

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2015-530074
(P2015-530074A)

(43) 公表日 平成27年10月15日(2015.10.15)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
C 12 Q 1/02 (2006.01)	C 12 Q 1/02	4 B 02 4
C 12 M 1/34 (2006.01)	C 12 M 1/34	Z 4 B 02 9
C 12 N 15/09 (2006.01)	C 12 N 15/00	A 4 B 06 3
C 12 M 1/00 (2006.01)	C 12 M 1/00	A
G O 1 N 37/00 (2006.01)	G O 1 N 37/00	1 O 1

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 27 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-521839 (P2015-521839)	(71) 出願人	514304762 バークレー ライツ, インコーポレイテッド
(86) (22) 出願日	平成25年7月12日 (2013.7.12)		アメリカ合衆国, カリフォルニア州 94608, エメリービル, ホリス ストリート 5885, スイート 370
(85) 翻訳文提出日	平成27年3月3日 (2015.3.3)	(74) 代理人	100079108
(86) 國際出願番号	PCT/US2013/050269		弁理士 稲葉 良幸
(87) 國際公開番号	W02014/011985	(74) 代理人	100109346
(87) 國際公開日	平成26年1月16日 (2014.1.16)		弁理士 大貫 敏史
(31) 優先権主張番号	61/671,499	(74) 代理人	100117189
(32) 優先日	平成24年7月13日 (2012.7.13)		弁理士 江口 昭彦
(33) 優先権主張国	米国(US)	(74) 代理人	100134120
(31) 優先権主張番号	61/720,956		弁理士 内藤 和彦
(32) 優先日	平成24年10月31日 (2012.10.31)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

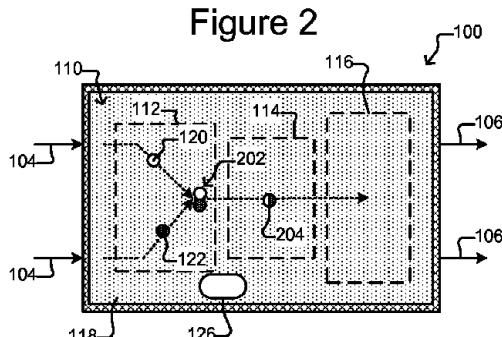
(54) 【発明の名称】生物学的マイクロ物体の結合

(57) 【要約】

【課題】複数の生物学的マイクロ物体を結合する。

【解決手段】2つ以上の生物学的マイクロ物体が、チャップ内に液体培地でグルーピ化され得る。グルーピ化は、グループ内のマイクロ物体を接近又は接触させてその状態を保持すること、グループ内のマイクロ物体のうち1つ以上の膜を破壊すること、グループ内のマイクロ物体のうち1つ以上を電気穿孔法にさらすこと、及び/又は、グループ内のマイクロ物体を相互に繋留すること、を含んでもよい。すると、グループ内のマイクロ物体を結合して单一の生物学的物体とすることができる。

【選択図】図2



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

生物学的マイクロ物体の結合方法であって、
マイクロ流体デバイス内の液体培地中の複数のマイクロ物体から 1 つの第 1 の生物学的
マイクロ物体と 1 つの第 2 の生物学的マイクロ物体とを選択することと、
前記マイクロ流体デバイス内の液体培地中で前記第 1 のマイクロ物体を前記第 2 のマイ
クロ物体とグループ化することと、
前記第 1 のマイクロ物体と前記第 2 のマイクロ物体とがグループ化されるのと同時に、
結合された生物学的マイクロ物体を作り出すために前記液体培地中で前記第 1 のマイクロ
物体と前記第 2 のマイクロ物体とを結合することと、
を備える、方法。
10

【請求項 2】

前記選択することは、前記マイクロ流体デバイス内に入射する第 1 の光トラップ内に前
記第 1 のマイクロ物体を捕捉することと、前記マイクロ流体デバイスに入射する第 2 の光
トラップ内に前記第 2 のマイクロ物体を捕捉することと、を有し、

前記グループ化することは、前記第 1 の光トラップと前記第 2 の光トラップとを併合す
ることと、それによって前記第 1 のマイクロ物体及び前記第 2 のマイクロ物体を捕捉する
併合された光トラップを形成することと、を有する、請求項 1 の方法。

【請求項 3】

前記結合することは、前記併合された光トラップを、前記マイクロ流体デバイスの結合
領域を通じて移動させることを有する、請求項 2 に記載の方法。
20

【請求項 4】

前記結合領域は、前記結合することを促進する試薬を含む、請求項 3 の方法。

【請求項 5】

前記結合することは、前記併合された光トラップを、電源が接続されている第 1 の電極
と第 2 の電極との間で直接移動させることを有する、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 6】

前記結合することは、前記併合された光トラップを、対向する壁により画定される圧縮
通路を通じて移動させることを有し、

前記圧縮通路の幅は、前記第 1 のマイクロ物体と前記第 2 のマイクロ物体との結合され
た幅よりも小さい、請求項 2 の方法。
30

【請求項 7】

前記選択することは、前記培地中の複数の前記第 1 のマイクロ物体の一つ一つを捕捉し
搬送する複数の前記第 1 の光トラップを備えた第 1 の仮想コンベヤを作り出すことと、同
じ培地中の複数の前記第 2 のマイクロ物体の一つ一つを捕捉し搬送する複数の前記第 2 の
光トラップを備えた第 2 の仮想コンベヤを作り出すことと、を有し、

前記グループ化することは、前記培地中の前記第 1 のマイクロ物体及び前記第 2 のマイ
クロ物体のグループを搬送する複数の前記併合された光トラップを含む第 3 の仮想コンベ
ヤを形成するために前記第 1 の光トラップを前記第 2 の光トラップと併合することを有す
る、請求項 2 の方法。
40

【請求項 8】

チャンバ内の第 1 の層流となる、前記チャンバへの前記培地の第 1 の流れを作り出すこ
とと、

前記チャンバ内の第 2 の層流となる前記チャンバへの前記培地の第 2 の流れを作り出す
ことと、

前記チャンバ内の第 3 の層流となる、前記チャンバへの第 3 の流れを作り出すことと、
をさらに備え、

前記選択することは、前記第 1 の層流から前記第 1 のマイクロ物体を選択することと、
前記第 2 の層流から前記第 2 のマイクロ物体を選択することと、を有し、

前記結合することは、前記グループ化された第 1 のマイクロ物体及び第 2 のマイクロ物
50

体を前記第3の層流へと移動させることを有する、請求項1の方法。

【請求項9】

前記第3の流れは、前記結合することを促進する試薬からなる、請求項8の方法。

【請求項10】

前記選択することは、第1のチャンネル内の前記培地の流れの中の前記第1のマイクロ物体を選択することと、第2のチャンネル内の前記培地の流れの中の前記第2のマイクロ物体を選択することと、を有し、

前記グループ化することは、前記第1のチャンネル内の前記培地の前記流れから前記培地を収容するチャンバ内の障壁へ前記第1のマイクロ物体を移動させることと、前記第2のチャンネル内の前記培地の前記流れから前記障壁へ前記第2のマイクロ物体を移動させることと、を有し、10

前記チャンバは、前記第1のチャンネルと前記第2のチャンネルとの間に配設される、請求項1の方法。

【請求項11】

前記結合することは、前記結合することを促進する試薬を前記チャンバへと流すことを有する、請求項10の方法。

【請求項12】

前記第1のマイクロ物体と前記第2のマイクロ物体とがグループ化されると同時に、しかし前記結合することの前に、前記第1のマイクロ物体の膜又は前記第2のマイクロ物体の膜を破壊することをさらに備える、請求項1の方法。20

【請求項13】

前記破壊することは、

前記第1のマイクロ物体の前記膜又は前記第2のマイクロ物体の前記膜を鋭利な物理的構造物により貫通すること、

前記第1のマイクロ物体の前記膜又は前記第2のマイクロ物体の前記膜をレーザにより破壊すること、25

前記第1のマイクロ物体又は前記第2のマイクロ物体のうち前記一方に超音波振動を与えること、又は

前記第1のマイクロ物体又は前記第2のマイクロ物体のうち前記一方に電気的刺激を与えること、30

を有する、請求項12の方法。

【請求項14】

前記選択すること及び前記グループ化することは、

幅が前記第1のマイクロ物体の大きさよりも小さい第1の通路によって第3のチャンネルに接続された第1のチャンネルの内部の前記培地の第1の流れの中に前記第1のマイクロ物体を配置することと、

幅が前記第2のマイクロ物体の大きさよりも小さい第2の通路によって前記第3のチャンネルに接続された第2のチャンネルの内部の前記培地の第2の流れの中に前記第2のマイクロ物体を配置することと、40

を有し、

摩擦力が、前記第1のマイクロ物体を前記第1の通路内に、及び前記第2のマイクロ物体を前記第2の通路内に、停止及び保持し、

その後、前記第1の流れと前記第2の流れとの合成が前記摩擦力を上回り、前記第1のマイクロ物体及び前記第2のマイクロ物体を前記第3のチャンネルへと押し進める、請求項1の方法。

【請求項15】

前記選択することと、前記グループ化することと、複数の結合されたマイクロ物体を形成するための前記結合することと、を繰り返すことと、

前記結合されたマイクロ物体の所定の特性に基づいて前記結合されたマイクロ物体のすべてよりも少ない部分集合を選択することと、50

をさらに備える、請求項 1 の方法。

【請求項 1 6】

前記選択することは、前記マイクロ流体デバイス内の前記液体培地中の前記複数のマイクロ物体から第3の生物学的マイクロ物体を選択することを有し、

前記グループ化することは、前記マイクロ流体デバイス内の前記液体培地中で前記第3のマイクロ物体を前記第1のマイクロ物体及び前記第2のマイクロ物体とグループ化することを有し、

前記結合することは、前記第1のマイクロ物体と前記第2のマイクロ物体と前記第3のマイクロ物体とがグループ化されるのと同時に、前記結合された生物学的マイクロ物体を作り出すために、前記液体培地中で前記第1のマイクロ物体と前記第2のマイクロ物体と前記第3のマイクロ物体とを結合することを有する、請求項1の方法。10

【請求項 1 7】

生物学的マイクロ物体を結合する装置であって、

第1の生物学的マイクロ物体及び第2の生物学的マイクロ物体が配置される液体培地を収容するよう構成された1つ以上の筐体と、

各々が前記第1のマイクロ物体のうち1つと前記第2のマイクロ物体のうち1つとを有するマイクロ物体グループを作り出すために、前記第1のマイクロ物体の一つ一つを前記第2のマイクロ物体とグループ化するよう構成されたグループ化機構と、

