



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112739811 A

(43) 申请公布日 2021.04.30

(21) 申请号 201980062267.4

(22) 申请日 2019.09.27

(30) 优先权数据

1815880.8 2018.09.28 GB

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.03.23

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/053416 2019.09.27

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/069290 EN 2020.04.02

(71) 申请人 生命序曲公司

地址 美国纽约

(72) 发明人 J·A·霍卡贾达斯·阿尔曼萨

T·马丁·维拉巴 S·蒙恩

A·J·贾德 G·K·杰普斯

H·V·哈尔 E·J·斯通

M·I·沃克尔 J·P·卡西

P·L·克罗斯利

(74) 专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司 11127

代理人 相迎军 王小东

(51) Int.Cl.

C12M 3/04 (2006.01)

A61B 17/43 (2006.01)

A61D 19/04 (2006.01)

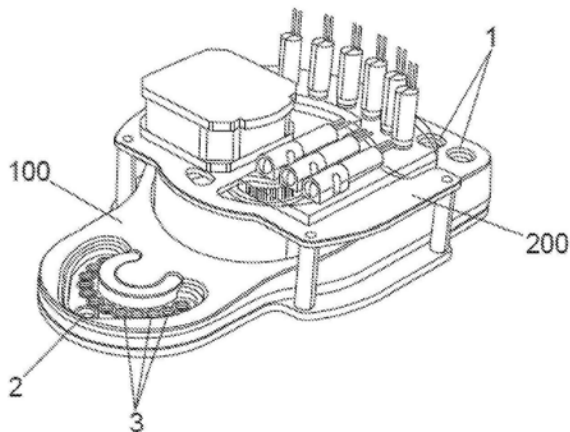
权利要求书6页 说明书21页 附图5页

(54) 发明名称

体外受精系统及其相关部件

(57) 摘要

本文描述了有助于操纵细胞的设备、系统和方法。本文公开的设备、方法和系统可以应用于例如体外受精过程的自动化。



1. 一种方法,所述方法包括:
  - (a) 将一组细胞放置到井中,所述井包括:
    - (i) 敞开的上端;
    - (ii) 封闭的下端;
    - (iii) 周边主体,所述周边主体连接所述封闭的下端和所述敞开的上端;
    - (iv) 入口,其中:
      - 所述入口在第一尺寸上的大小大于所述一组细胞的直径;并且
      - 所述入口在第二尺寸上的大小小于所述一组细胞的所述直径;
    - (v) 出口,其中:
      - 所述出口在第一尺寸上的大小大于所述一组细胞的所述直径;并且
      - 所述出口在第二尺寸上的大小小于所述一组细胞的所述直径;以及
  - (b) 执行液体交换,其中,所述液体交换包括:
    - (I) 使第一液体通过所述入口流入所述井中;以及
    - (II) 使第二液体通过所述出口流出所述井;其中,执行所述液体交换促进了所述一组细胞的胚胎发育。
2. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述一组细胞是一组胚胎细胞。
3. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述一组细胞是单个细胞。
4. 根据权利要求3所述的方法,其中,所述单个细胞是卵母细胞。
5. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述一组细胞是多个细胞的团块。
6. 根据权利要求5所述的方法,其中,所述多个细胞的团块是卵丘卵母细胞复合体。
7. 根据权利要求5所述的方法,其中,所述多个细胞的团块是受精卵。
8. 根据权利要求5所述的方法,其中,所述多个细胞的团块是胚胎。
9. 根据权利要求5所述的方法,其中,所述多个细胞的团块是囊胚。
10. 根据权利要求1所述的方法,所述方法还包括通过所述敞开的上端将所述一组细胞放置到所述井中。
11. 根据权利要求1所述的方法,所述方法还包括:在步骤(a)之前,通过所述敞开的上端将所述第二液体放置到所述井中。
12. 根据权利要求1所述的方法,所述方法还包括:在步骤(a)之前,使所述第二液体从通过通道流体地连接至所述入口的储液器通过所述入口流入所述井中。
13. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述第一液体包括精子细胞。
14. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述第一液体包括油。
15. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述第一液体是受精培养基。
16. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述第一液体包括冷冻保护剂。
17. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述第一液体是胚胎培养基。
18. 根据权利要求17所述的方法,其中,所述胚胎培养基包括透明质酸酶。
19. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述第二液体包括精子细胞。
20. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述第二液体包括油。
21. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述第二液体是受精培养基。
22. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述第二液体包括冷冻保护剂。

23. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述第二液体是胚胎培养基。
24. 根据权利要求23所述的方法,其中,所述胚胎培养基包括透明质酸酶。
25. 根据权利要求1所述的方法,所述方法还包括:在步骤(b)之后,执行第二液体交换,其中,所述第二液体交换包括:
- (III) 使第三液体通过所述入口流入所述井中;以及
  - (IV) 使所述第一液体通过所述出口流出所述井。
26. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述井通过通道流体地连接至储液器,所述方法还包括经由阀的致动来控制从所述储液器通过所述通道到所述井的液体流。
27. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述井通过通道流体地连接至储液器,所述方法还包括通过力来控制从所述储液器通过所述通道到所述井的液体流。
28. 根据权利要求27所述的方法,其中,所述力是气动力。
29. 根据权利要求27所述的方法,其中,所述力是液压力。
30. 根据权利要求27所述的方法,其中,所述力是重力。
31. 根据权利要求1所述的方法,所述方法还包括使所述第二液体从所述出口流向储存罐。
32. 根据权利要求1所述的方法,所述方法还包括:
- (c) 将负压端口连接到储存罐,其中:
    - 所述储存罐被透气介质覆盖;并且
    - 所述储存罐被流体地连接至所述井;
  - (d) 通过所述负压端口将气压从所述储存罐中抽出,使所述第二液体通过所述出口流入所述储存罐中,使得所述储存罐填充所述第二液体,并且使所述第二液体接近所述透气介质;以及
  - (e) 当所述第二液体接触所述透气介质时,停止将所述第二液体吸入所述储存罐中。
33. 根据权利要求1所述的方法,所述方法还包括使所述第二液体从所述出口流向废物容器。
34. 根据权利要求1所述的方法,所述方法还包括经由抽吸使所述井内的所述一组细胞固定不动。
35. 根据权利要求1所述的方法,所述方法还包括控制所述井内的液体温度。
36. 根据权利要求1所述的方法,所述方法还包括监测所述井内的所述一组细胞。
37. 根据权利要求36所述的方法,其中,监测所述一组细胞包括在显微镜下观察所述一组细胞。
38. 一种收集条件培养基的方法,所述方法包括:
- (a) 通过在井内的培养基中培养一组细胞生成所述条件培养基,所述井包括:
    - (i) 敞开的上端;
    - (ii) 封闭的下端;
    - (iii) 周边主体,所述周边主体连接所述封闭的下端和所述敞开的上端;
    - (iv) 出口,其中:
      - 所述出口在第一尺寸上的大小大于所述一组细胞的直径;并且
      - 所述出口在第二尺寸上的大小小于所述一组细胞的所述直径;

(b) 将负压端口连接到储存罐,其中:

- 所述储存罐被透气介质覆盖;并且
- 所述储存罐被流体地连接至所述井;

(c) 通过所述负压端口将气压从所述储存罐中抽出,使所述条件培养基通过所述出口流入所述储存罐中,使得所述储存罐填充所述条件培养基,并且使所述条件培养基接近所述透气介质;以及

(d) 当所述条件培养基接触所述透气介质时,停止将所述条件培养基吸入所述储存罐中。

39. 根据权利要求38所述的方法,其中,所述一组细胞是一组胚胎细胞。

40. 根据权利要求38所述的方法,其中,所述一组细胞是单个细胞。

41. 根据权利要求40所述的方法,其中,所述单个细胞是卵母细胞。

42. 根据权利要求38所述的方法,其中,所述一组细胞是多个细胞的团块。

43. 根据权利要求42所述的方法,其中,所述多个细胞的团块是卵丘卵母细胞复合体。

44. 根据权利要求42所述的方法,其中,所述多个细胞的团块是受精卵。

45. 根据权利要求42所述的方法,其中,所述多个细胞的团块是胚胎。

46. 根据权利要求42所述的方法,其中,所述多个细胞的团块是囊胚。

47. 根据权利要求38所述的方法,所述方法还包括:在(a)之前,通过所述敞开的上端将所述一组细胞放置到所述井中。

48. 根据权利要求38所述的方法,所述方法还包括:在步骤(a)之前,通过所述敞开的上端将培养基放置到所述井中。

49. 根据权利要求38所述的方法,其中,所述井还包括入口,其中:

- 所述入口在第一尺寸上的大小大于所述一组细胞的所述直径;并且
- 所述入口在第二尺寸上的大小小于所述一组细胞的所述直径。

50. 根据权利要求49所述的方法,所述方法还包括使液体从通过通道流体地连接至所述入口的储液器流动通过所述入口。

51. 根据权利要求50所述的方法,其中,所述液体是胚胎培养基。

52. 根据权利要求51所述的方法,其中,所述胚胎培养基包括透明质酸酶。

53. 根据权利要求50所述的方法,其中,所述液体包括油。

54. 根据权利要求50所述的方法,其中,所述液体包括冷冻保护剂。

55. 根据权利要求38所述的方法,其中,所述储存罐通过通道流体地连接至所述井,所述方法还包括经由阀的致动来控制从所述井到所述储存罐的条件培养基的流动。

56. 根据权利要求38所述的方法,所述方法还包括经由抽吸使所述井内的所述一组细胞固定不动。

57. 根据权利要求38所述的方法,所述方法还包括控制所述井内的液体温度。

58. 根据权利要求38所述的方法,所述方法还包括监测所述井内的所述一组细胞。

59. 根据权利要求38所述的方法,其中,所述透气介质是滤纸。

60. 根据权利要求38所述的方法,其中,所述透气介质是疏水过滤器。

61. 根据权利要求38所述的方法,其中,所述透气介质是疏水隔膜。

62. 一种生物芯片,所述生物芯片包括:

(a) 第一层,所述第一层包括多个储液器;  
(b) 第二层,所述第二层包括:  
(i) 压印在所述第二层中的多个通道,其中,这些通道与所述多个储液器流体连通;  
(ii) 多个阀,所述多个阀被配置成控制所述多个通道内的液体流;以及  
(iii) 压印在所述第二层中的井,所述井通过所述多个通道流体地连接至所述多个储液器,

其中,所述井包括:

- (I) 敞开的上端;
- (II) 封闭的下端;
- (III) 周边主体,所述周边主体连接所述封闭的下端和所述敞开的上端;
- (IV) 入口;以及
- (V) 出口,

其中:

- 所述井包含一组细胞;
  - 所述入口在第一尺寸上的大小大于所述一组细胞的直径;
  - 所述入口在第二尺寸上的大小小于所述一组细胞的所述直径;
  - 所述出口在第一尺寸上的大小大于所述一组细胞的所述直径;并且
  - 所述出口在第二尺寸上的大小小于所述一组细胞的所述直径;以及
- (c) 壳体,所述壳体封装所述第一层和所述第二层。

63. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述第一层直接位于所述第二层的上面。

64. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述第二层还包括:

- (iv) 上膜,所述上膜将所述通道从顶部密封;以及
- (v) 下膜,所述下膜将所述通道从底部密封。

65. 根据权利要求62所述的生物芯片,所述生物芯片还包括多个输入端口,其中,所述多个输入端口中的每个输入端口通向所述多个储液器中的至少一个储液器。

66. 根据权利要求62所述的生物芯片,所述生物芯片还包括:

- (d) 多个孔口,其中,所述多个孔口位于所述多个储液器的上方;
- (e) 压力源;以及

(f) 密封层,所述密封层位于所述多个储液器与所述压力源之间并与所述多个储液器和所述压力源接触;

其中,所述密封层在所述压力源与所述多个储液器之间提供气动密封。

67. 根据权利要求62所述的生物芯片,所述生物芯片还包括:

- (d) 压印在所述第二层上的储存罐;以及
- (e) 透气介质,所述透气介质覆盖所述储存罐。

68. 根据权利要求67所述的生物芯片,其中,所述透气介质是滤纸。

69. 根据权利要求67所述的生物芯片,其中,所述透气介质是疏水过滤器。

70. 根据权利要求67所述的生物芯片,所述生物芯片还包括箔片,所述箔片覆盖所述透气介质。

71. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述多个储液器被容纳在托盘内。

72. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述第二层还包括负压端口。
73. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述第二层还包括负压通道。
74. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述一组细胞是一组胚胎细胞。
75. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述一组细胞是单个细胞。
76. 根据权利要求75所述的生物芯片,其中,所述单个细胞是卵母细胞。
77. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述一组细胞是多个细胞的团块。
78. 根据权利要求77所述的生物芯片,其中,所述多个细胞的团块是卵丘卵母细胞复合体。
79. 根据权利要求77所述的生物芯片,其中,所述多个细胞的团块是受精卵。
80. 根据权利要求77所述的生物芯片,其中,所述多个细胞的团块是胚胎。
81. 根据权利要求77所述的生物芯片,其中,所述多个细胞的团块是囊胚。
82. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述井还包括抽吸端口。
83. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述多个通道是多个微流体通道。
84. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述入口在第一尺寸上的大小为约120 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 。
85. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述入口在第二尺寸上的大小为约1 $\mu\text{m}$ 至约60 $\mu\text{m}$ 。
86. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述出口在第一尺寸上的大小为约120 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 。
87. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述出口在第二尺寸上的大小为约1 $\mu\text{m}$ 至约60 $\mu\text{m}$ 。
88. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述多个通道中的通道的直径为为约1 $\mu\text{m}$ 至约10,000 $\mu\text{m}$ 。
89. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述多个阀包括旋转阀。
90. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述多个阀包括梭阀。
91. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述多个阀包括闸阀。
92. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述多个阀包括膜片阀。
93. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述多个阀被配置成由托架控制。
94. 根据权利要求62所述的生物芯片,其中,所述壳体包括与受试者相对应的标识符,其中,所述一组细胞源自所述受试者。
95. 一种套件,所述套件包括:
- (a) 权利要求62至94中任一项所述的生物芯片;
  - (b) 油;
  - (c) 冷冻保护剂;
  - (d) 受精培养基;以及
  - (e) 胚胎培养基。
96. 一种系统,所述系统包括:
- (a) 权利要求62至94中任一项所述的生物芯片;以及
  - (b) 致动托架,其中,所述生物芯片被装配到所述致动托架中。

