

(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 I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	4 B 0 2 4
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	C 1 2 M 1/34	Z 4 B 0 2 9
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	A 4 B 0 6 3
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	C 1 2 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)
 (86) (22) 出願日 平成25年7月12日 (2013. 7. 12)
 (85) 翻訳文提出日 平成27年3月3日 (2015. 3. 3)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2013/050269
 (87) 国際公開番号 W02014/011985
 (87) 国際公開日 平成26年1月16日 (2014. 1. 16)
 (31) 優先権主張番号 61/671, 499
 (32) 優先日 平成24年7月13日 (2012. 7. 13)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/720, 956
 (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)

(71) 出願人 514304762
 バークレー ライツ, インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国, カリフォルニア州 94
 608, エメリービル, ホリス ストリート
 5885, スイート 370
 (74) 代理人 100079108
 弁理士 稲葉 良幸
 (74) 代理人 100109346
 弁理士 大貫 敏史
 (74) 代理人 100117189
 弁理士 江口 昭彦
 (74) 代理人 100134120
 弁理士 内藤 和彦

最終頁に続く

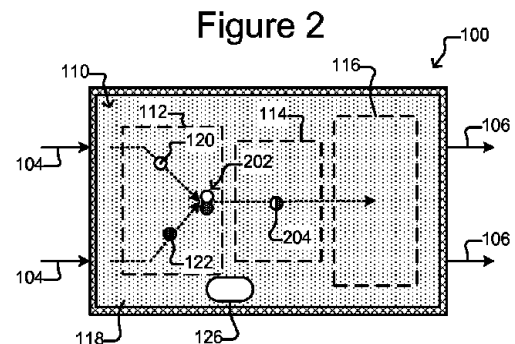
(54) 【発明の名称】 生物学的マイクロ物体の結合

(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、チャンバ内の液体培地中でグループ化され得る。グループ化は、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単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内に入射する第 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し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し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、

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。

【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、

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氣的刺激を与えること、

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、

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、

10

20

30

40

50

をさらに備える、請求項 1 の方法。

【請求項 16】

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 17】

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、
を備える、装置。

20

【請求項 18】

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 (OET) デバイスを有する、請求項 17 の装置。

【請求項 19】

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 20】

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 21】

前記結合機構は、

第 1 の電極及び前記第 1 の電極から隔置された第 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 22】

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置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 23】

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。

10

【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、

20

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、

30

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。

40

【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。

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 2 8 の装置。

【請求項 3 5】

前記グループ化手段は、さらに、前記液体培地中で前記複数の第 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 2 8 の装置。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【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】

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】

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】

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】

40

【0005】

【図 1 A】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 1 B】図 1 A のデバイスの側部断面図である。

【図 2】図 1 A 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 1 A のデバイスの動作を示す。

【図 3】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 1 A のデバイスの断面部分側部図を示す。

【図 4】図 3 の OET 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壁電極を備えた図 1 A のデバイスの結合領域の一例を示す。

【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 1 0 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 のデバイスの別の一例を示す。

【図 1 0 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 のデバイスの別の一例を示す。

【図 1 0 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 のデバイスの別の一例を示す。

【図 1 1 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一例を示す。

【図 1 1 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一例を示す。

【図 1 1 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一例を示す。

【図 1 2】[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 1 3】[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。

【発明を実施するための形態】

【0006】

[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は、グループ化された生物学的マイクロ物体を結合して単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。

【0014】

40

[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 1 A 及び 1 B 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 1 2 0 (以下、第 1 の種類のマイクロ物体 1 2 0 という) 及び第 2 の種類の生物学的マイクロ物体 1 2 2 (以下、第 2 の種類のマイクロ物体 1 2 2 という) が培地 1 1 8 中に懸濁されている(以下、第 1 の種類のマイクロ物体 1 2 0 及び第 2 の種類のマイクロ物体 1 2 2 は、まとめてマイクロ物体 1 2 0 及び 1 2 2 とも称される)。図 1 B に示すように、チャンバ 1 1 0 内にはグループ化領域 1 1 2 と結合領域 1 1 4 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 1 1 6 も含んでもよい。

