



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102016021 A

(43) 申请公布日 2011. 04. 13

(21) 申请号 200980113998. 3

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2009. 03. 19

C12N 13/00(2006. 01)

(30) 优先权数据

61/038, 573 2008. 03. 21 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 10. 21

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/037661 2009. 03. 19

(87) PCT申请的公布数据

W02009/117573 EN 2009. 09. 24

(71) 申请人 动力连接有限责任公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 奥斯曼·基巴

米里亚纳斯·查奇斯威利斯

尤金·图 安德鲁·森耶伊

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 张文辉

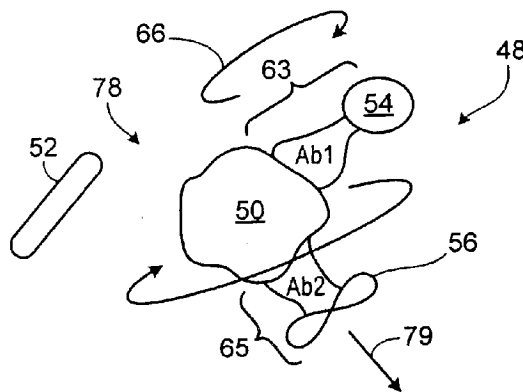
权利要求书 3 页 说明书 4 页 附图 1 页

(54) 发明名称

定向移动小物体

(57) 摘要

对于小物体的定向运动, 将至少两种不同特性的组合赋予该物体。至少一种特性响应外部影响来产生对物体起作用的力或转矩。至少另一种特性响应力或转矩来引起物体的定向运动。



1. 一种在小物体的定向运动中使用的方法，该方法包括：
将至少两种不同特性的组合赋予所述物体，
至少一种所述特性响应外部影响来产生对所述物体起作用的力或转矩，
至少另一种所述特性响应所述力或转矩来增强所述物体的定向运动。
2. 权利要求 1 的方法，其中在将所述至少两种特性的组合赋予所述物体前，没有响应所述外部影响的所述物体的定向运动。
3. 权利要求 1 的方法，其中在将所述至少两种特性的组合赋予所述物体前，响应所述外部影响的所述物体的定向运动小于所述赋予后。
4. 权利要求 1 的方法，其中所述特性在所述物体中都不是固有的。
5. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含细胞。
6. 权利要求 5 的方法，其中所述细胞是异常的。
7. 权利要求 5 的方法，其中所述细胞是死亡的。
8. 权利要求 5 的方法，其中所述细胞是患病的。
9. 权利要求 5 的方法，其中所述细胞是用过的或暴露于其它化学品的。
10. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含病毒。
11. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含细菌。
12. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含分子。
13. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含生物分子。
14. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含蛋白质。
15. 权利要求 14 的方法，其中所述蛋白质具有翻译后修饰。
16. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含肽。
17. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含酶。
18. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含 DNA 分子。
19. 权利要求 18 的方法，其中所述 DNA 分子包含差向异构体。
20. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含 RNA 分子。
21. 权利要求 20 的方法，其中所述 RNA 分子包含差向异构体。
22. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含聚合物。
23. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含珠子。
24. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含纳米颗粒。
25. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含细胞器。
26. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含脂质体。
27. 权利要求 1 的方法，其中所述物体是小囊泡。
28. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含生物分子聚集物。
29. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含分子聚集物。
30. 权利要求 1 的方法，其中所述物体包含孢子。
31. 权利要求 1 的方法，其中所述赋予包括附着至少一种其它物体。
32. 权利要求 31 的方法，其中所述其它物体包含抗体。
33. 权利要求 1 的方法，其中所述赋予包括添加另一种物体。
34. 权利要求 33 的方法，其中所述其它物体包含经转染的基因。

