



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I851862 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 08 月 11 日

(21)申請案號：109145527

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 12 月 22 日

(51)Int. Cl. : **B01L3/00 (2006.01)****C12M1/00 (2006.01)****A61K31/7088(2006.01)**

(30)優先權：2019/12/23 美國

62/953,102

(71)申請人：美商胡桃夾子治療公司 (美國) NUTCRACKER THERAPEUTICS, INC. (US)
美國

(72)發明人：艾爾德里奇 班傑明 ELDRIDGE, BENJAMIN (US) ; 溫西淼 WEN, XIMIAO (CN)

(74)代理人：閻啓泰；林景郁

(56)參考文獻：

TW 200533413A

US 2001/0048900A1

US 2012/0103427A1

US 2012/0218857A1

審查人員：曹世力

申請專利範圍項數：35 項 圖式數：20 共 99 頁

(54)名稱

微流體裝置及其使用方法

(57)摘要

本申請涉及微流體裝置及其使用方法。在一個示例中提供了一種微流體設備，包括：第一流體輸入端和第二流體輸入端；以及流體交會通道，其用於接收來自第一流體輸入端和第二流體輸入端的流體，其中流體交會通道在第一混合室的第一側的上部區域通向第一混合室中，其中第一混合室具有長度、寬度和深度，其中深度大於流體交會通道的深度的大約 1.5 倍；出口通道，其位於第一混合室的第二側的上部區域上，其中出口通道的深度小於第一混合室的深度，並且其中出口通道的開口相對於流體交會處沿著第一混合室的第二側的寬度偏離。

This application refers to a microfluidic apparatus and methods of use thereof. Provided in one example is a microfluidic device comprising: a first fluidic input and a second fluidic input; and a fluidic intersection channel to receive fluid from the first fluidic input and the second fluidic input, wherein the fluidic intersection channel opens into a first mixing chamber on an upper region of a first side of the first mixing chamber, wherein the first mixing chamber has a length, a width, and a depth, wherein the depth is greater than about 1.5 times a depth of the fluidic intersection channel; an outlet channel on an upper region of a second side of the first mixing chamber, wherein the outlet channel has a depth that is less than the depth of the first mixing chamber, and wherein an opening of the outlet channel is offset along a width of the second side of the first mixing chamber relative to the fluidic intersection.

指定代表圖：

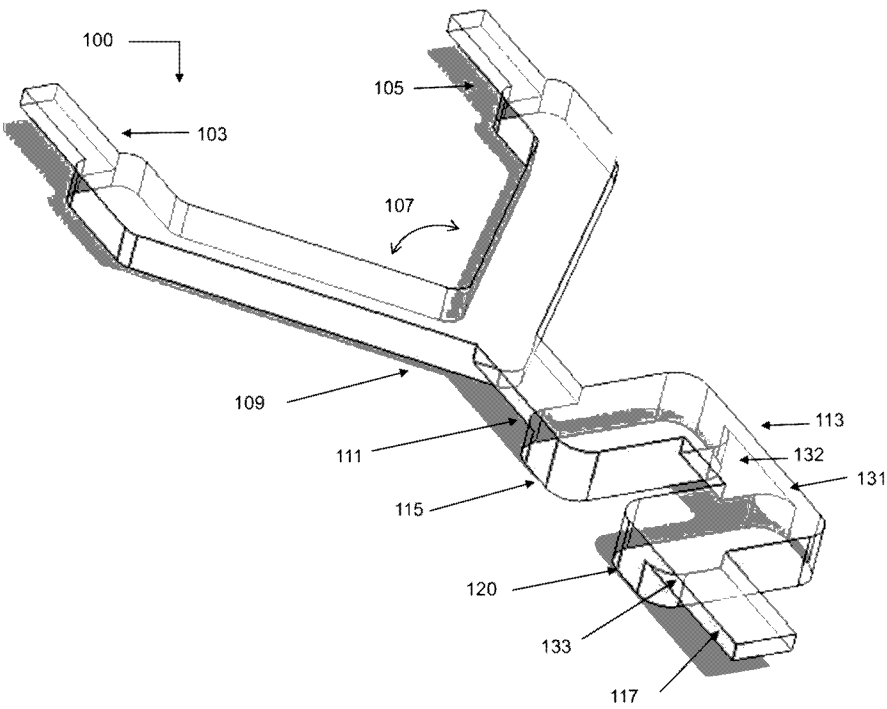


圖1A



I851862

【發明摘要】

【中文發明名稱】 微流體裝置及其使用方法

【英文發明名稱】 MICROFLUIDIC APPARATUS AND METHODS OF USE
THEREOF

【中文】

本申請涉及微流體裝置及其使用方法。在一個示例中提供了一種微流體設備，包括：第一流體輸入端和第二流體輸入端；以及流體交會通道，其用於接收來自第一流體輸入端和第二流體輸入端的流體，其中流體交會通道在第一混合室的第一側的上部區域通向第一混合室中，其中第一混合室具有長度、寬度和深度，其中深度大於流體交會通道的深度的大約1.5倍；出口通道，其位於第一混合室的第二側的上部區域上，其中出口通道的深度小於第一混合室的深度，並且其中出口通道的開口相對於流體交會處沿著第一混合室的第二側的寬度偏離。

【英文】

This application refers to a microfluidic apparatus and methods of use thereof. Provided in one example is a microfluidic device comprising: a first fluidic input and a second fluidic input; and a fluidic intersection channel to receive fluid from the first fluidic input and the second fluidic input, wherein the fluidic intersection channel opens into a first mixing chamber on an upper region of a first side of the first mixing chamber, wherein the first mixing chamber has a length, a width, and a depth, wherein the depth is greater than about 1.5 times a depth of the fluidic intersection channel; an outlet channel on an upper region of a second side of the first mixing chamber, wherein the outlet channel has a depth that is less than the depth of the first mixing chamber,

and wherein an opening of the outlet channel is offset along a width of the second side of the first mixing chamber relative to the fluidic intersection.

【指定代表圖】 圖1A

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 微流體裝置及其使用方法

【英文發明名稱】 MICROFLUIDIC APPARATUS AND METHODS OF USE
THEREOF

【技術領域】

【0001】 相關申請的交叉引用

本申請要求於2019年12月23日提交的且標題為“MICROFLUIDIC APPARATUS AND METHODS OF USE THEREOF”的美國臨時專利申請第62/953,102號的優先權，該臨時專利申請通過引用以其整體併入本文。

【0002】 通過引用併入

本說明書中提及的所有出版物和專利申請均通過引用以其整體併入本文，其程度如同每個單獨的出版物或專利申請都被明確地和單獨地指出要通過引用併入一樣。

【0003】 本文所述的裝置和方法可用於製造和配製含生物分子的產品，特別是用於個性化護理的治療劑。具體而言，本文描述了用於在護理點處理治療性多核苷酸的封閉路徑方法和裝置。

【先前技術】

【0004】 目前用於製造和配製多核苷酸治療物（polynucleotide therapeutics）特別是mRNA治療物的可用技術經常使產品受到污染和降解。目前可獲得的集中生產對於可能包括多種多核苷酸物種的治療製劑來說可能成本太高、速度太慢、而且易受污染。開發可擴展的多核苷酸製造、生產單個患者劑量、消除接觸點以限制污染、輸入和過程跟蹤以滿足臨床製造要求、以及在護理點

(point-of-care) 操作中的應用，可以促進這些有前途的治療方法的使用。微流體儀器和過程可以針對這些目標提供主要優勢。

【發明內容】

【0005】 通常，本文描述了使用微流體設備配製合成物 (composition) 的裝置和方法。具體而言，本文描述了包括使用微流體混合室 (或一系列互連的微流體混合室) 配製合成物的方法和裝置，所述微流體混合室被配置成在相對小的佔用面積 (footprint) 內提供高效混合。這些混合室可以在特定的流速內操作，以實現高度混合。在一些示例中，混合室可以被冷卻到低於室溫的溫度，這增強了在這裡描述的微流體混合室內的混合。

【0006】 例如，這裡描述的混合室可以被稱為盒體式混合室 (box mixing chamber) 和/或渦旋混合室 (vortex mixing chamber)。這些混合室可以是微流體裝置例如微流體設備 (其在本文中也可以被稱為微流體路徑設備) 的一部分。這些室通常可包括具有基部 (例如，底部) 表面的基部、和側壁、以及封閉該室的覆蓋 (例如，頂部) 表面。這些混合室還可以包括入口，例如混合入口，該入口從微流體設備內 (或通向微流體設備內) 的兩個或更多個流體路徑接收輸入。入口在盒體式室一側的偏離頂部和/或底部的區域附近 (通常在室的第一側的上部區域附近) 向室 (例如，在一些示例中，為盒體式室) 饋送。入口通常與室的頂部和/或底部偏離一定深度，該深度大於入口的深度的大約1.5倍。入口也可以被稱為流體交會通道 (fluidic intersection channel)。例如，混合入口通道可以包括在渦旋混合室的第一側壁處通向混合室的開口。這些室還可以包括混合出口通道。混合出口通道可以包括在渦旋混合室的第二側壁中通向混合室的開口。通常，渦旋混合室的豎直尺寸可以大於混合入口通道的豎直尺寸，並且可以大於混合出口通道的豎直尺寸。

【0007】 本文所述的混合通道可從入口接收兩種或更多種流體（例如，包含第一合成物（如mRNA）的第一流體，和包含第二合成物（如遞送載體）的第二流體）。流體（其可以在被驅動到混合室之前被混合）可以延伸到混合室中，並且被稍微向下引導並抵靠與入口相對的壁。這可以形成彎曲或捲曲的流體路徑，在該路徑中流體被引導穿過入口、向下引導並在入口的下方，以與從入口進入室的新的材料混合並組合。流體可以繼續混合，最終將混合的流體從出口驅出。在一些實例中，第一混合室串聯聯接到一個或更多個混合室，使得相鄰的混合室彼此串聯地向彼此饋送。例如，一個室的出口可以向另一個室的入口饋送。如下文將描述的，這些方法和裝置中的任何一種可以包括將混合室的溫度控制到一定溫度或溫度範圍（該溫度或溫度範圍被校準以增強混合）內（在一些示例中，在約10°C和約20°C之間），以便在本文描述的混合室中混合。提高的混合溫度可以以在混合室的特定幾何形狀內被混合的製劑（在一些示例中是mRNA和/或遞送載體的序列）為基礎。這個最佳溫度可以通過實驗和/或模擬來確定。本文所用的“遞送載體（delivery vehicle）”是指至少部分促進向靶細胞或組織（例如腫瘤等）體內、體外或離體遞送多核苷酸的任何物質。將某物稱為遞送載體不一定意味著它也可能沒有治療效果。在一個示例中，遞送載體提供附加的治療效果。在另一個示例中，遞送載體不提供附加的治療效果。例如，遞送載體可以是氨基脂質化類肽(amino-lipidated peptoid)遞送載體，其可以至少部分包封mRNA。

【0008】 本文所述的裝置和方法可以與任何合適的微流體裝置（例如，微流體設備、微流體系統等）一起使用，特別是那些作為管路的一部分需要高度混合的微流體裝置，以及在一些示例中，封閉（例如，閉合路徑）微流體路徑，在該路徑中，空間可能是非常珍貴的。可以與本文所述的任何混合器和混合技術一起使用的微流體系統的示例可以在例如於2020年8月10日提交的且標題為“METHODS AND APPARATUSES FOR MANUFACTURING FOR REMOVING

MATERIAL FROM A THERAPEUTIC COMPOSITION”的16/989,833中發現，該申請要求於2019年8月9日提交的標題為“MICROFLUIDIC APPARATUS AND METHODS OF USE THEREOF”的美國臨時專利申請第62/885159號以及於2019年8月9日提交的標題為“METHODS AND APPARATUSES FOR MANUFACTURING THERAPEUTIC COMPOSITIONS”的美國臨時專利申請第62/885170號的優先權，其各自的公開內容通過引用以其整體結合到本文中。

【0009】 本文還描述了包括一個或更多個如上所述的混合器的微流體設備。例如，微流體設備可以包括：第一流體輸入端和第二流體輸入端；以及流體交會通道，其被配置為接收來自第一流體輸入端和第二流體輸入端的流體，其中流體交會通道在第一混合室的第一側的上部區域通向第一混合室中，其中第一混合室具有大於流體交會通道的深度的大約1.5倍的深度；出口通道，其位於第一混合室的第二側的上部區域上，其中出口通道的深度小於第一混合室的深度，進一步地其中出口通道的開口相對於流體交會處沿著第一混合室的第二側的寬度偏離。

【0010】 一種微流體設備可以包括：第一流體輸入通道和第二流體輸入通道，其中第一流體輸入通道和第二流體輸入通道會聚以形成流體交會通道，該流體交會通道具有從頂表面延伸到第一底表面的深度、和寬度；第一混合室，其具有從頂表面延伸到第二底表面的深度、從第一側延伸到第二側的寬度、和長度，其中第一混合室的深度大於流體交會通道的深度，並且第一混合室的寬度大於流體交會通道的寬度，進一步地其中，第一混合室在頂表面處並靠近第一側流體地連接到流體交會通道；和出口通道，其中出口通道在頂表面處並靠近混合室的第二側流體地連接到第一混合室。

【0011】 微流體設備可以包括：第一流體輸入端和第二流體輸入端；以及流體交會通道，其被配置為接收來自第一流體輸入端和第二流體輸入端的流體，

其中流體交會通道在第一混合室的第一側的上部區域通向第一混合室中，其中第一混合室具有大於流體交會通道的深度的大約1.5倍的深度；連接通道，其位於第一混合室的第二側的上部區域上，其中連接通道的深度小於第一混合室的深度，進一步地其中，連接通道的開口相對於流體交會處沿著第一混合室的第二側的寬度偏離，其中連接通道通向第二混合室；和從第二混合室延伸的出口通道。

【0012】 這些微流體設備中的任何一個都可以被配置為單個混合器，其中出口通道形成混合器輸出端（例如，不串聯連接到另外的混合室）。出口通道可以連接到微流體設備的輸出端，或者它可以提供用於進一步處理（包括用於與另一種流體組合（以及隨後混合）等）的輸入端。當混合室被配置為單個混合器時，出口通道不作為與第一混合室串聯連接的第二混合室的唯一輸入端。

【0013】 這些微流體設備中的任何一個可以具有第一混合室的深度，該深度為流體交會通道深度的約2倍至約4倍之間。第一混合室的深度可以為流體交會通道深度的約3倍。在一些示例中，第一混合室的寬度為盒體長度的約1.5倍至約3倍之間。例如，第一混合室的寬度可以為盒體長度的約2倍。

【0014】 第一混合室的長度可以約為流體交會通道長度的2倍至4倍之間。在一些示例中，第一混合室的長度約為盒體長度的3倍。

【0015】 一般來說，本文所述的混合器可以集成到微流體路徑設備中。例如，流體交會通道、第一混合室和出口通道可以全部形成在第一層內，進一步地，其中流體交會通道、第一混合室和出口通道的頂表面由第二層形成。

【0016】 一般而言，進入/離開本文所述混合室的入口和出口可以彼此隔開一定偏移量。例如，出口通道可以在混合室的第一長度處與第一混合室流體地連通，並且流體交會通道可以在混合室的第二長度處與混合室流體地連通。

【0017】 混合室可以是具有直角拐角和/或圓角拐角的盒體。例如，第一

混合室在所有或一些拐角處可以具有約在65-85 μm 之間的拐角半徑。如這裡所使用的，圓角（rounded）是指以曲線而不是以一定角度突然平滑過渡的表面。圓角可以具有非零的曲率半徑，例如，是其所連接的最短側壁的長度的0.5倍和0.01倍。

【0018】 本文所述的任一示例的微流體設備可被配置為提供以約0.25 ml/min至約5 ml/min之間（例如，約0.25 ml/min至約4ml/min之間、約0.25 ml/min至約3 ml/min之間、約0.25 ml/min至約2 ml/min之間、約0.25 ml/min至約1.5 ml/min之間等）流速和在約1 psi（6.9 kPa）至約30 psi（206.8 kPa）之間（例如在約1 psi至約25 psi（約6.9 kPa至約172.4 kPa）之間、在約1 psi至約22.5 psi（約6.9 kPa至約155.1 kPa）之間、在約1 psi至約20 psi（約6.9 kPa至約137.9 kPa）之間、在1 psi至約10 psi（約6.9 kPa至約68.9 kPa）之間、在約1 psi至約5 psi（約6.9 kPa至約34.5 kPa）之間等）下通過第一混合室的流體壓力變化。

【0019】 微流體設備可以包括可串聯連接的任意數量的混合室。因此，微流體裝置可以包括多個流體連接的混合室。例如，微流體路徑設備可以具有第二混合室，該第二混合室具有從第二混合室的頂表面延伸到底表面的深度、從第二混合室的第一側延伸到第二側的寬度、和長度，其中第二混合室的深度大於出口通道的深度，並且第二混合室的寬度大於出口通道的寬度，進一步地，其中所述第二混合室在頂表面處並靠近所述第二側流體地連接到出口通道；以及第二出口通道，其具有深度和寬度，其中第二出口通道在頂表面處並靠近第二混合室的第一側流體地連接到第二混合室。

【0020】 這些微流體設備中的任何一個都可以包括一個或更多個流體泵，該流體泵被配置為通過偏轉微流體設備內的彈性膜的至少一部分來將流體從流體交會通道泵送到第一混合室中。例如，微流體設備可以在微流體混合器和多個混配室之間包括一個或更多個流體泵，其中流體泵被配置為通過偏轉微流體設

備內的彈性膜的至少一部分來將流體從流體交會通道泵送到第一混合室中。替代地或附加地，本文所述的這些裝置中的任何一個（例如，這些微流體設備中的任何一個）可以使用非脈動壓力源來驅動流體從流體交會通道進入一個或更多個混合室。因此，通過混合器的流可以是連續的和非脈衝式的。

【0021】 例如，這些微流體設備中的任何一個都可以包括多個壓力端口，這些壓力端口被配置為偏轉微流體設備中的彈性層，以驅動流體在其間通過第一混合室。

【0022】 在一些實例中，微流體設備包括與第一流體輸入端流體連通的限流器，其中限流器包括蛇形的長形流體通道。在一些示例中，出口通道與一個或更多個最終混配室流體連通。

【0023】 通常，微流體混合器（例如，混合裝置、混合系統、混合設備、微流體渦旋混合裝置等）可以包括：渦旋混合室，其包括限定底表面的基部、側壁、和封閉渦旋混合室的上表面；混合入口通道，其包括在渦旋混合室的第一側壁處通向渦旋混合室的開口；混合出口通道，其包括在渦旋混合室的第二側壁處通向渦旋混合室的開口，其中渦旋混合室的豎直尺寸大於混合入口通道的豎直尺寸，並且大於混合出口通道的豎直尺寸。

【0024】 第一側壁和第二側壁可以位於渦旋混合室的相對的側壁上。在一些示例中，混合入口通道和混合出口通道在沿著第一側壁和第二側壁的偏離的位置處連接到渦旋混合室。混合入口通道的開口的高度和混合出口通道的開口的高度可以相同。混合入口通道的開口的寬度和混合出口通道的開口的寬度可以相同。

【0025】 混合入口通道的開口和混合出口通道的開口可以設置在相應的第一側壁和第二壁的鄰近渦旋混合室的上表面的高度處。

【0026】 混合入口通道可以具有包括流體交會處的第一端和包括通向渦

旋混合室的開口的第二端。在一些示例中，流體交會處可進一步包括第一流體輸入通道和第二流體輸入通道，第一流體輸入通道和第二流體輸入通道被配置為在流體交會處與混合入口通道相交。

【0027】 第一流體通道和第二流體通道可以被配置為在流體交會處以小於180度的角度彼此相交。第一流體通道和第二流體通道可以被配置成在流體交會處以大於30度的角度彼此相交。

【0028】 在一些示例中，渦旋混合室、混合入口通道和混合出口通道可以是第一渦旋混合室、第一混合入口通道和第二混合出口通道，並且微流體裝置可以進一步包括第二微流體混合裝置，該第二微流體混合裝置包括：第二渦旋混合室，該第二渦旋混合室包括限定底表面的基部、側壁、和封閉第二渦旋混合室的上表面；第二混合入口通道，其包括在第二渦旋混合室的第一側壁處通向第二渦旋混合室的開口；第二混合出口通道，其包括在第二渦旋混合室的第二側壁處通向第二渦旋混合室的開口，其中第二渦旋混合室的豎直尺寸大於第二混合入口通道的豎直尺寸，並且大於第二混合出口通道的豎直尺寸。

【0029】 如本文所用，混合裝置可以包括混合系統或混合設備。混合裝置在本文中 can 等效地稱為微流體混合器、或微流體混合設備、或微流體混合系統。

【0030】 這裡描述的任何微流體裝置可以包括以下的一個或更多項：第二渦旋室的第一側壁和第二側壁是第二渦旋混合室的相對的側壁；第二混合入口通道和第二混合出口通道，在沿著第二渦旋室的第一側壁和第二側壁的偏離的位置處連接到第二渦旋混合室；第二混合入口通道的開口的高度和第二混合出口通道的開口的高度相同；第二混合入口通道的開口的寬度和第二混合出口通道的開口的寬度相同；第二混合入口通道的開口和第二混合出口通道的開口設置在第二渦旋混合室的相應的第一側壁和第二壁的鄰近第二渦旋混合室的上表

面的高度處；以及它們的任意組合。

【0031】 本文所述的任何微流體裝置可包括第二混合出口通道，該第二混合出口通道包括在通向第二渦旋混合室的開口處的第一端。

【0032】 本文所述的微流體混合器可以作為形成在兩層之間的微流體設備（例如微流體芯片）的一部分而被包括，並且可以包括一個或更多個泵、混合室等。例如，微流體裝置可以包括：第一板和第二板；設置在第一板和第二板之間的彈性層；以及形成在第一板和第二板之間的微流體路徑，其中微流體流動路徑包括：多個混配室，每個混配室包括固定體積，該固定體積被配置為通過偏轉至少彈性層的區域來在混合室之間驅動流體；微流體混合器，其中微流體混合器包括：第一流體輸入端和第二流體輸入端；以及被配置為接收來自第一流體輸入端和第二流體輸入端的流體的流體交會處，其中流體交會處在第一混合室的第一側的上部區域上通向第一混合室，其中第一混合室的深度大於流體交會處的深度的大約1.5倍；在第一混合室的第二側的上部區域上的連接通道，其中連接通道的深度小於第一混合室的深度，進一步地，其中連接通道的開口相對於流體交會處沿著第一混合室的第二側的寬度偏離，其中連接通道在第二混合室的第一側的上部區域通向第二混合室，進一步地，其中所述第二混合室的深度大於連接通道的深度的大約1.5倍；以及在第二混合室的第二側的上部區域上的來自第二混合室的輸出通道，其中第二混合室的第二側與第二混合室的第一側相對。

【0033】 流體交會處的上表面可以被配置為與第一混合室的上表面齊平。在一些示例中，連接通道的上表面可以被配置為與第一混合室的上表面和第二混合室的上表面齊平。在一些示例中，微流體裝置還可以包括一個或更多個流體泵，該一個或更多個流體泵被配置為通過偏轉彈性層的至少一部分將流體從混配室泵送到微流體混合器中。

【0034】 這些微流體裝置中的任何一個可以在微流體混合器和多個混合

室之間包括一個或更多個流體泵，其中這些流體泵被配置為通過偏轉彈性層的至少一部分來將流體從混配室泵送到微流體混合器中。例如，微流體裝置可以包括多個微流體混合器。在一些示例中，該裝置可以包括通向第一板中的多個壓力端口，這些壓力端口被配置為偏轉彈性層以在混配室之間驅動流體並驅動流體通過微流體混合器。

【0035】 在一些實例中，微流體裝置包括與第一流體輸入端流體連通的限流器，其中限流器包括蛇形的長形流體通道。輸出通道可以與一個或更多個混配室流體連通。混配室可以是最終混配室和/或可以包括一對具有固定體積的混配室，每個混配室形成在第一板和第二板之間，其中彈性層的一部分將每個室分成在第二板中的流體接觸側和在第一板中的壓力接收側。

【0036】 本文所述的包括使用本文所述的混合室中的一個或更多個進行混合的任何方法和裝置可包括在較低溫度（例如混合溫度）混合，該較低溫度通常在約1°C至約30°C之間（例如，約2°C至約20°C之間，例如，約5°C至約18°C之間，約5°C至約15°C之間等）。針對特定合成物（例如，治療性mRNA和/或遞送載體）和/或針對混合室的幾何形狀和/或針對流體的流速（流體壓力等）的增強混合溫度。

【0037】 例如，一種將治療性mRNA與遞送載體配製在一起的方法可包括在約2°C至約20°C的溫度在微流體混合室中混合mRNA和遞送載體，其中基於mRNA的合成物和/或遞送載體的合成物來選擇溫度。可以基於以下中的一項或更多項來選擇溫度：治療性mRNA的多核苷酸序列；遞送載體的序列；遞送載體的分子量、治療性mRNA的分子量、遞送載體的電荷、mRNA的電荷、遞送載體的分子量；mRNA的分子量、微流體混合室內mRNA和/或遞送載體的流速以及微流體混合室的尺寸。

【0038】 在任一這些方法和設備中，混合可以包括在包括微流體混合室的

微流體設備中混合。這些方法中的任何一種都可以包括相對於微流體設備的其餘部分分別保持混合室的溫度。在微流體混合室中的混合可以包括將mRNA和遞送載體穿過第一開口傳送到微流體設備的混合室中，使得mRNA和遞送載體被驅動為抵靠混合室的壁並被驅動離開第一開口的平面至比第一開口的深度大一倍的深度，以形成包含治療合成物的混合流體。

【0039】 傳送可以包括將mRNA和遞送載體驅動為抵靠混合室的壁並離開橫向於第一開口的平面至比第一開口的深度大大約2.5倍的深度。mRNA和遞送載體可被驅動為抵靠混合室的壁並離開橫向於第一開口的平面至第一開口的深度的約3倍或更多倍的深度。第一開口的頂部可以與混合室的頂部齊平。

【0040】 還描述了使用本文所述的任何方法製造的治療合成物。例如，本文描述了通過在約2至約20°C的溫度在微流體混合室中混合mRNA和遞送載體而製成的mRNA和遞送載體的治療合成物，其中基於mRNA的合成物和/或遞送載體的合成物來選擇溫度。

【0041】 如本文所述的在微流體設備內混合的方法可以包括：將第一流體和第二流體穿過第一開口傳送到微流體設備內的混合室，使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並被驅動離開第一開口的平面至比第一開口的深度大一倍的深度，以形成混合流體；並將混合流體從混合室的出口開口傳送出去；其中混合室保持在約2°C至約20°C之間的溫度。

【0042】 一種在微流體設備內混合的方法可以包括：將第一流體和第二流體穿過至少一個開口傳送到微流體設備內的混合室中，使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並被驅動離開至少第一開口的平面；並將混合流體從混合室的出口傳送出去；其中混合室被保持在約2°C至約20°C之間的溫度。

【0043】 在本文所述方法的一些示例中，該方法是在微流體設備內混合寡核苷酸和遞送載體以形成聚集的奈米粒子的方法，並且可以包括：將包含寡核苷

酸分子的第一流體和包含遞送載體化學物質的第二流體穿過至少一個開口傳送到微流體設備內的混合室，使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並被驅動離開開口的平面；並將混合流體從混合室的出口開口傳送出去；其中混合室被保持在約2°C至約20°C之間的溫度。

【0044】 一種在微流體設備內混合的方法可以包括：將第一流體和第二流體穿過第一開口傳送到微流體設備內的混合室中，使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並離開橫向於第一開口的平面至比第一開口的深度大大約2.5倍的深度，以形成均勻混合的流體；以及將均勻（或幾乎均勻）混合的流體從出口開口傳送混合室，其中出口開口與第一開口相對，但偏離第一開口；其中混合室被保持在約5°C至約20°C之間的溫度，以均勻地混合第一流體和第二流體。

【0045】 將第一流體和第二流體穿過第一開口傳送到混合室中可以包括傳送第一流體和第二流體使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並且離開橫向於第一開口的平面至比第一開口的深度大大約2.5倍的深度。

【0046】 如上所述，在一些示例中，混合室可以保持在大約5°C至大約15°C之間的溫度，以均勻地混合第一流體和第二流體；在一些實例中，混合物的溫度被保持在約5°C至約15°C之間（例如，近似10°C）。這些方法中的任何一種可以包括將混合流體從出口開口進入第二開口傳送到第二混合室中，使得流體被驅動為抵靠第二混合室的壁並被驅動離開第二開口的平面至比第二開口的深度大一倍的深度，以進一步混合混合的流體。例如，流體可被驅動為抵靠混合室的壁並離開橫向於第一開口的平面至第一開口的深度約3倍或更多倍的深度。如上所述，第一開口的頂部可以與第一混合室的頂部齊平。在一些示例中，出口開口的橫截面積等於第一開口的橫截面積。混合室可以形成在微流體路徑設備的第一層和第二層之間。混合室可以具有大於寬度的長度，進一步地，其中長度比第一

開口的寬度大大約2倍。

【0047】 本文還描述了如本文所述的所製成的包含mRNA和遞送載體(DV)的治療合成物，例如通過將包含mRNA的第一流體和包含DV的第二流體穿過第一開口傳送到微流體設備內的混合室中，使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並被驅動離開第一開口的平面至比第一開口的深度大一倍的深度，以形成混合流體；並將混合流體從混合室的出口傳送出去；其中混合室被保持在約2°C至約20°C之間的溫度。

【0048】 還描述了使用如本文所述形成的任何合成物的治療方法。在某些情況下，當使用所述方法時，這些合成物可能僅被製造成期望的濃度和體積(和純度)。例如，一種治療疾病的方法可以包括：在微流體設備中合成一種或更多種治療性mRNA，其中一種或更多種治療性mRNA在第一流體內，並且用於一種或更多種治療性mRNA的遞送載體在第二流體內；將第一流體和第二流體穿過第一開口傳送到所述微流體設備內的混合室中，使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並被驅動離開第一開口的平面至比第一開口的深度大一倍的深度，以形成包含治療合成物的混合流體；將混合流體從混合室的出口開口傳送出去，其中混合室被保持在約2至約20°C之間的溫度；以及給患者施用治療合成物。

【0049】 混合溫度(通常(但不一定)在約2°C至約20°C之間)可以基於混合器(例如盒體式混合器)的尺寸、mRNA(例如治療性mRNA)的組成和/或遞送載體(DV)的合成物來選擇(作為增強的混合溫度)。因此，本文描述的任何方法可包括校準或選擇混合室的溫度以設定增強混合溫度；混合室的溫度可以與包括混合器的微流體設備的其他部分的溫度分開控制。在一些示例中，混合溫度可以通過體外或體內混合模擬來被校準或選擇(到增強混合溫度)。例如，最佳混合溫度可以基於mRNA合成物(例如，作為製造mRNA的核苷酸的百分比

