

声场辅助荧光颗粒分选仪以及用于转染细胞筛选的应用研究

刘湘连, 尚国栋, 张传禹, 韦学勇*

(西安交通大学仪器学院, 陕西西安, 710049)

摘要: 生物颗粒分选技术是一种基于其可检测特征从复杂样本中分离特定生物颗粒的技术。这项技术在疾病诊断和治疗、药物开发和评估、食品安全和环境监测等领域有着广泛的应用。在这里, 我们采用了高聚焦行波表面声波与微流控芯片相结合的策略, 解决了生物损伤和生物气溶胶污染的问题, 能够在低电压下实现生物颗粒的高通量分离。构建了一个完整的声荧光激活细胞分选仪 (FACS), 包括荧光检测、分选反馈、FTSAWs 装置和压力控制。为了验证其性能, 我们从非荧光 PS 颗粒中分选荧光 PS 颗粒, 纯度为 $97.44 \pm 1.29\%$, 回收率为 96.15% 。进一步地, 我们使用声荧光激活分选器从初始细胞中筛选转染细胞。从非荧光 SGC-7901 细胞中分选荧光 SGC-7901-GFP 细胞, 纯度为 $91.67 \pm 1.91\%$, 回收率为 95.62% , 分选后细胞的活性为 $97.78 \pm 1.01\%$ 。此外, 我们开发了高度集成的便携式设备, 成本低且体积小。这种设计有效地满足了设备便携性的要求。

关键词: 颗粒分选, 微流控荧光激活细胞分选器 (μ FACS), 转染细胞, 便携式仪器

1 引言

生物颗粒分选技术能够基于其独特特征从复杂样本中分离特定生物颗粒。这些被分离的颗粒包括细胞、病毒、细菌、蛋白质标记物、外泌体等。分选是进行目标生物颗粒的生化和功能分析的关键初步方法。它在分子生物学、病理学、免疫学、植物生物学、干细胞生物学、医学诊断、药物筛选等领域有着广泛的应用。

稳定的哺乳动物细胞转染是几种细胞培养应用中常用的方法, 如基因功能研究、癌症研究和重组蛋白生产。它们不需要重复细胞转染, 因为可能导致细胞群体异质性和转染效率变化, 影响可重复性。此外, 它们更适合于大规模分析[1]。有几种方法可以在初始瞬时转染后筛选稳定转染细胞并获得均质细胞群体。商业上可用的荧光激活细胞分选 (FACS) 仪器已成为检测和分选目标细胞群体的强大工具, 具有卓越的纯度和高通量[2]。尽管其实用性和广泛的适用性, 当前的 FACS 仍存在固有的局限性。首先, 通过小喷嘴

产生的含细胞气溶胶滴可能导致显著的剪切应力，从而引起细胞损伤，并形成生物危害性气溶胶。因此，这给操作者带来了感染和污染的风险[3]。其次，应用于目标细胞的强大电场可能会损伤甚至杀死细胞。此外，庞大的体积、高成本以及对操作人员培训的要求也限制了商业 FACS 仪器在大型集中实验室之外的使用，从而阻碍了它们在资源匮乏环境中的可及性[4]。

通过将微流控技术与主动分选执行器集成，开发了微流控荧光激活细胞分选器 (μ FACS) 以克服上述局限性。对于分选，微流控工作流程通常使用基于荧光、吸收/透射或成像信号的定量读数来推断生物颗粒的特征[5]，以及高速实时数据处理算法，检测“感兴趣颗粒”并使用电动力学、声流动力学或机械方法对它们进行分选[6]。 μ FACS 系统提供了闭环、无气溶胶、芯片上的分选方法，确保最小化细胞损伤，并在处理传染性细胞时消除安全问题[7]。此外，使用一次性芯片可以免除通常由 FACS 机器在每次使用后所需的具有生物危害性的清洁程序[8]。

最近，开发了几种基于微流控的细胞分选方法，包括声波分选[8-10]、介电泳[11-13]、气泡喷射[14]和脉冲激光[15,16]。在这些 μ FACS 中，声流控 FACS 提供了独特的优势，如高可控性、高通量和出色的生物相容性。Jakobsson 等人[17]开发了一种基于体声波 (BAWs) 的 μ FACS，该 μ FACS 通过超声波激活实现基于荧光检测的颗粒二元分选。Huang 的研究小组[18]展示了一种利用驻波表面声波 (SSAWs) 的声流控 FACS 设备，用于分选具有所需生物学特性的荧光标记颗粒/细胞。该设备被证明可以在大约 1200 个事件/秒的通量下从未标记的细胞中分离荧光标记的 HeLa 细胞，纯度达到 $92.3 \pm 3.39\%$ 。SSAWs 只能使细胞偏转到其波长的四分之一，这限制了目标细胞的最大偏移距离，并且分选速度相对较慢。相比之下，行波表面声波 (TSAWs) 由于声辐射力 (ARF) 引起的目标细胞偏移没有固有限制。Ai 的研究小组提出了一系列基于 TSAWs 的声荧光激活细胞分选研究[19-21]。Li 等人[21]开发了一种无鞘层的声荧光激活细胞分选系统，通过结合弹性惯性细胞聚焦和高聚焦 TSAWs 实现了高回收率、纯度和细胞活性。

