

Акустохимические и биоакустические лаборатории на чипе для многофакторного спектрального / кинетического фингерпринтинга.

Часть 1: Библиографический обзор трендов "акустофлюидики" и смежных приложений.

Градов О.В.

Институт Энергетических Проблем Химической Физики РАН

Возникновение акустофлюидики.

В последние годы за рубежом активно развивается недавно возникшее на границе акустической и микроаналитической техники направление по разработке и внедрению для целей тонкого химического анализа микрофлюидных аналитических устройств, известных также как акустические "лаборатории на чипе". Данные устройства демонстрируют весьма высокие технические качества, включая рекордные для своего уровня техники показатели. Так, по известным из литературы данным, микрофлюидные устройства такого рода могут работать с нанолитровыми дозами аналитов [1], использоваться для исследования клеток (включая эпитаксию одиночных клеток с использованием пиколитровых микрокапель [2]) и немногочисленных молекул [3], осуществлять измерение акустических сигналов в ходе сокращения одиночных мышечных клеток [4], применяться в сверхскоростной обработке (гель- процессинге и гель-документировании) белковых составов на микромасштабах [5], способствовать достижению разрешения по массе до фемтограмм [6] и атомизации - как в исследовательских [7], так и в терапевтических [8] целях.

Как правило, подобные технологии основаны на использовании поверхностных акустических волн - сравнительно недавно введен обобщающий термин "микрофлюидика на поверхностных акустических волнах" (surface acoustic wave microfluidics [9]), в частности - на стоячих акустических волнах (SSAW) [10]. Поверхностные акустические волны могут быть использованы для управления потоками капель в микрофлюидных каналах [11] или контроля размера капель при фокусировании этих потоков [12], программируемого получения пиколитровых доз и физико-химической инкапсуляции микро- и нано- частиц [13], перестраиваемой сборки паттернов на основе микрочастиц (или клеток) с использованием интегральных преобразователей и передатчиков особой формы (т.н. SFIT) [14], а также - как источники энергии для процессов акустического спинодального распада в растворах полимеров [15] и процессов тонкого химического синтеза на микрокапельном

уровне [16]. События в этой области развиваются настолько быстро, что недавние трендовые работы к настоящему времени уже начинают устаревать [17]. Целью настоящей вводной статьи из цикла, освещающего последние отечественные разработки в области акустических лабораторий на чипе и их принципиальные отличия от зарубежных аналогов, является предъявление читателю наиболее современной сводки по зарубежным акустическим лабораториям на чипе и смежным трендам акустофлюидики с целью демонстрации комплексной сравнительной картины описываемого направления (по конец 2013 года включительно).

Если первые конструкции лабораторий на чипе на акустических принципах в начале 2000-х гг. зачастую строились на сугубо эмпирической DIY основе с целью отработки или апробации технологий (при этом для микрообработки поверхностей также использовались нередко акустические принципы [18]), то к настоящему моменту создана математическая основа и программные подходы к моделированию и проектированию лабораторий на чипе с акустическими источниками, что позволяет формулировать технические характеристики и подбирать пути их достижения на строгой физико-технической базе. Так, кроме весьма удобного, но недостаточного одномерного аппроксимативного приближения [19], имеется множество работ, в которых используется трехмерное численное моделирование явлений акустофореза [20] и пристеночных потоков [21] в объёме лабораторий на чипе. Более того, известные в микрофлюидике эксперименты по трехмерному фокусированию микрочастиц с использованием стоячих поверхностных акустических волн (SSAW - standing surface acoustic waves) непротиворечиво соотносятся с результатами трехмерных калькуляций или симуляций с визуализацией в подобных приближениях [22]. Это даёт достаточную формальную базу для использования вышеописанных лабораторий на чипе для распределения [23] и позиционирования частиц [24] в лабораториях на чипе и иных подобных устройствах с акустическим переключением [25] вплоть до создания акустических самплеров [26] на чипе.

И действительно, основным диапазоном применимости лабораторий на чипе такого рода становится захват, перемещение, сортировка частиц и микрообъектов, манипуляция ими и т.д. Созданы акустические [27] и оптоакустические [28] пинцеты на чипе ("acoustic tweezers" и "optoacoustic tweezers" соответственно), используемые, преимущественно, для тонких клеточных манипуляций и хорошо функционально замещающие известные лазерные или магнитные пинцеты. Свойственную для последних функцию захвата частиц и, в частности, клеток ("trapping") прототипы лабораторий на чипе такого рода, что очевидно, также выполняют успешно [29,30]. Как следствие изложенного, помимо известных задач сепарации частиц, осуществляемых в переключаемом ультразвуковом поле [31], хорошо