【0016】

[0029] ハウジング 1 0 2 は 1 つ以上の注入口 1 0 4 を備えていてもよく、これを通じて培地 1 1 8 とマイクロ物体 1 2 0 及び 1 2 2 とがチャンバ 1 1 0 内に流入されてもよい。注入口 1 0 4 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 1 0 0 は 1 つ以上の排出口 1 0 6 も備えていてもよく、これを通じて培地 1 1 8 がマイクロ物体 1 2 0 及び 1 2 2 とともに、又はこれらなしに、除去されてもよい。排出口 1 0 6 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 1 2 6 は、マイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 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 1 2 6 は、ハウジング 1 0 2 に取り付けられチャンバ 1 1 0 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 1 2 0 , 1 2 2 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 1 2 6 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 1 2 0 , 1 2 2 のうち 1 つ以上に電氣的刺激を与える電気刺激素子である。

20

【0018】

[0031] 操作機構 1 0 8 は、チャンバ 1 1 0 内で個々のマイクロ物体 1 2 0 及び 1 2 2 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 1 1 8 中でマイクロ物体 1 2 0 及び 1 2 2 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 1 2 0 又は 1 2 2 のうち選択されたものに対する誘電泳動(D E P)力を作り出してそ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 1 0 8 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 , 6 1 2 , 3 5 5 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 1 0 8 は、マイクロ物体 1 2 0 及び / 又は 1 2 2 のうち 1 つ以上が懸濁されている培地 1 1 8 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 , 9 5 8 , 1 3 2 号に開示されているような)光電子ウェットティング(O E W)デバイスのようなエレクトロウェット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 1 0 0 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 1 0 0 の動作を示す。図示するように、グループ化領域 1 1 2 において、第 1 の種類のマイクロ物体 1 2 0 が選択され、選択された第 2 の種類のマイクロ物体 1 2 2 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 1 2 0 及び 1 2 2 は図 2 においては 2 0 2 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 2 0 2 又はマイクロ物体のグループ 2 0 2 と称される)。グループ 2 0 2 には 2 つのマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 が示されているが、グループ 2 0 2 には 2 つのマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 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 1 1 8 中には複数の第 1 の種類のマイクロ物体 1 2 0 及び第 2 の種類のマイクロ物体 1 2 2 が存在し得る。第 1 の種類のマイクロ物体 1 2 0 及び第 2 の種類のマイクロ物体 1 2 2 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に電氣的刺激を与え、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において相互に繫留され、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（例えば不死化骨髓腫細胞）（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ブリドーマ（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、ハイブ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 1 2 2 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 1 2 0 は遺伝物質を担持するリボソームであってもよく、第 2 の種類のマイクロ物体 1 2 2 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 組のリボ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 2 0 2 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）リボ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りリボソームと、の結合は、結合されたマイクロ物体 2 0 4 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係する別の一例として、第 1 の種類のマイクロ物体 1 2 0 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 1 2 2 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（*siRNA*））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 2 0 2 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 2 0 4 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 1 2 0 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 つ以上の一般の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 1 2 2 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の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 2 0 2 のマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 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 2 0 2 のマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 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 1 0 8 は O E T 装置を備えていてもよい。図 3 は、操作機構 1 0 8 がハウジング 1 0 2 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 1 0 0 のハウジング 1 0 2 の一部の側部断面図を示し、ここで、ハウジング 1 0 2 の上壁 3 0 2 の少なくとも一部は上部電極 3 0 4 を備え、下壁 3 0 6 の少なくとも一部は光導電層 3 0 8 と下部電極 3 1 0 とを備える。図示するように、チャンバ 1 1 0 は上壁 3 0 2 と下壁 3 0 6 との間にあってよい。