35. 权利要求 1 的方法，其中所述赋予包括除去所述物体的一部分。
36. 权利要求 1 的方法，其中所述赋予包括在所述物体上引起反应。
37. 权利要求 36 的方法，其中所述反应是分子的。
38. 权利要求 36 的方法，其中所述反应是细胞的。
39. 权利要求 36 的方法，其中所述反应是化学的。
40. 权利要求 1 的方法，其中所述外部影响包含力场。
41. 权利要求 40 的方法，其中所述力场是静态的。
42. 权利要求 40 的方法，其中所述力场是振动的。
43. 权利要求 40 的方法，其中所述力场是旋转的。
44. 权利要求 40 的方法，其中所述场包含电场。
45. 权利要求 40 的方法，其中所述场包含磁场。
46. 权利要求 40 的方法，其中所述场包含引力场。
47. 权利要求 46 的方法，其中所述引力场是离心的。
48. 权利要求 40 的方法，其中所述场包含压力场。
49. 权利要求 40 的方法，其中所述场包含声场。
50. 权利要求 1 的方法，其中所述外部影响包含反应。
51. 权利要求 50 的方法，其中所述反应是化学的。
52. 权利要求 51 的方法，其中所述化学反应是旋光的 (rotatory)。
53. 权利要求 50 的方法，其中所述反应是分子的。
54. 权利要求 50 的方法，其中所述反应是细胞的。
55. 权利要求 1 的方法，其中所述外部影响包含动能力。
56. 权利要求 55 的方法，其中所述动能力是电渗的。
57. 权利要求 55 的方法，其中所述动能力是基于电泳的。
58. 权利要求 55 的方法，其中所述动能力是基于介电电泳的。
59. 权利要求 55 的方法，其中所述动能力是基于光泳的。
60. 权利要求 55 的方法，其中所述动能力是基于热泳的。
61. 权利要求 1 的方法，其中所述外部影响包含梯度。
62. 权利要求 61 的方法，其中所述梯度包含化学梯度。
63. 权利要求 61 的方法，其中所述梯度包含场梯度。
64. 权利要求 1 的方法，其中所述其它特性包含手性。
65. 权利要求 1 的方法，其中以偶极子形式赋予所述特性之一。
66. 权利要求 65 的方法，其中所述偶极子包含电偶极子。
67. 权利要求 65 的方法，其中所述偶极子包含磁偶极子。
68. 权利要求 66 的方法，其中所述外部影响包含旋转电场。
69. 权利要求 67 的方法，其中所述外部影响包含旋转磁场。
70. 一种方法，包括

如下增强小物体的定向运动，即通过操作已经赋予所述物体的第一特性来应用外部影响以产生对所述物体起作用的力或转矩，所述力或转矩通过操作已经赋予所述物体的第二特性来增强所述物体的定向运动，并且包括响应所述力或转矩来引起所述定向运

动。

71. 权利要求 70 的方法，其中所述小物体是具有第一和第二特性两者的所述小物体的第一量的一部分，并且将所述量与不具有第一和第二特性两者的其它小物体的第二量混合，并且其中所述第一量中的所述物体的定向运动相对于小物体的所述第二量是增强的。

定向移动小物体

[0001] 发明背景

[0002] 本申请拥有美国临时申请 61/038,573 (2008 年 3 月 21 日提交, 并通过提及而将其完整收录) 的提交日的权益。

[0003] 在此通过提及而完整收入 2008 年 4 月 15 日提交的美国专利申请 12/103,281。

[0004] 在此通过提及而完整收入 2007 年 11 月 13 日提交的美国临时申请 60/987,674。

[0005] 本描述涉及定向移动小物体 (moving a small object in a direction)。

[0006] 可以通过应用外力或转矩 (torque) 来以特定的方向移动小物体。

[0007] 在一些情况中, 外力对物体中对于物体而言固有的特性起作用, 致使所述物体易受力, 而且不同于所述物体要在其中移动的介质的特性。例如, 如图 1 中所显示的, 在介电电泳 (dielectrophoresis) 中, 将振荡电场 (oscillating electric field) (外力 10) 应用到细胞 (物体 12)。细胞具有天然的介电常数值 (特性 14) (对于细胞而言固有的), 使细胞易受力, 而且不同于其周围的流体 (介质 16) 的介电常数值。

[0008] 在一些情况中, 使物体易受外力的特性 18 对于物体而言不是固有的, 但是代替地向其赋予。例如, 可以通过将带负电荷的 SDS 分子附着至变性蛋白质来向其赋予电荷 (特性)。然后通过应用电场来进行电泳。

[0009] 在一些情况中, 例如如图 2 中所显示的手性分子 20, 可以通过应用旋转电场 24 (外部影响) 定向 20 移动物体。旋转场对分子的电偶极矩 26 起作用 (偶极矩是手性分子的第一固有特性), 引起分子旋转。分子 (其手性是第二固有特性) 的手性 28 将分子的旋转 30 转化为定向 22 运动。方向 22 取决于分子的偏手性 (handedness) (即其手性)。