限制声流控 FACS 在细胞分选中的通量的因素包括声场的低压梯度和难以缩短待分离连续颗粒之间的距离、小的声对比系数和生物颗粒的不明显 ARF 效应。由聚焦叉指换能器 (FIDTs) 产生的高聚焦行波表面声波 (FTSAWs) 可以集中能量在特定位置，以高效和有针对性地驱动颗粒。FTSAWs 已被证明有潜力提高细胞分选效率和准确性[19-21]。在这里，我们采用了 166 MHz 的高频率 FTSAWs 来避免大的和快速的偏移，以实现高效分选。高频率表面声波 (SAWs) 具有更短的波长，允许提高空间分辨率和缩短作用时间。

这使得小尺度颗粒的检测和分选更加准确和高通量[22]。基于 FTSAWs 与微流控芯片结合的 μ FACS 能够在低电压下实现生物颗粒的高通量分离，并有效降低生物气溶胶污染的风险。我们构建了一个声 FACS 仪器，包括荧光检测模块、分选反馈模块、FTSAWs 装置和压力控制模块，可用于从初始细胞中筛选转染细胞以进行大规模分析。此外，我们开发了一种高度集成的便携式设备，具有低成本和小尺寸的优势，可以有效满足设备便携性的需求。

2 原理和设备平台

2.1 分选原理

分选机制和仪器 表面声波 (SAWs) 是一种能量集中在传播表面上的声波。悬浮颗粒在表面声波的作用下，既受到入射声波场的影响，也受到散射声波场的影响，两者的耦合作用对颗粒产生声辐射力效应。对于一个可压缩的固体球形颗粒在无粘性流体中，颗粒所受的声辐射力可以简化为以下公式：

$$F_{ARF} = F_F \pi d^2 E / 4 \quad (1)$$

其中， F_F 是声辐射力因子， d 是颗粒直径， E 是应用的时间平均声能密度。

另一方面，当 SAW 通过衰减介质非线性传播时，会产生声流流动。当悬浮颗粒受到声流流动引起的拖曳力时，拖曳力可以通过斯托克斯方程导出

$$F_D = 3\pi\mu d v \quad (2)$$

其中， μ 、 d 和 v 分别是动态粘度、颗粒直径和相对颗粒速度。

基于 FTSAWs 的分离取决于颗粒上的声辐射力和拖曳力效应。具有不同属性（密度、直径、可压缩性）的悬浮颗粒受到不同的声辐射力和拖曳力，导致不同的侧向迁移距离以实现分离。基于 FTSAWs 的 μ FACS 的分选原理如图 1 所示。

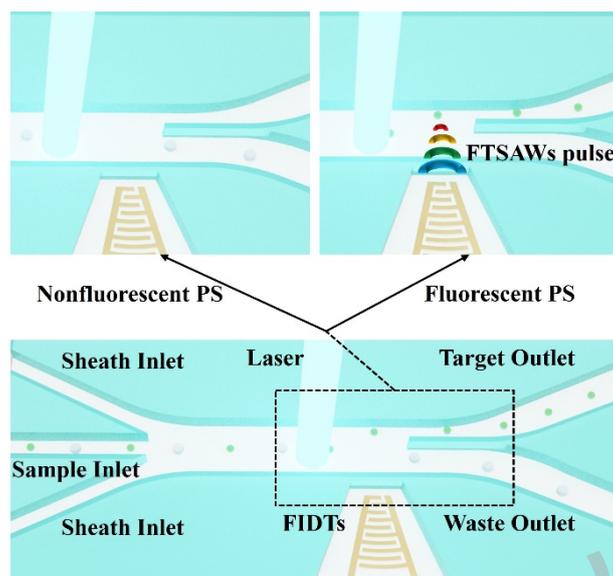


图 1 FTSAWs 基于 μ FACS 的分选过程示意图

被注入芯片的细胞首先通过两个鞘流被排列成一行。然后细胞通过检测区并被激光一一激发。根据检测到的荧光信号，射频（RF）信号被应用于 FTSAWs 装置。当一个非荧光细胞通过检测区时，FTSAWs 装置不会被触发以产生 FTSAWs 束。在没有 FTSAWs 束的情况下，细胞将由于较低的流动阻力而流入废液出口。当一个荧光细胞通过检测区时，荧光信号将被激发，发射的光被传输到光电倍增管（PMT），该管将接收到的光强度转换为电信号。每个来自 PMT 的电脉冲信号超过阈值时，就会触发直接数字频率合成（DDS）芯片 AD9910 输出表面声波共振的正弦信号，根据 STM32 设置的频率和幅度。由于信号不足以驱动 FTSAWs 装置，因此采用了两级射频功率放大器电路来放大交流信号。放大后的信号被瞬间应用于 FTSAWs 装置进行细胞分选。

分选平台如图 2 所示。为了构建图 2a 中显示的全功能声 FACS 仪器，微加工的 FTSAWs 装置与荧光检测设置和分选反馈系统集成在一起。如图 2b 所示，声 FACS 仪器由荧光检测模块、分选反馈模块、FTSAWs 装置和压力控制模块组成。对于荧光检测模块，激光光（60 mW 在 488 nm，Thorlabs Inc., Newton, NJ）通过荧光灯室引入到倒置显微镜（ECLIPSE Ti-S, Nikon, Japan）。20 \times 物镜将激光束聚焦到 FTSAWs 装置检测区大约 100 μ m 直径的斑点上。发射的荧光信号通过相同的光学路径通过二色镜传输到 PMT，PMT 装有一个 525 \pm 10 nm 的带通滤光片，只允许这些波长的荧光光到达 PMT 进行测量。