97. 根据权利要求96所述的系统,其中,所述多个阀被配置成由所述致动托架控制。
98. 根据权利要求96所述的系统,其中,所述致动托架包括多个致动销。
99. 根据权利要求98所述的系统,其中,所述多个致动销被配置成与所述多个阀接合。
100. 根据权利要求96所述的系统,其中,所述致动托架还包括传感器。
101. 根据权利要求100所述的系统,其中,所述传感器是温度传感器。
102. 根据权利要求100所述的系统,其中,所述传感器是电容传感器。
103. 根据权利要求100所述的系统,其中,所述传感器是流量传感器。
104. 根据权利要求96所述的系统,其中:
- 所述生物芯片包括与受试者相对应的标识符;
  - 所述一组细胞源自所述受试者;并且
  - 所述托架被配置成识别所述标识符。
105. 根据权利要求96所述的系统,其中,所述托架包括电源。
106. 根据权利要求96所述的系统,其中,所述托架包括泵。
107. 根据权利要求96所述的系统,所述系统还包括孵育器,其中,所述托架被插入到所述孵育器中。

## 体外受精系统及其相关部件

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求于2018年9月28日提交的英国专利申请No.1815880.8的权益,其全部内容通过引用并入本文。

[0003] 通过引用的并入

[0004] 本说明书中提到的所有出版物、专利和专利申请都通过引用并入本文,其范围与每个单独的出版物、专利或专利申请被明确地并单独地指出通过引用并入相同。

### 背景技术

[0005] 体外受精 (IVF) 可能是需要训练有素的人员的服务的劳动密集型人工过程。需要训练有素的人员限制了IVF的可用性,而该过程的人工性质可能会增加成本并导致出现错误的频率很高。因此,使IVF过程自动化的设备、系统和方法有可能提高IVF的可用性和成功率。

### 发明内容

[0006] 在一些实施方式中,本公开提供一种方法,所述方法包括:(a) 将一组细胞放置到井中,所述井包括:(i) 敞开的上端;(ii) 封闭的下端;(iii) 周边主体,所述周边主体连接所述封闭的下端和所述敞开的上端;(iv) 入口,其中,所述入口在第一尺寸上的大小大于所述一组细胞的直径并且所述入口在第二尺寸上的大小小于所述一组细胞的所述直径;(v) 出口,其中,所述出口在第一尺寸上的大小大于所述一组细胞的所述直径并且所述出口在第二尺寸上的大小小于所述一组细胞的所述直径;以及(b) 执行液体交换,其中,所述液体交换包括:(I) 使第一液体通过所述入口流入所述井中;以及(II) 使第二液体通过所述出口流出所述井;其中,执行所述液体交换促进了所述一组细胞的胚胎发育。

[0007] 在一些实施方式中,本公开提供了一种收集条件培养基的方法,所述方法包括:(a) 通过在井内的培养基中培养一组细胞生成所述条件培养基,所述井包括:(i) 敞开的上端;(ii) 封闭的下端;(iii) 周边主体,所述周边主体连接所述封闭的下端和所述敞开的上端;(iv) 出口,其中,所述出口在第一尺寸上的大小大于所述一组细胞的直径并且所述出口在第二尺寸上的大小小于所述一组细胞的所述直径;(b) 将负压端口连接到储存罐,其中,所述储存罐被透气介质覆盖并且所述储存罐被流体地连接至所述井;(c) 通过所述负压端口将气压从所述储存罐中抽出,使所述条件培养基通过所述出口流入所述储存罐中,使得所述储存罐填充所述条件培养基,并且使所述条件培养基接近所述透气介质;以及(d) 当所述条件培养基接触所述透气介质时,停止将所述条件培养基吸入所述储存罐中。

[0008] 在一些实施方式中,本公开提供一种生物芯片,所述生物芯片包括:(a) 第一层,所述第一层包括多个储液器;(b) 第二层,所述第二层包括:(i) 压印在所述第二层中的多个通道,其中,这些通道与所述多个储液器流体连通;(ii) 多个阀,所述多个阀被配置成控制所述多个通道内的液体流;以及(iii) 压印在所述第二层中的井,所述井通过所述多个通道流体地连接至所述多个储液器,其中,所述井包括:(I) 敞开的上端;(II) 封闭的下端;(III) 周

边主体,所述周边主体连接所述封闭的下端和所述敞开的上端;(IV)入口;以及(V)出口,其中,所述井包含一组细胞,所述入口在第一尺寸上的大小大于所述一组细胞的直径,所述入口在第二尺寸上的大小小于所述一组细胞的所述直径,所述出口在第一尺寸上的大小大于所述一组细胞的所述直径并且所述出口在第二尺寸上的大小小于所述一组细胞的所述直径;以及(c)壳体,所述壳体封装所述第一层和所述第二层。

[0009] 在一些实施方式中,本公开提供了生物芯片、油、冷冻保护剂、受精培养基、胚胎培养基。

[0010] 在一些实施方式中,本公开提供一种包括生物芯片和致动托架(cradle)的系统,其中,所述生物芯片装配到所述致动托架中。

## 附图说明

[0011] 图1示出了示出本公开的系统的图(俯视图)。

[0012] 图2示出了本公开的生物芯片。

[0013] 图3示出了图2的生物芯片的分解图。

[0014] 图4示出了从图2和图3的生物芯片下方看的视图。

[0015] 图5示出了本公开的托架和位于其中的生物芯片的视图。

[0016] 图6A示出了包括入口通道和出口通道的功能井的俯视图。

[0017] 图6B示出了功能井的剖面及其细节。

[0018] 图7示出了具有连接所有样品储液器或储存罐的单个负压通道的生物芯片的底视图。

[0019] 图8示出了采样系统的剖面图。

[0020] 图9示出了具有用于引入移液器的通道的井的示意图。

[0021] 图10示出了形成图5的托架的与生物芯片上的阀接合的一部分的致动销。

## 具体实施方式

[0022] 本文描述了用于操纵细胞或细胞团块的设备、系统和方法。细胞或细胞团块的操纵可以包括细胞或细胞团块的受精、储存、培养、转移或移动。在一些实施方式中,细胞或细胞团块是一个或多个生殖细胞(诸如精子细胞)或细胞群(例如,胚胎细胞)。可以由本文公开的设备操纵的细胞群的非限制性实例包括单个细胞,诸如卵子和卵母细胞;以及多个细胞的团块,诸如卵丘卵母细胞复合体、受精卵、胚胎和囊胚。利用本公开的设备对细胞和/或细胞团块进行操纵可以通过例如使IVF过程的步骤标准化和/或自动化来辅助IVF过程。

[0023] IVF过程。

[0024] IVF涉及雌性卵子在体外受精。在整个IVF过程中经常执行的步骤如下。在进行IVF之前,必须从雌性受试者中取出卵子。雌性受试者的非限制性示例包括人类、非人灵长类动物、狗、牛、马、猪、绵羊、山羊、猫、水牛、豚鼠、仓鼠、兔子、大鼠和小鼠。在取卵前,可经由施用一种或更多种激素或药剂来刺激雌性卵巢的卵泡,这些激素或药剂包括例如抑制素、抑制素和激活素混合物、克罗米芬、诸如促卵泡激素(FSH)之类的人类更年期促性腺激素以及FSH和黄体生成素(LH)的混合物和/或人绒毛膜促性腺激素。刺激后,可以使用超声来监测卵巢卵泡的发育。

[0025] 在卵巢卵泡发育后,可以取出包含由卵丘细胞包围的卵母细胞(即卵丘卵母细胞复合体)的卵泡液。卵母细胞的取出可以通过各种方法进行,包括例如经阴道、超声引导的卵泡抽吸、经尿道/经膀胱超声穿刺或通过腹腔镜方法。在一些实施方式中,可以取出未成熟的卵母细胞并允许其在体外成熟。在一些实施方式中,卵母细胞可以从卵巢干细胞、间充质干细胞或卵巢组织发育而来。

[0026] 取出后,可以将卵母细胞从卵泡液分离、清洗并放置在诸如器皿之类的容器中。在约2小时至约6小时后,经由将精子直接注射到每个卵子中(卵胞浆内精子注射)或在促进受精的条件下在一个器皿中混合精子和卵母细胞来使卵子与精子受精。受精前,可以分析精子的数量、形态和/或活力。此外,精子将在受精前进行获能。在一些情况下,获能可能涉及在培养基中孵育、清洗、迁移、密度梯度和精子过滤。获能导致精子成熟,并可以增加样品中活动性精子的比例。

[0027] 授精后,将卵母细胞和精子孵育约16小时。孵育后,清洗受精的卵母细胞(现为受精卵)并在先前准备的培养皿中体外培养直至受精后第3天。在培养的第3天,改变胚胎培养基,并将胚胎培养至受精后第5天。胚胎培养条件可以包括接近体内发现温度的温度(37℃)、低于环境的氧气浓度(通常为5%)和升高的二氧化碳浓度(5%至6%)。在一些情况下,使用油来覆盖胚胎培养物,以维持例如稳定的温度、渗透压和pH值。

[0028] 受精后第5天,可以进行胚胎活检和测试,诸如植入前的遗传筛选。可以移动胚胎以转移培养基,并且在一些情况下可以进行玻璃化。玻璃化可以涉及通过增加冷冻保护剂的浓度来移动胚胎,将胚胎放置在用于冷冻保存的储存设备上并将胚胎储存在液氮中。

[0029] 在胚胎培养(以及在一些情况下,在胚胎玻璃化/储存)之后,可以进行胚胎转移过程。为了促进胚胎转移,可将窥器插入受试者的阴道中以打开阴道壁。然后将导管穿过子宫颈并进入子宫腔。导管在子宫内的最佳放置距子宫底1cm至2cm,并且在一些情况下,导管放置由超声引导。放置导管后,一个或多个胚胎通过导管进入子宫,并在子宫内发生植入。将胚胎植入子宫壁会导致怀孕。

[0030] 在IVF过程的每个步骤中,都可能发生错误,这些错误可能导致失败的结果。涉及卵母细胞或胚胎的物理转移或者卵母细胞或胚胎的环境改变(例如,培养基改变和玻璃化)的步骤会增加出错的风险。本文公开了可以在整个IVF过程中降低出错风险的设备、系统和方法。在一些实施方式中,本公开的设备、系统和方法可以促进以下步骤的自动化:胚胎培养器皿的制备、卵泡液与卵母细胞的分离、精子获能、授精、卵母细胞和胚胎的孵育和培养步骤、培养基改变、胚胎活检和测试、胚胎玻璃化和胚胎储存。通过减少上述步骤所需的人工投入量,可以减少在IVF过程期间发生错误和变异的可能性。此外,使用本文公开的设备、系统和/或方法可以使卵母细胞/胚胎破坏最小、使胚胎/卵母细胞环境改变最小、使胚胎/卵母细胞的物理转移最小、允许在不中断培养基交换的情况下对胚胎进行延时监测、提高IVF过程的可靠性、使IVF过程去技术化、允许对胚胎培养基进行自动采样和非侵入性胚胎分析、改进对潜在可行胚胎的选择以及降低胚胎可追溯性错误的风险。

[0031] 生物芯片。

[0032] 本文公开了用于操纵细胞或细胞团块的生物芯片,所述细胞或细胞团块包括例如卵子、卵母细胞、精子细胞、受精卵、胚胎和囊胚。在一些实施方式中,该生物芯片包括井、储液器、可选择性地连接至储液器和井的多个通道以及被布置成控制储液器与井之间的连接

的多个阀。在一些实施方式中,井可以用于接收和/或操纵细胞或细胞团块(例如卵母细胞、受精卵、胚胎或囊胚)。在一些实施方式中,储液器可用于容纳在细胞或细胞团块的处理中使用的流体。在一些实施方式中,这些通道和阀被布置成使得在任一时间仅一个储液器可以连接至井。井、通道和阀可以被布置使得可以对生物芯片内的诸如卵母细胞、受精卵、胚胎或囊胚之类的细胞或细胞团块进行IVF过程中的多个步骤。在一些实施方式中,可以对生物芯片内的细胞或细胞团块执行玻璃化方法。

[0033] 本文公开的生物芯片的通道可以是例如微流体通道。流体可以通过例如气动、液压或重力而被驱动通过通道。在一些实施方式中,生物芯片的通道可以相对于生物芯片的顶侧和生物芯片的底侧密封。在一些示例中,通道在生物芯片的顶侧上通过第一膜或上膜密封,并且在生物芯片的下侧上通过第二膜或下膜密封。上膜和/或下膜可以由各种材料制成。可以构成上膜或下膜的材料非限制性示例包括聚苯乙烯、环烯烃共聚物、热塑性塑料和弹性体。

