

干细胞培养微流控芯片培养区与剪切力有关的分析与设计

王 桐, 陈 涛, 左铁钊
(北京工业大学 激光工程研究院, 北京 100124)

摘 要: 针对剪切力是芯片上影响干细胞培养的重要因素, 其大小主要由培养基的流速梯度决定, 利用 realizable κ - ε 有限元模型, 对 8 种培养区结构进行了流体力学仿真, 得出了培养区内的流速分布, 并计算剪切力; 通过对比分析, 按照减小剪切力、减少液体残留 2 条要求, 从 8 种结构中筛选出 1 种适合为干细胞培养提供培养液的结构. 根据设计结果总结出 2 条设计经验.

关键词: 干细胞; 微流控; 生物芯片; 有限元法

中图分类号: Q 813; TH 79

文献标志码: A

文章编号: 0254-0037(2014)04-0481-07

Analysis and Design on Culturing Area of Microfluidic Chip for Culturing Stem Cells Focusing on Shear Force

WANG Tong, CHEN Tao, ZUO Tie-chuan

(Institute of Laser Technology, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China)

Abstract: Shear force is of significance for culturing stem cells on the biochip, which depends mainly on velocity gradient of the culture medium. Based on fluid dynamics, eight types of culturing areas were studied using finite element method and realizable κ - ε model in this paper. Distribution of velocity in culturing area and shear force in the center area were obtained. By comparing analysis results, one was selected from eight types of culturing areas according to the requirements of minimizing shear force and remaining less old medium, which were fitful for providing medium for stem cells on microfluidic chip. According to the results, two pieces of design experience were summed up.

Key words: stem cells; microfluidics; biochip; finite element method

细胞微流控芯片早在 20 世纪 90 年代就已出现^[1], 其优势除普通生物芯片所具备的两大优势 (并行大量反应缩短研究周期、微升至纳升级反应节约试剂消耗降低成本) 外主要体现在以下 3 点: 1) 芯片结构尺寸与细胞尺寸相当, 因此细胞在芯片上的微环境比传统实验环境更接近于细胞在活体上的微环境^[2]; 2) 芯片上的微小环境利于细胞培养所需的重要因子 (例如生长因子) 的积累, 因此易于形成利于细胞培养的稳定的微环境^[3]; 3) 微流控芯片

能在几微米至百微米尺度下对细胞实现操纵控制^[4]. 鉴于这些优势, 微流控芯片已被视为研究细胞微环境^[5]、细胞代谢^[6]尤其是单细胞代谢^[7]等研究领域的重要研究手段之一.

干细胞作为生命体内一种非特异化的细胞^[8], 在细胞治疗^[9-10]、再生医学^[11-12]、抑制恶性肿瘤^[13]和了解生命本质^[14]等方面具有重要意义, 已引起人类社会的广泛关注. 干细胞培养技术作为干细胞研究的基础, 其在传统条件下的培养技术^[15]已相对成

收稿日期: 2012-05-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (50875007); 国家重大科学仪器专项 (2011YQ030112)

作者简介: 王 桐 (1981—), 男, 博士研究生, 主要从激光微纳技术、生物芯片方面的研究, E-mail: wangtong365@foxmail.com

熟,在生物芯片上的培养技术则于近年刚刚展开研究^[16-18].

细胞对所处微环境十分敏感,而干细胞更是如此.尤其是在表面积/体积比(芯片)相对较大的条件下^[19],因微环境内的液体流动导致细胞所受到的剪切力^[20-27]、细胞代谢产物的运输^[28]、材料表面吸附力^[29]、材料表面黏附力^[30]、材料毒性^[31]以及材料生物兼容性^[32]等因素都会对细胞产生影响,决定着相关研究的成败.因此,微流控细胞芯片在设计时对剪切力和传输十分关注,对芯片材料的选择要求严格.由于篇幅的限制,本文仅关注与剪切力有关的设计与分析.

目前,细胞培养芯片(含干细胞芯片)多为点阵芯片,培养过程中培养基通常采用传统的换液方式,较少考虑培养过程中剪切力对细胞的影响.这样的芯片结构带来的直接好处是易于并行大量反应缩短研究周期,劣势是不易于对细胞实现操纵控制.

本文为实现后续工作中通过操纵控制干细胞及其微环境达到研究干细胞小生境与细胞代谢的目的,设计了8种培养区结构;同时,针对8种培养区结构进行了流体力学分析,筛选出能同时满足减小剪切力、减少液体残留2条要求的1种培养区结构,用以完成干细胞在芯片上的培养.

