



# ISAV2024

چهارمین کنفرانس بین المللی آکوستیک و ارتعاشات  
۲۱ و ۲۲ آذر ماه ۱۴۰۳ کرج - ایران



## تله اندازی خطی سلول های سرطانی با امواج صوتی

مهدی رامه<sup>ا\*</sup>، احسان احدی اخلاقی<sup>ب،ت</sup>، فائقه حاجی زاده<sup>پ،ت</sup>

<sup>ا</sup> ایران، زنجان، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه، دانشکده فیزیک، ۴۵۱۳۷-۶۶۷۳۱، دانشجوی دکتری،

<sup>ب</sup> ایران، زنجان، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه، دانشکده فیزیک، ۴۵۱۳۷-۶۶۷۳۱، دانشیار،

<sup>پ</sup> ایران، زنجان، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه، دانشکده فیزیک، ۴۵۱۳۷-۶۶۷۳۱، استادیار،

<sup>ت</sup> ایران، زنجان، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه، مرکز پژوهشی اپتیک، ۴۵۱۳۷-۶۶۷۳۱.

\* m.rameh@iasbs.ac.ir

### چکیده

مطالعه و بررسی میکروذرات و نمونه های زیستی همیشه مورد توجه بوده است. به همین منظور، کنترل بدون تماس این ذرات و نمونه ها از اهمیت بالایی برخوردار است. مطالعات اخیر نشان داده است که با استفاده از امواج صوتی ایستاده فرکانس بالا، به نام انبرک صوتی، پتانسیل تله اندازی را افزایش داد. در این پژوهش، با طراحی و ساخت یک محفظه تله صوتی، میکروذرات سیلیکا را به صورت خطی تله اندازی شدند. همچنین سلول های سرطانی پستان و سلول های پوستی را در محیط کشت با امواج صوتی ایستاده تله اندازی شدند. نتایج به دست آمده نشان می دهد که با تنظیم دقیق پارامترهای امواج، موقعیت تله اندازی میکروذرات و نمونه های زیستی را تعیین کرد.

**کلمات کلیدی:** امواج صوتی؛ انبرک صوتی؛ سلول سرطانی؛ میکروسکوپ نوری.

## ۱- مقدمه

انبرک صوتی روش علمی است که با نیروی تابش صوتی، ذرات با اندازه‌ی متناسب با طول‌موج صوتی را بدون تماس در فرکانس‌های مختلف می‌تواند ذرات با اندازه‌های مختلف را تله‌اندازی کند. در تله‌اندازی صوتی اندازه ذرات، تراکم‌پذیری و چگالی ذرات و محیط اهمیت دارند. ذرات متراکم نسبت به محیط پیرامون در گره فشار موج صوتی ایستاده تله‌اندازی می‌شوند. با توجه به حساسیت تله صوتی به پارامترهای فیزیکی، این تله قابلیت جداسازی و مرتب کردن ذرات را دارد [۱]. در دهه گذشته، مطالعه و بررسی موجودات زنده میکرونی و زیستی با استفاده از امواج صوتی مورد توجه قرار گرفته است.

تله صوتی برای نمونه‌های زیستی که در تله قرار دارند، اثرات مخرب ناشی از گرما را ندارد و نمونه بعد از تله‌اندازی از نظر بیولوژیکی زنده است. با استفاده از موج صوتی ایستاده، سلول‌های سرطانی پستان با حفظ یکپارچگی، از کلوسیت‌های غیر بدخیم جدا و مرتب شدند [۲]. همچنین، با استفاده از موج صوتی حجمی، نمونه زنده در حالت نگهداری قرار گرفت و عملکرد و پاسخ‌های ضربان قلب و عروق مورد بررسی قرار گرفت [۳]. مطالعات و آزمایشات نشان می‌دهد که انبرک صوتی زیست‌سازگارپذیر است.

