

Magnetoforeza z wykorzystaniem strukturyzowanych układów z prostą anizotropią magnetyczną

M. Urbaniak

PLAN

1. Układy typu „lab-on-a-chip”
2. Magnetoforeza
3. Podłoża Co/Au z prostopadłą anizotropią magnetyczną
4. Wyniki eksperymentalne i symulacje magnetoforezy
5. Podsumowanie

LITERATURA

1. K. Reinhart, M. Bauer, N. C. Riedemann, Ch. S. Hartog, Clinical Microbiology Reviews **25**, 609 (2012)
2. D. Pogocki, Zeszyty Naukowe WSKFiT **10**, 25 (2015)
3. A. Dance, Nature **545**, 511 (2017)
4. I. Šafařík, M. Šafaříková, Journal of Chromatography B **722**, 33 (1999)
5. N. Pamme, Lab Chip **6**, 24 (2006)
6. P.W. Kuchel et al., Concepts in Magnetic Resonance Part A **18A**, 56 (2003)
7. A. Munaz, M. J. A. Shiddiky, N-T Nguyen, Biomicrofluidics **12**, 031501 (2018)
8. M. Urbaniak, D. Holzinger, A. Ehresmann, F. Stobiecki, Biomicrofluidics **12**, 044117 (2018)

Niebezpieczeństwo czyha w ...



Schwerpunktbericht Abweichung

Quelle: AUVA, Abteilung Statistik

Arbeitsunfälle, Abweichung, Gegenstand der Abweichung - Gebäude, bauliche Einrichtungen, Arbeitsbereiche in der Höhe (innen od. außen) - Sturz, Absturz - 2017

Auswertungen
erhalten Sie über
HST@auva.at

	Sturz, Absturz	Absturz einer Person (z.B. von Leitern, Gerüsten, Dächern)	Sturz einer Person (einschl. Ausgleiten)	sonst. Stürze v. Personen
Gebäude, bauliche Einrichtungen, Arbeitsbereiche in der Höhe (innen od. außen)	6.004	5.479	494	31
Treppe	3.125	2.798	309	18
Leiter, Trittleiter	1.888	1.853	28	7
Gerüst (außer Fahrgerüst)	344	313	30	1
Lade- oder Entladerampe	164	128	34	2

wypadki na schodach: 3125

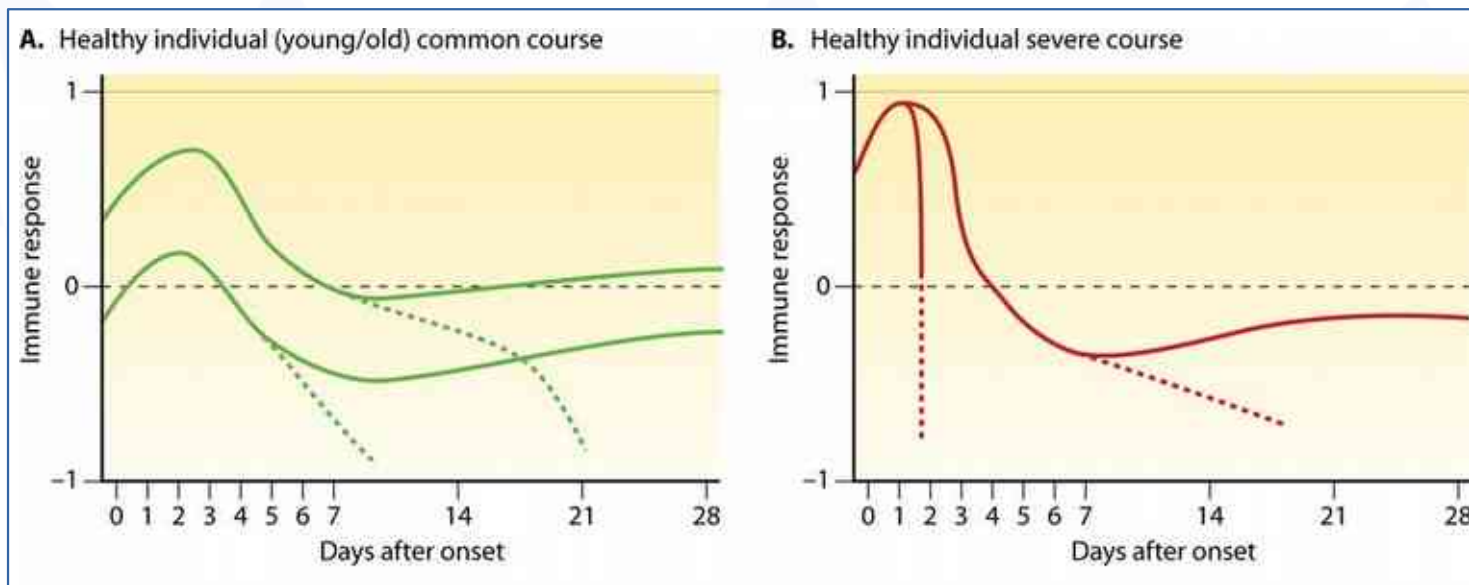
wypadki ogółem: 6004

- wypadki związane z chodzeniem po schodach przyczyniają się w „krajach rozwiniętych” do większej liczby poważnych urazów głowy niż jazda na rowerach
- w Europie rocznie **trzy miliony** ludzi przyjmowanych jest do szpitali z podejrzeniem wstrząśnienia mózgu (mTBI); u **90%** z nich badania nie potwierdzają wystąpienia mTBI (www.unige.ch/communication/communiqués/en/2018/cdp180730/)

Niebezpieczeństwo czyha w ...

- zakażenie krwi (**sepsa**) jest **trzecią co do ilości przyczyną śmierci** w Niemczech (ok. 75000 rocznie)
- reakcja immunologiczna organizmu, ze względu na nierozróżnianie przez najefektywniejsze efektory własnej tkanki od mikroorganizmów zewnętrznych, prowadzi do uszkodzeń tkanek i organów chorego
- szczególnie dotyczy osób starszych (między 50 a 80 rokiem życia) i przypadki będą prawdopodobnie częstsze w miarę **starzenia się populacji**
- „One important requirement for sepsis biomarkers is the **time benefit** that they should offer for the detection of a systemic inflammatory response to an infection before clinical signs and organ damage become apparent.” [1]:

Various possible courses of the immune response to severe sepsis and septic shock over 28 days

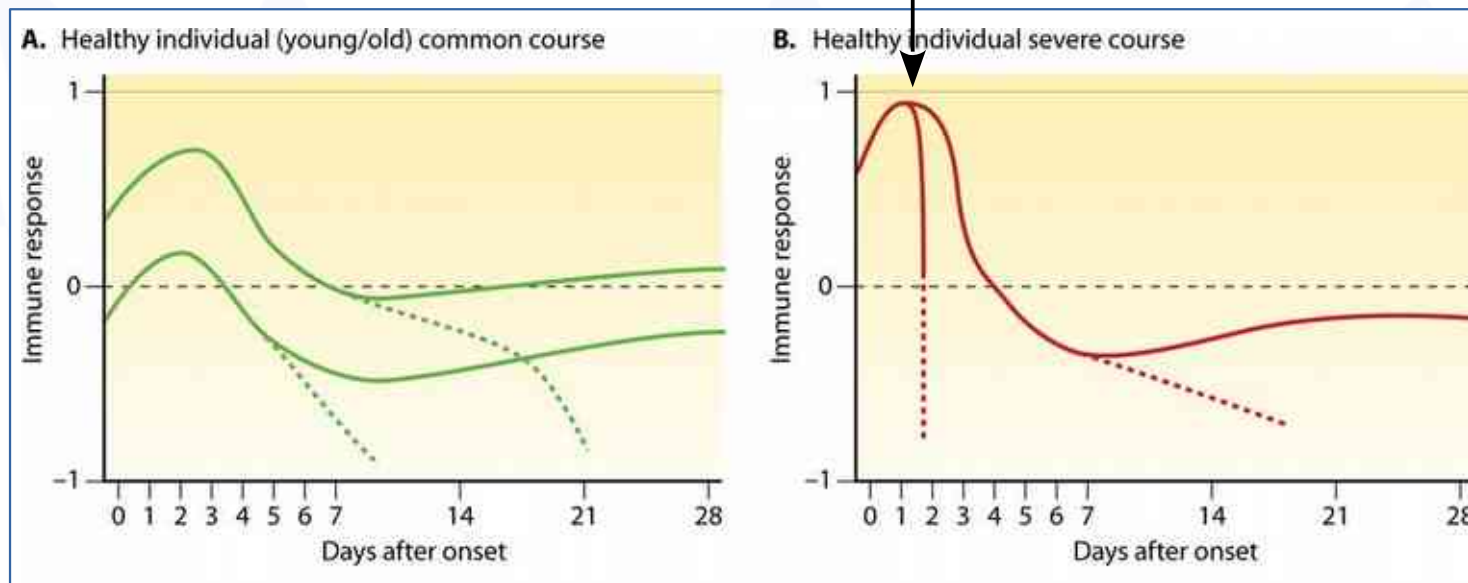


... (A to D) Immune responses are displayed, with 1 being maximally proinflammatory and -1 being maximally anti-inflammatory. **Dotted lines indicate a course leading to death.** ...

Niebezpieczeństwo czyha w ...

- na świecie około **25 mln** zachorowań rocznie; 8 mln przypadków śmiertelnych
- bardzo szybka dynamika sepsy – po **36 h** mogą przestać funkcjonować wszystkie organy organizmu; od wystąpienia niestabilności w systemie krążenia **każda godzina** opóźnienia terapii (na początku, przed badaniami, z użyciem szerokiego zestawu antybiotyków) zwiększa prawdopodobieństwo śmierci o ok. **7%**.
- często niejasna przyczyna (tylko ok. 6% wynika z zakażeń około-zranieniowych)

Various possible courses of the immune response to severe sepsis and septic shock over 28 days



... (A to D) Immune responses are displayed, with 1 being maximally proinflammatory and -1 being maximally anti-inflammatory. **Dotted lines indicate a course leading to death.** ...

Lab-on-a-chip ... czekając na tricordera

- Pierwszy od lewej, dr. Leonard McCoy (ur. Atlanta, USA 20.01.2227), Star Trek series
- „The **medical tricorder** has a detachable, high-resolution, hand-held scanner that sends life-sign information to the tricorder itself. It can check all vital organ functions, detect the presence of dangerous organisms, and human physiology. Its data banks also contain information on non-human races known to the Federation, thereby making it possible to treat ^{*} other life-forms.”



Lab-on-a-chip

- poziom prokalcytoniny (PCT) jest dobrym wskaźnikiem odpowiedzi układu immunologicznego w przypadku podejrzenia sepsy
- używane obecnie testy nielaboratoryjne pozwalają uzyskać rezultat w około 20 min
- występują inne biomarkery odpowiedzi immunologicznej charakteryzujące się inną dynamiką (stężenie w funkcji czasu od początku infekcji)



CLEARTEST®

CLEARTEST® PROCALCITONIN (PCT)

Der CLEARTEST® Procalcitonin (PCT) ist ein Schnelltest für die Diagnostik und Überwachung besonders schwerwiegender bakterieller Infektionen.

Das Procalcitonin steigt sowohl bei schweren Infektionen als auch bei **Sepsis** stark an und fällt unter geeigneter Antibiotika Therapie schnell wieder ab.

Ein gleichbleibender Wert oder eine Erhöhung weisen hingegen auf ein Nichtansprechen der aktuellen Medikation hin.

Werte über 1 ng/ml deuten mit hoher Wahrscheinlichkeit auf eine Sepsis hin.

Lagerung bei 2 - 30 °C.
Auswertung nach 15 Minuten.
Cut off: 1 ng/ml.

Type	PZN	VE	REF	Preis VE
Procalcitonin (PCT)	14056926	5 Tests	C3 4040	26,50
Procalcitonin (PCT)	14056955	10 Tests	C3 4040-10	48,90



Lab-on-a-chip

- wchodzące na rynek testy pozwalają uzyskać informacje o DNA 40+ patogenów w jednym, trwającym do 45 min, procesie
- zastosowanie urządzeń mikrofluidycznych pozwoli potencjalnie zmniejszyć czas oczekiwania na wynik oraz zużycie reagentów
- w praktyce urządzenia typu lab-on-a-chip nie są jeszcze autonomiczne – niezbędne jest zasilanie, zewnętrzne źródła pola magnetycznego, zewnętrzne pompy etc.

SEPSIS FLOW CHIP

- Simultaneous detection of more than **40 pathogens** and **20 antibiotic resistant genes** responsible for sepsis, including Gram + bacteria, Gram - bacteria, Fungi, and antibiotic resistant determinants: MRSA, *mecA*, *vanA*, *vanB*, ESBL and carbapenemases

- Validated with External Quality Control Program for Molecular Diagnostics QCMD

SPNEU: *Streptococcus pneumoniae*; **SMALTO:** *Stenotrophomonas maltophilia*; **CAND:** *Candida* spp.; **ABAU:** *Acinetobacter baumannii*; **SMAR/KLEB:** *Serratia marcescens*/*Klebsiella pneumoniae*; **SAGAL:** *Streptococcus agalactiae*; **STAPHYL:** *Staphylococcus* spp.; **SA:** *Staphylococcus aureus*; **ECOLI:** *Escherichia coli*; **ENTEROB:** *Enterobacter* spp.; **CALB:** *Candida albicans*; **LIS:** *Listeria monocytogenes*; **ENTEROC:** *Enterococcus* spp.; **PAER:** *Pseudomonas aeruginosa*; **KLEB:** *Klebsiella pneumoniae*; **STREP:** *Streptococcus* spp.; **NEISS:** *Neisseria meningitidis*; **PROT/MOR:** *Proteus* spp.; **mecA:** Methicillin resistance gene; **vanA:** Vancomycin resistance gene; **vanB:** Vancomycin resistance gene; **kpc:** Class A carbapenemase; **sme:** Class A carbapenemase; **nmc/iml:** Class A carbapenemase; **blaSHV:** extended-spectrum β -lactamase SHV; **blaCTX-M:** extended-spectrum β -lactamase CTX-M; **ges:** Class A carbapenemase; **vim:** Class B carbapenemase; **gim:** Class B carbapenemase; **smc:** Class B carbapenemase; **ndm:** Class B carbapenemase; **sim:** Class B carbapenemase; **imp3:** Class B carbapenemase; **imp15:** Class B carbapenemase; **imp19:** Class B carbapenemase; **oxa 23:** Class D carbapenemase; **oxa 24:** Class D carbapenemase; **oxa 48:** Class D carbapenemase; **oxa 51:** Class D carbapenemase; **oxa 58:** Class D carbapenemase.

B: Hybridization control; **CI:** Internal control; **BG:** DNA quality control (Human beta-globin gene)

B		LIS	kpc	spm	ECOLI	vanB		B
B	ABAU	ENTEROC	sme	ndm	ENTEROC	vanA	ges	oxa23
CI	SMAR/KLEB	PAER	nmc/iml	sim		mecA	vim	oxa24
BG	SAGAL	KLEB		imp3	SMALTO	CALB	gim	oxa48
	STAPHYL	STREP	blaSHV	imp15	CAND	PROT/MOR	kpc	oxa51
SPNEU	SA	NEISS	blaCTX	imp19	B	ABAU	LIS	spm
	ECOLI	PROT/MOR	ges	oxa23	CI	SMAR/KLEB	ENTEROC	sme
SMALTO	ENTEROC		vim	oxa24	BG	SAGAL	PAER	nmc/iml
CAND		mecA	gim	oxa48	STAPHYL	KLEB		imp3
	CALB	vanA		oxa51	SPNEU	SA	STREP	blaSHV
	B	vanB		oxa58		NEISS	blaCTX	imp19

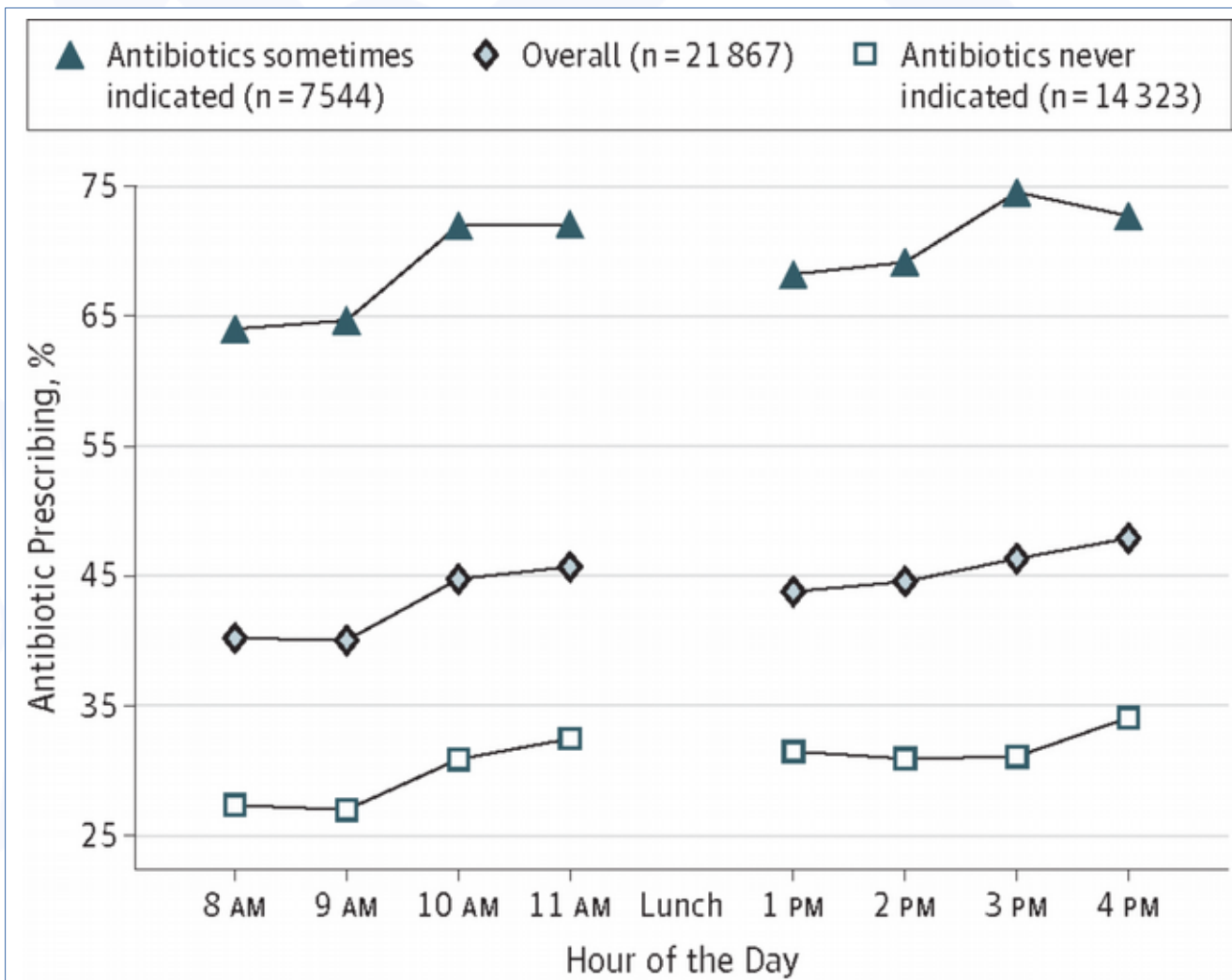
Lab-on-a-chip

- zbędne wizyty w szpitalach (podejrzenia wstrząśnienia) mogą być ograniczone poprzez zastosowanie nowych testów
- *“Today, our research shows that the results are even more accurate when we combine H-FABP and GFAP levels,” continues Jean-Charles Sanchez (Uniw. Genewa). “We are currently preparing an even more effective TBIcheck, which will allow **50% of patients to be sent home**, but which requires an increase in the sensitivity of the test that receives the blood.”*
- obecny test daje możliwość wykluczenia mTBI u 30% pacjentów w czasie 10 minut



One drop of blood is enough for TBIcheck to diagnose a possible mild brain trauma. If a line appears below the control line, the injured person will have to go to the hospital for a CT scan. © UNIGE

Zmęczenie decyzyjne, „Przychodzi ... do lekarza i ...”