1 剪切力的计算及影响阈值

1.1 剪切力的计算

微流控芯片上细胞受到的剪切力是细胞膜受到切向作用而在细胞内部产生的力^[19],其中切向作用主要来源于细胞周围液体的流动.无论是在芯片上还是在传统培养环境下,剪切力对细胞,尤其是对基因表达^[20]、信号通路^[21]、细胞增殖^[22]、细胞凋亡^[23]、细胞迁移^[22,24]、细胞膜渗透性^[25]、细胞排布^[26]、细胞结构特性^[27]等具有重要影响.细胞所受剪切力的大小与剪切压和细胞大小有关.

剪切压在二维微通道中的大小可通过牛顿黏滞定律^[19]计算

$$\tau_x = -\mu \frac{dv}{dx} \quad (1)$$

式中: τ_x 为剪切压在 x 方向上的分量; μ 为流体黏滞系数; v 为流体流速; x 为距微小区域边缘的距离; $\frac{dv}{dx}$ 为流速梯度在 x 方向上的分量.

各变量的关系如图1所示.在三维结构中,单个细胞所受到的剪切力为

$$f_{\text{shear}} = \oint_s \tau ds \quad (2)$$

式中: f_{shear} 为单个细胞受到的剪切力; τ 为剪切压; s 为细胞在液体流入方向的表面积.

由式(1)(2)可看出,单个细胞受到的剪切力 f_{shear} 的大小与流体黏滞系数成正比,并与流速梯度、细胞表面积有关.因此,在流体和细胞种类不变的条件下,若需减小剪切力,则必须减小流速梯度.

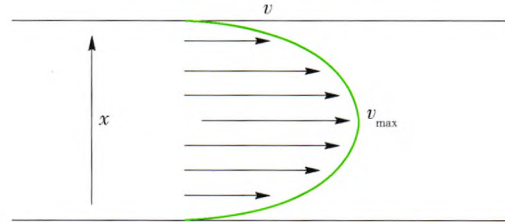


图1 剪切压与剪切力的计算

Fig. 1 Computing shear stress and shear force

1.2 剪切力对干细胞的影响阈值

目前,有关剪切力影响干细胞方面的研究虽然已经开展了十几年,但由于研究手段^[33]等方面的限制,加之干细胞种类繁多、特性不同导致影响阈值也不相同,因此剪切力对干细胞的影响阈值还没有明确的定量数值.但是,从已报道的能对干细胞产生影响的剪切力平均数值来看,其值最小为 $50 \mu\text{N}/\text{cm}^2$,如表1所示.因此,若要干细胞受到的影响较小就要使细胞受到的剪切力远远小于 $50 \mu\text{N}/\text{cm}^2$,并尽可能小.

表1 干细胞与剪切力

Table 1 Stem cells vs. shear force $\mu\text{N}/\text{cm}^2$

干细胞	平均剪切力
Murine ESC-derived ESC	58 ^[34]
Human placenta-derived multipotent cells	60 ^[35]
Murine ESC	50 ^[36]

注:ESC为embryonic stem cells的简称.

2 芯片总体结构与8种培养区结构

2.1 芯片总体结构

芯片总体结构如图2所示,其中:A区a、b和c通道实现可控细胞数量的进样;B、E区d、e、i和j通道实现细胞培养基的流入与流出,同时,实现后期细胞实验研究与鉴定所需试剂的流入与流出;C区为细胞培养区,细胞在此区域内进行培养,并在此完成后续试验与鉴定,因此,本文重点关注此区域内的液体流速和细胞在此区域内受到的剪切力;D区为气

室, f 和 h 通道实现气氛环境的保持与更新, g 通道为预留通道, 用于保持气室压强恒定和监测气压。

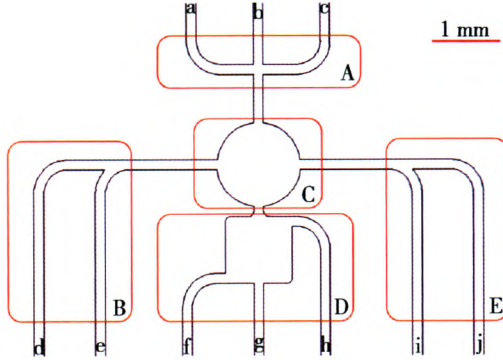


图 2 芯片总体结构

Fig. 2 Structure of the biochip

2.2 模型简化

在培养基、反应液和鉴定试剂更换的过程中, a、b 和 c 通道关闭, 使 A 与 C 两区互不影响; f、g 和 h 通道关闭, 使 C 与 D 两区互不影响。因此, 在考虑何种培养区结构能实现减小剪切力并减少液体残留时, 可将问题简化为流入通道、流出通道和培养区三者几何关系如何, 才能减小剪切力并减少液体残留。