در این پژوهش، هدف تله‌اندازی خطی میکروذرات و نمونه‌های زیستی با امواج صوتی ایستاده برای مطالعات میکروسکوپی است، که برای این منظور یک محفظه تله صوتی طراحی و ساخته شد. تله صوتی ساخته شده، قابلیت تله‌اندازی گروهی ذرات به صورت خطی در یک بعد را دارد. با تغییر فرکانس و اختلاف فاز نسبی امواج صوتی، نمونه‌های تله‌اندازی شده را جابه‌جا می‌شوند. قدرت تله با تغییر دامنه موج صوتی تنظیم می‌شود. در این مطالعه، میکروذرات سیلیکا برای بررسی کیفیت تله مورد استفاده قرار گرفتند. ذرات چند میکرونی سیلیکا به صورت خطی در گره فشار صوتی تله‌اندازی شدند. همچنین، سلول‌های سرطانی پستان و سلول‌های پوستی را در محیط کشت در خطوط گره‌ای فشار محدود شدند. اثرات مخرب ناشی از گرما پس از تله‌اندازی صوتی مشاهده نشد و نمونه‌های زیستی از نظر بیولوژیکی زنده ماندند.

## ۲- مبانی نظری

موج ایستاده از برهم‌نهی دو موج رونده که در خلاف یکدیگر با دامنه و فرکانس یکسان منتشر می‌شوند، که در فواصل نصف طول‌موج نقاط شکم و گره به‌ترتیب دارای تغییرات بیشینه و کمینه فشار هستند، تشکیل می‌شود. با توجه به فرکانس داده شده به منبع صوتی و همچنین سرعت صوت در محیط پیرامون، طول موج صوتی متناظر با فرکانس اعمالی با رابطه،  $v_{ac} = \lambda f$ ، محاسبه می‌شود.  $\lambda$  و  $f$  به ترتیب طول‌موج و فرکانس موج صوتی هستند و  $v_{ac}$  سرعت صوت در محیط پیرامون است. اندازه نمونه‌های زیستی و ذراتی که می‌شود توسط موج صوتی تله‌اندازی کرد در حدود طول‌موج صوتی است. با تغییر فرکانس و اختلاف فاز نسبی دو موج، گره‌های فشار و میکروذرات تله‌اندازی شده، جابه‌جا می‌شوند. با تغییر دامنه موج اعمالی، قدرت تله خطی صوتی تنظیم می‌شود.

بیشتر ذراتی که در صوت تله‌اندازی و محدود می‌شوند، ذراتی هستند که از محیط متراکم‌تر هستند. به همین دلیل ذرات در نقاط گره‌ای تله‌اندازی و محدود می‌شوند. امپدانس صوتی پارامتر تعیین‌کننده در تله‌اندازی صوتی،  $Z_{ac} = \rho v_{ac}$  است که  $v_{ac}$  و  $\rho$  به ترتیب سرعت صوت و چگالی جسم است. ذرات و نمونه‌های زیستی زمانی تله‌اندازی می‌شوند که امپدانس صوتی آنها از امپدانس صوتی محیط کمتر باشد. اما با توجه به تراکم نمونه‌های زیستی و ذرات نسبت به محیط پیرامون، امپدانس صوتی اجسام

همیشه از امیدانس صوتی محیط بیشتر است اما فقط در نواحی که فشار صفر است می‌توانیم تله‌اندازی را انجام دهیم. نواحی گره‌ای دارای حداقل دامنه فشاری هستند، بخاطر همین ذرات و نمونه‌های زیستی در خطوط گره‌ای فشار تله‌اندازی می‌شوند [۴].

