



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102472702 B

(45) 授权公告日 2014. 05. 21

(21) 申请号 201080028522. 2

(22) 申请日 2010. 07. 06

(30) 优先权数据

- 61/223, 410 2009. 07. 07 US
- 61/223, 409 2009. 07. 07 US
- 61/223, 408 2009. 07. 07 US
- 61/223, 416 2009. 07. 07 US
- 61/223, 406 2009. 07. 07 US
- 61/223, 420 2009. 07. 07 US
- 61/223, 407 2009. 07. 07 US
- 61/223, 419 2009. 07. 07 US
- 61/223, 421 2009. 07. 07 US
- 61/223, 417 2009. 07. 07 US
- 61/223, 735 2009. 07. 08 US
- 61/223, 736 2009. 07. 08 US
- 61/223, 732 2009. 07. 08 US
- 61/223, 734 2009. 07. 08 US
- 61/223, 737 2009. 07. 08 US
- 61/223, 729 2009. 07. 08 US
- 61/224, 528 2009. 07. 10 US
- 61/224, 533 2009. 07. 10 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2011. 12. 23

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2010/041087 2010. 07. 06

(87) PCT国际申请的公布数据

W02011/005776 EN 2011. 01. 13

(73) 专利权人 索尼公司

地址 日本东京都

专利权人 索尼美国公司

(72) 发明人 加里·杜拉克

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 欧阳帆

(51) Int. Cl.

G01N 15/06(2006. 01)

(56) 对比文件

US 5157465 A, 1992. 10. 20, 图8.

CN 1511299 A, 2004. 07. 07, 全文.

US 2004/0224380 A1, 2004. 11. 11, 全文.

CN 101046439 A, 2007. 10. 03, 全文.

US 2009/0027666 A1, 2009. 01. 29, 说明书第 [0006], [0024], [0027], [0037]-[0040], [0068] 段, 图 1-4.

审查员 张沫

权利要求书1页 说明书23页 附图24页

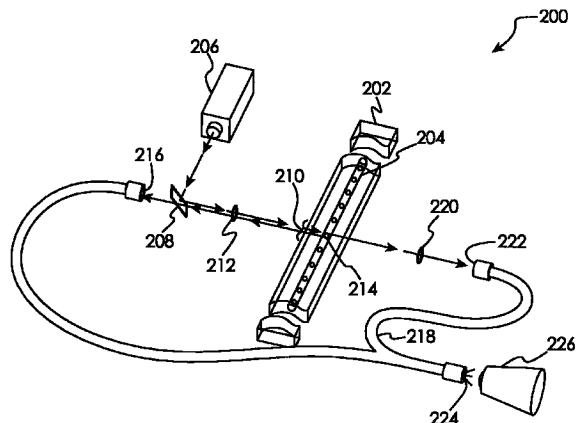
(54) 发明名称

一种检测样品中的颗粒的方法

(57) 摘要

一种适于对流经其中的颗粒进行细胞仪分析的微流体装置。该微流体装置允许汇聚来自多个方向的光、使用了空间强度调制、具有磁场分离器、具有堆叠的能力、使用了3-D水力聚焦、具有声能耦合器、具有相变产生透镜、具有透射式透镜和反射式透镜、具有一体形成的光学系统、具有在地理特征上呈非一体化的选择性试剂传送结构、具有包含在其流动通道中的光波导管、具有检测和分选病毒的能力, 并且该微流体装置显示色彩变化以标示使用或结果。

CN 102472702 B



1. 一种检测样品中的颗粒的方法,所述方法包括以下步骤:

a) 提供微流体装置,所述微流体装置包括:

基底;

第一微流体流动通道,所述第一微流体流动通道形成在所述基底上,其中所述第一微流体流动通道延伸通过所述基底的第一部分,便于对在所述第一微流体流动通道中流动的第一细胞执行细胞仪分析;以及

第二微流体流动通道,所述第二微流体流动通道形成在所述基底上,其中所述第二微流体流动通道延伸通过所述基底的一部分,便于对在所述第二微流体流动通道中流动的第二细胞执行细胞仪分析;

b) 产生指向所述第一微流体流动通道和所述第二微流体流动通道的激发光束;

c) 在所述激发光束到达所述第一微流体流动通道之前以第一方式在空间上改变所述激发光束;以及

d) 在所述激发光束到达所述第二微流体流动通道之前以与第一方式不同的第二方式在空间上改变所述激发光束。

一种检测样品中的颗粒的方法

[0001] 关联申请的交叉引用

[0002] 本申请要求享有以下专利申请的优先权：申请日为 2009 年 7 月 10 日的美国临时专利申请 No. 61/224, 533、申请日为 2009 年 7 月 7 日的美国临时专利申请 No. 61/223, 417、申请日为 2009 年 7 月 7 日的美国临时专利申请 No. 61/223, 408、申请日为 2009 年 7 月 8 日的美国临时专利申请 No. 61/223, 732、申请日为 2009 年 7 月 8 日的美国临时专利申请 No. 61/223, 735、申请日为 2009 年 7 月 8 日的美国临时专利申请 No. 61/223, 736、申请日为 2009 年 7 月 8 日的美国临时专利申请 No. 61/223, 737、申请日为 2009 年 7 月 7 日的美国临时专利申请 No. 61/223, 416、申请日为 2009 年 7 月 7 日的美国临时专利申请 No. 61/223, 419、申请日为 2009 年 7 月 10 日的美国临时专利申请 No. 61/224, 528、申请日为 2009 年 7 月 7 日的美国临时专利申请 No. 61/223, 420、申请日为 2009 年 7 月 7 日的美国临时专利申请 No. 61/223, 421、申请日为 2009 年 7 月 7 日的美国临时专利申请 No. 61/223, 406、申请日为 2009 年 7 月 7 日的美国临时专利申请 No. 61/223, 410、申请日为 2009 年 7 月 7 日的美国临时专利申请 No. 61/223, 407、申请日为 2009 年 7 月 7 日的美国临时专利申请 No. 61/223, 409 和申请日为 2009 年 7 月 8 日的美国临时专利申请 No. 61/223, 734, 在此通过引用将所有这些申请的整体内容结合在本说明书中。

技术领域

[0003] 本发明涉及微流体细胞仪系统。

背景技术

[0004] 二十多年前,基于流式细胞仪的细胞分选术被首次引入到研究领域。这是一种已经被广泛用于生命科学研究等诸多领域的技术,成为遗传学、免疫学、分子生物学和环境学等领域工作人员的重要工具。与诸如免疫淘选 (immuno-panning) 和磁柱分离之类的体 (bulk) 细胞分离技术不同,基于流式细胞仪的细胞分选设备以每秒几千个细胞或者更高的速度对个别细胞或粒子连续地进行测量、归类并分选。这种对单个细胞“逐个”进行的快速处理使得流式细胞仪成了从其它异质细胞悬液中提取高纯度细胞亚群的、独特且极具价值的工具。

[0005] 用以分选的材料通常用荧光材料以某种方式标记。当细胞经过聚焦集中、强度极高的光束 (通常为激光光束) 时,关联于该细胞的荧光探测器便发出荧光。计算机记录用于各细胞的发射强度。这些数据接着被用来对各细胞进行归类以用于具体的分选操作。基于流式细胞仪的细胞分选术已经被成功地应用到上百种细胞类型、细胞成分和微生物,以及多种尺寸相当的无机粒子中。

[0006] 流式细胞仪也被广泛地用来快速地分析异质细胞悬液以识别成分亚群。其中发现使用了基于流式细胞仪的细胞分选的应用示例包括:用于 AIDS 研究的免疫系统细胞的原始群体的分离、用于癌症研究的畸形细胞的基因分离、用于遗传学研究的特定染色体的分离和用于环境学研究的各种微生物的分离。例如,被荧光标记的单克隆抗体通常被用作识

别免疫细胞诸如 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的“标记”，临床实验室经常使用该技术来对 HIV 感染者的“CD4 阳性”T 细胞进行计数，并且他们还使用该技术来识别与各种白血病和淋巴瘤相关的细胞。

[0007] 最近，人们感兴趣的两个领域除了严格的研究应用之外，便是让细胞分选走近临床和对病人的治疗应用。首先是从对化学制药的研发转向对生物制药的研发。例如，许多新的癌症疗法利用了生物材料。这些疗法包括一类基于抗体的癌症治疗。基于流式细胞仪的细胞分选器可以在这些产品的识别、发展、净化以及最终的生产过程中发挥重要的作用。

[0008] 与此相关的便是在护理病人过程中转向使用细胞代替治疗。目前关于干细胞的热门研究均围绕一个全新的医学领域展开，其通常被称为再生疗法或再生医学。这些疗法可能往往要求从病人的组织中分离出大量的比较罕见的细胞。例如，可从骨髓中分离出成年干细胞，并且最终将其作为再注入物的一部分返回到分离了成年干细胞的病人体内。流式细胞仪和细胞分选是能够提供这种疗法的重要组织处理工具。

[0009] 存在两种目前正被广泛使用基本类型的细胞分选器。他们分别是“液滴细胞分选器 (droplet cell sorter)”和“流体切换细胞分选”。液滴细胞分选器利用微液滴作为接收体来将所选择的细胞输送到收集器。通过将超声波能量耦合到喷射流来形成该微液滴。接着以静电方式将该液滴引导到所期望的位置，其中该液体含有被选择用以分选的细胞。这是一个非常高效的处理，每秒钟允许从单流中分选多达 90,000 个细胞，该处理主要受液滴生成频率和照明所需时间的限制。

[0010] Durack 等人的美国公开专利申请 No. 2005/0112541 A1 对现有的流式细胞仪系统进行了详细的描述。

[0011] 然而，液滴细胞分选器在生物安全 (biosafe) 方面并不十分优异。在一部分液滴形成处理中所生成的气溶胶会携有生物危险材料。由此，已经发展了一种包含在生物安全柜中的生物安全液滴细胞分选器，其可以在基本封闭的环境中操作。不幸的是，这种类型的系统自身并不适用于临床环境下患者样本的常规分选所需求的无菌状态和操作保护。

[0012] 基于流式细胞仪的细胞分选器的第二种类型为流体切换细胞分选器。大多数流体切换细胞分选器利用压电装置来驱动机械系统，其中该机械系统会将一部分流动样品转移到收集容器中。与液滴细胞分选器相比，流体切换细胞分选器因被用来转移样品流的机械系统的循环时间而具有较低的最大细胞分选率。该循环时间，即样品的初始分流与恢复到稳定的未分选的流动之间的时间，通常远远高于液滴细胞分选器上液滴生成器的周期。而该较长的循环时间限制了流体切换细胞分选器每秒钟处理细胞的速率。由于同样的原因，被流体细胞分选器所切割的流段通常至少是来自液滴发生器的单个微滴的体积的十倍。相应地，这会导致流体切换分选器的收集容器与液滴分选器的收集容器相比，细胞浓度较低。

[0013] 新一代微流体技术极有希望提高流体切换装置的效率并在概念上类似于电子集成电路的芯片上提供细胞分选功能。已经证实：许多微流体系统能够成功地分选异质细胞群中的细胞。其优点在于其完全地自我包含、易于消毒并且可以作为一次性部件被大规模制造（由此获得足够的生产效率）。

[0014] 图 1 示出了普通的微流体装置，总体上由标号 10 表示。微流体装置 10 包括基底 12，其中基底 12 具有通过本领域所公知的任何常规处理形成于其中的流体流通道 14。基底 12 可以由玻璃、塑料或任何其它常规材料形成，并且可以是大致透明的或者其一部分可

以是大致透明的。基底 12 还具有三个耦合到该基底 12 的端口 16、18 和 20。端口 16 是用于鞘液的入口。端口 16 具有流体连通到与流体流通道 14 结合的流体流通道 22 的中心轴通路,使得从外部供应器(未示出)进入端口 16 的鞘液可进入流体流通道 22 中,并接着流入到流体流通道 14 中。该鞘液供应器可以通过本领域技术人员所公知的任何常规耦合机构连接到端口 16。

[0015] 端口 18 也具有通过样品注入管 24 流体连通到流体流通道 14 的中心轴通路。样品注入管 24 被布置为与流体流通道 14 的水平轴同轴。在鞘液被注入到端口 16 中的同时,将细胞的液体样品注入到端口 18 中,因此这会导致流经流体流通道 14 的细胞被鞘液所包围。流体流通道 14 和 22,以及样品注入管 24 的维度和构造被选择为使得当鞘/样品流体流经该装置 10 时,其呈现出本领域所公知的层流。端口 20 被耦合到流体流通道 14 的末端,使得该鞘/样品流体可以从该微流体装置 10 中流出。

[0016] 当鞘/样品流体流经流体流通道 14 时,可以在样品注入管 24 与出口 20 之间的一些位置处使光源透过基底 12 并照射到流体流通道 14 中,并通过细胞仪技术对其进行分析。另外,可以更改微流体装置 10,以用于本领域所公知的细胞分选操作。

[0017] 尽管已经证实与上述微流体装置类似的基本微流体装置运作状况良好,但是需要对现有技术中采用了微流体装置的细胞仪系统进行改进。本发明意在满足这种需要。

发明内容

[0018] 本发明涉及适于对流经其中的颗粒进行细胞仪分析的微流体装置。在某些实施例中,该微流体装置允许汇聚来自多个方向的光。在某些其它实施例中,该微流体装置使用了空间强度调制。在某些其它实施例中,该微流体装置具有磁场分离器。在某些其它实施例中,该微流体装置具有堆叠的能力。在某些其它实施例中,该微流体装置使用 3-D 水力聚焦来对准精细胞。在某些其它实施例中,该微流体装置具有声能耦合器。在某些其它实施例中,该微流体装置具有相变产生透镜。在某些其它实施例中,该微流体装置具有透射式透镜和反射式透镜。在某些其它实施例中,该微流体装置具有一体形成的光学系统。在某些其它实施例中,该微流体装置具有在地理特征上呈非一体化的选择性试剂传送结构。在某些其它实施例中,该微流体装置具有包含在其流动通道中的光波导管。在某些其它实施例中,该微流体装置具有检测和分选病毒的能力。在某些其它实施例中,该微流体装置显示色彩变化来标示使用或结果。

[0019] 在一个实施例中,公开了一种微流体装置,所述微流体装置包括:基底;微流体流动通道,所述微流体流动通道形成在所述基底中,其中所述流动通道延伸通过所述基底的一部分,便于对在所述流动通道中流动的细胞执行细胞仪分析;第一集光装置、所述第一集光装置用于沿第一方向汇聚由所述细胞射出的光,所述第一集光装置产生第一输出;第二集光装置、所述第二集光装置用于沿第二方向汇聚由所述细胞射出的光,所述第二集光装置产生第二输出;以及检测光学系统,所述检测光学系统用于接收所述第一输出和所述第二输出。

[0020] 在另一实施例中,公开了一种检测样品中的颗粒的方法,所述方法包括以下步骤:
a) 提供微流体装置,所述微流体装置包括基底;微流体流动通道,所述微流体流动通道形成在所述基底中,其中所述流动通道延伸通过所述基底的一部分,便于对在所述流动通道

中流动的细胞执行细胞仪分析 ;b) 沿第一方向捕获由所述细胞射出的第一光 ;c) 沿第二方向捕获由所述细胞射出的第二光 ;d) 结合在步骤 b) 和 c) 处所捕获的所述第一光和所述第二光 ;以及 e) 对所述组合的第一光和所述第二光执行细胞仪分析。

[0021] 在另一实施例中,公开了一种检测样品中的颗粒的方法,所述方法包括以下步骤 :a) 提供微流体装置,所述微流体装置包括基底 ;第一微流体流动通道,所述第一微流体流动通道形成在所述基底上,其中所述第一流动通道延伸通过所述基底的一部分,便于对在所述第一流动通道中流动的第一细胞执行细胞仪分析 ;以及第二微流体流动通道,所述第二微流体流动通道形成在所述基底上,其中所述第二流动通道延伸通过所述基底的一部分,便于对在所述第二流动通道中流动的第二细胞执行细胞仪分析 ;b) 产生指向所述第一流动通道和所述第二流动通道的激发光束 ;c) 在所述激发光束到达所述第一流动通道之前以第一方式在空间上改变所述激光光束 ;以及 d) 在所述激发光束到达所述第二流动通道之前以第二方式在空间上改变所述激光光束。

[0022] 在另一实施例中,公开了一种微流体装置,所述微流体装置包括 :基底 ;微流体流动通道,所述微流体流动通道形成在所述基底中,其中所述流动通道延伸通过所述基底的一部分,便于对在所述流动通道中流动的细胞执行细胞仪分析 ;样品容纳槽,所述样品容纳槽流体耦合到所述流动通道 ;以及电磁体,所述电磁体被配置装载在所述基底上并且用于在被激励时在所述样品容纳槽内产生磁场。

[0023] 在另一实施例中,公开了一种微流体装置,所述微流体装置包括 :基底 ;微流体流动通道,所述微流体流动通道形成在所述基底中,其中所述流动通道延伸通过所述基底的一部分,便于对在所述流动通道中流动的细胞执行细胞仪分析 ;以及至少一个支腿,所述至少一个支腿被布置在所述基底的表面上,所述至少一个支腿便于使所述微流体装置堆叠在另一微流体装置上。

[0024] 在另一实施例中,公开了一种微流体装置,所述微流体装置包括 :基底 ;微流体流动通道,所述微流体流动通道形成在所述基底中,其中所述流动通道延伸通过所述基底的一部分,便于对在所述流动通道中流动的细胞执行细胞仪分析 ;以及至少一个水力对准结构,所述至少一个水力对准装置流体耦合到所述流动通道,所述至少一个水力对准装置用于对所述细胞进行取向使得从其最大维度开始对所述细胞的大多数进行分析。

[0025] 在另一实施例中,公开了一种微流体装置,所述微流体装置包括 :基底 ;微流体流动通道,所述微流体流动通道形成在所述基底中,其中所述流动通道延伸通过所述基底的一部分,便于对在所述流动通道中流动的细胞执行细胞仪分析 ;槽,所述槽被配置装载在所述基底上,所述槽流体耦合到所述流动通道 ;以及声能耦合器,所述声能耦合器被配置在所述槽内。

[0026] 在另一实施例中,公开了一种微流体装置,所述微流体装置包括 :基底 ;微流体流动通道,所述微流体流动通道形成在所述基底中,其中所述流动通道延伸通过所述基底的一部分,便于对在所述流动通道中流动的细胞执行细胞仪分析 ;以及透镜,所述透镜被形成装载在所述基底上,所述透镜用于在空间上改变通过其中的光的强度。

[0027] 在另一实施例中,公开了一种微流体装置,所述微流体装置包括 :基底 ;微流体流动通道,所述微流体流动通道形成在所述基底中,其中所述流动通道延伸通过所述基底的一部分,便于对在所述流动通道中流动的细胞执行细胞仪分析 ;第一透镜,所述第一透镜被

形成装载在所述基底上,所述第一透镜被配置在所述流动通道的第一侧上;以及第二透镜,所述第二透镜被形成装载在所述基底上,所述第二透镜被配置在所述流动通道的第二侧上。

[0028] 在另一实施例中,公开了一种微流体装置,所述微流体装置包括:基底,所述基底具有第一表面;微流体流动通道,所述微流体流动通道形成在所述基底中,其中所述流动通道延伸通过所述基底的一部分,便于对在所述流动通道中流动的细胞执行细胞仪分析;透镜,所述透镜在所述第一表面处形成装载在所述基底上,所述透镜位于所述第一表面下方。

[0029] 在另一实施例中,公开了一种微流体装置,所述微流体装置包括:基底,所述基底具有第一表面;试剂容纳槽,所述试剂容纳槽被形成装载在所述基底上;试剂结构,在所述试剂结构配置有试剂,其中将所述试剂结构施加到所述第一表面使得所述试剂与所述试剂容纳槽对准,用以将试剂传送到其中;以及微流体流动通道,所述微流体流动通道形成在所述基底中,其中所述流动通道流体耦合到所述试剂容纳槽。

[0030] 在另一实施例中,公开了一种微流体装置,所述微流体装置包括:基底;微流体流动通道,所述微流体流动通道形成在所述基底中,其中所述流动通道延伸通过所述基底的一部分,便于对在所述流动通道中流动的细胞执行细胞仪分析;以及光波导管,所述光波导管形成在所述流动通道中。

[0031] 在另一实施例中,公开了一种微流体装置,所述微流体装置包括:基底;微流体流动通道,所述微流体流动通道形成在所述基底中,其中所述流动通道延伸通过所述基底的一部分,便于对在所述流动通道中流动的细胞执行细胞仪分析;光波导管,所述光波导管形成在所述流动通道中;以及反射表面,所述反射表面被配置在所述流动通道内。

[0032] 在另一实施例中,公开了一种确定药理功效的方法,所述方法包括以下步骤:a) 提供微流体装置,所述微流体装置包括基底;微流体流动通道,所述微流体流动通道形成在所述基底中,其中所述流动通道延伸通过所述基底的一部分,便于对在所述流动通道中流动的病毒颗粒执行细胞仪分析;以及槽,所述槽被形成装载在所述基底上;b) 将材料沉积到所述槽中;c) 使所述病毒颗粒流到所述槽中;d) 使所述病毒颗粒与所述材料发生反应;以及 e) 基于所述反应确定所述材料的药理功效。