各前記マイクロ物体グループの前記第1のマイクロ物体と前記第2のマイクロ物体とを結合するよう構成された結合機構と、20

を備える、装置。

【請求項 1 8】

前記グループ化機構は、前記培地中の前記第1のマイクロ物体及び前記第2のマイクロ物体のうち選択されたものを捕捉し移動させるよう選択的に構成された光電子ピンセット(O E T)デバイスを有する、請求項17の装置。

【請求項 1 9】

前記筐体は、前記培地用のチャンネルを有し、

前記グループ化機構は、

前記第1のマイクロ物体よりも大きな幅を有する、前記チャンネルのうち第1のチャンネルと、30

前記第2のマイクロ物体よりも大きな幅を有する、前記チャンネルのうち第2のチャンネルと、

前記チャンネルのうち第3のチャンネルと、

幅が前記第1のマイクロ物体よりも小さい、前記チャンネルのうち前記第1のチャンネルから前記チャンネルのうち前記第3のチャンネルへの第1の通路と、

幅が前記第2のマイクロ物体よりも小さい、前記チャンネルのうち前記第2のチャンネルから前記チャンネルのうち前記第3チャンネルへの第2の通路と、
を有する、請求項17の装置。

【請求項 2 0】

前記結合機構は、前記マイクロ物体グループの前記結合を促進する試薬を収容する前記筐体の領域を有する、請求項17の装置。40

【請求項 2 1】

前記結合機構は、

第1の電極及び前記第1の電極から隔離された第2の電極と、

前記第1の電極及び前記第2の電極に接続された電源と、

を有する、請求項17の装置。

【請求項 2 2】

前記結合機構は、前記マイクロ物体グループのうち1つの幅よりも短い距離だけ隔離された対向する壁によって画定される圧縮通路を有する、請求項17の装置。

【請求項 2 3】

10

20

30

40

50

前記筐体は、
前記培地用の第1のチャンネルと、
前記培地用の第2のチャンネルと、
前記第1のチャンネルと前記第2のチャンネルとに接続され前記第1のチャンネルと前記第2のチャンネルとの間に配設されたチャンバと、
を有する、請求項17の装置。

【請求項24】

前記結合機構は、
前記チャンバの各々の内部に配設され、各々が前記マイクロ物体グループのうち1つを保持するよう構成された障壁と、
前記チャンバの各々に接続された第3のチャンネルと、
を有する、請求項23の装置。

【請求項25】

各前記マイクロ物体グループの前記第1のマイクロ物体又は前記第2のマイクロ物体のうち一方の膜を破壊するよう構成された破壊機構をさらに備える、請求項17の装置。

【請求項26】

前記破壊機構は、前記筐体のうち1つに配設された鋭利な物理的構造物、レーザ素子、超音波素子、又は電気刺激素子を有する、請求項17の装置。

【請求項27】

前記グループ化機構はさらに、前記液体培地中で前記第1のマイクロ物体の一つ一つを前記第2のマイクロ物体の一つ一つ及び第3のマイクロ物体の一つ一つとグループ化するよう構成されており、

各前記マイクロ物体グループは、前記第1のマイクロ物体のうち1つと、前記第2のマイクロ物体のうち1つと、前記第3のマイクロ物体のうち1つと、を有し、

前記結合機構は、さらに、各前記マイクロ物体グループの前記第1のマイクロ物体と、前記第2のマイクロ物体と、前記第3のマイクロ物体と、を結合するよう構成されている、請求項17の装置。

【請求項28】

生物学的マイクロ物体を結合する装置であって、
液体培地中で複数の第1の生物学的マイクロ物体のうち1つを複数の第2の生物学的マイクロ物体のうち1つとグループ化するグループ化手段と、

前記第1のマイクロ物体のうち前記1つと前記第2のマイクロ物体のうち1つとを結合して結合された生物学的マイクロ物体とする結合手段と、
を備える、装置。

【請求項29】

前記グループ化手段は、前記培地中で前記第1のマイクロ物体のうち前記1つと前記第2のマイクロ物体のうち前記1つとを選択し移動させるための誘電泳動(DEP)力を発生させる手段を有する、請求項28の装置。

【請求項30】

前記第1のマイクロ物体のうち前記1つの膜又は前記第2のマイクロ物体のうち前記1つの膜を破壊する破壊手段をさらに備える、請求項28の装置。

【請求項31】

前記破壊手段は、前記第1のマイクロ物体のうち前記1つの前記膜又は前記第2のマイクロ物体のうち前記1つの前記膜を貫通する手段を有する、請求項30の装置。

【請求項32】

前記結合手段は、前記第1のマイクロ物体のうち前記1つ及び前記第2のマイクロ物体のうち前記1つを、前記結合をもたらす試薬にさらす手段を有する、請求項28の装置。

【請求項33】

前記結合手段は、前記結合をもたらすのに十分な規模の電界を発生させる手段を有する、請求項28の装置。

10

20

30

40

50

【請求項 3 4】

前記結合手段は、前記結合をもたらすために、前記第1のマイクロ物体のうち前記1つ及び前記第2のマイクロ物体のうち前記1つに十分な圧力を印加する手段を有する、請求項28の装置。

【請求項 3 5】

前記グループ化手段は、さらに、前記液体培地内で前記複数の第1の生物学的マイクロ物体のうち前記1つを前記複数の第2の生物学的マイクロ物体のうち前記1つ及び複数の第3の生物学的マイクロ物体の1つとグループ化するためのものであり、

前記結合手段は、さらに、前記第1のマイクロ物体のうち前記1つと、前記第2のマイクロ物体のうち前記1つと、前記第3のマイクロ物体のうち前記1つと、を結合して結合された生物学的マイクロ物体とするためのものである、請求項28の装置。 10

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

[0001] 本発明は、改良されたマイクロ流体デバイスと、生物学的マイクロ物体を選択してグループ化し、グループ化されたマイクロ物体を結合して結合された生物学的物体にする方法と、に係る。

【背景技術】**【0002】**

[0001] 生物系において、複数の生物学的マイクロ物体を結合することは有用であり得る。 20

【発明の概要】**【0003】**

[0002] 本発明のいくつかの実施形態において、生物学的マイクロ物体の結合方法は、マイクロ流体デバイス内の液体培地中の複数のマイクロ物体から1つの第1のマイクロ物体及び1つの第2のマイクロ物体を選択することを含んでもよい。この方法はさらに、マイクロ流体デバイス内の液体培地中で該第1のマイクロ物体を該第2のマイクロ物体とグループ化することを含んでもよく、また、この方法は、該第1のマイクロ物体と該第2のマイクロ物体とがグループ化されるのと同時に、結合された物体を作り出すために液体培地中で該第1のマイクロ物体と該第2のマイクロ物体とを結合することも含んでもよい。 30

【0004】

[0003] 本発明のいくつかの実施形態において、生物学的マイクロ物体を結合する装置は、筐体と、グループ化機構と、結合機構と、を備えていてもよい。筐体は、第1のマイクロ物体及び第2のマイクロ物体が配置される液体培地を収容するためのものであってもよい。グループ化機構は、各マイクロ物体グループが第1のマイクロ物体のうち1つと第2のマイクロ物体のうち1つとを含むように、第1のマイクロ物体の一つ一つを第2のマイクロ物体の一つ一つとグループ化してマイクロ物体グループを作り出すよう構成されてもよい。結合機構は、各マイクロ物体グループの第1のマイクロ物体と第2のマイクロ物体とを結合するよう構成されてもよい。

【図面の簡単な説明】**【0005】**

【図1A】[0004] 本発明のいくつかの実施形態による、第1の種類の生物学的マイクロ物体を第2の種類の生物学的マイクロ物体と結合するデバイスの一例を示す。

【図1B】[0005] 図1Aのデバイスの側部断面図である。

【図2】[0006] 図1Aのデバイスの上部断面図であり、本発明のいくつかの実施形態による図1Aのデバイスの動作を示す。

【図3】[0007] 本発明のいくつかの実施形態による光電子ピンセット(OET)装置で構成された図1Aのデバイスの断面部部分側部図を示す。

【図4】[0008] 図3のOET装置で構成された図1Aのデバイスの部分上部断面図を図示し、本発明のいくつかの実施形態による図3のOET装置によるマイクロ物体の選択及 50

び移動を示す。

【図 5 A】[0009] 本発明のいくつかの実施形態による第 1 のチャンネルの生物学的マイクロ物体を第 2 のチャンネルの生物学的マイクロ物体と結合する結合機構の例を示す。

【図 5 B】[0009] 本発明のいくつかの実施形態による第 1 のチャンネルの生物学的マイクロ物体を第 2 のチャンネルの生物学的マイクロ物体と結合する結合機構の例を示す。

【図 5 C】[0009] 本発明のいくつかの実施形態による第 1 のチャンネルの生物学的マイクロ物体を第 2 のチャンネルの生物学的マイクロ物体と結合する結合機構の例を示す。

【図 6】[0010] 本発明のいくつかの実施形態による結合試薬を含む図 1 A のデバイスの結合領域の一例を示す。

【図 7】[0011] 本発明のいくつかの実施形態による隔置電極を備えた図 1 A のデバイスの結合領域の一例を示す。 10

【図 8 A】[0012] 本発明のいくつかの実施形態による圧縮通路を画定する対向壁を備えた図 1 A のデバイスの結合領域の一例を示す。

【図 8 B】[0013] 本発明のいくつかの実施形態による鋸歯状の刃を有するナイフの形の破壊機構の一例を示す。

【図 9】[0014] 図 3 の O E T 装置で構成された図 1 A のデバイスの部分上部断面図を図示し、本発明のいくつかの実施形態によるマイクロ物体を拾い上げて移動させる仮想移動コンベヤを有するデバイスの構造を示す。

【図 10 A】[0015] 生物学的マイクロ物体がチャンバ内の異なる層流から選択されて結合される、本発明のいくつかの実施形態による図 3 の O E T 装置で構成された図 1 A のデバイスの別の例を示す。 20

【図 10 B】[0015] 生物学的マイクロ物体がチャンバ内の異なる層流から選択されて結合される、本発明のいくつかの実施形態による図 3 の O E T 装置で構成された図 1 A のデバイスの別の例を示す。

【図 10 C】[0015] 生物学的マイクロ物体がチャンバ内の異なる層流から選択されて結合される、本発明のいくつかの実施形態による図 3 の O E T 装置で構成された図 1 A のデバイスの別の例を示す。

【図 11 A】[0016] 生物学的マイクロ物体がチャンネル内の流れから選択されチャンネル間のチャンバ内の障壁において結合される、本発明のいくつかの実施形態による図 3 の O E T 装置で構成された図 1 A のデバイスのさらに別の例を示す。 30

【図 11 B】[0016] 生物学的マイクロ物体がチャンネル内の流れから選択されチャンネル間のチャンバ内の障壁において結合される、本発明のいくつかの実施形態による図 3 の O E T 装置で構成された図 1 A のデバイスのさらに別の例を示す。