2.3 8 种培养区结构

几何形状不同的微区结构会对干细胞产生不同程度的影响^[37-38], 目前这种影响的作用机理尚不清楚, 仅怀疑与血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 有关^[39-40]。相对于等边三角形、直角三角形、梯形、正方形、正五边形和正八边形结构的微区, 圆形微区结构内培养的的干细胞分化率较高^[37]。因此, 圆形微区内培养的的干细胞活性较好, 圆形微区对保持干细胞干性有利, 培养区的结构宜选用圆形。于是, 培养区和通道的几何关系就仅有 8 种可能, 如图 3 所示, 其中箭头表示了液体的流入方向。其尺寸参数为: 培养区直径 1 250 μm、通道宽度 150 μm、培养区和通道深度 150 μm。

3 有限元模型与仿真条件

3.1 Standard κ-ε 模型和 Realizable κ-ε 模型

在有限元流体力学分析中, 用来对液体流速进行仿真的经典模型为 Standard κ-ε 模型, 其传输方程^[41]为

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho\kappa) + \frac{\partial}{\partial x_i}(\rho\kappa u_i) = \frac{\partial}{\partial x_j} \left[\left(\mu + \frac{\mu_t}{\sigma_\kappa} \right) \frac{\partial \kappa}{\partial x_j} \right] + G_\kappa + G_b - \rho\varepsilon - Y_M + S_\kappa$$

和

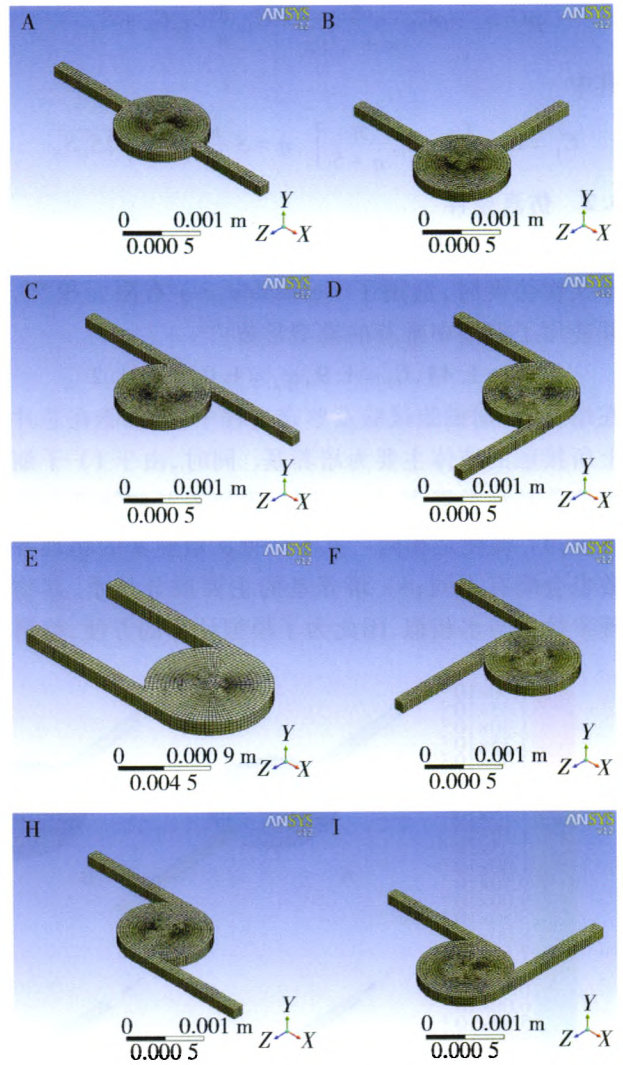


图 3 8 种培养区结构

Fig. 3 Structure of eight culturing areas

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho\varepsilon) + \frac{\partial}{\partial x_i}(\rho\varepsilon u_i) = \frac{\partial}{\partial x_j} \left[\left(\mu + \frac{\mu_t}{\sigma_\varepsilon} \right) \frac{\partial \varepsilon}{\partial x_j} \right] + C_{1\varepsilon} \frac{\varepsilon}{\kappa} (G_\kappa + C_{3\varepsilon} G_b) - C_{2\varepsilon} \rho \frac{\varepsilon^2}{\kappa} + S_\varepsilon$$