نسبت شعاع ذراتی که تله‌اندازی شدند به طول موج صوتی کوچک است، در نتیجه در رژیم ریلی نیروها بررسی می‌شوند. در این رژیم، نظریه گورکوف برای محاسبه نیروی گرادیان استفاده می‌شود [۵]. نیروی تابش صوتی برای ذره کروی کوچک با شعاع (a) به صورت گرادیان پتانسیل صوتی تعریف می‌شود [۶].

$$F_{grad} = -\nabla\psi. \quad (1)$$

پتانسیل گورکوف،  $\psi$ ، برابر است با

$$\psi = \frac{4\pi a^3}{3} [f_1 \frac{1}{2} \kappa_0 \langle p_{in}^2 \rangle - f_2 \frac{3}{4} \rho_0 \langle v_{in}^2 \rangle]. \quad (2)$$

در رابطه (۲)،  $p_{in}$  و  $v_{in}$  به ترتیب میدان فشار صوتی و میدان سرعت صوتی هستند.  $\langle \cdot \rangle$  نشان‌دهنده متوسط زمانی است.  $\kappa_0$  تراکم پذیری محیط و  $\rho_0$  چگالی محیط هستند. ضرایب  $f_1 = 1 - \frac{\kappa_P}{\kappa_0}$  و  $f_2 = \frac{2(\rho_P - \rho_0)}{2\rho_P + \rho_0}$  نشان می‌دهد که تله صوتی به پارامترهای فیزیکی سیال و ذره بستگی دارد (زیروند P پارامترهای فیزیکی مربوط به ذره است).

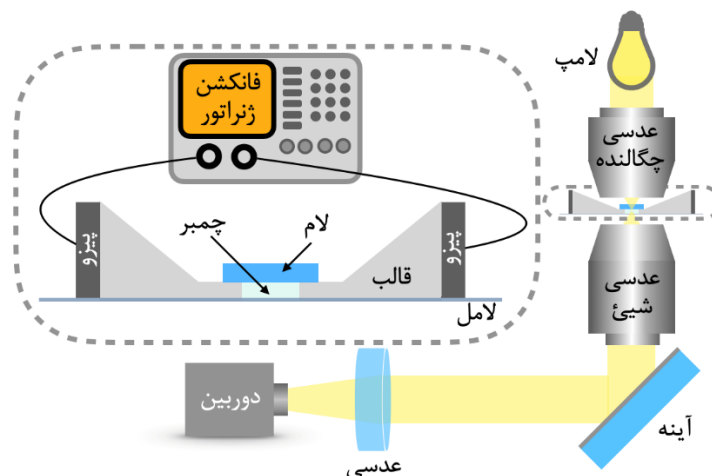
برای حالت ساده میدان صوتی، فشار صوتی موج ایستاده سینوسی یک بعدی،  $p = p_0 \cos(kx) \sin(\omega t)$ ، که فرکانس زاویه  $\omega$  و عدد موج  $k$  است.  $x$  و  $t$  به ترتیب مکان و زمان را نشان می‌دهند، با توجه به روابط (۱) و (۲) نیروی تابش صوتی برای موج ایستاده یک بعدی برابر است با

$$F_{grad} = -4\pi\phi k E a^3 \sin(2kx). \quad (3)$$

در رابطه (۳)،  $E = \frac{p^2}{4\rho_0 c_0^2}$  چگالی انرژی صوتی است ( $c_0$  سرعت صوت در محیط پیرامون است). در رابطه (۳) پارامتر مهمی وجود دارد که وابسته به پارامترهای فیزیکی ذره و محیط پیرامون آن است. این پارامتر ضریب کنتراست صوتی است،

$$\phi = \frac{1}{3} f_1 + \frac{1}{2} f_2. \quad (4)$$

ضریب کنتراست صوتی در تله‌اندازی صوتی نقش اصلی را بازی می‌کند، اگر  $\phi > 0$  باشد، ذرات در گره‌های فشار تله‌اندازی می‌شوند و  $\phi < 0$  ذرات در شکم‌های فشار تله‌اندازی می‌شوند [۶، ۷].