【図 11 C】[0016] 生物学的マイクロ物体がチャンネル内の流れから選択されチャンネル間のチャンバ内の障壁において結合される、本発明のいくつかの実施形態による図 3 の O E T 装置で構成された図 1 A のデバイスのさらに別の例を示す。

【図 12】[0017] 本発明のいくつかの実施形態による図 1 A のデバイスの 2 つよりも多くのマイクロ物体を結合する動作を示す。

【図 13】[0018] 本発明のいくつかの実施形態による生物学的マイクロ物体の結合方法例を示す。 40

【発明を実施するための形態】

【0 0 0 6】

[0019] 本明細書は、本発明の例示的な実施形態及び適用を説明する。しかしながら、本発明は、こうした例示的な実施形態及び適用、もしくは例示的な実施形態及び適用の本明細書における動作方法又は記載方法に限定されるものではない。また、図面は簡略化した図又は部分図を示し得るものであって、図中の要素の寸法は、誇張されたり、あるいは明確化のため釣り合いが取れていないことがあり得る。さらに、本明細書において「～の上 (on)」、「～に取り付けられた (attached to)」、又は「～に連結された (coupled to)」という用語が用いられる際には、ある要素(例えば材料、層、基板など)は、その要素が直接的に別の要素の上にあるか、取り付けられているか、又は連結されているか、

10

20

30

40

50

それともその要素と別の要素との間に1つ以上の介在要素が存在するかにかかわらず、その別の要素「の上」にあるか、「取付けられ」るか、又は「連結され」てもよい。そして、方向（例えば、上（above）、下（below）、上部（top）、下部（bottom）、側部（side）、上へ（up）、下へ（down）、下（under）、上（over）、上の（upper）、下の（lower）、水平の（horizontal）、垂直の（vertical）、「x」、「y」、「z」など）は、記載されている場合には相対的なものであり、単なる例として説明及び議論を容易にするために記載されているのであって、限定として記載されているのではない。さらに、要素の一覧（例えば、要素a, b, c）を参照する場合には、そのような参照は、列挙されている要素のうちいずれか1つのみ、列挙されている要素のすべてよりも少ない要素の組み合わせ、及び／又は列挙されているすべての要素の組み合わせを含む。

10

【0007】

[0020] 本明細書において用いられる場合、「実質的に」とは、用途の役に立つのに十分であるという意味である。「もの（ones）」という用語は1つよりも多いことを意味する。

【0008】

[0021] 「流れ」という用語は、本明細書において流体又は気体を参照して用いられる場合、その流体又は気体の連続流、パルス流、周期的流れ、ランダム流、間欠流、又は往復流を含む。

【0009】

[0022] 本明細書において用いられる場合、「生物学的マイクロ物体」という用語は、タンパク質、胚、プラスミド、卵母細胞、精子、遺伝物質（例えばDNA）、トランスフェクションベクター、ハイドリドーマ、トランスフェクト細胞、脂質、ナノ粒子など、及び上記のものの組み合わせのような、生体細胞及び生体化合物を含む。

20

【0010】

[0023] 本明細書において用いられる場合、生物学的マイクロ物体を「グループ化する」とは、2つ以上の生物学的マイクロ物体を移動させて相互に接触させ又は接近させることを意味する。したがって、「グループ化された」生物学的マイクロ物体とは、相互に接触し又は接近している2つ以上の生物学的マイクロ物体である。

【0011】

[0024] 「結合する」という用語は、グループ化された生物学的マイクロ物体を参照して用いられるときには、グループ化された生物学的マイクロ物体を融合させること又はトランスフェクトすることを包含する。

30

【0012】

[0025] グループ化された生物学的マイクロ物体を融合させると、グループ化された生物学的マイクロ物体を結合して单一の結合されたマイクロ物体にすることを意味する。

【0013】

[0026] グループ化された生物学的マイクロ物体をトランスフェクトするとは、グループ化されたマイクロ物体のうち1つ以上を、1つ以上のトランスフェクションベクターとして、グループ化されたマイクロ物体のうち別の1つに導入することを意味する。

40

【0014】

[0027] 本発明の実施形態は、チャンバ内の液体培地中で生物学的マイクロ物体をグループ化し、それからグループ化されたマイクロ物体を結合して（例えば融合させて）、結合された（例えば融合された）生物学的マイクロ物体とすることができる。図1A及び1Bは、本発明のいくつかの実施形態による生物学的マイクロ物体をグループ化して結合する（例えば融合させる）結合デバイス100の一例を示す。図示するように、デバイス100はハウジング102と、操作機構108と、を備え得る。また、デバイス100のいくつかの実施形態は、破壊機構126を備えてもよい。

【0015】

[0028] 図1A及び1Bに示すように、ハウジング102は、異なる種類の生物学的マイクロ物体が懸濁され得る液体培地118を保持する1つ以上の内部チャンバ110を備え

50

ていてもよい。図1A及び1Bに示す例においては、第1の種類の生物学的マイクロ物体120（以下、第1の種類のマイクロ物体120という）及び第2の種類の生物学的マイクロ物体122（以下、第2の種類のマイクロ物体122という）が培地118中に懸濁されている（以下、第1の種類のマイクロ物体120及び第2の種類のマイクロ物体122は、まとめてマイクロ物体120及び122とも称される）。図1Bに示すように、チャンバ110内にはグループ化領域112と結合領域114とがあってもよい。同じく図示するように、いくつかの実施形態は、分類／選択領域116も含んでもよい。

【0016】

[0029] ハウジング102は1つ以上の注入口104を備えていてもよく、これを通じて培地118とマイクロ物体120及び122とがチャンバ110内に流入されてもよい。
注入口104は、例えば、入口ポート、開口、弁、チャンネル、又は同様のものであってもよい。デバイス100は1つ以上の排出口106も備えていてもよく、これを通じて培地118がマイクロ物体120及び122とともに、又はこれらなしに、除去されてもよい。排出口106は、例えば、出口ポート、開口、弁、チャンネル、又は同様のものであってもよい。

10

【0017】

[0030] 破壊機構126は、マイクロ物体120, 122のうち1つ以上の膜（例えば外膜）を破壊（例えば貫通）するよう構成されていてもよい。例えば、破壊機構126は、ハウジング102に取り付けられチャンバ110の内部に配設されることが可能な、鋭利な物理的物体（例えばナイフ構造、槍構造、又は同様のもの）であってもよい。破壊機構の別の一例は、マイクロ物体120, 122のうち1つ以上にレーザ光を当てるよう構成されたレーザ素子である。破壊機構126のまた別の一例は、超音波素子である。破壊機構のさらに別の一例は、マイクロ物体120, 122のうち1つ以上に電気的刺激を与える電気刺激素子である。

20

【0018】

[0031] 操作機構108は、チャンバ110内で個々のマイクロ物体120及び122を選択し移動させるよう構成されていてもよい。例えば、操作機構は、培地118中でマイクロ物体120及び122に対する界面動電力を作り出す素子を備えていてもよい。例えば、そのような（図示しない）素子は、マイクロ物体120又は122のうち選択されたものに対する誘電泳動（D E P）力を作り出してこれらのマイクロ物体を選択及び／又は移動させる素子を含んでいてもよい。例えば、操作機構108は、1つ以上の光（例えばレーザ）ピンセットデバイス、及び／又は（例えば参照により本明細書に組み込まれる米国特許第7,612,355号に開示されているような）1つ以上の光電子ピンセット（O E T）デバイスを含んでいてもよい。また別の一例として、操作機構108は、マイクロ物体120及び／又は122のうち1つ以上が懸濁されている培地118の液滴を移動させる1つ以上の（図示しない）デバイスを含み得る。そのような（図示しない）デバイスは、（例えば参照により本明細書に組み込まれる米国特許第6,958,132号に開示されているような）光電子ウェッティング（O E W）デバイスのようなエレクトロウェッティングデバイスを含んでいてもよい。

30

【0019】

[0032] 図2（同図はデバイス100の断面上面図である）は、本発明のいくつかの実施形態によるデバイス100の動作を示す。図示するように、グループ化領域112において、第1の種類のマイクロ物体120が選択され、選択された第2の種類のマイクロ物体122とグループ化されてもよい（1組のグループ化されたマイクロ物体120及び122は図2においては202と標示され、本明細書においてはグループ化されたマイクロ物体202又はマイクロ物体のグループ202と称される）。グループ202には2つのマイクロ物体120, 122が示されているが、グループ202には2つのマイクロ物体120, 122よりも多くのマイクロ物体があってもよい。図示しないが、培地118中には複数の第1の種類のマイクロ物体120及び第2の種類のマイクロ物体122が存在し得る。第1の種類のマイクロ物体120及び第2の種類のマイクロ物体122は1つ以上

40

50

の所望の特性に基づいて分類されてもよく、1つの特定の第1の種類のマイクロ物体120がそのような特性に基づいて選択され、やはりそのような特性のために選択された1つの特定の第2の種類のマイクロ物体122とグループ化されてもよい。上記の分類及び選択ならびにグループ化は、グループ化領域112において行われ得る。

【0020】

[0033] 破壊機構126がデバイス100に備わっている場合には、グループ202の1つ以上のマイクロ物体120, 122の膜が破壊機構126により破壊されてもよい。例えば、破壊機構126が鋭利な構造物（例えばナイフ構造又は槍構造）であれば、グループ202は、その鋭利な構造物がグループ202のマイクロ物体120, 122のうち少なくとも一方の膜を貫通するように移動されて破壊機構126と接触してもよい。別の一例としては、破壊機構126がレーザ素子であれば、レーザ光をグループ202に当ててグループ202のマイクロ物体120, 122のうち少なくとも一方の膜を貫通してもよい。また別の一例としては、破壊機構126が超音波素子であれば、超音波素子を作動させ、グループ202を該超音波素子に十分に近接させてグループ202のマイクロ物体120, 122のうち少なくとも一方の膜を破壊してもよい。さらに別の一例としては、破壊機構126が電気刺激素子であれば、電気刺激素子を作動させてグループ202に電気的刺激を与え、マイクロ物体120, 122のうち少なくとも一方の膜を破壊してもよい。

10

【0021】

[0034] グループ202のマイクロ物体120, 122のうち少なくとも一方の膜の破壊の前又は後で、グループ化されたマイクロ物体202は結合領域114に移動されてもよく、この結合領域において、グループ化されたマイクロ物体202は、グループ化されたマイクロ物体202を結合して結合されたマイクロ物体204にする1つ以上の処理（例えば化学処理、電界処理、加圧処理、及び／又は同様のもの）にさらされてもよい。同じく図示するように、結合されたマイクロ物体204は分類／選択領域116へと移動されてもよく、この分類／選択領域において、結合されたマイクロ物体204は、分類され、検査され、移動され、保存され、加工され、排出口106を通じて排出されるなどしてもよい。