Realizable κ-ε 模型在经典模型的基础上, 进行了改进, 比经典模型更能准确预测平面和圆形节点的伸展率, 更适于对旋转均质剪切流、无边界剪切流、有压力梯度的通道和平面边界层流、无压力梯度的通道和平面边界层流及后向阶梯流的仿真^[42]。其传输方程^[42]为

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho\kappa) + \frac{\partial}{\partial x_i}(\rho\kappa u_i) = \frac{\partial}{\partial x_j} \left[\left(\mu + \frac{\mu_t}{\sigma_\kappa} \right) \frac{\partial \kappa}{\partial x_j} \right] + G_\kappa + G_b - \rho\varepsilon - Y_M + S_\kappa$$

和

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho\varepsilon) + \frac{\partial}{\partial x_i}(\rho\varepsilon u_i) = \frac{\partial}{\partial x_j} \left[\left(\mu + \frac{\mu_t}{\sigma_\varepsilon} \right) \frac{\partial \varepsilon}{\partial x_j} \right] +$$

$$\rho C_1 S_\varepsilon - \rho C_2 \frac{\varepsilon^2}{\kappa + \sqrt{\nu \varepsilon}} + C_{1\varepsilon} \frac{\varepsilon}{\kappa} C_{3\varepsilon} G_b + S_\varepsilon$$

其中

$$C_1 = \max \left[0.43, \frac{\eta}{\eta + 5} \right], \eta = S \frac{\kappa}{\varepsilon}, S = \sqrt{2S_{ij}S_{ij}}$$

3.2 仿真条件

鉴于芯片中主要为有压力梯度的通道层流^[42], 本文在仿真时, 选用了 Realizable κ - ε 有限元模型, 并使用了模型中推荐的模型常数^[43]

$$C_{1\varepsilon} = 1.44, C_2 = 1.9, \sigma_\kappa = 1.0, \sigma_\varepsilon = 1.2$$

在培养、后期细胞试验及鉴定过程中, 干细胞在芯片上所接触的液体主要为培养基. 同时, 由于 1) 干细胞培养基种类繁多; 2) 不同厂家培养基的物理参数各异; 3) 即使是相同厂家不同批次培养基的物理参数也会略有不同; 4) 培养基的主要成分是水, 其物理参数也与水相似, 因此为了模拟计算的方便, 将培

养基的物理参数近似为纯水(密度 998.2 kg/m^3 , 黏度 $1.003 \times 10^{-3} \text{ kg/(m}\cdot\text{s)}$). 温度环境设置为细胞培养温度 $37 \text{ }^\circ\text{C}$. 模型入口液体流量设置为 $662.4 \text{ mm}^3/\text{h}$ (入口平均速度 8.177 mm/s , 在不考虑黏性的情况下, 以该速度可将培养区内的液体更新 1 次). 模型出口设置为开放出口.

4 仿真结果与分析

仿真结果如图 4 所示, 箭头表示了液体的流入方向, 不同的颜色代表了不同的液体流速, 左侧标尺的单位为 m/s , 右侧为芯片中心横截面上的液体流速分布. 从图 4 中可看出, 液体流速较大部分(大于 3 mm/s)处于通道内和通道口附近, 这些位置不用于培养干细胞, 因此培养区内的靠近通道口的位置不计入有效培养区.