Antibiotic Prescribing by Hour of the Day

Diagnoses for which antibiotics are sometimes indicated were otitis media, sinusitis, pneumonia, and streptococcal pharyngitis. Diagnoses for which antibiotics are never indicated were acute bronchitis, nonspecific upper respiratory infection, influenza, and nonstreptococcal pharyngitis. Linear trend in session hours (combining 8 am with 1 pm, 9 am with 2 pm, 10 am with 3 pm, and 11 am with 4 pm): $P < .001$ for antibiotics sometimes indicated; $P < .001$ for all acute respiratory infection visits; and $P < .002$ for antibiotics never indicated. During clinic sessions, the proportion of acute respiratory infection visits for which antibiotics were sometimes indicated did not vary significantly from hour to hour ($P = .64$).

źródło: Time of Day and the Decision to Prescribe Antibiotics,

- Późniejsza wizyta u lekarza zwiększa prawdopodobieństwo otrzymania antybiotyku
- „*"I really want to clear my life to make it so that I have to make as few decisions as possible about anything except how to best serve this community," he [facebook, M. Zuckerberg] said, meaning he doesn't want to spend mental energy on deciding what to wear or what to eat for breakfast.*”

Magnetoforeza

- w układach typu lab-on-a-chip istnieje potrzeba transportu analitu by przeprowadzić w innym miejscu reakcje chemiczne
- zwiększenie koncentracji reagentów pozwala przyspieszyć testy lub zmniejszyć ilość potrzebnych reagentów

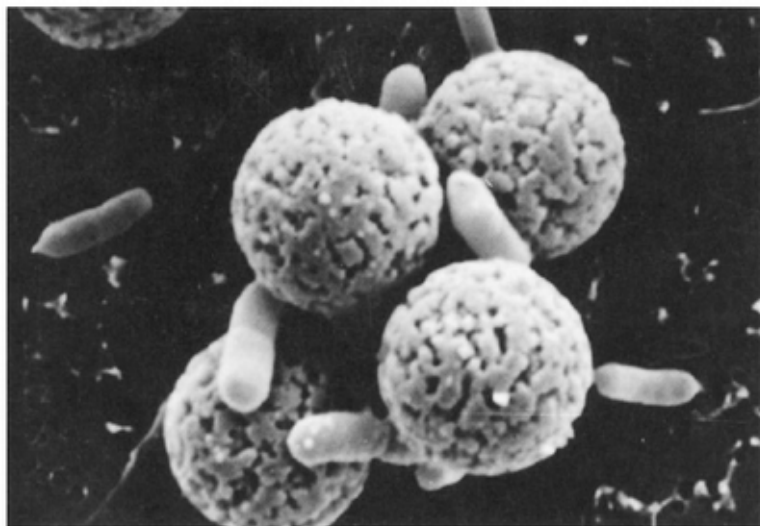
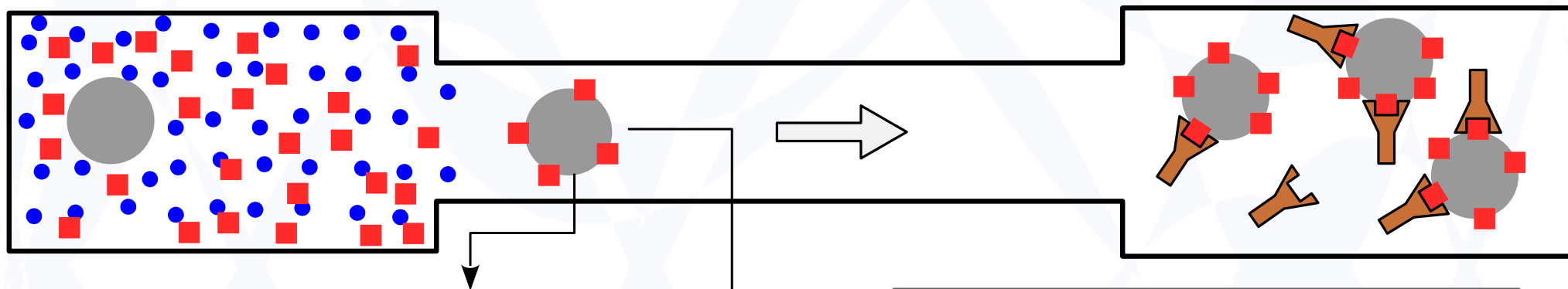


Fig. 2. An electron micrograph showing *E. coli* O157 bound to Dynabeads. Reproduced, with permission, from materials provided by Dynal, Oslo, Norway.

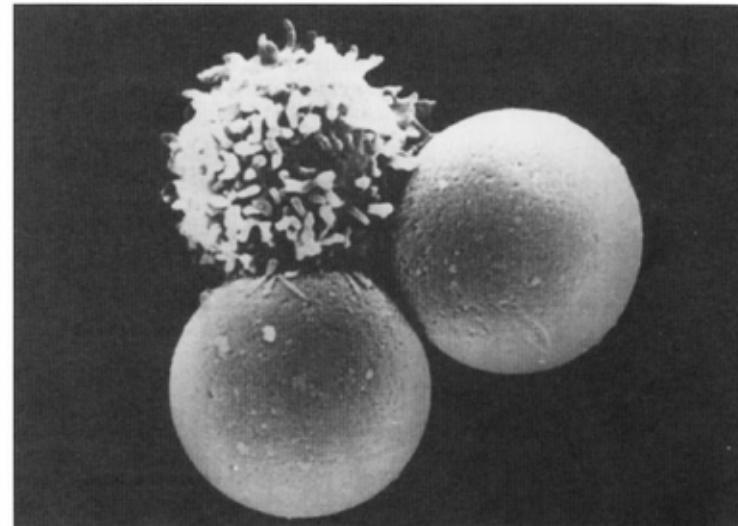
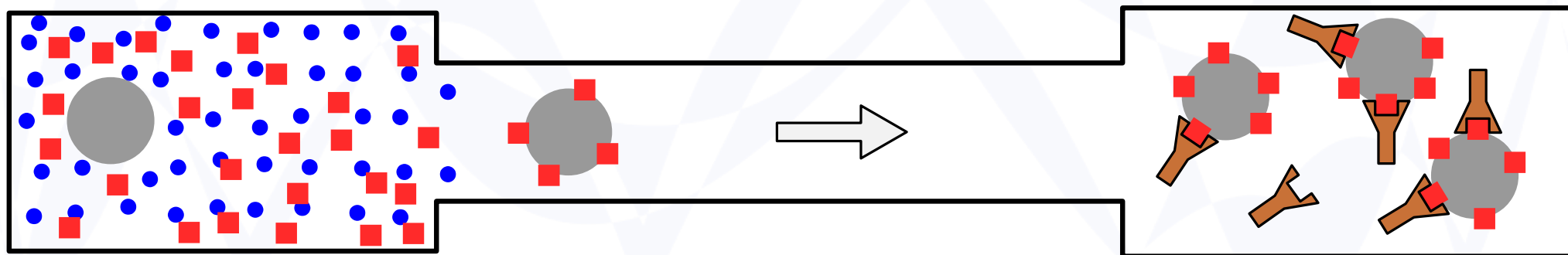


Fig. 3. An electron micrograph showing a T-lymphocyte bound to two Dynabeads M-450. Reproduced, with permission, from Ref. [8].

Magnetoforeza

- w układach typu lab-on-a-chip istnieje potrzeba transportu analitu by przeprowadzić w innym miejscu reakcje chemiczne
- zwiększenie koncentracji reagentów pozwala przyspieszyć testy lub zmniejszyć ilość potrzebnych reagentów



Diameters – several μm (Dynabeads M-270 $D=2.8 \mu\text{m}$)

Magnetic core – iron oxides

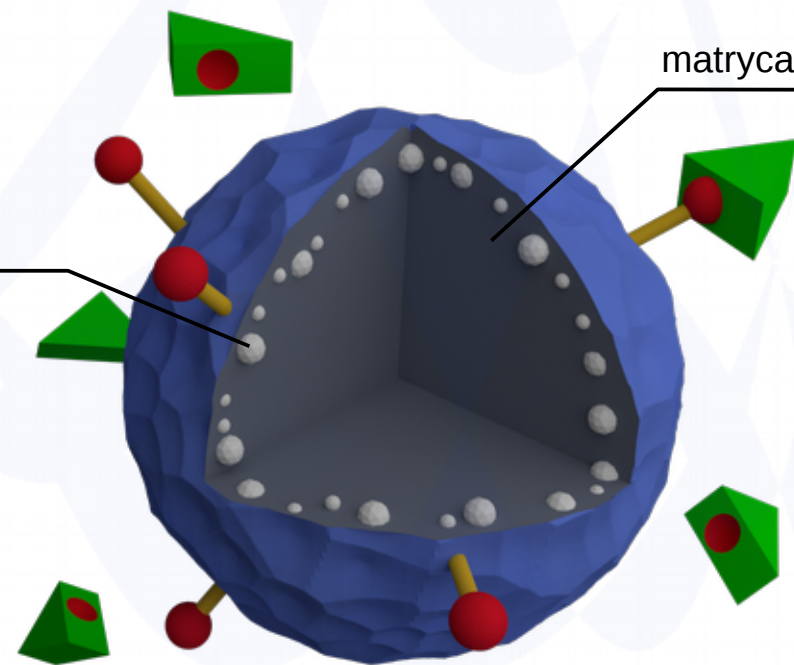
Susceptibility, $\chi=0.17$ (Dynabeads M-270)

Micromod – $4 \mu\text{m}$ diameter

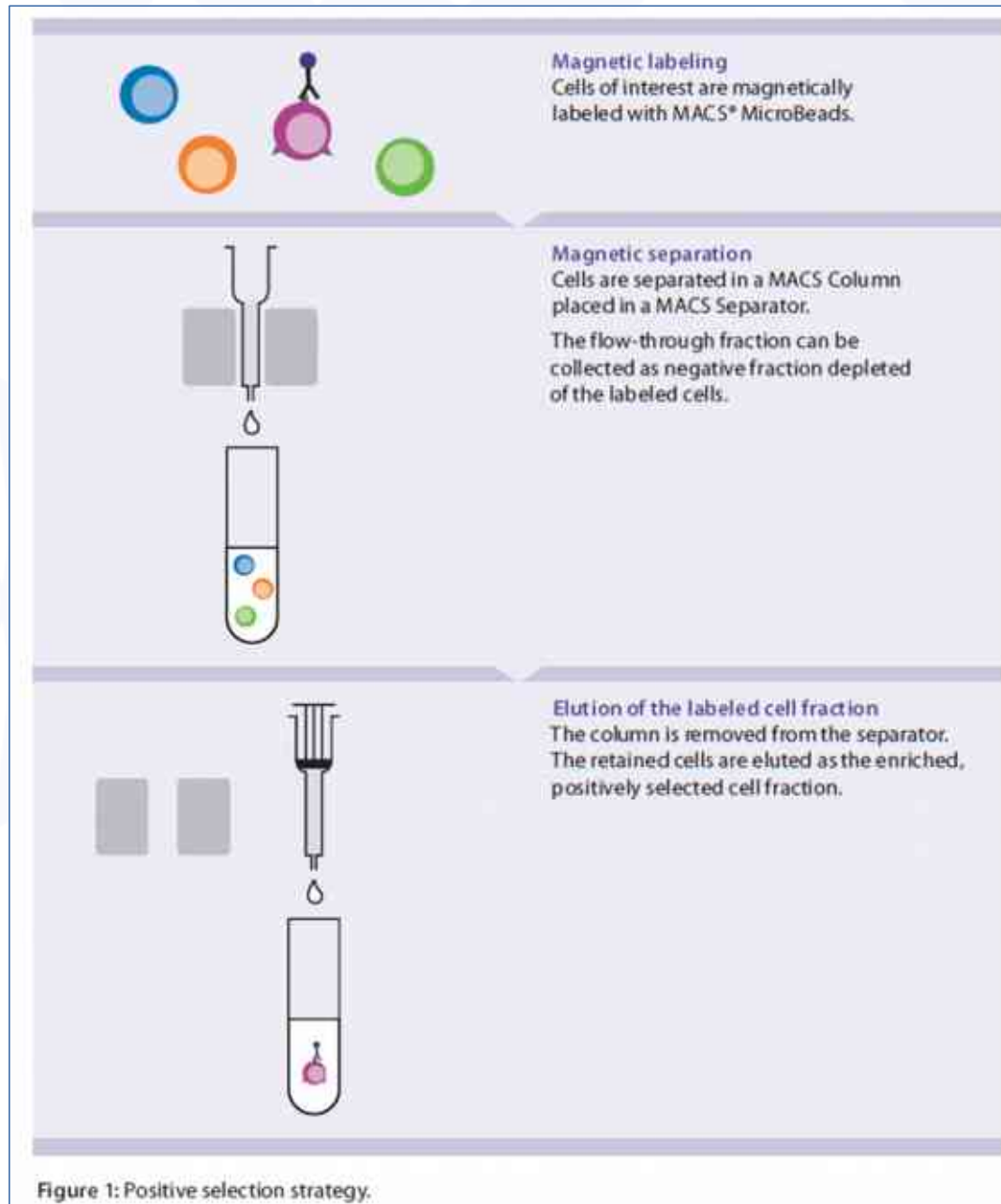
100nm thick layer of superparamagnetic particles

10 nm beneath the outer functionalized surface

cząsteczki
superparamagnetyczne

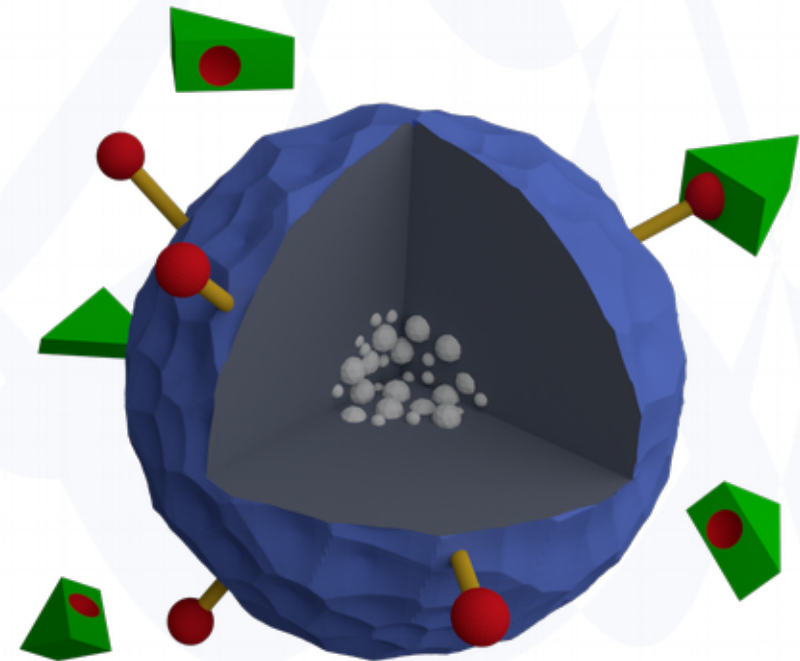


Magnetoforeza – separacja



Cząsteczki magnetyczne są funkcjonalizowane by wiązać się z cząsteczkami lub związkami, które mają być wydzielone z mieszaniny

Materiał superparamagnetyczny może być skoncentrowany w pobliżu środka SPB



Magnetoforeza – siły w polu magnetycznym

$$\chi = \frac{\vec{M}}{H} \rightarrow \chi_p = \frac{M}{H}$$

$$E = -\vec{m} \cdot \vec{B}$$

$$\vec{m} = \vec{M} \cdot V$$

V – objętość magnesu

- zaindukowany moment cząsteczki superparamagnetycznej (SPB) jest równoległy do kierunku zewnętrznego pola magnetycznego
- przenosimy SPB z nieskończoności ($B=0$) do miejsca, w którym panuje pole o wartość B :

$$m = V \chi_p \frac{B}{\mu_0} \rightarrow dm = V \chi_p \frac{dB}{\mu_0} \rightarrow dE = -dm B = -V \chi_p \frac{dB}{\mu_0} B$$

$$E = - \int_0^{B(\vec{r})} V \chi_p \frac{B}{\mu_0} dB = - \frac{1}{2\mu_0} V \chi_p B^2$$

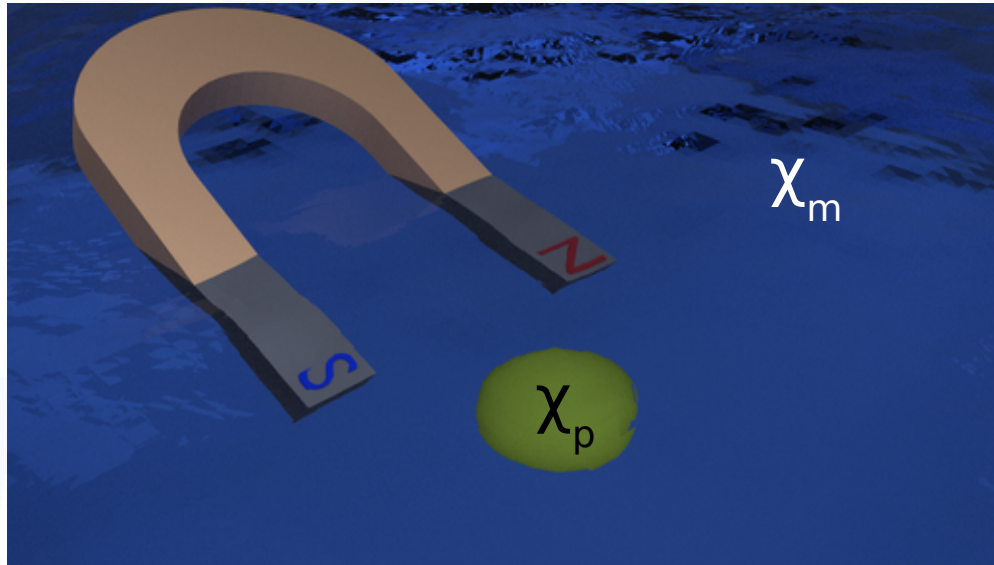
Siła działająca na SPB dana jest przez wyrażenie: $\vec{F} = -\nabla E$

$$\vec{F} = \frac{1}{2\mu_0} V \chi_p \nabla B^2$$

Siła działająca na cząsteczkę paramagnetyczną/superparamagnetyczną jest proporcjonalna do gradientu B^2

Wyrażenie obowiązuje w zakresie pól, w którym podatność jest w przybliżeniu stała

Magnetoforeza – siły w polu magnetycznym, w środowisku wodnym



- ze względu na wymóg biokompatybilności większość eksperymentów wykonywanych jest w środowisku wodnym
- podatność magnetyczna wody ($\chi = -9.035 \times 10^{-6}$) jest zanedbywalna w porównaniu z podatnością typowych kulek superparamagnetycznych ($\chi_p \sim 0.1$)

$$\vec{F} = \frac{1}{2\mu_0} (\chi_p - \chi_m) V \nabla (B^2) \approx \frac{1}{2\mu_0} \chi_p V \nabla (B^2)$$

χ_p, χ_m podatności SPB i cieczy (np. wody)