[0034] 本公开的生物芯片还可以包括输入端口(在本文中也称为输入端)和/或输出端口。输入端可以允许例如使精子、受精培养基、孵育(胚胎培养)基、卵母细胞、油和/或玻璃化液输入生物芯片。输出端口(在本文中也称为输出端)可以允许例如从生物芯片释放囊胚或样品培养基。一旦通过输入端插入到生物芯片中,所输入的材料就可以流过生物芯片的多个通道并流入存在于生物芯片内的井或储液器中。在一些实施方式中,通过输入端插入的材料可以储存在托盘中。托盘可以包括一个或更多个储液器,每个储液器用于储存不同的输入材料(例如,精子、玻璃化试剂/低温保护剂、受精培养基)。在一些实施方式中,托盘可以包括单独的废物储液器。储液器可以流体地连接到生物芯片内的通道,以允许将材料从储液器中转移到生物芯片内的其它位置。在一些实施方式中,储液器可以包括防止过量填充或不正确填充的结构。在一些实施方式中,在每个储液器上方定位有密封件或隔膜。在一些情况下,密封件或隔膜可以保持气密性密封,以维持允许控制流体运动的气压。在一些实施方式中,一个密封件或隔膜覆盖生物芯片的所有储液器。在一些实施方式中,一个密封件或隔膜覆盖生物芯片的多个储液器。在一些实施方式中,每个储液器由不同的密封件或隔膜覆盖。在一些实施方式中,密封件或隔膜是弹性体密封件或隔膜。

[0035] 在一些实施方式中,本公开的生物芯片包括储存罐(在本文中也称为罐)。在一些情况下,可以通过测试胚胎的培养基来预测胚胎的活力。在一些实施方式中,本公开的生物芯片被布置成使得可以从每个井中提取少量的流体。例如,储存罐可以经由微流体通道连接到井,并且施加到罐的顶部空间的负压可以将流体样品从井中抽到罐中。另选地,可以使用正排量柱塞将流体样品从井中移到储存罐中。所提取的液体可以储存在储存罐中用于以后取出。例如,可以在胚胎培养后和/或在胚胎转移或玻璃化之前取出储存在储存罐中的培养基。在一些实施方式中,使用透气介质(例如滤纸、疏水性过滤器或疏水性隔膜)覆盖储存罐并防止过量填充。在一些实施方式中,箔覆盖物覆盖和/或保护储存在储存罐中的培养基。在一些情况下,可以将箔片覆盖物放在覆盖储存罐的滤纸顶部。在一些实施方式中,箔片可产生允许建立负压的密封。在一些实施方式中,用户可以通过破坏箔片来取出储存在储存罐中的培养基。

[0036] 本公开的生物芯片可以包括盖。该盖可以例如封装生物芯片的一个或更多个其它部件。

[0037] 井。

[0038] 在一些情况下,用户可以从顶部接近本公开的生物芯片的井。例如,井可以从顶部敞开,以允许用户将卵母细胞或胚胎放置到井中。在一些情况下,可在放置卵母细胞后将可移除的盖放置在井的顶部。在一些情况下,井是透明的。生物芯片中的井数可以变化。例如,生物芯片可以具有1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、21个、22个、23个、24个、25个或多于25个井。在一些实施方式中,生物芯片可以具有至少1个、至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个、至少10个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个、至少24个或至少25个井。在一些实施方式中,卵母细胞可与井中的精子受精,并且受精的卵母细胞在井中成熟。成熟可以进行例如直到受精卵、胚胎或囊胚期。在一些实施方式中,可在井中培养受精卵、胚胎或囊胚。

[0039] 在一些实施方式中,本公开的生物芯片的井可以包括一个或更多个入口以及一个或更多个出口。在一些实施方式中,入口和出口的大小被设置成使得流体可以通过入口流入井或通过出口流出井,但是卵母细胞、胚胎、受精卵或囊胚不能流出井。例如,井的每个入口和出口可以在一个尺寸上小于卵母细胞、胚胎、受精卵或囊胚(以将细胞或细胞团块捕捉在井中),但在另一尺寸上大于卵母细胞、胚胎、受精卵或囊胚(以防止细胞或细胞团块阻塞并允许流体流入和流出井)。在一些实施方式中,在IVF过程的多个或全部步骤中,细胞或细胞团块保留在生物芯片的同一井内。在一些实施方式中,细胞或细胞团块通过抽吸而被保持在井内。

[0040] 入口或出口可以具有例如矩形或椭圆形的横截面。矩形和椭圆形横截面都可以具有两个尺寸,分别是长度和宽度,或者是长轴和短轴。在一些实施方式中,本公开的入口或出口具有大小为大约120 $\mu\text{m}$ 至大约500 $\mu\text{m}$ 的第一尺寸。在一些实施方式中,本公开的入口或出口具有第一尺寸,该第一尺寸的大小为约120 $\mu\text{m}$ 至约160 $\mu\text{m}$ 、约120 $\mu\text{m}$ 至约180 $\mu\text{m}$ 、约120 $\mu\text{m}$ 至约200 $\mu\text{m}$ 、约120 $\mu\text{m}$ 至约250 $\mu\text{m}$ 、约120 $\mu\text{m}$ 至约300 $\mu\text{m}$ 、约120 $\mu\text{m}$ 至约350 $\mu\text{m}$ 、约120 $\mu\text{m}$ 至约400 $\mu\text{m}$ 、约120 $\mu\text{m}$ 至约450 $\mu\text{m}$ 、约120 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 、约160 $\mu\text{m}$ 至约180 $\mu\text{m}$ 、约160 $\mu\text{m}$ 至约200 $\mu\text{m}$ 、约160 $\mu\text{m}$ 至约250 $\mu\text{m}$ 、约160 $\mu\text{m}$ 至约300 $\mu\text{m}$ 、约160 $\mu\text{m}$ 至约350 $\mu\text{m}$ 、约160 $\mu\text{m}$ 至约400 $\mu\text{m}$ 、约160 $\mu\text{m}$ 至约450 $\mu\text{m}$ 、约160 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 、约180 $\mu\text{m}$ 至约200 $\mu\text{m}$ 、约180 $\mu\text{m}$ 至约250 $\mu\text{m}$ 、约180 $\mu\text{m}$ 至约300 $\mu\text{m}$ 、约180 $\mu\text{m}$ 至约350 $\mu\text{m}$ 、约180 $\mu\text{m}$ 至约400 $\mu\text{m}$ 、约180 $\mu\text{m}$ 至约450 $\mu\text{m}$ 、约180 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 、约200 $\mu\text{m}$ 至约250 $\mu\text{m}$ 、约200 $\mu\text{m}$ 至约300 $\mu\text{m}$ 、约200 $\mu\text{m}$ 至约350 $\mu\text{m}$ 、约200 $\mu\text{m}$ 至约400 $\mu\text{m}$ 、约200 $\mu\text{m}$ 至约450 $\mu\text{m}$ 、约200 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 、约250 $\mu\text{m}$ 至约300 $\mu\text{m}$ 、约250 $\mu\text{m}$ 至约350 $\mu\text{m}$ 、约250 $\mu\text{m}$ 至约400 $\mu\text{m}$ 、约250 $\mu\text{m}$ 至约450 $\mu\text{m}$ 、约250 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 、约300 $\mu\text{m}$ 至约350 $\mu\text{m}$ 、约300 $\mu\text{m}$ 至约400 $\mu\text{m}$ 、约300 $\mu\text{m}$ 至约450 $\mu\text{m}$ 、约300 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 、约350 $\mu\text{m}$ 至约400 $\mu\text{m}$ 、约350 $\mu\text{m}$ 至约450 $\mu\text{m}$ 、约350 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 、约400 $\mu\text{m}$ 至约450 $\mu\text{m}$ 、约400 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 或约450 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 。在一些实施方式中,本公开的入口或出口具有第一尺寸,该第一尺寸的大小为约120 $\mu\text{m}$ 、约160 $\mu\text{m}$ 、约180 $\mu\text{m}$ 、约200 $\mu\text{m}$ 、约250 $\mu\text{m}$ 、约300 $\mu\text{m}$ 、约350 $\mu\text{m}$ 、约400 $\mu\text{m}$ 、约450 $\mu\text{m}$ 或约500 $\mu\text{m}$ 。在一些实施方式中,本公开的入口或出口具有第一尺寸,该第一尺寸的大小为至少约120 $\mu\text{m}$ 、至少约160 $\mu\text{m}$ 、至少约180 $\mu\text{m}$ 、至少约200 $\mu\text{m}$ 、至少约250 $\mu\text{m}$ 、至少约300 $\mu\text{m}$ 、至少约350 $\mu\text{m}$ 、至少约400 $\mu\text{m}$ 或至少约450 $\mu\text{m}$ 。在一些实施方式中,本公开的入口或出口具有第一尺寸,该第一尺寸的大小为至多约160 $\mu\text{m}$ 、至多约180 $\mu\text{m}$ 、至多约

200 $\mu\text{m}$ 、至多约250 $\mu\text{m}$ 、至多约300 $\mu\text{m}$ 、至多约350 $\mu\text{m}$ 、至多约400 $\mu\text{m}$ 、至多约450 $\mu\text{m}$ 或至多约500 $\mu\text{m}$ 。

[0041] 在一些实施方式中,本公开的入口或出口具有第二尺寸,该第二尺寸的大小为约1 $\mu\text{m}$ 至约60 $\mu\text{m}$ 。在一些实施方式中,本公开的入口或出口具有第二尺寸,该第二尺寸的大小为约1 $\mu\text{m}$ 至约10 $\mu\text{m}$ 、约1 $\mu\text{m}$ 至约20 $\mu\text{m}$ 、约1 $\mu\text{m}$ 至约30 $\mu\text{m}$ 、约1 $\mu\text{m}$ 至约40 $\mu\text{m}$ 、约1 $\mu\text{m}$ 至约50 $\mu\text{m}$ 、约1 $\mu\text{m}$ 至约60 $\mu\text{m}$ 、约10 $\mu\text{m}$ 至约20 $\mu\text{m}$ 、约10 $\mu\text{m}$ 至约30 $\mu\text{m}$ 、约10 $\mu\text{m}$ 至约40 $\mu\text{m}$ 、约10 $\mu\text{m}$ 至约50 $\mu\text{m}$ 、约10 $\mu\text{m}$ 至约60 $\mu\text{m}$ 、约20 $\mu\text{m}$ 至约30 $\mu\text{m}$ 、约20 $\mu\text{m}$ 至约40 $\mu\text{m}$ 、约20 $\mu\text{m}$ 至约50 $\mu\text{m}$ 、约20 $\mu\text{m}$ 至约60 $\mu\text{m}$ 、约30 $\mu\text{m}$ 至约40 $\mu\text{m}$ 、约30 $\mu\text{m}$ 至约50 $\mu\text{m}$ 、约30 $\mu\text{m}$ 至约60 $\mu\text{m}$ 、约40 $\mu\text{m}$ 至约50 $\mu\text{m}$ 、约40 $\mu\text{m}$ 至约60 $\mu\text{m}$ 或约50 $\mu\text{m}$ 至约60 $\mu\text{m}$ 。在一些实施方式中,本公开的入口或出口具有第二尺寸,该第二尺寸的大小为约1 $\mu\text{m}$ 、约10 $\mu\text{m}$ 、约20 $\mu\text{m}$ 、约30 $\mu\text{m}$ 、约40 $\mu\text{m}$ 、约50 $\mu\text{m}$ 或约60 $\mu\text{m}$ 。在一些实施方式中,本公开的入口或出口具有第二尺寸,该第二尺寸的大小为至少约1 $\mu\text{m}$ 、至少约10 $\mu\text{m}$ 、至少约20 $\mu\text{m}$ 、至少约30 $\mu\text{m}$ 、至少约40 $\mu\text{m}$ 或至少约50 $\mu\text{m}$ 。在一些实施方式中,本公开的入口或出口具有第二尺寸,该第二尺寸的大小为至多约10 $\mu\text{m}$ 、至多约20 $\mu\text{m}$ 、至多约30 $\mu\text{m}$ 、至多约40 $\mu\text{m}$ 、至多约50 $\mu\text{m}$ 、或至多约60 $\mu\text{m}$ 。

[0042] 在一些实施方式中,本公开的井可以包括抽吸端口。在一些情况下,抽吸端口可以用于将细胞或细胞团块保持在井中的单个位置。例如,施加到抽吸端口的负压可以导致卵母细胞、胚胎或囊胚保持压靠抽吸端口。