[0010] 发明概述

[0011] 一般而言, 在一方面, 对于小物体的定向运动, 将至少两种不同特性的组合赋予物体, 至少一种特性响应外部影响来产生对所述物体起作用的力或转矩, 至少另一种所述特性响应所述力或转矩来引起所述物体的定向运动。

[0012] 实施方案可以包括下列一种或多种特征。在将所述至少两种特性的组合赋予所述物体前, 不响应所述外部影响产生所述物体的定向运动。在将所述至少两种特性的组合赋予所述物体前, 响应所述外部影响的所述物体的任何定向运动小于所述赋予后。所述特性在所述物体中都不是固有的。

[0013] 所述物体包含细胞, 例如, 异常的、死亡的、患病的、或用过药或暴露于其它化学品的细胞。物体包括病毒。物体包括例如, 细菌、分子、生物分子、蛋白质 (其具有例如, 翻译后修饰)、肽、酶、DNA 或 RNA 分子 (其可以包括差向异构体)、聚合物、珠子、纳米颗粒、细胞器、脂质体、小囊泡、生物分子聚集物、分子聚集物、或孢子。

[0014] 所述赋予包括附着至少一种其它物体, 诸如抗体。所述赋予包括添加另一物体。所述其它物体包含经转染的基因。所述赋予包括除去所述物体的一部分。所述赋予包括在所述物体上引起反应。所述反应例如是分子的、细胞的、或化学的。

[0015] 所述外部影响包含力场, 诸如电的、磁的、或引力的。所述引力场是离心的。所述场包含压力场或声场。所述力场是静态的、振动的、或旋转的。所述外部影响包

含反应。所述反应是化学的，诸如旋光的、分子的、或细胞的。所述外部影响包含动能力，诸如电渗的、电泳的、或基于介电电泳的、光泳的 (optophoretic)、或热泳的 (thermophoretic)。所述外部影响包含梯度，诸如化学梯度或场梯度。其它特性包括手性。

[0016] 可以以偶极子诸如电偶极子或磁偶极子形式赋予所述特性之一。所述外部可以是旋转电场或旋转磁场。

[0017] 这些和其它方面和特征及其组合可以表示为用于运行功能的方法、装置、系统、手段、程序产品及以其它方式表示。

[0018] 从以下描述和权利要求书看，其它优点和特征会变得显而易见。

[0019] 发明详述

[0020] 图 1、图 2、图 3、和图 4 是物体和外部影响的示意图。

[0021] 如图 3 中所显示的，可以通过（例如）外力或转矩 44 来定向 42 移动小物体 40，所述外力或转矩 44 依靠物体的至少两种特性（其中至少两种 46，48 不是固有的，但是已经赋予物体）对物体起作用。仅在物体具有这两种赋予的特性时发生定向 42 运动，如 AND- 逻辑门，仅在两个输出（赋予的特性）都具有数值 1（即存在）时，其输出是 1（对应于定向运动）。可以有超过两种赋予的特性，并且物体还可以具有一种或多种固有的特性。

[0022] 例如，如图 3 中所显示的，假定生物学样品 48 包括两种不同细胞类型，即一种靶细胞 (TC) 群体 50 和第二种非靶细胞 (NTC) 群体 52，并且目的是通过自样品移动 49TC，并留下 NTC 来获得富集的 TC 群体。

[0023] 如图 4 中所显示的，假定我们具有 (a) 两种抗体 (Ab1 和 Ab2) 的供应，它们都具有比对 NTC 更强的对 TC 的亲合力，例如它们优先结合 TC，并且比对 NTC 结合小得多，(b) 超顺磁性 (super-paramagnetic) 磁珠 54，即它们在存在磁场的情况中展现出磁性（或者它们获得磁偶极矩），和 (c) 制造的或天然的小物体 56（例如约 1-10 μm 直径，或 .1-1 μm 直径），其具有某种手性（即右旋的或左旋的，因此让我们假定在此情况中均为左旋的）。我们有时将小物体 56 称作推进物。

[0024] 如图 4 中所显示的，我们将每种 Ab1 附着到磁珠以形成一种复合物 63，并将每种 Ab2 附着到人工推进物 56 以形成复合物 65，并且我们将两种复合物放（顺序地或同时地）入样品 48 中，所述样品 48 含有 TC 和 NTC 两者。在图 4 中，我们仅显示了单一 TC 和单一 NTC。每种 Ab1- 磁珠复合物 63 会以具有相对较高概率的特异性方式附着到 TC 或者以具有相对较低概率的非特异性方式附着到 NTC。为了讨论的简单，假设 Ab1- 磁珠复合物仅会结合 TC，而且对 NTC 的非特异性结合是可忽略的。