решаемых также как с помощью стоячих поверхностных акустических, так и с помощью бегущих поверхностных акустических волн [32,33], становится возможной компьютерно-управляемая (программируемая) манипуляция немногочисленными частицами / клетками в акустическом поле. Так, созданы системы сортировки клеток с различными метками или различными размерными характеристиками под действием поверхностных акустических волн [34,35], причем экспериментально зафиксированы сепаративные отличия различных форменных элементов крови (напр., тромбоцитов [36]) и липидных капель из эритроцитов [37] при использовании стоячих акустических волн. Надо сказать, что не менее успешно сортируются и небиологические объекты - микрокапли [38], поэтому объясним интерес к технологиям акустического сортировки у специалистов в области синтетической биологии и нанобиомиметики - тем более, что принципиальных различий между ультразвуковыми манипуляциями на чипе клетками и произвольными модельными частицами, фактически, не наблюдается [39], а концентрация всех микрочастиц под поверхностным акустическим волновым воздействием происходит по единым размерно-зависимым принципам [40,41]. Так, в качестве примера управления сборкой надклеточных структур при ультразвуковой обработке можно указать на контролируемую ультразвуком агрегацию клеток на чипе (на микропланшетной платформе) с возможностью их микроморфологического контроля [42], а как ультразвуковой инструмент синтетической биологии можно рассмотреть новейшую технику электро-сонопорации на чипе, замещающую стандартные виды электропорации в ходе генно-инженерных манипуляций [43].

С другой стороны, возможности применения поверхностных акустических волн для акустофореза на чипе [44] не ограничиваются вышеуказанными методами концентрации частиц клеточных размеров (хотя и она может проходить в акустическом поле селективно и многоступенчато [45]), затрагивая и технологии молекулярного "декомплексирования" биожидкостей с целью их химического / масс-спектрометрического анализа [46]. Кроме того, как коррелят последних, возможно прямое применение акустических лабораторий на чипе для молекулярно-биологического анализа. Так, известны интегративные платформы для иммуноаффинного анализа связывания комплемента с использованием акустических волн на чипе [47,48], системы для гибридизации [49], фрагментации [50] и концентрации [51] ДНК в микрофлюидных и т.п. устройствах, не считая планарных "чиповых" приборов для полимеразно-цепной реакции, в которых обычно возбуждаемая с пьезоэлектрической подложки поверхностная акустическая волна, как правило, выполняет вспомогательную к непосредственному анализу функцию [52]. Косвенное отношение к таким методологиям анализа, несомненно, имеют техники акустических микропомп, используемых не только в аналитической микрофлюидике, но и в микрореакторах [53,54], а также микрофлюидные

технологии акустического смешивания - например, т.н. "acoustofluidic micromixer" [55] и частично подобный, но не эквивалентный ему "bubble-induced acoustic micromixer" [56] на принципах микропузырьковой / кавитационной гомогенизации. На базе осциллирующих пузырьков с ультразвуковым контролем работает также новейший генератор химических градиентов с пульсациями для лабораторий на чипе [57], то есть функционально отличное от смесителей устройство; таким образом нельзя рассматривать микросмесители на чипе исключительно как миксеры-гомогенизаторы или обычные ультразвуковые диспергаторы уменьшенного масштаба, памятуя о наличии альтернативных физических приложений для ультразвукового сигнала при его распространении в химической среде. Несмотря на это, следует отметить, что акустически-активируемые микромиксеры на одиночных пузырьках в лабораториях на чипе имеют беспрецедентные для других средств смешивания веществ постоянные времени (до миллисекунд [58]) и, вообще говоря, ультразвуковые миксеры на чипе могут быть реализованы в микрофлюидных устройствах самого доступного состава - от распространенных полимерных [59], до бумажных [60]. При этом в качестве источника могут быть применены любые пьезоэлектрические подложки в соответствии с удобством сопутствующей методики исследования: так, например, возможно акустическое смешение и исследование методами спектроскопии поверхностного плазмонного резонанса на одной подложке [61].

Диагностика в акустофлюидике.

Необходимо отметить, что без сопутствующих методик исследования акустические лаборатории на чипе не способны давать самостоятельную аналитическую информацию о предмете исследования, в связи с чем, как правило, приходится прибегать к спектральным и иным методам, основанным не на акустических принципах, для её получения. Таковыми методами могут быть как достаточно простые фотометрические, спектрофотометрические и спектрофлуориметрические типы регистрации, на которых мы не останавливаемся, так и достаточно экзотические, такие как спектроскопия комбинационного рассеяния - Раман-спектроскопия отдельных биологических клеток, левитирующих на акустической волне за счет сил, компенсирующих силу тяжести, и сил, обеспечивающих устойчивость объекта (т.н. "Raman acoustic levitation spectroscopy") [62] или технологии на фононных кристаллах [63]. Однако ни одна технология, пригодная для анализа сплошных сред, не может быть в неизменном виде применена к анализу результатов ультразвукового воздействия на среду на чипе без позиционной чувствительности, когда речь идёт о манипуляциях частицами и / или потоками [64,65], акустическом позиционировании посредством переключения мод [66] и имеющей корреляцию с "киматическими" принципами структурообразования [67] генерации акустических полей специальной формы в диагностических технологиях манипуляции на

микрофлюидных чипах [68], приводящей к формированию динамических [69] паттернов на поверхности под действием стоячих поверхностных акустических волн. При гетерогенном / гетерофазном характере среды обычные аддитивные методы измерений по плотности акустической энергии [70] (в том числе с использованием методов, основанных на изменении интенсивности и дифракции света на ультразвуке - дифракции Рамана-Ната и Брэгга) перестают быть репрезентативными с метрологических позиций и достаточными для наблюдения неоднородных пространственных распределений (вследствие отсутствия соответствующих измерений или независимых переменных).