通过对培养区内液体流速进行统计, 得出液体

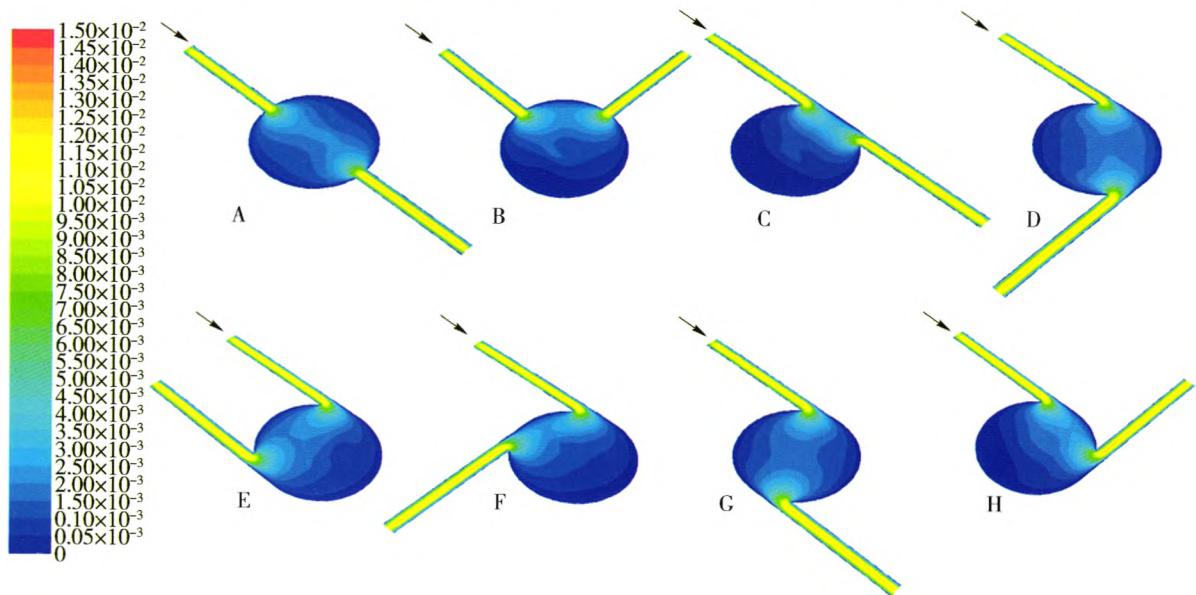


图 4 流速分布

Fig. 4 Distribution of velocity

流速较小部分($\leq 3 \text{ mm/s}$)所占体积的比例 R , 如图 5 所示. 从图 5 可以看出, 有效培养区体积占培养区体积的比例为 $72\% \sim 79\%$.

在有效培养区内, 按照液体流速进行区域划分. 在划分时, 所选方法的不同, 会导致计算得出的平均剪切压略有差异. 划分的区域越小, 划分方法引入的差异也越小, 计算所需的时间越长. 当划分的区域足够小时, 划分方法引入的差异已不足以改变剪切压的分布趋势.

本文按照液体流速的大小将有效培养区平均分为 6 个区域, 并得出各区域内的平均剪切压, 同时,

计算出有效培养区内的加权平均剪切压, 如表 2 所示. 由表 2 可看出, 8 种培养区结构中平均剪切压从 1.289 mPa 至 3.396 mPa 不等, 对应的剪切力(细胞大小按照 $80 \text{ }\mu\text{m}$ 计算)从 $0.1295 \text{ }\mu\text{N/cm}^2$ 至 $0.3412 \text{ }\mu\text{N/cm}^2$ 不等; 加权平均剪切压从 1.584 mPa 至 1.745 mPa 不等, 对应的剪切力从 $0.1592 \text{ }\mu\text{N/cm}^2$ 至 $0.1622 \text{ }\mu\text{N/cm}^2$ 不等. 由此可见, 8 种培养区结构中的剪切力均远远小于已有报道的会对干细胞产生影响的平均剪切力值($50 \text{ }\mu\text{N/cm}^2$). 但是, 由于具体阈值不能确定, 因此仍需选择加权平均剪切压最小的培养区结构.