[0033] 在其它实施例中,公开了一种检测样品中的颗粒的方法,所述方法包括以下步骤:a) 提供微流体装置,所述微流体装置包括基底;微流体流动通道,所述微流体流动通道形成在所述基底中,其中所述流动通道延伸通过所述基底的一部分,便于对在所述流动通道中流动的病毒颗粒执行细胞仪分析;以及染料库,所述染料库被形成装载在所述基底上;b) 将染料沉积到所述槽中;c) 对所述细胞执行细胞仪分析;以及 d) 在完成所述细胞仪分析之后,使所述染料离开所述染料库并且进入所述流动通道。

[0034] 也公开了其它实施例。

附图说明

[0035] 图 1 是现有技术的微流体装置的立体图。

[0036] 图 2 是根据本发明实施例的微流体装置的概要侧视图。

[0037] 图 3 是根据本发明实施例的微流体装置的概要侧视图。

[0038] 图 4 是根据本发明一个实施例的、具有空间变化的激发图案的并行流动细胞仪通

道的概要视图。

- [0039] 图 5 示出了由图 4 的图案引起的样品荧光信号。
- [0040] 图 6 示出了具有二维变化的激发图案的并行流动细胞仪通道的概要视图。
- [0041] 图 7 是根据本发明实施例的微流体装置的概要立体图。
- [0042] 图 8 是根据本发明实施例的堆叠微流体装置的概要立体图。
- [0043] 图 9 是根据图 8 的实施例的微流体装置的概要仰视图。
- [0044] 图 10 是根据本发明实施例的微流体装置的概要仰视图。
- [0045] 图 11 是根据本发明实施例的微流体装置的概要立体图。
- [0046] 图 12a 是示例性精细胞的概要俯视图。
- [0047] 图 12b 是示例性精细胞的概要侧视图。
- [0048] 图 13 是根据本发明实施例的微流体装置的一部分的概要立体图。
- [0049] 图 14 是根据本发明实施例的微流体装置的概要立体图。
- [0050] 图 15 是根据本发明实施例的具有声学能量耦合器的微流体装置的腔室的概要正视图。
- [0051] 图 16 是根据本发明实施例的微流体装置的一部分的概要侧视图。
- [0052] 图 17 是根据本发明实施例的微流体装置的一部分的概要侧视图。
- [0053] 图 18 是根据本发明实施例的微流体装置的一部分的概要侧视图。
- [0054] 图 19 是根据本发明实施例的微流体装置的概要立体图。
- [0055] 图 20 是根据本发明实施例的微流体装置的一部分的概要剖面侧视图。
- [0056] 图 21 是根据本发明实施例的微流体装置的一部分的概要剖面侧视图。
- [0057] 图 22 是根据本发明实施例的微流体装置的一部分的概要剖面侧视图。
- [0058] 图 23 是根据本发明实施例的微流体装置的概要立体图。
- [0059] 图 24 是根据本发明实施例的微流体装置的概要立体图。

具体实施方式

[0060] 为了提高对本发明原理的理解,现在将参考附图中所示例的实施例,并且将使用特定的语言来描述相同的特征。然而,应理解,由此并不意在限制本发明的范围,而意在保护本发明所涉及领域的技术人员通常能够理解的、所示例装置和方法的替代和进一步修改以及所示例的本发明原理的进一步应用。

[0061] 收集来自多个方向的光的微流体装置

[0062] 本发明的某些实施例总体针对用于通过细胞仪(如流式细胞仪或图像细胞仪)在微流体装置上分析样品的系统。为了在细胞仪操作期间检测或识别细胞,电磁辐射(如可见光)的源(如激光)指向检测区域。当细胞经过该检测区域时,光源使该细胞发出荧光。可以在细胞到达该检测区域之前通过添加某种染料增强该效应。在大多数系统中,仅将光源施加到细胞仪装置的一侧,其中检测光学系统也仅检测来自样品细胞一侧的荧光。这限制了从荧光样品细胞中捕获的光子数量,这是因为从其它方向射出的光子不被检测光学系统所捕获。可以增加光强度以产生更多的荧光光子,但这也会增加信号中的噪声。

[0063] 为了捕获尽可能多的、由荧光样品细胞所产生的光子,可以将光源施加到检测区域的多个侧面。另外,也可以将检测光学系统放置在检测区域的多个侧面上。这使得该系

统能够在不增加所接收信号中的噪声的情况下,在给定的激发光强度下捕获更多的发射光子。此外,该方法将从两侧射出的光子组合到一个准直路径中,其中该准直路径能够聚焦在一个光检测器上。这与在每个侧面使用单独的光检测器相比,有了很大的改善。使用两个光检测器会使由各个检测器产生的噪声加倍。因此,使用一个光检测器能够提高系统的信噪比。

[0064] 图 2 概要地示出了用于通过细胞仪分析细胞的系统 200。该系统 200 可以包括形成在基底 202 (在此通过侧视图示出) 上的微流体装置,其中该基底 202 具有包含在其中的检测流动通道 204。为了简化说明,图 2 示出了位于基底 202 内部的单个通道。但是,应理解,单个通道可以代表多个细胞仪通道和多种可行的通道构造,这对于本领域技术人员是显而易见的。在细胞仪芯片 202 上,也可以包含其它各种构件,但这对本发明而言并不是关键的。

[0065] 系统 200 还可以包括激发光源 206、多芯光纤电缆 218、聚焦透镜 212 和 220,以及检测光学系统 226。如图 2 所示,可以将透镜 212 和 220 放置在基底 202 外侧,或者可以根据需要或特殊应用的成本考虑,将其安装到基底 202 或一体地形成在基底 202 内部。激发光源 206 可以包括激光器或本领域公知的其它电磁辐射源。检测光学系统 226 可以包括本领域公知的各种光敏机构,例如光电倍增管、光电二极管或雪崩光电二极管。

[0066] 在操作过程中,激发光源 206 (通常为激光器) 将光束引向分色镜 208。该分色镜被构造为将从光源 206 接收的波长反射到芯片 202 上的检测区域 210。可以使用诸如透镜 212 之类的其它各种光学聚焦构件,以确保激发光源 206 合适地聚焦到检测区域 210 上。当流过微流体流动通道 204 的样品细胞 214 经过检测区域 210 并发出荧光时,所产生的光子沿多个方向射出。一些光子将朝聚焦透镜 212 向后发射,经过分色镜 208 (其被构造为透过荧光波长),并且进入多芯光纤电缆 218 的第一末端 216。从芯片 202 的相对侧射出的光子将通过透镜 220 选择性地聚焦,并且进入多芯光纤电缆 218 的第二末端 222。接着,光子的组合分组将从光纤电缆 218 的第三末端 224 射出并且被检测光学系统 226 接收。检测光学系统 226 可以接着准直来自这两个光纤芯的组合发射,并且将该发射传送到一个或多个光检测器 (未示出) 以便检测。在某些实施例中,将使用一系列分色镜和带通滤光器来选择特定的波带,并将其传送到光检测器。在其它实施例中,可以使用一个检测光学系统代替多芯光纤电缆来捕获射出的光子。

[0067] 图 3 概要地示出了本发明的另一实施例,在此示为系统 300,其中使用多个光源 306 来从样品细胞 314 中产生荧光。在此实施例中,将从细胞仪芯片 302 的两侧来检测从样品细胞 314 发射和传送的光子。此外,所射出的光子将进入光纤电缆 318 的末端 316 和 322,并且被检测光学系统 326 捕获。在某些实施例中,可以将光源 306 构造为产生不同波长的光。检测光学系统可接着在不同波长处检测不同类型的细胞,其中这些细胞已经被染色以发出荧光。

[0068] 使用空间强度调制的微流体装置

[0069] 本发明的某些实施例总体针对用于通过细胞仪 (如流式细胞仪或图像细胞仪) 在微流体装置上分析样品的系统。为了增加细胞的总吞吐量,可以使用多个流动通道从给定样品中并行地分选细胞。在这样的系统中,检测光学系统和相关联的电子处理设备必须能够区分从各个通道接收的信号。实现此目的的方法之一便是在各个通道上使用单独的激发

光源,其中各个激发光源具有各自的波长。但是,这会大大增加系统的成本和难度。也可以重复的模式逐通道地扫描单个光源,其中检测光学系统基于时间来确定扫描了哪个通道。但是,由于在光源激发不同通道的不同检测区域时细胞可能经过给定通道的检测区域,所以该方法也容易出现误差。

[0070] 如上所述,另一方法便是区分单独的通道荧光信号,即,将单个激发光源同时引到全部通道上,但是使激发光束图案发生空间的改变或设计,使得不同的激发图案指向各个通道的检测区域。当细胞经过特定通道的光束图案时,在所发出的荧光信号中将会产生一系列时间-空间峰值。因为流速或细胞的速度已知,所以可以使用峰值或频率来确定哪个通道产生了信号。检测光学系统能够同时接收来自所有通道的信号,并且能够使用本领域公知的变化手段,如频率调制/解调来分离并分析个别通道信号。

[0071] 可以使用本领域公知的各种方法来使各个通道的检测区域内的激发光束发生空间的改变。在一个实施例中,可以将诸如全息图或其它光转换元件之类的光学元件铸造到微流体细胞仪芯片的基底上。该光学元件使均匀的光束转变成各个通道的检测区域内的空间图案。在其它实施例中,可以利用非反射性材料蚀刻或涂覆芯片的表面,以产生对比明显的图案元件。在其它实施例中,可以使用各种镜面、滤光器或其它光阻机构或相移机构来产生图案。在其它实施例中,可以采用诸如空间光调制器或声光调制器在各个通道的检测区域内传送随时间变化的空间强度图案。可以比细胞经过检测区域的级数更快的速率来动态地改变这些空间图案。

[0072] 图4概要地示出了一个实施例,其中激发光图案由一系列带402构成,其中带402被配置为与细胞404流经微流体装置内的平行流动通道408、410和412的检测区域406的方向平行。图5示出了分别用于通道408、410和412的样品所产生的荧光信号508、510和512。由此可以看出,改变带402之间的空间配置会导致在用于各个通道的、所检测的荧光信号中产生独特的签名,从而能够将用于任何被选择通道的检测信号从由其它通道产生的检测信号中分离。

[0073] 图6示出了另一实施例,其中激发图案元件602除了平行于流动方向发生变化之外,还垂直于流动方向发生变化。这使得检测光学系统能够使所接收到的、关于细胞604的数据发生二维变化,两者彼此相对。通过使用细胞604经过检测区域时所产生的二维荧光信息和特定的数学函数或图案元件602的形状,可以产生细胞的二维图像,从而提供更多与细胞有关的信息。

[0074] 具有磁场分离器的微流体装置

[0075] 本发明的某些实施例总体针对用于通过使用了电磁场的细胞仪(如流式细胞仪或图像细胞仪)在微流体装置上分析样品的系统。为了增加细胞分选的操作效率,期望从只包含那些期望被研究或被隔离的细胞的样品开始。本领域中所公知的方法之一便是在细胞仪分析之前使样品经受离心处理。在离心处理后,该样品成分将被分离到层中。接着可以轻松地提取期望的成分。但是,这会使样品在从初始收集容器转移到微流体装置的过程中重新混合。通过将此分离能力与该微流体装置一体设置,可以减少层在离心处理之后的混合。这也消除了对多个容器的需要,并且减少了引入外界污染物(或者将潜在的有害样品成分释放到外界环境中)的可能性。

[0076] 图7概要地示出了微流体装置700,其中该微流体装置700用于实现包含在生物样

品中的期望生物成分的分选。在个别示例性实施例中，来自细胞供应器（未示出）的细胞被输入到入口 710，并且因电磁力而开始在基底 702 上的样品槽 720 处分离。其后，经由分析部 712 中的细胞仪对被分离的细胞进行分析（发生在分析部 712 中的具体操作对本发明而言并不是关键的）。根据所执行的分析结果，可以将细胞分选到不同的腔室 714 中。为了简化说明，图 7 示出了在芯片 702 的构件、区域或部件之间延伸的单个通道。但是，应理解，单个通道可以代表多个细胞仪通道和多种可行的通道构造，这对于本领域技术人员是显而易见的。

[0077] 在其进入到样品槽 720 之前，除了将荧光分子贴附到期望的细胞之外，可以使研究人员或医学专业人士期望经由细胞仪进行研究的细胞与磁性颗粒耦合。系统 700 所使用的磁性颗粒可以是亚微米级磁珠或本领域技术人员所公知的其它适合的磁性颗粒。来自入口 710 的生物样品经由流动通道 708 容纳在样品槽 720 中。电磁体 722 与样品槽 720 邻接，用于在样品槽内产生具有电磁力的电磁场。在一些实施例中，电磁体 722 可以暂时地、半永久地或永久地配置装载在基底 702 上。在其它实施例中，在未将电磁体 722 配置装载、贴附或连接到芯片 702 的情况下，将其引入到样品槽 720 附近。电磁体 722 可以是独立的，使得通过蓄电池或其它适合的方式向电磁体提供电能。在其它实施例中，将电源线 740 耦合到电磁体 722，以向其提供电能。在某些实施例中，可以永久地放置用来提供磁场的电磁体 722。当必须建立磁场时，可以将该电磁体机械地移动到正确的位置，并且当必须移除磁场时，可以使该电磁体离开此位置。

[0078] 如上所述，磁性颗粒被耦合至其中的细胞 724 将进入电磁场，被吸引到电磁体 722，并且将在电磁力的作用下，被推向与底面 720a 邻接的样品槽 720 底部。在某些实施例中，样品槽 720 流体连通到通道 709，流向与底面 720a 邻接的位置处的分析部 712。在上述实施例中，细胞 724 中开始被分离的分组（那些被磁性颗粒标记的细胞）将流入通道 709 并且流入分析部 712 中。为了使细胞 724 流入到通道 709 中，可以暂时地、半永久地或永久地减小或消除到电磁体 722 的电力，因此，电磁力将会相应地降低或消除。因此，通过被减小或被消除的力，细胞 724 将会自由地流到通道 709 中，流向分析部 712。在一些实施例中，磁体 722 足够强以将细胞 724 保持在槽 720 底部，直到电磁力被减小。

[0079] 在另一实施例中，磁体 722 不是电磁体，而是永久磁体。在此实施例中，可以简单地通过细胞 724 流到通道 709 中的样品流体的作用力来克服因磁体 722 而产生的磁力，使得细胞 724 将离开样品槽 720。在其它实施例中，改变磁体 722 的物理位置或磁强度来减小或消除作用在细胞 724 上的磁力，使得细胞 724 将从槽 720 流入通道 709 中并流向分析部 712。在一些实施例中，磁体 722 足够强以将细胞 724 保持在槽 720 底部，直到电磁力被减小。

[0080] 另外，样品槽 720 可以选择性地包括分别用以引入和排出清洗流体的入口 730 和废弃物端口 732。在执行细胞仪分析之前，清洗流体可以从样品槽中排出不希望或不期望的材料。在这样的实施例中，当清洗流体经由端口 730 和 732 流经样品槽 720 时，清洗流体将迫使、推动或引导生物样品中那些未被吸引到电磁体 722 的材料通过废弃物端口 732 排出。在某些实施例中，生物样品中未被磁化的材料将会仍然悬浮在样品流体中，并且流经样品槽 720 的清洗流体的作用力将会使这些未被磁化的材料离开该槽。因此，避免了未被磁化的材料进入到细胞仪分析部中，从而在分析和分选之前提供了样品纯化的初始步骤。在

这样的实施例中,将细胞 724 推向槽 720 的底面 720a 的电磁力大于流经槽 720 的清洗流体的作用力,使得不能通过废弃物端口 732 洗出细胞 724。

[0081] 在分析部 712 中对被分离的细胞 724 进行分析之后,细胞可以流经通道 713,并且基于这些细胞的不同特征将其分选到不同的槽或腔室 714 中。在某些实施例中,样品槽 714 具有流体连通到其中的出口(未示出),以便从槽中移除被分选的细胞。可以通过适当地控制分流器 750 将样品流体分流到槽 714 中。

[0082] 在一个实施例中,分流器 750 是能够通过电指令信号激发的压电装置,用以根据分流器 750 的位置,将流经分选通道 713 的流动机械地分流到槽 214a 或槽 214b 中。在其它实施例中,分流器 750 不是压电装置,而例如可以是壁引入以使流动转向的气泡,通过磁场移动或激发的流体导流板,或者本领域技术人员所公知的任何其它分流器或分选闸门。

[0083] 可以基于细胞的预期用途将这些细胞分选到不同的槽或腔室 714 中。例如,可以将具有相同特征或表型的细胞分选到其中细胞被固定以便于进行观察的一槽中,并且分选到其中细胞被维持为存活状态以经受额外机能测量的另一槽中。作为另一示例,可以将期望的细胞分选到提取槽或腔室中,并且可以将不期望的细胞分选到废弃物槽或腔室中。此外,与分选方法相对的是,可以基于体积将细胞沉积到槽中。芯片可以包括用以将细胞从分析部 712 物理地分流到腔室 714 中的机构,这是本领域公知的。此外,在完成分析之后,可以使细胞离开芯片 702。

[0084] 通过启动预分析和与预分选的分选方法,与只提供分析和分选的系统相比,系统 700 能够使研究人员或医学专业人士增加最终被分选的细胞的纯度。这在通过细胞仪分析分选期望的干细胞方面尤其具有优势,这是因为生物样品中干细胞的浓度总体较低,并且对其的期望值较高。

[0085] 样品槽 720 可以采取任何普遍的物理形式,例如形成到基底 702 的表面中的槽,其中该槽可以被关闭,可以保持打开和/或可以包括封盖。样品槽 720 被示为放置在芯片的顶部附近;但是,应理解,可以将样品槽放置在基底上的其他处。

[0086] 堆叠式微流体装置

[0087] 在某些实施例中,本发明总体涉及堆叠式微流体装置。以堆叠的配置方式设置微流体装置可以帮助保护该装置本身免受划伤、磨损或其它不期望的刺激。根据本发明,通过使该装置的前平面和后平面分离来堆叠微流体装置也有助于避免该微流体装置粘贴在一起。此外,本文所公开的实施例便于堆叠具有一个或多个非平面的微流体装置。例如,一个表面可以具有被耦合至其上的透镜,其中该透镜的部分伸出基底表面的平面。另外,堆叠式配置可能使研究人员、医学专业人士或其它用户更容易握住或操作该装置。它还便于使用自动化和/或机械元件控制该微流体装置。

[0088] 图 8 概要地示出了堆叠配置的微流体装置 800,如细胞仪芯片 802。可以将细胞仪芯片 802 总体设计为使得可以经由细胞仪分析来自生物样品的材料(发生在细胞仪分析部中的具体操作对本发明而言并不是关键的)。在某些实施例中,细胞仪分析可以包括,例如图像细胞仪或流式细胞仪。根据所执行的分析结果,可以选择性地将该样品中的材料分选到配置在芯片 802 上的一个或多个不同的槽或腔室中。此外,在分析完成之后,可以使细胞离开芯片 802。应理解,为了简化起见,芯片 802 的各种细胞仪构件和部件并未被示出,并且可以发生改变,而这对本领域技术人员是显而易见的。

[0089] 在某些实施例中,可以针对芯片 802 的前面或顶面 802a 进行细胞仪分析,并且可以将支腿 804 连接到芯片 802 的背面或底面 802b,使得芯片能够在彼此的顶部堆叠。在示例性实施例中,如图 9 最佳地示出,每个芯片 802 总体呈矩形,并且包括四个支腿 804,其中支腿 804 自表面 802b 向下延伸并且被布置在该装置的四个拐角附近。但是,应理解,每个芯片 802 上的支腿 804 的数目可以大于或小于四个,和/或被布置在芯片 802 上的其它位置处,这对于本领域技术人员是显而易见的。在某些实施例中,支腿 804 被布置在芯片 802 上的其它位置处,使得当处于堆叠配置 800 使,它们不会与邻接芯片 802 的表面 802a 上的任何细胞仪构件或部件产生干扰。

[0090] 在示例性实施例中,每个支腿 804 在其一末端处被连接到表面 802b,或与表面 802b 一体形成,并且在其另一末端处包括加宽的支脚部 805。另外,示例性支腿 804 大致呈圆柱形,其截面呈圆形。各个支脚部 805 与支腿 804 的其余部分相比,具有较大的直径,移向堆叠配置 800 提供额外的稳定性。但是,应理解,除了示例之外,芯片 802 和/或支腿 804 可以具有不同的形状。作为示例,可以省略支脚部 805,使得支腿 804 具有贯穿其长度的恒定直径。作为另一示例,支腿 804 可以具有正方形或矩形的截面形状。例如,在替代性实施例中,如图 10 所示,芯片 1002 可以在其相对末端处分别包括一个矩形支脚 1004。应理解,支腿 804、1004 只是能够被包含在微流体装置中的众多可能堆叠元件的两个非限制性示例,这对本领域技术人员是显而易见的。

[0091] 具有 3-D 水力聚焦以使精细胞对准的微流体装置

[0092] 在某些实施例中,本发明总体针对能够使用 3-D 水力聚焦以使位于该装置的流动通道中的精细胞对准的微流体装置。该装置包括与精细胞流经其中的样品细胞仪通道结合的鞘液子通道,该子通道被布置在两个不同的平面中,以沿合适的取向对准该样品通道中的精细胞,便于进行细胞仪分析。

[0093] 图 11 概要地示出了形成在基底 1102 上的微流体装置 1100,其中在该基底 1102 上,从生物样品(未示出)输入到入口 1110 的细胞,如精细胞在部 1120(下面将进行具体的描述)中被对准,并且经由分析部 1112 中的细胞仪(例如,流式细胞仪或图像细胞仪)被分析(发生在分析部 1112 中的具体操作对本发明而言并不是关键的)。根据所执行的分析结果,可以选择性地将细胞分选到一个或多个不同的槽或腔室 1114 中。在某些实施例中,样品槽 1114 具有流体连通到其中的出口(未示出),以便从槽中移除被分选的细胞。可以通过适当地控制分流器 1116 将样品流体分流到槽 1114 中。