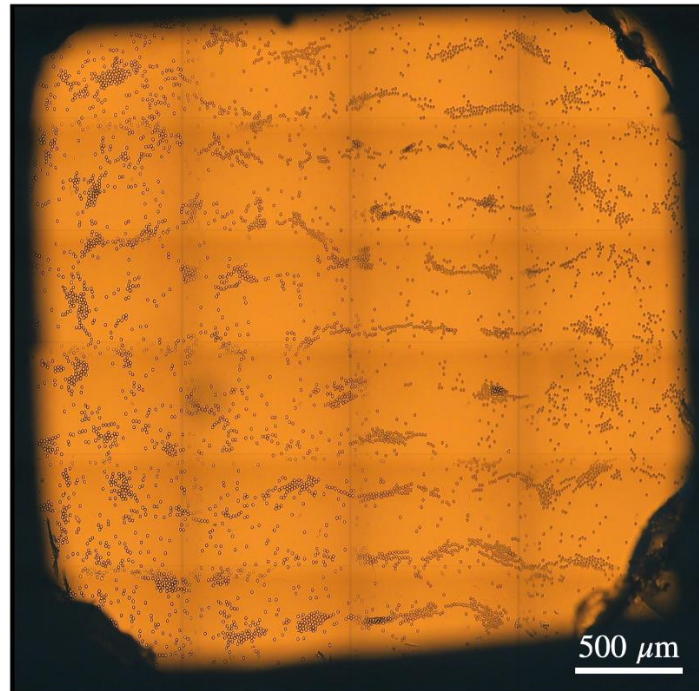
شکل ۱: چیدمان آزمایش: چیدمان میکروسکوپی نوری و دستگاه تله‌اندازی صوتی.

### ۳- مبانی تجربی

برای تله‌اندازی میکروذرات، محفظه تله صوتی را طراحی و ساخته شد [۸]. در این محفظه دو منبع صوتی، پیزوترانسدیوسر، در مقابل یکدیگر قرار دارند و موج ایستاده صوتی تشکیل می‌دهند. قالب آلومینیومی متناسب با اندازه پیزوترانسدیوسرها و اندازه ذرات مناسب برای تله‌اندازی خطی طراحی شده است. پیزوترانسدیوسرها در ابعاد ۵ میلی‌متر در ۵ میلی‌متر در ۷۵۰ میکرون (ضخامت) از خانواده PZT-5A در انتهای هر گوه متصل می‌شوند، استفاده شده است. گوه‌ها به عنوان موج‌بر عمل می‌کنند. موج الکتریکی با فرکانس و دامنه و فاز مشخص را به پیزوها اعمال می‌کند. تمام اتصالات توسط مولتی‌متر بررسی می‌شود. وقتی پیزوها موج صوتی را منتشر می‌کنند، گوه‌ها این موج را انتقال می‌دهند و با توجه به ساختار قالب، موج تخت به چمبر می‌رسد. در وسط این قالب، چمبری با ابعاد ۳ میلی‌متر در ۳ میلی‌متر به ضخامت ۱ میلی‌متر تعبیه شده است. بالا و پایین چمبر به وسیله لامل و لام محصور می‌شود.

میکروذرات به چمبر تزریق می‌شود و به صورت همگن درون چمبر پخش می‌شوند. درون این چمبر موج ایستاده صوتی تشکیل می‌شود. میکروذرات به دلیل نیروی تابش صوتی درون این چمبر در خطوط گره‌ای فشار تله‌اندازی می‌شوند. برای دیدن ذرات و نمونه‌ها در تله صوتی و گره‌های فشار صوتی چیدمان میکروسکوپی تنظیم می‌شود. متناسب با بزرگ‌نمایی مورد نیاز، عدسی شیئی مناسب را استفاده می‌کنیم. تصاویر میکروسکوپی از چمبر توسط آینه و عدسی با دوربین ثبت می‌شود. شکل (۱)، نمایی کلی از چیدمان آزمایش که شامل چیدمان میکروسکوپی و محفظه تله صوتی است را نمایش می‌دهد.

میکروذرات سیلیکا با قطر ۱۵ میکرون درون آب برای مشخص کردن و ارزیابی تله صوتی آزمایش شدند. و سپس سلول‌های سرطانی پستان MDA-MB-۲۳۱ و سلول پوستی Fibroblast در محیط کشت (شامل DMEM, FBS و آنتی‌بیوتیک) مورد آزمایش قرار گرفتند.