或比率、mRNA的長度、mRNA的濃度等的函數)來估計和/或設定。附加地或替代地,可以基於遞送載體的合成物來估計最佳混合溫度,例如但不限於分子量、濃度、電荷等。例如,在一些示例中,選擇和/或設定增強混合溫度包括基於遞送載體和一種或更多種治療性mRNA選擇約2°C至約20°C之間的溫度。在一些示例中,最佳溫度可以大於約2-20度(大於約2度、大於約5度、大於約10度、大於約12.5度、大於約15度、大於約17.5度、大於約20度等)。例如,在一些示例中,最佳溫度範圍可以在約2°C和約50°C之間。在一些示例中,最佳混合溫度可以部分地基於混合室的幾何形狀和/或在混合室中混合的材料流體的壓力和/或流速來計算或估計。最佳混合溫度可以指混合期間混合室可以保持的溫度,以便在經過混合室之後產生更均勻的混合。

【0050】 將第一流體和第二流體穿過第一開口傳送到混合室中可以包括傳送第一流體和第二流體使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並且離開橫向於第一開口的平面至比第一開口的深度大大約2.5倍的深度。流體可被驅動為抵靠混合室的壁並離開橫向於第一開口的平面至第一開口的深度的約3倍或更多倍的深度。在一些示例中,第一開口的頂部與混合室的頂部成齊平。出口開口的橫截面積可以等於第一開口的橫截面積。混合室可以形成在微流體路徑設備的第一層和第二層之間。在一些示例中,混合室的長度大於寬度,例如,長度可以大於第一開口寬度約2倍。

【0051】 一種形成治療疾病的治療合成物的方法可以包括:將第一流體內的一種或更多種治療性mRNA和第二流體內的用於一種或更多種治療性mRNA的遞送載體穿過第一開口傳送到微流體設備內的混合室中,使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並被驅動離開第一開口的平面至比第一開口的深度大一倍的深度,以形成包含治療合成物的混合流體;在形成混合流體的同時,將混合室的溫度保持在由一種或更多種治療劑和/或遞送載體確定的溫度,

其中溫度在約2℃至約20℃之間；以及將混合流體從混合室的出口開口傳送出去。

【0052】 如上所述，這些方法中的任何一種都可以包括確定最佳混合溫度。例如，保持混合室的溫度可以進一步包括選擇和/或設置混合室的溫度至增強混合溫度。增強混合溫度可以通過可以包括體外混合模擬和/或實驗性的確定體內增強混合溫度來確定。在這些示例的任何一個中，選擇和/或設定增強混合溫度可以包括確定在不同溫度體內或體外的mRNA產生（例如mRNA表達）被最大化以便增強（例如增加）活性化合物的產生所處的溫度。因此，增強混合溫度可包括在本文所述系統中mRNA表達發生混合所處的溫度或溫度範圍。確定和/或設定增強混合溫度可包括基於遞送載體和一種或更多種治療性mRNA而在約2℃至約20℃之間選擇溫度。

【0053】 例如，本文描述了微流體設備，包括：第一流體輸入端和第二流體輸入端；以及流體交會通道，其用於接收來自第一流體輸入端和第二流體輸入端的流體，其中流體交會通道在第一混合室的第一側的上部區域通向第一混合室中，其中第一混合室具有長度、寬度和深度，其中第一混合室的深度大於流體交會通道的深度的大約1.5倍；出口通道，其位於第一混合室的第二側的上部區域上，其中出口通道的深度小於第一混合室的深度，並且其中出口通道的開口相對於流體交會處沿著第一混合室的第二側的寬度偏離。

【0054】 一種微流體設備可以包括：第一流體輸入通道和第二流體輸入通道，其中第一流體輸入通道和第二流體輸入通道會聚到流體交會通道，該流體交會通道具有寬度和從頂表面延伸到第一底表面的深度；第一混合室，其具有從頂表面延伸到第二底表面的深度、從第一側延伸到第二側的寬度、和長度，其中第一混合室的深度大於流體交會通道的深度，並且第一混合室的寬度大於流體交會通道的寬度，並且其中第一混合室在頂表面處並靠近第一側流體地連接到流

體交會通道；和出口通道，其中出口通道在頂表面處並靠近第一混合室的第二側流體地連接到第一混合室流體。

【0055】 微流體設備可以包括：第一流體輸入端和第二流體輸入端；以及流體交會通道，該流體交會通道接收來自第一流體輸入端和第二流體輸入端的流體，其中流體交會通道在第一混合室的第一側的上部區域通向第一混合室中，其中第一混合室具有寬度、長度和深度，其中第一混合室的深度大於流體交會通道的深度的大約1.5倍；連接通道，其位於第一混合室的第二側的上部區域上，其中連接通道的深度小於第一混合室的深度，進一步地，其中連接通道的開口相對於流體交會處沿著第一混合室的第二側的寬度偏離，其中連接通道通向第二混合室；和從第二混合室延伸的出口通道。

【0056】 在任一這些微流體設備中，第一混合室的深度可以為流體交會通道深度的約2倍至約4倍之間。第一混合室的深度可以為流體交會通道深度的約3倍。第一混合室的寬度可以為盒體長度的約1.5倍至3倍之間。第一混合室的寬度可以為盒體長度的約2倍。第一混合室的長度可以為流體交會通道長度的約2倍至4倍之間。第一混合室的長度可以為盒體長度的約3倍。

【0057】 流體交會通道、第一混合室和出口通道可以都在第一層內，並且其中流體交會通道、第一混合室和出口通道的頂表面包括第二層。出口通道可以在混合室的第一長度處與第一混合室流體地連通，並且流體交會通道在混合室的第二長度處與混合室流體地連通。

【0058】 第一混合室可以具有圓角拐角。第一混合室可以具有大約65-85 μm 之間的拐角半徑。以0.25 ml/min至5 ml/min的流速通過第一混合室的流體壓力的變化可以在約6.9kPa至約206.8kPa之間。第一混合室的寬度可以在約150 μm 至約600 μm 之間，第一混合室的深度可以在約150 μm 至約500 μm 之間，並且第一混合室的長度可以在約500 μm 至約1000 μm 之間。

【0059】 連接通道的寬度可在約75 μm 至約225 μm 之間，深度在約75 μm 至約225 μm 之間，並且長度在約225 μm 至約550 μm 之間。

【0060】 這些微流體設備中的任何一個可以包括：第二混合室，該第二混合室具有從第二混合室的頂表面延伸到底表面的深度、從第二混合室的第一側延伸到第二側的寬度、和長度，其中第二混合室的深度大於所述出口通道的深度，並且第二混合室的寬度大於出口通道的寬度，進一步地，其中第二混合室在頂表面處並靠近第二側流體地連接到出口通道；以及第二出口通道，其具有深度和寬度，其中第二出口通道在頂表面處並靠近第二混合室的第一側流體地連接到第二混合室。

【0061】 本文所述的任何微流體設備可具有一個或更多個流體泵，以通過偏轉微流體設備內的彈性膜的至少一部分來將流體從流體交會通道泵送到第一混合室中。本文所述的任何微流體設備可在多個混合室和微流體混合器之間具有一個或更多個流體泵，其中流體泵通過偏轉微流體設備內的彈性膜的至少一部分將流體從流體交會通道泵送到第一混合室中。

【0062】 微流體設備可以包括多個流體連接的混合室，包括第一混合室。

【0063】 本文所述的任何微流體設備可以包括多個壓力端口，這些壓力端口被配置為偏轉微流體設備中的彈性層，以驅動流體在其間通過第一混合室。本文所述的任何微流體設備可包括與第一流體輸入端流體連通的限流器，其中限流器包括蛇形的長形流體通道。

【0064】 微流體混合裝置可以包括：混合室（例如，包括限定底表面的基部、側壁、和封閉混合室的上表面）；混合入口通道（例如，包括在混合室的第一側壁處通向混合室的開口）；混合出口通道（例如，包括在混合室的第二側壁處通向混合室的開口），或者這些的任意組合。混合室的豎直尺寸可以大於混合入口通道的豎直尺寸，並且可以大於混合出口通道的豎直尺寸。

【0065】 第一側壁和第二側壁可以位於混合室的相對的側壁。混合入口通道和混合出口通道可以在沿著第一側壁和第二側壁的偏離的位置處連接到混合室。混合入口通道的開口的高度和混合出口通道的開口的高度可以相同。混合入口通道的開口的寬度和混合出口通道的開口的寬度可以相同。

【0066】 混合入口通道的開口和混合出口通道的開口可以設置在相應的第一側壁和第二壁的鄰近混合室上表面的高度處。混合入口通道可以具有包括流體交會處的第一端和包括通向混合室的開口的第二端。

【0067】 流體交會處可進一步包括第一流體輸入通道和第二流體輸入通道，第一流體輸入通道和第二流體輸入通道在流體交會處與混合入口通道相交。第一流體通道和第二流體通道可以在流體交會處相對於彼此成小於約180度的角度相交。第一流體通道和第二流體通道可以在流體交會處相對於彼此成大於約30度的角度相交。

【0068】 混合室可以是第一混合室，混合入口通道可以是第一混合入口通道，和/或混合出口通道可以是第一混合出口通道。該微流體裝置還可以包括第二微流體混合裝置，該第二微流體混合裝置包括：第二混合室，該第二混合室包括限定底表面的基部、側壁、和封閉第二混合室的上表面；第二混合入口通道，該第二混合入口通道包括在第二混合室的第一側壁處通向第二混合室的開口；第二混合出口通道，其包括在第二混合室的第二側壁處通向第二混合室的開口，其中第二混合室的豎直尺寸大於第二混合入口通道的豎直尺寸，並且大於第二混合出口通道的豎直尺寸。

【0069】 第二室的第一側壁和第二側壁可以是第二混合室的相對側壁；第二混合入口通道和第二混合出口通道可以在沿著第二室的第一側壁和第二側壁的偏離的位置處連接到第二混合室；第二混合入口通道的開口的高度和第二混合出口通道的開口的高度可以相同；並且第二混合入口通道的開口的寬度和第

二混合出口通道的開口的寬度可以相同。

【0070】 根據請求項23-34中任一項所述的微流體裝置，其中第二混合出口通道包括位於通向第二混合室的開口處的第一端。

【0071】 本文還描述了包括級聯微流體混合裝置的微流體裝置，其中每個級聯微流體混合裝置可以包括：混合室（例如，包括限定底表面的基部、側壁、和上表面）；混合入口通道（例如，包括在混合室的第一側壁處通向混合室的開口）；混合出口通道（例如，包括在混合室的第二側壁處通向混合室的開口），或者這些的任意組合。混合室的豎直尺寸可以大於混合入口通道的豎直尺寸，並且可以大於混合出口通道的豎直尺寸。此外，級聯微流體混合器可以彼此串聯連接，使得在串聯中的在第一個微流體混合器之後的級聯微流體混合器中的每一個的混合入口通道可以連接到該串聯中的前一個微流體混合器的混合出口。

【0072】 一種微流體裝置可以包括：第一板和第二板；設置在第一板和第二板之間的彈性層；以及在第一板和第二板之間的微流體路徑，其中微流體路徑包括：多個混合室，每個混合室包括由彈性層的一部分分隔開的固定體積，其中彈性層的該部分被配置為偏轉以在多個混合室的混合室之間驅動流體；第一微流體混合器，其中第一微流體混合器包括：第一流體輸入端和第二流體輸入端；以及流體交會處，其被配置為接收來自第一流體輸入端和第二流體輸入端的流體，其中流體交會處在第一混合室的第一側的上部區域上通向第一混合室，其中第一混合室的深度大於流體交會處的深度的1.5倍；在第一混合室的第二側的上部區域上的連接通道，其中連接通道的深度小於第一混合室的深度，進一步地，其中連接通道的開口相對於流體交會處沿著第一混合室的第二側的寬度偏離，其中連接通道在第二混合室的第一側的上部區域通向第二混合室，進一步地的，其中第二混合室的深度大於連接通道的深度的1.5倍；以及在第二混合室的第二側的上部區域上的來自第二混合室的輸出通道，其中第二混合室的第二側與第

二混合室的第一側相對。

【0073】 流體交會處的上表面可以與第一混合室的上表面基本上齊平。連接通道的上表面可以被配置為與第一混合室的上表面和第二混合室的上表面齊平。

【0074】 本文所述的任何微流體裝置可包括一個或更多個流體泵，以通過偏轉彈性層的至少一部分來將流體從混配室泵送到微流體混合器中。本文所述的微流體裝置可以在多個混配室和第一微流體混合器之間包括一個或更多個流體泵，其中這些流體泵通過偏轉彈性層的至少一部分來將流體從混配室泵送到第一微流體混合器中。

【0075】 微流體裝置可以包括多個微流體混合器，這些微流體混合器包括第一微流體混合器和/或進入第一板中的多個壓力端口，這些壓力端口被配置為偏轉彈性層以在混合室之間驅動流體並驅動流體通過第一微流體混合器。本文所述的任何微流體裝置可包括與第一流體輸入端流體連通的限流器，其中限流器包括蛇形的長形流體通道。

【0076】 最終混配室可以包括一對具有固定體積的混配室，每個混配室被設置在第一板和第二板之間，並且其中彈性層的一部分將每個室分成在第二板中的流體接觸側和在第一板中的壓力接收側。

【0077】 本文還描述了將治療性mRNA和遞送載體配製在一起的方法，該方法包括在約2°C至約20°C的溫度在微流體混合室中混合mRNA和遞送載體，其中至少使用mRNA的合成物、遞送載體的合成物或其組合來選擇溫度。

【0078】 這些方法中的任何一種都可以包括使用至少以下項來選擇溫度：治療性mRNA的多核苷酸序列；遞送載體的序列；遞送載體的分子量、治療性mRNA的分子量、遞送載體的電荷、mRNA的電荷、遞送載體的分子量；mRNA的分子量、微流體混合室內該mRNA和/或遞送載體的流速以及微流體混合室的

尺寸、或其任意組合。

【0079】 混合可以包括在包括微流體混合室的微流體設備中混合。

【0080】 這些方法中的任何一種都可以包括相對於微流體設備的其餘部分將混合室的溫度單獨地保持到約2°C至約20°C之間。在微流體混合室中的混合可以包括將mRNA和遞送載體穿過第一開口傳送到微流體設備的混合室，使得mRNA和遞送載體被驅動為抵靠混合室的壁並被驅動離開第一開口的平面至比第一開口的深度大一倍的深度。本文所述的方法可包括傳送，該傳送包括將mRNA和遞送載體驅動為抵靠混合室的壁並離開橫向於第一開口的平面至比第一開口的深度大大約2.5倍的深度。

【0081】 mRNA和遞送載體可被驅動為抵靠混合室的壁並離開橫向於第一開口的平面至第一開口的深度3倍或更多倍的深度。第一開口的頂部可以與混合室的頂部齊平。

【0082】 本文還描述了混合方法，包括：將第一流體和第二流體穿過第一開口傳送到微流體設備內的混合室中，使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並被驅動離開第一開口的平面至比第一開口的深度大一倍的深度，以形成混合流體；並將混合流體從混合室的出口開口傳送出去；其中混合室被保持在約2°C至約20°C之間的溫度。

【0083】 一種混合方法可以包括：將第一流體和第二流體穿過至少一個開口傳送到微流體設備內的混合室，使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁，並被驅動離開至少第一開口的平面；並將混合流體從混合室的出口傳送出去；其中混合室被保持在2°C至20°C之間的溫度。

【0084】 本文還描述了混合方法，該方法包括：將包含寡核苷酸分子的第一流體和包含遞送載體化學物質的第二流體穿過至少一個開口傳送到微流體設備內的混合室中，使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁，並被驅動

離開開口的平面；並將混合流體從混合室的出口開口傳送出去；其中混合室被保持在約2°C至約20°C之間的溫度。

【0085】 一種在微流體設備內混合的方法可以包括：將第一流體和第二流體穿過第一開口傳送到微流體設備內的混合室中，使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並離開橫向於第一開口的平面至比第一開口的深度大大約2.5倍的深度處，以形成基本混合的流體；以及將混合的流體從混合室的出口開口傳送出，其中出口開口與第一開口相對，但偏離第一開口；其中混合室的溫度被保持在約5°C至約20°C之間。

【0086】 將第一流體和第二流體穿過第一開口傳送到混合室中可以包括傳送第一流體和第二流體使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並且離開橫向於第一開口的平面至比第一開口的深度大大約2.5倍的深度。

【0087】 本文所述的任何方法可包括將混合室的溫度保持在約5°C至約15°C之間。本文所述的方法可包括將混合流體的溫度保持在約5至約15°C之間。本文所述的方法可包括將混合流體的溫度保持在約10°C。本文所述的方法可包括將混合流體從出口開口進入第二開口傳送到第二混合室中，使得流體被驅動為抵靠第二混合室的壁並被驅動離開第二開口的平面至比第二開口的深度大一倍的深度，以進一步混合混合的流體。流體可被驅動為抵靠混合室的壁，並離開橫向於第一開口的平面至第一開口的深度的約3倍或更多倍的深度。

【0088】 在任一這些方法中，第一開口的頂部可以與第一混合室的頂部齊平。出口開口的橫截面積可以等於第一開口的橫截面積。混合室可以位於微流體設備的第一層和第二層之間。混合室的長度可以大於寬度，並且長度可以比第一開口的寬度大大約2倍。

【0089】 本文還描述了形成合成物的方法，包括：在微流體設備中合成一種或更多種治療性mRNA，其中一種或更多種治療性mRNA在第一流體內，並且

用於一種或更多種治療性mRNA的遞送載體在第二流體內；將第一流體和第二流體穿過第一開口傳送到微流體設備內的混合室中，使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並被驅動離開第一開口的平面至比第一開口的深度大一倍的深度，以形成混合流體，其中混合室被保持在被選擇為增強對治療性mRNA和遞送載體的混合的溫度；以及將混合流體從混合室的出口開口傳送。與在所有其他參數（除了溫度外）保持基本恒定的情況下的混合相比，溫度可以被選擇來增強（例如，增加）混合；如本文所述，這可導致在較低溫度下混合至相同的水平或更好（例如，溫度在2°C和20°C之間）。

【0090】 例如，混合室可以保持在一溫度，該溫度被選定以增強對治療性mRNA和遞送載體的混合並且在2°C至20°C之間。

【0091】 這些方法中的任何一種都可以包括選擇混合室的增強混合溫度。選擇增強混合溫度可以包括模擬體外或體內混合。選擇增強混合溫度可包括基於遞送載體和一種或更多種治療性mRNA而在約2°C至約20°C之間選擇溫度。將第一流體和第二流體穿過第一開口傳送到混合室中可以包括傳送第一流體和第二流體使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並且離開橫向於第一開口的平面至比第一開口的深度大大約2.5倍的深度。流體可被驅動為抵靠混合室的壁並離開橫向於第一開口的平面至第一開口的深度的約3倍或更多倍的深度。第一開口的頂部可以與混合室的頂部齊平。出口開口的橫截面積可以等於第一開口的橫截面積。混合室可以位於微流體設備的第一層和第二層之間。混合室可以具有大於寬度的長度，而且該長度可以比第一開口的寬度大2倍。

【0092】 本文還描述了形成治療合成物的方法，該方法包括：將第一流體內的一種或更多種治療性mRNA和第二流體內的用於一種或更多種治療性mRNA的遞送載體穿過第一開口傳送到微流體設備中的混合室中，使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並被驅動離開第一開口的平面至比第一開

口的深度大一倍的深度，以形成包含治療合成物的混合流體；將混合室的溫度保持在被確定為增強混合的增強混合溫度；以及將混合流體從混合室的出口開口傳送出。

【0093】 增強混合溫度可在約2°C至約20°C之間。保持可包括確定一種或更多種治療性mRNA和/或遞送載體的增強混合溫度。

【0094】 本文所述的任何方法可包括通過體外或體內混合模擬來確定增強混合溫度。這些方法中的任何一種都可以包括通過在大約2°C和大約20°C之間選擇溫度來確定增強混合溫度，與在約2°C和約20°C之間的其他溫度的混合相比，該溫度具有更強的混合。因此，增強混合溫度可以是在約2°C至20°C範圍內的溫度，與該溫度範圍內的其他溫度相比，在溫度的混合處於或接近最大值。增強混合溫度可以不是峰值（最大值），但是可以在對應於峰值混合值的溫度範圍內（例如，在2度內、在1.5度內、在1度內、在0.5度內、在0.2度內、在0.2度內等）。

【0095】 將第一流體和第二流體穿過第一開口傳送到混合室可以包括傳送第一流體和第二流體使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並且離開橫向於第一開口的平面至比第一開口的深度大大約2.5倍的深度。流體可被驅動為抵靠混合室的壁並離開橫向於第一開口的平面至第一開口的深度的約3倍或更多倍的深度。第一開口的頂部可以與混合室的頂部齊平。出口開口的橫截面積可以等於第一開口的橫截面積。混合室可以形成在微流體設備的第一層和第二層之間。混合室可以具有大於寬度的長度，並且該長度可以比第一開口的寬度大2倍。

【0096】 本文還描述了混合方法，包括：將第一流體和第二流體穿過第一開口傳送到微流體設備內的混合室中，使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並被驅動離開第一開口的平面至比第一開口的深度大一倍的深度，以形成混合流體；以及將混合流體從混合室的出口開口傳送出去。

【0097】 本文所述的混合方法可包括將第一流體和第二流體穿過第一開口傳送到混合室中，使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並離開橫向於第一開口的平面至比第一開口的深度大大約2.5倍的深度。

【0098】 這裡描述的任何混合方法可以是單混合室混合器，其中僅使用單個混合室（例如，盒體式混合器），這可以實現基本上完全的混合。因此，這些單個混合室可以在微流體設備中以非常小的佔用面積實現高水平的混合。混合流體可以由混合室基本混合，並且混合室可以被配置為不連接到第二混合室的單個混合器。

【0099】 例如，一種在微流體設備內混合的方法可以包括：將第一流體和第二流體穿過第一開口傳送到微流體設備內的混合室，使得第一流體和第二流體被驅動為抵靠混合室的壁並離開橫向於第一開口的平面至比第一開口的深度大大約2.5倍的深度，以形成基本混合的流體；以及將混合的流體從出口開口傳送出混合室，其中出口開口與第一開口相對，但是偏離第一開口，其中混合流體由混合室基本上混合，並且混合室被配置成為不連接到第二混合室的單個混合器。

【0100】 替代地，這些方法可以被配置為通過串聯兩個或更多個（例如3個、4個、5個、6個等）混合室來進行混合。例如，方法可以包括將混合流體從出口開口進入第二開口傳送到第二混合室中，使得流體被驅動為抵靠第二混合室的壁，並被驅動離開第二開口的平面至比第二開口的深度大一倍的深度，以進一步混合混合的流體。

【0101】 流體可被驅動為抵靠混合室的壁並離開橫向於第一開口的平面至第一開口的深度的約3倍或更多倍的深度。出口開口的橫截面積可以等於第一開口的橫截面積。混合室可以具有大於寬度的長度，並且，其中該長度大於第一開口的寬度的約2倍。混合室可以具有圓角拐角。以0.25 ml/min至5 ml/min的流速

通過混合室的流體壓力的變化可以在約6.9 kPa至約206.8 kPa之間。混合室的寬度可以在約150 μm 至約600 μm 之間，混合室的深度可以在約150 μm 至約500 μm 之間，並且混合室的長度可以在約500 μm 至約1000 μm 之間。

【0102】 本文所述的所有方法和裝置（以任何組合）在本文中都是可以預期的，並且可以用於實現本文所述的益處。

【圖式簡單說明】

【0103】 特別地，本發明的新穎特徵在所附申請專利範圍中陳述。通過參考以下詳細描述和附圖將獲得對本發明的特徵和優點的更好理解，詳細描述闡述了利用了本發明的原理的說明性示例，在附圖中：

【0104】 [圖1A和圖1B]是根據本公開的一些示例的混合裝置的示意圖。

【0105】 [圖2A至圖2C]示意性地圖示了混合裝置的一個示例的混合行為（mixing behavior）。

【0106】 [圖2D和圖2E]圖示了如本文所述的混合裝置的另一個示例，示出了乙醇與水的混合。

【0107】 [圖2F和圖2G]圖示了如本文所述的混合裝置的另一個示例，圖示了乙醇與水的混合。

【0108】 [圖2H和圖2I]圖示了如本文所述的混合裝置的另一個示例，示出了乙醇與水的混合。

【0109】 [圖2J]圖示了如本文所述的混合裝置的另一個示例中的混合。

【0110】 [圖3A]示意性地圖示了包括本文所述的混合器（例如混合裝置）的裝置（例如微流體裝置）的一個示例。

【0111】 [圖3B和圖3C]圖示了包括本文所述的混合器的微流體裝置的示例。圖3C示出了圖3B的混合器（混合裝置）的放大視圖。

【0112】 [圖3D]示出了微流體裝置的混合器的另一個示例，該混合器的輸出端與具有稀釋緩衝液的連接處之間具有短的距離。圖3E是在混合器的輸出端和具有稀釋緩衝液的連接處之間具有較長距離的裝置的示例。

【0113】 [圖4]是根據本公開的一些示例的包括示例混合器的示例裝置的選定特徵的示意圖。

【0114】 [圖5]是根據本公開的一些示例的包括示例混合器和處理部件的示例裝置的示意圖。

【0115】 [圖6]是示出在一個示例中溫度（例如，冷卻）對使用本文所述的混合裝置進行混合的影響的曲線圖。

【0116】 [圖7A-7D]示出了不同構造的混合裝置的示例。圖7A示出了單室混合裝置。圖7B示出了如本文所述的3個串聯連接的混合器。圖7C示出了如本文所述的6個串聯連接的混合器的示例。圖7D示出了如本文所述的12個串聯連接的混合器的示例。

【0117】 [圖8]是示出包括三個串聯連接的混合器的混合裝置的圖片，示出了混合器內的沉積。

【0118】 [圖9A-9B]顯示了具有不同尺寸的三個串聯連接的混合器（“3盒體（3 box）”混合器）的混合裝置的第一個示例。在圖9A中，混合裝置的每個混合器形成 $250\mu\text{m}\times 200\mu\text{m}\times 500\mu\text{m}$ 的盒體。在圖9B中，與圖9A所示的裝置相比，該混合裝置的每個混合器按比例放大兩倍，使得形成每個混合器的每個盒體為 $500\mu\text{m}\times 400\mu\text{m}\times 1000\mu\text{m}$ 。

【0119】 [圖9C]是比較圖9B所示的較大（按比例放大）的混合裝置（“3盒體L”）和圖9A所示的混合裝置（“3盒體”）的混合效果的曲線圖。條形圖顯示Z平均值（左邊標度）而點顯示多分散性指數（PDI）（右邊標度）。

【0120】 [圖10A]示出了包括本文所述的三個串聯連接的混合器的混合裝

置。圖10B示出了類似於圖10A所示的混合裝置，但是拐角區域是圓角的，這可以減少，並且在某些情況下甚至消除混合器內的死區域(很少流體流動的區域)。

【0121】 [圖11A和圖11B]示出了混合裝置的一個示例，該混合裝置具有以大於90度但小於180度的角度串聯連接的三個混合器。圖11A示出了混合裝置的頂部透視圖，而圖11B示出了混合裝置的上部(頂部)區域的剖視圖。圖11A和11B中相鄰混合器之間的角度是135度。

【0122】 [圖11C]是示出混合裝置(包括具有135度角(“3盒體斜角(3 box angle)”，如圖11A-11B所示)的混合裝置和彎曲混合裝置(curved mixing apparatus)(“3盒體彎曲”，如圖10A-10B所示))的不同配置的混合效果的曲線圖，與例如圖7B所示的具有三個串聯連接的混合器的混合裝置(“3盒體”)或例如圖7A所示的具有單個混合器的混合裝置(“1盒體”)進行比較。在圖11C中，條形圖顯示了Z平均值(左邊標度)而點顯示了多分散性指數(PDI)(右邊標度)。

【0123】 [圖12A]示出了如本文所述的包括三個串聯連接的混合器的混合裝置的另一個示例。[圖12B]示出了不包括從較窄高度通道躍變到混合器的較深盒體中的裝置的示例。

【0124】 [圖12C]是顯示通過如圖12A所示的混合裝置(“3盒體”)或通過圖12B所示的線性混合通道(“3盒體平面式”)多次實驗後的粒子尺寸(由於混合所造成的)的圖，示出了與圖12B相比，圖12A的混合裝置中的粒子尺寸明顯更小(因此混合更有效)。

【0125】 [圖13]是說明通過具有類似於圖7B、圖9A和圖10A所示的三個混合器(“3盒體”混合器)的混合裝置的流速的效果的曲線圖，示出了與手動混合相比，更高的流速導致更小的粒子尺寸和明顯更好的混合。在圖13中，條形圖顯示體積平均值(左邊標度)而點顯示多分散指數(PDI)(右邊標度)。示出了四個1 ml/min的實例，示出了四個2 ml/min的實例，示出了兩個4 ml/min的實例，以

及一個單手混合樣品。

【0126】 [圖 14A 至圖 14B] 分別以透視圖和橫截面圖示出了透析器（dialyzer）的一個示例。

【0127】 [圖15]是類似於圖14A-14B所示的透析器的邊緣區域的一個示例的截面圖。

【0128】 [圖16]圖示了本文所述的透析器的一個示例，示出了通過設備的示例性流速（速度）。

【0129】 [圖17A至圖17C]是通過如本文所示的透析器裝置的另一示例的流速的圖示，示出了通過設備的流速。

【0130】 [圖18]是如本文所述的濃縮器（concentrator）的示例。

【0131】 [圖19]示意性地示出了本文所述的微流體路徑設備的示例，包括混合（使用一個或更多個渦旋混合室）、透析和濃縮。

【0132】 [圖20]是根據本公開的一些實施例的包括微流體混合器（例如，盒體式混合器）、配製部件和濃縮器的微流體裝置的壓力特性的示意圖。

【實施方式】

【0133】 一般來說，這裡描述的是裝置（例如，系統、設備等）和用於處理流體混合物的方法，包括但不限於治療性多核苷酸。具體而言，本文描述的是混合裝置，與先前描述的微流體混合器相比，該混合裝置可以使用更少的微流體空間在微流體裝置中更快更有效地混合材料。本文所述的任何混合裝置可包括一個或更多個混合器，其可被稱為盒體式混合器或渦旋混合器；其可以串聯連接並且可以作為微流體裝置的一部分被包括。例如，這些裝置和方法中的任何一種都可以用作閉合路徑微流體裝置和方法的一部分，該裝置和方法可以被配置成最小化並且在某些情況下甚至消除人工處理。閉合路徑設備和方法可以提供基