Поэтому возникает необходимость в позиционно-чувствительных измерениях или же создании устройств с возможностью синхронного акустического и оптического измерения характеристик гетерогенного анализа с численной геометрической привязкой к плоскости чипа. Однако современные прогрессивные средства нанохимического картирования сред с использованием атомно-силовой микроскопии, такие как AFMIR, не могут быть внедрены в практику исследования частично упорядоченных сред (таких как биополимеры, жидкие кристаллы и коллоиды [71]), а также не могут быть совмещены с анализом в потоке [72]. В то же время традиционные виды исследования акустических резонансов в лабораториях на чипе и контроля акустофореза в микроразмерных каналах, такие как micro-PIV (micro- particle image velocimetry) [73,74] не могут в компактном исполнении давать информацию о химизме и некоторых принципиальных физико-химических свойствах среды на чипе, что ведёт к одностороннему исследованию физико-химических процессов в акустических лабораториях на чипе. С другой стороны, отсутствие дополнительного методологического подхода к контролю процессов ведёт к неискоренимости вероятных артефактов одиночно используемого метрологического средства. Так, кавитация в ультразвуковых устройствах на чипе [75,76] может приводить к химическим реакциям или сонохимическим явлениям в акустических полях, а электрическое смачивание в рамках диэлектрических технологий на чипе [77,78] может нежелательным образом воздействовать на пристеночные погранслои / адсорбционные слои биологических полиэлектролитов, исследуемых в качестве аналитов. То есть, иными словами, не являющийся неразрушающим по отношению к аналиту в чипе способ акустического воздействия, равно как и сопряженные с ним зарядово-зависимые процессы, требует комплементарного - т.е. синхронизированного с ним - неразрушающего метода контроля. Отсюда следует необходимость создания отсутствующей на настоящий период техники синхронного оптического и акустического тестирования.

Комплекси́рование методик контроля и воздействия.

Между тем, вполне очевидно, что совмещение методов оптического и акустического контроля в микрофлюидике, равно как и задача позиционно-чувствительного анализа на чипе выходит за рамки современной акустической микрофлюидики или акустофлюидики - технической дисциплины, изучающей ультразвуковые стоячие волны в микрофлюидных условиях, и соответствующие потоки [79], теоретические основы которой были заложены в недавно (2013 г.) завершенной серии статей в журнале "Lab on a Chip" (в особенности - в начальных теоретических работах [80,81,82]). Для полновесного ознакомления с теорией и практикой данного новейшего направления в микрофлюидике необходимо аннотировать указанную серию в нескольких основных направлениях. Теоретические основы, как было указано выше, рассмотрены, преимущественно, в начальных работах серии. Воздействие на одиночные мелкодисперсные частицы рассмотрено в седьмой части [83]. Прикладные вопросы построения акустических резонаторов даны в частях 5, 9, 22 [84,85,86]. Материал части 9, относится одновременно и к двум другим подразделам - теоретическим моделям и прикладному манипулированию одиночными частицами. Акустофорез на непрерывном потоке в микрофлюидных устройствах рассмотрен в частях 8, 10 (в последней части были рассмотрены масштабные законы акустофореза, что также входит в компетенцию теории подобия) [87,88]. Течения, индуцируемые акустическими потоками, и распространение их в микрофлюидных устройствах были рассмотрены в частях 13-16 [89,90,91,92]. Особый интерес вызывает обладающая большой прогностической и эвристической ценностью (как источник математического аппарата для расчета акустофлюидики и лабораторий на чипе) часть 13, в которой изложены базовые для численного моделирования подходы с позиций теории возмущений.

Более тонкие методы манипуляции одиночными частицами даются в частях 4 (пьезоэлектрические источники-подложки, возбуждающие акустические поля для ультразвуковой манипуляции частицами) [93], 6 (экспериментальное тестирование таких устройств для манипуляции) [94], 17 (теория и приложения поверхностных акустических волн для манипуляции частицами) [95], 20 (практические задачи для применения методов акустического захвата) [96], 23 (возможность комбинирования в манипуляции частицами акустических полей с другими полями или факторами воздействия) [97]. Отметим, что ряд вопросов комбинирования экспериментальных воздействий неизбежно приводят к задаче контроля их взаимодействия между собой и комбинированного воздействия на среду как на физико-химическую систему, из чего следует необходимость мультипараметрического контроля, т.е. синхронно-комплексного измерения многих параметров, соответствующих переменным, используемым в теоретической модели, но эти вопросы в серии статей не рассматриваются.

При этом множество других специальных вопросов, таких как создание аффинно-специфичных методов экстракции на чипе с использованием акустофореза [98] и разработки иммунохимических микрофлюидных акустофлюидных устройств [99], хорошо представлены в выборке освещаемых серий тематик (равно как и сопряженные вопросы биологической совместимости отдельных технологических звеньев акустофлюидики [100] - таких, как акустические резонаторы). Таким образом, нельзя говорить об отсутствии мер по совершенствованию технико-методологической базы направления, но можно говорить о том, что до прогнозируемого исходя из литературных данных появления принципиально новых направлений типа "фотоакустофлюидики", "радиоакустофлюидики", "химически-индуцируемой автоколебательной микрофлюидики", "акусто-феррофлюидики" и т.д. ещё пройдет некоторое время, обусловленное неизбежностью комплексирования принципов и технологий синхронного измерения множества характеристик в акустофлюидной технике.