[0094] 在一个实施例中,分流器 1116 是能够通过电指令信号激发的压电装置,用以根据分流器 1116 的位置,将流经分选通道的流动机械地分流到各个槽 1114 中。在其它实施例中,分流器 1116 不是压电装置,而例如可以是从壁引入以使流动转向的气泡,通过磁场移动或激发的流体导流板,或者本领域技术人员所公知的任何其它分流器或分选闸门。

[0095] 应理解,在芯片 1100 上所示出的各种构件和部件意在以简明的形式示出细胞仪处理的操作,并且在芯片 1100 上所示出的各种构件和部件可以发生很大的改变,这对本领域技术人员是显而易见的。

[0096] 可以基于细胞的不同特征将这些细胞分选到不同的腔室 1114 中。可以基于细胞的预期用途将这些细胞分选到不同的槽或腔室 1114 中。例如,可以将具有相同特征或表型的细胞分选到其中细胞被固定以便于进行观察的一槽中,并且分选到其中细胞被维持为存

活状态以经受额外机能测量,或细胞被存放以用作基于细胞的治疗步骤的一部分的另一槽中。在特定的实施例中,被分选和被隔离的精细胞可以用作人和动物的人工受精或体外受精。此外,上述医疗措施可用在不孕的情况下,或者可用来避免将伴性疾病传给下一代。作为另一示例,可以将期望的细胞分选到提取槽或腔室中,并且可以将不期望的细胞分选到废弃物槽或腔室中。与分选方法相对的是,可以基于体积将细胞沉积到槽 1114 中。在完成分析之后,可以使细胞离开芯片 1100。

[0097] 为了简化起见,图 11 的示例示出了两个腔室 1114;但是,应理解,微流体装置可以包括两个以上或以下的腔室,这对于本领域技术人员是显而易见的。另外,腔室 1114 被示为在基底 1102 的底部附近水平对准。但是,应理解,如果可以的话,可以将腔室 1114 布置在基底 1102 上的其它位置处,这对于本领域技术人员是显而易见的。另外,为了简化说明,图 11 示出了在基底 1102 的构件、区域或部件之间延伸的单个通道。但是,应理解,单个通道可以代表多个细胞仪通道和多种可行的通道构造,这对于本领域技术人员是显而易见的。

[0098] 图 12A 与图 12B 示出了可被引入到入口 1110 以便进行细胞仪分析的示例精细胞 1104,其中图 12A 示出了俯视图,并且图 12B 示出了侧视图。在某些实施例中,精细胞 1104 包括头部 1105 和尾部 1106。如图所示,一些精细胞的头部通常呈饼形,其宽度 W 大于其厚度 T 。为了便于细胞仪分析,如图 12A 中的取向,从头部开始分析细胞是有利的,如能够获取更多的信息,这是因为对大多数细胞来说,其宽度 W 可用于分析。

[0099] 因此,可以期望对精细胞 1104 进行取向,使得在进入细胞仪分析部 1112 之前,整个宽度 W 可用于分析。当细胞经过该装置的分析部 1112 时,该取向为细胞 1104 提供了最均匀的光强。对于大多数哺乳动物来说,为了获取用来测量产生女性的卵细胞与产生男性的精细胞之间的 DNA 差别的准确度,该取向是必需的。为了实现上述目的,芯片 1100 可以包括水力聚焦部,如准直部 1120,以对精细胞 1104 进行适当地取向(见图 13)。部 1120 可以用来使从注入管 1132 进入样品通道 1122 的精细胞对准,其中该注入管与生物样品 1110 耦合。如图所示,部 1120 包括位于同一平面,如 Y 平面上的鞘进入子通道 1124 和 1126,和位于同一平面,如 X 平面上的鞘进入子通道 1128 和 1130,以随流经样品通道 1122 的精细胞适当地进行对准和取向。鞘进入子通道被构造为使得从各个子通道进入到样品通道 1122 中的鞘液结合工作,以对通道 1122 中的精细胞进行对准和取向。在个别示例性实施例中,子通道 1124 和 1126 的截面维度大于子通道 1128 和 1130 的截面维度,使得可从子通道 1124 和 1126 进入通道 1122 的鞘液的量大于从子通道 1128 和 1130 进入的鞘液的量。因此,在个别示例性实施例中,鞘液将利用 X 平面上总体较大的宽度维度和 Y 平面上总体较小的厚度维度来使精细胞对准。另外,鞘流动子通道子 1124、1126、1128 和 1130 也可以用来将精细胞布置在通道 1120 的中心处,以更好地确保细胞流经该光学系统的焦点,其中该光学系统可以是细胞仪分析部的一部分。

[0100] 通过使用具有坡口端的管 1132 可使该合适的取向增强,该坡口端的平面与从子通道 1124 和 1126 进入的鞘来流对准,或面向从子通道 1124 和 1126 进入的鞘来流。该系统将会在从管 1132 的破口末端流出的精细胞的芯层样品流与流经管 1132 的末端的鞘液之间产生层流。当其经过芯片 1100 的分析部 1112 时,该芯层样品流将保持非对称形状,其中沿 X 方向测量的宽度大于沿 Y 方向测量的高度。当精细胞经过分析部 1112 时,这种非对称将使得精细胞仍然保持合适的取向。

[0101] 应理解,部 1120 可以与基底 1102 一体形成,或可以本领域技术人员公知的适当方式连接到基底 1102。在替代性实施例中,在具有通道将部 1120 的出口连接到基底 1102 上的流动通道的情况下,部 1120 可与基底 1102 分离,

[0102] 具有声学能量耦合器的微流体装置

[0103] 本发明的某些实施例总体针对具有声学能量耦合器的微流体装置,其中该声学能量耦合器被布置在该微流体装置的构件内,以破坏包含在该构件中的细胞。对细胞的破坏会导致释放这些细胞内的内部分子材料,使得研究人员或医学专业人士可以观测或测试该材料。在某些实施例中,在细胞仪,如非限制性示例流式细胞仪或图像细胞仪分析之后,将细胞分选到容器中。

[0104] 图 14 概要地示出了形成在基底 1402 上的微流体装置 1400,其中在该基底 1402 上,来自生物样品(未示出)的细胞或其它材料被输入到入口 1410,并且经由分析部 1412 中的细胞仪(例如,流式细胞仪或图像细胞仪)被分析(发生在分析部 1412 中的具体操作对本发明而言并不是关键的)。根据所执行的分析结果,可以选择性地将细胞分选到一个或多个不同的槽或腔室 1414 中。在某些实施例中,样品槽 1414 具有流体连通到其中的出口(未示出),以便从槽中移除被分选的细胞。可以通过适当地控制分流器 1415 将样品流体分流到槽 1414 中。

[0105] 在一个实施例中,分流器 1415 是能够通过电指令信号激发的压电装置,用以根据分流器 1415 的位置,将流经分选通道的流动机械地分流到各个槽 1414 中。在其它实施例中,分流器 1415 不是压电装置,而例如可以是壁引入以使流动转向的气泡,通过磁场移动或激发的流体导流板,或者本领域技术人员所公知的任何其它分流器或分选闸门。

[0106] 应理解,在图 14 的示例中,在基底 1402 上所示出的各种构件和部件意在以简明的形式示出细胞仪处理的操作,并且在基底 1402 上所示出的各种构件和部件可以发生很大的改变,这对本领域技术人员是显而易见的。

[0107] 可以基于细胞的不同特征将这些细胞分选到不同的腔室 1414 中。可以基于细胞的预期用途将这些细胞分选到不同的槽或腔室 1414 中。例如,可以将具有相同特征或表型的细胞分选到其中细胞被固定以便于进行观察的一槽中,并且分选到其中细胞被维持为存活状态以经受额外机能测量,或细胞被存放以用作基于细胞的治疗步骤的一部分的另一槽中。作为另一示例,可以将期望的细胞分选到提取槽或腔室中,并且可以将不期望的细胞分选到废弃物槽或腔室中。此外,与分选方法相对的是,可以基于体积将细胞沉积到槽 1414 中。芯片可以包括用以将细胞从分析部 1412 物理地分流到腔室 1414 中的机构,这是本领域公知的。在完成分析之后,可以使细胞离开基底 1402。

[0108] 为了简化起见,图 14 的示例示出了两个腔室 1414;但是,应理解,微流体装置可以包括两个以上或以下的腔室,这对于本领域技术人员是显而易见的。另外,腔室 1414 被示为在基底 1402 的底部附近水平对准。但是,应理解,如果可以的话,可以将腔室 1414 布置在基底 1402 上的其它位置处,这对于本领域技术人员是显而易见的。另外,为了简化说明,图 14 示出了在基底 1402 的构件、区域或部件之间延伸的单个通道。但是,应理解,单个通道可以代表多个细胞仪通道和多种可行的通道构造,这对于本领域技术人员是显而易见的。

[0109] 根据本发明,芯片 1400 上的至少一个构件包括声学能量耦合器,以破坏包含在该构件内的细胞。为了阐明示例,图 15 以被定位在腔室 1414 内的探测器的形式示出了声学

能量耦合器 1416。但是,应理解,可以将声学能量耦合器定位在芯片 1400 的其它构件内,其中其它构件包括输入槽或芯片上的其它细胞收集容器。如图所示,声学能量耦合器 1416 响应于从声学能量源 1420 接收的能量发生振动或摆动。应理解,除了如图所示的之外,耦合器 1416 可以具有不同的尺寸、形状和 / 或其它构造,和 / 或在腔室 1414 中具有不同的取向,这对于本领域技术人员是显而易见的。

[0110] 在某些实施例中,将细胞悬浮于其中的样品流体收集在腔室 1414 内。声学能量耦合器 1416 用来响应于从源 1420 接收的音能而在样品流体内发生振动,以破坏这些细胞。可以声能(例如,超声能)的形式将音能传递到耦合器 1416,使得将超声处理是紧挨到样品流体以搅动其中的细胞。在某些实施例中,耦合器 1416 用来在谐振频率(与最大振幅相对应)处发生振动或搅动,以最大化破坏该细胞。

[0111] 在某些实施例中,对细胞的破坏足够强,以使这些细胞成分破裂,并且使细胞的内部分子材料释放到样品流体中。接着可以通过研究人员或医学专业人士观测或测试该内部分子材料。另外,在示例性实施例中,在细胞仪分析并将细胞分选到腔室 1414 中之后,破坏这些细胞。但是,应理解,可以将耦合器放置在不同的芯片构件,如初始细胞库中,其中这些芯片构件在进行细胞仪分选之前容纳细胞。在细胞被破坏并且分子材料被释放在初始细胞库中之后,可以使该分子材料进入到分析部 1412 中以便进行细胞仪分析。

[0112] 在某些实施例中,声学能量源 1420 与声学能量耦合器 1416 分离,并且可以包括相对于芯片 1400 上的生物细胞引入细胞仪分析的外部设备系统。在其它实施例中,在完成细胞仪分选并将芯片 1400 从引入分析的外部系统中移除之后,可以将声学能量源 1420 单独施加到芯片 1400。

[0113] 具有产生相转变的透镜的微流体装置

[0114] 本发明的某些实施例总体针对用于通过细胞仪(如流式细胞仪或图像细胞仪)在微流体装置上分析样品的系统。为了在细胞仪操作期间检测或识别细胞,电磁辐射(如可见光)的源(如激光)指向检测区域。当细胞经过流动通道内的检测区域时,光源使该细胞发出荧光。如上所述,可以在细胞到达该检测区域之前通过添加某种染料增强该效应。

[0115] 在某些应用中,必须将各种光学元件包含在该装置的基底中,以改变各个表面的光散射性质。具体而言,可以采用诸如全息元件或自由形态的透镜以及镜面之类的光成形元件,以在芯片的各个表面上传送强度 / 相位 / 极性空间图案或其它光转变效应。因为可以将这些元件形成或蚀刻到芯片基底中,所以一旦使用了初始浇铸或蚀刻处理,则再现它们的成本较低。更具体而言,也可以将用来使进入激发光束聚焦的透镜制造为使得它将在通道检测区域内传送个别空间光图案。

[0116] 图 16 概要地示出了一个实施例,其中聚焦透镜 1602 被安装到基底 1604 上的微流体装置 1600 的表面。当样品细胞 1606 经过检测流动通道 1608 时,激发光 1610 在该样品细胞 1606 上聚焦。聚焦透镜 1602 的表面 1612 被形成、被蚀刻、或被处理为使得它将在入射激发光 1610 上施加空间变化的相变。该相变会转变成检测区域上的光全息效应,这能够使得形成特定的空间图案或设计。

[0117] 在制造聚焦透镜 1602 的过程中,可以利用 UV 光敏材料涂覆表面 1612。接着可以根据期望的图案或图像,使用脉冲激光器来扫描表面 1612 以使该 UV 材料曝光,并且在该表面中产生很小的变体。当聚焦透镜 1602 随后被安装到基底 1604 并且接收激发光 1610

时,它将会在检测通道 1608 内产生全息效应。在某些实施例中,与利用 UV 材料只涂覆表面 1612 相对,聚焦透镜 1602 整体可以由 UV 材料制成。在其它实施例中,可以通过浇铸或本领域公知的其它方法来实现表面 1612 上的变体,用以再现全息效应。以与全息元件类似的方式,首先,也可以通过使用本领域公知的微机械技术构造蜡纸底稿,诸如由计算机形状转变成的钻石般物,将其它自由形态的透镜和镜面形状与聚焦透镜 1602 结合。接着,可以通过浇铸或本领域公知的其它手段复制该蜡纸底稿。

[0118] 可以选择特定的图案或期望的全息效应来实现各种用途。作为一个非限制性示例,可以使用全息透镜或自由形态的光学元件来产生空间变化的图案,以确定用于检测通道的独特“签名”。为了增加细胞总吞吐量,往往使用多个流动通道来并行地测量和 / 或分选细胞仪装置,如液滴细胞分选器或微流体装置中的细胞。在这样的系统中,检测光学系统和相关联的电子处理设备必须能够区分从各个通道接收的信号。实现此目的的方法之一便是使单个激发光源同时指向所有的通道,但是可以使激发光束的图案发生空间的改变或设计,使得不同的激发图案指向各个通道的检测区域。当细胞经过特定通道的光束图案时,在所发出的荧光信号中将会产生一系列时间 - 空间峰值。在此情况下,可以使用上述相变透镜来产生全息效应。该全息效应会将均匀的光束转变成各个通道的检测区域内的独特空间图案。

[0119] 具有透射式透镜和反射式透镜的微流体装置

[0120] 在现有技术的系统中,仅将光源施加到细胞仪装置的一侧,其中检测光学系统也只检测来自样品细胞一侧的荧光。经常使用透射式透镜或其它光学系统来使所发出的光子的一部分聚焦到该检测光学系统上,但是,这限制了从荧光样品细胞中捕获的光子数量,这是因为从其它方向射出的光子不被检测光学系统所捕获。可以增加光强度以产生更多的荧光光子,但这也会增加信号中的噪声。另一解决方案便是使用放置在不同位置处的多个检测光学系统,尽管这也大大增加了成本。

[0121] 为了捕获尽可能多的、由荧光样品细胞所产生的光子,可以将反射式透镜放置在与检测光学系统相对的、样品细胞的一侧上。该反射式透镜将捕获未被透射式透镜捕获的大部分光子,并通过透射式透镜将其反射到检测光学系统中。这使得该系统能够在不增加所接收信号中的噪声的情况下,在给定的激发光强度下捕获更多的发射光子。

[0122] 图 17 概要地示出了用于通过细胞仪分析样品的系统 1700。该系统 1700 包括形成在基底 1702 (在此通过侧视图示出) 上的微流体细胞仪装置,其中该基底 1702 具有包含在其中的检测流动通道 1704。为了简化说明,图 17 示出了位于基底 1702 内部的单个通道。但是,应理解,单个通道可以代表多个细胞仪通道和多种可行的通道构造,这对于本领域技术人员是显而易见的。在基底 1702 上,也可以包含其它各种构件,但这对本发明而言并不是关键的。

[0123] 系统 1700 还可以包括透射式透镜 1706、反射式透镜 1707、激发光源 1710、分色镜 1712 和检测光学系统 1714。如图 17 所示,可以将透射式透镜 1706 和反射式透镜 1707 安装到基底 1702 或一体地形成在基底 1702 内部,或者可以根据需要或特殊应用的成本考虑,将其放置在基底 1702 外侧。激发光源 1710 可以包括激光器或本领域公知的其它电磁辐射源。检测光学系统 1714 可以包括本领域公知的各种光敏机构,例如光电倍增管、光电二极管或雪崩光电二极管。

[0124] 在操作过程中,激发光源 1710(通常为激光器)将光束引向分色镜 1712。该分色镜被构造为将从激发光源 1710 接收的波长反射到检测通道 1704 内的检测区域 1716。当样品细胞 1718 流经检测区域 1710 并发出荧光时,所产生的光子沿多个方向射出。一些光子将朝聚焦透镜 1706 向后发射,经过分色镜 1712(其被构造为透过荧光波长),并且被检测光学系统 1714 感应。从芯片 1702 的相对侧射出的光子将被反射式透镜 1707 捕获,向后指向透射式透镜 1706,并且聚焦到检测光学系统 1714 中。

[0125] 透射式透镜 1706、检测通道 1704 和反射式透镜 1707 之间的相对距离被设置为使得从反射式透镜 1707 反射的光也可以通过透射式透镜 1706 适当地聚焦到检测光学系统 1714 上。例如,可能需要反射式透镜 1707 更靠近检测通道 1704。如图 17 所示,当透射式透镜 1706 和反射式透镜 1707 被直接安装在基底 1702 上时,这可以通过偏置检测通道 1704 来实现,以确保透射式透镜和反射式透镜相对于检测通道 1704 适当地放置。

[0126] 具有一体形成的光学系统的微流体装置

[0127] 经常将诸如透镜之类的各种光学装置放置在微流体装置中的入射光和 / 或出射光的光路上,以从待观测的样品细胞中传送大量的光子或将大量的光子恢复到待观测的样品细胞中。通常也需要上述光学装置来改变从检测区域中射出的光的数值孔径 (NA),使得它可以被光纤电缆适当地接收。因为被射出的光的 NA 通常较高,而光纤电缆的 NA 通常较低,所以必须改变其 NA。如果在射出的光到达光纤电缆之前没有减小其 NA,则只有小部分射出的光成功地穿过了光纤电缆。

[0128] 但是,问题之一在于当入射光和出射光经过光路中的各种材料时,它们将受到折射。例如,当聚焦激发光束从空气进入到微流体芯片(其通常具有平面)的基底中时,该光束将在一定程度上发生折射,使得更难将该光束聚焦在芯片上的目的检测区域上。为了解决此问题,可以将聚焦透镜或其它光学系统形成在基底本身中。因为聚焦光学系统与芯片基底之间的空气间隙被消除,并且因为该聚焦光学系统和芯片基底由同一片材料的剩余部分形成,所以消除了该芯片材料内不期望的光束折射。

[0129] 图 18 示出了用于通过细胞仪分析样品的系统 1800。该系统 1800 包括形成在基底 1802(在此通过侧视图示出)上的微流体细胞仪装置,其中该基底 1802 具有包含在其中的检测流动通道 1804。为了简化说明,图 18 示出了位于细胞仪芯片 1802 内部的单个通道。但是,应理解,单个通道可以代表多个细胞仪通道和多种可行的通道构造,这对于本领域技术人员是显而易见的。在基底 1802 上,也可以包含其它各种构件,但这对本发明而言并不是关键的。

[0130] 基底 1802 还可以包括光学系统 1806,在此示为聚焦透镜。该光学系统 1806 可以一体地形成到基底 1802 中。这可以通过本领域公知的各种方法实现。例如,可以将光学系统 1806 形成在用来产生基底 1802 的浇铸模具中。在其它实施例中,可以在形成基本的芯片形成之后,从该芯片中加工或形成光学系统 1806。

[0131] 在操作过程中,激发光源 1810 将光束引向分色镜 1812。该分色镜 1812 被构造为将从激发光源 1810 接收的波长反射到检测通道 1804 内的检测区域 1814。可以使用本领域公知的其它各种光学构件将该发光光束引向光学系统 1806,其细节对本发明而言并不是关键的。当样品细胞 1816 流经检测区域 1814 并通过激发光束发出荧光时,所产生的光子将被光学系统 1806 汇聚或聚焦,经过分色镜 1812(其被构造为透过荧光波长),并且被检测光

学系统 1816 检测。检测光学系统 1816 可以包括本领域公知的各种光敏机构,例如光电倍增管。在某些实施例中,可以采用诸如光纤电缆之类的其它构件来将射出的光束引到检测光学系统 1816。

[0132] 应理解,光学系统 1806 可以包括任何的光学元件,用以聚焦、传播、过滤或处理由检测区域 1814 内的样品细胞 1816 接收的或从检测区域 1814 内的样品细胞 1816 中产生的光束。另外,可以将多个光学元件安装在基底 1802 上。作为一个非限制性示例,可以将具有反射涂层的附加光学系统 1818 施加到基底 1802 的相对表面 1820 中,以将额外的光子引回到检测光学系统 1816。在某些应用中,如图 18 所示,将光学系统 1818 作为凹入(与突起相对)形成到表面 1820 中是具有优势的。这使得基底 1802 的表面 1820 被放置为与安装装置(未示出)的相应平面对齐。