[0025] 类似地，为了简单假设 Ab2- 推进物复合物 65 仅结合 TC（而不结合 NTC）。

[0026] 在 Ab1- 磁珠复合物结合 TC 时，磁珠会将磁偶极子赋予 TC；继而，Ab2- 推进物复合物会将手性赋予 TC。

[0027] 然后我们将旋转磁场 66 应用到样品，用磁场引起所有磁珠（无论结合 TC 与否）旋转。

[0028] 没有结合细胞的任何磁珠或结合也没有与其结合的推进物的细胞的任何复合物不会具有任何手性，并且因此，不会以特定的方向移动，换言之，它不会经历任何定

向运动。

[0029] 相反地，没有结合细胞的推进物或结合也没有与其结合的磁珠的细胞结合的任何推进物复合物不会具有任何雌性，并且旋转磁场不会对其具有影响。即使复合物具有手性，它缺乏磁性来将外部影响（在此情况中为旋转磁场）转化成为力或转矩来引起它旋转（并且继而定向运动）。

[0030] 仅具有磁珠和与其附着的推进物（在此例子中分别使用 Ab1 和 Ab2）两者的细胞 78 会响应旋转磁场而旋转，并且定向 79 移动，因为旋转被转化成定向运动（由于通过推进物赋予细胞的手性）。关于旋转和手性进行推进物运动的用途的另外的信息可参见 2008 年 4 月 15 日提交的美国专利申请 12/103,281，并且在此通过提及而将其完整收录。

[0031] 通过赋予对于小物体（例如细胞）而言不是固有的两种特性，例如磁性和手性，例如通过将两种其它物体（一种具有磁性，另一种具有手性）附着，可以将外部影响（例如旋转磁场）转化成对细胞的转矩以使其旋转，并且可以使用旋转来以特定的方向（其通过推进物的偏手性来确定）移动细胞。在此例子中，需要磁性和手性两者来产生定向运动；若一种是缺少的，则全没有（没有磁性，细胞不旋转，而没有手性，它不被推进）。

[0032] 使用特性和外部影响的这种组合，例如，靶细胞可以将它们自身推进到容器中的特定位置（使用对于那些细胞合适的抗体的特异性结合），留下非靶细胞。因为两种抗体选择为结合细胞而不结合非靶细胞的抗体，所以可以极大地增强富集因子。此外，可以避免由于粗糙 (harsh) 和使用可能的多提取步骤的损失，并且此类富集方法的收率可以是高的。例如可以降低由于压实 (de-bulking) 的收率损失。

[0033] 其它例子也在权利要求书的范围内。

[0034] 物体不需要是细胞。它可以是病毒、细菌、分子、生物分子、蛋白质、肽、酶、DNA、RNA、小分子、聚合物、珠子、纳米颗粒、细胞器、脂质体、小囊泡、生物分子聚集物、分子聚集物、或孢子、或任何其它小颗粒或物体。

[0035] 可以将细胞修饰为异常的、死亡的、患病的、和 / 或用过药的 (drugged)；蛋白质可以具有某些 PTM (翻译后修饰，例如糖基化的、磷酸化的)；DNA 和 / 或 RNA 分子可以是差向异构体。

[0036] 可以以极其多种不同方式将特性赋予物体。例如，可以将物体（例如抗体或经转染的基因）附着到或添加至目标物体。可以除去目标物体的一部分。可以对物体引起反应（例如化学的、分子的或细胞的）以改变其特性之一。

[0037] 外部影响可以是：场（电的、磁的、电磁的、引力的 / 离心的、压力 / 声的 / 超声）、反应（例如化学的 / 旋光化学、分子的、细胞的）、动能力（例如电渗的、电泳的、介电泳的、光泳的、热泳的）、或梯度（例如化学的、场）。

[0038] 将外部影响转化成对物体的力或转矩的物体特性可以是与外部影响相互作用的特性。例如，特性可以是与电场相互作用的永久的或诱导的电偶极矩；与磁场相互作用的永久的或诱导的磁偶极矩；在电磁场方面的电容率或磁导率 (permeability)；在引力场方面的质量（或浮力）；及针对其它外部影响的等，包括上文所提及的。