本無菌的環境，並且可以形成用於從初始輸入（例如，樣板）到輸出（複合治療）處理的無菌路徑。如本文所用的，術語“基本上”可以指大部分或大體上全部/大體上完全（例如，大於90%，大於95%，大於97.5%，大於99%，大於99.5%，大於99.9%等），並且可包括全部或完全。例如，“基本上混合”可以指大部分或完全混合的混合物，即混合至均勻。輸入到裝置中的材料（核苷酸和任何化學成分）可以是無菌的，並且可以輸入到系統中，而實際上不需要任何人為作用。本文所述的混合裝置可以允許這些合成物的完全和徹底混合，以使用微流體裝置形成和/或混合合成物。

【0134】 因此，本文所述的混合方法和裝置可用于以高的再生性在快速循環時間內產生治療劑。因此，本文所述的混合方法和裝置可允許微流體裝置在單個集成裝置中提供對一種或更多種治療合成物（包括但不限於治療性多核苷酸）的合成、純化和複合。這些處理步驟的全部或一些可以在未中斷的流體處理路徑中執行，該路徑可以被配置為一個或一系列可消耗的微流體設備，其也可以被稱為微流體路徑芯片、微流體路徑板、處理芯片、生物芯片或處理板。這可以允許在護理點（例如醫院、診所、藥房等）合成（包括複合）針對患者的治療劑。

【0135】 在裝置的操作過程中，流體路徑可以保持不中斷，並且可以通過非接觸監測（例如，光學監測）來基本消除污染，非接觸監測包括流體流量測量、混合監測等；和通過利用來自流體室和通道的相對側上的可偏轉膜而施加的壓力來操縱精確的微流體量（計量、混合等）。

【0136】 這些裝置和方法可以被配置用於在護理點使用。例如，本文所述的方法和裝置可以被配置用於製造定制的治疗合成物，所述治療合成物包括一種或更多種治療多核苷酸（例如，mRNA、微RNA、DNA等）。

【0137】 因此，本文所述的方法和裝置可提供可擴展的多核苷酸製造、單個患者劑量的生產、消除接觸點以限制污染、滿足臨床製造要求的輸入和過程跟

蹤、以及在治療的護理點操作中使用。本文所述的微流體儀器和過程可以提供主要的優勢。

【0138】 通常，本文描述的裝置可以是微流體裝置。在一些實例中，這些微流體裝置可以包括用於處理生物分子產品（例如但不限於治療性多核苷酸）的閉合路徑微流體裝置，其可以包括混合和配製（例如，與選定的媒介物或載體結合）生物分子產品。這些裝置可以被配置成在一個或更多個微流體設備上操作。微流體裝置可以包括一個或更多個微流體設備（例如混配芯片、配製芯片等）。

【0139】 這裡描述的混合裝置出乎意料地有效，並且可以沿著微流體流動路徑實施。這些混合裝置可以是微流體流體路徑設備的一部分，該微流體流體路徑設備位於由可偏轉膜分開的一對材料層之中或之間。包括了混合裝置的流體路徑可以形成在可偏轉膜的一側上，例如，通過在膜的一側上形成第一層或多層，並且膜可以形成混合裝置的頂部；膜的相對側上的板可以是平的。在一些示例中，可偏轉膜的相對側上的板可以被切除，並且可以形成與混合器相對的室，該室可以連接到壓力通道，以允許膜偏轉到混合器中和/或上室中，例如用於驅動流體。

【0140】 本文所述的混合裝置可以包括一個或更多個單獨的混合器，這些混合器可以串聯佈置並通過具有較小高度和/或寬度的通道連接。混合器可以被稱為混合部件、盒體式混合器或渦旋混合器。本文更詳細地描述了這些混合器的示例。因此，包括一個或更多個混合器的混合裝置可以統稱為“微流體混合裝置”、“盒體式混合裝置”或“渦旋混合裝置”，或者簡稱為“混合裝置”。本文所述的混合器可以在渦旋混合室（例如，“盒體”或一系列流體連接的盒體）內採用渦旋混合，以有效地混合非均勻的流體材料的進入流或脈衝，從而在沿著微流體流動路徑的非常小的距離上獲得更均勻混合的流體混合物。這可以在廣泛的流體混合物中實現。待混合的一種或更多種流體可以進一步包括粒子，例如奈米粒子包封的

藥物物質或類似物。如下文詳細討論的，還可以在被引入的用於混合的流體內摻入各種比例的成分來獲得有效的混合。在本文所述的混合裝置的一些示例中，流體被認為在混合裝置的室內形成渦旋，使得流體流動的方向可以以圓形渦旋模式折回自身。如下文提供的流體模型所示。因此，這些混合裝置可以被稱為渦旋混合器或渦旋混合室。應當理解，將它們稱為本文所述的混合和混合裝置是指渦旋混合或渦旋混合室，並不意圖將這些方法和裝置限制於特定的操作理論。

【0141】 圖1A示出了微流體混合裝置100，其具有兩個流體入口通道103和105，這兩個入口通道103和105彼此偏離，並且被配置成輸送可以組合在一起的一種或更多種物質（例如，生物分子產品、緩衝劑、載體（carriers）、輔助成分）。雖然顯示了兩個入口通道，但是三個或更多個（4個、5個、6個等）可以被使用，並且可以會聚在同一混合器上。待混合的流體可以在正壓下通過入口通道。該壓力可以是恒定的、可變的、遞增的、遞減的和/或脈動的。混合裝置被配置為沿著輸入端和輸出端之間的微流體流動路徑設置，其中混合和配製的生物分子產品可以從微流體流動路徑和裝置輸出。微流體裝置可以具有第一（或上）板和第二（或下）板。微流體流動路徑和微流體部件（混合器、泵等）可以形成在第一（或上）板和第二（或下）板之間，並且可以以任何合適的方式加工、模制或製造。微流體流動路徑可以沿著流動路徑具有一個或更多個寬度，並且可以具有一個或多個豎直尺寸。通常，限定微流體路徑的上表面在整個裝置的微流體流動路徑中可以處於同一水平面上。

【0142】 在圖1A中，微流體混合裝置接收來自兩個流體通道103、105的流體，這兩個流體通道可以各自具有例如在約50 μm 至約500 μm 之間（例如，在約50 μm 至約400 μm 之間、在約50 μm 至約300 μm 之間、在約50 μm 至約200 μm 之間、約170 μm 、約150 μm 、約110 μm 、約100 μm 、約80 μm 、約60 μm 、約50 μm 等）的寬度。通道可以具有相同的寬度（和/或橫截面直徑）或者可以具有不同的寬度

(和/或橫截面直徑)。通道103、105可具有在約20 μm 和約200 μm 之間的豎直尺寸(例如,約200 μm 、約175 μm 、約150 μm 、約125 μm 、約100 μm 、約75 μm 、約60 μm 、約50 μm 、約40 μm 或其間的任何值)。兩個通道103、105在流體交會處109相交,以將兩股流體合併在一起。這些通道以角度107相交。角度107可以小於約180度(例如,在5度和179度之間、在10度和160度之間、在15度和145度之間、在30度和120度之間等)。在一些示例中,角度107可以是約30度或更大(例如,角度107可以是約35度、約40度、約50度、約60度、約75度、約90度、約100度、約120度、約145度、約160度或其間的任何值)。

【0143】 合併通道(不把流體交會處考慮在內)可具有例如在約50 μm 至約200 μm 之間(例如,在約50 μm 至約180 μm 之間、在約50 μm 至約140 μm 之間、在約50 μm 至約130 μm 之間、在約50 μm 至約120 μm 之間、約110 μm 、約100 μm 、約80 μm 、約60 μm 或約50 μm 等)的寬度。合併的通道是混合入口通道,並且可以具有與入口豎直尺寸中的一個或更多個(例如,全部)相匹配的豎直尺寸,例如,約100 μm 、約75 μm 、約60 μm 、約50 μm 、約40 μm 或其間的任何值。混合入口通道具有包括流體交會處的第一端和包括通向渦旋混合室的開口的第二端。混合入口通道進入渦旋混合室115,其中通道具有穿過渦旋混合室115的側壁進入渦旋混合室115的混合入口開口111。

【0144】 增加渦旋混合室115的豎直尺寸121,使得其大於混合入口通道開口111的豎直尺寸119,並且在一些示例中大於混合出口通道的開口113的豎直尺寸123,導致出人意料的增強混合。圖1B顯示了微流體混合單元130的一個示例。渦旋混合室的一個示例為混合室115和入口通道開口兩者提供了共同的上表面,從而迫使進入的流體朝向下表面豎直下落。另外,渦旋混合室115可以被構造成使得流體在混合出口通道的出口開口113處離開渦旋混合室115。出口開口可以被構造成類似於進入混合室的開口111,例如,在該示例中,開口113的豎直尺寸

小於渦旋混合室115的豎直尺寸，並且可以共享與渦旋混合室相同的上表面；出口的高度和/或橫截面積可以與入口開口111的高度和/或橫截面積相同。為了離開渦旋混合室115，流體被迫向上以及橫向移動；入口開口111和出口開口113還設置在渦旋混合室115的相對側上（且在圖1B中，為設置在相對壁上）。在一些示例中，開口111、113豎直穿過渦旋混合室115的側壁設置，使得開口111、113的上限（例如，限定混合入口通道和混合出口通道的上表面）與渦旋混合室115的上表面處於相同的豎直尺寸。另外，開口111、113設置在渦旋混合室115的相對側壁上，彼此水平偏離。當流體從混合出口通道的開口111移動到開口113時，流體被迫圍繞盒體的水平軸線形成渦旋並強烈地混合。通常，出口開口偏離入口開口，使得流體將從與入口相對的室的側壁偏轉，並作為混合的一部分朝向底表面“向下”偏轉。

【0145】 一般來說，渦旋混合室115具有：限定底表面的基部、一個或更多個側壁、以及封閉渦旋混合室的上表面。渦旋室可以具有矩形、橢圓形、圓形、六邊形等形狀；側壁可以是彎曲的（例如，具有曲率半徑127，該曲率半徑127是其所連接的最短的側壁的長度的0.5倍到0.01倍之間）。如上所述，混合入口通道和混合出口通道各自分別在渦旋混合室的第一側壁和第二側壁處通向渦旋混合室。可以選擇渦旋混合室115、120和混合入口通道/混合出口通道的尺寸，以便針對特定的總流速或流速範圍提供有效的混合。

【0146】 在一些實例中，混合入口通道和/或混合出口通道可各自具有在約50 μm 至約200 μm 之間（例如，在約50 μm 至170 μm 之間、約170 μm 、約110 μm 、約100 μm 、約80 μm 、約60 μm 、約50 μm 等）的寬度。混合入口通道和/或混合出口通道可各自具有約75 μm 、約60 μm 、約50 μm 、約40 μm 或其間任意值的豎直尺寸。在一些示例中，混合入口通道和混合出口通道可以具有彼此相同的寬度和高度。

【0147】 混合組件可以包括連結在一起的多個渦旋混合室，使得後一個渦

旋混合室的入口連結到前一個渦旋混合室的出口，如圖1A所示；連接通道132可以連接在每個渦旋混合室之間。微流體渦旋混合單元可以具有相同的形狀和/或尺寸，或者可以是不同的形狀和/或尺寸。

【0148】 在一些示例中，微流體渦旋混合單元130可以具有在約250 μm 至約1100 μm 之間（例如，約300 μm 、約350 μm 、約400 μm 、約500 μm 、約600 μm 、約1000 μm 、約1100 μm 或其間的任何長度）的長度。渦旋混合室可具有約175 μm 至約600 μm 之間（例如，約200 μm 、約250 μm 、約275 μm 、約400 μm 、約500 μm 、約600 μm 或其間的任何寬度）的寬度。在一些實例中，室在豎直維度上的高度可在約125 μm 至約500 μm 之間（例如，約125 μm 、約150 μm 、約170 μm 、約200 μm 、約250 μm 、約300 μm 、約400 μm 、約500 μm 或其間的任何高度）。如上所述，在一些示例中，渦旋混合室的拐角可以是圓形的，並且拐角可以具有從約50 μm 到約90 μm 、或者約50 μm 、約60 μm 、約75 μm 、約80 μm 、約90 μm 或者其間的任何半徑的曲率半徑127。渦旋混合室和混合入口/出口通道的尺寸可以選擇成允許直接加工且使流體壓力的變化（ δP ）最小化，同時在小距離內最大化混合。對微流體芯片表面積的有效利用也包括在設計考慮之中。例如，混合/尺寸選擇因素可以包括渦旋混合室高度，渦旋混合室高度是混合入口/出口通道的高度的約2倍至約5倍之間（例如，約2倍、3倍、4倍、5倍、約2倍至約4倍之間等）。在一些示例中，渦旋混合室高度約是混合入口/出口通道高度的3倍。渦旋混合室的側壁的長度可以是混合入口/出口通道的寬度的約兩倍或更多倍（例如，約2倍、約3倍、約4倍、約2倍至約5倍之間、約2倍至約4倍之間等）。

【0149】 通常，這裡提供的混合室的尺寸規格是示例性的；例如，上面提供的尺寸可以用於流速在約0.1至10ml/min之間（例如，在約0.2ml/min至約5ml/min之間、在約0.5ml/min至約4ml/min之間等）的混合器。本文所述的尺寸可以按比例增大或減小，以提供更大或更小的流速（例如，在不同的尺寸值下），

以便針對特定的施加壓力（例如，在約6.99kPa至約206.8kPa之間）實現相同的渦流（例如，等效混合）。因此，本文提供的尺寸可以被縮放（例如，這些結構的縮放），以便允許不同的流速。

【0150】 例如，微流體混合裝置可以包括混合入口通道、微流體渦旋混合室和混合出口通道，其中，混合入口通道和混合出口通道具有約100 μm 的寬度和距離混合入口/出口通道的基部約50 μm 的豎直尺寸；渦旋混合室的長度為350 μm ，寬度為250 μm ，高度為150 μm ，在室的圓角拐角處的曲率半徑約為75 μm 。因此，混合入口開口111沿著350 μm 長的側壁與沿著相對的350 μm 長的側壁的混合出口開口113水平地偏離多達約150 μm 。

【0151】 在另一個示例中，微流體混合裝置可以包括混合入口通道、微流體渦旋混合單元和混合出口通道，其中混合入口通道和混合出口通道可以具有約150 μm 的寬度和距離混合入口/出口通道的基部約50 μm 的豎直尺寸；渦旋混合室的長度為500 μm ，寬度為250 μm ，高度為150 μm ，在室的圓拐角處的曲率半徑約為75 μm 。因此，混合入口開口111沿著500 μm 長的側壁與沿著相對的500 μm 長的側壁的混合出口開口113水平地偏離多達約200 μm 。

【0152】 如上所述，渦旋混合單元130可以沿著微流體流動路徑與第二（或更多）渦旋混合單元成對設置，類似於圖1A所示的一對渦旋混合單元。第二渦旋混合單元可以類似於第一渦旋混合單元被配置。也就是說，渦旋混合室115和120可以具有彼此相同的尺寸，以提供如上所述的類似的渦旋和混合特性。例如，相應的混合入口通道和出口通道的相互關係可以如下：第一渦旋混合單元的第一混合出口通道可以具有第一端和第二端，第一端包括通向第一渦流混合室115的開口113，第二端包括第二混合入口通道，該第二混合入口通道包括通向第二渦旋混合單元的第二渦旋混合室120的開口131。第二混合出口通道，例如第二渦旋混合單元的第二混合出口通道，沿著微流體路徑在通向第二渦旋混合室120的

開口133處具有第一端，且在混合裝置的出口117處具有第二端。該兩個微流體渦旋混合單元對可以被設計成最小化壓降（ δP ），並且對於具有長度為 $350\mu\text{m}$ 、寬度為 $250\mu\text{m}$ 、高度為 $150\mu\text{m}$ 的渦旋室的較小的混合單元對，如上所述，在 0.5ml/min 流速下的每對的 δP 為約 10.3kPa （例如，在約 6.9kPa 和約 206.8kPa 之間、在約 6.9kPa 和約 172.4kPa 之間、在約 6.9kPa 和約 106.0kPa 之間、在約 6.9kPa 和約 103.4kPa 之間、在約 6.9kPa 和約 68.9kPa 之間、在約 6.9kPa 至約 34.5kPa 之間等）。具有較大尺寸（其中室長 $500\mu\text{m}$ ，寬 $250\mu\text{m}$ ，深 $150\mu\text{m}$ ）的一對渦旋混合單元在 1ml/min 的流速下具有約 2.4psi （ 16.5kPa ）的 δP 。

【0153】 在一些示例中，如圖3A所示，沿著微流體流動路徑可以包括第三或第四微流體渦旋混合單元，以提供兩級混合裝置。第一鏈接式混合單元組330是第一級；然後，該混合產物可以在第二級與第二組混合單元331結合。附加的微流體渦旋混合單元可以像上述微流體渦旋混合單元那樣被配置。通常，每個單獨的渦旋混合單元可以具有相同的特徵和尺寸，或者不同的尺寸。在圖3A中，第一級330包括可以如圖所示連接的四個混合單元（例如兩個混合單元對）。例如，第二混合出口通道的第二端與第三混合入口通道以及通向第三渦旋混合室的開口是連續的。第三混合出口通道可以具有第一端和第二端，第一端包括通向第三渦旋混合室的開口，第二端可以是第四混合入口通道和通向第四渦旋室的開口。第四混合出口通道可以具有第一端和第二端，第一端可以是通向第四渦旋混合室的開口，第二端可以是微流體混合裝置的輸出端。

【0154】 現在回到圖2A-2C，圖2A示出了微流體混合裝置200（微流體混合裝置200類似於圖1A的混合裝置100，具有一對微流體渦旋混合單元130）的流動軌跡模型，並且展示了微流體混合裝置的混合能力（通過混合分數示出了等量的乙醇（箭頭255）和水（箭頭257）的混合）。箭頭的色調表示混合分數。圖2A中為第一入口203處引入的乙醇和第二入口205處引入的水的1:1混合的透視流動

模型。由箭頭所示的沿著微流體流動路徑的乙醇與水的體積分數表示了渦旋混合器中的實際混合。入口203被標記以表示100%的體積乙醇分數，而第二入口205被標記以顯示不存在乙醇。如區域204所示，在流體交匯處209，流在沒有太多混合的情況下層流移動，區域204示出了能區別開的且未混合的乙醇和水的流。然而，由白色橢圓形圈出的區域206顯示了當流體流向下傾瀉到渦旋混合室215（渦旋混合室215可以類似于普通微流體渦旋混合單元130的115、120）中時乙醇濃度的突然變化，其中流的含水邊緣現在的乙醇分數為0.1667/v）。當該流到達混合出口開口區域208時，該流現在包含幾乎等值的乙醇體積分數，並且剩下的位於區域212內的流（箭頭259）的乙醇混合比（v/v）為0.5000。圖2B示出了類似的實驗的圖示，示出了沿著微流體路徑的第一和第二渦旋混合單元（215，220）兩者內的側視圖，這兩個單元都類似于普通微流體渦旋混合單元130的115，120。圖2B的側視圖更清楚地示出了流體被迫流入以便離開渦旋混合室215的渦旋運動。在渦旋混合室215的混合出口通道的開口211處，1:1的乙醇:水（v/v）的流可以顯示為基本上混合到大約0.4167至0.5833乙醇/水（v/v）之間。在該示例中，在214處有一個小區域，其中仍存在高至0.667的體積分數，但是在區域216的大部分中，0.4167至0.5833的乙醇/水（v/v）比率占主導地位。第二渦旋混合單元226可用於渦旋混合室220內的最終混合，以在該對微流體渦旋混合單元的第二輸出端217處產生完全混合的乙醇/水。在渦旋混合室內，室的佈置允許這樣的混合，在該混合中，流朝向下朝向室的底部，如圖2B所示。如下文將更詳細描述的，增強的混合溫度可以通過校準幾何形狀（特別是室的深度）和流速來確定，從而允許在單個渦旋混合室中幾乎完全混合。

【0155】 圖2C中示出了另一個流動模型示例，示出了1:10的乙醇（在入口203處輸入的）與水（在入口205處輸入的）的比例。色調表示乙醇與水的分數（單位刻度）。區域218示出了乙醇/水的並排流，其中當該流開始向下傾瀉到渦旋混

合室215中時，乙醇的體積分數已經降低到0.7500至0.4167之間。區域220示出了具有在0.1667至0.2500之間的略微升高的乙醇體積分數的一部分流，但是在離開第二渦旋混合室220的點處，乙醇263的體積分數已經完全平衡，並且在217處從微流體混合裝置輸出。所示的混合入口開口、混合出口開口、渦旋混合室的佈置提供了一種混合裝置，該混合裝置對正混合的流體的比例基本上不敏感，因為兩個入口通道中的1:1比例和1:10比例的流體在217處離開混合裝置時都達到均衡的混合物。

【0156】 圖2D-2J示出了其它渦旋混合裝置的示例，示出了渦旋混合室的構造中的示例在示例性壓力和流速下對總混合的影響。

【0157】 例如，圖2D-2E示出了包括一系列渦旋混合室的裝置的示例，其中每個通道入口211為100 μm 寬、50 μm 深。深度是從頂表面（例如，頂板）測量的，並且渦旋混合室近似為方形（具有圓化的側面），長度為250 μm ，寬度為250 μm ，深度為100 μm 。因此，在該示例中，渦旋混合室的深度是入口深度的2倍，其中入口開口和室具有共同的上表面，使得從入口開口到渦旋混合室的頂部（或底部，取決於參考系）的最大落差約等於入口的深度。在這種情況下，如帶色的箭頭所示，對於1:10的乙醇:水的混合，在相繼的第二渦旋混合室226（被串聯地連接）之後，混合還未完成。圖2E示出了該同一示例的壓降（示出了六個順序連接的渦旋混合室）。第三混合室基本上完成混合。水205供應通道和乙醇203供應通道中的每一個的壓力從約20.3 lbf/in²下降，在每個連續的渦旋混合室之間下降約0.76lbf/in²。

【0158】 圖2F和2G示出了包括一系列渦旋混合室的裝置的另一個示例，其中每個通道入口211也是（如圖2D-2E中那樣）100 μm 寬、50 μm 深。該示例中的渦旋混合室近似為矩形（具有圓角側面），長度為350 μm ，寬度為250 μm ，深度為100 μm 。因此，這個示例具有長度為上面圖2D和圖2E所示的渦旋混合室的1.4

倍但是在其他方面尺寸類似的渦旋混合室。在圖2F和圖2G中，渦旋混合室的深度也是入口深度的2倍，其中入口開口和室具有共同的上表面，使得從入口開口到渦旋混合室的頂部（或底部，取決於參考系）的最大落差約等於入口的深度。1:10的乙醇:水（用帶色箭頭表示）的混合輪廓幾乎與圖2D和2E的示例相同。圖2G示出了該同一示例的壓降（還示出了六個順序連接的渦旋混合室）。離開第二混合室後，混合基本完成。水205供應通道和乙醇203供應通道中的每一個的壓力從 20.19 lbf/in^2 （例如， 20.19 lbf/in^2 和 20.19 lbf/in^2 ）下降，在每個連續的渦旋混合室之間下降約 0.75 lbf/in^2 。

【0159】 圖2H和圖2I示出了包括一系列渦旋混合室的裝置的示例，其中每個通道入口211也是（如圖2D-2G中那樣） $100 \mu\text{m}$ 寬、 $50 \mu\text{m}$ 深。該示例中的渦旋混合室近似為矩形（具有圓角側面），長度為 $500 \mu\text{m}$ ，寬度為 $250 \mu\text{m}$ ，深度為 $100 \mu\text{m}$ 。因此，這個示例具有長度為上面圖2D和2E所示的渦旋混合室的2倍但在其他方面尺寸類似的渦旋混合室。在圖2H和2I中，渦旋混合室的深度也是入口深度的2倍，其中入口開口和室具有共同的上表面，使得從入口開口到渦旋混合室的頂部（或底部，取決於參考系）的最大落差約等於入口深度。1:10的乙醇:水（用帶色箭頭表示）的混合輪廓幾乎與圖2D和2E的示例相同。圖2I示出了該同一示例的壓降（還示出了六個順序連接的渦旋混合室）。離開第二混合室後，混合基本完成。水205供應通道和乙醇203供應通道中的每一個的壓力從約 20 lbf/in^2 （例如， 20.33 lbf/in^2 和 20.37 lbf/in^2 ）下降，在每個連續的渦旋混合室之間下降約 0.75 lbf/in^2 。

【0160】 圖2J示出了包括一系列渦旋混合室的裝置的示例，其中每個通道入口211再次（如圖2D-2I中所示的那樣）為 $100 \mu\text{m}$ 寬、 $50 \mu\text{m}$ 深。本例中的渦旋混合室近似為矩形（具有圓角側面），但其深度是通道入口開口的近3倍。在圖2J中，渦旋混合室具有 $350 \mu\text{m}$ 的長度、 $250 \mu\text{m}$ 的寬度和 $150 \mu\text{m}$ 的深度。因此，這個示例

具有渦旋混合室，渦旋混合室與圖2F-2G所示的渦旋混合室具有類似的形狀，但是比圖2F-2G所示的大50%的深度。因此，在圖2J中，渦旋混合室的深度是入口深度的3倍，其中入口開口和室具有共同的上表面，使得從入口開口到渦旋混合室的頂部（或底部，取決於參考系）的最大落差約是入口深度的2倍。1:10的乙醇:水（用帶色箭頭表示）的混合輪廓表明，在這個示例中，在這些壓力和流速下的混合是非常有效的，在第一個渦旋混合室後顯示出幾乎完全的混合，如表示乙醇的體積分數的箭頭所示。渦旋混合室之間的壓降約與圖2D-2I所示的相同。因此，在這些壓力和流速下，從入口到渦旋混合室的相對壓降似乎與混合效率密切相關，例如與室長度相比。在圖2J的混合模型中，渦旋和完全混合是在一級中實現的。

【0161】 這裡描述的任何渦旋混合室可以是微流體混合裝置的一部分；微流體混合裝置可以包括一個或多個渦旋混合室。微流體混合裝置可以作為微流體設備的一部分來實現。例如，在圖3A-3E和圖4中示出了用作用於混合和配製生物分子產品的微流體裝置的一部分的微流體混合裝置。如上所述，微流體裝置可以由第一板和第二板形成，並且微流體流動路徑可以形成在一個或兩個板的部分中。在圖3A中，微流體裝置300可以包括設置在第一板和第二板之間的彈性層。該裝置還包括兩個混合區域330、331並且被配置為混合來自三個不同輸入端303、305、335的材料。類似於上述混合裝置，第一流體被引入到第一流體輸入端303，且第二流體被引入到第二流體輸入端305，第一流體和第二流體在流體交會處309處相交，流體交會處309可以被構造成類似於流體交會處109。流體可被配置為在入口閥332的輔助下（例如，在可施加正壓或負壓的情況下）在大於大氣壓的壓力下被驅動。合併的流繼續進入四個渦旋混合室330，沿著微流體流動路徑按順序佈置。混合裝置330的每個單獨的渦旋混合室可以被構造成類似於上述微流體渦旋混合單元130，並且可以具有如上所述的任何尺寸。兩級混合裝置

可以被配置為通過來自最後一個微流體渦旋混合室(串聯中的第四個)的單個輸出端來輸出混合的流體。

【0162】 裝置300還被配置為混合第三流體成分。在從第一級混合裝置330輸出混合流體之後，輸出通道變成第三流體入口333並與第四流體入口335相交，在第二流體交會處319引入第三流體成分，如上所述。然後，合併的流體流被輸入到第二混合級331的渦旋混合室中，該渦旋混合室沿著微流體流動路徑按序設置。該第二級331的渦旋混合室中的每個可以被配置成類似於上述任何微流體渦旋混合室。在第一級混合路徑或第二級混合路徑中使用單個渦旋混合室可以實現完全混合，然而在一些示例中，附加的混合室可以允許進一步混合，並且可以在例如流速方面提供緩衝。穿過渦旋混合室的混合流體可以在單一通道中從混合路徑(例如，從第二級)輸出，並且可以沿著微流體流動路徑繼續行進，以在微流體裝置的其他區域中進一步處理。

【0163】 圖3A中的微流體路徑裝置300還包括真空帽334，真空帽334可以保持在負壓下，以通過將氣體抽吸穿過覆蓋在流體路徑上的膜(如果氣體可滲透的話)來從液體(流體)管線中移除氣體。例如，聚二甲基矽氧烷(PDMS)彈性體膜具有足夠的氣體滲透性以允許移除氣體。對於該示例中所示的級聯混合裝置，有三個流體驅動室，該三個流體驅動室被配置為將第一、第二和第三流體成分中的每一個驅動到相應的入口通道中。每個流體驅動室具有固定的體積，並且形成在第一板和第二板之間。設置在第一板和第二板之間的彈性層的一部分將每個流體驅動室分成位於第二板中的流體接觸側和位於第一板中的壓力接收側。壓力接收側可被加壓以驅動流體通過室並進入混合裝置330、335。流體驅動室各自包括：流體端口(來自微流體流動路徑)，該流體端口經由第二板中的相應的流體通道與相應的第一流體驅動室和第二流體驅動室中的每個流體驅動室的流體接觸側流體地連接；以及壓力端口，該壓力端口延伸穿過第一板並進入第

二板中，該壓力端口經由延伸穿過第二板並沿著第一板延伸的相應的壓力通道與流體驅動室的壓力接收側流體地連接。流體驅動室的流體接觸側的體積可以通過從相應的壓力端口施加壓力或真空而被調節。流體驅動室的流體端口可以進一步包括限流器336。在一些示例中，限流器可以包括蛇形的長形的流體通道。

【0164】 一般而言，本文所述的方法和裝置可包括使用可以從外部貯存器供應的多種流體（例如，流體中的材料，包括mRNA、緩衝液、鹽、遞送載體等）。這些方法和裝置中的任何一種都可以包括一個或更多個真空帽結構和閥，以將所有流體推進到起點而沒有氣泡，然後以受控的方式釋放流體，使得混合結果在混合時間內穩定。如上所述，真空帽可以被配置為減少或去除流體中的氣泡。這裡描述的裝置和方法還可以包括連接到一個或更多個廢物收集區域的閥。在一些示例中，如果需要保持整體輸出的質量，最初的產物可以被發送到廢物輸出端。

【0165】 微流體混合裝置300可以進一步包括第四流體驅動室，該第四流體驅動室可以沿著微流體流動路徑設置在在混合裝置之後。在圖3A中，可以包括真空帽338。雖然示出了兩個級聯的混合器，但是另外的混合器也可以作為流體通道的一部分被包括。以這種方式，形成基於奈米粒子的治療劑的步驟可以被分解成沿著級聯佈置以非常及時和受控的方式完成的步驟。例如，在第一混合器中，多核苷酸（例如水中的mRNA）可以與遞送載體分子（delivery vehicle molecule）或乙醇中的分子混合形成複合奈米粒子。第二個混合器可用於添加稀釋劑，例如用於pH調節的檸檬酸鹽基緩衝溶液。如果使用了更多的混合器，可以包括附加的步驟。例如，可能希望向在第一混合步驟中形成的奈米粒子添加表面層，以增強奈米粒子的生物活性。這可以通過在第二混合結構中將第一混合器的輸出流體股流與包含所需外塗層材料的溶液組合來實現。然後可以在第三混合器中與pH調節緩衝溶液組合。在上游混合器結構中產生多核苷酸和水的混合