[0043] 通道。

[0044] 本文公开的生物芯片可以包括多个通道。这些通道可以选择性地连接到生物芯片的不同部件,例如储液器、井、储存罐、输入端口和输出端口。本文公开的生物芯片的通道可以具有相同或不同的大小。在一些实施方式中,本公开的通道的直径为约1 $\mu\text{m}$ 至约10,000 $\mu\text{m}$ 。在一些实施方式中,本公开的通道的直径为约1 $\mu\text{m}$ 至约5 $\mu\text{m}$ 、约1 $\mu\text{m}$ 至约10 $\mu\text{m}$ 、约1 $\mu\text{m}$ 至约50 $\mu\text{m}$ 、约1 $\mu\text{m}$ 至约100 $\mu\text{m}$ 、约1 $\mu\text{m}$ 至约200 $\mu\text{m}$ 、约1 $\mu\text{m}$ 至约300 $\mu\text{m}$ 、约1 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 、约1 $\mu\text{m}$ 至约1,000 $\mu\text{m}$ 、约1 $\mu\text{m}$ 至约2,000 $\mu\text{m}$ 、约1 $\mu\text{m}$ 至约5,000 $\mu\text{m}$ 、约1 $\mu\text{m}$ 至约10,000 $\mu\text{m}$ 、约5 $\mu\text{m}$ 至约10 $\mu\text{m}$ 、约5 $\mu\text{m}$ 至约50 $\mu\text{m}$ 、约5 $\mu\text{m}$ 至约100 $\mu\text{m}$ 、约5 $\mu\text{m}$ 至约200 $\mu\text{m}$ 、约5 $\mu\text{m}$ 至约300 $\mu\text{m}$ 、约5 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 、约5 $\mu\text{m}$ 至约1,000 $\mu\text{m}$ 、约5 $\mu\text{m}$ 至约2,000 $\mu\text{m}$ 、约5 $\mu\text{m}$ 至约5,000 $\mu\text{m}$ 、约5 $\mu\text{m}$ 至约10,000 $\mu\text{m}$ 、约10 $\mu\text{m}$ 至约50 $\mu\text{m}$ 、约10 $\mu\text{m}$ 至约100 $\mu\text{m}$ 、约10 $\mu\text{m}$ 至约200 $\mu\text{m}$ 、约10 $\mu\text{m}$ 至约300 $\mu\text{m}$ 、约10 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 、约10 $\mu\text{m}$ 至约1,000 $\mu\text{m}$ 、约10 $\mu\text{m}$ 至约2,000 $\mu\text{m}$ 、约10 $\mu\text{m}$ 至约5,000 $\mu\text{m}$ 、约10 $\mu\text{m}$ 至约10,000 $\mu\text{m}$ 、约50 $\mu\text{m}$ 至约100 $\mu\text{m}$ 、约50 $\mu\text{m}$ 至约200 $\mu\text{m}$ 、约50 $\mu\text{m}$ 至约300 $\mu\text{m}$ 、约50 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 、约50 $\mu\text{m}$ 至约1,000 $\mu\text{m}$ 、约50 $\mu\text{m}$ 至约2,000 $\mu\text{m}$ 、约50 $\mu\text{m}$ 至约5,000 $\mu\text{m}$ 、约50 $\mu\text{m}$ 至约10,000 $\mu\text{m}$ 、约100 $\mu\text{m}$ 至约200 $\mu\text{m}$ 、约100 $\mu\text{m}$ 至约300 $\mu\text{m}$ 、约100 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 、约100 $\mu\text{m}$ 至约1,000 $\mu\text{m}$ 、约100 $\mu\text{m}$ 至约2,000 $\mu\text{m}$ 、约100 $\mu\text{m}$ 至约5,000 $\mu\text{m}$ 、约100 $\mu\text{m}$ 至约10,000 $\mu\text{m}$ 、约200 $\mu\text{m}$ 至约300 $\mu\text{m}$ 、约200 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 、约200 $\mu\text{m}$ 至约1,000 $\mu\text{m}$ 、约200 $\mu\text{m}$ 至约2,000 $\mu\text{m}$ 、约200 $\mu\text{m}$ 至约5,000 $\mu\text{m}$ 、约200 $\mu\text{m}$ 至约10,000 $\mu\text{m}$ 、约300 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 、约300 $\mu\text{m}$ 至约1,000 $\mu\text{m}$ 、约300 $\mu\text{m}$ 至约2,000 $\mu\text{m}$ 、约300 $\mu\text{m}$ 至约5,000 $\mu\text{m}$ 、约300 $\mu\text{m}$ 至约10,000 $\mu\text{m}$ 、约500 $\mu\text{m}$ 至约1,000 $\mu\text{m}$ 、约500 $\mu\text{m}$ 至约2,000 $\mu\text{m}$ 、约500 $\mu\text{m}$ 至约5,000 $\mu\text{m}$ 、约500 $\mu\text{m}$ 至约10,000 $\mu\text{m}$ 、约1,000 $\mu\text{m}$ 至约2,000 $\mu\text{m}$ 、约1,000 $\mu\text{m}$ 至约5,000 $\mu\text{m}$ 、约1,000 $\mu\text{m}$ 至约10,000 $\mu\text{m}$ 、约2,000 $\mu\text{m}$ 至约5,000 $\mu\text{m}$ 、约2,000 $\mu\text{m}$ 至约10,000 $\mu\text{m}$ 或约5,000 $\mu\text{m}$ 至约10,000 $\mu\text{m}$ 。在一些实施方式中,本公开的通道的直径为约1 $\mu\text{m}$ 、约5 $\mu\text{m}$ 、约10 $\mu\text{m}$ 、约50 $\mu\text{m}$ 、约100 $\mu\text{m}$ 、约200 $\mu\text{m}$ 、约300 $\mu\text{m}$ 、约500 $\mu\text{m}$ 、约1,000 $\mu\text{m}$ 、约2,000 $\mu\text{m}$ 、约5,000 $\mu\text{m}$ 或约10,000 $\mu\text{m}$ 。在一些实施方式中,本公开的通道的直径为至少约1 $\mu\text{m}$

m、至少约5 $\mu$ m、至少约10 $\mu$ m、至少约50 $\mu$ m、至少约100 $\mu$ m、至少约200 $\mu$ m、至少约300 $\mu$ m、至少约500 $\mu$ m、至少约1,000 $\mu$ m、至少约2,000 $\mu$ m或至少约5,000 $\mu$ m。在一些实施方式中,本公开的通道的直径为至多约5 $\mu$ m、至多约10 $\mu$ m、至多约50 $\mu$ m、至多约100 $\mu$ m、至多约200 $\mu$ m、至多约300 $\mu$ m、至多约500 $\mu$ m、至多约1,000 $\mu$ m、至多约2,000 $\mu$ m、至多约5,000 $\mu$ m、或至多约10,000 $\mu$ m。

[0045] 阀。

[0046] 本文公开的生物芯片的阀可以控制通过生物芯片的流体流。阀可以位于例如通道内或通道的端部。本公开的生物芯片可以包括多个类型的阀的任何组合,诸如旋转阀、梭阀、闸阀和膜片阀。旋转阀通过使通道的一部分垂直于通道的其余部分旋转来工作。梭阀通过线性移位通道的一部分以使该部分与通道的其余部分未对齐来工作。闸阀利用活动销或闸板堵塞通道。当使用膜片阀时,一块材料会发生偏转或拉伸,以阻塞通向通道的端口或直接阻塞通道。在一些实施方式中,本文公开的生物芯片的阀被配置成使得在任一时间仅一个储液器连接至井。本文公开的阀可以通过例如本文中称为托架(cradle)的致动机电设备来操作。

[0047] 托架。

[0048] 本公开的生物芯片可以是系统的一部分。在一些情况下,本文公开的系统可以包括致动托架(本文中也称为托架)。在一些情况下,可以将生物芯片插入托架。托架可以与生物芯片机械地和/或气动地对接。在一些实施方式中,托架包括用于与生物芯片的阀接合的多个致动销。这些致动销可以由托架控制,以选择性地操作这些阀以控制流体流。这些致动销可以由例如微处理器控制。控制可以取决于被设置成在微处理器上预编程的指令,也可以通过远程控制机构直接或无线地控制。在一些实施方式中,托架操作这些阀以执行与IVF相关联的至少一个操作。

[0049] 本文公开的托架可包括例如阀、泵、传感器、电子设备和电源的任何组合。在一些实施方式中,托架包括内部电源,诸如电池。在一些情况下,电池是可充电电池。在一些情况下,本文公开的托架可以监测托架的电池电量并在电池低于临界水平时关闭某些能力。在一些实施方式中,托架连接到供电源。在一些实施方式中,托架的阀是机电操作的阀,诸如电磁阀。在一些实施方式中,托架包括温度控制单元,诸如加热器。在一些情况下,温度控制单元可以将生物芯片的温度在37 $^{\circ}$ C下保持1分钟、2分钟、3分钟、4分钟、5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、25分钟、30分钟、60分钟、120分钟、180分钟、240分钟、300分钟或更多分钟。

[0050] 托架可包括一个或更多个泵,例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个或更多个泵。托架的泵可以提供正压或负压的空气或液压。例如,托架可以向储液器中培养基上方的空气施压,以将培养基推至井中,或者可以向储存罐或废物储液器顶部的空气空间施加负压。泵的非限制性示例包括压力泵、注射泵、膜泵、蠕动泵、活塞泵、涡轮泵和基于毛细管作用的被动泵。

[0051] 本文公开的托架可以包括传感器。传感器的非限制性示例包括温度传感器、压力传感器、流量传感器、用于监测储液器、井和/或储存罐容积的传感器以及电容传感器。

[0052] 在一些实施方式中,托架可以确定生物芯片的井、储液器和/或储存罐中的液位。例如,托架的传感器可以检测井中油水界面的确切液位,或者可以检测流体何时下降到低于或上升到超过临界液位。在一些情况下,可以使用感测来防止井、储存罐和/或储液器的排空或过量填充。在一些实施方式中,可以利用电容传感器检测液位,该电容传感器检测由

于井、储存罐或储液器的液位变化而引起的两个电极之间的电容变化。电容传感器可以实现成印刷电路板上的焊盘。焊盘可以相互交错以增加将感测其上方的液体的边缘场。检测液位可以实现对每个井、储液器或储存罐中液位的闭环控制。

[0053] 在一些实施方式中,托架可以被布置成使得其可以识别和/或验证生物芯片。在一些情况下,本文公开的托架可以查询生物芯片以读取唯一的标识符。例如,生物芯片可以被封装在壳体中,在壳体上具有可以被托架识别的标识符。标识符的非限制性示例包括例如条形码、快速响应(QR)代码、二维条形码、射频识别(RFID)标签、机器可识别文本、机器可识别符号和电子芯片。在一些实施方式中,托架可以识别在本文公开的生物芯片上呈现的文本或符号。生物芯片的识别可以确保例如IVF过程的安全性和可靠性、使用授权部件、不重复使用生物芯片以及可以为与托架一起使用的生物芯片选择正确的工作流程。

[0054] 托架可以包括用于输入和输出信息的部件。例如,本文公开的托架可以接收诸如患者数据和处理方案之类的信息,并且可以输出诸如与IVF过程有关的数据之类的信息。

[0055] 在一些情况下,托架可以向用户提供有关在生物芯片中发生的过程(例如IVF)的反馈。托架可以提供反馈的方式的非限制性示例包括每个井下方的发光二极管(LED)、试剂储液器下方的LED、托架上方的LED、托架上方的显示器、蜂鸣器、扬声器以及发声器。本文公开的托架可以提供有关例如孵育时间、储液器中的液位、井中的液位、储存罐中的液位、温度和生物芯片内的压力的反馈。

[0056] 本文公开的托架可以与其它设备通信。例如,可以利用无线接口与其它设备进行通信。经由无线接口进行通信允许托架与系统的其它部分(诸如,可以充当其它无线和网络技术的接口的孵育器以及诸如自动低温保存设备)进行无线通信。诸如智能电话、平板电脑和PC之类的通用设备可以与系统通信,然后系统将其转发到托架。为了确保在实验室环境周围进行鲁棒通信,托架可以形成网状网络。本文公开的托架可以通过由通用智能手机和平板电脑支持的协议(例如,蓝牙或无线互联网)来进行无线通信,因此托架可以直接与其它设备通信。该通信可用于记录设备记录,例如温度。在一些示例中,无线通信可以从用户接口触发生物芯片动作以开始冷冻制备。

[0057] 本文公开的托架可以通过例如维护对其发生的所有事情的完整记录来确保可追溯性。在一些情况下,托架可以保持温度记录以及何时将其从孵育器中取出。

[0058] 在一些实施方式中,托架可以具有独立于系统其余部分的处理能力,并且可以具有一个或多个板上微控制器。独立的处理能力可允许托架独立于或半独立于系统的其余部分和/或系统的组成部分(例如孵育器)工作。

[0059] 孵育器。

[0060] 本文公开的系统可以包括孵育器。本文公开的生物芯片和托架可以被构造使得可以将生物芯片和托架放置在孵育器中。在一些实施方式中,本文公开的孵育器容纳多个生物芯片/托架组合。本文公开的孵育器可以控制和维持卵母细胞和胚胎发育的气体环境。在一些情况下,孵育器允许使用显微镜观察卵母细胞和胚胎的发育。本文公开的孵育器还可以执行附加功能。例如,本公开的孵育器可以拍摄所有卵母细胞/胚胎的常规图像以获取延时数据;维护患者数据、生物芯片和托架标识以及获取的图像(这可能在云中)的鲁棒记录;并允许用户输入所需的方案并跟踪胚胎进程(这可以被集成或经由外部或可分离屏幕进行访问)。

[0061] 下游分析。

[0062] 生物芯片可以被构造或被带到分析仪器(例如显微镜)上。下游分析可以是任何类型,并且可以自动将样品从生物芯片转移到分析仪器。

[0063] 示例

[0064] 示例1:IVF系统及其使用。

[0065] IVF系统包括图1所示的以下元件:生物芯片100、托架200和孵育器300。

[0066] 生物芯片100是消耗品,每个患者一个(能够处理多个卵母细胞/胚胎),其制造成本低廉,并容纳培养基、卵母细胞、精子和/或胚胎。

[0067] 托架200是可重复使用的;包含有阀、泵、压力传感器、温度传感器、电子设备、电池,并且通常在系统中设置,其中,每个生物芯片100在使用中需要一个托架。托架200控制生物芯片100内的温度和流体流,并确保可追溯性。

[0068] 对于孵育器300,每个实验室通常需要一个或多个孵育器,并且孵育器容纳许多(通常为6个至20个)生物芯片100和托架200。孵育器300提供环境控制(例如,气体和温度控制)。孵育器可以包括用于对胚胎进行延时成像的光学系统,并且可以利用将数据上传到远程站点的能力来控制数据存储。孵育器还可以提供图形用户界面(GUI),以供用户输入所需的方案并在孵育期间中监测胚胎的进程。GUI可以被集成到系统中,也可以是外部的/可分离的。

[0069] 孵育器300可以容纳多达几个托架200,每个托架连接到生物芯片100。每个生物芯片100具有输入(培养基、精子、卵母细胞等)和输出(囊胚、样品培养基等)。此外,每个托架200具有输入(患者数据、过程方案等)和输出(过程数据等)。同时,孵育器300还具有输入(主功率、气体等)和输出(成像数据、气体控制数据、温度控制数据等)。