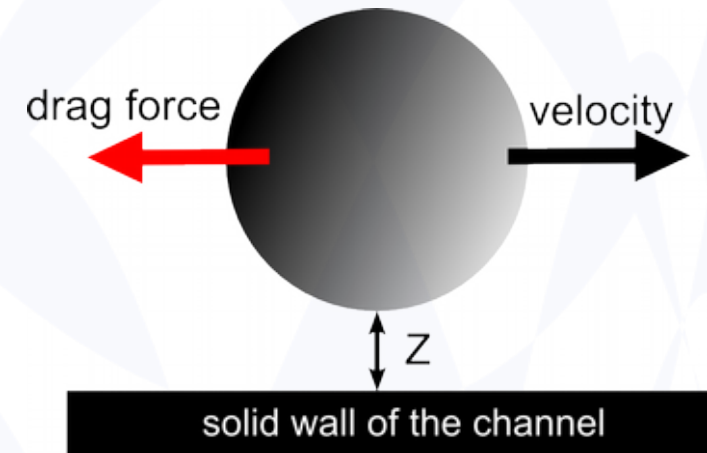
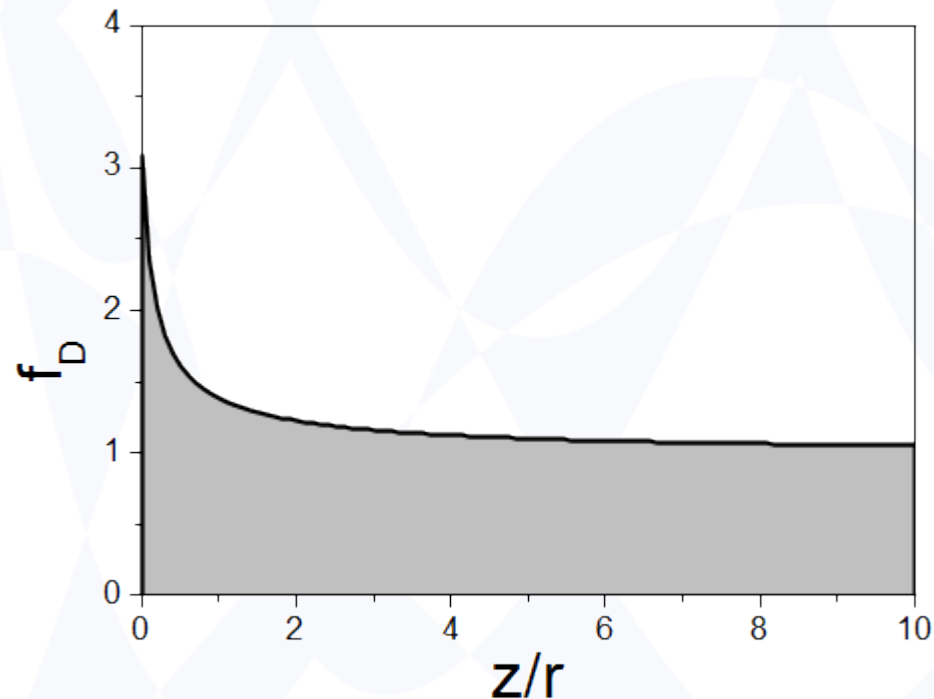
Lepkość – prawo Stokesa

$$F_d = 6\pi\eta r \Delta v f_D$$

$$f_D = \left(1 - \frac{9}{16}\left(\frac{r}{r+z}\right) + \frac{1}{8}\left(\frac{r}{r+z}\right)^3 - \frac{45}{256}\left(\frac{r}{r+z}\right)^4 - \frac{1}{16}\left(\frac{r}{r+z}\right)^5\right)$$

η – lepkość ($8.9 \times 10^{-4} \text{ N s m}^{-2}$ dla wody)

f_D – czynnik geometryczny



Wpływ ścian kanału jest istotny dla stosunku z/r mniejszego od 2.

Siła lepkości zależy od położenia!

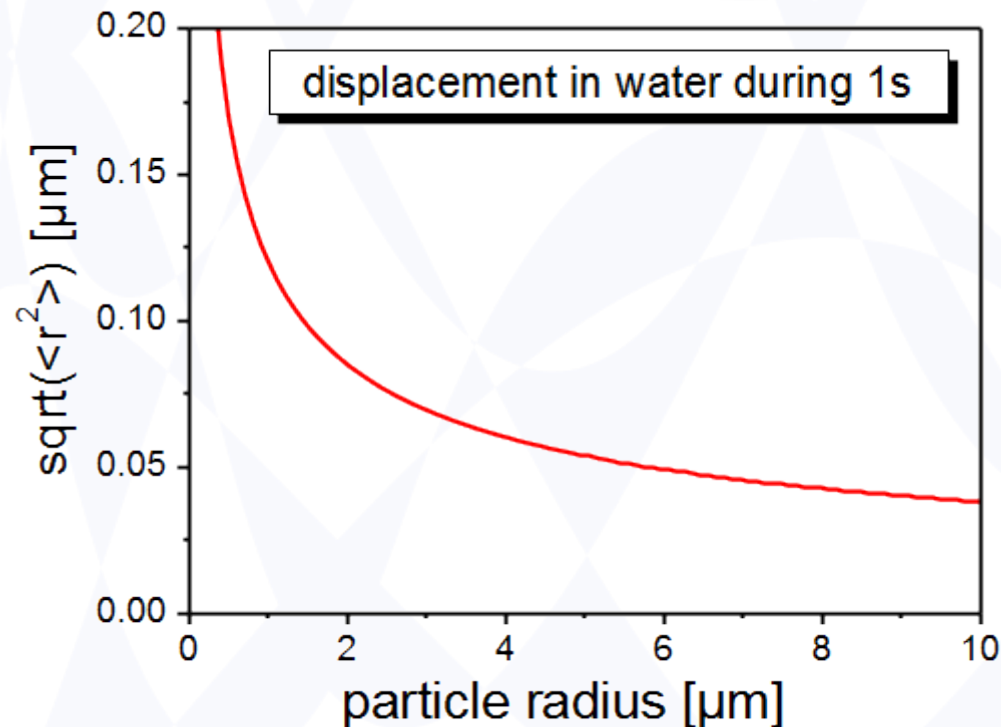
Siły Browna

Związek Stoke-Einsteina:

$$D = \frac{k_B T}{6 \pi \eta r_{\text{bead}}}$$

 D – wsp. dyfuzji η – lepkość ($8.9 \times 10^{-4} \text{ N s m}^{-2}$ dla wody)Średnie kwadratowe przesunięcie
cząsteczki Browna:

$$\langle r^2 \rangle = 6 D t$$

 t – czas

Dla cząsteczek o średnicy większej niż
~1 μm ruchy Browna w układach z
magnetoforezą można zaniedbać

$$\sqrt{6 \cdot \frac{1.38 \cdot 10^{-23} \cdot 293}{6 \cdot \pi \cdot 8.9 \cdot 10^{-4} \cdot 1}}$$

Prędkość stacjonarna

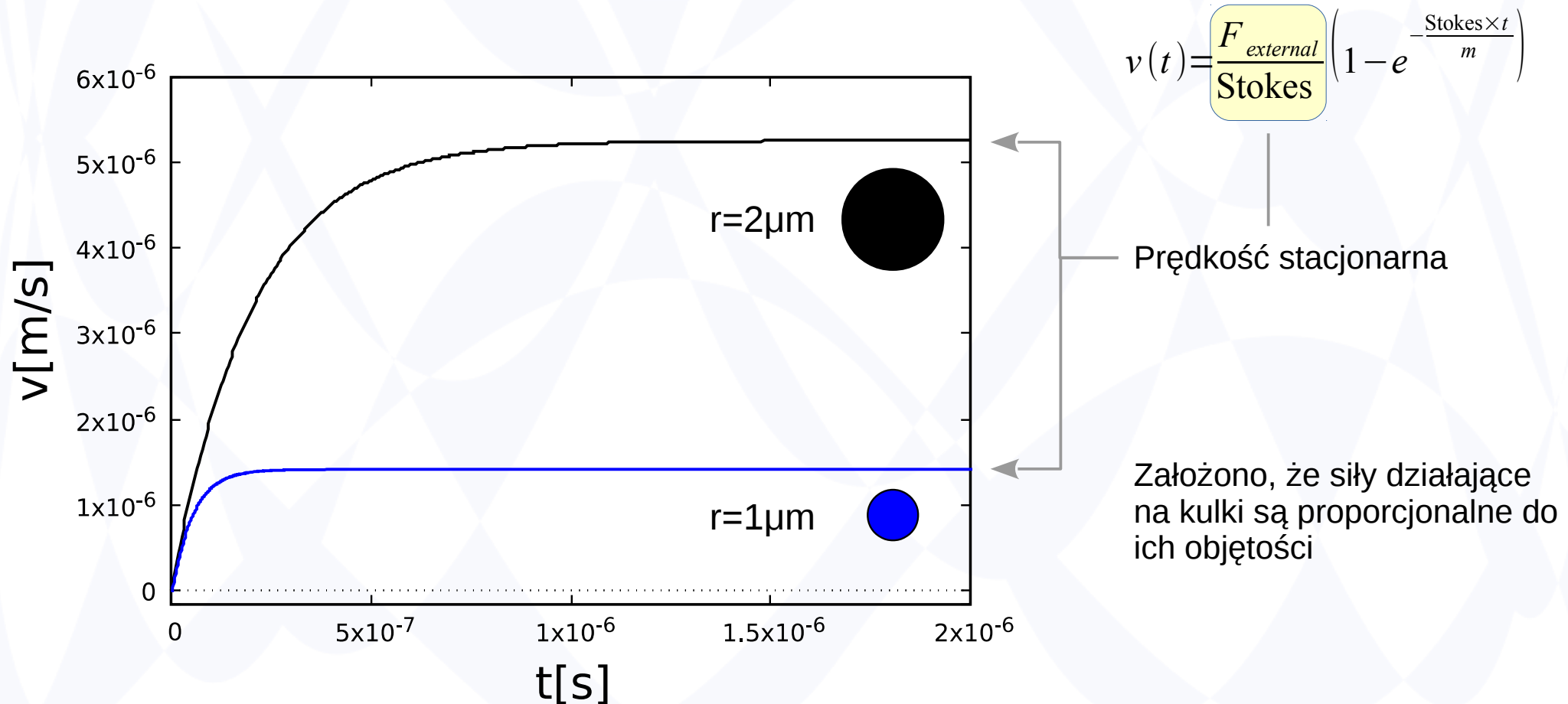
Równanie ruchu cząstki w lepkim płynie (z użyciem wyrażenia Stokesa)

$$F_{external} = m \frac{d^2 x}{dt^2} + \text{Stokes} \times \frac{dx}{dt}$$

$$\text{Stokes} = 6 \pi \eta r f_D$$

$f_D = 1.5$, η – lepkość ($1.0093 \times 10^{-3} \text{ N s m}^{-2}$ dla wody destylowanej), $\rho_{bead} \approx 1.1 \text{ g/cm}^3$

Typowe siły magnetyczne działające w układzie są rzędu 10^{-13} N



Prędkość stacjonarna

Równanie ruchu cząstki w lepkim płynie (z użyciem wyrażenia Stokesa)

$$F_{external} = m \frac{d^2 x}{dt^2} + \text{Stokes} \times \frac{dx}{dt}$$

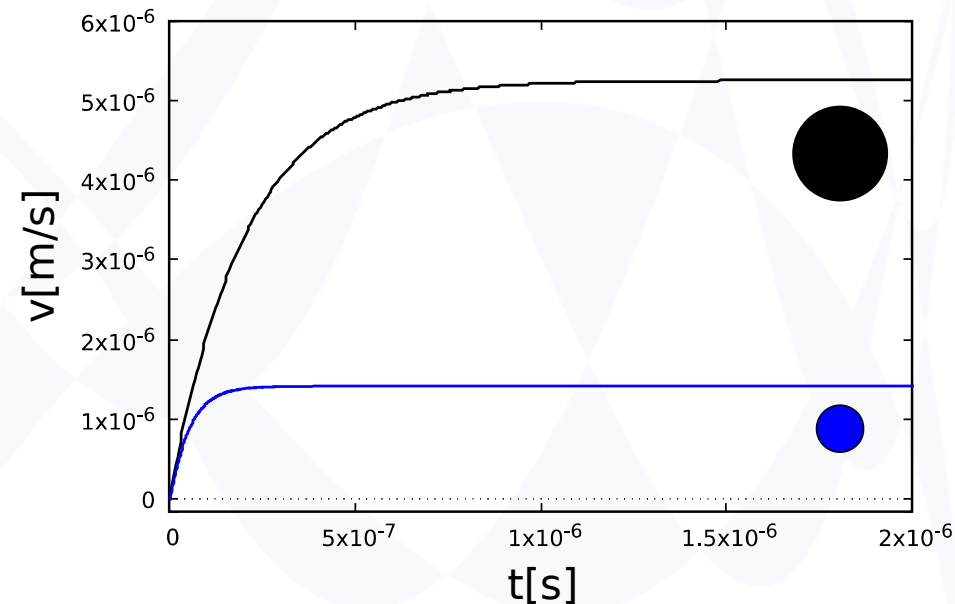
$$\text{Stokes} = 6 \pi \eta r f_D$$

$f_D = 1.5$, η – lepkość ($1.0093 \times 10^{-3} \text{ N s m}^{-2}$ dla wody destylowanej), $\rho_{bead} \approx 1.1 \text{ g/cm}^3$

Typowe siły magnetyczne działające w układzie są rzędu 10^{-13} N

- SPB używane w naszych eksperymentach przyspieszają do prędkości stacjonarnej w czasie rzędu $1 \mu\text{s}$
- Odległość przebyta w fazie przyspieszenia jest zanedbywalna w stosunku do charakterystycznych rozmiarów układu (średnice kulek, szerokości magnetycznych pasków)
- Ponieważ zewnętrzne pole magnetyczne zmienia się w trakcie eksperymentu z częstotliwościami rzędu $0.1\text{-}10 \text{ Hz}$ **można założyć, że SPB poruszają się zawsze z prędkością stacjonarną**

$$v(t) = \frac{F_{external}}{\text{Stokes}} \left(1 - e^{-\frac{\text{Stokes} \times t}{m}} \right)$$



Magnetoforeza

- układy typu lab-on-a-chip pracują zwykle w reżymie przepływu (fluid flow)
- w układach wykorzystujących magnetoforezę źródłem pola magnetycznego mogą być zarówno magnesy trwałe, elektromagnesy lub ich kombinacje

w pokazanym poniżej układzie usuwane z mieszaniny są cząsteczki związane z magnetycznymi kulkami

ANATOMY OF A CHIP

image from A. Dance, Nature 545, 511 (2017) removed due to copyrights concerns

„odpady”

do dalszej analizy

Magnetoforeza – porównanie z innymi metodami transportu

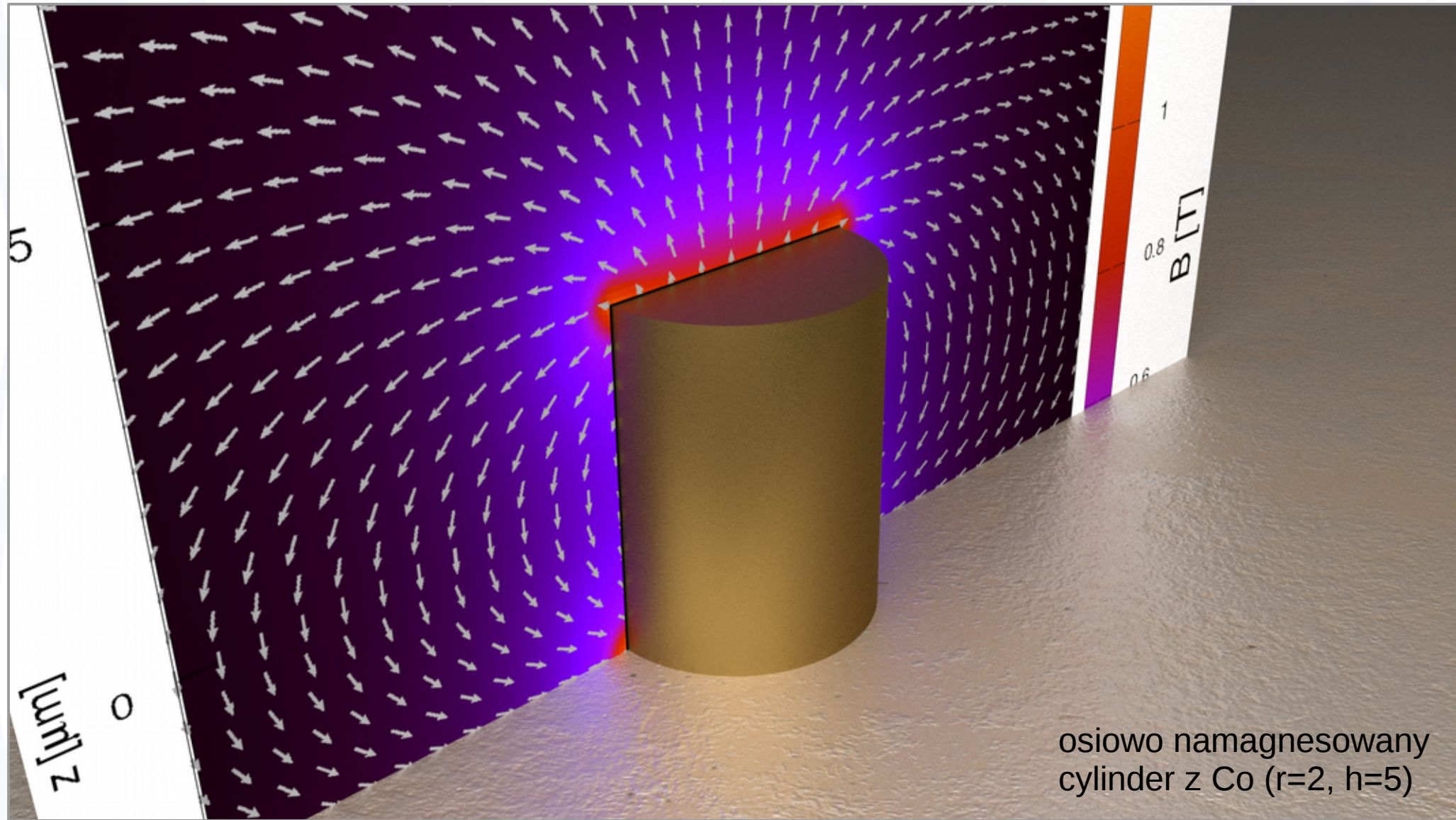
- elektroforeza wymaga bezpośredniego kontaktu, który może powodować grzanie Joula i elektrolizę
- termoforeza wymaga dużych gradientów temperatury
- dielectroforeza – zmienny pole elektryczne polaryzuje komórki i zmienia ich metabolizm
- pułapkowanie optyczne prowadzi do nadmiernego grzania próbek (zmiana metabolizmu, śmierć komórek), drogi i skomplikowany układ
- akustoforeza (powierzchniowe fale akustyczne) – nadmierne grzanie próbek

Magnetoforeza:

- metoda bezkontaktowa
- nie wpływa na właściwości zawiesiny (pH, koncentracja jonów, ładunek powierzchniowy, temperatura)
- niski koszt, prosty układ, łatwa operacja

