

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «НОВОСИБИРСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ».

Физический факультет

Кафедра общей физики

Насонов Дмитрий Михайлович

КУРСОВАЯ РАБОТА

**Диэлектрофорез в эритроцитах**

Электромагнитный практикум, 2 курс, группа №19302

**Научный руководитель:**

д.т.н. В.М. Генералов  
Оценка научного руководителя

5

«\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

**Преподаватель практикума**

к.т.н. В. Т. Астрелин  
Оценка преподавателя практикума

«\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

**Куратор практикума:**

к.т.н. В.Т. Астрелин  
Итоговая оценка

«\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Новосибирск 2020

## **Аннотация**

Целью работы являлось определение равновесной частоты эритроцитов в электрическом поле. Равновесная частота характеризуется тем, что эритроциты прекращают поступательное движение. Для выполнения поставленной цели решены следующие задачи: собрана установка для диэлектрофореза, состоящая из генератора переменного напряжения, усилителя, осциллографа, микроскопа и электродов. Кроме того, подготовлена клеточная суспензия, раствор 0.3 М сахарозы и цельная кровь. Для нахождения равновесной частоты 10 мкл крови разводили в 0.29 мкл раствора сахарозы. Полученная клеточная суспензия помещалась в межэлектродное пространство, после чего покрывалась покровным стеклом и помещалась под микроскоп. Микроскоп фокусировался на эритроцитах в межэлектродном пространстве, и далее при помощи изменения частоты генератора находилась искомая равновесная частота, на которой отсутствовало поступательное движение, но наблюдалось вращение эритроцитов вокруг своей оси. В процессе поиска равновесной частоты, наблюдались области, так называемого, положительного и отрицательного диэлектрофореза. Наличие таких областей показывает, что в зависимости от частоты поля свойства клетки тоже могут изменяться. Полученные результаты согласуются с приведенными формулами.

Ключевые слова: диэлектрофорез, электрофорез, эритроциты, переменное неоднородное электрическое поле.

## **Оглавление**

<b>1. Введение .....</b>	<b>4</b>
<b>2. Основная теория .....</b>	<b>4</b>
<b>3. Экспериментальная установка.....</b>	<b>6</b>
<b>4. Описание эксперимента .....</b>	<b>7</b>
<b>5. Основные результаты .....</b>	<b>9</b>
<b>6. Выводы .....</b>	<b>10</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ .....</b>	<b>11</b>

## 1. Введение

Исследование клеток – сложный процесс, для которого используется множество методов: масс-спектрометрия, томография, электрофорез, диэлектрофорез и др. Из клеток состоят все животные, растения и микроорганизмы, изучая которые, можно предотвратить развитие различных заболеваний. Понимание того, какие параметры в клетке изменяются и почему они это делают, может помочь в диагностике всевозможных заболеваний на ранних стадиях. В данной работе для исследования клеток используется метод диэлектрофореза.

Известно, что в однородном электрическом поле  $E$  на заряженную частицу с зарядом  $q$  действует сила  $F = q \cdot E$ . Это формула описывает классический метод электрофореза. В результате действия этой силы биочастицы, компоненты электролита приходят в поступательное движение. Таким образом, направление и скорость движения клетки могут дать информацию о ее строении, а также процессах, протекающих внутри нее. Электрофорез применяется во многих областях науки, однако с помощью него невозможно исследовать электронейтральные частицы или быстропротекающие процессы.

## 2. Основная теория

Принципиальное отличие метода диэлектрофореза от электрофореза состоит в том, что для него используется неоднородное переменное электрическое поле (НПЭП)[1]. Это внешнее поле  $E_{вн}$ , приложенное к клетке, поляризует ее. Поле в объеме клетки формирует дипольный момент  $\vec{d}_{кл} = \sum_{i=1}^n Q_i 2\vec{r}_i$ , который складывается из суммы  $n$  элементарных диполей[2]. Поскольку поле в каждой точке пространства неоднородное, то полярные области клетки испытывают на себе действия разных по величине сил:  $F_a = q^+ E_a(r + l)$ ,  $F_b = q^- E_b(r)$ . Тогда суммарная сила, действующая на клетку находится как  $F_{ab} = F_a - F_b$ . С другой стороны на клетку действует сила  $F_{кл} = \vec{d}_{кл} \nabla \vec{E}(\vec{r})$ . Важной характеристикой клетки является вектор поляризуемости  $\vec{P}_{кл} = \frac{\vec{d}_{кл}}{V_{кл}}$ .