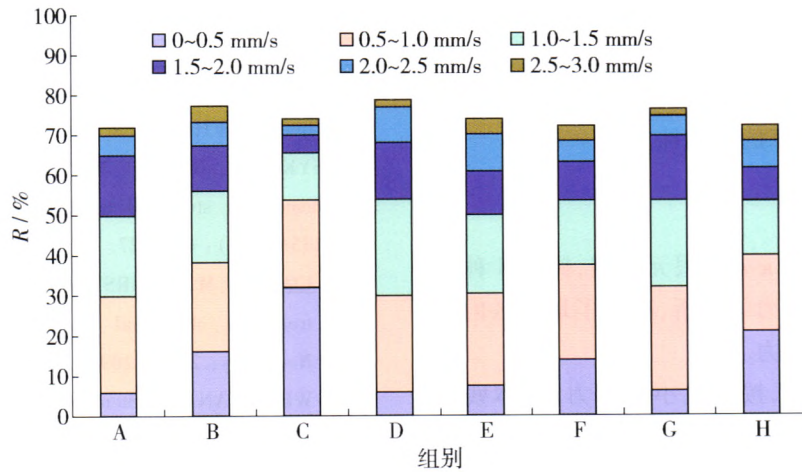


图 5 流速统计

Fig.5 Statistical bar of velocity

表 2 平均剪切压

Table 2 Average shear pressure

结构流速/(mm·s ⁻¹)	A	B	C	D	E	F	G	H
0 ~ 0.5	2.252	1.624	1.289	2.252	2.091	1.698	2.252	1.483
0.5 ~ 1.0	1.419	1.450	1.466	1.419	1.439	1.429	1.382	1.541
1.0 ~ 1.5	1.508	1.576	1.788	1.419	1.521	1.633	1.472	1.730
1.5 ~ 2.0	1.660	1.813	2.527	1.698	1.840	1.900	1.624	1.986
2.0 ~ 2.5	2.393	2.252	3.016	1.968	1.968	2.393	2.393	2.193
2.5 ~ 3.0	3.248	2.578	3.396	3.248	2.578	2.578	3.248	2.578

结构培养区 A、B、C、D、E、F、G、H 中的加权平均剪切力分别为 1.614、1.745、1.584、1.728、1.689、1.658、1.674、1.665。其中, C 种结构培养区的加权平均剪切压最小, 能满足剪切力最小化的要求。但是, 在 C 种培养区结构中液体流速为 0~0.5 mm/s 的体积占有有效培养区体积的 32.0% 左右, 培养区换液速度较慢, 容易造成液体残留, 形成死体积。而 A 种结构培养区的加权平均剪切压仅较 C 种结构大, 较其结构小, 结构中液体流速为 0~0.5 mm/s 的体积占有有效培养区体积的 6.0% 左右, 培养区换液速度较快, 能有效避免液体残留, 不易形成死体积。因此, 选择 A 种结构的培养区较为适宜。

5 芯片加工与检测及后续工作

在完成培养区结构的设计工作的同时, 利用类似方法对气室结构进行了设计。在完成培养区和气室结构的设计工作后, 还与其他科研院所、公司合作, 依次完成了制版、均胶、光刻、电铸、脱胶、压制等一系列工序, 并制成了芯片基片。以上工序制成

的基片经三维形貌仪 (Veeco Wyko NT1100) 检测结果如图 6 所示, 图中颜色的变化代表了三维结构的高度变化, 红色与蓝色区域的高度差为 280 μm。这一数值比设计值 150 μm 大 130 μm, 主要原因为: 1) 在后续封装时, 需要通道深度与宽度均大于 150 μm, 而在均胶时, 工艺较难控制, 因此为保证通道深度大于 150 μm, 在均胶时, 估计加厚了胶层厚度; 2) 在后续键合时, 通道深度汇略微变小, 因此估计加厚了胶层厚度。

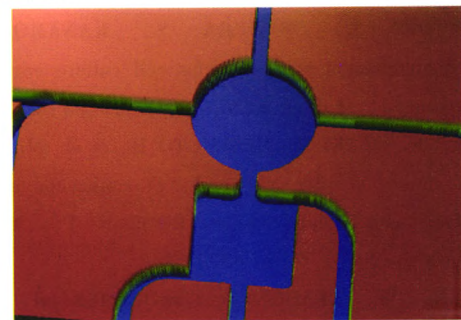


图 6 芯片三维结构

Fig.6 3D structure of biochip

在芯片基片制成后,还将进行键合、封装、清洗、灭菌等工序,最终制成生物芯片. 由于这一部分工作正在进行中,因此未能在 MicroPIV 系统中进行流速检测并验证理论计算的准确性.

6 结论

1) 利用 realizable κ - ε 有限元模型,针对 8 种培养区结构,进行了流体力学分析,得出了培养区内的流速分布,并计算剪切力.

2) 通过对比分析,按照减小剪切力、液体残留 2 条要求,从 8 种结构中筛选出 1 种适合为干细胞培养提供培养液的结构,用以完成干细胞在芯片上的培养;并对制作出的基片进行了三维表面检测.

3) 在流体力学分析过程中,得出了 2 条干细胞微流控培养芯片在设计时可供参考的经验:在常用微泵驱动(1 mL/h 量级上)的芯片中,当培养区直径在 $10^3 \mu\text{m}$ 量级上时,干细胞所受剪切力在 $0.1 \mu\text{N}/\text{cm}^2$ 量级上;并且这一量级上的剪切力远远小于已有报道的会对干细胞产生影响的平均剪切力值($50 \mu\text{N}/\text{cm}^2$).