Podłoża Co/Au z prostopadłą anizotropią magnetyczną

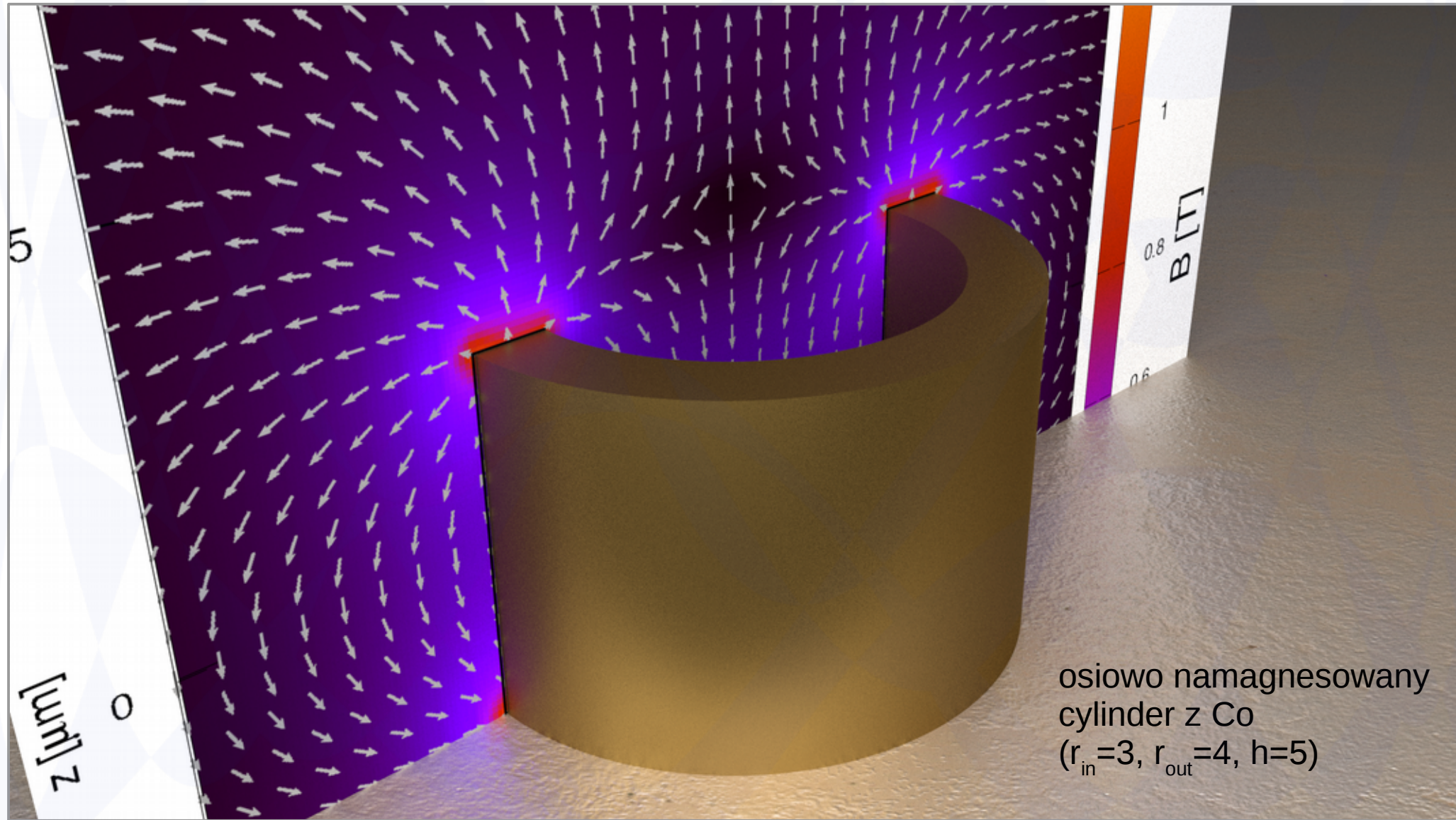
- gdy grubość warstw Co umieszczonych między warstwami Au mieści się w granicach 0.3 – 1.2 nm wykazują one prostopadłą anizotropię magnetyczną
- litograficznie strukturyzowane warstwy Co/Au wykorzystane zostały jako podłoża do eksperymentów z magnetoforezą



osiowo namagnesowany
cylinder z Co ($r=2$, $h=5$)

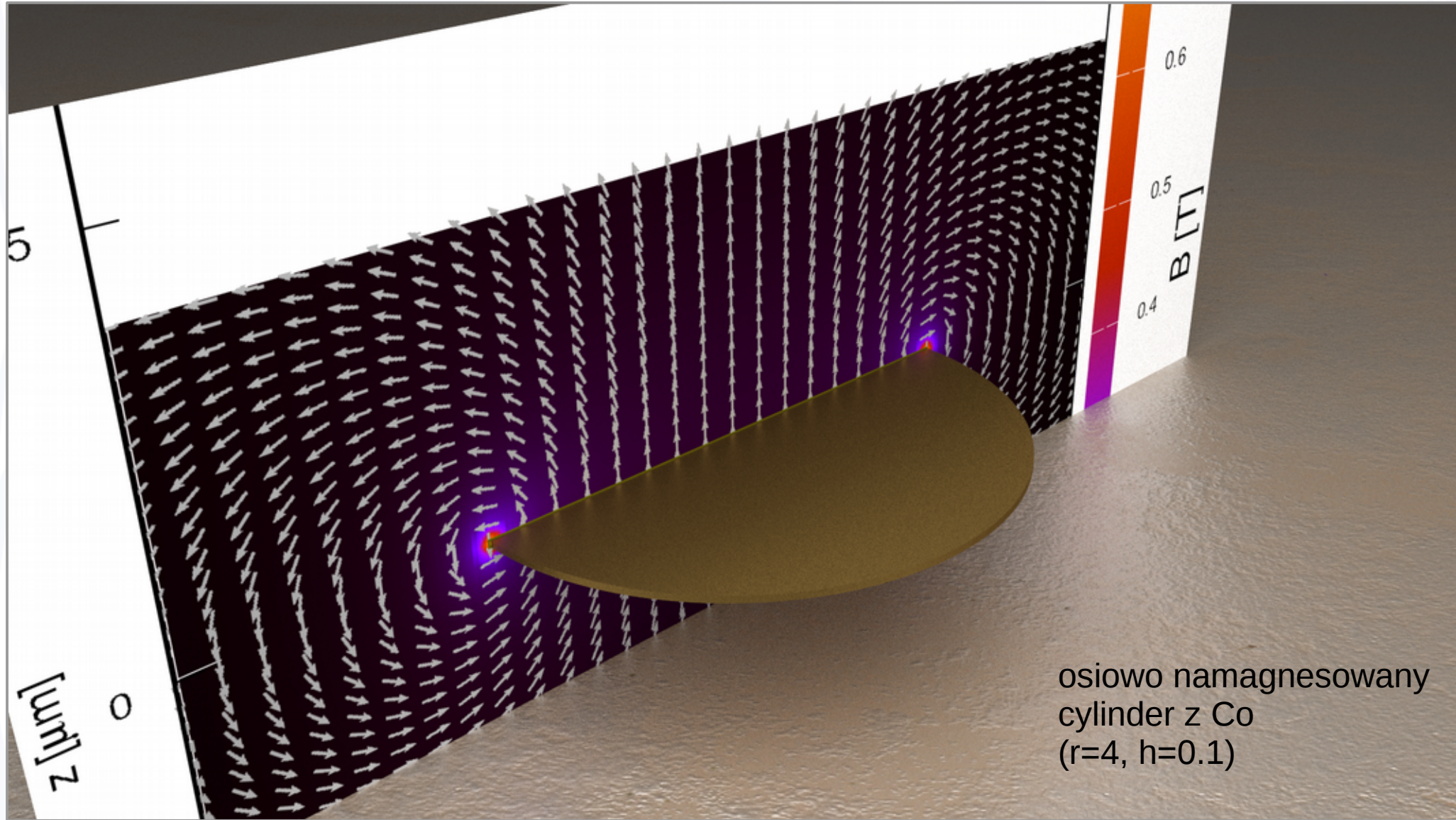
Podłoża Co/Au z prostopadłą anizotropią magnetyczną

- w opisywanych doświadczeniach wykorzystywane były **magnesy pierścienowe**
- z punktu widzenia pomiarów procesów magnetoforezy z użyciem superparamagnetycznych kulek nie jest istotny kierunek pola magnetycznego



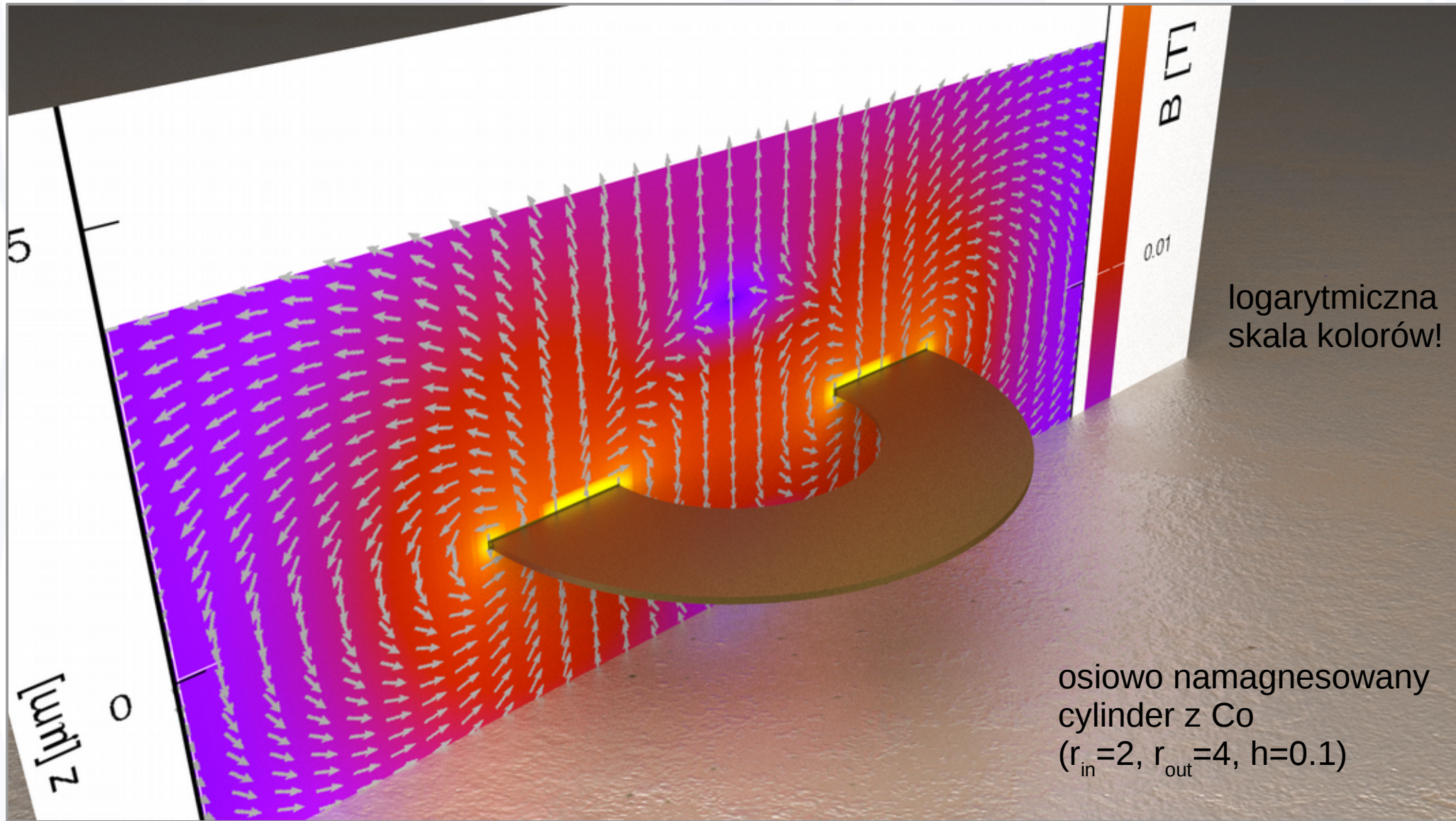
Podłoża Co/Au z prostopadłą anizotropią magnetyczną

- w opisywanych tu badaniach stosowane są magnesy o b. wysokim, rzędu **2000:1**, stosunku rozmiarów poprzecznych (w płaszczyźnie) do wysokości
- w magnesach o takim kształcie silne pola magnetyczne występują tylko w pobliżu krawędzi



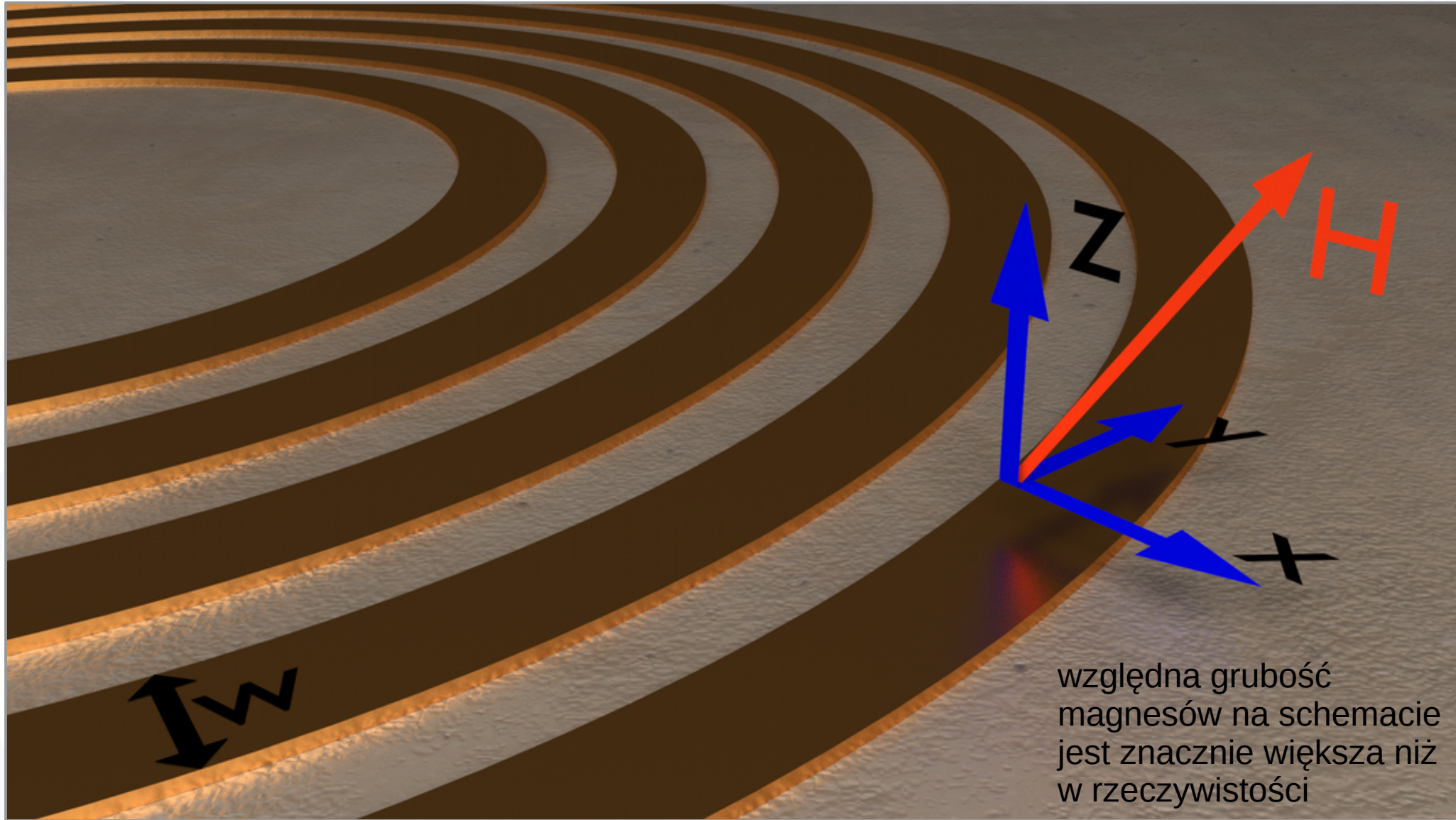
Podłoża Co/Au z prostopadłą anizotropią magnetyczną

- w opisywanych tu badaniach stosowane są magnesy o b. wysokim, rzędu **2000:1**, stosunku rozmiarów poprzecznych (w płaszczyźnie) do wysokości
- w magnesach pierścieniowych silne pola występują w pobliżu wewnętrznych i zewnętrznych krawędzi



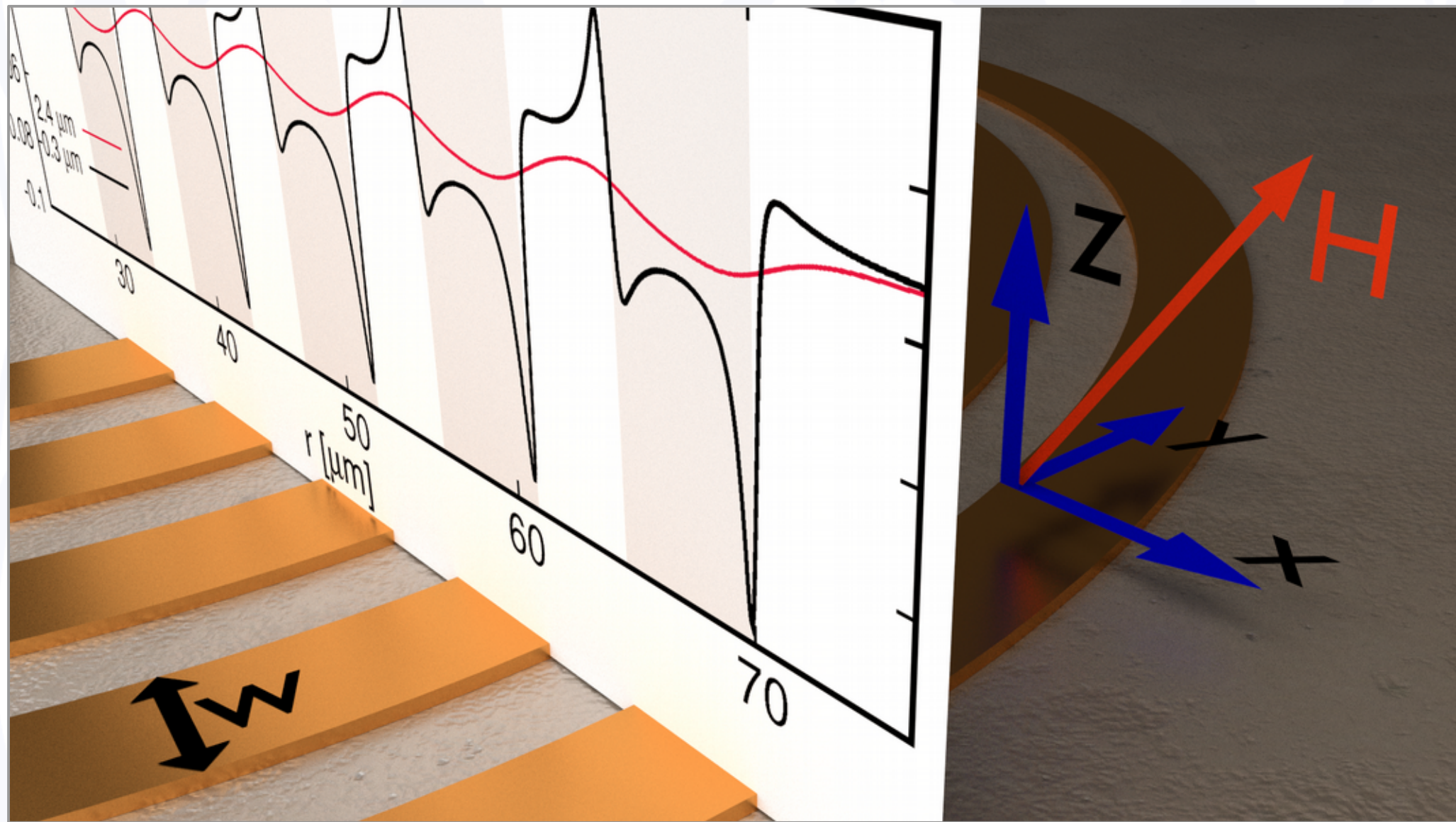
Podłoża Co/Au z prostopadłą anizotropią magnetyczną

- w opisywanych eksperymentach podłoże zawierało szereg (zwykle kilkanaście) koncentrycznych magnesów pierścieniowych o strukturze $\text{Ti}(4\text{ nm})/\text{Au}(40\text{ nm})/[\text{Co}(0.7\text{ nm})/\text{Au}(1\text{ nm})]\times 3$
- szerokości pierścieni i odległości między nimi były rzędu pojedynczych mikrometrów