Существует несколько видов поляризации: ионная, атомная и ориентационная. Атомная поляризация описывает смещение положения атомов, деформацию электронных орбит в молекуле:

$$\vec{P}_{ат} = \epsilon_0 \chi_{ат} \vec{E}_{ср}. \quad (1)$$

Время ее релаксации составляет  $\tau \sim 10^{-(10 \div 15)}$  с.

Ионная поляризация характеризует относительное изменение расположение ионов в молекуле и (или) в кристалле:

$$\vec{P}_{ион} = \varepsilon_0 \chi_{ион} \vec{E}_{ср}. \quad (2)$$

Она бывает как упругой, так и релаксационной, поскольку в процессе поляризации выделяется тепло. Время ее релаксации  $\tau \sim 10^{-(3 \div 8)} с$ .

Ориентационная поляризация характеризует поворот молекул вдоль силовых линий электрического поля:

$$\vec{P}_{ор} = \varepsilon_0 \chi_{ор} \vec{E}_{ср}. \quad (3)$$

Этот вид поляризации характерен для молекул с постоянным электрическим дипольным моментом. Время ее релаксации  $\tau \sim 10^{(-1 \div +2)} с$ .

В уравнениях (1 – 3) произведение  $\varepsilon_0 \chi$  – объемная поляризуемость  $\alpha$ . Вектор общей поляризации единицы объема клетки является суммой всех перечисленных видов поляризаций:

$$\vec{P}_{кл} = \vec{P}_{ат} + \vec{P}_{ион} + \vec{P}_{ор}. \quad (4)$$

Диэлектрическая проницаемость клетки имеет реальную  $\varepsilon'$  и мнимую  $\varepsilon''$  части:

$$\varepsilon_{кл} = \varepsilon' - i\varepsilon'' \quad (5)$$

В результате в диапазоне частот  $\omega = 0 \div \infty$  она изменяется от  $\varepsilon_0$  до  $\varepsilon_\infty$ . Этот процесс называется диэлектрической дисперсией:

$$\varepsilon = \varepsilon_\infty + \frac{\varepsilon_0 - \varepsilon_\infty}{1 + i\omega\tau_{ор}}, \quad (6)$$

где  $\varepsilon_{0,\infty}$  – диэлектрическая проницаемость на частотах 0 и  $\infty$ ;  $\tau_{ор}$  – время ориентационной релаксации.

Диполи воды уменьшают межмолекулярное взаимодействие между клетками в водной суспензии на величину относительной диэлектрической проницаемости  $\varepsilon$ . В результате вектор поляризации клеток зависит как от их собственных характеристик, так и от диэлектрических свойств окружающей суспензии:

$$\vec{P}_{кл} = (\varepsilon_{кл} - \varepsilon_{ср})\varepsilon_0\vec{E}_{ср}. \quad (7)$$

В НПЭП на диполь действует усредненная по времени сила, которая приводит ее в движение[1]:

$$\langle \vec{F}_{кл} \rangle = \langle 2\pi\varepsilon_{ср}\varepsilon_0r_{кл}^3 \left[ \frac{\varepsilon_{кл} - \varepsilon_{ср}}{\varepsilon_{кл} + 2\varepsilon_{ср}} \right] \nabla \vec{E}_m^2 \rangle, \quad (8)$$

где  $\varepsilon_{ср}$  – диэлектрическая проницаемость среды,  $\varepsilon_{кл}$  – диэлектрическая проницаемость клетки,  $\nabla \vec{E}_m^2$  – градиент квадрата амплитудного значения напряженности поля среды.

На равновесной частоте эритроциты прекращают двигаться поступательно и останавливаются, из-за того, что диэлектрическая проницаемость среды и клетки становятся равными между собой. В результате сила со стороны электрического поля принимает значения равное нулю, см (8). Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- собрать экспериментальную установку,
- приготовить суспензии эритроцитов,
- выполнить эксперимент и найти равновесную частоту.