Представляется также довольно странным, что из многих методов позиционно-чувствительного контроля предлагается только стандартная микроскопия [101] (что не соответствует уровню техники других областей акустофлюидики, в которых применяются "ультрасовременные" заделы типа ультразвуковой микророботики [102]), хотя известны множественные методики физико-химического картирования и лонгитюдного имэджинга в микрофлюидных устройствах [103].

Выводы.

Иными словами, можно сделать вывод о нехватке технологий мониторинга и отсутствия осознанной потребности в анализе многомерных массивов данных с многофакторных акустофлюидных устройств в настоящее время.

Таким образом, необходима общедоступная технология, которая бы:

а) обеспечивала изучение каких-либо процессов, протекающих на чипе, без привлечения дополнительных (к акустическим) средств спектроскопии и т.п.;

б) имела бы, тем не менее, возможность привлечения этих дополнительных средств с целью получения непротиворечивой картины регистрируемого процесса по всем потенциально задействованным в нём переменным;

в) имела бы позиционно-чувствительный характер регистрации, позволяющий фиксировать запускаемые акустически процессы с привязкой к точкам на чипе;

г) была способна регистрировать собственное акустическое / акустохимическое поведение системы на чипе, а не только контролировать "параметрику" испускаемых техногенным источником акустических волн в их взаимодействии со средой на чипе.

Литература

1. *Yu H., Kwon J.W., Kim E.S.* Chembio extraction on a chip by nanoliter droplet ejection // *Lab Chip*. 2005, V.5, №3. P.344-9.
2. *Demirci U., Montesano G.* Single cell epitaxy by acoustic picolitre droplets // *Lab Chip*. 2007. V.7. №9. P.1139-1145.
3. *Lee A.P.* Microfluidic cellular and molecular detection for Lab-on-a-Chip applications // *Conf. Proc.: IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2009. P. 4147-9.
4. *Li P.C., Wang W., Parameswaran A.M.* An acoustic wave sensor incorporated with a microfluidic chip for analyzing muscle cell contraction // *Analyst*. 2003. V.128, №3. P.225-231.
5. *Kulkarni K.P., Ramarathinam S.H., Friend J., Yeo L., Purcell A.W., Perlmutter P.* Rapid microscale in-gel processing and digestion of proteins using surface acoustic waves // *Lab Chip*. 2010. V. 10. №12. P.1518-1520.
6. *Kirkendall C., Kwon J.W.* Femtogram mass resolution in a liquid environment using a low loss vacuum-gapped quartz crystal resonator // *Lab Chip*. 2011. V. 11, №4. P.596-598.
7. *Qi A., Yeo L., Friend J., Ho J.* The extraction of liquid, protein molecules and yeast cells from paper through surface acoustic wave atomization // *Lab Chip*. 2010. V.10. №4. P.470-476.
8. *Qi A., Friend J.R., Yeo L.Y., Morton D.A., McIntosh M.P., Spiccia L.* Miniature inhalation therapy platform using surface acoustic wave microfluidic atomization // *Lab Chip*. 2009. V.9. №15. P.2184-2193.
9. *Ding X., Li P., Lin S.C., Stratton Z.S., Nama N., Guo F., Slotcavage D., Mao X., Shi J., Costanzo F., Huang T.J.* Surface acoustic wave microfluidics // *Lab Chip*. 2013. V.13. №18. P.3626-3649.
10. *Shi J., Mao X., Ahmed D., Colletti A., Huang T.J.* Focusing microparticles in a microfluidic channel with standing surface acoustic waves (SSAW) // *Lab Chip*. 2008. V.8. №2 P. 221-223.
11. *Franke T., Abate A.R., Weitz D.A., Wixforth A.* Surface acoustic wave (SAW) directed droplet flow in microfluidics for PDMS devices // *Lab Chip*. 2009. V.9. №18. P.2625-2627.
12. *Schmid L., Franke T.* SAW-controlled drop size for flow focusing // *Lab Chip*. 2013 V.13. №9. P.1691-1694.
13. *Collins D.J., Alan T., Helmersson K., Neild A.* Surface acoustic waves for on-demand production of picoliter droplets and particle encapsulation // *Lab Chip*. 2013. V.13. №16. P. 3225-3231.