参考文献:

- [1] LI P C H, HARRISON D J. Transport, manipulation, and reaction of biological cells on-chip using electrokinetic effects[J]. *Analytical Chemistry*, 1997, 69(8): 1564-1568.
- [2] WALKER G M, ZERINGUE H C, BEEBE D J. Microenvironment design considerations for cellular scale studies[J]. *Lab on a Chip*, 2004, 4(2): 91-97.
- [3] MAHONEY M J, CHEN R R, TAN J, et al. The influence of microchannels on neurite growth and architecture[J]. *Biomaterials*, 2005, 26(7): 771-778.
- [4] YI C Q, LI C W, JI S L, et al. Microfluidics technology for manipulation and analysis of biological cells [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 560(1/2): 1-23.
- [5] HATTORI K, SUGIURA S, KANAMORI T. Microenvironment array chip for cell culture environment screening[J]. *Lab on a Chip*, 2011, 11(2): 212-214.
- [6] LIU B F, OZAKI M, HISAMOTO H, et al. Microfluidic chip toward cellular ATP and ATP-conjugated metabolic analysis with bioluminescence detection [J]. *Analytical Chemistry*, 2005, 77(2): 573-578.
- [7] CHENG W, KLAUKE N, SEDGWICK H, et al. Metabolic monitoring of the electrically stimulated single heart cell within a microfluidic platform [J]. *Lab on a Chip*, 2006, 6(11): 1424-1431.
- [8] KIRSCHSTEIN R L, SKIRBOLL L R. Stem cells: scientific progress and future research directions [M]. Maryland: National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, 2001: ES-2.
- [9] SYKES M, NIKOLIC B. Treatment of severe autoimmune disease by stem-cell transplantation [J]. *Nature*, 2005, 435(7042): 620-627.
- [10] COUTTS M, KEIRSTEAD H S. Stem cells for the treatment of spinal cord injury [J]. *Experimental Neurology*, 2008, 209(2): 368-377.
- [11] WEISSMAN I L. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution[J]. *Cell*, 2000, 100(1): 157-168.
- [12] MIMEAULT M, BATRA S K. Concise review: recent advances on the significance of stem cells in tissue regeneration and cancer therapies[J]. *Stem Cells*, 2006, 24(11): 2319-2345.
- [13] ZHANG M, ROSEN J M. Stem cells in the etiology and treatment of cancer [J]. *Current Opinion in Genetics & Development*, 2006, 16(1): 60-64.
- [14] MORRISON S J, SHAH N M, ANDERSON D J. Regulatory mechanisms in stem cell biology [J]. *Cell*, 1997, 88(3): 287-298.
- [15] ULLOA-MONTOY F, VERFAILLIE C M, HU W S. Culture systems for pluripotent stem cells [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2005, 100(1): 12-27.
- [16] RAMADAN Q, YU C, MIAO J H, et al. Surface functionality enhancement for on-chip human embryonic stem cell culture [J]. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2007, 126(2): 351-353.
- [17] LINDSTROM S, EERIKSSON M, VAZIN T, et al. High-density microwell chip for culture and analysis of stem cells [J]. *Plos One*, 2009, 4(9): e6997.
- [18] SAKAI Y, YOSHIURA Y, NAKAZAWA K. Embryoid body culture of mouse embryonic stem cells using microwell and micropatterned chips [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2011, 111(1): 85-91.
- [19] WALKER G M, ZERINGUE H C, BEEBE D J. Microenvironment design considerations for cellular scale studies [J]. *Lab on a Chip*, 2004, 4(2): 91-97.
- [20] CHEN B P C, LI Y S, ZHAO Y H, et al. DNA microarray analysis of gene expression in endothelial cells in response to 24-h shear stress [J]. *Physiological Genomics*, 2001, 7(1): 55-63.
- [21] JALALI S, LI Y S, SOTOUDEH M, et al. Shear stress activates p60src-Ras-MAPK signaling pathways in vascular endothelial cells [J]. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 1998, 18(2): 227-234.