[0039] 将对物体的力或转矩转化成物体的定向运动的第二特性可以是手性，如例子中所解释的，或产生定向运动的其它特性。

[0040] 我们已经使用指例如特性的固有的字 (word)，所述特性存在于其天然存在形式

的物体中或者在其最初制备或改变或涵盖的形式的物体中。

[0041] 在一些情况中，可以通过单一作用或单一其它物体来将两种特性赋予目标物体。例如，推进特性和受力特性可以包括在单一物体中，然后将所述单一物体附着到目标物体。

[0042] 在一些情况中，物体可以具有两种特性，并且通过例如向物体再次或以更大的量或以第二种型式赋予两种特性来增强为了引起定向的两种特性的效果。

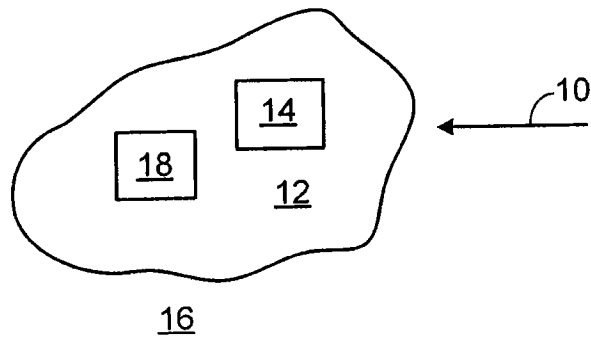


图 1

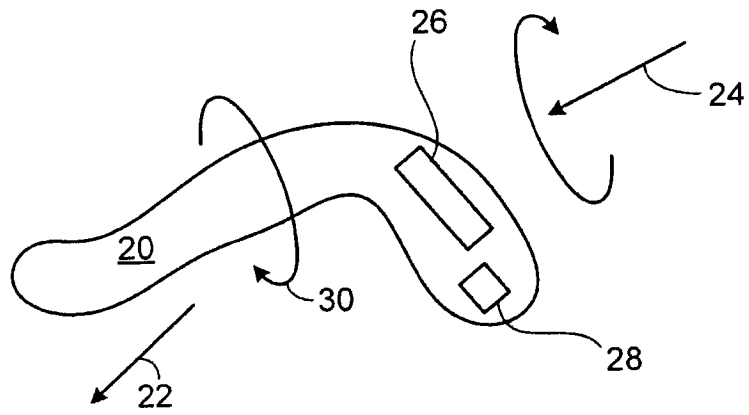


图 2

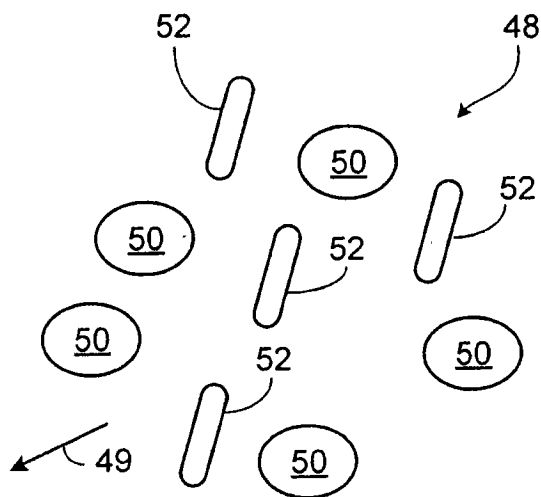


图 3

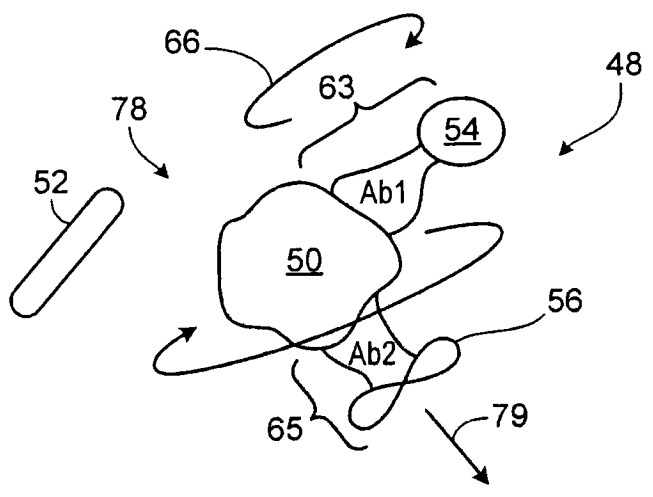


图 4