物也可能是有用的，其中多核苷酸和遞送載體分子被組合。這樣，在奈米粒子形成步驟之前，可以用水均勻地稀釋在mRNA生產過程中通常產生的較濃的多核苷酸。類似地，乙醇和遞送載體分子的上游混合可以在組合了多核苷酸溶液和遞送載體溶液的混合器之前進行。

【0166】 圖3B和圖3C示出了配置為連續混合器的微流體裝置的示例。在圖3B中，微流體裝置350包括多個並行佈置的混合器。如上所述，微流體裝置可以包括兩個或更多個板，該兩個或更多個板由可偏轉的膜分開，其中室和通道形成於板的上表面和/或下表面中，這些室和通道可以由膜分開。在這個示例中，該裝置可以被配置為接收多種試劑，例如，可以直接從微流體裝置（例如，“芯片”）外部的試劑容器（例如小瓶、試管，未示出）中泵出的mRNA、遞送載體、稀釋劑等。混合器可用於混合試劑，以從微流體裝置中分配出來，例如，分配到收集容器（未示出）中。微流體設備可以包括用於耦合到一個或更多個壓力管線352的端口，壓力管線352可以用於選擇性地施加壓力（例如，正和/或負氣壓）以控制一個或更多個閥（例如，允許芯片上/芯片外的試劑流動）。試劑可以在試劑容器內被加壓，如果允許試劑流動的閥被打開，則將試劑驅動到微流體裝置上。

【0167】 圖3C示出了圖3B的裝置300的區域D的放大視圖。在該示例中，混合器369可以被配置為如本文所述的單個混合器。示出了用於三種試劑中的每個的三個輸入端，並且包括mRNA輸入端355、遞送載體輸入端357和稀釋劑輸入端359。閥363可以通過選擇性地施加正壓和/或負壓（例如，通過控制器）來打開和/或關閉，以允許流體流動。在圖3C所示的示例中，每種試劑還聯接到真空帽361，該真空帽361可用於在流體進入混合器369之前從流體中去除空氣（例如氣泡）。例如，真空帽可以施加負壓以通過允許空氣通過但不允許流體通過的膜抽吸空氣。

【0168】 在圖3C中，混合器369包括第一流體輸入端365和第二流體輸入端367，第一流體輸入端365和第二流體輸入端367在輸入到混合器369中的流體交會通道處相遇。在這個示例中，如上所述，mRNA試劑在混合器中與遞送載體混合。混合器的輸出端與稀釋緩衝液的輸入端371相交，正好在微流體設備（“芯片”）的輸出端354的上游。

【0169】 在這個示例中，當大量材料從芯片外容器到達時，混合器可以連續或幾乎連續地操作，並且來自芯片的輸出端可以存儲在芯片外存儲容器中。因此，在這個示例中，可以通過施加空氣壓力直接驅動流體通過混合器。在一些情況下，這可用於更小體積或更離散（包括計量的）體積的材料，通過使微流體設備的板之間的膜損壞，流體可被驅動通過通道和/或混合器。

【0170】 圖3C所示的示例可以被配置為防止混合器內的材料堵塞或沉積，這將在下面參考圖8進行更詳細的描述。例如，圖3D和圖3E示出了類似於圖3B和圖3C所示的微流體裝置的示例，其中在混合室中混合後，將稀釋緩衝液添加（使用混合器混合或不混合）到試劑（例如，mRNA和遞送載體）的混合溶液中。在圖3D中，混合器369、369'、369''的輸出通道373在與稀釋緩衝液輸入端371相交之前僅延伸非常短的距離（例如，小於約100 μm 、小於約150 μm 、小於約200 μm 、小於約400 μm 、小於約500 μm 等）。相反，在圖3E中，微流體裝置被配置成使得三個串聯佈置的混合器369、369'、369''的輸出通道373'較長，例如大於約600 μm 、大於約700 μm 、大於約800 μm 、大於約900 μm 、大於約1000 μm 等。

【0171】 其中輸出通道短於例如500 μm （約400 μm 、約300 μm 等）的裝置通常比其他設計更緊湊，同時仍然提供增強的混合。此外，當與稀釋緩衝液在離輸入端很短的距離內混合時，可能會導致較少的材料沉積。替代地或附加地，縮短第一混合器369''和第二混合器369'之間（或第二混合器和第三混合器369之間）的距離也可以減少或消除沉積。例如，本文所述的混合裝置可包括串聯佈置的混

合室之間小於約 $500\mu\text{m}$ （例如，小於約 $400\mu\text{m}$ 、小於約 $300\mu\text{m}$ 、小於約 $200\mu\text{m}$ 、小於約 $100\mu\text{m}$ ）。在一些示例中，這些裝置可以包括在混合裝置的輸出端處或附近的稀釋緩衝液輸入。

【0172】 圖4示出了另一個微流體設備的一部分的示例，該裝置400上也有壓降，包括類似於裝置300構造的混合子組件433。第一流體成分可以在輸入端403'引入微流體設備。在該示例中，流體流在 23.28 lbf/in^2 （ 160.5 kPa ）的壓力下開始，並穿過限流器434和真空帽435，在 20.15 lbf/in^2 （ 138.9 kPa ）的壓力下到達第一流體入口403。第二流體成分在輸入端405'在 23.30 lbf/in^2 （ 160.6 kPa ）的壓力下引入，流動通過其相應的限流器和流體驅動室，在 20.17 lbf/in^2 （ 139.0 kPa ）的壓力下進入第二流體入口405。兩種流體在相等的壓力下交會，並在第一渦旋混合室中混合，並可進入混合子組件433的隨後的順序佈置的室中，直到在輸出端417排出，例如在 16.73 lbf/in^2 （ 115.3 kPa ）下。混合物然後可以進入級聯混合裝置的第二級445，以在第二流體交會處與第三流體成分相交。在該示例中，第三流體成分在輸入端407處被輸入到微流體路徑裝置400中（例如，在 23.30 lbf/in^2 （ 160.6 kPa ）的壓力下），並穿過限流器457，在 16.73 lbf/in^2 （ 115.3 kPa ）的壓力下到達第四流體入口435，該壓力與從第三流體入口417到達的流體壓力相等。合併的流穿過混合子組件的第二級的最後一對渦旋混合室，並在 14.36 lbf/in^2 （ 99.0 kPa ）下進入438。壓力可在438內進一步降低，並且流體可在輸出端414輸出，例如壓力為 7.60 lbf/in^2 （ 52.4 kPa ）。在一些示例中，該混合子組件可以與附加的處理部件流體直列式地流體地連接，或者流體地連接在同一微流體設備（微流體路徑裝置）上，或者流體地連接在單獨的微流體設備上。

【0173】 通常，這裡描述的混頻器可以級聯在一起。級聯混合器可以提供附加的混合，並且可以在增加的流速下實現高度混合。例如，本文所述的任何微流體裝置可以包括多個級聯的微流體渦旋混合裝置，其中每個微流體渦旋混合

裝置包括：渦旋混合室，其包括限定底部表面的基部、側壁和封閉渦旋混合室的上表面；混合入口通道，其包括在渦旋混合室的第一側壁處通向渦旋混合室的開口；混合出口通道，其包括在渦旋混合室的第二側壁處通向渦旋混合室的開口，其中渦旋混合室的豎直尺寸大於混合入口通道的豎直尺寸並且大於混合出口通道的豎直尺寸；此外，其中多個微流體渦旋混合器串聯連接，使得在串聯中的在第一微流體渦旋混合器之後的微流體渦旋混合器中的每一個的混合入口通道連接到該串聯中的前一個微流體渦旋混合器的混合出口。

【0174】 例如，圖5示出了配置為微流體路徑配製裝置500的微流體設備，其包括類似於圖4所示的級聯混合子組件510。該混合子組件510可以包括串聯配置的多個渦旋混合室。設備500還包括泵520和550以及流體驅動室530、540、560（其可以充當混配室）。

溫度

【0175】 在本文所述的任何混合裝置中，申請人驚奇地發現，對於一些材料（例如，在水溶液中的mRNA、遞送載體（例如在乙醇中））來說，在低於室溫的溫度下混合是有益的，例如，低於約25°C（如，20°C或更低、18°C或更低、15°C或更低、12.5°C或更低、10°C或更低、8°C或更低、7°C或更低等），例如，在20°C和5°C之間，約10°C，等。

【0176】 本文所述的任何微流體路徑裝置可以作為包括溫度控制（包括微流體設備的混合部分（混合子組件）的溫度控制）的系統的一部分來操作。因此，包括一個或更多個渦旋混合室的混合子組件在混合子組件的操作過程中可被冷卻至例如在20°C和5°C之間（如在約18°C和5°C之間、在約15°C和5°C之間、在約15°C和8°C之間等）的溫度。

【0177】 在一些示例中，包括混合室的整個微流體設備可以被調節到混合溫度。可替代地，如本文所述，僅微流體設備的一部分可以被溫度控制。例如，

僅僅混合室可以被溫度控制到混合溫度，微流體裝置的其他部分可以被溫度控制到一個或更多個不同的溫度。在一些示例中，微流體設備（或其任何子區域，例如混合室）可以僅在混合時被溫度控制到混合溫度；在其他時候，它們可以保持在另一個溫度。

【0178】 圖6是圖示溫度對使用本文所述的混合裝置混合的影響的曲線圖。在圖6中，示出了使用類似於以上在圖1A-1B中示出的混合裝置的混合（對應於“8/28盒體”混合），並與未混合的（“只有細胞”）和手工混合的（“8/28手動”）樣品進行比較。樣品包括用熒光劑轉染的細胞，以允許量化混合的功效；更大的熒光信號表示更高程度的混合效率，以校正的生物發光（RLU）來測量。手動混合的試劑（“8/28手動標準”、“8/28手動等分1”和“8/28手動等分2”）的校正生物發光與上述混合裝置在21°C下混合的試劑（例如，“8/28盒體21C 1”、“8/28盒體21C 2”、“8/28盒體21C 3”和“8/28盒體21C 4”）大致相同。令人驚訝的是，在較低溫度（例如10°C）下混合的那些顯示出高得多的生物發光度（與“8/28盒體實驗7 10C”和“8/28盒體實驗8 10C”相比）。在圖6中，在較低溫度（例如10°C）下用相同的混合裝置混合的那些，與相同的混合裝置或在21°C下用手混合的那些相比，具有幾乎兩倍的生物發光。對於所示的試劑組合，在較高溫度（例如40°C和60°C）下，生物發光與在21°C下的生物發光大致相同。

【0179】 混合溫度可以手動或自動設定。在一些實例中，混合溫度通常但不排他地在約20°C至約5°C之間，可以基於正被混合的mRNA（例如，治療性mRNA）和/或遞送載體來確定。例如，如上所述，可以使用mRNA和遞送載體的組合來確定增強的混合溫度。增強的混合溫度可以根據經驗（例如，實驗）和/或通過計算例如，基於mRNA和/或遞送載體的尺寸、分子量、順序等來確定。

【0180】 如上所述，本文所述的混合裝置可以是微流體裝置（例如，微流體設備）的一部分，並且可以包括第一流體輸入端和第二流體輸入端、被配置為

接收來自第一流體輸入端和第二流體輸入端的流體的流體交會通道，其中流體交會通道在第一混合室的第一側的上部區域上通向第一混合室。第一混合室的深度可以大於流體交會通道的深度的大約1.5倍。該設備還可以包括出口通道，出口通道位於第一混合室的第二側的上部區域上，其中出口通道的深度小於第一混合室的深度，並且其中出口通道的開口相對於流體交會處沿著第一混合室的第二側的寬度偏移。

【0181】 在一些示例中，多個混合器（例如，多個混合室）可以被包括作為微流體混合裝置的一部分，並且可以串聯連接。例如，圖7A-7D示出了具有一個（圖7A）、三個（圖7B）、六個（圖7C）和十二個（圖7D）混合室的混合裝置的示例。如上所述，令人驚訝的是，利用單個混合室可以實現幾乎均勻的混合（例如，參見圖2A-2E）。在一些情況下，特別是當混合物包括懸浮在正被混合的流體中的粒子時，可以使用多於一個，例如兩個或三個混合室來實現完全或接近完全的混合。這在下面進行了說明，並且特別令人驚訝的是，即使當使用相對高的流速和低的壓力（例如，壓力在約6.9 kPa至約206.8 kPa之間，且流速在1 ml/min至約10 ml/min之間）時，仍然給予混合裝置相對小的尺寸（例如，佔用面積）。本文所述的混合裝置從輸入端到輸出端可具有約2 mm或更小的總長度（例如，約1.75 mm或更小、約1.7 mm或更小、約1.6 mm或更小、約1.5 mm或更小、約1.4 mm或更小、約1.2 mm或更小、約1 mm或更小、約0.8 mm或更小、約0.7 mm或更小等）。即使這些相對較短的長度也可以實現幾乎均勻的混合。

【0182】 本文所述的所有設備和方法提供了優於手動混合的混合，包括在包含粒子（這些粒子否則可能會聚集）的混合物中提供更均勻以及更小的最終粒子尺寸。然而，具有粒子的混合物可能對微流體混合提出特殊的挑戰。例如，微流體混合器的重複和/或連續使用可能導致粒子沉積在微流體混合裝置的通道內。圖8圖示了這個潛在的問題。在圖8中，示出了混合裝置的圖像。混合裝置包

括如本文所述的三個串聯的混合器（混合室），例如，具有約250/200/500 μm 的寬度/深度/長度。在該圖示中，混合裝置用於連續操作，混合包括材料（例如，mRNA和有或沒有mRNA的遞送載體的分子，例如氨基脂質化類肽遞送載體的分子）的流體以形成治療劑（例如，包在遞送載體中的mRNA），但是隨著時間的推移導致材料807在混合裝置內沉積。在操作中，這種沉積可能導致堵塞。本文所述的裝置和方法可被配置成減少或防止材料的堵塞和/或沉積。

【0183】 例如，在一些示例中，混合室的數量可能是有限的。因此，在某些情況下，可以使用3個或更少的混合室。如上所述和所示，在一些示例中，兩個混合室可以串聯地聯接，用於在混合裝置中進行混合。在一些示例中，三個混合室可以串聯地聯接，用於在混合裝置中進行混合。可替代地，在一些示例中，可以僅包括單個混合室。與其他混合器相比，這些配置具有佔用面積小得多的附加好處。

【0184】 在一些示例中，混合裝置的室和/或通道的尺寸可以成比例地增加。較大的混合室可以減少粒子在通道內的沉積。例如，在一些示例中，混合室的尺寸可以具有在約225 μm 至約600 μm 之間（例如，在約250 μm 至約600 μm 之間、在約300 μm 至約550 μm 之間等）的寬度，在約175 μm 至約425 μm 之間（例如，在約200 μm 至約400 μm 之間，在約300 μm 至約425 μm 之間等）的深度，在約450 μm 至約1050 μm 之間（例如，在約500 μm 至約1000 μm 之間等）的長度。例如，混合室可以具有約500/400/1000 μm 的寬度/深度/長度。類似地，連接通道可以具有在約75 μm 至大約225 μm 之間（例如，在大約100 μm 至大約200 μm 之間等）的寬度，在大約75 μm 至大約225 μm 之間（例如，在大約100 μm 至大約200 μm 之間等）的深度，在大約225 μm 至大約525 μm 之間（例如，在大約250 μm 至大約500 μm 之間等）的長度。

【0185】 圖9A和圖9B示出了相似但相對於彼此縮放的混合裝置的示例。

圖9A的混合裝置示出了具有第一組尺寸（例如，混合室寬度/深度/長度約為250/200/500 μm ，且連接通道寬度/深度/長度約為100/100/250 μm ）的混合室905和連接通道903。在圖9B中，相同的形狀按倍數2放大（例如，2倍），使得混合室和連接通道具有兩倍的寬度、深度和長度（例如，混合室具有大約500/400/1000 μm 的寬度/深度/長度，且連接通道具有大約200/200/500 μm 的寬度/深度/長度）。

【0186】 如圖9C所示，混合裝置在較小尺寸（例如，圖9A）和較大尺寸（例如，圖9B）兩者下的總體混合效率相當；對兩者的平均粒子尺寸和粒子分散性都進行了檢測。分散性是對混合物中分子或粒子大小不均勻性的一種量度。如果物體具有相同的大小、形狀或質量，則物體的集合被稱為均勻的。尺寸、形狀和質量分佈不一致的物體樣本稱為不均勻。多分散性指數（PDI）是分子量分佈寬度的量度，因此是粒度分佈的指標。PDI越大，分子量分佈越寬。聚合物的PDI值按重均分子量與數均分子量之比計算。分散性（例如PDI）可以通過光散射測量來測量，例如動態光散射，和/或直接測量，例如通過質譜，使用基質輔助激光解吸/電離（matrix-assisted laser desorption/ionization, MALDI）或電噴霧電離串聯質譜（electrospray ionization with tandem mass spectrometry, ESI-MS）。多分散性指數是無量綱的，並且被按比例縮放，使得小於0.05的值很少在高單分散性標準之外被看到。大於0.7的值可表明樣品具有非常寬的尺寸分佈，且因此尺寸是不均勻的。Z-平均尺寸或Z-平均均值可在動態光散射中用作參數（也稱為累積量平均值），以提供適用於懸浮液中的粒子或溶液中的分子的流體動力學參數。

【0187】 如圖9C所示，較小（圖9A）和較大（圖9B）混合裝置的PDI極度相似；然而，與較大的混合裝置相比，在較小的混合裝置中，Z平均值稍小。

【0188】 這裡描述的任何混合裝置都可以具有圓角的或彎曲的拐角和/或邊緣。例如，圖10A示出了類似於上面所示的混合裝置（例如，圖7B、9A等）的

混合裝置，並且圖10B示出了在混合裝置的底部和/或頂部上具有圓角邊緣1015和/或拐角的混合裝置的示例。圓角（例如，圓角的、彎曲的等）邊緣/拐角可防止混合器中的可能沉積粒子的死區或停滯區域。此外，如上所述，圓角邊緣還可以增強混合室內的混合（因為流體可能會被驅動碰到壁上而在室內旋轉，從而增強混合）。在一些實例中，從混合室通向出口的（例如，通向連接通道的）開口可以包括斜坡或漏斗形狀，其中開口的直徑（或寬度和深度）可以是斜坡的、漏斗形狀的等，以在混合室和通道之間提供更平緩的過渡。

【0189】 如上所述，這裡描述的任何裝置可以被配置成使得混合器相對於彼此成一個角度。在一些示例中，該角度大約為90度（如圖7B-7D所示），其中混合室垂直於連接通道佈置。圖11A-11B示出了混合裝置的另一個示例，其中當從頂部觀察時，混合室和連接通道之間的角度約為135度（見圖11B）。因此，在一些實例中，混合室和連接通道之間的角度（可稱為盒體角或混合室角）可在90度和180度之間（例如約100度、約110度、約120度、約130度、約135度、約140度、約150度、約160度等）。將該角度增加到90度以上可以減少沉積和/或可以增加流速（對於較低的壓力來說）。相反，在某些情況下，首選將角度減小到小於90度，這可以提高混合效率。

【0190】 如圖11C所示，在成角度的和彎曲的（例如，135度對90度的角度）之間，Z-平均值（例如，粒子尺寸）或PDI沒有顯著變化。如圖11C所示，通常，一級混合器（例如，僅具有單個混合室的混合器）可以充分地進行混合，甚至與粒子混合。經發現，與尺寸相似的三級設備相比，一級混合器的最終粒子尺寸和PDI值與其相當，或者在某些情況下甚至更好。因此，可以使用高度緊湊的一級裝置，並且可以導致更少的流動限制。

【0191】 在一些實例中，本文所述的混合裝置可隨著時間的推移產生顯著較少的沉積。例如，其中側壁和/或底部和/或頂部是彎曲的設備可導致每次和/或

每流速下小於25%的沉積（例如，小於20%、小於15%、小於10%、小於5%等）。

【0192】 如上所述，可以控制流速。流速也可能影響混合。一般來說，通過這些裝置的更快的流速可以導致更小的粒子尺寸，這可以反映增強的混合。這在圖13中示出。在圖13中，多種相似的微流體混合裝置的實例在同一微流體設備基底（例如，“芯片”）上檢查，以提供對1 ml/min（1-4）、2 ml/min（1-4）和4 ml/min（1-2）的並行重複（parallel repeats）。流速可以根據粒子尺寸和/或微流體設備的尺寸進行調節。在圖13中，體積平均值（單位奈米）和PDI都是十分相當的，並且顯示出隨著流速的增加，粒子尺寸減小。

【0193】 如上所述，從混合室的輸入端中的較小開口躍變（step）”或過渡到混合室並在輸出（或連接）通道中恢復到小的直徑可以增強混合。然而，在一些示例中，如圖12B所示，混合裝置可以在輸入端、輸出端和混合室之間具有相同的高度。圖12A示出了混合裝置的另一個示例，該混合裝置包括三個串聯連接的混合器，類似於圖7B。為了比較，圖12B示出了不包括從較窄高度通道躍變到混合器的較深的盒體的步驟的裝置的示例。通常，如圖12C所示，這些混合器可能不會產生其他示例所示的高水平的混合。圖12C是顯示通過圖12A所示的混合裝置（“3盒體”）或通過圖12B所示的線性混合通道（“3盒體平面式”）多次實驗後的粒子尺寸（由於混合所導致的）的圖，示出了與圖12B相比，圖12A的混合裝置粒子尺寸明顯更小（且因此混合更有效）。

可選的示例

【0194】 本文還描述了微流體裝置的另外的實例。這些裝置可包括如本文所述的混合器，其具有一種或更多種另外的和可選的微流體成分。例如，混合器的出口通道可以與以下中的一個或更多個流體連通：一對最終混配室，透析室或蒸發室。微流體路徑設備（例如，微流體芯片）可以包括微流體透析室和/或微流體濃縮器。透析室和/或濃縮器可以是非常緊湊和高效的，並且可以以高的效

率和準確性在微流體裝置的邊界上或內部操作。本文描述的混合方法和裝置可以允許微流體裝置在單個集成裝置中還提供一種或更多種治療組合物（包括但不限於治療性多核苷酸）的純化、透析和濃縮。

【0195】 例如，微流控路徑設備可以包括：第一板和第二板；形成在第一板中的具有固定體積的流體接觸室；形成在第二板中的具有固定體積的透析緩衝室；其中，流體接觸室通過設置在第一板和第二板之間的透析膜與透析緩衝室分開；以及穿過所述第一板的多個壓力端口；並且其中所述流體接觸室包括分隔流體接觸室的多個通道。

【0196】 微流體透析室可具有：形成在第一板中的流體接觸室；形成在第二板中的透析緩衝室，其中流體接觸室通過設置在第一板和第二板之間的透析膜與透析緩衝室分開；以及穿過第一板的多個壓力端口；並且其中所述流體接觸室包括分隔流體接觸室的多個通道。

【0197】 這些微流體透析室設備中的任何一個都可以包括進入流體接觸室的入口和從流體接觸室出來的出口，其中，入口位於流體接觸室的長度的相對側和寬度的相對側上。入口可以與流體接觸室的一側偏離流體接觸室的寬度的大約15%至大約35%之間。這些透析裝置中的任何一個都可以包括夾在第一板和第二板之間的彈性膜。透析膜的周邊可以被彈性膜密封。

【0198】 例如，微流控路徑設備可以包括：第一板和第二板；形成在第一板中的具有固定體積的流體接觸室；形成在第二板中的具有固定體積的濃縮室。其中，流體接觸室通過設置在第一板和第二板之間的疏水膜與濃縮室分開；和穿過第一板的多個壓力端口；以及多個可單獨尋址的隔膜驅動泵，其由壓力端口控制，並配置為驅動流體通過流體接觸室和驅動乾燥空氣通過濃縮室。

【0199】 微流體路徑設備可以包括：混合器；透析子組件；和濃縮器子組件；其中混合器透析子組件和濃縮器形成在第一板和第二板之間。

【0200】 透析器可以形成為微流體路徑設備的一部分，並且可以包括通過透析膜與第二室分開的第一室；所述第一室和/或第二室可以分成通道。第一通道被配置成使要透析的流體通過，且第二通道被配置成使透析溶液通過。透析溶液可以沿逆流方向（例如，與流過第一通道的流體的方向相反）通過第二通道。

【0201】 在一些示例中，透析器形成在微流體路徑設備的第一板和第二板（例如，第一層和第二層）之間。第一通道可以形成在第一板中，並且第二通道可以形成在第二板中。透析膜可以密封在第一板和第二板之間。在一些示例中，彈性膜可被夾在第一板和第二板之間，透析膜可以跨過彈性膜中的開口夾在第一板和第二板之間，並且可以被彈性膜密封（例如，圍繞其周邊）。透析器的第一室可包括在第一室的一端上的入口和在第一室的相對端上的出口。入口和出口可偏離第一室的側邊緣，例如，在與第一側邊緣相距15-45%之間的室寬度的位置處，其中寬度形成在側邊緣之間。類似地，出口可以在室的相對側上（由室的大部分長度分隔開），並且與第二側（與第一側邊緣相對）偏離一定的量，該量與入口偏離第一側邊緣的量相同或近似相同（例如，在室寬度的15%至45%之間）。

【0202】 替代地，在一些示例中，彈性膜不用於密封透析膜。因此，可以通過第一板與第二板的接合來牢固地保持透析膜。在一些示例中，可以例如在存在的第一和第二板的下方或上方包括附加的膜（例如，第三板）和/或彈性膜。

【0203】 如上所述，透析器的第一室和/或第二室可分成多個通道。在一些示例中，通道可以是平行的並且可以以直線延伸。在一些示例中，通道呈彎曲或之字形線延伸。通道可以具有均勻的橫截面直徑，或者它們可以具有不同的直徑和/或可以具有相同的橫截面直徑。

【0204】 14A示出本文所述的透析器的示例的透視圖。在圖14A中，透析器是微流體設備的子區域（或透析器模塊），包括第一板1401、第二板1403和夾

在第一和第二板之間的彈性膜1405。穿過彈性膜（不可見）的開口可由透析膜1407跨過。透析膜1407將透析器的第一室與第二室分開，並且所示的每個室被分成延伸第一室和第二室長度的多個平行通道

【0205】 圖14B是通過與圖14A所示的類似的透析器截取的橫截面的示例。在圖14B中，透析器包括第一室1411、第二室1413和第一室和第二室之間的透析膜1407。進入第二室的入口1422與從第一室出來的出口1423相同（圖14B中第二室出口和第一室入口不可見）。每個室中的通道可以由形成室的板形成。在一些示例中，通道僅在一側（例如，第一室側）上。在一些示例中，通道在兩側上並且可以彼此相對或可以彼此偏離。

【0206】 圖15是透析器（諸如圖14A至圖14B中所示的示例）的邊緣區域的示例，示出了上室和下室以及透析膜之間的密封。在圖15中，第一板1501包括第一室1511。第一室被分成連接的通道。第二板1503固定到第一板的底部，並且包括第二室1505，第二室1505也被分成通道。第一板和/或第二板中的通道分隔件1509、1519形成接觸點，該接觸點將透析膜1515壓接在其間。

【0207】 在透析器的邊緣處，彈性膜1521可以夾在第一板和第二板之間。如圖15所示，彈性膜（例如，矽酮膜等）的邊緣也可以固定（例如，密封）第一板和第二板之間的透析器膜。

【0208】 在操作中，微流體路徑設備的透析器部分可包括位於設備的樣品處理側上的入口，用於將待透析的溶液驅動（通過施加壓力）到透析器的第一室中。在圖16中，示出了第一室，其被多個平行通道分隔。在該示例中，入口1601位於通道的頂部公共區域中，待透析的流體可從該頂部區域流向出口1603。在該示例中，入口和出口在室的寬度的相對側上並且在長度的相對側上。色調表示從入口到出口通過室的流速（速度Z，以cm/s為單位）。就這種入口和出口的佈置而言，流速是不均勻的，從色調圖可以看出，穿過更多外圍通道區域的流速較慢。

【0209】 圖17A示出了這樣的示例，在該示例中，入口1701和出口1703在寬度和長度的相對側上在室的端部處在公共的區域中從室的長邊稍微往內定位（例如，在室的寬度的15%至35%之間，例如，進入寬度中大約四分之一的長度）。所產生的流速（由熱圖鍵（heat map key）圖17B所示）明顯更均勻，在最靠近入口和出口的通道中具有稍快的區域。在圖17A-17C的示例中，最大流速可以為例如約-1.1 cm/sec，而最小流速可以為例如約-0.9 cm/sec。圖17C示出了上部公共區域1707，上部公共區域1707流入延伸透析器的第一室的長度的通道中；該區域可以具有局部流速較高區域1711、1709。在此示例中，入口和出口之間的壓力可能下降，例如在約14.92 psi（102.87 kPa）和14.70 psi（101.35 kPa）之間，差值為0.22 psi（1.52 kPa），流量為0.5 ml/min。

【0210】 在使用中，透析器可用於透析含有治療物質的溶液，例如，從溶液中去掉不需要的物質。當溶液流過第一室時，透析溶液可以以與第二室相同或相反的方向流動，第二室與第一室相對。第二室可具有與上述第一室基本相同的結構。

【0211】 本文還描述了濃縮器。濃縮器可以具有與上述透析器相同的結構，但是膜可以是允許水蒸氣通過（允許通過其進行蒸發）的膜（疏水膜），使得空氣可以在流體經過第一室時跨過膜流入第二室內，從而蒸發並濃縮溶液。

【0212】 在一些示例中，濃縮器被配置為具有穿過第一流體經過室並且在某些情況下穿過第二室（氣體（例如，空氣）經過該第二室）的一個或更多個路徑（通道）。圖18示出了濃縮器設備（例如，用於微流體路徑設備的濃縮器子組件）的一個示例。在圖18中，濃縮器包括從第一室中的入口1801到出口1803的長形通道。允許水蒸氣通過的膜（圖18中未示出）在第一室和第二室之間延伸。氣體可以穿過第二室以除去水，從而在其通過第一個室時使溶液濃縮。蒸發率可能與穿過濃縮器的流速有關。在圖18中，色調圖顯示了穿過濃縮器的第一室的速

度 (cm/s)。

【0213】 在使用中，濃縮器可以是高效的，並且可以將來自微流體路徑設備的製造劑型的治療劑濃縮到允許稀釋成可注射劑型的濃度範圍內（例如，在2 mL至0.1 mL之間）。