20

【0022】

[0035] いくつかの実施形態においては、グループ202のマイクロ物体120, 122は破壊されない。その代わりに、マイクロ物体120, 122は結合領域114において相互に繋留され、接触又は接近させられるとともにその状態に保たれ、電気穿孔法又はグループ化されたマイクロ物体202を結合する処理のための類似の前処理にさらされてもよい。さらに、上記のこととはグループ化領域112におけるグループ化の後、結合領域114において結合処理にさらされる前に行われてもよい。

30

【0023】

[0036] とにかく、第1の種類のマイクロ物体120と第2の種類のマイクロ物体122とは異なる種類の生体細胞又は生体化合物であってもよく、グループ化されたマイクロ物体202を結合することはこの2つの細胞又は化合物を融合させることを含み得る。例えば、第1の種類のマイクロ物体120は、ある特定の抗体（例えば免疫グロブリン（IgG）のようなBリンパ球細胞／抗原特異的プレ形質芽球細胞）を作り出す細胞（以下、抗体産性細胞と称する）であってもよく、第2の種類のマイクロ物体122は抗体産性細胞の成長を促進する細胞（例えば不死化骨髄腫細胞）（以下、成長促進細胞と称する）であってもよい。そのような例においては、グループ化された1組の抗体産性細胞と成長促進細胞と（これはグループ化されたマイクロ物体202の一例であり得る）を結合することは、それらの細胞を融合させてハイドリドーマ（したがってこれは結合されたマイクロ物体204の一例であり得る）を形成することを含んでもよい。その場合、ハイドリドーマが生育され、その抗体分泌又は抗体発現を分析することができる。

40

【0024】

[0037] 別の一例として、第1の種類のマイクロ物体120は、生体細胞であり得る第2

50

の種類のマイクロ物体 122 にトランスフェクションによって導入されるベクターであってもよい。例えば、第1の種類のマイクロ物体 120 は遺伝物質を担持するリポソームであってもよく、第2の種類のマイクロ物体 122 は遺伝物質が（例えばリポフェクション法によって）導入される生体細胞（例えば原核細胞又は真核細胞）であってもよい。この例においては、グループ化された1組のリポソームと生体細胞と（これはグループ化されたマイクロ物体 202 の一例であり得る）を結合することは、（遺伝物質を担持する）リポソームを生体細胞に導入することを含んでもよい。その結果得られる、生体細胞と、遺伝物質を担持する導入されたリポソームとの結合は、結合されたマイクロ物体 204 の一例であり得る。その場合、そのようなトランスフェクトされた生体細胞によるタンパク質などの物質の分泌又は発現を観察し分析することができる。

10

【0025】

[0038] トランスフェクションに関する別の一例として、第1の種類のマイクロ物体 120 は遺伝子ノックダウン物質を含むベクターであってもよく、第2の種類のマイクロ物体 122 はトランスフェクションにより遺伝子ノックダウン物質が導入される生体細胞であってもよい。この例において、遺伝子ノックダウン物質（例えば低分子干渉リボ核酸（s i R N A ））を担持するベクターと生体細胞とのグループ化された1組の結合は、ベクターを生体細胞に導入することを含んでもよい。グループ化された生体細胞及び遺伝子ノックダウン物質を担持するベクターはグループ化されたマイクロ物体 202 の一例であってもよく、その結果得られる生体細胞と導入されたベクターとの結合は結合されたマイクロ物体 204 の一例であってもよい。その場合、生体細胞に対するノックダウン物質の影響を観察し分析することができる。

20

【0026】

[0039] さらに別の一例として、第1の種類のマイクロ物体 120 は、細胞の表面上に発現した1つ以上の特異タンパク質及び1つ以上の一般的なタンパク質を有する生体細胞であってもよく、第2の種類のマイクロ物体 122 は、細胞の表面上に発現した特異タンパク質は有さず一般的なタンパク質のみを有する生体細胞であってもよい。そのような各グループ 202 のマイクロ物体 120 , 122 のうち1つ以上の膜は、上述のように破壊されてもよい。代替的又は追加的には、グループ 202 のマイクロ物体 120 , 122 は、繫留分子、抗体被覆ビーズ、又は他の繫留機構によって相互に繫留されてもよい。

30

【0027】

[0040] いくつかの実施形態においては、操作機構 108 は O E T 装置を備えていてもよい。図3は、操作機構 108 がハウジング 102 の少なくとも一部に統合された O E T 装置を含む一例を示す。より詳細には、図3は、デバイス 100 のハウジング 102 の一部の側部断面図を示し、ここで、ハウジング 102 の上壁 302 の少なくとも一部は上部電極 304 を備え、下壁 306 の少なくとも一部は光導電層 308 と下部電極 310 とを備える。図示するように、チャンバ 110 は上壁 302 と下壁 306 との間にあってもよい。

【0028】

[0041] 同じく図示するように、バイアス電圧 312 が上部電極 304 及び下部電極 310 に印加されてもよい。公知のように、光導電層 308 のある範囲に投射された光は、光導電層 308 のその照射された範囲の近傍において、上部電極 304 と下部電極 310 との間の電界を変更し得る。またやはり公知のように、バイアス電圧 312 は、その周波数に応じて、マイクロ物体 120 及び 122 のうち1つ以上を吸引又は反発し得る。したがって、マイクロ物体 120 又は 122 を吸引 / 反発する「仮想電極」が、光導電層 308 上の任意の1つ又は複数の範囲に、その範囲を照射することによって、作り出され得る。

40

【0029】

[0042] 図3に示すように、O E T 装置は、任意の所望の光パターン 316 を光導電層 308 に投射して光導電層 308 の任意の1つ又は複数の範囲を選択的に照明し、ひいては光導電層 308 上に任意の所望のパターンの仮想電極を作り出すことのできる光源 314 を備えていてもよい。また、図3のO E T 装置は、マイクロ物体 120 及び 122 を観察

50

するための撮像素子 320（例えばカメラ又は他の視察装置）と、光源 314 を制御するコントローラ 320 と、を含んでいてもよい。上壁 302 及び / 又は下壁 306 は透明であってもよい。

【0030】

[0043] 図 3 に図示する O E T 装置は、グループ化領域 112、結合領域 114、及び / 又は分類 / 選択領域 116 のうち 1 つ以上に及ぶように構成されてもよい。したがって、図 3 に図示する O E T 装置は、グループ化領域 112、結合領域 114、及び / 又は分類 / 選択領域 116 のうち 1 つ以上においてマイクロ物体 120 及び 122 を選択し移動させるために用いることができる。

【0031】

[0044] 図 3 に示す O E T 装置の構成は一例に過ぎず、変形が考えられる。例えば、光源 314 及び撮像素子 320 は、図 3 に示すものとは異なる場所にあってもよい。したがって、例えば、光源 314 及び撮像素子 220 は、ハウジング 102 の、図 3 に示されているのとは反対側に配設されてもよい。図 3 に示すものからの変形の一例として、光源 314 及び撮像素子 320 はハウジング 102 の同じ側に配設されてもよく、光屈折素子（図示しない）が光源 314 からの光を屈折してもよい。また別の一例として、壁 306 はフォトトランジスタ、フォトダイオード、トランジスタ、又は類似のものなどの回路要素が形成された半導体を備えていてもよい。さらに別の一例として、電極 304 はあるいは壁 106 の一部であってもよい。そのような実施形態においては、電極 304 は、培地 118 と接触して、電極 310 から電気的に絶縁されていてもよい。図 3 に示す構成の、上記のもの及び他の変形が可能である。

10

20

30

【0032】

[0045] 図 4 は、図 3 の O E T 装置がグループ化領域 112、結合領域 114、及び分類 / 選択領域 116 に及ぶよう構成され得る一例を示す。上述のように、培地 118 には複数の第 1 の種類のマイクロ物体 120 及び複数の第 2 の種類のマイクロ物体 122 があつてもよく、これらは 1 つ以上の特性に基づき（例えばグループ化領域 112 において）分類され選択されてもよい。例えば、図 4 に示すように（同図は図 3 の O E T 装置として構成された図 1A 乃至 2 のハウジング 102 の断面部分上面図である）、第 1 の種類のマイクロ物体 120 のうち 1 つが光源 314 から光トラップ 402（例えば光ケージ）の形の光パターンを第 1 の種類のマイクロ物体 120 の周囲の光導電層 308 に投射することによって選択されてもよく、これによりマイクロ物体 120 を捕捉してもよい。第 2 の種類のマイクロ物体 122 は、同様に、光源 314 から光トラップ 404（例えば光ケージ）を第 2 の種類のマイクロ物体 122 の周囲の光導電層 308 に投射することによって選択されてもよく、これによりマイクロ物体 122 を捕捉してもよい。図 4 に示すように、これは、チャンバ 110 のグループ化領域 112 において実行されてもよい。バイアス電圧 312（図 3 を参照）は、光トラップ 402, 404 が選択されたマイクロ物体 120 及び 122 を反発するような周波数であってもよい。あるいは、マイクロ物体 120, 122 を吸引する光のパターンを作り出されてもよい。

30

【0033】

[0046] 選択されたマイクロ物体 120 及び 122 はその後、図 4 に示すように光導電層 308 上で光トラップ 402 及び 404 を移動させることによって、グループ化領域 112 内において移動され互いに接近してもよい。次いで、光トラップ 402 及び 404 は、光導電層 308 上でさらに移動され、選択されたマイクロ物体 120 及び 122 をグループ化し、ひいてはグループ化されたマイクロ物体 202 を形成する。光トラップ 402 及び 404 は、光源 314 から光導電層 308 上のグループ化された生物学的マイクロ物体 202 の周囲に投射された光トラップ 406 に併合（例えば置換）されてもよい。図 4 に示すように、光トラップ 406 は、グループ 202 のマイクロ物体 120 と 122 との間の接触を維持するような大きさであってもよい。グループ化された生物学的マイクロ物体 202 は、グループ化が成功したか否かを決定すべく分類され（例えば検査を受け）てもよく、1 つ以上の基準を満たさないグループ化された生物学的マイクロ物体

40

50

202は放棄されてもよい。

【0034】

[0047] その後、グループ化されたマイクロ物体202は、図示するように光トラップ406を結合領域114へと移動させることにより、グループ化領域112から結合領域114へ移動されてもよい。前述のように、グループ化されたマイクロ物体202は、結合領域114において、グループ化されたマイクロ物体202を結合して結合されたマイクロ物体204とする1つ以上の処理にさらされてもよく、結合されたマイクロ物体は次いで分類／選択領域116へと移動されてもよい。例えば、結合されたマイクロ物体204は、図示するように光トラップ406を分類／選択領域116へと移動させることにより、結合領域114から分類／選択領域116へと移動されてもよい。その後、光トラップ406は消され、結合されたマイクロ物体204を分類／選択領域116において解放してもよい。前述のように、分類／選択領域116においては、結合されたマイクロ物体204が選択され、分類され、検査され、あるいは加工され、又は移動されてもよい。例えば、結合されたマイクロ物体204は、(例えば検査の結果によって)1つ以上の特性により分類され、そうした特性を持たない結合されたマイクロ物体204は放棄されてもよい。