[0133] 具有在地理特征上呈非一体化的选择性试剂传送结构的微流体装置

[0134] 在许多情况下,在实施细胞仪分析之前可能需要添加试剂以活化或制备样品。可以在制造过程中将需要的试剂添加到微流体装置中,从而消除了对用户在使用过程中添加试剂的需要。但是,这要求制造商将多个不同种类的装置保持在库中,其中每个装置适于在较小的场合下使用。为了增加生产效率和减少库存成本,可以将试剂形成在单独的结构中,其中该单独的结构可以在制造之后与微流体装置配合。这使得制造商能够生产单个微流体装置,其中该单个微流体装置能够容纳多个不同的试剂传送结构。

[0135] 图 19 示出了被构造为容纳单个试剂传送结构 1902 的微流体装置 1900。该装置 1900 可以包括通过微流体流动通道 1908 连接到试剂容纳部 1906 的细胞仪分析部 1904。该装置 1900 还包括用以容纳待分析样品的样品容纳端口 1910。样品容纳端口 1910 通过微流体流动通道 1912 连接到细胞仪分析部 1904。在将样品添加到装置 1900 之前,试剂传送结构 1902 与试剂容纳部 1906 配合。可以在使用过程中通过用户或在组装装置 1900 之前通过制造商来执行该配合。细胞仪分析部 1904 对所接收的样品和试剂混合物执行细胞仪分析。例如,细胞仪分析部 1904 可以将期望的细胞分选到提取槽 1914 中并且将不期望的细胞分选到废弃物槽 1916 中。发生在细胞仪分析部 1904 中的具体操作和微流体通道的具体路径对本发明而言并不是关键的。

[0136] 试剂容纳部 1906 被制造为具有多个容纳槽 1918,其中该容纳槽 1918 以网格或其它标准化布局配置。接着可以制造具有试剂部 1920 的多个试剂传送结构 1902,其中该试剂部 1920 在试剂传送结构 1902 与试剂容纳部 1906 配合时,在与容纳槽 1918 的至少一者相对应的位置处容纳试剂。在某些实施例中,也可以标准化具体试剂类型在试剂传送结构 1902 内的位置。例如,在与特定容纳槽 1918 相对应的位置处的任何试剂可以是同一类型。由此,如果要将试剂施加到特定试剂传送结构 1902 中,可以最优化用来在制造过程中将试剂施加到试剂传送结构 1902 的设备,以便将某种试剂类型施加到同一位置。这使得可以基于必需试剂的已知位置来设计并最优化细胞仪分析部 1904 和各种微流体流动通道 1908。

[0137] 试剂传送结构 1902 可以由本领域公知的、适于存放试剂的任何材料制成。例如,试剂传送结构 1902 可以是带或其它柔性带条的形式,其中施加黏合剂以将试剂传送结构 1902 保持在试剂容纳部 1906 的合适位置。在某些实施例中,可以在装置 1900 内将试剂容纳部 1906 做成凹形,其中试剂传送结构 1902 由刚性材料制成并且被设计为过渡配合在试剂容纳部 1906 内,以确保试剂传送结构 1902 的合适布置。容纳槽 1918 也可以包括销,其

中该销将刺穿试剂部 1920 以将包含在试剂部 1920 内的试剂释放或暴露到容纳槽 1918 和通道 1908 中。

[0138] 图 20 示出了另一实施例,其中包含在试剂机构 2002 上的试剂 2020 通过水溶性屏障 2040 保持在结果 2002 内。活化材料 2045 被包含在装置 2000 内的试剂容纳部 2006 上。一旦将试剂结构 2002 施加到试剂容纳部 2006,则该活化材料 2045 将使水溶性屏障 2040 溶解,以将试剂 2020 释放到试剂容纳槽 2018 和流动通道 2008 中。在某些实施例中,可以使用聚焦激光光束或来自外部源的声能来使水溶性屏障 2040 溶解。在其它实施例中,水溶性屏障 2040 和 / 或活化材料 2045 可以由温敏材料制成,由此在试剂结构 2002 配合到装置 2000 后提高温度,以使水溶性屏障 2040 溶解。显示该温敏行为的各种材料是本领域公知的。例如,可以将试剂设置在琼脂糖中,其中该琼脂糖将保存包含在该试剂内的细胞,直到其受热分解。在某些实施例中,水溶性屏障 2040 可以包含微电子机械结构 (MEMS) 阀。

[0139] 在流动通道中包含光波导管的微流体装置

[0140] 本发明的某些实施例总体针对具有细胞仪通道的微流体装置,如细胞仪芯片,其中该细胞仪通道被构造为光波导管,以更好地引导光照通过该通道。在某些实施例中,使细胞仪通道与光波导管一致包含选择具有期望折射率的材料以形成通道壁。另外,光波导管通道的效果也可以取决于流经该通道的流体的折射率。尽管为了明了起见,根据本发明的波导通道在此只引导可见光,但是光只是能够被波导通道引导的多种可能电磁辐射的非限制性示例。

[0141] 图 21 概要地示出了系统 2100,其中该系统 2100 在微流体装置上具有示例性细胞仪通道 2102,作为相对于该装置发生的细胞仪(例如,流式细胞仪或图像细胞仪)分析的一部分(细胞仪分析的具体操作对本发明而言并不是关键的)。如图所示,通道 2102 具有拐角 2103,以产生两个大致垂直的部分 2102a 和 2102b。系统 2100 包括发光系统 2106 和沿通道部分 2102a 的集光系统 2107,其中使用光来照亮用以检测的细胞,作为细胞仪分析的一部分。在示例性实施例中,集光系统 2107 被布置为具有与经过通道部分 2102a 的流动的轴对准的光轴,并且发光系统 2106 被布置为具有与经过通道部分 2102 的流动的轴对准的光轴。应理解,系统 2106 和 2107 的具体构造、位置和操作必须正确地将辐射耦合在该系统中,但这对本发明而言并不是关键的,系统应为合适的系统对本领域技术人员是显而易见的。通过通道 2102 的生物样品的总流动由通道内的大头箭头 2120 示出。从系统 2106 射出的光向内穿过通道 2102 反射到集光系统 2107,并且总体由箭头 2122 表示。如此,通道 2102 充当光波导。

[0142] 通道 2102 接收来自发光系统 2106 的光照,并且使其沿通道段 2102a 的长度传播,朝集光系统 2107 射出。为了实现上述目的,通道 2102 的通道壁 2104 至少沿段 2102a 可以具有合适的折射率,以当光传播通过部分 2102a 时向内反射光。另外,可以沿部分 2102a 的全部长度或部分长度遮住(例如,利用反射性涂层)通道壁 2104,使得光仅沿期望的位置发射。这种配置能够使得通道仅将光射向期望的区域,其可以是连续发射或多点发射。

[0143] 在某些实施例中,通道 2102 可以包括与发光系统 2106 对准的壁部 2108 和与集光系统 2107 对准的壁部 2109,以使光射到通道中或从通道中射出光。另外,在某些实施例中,壁部 2108 和 2109 可以由不同于壁 2104 的其余部分的、具有不同折射率的不同材料构成,其中设计不同的材料和折射率使得光能够穿过其中发射。作为另一示例,在遮住通道壁

2104 的实施例中,壁部 2108 和 2109 可以不被遮住使得光可以透过。

[0144] 在流动通道中包含具有发射面的光波导的微流体装置

[0145] 在某些实施例中,可以将反射面布置在光波导通道的一端,以进一步帮助引导光照。图 22 概要地示出了系统 2200,其中该系统 2200 在微流体装置上的通道壁 2204 上具有示例性细胞仪通道 2202,作为相对于该装置发生的细胞仪(例如,流式细胞仪或图像细胞仪)分析的一部分(细胞仪分析的具体操作对本发明而言并不是关键的)。如图所示,通道 2202 具有位于大致垂直的通道部 2220a 与 2220b 之间的拐角 2210,和位于大致垂直的部 2202b 与 2202c 之间的拐角 2203。另外,通道部 2202b 总体包括邻接拐角 2210 的第一末端 2240 和邻接拐角 2203 的第二末端 2242。系统 2200 包括发光系统 2206 和沿通道部分 2202b 的集光系统 2207,其中使用光来照亮用以检测的细胞,作为细胞仪分析的一部分。在示例性实施例中,集光系统 2207 被布置为具有与经过通道部分 2202b 的流动的轴对准的光轴,并且发光系统 2206 被布置为具有与经过通道部分 2202b 的流动的轴对准的光轴。应理解,系统 2206 和 2207 的具体构造、位置和操作必须正确地将辐射耦合在该系统中,但这对本发明而言并不是关键的,系统应为合适的系统对本领域技术人员是显而易见的。

[0146] 另外,具有镜面 2232 的反射面诸如镜子 2230 被布置为邻接第一末端 2240,总体与集光系统 2207 相对。如图所示,镜子 2230 可以与通道壁 2204 一体形成。镜子可以呈如图所示的球形,或者它可以具有适于将从通道波导管耦合的发射向下反射到通道 2202。在其它实施例中,镜子 2230 可以是变形的镜子,在本领域统称为自适应光学系统。这样的镜子可以在反馈系统的控制下快速地调整其形状。

[0147] 通过通道 2202 的生物样品的总流动由通道内的大头箭头 2220 示出。从系统 2206 射出的光向内穿过通道 2202 反射到集光系统 2207,并且总体由箭头 2222 表示。如此,通道 2202 充当光波导管。

[0148] 通道 2202 接收来自发光系统 2206 的光照,并且使其沿通道段 2202b 的长度传播,朝集光系统 2207 射出。为了实现上述目的,通道 2202 的通道壁 2204 至少沿段 2202b 可以具有合适的折射率,以当光传播通过部分 2202b 时向内反射光。另外,可以沿部分 2202b 的全部长度或部分长度遮住(例如,利用反射性涂层)通道壁 2204,使得光仅沿期望的位置发射。这种配置能够使得通道仅将光射向期望的区域,其可以是连续发射或多点发射。此外,球形镜面 2232 被布置为向后朝末端 2242 处的集光系统 2207 反射可以到达末端 2240 处的镜子 2230 的光。镜子 2230 通过阻止从系统 2206 射出的光向外朝与系统 2207 相对的末端 2240 传播,提高了光波导通道的效率和效果。

[0149] 在某些实施例中,通道 2202 可以包括与发光系统 2206 对准的壁部 2208 和与集光系统 2207 对准的壁部 2209,以使光射到通道中或从通道中射出光。另外,在某些实施例中,壁部 2208 和 2209 可以由不同于壁 2204 的其余部分的、具有不同折射率的不同材料构成,其中设计不同的材料和折射率使得光能够穿过其中发射。作为另一示例,在遮住通道壁 2204 的实施例中,壁部 2208 和 2209 可以不被遮住使得光可以透过。

[0150] 用于检测和分选病毒微流体的装置

[0151] 本发明的某些实施例总体针对通过使样品经受发生在微流体装置,如细胞仪芯片上的细胞仪分析来检测身体样品中的病毒颗粒,并且将该病毒颗粒分选到配置在该芯片上的槽或腔室中。细胞仪分析可以是流式细胞仪分析或图像细胞仪分析。从身体样品中分选

病毒颗粒允许研究人员或医学专业人士捕获该病毒群体,以便进一步观测或测试。如本文所使用的,术语细胞仪使用广泛,并且意在包括测量任何合适的材料,其中该材料包括细胞和/或病毒颗粒,作为两个非限制性示例。

[0152] 如图 23 概要地示出,系统 2300 包括基底 2302,其中在该基底 2302 上,允许在细胞仪分析过程中检测病毒颗粒,并在分析之后分选该病毒颗粒。作为系统 2300 的一部分,将身体样品(未示出)输入到入口 2310,并且经由基底 2302 上的分析部 2312 中的细胞仪对其进行分析(发生在分析部 2312 中的具体操作对本发明而言并不是关键的)。根据所执行的分析结果,可以将被输入到入口 2310 并在分析部 2312 中被分析的身体样品中的病毒细胞分选到一个或多个腔室 2314 中。在某些实施例中,样品槽 2314 具有流体连通到其中的出口(未示出),以便从槽中移除被分选的细胞。可以通过适当地控制分流器 2316 将样品流体分流到槽 2314 中。

[0153] 在一个实施例中,分流器 2316 是能够通过电指令信号激发的压电装置,用以根据分流器 2316 的位置,将流经分选通道的流动机械地分流到任一槽 2314 中。在其它实施例中,分流器 2316 不是压电装置,而例如可以是壁引入以使流动转向的气泡,通过磁场移动或激发的流体导流板,或者本领域技术人员所公知的任何其它分流器或分选闸门。

[0154] 可以基于颗粒的预期用途将这些病毒细胞分选到不同的槽或腔室 2314 中。例如,可以将具有相同特征的病毒颗粒分选到其中细胞被固定以便于进行观察的腔室 2314a 中,并且分选到其中这些病毒颗粒与化学品反应以研究其药理功效的腔室 2314b 中,其中根据其它标准将剩余的样品分选到腔室 2314c 和 2314d 中。在其它实施例中,所有的腔室 2314 可以接收在分析部 2312 中被检测的病毒颗粒。芯片 2300 可以包括用以将细胞从分析部 2312 物理地分流到腔室 2314 中的机构,这是本领域公知的。此外,在完成分析之后,可以使身体样品中的材料离开芯片 2300。

[0155] 在示例性实施例中,存在四个腔室 2314;但是,应理解,可以具有四个以上或以下的腔室,这对于本领域技术人员是显而易见的。可以将具有多个腔室 2314 的基底 2302 设计为使得将预定数目的病毒颗粒分选到各个腔室中。为了便于说明,腔室 2314 被示为水平对准,但是,也应理解,可以将腔室 2314 布置在芯片上的其它位置处,这对于本领域技术人员是显而易见的。另外,为了简化说明,图 23 示出了在基底 2302 的构件、区域或部件之间延伸的单个通道。但是,应理解,单个通道可以代表多个细胞仪通道和多种可行的通道构造,这对于本领域技术人员是显而易见的。

[0156] 被输入到入口 2310 的身体样品可以是血液样品、尿液样品、组织样品、唾液样品、细胞样品及其结合体,但是并不限于这几个非限制性示例。除了检测和分选身体样品中任何病毒颗粒的存在之外,系统 2300 还可以被构造为测量样品中的病毒颗粒数目。在某些实施例中,在分析部 2312 处进行的细胞仪分析能够测量样品中的病毒颗粒数目。在其它实施例中,可以在分选之后,将病毒颗粒分选到基底 2302 上的(多个)腔室 2314 中,并对其进行分析或计数。

[0157] 本发明的某些实施例总体针对通过使样品经受发生在微流体装置,如细胞仪芯片上的细胞仪分析来检测(而不是分选)身体样品中的病毒颗粒。细胞仪分析可以是流式细胞仪分析或图像细胞仪分析。使用微流体装置经由细胞仪来检测病毒颗粒因能够控制该装置上的测试本质,因而提高了安全性,并且降低了研究人员或医学专业人士暴露的危害。另

外,该微流体装置能够使以相对较低的速率进行细胞仪分析,从而能够检测到较小的病毒颗粒。此外,该微流体装置也使得能够经由一个测量装置来检测细胞和病毒颗粒。如本文所使用的,术语细胞仪使用广泛,并且意在包括测量任何合适的材料,其中该材料包括细胞和/或病毒颗粒,作为两个非限制性示例。

[0158] 在某些实施例中,可以利用特定荧光探测器来标记病毒颗粒,其中该荧光探测器识别 RNA 中分子的特定序列。该细胞仪设备系统额可以基于光的散射来检测病毒颗粒的存在,并且可以基于荧光发射的强度和波长对这些颗粒进行分类。在一些实施例中,可以使用多个荧光探测器,并且可以检测同一生物样品中的多种病毒。

[0159] 除了检测被输入到 2310 处的身体样品中的任何病毒颗粒的存在之外,系统 2300 还可以被构造为测量样品中的病毒颗粒数目。在某些实施例中,在分析部 2312 处进行的细胞仪分析能够测量样品中的病毒颗粒数目。在其它实施例中,可以在分选之后,将病毒颗粒分选到基底 2302 上的槽或腔室中,并对其进行测量或计数。在包含 AIDS 测试的实施例中,可以经由细胞仪分析来测量身体样品中每单位血液中的病毒颗粒数目。对病毒颗粒数目进行计数,也被称作病毒数,可能是在对 AIDS 病人的健康进行评估过程中的重要测量。如果在分析部 2312 处执行分析之后,样品仍然留在基底 2302 上,则大大提高了处理该样品的安全性,如整个基底 2300 与任何其它被污染的医疗装置(如使用过的注射器)一样,可以是一次性的。

[0160] 显示色彩变化以标示使用或结果的微流体装置

[0161] 本发明的某些实施例总体针对能够在细胞仪分析之后提供可见指示以标示细胞仪分析结果的微流体装置,如细胞仪芯片。如上所述,该细胞仪分析可以是流式细胞仪分析或图像细胞仪分析。在示例性实施例中,可见指示是充满该装置的构件的染料所引起的色彩变化,在分析完成之后,该分析产生了阳性结果。

[0162] 图 24 示出了其中来自细胞供应器(未示出)的细胞被输入到基底 2402 上的入口 2410 并且被分析部 2412(发生在分析部 2412 中的具体操作对本发明而言并不是关键的)中的细胞器分析的系统 2400。根据所执行的分析结果,可以基于细胞的不同特征选择性地将这些细胞分选到不同腔室 2414 中。在某些实施例中,样品槽 2414 具有流体连通到其中的出口(未示出),以便从槽中移除被分选的细胞。可以通过适当地控制分流器 2416 将样品流体分流到槽 2414 中。

[0163] 在一个实施例中,分流器 2416 是能够通过电指令信号激发的压电装置,用以根据分流器 2416 的位置,将流经分选通道的流动机械地分流到各个槽 2414 中。在其它实施例中,分流器 2416 不是压电装置,而例如可以是壁引入以使流动转向的气泡,通过磁场移动或激发的流体导流板,或者本领域技术人员所公知的任何其它分流器或分选闸门。

[0164] 可以基于细胞的预期用途将这些细胞分选到不同的槽或腔室 2414 中。例如,可以将具有相同特征或表型的细胞分选到其中细胞被固定以便于进行观察的一槽中,并且分选到其中细胞被维持为存活状态以经受额外机能测量的另一槽中。此外,与分选方法相对的是,可以基于体积将细胞沉积到槽 2414 中。芯片可以包括用以将细胞从分析部 2412 物理地分流到腔室 2414 中的机构,这是本领域公知的。此外,在完成分析之后,可以使细胞离开基底 2402。为了简化说明,图 24 示出了在基底 2402 的构件、区域或部件之间延伸的单个通道。但是,应理解,单个通道可以代表多个细胞仪通道和多种可行的通道构造,这对于本领域

域技术人员是显而易见的。

[0165] 在图 24 所示的示例性实施例中,染料被包含在染料库 2420 中,并且被存放以备后来在该装置上使用。在对细胞进行分析和选择性地分选之后,并且如果该分选产生了如某些预定标准所定义的阳性结果,则可使该染料从库 2420 中流出,并且流经芯片 2402 的构件,以经由染料的颜色来提供阳性结果的可见指示。在个别示例性实施例中,可以使染料从库 2420 中释放,并且流到并流过样品通道 2409,流经分析部 2412,并且流到可选择的腔室 2414 中。在其它实施例中,染料可以从库 2420(其可以是不透明的,使得染料不可见)流到第二非不透明库(未示出)中,其中在第二非不透明库中,染料是从芯片 2400 的外部可见的。但是,应理解,染料的流动可以发生在不同的构造或配置中,这对于本领域技术人员是显而易见的。为此,染料库 2420 被示为在芯片的顶部附近水平对准;但是,应理解,可以将该库放置在芯片上的其它位置处。包含在库 2420 中并且被用来提供可见指示的染料可以本领域技术人员公知的任何适合染色染料。在其它实施中,包含在库中并且被用来提供可见指示的材料可以本领域技术人员公知的任何适合染色材料。在其它实施例中,提供了不止一个染料库,使得通过混合两个库的所容纳之物来产生色彩变化,以在混合时产生色彩变化。这些库中的材料可以是两种流体、一种流体和非流体,或者两种非流体。

[0166] 可以由芯片 2402 的用户手工操作来实现从库 2420 中释放染料。此外,可以通过控制执行细胞仪分析的装置或设备系统 2412,例如本领域公知的,通过打开将染料保持在库 2420 内的阀来实现从库 2420 中释放染料。库 2420 可以采取任何常规的物理形式,例如形成到基底 2402 中的槽 或本领域技术人员所公知的任何其它常规机构,其中该槽可以保持开放或可以包括封盖,其中该封盖被粘贴在适当的位置、通过与基底 2402 啮合的弹性材料咬合在适当的位置、通过自基底 2402 的表面延伸的导板滑向适当的位置。上述实施例意为多种可能构造的非限制性示例。

[0167] 此外,本发明设想了本领域技术人员公知的、提供细胞仪分析结果的可见指示的其它方式,其中释放染料是众多可能机构的非限制性示例。作为替代性示例,芯片 2400 可以包括被包含于其中的传感器,其中该传感器用于提供细胞仪分析结果的可见指示。作为另一替代性示例,可以通过提供将芯片 2400 浸泡在染色或染料溶液中的机构并且通过使该溶液透过该芯片的构件来完成可见指示。在另一替代性实施例中,基底 2402 的一部分被光敏材料涂覆,并且可以因电磁激励所引起的化学反应来使其颜色发生变化。作为另一替代性实施例,可以干燥的形式将染料沉积在芯片 2400 上,并且通过被分流到适当位置的鞘液使其水合。可以将芯片 2400 构造为基于细胞仪分析阳性结果提供可见指示,此外,可以将其构造为提供与不同的可能分析结果相对应的不同可见指示。