[0070] 如图2、图3、图4和图5所示,生物芯片100包括:

[0071] -芯片10,该芯片包含所有微流体通道4、阀5、井2、3和罐6;

[0072] -盖7,该盖使生物芯片100看起来干净且简单;

[0073] -下膜14,该下膜密封芯片底部上的微流体通道;

[0074] -上膜13,该上膜密封芯片顶部上的微流体通道,使井和罐通过其上侧敞开;

[0075] -托盘12,该托盘包含储液器1,该储液器用于容纳流体/试剂,诸如油、孵育培养基、冷冻保护液(即玻璃化液)、受精培养基或精子等;

[0076] -密封件11,该密封件在托盘上面,用于维持控制流体运动所需的气压;

[0077] -箔片8,该箔片覆盖并保护培养基样本;以及

[0078] -滤纸9,该滤纸防止培养基样本过量填充罐6。

[0079] 在生物芯片100中,试剂流体被装载到储液器1中。装载既可以由生物芯片100的制造商完成,也可以由胚胎学家按照标准的供应格式转移。在后者的情况下,使用发光的提示和/或颜色编码以确保将试剂转移到正确的储液器100中。如上所述,储液器1可以包含油、孵育培养基、冷冻保护剂(即玻璃化液)、受精培养基或精子等作为试剂。

[0080] 每个输入储液器上面的密封件或隔膜11保持气密性密封,以维持控制流体运动所需的气压。

[0081] 由于试剂储液器1内试剂上方的空气腔中的正气压和/或负气压,流体流过生物芯片10。另选方法是使用置换驱动流,例如通过使用可以直接作用于流体通道4的注射泵、

活塞泵、压电振膜泵、蠕动泵。

[0082] 每个卵母细胞/胚胎有一个功能井3,用于受精/培养/冷冻交换,并且可选地,至少一个额外的非功能井2或工作井用于暂时保持卵母细胞或胚胎,从而用户可以更容易地装载功能井3。卵母细胞/胚胎的数目可以变化,可以在通过临床进行的有效处理周期与生物芯片100的复杂性之间取得平衡。

[0083] 如图6A和图6B所示,每个功能井3(以下简称为“井”)具有入口通道41和出口通道42。井3通常是敞开的,从敞开的顶部可以手动进入,而从基部的入口通道41和出口通道42则可以通过流体进入。每个入口通道41和出口通道42在一个尺寸上小于卵母细胞(以将卵母细胞捕捉在井3中),但在另一尺寸上大于卵母细胞(以防止被卵母细胞完全阻塞并允许液体在卵母细胞周围流动)。具体地,图6A示出了内部具有卵母细胞或胚胎0的一个功能井3(约0.5mm)的俯视图,该功能井包括入口通道41和出口通道42。图6B示出了横截面及其细节,其中,可以看到用于捕捉卵母细胞/胚胎的通道41、42的狭窄高度。可以在具有用于每个井的多个入口通道41和出口通道42的另选井系统中提供类似的功能。另一另选方式可以仅包括一个入口通道41和至少两个或更多个出口通道42。

[0084] 通道是矩形的,并且一个尺寸为 $10\mu\text{m}$ 至 $60\mu\text{m}$ ,另一个尺寸为 $120\mu\text{m}$ 至 $500\mu\text{m}$ 。

[0085] 通常,井3的形状满足以下功能:

[0086] -为用户提供放置和取出卵母细胞/胚胎的方便通道;

[0087] -卵母细胞可靠地位于足够小的区域内,以与性能、成本和复杂性可控的成像系统兼容(典型的直径范围为 $400\mu\text{m}$ 至 $1000\mu\text{m}$ 的视场);

[0088] -当发生流体交换时,卵母细胞不应承受显著应力(例如机械、热或化学);和

[0089] -卵母细胞不应远离其初始位置(例如,卵母细胞在流体交换期间不应向上漂浮并离开光学系统的焦点)。卵母细胞可以例如在ICSI过程期间通过抽吸来保持。

[0090] 井3是敞开的,但是提供了盖子以防止生物芯片100溢流。

[0091] 井2、3的材料从上方和下方都是透明的,以允许照明和卵母细胞/胚胎成像。流体从输入储液器1进出任何给定井3,然后从该井出来,并到达废物储液器。一系列的阀5控制这些流体流,这些流体流是由施加到流体储液器1(包括废物储液器)的顶部空间的正压力和/或负压力驱动的。

[0092] 示例2:生物芯片功能。

[0093] 生物芯片被制造成具有执行以下功能的能力:

[0094] a. 培养基平衡;

[0095] b. 微流体通道的启动(priming);

[0096] c. 利用培养基填充井3并利用油覆盖它们,以控制气体交换;

[0097] d. 受精,其涉及以下项中的一项:

[0098] i. 将精子移入井3中;

[0099] ii. 将精子移动到井3附近,但作为精子选择方法要求精子游动一定距离或通过物理特征;

[0101] iii. 使精子流过井3,也许使其在卵母细胞上方反复来回移动以增加成功受精的机会;

[0102] e. 从刚受精的胚胎清洗精子和卵丘细胞;

- [0103] f. 孵育/胚胎培养；
- [0104] g. 在规定的时间内或在孵育期间持续更换/清洗培养基；
- [0105] h. 低温制备(在玻璃化前利用冷冻保护剂代替卵母细胞/胚胎中的水)；
- [0106] i. 重新加热(玻璃化后用水/培养基代替冷冻保护剂)；
- [0107] j. 为非侵入式分析(植入前基因测试、蛋白质组学、代谢组学)的目的,针对每个井/胚胎单独地且可追踪的进行培养基的采样和储存；
- [0108] k. 未受精卵母细胞的剥脱(去除卵丘细胞)：
  - [0109] i. 经由机械方式,例如推/拉过或通过井3或相邻通道4中的特征；
  - [0110] ii. 根据现有的手动方案使用透明质酸酶；
  - [0111] iii. 与现有的手动方案相比,透明质酸酶的浓度低,且使用时间段长；
- [0112] l. 通过以下项中的一项或更多项来选择和准备精子：
  - [0113] i. 游动或跨越(step)挑战；
  - [0114] ii. 过滤器；
  - [0115] iii. 获能；
- [0116] m. 卵胞浆内精子注射(ICSI;可能需要使用附加外部设备,诸如磁捕获珠)；
  - [0117] i. 通过阻断线粒体的热或化学处理(受精后不需要精子线粒体)或通过让精子游动到各个井中然后用压力挤压尾部来固定选定的高活动性精子；
  - [0118] ii. 使用微流体通道将卵母细胞固定在适当位置以进行ICSI；
  - [0119] iii. 利用压电或其它方法从上方注入；
- [0120] n. 容量和/或流体控制：
  - [0121] i. 每个井3具有与井相邻的两个金属电极,它们用作电容传感器,以测量培养基/油界面(或培养基/空气界面)的高度。这些传感器用作反馈回路,以控制施加到流体通道4的(正和/或负)压力；
  - [0122] ii. 生物芯片100可以以任意比例混合两种试剂培养基(例如,培养试剂和冷冻保存试剂)。举例来说,混合是通过以下方法中的一种方法执行的：
    - [0123] 1) 将两种流体合并到一个通道4中,使流体彼此相邻流动并通过扩散混合；
    - [0124] 2) 使用微流体功能来混合；
- [0125] o. 该生物芯片可以执行各种冷冻制备方案,例如：
  - [0126] i. 现有的分步方案(冷冻保护剂浓度为0%、50%、100%)；
  - [0127] ii. 随着步骤数量的增加而提高；
  - [0128] iii. 持续进行冷冻交换,在所需的时间段内(例如在7分钟至20分钟之间)将冷冻流体的浓度从0%增加到100%；
- [0129] p. 流体更换,其可能涉及：
  - [0130] i. 持续地流入新培养基并将旧培养基抽出,以使井3中的液位保持恒定；
  - [0131] ii. 通过抽出旧培养基减少井中的流体的液位,然后用新鲜培养基代替该流体,并在必要时重复进行；
  - [0132] iii. 注入精确体积/剂量的培养基/试剂；
- [0133] q. 培养基采样：
  - [0134] i. 生物芯片100被布置成使得可以从每个井3中提取少量的流体,并将其储存在储

存罐6中,以用于以后的取出。

[0135] 示例3:胚胎培养基采样:

[0136] 如图7所示,通过压力源对井3进行采样。负压端口21和负压/真空通道4链接到所有采样罐6上方的共用顶部空间和单独的顶部空间,所有采样罐6进一步链接到井3,如图8所示。采样的培养基被储存在各个罐6(每个井3对应一个罐)中,并用透气的疏水层、网或纸9覆盖,以使通往所有十二个功能井3的共用抽吸通道4或负压通道4将填充所有十二个储液器或罐6。一旦每个单独的罐6被装满,通过透气层9吸取液体所需的压力就比向空的罐6吸入更多液体所需的压力高得多,因此第一罐6不会溢出,并且因此序列中的下一个罐将自动继续填充。胚胎培养基可以在芯片外进行分析。

[0137] 罐6和滤纸9覆盖有一层箔片8,其具有两个目的:创建密封通道,以使得能够建立负压;以及保护罐6及其中的培养基,直到用户选择破坏箔片密封件8并取出样品培养基为止。

[0138] 第二生物芯片在另选情况下执行良好的采样。单个罐6经由微流体通道4连接到单个井3并向罐6的顶部空间施加负压导致将液体从井3中抽出到罐中6。

[0139] 第三生物芯片经由使用如图9所示的正排量柱塞400执行良好的采样。该井连接至两个或更多个通道(至少一个入口和至少一个出口),并且还包括用于柱塞400的至少一个通道,所述至少一个通道可以以自动化方式调节井内部的流体的体积、将一定体积的流体以自动化方式抽取或甚至引入井内部。

[0140] 示例4:托架设计。

[0141] 托架被如图5和图10所示构造。托架200是可重复使用的机电组件,其与生物芯片100机械地和气动地对接。如图10所示,属于托架200的阀致动销203与生物芯片100上的流体阀5对接。托架保持所需的温度条件,并控制生物芯片100中的流体运动。

[0142] 采用三个泵,两个泵用于向储液器中的培养基上方的空气加压(使得可以将两个培养基同时推到井中以达到全部浓度范围)并且一个用于向罐或废物储液器顶部的空气空间施加负压(以将液体抽向所述罐或废物储液器)。

[0143] 一系列隔膜式流体阀控制流体在生物芯片内采取的路径。致动器和其它复杂部件被保持在托架200上,并与生物芯片100上的简单特征相互作用以形成如上示例性的阀5。

[0144] 为了通过单个凸轮控制流体阀,提供了一种在每个井3中具有四个定义的角度位置的结构。这四个位置是:

[0145] a. 内阀51打开,外阀52关闭;

[0146] b. 外阀52打开,内阀51关闭;

[0147] c. 内阀51和外阀52均打开;

[0148] d. 内阀51和外阀52均关闭。

[0149] 这些阀被配置成允许一次仅打开一个井3的通道以准确地控制到每个井3的流体流(在生物芯片的其它配置中,类似的阀布局也可能一次打开多于一个阀)。

[0150] 示例5:利用托架控制井的填充和环境。

[0151] 储液器1与井3之间的通道是空的。一个接一个地,来自储液器1的流体被排队以准备好流入井3。阀51、52用作交通信号灯,其意义在于,这些阀控制哪些流体可以流向何处,即,来自每个储液器1的每种流体可以流向哪个井3。在该示例的托架/生物芯片配置中,只

能同时打开一个内部阀51和一个外部阀52。

[0152] 提供了附加阀,以将托架200中的泵链接到试剂储液器1中的空气空间。它们在托架200上,并被示出为电磁阀。这些可能会被门锁以降低功耗。它们被布置在网络中,以实现泵与储液器1之间的所有路由组合,但减少了所需的阀数量。

[0153] 通过将电阻加热器靠近井3定位来实现热控制。这些加热器是印刷电路板(PCB)上的分立部件,或者另选地,采用PCB上的用于其它功能的现有迹线。温度传感器测量井附近的温度。在微控制器上提供了控制系统,以通过相对于可编程设定点的脉宽调制(PWM)来驱动加热器。控制系统是比例积分微分(PID)。PCB的接地平面(可以是铜)将热量从加热器传递到井。然后切断接地平面,以防止热量被从生物芯片中带走并加热周围环境或托架的其余部分。可以在PCB的材料上进行路径切割(Routed Cut),以防止导热。当PCB为FR4类型(其是绝缘的)时,不进行路径切割。加热器均匀地加热所有井3。在前部的工作井2具有不同的几何形状,并使用附加加热器保持其温度。加热器的控制独立于托架200的顶部部分,因此只要通电,基座就保持一定温度。具有警报功能的数字温度传感器控制输出,并在温度控制回路出现错误时防止过热。

[0154] 托架感测生物芯片100的每个井3中的液位。该感测对每个井中的液位维持闭环控制。传感器检测井3中水油界面的确切液位,并识别出流体何时降至临界液位以下或高于临界液位。感测液位会防止排空或过量填充。利用电容传感器感测每个井3中的液位,该电容传感器在两个电极之间具有对每个井3中的液位敏感的电容。

[0155] 托架的帮助托架执行功能的特征包括:

[0156] -与生物芯片100复合的托架200的几何形状与通过标准倒置显微镜进行的成像兼容。

[0157] -从生物芯片100的井3(成像平面)的表面到底部的距离应保持最小,以匹配常见物镜的工作距离。

[0158] -井3上方的区域保持畅通,并且托架200的顶部部分被切掉,以允许任何聚光器都足够靠近井3。

[0159] -总面积类似于显微镜载物台的大小。

[0160] -当组合在一起时,与生物芯片100复合的托架200的几何形状与通过标准立体显微镜进行的成像兼容。

[0161] -与生物芯片复合的托架的总面积类似于显微镜载物台的面积。

[0162] -成像平面应尽可能靠近基部,以使图像与来自同一工作表面上培养皿上的图像的平面非常相似。当在培养皿与生物芯片100之间移动时,这种配置减少了重新聚焦的需要。