【0214】 圖18中所示的示例濃縮器為25.4mm乘25.4mm的正方形。膜是孔徑為0.22 μm 、厚度為37 μm 的Sterlite PTFE膜，。在圖18中，輸入流速約為0.5ml/min。透析膜的輸送速度為0.483ml/min，並且所得的輸出流速為約0.019ml/min，1.1ml/hr。在此示例中，對於在約4.321 cm/s和0.160 cm/s之間的速度，入口和出口之間的壓降可以為，例如，入口處為14.96 psi (103.15 kPa) 且出口處為14.70 psi (101.35 kPa) (1.8 kPa的增量)。

【0215】 如上所述，本文所述的任何微流體路徑設備可包括一個或更多個透析器和/或一個或更多個濃縮器(透析器子組件和/或濃縮器子組件)。圖19示意性地示出了微流體路徑設備，其包括：一系列混合器1903，例如，用於混合形成在微流體路徑設備上或添加到微流體路徑設備中的治療劑(例如，治療性RNA)，包括用於添加遞送載體；以及串聯在混合器和濃縮器1907之間的透析器1905。如上面參考圖4所述，可以插入第一輸入端1911，第二輸入端1913和第三輸入端1915。在組合/混合、透析和濃縮之後，最終的產品可以從濃縮器輸出1931，並且可以被使用或存儲或進一步處理。以這種方式，可以使用單個連續流動微流體設備來完成奈米粒子治療劑的產生(包括透析和濃縮成最終可注射形式)而不會在配製過程中產生材料的中間存儲。

【0216】 圖20示出了示例性微流體路徑設備(例如圖19中示意性地示出的設備)上的壓力和位置之間的關係的一個示例，在圖20中，輸入壓力(V1-V4)的流動阻力和壓力可以由系統調節和/或監控，以通過調節濃縮器來控制最終濃度。

【0217】 當特徵或元件在本文被提及為在另一特徵或元件“上”時，它可以是直接在其他特徵或元件上，或也可以存在中間特徵或元件。相反，當特徵或元件被提及為“直接上”另一特徵或元件“上”時，沒有中間特徵或元件存在。還將理解，當特徵或元件被提及為“連接”、“附接”或“聯接”到另一特徵或元件時，它可以直接連接、附接或聯接到其他特徵或元件，或可存在中間特徵或元件。相反，當特徵或元件被提及為“直接連接”、“直接附接”或“直接聯接”到另一特徵或元件時，沒有中間特徵或元件存在。雖然針對一個示例進行了描述或示出，但是這樣描述或示出的特徵和元件可以應用於其他示例。本領域技術人員還將認識到，對“鄰近”另一特徵設置的結構或特徵的參考可具有與相鄰特徵重疊或在相鄰特徵下方的部分。

【0218】 本文使用的術語僅用於描述特定示例的目的，並且不意圖限制本發明。例如，除上下文明確說明之外，如本文所用的，單數形式“a（一）”、“an（一）”和“the（該）”旨在還包括複數形式。應當進一步理解，術語“包括（comprises）”和/或“包括（comprising）”當在本說明書中使用時，指定了所陳述的特徵、步驟、操作、元素和/或部件的存在，但不排除存在或添加一個或更多個其它特徵、步驟、操作、元素、部件和/或其組。如本文所用的，術語“和/或”包括相關聯的所列項目中的一項或更多項的任意組合和所有組合，並且可縮寫為“/”。

【0219】 空間相關的術語，諸如“在...下面（under）”、“在...下方（below）”、“下部（lower）”、“在...之上（over）”、“上部（upper）”等可在本文中使用，以便於描述附圖所示的一個元件或特徵與另一個元件或特徵的關係。將理解的是，空間相關的術語旨在包括除了附圖中描繪的定向之外的使用或操作中的設備的不同的定向。例如，如果附圖中的設備被倒置，則被描述為“在其它元件或特徵下面”、“在其它元件或特徵之下（beneath）”的元件將被定向成“在其它元件或特

徵之上”。因此，示例性術語“在...下面”可涵蓋在...之上和在...之下兩種定向。該設備可以以其它方式定向（旋轉90度或以其他定向），並且本文使用的空間相對描述詞被相應地解釋。類似地，除另外特別說明之外，術語“向上（upwardly）”、“向下（downwardly）”、“豎直（vertical）”、“水平（horizontal）”等在本文中僅用於說明的目的。

【0220】 雖然術語“第一”和“第二”在本文中可以用於描述各種特徵/元件（包括步驟），但是這些特徵/元件不應該受這些術語的限制，除非上下文另有說明。這些術語可以用於區分一個特徵/元件與另一個特徵/元件區。因此，在不脫離本發明的教導的情況下，下面討論的第一特徵/元件可以被稱為第二特徵/元件，並且同理，下面討論的第二特徵/元件可以被稱為第一特徵/元件。

【0221】 在本說明書和所附申請專利範圍中，除非上下文另有要求，術語“包括（comprise）”及其諸如“包括（comprises）”和“包括（comprising）”的示例意味著可以在方法和製品中共同使用各種部件（例如，合成物以及裝置，包括設備和方法）。例如，術語“包括（comprising）”將被理解為暗示包含任何所述的元件或步驟，但不排除任何其它元件或步驟。

【0222】 如本文在說明書和申請專利範圍中所使用的，包括在示例中所使用的，並且除非另有明確說明，所有數字可被讀作彷彿前面有“約（about）”或“大約（approximately）”的詞語，即使該術語沒有明確出現。在所有情況下，當使用短語“約”或“大約”時，可能會用到實際值（例如，量、距離等）。可以在描述幅度和/或位置時使用短語“約”或“大約”，來指示所描述的值和/或位置在值和/或位置的合理預期範圍內。例如，數值可以具有為所陳述的值（或值的範圍）的 $\pm 0.1\%$ 、所陳述的值（或值的範圍）的 $\pm 1\%$ 、所陳述的值（或值的範圍）的 $\pm 2\%$ 、所陳述的值（或值的範圍）的 $\pm 5\%$ 、所陳述的值（或值的範圍）的 $\pm 10\%$ 等的值。本文給出的任何數值還應當理解為包括約或大約於該值，除非上下文另

有說明。例如，如果值“10”被公開，則“約10”也被公開。本文列舉的任何數值範圍旨在包括包含在其中的所有子範圍。還應當理解，當一個值被公開時，也公開了“小於或等於”該值、“大於或等於該值”以及值之間的可能範圍，如本領域技術人員適當地理解的。例如，如果公開了值“X”，則也公開了“小於或等於X”以及“大於或等於X”（例如，其中X是數值）。還應當理解，在整個申請中，以多種不同的格式提供數據，並且該數據表示數據點的任何組合的端點和起始點以及範圍。例如，如果公開了特定數據點“10”和特定數據點“15”，則應當理解，大於、大於或等於、小於、小於或等於、和等於10和15以及在10和15之間被認為是公開的。還應當理解，還公開了兩個特定單元之間的每個單元。例如，如果公開了10和15，則也公開了11、12、13以及14。

【0223】 雖然上面描述了各種說明性示例，但是在不脫離申請專利範圍所描述的本發明的範圍的情況下，可以對各種示例進行任何改變。例如，在替代示例中，通常可以改變執行各種所描述的方法步驟的順序，並且在其他替代示例中，可以一起跳過一個或更多個方法步驟。各種設備和系統示例的可選特徵可以被包括在一些示例中而不被包括在其他實施例中。因此，前面的描述主要被提供用於示例性目的，並且不應被解釋為限制在申請專利範圍中所闡述的本發明的範圍。

【0224】 本文所包括的示例和說明通過說明而非限制的方式示出其中可以實踐主題的具體示例。如所提到的，可以利用和從其導出其他示例，使得可以做出結構和邏輯替換和改變而不脫離本公開的範圍。僅為了方便，本發明性主題的這樣的示例可在本文中單獨地或共同地由術語“發明”來提及，並且不旨在將本申請的範圍主動地限制為任何單個發明或發明概念，如果實際上多於一個被公開的話。因此，雖然本文已經說明和描述了特定示例，但是被計劃為實現相同目的的任何佈置可以替代所示的特定示例。本公開旨在覆蓋各種示例的任何和所

有修改或示例。在閱讀以上描述後，以上示例的組合以及本文未具體描述的其他示例對於本領域的技術人員來說將是明顯的。

【符號說明】

【0225】

無

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種微流體設備，包括：

第一流體輸入端和第二流體輸入端；

流體交會通道，其用於接收來自所述第一流體輸入端和所述第二流體輸入端的流體，其中所述流體交會通道在第一混合室的第一側的上部區域通向所述第一混合室，其中所述第一混合室具有長度、寬度和深度，其中所述第一混合室的深度大於所述流體交會通道的深度的大約1.5倍；和

出口通道，其位於所述第一混合室的第二側的上部區域上，其中所述出口通道的深度小於所述第一混合室的深度，並且其中所述出口通道的開口相對於所述流體交會處沿著所述第一混合室的所述第二側的寬度偏離。

【請求項2】根據請求項1所述的微流體設備，其中所述第一混合室被配置為單個混合器，其中所述出口通道形成混合器輸出端，而不串聯地連接到另外的混合室。

【請求項3】根據請求項1所述的微流體設備，還包括：

第二混合室，其具有從所述第二混合室的頂表面延伸到所述第二混合室的底表面的深度、從所述第二混合室的第一側延伸到所述第二混合室的第二側的寬度、以及長度，其中所述第二混合室的深度大於所述出口通道的深度，並且所述第二混合室的寬度大於所述出口通道的寬度，而且其中，所述第二混合室在所述頂表面處並靠近所述第二側流體地連接到所述出口通道；和

第二出口通道，其具有深度和寬度，其中所述第二出口通道在所述頂表面處並靠近所述第二混合室的所述第一側流體地連接到所述第二混合室。

【請求項4】根據請求項1所述的微流體設備，其中所述微流體設備包括多個流體連接的混合室，所述多個流體連接的混合室包括所述第一混合室。

【請求項5】一種微流體設備，包括：

第一流體輸入通道和第二流體輸入通道，其中所述第一流體輸入通道和所述第二流體輸入通道會聚到流體交會通道，所述流體交會通道具有從頂表面延伸到第一底表面的寬度和深度；

第一混合室，其具有從所述頂表面延伸到第二底表面的深度、從第一側延伸到第二側的寬度、以及長度，其中所述第一混合室的深度大於所述流體交會通道的深度，並且所述第一混合室的寬度大於所述流體交會通道的寬度，並且其中所述第一混合室在所述頂表面處且靠近所述第一側流體地連接到所述流體交會通道；和

出口通道，其中所述出口通道在所述頂表面處並靠近所述第一混合室的第二側流體地連接到所述第一混合室。

【請求項6】根據請求項5所述的微流體設備，其中所述第一混合室被配置為單個混合器，其中所述出口通道形成混合器輸出端，而不串聯地連接到另外的混合室。

【請求項7】根據請求項5所述的微流體設備，還包括：

第二混合室，其具有從所述第二混合室的頂表面延伸到所述第二混合室的底表面的深度、從所述第二混合室的第一側延伸到所述第二混合室的第二側的寬度、以及長度，其中所述第二混合室的深度大於所述出口通道的深度，並且所述第二混合室的寬度大於所述出口通道的寬度，而且其中，所述第二混合室在所述頂表面處並靠近所述第二側流體地連接到所述出口通道；和

第二出口通道，其具有深度和寬度，其中所述第二出口通道在所述頂表面處並靠近所述第二混合室的所述第一側流體地連接到所述第二混合室。

【請求項8】根據請求項5所述的微流體設備，其中所述微流體設備包括多個流體連接的混合室，所述多個流體連接的混合室包括所述第一混合室。

【請求項9】一種混合方法，所述方法包括：

將第一流體和第二流體通過至少一個開口通向如請求項1至8中任一項所述的微流體設備內的第一混合室，使得所述第一流體和所述第二流體被驅動抵靠所述第一混合室的壁，並被作為混合流體驅動離開至少第一開口的平面，所述第一流體包含一種或更多種治療性mRNA，所述第二流體包含用於所述一種或更多種治療性mRNA的遞送載體；和

將所述混合流體從所述第一混合室的出口開口傳送出去，

其中所述第一混合室保持在2°C至20°C之間的溫度。

【請求項10】一種用於形成合成物的方法，所述方法包括：

在如請求項1至8中任一項所述的微流體設備中合成一種或更多種治療性mRNA，其中所述一種或更多種治療性mRNA在第一流體內，並且用於所述一種或更多種治療性mRNA的遞送載體在第二流體內；

將所述第一流體和所述第二流體穿過第一開口傳送到所述微流體設備內的第一混合室中，使得所述第一流體和所述第二流體被驅動為抵靠所述第一混合室的壁並被驅動離開所述第一開口的平面至大於所述第一開口的深度的一倍的深度，以形成混合流體，其中所述第一混合室被保持在被選擇為增強所述治療性mRNA和所述遞送載體的混合的溫度；和

將所述混合流體從所述第一混合室的出口開口傳送出去。

【請求項11】根據請求項10所述的方法，其中，所述第一混合室保持在被選擇以增強所述治療性mRNA和所述遞送載體的混合並且在2°C至20°C之間的溫度。

【請求項12】根據請求項10所述的方法，還包括選擇所述第一混合室的增強混合溫度，其中選擇所述增強混合溫度包括在體外或體內模擬所述第一混合室內的混合。

【請求項13】根據請求項10所述的方法，還包括選擇所述第一混合室的增強

混合溫度，其中選擇所述增強混合溫度包括基於所述遞送載體和所述一種或更多種治療性mRNA在大約2°C至大約20°C之間選擇溫度。

【請求項14】根據請求項10所述的方法，其中，將所述第一流體和所述第二流體穿過所述第一開口傳送到所述第一混合室中包括傳送所述第一流體和所述第二流體使得所述第一流體和所述第二流體被驅動為抵靠所述第一混合室的壁並且離開橫向於所述第一開口的平面至大於所述第一開口的深度的大約2.5倍的深度。

【請求項15】根據請求項10所述的方法，其中，所述流體被驅動為抵靠所述第一混合室的壁並離開橫向於所述第一開口的平面至所述第一開口的深度的大約3倍或更多倍的深度。

【請求項16】根據請求項10所述的方法，其中所述第一開口的頂部與所述第一混合室的頂部齊平。

【請求項17】根據請求項10所述的方法，其中所述出口開口的橫截面積等於所述第一開口的橫截面積。

【請求項18】根據請求項10所述的方法，其中所述第一混合室在所述微流體設備的第一層和第二層之間。

【請求項19】根據請求項10所述的方法，其中所述第一混合室的長度大於寬度，並且其中所述第一混合室的長度大於所述第一開口的寬度的2倍。

【請求項20】一種用於形成治療性合成物的方法，所述方法包括：

將在第一流體內的一種或多種治療性mRNA和在第二流體內的用於所述一種或更多種治療性mRNA的遞送載體穿過第一開口傳送到如請求項1至8中任一項所述的微流體設備中的第一混合室中，使得所述第一流體和所述第二流體被驅動為抵靠所述第一混合室的壁並被驅動離開所述第一開口的平面至大於所述第一開口的深度的一倍的深度，以形成包括所述治療性合成物的混合流體；

將所述第一混合室的溫度保持在被確定為增強混合的增強混合溫度；和
將所述混合流體從所述第一混合室的出口開口傳送出去。

【請求項21】根據請求項20所述的方法，其中所述增強混合溫度在大約2°C至大約20°C之間。

【請求項22】根據請求項20所述的方法，其中保持包括確定針對所述一種或更多種治療性mRNA和/或所述遞送載體的增強混合溫度。

【請求項23】根據請求項22所述的方法，還包括通過體外或體內模擬在所述第一混合室中的混合來確定所述增強混合溫度。

【請求項24】根據請求項22所述的方法，還包括通過在大約2°C至大約20°C之間選擇一溫度來確定所述增強混合溫度，與在大約2°C至大約20°C之間的其他溫度下的混合相比，該溫度具有更大程度的混合。

【請求項25】根據請求項20所述的方法，其中，將所述第一流體和所述第二流體穿過所述第一開口傳送到所述第一混合室中包括傳送所述第一流體和所述第二流體使得所述第一流體和所述第二流體被驅動為抵靠所述第一混合室的壁並且離開橫向於所述第一開口的平面至大於所述第一開口的深度的大約2.5倍的深度。

【請求項26】根據請求項20所述的方法，其中，所述流體被驅動為抵靠所述第一混合室的壁並離開橫向於所述第一開口的平面至所述第一開口的深度的大約3倍或更多倍的深度。

【請求項27】根據請求項20所述的方法，其中所述第一開口的頂部與所述第一混合室的頂部齊平。

【請求項28】根據請求項20所述的方法，其中所述出口開口的橫截面積等於所述第一開口的橫截面積。

【請求項29】根據請求項20所述的方法，其中所述第一混合室形成在所述微

流體設備的第一層和第二層之間。

【請求項30】根據請求項20所述的方法，其中所述第一混合室的長度大於寬度，並且其中所述第一混合室的長度大於所述第一開口的寬度的2倍。

【請求項31】一種混合方法，所述方法包括：

將第一流體和第二流體穿過第一開口傳送到如請求項1至8中任一項所述的微流體設備內的第一混合室中，使得所述第一流體和所述第二流體被驅動為抵靠所述第一混合室的壁並被驅動離開所述第一開口的平面至大於所述第一開口的深度的一倍的深度，以形成混合流體，所述第一流體包含一種或更多種治療性 mRNA，所述第二流體包含用於所述一種或更多種治療性 mRNA 的遞送載體；和將所述混合流體從所述第一混合室的出口開口傳送出去。

【請求項32】根據請求項31所述的方法，其中，將所述第一流體和所述第二流體穿過所述第一開口傳送到所述第一混合室中包括傳送所述第一流體和所述第二流體使得所述第一流體和所述第二流體被驅動為抵靠所述第一混合室的壁並且離開橫向於所述第一開口的平面至大於所述第一開口的深度的大約2.5倍的深度。

【請求項33】一種在微流體設備內混合的方法，所述方法包括：

將第一流體和第二流體穿過第一開口傳送到如請求項1至8中任一項所述的微流體設備內的第一混合室中，使得所述第一流體和所述第二流體被驅動為抵靠所述第一混合室的壁並離開橫向於所述第一開口的平面至大於所述第一開口的深度的大約2.5倍的深度，以形成基本上混合流體；和

將所述混合流體從出口開口傳送出所述第一混合室，其中所述出口開口與所述第一開口相對但偏離所述第一開口，

其中所述第一混合室保持在大約5°C至大約20°C之間的溫度。

【請求項34】根據請求項33所述的方法，其中，將所述第一流體和所述第二

流體穿過所述第一開口傳送到所述第一混合室中包括傳送所述第一流體和所述第二流體使得所述第一流體和所述第二流體被驅動為抵靠所述第一混合室的壁並且離開橫向於所述第一開口的平面至大於所述第一開口的深度的約2.5倍的深度。

【請求項35】一種在微流體設備內混合的方法，所述方法包括：

將第一流體和第二流體穿過第一開口傳送到微流體設備內的混合室中，使得所述第一流體和所述第二流體被驅動為抵靠所述混合室的壁並離開橫向於所述第一開口的平面至大於所述第一開口的深度的大約2.5倍的深度，以形成基本上混合流體；和