10

【0035】

[0048] 分類／選択領域116において光トラップ406を消すのではなく、光トラップ406が、結合されたマイクロ物体204を分類／選択領域116を移動させ、それによって例えば、結合されたマイクロ物体204を、分類／選択領域116内又はその付近の特定の場所又は構造物(例えばチャンネル、排出口106、又は類似のもの)に移動させててもよい。例えば、結合されたマイクロ物体204は、チャンバ110内の分類／選択領域116又は他の場所に移動されて(例えば(図示しない)保持囲い(holding pens)の中に)一定期間保持されてもよい。そのような(図示しない)保持囲いの中で、結合されたマイクロ物体204は、生育されたり、培養されたり、あるいは結合プロセスからの回復のために時間をかけたりしてもよい。

20

【0036】

[0049] 図3のOET装置はこのように、とりわけ、個々の第1の種類のマイクロ物体120及び個々の第2の種類のマイクロ物体を選択し、選択された1つの第1の種類のマイクロ物体120を選択された1つの第2の種類のマイクロ物体122とグループ化して、グループ化されたマイクロ物体202を形成するので、(上述のいずれの変形をも含む)図3のOET装置は、第1のマイクロ物体120と第2のマイクロ物体122を選択する手段の一例であり得、また、図3のOET装置は、第1のマイクロ物体120と第2のマイクロ物体122とをグループ化する手段の一例でもあり得る。図5A乃至5Cは、第1のマイクロ物体120と第2のマイクロ物体122とをグループ化する手段の別の一例を示す。

30

【0037】

[0050] 図5A乃至5Cは、通路512, 514によって第3のチャンネル506に接続された第1のチャンネル502及び第2のチャンネル504を示す。例えば、図1A, 1B及び2には示されていないが、ハウジング102はチャンネル502, 504, 506を備えていてもよい。例えば、注入口104は第1及び第2のチャンネル502, 504への入口であってもよく、チャンネル502, 504, 506は結合領域112を備えていてもよく、第3のチャンネル506の出口は結合領域114に配設されてもよい。(図1A, 1C及び2を参照。)

40

【0038】

[0051] 動作時には、1つ以上の第1の種類のマイクロ物体120が第1のチャンネル502の培地118の流れ516に提供されてもよく、1つ以上の第2の種類のマイクロ物体122が第2のチャンネル504の培地118の流れ518に提供されてもよい。第1のチャンネル502の幅は、第1の種類のマイクロ物体120が、第1のチャンネル502を第3のチャンネル506と接続する第1の通路512へ、流れ516とともに第1の

50

チャンネル 502 内を容易に移動できるように、第1の種類のマイクロ物体 120 の大きさよりも大きくてよい。同様に、第2のチャンネル 504 の幅は、第2の種類のマイクロ物体 122 が、第2のチャンネル 504 を第3のチャンネル 506 と接続する第2の通路 514 へ、流れ 518 とともに第2のチャンネル 504 内を容易に移動できるように、第2の種類のマイクロ物体 122 の大きさよりも大きくてよい。

【0039】

[0052] しかしながら、第1の通路 512 の幅は、図 5A に示すように摩擦力が第1の種類のマイクロ物体 120 を第1の通路 512 内で停止させるよう、第1の種類のマイクロ物体 120 よりも十分に小さくてもよい。第2の通路 514 の幅も同様に、図 5B に示すように摩擦力が第2の種類のマイクロ物体 122 を通路 514 内で停止させるよう、第2の種類のマイクロ物体 122 よりも十分に小さくてもよい。10

【0040】

[0053] また、第1及び第2の通路 512, 514 の幅は、チャンネル 502, 504 内の流れ 516, 518 の合成圧が上記の摩擦力を上回るのに十分な程度になり得ると同時に、図 5B に図示されるように、第1の種類のマイクロ物体 120 が第1の通路 512 内で停止されて保持されるとともに、第2の種類のマイクロ物体 122 が第2の通路 514 内で停止されて保持されるような大きさであってもよい。これにより、図 5C に示すように、マイクロ物体 120, 122 を、マイクロ物体のグループ 202 として、通路 512, 514 から第3の通路 506 内へ移動させることができる。すると、今やグループ 202 にされたマイクロ物体は、第3のチャンネル 506 内の培地 118 の流れ 520 とともに移動し得る。例えば、上述のように、図 1A, 1B 及び 2 のデバイス 100 は、第3のチャンネル 506 内の流れ 520 がグループ 202 にされたマイクロ物体を結合領域 114 へと移動させるように、図 5 のチャンネル 502, 504, 506 により構成されていてもよい。20

【0041】

[0054] 図 6 乃至 8A は、本発明のいくつかの実施形態による、グループ化されたマイクロ物体 202 を結合して結合されたマイクロ物体 204 にするための様々な処理を行う結合領域 114 の構成の例を図示する。

【0042】

[0055] 図 6 に示すように、いくつかの実施形態においては、結合領域 114 は、グループ化されたマイクロ物体 202 の化学処理を行うための試薬 602 を含んでいてもよい。試薬 602 は、グループ化されたマイクロ物体 202 の結合をもたらすことができる。例えば、試薬 602 は、例えばグループ 202 のマイクロ物体 120 及び 122 が 2 つの異なる細胞種類である場合に、グループ化されたマイクロ物体 202 の融合をもたらしてもよい。試薬 602 は結合領域 114 内の（図示しない）チャンネル、チャンバ、又は同様のものの内部に配設されてもよく、グループ化されたマイクロ物体 202 は、グループ化されたマイクロ物体 202 を結合してマイクロ物体 204 とするのに十分な時間、試薬 602 内へと移動されてもよい。いくつかの実施形態においては、結合試薬はポリエチレンジリコール (PEG)、センダイウイルス、又は類似のものであってもよい。グループ化されたマイクロ物体 202 は、例えば概ね図 6 に図示されるように又は流体の流れの中で光トラップ 406 を移動させることにより、試薬 602 の中へ及び該試薬中に移動されてもよい。このように、結合試薬を保持するチャンネル、チャンバ、又は類似のものは、結合手段の一例である。3040

【0043】

[0056] 図 7 は、本発明のいくつかの実施形態による結合領域 114 の構成の一例を示す。図示するように、結合領域 114 は電界処理機構 700 を備えていてもよく、この電界処理機構はバイアス電圧 706 (例えば直流 (DC) 電圧又は交流 (AC) 電圧) が印加される第1の電極 702 及び第2の電極 704 を備えていてもよい。バイアス電圧 706 の種類 (DC 又は AC)、電圧レベル、及び (AC の場合には) 周波数は、1 組のグループ化されたマイクロ物体 202 の結合をもたらすよう選択され得る。グループ化され50

たマイクロ物体 202 は、グループ化されたマイクロ物体 202 を結合して結合されたマイクロ物体 204 とするのに十分な時間にわたって、電極 702 と 704 との間で移動されてもよい。グループ化されたマイクロ物体 202 は、例えば概ね図 7 に図示されるように又は流体の流れの中で光トラップ 406 を移動させることにより、電界処理機構 700 の中へ及び該電界処理機構の中で移動されてもよい。このように、対向する電極 702, 704 は、結合手段の一例である。

【0044】

[0057] 図 8A は、本発明のいくつかの実施形態による結合領域 114 の構成のまた別の一例を示す。図示するように、結合領域 114 は圧縮機構 802 を備えていてもよく、この圧縮機構は概ね対向する壁 804 を備えていてもよい。対向する壁 804 は、壁 804 が入口空間 808 を画定する比較的広く離間した状態から壁 804 が圧縮通路 812 を画定する比較的狭く離間した状態へと次第に細くなっていてもよい。入口空間 808 はグループ化されたマイクロ物体 202 を受け入れるのに十分な程度に広くてもよく、圧縮通路 812 は、グループ化されたマイクロ物体 202 に十分な圧力を印加し、グループ化されたマイクロ物体 202 を結合して結合されたマイクロ物体 204 を生み出す程度に十分に狭くなっていてもよい。例えば、圧縮通路 812 の幅は、第 1 のマイクロ物体 120 の大きさと第 2 のマイクロ物体 122 の大きさとの合計より小さくてもよい。

10

【0045】

[0058] グループ化されたマイクロ物体 202 は、図 8A に示すように、入口空間 808 内へ、次いで圧縮通路 812 を通って移動されてもよい。グループ化されたマイクロ物体 202 への圧縮通路 812 からの圧力が、グループ化されたマイクロ物体 202 の結合をもたらし得る。グループ化されたマイクロ物体 202 は、例えば、概ね図 8A に図示されるように又は流体の流れの中で光トラップ 406 を移動させることにより、移動されてもよい。このように、圧縮通路 812 を形成する対向する壁は、結合手段の一例である。

20

【0046】

[0059] 図 8A は、グループ 202 のマイクロ物体 120, 122 のうち 1 つ以上の膜を破壊するナイフ状又は槍状の構造物の形をした破壊機構 814 の一例も示している。グループ 202 は、マイクロ物体 120, 122 のうち少なくとも一方が破壊機構 814 と十分に接触してグループ 202 のマイクロ物体 120, 122 のうち 1 つ以上の膜を貫通するように、移動されてもよい。グループ 202 は、光トラップ 406 を移動させることにより、又は流体の流れの中で、破壊機構 814 と接触するよう移動されてもよい。上述のように、マイクロ物体 120, 122 の膜は必ずしも破壊される必要はなく、したがって、圧縮機構 802 のいくつかの実施形態は破壊機構 814 を備えていない。

30

【0047】

[0060] 言及した通り、破壊機構 814 はナイフ状の構造物の形であってもよく、これはマイクロ物体 120, 122 のうち 1 つ以上の膜を破壊する 1 つ以上の刃を備えていてもよい。そのような刃は平滑刃であってもよい。あるいは、破壊機構 814 の刃は鋸歯状であってもよい。図 8B は、鋸歯状の刃(エッジ) 856 を備えたナイフ 854 の形をした破壊機構の一例を示す。ナイフ 854 は図 8A の破壊機構 814 もしくは図面中に図示され又は本明細書において言及されている他のどの破壊機構にも取って代わることができる。ナイフ 854、ならびに破壊機構 126, 814 のいくつかの他の実施形態は、例えば、別個の構造物であってもよく、あるいはハウジング 102 に又は該ハウジングからエッチングされてもよい。例えば、ハウジング 102 はシリコンのようなエッチング可能な材料を含んでいてもよく、ナイフ 854 は、例えば深堀り反応性イオンエッチングなどを用いて、このシリコンに又は該シリコンからエッチングされてもよい。