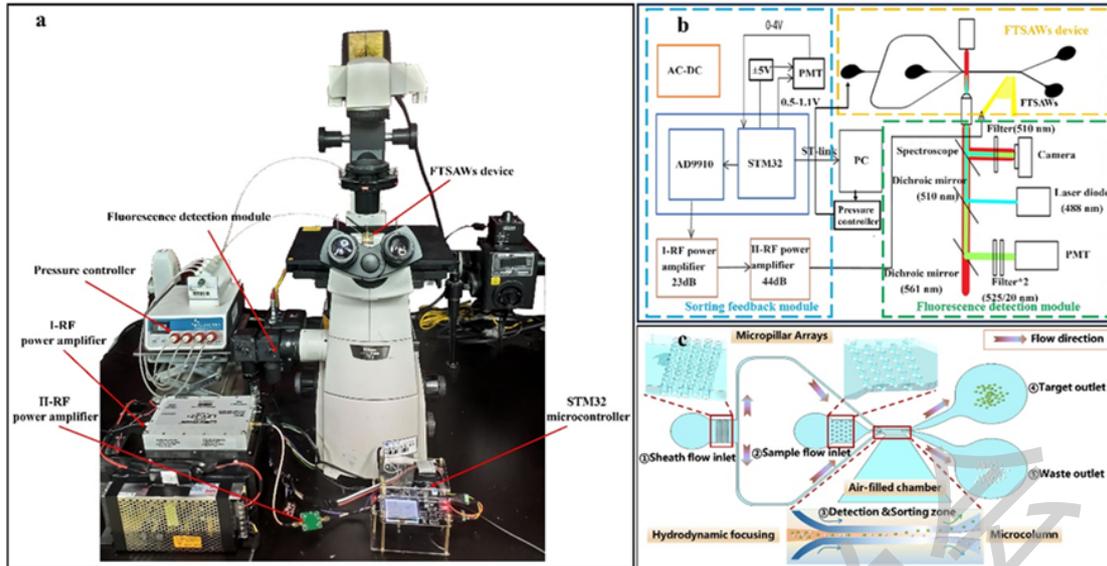


图 2 FTSAWs 基于 μ FACS 的分选仪器示意图。a. FTSAWs 基于 μ FACS 的分选仪器照片；b. 仪器的块图；c. FTSAWs 装置的微流控结构设计图

分选反馈模块由 STM32 微控制器、DDS 信号发生器模块、功率放大器和电压转换模块组成。分选反馈模块接收荧光检测模块输出的荧光电压信号，首先通过电压分压电阻将 0-4 V 的电压信号调整到 STM32 微控制器可以接收的 0-3.3 V 的电压范围，并通过 STM32 内置的 ADC 将收集到的电压信号转换为数字级别。当荧光信号超过设定阈值时，直接数字频率合成 (DDS) 芯片 AD9910 被触发，根据 STM32 设置的频率和幅度输出表面声波共振的正弦信号。由于信号不足以驱动 FTSAWs 装置，因此采用了两级射频功率放大器电路来放大交流信号。放大后的信号被瞬间应用于 FTSAWs 装置进行细胞分选。

压力控制模块是从法国 Fluigent 公司购买的 4 路气压控制器。使用外部氮气瓶将氮气引入压力控制器，压力由计算机上的控制软件精确控制，范围从 0 到 1000 mbar。样本通过压力控制模块被输送到微流控芯片中。

如图 2c 所示，FTSAWs 装置的微流控芯片结构设计得很好，以满足分选要求。首先，微流控芯片有两个入口，即样本流入口和鞘流入口。鞘流通道分为两部分，中间的样本流被挤压以实现水平聚焦。通过调整鞘流和样本流之间的流量比，可以将样本流聚焦到通道中间的宽度。其次，入口处放置了微柱阵列以防止通道堵塞。第三，入口通道长而窄，与短而宽的出口部分形成对比。通过这种方式，整个通道的流动阻力主要集中在分选前的区域，可以有效防止聚焦流反向流回入口通道。最后，由于基底界面主要占 SAWs 衰减，且衰减长度与声波波长成反比[23]，我们将 FIDTs 封闭在充满空气的腔室中，只有 50 μ m 宽的 PDMS 壁将这个区域与充满液体的通道分隔开来。

2.2 FTSAWs 装置设计与制造

为了实现特定的分选要求，使用聚焦叉指换能器（FIDTs）来产生 FTSAWs 束。FTSAWs 束具有更高的声能密度和更小的作用范围，可以减少颗粒分离时的错误分选率。设计的频率决定了 SAWs 在微流控内部的衰减率、流动的驱动能力和作用在微粒上的 ARF 强度。随着频率的增加，声能的聚焦范围缩小，ARF 增加。但频率过高也会增加声能在小范围内的衰减速率，过高的频率会使声场范围过窄并在小尺度上迅速衰减。