14. *Ding X., Shi J., Lin S.C., Yazdi S., Kiraly B., Huang T.J.* Tunable patterning of microparticles and cells using standing surface acoustic waves // *Lab Chip*. 2012. V.12. №14. P.2491-2497.
15. *Rasouli G., Rey A.D.* Acousto-spinodal decomposition of compressible polymer solutions: early stage analysis // *Journ. Chem. Phys.* 2011. V.134. №18. P. 184901-1 - 184901-19.
16. *Kulkarni K., Friend J., Yeo L., Perlmutter P.* Surface acoustic waves as an energy source for drop scale synthetic chemistry // *Lab Chip*. 2009. V.9. №6. P.754-755.
17. *Wang Z., Zhe J.* Recent advances in particle and droplet manipulation for lab-on-a-chip devices based on surface acoustic waves // *Lab Chip*. 2011. V.11. №. P.1280-1285.
18. *Entcheva E., Bien H.* Acoustic micromachining of three-dimensional surfaces for biological applications // *Lab Chip*. 2005. V.5. №2. P.179-183.
19. *Hagsäter S.M., Lenshof A., Skafte-Pedersen P., Kutter J.P., Laurell T., Bruus H.* Acoustic resonances in straight micro channels: beyond the 1D-approximation // *Lab Chip*. 2008. V.8. №7. P.1178-1184
20. *Muller P.B., Barnkob R., Jensen M.J., Bruus H.* A numerical study of microparticle acoustophoresis driven by acoustic radiation forces and streaming-induced drag forces // *Lab Chip*. 2012. V.12. №22. P.4617-4627.
21. *Lei J., Hill M., Glynne-Jones P.* Numerical simulation of 3D boundary-driven acoustic streaming in microfluidic devices // *Lab Chip*. 2013. V.14. №3. P.532-541
22. *Shi J., Yazdi S., Lin S.C., Ding X., Chiang I.K., Sharp K., Huang T.J.* Three-dimensional continuous particle focusing in a microfluidic channel via standing surface acoustic waves (SSAW) // *Lab Chip*. 2011. V.11. №14. P.2319-2324.
23. *Travagliati M., De Simoni G., Lazzarini C.M., Piazza V., Beltram F., Cecchini M.* Interaction-free, automatic, on-chip fluid routing by surface acoustic waves // *Lab Chip*. 2012. V.12. №15. P.2621-2624.
24. *Oberti S., Neild A., Quach R., Dual J.* The use of acoustic radiation forces to position particles within fluid droplets // *Ultrasonics*. 2009. V.49. №1. P.47-52.
25. *Liu Y.J., Lu M., Ding X., Leong E.S., Lin S.C., Shi J., Teng J.H., Wang L., Bunning T.J., Huang T.J.* Holographically formed, acoustically switchable gratings based on polymer-dispersed liquid crystals // *Journ. Lab Autom.* 2013. V.18. №4. P.291-295.
26. *Jonsson J., Ogden S., Johansson L., Hjort K., Thornell G.* Acoustically enriching, large-depth aquatic sampler // *Lab Chip*. 2012. V.12. №9. P.1619-1628.
27. *Shi J., Ahmed D., Mao X., Lin S.C., Lawit A., Huang T.J.* Acoustic tweezers: patterning cells and microparticles using standing surface acoustic waves (SSAW) // *Lab Chip*. 2009. V.9. №20. P.2890-1895.

28. Xie Y., Zhao C., Zhao Y., Li S., Rufo J., Yang S., Guo F., Huang T.J. Optoacoustic tweezers: a programmable, localized cell concentrator based on opto-thermally generated, acoustically activated, surface bubbles // *Lab Chip*. 2013. V.13. №9. P.1772-1779.
29. Hammarström B., Evander M., Barbeau H., Bruzelius M., Larsson J., Laurell T., Nilsson J. Non-contact acoustic cell trapping in disposable glass capillaries // *Lab Chip*. 2010. V.10. №17. P. 2251-2257.
30. Hammarström B., Laurell T., Nilsson J. Seed particle-enabled acoustic trapping of bacteria and nanoparticles in continuous flow systems // *Lab Chip*. 2012. V.12. №21. P.4296-4304.
31. Liu Y., Lim K.M. Particle separation in microfluidics using a switching ultrasonic field // *Lab Chip*. 2011. V.11. №18. P.3167-3173.
32. Shi J., Huang H., Stratton Z., Huang Y., Huang T.J. Continuous particle separation in a micro-fluidic channel via standing surface acoustic waves (SSAW) // *Lab Chip*. 2009. V.9. №23. P.3354-3359.
33. Destgeer G., Lee K.H., Jung J.H., Alazzam A., Sung H.J. Continuous separation of particles in a PDMS microfluidic channel via travelling surface acoustic waves (TSAW) // *Lab Chip*. 2013. V.13. №21. P.4210-4216.
34. Ding X., Lin S.C., Lapsley M.I., Li S., Guo X., Chan C.Y., Chiang I.K., Wang L., McCoy J.P., Huang T.J. Standing surface acoustic wave (SSAW) based multichannel cell sorting // *Lab Chip*. 2012. V.12. №21. P.4228-4231.
35. Agarwal G., Livermore C. Chip-based size-selective sorting of biological cells using high frequency acoustic excitation // *Lab Chip*. 2011. V.11. №13. P.2204-2211.
36. Nam J., Lim H., Kim D., Shin S. Separation of platelets from whole blood using standing surface acoustic waves in a microchannel // *Lab Chip*. 2011. V.11. №19. P.3361-3364.
37. Petersson F., Nilsson A., Holm C., Jonsson H., Laurell T. Continuous separation of lipid particles from erythrocytes by means of laminar flow and acoustic standing wave forces // *Lab Chip*. 2005. V.5. №1. P.20-22.
38. Lee C., Lee J., Kim H.H., Teh S.Y., Lee A., Chung I.Y., Park J.Y., Shung K.K. Microfluidic droplet sorting with a high frequency ultrasound beam // *Lab Chip*. 2012. V.12. №15. P.2736-2742.
39. Mulvana H., Cochran S., Hill M. Ultrasound assisted particle and cell manipulation on-chip // *Adv. Dr. Del. Rev.* 2013. V.65. №11-12. P.1600-1610.
40. Rogers P.R., Friend J.R., Yeo L.Y. Exploitation of surface acoustic waves to drive size-dependent microparticle concentration within a droplet // *Lab Chip*. 2010. V.10. №21. P.2979-2985.