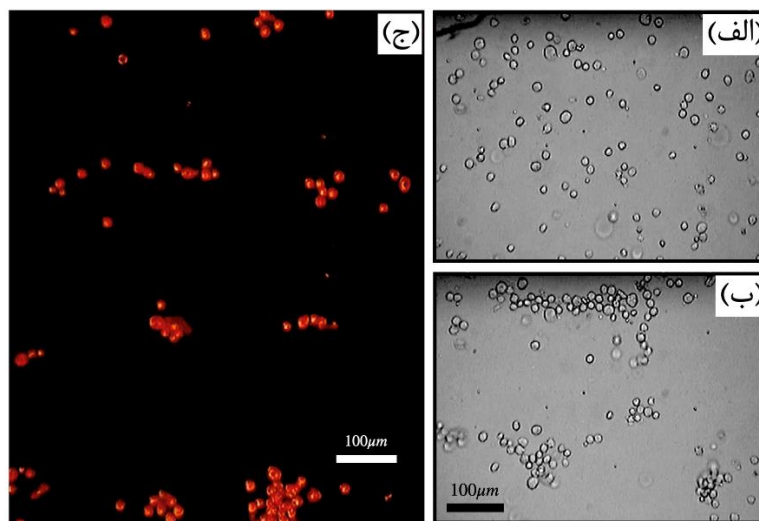
شکل ۲: نمای کلی از چمبر صوتی با چسباندن بیست و چهار عکس میکروسکوپی. امواج صوتی از بالا و پایین منتشر می‌شوند و موج ایستاده در چمبر ایجاد می‌شود. ذرات سیلیکا با قطر ۱۵ میکرون در خطوط گره‌ای فشار صوتی تله‌اندازی شدند.

#### ۴- نتایج و بحث

وقتی به هر دو پیزو که در بالا و پایین مطابق شکل (۲) قرار دارند، توسط تابع موج سینوسی با دامنه ۱۳ ولت قله تا دره در نزدیکی فرکانس تشدید،  $2/8$  مگاهرتز اعمال می‌شود، موج صوتی ایستاده در چمبر تشکیل می‌شود. ناصافی و غیرایده‌ال بودن دیواره چمبر باعث منقطع و نامنظم بودن قدرت تله‌ها می‌شود. در نتیجه فاصله از دیواره‌ها اثرات مرزی را کاهش می‌دهد و تله‌های منظمی را ایجاد می‌شود. ذرات سیلیکا به دلیل اختلاف امپدانس صوتی با محیط پیرامون (آب) در خطوط گره‌ای فشار تله‌اندازی می‌شوند. داده‌های آزمایشگاهی تا زمانی که ذرات در گره قرار دارند و جریان صوتی شروع نشده است، گرفته می‌شود. برای نمایش دادن محل گره‌های فشار در چمبر صوتی، نمای کلی از چمبر وقتی که میکروذرات در گره قرار دارند، تصویربرداری شدند. شکل (۲) نمای کلی از چمبر که از چسباندن بیست و چهار عکس میکروسکوپی را نمایش می‌دهد که ذرات سیلیکا با قطر ۱۵ میکرون به صورت خطی تله‌اندازی شده‌اند. فاصله هر گره تا گره بعدی برابر با نصف طول موج حدود ۲۶۴ میکرون است که با توجه به فرکانس اعمالی و سرعت صوت در آب تطابق خوبی دارد.

سلول‌های سرطانی در چمبر تزریق می‌شوند و قبل از تله صوتی به صورت همگن در چمبر قرار می‌گیرند، شکل (۳) الف) را ملاحظه فرمایید. پس از روشن کردن تله صوتی، سلول‌های زیستی به دلیل تفاوت در امپدانس صوتی نسبت به محیط کشت، در گره‌های فشار صوتی قرار می‌گیرند شکل (۳) ب) را ملاحظه فرمایید. نیروی تابش صوتی، سلول‌های سرطانی را به صورت خطی تله‌اندازی می‌شوند. شکل‌های (۳) الف و ب) به صورت میکروسکوپی میدان روشن تصویربرداری شده است. برای تشخیص بهتر آرایش خطی سلول‌های زیستی به صورت میکروسکوپی تباین فازی تصویربرداری شده است. مطابق شکل (۳) ج)، سلول‌های سرطانی

پستان و سلول پوستی در محیط کشت در خطوط گره‌ای فشار تله‌اندازی شدند. رنگ محیط کشت صورتی است و در تصویربرداری میکروسکوپی تباین فازی، سلول‌های زیستی به رنگ قرمز ثبت می‌شود.