【0028】

[0041] 同じく図示するように、バイアス電圧 3 1 2 が上部電極 3 0 4 及び下部電極 3 1 0 に印加されてもよい。公知のように、光導電層 3 0 8 のある範囲に投射された光は、光導電層 3 0 8 のその照射された範囲の近傍において、上部電極 3 0 4 と下部電極 3 1 0 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 3 1 2 は、その周波数に応じて、マイクロ物体 1 2 0 及び 1 2 2 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 1 2 0 又は 1 2 2 を吸引 / 反発する「仮想電極」が、光導電層 3 0 8 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 3 1 6 を光導電層 3 0 8 に投射して光導電層 3 0 8 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 3 0 8 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 3 1 4 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 1 2 0 及び 1 2 2 を観察

50

するための撮像素子 3 2 0 (例えばカメラ又は他の視察装置)と、光源 3 1 4 を制御するコントローラ 3 2 0 と、を含んでいてもよい。上壁 3 0 2 及び / 又は下壁 3 0 6 は透明であってもよい。

【 0 0 3 0 】

[0043] 図 3 に図示する O E T 装置は、グループ化領域 1 1 2、結合領域 1 1 4、及び / 又は分類 / 選択領域 1 1 6 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 1 1 2、結合領域 1 1 4、及び / 又は分類 / 選択領域 1 1 6 のうち 1 つ以上においてマイクロ物体 1 2 0 及び 1 2 2 を選択し移動させるために用いることができる。

【 0 0 3 1 】

[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 3 1 4 及び撮像素子 3 2 0 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 3 1 4 及び撮像素子 2 2 0 は、ハウジング 1 0 2 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別の一例として、光源 3 1 4 及び撮像素子 3 2 0 はハウジング 1 0 2 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 3 1 4 からの光を屈折してもよい。また別の一例として、壁 3 0 6 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 3 0 4 はあるいは壁 1 0 6 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 3 0 4 は、培地 1 1 8 と接触して、電極 3 1 0 から電氣的に絶縁されていてもよい。図 3 に示す構成の、

10

20

【 0 0 3 2 】

[0045] 図 4 は、図 3 の O E T 装置がグループ化領域 1 1 2、結合領域 1 1 4、及び分類 / 選択領域 1 1 6 に及ぶよう構成され得る一例を示す。上述のように、培地 1 1 8 には複数の第 1 の種類のマイクロ物体 1 2 0 及び複数の第 2 の種類のマイクロ物体 1 2 2 があってもよく、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 1 1 2 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 1 A 乃至 2 のハウジング 1 0 2 の断面部分上面図である)、第 1 の種類のマイクロ物体 1 2 0 のうち 1 つが光源 3 1 4 から光トラップ 4 0 2 (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 1 2 0 の周囲の光導電層 3 0 8 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 1 2 0 を捕捉してもよい。第 2 の種類のマイクロ物体 1 2 2 は、同様に、光源 3 1 4 から光トラップ 4 0 4 (例えば光ケージ) を第 2 の種類のマイクロ物体 1 2 2 の周囲の光導電層 3 0 8 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 1 2 2 を捕捉してもよい。図 4 に示すように、これは、チャンバ 1 1 0 のグループ化領域 1 1 2 において実行されてもよい。バイアス電圧 3 1 2 (図 3 を参照) は、光トラップ 4 0 2、4 0 4 が選択されたマイクロ物体 1 2 0 及び 1 2 2 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 1 2 0、1 2 2 を吸引する光のパターンが作り出されてもよい。