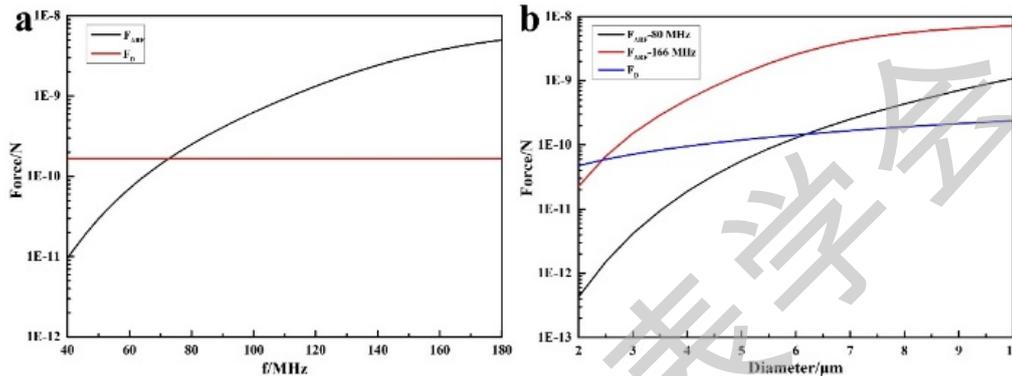


图3 流场中颗粒的力分析。a. 在不同频率下作用于 7 μ m PS 颗粒的 FARF 和 FD；b. 在 80 MHz 和 166 MHz SAWs 下作用于不同大小 PS 颗粒的 FARF 和 FD

根据公式 (1)，ARF 与声辐射因子 FF 成正比，这取决于颗粒的密度、声速和大小。Ma 等人[24]进行了理论分析，发现相同大小的聚苯乙烯颗粒上的 ARF 比生物细胞大三倍。因此，我们选择 7 μ m 聚苯乙烯 (PS) 颗粒来模拟分选过程中的 20 μ m 细胞。图 3 中计算并显示了在不同频率下作用于 PS 颗粒的 FARF 和 FD。如图 3a 所示，对于流场中 7 μ m PS 颗粒的操作，SAWs 的频率需要大于 80 MHz。综合考虑声辐射力和声能衰减，采用了高频率的 166 MHz FTSAWs。图 3b 显示了在 80 MHz 和 166 MHz 下作用于不同大小 PS 颗粒的 FARF 和 FD 的比较。166 MHz 的临界颗粒大小为 2.5 μ m，远小于 80 MHz 的一个，表明 166 MHz SAWs 的设计可以实现更大范围的颗粒分离。

在 FTSAWs 装置设计中，我们需要考虑的主要结构参数是孔径、每个电极手指的宽度和节距、聚焦角度和手指对数 (N)。通常，线性电极手指的宽度和节距的大小被设计为相同的值。我们的 FTSAWs 装置中的 FIDTs 有 40 对聚焦电极，聚焦角度为 26°，声学孔径为 100 μ m。设计宽度和节距的每个电极为 6 μ m，对应于 24 μ m 的 FTSAWs 波长和 166 MHz 的频率。

FTSAWs 装置是通过标准的软光刻和模具复制技术制造的。在透明的 128° Y 切割铌酸锂 (LiNbO₃) 基底上，通过标准光刻技术在光刻胶 (EPG535, Everlight Chemical, 台

湾)上进行图案化,然后在基底上通过电子束蒸发(TF500, HHV, 英国)沉积金属层(Cr/Au, 50/200 nm),最后使用剥离技术获得目标 FIDTs。微通道模具是在硅晶片上使用 SU8 光刻胶制造的。PDMS 与固化剂以 10:1 的比例混合,并倒入微通道模具中。在 85°C 下固化 4 小时后,PDMS 微通道从模具中剥离并切割成适当的尺寸。最后,为了完成 FTSAWs 装置的制造,PDMS 微通道在等离子体处理后与基底对齐并粘合。

2.3 样本准备和分选

对于颗粒分选,将 1:1 (v/v) 的 7 μm 荧光 PS 颗粒(天津优尼科科学有限公司)与非荧光 PS 颗粒(天津优尼科科学有限公司)混合,并用含有 0.25% Tween-20 的磷酸盐缓冲溶液(PBS)稀释,以调整最终浓度为 1×10^6 颗粒/ml。

对于细胞分选,两种人类胃癌细胞系 SGC-7901 和 SGC-7901-GFP 由第四军医大学提供,并在含有 10%胎牛血清(FBS)和包括 1%青霉素和链霉素的抗生素的 Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI 1640)中维持,在 37°C 的 5% (v/v) CO₂ 孵化器中。每 2~3 天更换一次培养基,当细胞达到 65~80%融合时传代。SGC-7901-GFP 细胞系是 SGC-7901 细胞系转染了绿色荧光蛋白基因。将 SGC-7901 细胞和 SGC-7901-GFP 细胞的 1:1 (v/v) 混合物调整到总浓度为 1×10^6 细胞/ml。

为了进行分选,PBS 含有 0.25% Tween-20 和准备好的样品溶液分别注入鞘流和样本入口。当细胞通过检测区和分选区时,脉冲 TSAWs 束被激活以分选出目标荧光颗粒/细胞。当荧光颗粒/细胞通过检测区时,它从样本流转移到鞘流,并通过目标出口排出,而不是未分选的非荧光颗粒/细胞,它们通过废液出口排出。分选前后的样本通过激光扫描共聚焦显微镜(LSCM)观察,PS 颗粒或细胞通过 Image J 软件计数。计算纯度和回收率以评估分选效率。样本纯度定义为[17]

$$\text{纯度} = \frac{\text{目标出口荧光细胞或颗粒数}}{\text{总的细胞或颗粒数}} \times 100\% \quad (3)$$