40

【0048】

[0061] 図 9 乃至 11C は、本発明のいくつかの実施形態によるマイクロ流体デバイス 900, 1000, 1100 の追加的な例を図示する。デバイス 900, 1000, 1100 の各々は、上述のデバイス 100 の具体的な構造の一例を示す。

【0049】

50

[0062] 図示するように、図9(同図は図3のOET装置で構成された図1A及び1Bのハウジング102の断面部分上面図を示す)のデバイス900は仮想コンベヤシステムデバイス900で構成されていてもよい。(上述のいずれの変形をも含む)図3のOET装置は仮想移動コンベヤシステムデバイス900の形をした光導電層308上に光パターン316を投射するよう構成されていてもよく、該仮想移動コンベヤシステムは仮想移動コンベヤ902, 906, 912を備えていてもよい。図示するように、各コンベヤ902, 906, 912は、移動光トラップ904, 908, 910, 914を備えていてもよい。例えば、第1の移動コンベヤ902は一連の移動光トラップ904を備えていてもよく、第2の移動コンベヤ906は一連の移動光トラップ908を備えていてもよい。第3の移動コンベヤ912は初期結合光トラップ910と追加的な光トラップ914とを含む一連の移動光トラップを備えていてもよい。

10

【0050】

[0063] 図示するように、第1のコンベヤ902の移動光トラップ904は、個々の第1の種類のマイクロ物体120を拾い上げて(選択の一例)、それらの個々の第1の種類のマイクロ物体120を第3のコンベヤ912の結合光トラップ910へ移動させてよい。同様に、第2のコンベヤ906の移動光トラップ908は、個々の第2の種類のマイクロ物体122を拾い上げて(選択の一例)、それらの個々の第2の種類のマイクロ物体122を結合光トラップ910へ移動させてよい。この結果、図示するように、第1の種類のマイクロ物体120と第2の種類のマイクロ物体122とが、第1の結合光トラップ910内にまとめられ得る。第1の結合光トラップ910が第3のコンベヤ912の一連の光トラップ910及び914内を移動するにつれて、マイクロ物体120と122とを接触させるように、ひいては光トラップ914内でグループ化されたマイクロ物体202を形成するように、追加的なトラップ914の大きさが必要に応じて調整されてもよい。図示するように、第3のコンベヤ912は、各光トラップ914内のグループ化されたマイクロ物体202を、結合領域114を通って移動させることができる。破壊機構126は、第3のコンベヤ912がグループ202を結合領域114へと移動させる前又は後に、各グループ202の1つ以上のマイクロ物体の膜を破壊してもよい。図示はしないが、マイクロ物体120, 122は、概ね上述のように、グループ化領域112において分類されてもよい。

20

【0051】

30

[0064] 上述のように、グループ化されたマイクロ物体202は、結合領域114において、グループ化されたマイクロ物体202を結合して結合されたマイクロ物体204とする1つ以上の処理にさらされてもよい。そのような処理の例は、図6乃至8Aに図示されたそのような処理の例を含め、上記で言及された処理のいずれをも含む。したがって、例えば図9の結合領域114は、図6の結合試薬602、図7の電界処理機構700、図8Aの圧縮機構802、又は上記の処理のいずれかの組み合わせのうち、1つ以上を含んでいてもよい。上記の例においては、第3のコンベヤ912は、光トラップ914内のグループ化されたマイクロ物体202の各組を、図6の結合試薬602、図7の電界処理機構700、及び/又は図8Aの圧縮機構802を通じて移動させてもよい。

【0052】

40

[0065] 図9に示すように、第3のコンベヤ912は、結果として生じる結合されたマイクロ物体204を分類/選択領域116へと移動させてもよい。同じく図示するように、第3のコンベヤ912は、結合されたマイクロ物体204を分類/選択領域116において解放してもよい。前述のように、分類/選択領域116において、結合されたマイクロ物体204は選択され、分類され、あるいは加工され又は移動されてもよい。代替的には、第3のコンベヤ912がさらに遠く分類/選択領域116へと延出し、それによって例えば結合されたマイクロ物体204を分類/選択領域116の中又は付近の特定の場所又は構造物(例えばチャンネル、排出口106、又は類似のもの)へと搬送してもよい。

【0053】

[0066] ここで図10A乃至10Cのデバイス1000を参照すると、このデバイス10

50

00は基部1014を備えていてもよく、その上に注入口チャンネル1004, 1006及び1008と、チャンバ1002と、排出口チャンネル1010及び1012と、が配設されてもよい。注入口チャンネル1004, 1006及び1008への入口は図1A及び1Bの注入口104の例であり得、排出口チャンネル1010及び1012からの出口が図1A及び1Bの排出口106の例であり得る。チャンネル1004, 1006, 1008, 1010, 1012及びチャンバ1002が同様に図1A及び1Bのハウジング102の例であり得る。当然ながら、より多くの、又はより少ない注入口チャンネル1004, 1006及び1008及び/又は排出口チャンネル1010及び1012があつてもよい。

【0054】

10

[0067] 図示はしないが、チャンバ1002の上壁1040は図3の上壁302のように構成されてもよく、チャンバ1002に対応する基部1014の少なくとも一部が（上述のいずれの変形をも含む）図3の下壁306のように構成されてもよい。図示するように、デバイス1000は、チャンバ1002に対応する基部1014の少なくとも一部に光のパターン316を投射する図3の光源314を含んでいてもよい。図3及び4に関する上述の議論に概ね従って、光トラップ402及び406（図10Cを参照）が選択的に作り出され、チャンバ1002内のマイクロ物体120及び122を選択し、移動させ、及び/又はグループ化する。これらの光トラップ402及び406は、図4に関して上述した光トラップ402, 404及び406と同一であつてもよい。

【0055】

20

[0068] 図10C（同図はデバイス1000の断面上面図である）は本発明のいくつかの実施形態によるデバイス1000の動作を示す。図示するように、第1の種類のマイクロ物体120が懸濁されている液体培地118の流れ1016が注入口チャンネル1004に流入されてもよい。これによりチャンバ1002内に、注入口チャンネル1004から排出口チャンネル1010への液体培地118の層流1024が作り出され得る。同様に、第2の種類のマイクロ物体122が懸濁されている液体培地118の流れ1018が注入口チャンネル1006に流入されてもよく、これにより、図示するように、チャンバ1002内に、注入口チャンネル1006から排出口チャンネル1010及び1012への液体培地118の層流1026が作り出され得る。結合試薬1022（これは図6に関して上述した結合試薬602と同一又は類似のものであつてもよい）の流れ1020が注入口チャンネル1008に流入されてもよく、これによりチャンバ1002内に、注入口チャンネル1008から排出口チャンネル1012への結合試薬1022の層流1028が作り出され得る。

30

【0056】

[0069] 図10Cに示すように、注入口チャンネル1004における培地118の流れ1016が第1の種類のマイクロ物体120をチャンバ1002内へと移動させててもよく、また、注入口チャンネル1006における培地118の流れ1018が第2の種類のマイクロ物体122をチャンバ1002内へと移動させててもよい。同じく図示するように、光源314（図3を参照）からの光パターンを光トラップ402の形で第1の種類のマイクロ物体120の周囲に投射することによって、層流1024において第1の種類のマイクロ物体120のうち1つが選択されてもよく、また、光源314からの光パターンを光トラップ404の形で第2の種類のマイクロ物体122の周囲に投射することによって、層流1026において第2の種類のマイクロ物体122のうち1つが選択されてもよい。

40

【0057】

[0070] 選択されたマイクロ物体120及び122はその後移動されて接触してもよく、光トラップ402, 404が（図4に関して上述したように）併合されて、今やグループ化されたマイクロ物体202の周囲に光トラップ406を形成してもよい。光トラップ406はグループ202のマイクロ物体120と122との間の接触を維持する大きさであつてもよい。概ね上述のように、破壊機構126が各グループ202のマイクロ物体のうち1つ以上の膜を破壊してもよい。

50

【0058】

[0071] グループ化されたマイクロ物体 202 は、図示するように光トラップ 406 を結合試薬 1022 の層流 1028 内に移動させることによって、移動され得る。グループ化されたマイクロ物体 202 は、概ね上述のように、試薬 1022 がグループ化されたマイクロ物体 202 を結合し、ひいては結合されたマイクロ物体 204 を作り出すのに十分な時間にわたって、結合試薬 1022 の中にあってもよい。

【0059】

[0072] 引き続き図 10C を参照すると、結合されたマイクロ物体 204 はその後、結合試薬 1022 の層流 1028 の外へと移動され、次いで分類されてもよい。例えば、グループ化されたマイクロ物体 202 がうまく結合されて結合されたマイクロ物体 204 となつたかどうかが決定されてもよい。うまく結合されたものは、うまく結合されたマイクロ物体 204 の出口であり得る排出口チャンネル 1010 へと移動されてもよい。うまく結合しなかったグループ化されたマイクロ物体 202 のマイクロ物体 120 及び 122 は、廃物の出口であり得る排出口チャンネル 1012 へと移動されてもよい。

10

【0060】

[0073] 次に図 11A 乃至 11C を参照すると、デバイス 1100 は基部 1104 を備えていてもよく、その上にはハウジング 1102（これは図 1A 乃至 2 のハウジング 102 の一例であり得る）が配設される。同じく図示するように、ハウジング 1102 は、1 つ以上のチャンネル 1108 及び 1120（2 つが図示されているが、より少ないか又はより多くてもよい）と流れチャンネル 1112（1 つが図示されているが、より多くてもよい）とを備えていてもよい。チャンネル 1108, 1112 及び 1120 は、1 つ以上のチャンバ 1114 及び 1116（2 つが図示されているが、より少ないか又はより多くてもよい）に通じていてもよい。チャンネル 1108, 1112 及び 1120 の入口 1106, 1110 及び 1118 は図 1A 乃至 2 の注入口 104 の例であり得、これらのチャンネルの出口 1140, 1142 及び 1144 は排出口 106 の例であり得る。

20

【0061】

[0074] 図示はしないが、ハウジング 1102 の上壁は図 3 の上壁 302 のように構成されていてもよく、基部 1104 の少なくとも一部は、（図 3 に示す装置のいずれの変形をも含む）図 3 の下壁 306 のように構成されていてもよい。図 11B に示すように、デバイス 1100 は、基部 1104 上に光のパターン 316 を投射する図 3 の光源 314 も含んでいてもよい。