### 3. Экспериментальная установка

Установка состоит из нескольких частей: генератора сигналов специальной формы Г6-28, усилителя Г3-112/1, осциллографа С1-77, микроскопа Zeiss AxioStar plus, электродов. На рисунке 1 представлена схема установки, которая использовалась в данной работе. С генератора напряжения синусоидальный сигнал, подавался на усилитель и далее на электроды, с готовой суспензией



Рисунок 1 – Схема экспериментальной установки

эритроцитов, и на осциллограф. Объектом изучения являются эритроциты, для изучения которых необходима особая среда – раствор сахарозы 0,3М. После смешения крови и раствора сахарозы клеточная суспензия помещается на электроды.



Рисунок 2 -  
Электроды  
(измерительная  
ячейка)

На рисунке 2 показаны электроды, расстояние между которыми 51 мкм, а их толщина 0,2 мкм. Конфигурация и геометрия электродов выбрана таким образом, чтобы создавать градиент электрического поля. На рисунке 3 представлены фотографии установки, на которой проводились исследования эритроцитов.



Рисунок 2 - Внешний вид экспериментальной установки

#### 4. Описание эксперимента

Тот факт, что клетки могут поляризоваться, означает, что в клетке есть электрические заряды[2]. Для описания протекающих процессов между электродами можно использовать хорошо развитую теорию электрических цепей[3]. В постоянном электрическом поле клетку представляют в виде генератора тока с большим внутренним сопротивлением, которое более чем на порядок превосходит сопротивление среды (электролита). А значит ток, проходящий через клетку, в электрическом поле, определяется величиной сопротивления клетки и не зависит от сопротивления электролита. В переменном электрическом поле клетку представляют как объект, который

имеет как активное, так и реактивное сопротивление. Согласно современным представлениям, эритроцит описывается через неразрывно связанные между собой мембрану и цитоплазму. Эквивалентная мембрана эритроцита может быть представлена в виде параллельного соединения емкости  $C_m$  и сопротивления  $R_m$ . Мембрана образует первый электрический контур клетки, а цитоплазма – второй. Ее эквивалентная электрическая схема имеет тот же вид – параллельное соединение емкости  $C_u$  и сопротивления  $R_u$ . Общее комплексное сопротивление клетки  $Z_{кл}$  с учетом внешней клеточной суспензии:

$$Z_{кл} = \frac{Z_{ср}(Z_m + Z_u)}{Z_{ср} + Z_m + Z_u} \quad (9)$$

В области низких частот  $\omega \sim 10^3 \div 10^5 \text{ Гц}$  для большинства клеток в растворе с высоким удельным сопротивлением выполняются соотношения:  $Z_m \gg Z_u, Z_m \gg Z_{ср}, I_{кл} < I_{ср}$ . В данной частотной области общее комплексное сопротивление клетки (9) принимает вид:

$$Z_{кл} > Z_{ср}.$$

Переменный ток от генератора протекает, в основном, по наружной поверхности клетки и по окружающему ее объему электролита. В области высоких частот (положительного диэлектрофореза) выполняется условия:  $Z_m \ll Z_u, Z_m \ll Z_{ср}, Z_u \ll Z_{ср}, I_{кл} > I_{ср}$ . Комплексное сопротивление мембраны превращается, с электрической точки зрения, в короткозамкнутый элемент. В этой частотной области общее комплексное сопротивление клетки имеет вид:

$$Z_{кл} \sim Z_u \ll Z_{ср}.$$

Равновесная частота одна из важнейших характеристик клетки – она разделяет области положительного и отрицательного диэлектрофореза. Изменения этой частоты проводится следующим образом. Измерительную ячейку фиксируют на подвижный стол микроскопа и подключают к генератору переменного напряжения. В камеру измерительной ячейки вносят клеточную суспензию и накрывают покровным стеклом. Далее микроскоп фокусируется на клетках, которые расположены между электродами. С генератора на электроды измерительной ячейки подается переменное синусоидальное напряжение  $U = (3 \div 10) \text{ В}$ . Далее экспериментальным образом, в ходе изменения частоты

генератора находится равновесная частота, на которой отрицательный диэлектрофорез сменяется положительным.

## 5. Основные результаты

Экспериментально установлено равновесная частота эритроцитов составляла

$$\omega_p = 5 \cdot 10^5 \pm 10\% \text{ Гц}$$

На равновесной частоте отсутствует поступательное движение клеток, но может наблюдаться вращение вокруг собственной оси *рисунок 4*.