回收率定义为[17]

$$\text{回收率} = \left(1 - \frac{\text{废料出口纯度}(\%)}{\text{初始纯度}(\%)}\right) \times 100\% \quad (4)$$

为了评估基于 FTSAWs 的 μFACS 的生物相容性,通过台盼蓝排除试验评估了分选前后细胞的活性。收集的细胞与 0.04%台盼蓝溶液一起孵化,使用血细胞计数器在 3 分钟内计数活细胞/死细胞。死细胞被染成鲜明的蓝色,而活细胞由于其完整的细胞膜,能

够阻止台盼蓝染料进入细胞，因此活细胞不染色。死细胞被观察为明显的蓝色，而活细胞被观察为无色。细胞存活率定义为

$$\text{存活率} = \frac{\text{活细胞数}}{\text{总的细胞数}} \times 100\% \quad (5)$$

3 实验结果和分析

3.1 样本的层流聚焦

在分选过程之前，需要有效地聚焦样本流，以确保目标细胞和颗粒的微弱荧光能被 PMT 检测到，然后通过声辐射力偏转到目标出口，而非荧光细胞和颗粒则保持在原始流线上流向废液出口。

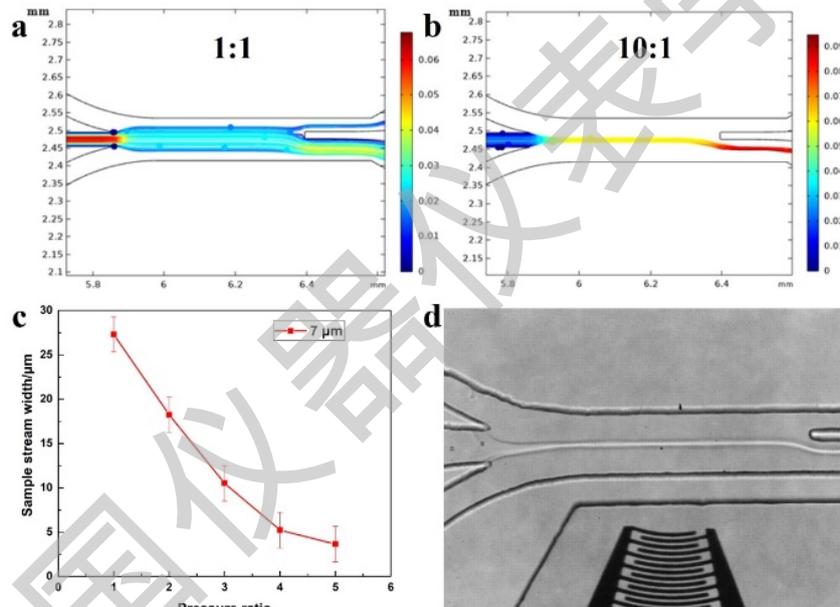


图 4 微通道中样品流的流体动力聚焦：a. 当鞘流入口和样本入口的压力比为 1:1 时，COMSOL 模拟微通道中颗粒轨迹；b. 当鞘流入口和样本入口的压力比为 10:1 时，COMSOL 模拟微通道中颗粒轨迹；c. 聚焦样本流宽度与鞘流入口和样本入口压力比之间的关系实验图；d. 当压力比增加到 5:1 时，流体动力聚焦过程的实验图

为了表征微通道中聚焦样本流的形成过程，进行了基于有限元方法的模拟。如图 4a 和 4b 所示，当鞘流入口和样本入口的压力比为 1:1 时，样本流宽度大于入口宽度，没有聚焦效果。当压力比为 10:1 时，样本流宽度可以很好地聚焦到 10 μm，颗粒单独排列，所有颗粒轨迹流出废液出口。进行了流体动力学聚焦实验以验证模拟结果，图 4c 显示，聚焦样本流的宽度与鞘流入口和样本入口的压力比呈负相关，当压力比增加到 5:1 时，

宽度缩小到 5 μm 。图 4d 是压力比增加到 5:1 时流体动力学聚焦过程的实验图。样本流宽度被聚焦，所有颗粒轨迹流出废液出口，这与图 4b 中显示的模拟结果一致。

3.2 颗粒分选效果

在我们的声荧光激活细胞分选仪中，以 50 mbar:10mbar 的压力比进行 7 μm 荧光聚苯乙烯 (PS) 颗粒与非荧光 PS 颗粒的分选。在分选过程中，实现了约 1280 个颗粒/秒的流量，同时从目标和废液出口收集样本。分选过程的实验图像列在图 5a 和 5b 中。图 5a 显示了检测到荧光信号时的颗粒轨迹。一个荧光颗粒被检测到并被 TSAWs 束推向最大距离。然后，荧光颗粒沿着上层鞘流向前移动到目标出口，而随后的非荧光颗粒通过了检测区，并随着聚焦的样本流流出到废液出口。图 5b 显示了没有荧光信号时的轨迹，所有颗粒都流出到废液出口。使用跟踪软件追踪了水平面上 7 μm 荧光 PS 颗粒的位置和速度。如图 5c 所示，当射频信号输出的脉冲时间设置为 1 毫秒时，颗粒的平均偏移距离约为 50 微米。触发聚焦 TSAWs 束后颗粒的速度被计算并显示在图 5d 中。由于声辐射力 (FARF) 的作用，横向平移速度 (v_y) 在 2.3 毫秒时加速到大约 30 毫米/秒，然后在 3 毫秒时减速到 0 毫米/秒。流动方向上的速度 (v_x) 因拖曳力 (FD) 而减速到慢速。