30

【 0 0 3 3 】

[0046] 選択されたマイクロ物体 1 2 0 及び 1 2 2 はその後、図 4 に示すように光導電層 3 0 8 上で光トラップ 4 0 2 及び 4 0 4 を移動させることによって、グループ化領域 1 1 2 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 4 0 2 及び 4 0 4 は、光導電層 3 0 8 上でさらに移動され、選択されたマイクロ物体 1 2 0 及び 1 2 2 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 2 0 2 を形成する。光トラップ 4 0 2 及び 4 0 4 は、光源 3 1 4 から光導電層 3 0 8 上のグループ化された生物学的マイクロ物体 2 0 2 の周囲に投射された光トラップ 4 0 6 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 4 0 6 は、グループ 2 0 2 のマイクロ物体 1 2 0 と 1 2 2 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 2 0 2 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 5 0 2 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 1 2 0 の大きさよりも大きくてもよい。同様に、第 2 のチャンネル 5 0 4 の幅は、第 2 の種類のマイクロ物体 1 2 2 が、第 2 のチャンネル 5 0 4 を第 3 のチャンネル 5 0 6 と接続する第 2 の通路 5 1 4 へ、流れ 5 1 8 とともに第 2 のチャンネル 5 0 4 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 1 2 2 の大きさよりも大きくてもよい。

【 0 0 3 9 】

[0052] しかしながら、第 1 の通路 5 1 2 の幅は、図 5 A に示すように摩擦力が第 1 の種類のマイクロ物体 1 2 0 を第 1 の通路 5 1 2 内で停止させるよう、第 1 の種類のマイクロ物体 1 2 0 よりも十分に小さくてもよい。第 2 の通路 5 1 4 の幅も同様に、図 5 B に示すように摩擦力が第 2 の種類のマイクロ物体 1 2 2 を通路 5 1 4 内で停止させるよう、第 2 10
の種類のマイクロ物体 1 2 2 よりも十分に小さくてもよい。

【 0 0 4 0 】

[0053] また、第 1 及び第 2 の通路 5 1 2 , 5 1 4 の幅は、チャンネル 5 0 2 , 5 0 4 内の流れ 5 1 6 , 5 1 8 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 5 B に図示されるように、第 1 の種類のマイクロ物体 1 2 0 が第 1 の通路 5 1 2 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 1 2 2 が第 2 の通路 5 1 4 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 5 C に示すように、マイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 を、マイクロ物体のグループ 2 0 2 として、通路 5 1 2 , 5 1 4 から第 3 の通路 5 0 6 内へ移動させることができる。すると、今やグループ 2 0 2 にされたマイクロ物体は、第 3 のチャンネル 5 0 6 内の培地 1 1 8 の流れ 5 2 0 とともに 20
に移動し得る。例えば、上述のように、図 1 A , 1 B 及び 2 のデバイス 1 0 0 は、第 3 のチャンネル 5 0 6 内の流れ 5 2 0 がグループ 2 0 2 にされたマイクロ物体を結合領域 1 1 4 へと移動させるように、図 5 のチャンネル 5 0 2 , 5 0 4 , 5 0 6 により構成されていてもよい。

【 0 0 4 1 】

[0054] 図 6 乃至 8 A 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 2 0 2 を結合して結合されたマイクロ物体 2 0 4 にするための様々な処理を行う結合領域 1 1 4 の構成の例を図示する。

【 0 0 4 2 】

[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 1 1 4 は、グループ化されたマイクロ物体 2 0 2 の化学処理を行うための試薬 6 0 2 を含んでもよい。試薬 6 0 2 は、グループ化されたマイクロ物体 2 0 2 の結合をもたらすことができる。例えば、試薬 6 0 2 は、例えばグループ 2 0 2 のマイクロ物体 1 2 0 及び 1 2 2 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 2 0 2 の融合をもたらしてもよい。試薬 6 0 2 は結合領域 1 1 4 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 2 0 2 は、グループ化されたマイクロ物体 2 0 2 を結合してマイクロ物体 2 0 4 とするのに十分な時間、試薬 6 0 2 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グリコール（PEG）、センダイウィルス、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 2 0 2 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 40
光トラップ 4 0 6 を移動させることにより、試薬 6 0 2 の中へ及び該試薬中で移動されてもよい。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。