شکل ۳: سلول‌های زیستی در تله خطی صوتی. (الف) تله صوتی خاموش، (ب) تله صوتی روشن. (ج) آرایش خطی سلول‌های زیستی در محیط کشت با امواج صوتی.

## ۵- نتیجه‌گیری

در این پژوهش، میکروذرات و نمونه‌های زیستی به صورت خطی با محفظه تله صوتی که طراحی و ساخته شد، تله‌اندازی و محدود شدند. در تله‌اندازی صوتی اندازه ذرات، تراکم‌پذیری و چگالی ذرات و محیط اهمیت دارد. میکروذرات سیلیکا در آب برای بررسی کیفیت و محل تله صوتی مورد آزمایش قرار گرفتند، که به دلیل متراکم بودن نسبت به محیط پیرامون، در خطوط گره‌ای فشار تله‌اندازی می‌شوند. با تنظیم فرکانس تابع موج سینوسی اعمالی به هر دو پیروزو و ابعاد چمبر، یازده گره فشار صوتی در چمبر تشکیل شد. قدرت تله صوتی با دامنه موج اعمالی تنظیم شد. در این مطالعه، سلول‌های سرطانی پستان و سلول‌های پوستی، را در محیط کشت تله‌اندازی شدند و اثرات مخرب ناشی از گرما پس از تله‌اندازی صوتی مشاهده نشد و نمونه‌های زیستی از نظر بیولوژیکی زنده ماندند. با توجه به هزینه پایین تله صوتی نسبت به روش‌های تله‌اندازی شناخته شده و زیست سازگارپذیری، اهمیت آن را چند برابر می‌کند.

## ۶- سپاس‌گزاری

از همکاری خانم فرزانه فلاحی برای کشت سلول صمیمانه تشکر می‌کنیم.

## ۷- مراجع

- [1]-Dholakia, Kishan, Bruce W. Drinkwater, and Monika Ritsch-Martel. "Comparing acoustic and optical forces for biomedical research." *Nature Reviews Physics* 2.9 (2020): 480-491.

- [2]-Ding, Xiaoyun, et al. "Cell separation using tilted-angle standing surface acoustic waves." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111.36 (2014): 12992-12997.
- [3]-Yang, Z., Cole, K. L., Qiu, Y., Somorjai, I. M., Wijesinghe, P., Nylk, J., ... & Dholakia, K. (2019). Light sheet microscopy with acoustic sample confinement. *Nature communications*, 10(1), 669.
- [4]-Marzo, Asier and Drinkwater, Bruce W. Holographic acoustic tweezers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(1):84–89, 2019.
- [5]-Gor'kov, Lev Petrovich. On the forces acting on a small particle in an acoustical field in an ideal fluid. in *Sov. Phys. Doklady*, vol. 6, pp. 773–775, 1962.
- [6]-Bruus, Henrik. *Acoustofluidics 7: The acoustic radiation force on small particles*. *Lab on a Chip*, 12(6):1014–1021, 2012.
- [7]-Silva, Glauber T, Lopes, José H, Leão-Neto, José P, Nichols, Madeleine K, and Drinkwater, Bruce W. Particle patterning by ultrasonic standing waves in a rectangular cavity. *Physical Review Applied*, 11(5):054044, 2019.
- [8]-Løvmo, Mia Kvåle, et al. "Controlled orientation and sustained rotation of biological samples in a sono-optical microfluidic device." *Lab on a Chip* 21.8 (2021): 1563-1578.