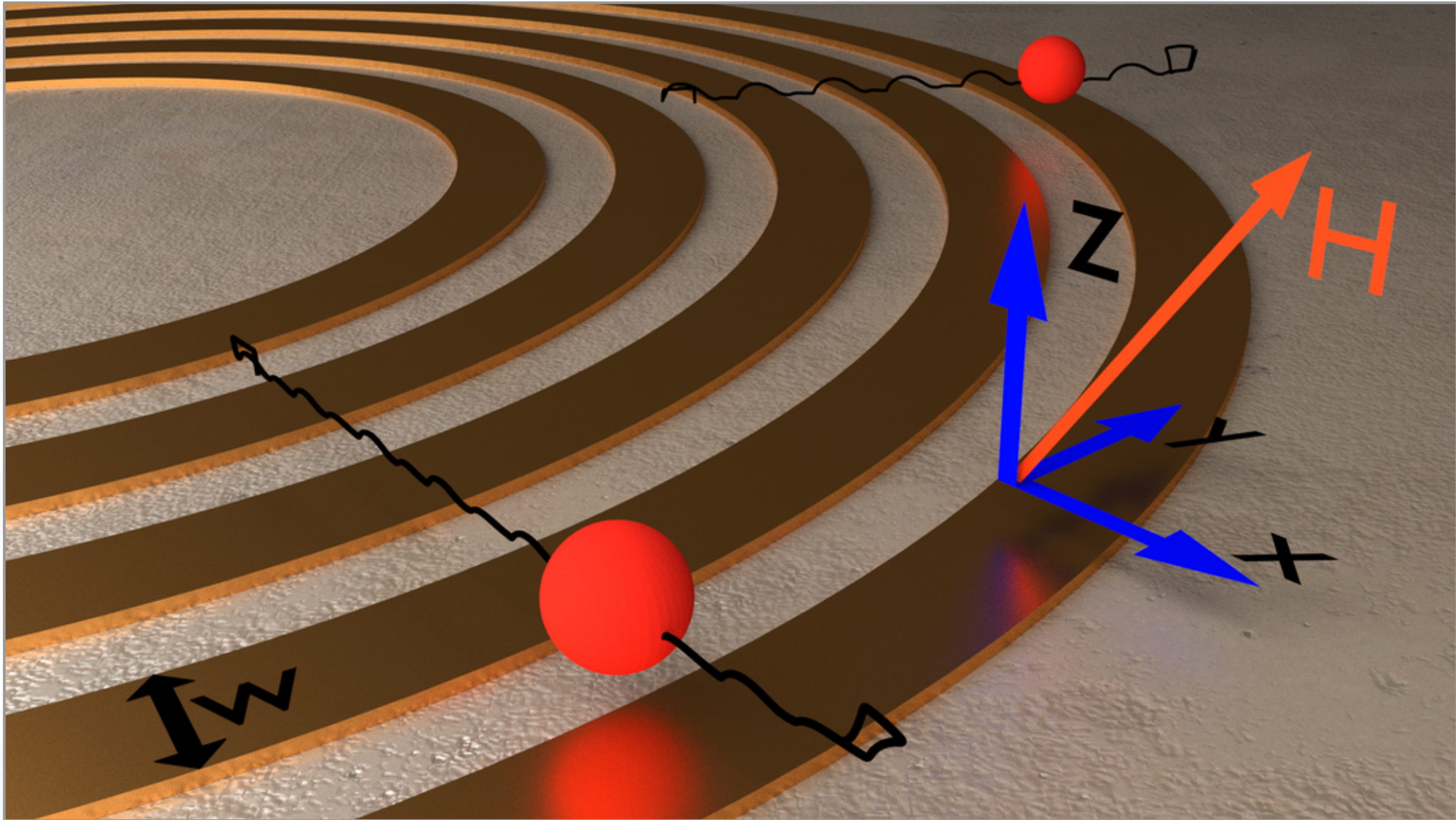
Podłoża Co/Au z prostopadłą anizotropią magnetyczną

- potencjał koloidalny (energia paramagnetyka) w polu magnetycznym podłoża zmienia się quasi-okresowo w funkcji odległości od osi symetrii pierścieni
- w większej odległości od podłoża manifestują się długookresowe składowe potencjału



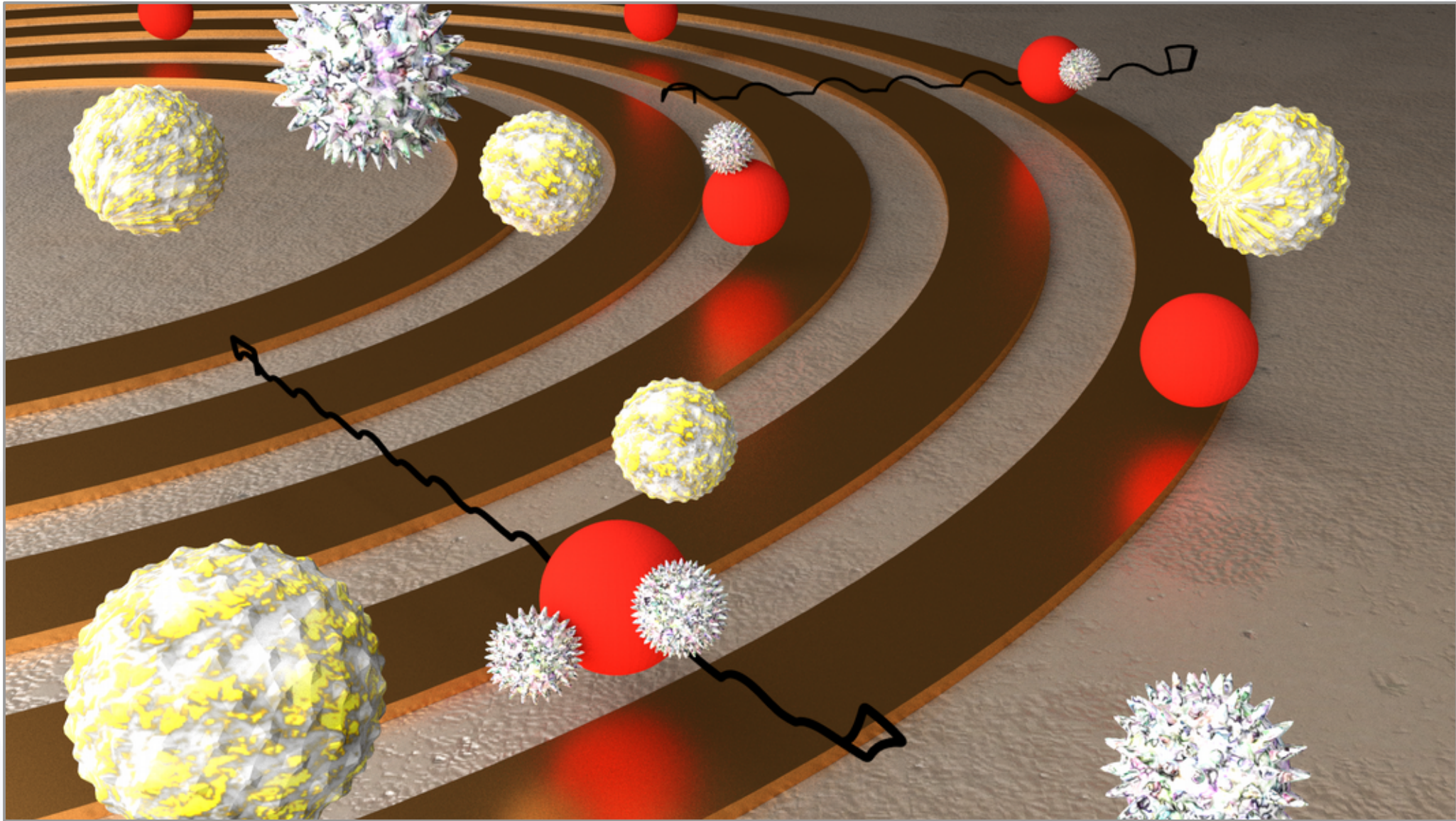
Podłoża Co/Au z prostopadłą anizotropią magnetyczną

- symulacje uwzględniają ruch kulek wzdłuż osi z jednak ze względu na zastosowanie uśrednionego potencjału elektrostatycznego podłoża prostopadłe zmiany położenia wywołane są w modelu zmianami potencjału magnetycznego



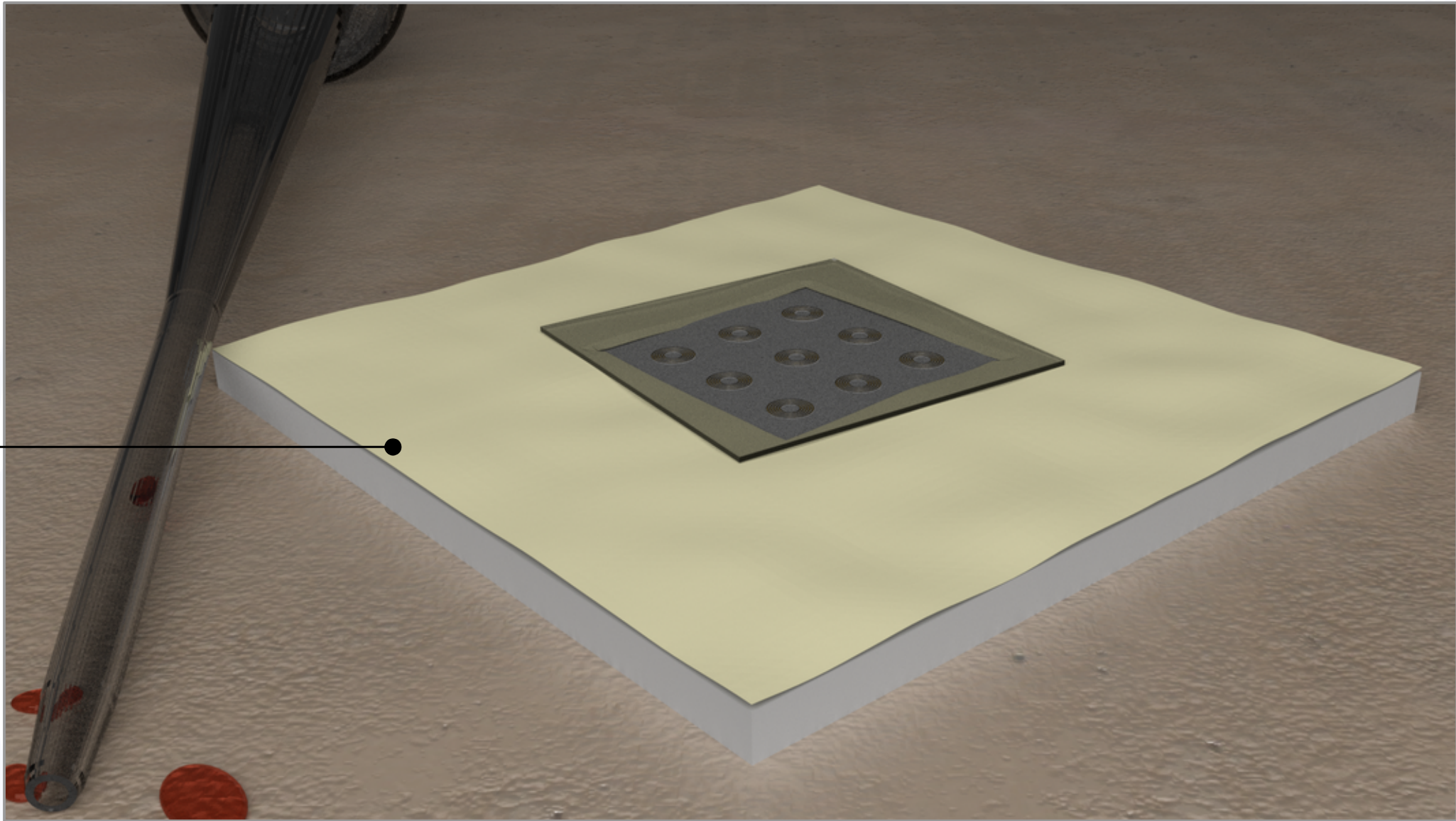
Podłoża Co/Au z prostopadłą anizotropią magnetyczną

- magnetyczne kulki mają wychwycić z zawiesiny cząsteczki analitu, na które są funkcjonalizowane
- w praktyce, ze względu na duże rozmiary komórek, mobilność magnetoforetyczna magnetycznych kulek zmienia się po przyłączeniu cząsteczek/patogenów



Procedura pomiarowa

- taśma PARAFILM z wyciętym otworem umieszczana jest na podłożu z magnesami
- do otworu w taśmie, za pomocą pipety, nalewana jest zawiesina superparamagnetycznych kulek
- otwór przykrywany jest szkiełkiem nakrywkowym



Układ eksperymentalny

- 2 zestawy cewek Helmholtza
- krokowa zmiana kierunku pola magnetycznego (czas przełączania mniejszy niż 0.5 ms)
- częstotliwość przełączania 0.1 -100 Hz
- rejestracja obrazu 1000 fps (kamera Optronics CR450x2)

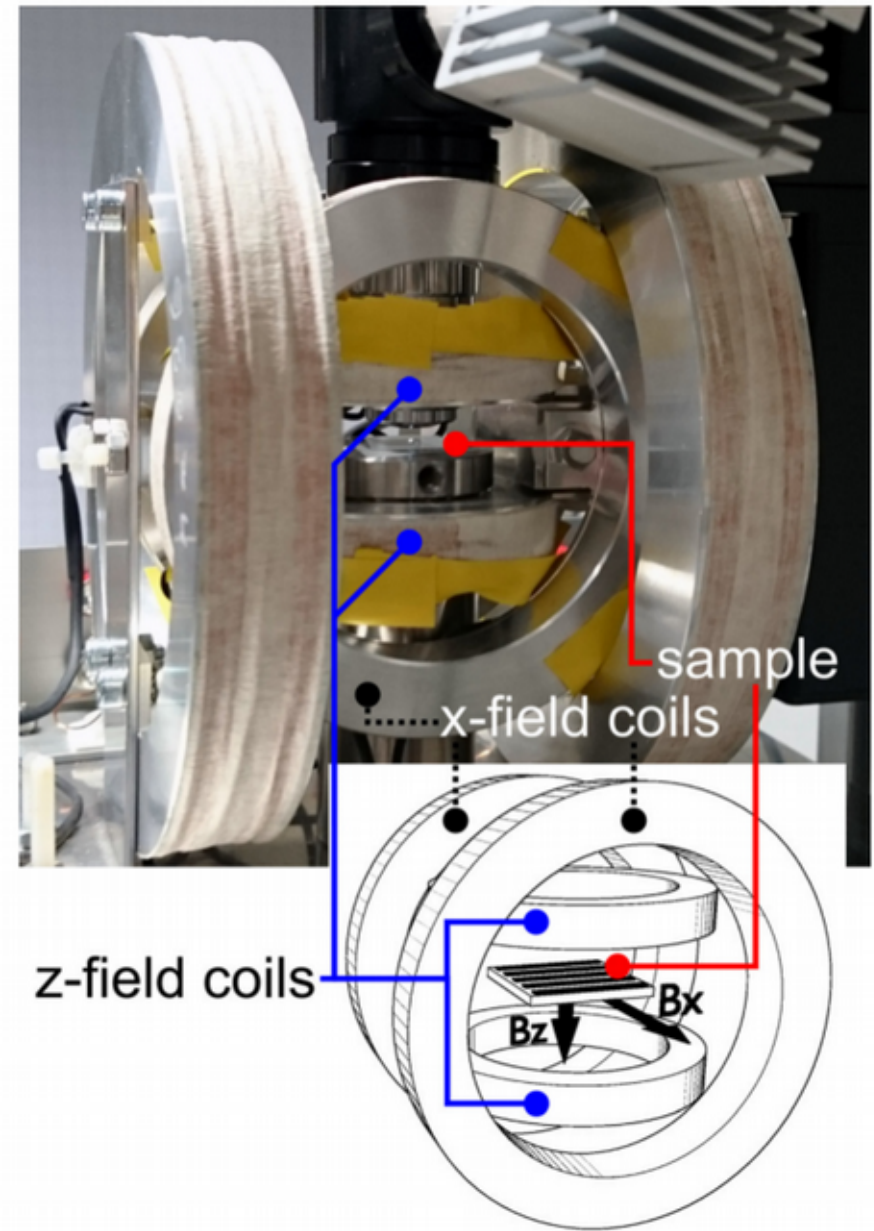
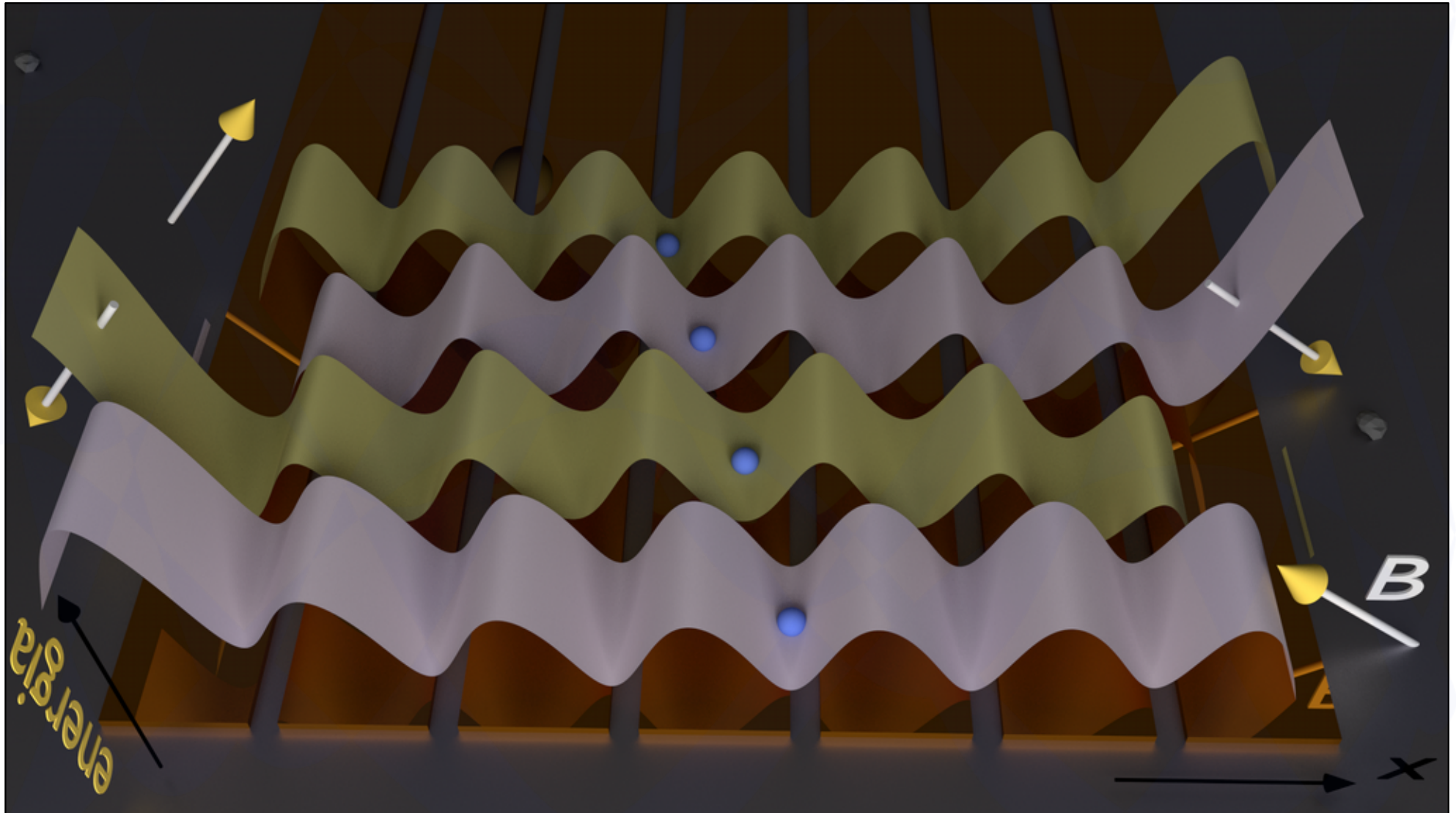


FIG. 2. Photograph of the experimental setup used for the particle transport experiments. The additional sketch shows the orientation of the fields produced by the Helmholtz coils relative to the magnetic stripe structure (shown magnified, black stripes). The outer diameter of x -field coils is 94 mm.