【 0 0 4 3 】

[0056] 図 7 は、本発明のいくつかの実施形態による結合領域 1 1 4 の構成の別の一例を示す。図示するように、結合領域 1 1 4 は電界処理機構 7 0 0 を備えていてもよく、この電界処理機構はバイアス電圧 7 0 6（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 7 0 2 及び第 2 の電極 7 0 4 を備えていてもよい。バイアス電圧 7 0 6 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 2 0 2 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、結合手段の別の一例である。

【0044】

[0057] 図 8 A 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る。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る。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 8 A 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 の結合をもたらす。グループ化されたマイクロ物体 202 は、例えば、概ね図 8 A 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 8 A 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 8 B 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 8 A 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 11 C 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 O E T 装置で構成された図 1 A 及び 1 B のハウジング 1 0 2 の断面部分上面図を示す）のデバイス 9 0 0 は仮想コンベヤシステムデバイス 9 0 0 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 O E T 装置は仮想移動コンベヤシステムデバイス 9 0 0 の形をした光導電層 3 0 8 上に光パターン 3 1 6 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 9 0 2 , 9 0 6 , 9 1 2 を備えていてもよい。図示するように、各コンベヤ 9 0 2 , 9 0 6 , 9 1 2 は、移動光トラップ 9 0 4 , 9 0 8 , 9 1 0 , 9 1 4 を備えていてもよい。例えば、第 1 の移動コンベヤ 9 0 2 は一連の移動光トラップ 9 0 4 を備えていてもよく、第 2 の移動コンベヤ 9 0 6 は一連の移動光トラップ 9 0 8 を備えていてもよい。第 3 の移動コンベヤ 9 1 2 は初期結合光トラップ 9 1 0 と追加的な光トラップ 9 1 4 とを含む一連の移動光トラップを備えていてもよい。

【 0 0 5 0 】

[0063] 図示するように、第 1 のコンベヤ 9 0 2 の移動光トラップ 9 0 4 は、個々の第 1 の種類のマイクロ物体 1 2 0 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 1 2 0 を第 3 のコンベヤ 9 1 2 の結合光トラップ 9 1 0 へ移動させてもよい。同様に、第 2 のコンベヤ 9 0 6 の移動光トラップ 9 0 8 は、個々の第 2 の種類のマイクロ物体 1 2 2 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 1 2 2 を結合光トラップ 9 1 0 へ移動させてもよい。この結果、図示するように、第 1 の種類のマイクロ物体 1 2 0 と第 2 の種類のマイクロ物体 1 2 2 とが、第 1 の結合光トラップ 9 1 0 内にまとめられ得る。第 1 の結合光トラップ 9 1 0 が第 3 のコンベヤ 9 1 2 の一連の光トラップ 9 1 0 及び 9 1 4 内を移動するにつれて、マイクロ物体 1 2 0 と 1 2 2 とを接触させるように、ひいては光トラップ 9 1 4 内でグループ化されたマイクロ物体 2 0 2 を形成するように、追加的なトラップ 9 1 4 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 9 1 2 は、各光トラップ 9 1 4 内のグループ化されたマイクロ物体 2 0 2 を、結合領域 1 1 4 を通って移動させることができる。破壊機構 1 2 6 は、第 3 のコンベヤ 9 1 2 がグループ 2 0 2 を結合領域 1 1 4 へと移動させる前又は後に、各グループ 2 0 2 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 1 2 0 , 1 2 2 は、概ね上述のように、グループ化領域 1 1 2 において分類されてもよい。

【 0 0 5 1 】

[0064] 上述のように、グループ化されたマイクロ物体 2 0 2 は、結合領域 1 1 4 において、グループ化されたマイクロ物体 2 0 2 を結合して結合されたマイクロ物体 2 0 4 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 8 A 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 1 1 4 は、図 6 の結合試薬 6 0 2 、図 7 の電界処理機構 7 0 0 、図 8 A の圧縮機構 8 0 2 、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 9 1 2 は、光トラップ 9 1 4 内のグループ化されたマイクロ物体 2 0 2 の各組を、図 6 の結合試薬 6 0 2 、図 7 の電界処理機構 7 0 0 、及び / 又は図 8 A の圧縮機構 8 0 2 を通って移動させてもよい。