- [22] ANDO J, NOMURA H, KAMIYA A. The effect of fluid shear-stress on the migration and proliferation of cultured endothelial-cells[J]. *Microvascular Research*, 1987, 33(1): 62-70.
- [23] DIMMELER S, HAENDELER J, RIPPMMANN V, et al. Shear stress inhibits apoptosis of human endothelial cells [J]. *Febs Letters*, 1996, 399(1/2): 71-74.
- [24] KITAYAMA J, HIDEMURA A, SAITO H, et al. Shear stress affects migration behavior of polymorphonuclear cells arrested on endothelium[J]. *Cellular Immunology*, 2000, 203(1): 39-46.
- [25] WATERS C M, GLUCKSBERG M R, DEPAOLA N, et al. Shear stress alters pleural mesothelial cell permeability in culture [J]. *Journal of Applied Physiology*, 1996, 81(1): 448-458.
- [26] LEE A A, GRAHAM D A, DELA C S, et al. Fluid shear stress-induced alignment of cultured vascular smooth muscle cells[J]. *Journal of Biomechanical Engineering-Transactions of the Asme*, 2002, 124(1): 37-43.
- [27] SATO M, NAGAYAMA K, KATAOKA N, et al. Local mechanical properties measured by atomic force microscopy for cultured bovine endothelial cells exposed to shear stress[J]. *Journal of Biomechanics*, 2000, 33(1): 127-135.
- [28] LI P C H, HARRISON D J. Transport, manipulation, and reaction of biological cells on-chip using electrokinetic effects [J]. *Analytical Chemistry*, 1997, 69(8): 1564-1568.
- [29] TENNICO Y H, KOESDJOJO M T, KONDO S, et al. Surface modification-assisted bonding of polymer-based microfluidic devices [J]. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2010, 143(2): 799-804.
- [30] BALABAN N Q, SCHWARZ U S, RIVELINE D, et al. Force and focal adhesion assembly: a close relationship studied using elastic micropatterned substrates [J]. *Nature Cell Biology*, 2001, 3(5): 466-472.
- [31] YEON J H, PARK J K. Cytotoxicity test based on electrochemical impedance measurement of HepG2 cultured in microfabricated cell chip [J]. *Analytical Biochemistry*, 2005, 341(2): 308-315.
- [32] INOUE Y, IKUTA K. Cell culture biochemical IC chip with cell-level biocompatibility [C] // 2012 IEEE 25th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS). Paris: IEEE, 2012: 788-791.
- [33] KONSTANTOPOULOS K, KUKRETI S, MCINTIRE L V. Biomechanics of cell interactions in shear fields[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1998, 33(1/2): 141-164.
- [34] YAMAMOTO K, SOKABE T, WATABE T, et al. Fluid shear stress induces differentiation of Flk-1-positive embryonic stem cells into vascular endothelial cells in vitro [J]. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2005, 288(4): H1915-H1924.
- [35] WU Chia-ching, CHAO You-chen, CHEN Cheng-nan, et al. Synergism of biochemical and mechanical stimuli in the differentiation of human placenta-derived multipotent cells into endothelial cells[J]. *Journal of Biomechanics*, 2008, 41(4): 813-821.
- [36] ILLI B, SCOPECE A, NANNI S, et al. Epigenetic histone modification and cardiovascular lineage programming in mouse embryonic stem cells exposed to laminar shear stress[J]. *Circulation Research*, 2005, 96(5): 501-508.
- [37] LUO W, JONES S R, YOUSAF M N. Geometric control of stem cell differentiation rate on surfaces [J]. *Langmuir*, 2008, 24(21): 12129-12133.
- [38] SONG W, LU H X, KAWAZOE N, et al. Adipogenic differentiation of individual mesenchymal stem cell on different geometric micropatterns[J]. *Langmuir*, 2011, 27(10): 6155-6162.
- [39] MAHMOOD J, TAKITA H, OJIMA Y, et al. Geometric effect of matrix upon cell differentiation: BMP-induced osteogenesis using a new bioglass with a feasible structure [J]. *Journal of Biochemistry*, 2001, 129(1): 163-171.
- [40] STOLBERG S, MCCLOSKEY K E. Can shear stress direct stem cell fate? [J]. *Biotechnology Progress*, 2009, 25(1): 10-19.
- [41] LAUNDER B E, SPALDING D B. Lectures in mathematical models of turbulence [M]. London: Academic Press, 1972.
- [42] STONE H A, STROOCK A D, AJDARI A. Engineering flows in small devices[J]. *Annu Rev Fluid Mech*, 2004, 36: 381-411.
- [43] SHIH T H, LIOU W W, SHABBIR A, et al. A new κ - ϵ eddy viscosity model for high reynolds number turbulent flows[J]. *Computers & Fluids*, 1995, 24(3): 227-238.

(责任编辑 杨开英)