41. *Tan M.K., Friend J.R., Yeo L.Y.* Microparticle collection and concentration via a miniature surface acoustic wave device // *Lab Chip*. 2007. V.7. №5. P.618-625.
42. *Vanherberghen B., Manneberg O., Christakou A., Frisk T., Ohlin M., Hertz H.M., Önfelt B., Wiklund M.* Ultrasound-controlled cell aggregation in a multi-well chip // *Lab Chip*. 2010. V.10. №20. P.2727-2732.
43. *Longsine-Parker W., Wang H., Koo C., Kim J., Kim B., Jayaraman A., Han A.* Microfluidic electro-sonoporation: a multi-modal cell poration methodology through simultaneous application of electric field and ultrasonic wave // *Lab Chip*. 2013. V.13. №11. P.2144-2152.
44. *Lin S.C., Mao X., Huang T.J.* Surface acoustic wave (SAW) acoustophoresis: now and beyond // *Lab Chip*. 2012. V.12. №16. P.2766-2770.
45. *Nordin M, Laurell T.* Two-hundred fold volume concentration of dilute cell and particle suspensions using chip integrated multistage acoustophoresis // *Lab Chip*. 2012. V.12. №22. P.4610-4616.
46. *Augustsson P., Persson J., Ekström S., Ohlin M., Laurell T.* Decoupling biofluids using microchip based acoustophoresis // *Lab Chip*. 2009. V.9. №6. P. 810-818.
47. *Bourquin Y., Reboud J., Wilson R., Zhang Y., Cooper J.M.* Integrated immunoassay using tuneable surface acoustic waves and lensfree detection // *Lab Chip*. 2011. V.11. №16. P.2725-2730.
48. *Tajudin A.A., Petersson K., Lenshof A., Swärd-Nilsson A.M., Aberg L., Marko-Varga G., Malm J., Lilja H., Laurell T.* Integrated acoustic immunoaffinity-capture (IAI) platform for detection of PSA from whole blood samples // *Lab Chip*. 2013. V.13. №9. P.1790-1796.
49. *Matuross T., Pogfay T., Rodaree K., Chaotheing S., Jomphoak A., Wisitsoraat A., Suwanakitti N., Wongsombat C., Jaruwongrungrongsee K., Shaw P., Kamchonwongpaisan S., Tuantranont A.* Enhancement of DNA hybridization under acoustic streaming with three-piezoelectric-transducer system // *Lab Chip*. 2012. V.12. №1. P.133-138.
50. *Tseng Q., Lomonosov A.M., Furlong E.E., Merten C.A.* Fragmentation of DNA in a sub-microliter microfluidic sonication device // *Lab Chip*. 2012. V.12. №22. P.4677-4682.
51. *Hennig M., Wolff M., Neumann J., Wixforth A., Schneider M.F., Rädler J.O.* DNA concentration modulation on supported lipid bilayers switched by surface acoustic waves // *Langmuir*. 2011. V.27. №24. P.14721-14725.
52. *Guttenberg Z., Muller H., Habermüller H., Geisbauer A., Pipper J., Felbel J., Kielpinski M., Scriba J., Wixforth A.* Planar chip device for PCR and hybridization with surface acoustic wave pump. // *Lab Chip*. 2005. V.5. №3. P.308-317.