將所述混合流體從出口開口傳送出所述混合室，其中所述出口開口與所述第一開口相對但偏離所述第一開口，

其中所述混合流體基本上由所述混合室混合，並且所述混合室被配置為不連接到第二混合室的單個混合器。

【發明圖式】

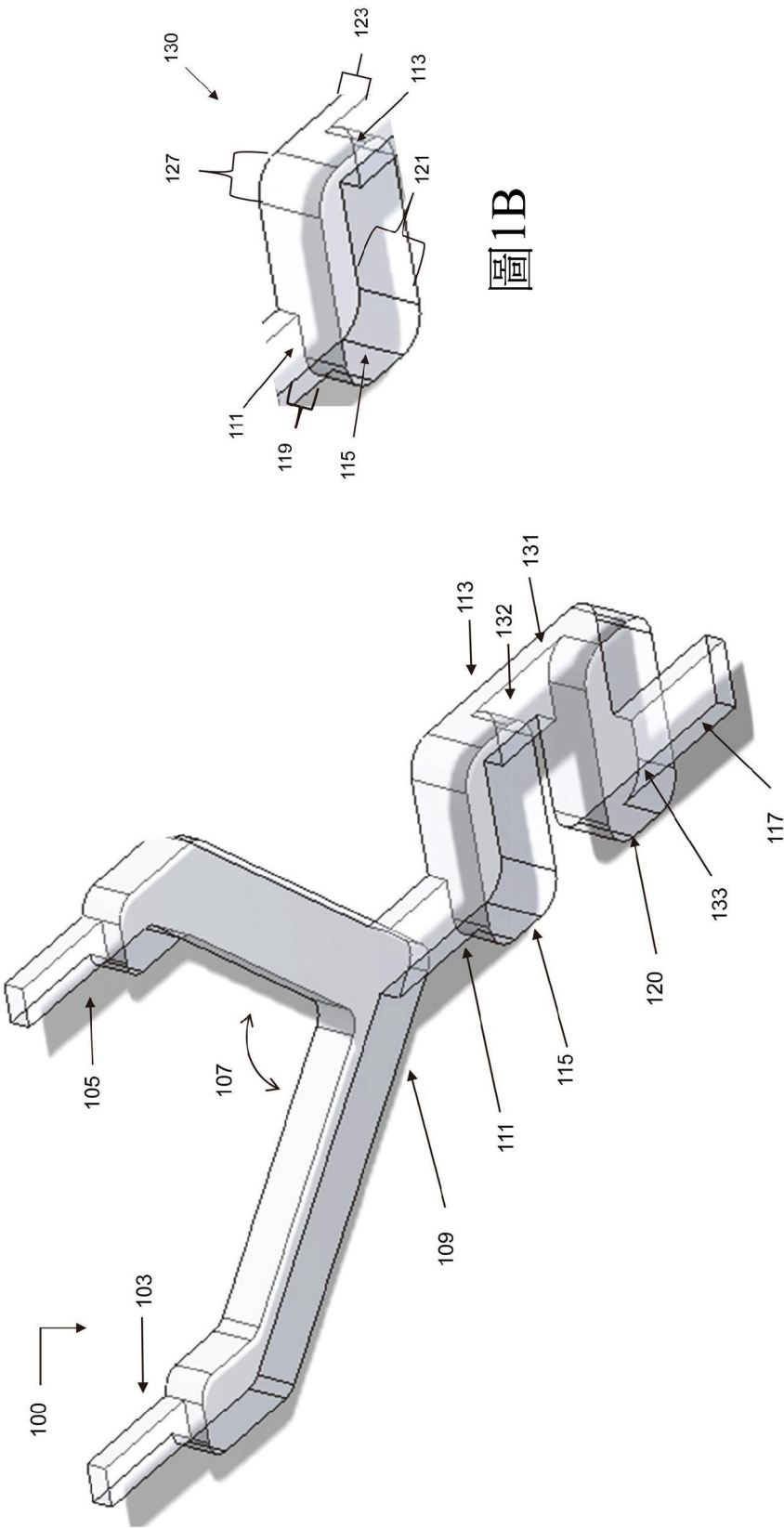


圖1B

圖1A

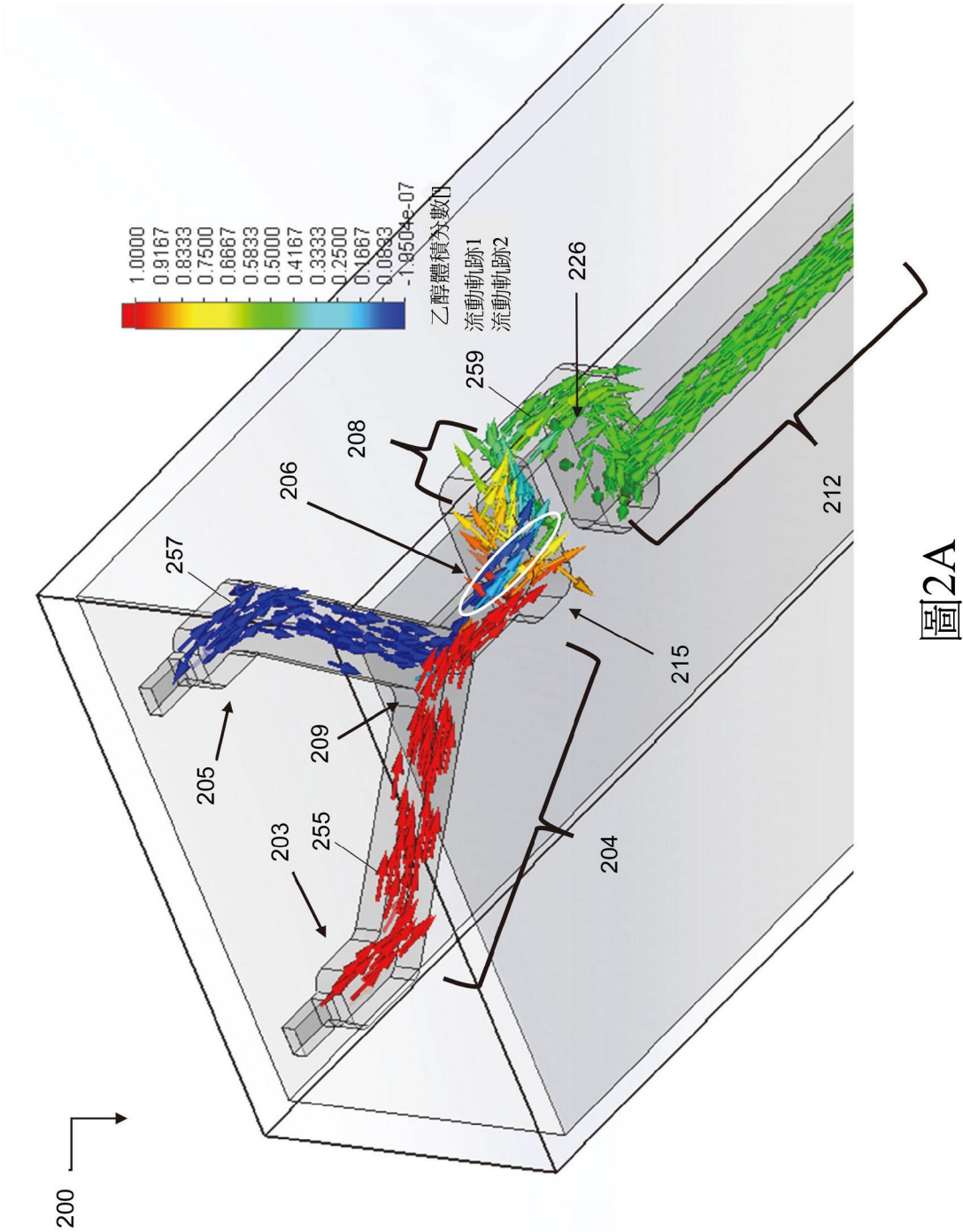


圖2A

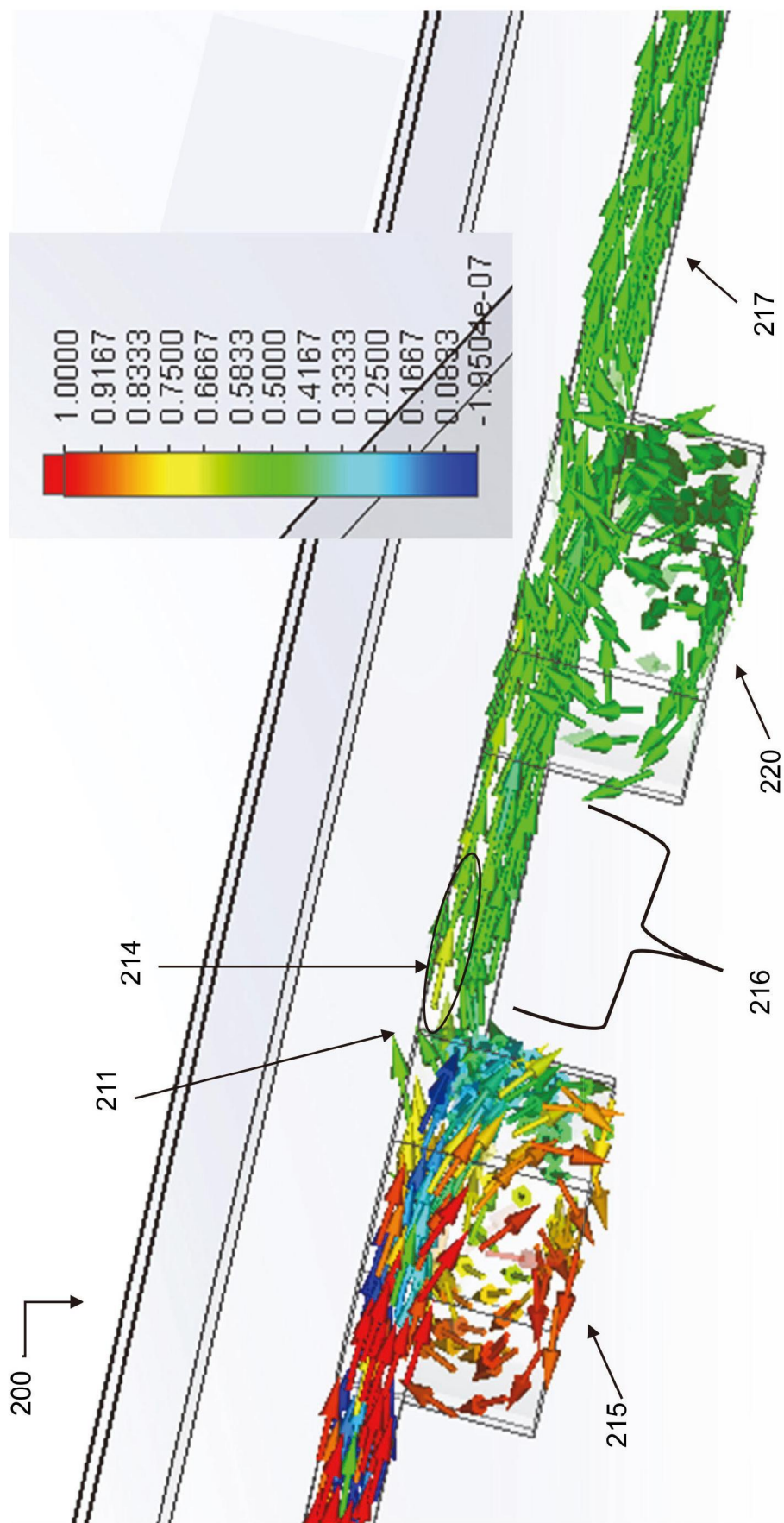


圖 2B

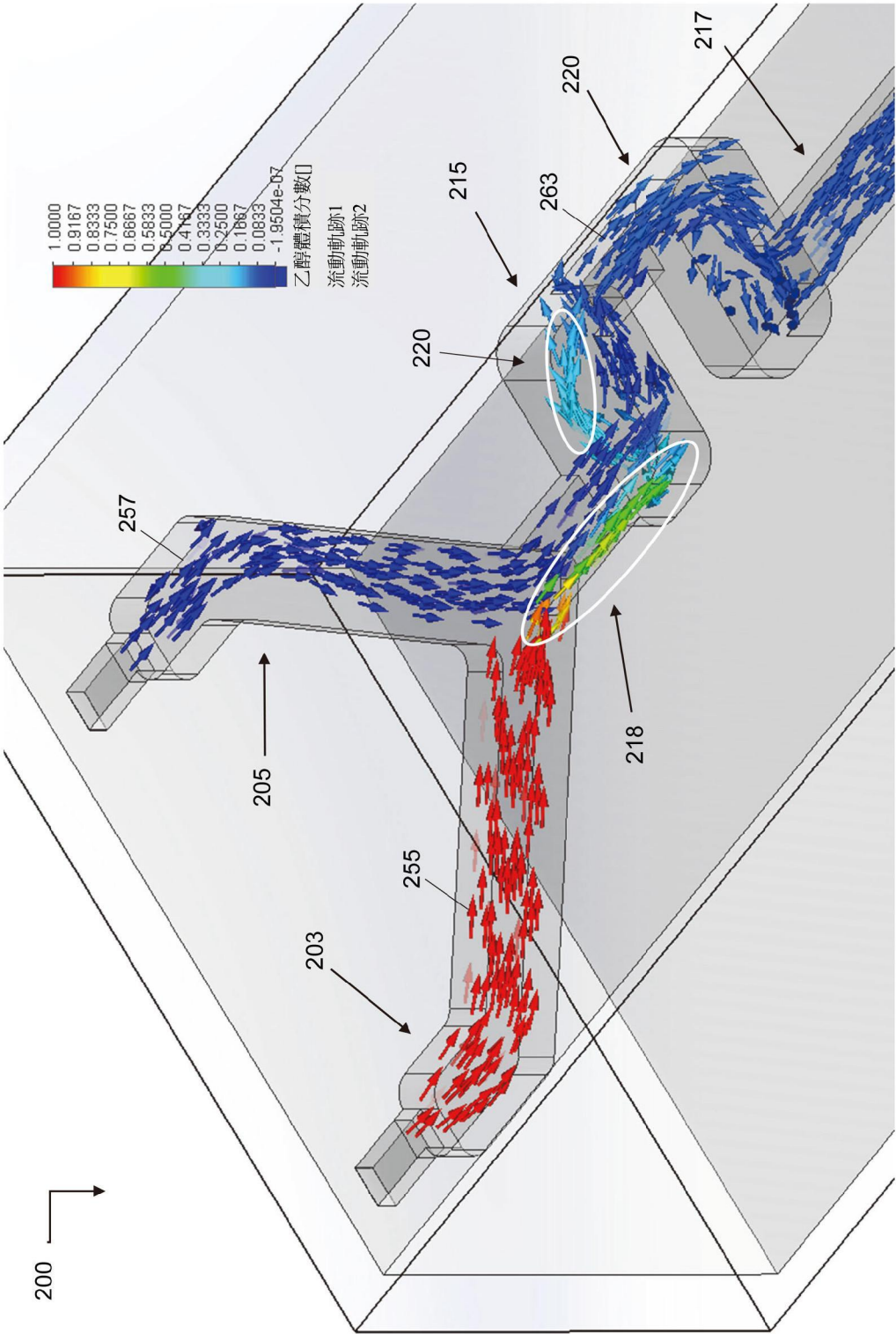


圖2C

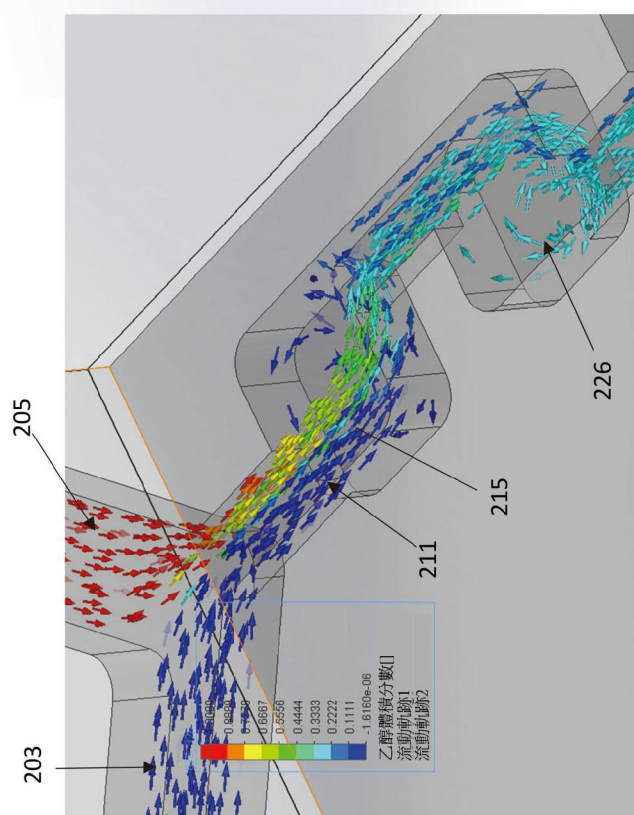
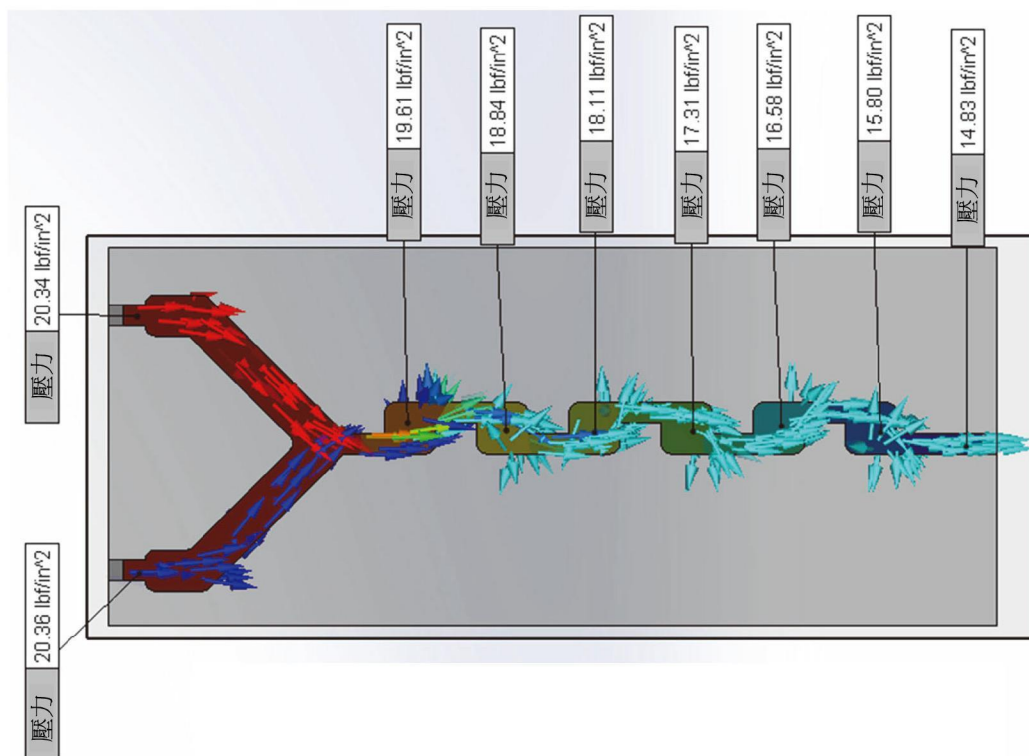
2D
回回