[0168] 在运行细胞仪分析以确定细胞、组织或其它材料是否包括危险或有害成分的实施例中,以 AIDS 或肝炎测试作为示例,提供阳性结果的可见指示将向研究人员或医学专业人士提供芯片 2400 包括危险或有害病菌的指示。以此方式,研究人员或医学专业人士必要时将对芯片 2400 进行灭菌、处理或控制。通过与该灭菌处理结合,可以用色彩变化来标示芯片 2400 已经被成功地净化,另外,在许多细胞仪分析环境下,研究人员或医学专业人士可能期望在出现阳性结果之后,对细胞样品执行一个或多个额外的细胞仪分析,以证实结果的准确性。必要时,阳性结果的可见指示允许研究人员或医学专业人士能够立即执行额外的测试。

[0169] 在其它实施例中,可以将芯片 2400 构造为简单地提供该芯片已经被使用的可见指示。例如,提供芯片 2400 已经被使用的明显指示可以避免细胞样品的意外污染,而这可能发生在通过被使用的芯片 2400 运行第二细胞样品时。本发明设想了本领域技术人员公知的、提供微流体装置已经被使用的可见指示的其它方式。作为另一示例,分析部 2412 和 / 或腔室 2414 可以包括耦合于其中的传感器,其中该传感器分别提供在分析部 2412 中完成分析或已将细胞收集到腔室 2414 中的可见指示。该传感器本身可以经由色彩变化来提供可见指示,或者可以指引芯片 2400 上的可见指示。甚至在另一实施例中,可以预先利用化学品或染料涂覆芯片 2400 上的废弃物腔室或通道,其中该化学品或染料与流体接触时颜色会发生变化。以此方式,可以经由色彩变化来识别其中具有流体流的任何芯片。

[0170] 另外,在某些实施例中,可以将芯片 2400 设计为当已经完成细胞仪分析处理的一个或多个步骤时提供可见指示。作为示例,一个或多个细胞样品入口 2410、分析部 2412 和腔室 2414 可以包括这样的机构,即提供已经完成与该构件相关联的特定步骤的可见指示的机构。因此,正在观察芯片 2400 的研究人员或医学专业人士可以轻松地确定细胞仪分析的目前状态,如已经装填了细胞样品、完成了细胞仪分析或已经分选了细胞。在细胞仪分析的特定阶段提供可见指示的机构可以是本领域技术人员公知的、用以提供可见指示的任何合适机构。

[0171] 通过本文所公开的所有实施例,在基底上使用微流体装置可以提供许多优势,其中之一便是可将微流体装置视为一次性部件,从而能够使用新的微流体装置来分选新的样本细胞。这大大简化了对分选设备的处理,并且降低了清洁设备的难度,从而避免了分选段之间的交叉污染,这是因为该样本流经的大部分硬件容易处理。该微流体装置还很适合在被处理之前进行灭菌(例如,通过 γ 辐照)。

[0172] 鉴于上述,尽管在附图和上面的描述中已经详细阐明并描述了本发明,但其特性同样被视为示例性而非限制性的,应理解,只示出并描述了示例性实施例,并且期望保护在本发明的实质范围内所作出的所有改变和修改。

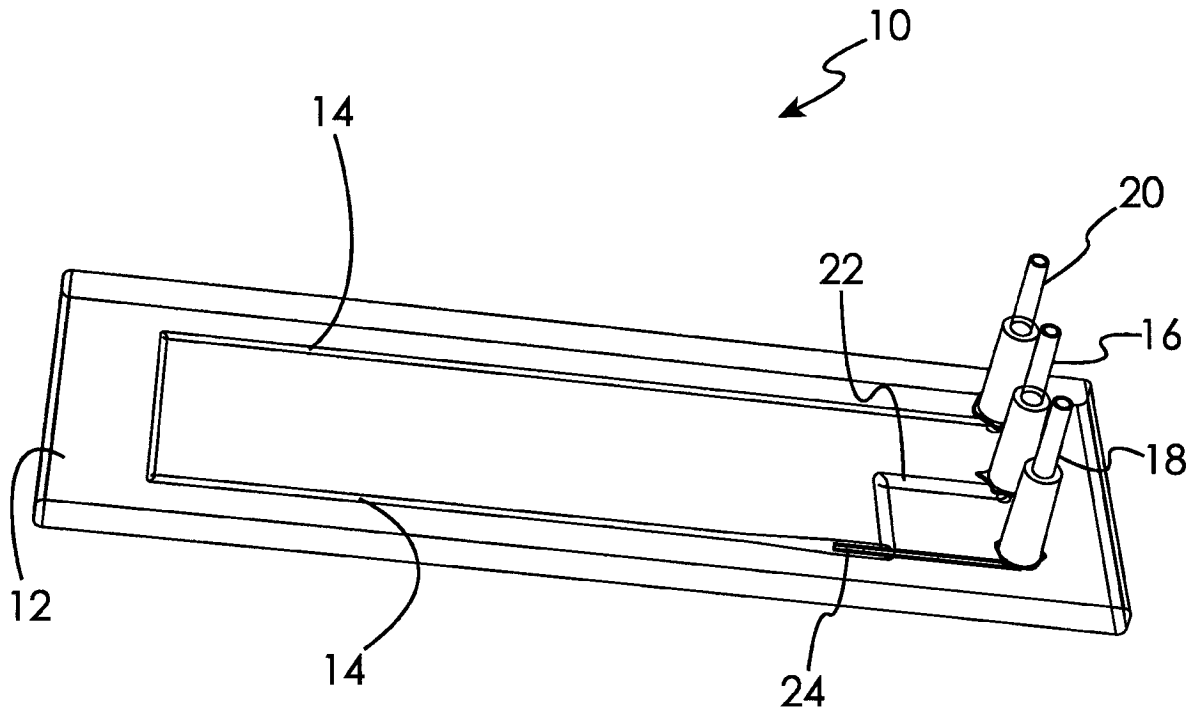


图 1(现有技术)

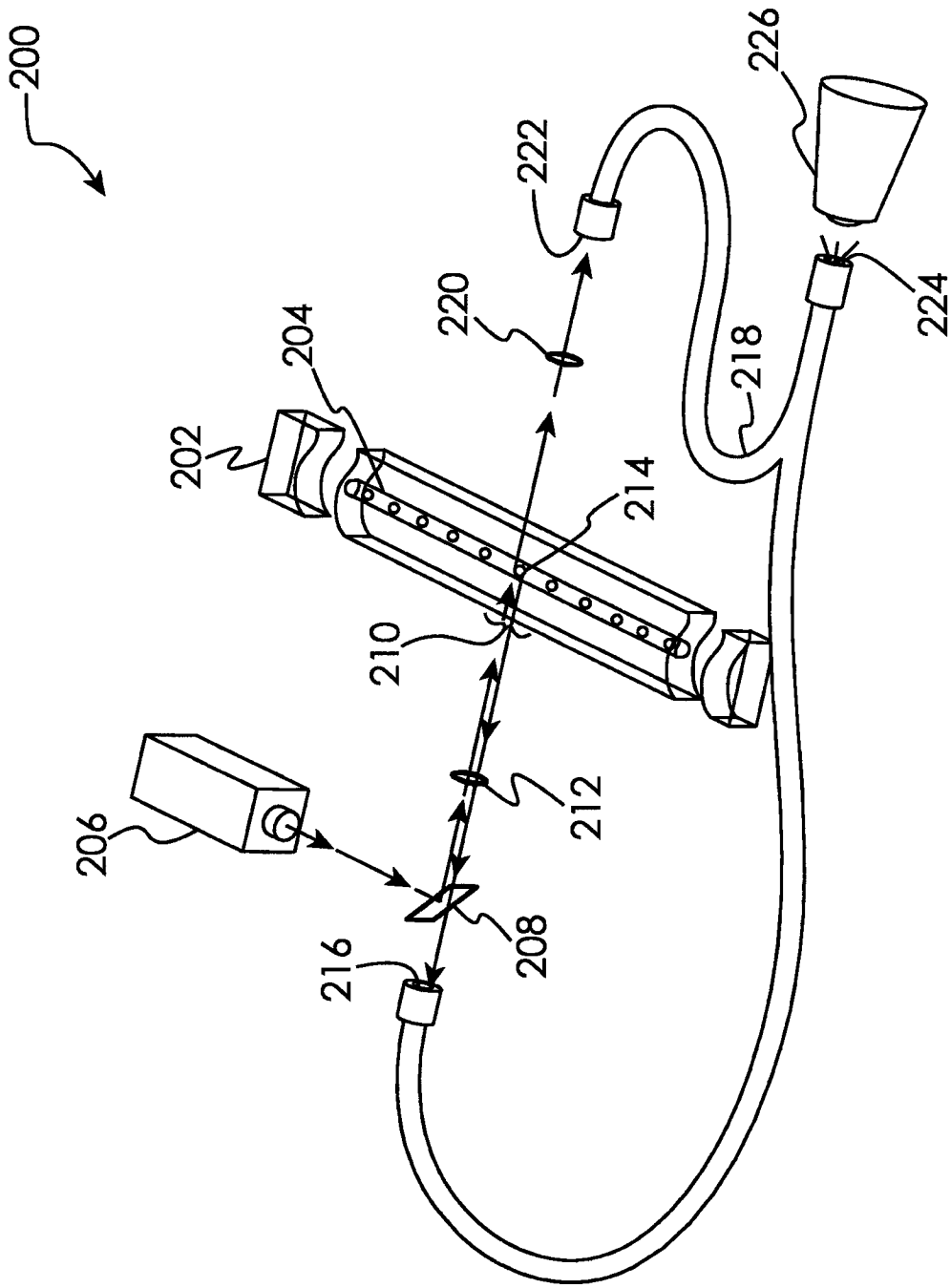


图 2

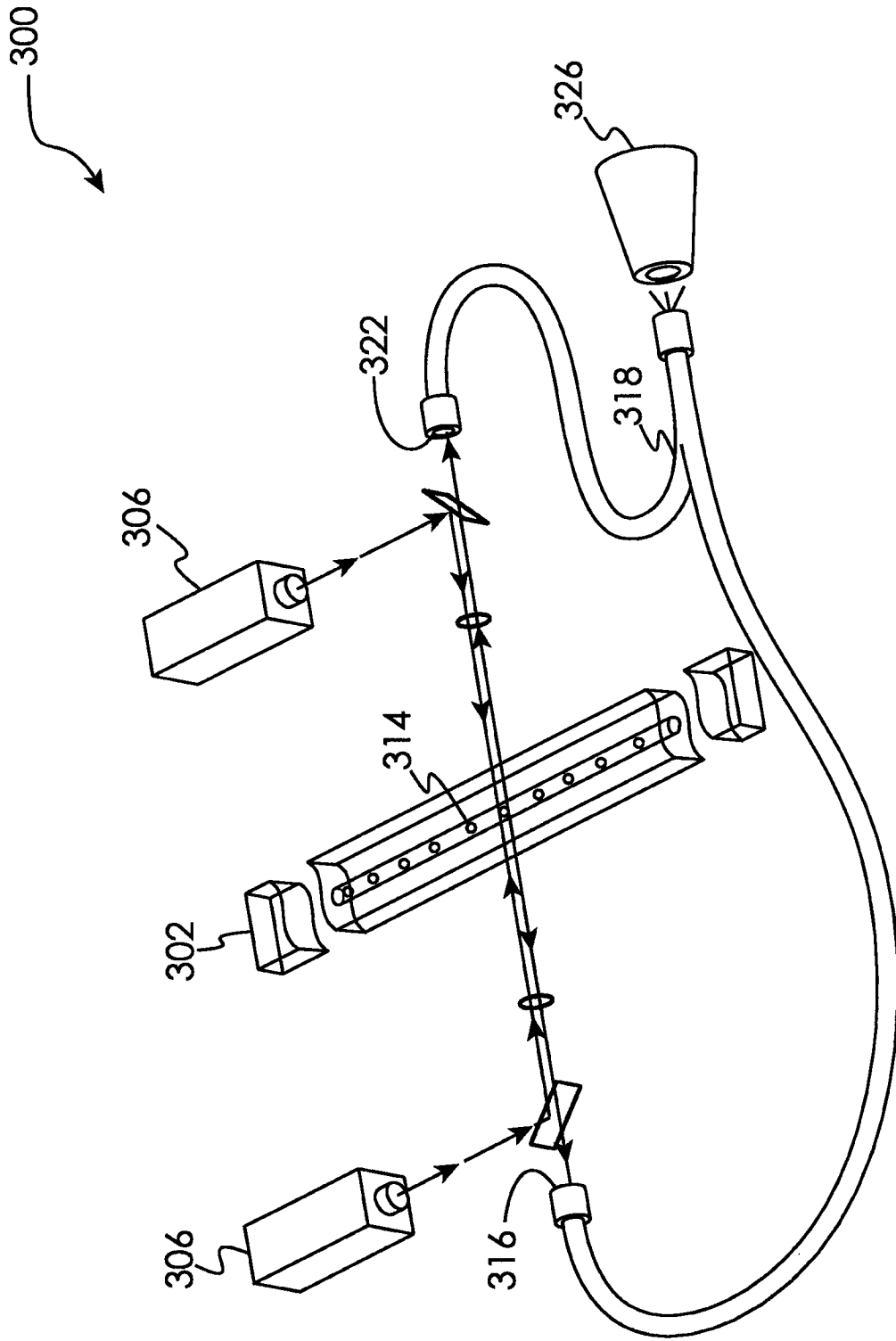


图 3

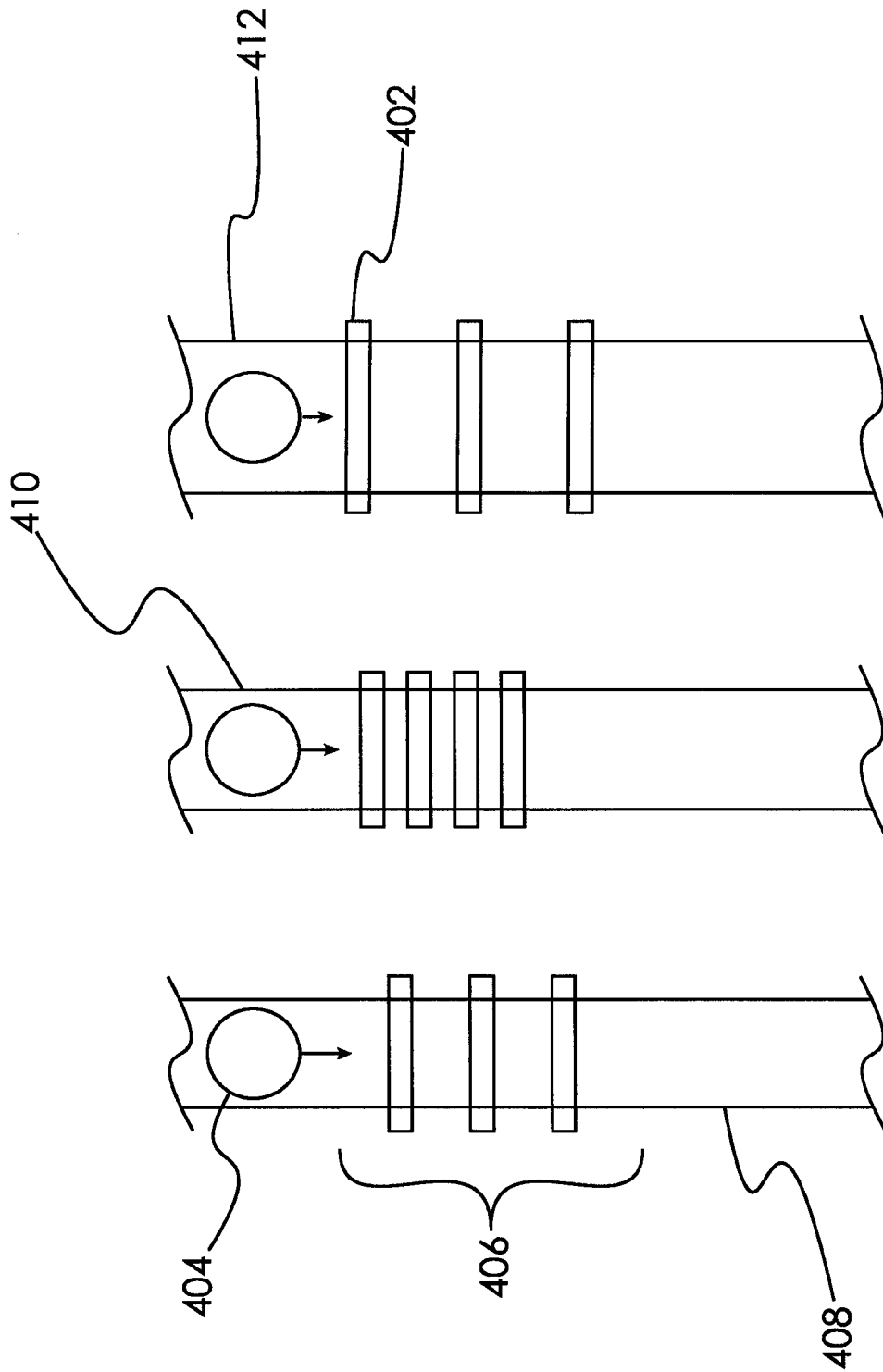


图 4

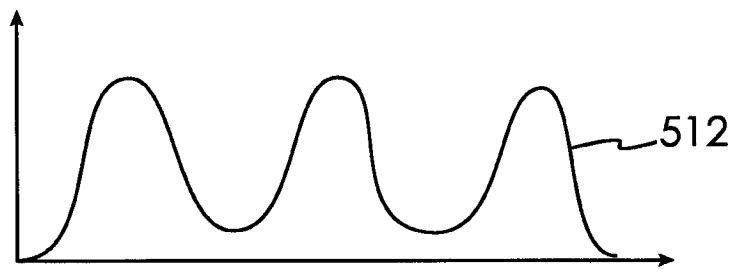
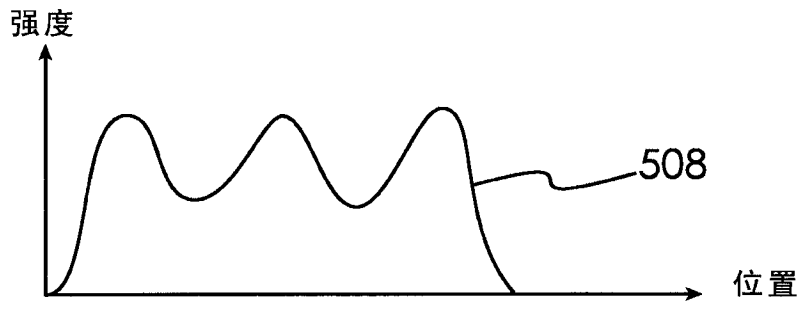