30

【0062】

[0075] 図 3 及び 4 に関する上述の議論に概ね従って、図 11C（同図はデバイス 1100 の断面上面図である）に示されるように、光トラップ 402 が選択的に作り出されて、第 1 のチャンネル 1108 内の培地 118 の流れ 1128 から第 1 の種類のマイクロ物体 120 を選択するとともに、選択されたマイクロ物体 120 をチャンネル 1108, 1120 の間に配設されたチャンバ 1114, 1116 内の障壁 1122 へと移動させてもよい。同様に、光トラップ 404 が選択的に作り出されて、第 2 のチャンネル 1120 内の培地 118 の流れ 1130 から第 2 の種類のマイクロ物体 122 を選択するとともに、選択されたマイクロ物体 122 を障壁 1122 へと移動させてもよい。このようにして、マイクロ物体 120, 122 のグループ 202 は障壁 1122 において形成されてもよい。図 11C には、マイクロ物体 120, 122 のグループ 202 の一例が、チャンバ 1114 内の障壁 1122 において示されている。

40

【0063】

[0076] 破壊機構 126 が、上述のように、グループ 202 のマイクロ物体 120, 122 のうち 1 つ以上の膜を破壊してもよい。障壁 1122 は、物理的なものであっても、仮想のものであっても、あるいは物理的なものと仮想のものとの組み合わせであってもよい。

【0064】

[0077]（例えば試薬 602 又は 1022 のような）試薬の流れ 1126 がチャンネル 1

50

110内に与えられてもよい。障壁1122の開口部1124が、その流れ1126が障壁1122を貫流することを可能にしてもよい。その結果、図示するように各グループ202のマイクロ物体120, 122が結合されて、例えば図11Cのチャンバ1116内の障壁1122において、結合されたマイクロ物体204となってもよい。結合されたマイクロ物体204は、選択され、(例えばトラップ402, 404のような光トラップとともに)チャンバ1114, 1116の外部に移動されてもよい。

【0065】

[0078] 上述のように、グループ202にされたマイクロ物体120, 122の膜は必ずしも破壊される必要はなく、したがって、図9A乃至11Cのデバイス900, 1000, 1100のいくつかの実施形態は破壊機構126を備えない。やはり上述のように、グループ202にされたマイクロ物体120, 122はその代わりに、電気穿孔法にさらされたり、まとめて繋留されたり、互いに接触又は近接した状態に保持されたりするなどしてもよい。10

【0066】

[0079] 図面中に図示され本明細書に記載されているデバイス100, 900, 1000, 1100は単なる例に過ぎず、変形が考えられる。例えば、図面中に図示され本明細書に記載されている例においては2つのマイクロ物体120, 122がグループ化され結合されているものとして示されているが、2つよりも多くのマイクロ物体がグループ化され結合されてもよい。図12は、デバイス100(例えば図1A, 1B及び2を参照)の動作の例を図示しており、同デバイスにおいて複数のマイクロ物体120, 122, 1220(3つが図示されているが、より多くてもよい)がグループ化領域112でグループ化され、結合領域116で結合される。マイクロ物体1220は注入口ポート104のうち1つを通じて、又は何らかの他の方法によって、デバイス100に入り得る。上述のように、デバイス100は2つよりも多くの注入口ポート104を有していてもよい。20

【0067】

[0080] 図12は、複数のマイクロ物体120, 122, 1220がグループ化領域112においてグループ化される点を除いて、図2に示されるデバイス100の動作を図示している。マイクロ物体120, 122, 1220のグループ化は、2つよりも多くのマイクロ物体120, 122, 1220が選択されグループ化されてグループ1202にされたマイクロ物体を形成するという点を除いて、図2に関して上述したのと同様であってもよい。したがって、各グループ1202は3つ以上のマイクロ物体120, 122, 1220を含み得る。マイクロ物体120, 122, 1220は、マイクロ物体120, 122を選択し結合してグループ202とする本明細書に記載されたいずれの方法によっても、選択され、結合されてグループ1202とされ得る。結合領域114において、各グループ1202にされたマイクロ物体120, 122, 1220は結合され、結合されたマイクロ物体1204とされる。マイクロ物体120, 122, 1220からなる各グループ1202は、本明細書に記載されたグループ202を結合して結合されたマイクロ物体204とするいずれの方法によっても、結合されることができる。30

【0068】

[0081] マイクロ物体1220は、マイクロ物体120, 122に関して上述した種類のマイクロ物体のいずれであってもよい。また、マイクロ物体1220は、マイクロ物体120, 122のいずれかと同一であってもよいし、又は異なっていてもよい。例えば、マイクロ物体120は生体細胞であってもよく、マイクロ物体122, 1220は選択可能なマーカーを有するプラスミド(又は類似のもの)のようなトランスフェクションベクターであってもよい。そのほんの一例として、マイクロ物体120はチャイニーズハムスター卵巣(CHOC)細胞のような細胞であってもよく、マイクロ物体122は脂質ナノ粒子(又は類似のもの)中の特異抗体重鎖であってもよく、マイクロ物体1220は脂質ナノ粒子(又は類似のもの)中の特異抗体軽鎖であってもよい。40

【0069】

[0082] 言及した通り、図12には3つのマイクロ物体120, 122, 1220が示さ50

れ、グループ1202にグループ化され、結合されて結合されたマイクロ物体1204とされているが、3つより多くのそのようなマイクロ物体がグループ1202にグループ化され、結合されて結合されたマイクロ物体1204とされてもよい。また、図示され本明細書に記載されたデバイス900, 1000, 1100はいずれも、概ね図12に図示され上述されたように、2つのマイクロ物体120, 122よりも多くのマイクロ物体をグループ化し結合することができる。

【0070】

[0083] 図13は、本発明のいくつかの実施形態による生物学的マイクロ物体を結合する方法1300の一例を示す。ステップ1302において、マイクロ物体は分類され、個々のマイクロ物体が選択されてもよい。例えば、概ね上述のように、上述したデバイスのいずれか（例えばデバイス100, 900, 1000, 1100）の培地118は、複数の第1の種類のマイクロ物体120及び複数の第2の種類のマイクロ物体122を含んでいてもよく、これらは1つ以上の特性により分類されてもよい。第1の種類のマイクロ物体120及び第2の種類のマイクロ物体122のうち、所望の特性を有するもの、あるいは特定の基準を満たすものが、ステップ1302で選択されてもよい。上述のように、2つマイクロ物体の種類120, 122よりも多くが存在してもよい。例えば、図12に示すように、3つ以上の種類のマイクロ物体120, 122, 1220があつてもよい。

10

【0071】

[0084] ステップ1304においては、生物学的マイクロ物体のうちステップ1302で選択された個々のものがグループ化されてもよい。例えば、図2に示すように、1つの選択された第1の種類の生物学的マイクロ物体120（図1A乃至2を参照）が1つの選択された第2の種類の生物学的マイクロ物体122とグループ化されてグループ202を形成してもよい。別の一例として、図12に示すように、選択されたマイクロ物体120, 122は第3の種類のマイクロ物体1220とグループ化されてもよい。上記のこと、したがってステップ1304は、図面に示され又は上述されたマイクロ物体120, 122, 1220のグループ202, 1202を作り出すいずれの方法によつても達成され得る。

20

【0072】

[0085] 概ね上述の議論に従つて、ステップ1304は、グループ202, 1202にされたマイクロ物体120, 122, 1220の、（例えば上述のいずれかの機構により）膜を破壊すること、又は該グループの一方又は両方を電気穿孔法にさらすことを含んでもよい。代替的又は追加的に、ステップ1304は、グループ202, 1202内のマイクロ物体120, 122, 1220を接触又は接近させてその状態を保持することを含んでもよい。また、ステップ1304は、グループ202, 1202内のマイクロ物体120, 122, 1220を相互に繫留することも含んでもよい。同じく概ね上述の議論に従つて、ステップ1304は、グループ202, 1202にされたマイクロ物体120, 122, 1220を検査し分類すること、及び1つ以上の特性を有するか1つ以上の基準を満たすグループ202, 1202にされたマイクロ物体120, 122, 1220を選択することを含んでもよい。

30

【0073】

[0086] ステップ1306において、ステップ1304で作り出されたグループ202, 1202のマイクロ物体120, 122, 1220は、結合（例えば融合）されて結合されたマイクロ物体204, 1204とされてもよく、これは図面中に示され又は上述されたいずれの方法によつても達成され得る。概ね上述したように、ステップ1306で作り出された、結合されたマイクロ物体204, 1204は、図示され本明細書中に記載されたデバイス100, 900, 1000, 1100のいずれかにおいて、（図面には示さない）保持囲い内に保持されてもよい。例えば、結合されたマイクロ物体204, 1204がそのような保持囲い内で培養され、あるいは回復期間を与えられてもよい。

40

【0074】

[0087] 図示するように、複数の結合されたマイクロ物体204, 1204を生み出すた

50

めに、ステップ 1302 乃至 1306 が 1 度以上繰り返されてもよい。ステップ 1308 において、結合されたマイクロ物体 204, 1204 が検査され、分類され、及び / 又は選択されて、図面に図示され又は上述したいずれかの方法によって分類されてもよい。

【0075】

[0088] 本明細書には本発明の具体的な実施形態及び適用を記載しているが、これらの実施形態及び適用は単なる例に過ぎず、多くの変形が可能である。

【図 1 A】

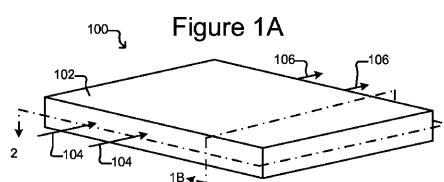


Figure 1A

【図 1 B】

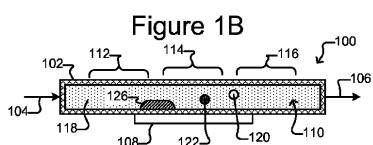


Figure 1B

【図 2】

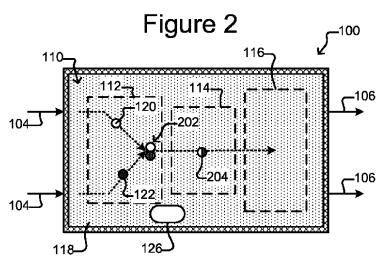
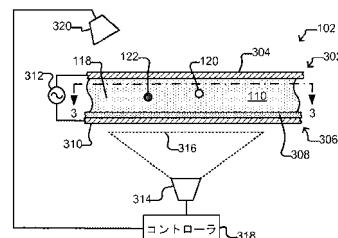