圖 2E

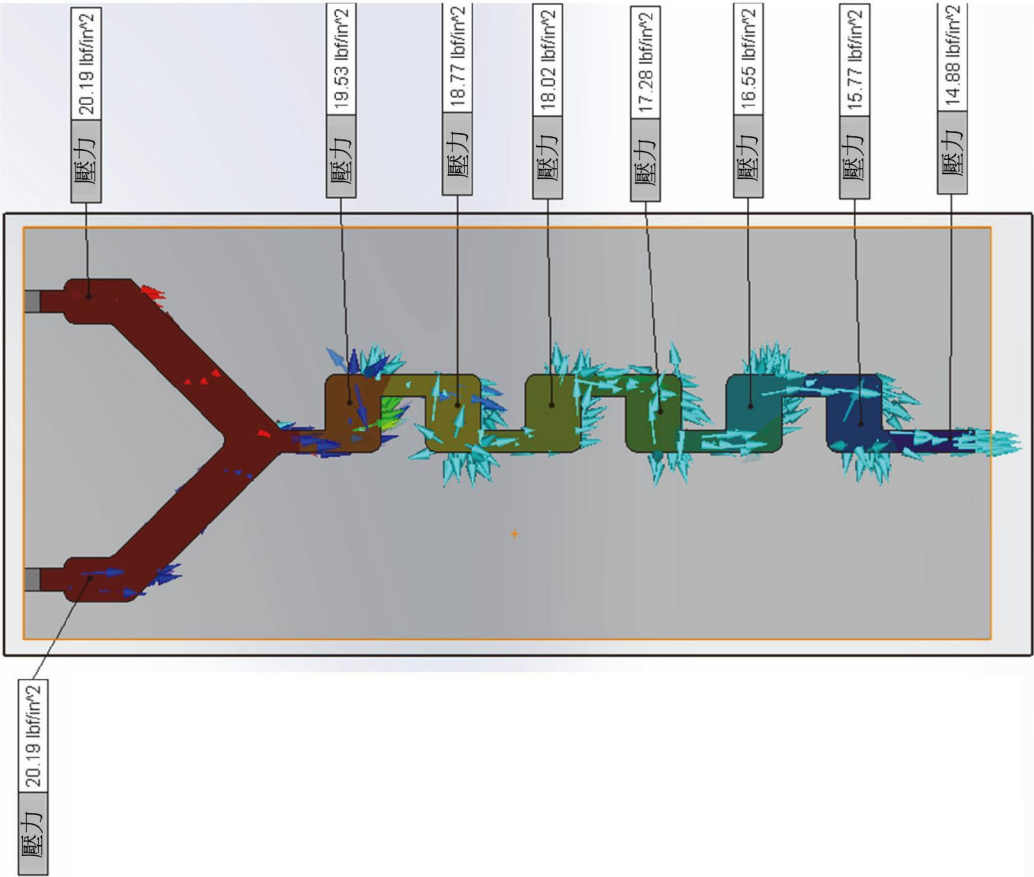


圖2G

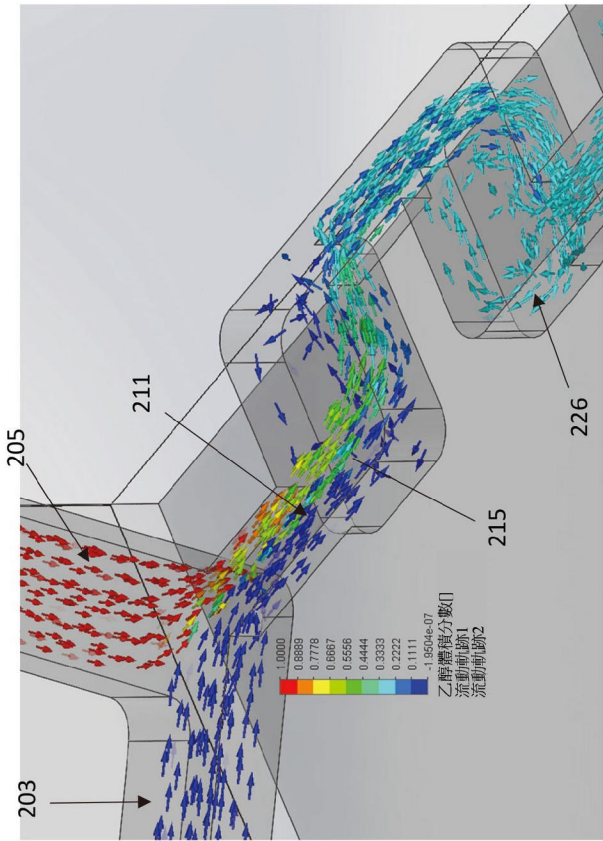


圖2F

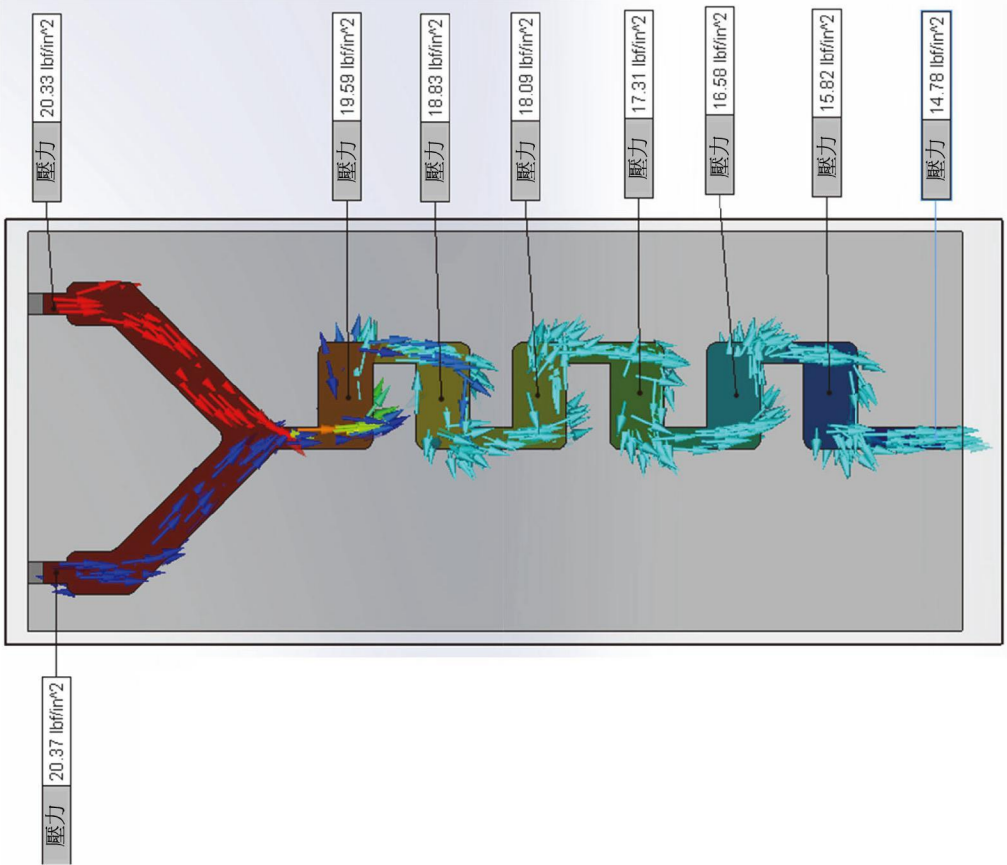


圖21

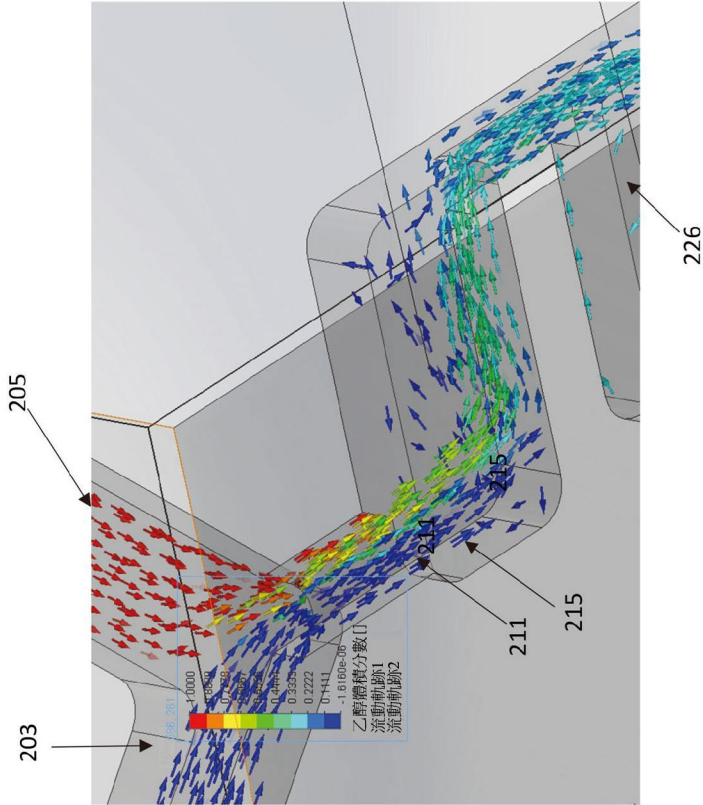


圖2H

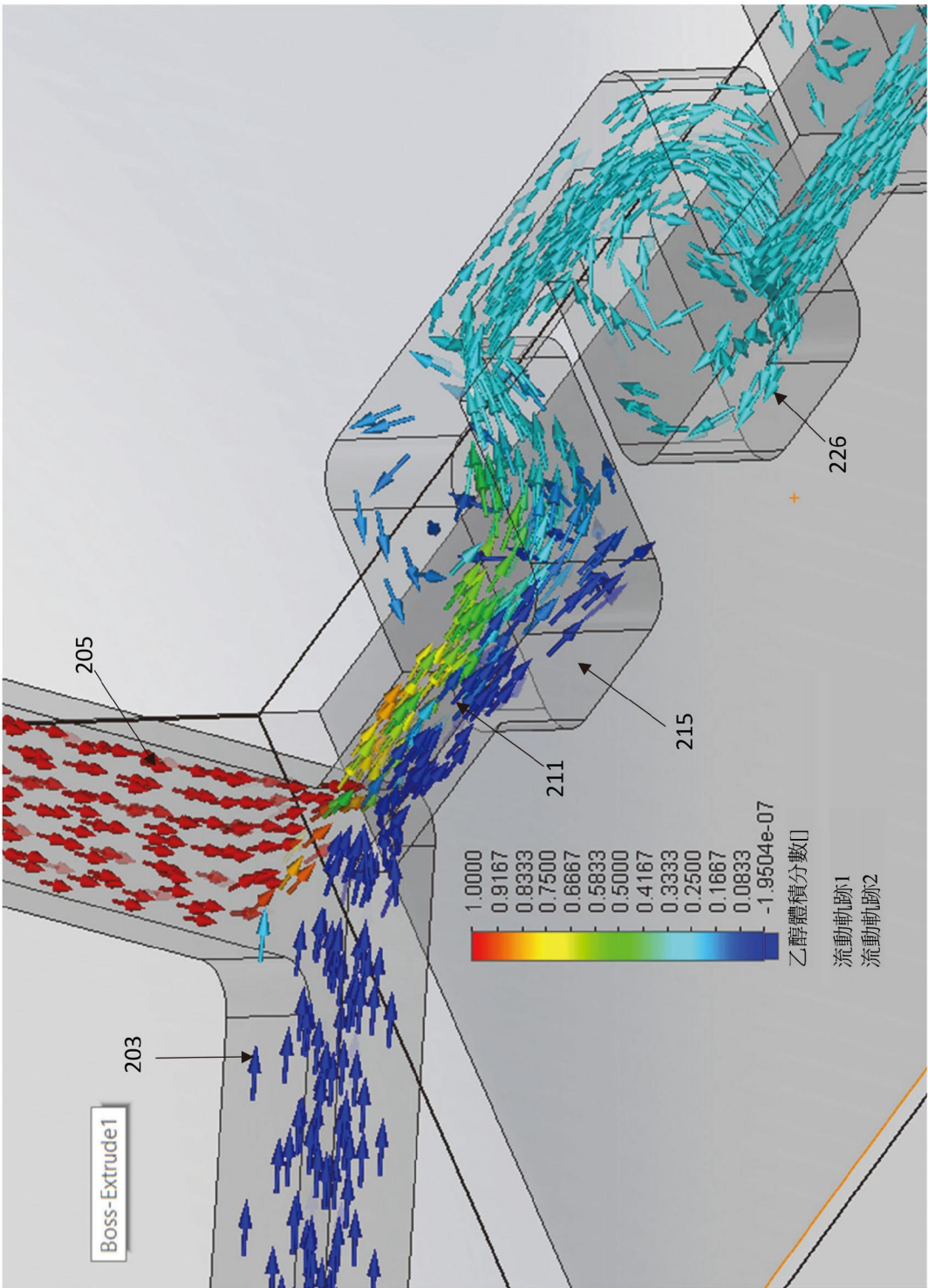


圖2J

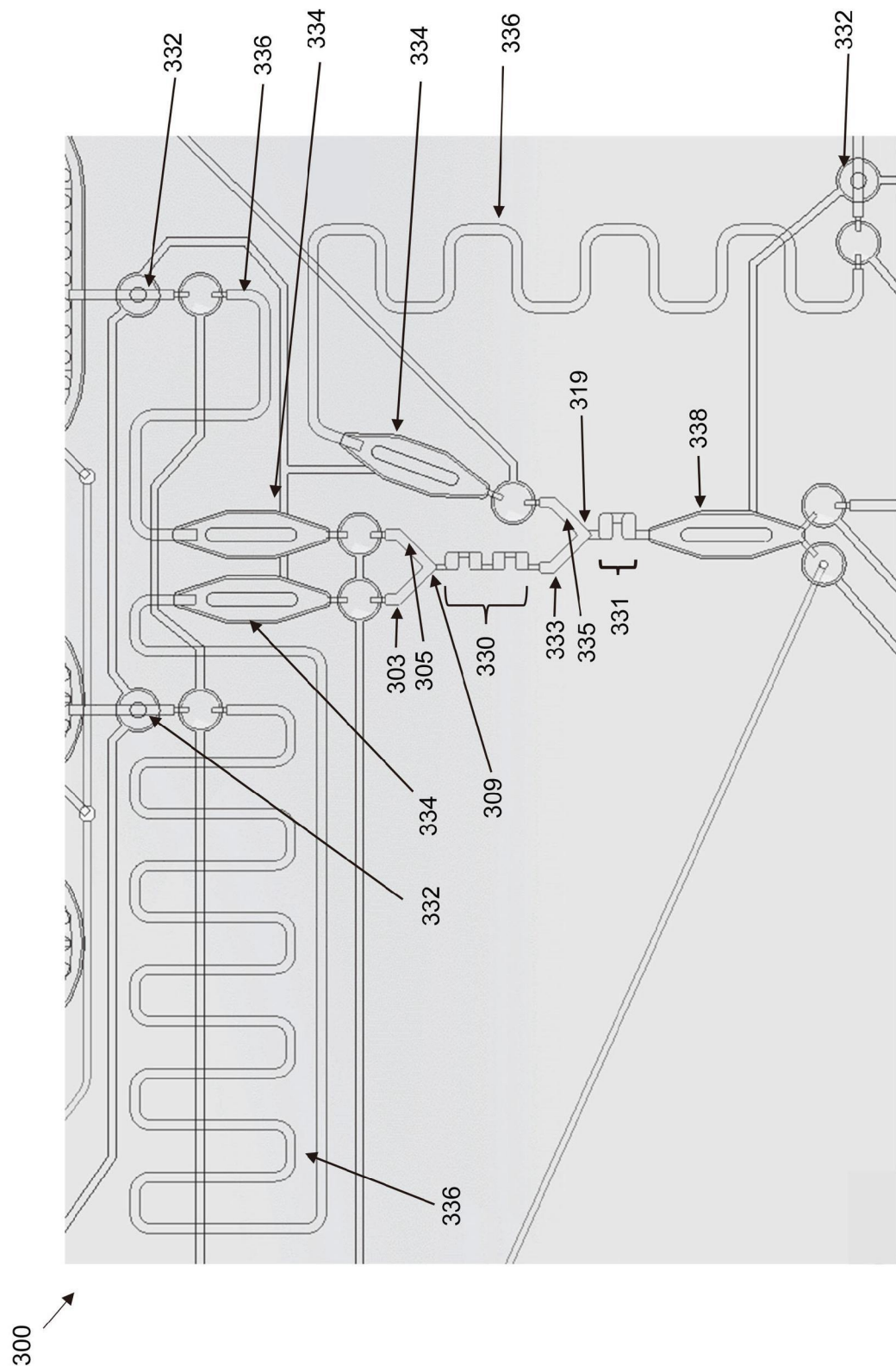


圖3A

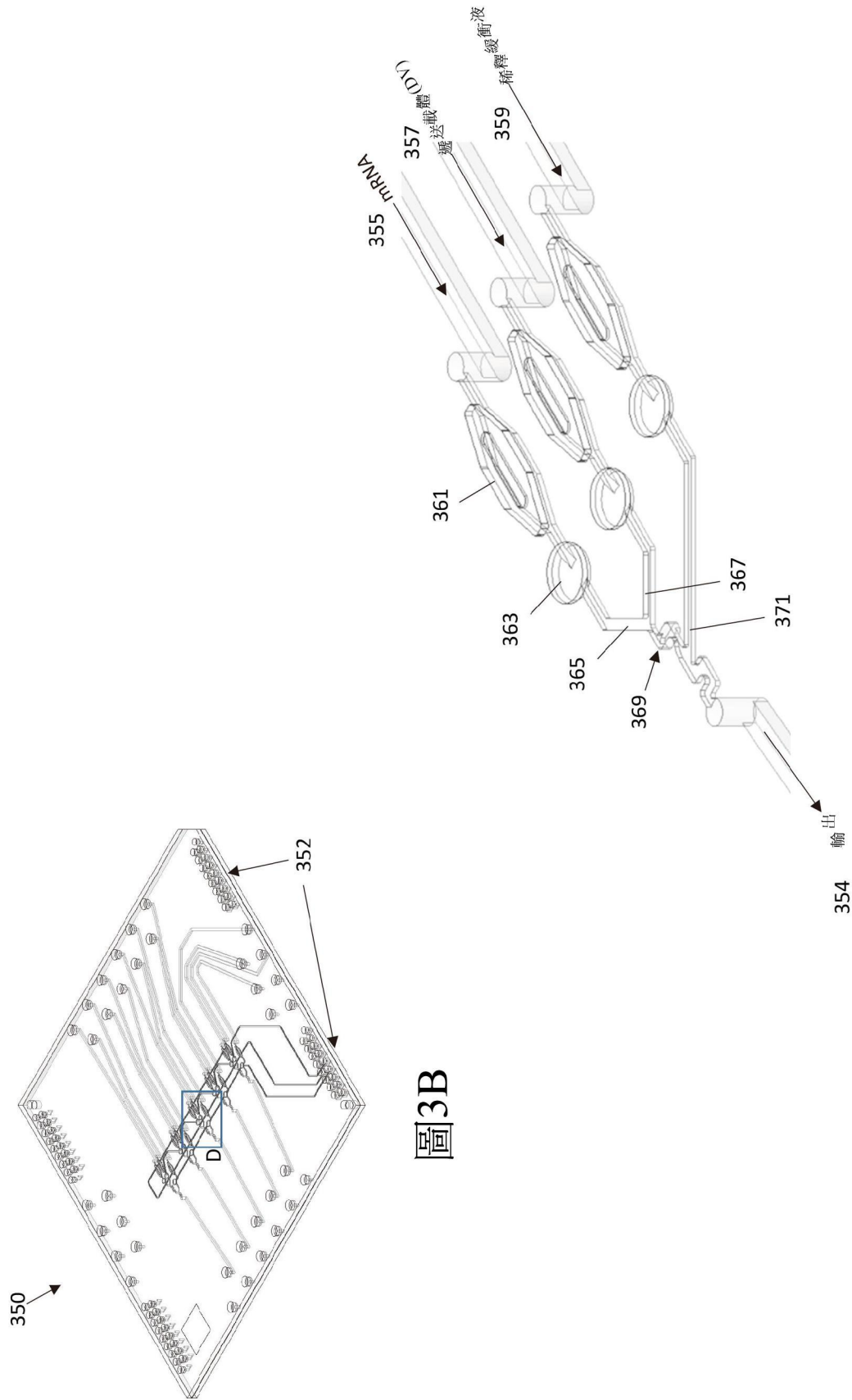


圖3C

圖3B

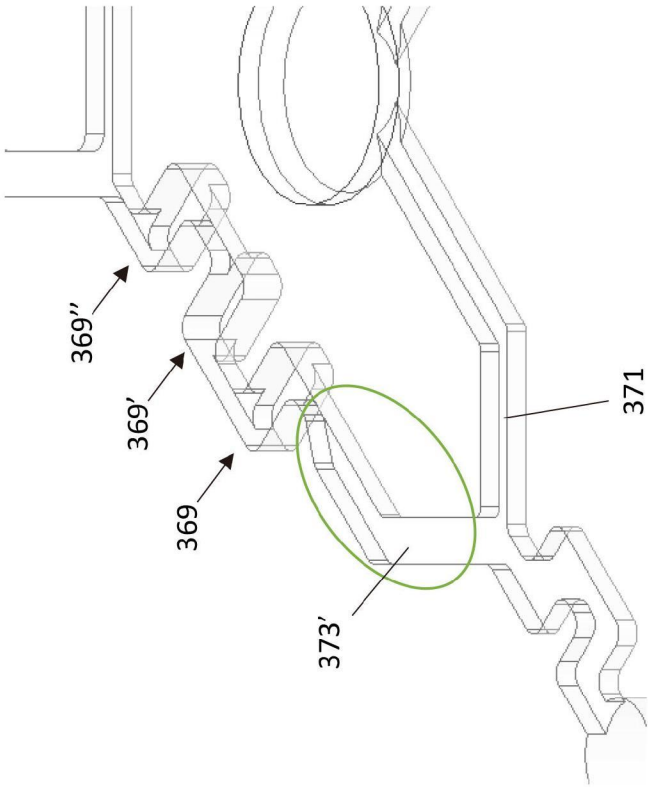


圖3E

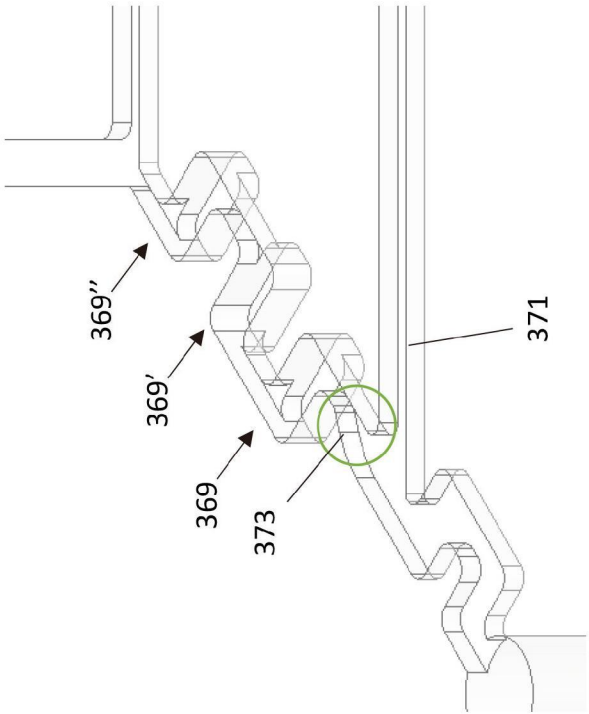


圖3D

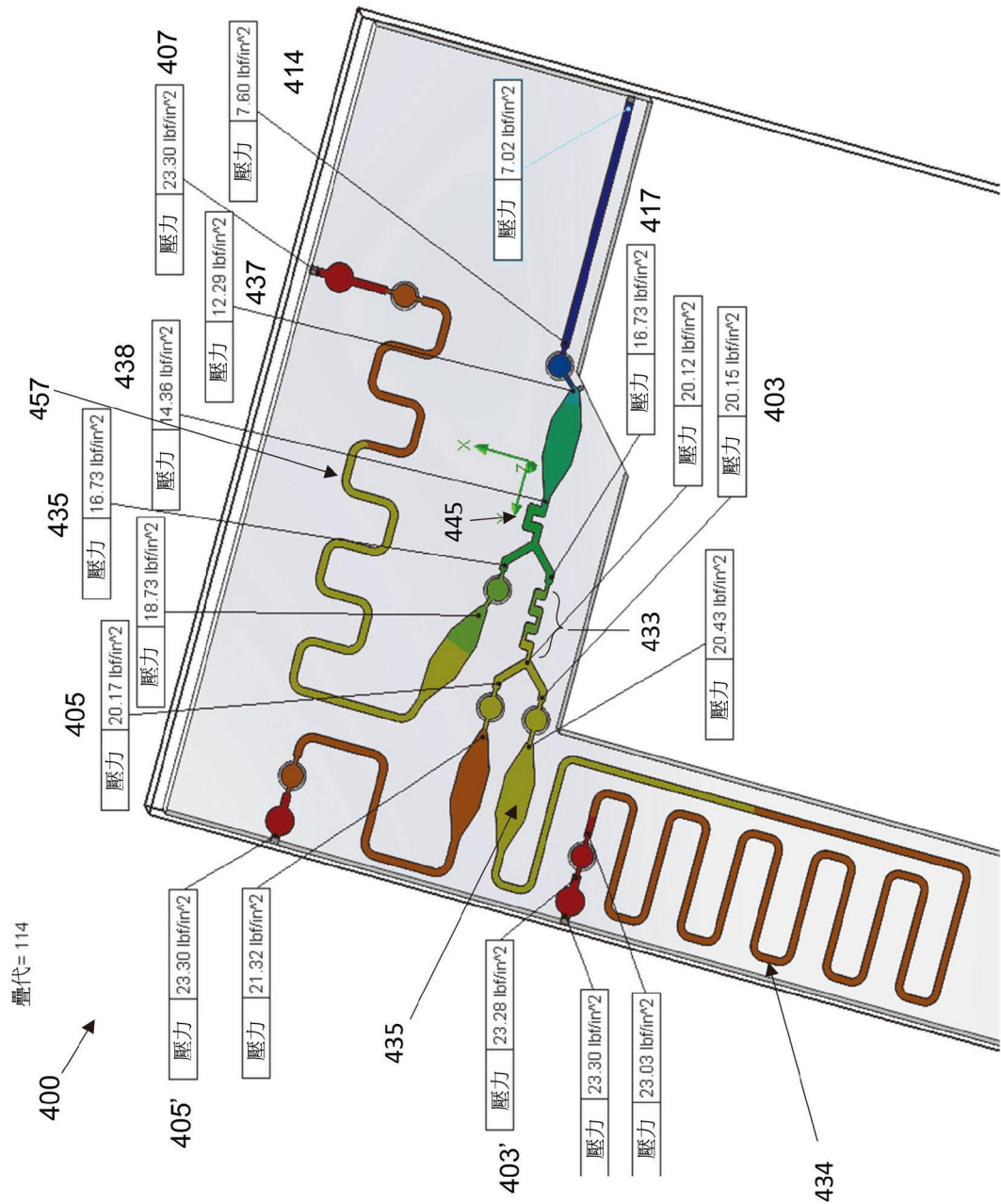


圖4

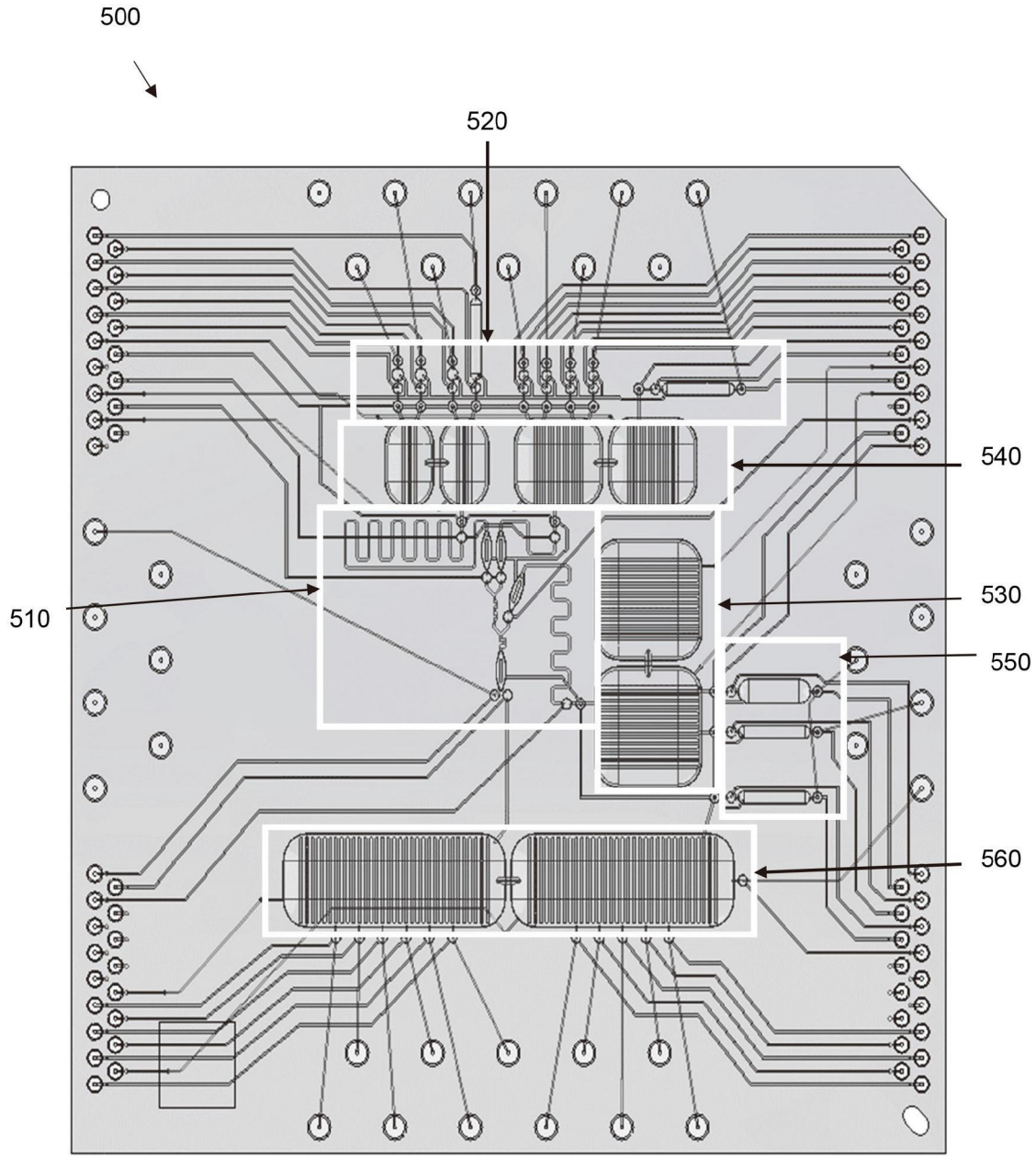


圖5

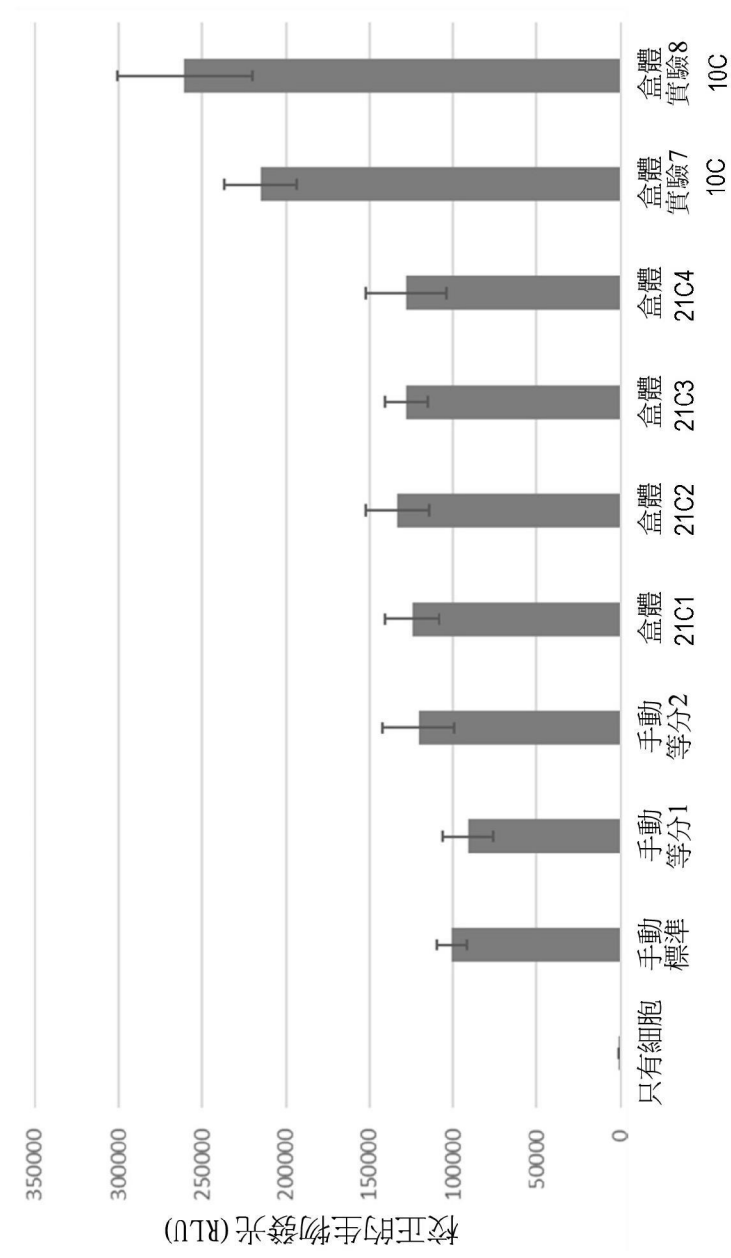
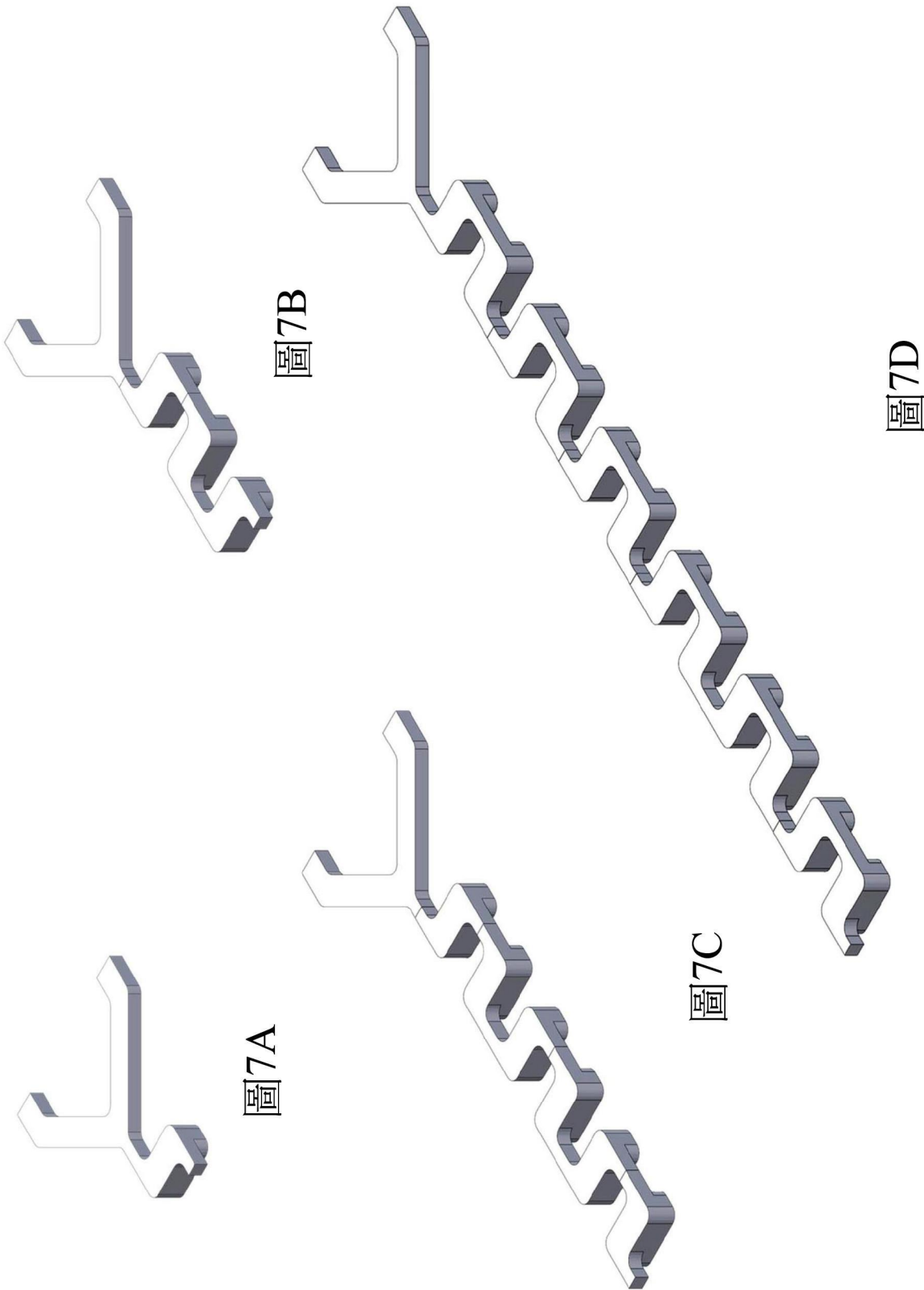


圖6



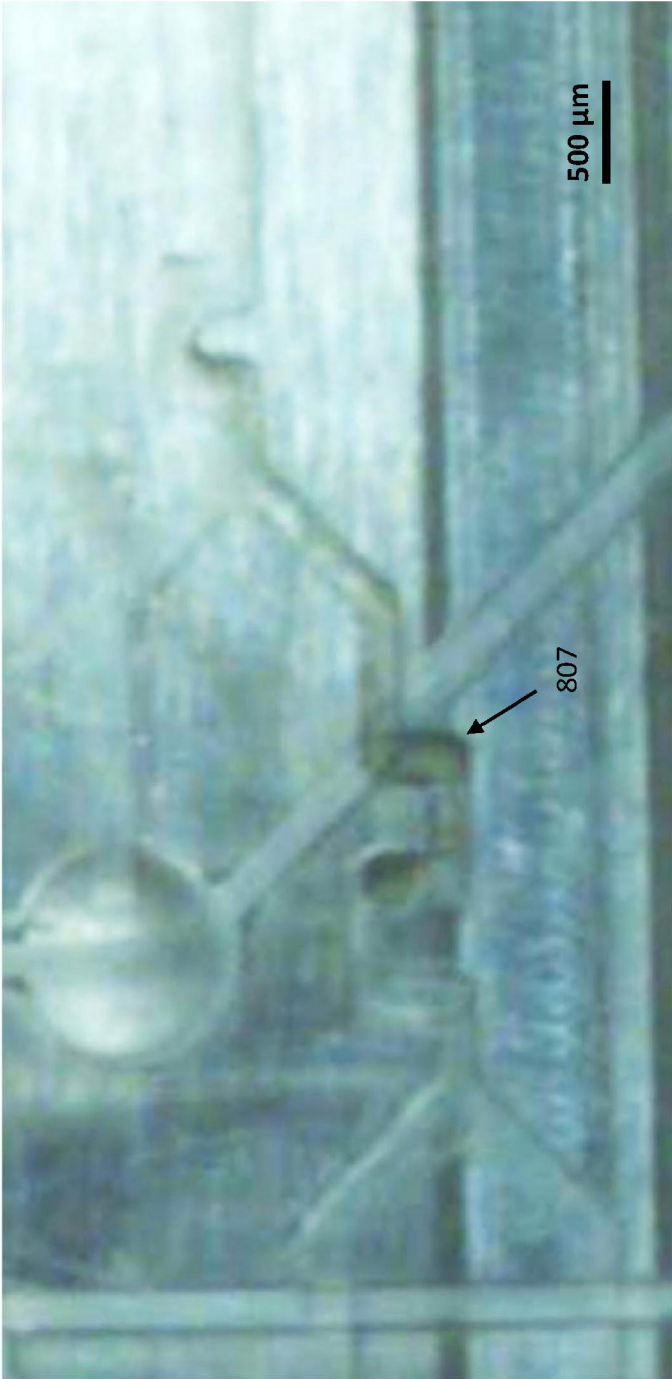


圖 8

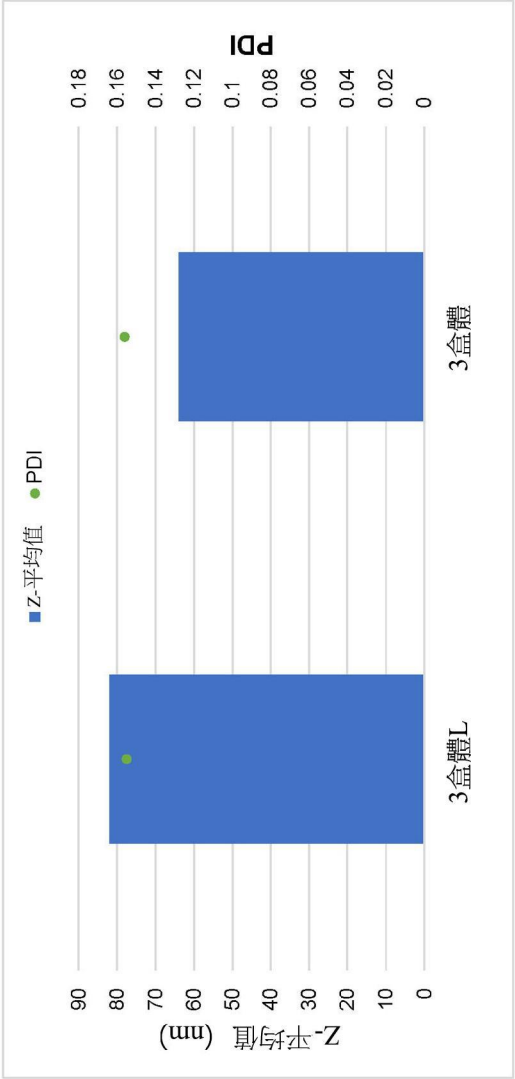
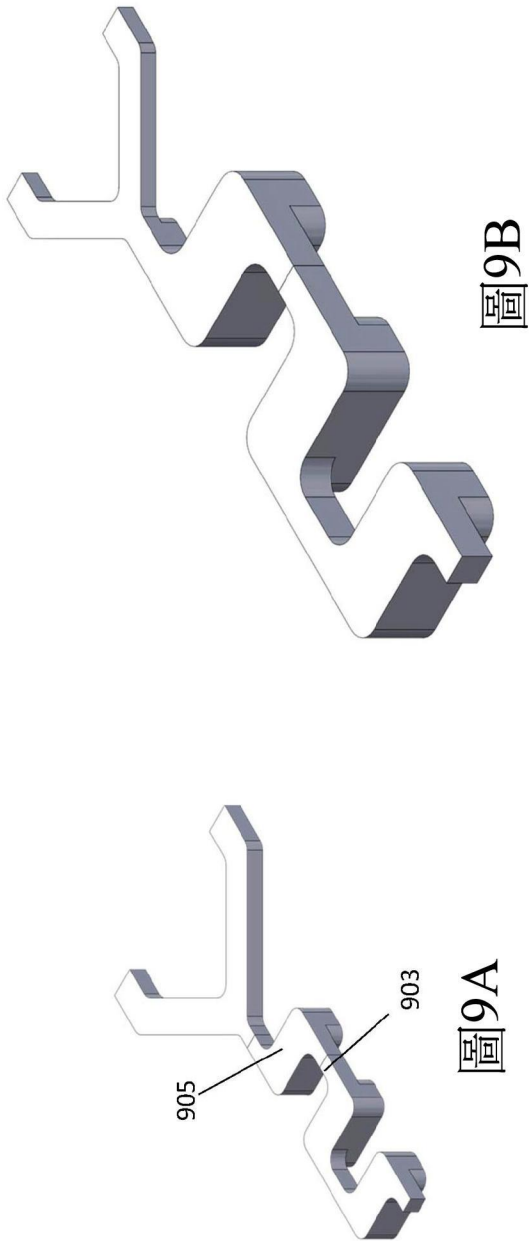
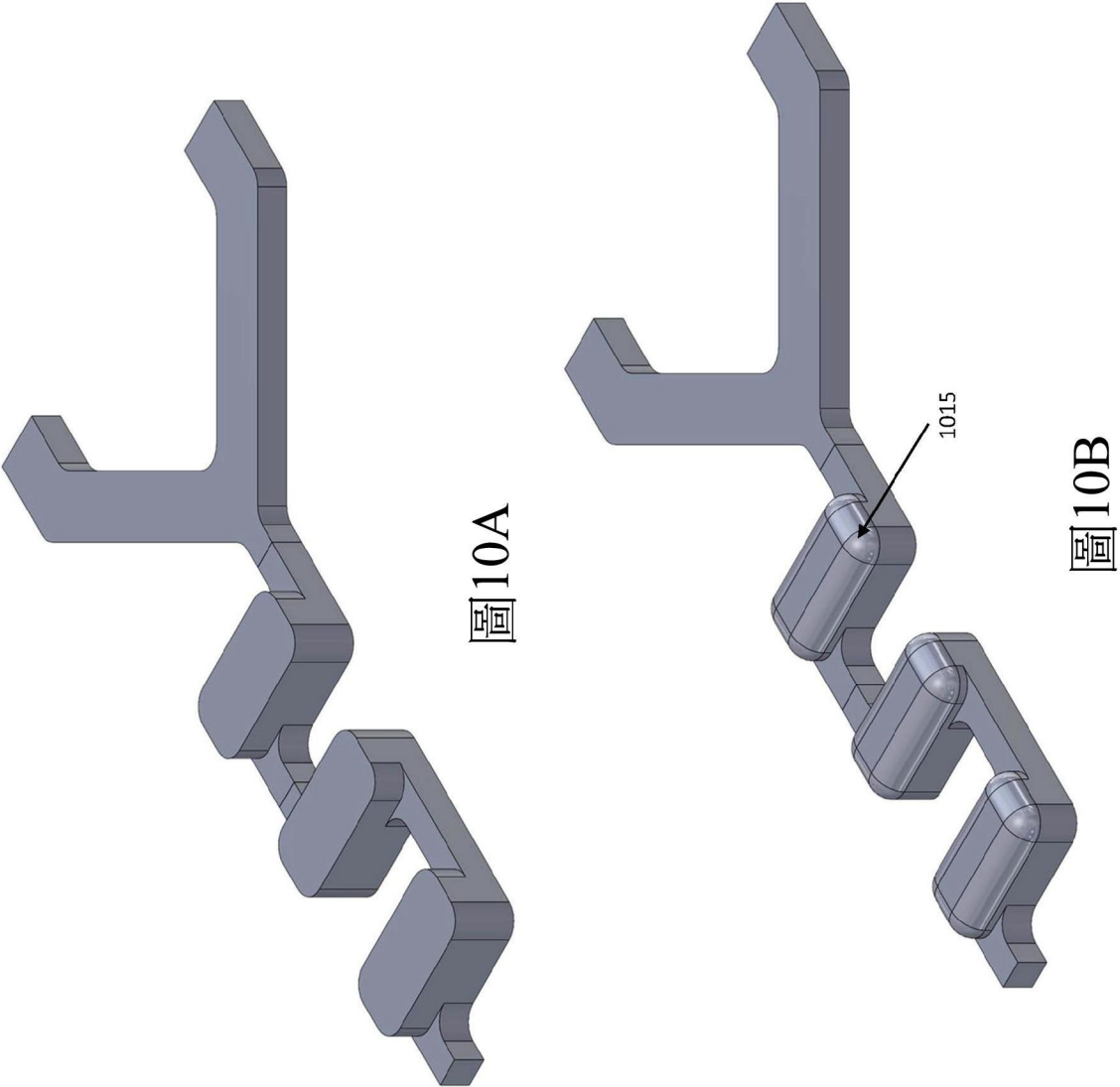


圖9C



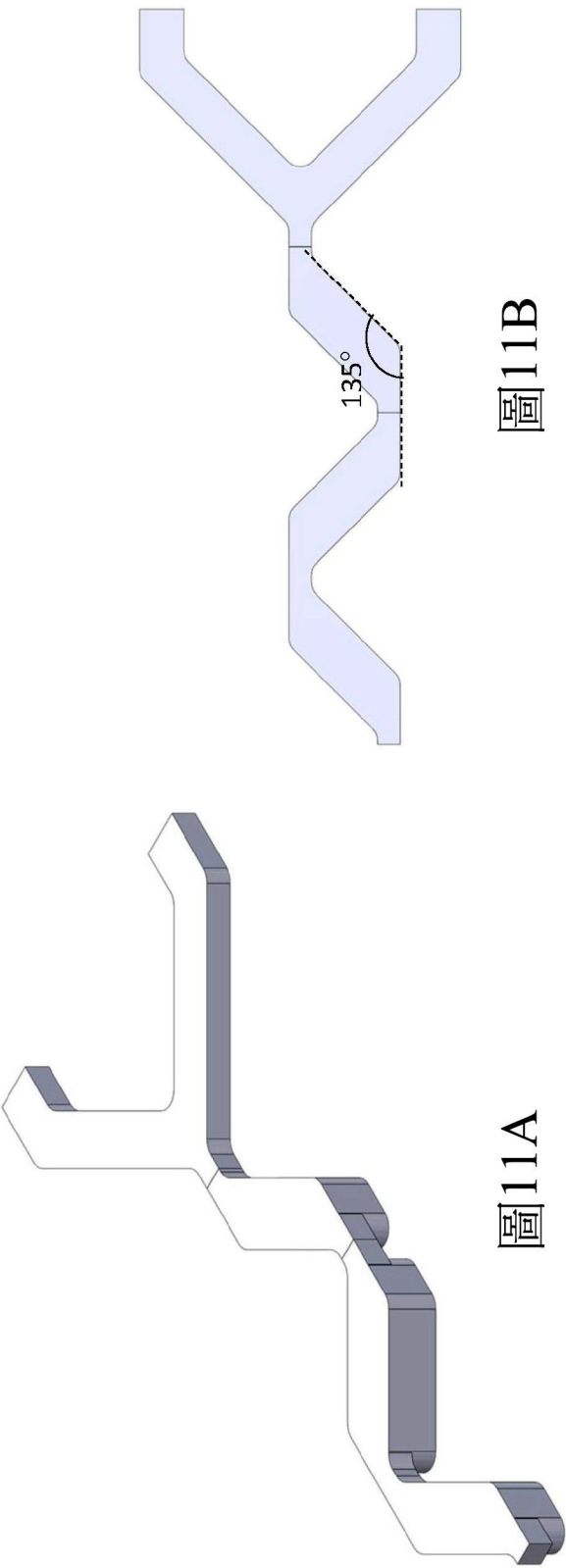


圖11A

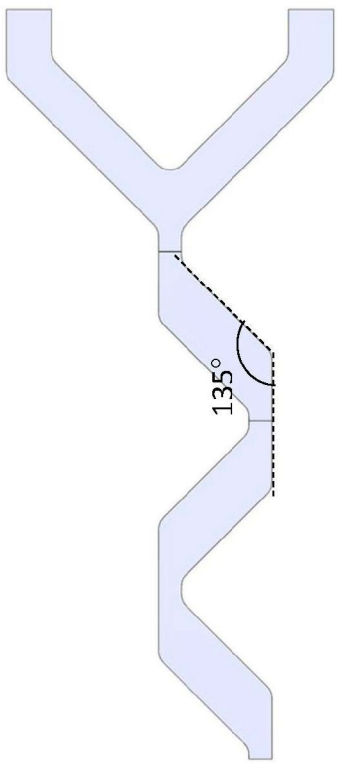


圖11B

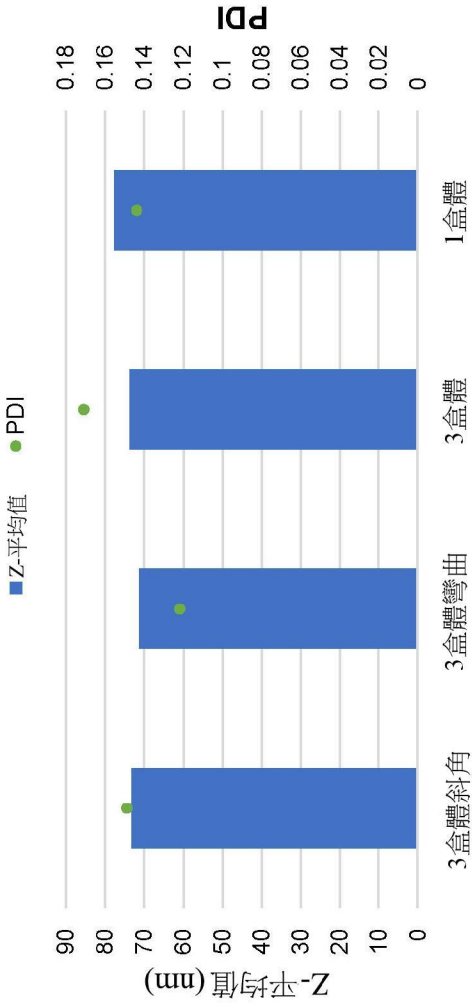


圖11C

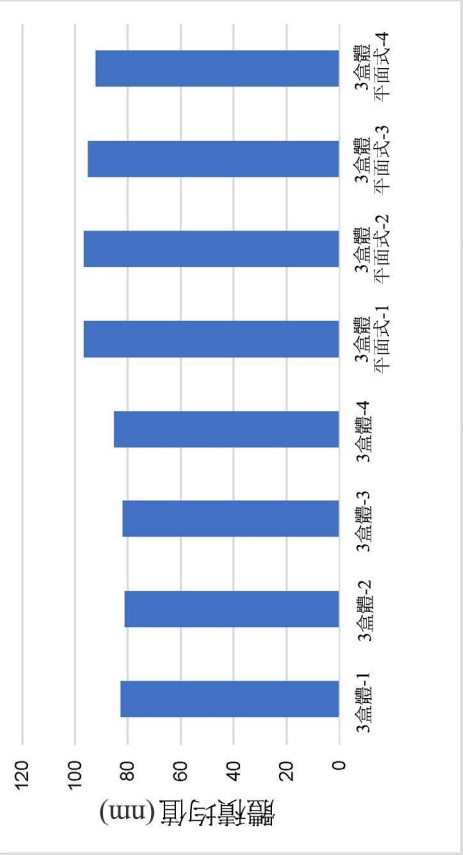
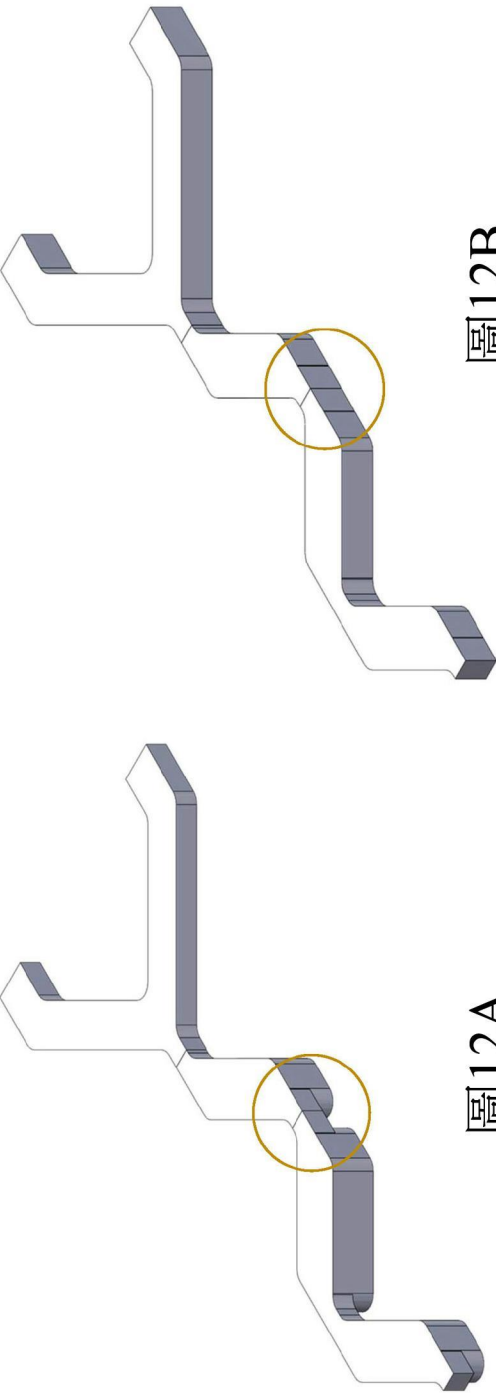