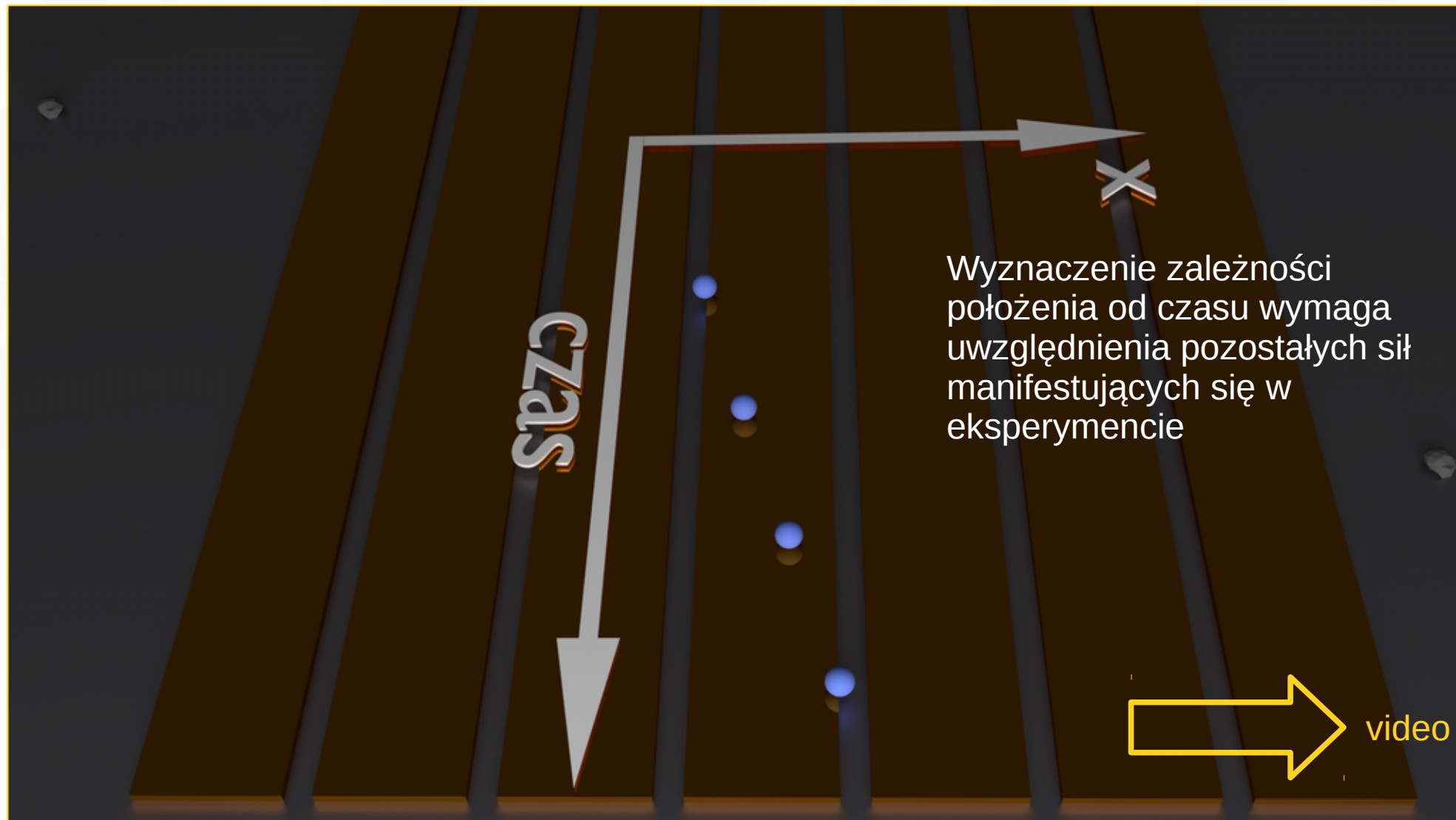
Procedura pomiarowa cd.

- różne kierunki zewnętrznego pola magnetycznego $[(+|B_x|, +|B_z|), (+|B_x|, -|B_z|), (-|B_x|, -|B_z|), (-|B_x|, +|B_z|)]$ odpowiadają różnym położeniom równowagi
- odpowiednia sekwencja kierunków zewnętrznego pola prowadzi do monotonicznych zmian położenia równowagi



Procedura pomiarowa cd.

- różne kierunki zewnętrznego pola magnetycznego [$(+|B_x|, +|B_z|)$, $(+|B_x|, -|B_z|)$, $(-|B_x|, -|B_z|)$, $(-|B_x|, +|B_z|)$] odpowiadają różnym położeniom równowagi
- odpowiednia sekwencja kierunków zewnętrznego pola prowadzi do monotonicznych zmian położenia równowagi



Symulacja trajektorii cząstek superparamagnetycznych

Uwzględniono:

- lepkość ośrodka
- siłę wyporności
- oddziaływania elektrostatyczne* z podłożem (przybliżenie Derjaguina, „uśrednione podłoże”)
- siły magnetyczne

Podstawowe założenia upraszczające:

- objętość kulki magnetycznej przybliżona dipolem o jednakowym z nią momencie magnetycznym
- trzy warstwy magnetyczne Co zastąpione jedną o sumarycznej grubości 2.1 nm
- ściany pojemnika tylko na kierunku -z

Nie uwzględniono:

- inercji kulek superparamagnetycznych
- oddziaływań między kulkami (magnetostatycznych, elektrostatycznych, hydrodynamicznych)
- wpływu niejednorodności podłoża (obszary pokryte lub nie warstwą Au) na oddziaływania elektrostatyczne
- wpływu strukturyzacji (topografia podłoża) na oddziaływania hydrodynamiczne
- efektów mikromagnetycznych (skończona koercja subwarstw magnetycznych etc.)

*globule tłuszczu w mleku – średnica ok. 4 μm

Symulacja trajektorii cząstek superparamagnetycznych

$$\vec{F}_m = \frac{1}{2\mu_0} \chi V \nabla(\vec{B}^2)$$

$$\vec{B} = \vec{B}_{wev} + \vec{B}_{zew}$$

$$\vec{B}_{zew} = \vec{B}_{zew}(t)$$

$$\vec{F}_S = 6\pi r_B \eta f_R(z_B - r_B) \dot{\vec{r}}$$

$$\vec{F}_D = (128k_B T \rho_\infty \pi r_B \gamma_B \gamma_s / \kappa) e^{-\kappa(z_B - r_B)}$$

$$\gamma = \tanh(\nu e \psi_0 / 4k_B T)$$

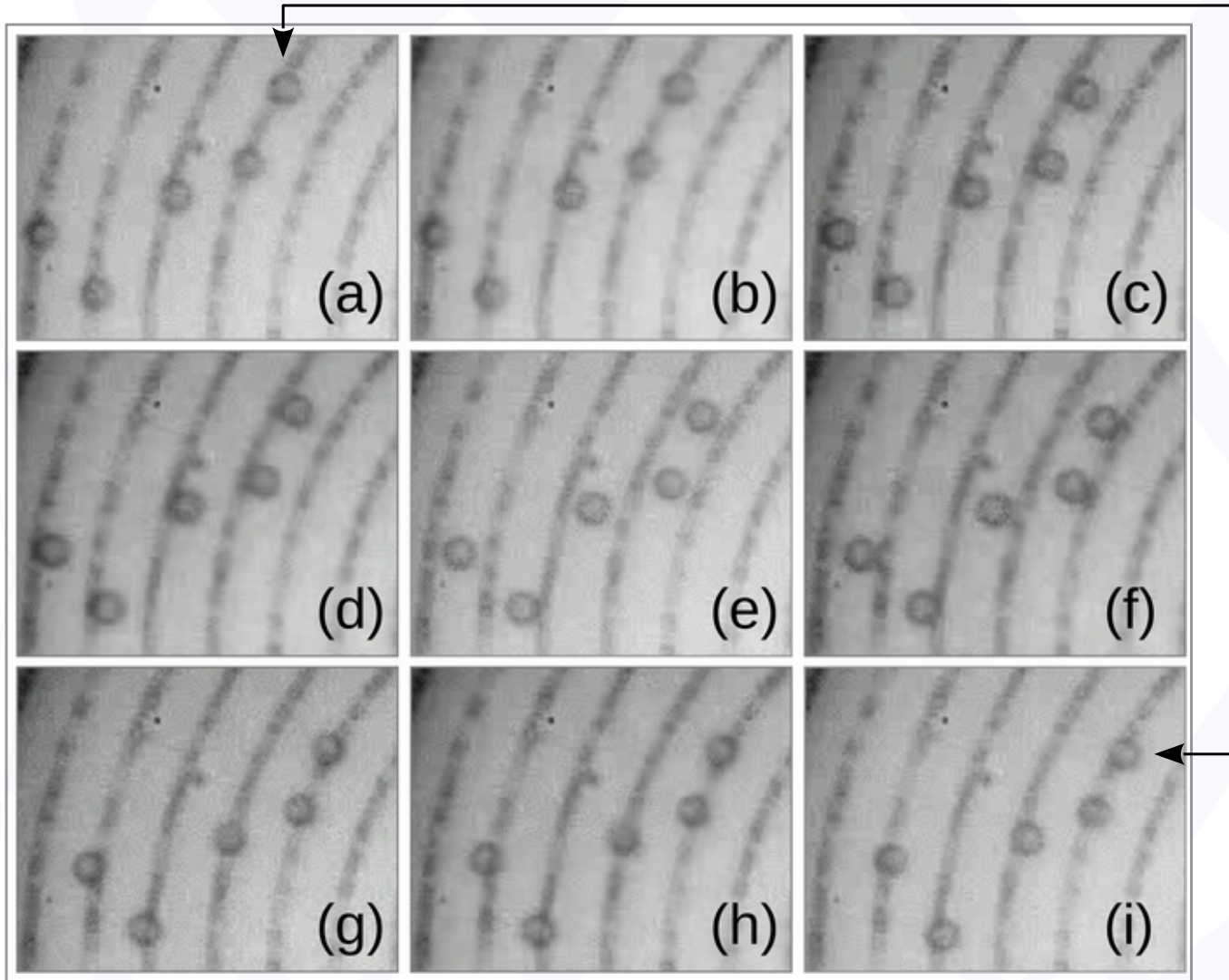
$$\vec{F}_S + (\vec{F}_m + \vec{F}_D + \vec{F}_g + \vec{F}_b) = \frac{4}{3} r_B^3 \rho \cdot \ddot{\vec{r}}$$

$$\vec{F}_S + (\vec{F}_m + \vec{F}_D + \vec{F}_g + \vec{F}_b) = 0$$

siła wyporu

siła grawitacji

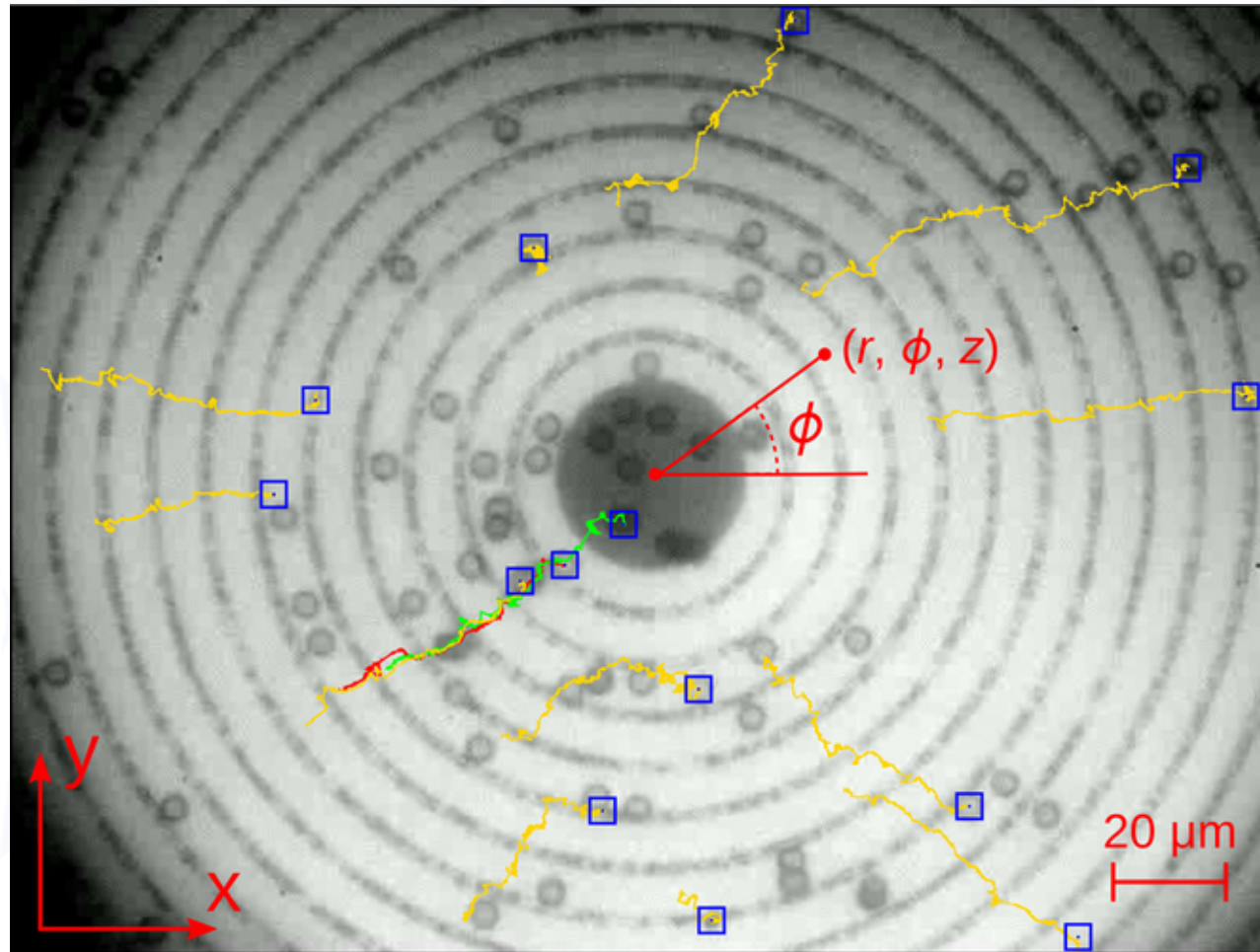
Wyniki eksperymentalne



- W jednym cyklu zmian pola superparamagnetyczne kulki przesuwają się o jeden przestrzenny period struktury

Image sequence extracted from a movie for the 4 μm sized SPBs at equal time intervals of 125 ms recorded for a driving field of 1 Hz, i.e., for one field period, with field amplitudes of $H_x = 1.2$ kA/m and $H_z = 1.6$ kA/m. The width of the images is 55 μm .

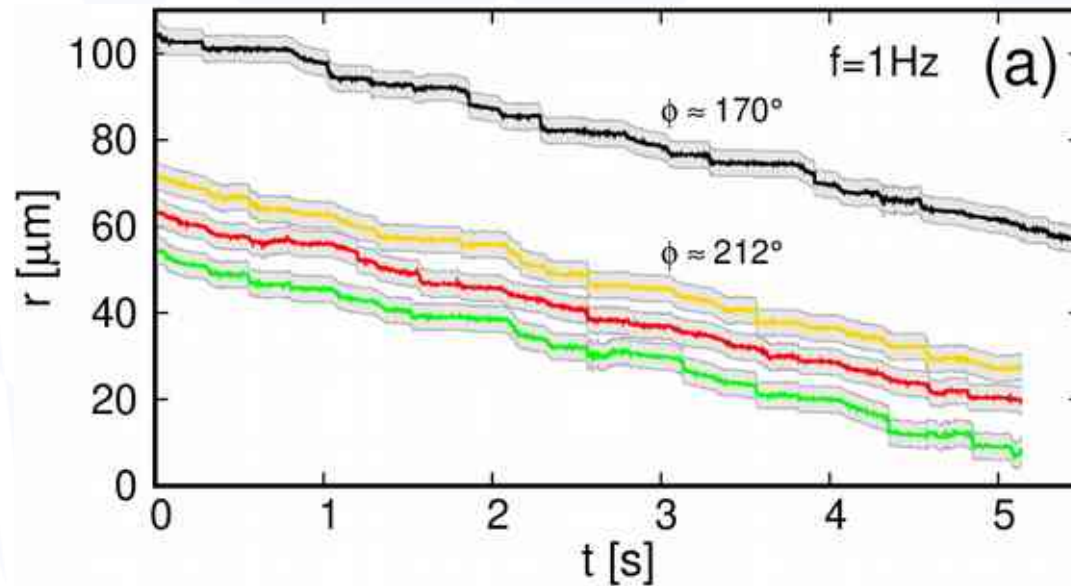
Wyniki eksperymentalne



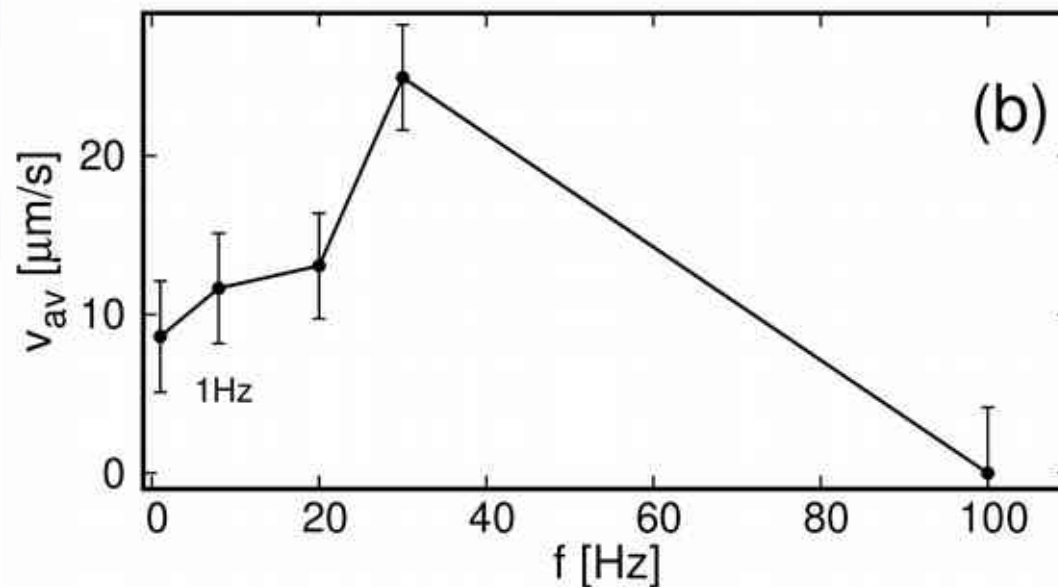
- Kulki odległe od osi y poruszają się wzdłuż promienia w kierunku centrum magnesów lub oddalają się od niego
- Kulki znajdujące się początkowo w pobliżu osi y (nad magnesami) wykonują oscylacje lub poruszają się prostopadle do promienia
- duży kontrast obrazu podłoża utrudnia automatyczne śledzenie ruchu kulek (Video Spot Tracker)

Last frame from a movie showing the movement of the 4 μm diameter SPBs over the Au/Co/Au ML topographically patterned into a set of concentric hollow cylinders. The cylinders are 7 μm wide, and the spacing between edges of the neighboring cylinders is 2 μm . The external field ($H_x = 1.2$ kA/m and $H_z = 1.6$ kA/m) changed its direction clockwise, looking from the y direction, starting from a $(++)$ orientation. The yellow, red, and green lines show the in-plane projections of automatically tracked experimental trajectories of exemplary SPBs. Note that all the beads move from left to right. The blue squares indicate the end positions of the tracked SPBs, which do not necessarily correspond to the final bead position in the movie in case that the tracker lost the bead position during the tracking routine.