[0163] 示例6:利用本公开的自动化系统执行IVF。

[0164] 从先前经历了卵泡刺激的雌性受试者中取出包含卵丘卵母细胞复合体(COC)的卵泡液。从卵泡液中分离出六个COC,并进行清洗。在进行COC分离和清洗后,将每个COC定位在生物芯片的井中,该芯片与托架复合。通过生物芯片上的输入端口,利用油、孵育培养基、玻璃化液、受精培养基和来自雄性供体的精子来填充生物芯片的储液器。

[0165] 托架使用气动力和膜片阀的致动来将受精培养基驱动到包含COC的井中。此外,托架驱动油来覆盖井并保持用于细胞的稳定条件。在约2小时至约6个小时后,托架使用气动

压力驱动包含精子的流体通过微通道流向具有COC的井。在精子到达井附近的获能区域时，气动力停止。获能区域包括精子必须游动通过以到达井中的COC的物理特征，并且可以作为选择活动性精子的方法。到达COC后，将精子与COC一起孵育16小时。孵育16小时后，托架将胚胎培养基驱动到具有受精卵母细胞（现在为受精卵）的井中，并去除精子和包含已分离的卵丘细胞的受精培养基。在一些情况下，托架利用包含少量透明质酸酶（10IU至100IU）的培养基执行附加清洗。将油添加到井以保持用于胚胎的稳定条件。

[0166] 在整个受精和培养过程中，环境控制由孵育器提供，该孵育器容纳托架-生物芯片复合体。另外，通过自动显微镜系统来监测胚胎发育。在胚胎培养的第3天，托架提供气动力和阀致动以替换胚胎培养基。

[0167] 在胚胎培养的5天后，托架经由气动压力和阀的致动来驱动增加浓度梯度的玻璃化液。在井填充有玻璃化液时，将胚胎培养基从井移至废物储液器或储存罐中。将玻璃化液添加到井中，以使井中玻璃化液的浓度在15分钟的时段内从0%增加到100%。在井填充有100%玻璃化液后，将胚胎转移到单独的部件中并储存在液氮中，直到发生子宫转移过程为止。

[0168] 实施方式

[0169] 以下非限制性实施方式提供了本文公开的设备、系统和方法的例示性示例，但是不限制本公开的范围。

[0170] 实施方式1. 一种方法，所述方法包括：(a) 将一组细胞放置到井中，所述井包括：(i) 敞开的上端；(ii) 封闭的下端；(iii) 周边主体，所述周边主体连接所述封闭的下端和所述敞开的上端；(iv) 入口，其中，所述入口在第一尺寸上的大小大于所述一组细胞的直径并且所述入口在第二尺寸上的大小小于所述一组细胞的所述直径；(v) 出口，其中，所述出口在第一尺寸上的大小大于所述一组细胞的所述直径并且所述出口在第二尺寸上的大小小于所述一组细胞的所述直径；以及(b) 执行液体交换，其中，所述液体交换包括：(I) 使第一液体通过所述入口流入所述井中；以及(II) 使第二液体通过所述出口流出所述井；其中，执行所述液体交换促进了所述一组细胞的胚胎发育。

[0171] 实施方式2. 根据实施方式1所述的方法，其中，所述一组细胞是一组胚胎细胞。

[0172] 实施方式3. 根据实施方式1或2所述的方法，其中，所述一组细胞是单个细胞。

[0173] 实施方式4. 根据实施方式3所述的方法，其中，所述单个细胞是卵母细胞。

[0174] 实施方式5. 根据实施方式1或2所述的方法，其中，所述一组细胞是多个细胞的团块。

[0175] 实施方式6. 根据实施方式5所述的方法，其中，所述多个细胞的团块是卵丘卵母细胞复合体。

[0176] 实施方式7. 根据实施方式5所述的方法，其中，所述多个细胞的团块是受精卵。

[0177] 实施方式8. 根据实施方式5所述的方法，其中，所述多个细胞的团块是胚胎。

[0178] 实施方式9. 根据实施方式5所述的方法，其中，所述多个细胞的团块是囊胚。

[0179] 实施方式10. 根据实施方式1至9中任一项所述的方法，所述方法还包括通过所述敞开的上端将所述一组细胞放置到所述井中。

[0180] 实施方式11. 根据实施方式1至10中任一项所述的方法，所述方法还包括：在步骤(a)之前，通过所述敞开的上端将所述第二液体放置到所述井中。

[0181] 实施方式12.根据实施方式1至10中任一项所述的方法,所述方法还包括:在步骤(a)之前,使所述第二液体从通过通道流体地连接至所述入口的储液器通过所述入口流入所述井中。

[0182] 实施方式13.根据实施方式1至12中任一项所述的方法,其中,所述第一液体包括精子细胞。

[0183] 实施方式14.根据实施方式1至12中任一项所述的方法,其中,所述第一液体包括油。

[0184] 实施方式15.根据实施方式1至12中任一项所述的方法,其中,所述第一液体是受精培养基。

[0185] 实施方式16.根据实施方式1至12中任一项所述的方法,其中,所述第一液体包括冷冻保护剂。

[0186] 实施方式17.根据实施方式1至12中任一项所述的方法,其中,所述第一液体是胚胎培养基。

[0187] 实施方式18.根据实施方式17所述的方法,其中,所述胚胎培养基包括透明质酸酶。

[0188] 实施方式19.根据实施方式1至18中任一项所述的方法,其中,所述第二液体包括精子细胞。

[0189] 实施方式20.根据实施方式1至18中任一项所述的方法,其中,所述第二液体包括油。

[0190] 实施方式21.根据实施方式1至18中任一项所述的方法,其中,所述第二液体是受精培养基。

[0191] 实施方式22.根据实施方式1至18中任一项所述的方法,其中,所述第二液体包括冷冻保护剂。

[0192] 实施方式23.根据实施方式1至18中任一项所述的方法,其中,所述第二液体是胚胎培养基。

[0193] 实施方式24.根据实施方式23所述的方法,其中,所述胚胎培养基包括透明质酸酶。

[0194] 实施方式25.根据实施方式1至24中任一项所述的方法,所述方法还包括:在步骤(b)之后,执行第二液体交换,其中,所述第二液体交换包括:(III)使第三液体通过所述入口流入所述井中;以及(IV)使所述第一液体通过所述出口流出所述井。

[0195] 实施方式26.根据实施方式1至25中任一项所述的方法,其中,所述井通过通道流体地连接至储液器,所述方法还包括经由阀的致动来控制从所述储液器通过所述通道到所述井的液体流。

[0196] 实施方式27.根据实施方式1至26中任一项所述的方法,其中,所述井通过通道流体地连接至储液器,所述方法还包括通过力来控制从所述储液器通过所述通道到所述井的液体流。

[0197] 实施方式28.根据实施方式27所述的方法,其中,所述力是气动力。

[0198] 实施方式29.根据实施方式27所述的方法,其中,所述力是液压力。

[0199] 实施方式30.根据实施方式27所述的方法,其中,所述力是重力。

[0200] 实施方式31.根据实施方式1至30中任一项所述的方法,所述方法还包括使所述第二液体从所述出口流向储存罐。

[0201] 实施方式32.根据实施方式1至31中任一项所述的方法,所述方法还包括:(c)将负压端口连接到储存罐,其中,所述储存罐被透气介质覆盖并且所述储存罐被流体地连接至所述井(d)通过所述负压端口将气压从所述储存罐中抽出,使所述第二液体通过所述出口流入所述储存罐中,使得所述储存罐填充所述第二液体,并且使所述第二液体接近所述透气介质;以及(e)当所述第二液体接触所述透气介质时,停止将所述第二液体吸入所述储存罐中。

[0202] 实施方式33.根据实施方式1至32中任一项所述的方法,所述方法还包括使所述第二液体从所述出口流向废物容器。

[0203] 实施方式34.根据实施方式1至33中任一项所述的方法,根据权利要求1所述的方法,所述方法还包括经由抽吸使所述井内的所述一组细胞固定不动。

[0204] 实施方式35.根据实施方式1至34中任一项所述的方法,所述方法还包括控制所述井内的液体温度。

[0205] 实施方式36.根据实施方式1至35中任一项所述的方法,所述方法还包括监测所述井内的所述一组细胞。

[0206] 实施方式37.根据实施方式36所述的方法,其中,监测所述一组细胞包括在显微镜下观察所述一组细胞。

[0207] 实施方式38.一种收集条件培养基的方法,所述方法包括:

[0208] (a)通过在井内的培养基中培养一组细胞生成所述条件培养基,所述井包括:(i)敞开的上端;(ii)封闭的下端;(iii)周边主体,所述周边主体连接所述封闭的下端和所述敞开的上端;(iv)出口,其中,所述出口在第一尺寸上的大小大于所述一组细胞的直径并且所述出口在第二尺寸上的大小小于所述一组细胞的所述直径;(b)将负压端口连接到储存罐,其中,所述储存罐被透气介质覆盖并且所述储存罐被流体地连接至所述井;(c)通过所述负压端口将气压从所述储存罐中抽出,使所述条件培养基通过所述出口流入所述储存罐中,使得所述储存罐填充所述条件培养基,并且使所述条件培养基接近所述透气介质;以及(d)当所述条件培养基接触所述透气介质时,停止将所述条件培养基吸入所述储存罐中。

[0209] 实施方式39.根据实施方式38所述的方法,其中,所述一组细胞是一组胚胎细胞。

[0210] 实施方式40.根据实施方式38或39所述的方法,其中,所述一组细胞是单个细胞。

[0211] 实施方式41.根据实施方式40所述的方法,其中,所述单个细胞是卵母细胞。

[0212] 实施方式42.根据实施方式38或39所述的方法,其中,所述一组细胞是多个细胞的团块。

[0213] 实施方式43.根据实施方式42所述的方法,其中,所述多个细胞的团块是卵丘卵母细胞复合体。

[0214] 实施方式44.根据实施方式42所述的方法,其中,所述多个细胞的团块是受精卵。

[0215] 实施方式45.根据实施方式42所述的方法,其中,所述多个细胞的团块是胚胎。

[0216] 实施方式46.根据实施方式42所述的方法,其中,所述多个细胞的团块是囊胚。

[0217] 实施方式47.根据实施方式38至46中任一项所述的方法,所述方法还包括:在(a)之前,通过所述敞开的上端将所述一组细胞放置到所述井中。

[0218] 实施方式48.根据实施方式38至47中任一项所述的方法,所述方法还包括:在步骤(a)之前,通过所述敞开的上端将所述培养基放置到所述井中。

[0219] 实施方式49.根据实施方式38至48中任一项所述的方法,其中,所述井还包括入口,其中,所述入口在第一尺寸上的大小大于所述一组细胞的所述直径并且所述入口在第二尺寸上的大小小于所述一组细胞的所述直径。

[0220] 实施方式50.根据实施方式49所述的方法,所述方法还包括使液体从通过通道流体地连接至所述入口的储液器流动通过所述入口。

[0221] 实施方式51.根据实施方式50所述的方法,其中,所述液体是胚胎培养基。

[0222] 实施方式52.根据实施方式51所述的方法,其中,所述胚胎培养基包括透明质酸酶。

[0223] 实施方式53.根据实施方式50所述的方法,其中,所述液体包括油。

[0224] 实施方式54.根据实施方式50所述的方法,其中,所述液体包括冷冻保护剂。

[0225] 实施方式55.根据实施方式38至54中任一项所述的方法,其中,所述储存罐通过通道流体地连接至所述井,所述方法还包括经由阀的致动来控制从所述井到所述储存罐的条件培养基的流动。

[0226] 实施方式56.根据实施方式38至55中任一项所述的方法,所述方法还包括经由抽吸使所述井内的所述一组细胞固定不动。

[0227] 实施方式57.根据实施方式38至56中任一项所述的方法,所述方法还包括控制所述井内的液体温度。

[0228] 实施方式58.根据实施方式38至57中任一项所述的方法,所述方法还包括监测所述井内的所述一组细胞。

[0229] 实施方式59.根据实施方式38至58中任一所述的方法,其中,所述透气介质是滤纸。

[0230] 实施方式60.根据实施方式38至58中任一所述的方法,其中,所述透气介质是疏水过滤器。

[0231] 实施方式61.根据实施方式38至58中任一所述的方法,其中,所述透气介质是疏水隔膜。

[0232] 实施方式62.一种生物芯片,所述生物芯片包括:(a)第一层,所述第一层包括多个储液器;(b)第二层,所述第二层包括:(i)压印在所述第二层中的多个通道,其中,这些通道与所述多个储液器流体连通;(ii)多个阀,所述多个阀被配置成控制所述多个通道内的液体流;以及(iii)压印在所述第二层中的井,所述井通过所述多个通道流体地连接至所述多个储液器,其中,所述井包括:(I)敞开的上端;(II)封闭的下端;(III)周边主体,所述周边主体连接所述封闭的下端和所述敞开的上端;(IV)入口;以及(V)出口,其中,所述井包含一组细胞,所述入口在第一尺寸上的大小大于所述一组细胞的直径,所述入口在第二尺寸上的大小小于所述一组细胞的所述直径,所述出口在第一尺寸上的大小大于所述一组细胞的所述直径并且所述出口在第二尺寸上的大小小于所述一组细胞的所述直径;以及(c)壳体,所述壳体封装所述第一层和所述第二层。