53. *Girardo S, Cecchini M, Beltram F, Cingolani R, Pisignano D.* Polydimethylsiloxane-LiNbO₃ surface acoustic wave micropump devices for fluid control into microchannels // *Lab Chip.* 2008. V.8. №9. P.1557-1563.
54. *Masini L., Cecchini M., Girardo S., Cingolani R., Pisignano D., Beltram F.* Surface-acoustic-wave counter flow micropumps for on-chip liquid motion control in two-dimensional micro-channel arrays // *Lab Chip.* 2010. V.10. №15. P.1997-2000.
55. *Huang P.H., Xie Y., Ahmed D., Rufo J., Nama N., Chen Y., Chan C.Y., Huang T.J.* An acoustofluidic micromixer based on oscillating sidewall sharp-edges // *Lab Chip.* 2013. V.13. №19. P.3847-3852.
56. *Liu R.H., Yang J., Pindera M.Z., Athavale M., Grodzinski P.* Bubble-induced acoustic micromixing // *Lab Chip.* 2002. V.2. №3. P.151-157.
57. *Ahmed D., Chan C.Y., Lin S.C., Muddana H.S., Nama N., Benkovic S.J., Huang T.J.* Tunable, pulsatile chemical gradient generation via acoustically driven oscillating bubbles // *Lab Chip.* 2013. V.13. №3. P.328-331.
58. *Ahmed D., Mao X., Shi J., Juluri B.K., Huang T.J.* A millisecond micromixer via single-bubble-based acoustic streaming // *Lab Chip.* 2009. V.9. №18. P.2738-2741.
59. *Cardoso V.F., Catarino S.O., Serrado Nunes J., Rebouta L., Rocha J.G., Lanceros-Méndez S., Minas G.* Lab-on-a-chip with beta-poly(vinylidene fluoride) based acoustic microagitation // *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 2010. V.57. №5. P.1184-1190.
60. *Rezk A.R., Qi A., Friend J.R., Li W.H., Yeo L.Y.* Uniform mixing in paper-based microfluidic systems using surface acoustic waves // *Lab Chip.* 2012. V.12. №4. P.773-779.
61. *Renaudin A., Chabot V., Grondin E., Aimez V., Charette P.G.* Integrated active mixing and biosensing using surface acoustic waves (SAW) and surface plasmon resonance (SPR) on a common substrate // *Lab Chip.* 2010. V.10. №1. P.111-115.
62. *Puskar L., Tuckermann R., Frosch T., Popp J., Ly V., McNaughton D., Wood B.R.* Raman acoustic levitation spectroscopy of red blood cells and *Plasmodium falciparum* trophozoites // *Lab Chip.* 2007. V.7. №9. P.1125-1131.
63. *Wilson R., Reboud J., Bourquin Y., Neale S.L., Zhang Y., Cooper J.M.* Phononic crystal structures for acoustically driven microfluidic manipulations // *Lab Chip.* 2011. V.11. №2. P.323-328.
64. *Bourquin Y., Reboud J., Wilson R., Cooper J.M.* Tuneable surface acoustic waves for fluid and particle manipulations on disposable chips // *Lab Chip.* 2010. V.10. №15. P.1898-18901.
65. *Lei J., Glynn-Jones P., Hill M.* Acoustic streaming in the transducer plane in ultrasonic particle manipulation devices // *Lab Chip.* 2013. V.13. №11. P.2133-2143

66. *Glynne-Jones P., Boltryk R.J., Harris N.R., Cranny A.W., Hill M.* Mode-switching: a new technique for electronically varying the agglomeration position in an acoustic particle manipulator // *Ultrasonics*. 2010. V.50. №1. P.68-75.
67. *Jenny H.* *Kymatik: Wellen und Schwingungen mit ihrer Struktur und Dynamik*. 1974. Basel: Bas. Presse, 183 p.
68. *Reboud J., Bourquin Y., Wilson R., Pall G.S., Jiwaji M., Pitt A.R., Graham A., Waters A.P., Cooper J.M.* Shaping acoustic fields as a toolset for microfluidic manipulations in diagnostic technologies // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2012. V.109. №38. P.15162-15167
69. *Hennig M., Neumann J., Wixforth A., Rädler J.O., Schneider M.F.* Dynamic patterns in a supported lipid bilayer driven by standing surface acoustic waves // *Lab Chip*. 2009. V.9. №21. P.3050-3053.
70. *Barnkob R., Iranmanesh I., Wiklund M., Bruus H.* Measuring acoustic energy density in microchannel acoustophoresis using a simple and rapid light-intensity method // *Lab Chip*. 2012. V.12/ №13. P.2337-2344.
71. *Kleman M., Lavrentovich O.D.* *Soft matter physics: an introduction*. 2003. New York: Springer, 637 p.
72. *Dazzi A., Prazeres R., Glotin F., Ortega J.M.* Analysis of nano-chemical mapping performed by an AFM-based ("AFMIR") acousto-optic technique // *Ultramicroscopy*. 2007. V.107. №12. P.1194-1200.
73. *Hagsäter S.M., Jensen T.G., Bruus H., Kutter J.P.* Acoustic resonances in microfluidic chips: full-image micro-PIV experiments and numerical simulations // *Lab Chip*. 2007. V.7. №10. P.1336-1344.
74. *Augustsson P., Barnkob R., Wereley S.T., Bruus H., Laurell T.* Automated and temperature-controlled micro-PIV measurements enabling long-term-stable microchannel acoustophoresis characterization // *Lab Chip*. 2011. V.11. №24. P.4152-4164.
75. *Tandiono, Ohl S.W., Ow D.S., Klaseboer E., Wong V.V., Camattari A., Ohl C.D.* Creation of cavitation activity in a microfluidic device through acoustically driven capillary waves // *Lab Chip*. 2010. V.10. №14. P.1848-1855.
76. *Patel M.V., Tovar A.R., Lee A.P.* Lateral cavity acoustic transducer as an on-chip cell/particle microfluidic switch // *Lab Chip*. 2012. V.12. №1. P.139-145.
77. *Wiklund M., Günther C., Lemor R., Jäger M., Fuhr G., Hertz H.M.* Ultrasonic standing wave manipulation technology integrated into a dielectrophoretic chip // *Lab Chip*. 2006. V.6. №12. P. 1537-1544.