Wyniki eksperymentalne



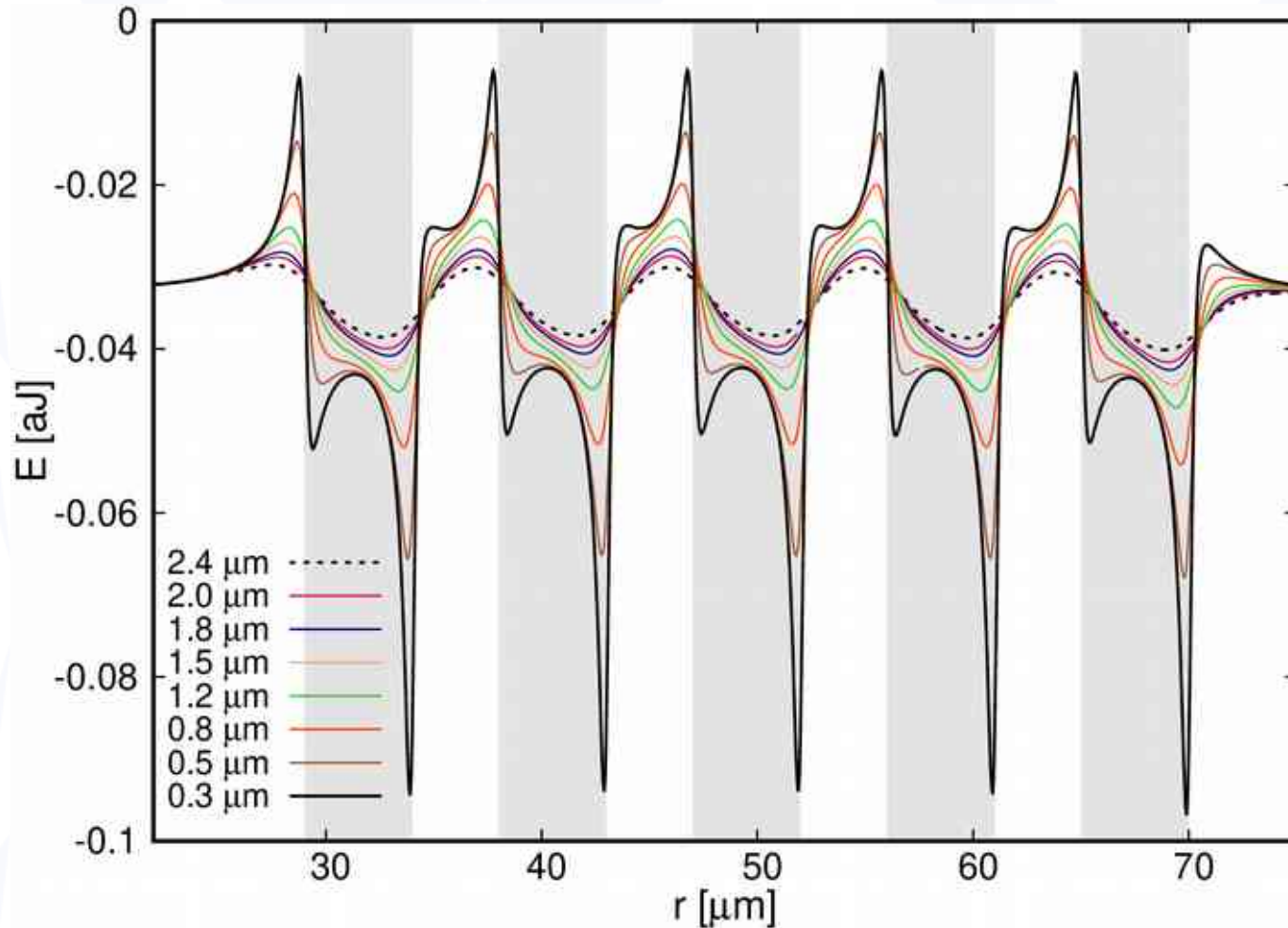
(a) Exemplary experimental time dependencies of the $4\text{ }\mu\text{m}$ sized SPB radial position when moving at different angles ϕ with respect to the x-axis of the coordinate system (see the previous slide).



(b) Average SPB velocity as a function of the external fields' driving frequency for $\phi \approx 0^\circ$ determined from the distance the SPBs covered within a time span of 2 s. The data point for each frequency refers to a single experimental trajectory, where the indicated error was derived from the uncertainty in the SPB trajectory.

- Powyżej **krytycznej częstotliwości** zmian pola magnetycznego kulki nie poruszają się monotonicznie lecz wykonują oscylacje w obrębie jednego periodu przestrzennego
- Dla małych częstotliwości wzbudzeń średnia prędkość kulek, w szerokim zakresie kątów początkowych ϕ , nie zależy od ich (ϕ) wartości

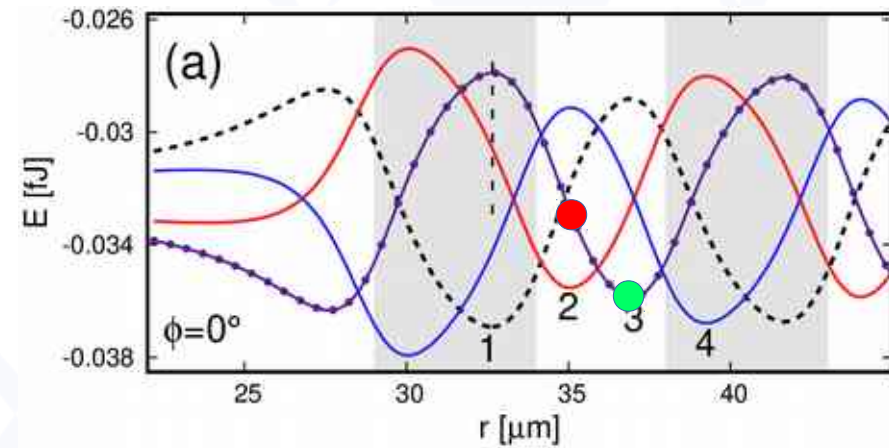
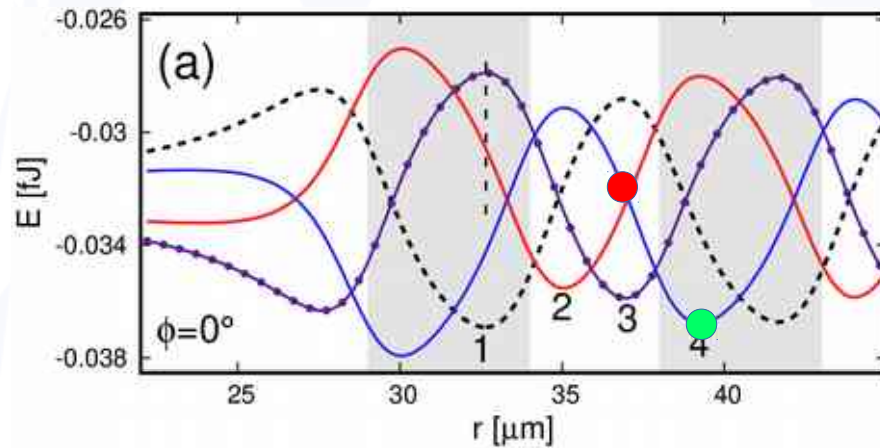
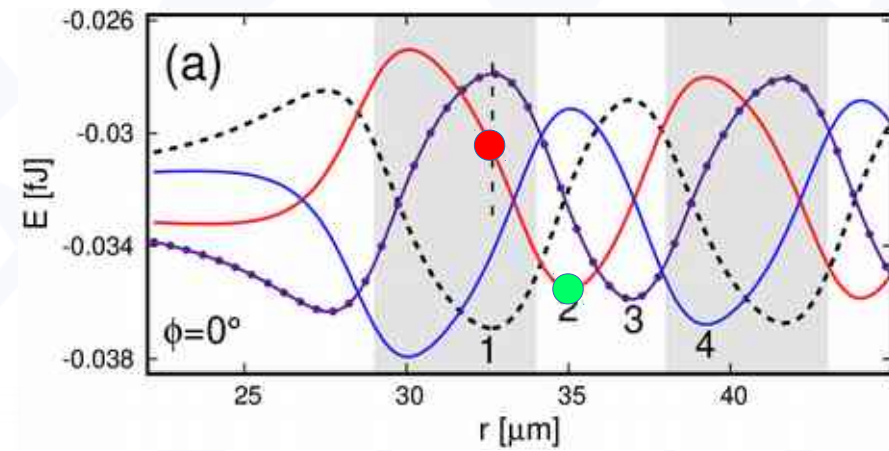
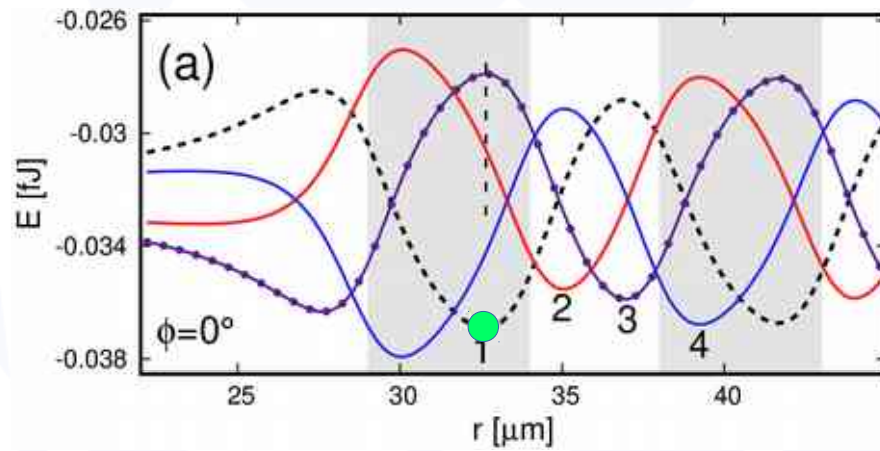
Energia w funkcji położenia kulki superparamagnetycznej



- w miarę wzrostu odległości kulki od strukturyzowanego podłoża maleje głębokość minimów energii oraz liczba minimów przypadająca na okres przestrzenny

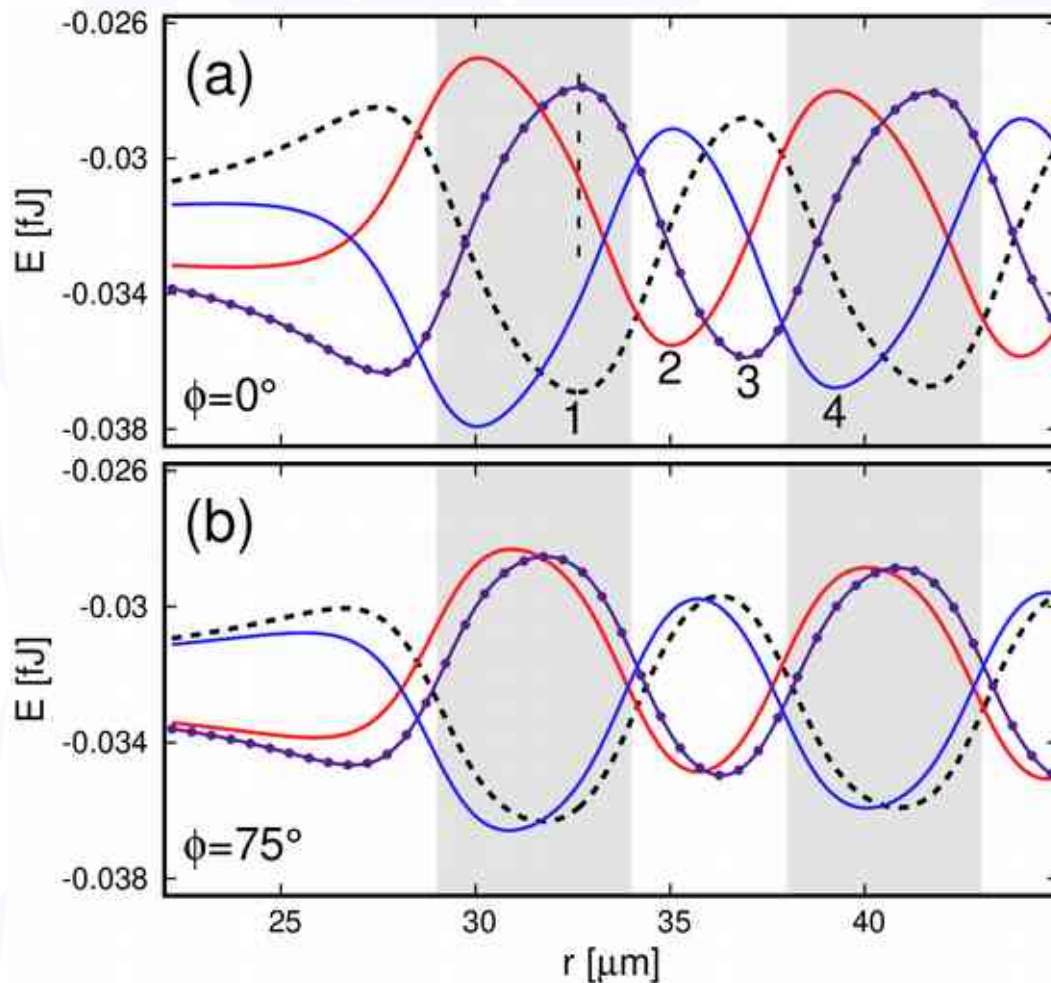
Calculated radial coordinate dependence of the 0.4 μm sized SPB's magnetic potential energy landscape based on magnetic dipole approximation of the SPB's magnetic moment ($\varphi = 0^\circ$). The results are shown for different heights z_B of the model bead center over the substrate surface. The external field in the calculation was $H_x = 1.2 \text{ kA/m}$ and $H_z = 1.6 \text{ kA/m}$, and the susceptibility of the SPB was set to 0.4. The z_B values are 2.4, 2.0, 1.8, 1.5, 1.2, 0.8, 0.5, and 0.3 μm . The grayshaded stripes indicate the r -positions of the magnetic stripes. Note that over the stripes, for $\Delta z > 0$, $E(r, z_B) < E(r, z_B + \Delta z)$ for each pair of curves.

Energia w funkcji położenia kulki superparamagnetycznej – wpływ kierunku pola

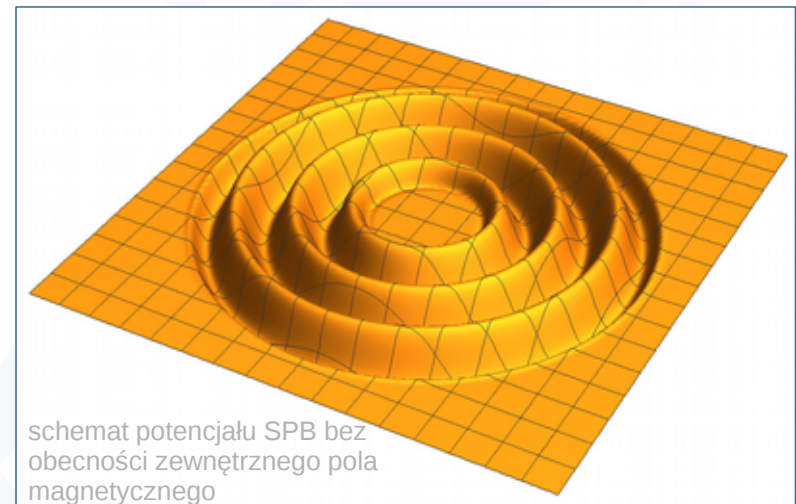


Calculated dependencies of the energy of a 4 μm SPB in the dipole approximation on its r -coordinate for various orientations of the external magnetic field ($z_B = 2.4$ μm): (a) for $\phi=0$ Deg and (b) for $\phi=75$ Deg. The components of the external field in the calculation were $H_x = 1.2$ kA/m and $H_z = 1.6$ kA/m. The curves 1–4 correspond to a clockwise change of the external field direction from $([+H_x, +H_z], [+H_x, -H_z], \dots)$. The gray-shaded stripes indicate the r -ranges of the magnetic stripes, and the dashed vertical line in (a) is placed at the minimum energy r -position of curve “1”.

Energia w funkcji położenia kulki superparamagnetycznej – wpływ kierunku pola

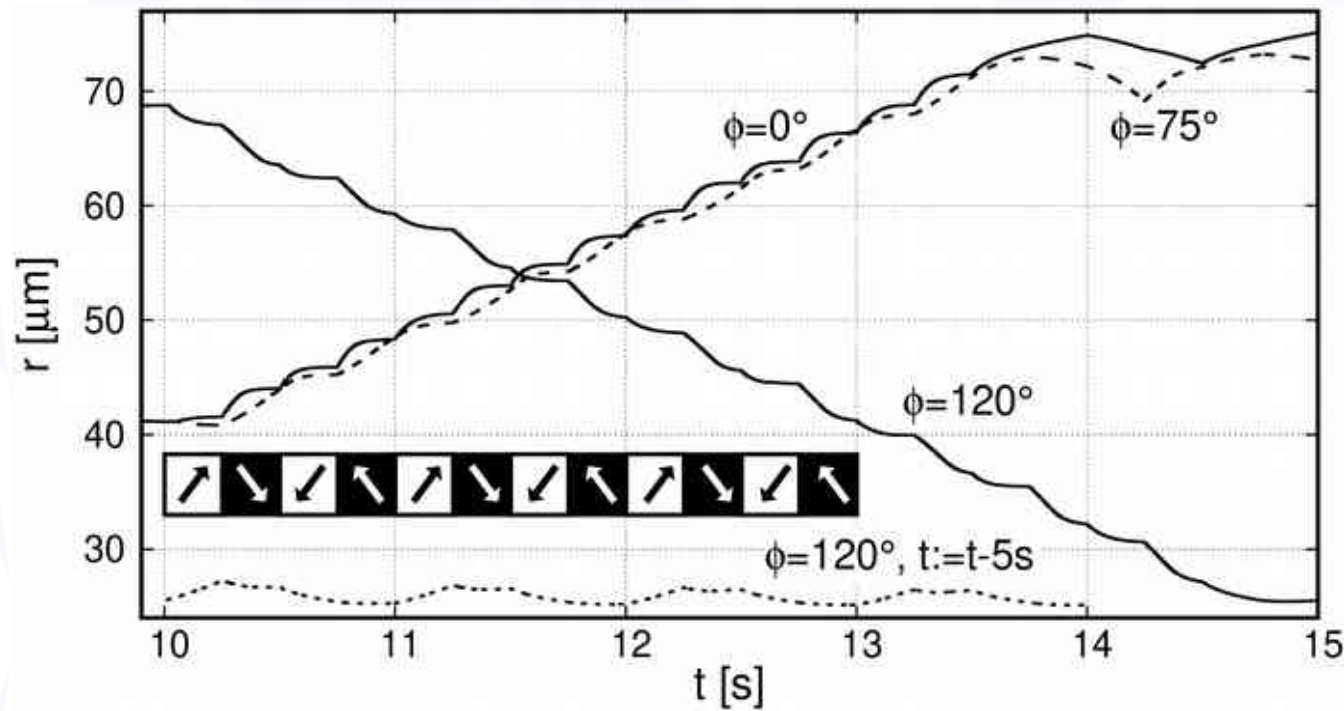


- zmiany kierunku zewnętrznego pola zmieniają położenie minimów energii magnetostatycznej
- w rzeczywistym ruchu SPB może zmieniać swoją wysokość nad podłożem
- dla radialnych kierunków (wartość ϕ) bliskich osi y krzywe $E(r)$ dla jednakowych składowych pola wzdłuż osi z degenerują się



Calculated dependencies of the energy of a 4 μm SPB in the dipole approximation on its r -coordinate for various orientations of the external magnetic field ($z_B = 2.4 \mu\text{m}$): (a) for $\phi = 0^\circ$ and (b) for $\phi = 75^\circ$. The components of the external field in the calculation were $H_x = 1.2 \text{ kA/m}$ and $H_z = 1.6 \text{ kA/m}$. The curves 1–4 correspond to a clockwise change of the external field direction from $([+H_x, +H_z], [+H_x, -H_z], \dots)$. The gray-shaded stripes indicate the r -ranges of the magnetic stripes, and the dashed vertical line in (a) is placed at the minimum energy r -position of curve “1”.