分选前后的样本通过激光扫描共聚焦显微镜 (LSCM) 观察，照片显示在图 6 中。使用 Image J 软件计数 PS 颗粒，以计算纯度和回收率。与初始样本中荧光 PS 颗粒的纯度 $20.54 \pm 2.33\%$ 相比，目标出口收集的样本分析显示荧光 PS 颗粒的纯度为 $97.44 \pm 1.29\%$ 。废液出口包含 $99.21 \pm 0.55\%$ 的非荧光 PS 颗粒和 $0.79 \pm 0.55\%$ 的荧光 PS 颗粒。分选过程的回收率计算为荧光 PS 颗粒的 96.15% 和非荧光 PS 颗粒的 96.78%。

3.3 转录细胞分选效果分析

基于 TSAWs 的 μFACS 的性能也通过从 SGC-7901 细胞中分选 SGC-7901-GFP 细胞进行了测试。分选前后的细胞通过激光扫描共聚焦显微镜 (LSCM) 观察，照片显示在图 7 中。使用 Image J 软件计数细胞，以计算纯度和回收率。与初始样本中 SGC-7901-GFP 细胞的纯度 $48.4 \pm 2.12\%$ 相比，目标出口收集的样本分析显示 SGC-7901-GFP 细胞的纯度为 $91.67 \pm 1.91\%$ 。废液出口包含 $97.88 \pm 1.1\%$ 的 SGC-7901 细胞和 $2.12 \pm 1.1\%$ 的 SGC-7901-GFP 细胞。分选过程的回收率计算为 SGC-7901-GFP 细胞的 95.62% 和 SGC-7901 细胞的 83.86%。SGC-7901 细胞回收率较低可能归因于 SGC-7901-GFP 细胞的高密度，这导致了 TSAWs 束的频繁激发。

为了评估基于 TSAWs 的 μ FACS 的生物相容性，通过台盼蓝排除试验评估了分选前后细胞的活性。台盼蓝排除试验区分死细胞和活细胞的原理是利用细胞膜的选择性通透性。活细胞的膜对物质的进出是有选择性的，可以阻止台盼蓝染料进入细胞，因此活细胞不会被染色。当细胞死亡时，细胞膜的选择性通透性丧失，通透性增加。然后台盼蓝染料可以穿过细胞膜进入细胞，与分解的 DNA 结合，使其被染成蓝色。死细胞被观察为明显的蓝色，而活细胞被观察为无色。如图 8 所示，与分选前的细胞相比，分选后的细胞活性略有下降，维持在 $97.78 \pm 1.01\%$ 。结果表明，基于 TSAW 的 μ FACS 中的分选过程没有损害细胞完整性。由于其良好的生物相容性，与商业 FACS 系统相比，它在分选敏感细胞类型方面显示出巨大的潜力和能力。

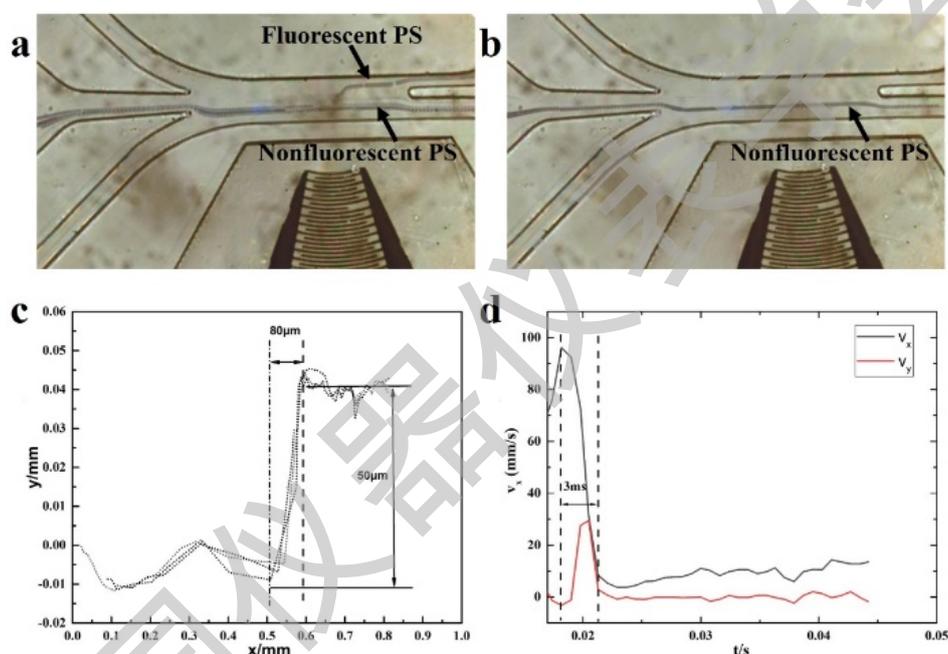


图 5 PS 颗粒的分选实验：a. 荧光 PS 颗粒轨迹的实验图；b. 非荧光 PS 颗粒轨迹的实验图；c. 7 μ m 荧光 PS 颗粒在水平面上的轨迹；d. 触发聚焦 TSAWs 束后颗粒速度。