78. *Li Y., Fu Y.Q., Brodie S.D., Alghane M., Walton A.J.* Integrated microfluidics system using surface acoustic wave and electrowetting on dielectrics technology // *Biomicrofluidics*. 2012. V.6. №1. P.12812-128129.
79. *Bruus H., Dual J., Hawkes J., Hill M., Laurell T., Nilsson J., Radel S., Sadhal S., Wiklund M.* Forthcoming Lab on a Chip tutorial series on acoustofluidics: acoustofluidics-exploiting ultra-sonic standing wave forces and acoustic streaming in microfluidic systems for cell and particle manipulation // *Lab Chip*. 2011. V.11. №21. P.3579-3580
80. *Bruus H.* Acoustofluidics 1: Governing equations in microfluidics // *Lab Chip*. 2011. V.11. №22. P.3742-3751.
81. *Bruus H.* Acoustofluidics 2: Perturbation theory and ultrasound resonance modes // *Lab Chip*. 2012. V.12. №1. P.20-28.
82. *Dual J., Schwarz T.* Acoustofluidics 3: Continuum mechanics for ultrasonic particle manipulation // *Lab Chip*. 2012. V.12. №2. P.244-252.
83. *Bruus H.* Acoustofluidics 7: The acoustic radiation force on small particles // *Lab Chip*. 2012. V.12. №6. P.1014-1021.
84. *Lenshof A., Evander M., Laurell T., Nilsson J.* Acoustofluidics 5: Building microfluidic acoustic resonators // *Lab Chip*. 2012. V.12. №4. P. 684-695.
85. *Glynn-Jones P., Boltryk R.J., Hill M.* Acoustofluidics 9: Modelling and applications of planar resonant devices for acoustic particle manipulation // *Lab Chip*. 2012. V.12. №8. P.1417-1426.
86. *Hawkes J.J., Radel S.* Acoustofluidics 22: multi-wavelength resonators, applications and considerations // *Lab Chip*. 2013. V.13. №4. P.610-627
87. *Lenshof A., Magnusson C., Laurell T.* Acoustofluidics 8: applications of acoustophoresis in continuous flow microsystems // *Lab Chip*. 2012. V.12. №7. P.1210-23.
88. *Bruus H.* Acoustofluidics 10: scaling laws in acoustophoresis // *Lab Chip*. 2012. V.12. №9. P.1578-1586.
89. *Sadhal S.S.* Acoustofluidics 13: Analysis of acoustic streaming by perturbation methods // *Lab Chip*. 2012. V.12. №13. P.2292-2300.
90. *Wiklund M., Green R., Ohlin M.* Acoustofluidics 14: Applications of acoustic streaming in microfluidic devices // *Lab Chip*. 2012. V.12. №14. P.2438-2451.
91. *Sadhal S.S.* Acoustofluidics 15: streaming with sound waves interacting with solid particles // *Lab Chip*. 2012. V.12. №15. P.2600-2611.
92. *Sadhal S.S.* Acoustofluidics 16: acoustics streaming near liquid-gas interfaces: drops and bubbles // *Lab Chip*. 2012. V.12. №16. P.2771-2781.

93. *Dual J., Möller D.* Acoustofluidics 4: Piezoelectricity and application in the excitation of acoustic fields for ultrasonic particle manipulation // *Lab Chip*. 2012. V.12. №3. P.506-514.
94. *Dual J., Hahn P., Leibacher I., Möller D., Schwarz T.* Acoustofluidics 6: Experimental characterization of ultrasonic particle manipulation devices // *Lab Chip*. 2012. V.12. №5. P.852-862.
95. *Gedge M., Hill M.* Acoustofluidics 17: theory and applications of surface acoustic wave devices for particle manipulation // *Lab Chip*. 2012. V.12. №17. P.2998-3007.
96. *Evander M., Nilsson J.* Acoustofluidics 20: applications in acoustic trapping // *Lab Chip*. 2012. V.12. №22. P.4667-4676.
97. *Glynn-Jones P., Hill M.* Acoustofluidics 23: acoustic manipulation combined with other force fields // *Lab Chip*. 2013. V.13. №6. P.1003-1010.
98. *Augustsson P., Laurell T.* Acoustofluidics 11: Affinity specific extraction and sample decomplexing using continuous flow acoustophoresis // *Lab Chip*. 2012. V.12. №10. P.1742-1752.
99. *Wiklund M., Radel S., Hawkes J.J.* Acoustofluidics 21: ultrasound-enhanced immunoassays and particle sensors // *Lab Chip*. 2013. V.13. №1. P.25-39.
100. *Wiklund M.* Acoustofluidics 12: Biocompatibility and cell viability in microfluidic acoustic resonators // *Lab Chip*. 2012. V.12. №11. P.2018-2028.
101. *Wiklund M., Brismar H., Onfelt B.* Acoustofluidics 18: Microscopy for acoustofluidic micro-devices // *Lab Chip*. 2012. V.12. №18. P.3221-3234.
102. *Dual J., Hahn P., Leibacher I., Möller D., Schwarz T., Wang J.* Acoustofluidics 19: ultrasonic microrobotics in cavities: devices and numerical simulation // *Lab Chip*. 2012. V.12. №20. P.4010-4021.
103. *Charvin G., Oikonomou C., Cross F.* Long-Term Imaging in Microfluidic Devices // *Meth. Mol. Biol.* 2010. V.591. P. 229-242.