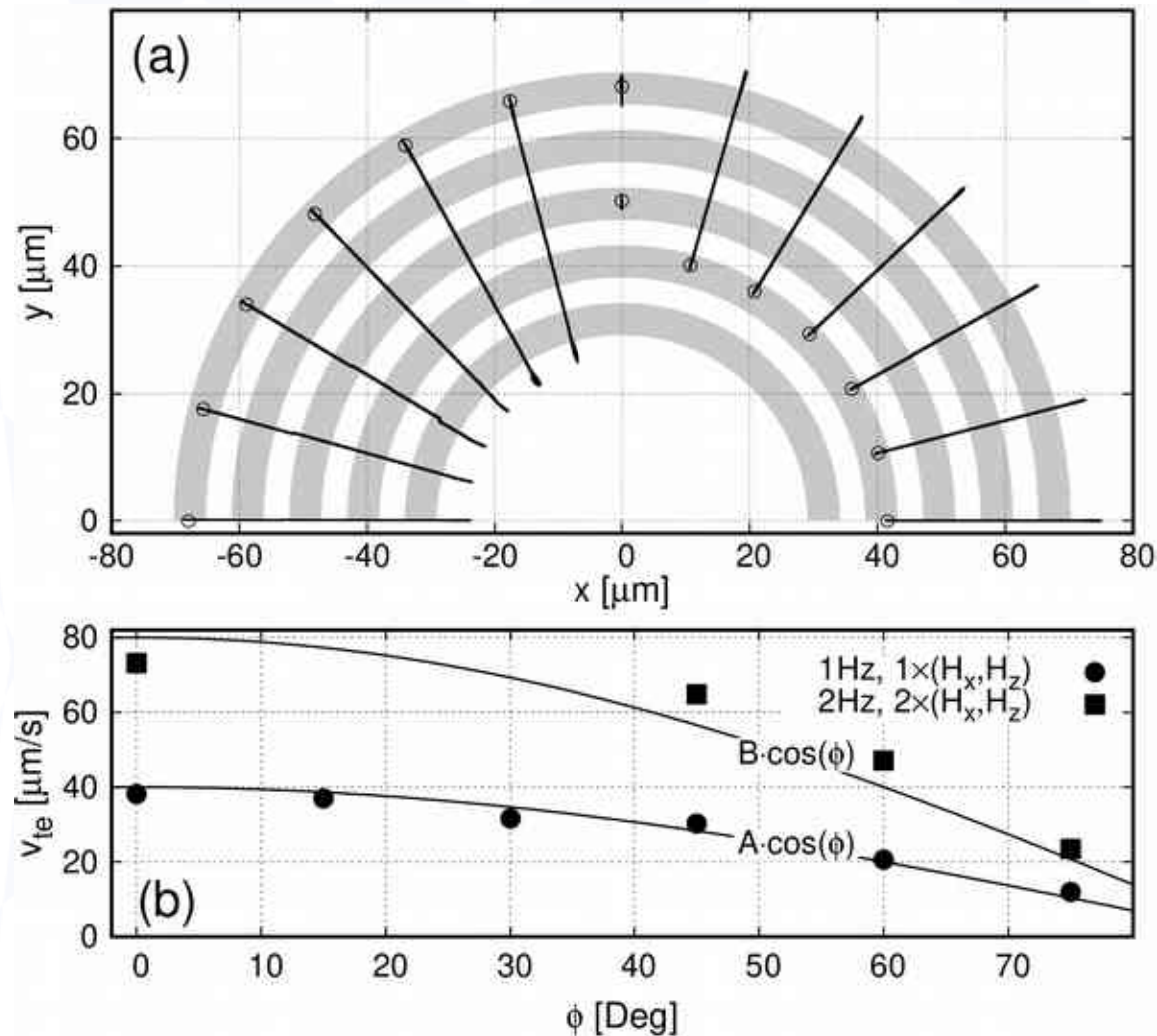
Symulacja trajektorii SPB



- dla małych częstotliwości zmian pola magnetycznego charakter symulowanego ruchu kulek jest zbliżony dla szerokiego zakresu początkowych kątów ϕ

Characteristic $r(t)$ dependencies calculated for $4\ \mu\text{m}$ SPBs placed initially at $z_1 = 2.4\ \mu\text{m}$ and for three different trajectory angles. In the simulation, the external magnetic field was turned on at $t = 10\ \text{s}$, and the field sequence ($H_x = \pm 1.2\ \text{kA/m}$ and $H_z = \pm 1.6\ \text{kA/m}$) was repeated with a frequency of $f = 1\ \text{Hz}$. The arrows show the direction of the external magnetic field, within the xz -plane, at various stages of the simulation. The lower dashed curve illustrates the SPB oscillations obtained for $\phi = 120\ \text{Deg}$ and t between $15\ \text{s}$ and $19\ \text{s}$.

Symulacja trajektorii SPB

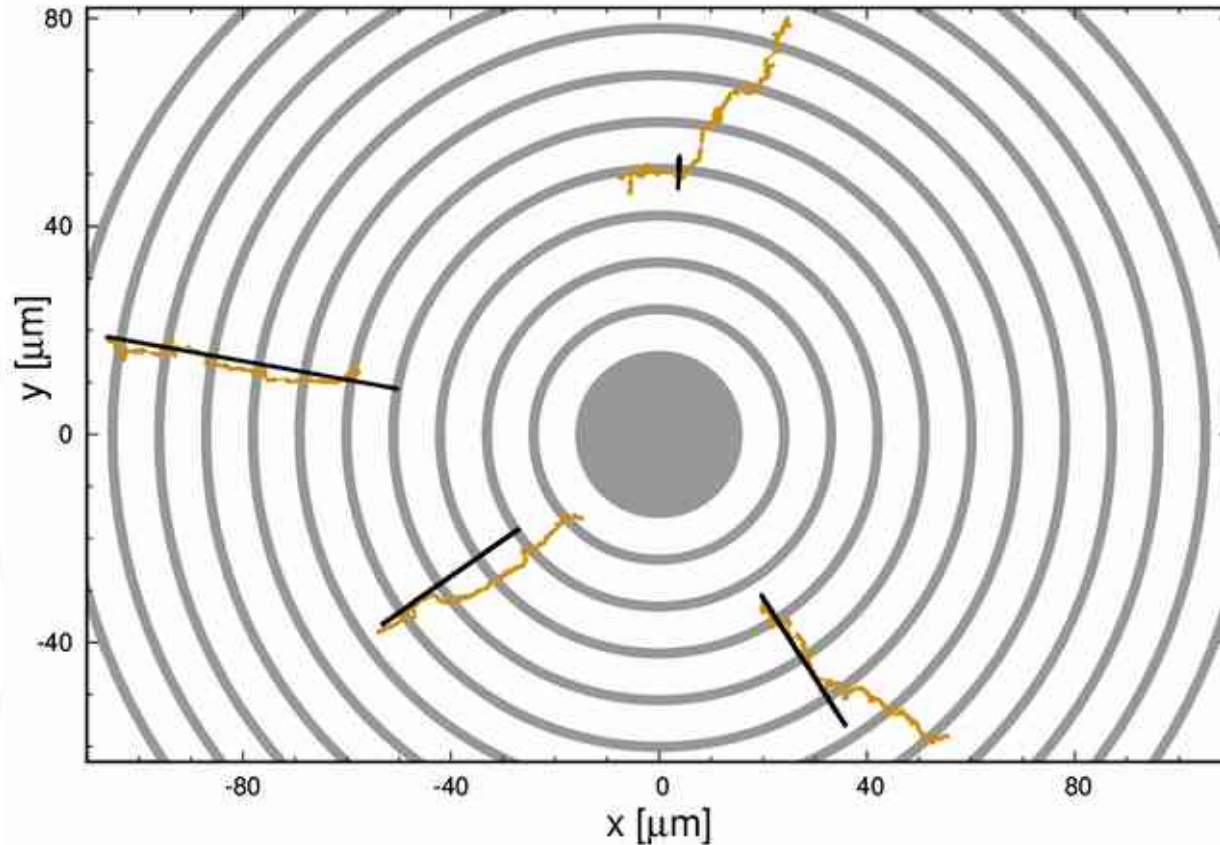


- symulacje stosunkowo dobrze odwzorowują zachowanie kulek dla niskich częstotliwości zmian pola magnetycznego oraz dla początkowych kątów trajektorii znacznie mniejszych od 90Deg

źródło: M. Urbaniak, D. Holzinger, A. Ehresmann, F. Stobiecki, *Biomicrofluidics* **12**, 044117 (2018)

(a) Simulated in-plane trajectories of the 4 μm sized SPBs initially placed at various positions (marked with small circles) and at the same height over the substrate ($z_B = 2.4 \mu\text{m}$). The gray annuluses signify the positions of the radially symmetric magnetic pattern. The frequency of the external magnetic field was chosen to be 1 Hz. (b) Steady state-velocity, v_{te} , determined from the dependencies shown in panel (a) (dots) and Fig. 12(b) (squares), as a function of the initial angle ϕ of the SPB's trajectory. The velocities were determined using a radial distance covered by the SPB within 0.01 s after the external field direction was changed to $(-H_x, H_z)$. Note that the dependencies correspond to different external field amplitudes and frequencies of its variations. The lines are guides for the eye and show a cosine function scaled by constants A and B.

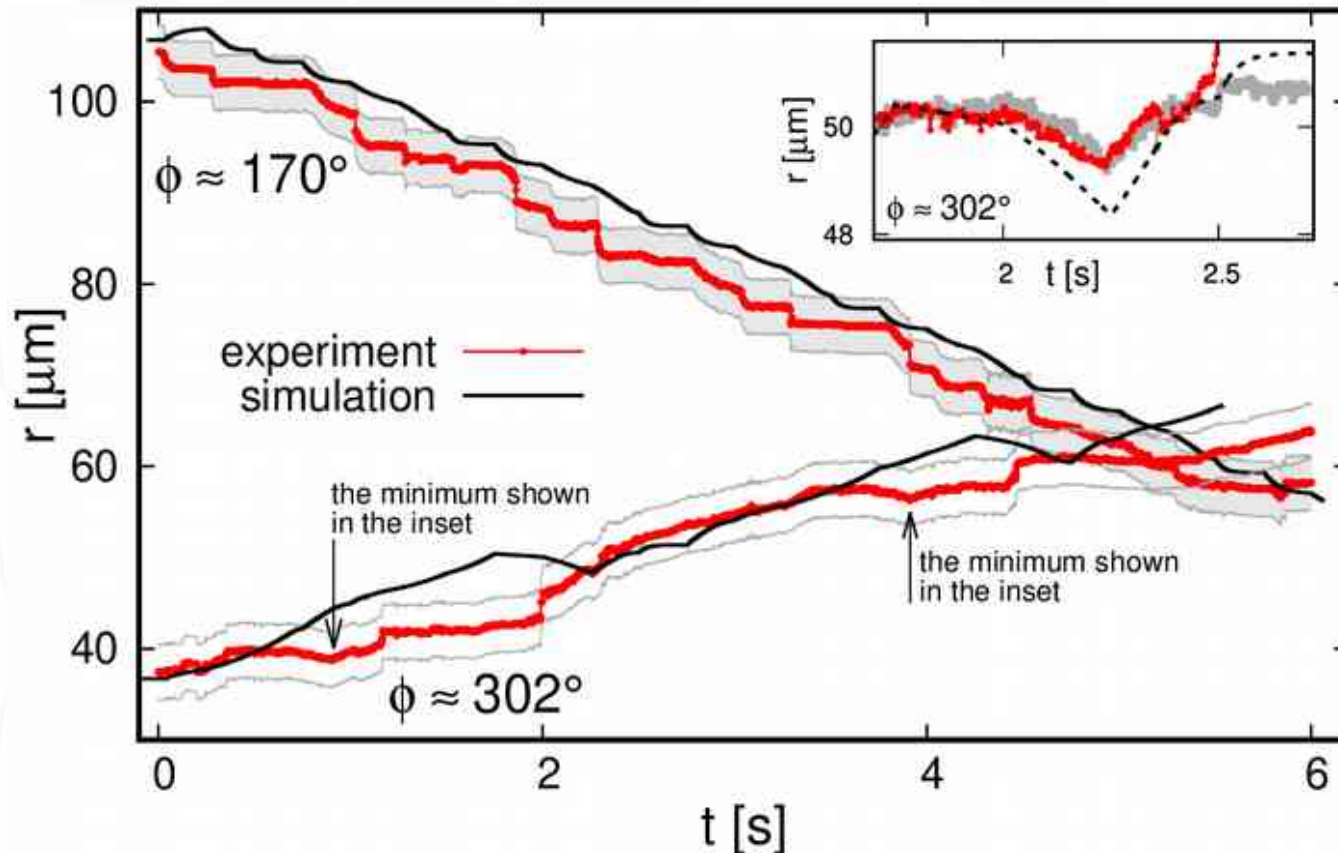
Symulacja trajektorii SPB



- symulacje stosunkowo dobrze odwzorowują zachowanie kulek dla niskich częstotliwości zmian pola magnetycznego oraz dla początkowych kątów trajektorii φ znacznie mniejszych od 90Deg
- dla φ bliskich 90 Deg kulki poruszają się wzdłuż osi x pod wpływem sił Browna co nie jest uwzględnione w symulacjach

Direct comparison between the **experimentally observed (dark yellow dots)** and simulated in-plane trajectories of the SPBs with a diameter of 4 μm . In the simulations, the bead started in an xy-position close to the one seen in the experiment and with a height over the substrate $z_B = 2.4 \mu\text{m}$.

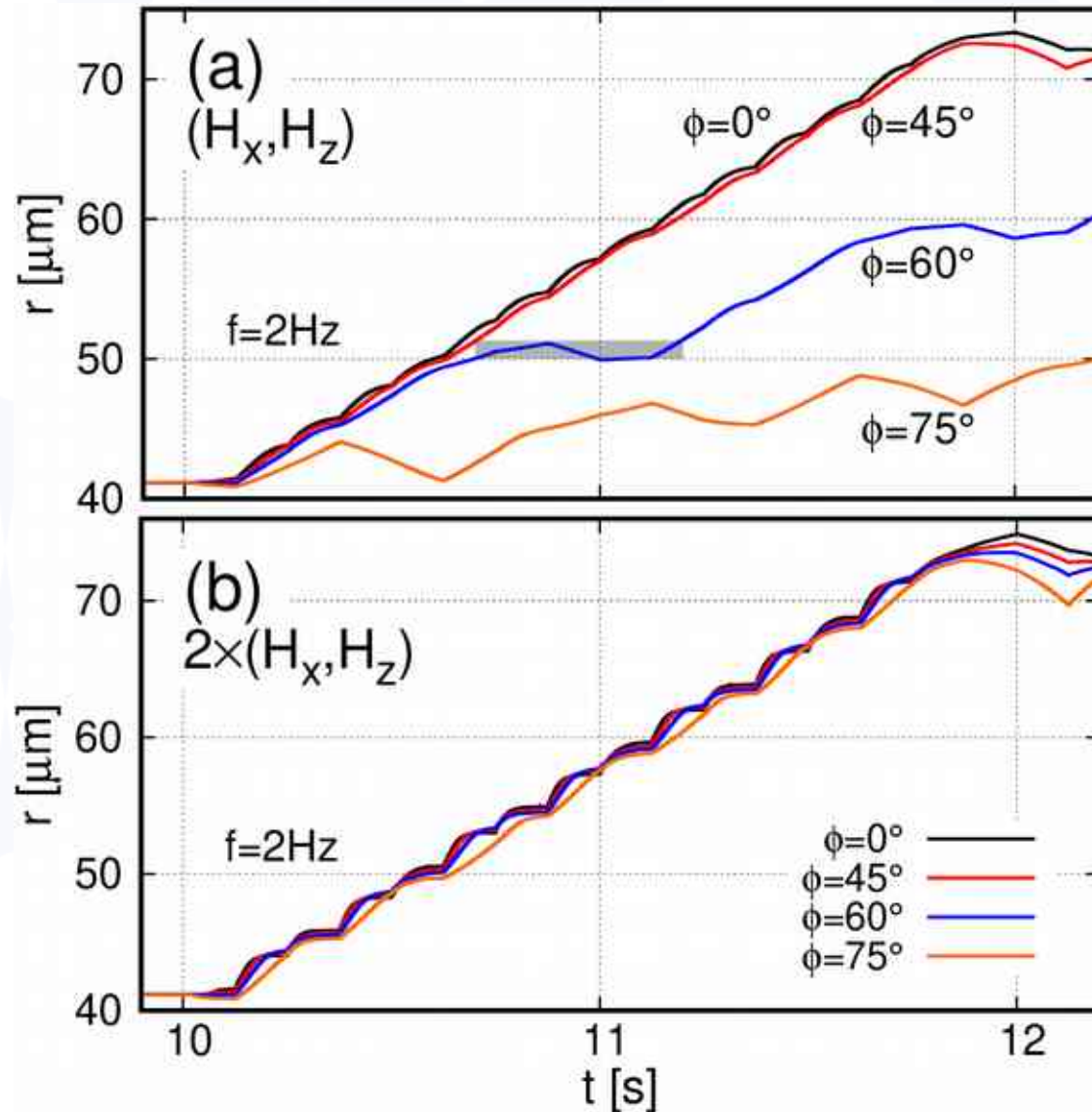
Symulacja trajektorii SPB



- zarówno w eksperymencie jak i w symulacjach obserwuje się chwilowy ruch kulek w kierunku przeciwnym do długookresowej prędkości średnie
- eksperymentalne prędkości średnie, dla małych częstotliwości, są dobrze odwzorowane

Comparison between the experimental (red dots) and corresponding simulated time dependencies of 4 Im SPB radial coordinate r . The two pairs of curves are the same as those shown in Fig. 9. Note that the experimental starting positions of SPBs do not coincide exactly with those seen in the simulations as there the SPBs not always reach the equilibrium position before the field was switched on. The inset again shows the curves for $\phi = 302$ Deg, but this time the experimental dependence is shifted to the right by 1.33 s (red circles) and to the left by 1.67 s (gray circles) relative to the simulated one (dashed trajectory) to allow for a more direct comparison of the fine structure: in both curves, the SPBs occasionally move backwards, resulting in a reduced average velocity.

Symulacja trajektorii SPB



- symulacje wskazują, że zmiana częstotliwości zmian pola lub jego amplitudy wykorzystane mogą być do zmiany zakresu początkowych kątów trajektorii ϕ dla których obserwuje się „ogniskowanie” kulek magnetycznych

Dwukrotne zwiększenie amplitudy zewnętrznego pola magnetycznego powoduje, że kulki poruszające się po różnych trajektoriach ponownie charakteryzują się jednakową średnią prędkością ruchu

Trajectories of 4 m sized SPBs calculated for four different initial angles ϕ (0 , 45 , 60 , and 75 Deg) for a fixed frequency of 2 Hz and two different values of the external magnetic field: (a) (H_x, H_z) and (b) $2 \times (H_x, H_z)$. The gray rectangle indicates one of the time ranges in which the SPB travels thrice over the same region.

Wnioski

- litograficznie strukturyzowane układy wielowarstwowe typu Co/Au mogą być wykorzystywane jako podłoża do magnetoforezy
- zaprezentowany układ koncentrycznych magnesów cienkowarstwowych może być wykorzystywany do soczewkowania analitów np. w celu zwiększenia prawdopodobieństwa reakcji między dwoma rodzajami cząsteczek
- alternatywny układ, wykonany z dwóch geometrycznie jednakowych części charakteryzujących się różnymi polami przełączania, może być wykorzystany do koncentrowania analitów w geometrycznym środku układu