图 5

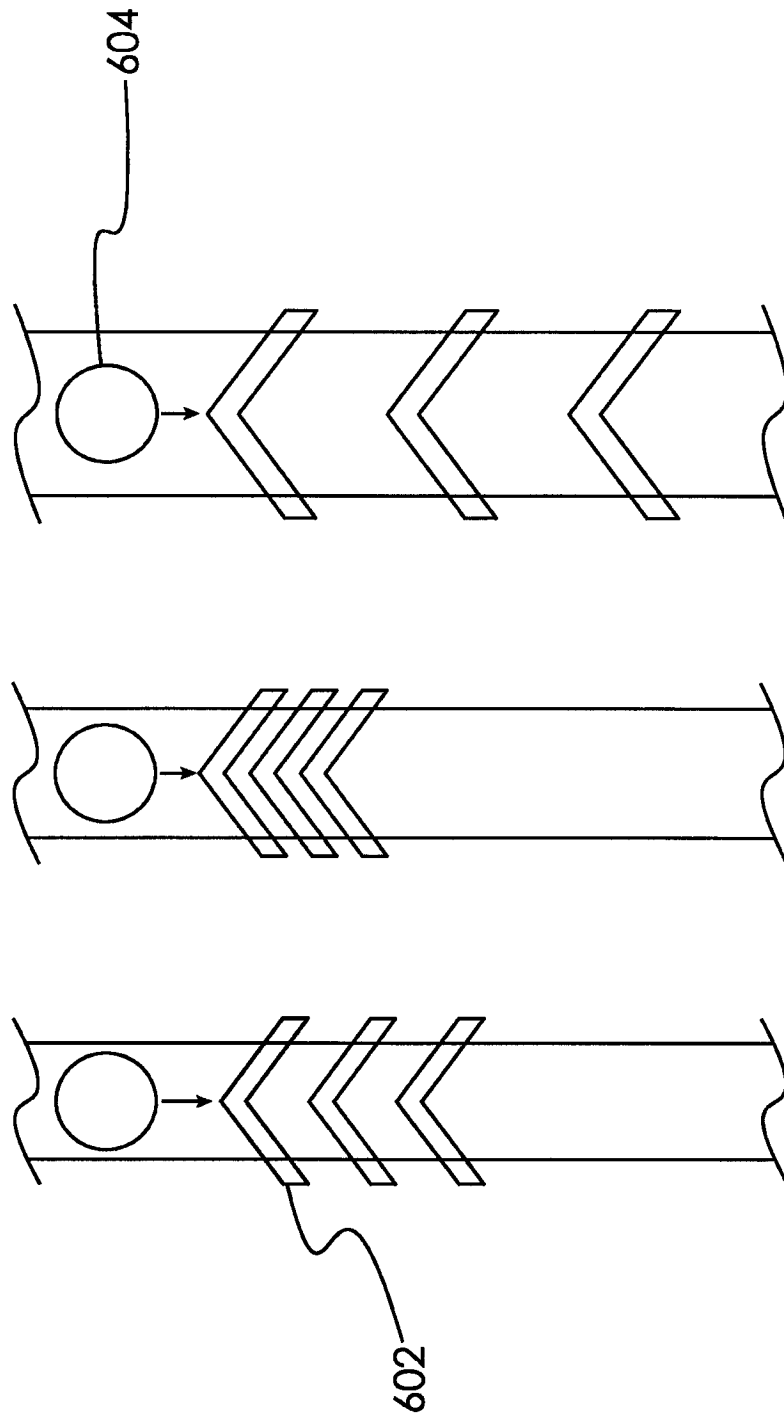


图 6

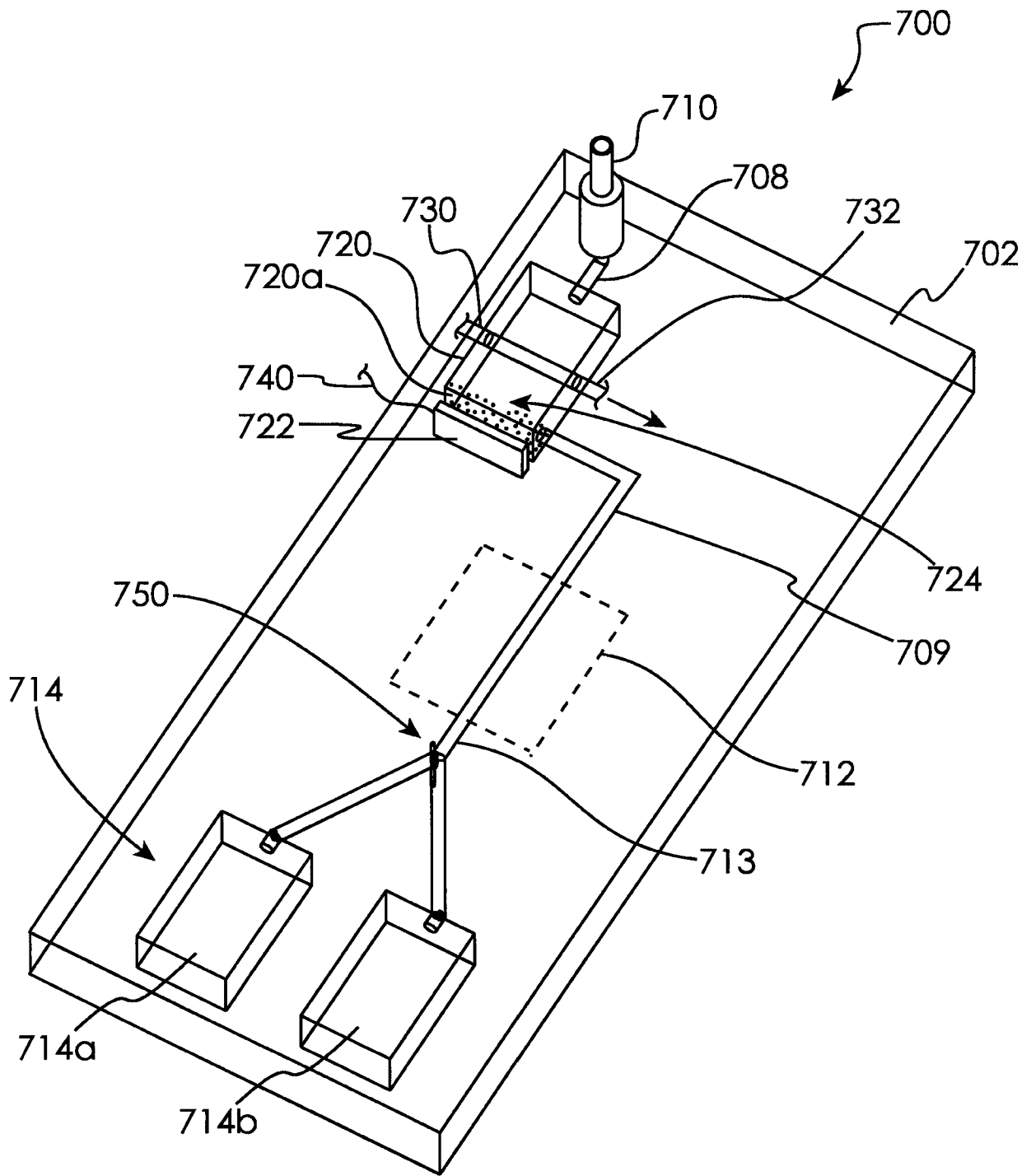


图 7

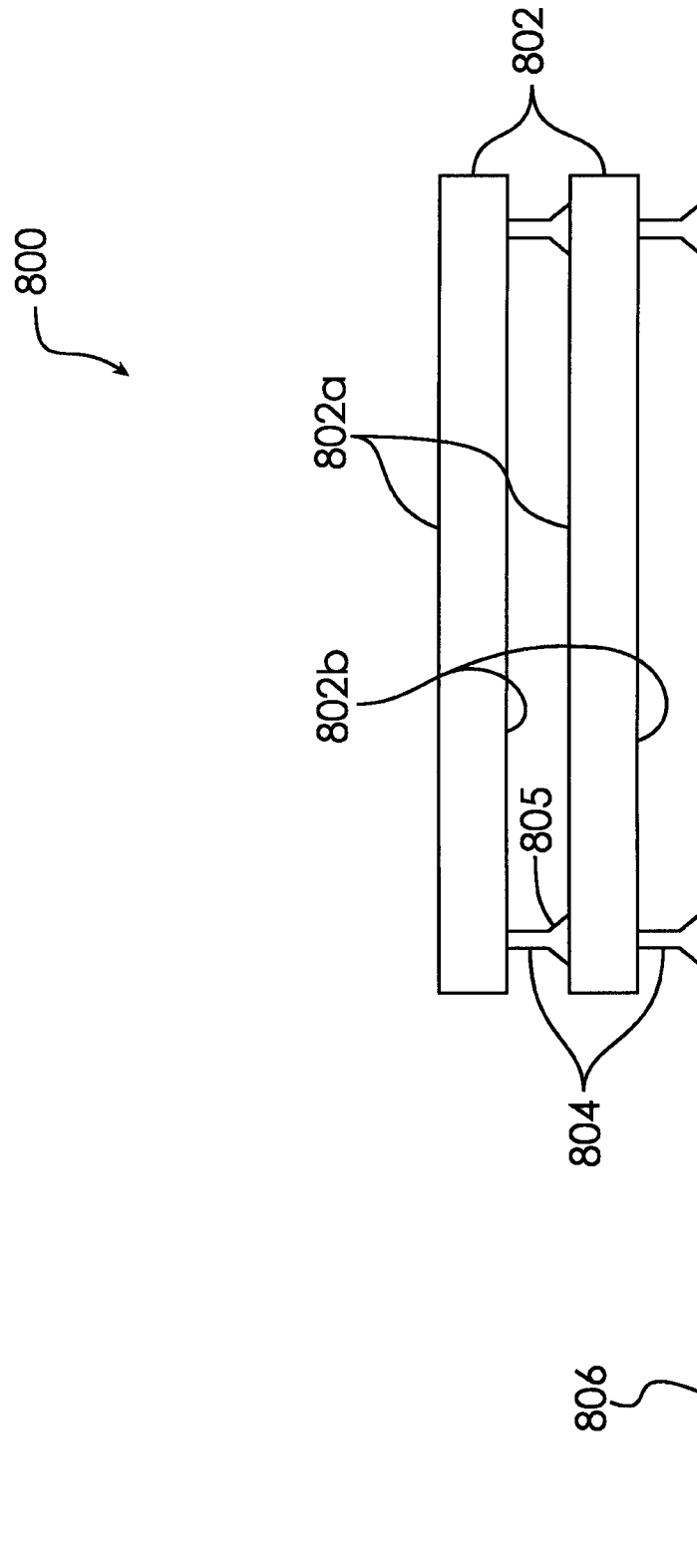


图 8

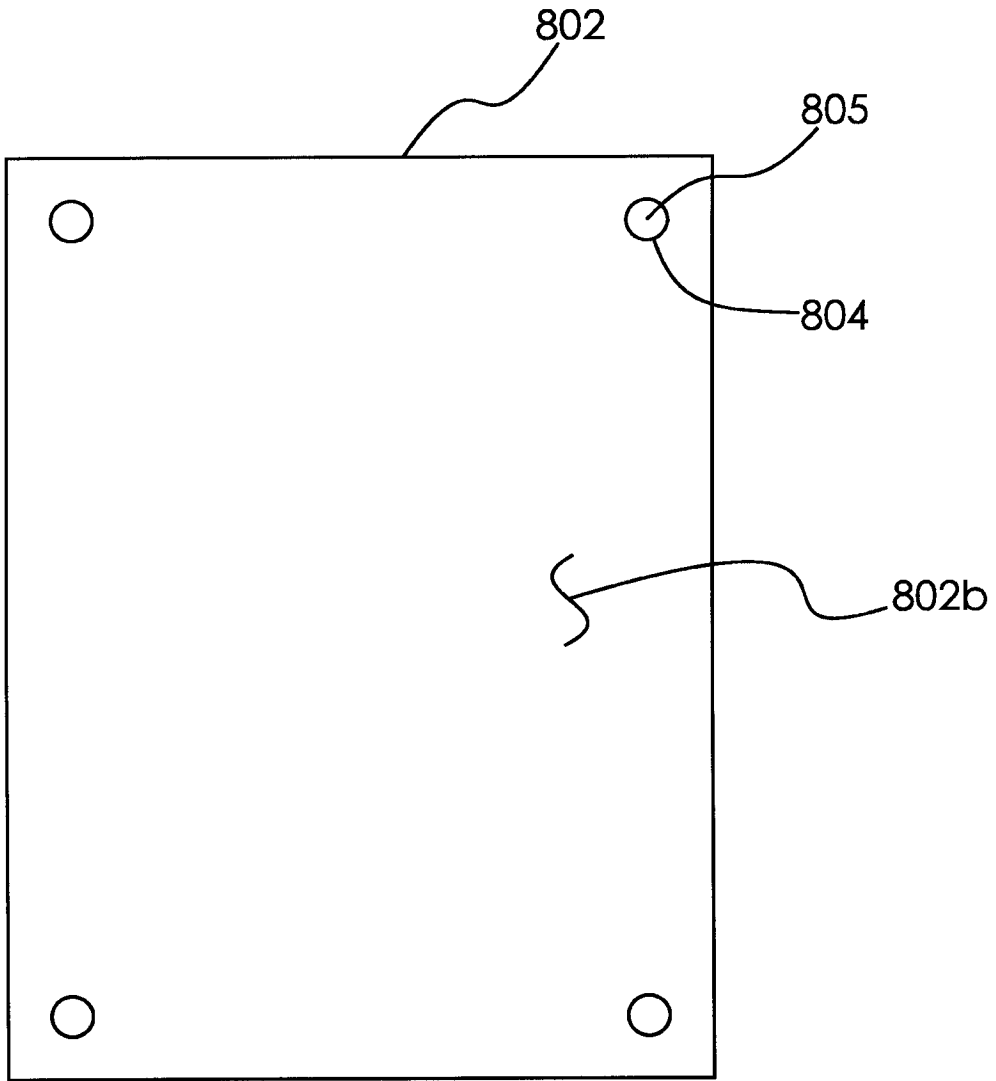


图 9

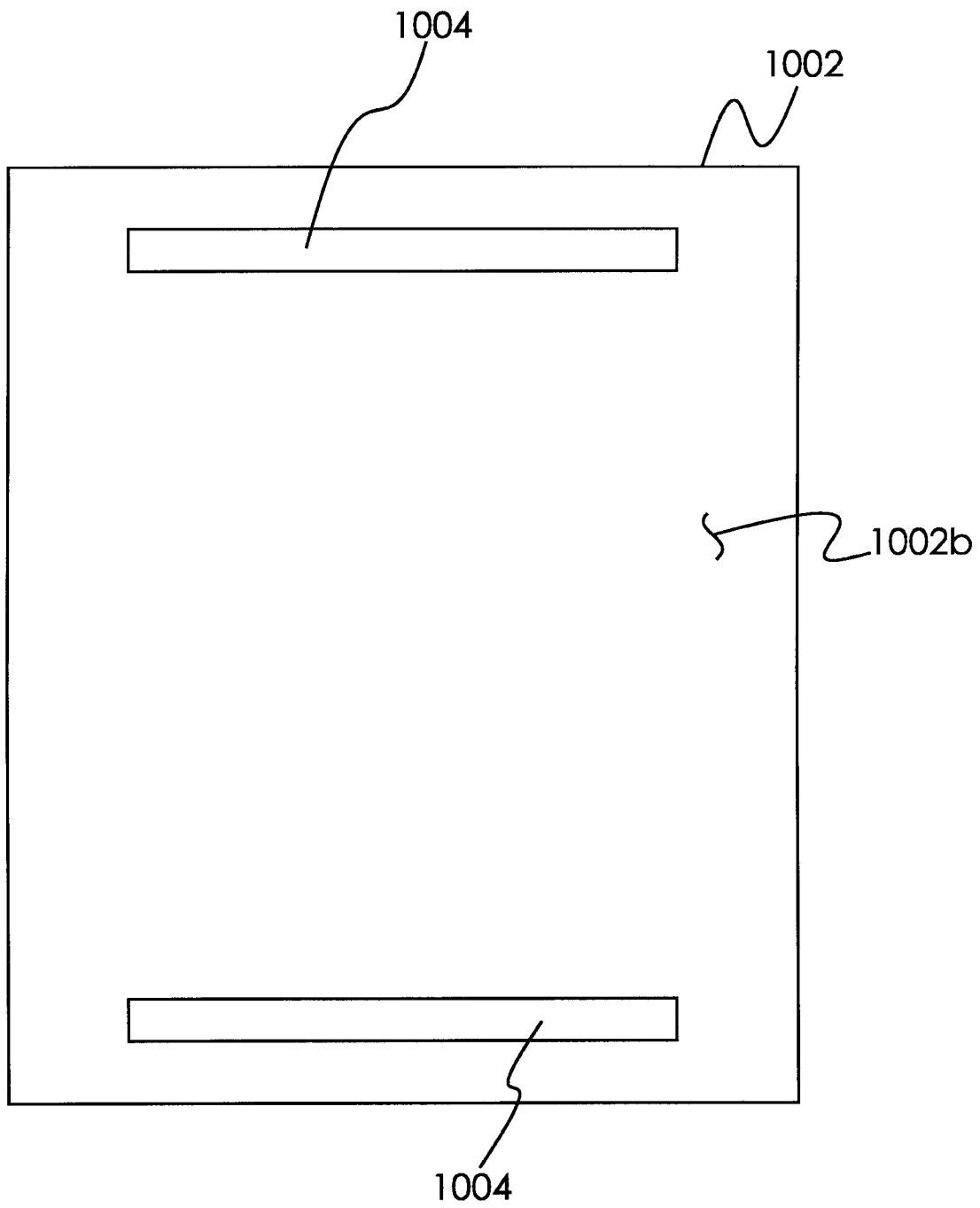


图 10

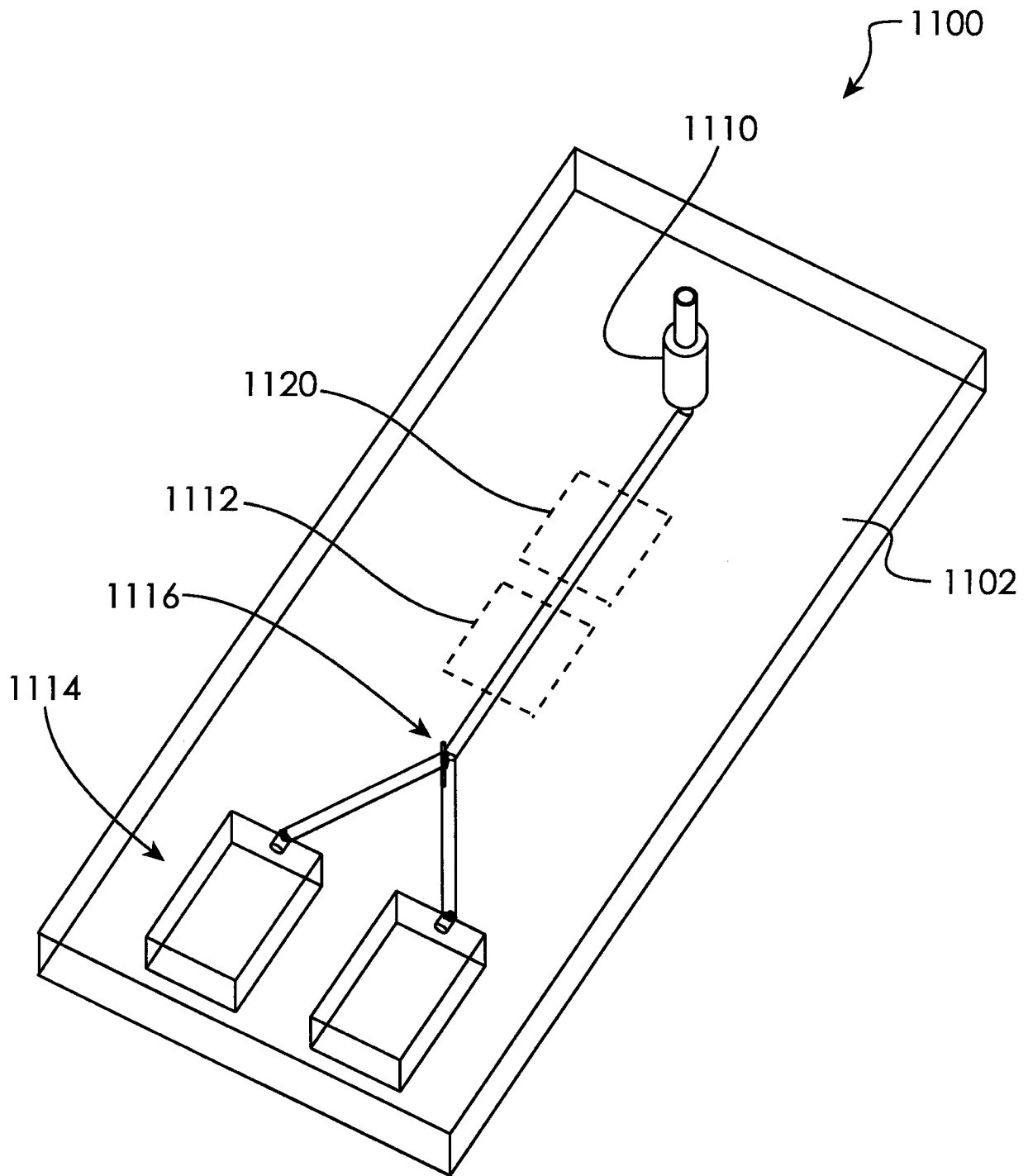


图 11

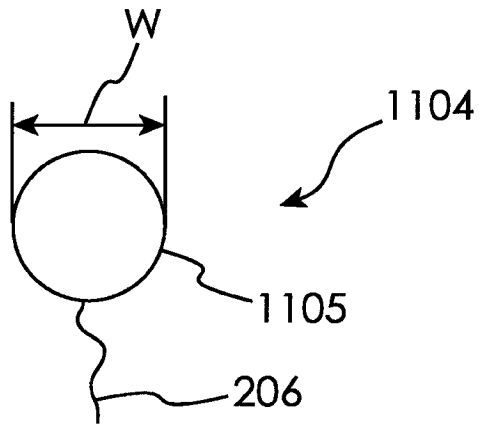