Figure 2

【図 3】



【図 4】

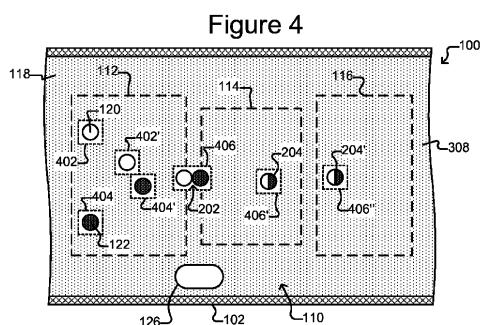
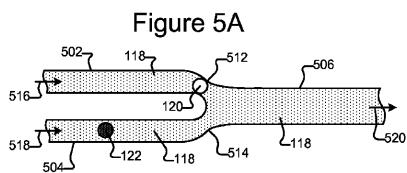
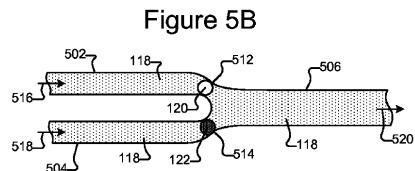


Figure 4

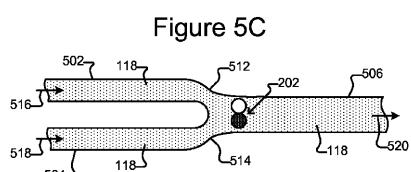
【図5A】



(図 5 B)

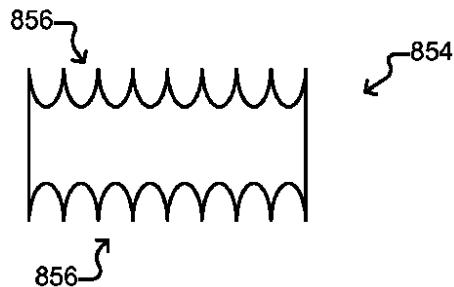


(四 5 C)

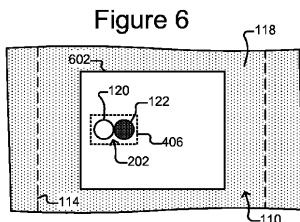


【図 8 B】

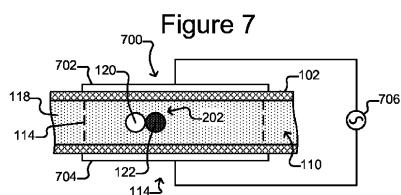
Figure 8B



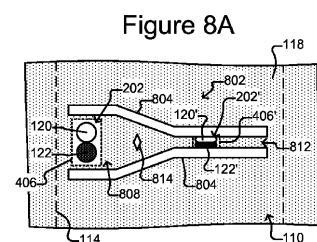
【 図 6 】



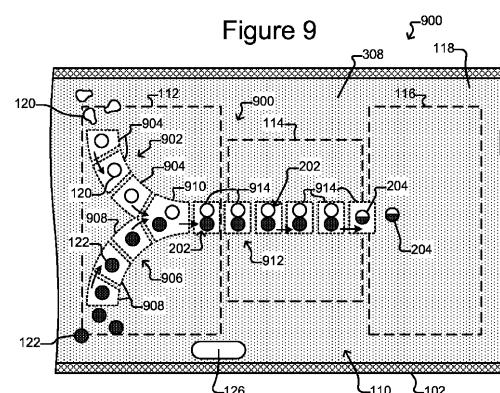
【 図 7 】



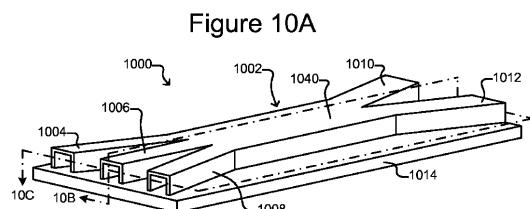
【 8 A 】



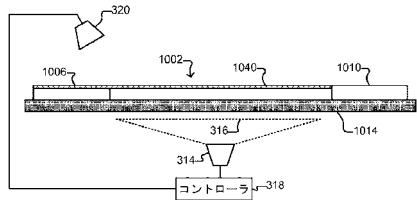
【 図 9 】



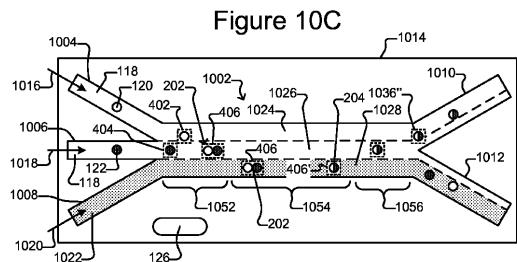
【図 10A】



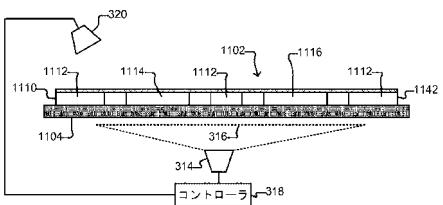
【図 10B】



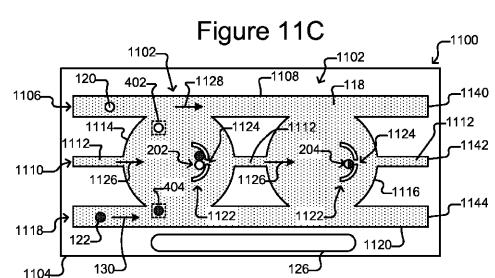
【図 10C】



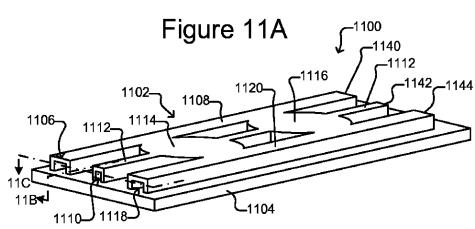
【図 11B】



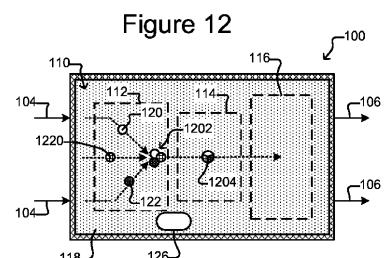
【図 11C】



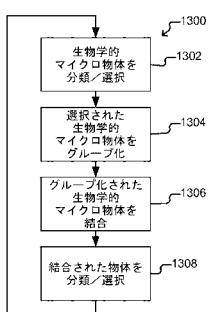
【図 11A】



【図 12】



【図 13】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2013/050269
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C12M 1/34(2006.01)i, C12M 1/42(2006.01)i, G01N 33/48(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12M 1/34; B01L 3/02; C12M 1/36; C02F 1/40; C40B 50/14; C40B 60/14; B01J 19/08; C12M 1/42; G01N 33/48		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & keywords: micro-object, liquid medium, micro-fluidic device, grouping means, combining means		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2009-0170186 A1 (WU, M. C. et al.) 2 July 2009 See abstract; paragraphs [0021], [0059], [0135], [0149] and [0196]; claims 12-13 and 24-25; figures 1, 2B-2D, 3A-3C, 5-7A, 8 and 9D-9F.	1-5, 7-13, 15-18, 20-21, 23-30, 32-33, 35, 6, 14, 19, 22, 31, 34
A	HU, N. et al., 'A high-throughput dielectrophoresis-based cell electrofusion microfluidic device', Electrophoresis, September 2011, Vol. 32, No. 18, pp. 2488-2495. See abstract; page 2493, left column, lines 31 - right column, lines 45; figures 1-3 and 6-8.	1-5, 7-13, 15-18, 20-21, 23-30, 32-33, 35, 6, 14, 19, 22, 31, 34
A	GEL, M. et al., 'Microorifice-based high-yield cell fusion on microfluidic chip: electrofusion of selected pairs and fusant viability', IEEE Transactions on Nanobioscience, December 2009, Vol. 8, No. 4, pp. 300-305. See abstract; page 301, right column, lines 1-28, page 302, right column, lines 1-22; page 303, right column, lines 15-22; figures 1-3 and 7-8.	1-35
A	US 2010-0273681 A1 (CERRINA, F. et al.) 28 October 2010 See abstract; claims 1-4, 6-8 and 17-20; figures 1-4.	1-35
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
<p>* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 16 October 2013 (16.10.2013)	Date of mailing of the international search report 16 October 2013 (16.10.2013)	
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City, 302-701, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-472-7140	Authorized officer HEO Joo Hyung Telephone No. +82-42-481-8150	

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/US2013/050269

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6958132 B2 (CHIOU, P. Y. et al.) 25 October 2005 See abstract; claims 1-2; figures 1-2 and 8A-8C.	1-35

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No. PCT/US2013/050269

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2009-0170186 A1	02/07/2009	EP 1735428 A2 EP 1735428 A4 JP 2007-537729 A US 7612355 B2 WO 2005-100541 A2 WO 2005-100541 A3	27/12/2006 10/11/2010 27/12/2007 03/11/2009 27/10/2005 09/04/2009
US 2010-0273681 A1	28/10/2010	None	
US 6958132 B2	25/10/2005	AU 2003-272199 A1 EP 1509316 A2 EP 1509316 A4 JP 2005-531409 A JP 4614221 B2 US 2003-0224528 A1 US 2007-0243110 A1 US 7727771 B2 WO 2004-012848 A2 WO 2004-012848 A3	23/02/2004 02/03/2005 24/11/2010 20/10/2005 19/01/2011 04/12/2003 18/10/2007 01/06/2010 12/02/2004 26/08/2004

フロントページの続き

(51) Int.Cl. F I テーマコード(参考)
C 12 Q 1/68 (2006.01) C 12 Q 1/68

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,T
M),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,R
S,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,
BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,H
R,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI
,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,
US,UZ,VC

(72)発明者 ウー, ミン, シー.

アメリカ合衆国、カリフォルニア州 94608、エメリービル、ホリス ストリート 5885
、スイート 370

(72)発明者 チャップマン, ケヴィン, ティー.

アメリカ合衆国、カリフォルニア州 94608、エメリービル、ホリス ストリート 5885
スイート 370

(72)発明者 カンドロス イゴール ワイ

アメリカ合衆国、カリフォルニア州 94608、エメリービル、ホリス ストリート 5885
スイート 370

(72) 発明者 マキヨー ガエタニ エリ

アメリカ合衆国、カリフォルニア州 94608、エメリービル、ホリス ストリート 5885
スイート 370

(72) 発唱者 シュート フルイ ボン ダゴリー

ショート、スティーブン、タブリュー。
アメリカ合衆国、カリフォルニア州 94608、エメリービル、ホリス ストリート 5885
コード 1-373

スイート 370

考) 4B024 AA19 AA20 CA01 CA11 DA02 EA04 GA01 GA11 GA14 HA20
4B029 AA07 AA23 AA24 BB01 BB17 CC01 FA15 GA08 GB02 GB04

F ターム(参考)	4B024	AA19	AA20	CA01	CA11	DA02	EA04	GA01	GA11	GA14	HA20
	4B029	AA07	AA23	AA24	BB01	BB17	CC01	FA15	GA08	GB02	GB04
GB10											
	4B063	QA01	QQ08	QQ21	QQ41	QR33	QS05	QS28	QS32	QX01	