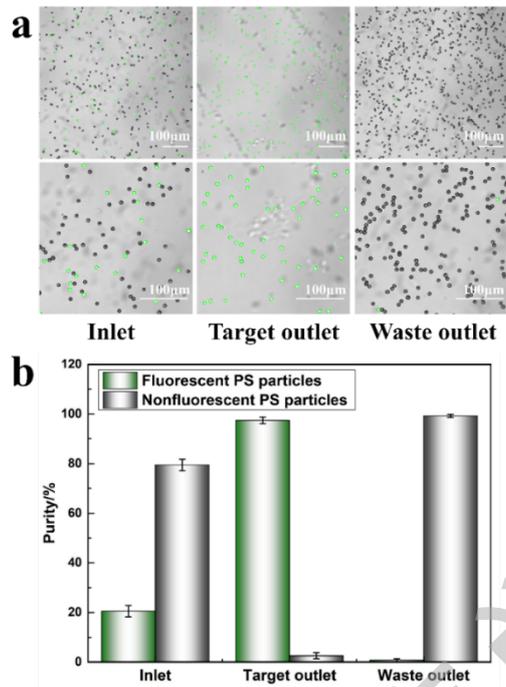


图 6 分选前后样本的激光扫描共聚焦显微镜(LSCM)照片：a. 在 488 nm 下分选前后样本的 LSCM 照片；b. 分选前后样本中 PS 颗粒的纯度

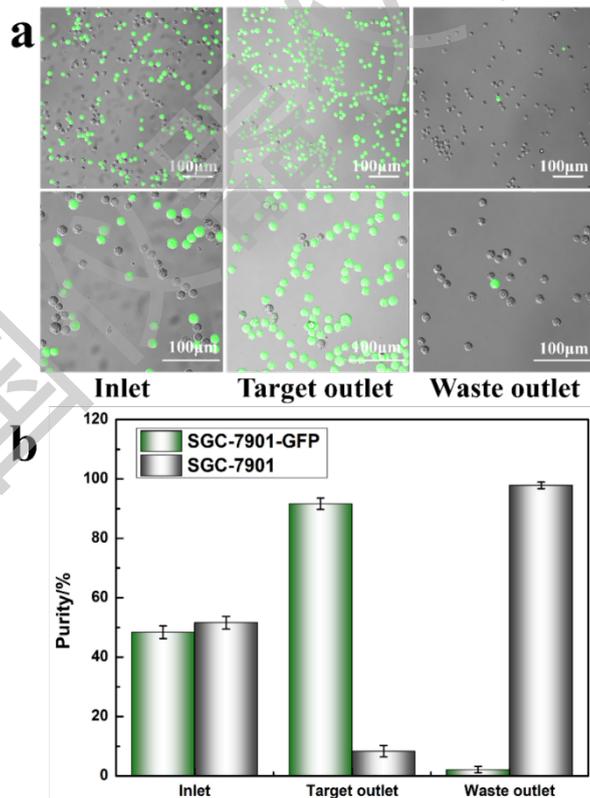


图 7 SGC-7901-GFP 细胞与 SGC-7901 细胞的分选：a. 在 488 nm 下分选前后细胞的 LSCM 照片；b. 分选前后细胞的纯度

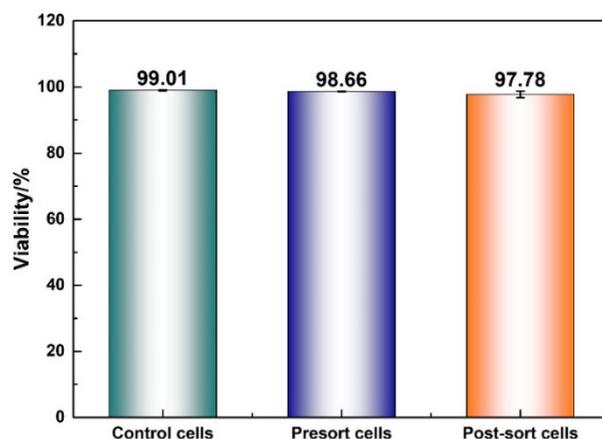


图 8 分选前后细胞的活性

4 便携式仪器开发

我们构建并验证的全功能声 FACS 仪器能够在低电压下实现生物颗粒的高通量分离，并有效降低生物气溶胶污染的风险。但是，仪器的尺寸仍然过大，无法满足便携式需求。因此，我们进一步优化了模块，并开发了高度集成的便携式设备。通过用高度集成的设备替换占用空间的组件来缩小模块尺寸。触摸屏、液体储存室、输出功率放大器和压力控制模块被安排在仪器的前室。同时，集成的荧光显微镜、检测控制模块和隔膜泵被放置在仪器的后室，如图 9 所示。构建的便携式仪器体积相当于一个打开的笔记本电脑，尺寸为 35 cm×32 cm×21 cm。



图 9 构建的便携式仪器

5 结论

在这项工作中，我们采用了高聚焦行波表面声波与微流控芯片相结合的策略，解决了生物损伤和生物气溶胶污染的问题，能够在低电压下实现生物颗粒的高通量分离。我们构建了一个全功能的声 FACS 仪器，包括荧光检测模块、分选反馈模块、FTSAWs 装置和压力控制模块。为了验证仪器的分选性能，我们从非荧光 PS 颗粒中分选荧光 PS 颗