图 12A

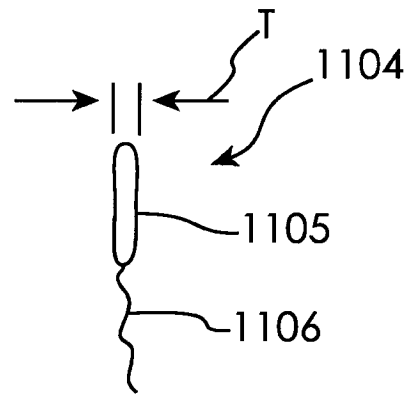


图 12B

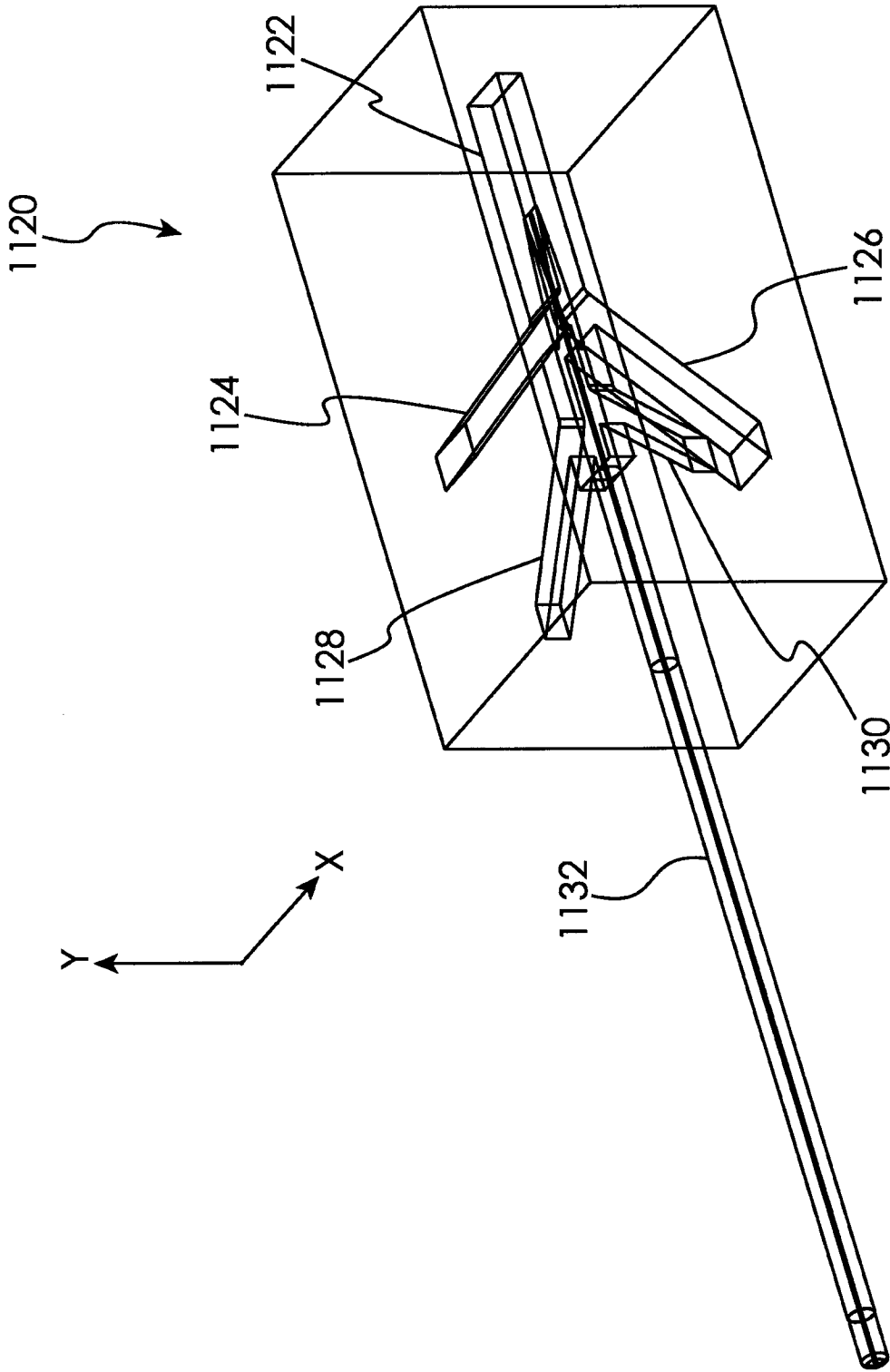


图 13

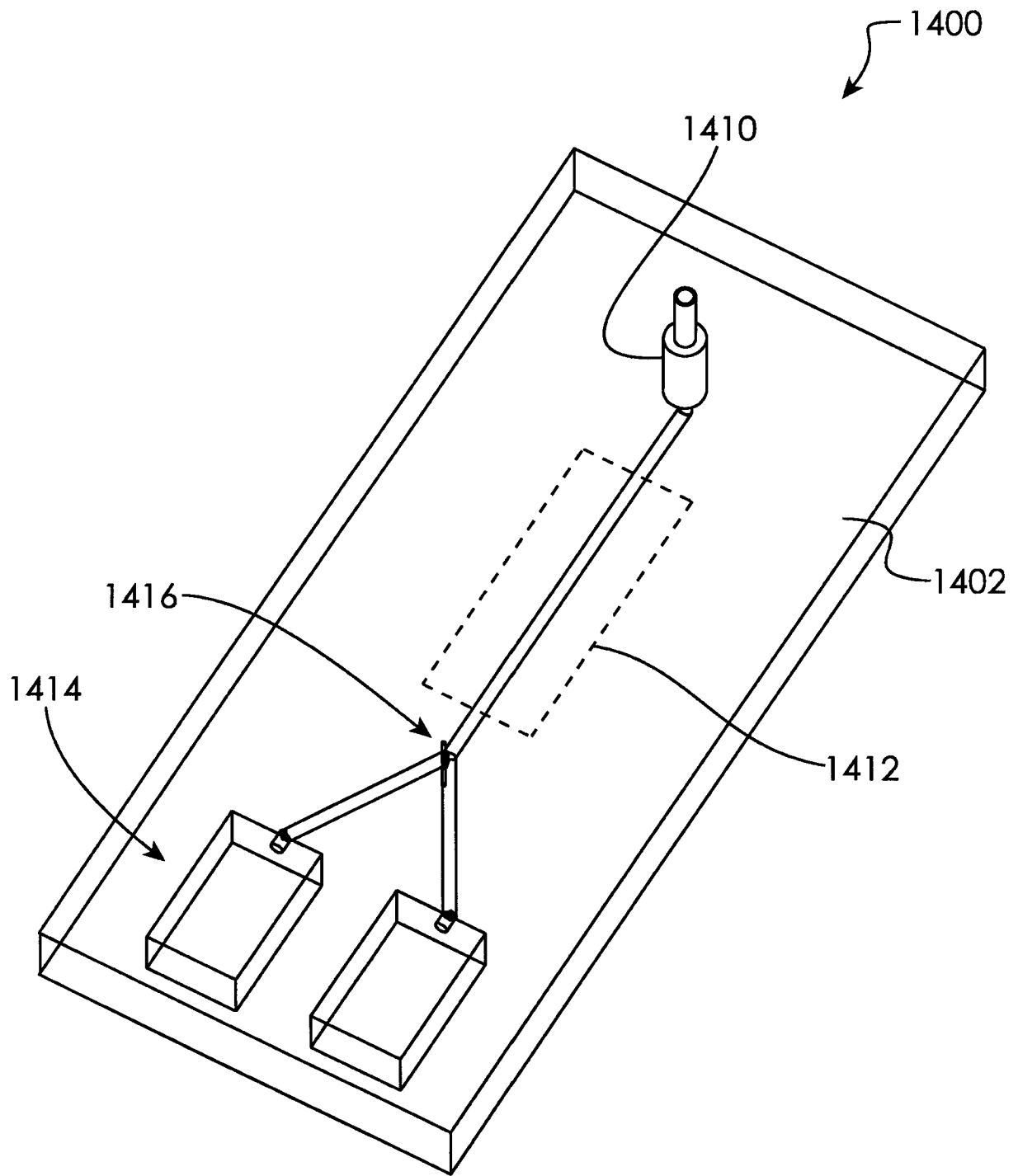


图 14

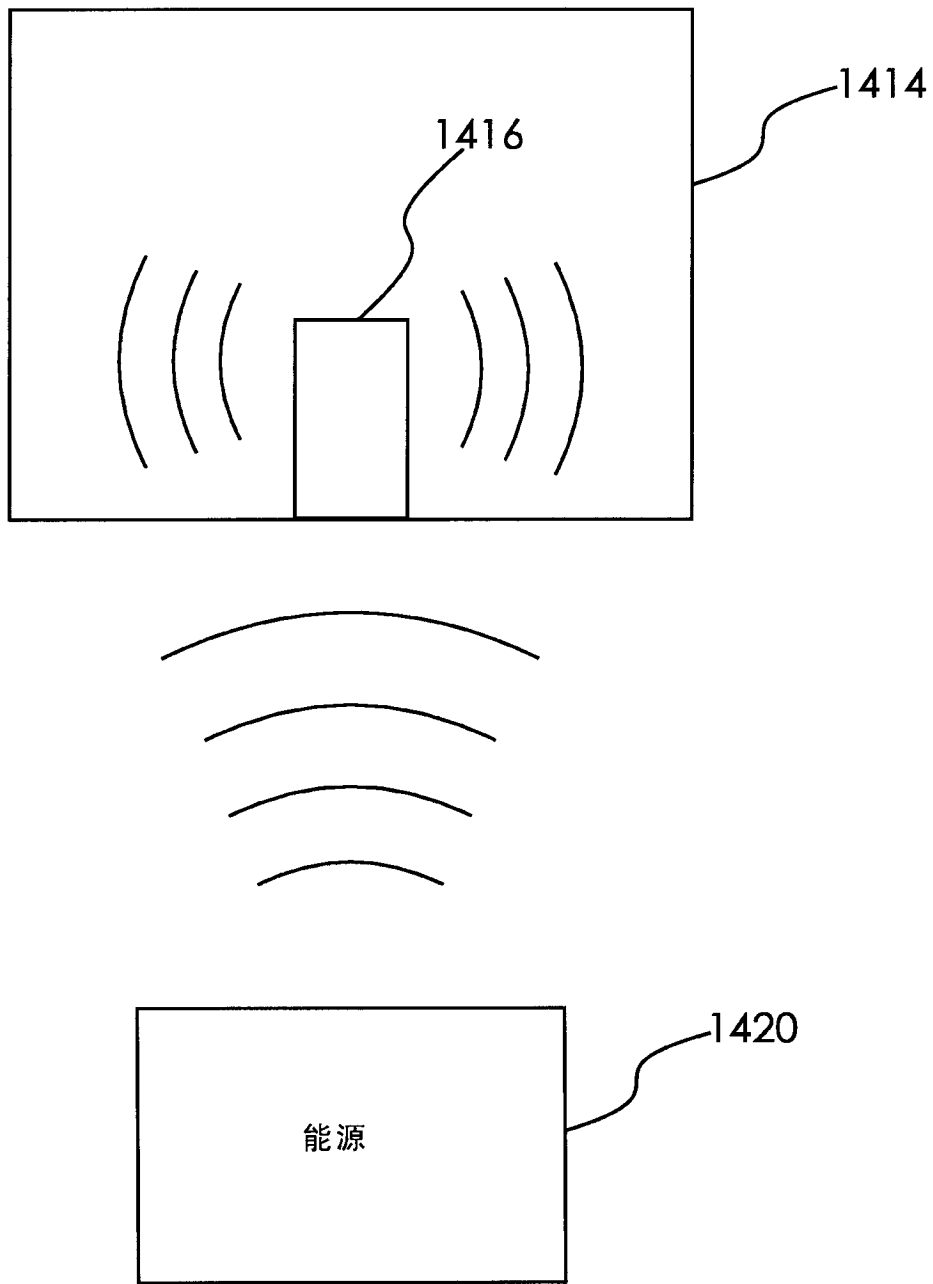


图 15

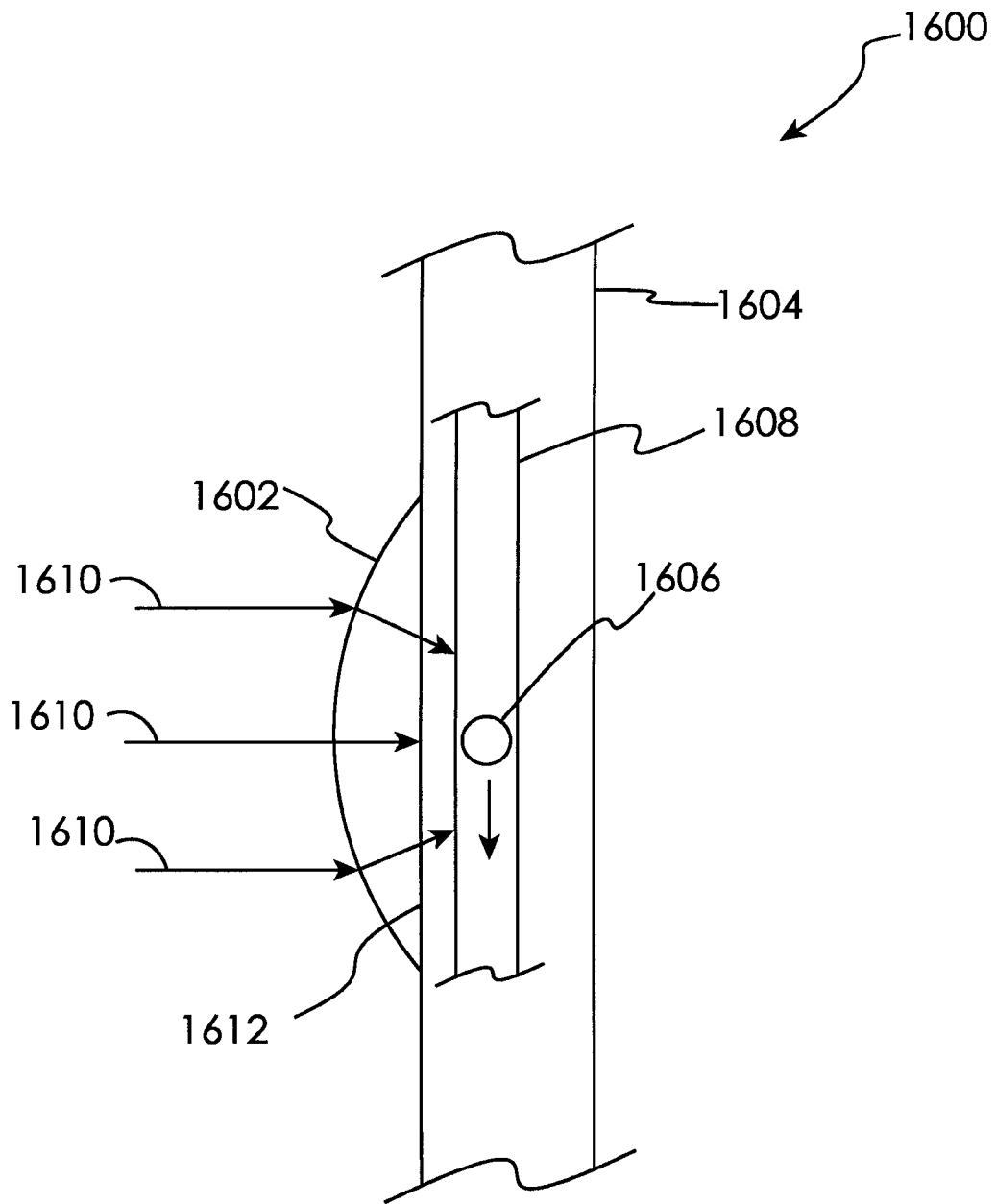


图 16

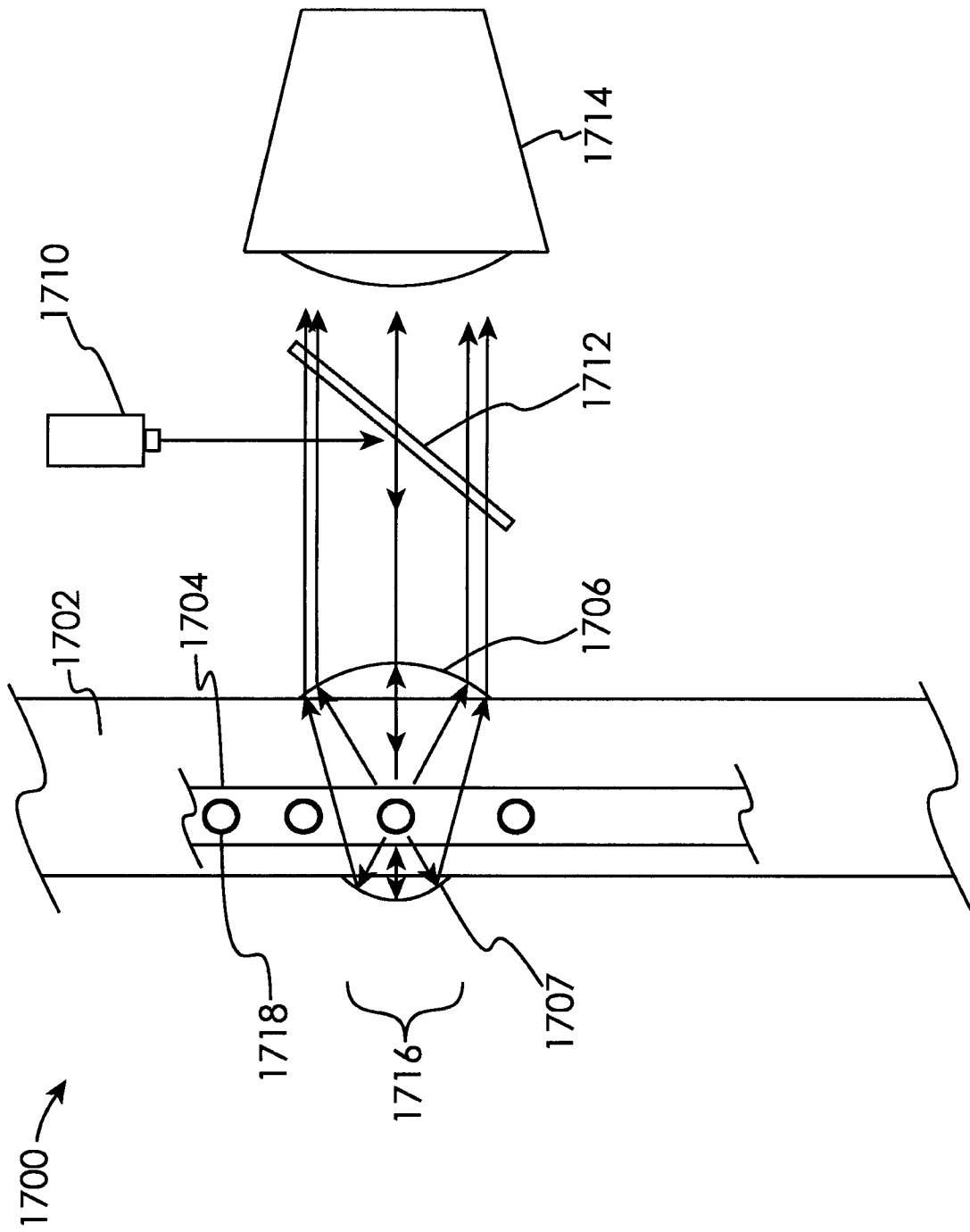


图 17