В ходе поиска равновесной частоты, также определены диапазоны частот отрицательного и положительного диэлектрофореза.

В области низких частот:

$$\omega = (1-5) \cdot 10^5 \pm 10\% \text{ Гц}$$

эритроциты вытесняются из межэлектродного пространства и выстраиваются вдоль силовых линий электрического поля, *рисунок 5*.

В области высоких частот

$$\omega = (5-10) \cdot 10^5 \pm 10\% \text{ Гц}$$

эритроциты движутся к ближайшему электроду и оседают на его гранях *рисунок 6*.

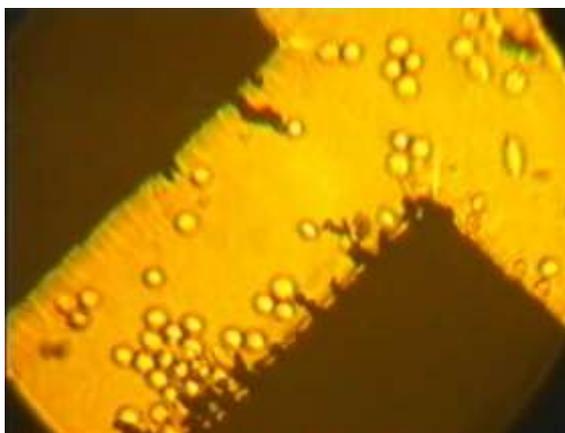


Рисунок 4 – Эритроциты на равновесной частоте  $\omega_p$

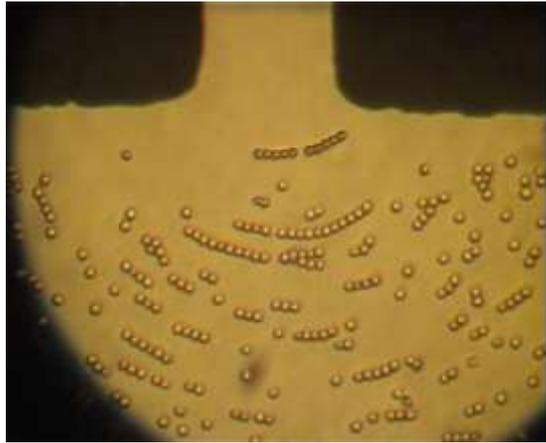


Рисунок 5 – Отрицательный диэлектрофорез

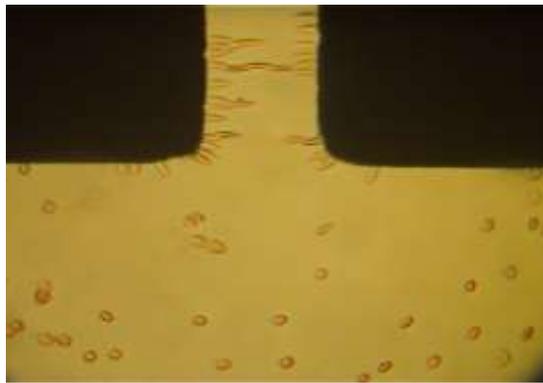


Рисунок 6 – Положительный диэлектрофорез

## 6. Выводы

В ходе выполнения курсовой работы изучен диэлектрофорез как метод исследования клеток крови – эритроцитов. Проанализировано поведение эритроцитов в неоднородном переменном электрическом поле, найдена равновесная частота для эритроцитов. В окрестности равновесной частоты были обнаружены области положительного и отрицательного диэлектрофореза. Наличие таких областей показывает, что в зависимости от частоты поля свойства клетки тоже могут изменяться. Полученные результаты согласуются с приведенными формулами.

## **СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ**

1. Диэлектрофорез в диагностике инфекционных и неинфекционных заболеваний. - Новосибирск: Изд-во "ЦЭРИС", 2011, 172 с.
2. Фейнман Р., Лейтон Р., Сэндс М. Фейнмановские лекции по физике. Электричество и магнетизм. Т. 5. М.: Мир, 1977, 300 с.
3. Сивухин Д.В. Общий Курс Физики Электричество. т. III М.: Наука, 1977, 704 с.