粒，纯度为 $97.44 \pm 1.29\%$ ，回收率为 96.15% 。进一步地，我们使用声荧光激活分选器从初始细胞中筛选转染细胞。从非荧光 SGC-7901 细胞中分选荧光 SGC-7901-GFP 细胞，纯度为 $91.67 \pm 1.91\%$ ，回收率为 95.62% ，分选后细胞的活性为 $97.78 \pm 1.01\%$ 。我们进一步优化了声 FACS 仪器的模块，并开发了高度集成的便携式设备。尽管目前的 FTSAWs 基于 μ FACS 系统的通量仍低于商业 FACS 系统，但良好的生物相容性使其在分选敏感细胞类型方面具有巨大的潜力和能力。

参考文献：

- [1] E. Mazurkiewicz, E. Mrowczynska, A. J. Mazur, *J Vis Exp*, 2022, DOI: 10.3791/63371.
- [2] K. Takahashi, A. Hattori, I. Suzuki, T. Ichiki, K. Yasuda, *J Nanobiotechnology*, 2004, 2, 5.
- [3] K. L. Holmes, B. Fontes, P. Hogarth, R. Konz, S. Monard, C. H. Pletcher Jr., R. B. Wadley, I. Schmid, S. P. Perfetto, *Cytometry A*, 2014, 85, 434-453.
- [4] S. Wang, F. Inci, G. De Libero, A. Singhal, U. Demirci, *Biotechnol Adv*, 2013, 31, 438-449.
- [5] Y. Zhu, Q. Fang, *Anal Chim Acta*, 2013, 787, 24-35.
- [6] H. D. Xi, H. Zheng, W. Guo, A. M. Ganan-Calvo, Y. Ai, C. W. Tsao, J. Zhou, W. Li, Y. Huang, N. T. Nguyen, S. H. Tan, *Lab Chip*, 2017, 17, 751-771.
- [7] C. W. t. Shields, C. D. Reyes, G. P. Lopez, *Lab Chip*, 2015, 15, 1230-1249.
- [8] W. L. Ung, K. Mutaopoulos, P. Spink, R. W. Rambach, T. Franke, D. A. Weitz, *Lab Chip*, 2017, 17, 4059-4069.
- [9] K. Mutaopoulos, P. Spink, C. D. Lofstrom, P. J. Lu, H. Lu, J. C. Sharpe, T. Franke, D. A. Weitz, *Lab Chip*, 2019, 19, 2435-2443.
- [10] L. Ren, Y. Chen, P. Li, Z. Mao, P. H. Huang, J. Rufo, F. Guo, L. Wang, J. P. McCoy, S. J. Levine, T. J. Huang, *Lab Chip*, 2015, 15, 3870-3879.
- [11] Y. Li, C. Dalton, H. J. Crabtree, G. Nilsson, K. V. Kaler, *Lab Chip*, 2007, 7, 239-248.
- [12] K. Zhao, Larasati, B. P. Duncker, D. Li, *Anal Chem*, 2019, 91, 6304-6314.
- [13] S. A. Faraghat, H. O. Fatoyinbo, K. F. Hoettges, M. P. Hughes, *Electrophoresis*, 2023, 44, 947-955.

- [14] K. de Wijs, C. Liu, A. Dusa, D. Vercruyssen, B. Majeed, D. S. Tezcan, K. Blaszkiewicz, J. Loo, L. Lagae, *Lab Chip*, 2017, 17, 1287-1296.
- [15] T. H. Wu, Y. Chen, S. Y. Park, J. Hong, T. Teslaa, J. F. Zhong, D. Di Carlo, M. A. Teitell, P. Y. Chiou, *Lab Chip*, 2012, 12, 1378-1383.
- [16] Y. Chen, T. H. Wu, Y. C. Kung, M. A. Teitell, P. Y. Chiou, *Analyst*, 2013, 138, 7308-7315.
- [17] O. Jakobsson, C. Grenvall, M. Nordin, M. Evander, T. Laurell, *Lab Chip*, 2014, 14, 1943-1950.
- [18] A. A. Nawaz, Y. Chen, N. Nama, R. H. Nissly, L. Ren, A. Ozcelik, L. Wang, J. P. McCoy, S. J. Levine, T. J. Huang, *Anal Chem*, 2015, 87, 12051-12058.
- [19] D. J. Collins, A. Neild, Y. Ai, *Lab Chip*, 2016, 16, 471-479.
- [20] P. X. Li, Z. C. Ma, Y. N. Zhou, D. J. Collins, Z. F. Wang, Y. Ai, *Analytical Chemistry*, 2019, 91, 9970-9977.
- [21] P. Li, M. Liang, X. Lu, J. J. M. Chow, C. J. A. Ramachandra, Y. Ai, *Anal Chem*, 2019, 91, 15425-15435.
- [22] P. Juliano, M. A. Augustin, X. Q. Xu, R. Mawson, K. Knoerzer, *Ultrasonics Sonochemistry*, 2017, 35, 577-590.
- [23] S. M. Langelier, L. Y. Yeo, J. Friend, *Lab Chip*, 2012, 12, 2970-2976.
- [24] Z. C. Ma, Y. N. Zhou, D. J. Collins, Y. Ai, *Lab on a Chip*, 2017, 17, 3176-3185.