圖12C

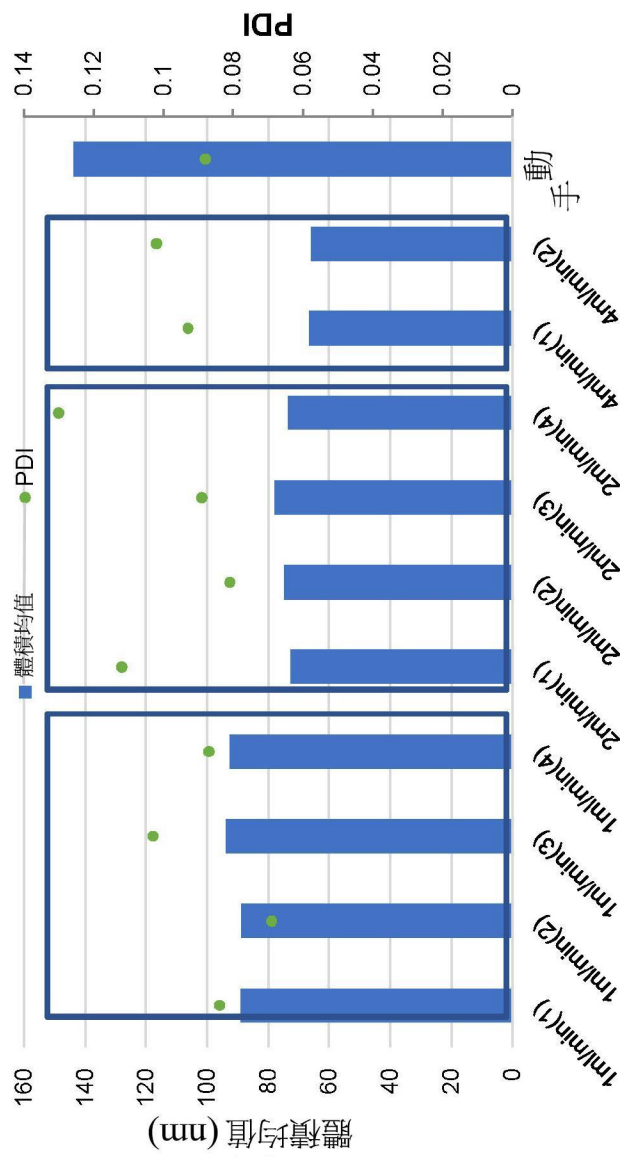


圖13

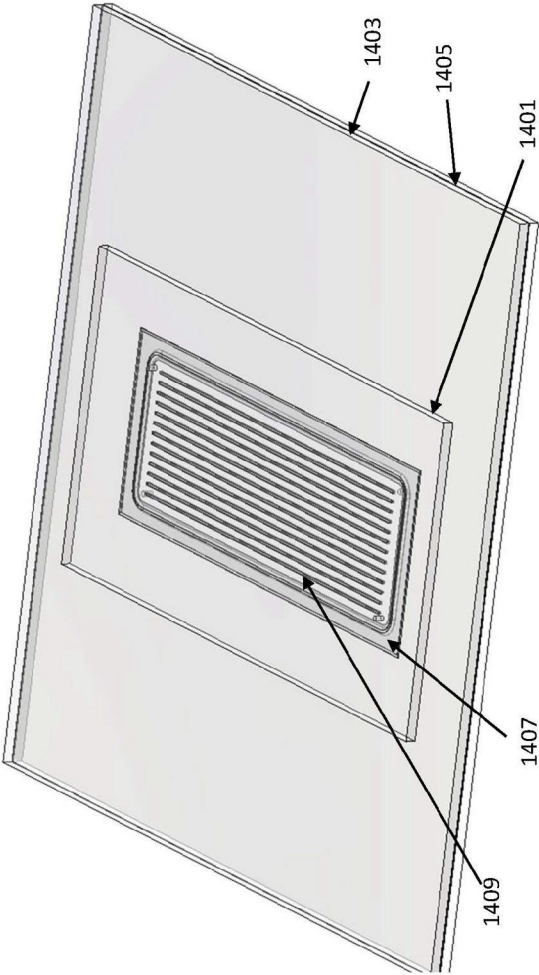


圖14A

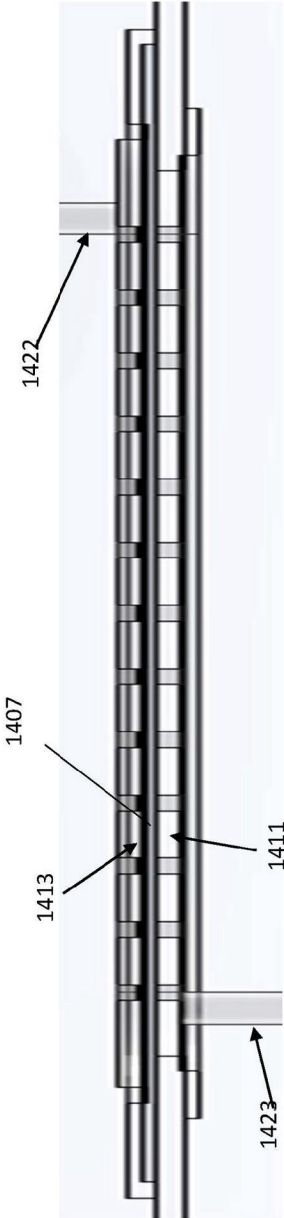


圖14B

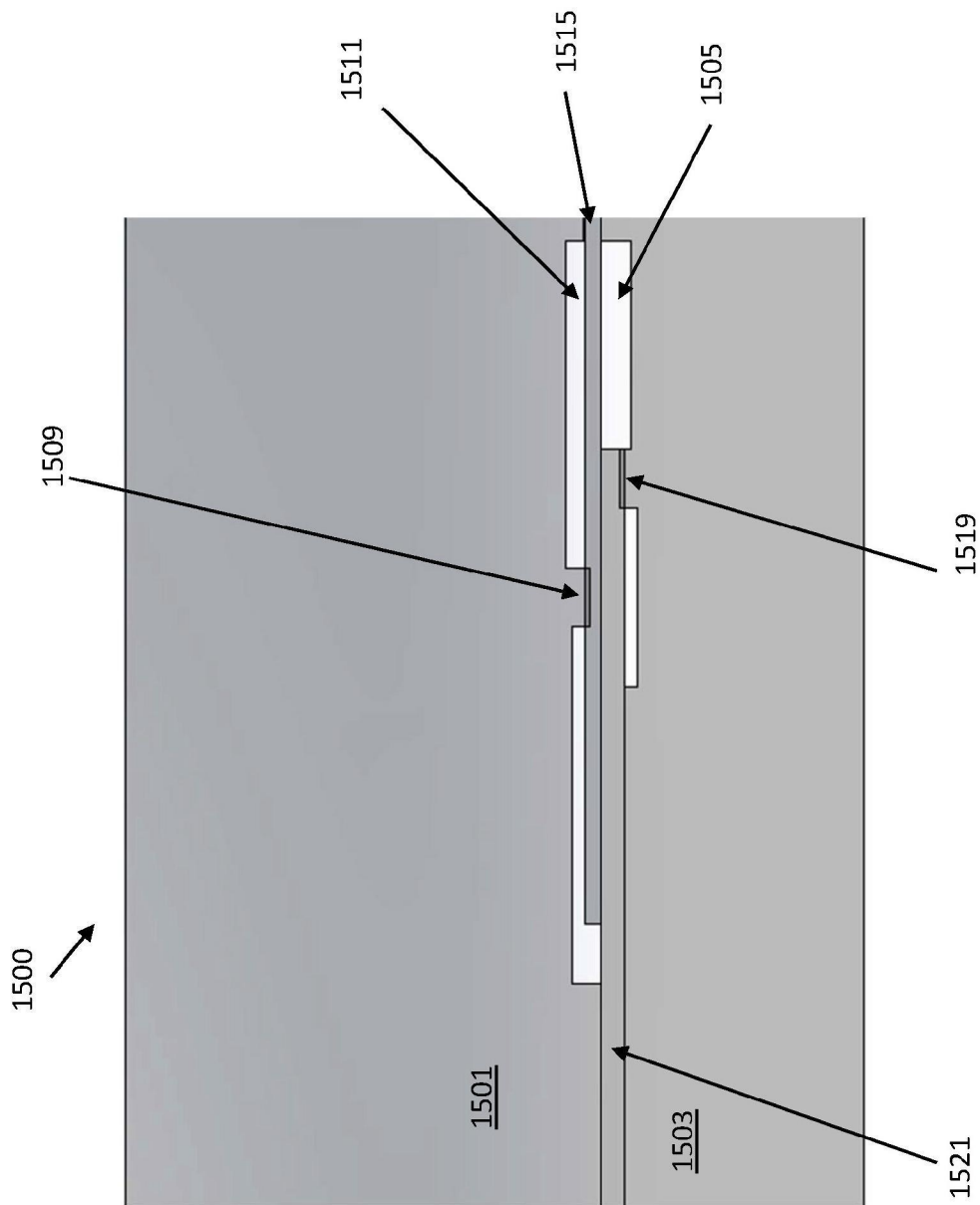
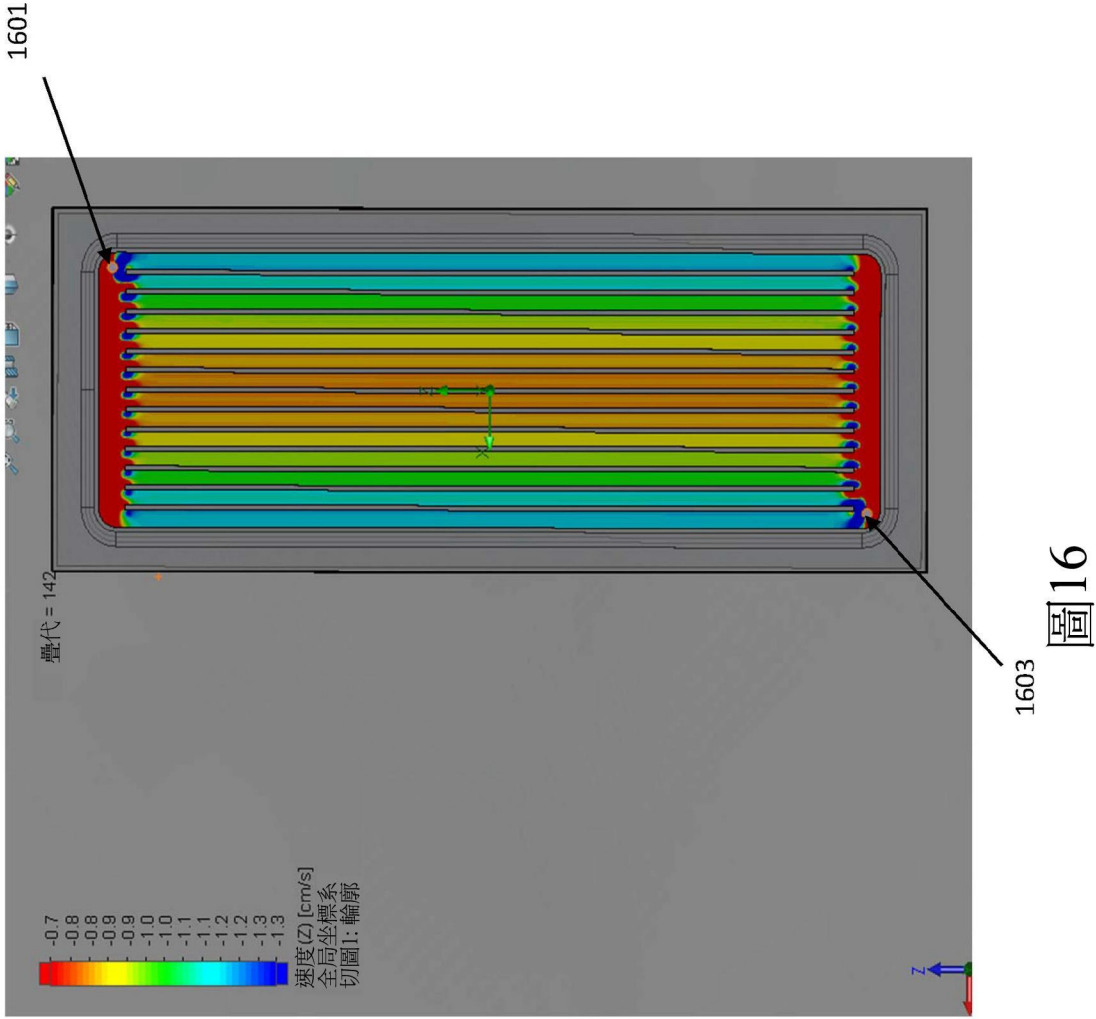


圖15



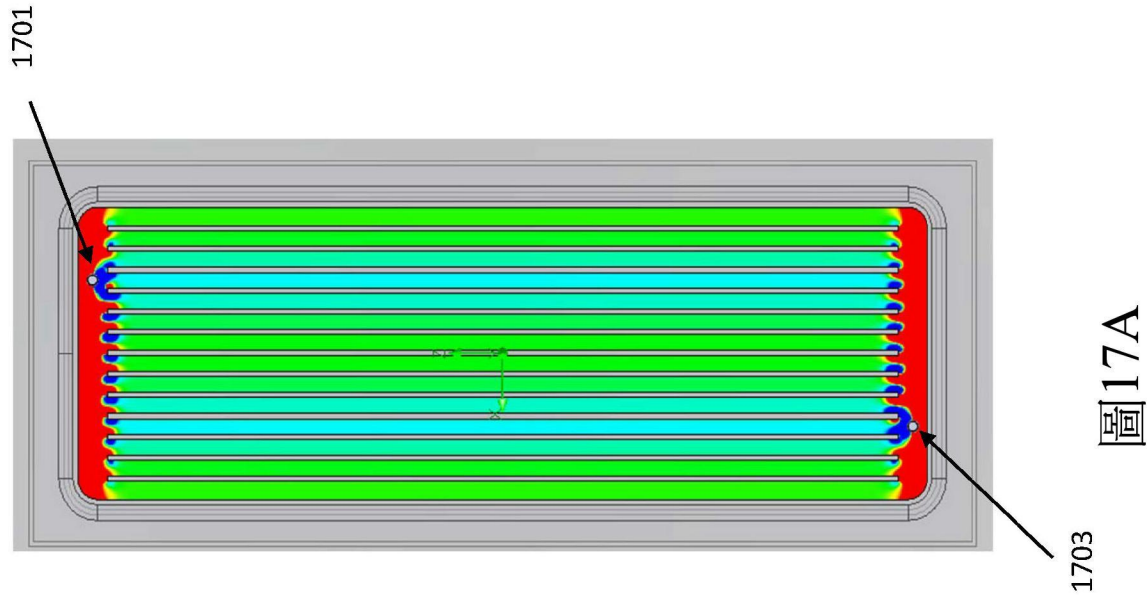


圖17A

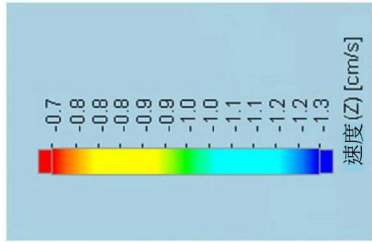


圖17B

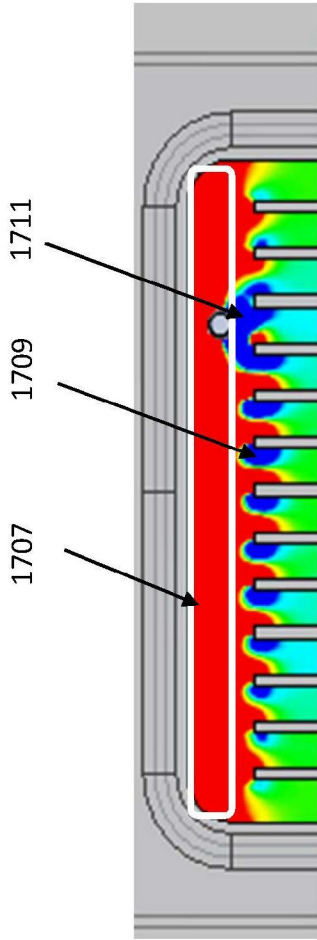
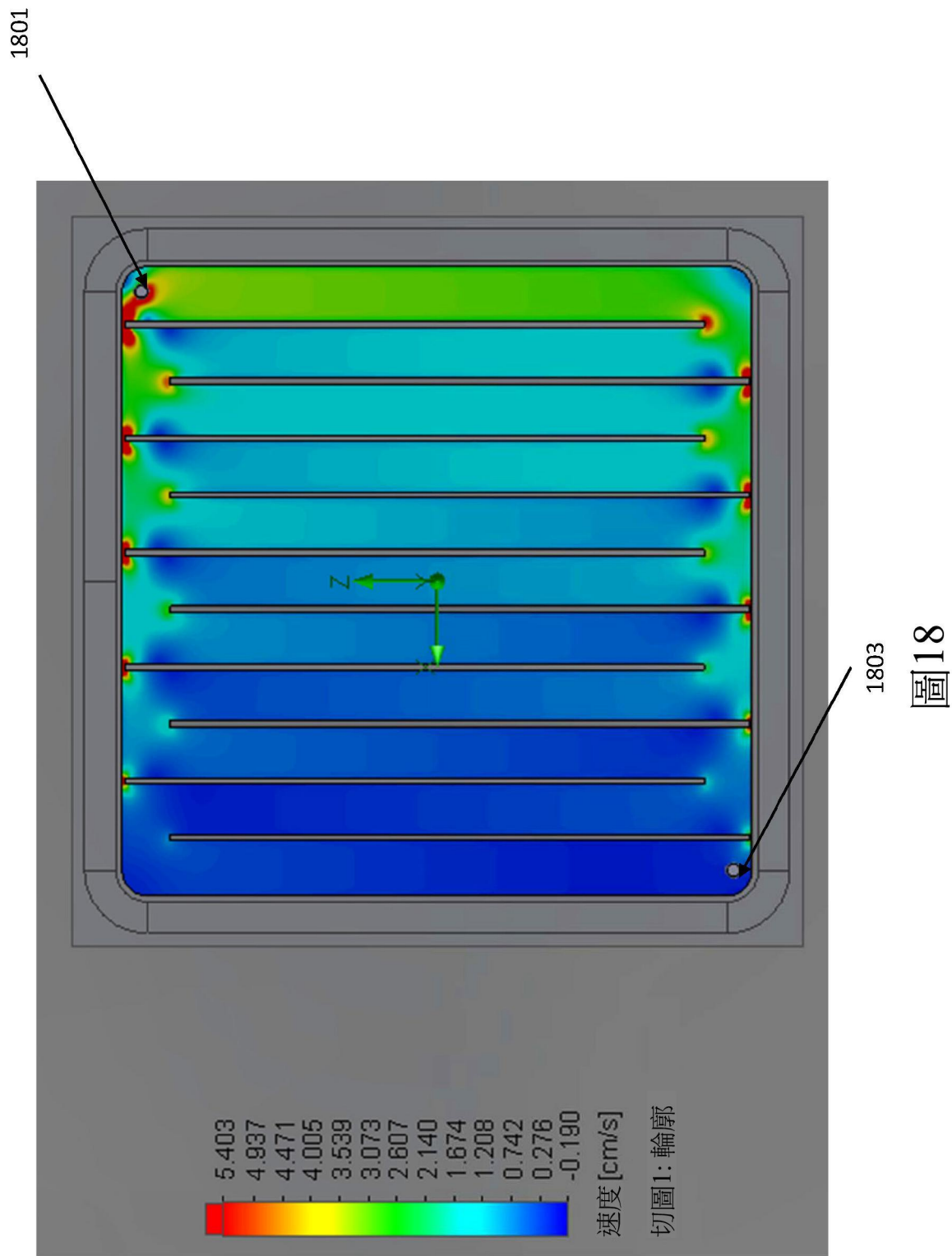


圖17C



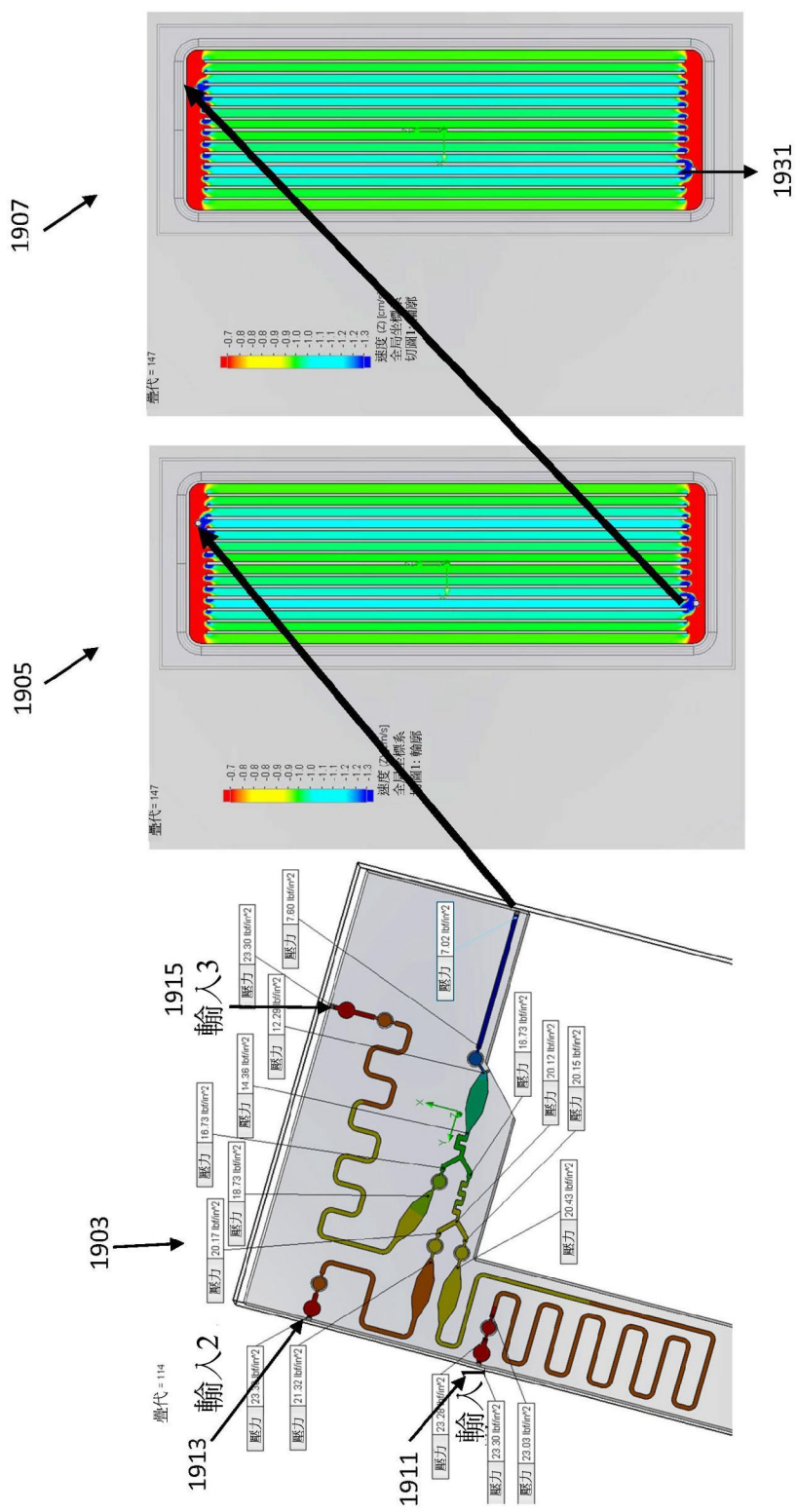


圖19

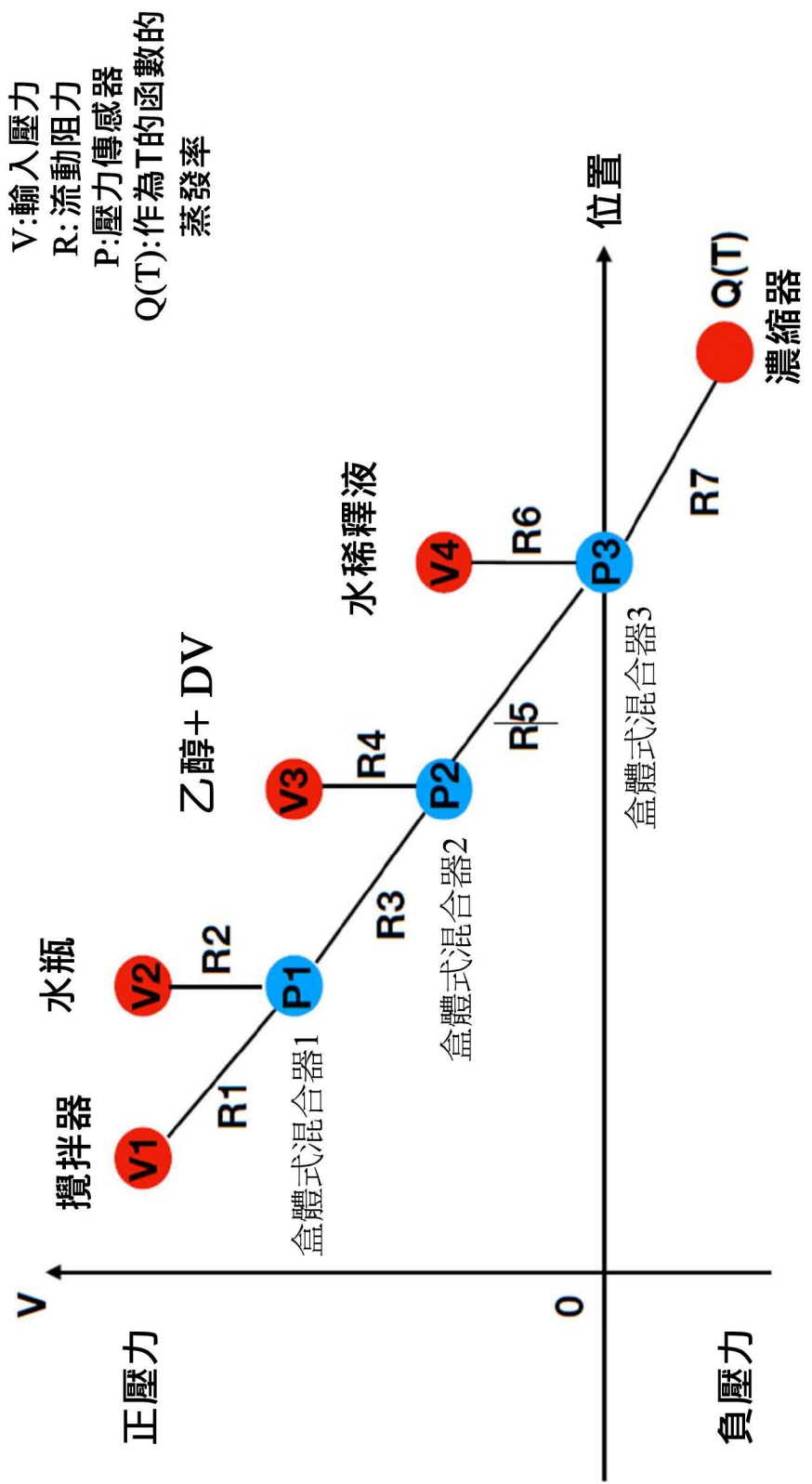


圖20