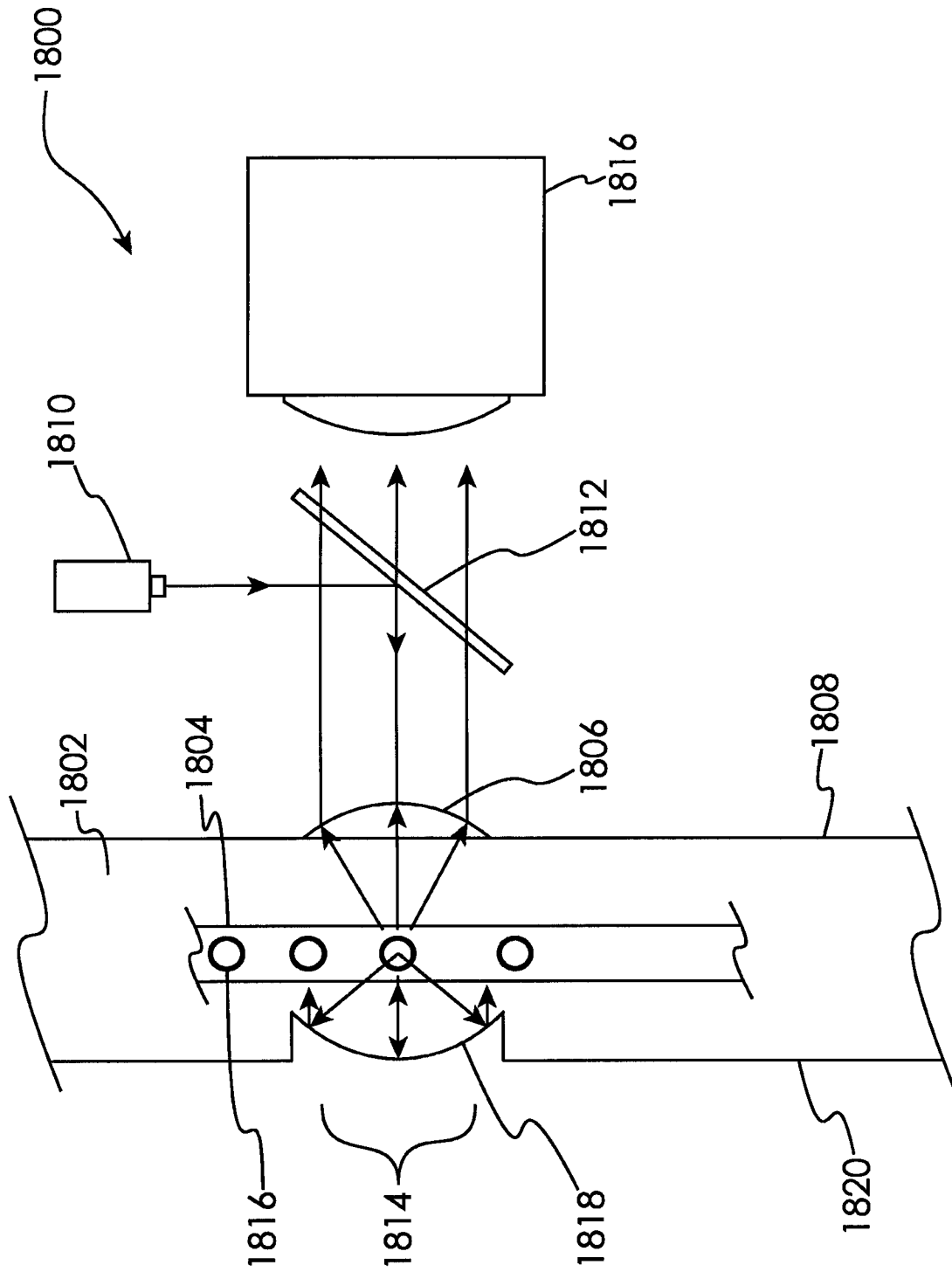


图 18

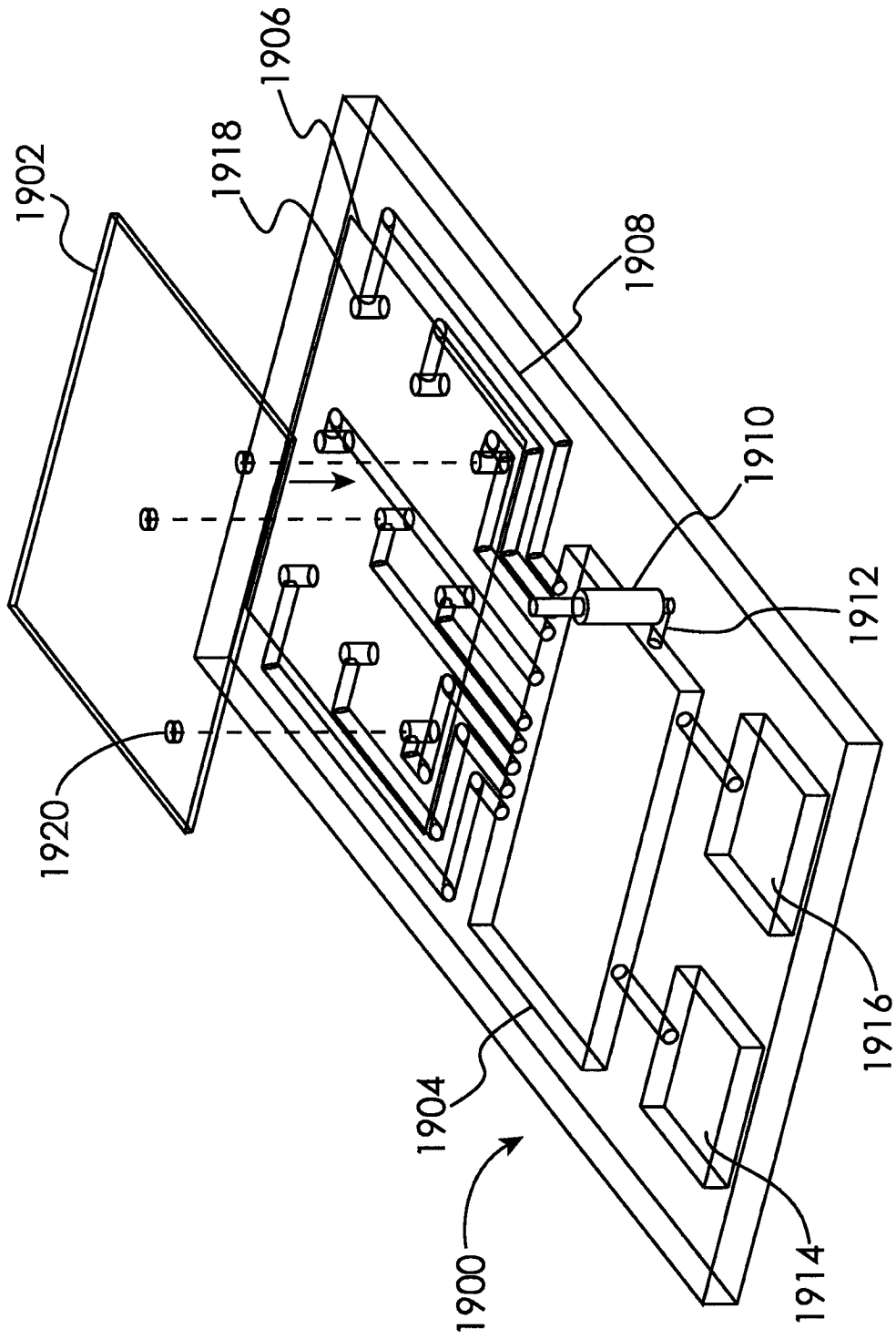


图 19

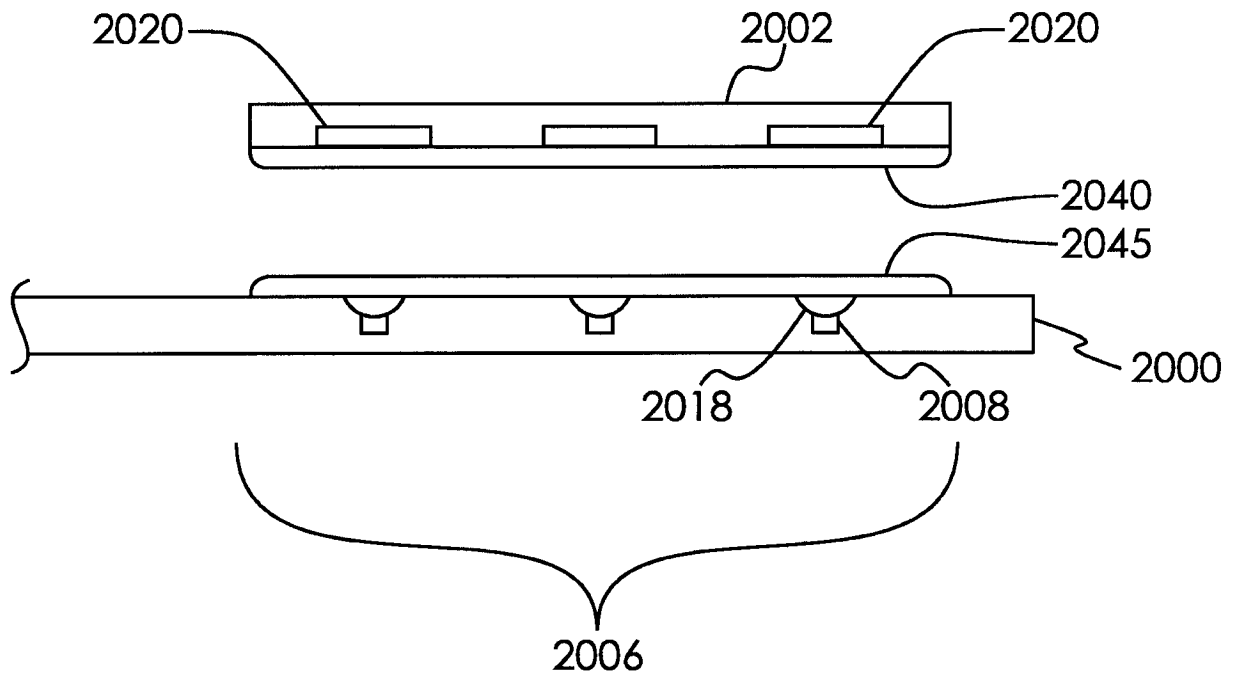


图 20

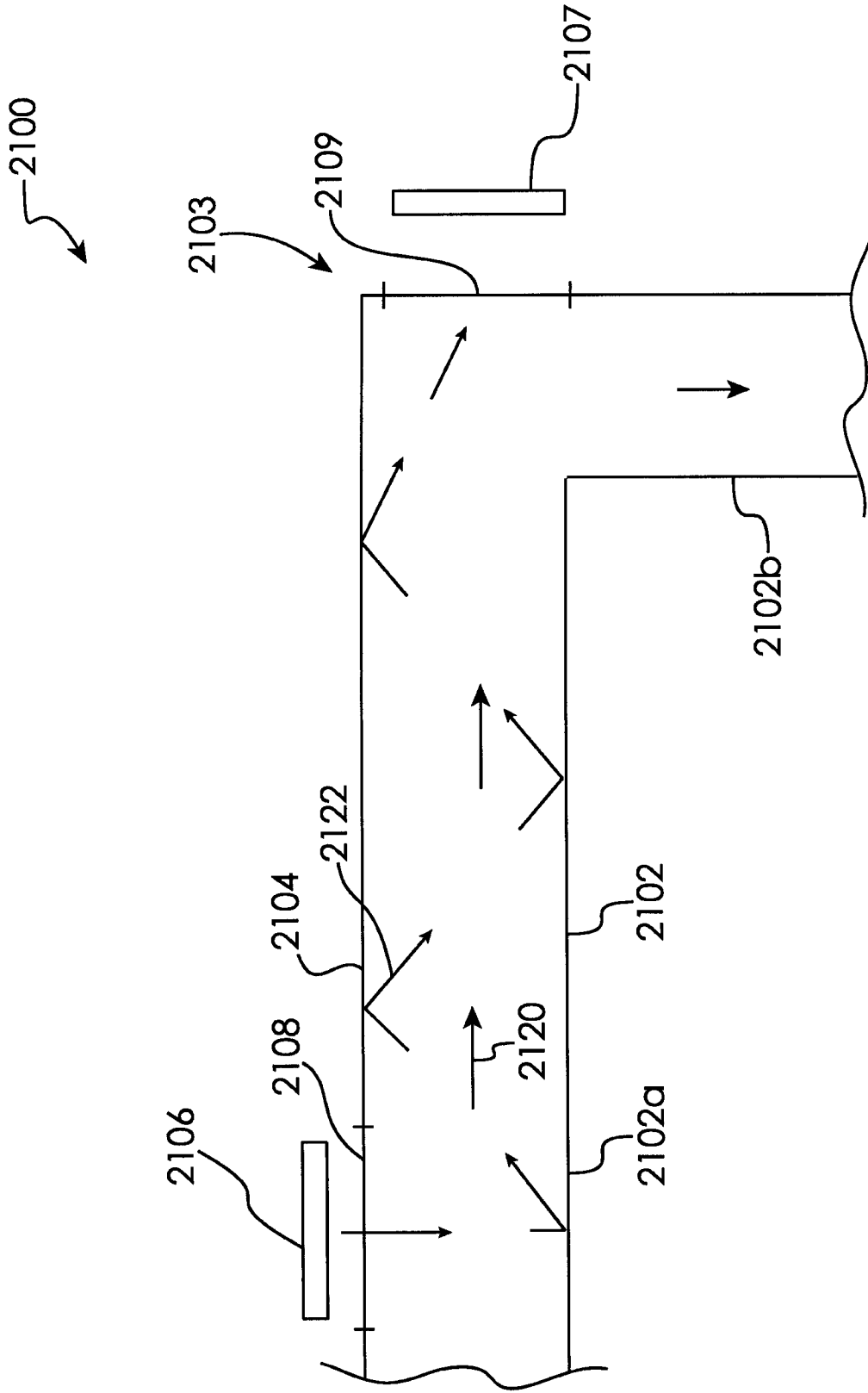


图 21

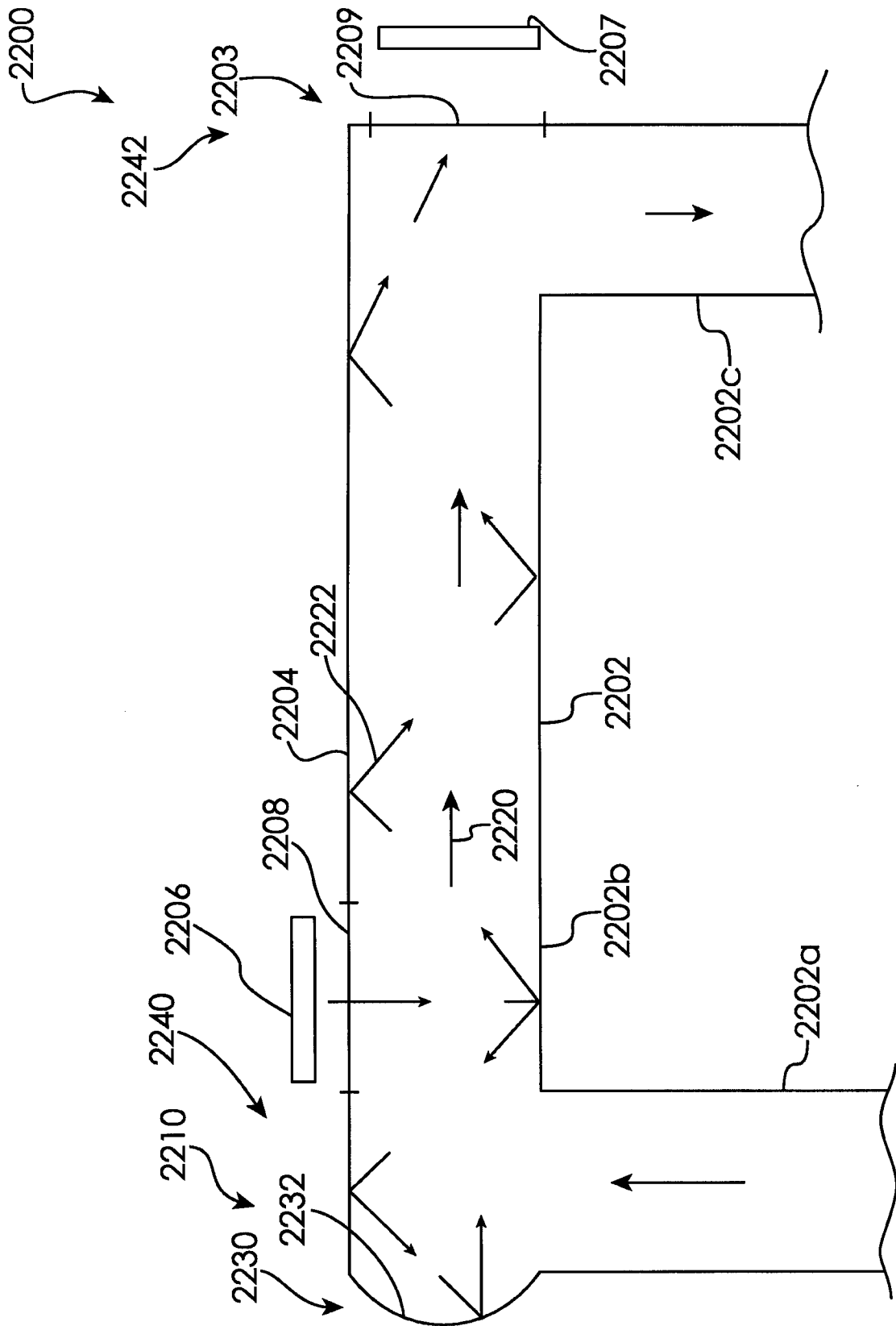


图 22

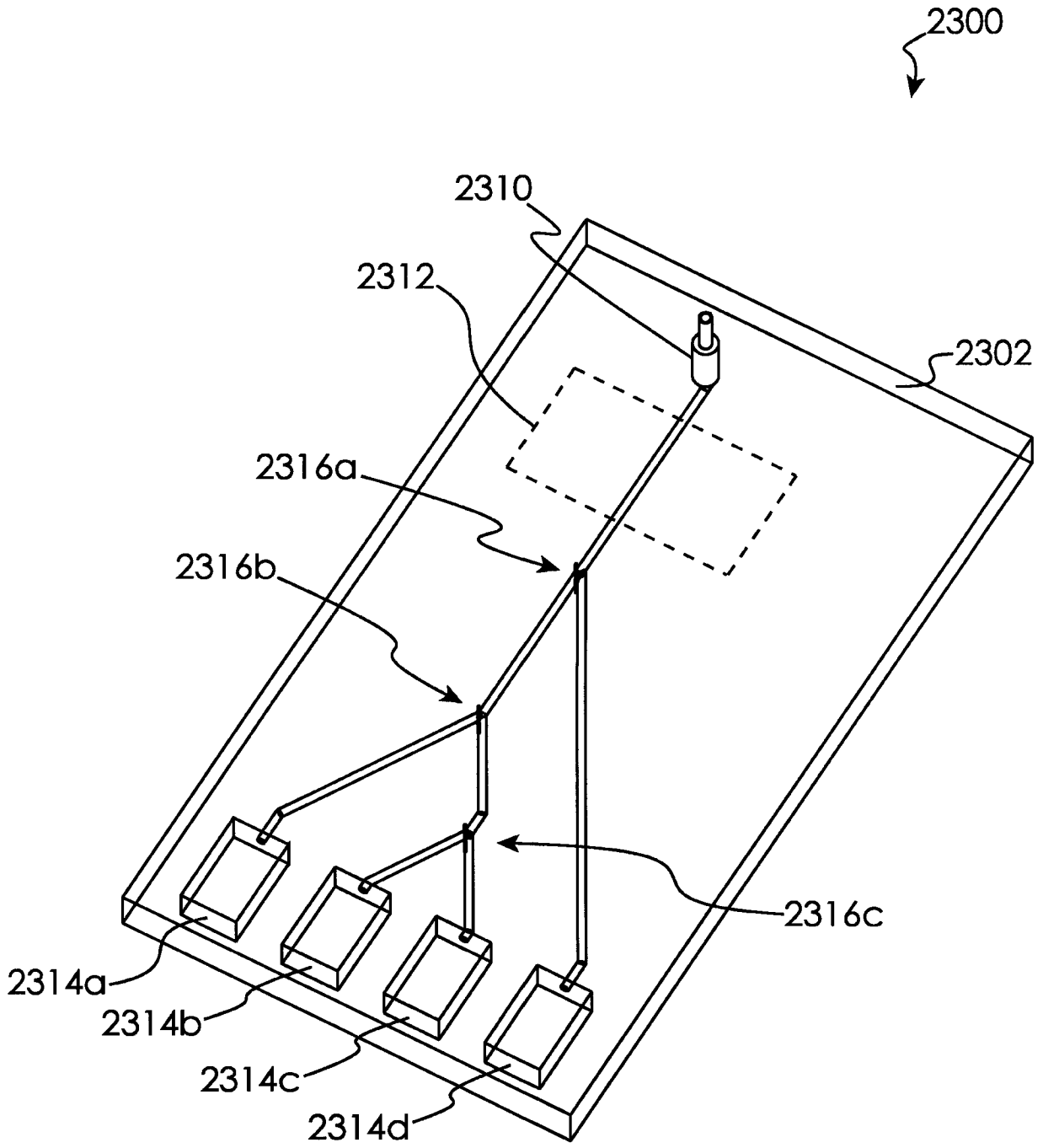


图 23

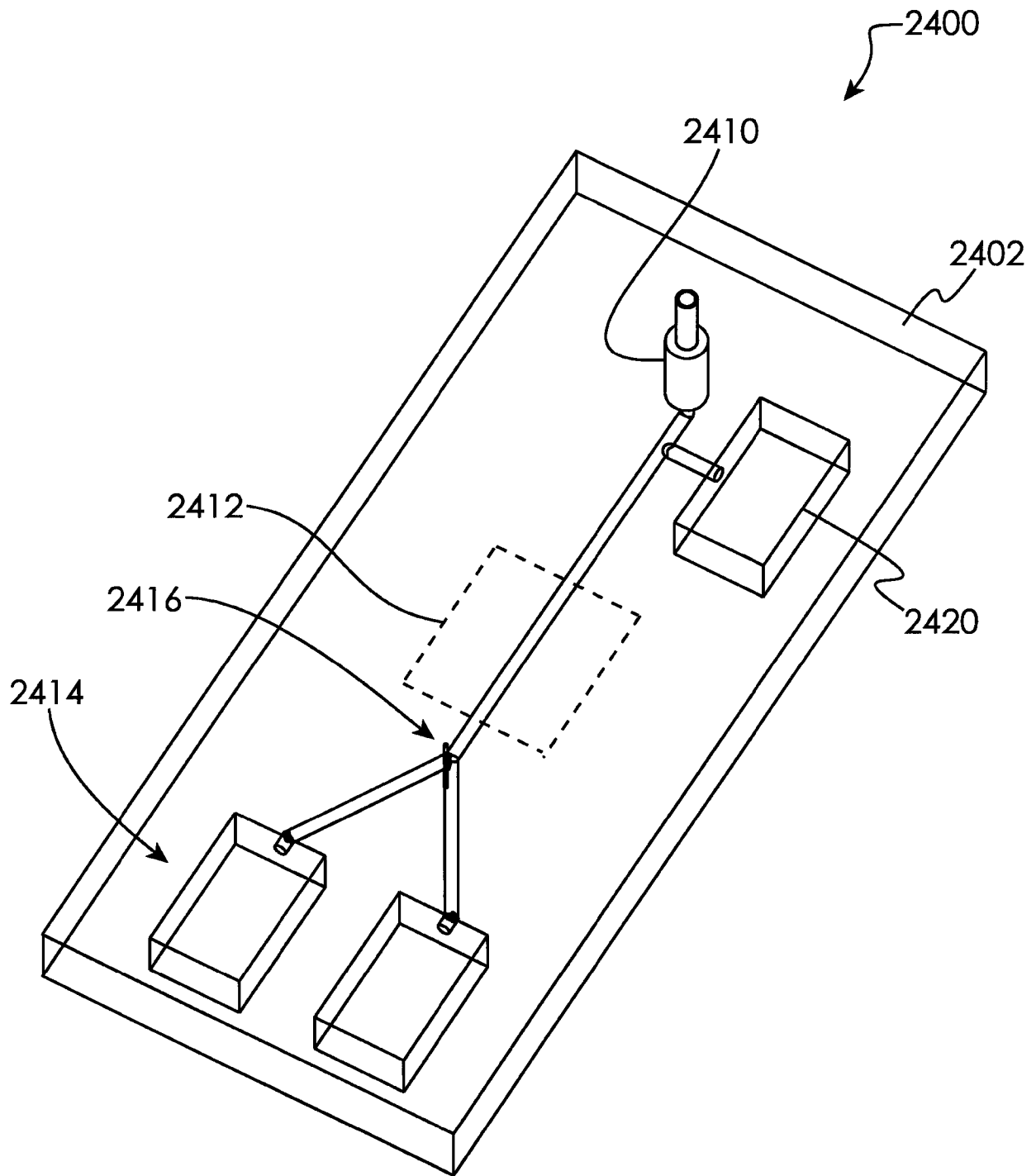


图 24