[0233] 实施方式63.根据实施方式62所述的生物芯片,其中,所述第一层直接位于所述第二层的上面。

[0234] 实施方式64. 根据实施方式62或63所述的生物芯片, 其中, 所述第二层还包括: (iv) 上膜, 所述上膜将所述通道从顶部密封; 以及 (v) 下膜, 所述下膜将所述通道从底部密封。

[0235] 实施方式65. 根据实施方式62至64中任一项所述的生物芯片, 所述生物芯片还包括多个输入端口, 其中, 所述多个输入端口中的每个输入端口通向所述多个储液器中的至少一个储液器。

[0236] 实施方式66. 根据实施方式62至65中任一项所述的生物芯片, 所述生物芯片还包括: (d) 多个孔口, 其中, 所述多个孔口位于所述多个储液器的上方; (e) 压力源; 以及 (f) 密封层, 所述密封层位于所述多个储液器与所述压力源之间并与所述多个储液器和所述压力源接触; 其中, 所述密封层在所述压力源与所述多个储液器之间提供气动密封。

[0237] 实施方式67. 根据实施方式62至66中任一项所述的生物芯片, 所述生物芯片还包括: (d) 压印在所述第二层上的储存罐; 以及 (e) 透气介质, 所述透气介质覆盖所述储存罐。

[0238] 实施方式68. 根据实施方式67所述的生物芯片, 其中, 所述透气介质是滤纸。

[0239] 实施方式69. 根据实施方式67所述的生物芯片, 其中, 所述透气介质是疏水过滤器。

[0240] 实施方式70. 根据实施方式67所述的生物芯片, 所述生物芯片还包括箔片, 所述箔片覆盖所述透气介质。

[0241] 实施方式71. 根据实施方式62至70中任一项所述的生物芯片, 其中, 所述多个储液器被容纳在托盘内。

[0242] 实施方式72. 根据实施方式62至71中任一项所述的生物芯片, 其中, 所述第二层还包括负压端口。

[0243] 实施方式73. 根据实施方式62至71中任一项所述的生物芯片, 其中, 所述第二层还包括负压通道。

[0244] 实施方式74. 根据实施方式62至73中任一项所述的生物芯片, 其中, 所述一组细胞是一组胚胎细胞。

[0245] 实施方式75. 根据实施方式62至74中任一项所述的生物芯片, 其中, 所述一组细胞是单个细胞。

[0246] 实施方式76. 根据实施方式75所述的生物芯片, 其中, 所述单个细胞是卵母细胞。

[0247] 实施方式77. 根据实施方式62至74中任一项所述的生物芯片, 其中, 所述一组细胞是多个细胞的团块。

[0248] 实施方式78. 根据实施方式77所述的生物芯片, 其中, 所述多个细胞的团块是卵丘卵母细胞复合体。

[0249] 实施方式79. 根据实施方式77所述的生物芯片, 其中, 所述多个细胞的团块是受精卵。

[0250] 实施方式80. 根据实施方式77所述的生物芯片, 其中, 所述多个细胞的团块是胚胎。

[0251] 实施方式81. 根据实施方式77所述的生物芯片, 其中, 所述多个细胞的团块是囊胚。

[0252] 实施方式82. 根据实施方式62至81中任一项所述的生物芯片, 其中, 所述井还包括

抽吸端口。

[0253] 实施方式83.根据实施方式62至82中任一项所述的生物芯片,其中,所述多个通道是多个微流体通道。

[0254] 实施方式84.根据实施方式62至83中任一项所述的生物芯片,其中,所述入口在第一尺寸上的大小为约120 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 。

[0255] 实施方式85.根据实施方式62至84中任一项所述的生物芯片,其中,所述入口在第二尺寸上的大小为约1 $\mu\text{m}$ 至约60 $\mu\text{m}$ 。

[0256] 实施方式86.根据实施方式62至85中任一项所述的生物芯片,其中,所述出口在第一尺寸上的大小为约120 $\mu\text{m}$ 至约500 $\mu\text{m}$ 。

[0257] 实施方式87.根据实施方式62至86中任一项所述的生物芯片,其中,所述出口在第二尺寸上的大小为约1 $\mu\text{m}$ 至约60 $\mu\text{m}$ 。

[0258] 实施方式88.根据实施方式62至87中任一项所述的生物芯片,其中,所述多个通道中的通道的直径为为约1 $\mu\text{m}$ 至约10,000 $\mu\text{m}$ 。

[0259] 实施方式89.根据实施方式62至88中任一项所述的生物芯片,其中,所述多个阀包括旋转阀。

[0260] 实施方式90.根据实施方式62至89中任一项所述的生物芯片,其中,所述多个阀包括梭阀。

[0261] 实施方式91.根据实施方式62至90中任一项所述的生物芯片,其中,所述多个阀包括闸阀。

[0262] 实施方式92.根据实施方式62至91中任一项所述的生物芯片,其中,所述多个阀包括膜片阀。

[0263] 实施方式93.根据实施方式62至92中任一项所述的生物芯片,其中,所述多个阀被配置成由托架控制。

[0264] 实施方式94.根据实施方式62至93中任一项所述的生物芯片,其中,所述壳体包括与受试者相对应的标识符,其中,所述一组细胞源自所述受试者。

[0265] 实施方式95.一种套件,所述套件包括:(a)实施方式62至94中任一项所述的生物芯片;(b)油;(c)冷冻保护剂;(d)受精培养基;以及(e)胚胎培养基。

[0266] 实施方式96.一种系统,所述系统包括:(a)实施方式62至94中任一项所述的生物芯片;以及(b)致动托架,其中,所述生物芯片被装配到所述致动托架中。

[0267] 实施方式97.根据实施方式96所述的系统,其中,所述多个阀被配置成由所述致动托架控制。

[0268] 实施方式98.根据实施方式96或97所述的系统,其中,所述致动托架包括多个致动销。

[0269] 实施方式99.根据实施方式98所述的系统,其中,所述多个致动销被配置成与所述多个阀接合。

[0270] 实施方式100.根据实施方式96至99中任一项所述的系统,其中,所述致动托架还包括传感器。

[0271] 实施方式101.根据实施方式100所述的系统,其中,所述传感器是温度传感器。

[0272] 实施方式102.根据实施方式100所述的系统,其中,所述传感器是电容传感器。

- [0273] 实施方式103.根据实施方式100所述的系统,其中,所述传感器是流量传感器。
- [0274] 实施方式104.根据实施方式96至103中任一项所述的生物芯片,其中,所述生物芯片包括与受试者相对应的标识符,所述一组细胞源自所述受试者并且所述托架被配置成识别所述标识符。
- [0275] 实施方式105.根据实施方式96至104中任一项所述的系统,其中,所述托架包括电源。
- [0276] 实施方式106.根据实施方式96至105中任一项所述的系统,其中,所述托架包括泵。
- [0277] 实施方式107.根据实施方式96至106中任一项所述的系统,所述系统还包括孵育器,其中,所述托架被插入到所述孵育器中。
- [0278] 实施方式108.一种生物芯片,所述生物芯片包括:至少一个井,所述至少一个井用于容纳和保持卵母细胞以进行操纵;多个储液器,所述多个储液器用于在使用中保持用于处理所述卵母细胞或相关联的受精卵或胚胎的流体;多个通道,所述多个通道能选择性地连接在所述储液器与所述井之间;以及多个阀,每个阀与至少一个相应的通道相关联,并且被布置成使得在使用中它们控制所述储液器与所述井之间的连接,使得能够在使用中对所述卵母细胞或胚胎执行体外受精和/或玻璃化方法中的多个步骤。
- [0279] 实施方式109.根据实施方式108所述的生物芯片,其中,所述储液器、通道和阀被布置成使得在任一时间仅一个储液器能够被连接至所述井。
- [0280] 实施方式110.根据实施方式108或109所述的生物芯片,其中,所述井被配置成使得卵母细胞能够被放置在其中,但是通过入口和出口的大小来保持在所述井内,所述入口和所述出口的大小还被设计成使得它们确保当卵母细胞在适当位置时,流体自由流入和流出所述井。
- [0281] 实施方式111.根据实施方式110所述的生物芯片,其中,所述井被构造成使得在使用中被放置在其中的任何卵母细胞、受精卵或胚胎不能进入封闭通道。
- [0282] 实施方式112.根据实施方式108至111中任一项所述的生物芯片,其中所述井被构造成使得在使用中被放置在所述井中的任何卵母细胞、受精卵或胚胎的位置基本处于与所述生物芯片的平面相同的竖直平面中。
- [0283] 实施方式113.根据实施方式108至112中任一项所述的生物芯片,其中,所述井被配置成使得所述卵母细胞能够通过抽吸保持在适当位置。
- [0284] 实施方式114.根据实施方式108至113中任一项所述的生物芯片,其中,所述井是敞开的,以允许用户在使用中装载精子/卵母细胞/受精卵/胚胎或去除卵母细胞/受精卵/胚胎。
- [0285] 实施方式115.根据实施方式108至114中任一项所述的生物芯片,其中,所述阀被布置成由致动托架操作,在使用中所述生物芯片被插入所述致动托架。
- [0286] 实施方式116.根据实施方式108至115中任一项所述的生物芯片,其中,所述通道的大小使得流体能够被气动或液压地驱动通过它们。
- [0287] 实施方式117.根据实施方式108至116中任一项所述的生物芯片,其中,所述井是透明的,使得在处理期间可以观察到被定位在其中的任何卵母细胞/受精卵/胚胎。
- [0288] 实施方式118.根据实施方式117所述的生物芯片,其中,所述井被构造有光学通路

和物理结构,使得放置在其中的任何卵母细胞、受精卵或胚胎能够在标准倒置显微镜上成像。

[0289] 实施方式119.根据实施方式108至118中任一项所述的生物芯片,其中,所述储液器被配置成使得它们能够被重新填充并且能够具有防止过量填充的结构。

[0290] 实施方式120.根据实施方式108至119中任一项所述的生物芯片,其中,所述储液器被构造成防止不正确的填充。

[0291] 实施方式121.一种用于根据实施方式108至120中任一项所述生物芯片的托架,所述托架包括多个致动销,当在使用中所述生物芯片已经被插入所述托架时,所述致动销用于与所述生物芯片上的阀接合,所述托架还包括用于控制所述致动销的装置,该装置控制所述致动销来选择性地操作所述阀以执行与体外受精过程相关联的至少一个操作。

[0292] 实施方式122.根据实施方式121所述的托架,所述托架还包括加热器。

[0293] 实施方式123.根据实施方式121或122所述的托架,所述托架还包括用于测量所述生物芯片上的温度的传感器。

[0294] 实施方式124.根据实施方式121至123中任一项所述的托架,所述托架还包括用于监测所述生物芯片内的储液器液位的传感器。

[0295] 实施方式125.根据实施方式121至124中任一项所述的托架,所述托架还包括用于控制所述致动销的微处理器,所述控制取决于被设置成在所述微处理器上预编程的指令或者通过远程控制机构直接或无线地控制。

