomal *ispB* deletion and *dxs* overexpression on coenzyme Q10 production in recombinant *Escherichia coli* expressing *Agrobacterium tumefaciens dps* gene[J].J Biotechnol,2009,144(1):64–69.
- [5] Zhang D, Shrestha B, Li Z P, et al. Ubiquinone–10 production using *Agrobacterium tumefaciens dps* gene in *Escherichia coli* by coexpression system[J].Mol Biotechnol,2007,35(1):1–14.
- [6] Dixon D D, Boddy C N, Doyle R P. Reinvestigation of coenzyme Q10 isolation from *Sporidiobolus johnsonii*[J].Chem Biodivers,2011,8(6):1033–1051.
- [7] Martínez I, Zhu J, Lin H, et al. Replacing *Escherichia coli* NAD-dependent glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) with a NADP-dependent enzyme from *Clostridium acetobutylicum* facilitates NADPH dependent pathways[J].Metab Eng,2008,10(6):352–359.
- [8] Koo B S, Gong Y J, Kim S Y, et al. Improvement of coenzyme Q10 production by increasing the NADH/NAD<sup>+</sup> ratio in *Agrobacterium tumefaciens*[J].Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry,2010,74(4):895–898.
- [9] Seo M J, Kim S O. Effect of limited oxygen supply on coenzyme Q(10) production and its relation to limited electron transfer and oxidative stress in *Rhizobium radiobacter* T6102[J].J Microbiol Biotechnol,2010,20:346–349.
- [10] Choi J H, Ryu Y W, Seo J H, et al. Biotechnological production and applications of coenzyme Q10[J].Appl Microbiol Biotechnol, 2005,68(1):9–15.

(上接第 134 页)

件下相互作用,无需对样品进行预先标记。通过对流速和剪切力两个参数的控制,优化了细胞–微柱接触和细胞–微柱附着的持续时间。该系统能够从转移性肺癌、前列腺癌、胰腺癌、乳腺癌和结肠癌患者的外周血中鉴别出 CTCs,准确率达 99%。

## 5 结语

本文介绍了 4 种基于物理原理的微米级分离系统及其在生物医学和临床病例中的应用。任何细胞分离系统的重要目标都是实现高精度和高通量的分离。细胞分离微系统的不断发展将为诊断 CTCs 和癌症转移以及分析血液中的其他元素带来新的机遇。因此,应该扩展细胞分选微系统,使其在医学和生物领域得到更广泛的应用。由于开发人员和用户(生物学家和临床医生)之间存在差距,阻碍了微系统向实

际医疗的过渡进程。因此,为了缩小差距,生物学家需要深入了解现有的传统工具及其局限性,并将其与新工具结合起来,更详细地揭示细胞特征,而工程师则需要改进和开发更加简单、直观、用户友好的新工具。

## 参考文献

- [1] 刘大渔,严伟,张琼,等.过滤式微流控芯片上的循环肿瘤细胞分选[J].分子诊断与治疗杂志,2012,4(6):366–370.
- [2] 胡振红.磁性细胞分离技术的原理及研究进展[J].华南国防医学杂志,2001(4):28–31.
- [3] 黄宇石.微流控环隙流双水相蛋白质分离和酶促反应研究[D].成都:西南交通大学,2013.
- [4] 钱伶俐,夏骏,李以贵,等.细胞捕获的微流控芯片及自动化细胞计数方法[J].微纳电子技术,2012,49(9):565–570,576.