[0296] 实施方式126.根据实施方式121至125中任一项所述的托架,所述托架还包括其自身的电源。

[0297] 实施方式127.根据实施方式121至126中任一项所述的托架,所述托架还包括用于识别所述生物芯片以确保过程的安全性和可靠性的装置。

[0298] 实施方式128.一种系统,所述系统包括实施方式108至120中任一项所述的生物芯片和实施方式121至127中任一项所述的托架。

[0299] 实施方式129.根据实施方式128所述的系统,所述系统还包括孵育器。

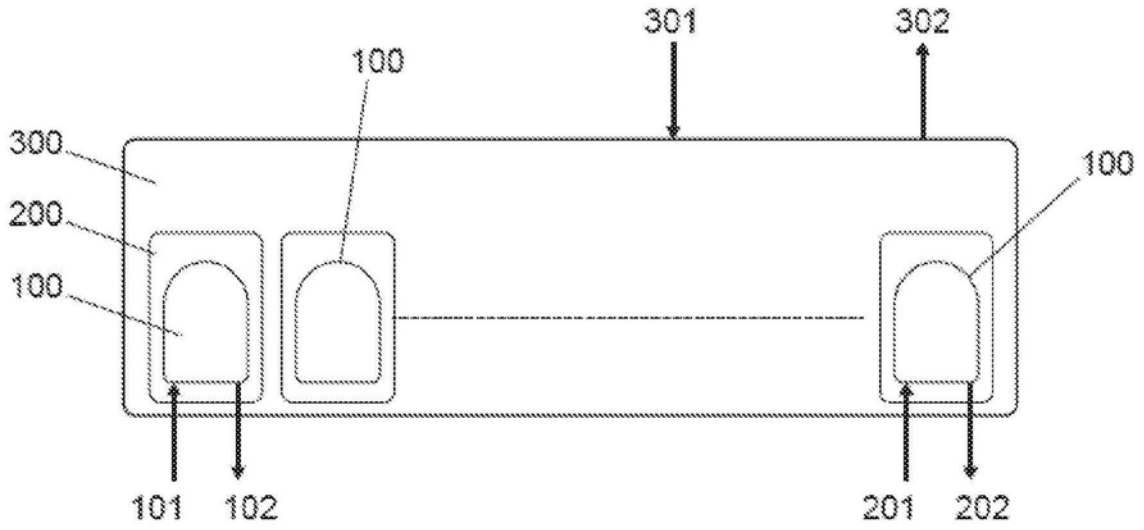


图1

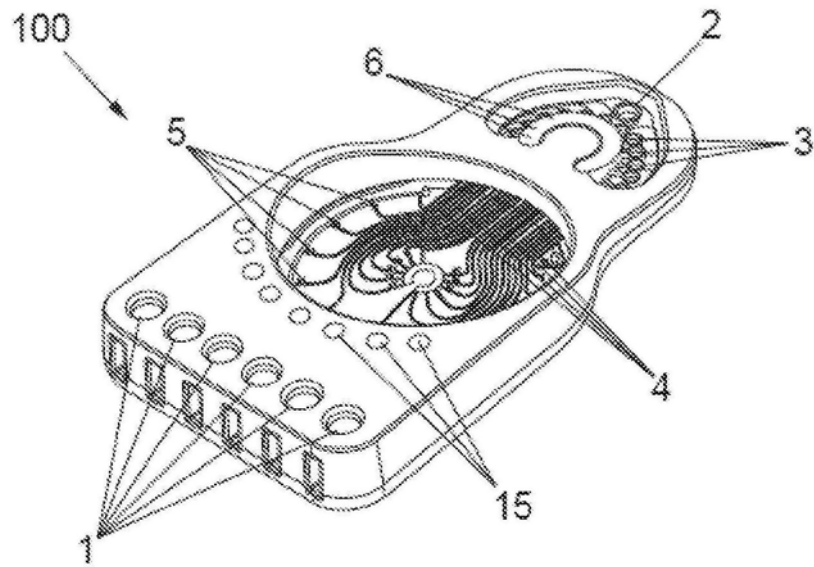


图2

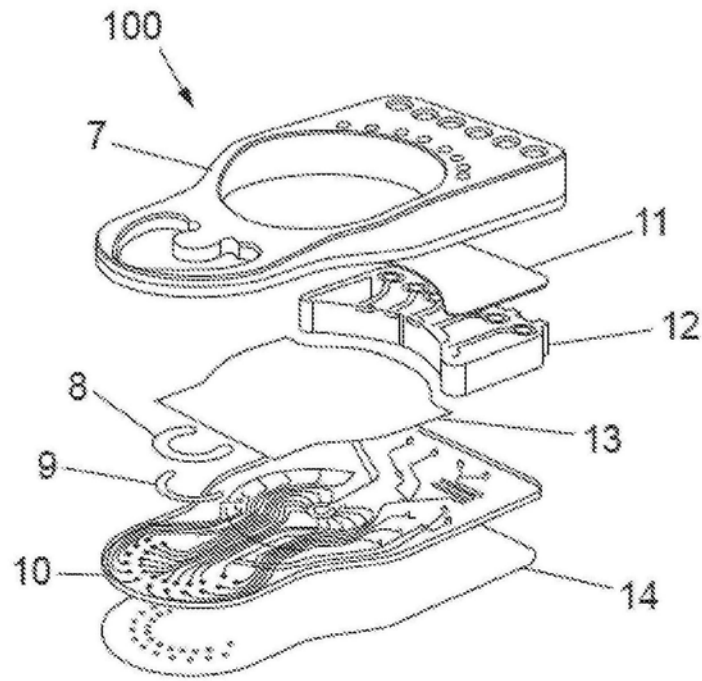


图3

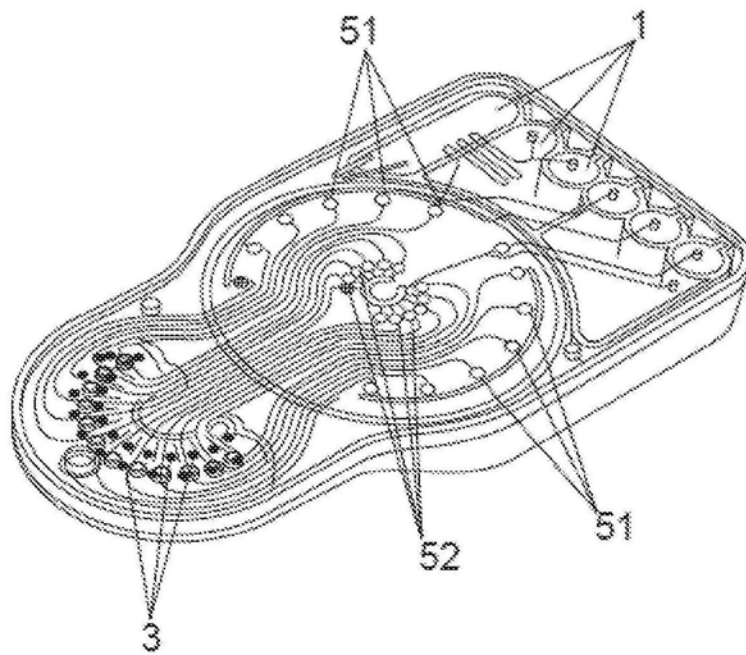


图4

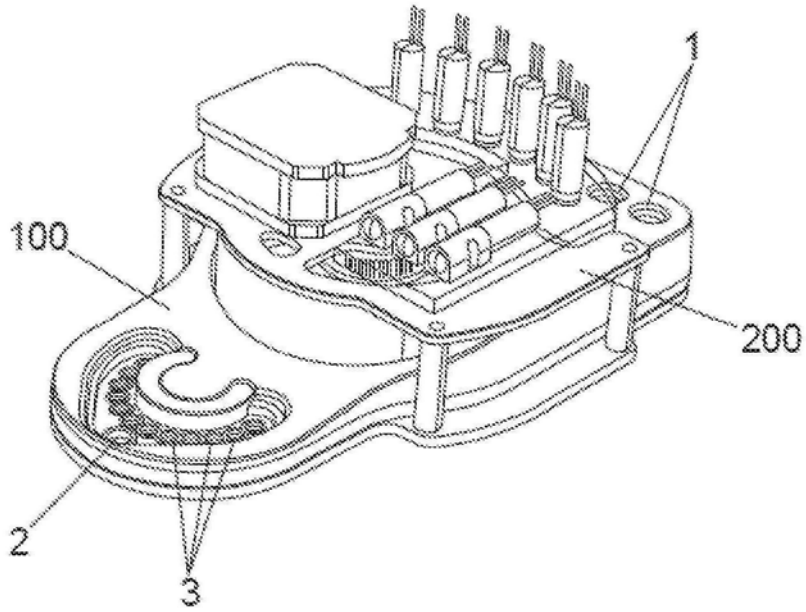


图5

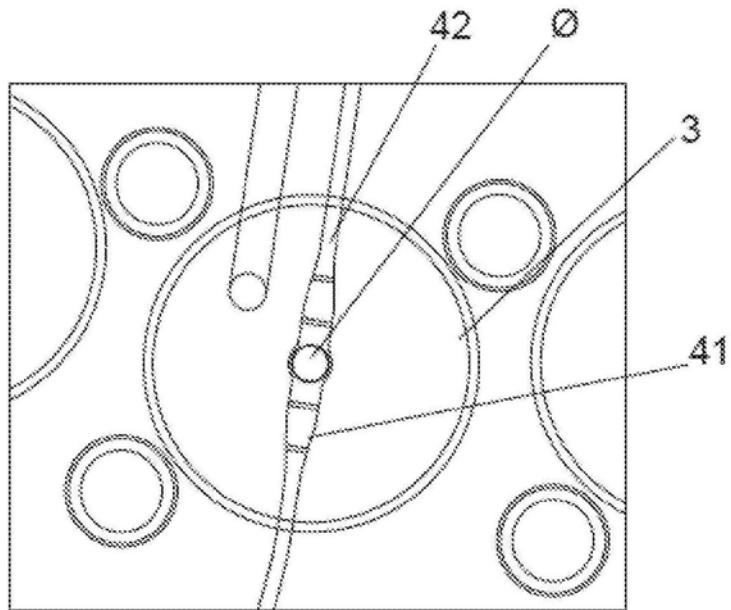


图6A

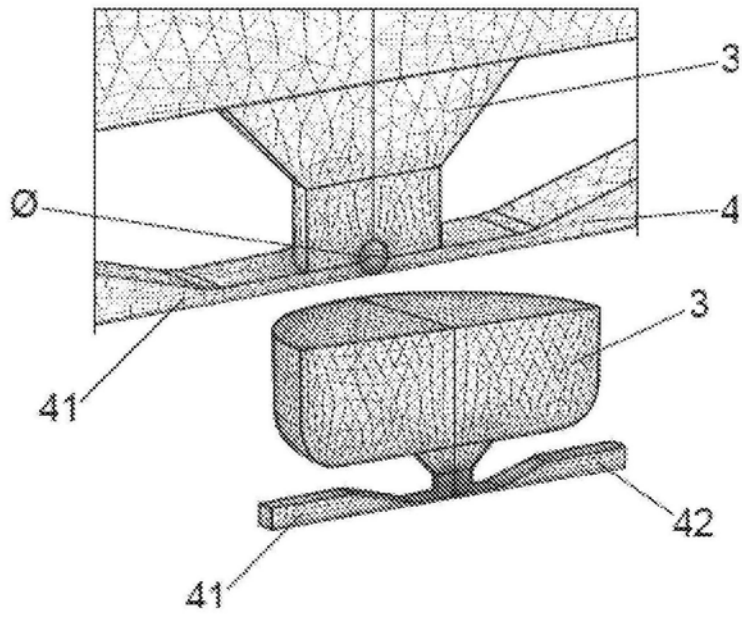


图6B

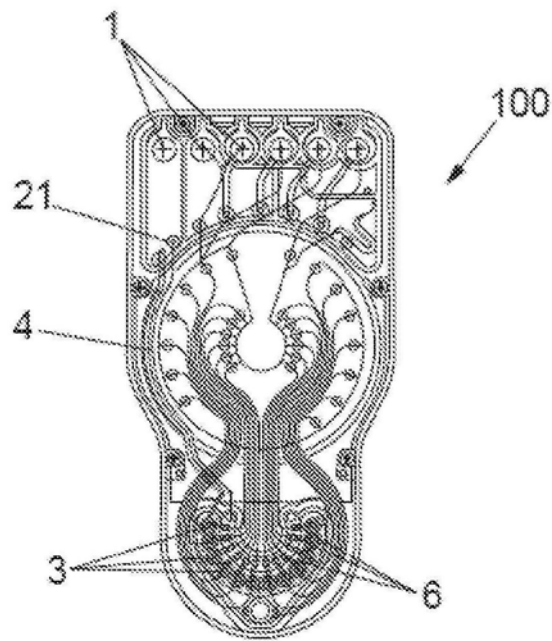


图7

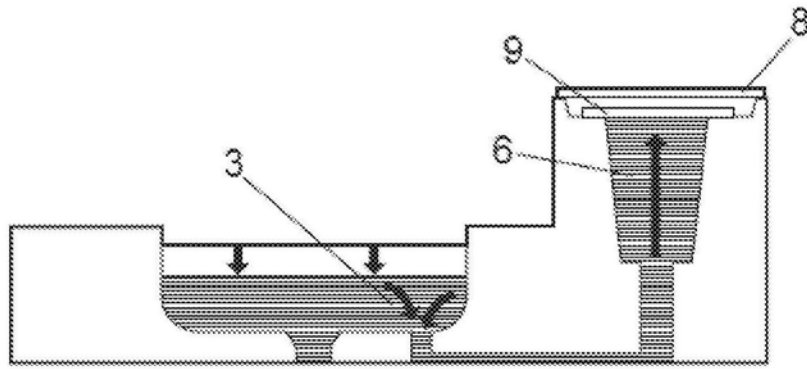


图8

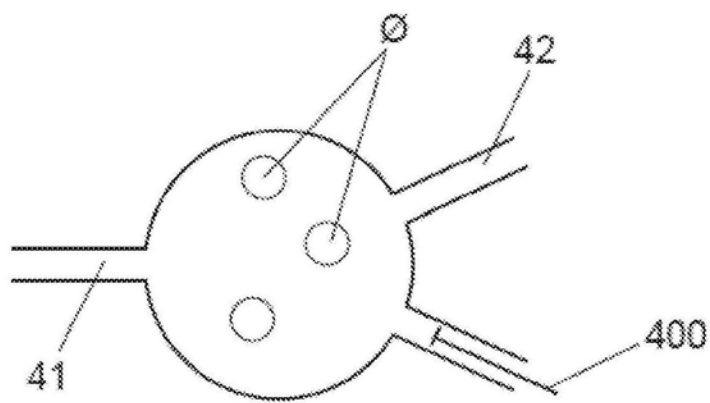


图9

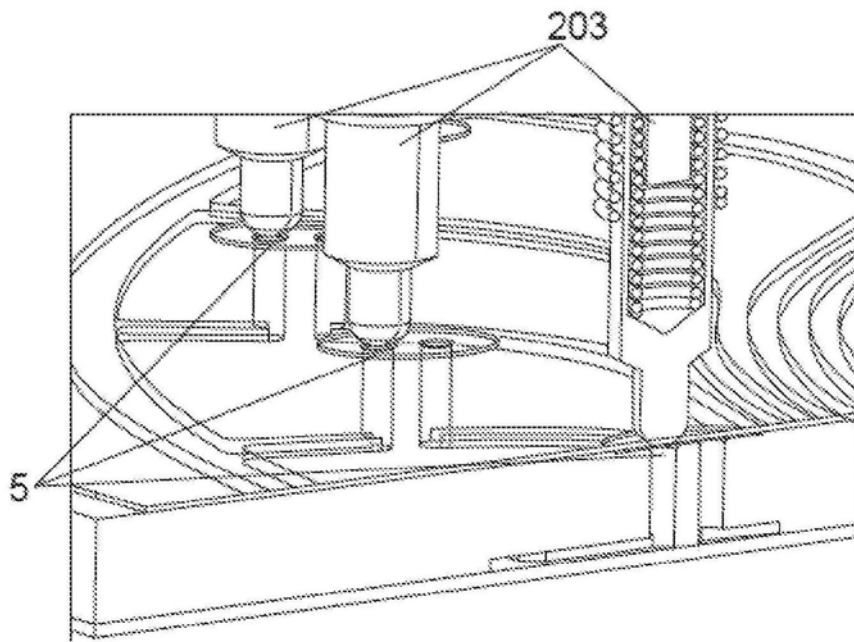


图10