【 0 0 5 2 】

[0065] 図 9 に示すように、第 3 のコンベヤ 9 1 2 は、結果として生じる結合されたマイクロ物体 2 0 4 を分類 / 選択領域 1 1 6 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 9 1 2 は、結合されたマイクロ物体 2 0 4 を分類 / 選択領域 1 1 6 において解放してもよい。前述のように、分類 / 選択領域 1 1 6 において、結合されたマイクロ物体 2 0 4 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 9 1 2 がさらに遠く分類 / 選択領域 1 1 6 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 2 0 4 を分類 / 選択領域 1 1 6 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 1 0 6 、又は類似のもの）へと搬送してもよい。

【 0 0 5 3 】

[0066] ここで図 1 0 A 乃至 1 0 C のデバイス 1 0 0 0 を参照すると、このデバイス 1 0

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、が配設されていてもよい。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があってもよい。

【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と同一であってもよい。

【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ってもよい)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ってもよい。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

【 0 0 5 8 】

[0071] グループ化されたマイクロ物体 2 0 2 は、図示するように光トラップ 4 0 6 を結合試薬 1 0 2 2 の層流 1 0 2 8 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 2 0 2 は、概ね上述のように、試薬 1 0 2 2 がグループ化されたマイクロ物体 2 0 2 を結合し、ひいては結合されたマイクロ物体 2 0 4 を作り出すのに十分な時間にわたって、結合試薬 1 0 2 2 の中にあるのもよい。

【 0 0 5 9 】

[0072] 引き続き図 1 0 C を参照すると、結合されたマイクロ物体 2 0 4 はその後、結合試薬 1 0 2 2 の層流 1 0 2 8 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 2 0 2 がうまく結合されて結合されたマイクロ物体 2 0 4 となったかどうかは決定されてもよい。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 2 0 4 の出口であり得る排出口チャンネル 1 0 1 0 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 2 0 2 のマイクロ物体 1 2 0 及び 1 2 2 は、廃物の出口であり得る排出口チャンネル 1 0 1 2 へと移動されてもよい。

10

【 0 0 6 0 】

[0073] 次に図 1 1 A 乃至 1 1 C を参照すると、デバイス 1 1 0 0 は基部 1 1 0 4 を備えていてもよく、その上にはハウジング 1 1 0 2 (これは図 1 A 乃至 2 のハウジング 1 0 2 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 1 1 0 2 は、1 つ以上のチャンネル 1 1 0 8 及び 1 1 2 0 (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 1 1 1 2 (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 1 1 0 8 , 1 1 1 2 及び 1 1 2 0 は、1 つ以上のチャンバ 1 1 1 4 及び 1 1 1 6 (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 1 1 0 8 , 1 1 1 2 及び 1 1 2 0 の入口 1 1 0 6 , 1 1 1 0 及び 1 1 1 8 は図 1 A 乃至 2 の注入口 1 0 4 の例であり得、これらのチャンネルの出口 1 1 4 0 , 1 1 4 2 及び 1 1 4 4 は排出口 1 0 6 の例であり得る。

20

【 0 0 6 1 】

[0074] 図示はしないが、ハウジング 1 1 0 2 の上壁は図 3 の上壁 3 0 2 のように構成されていてもよく、基部 1 1 0 4 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 3 0 6 のように構成されていてもよい。図 1 1 B に示すように、デバイス 1 1 0 0 は、基部 1 1 0 4 上に光のパターン 3 1 6 を投射する図 3 の光源 3 1 4 も含んでいてもよい。

30

【 0 0 6 2 】

[0075] 図 3 及び 4 に関する上述の議論に概ね従って、図 1 1 C (同図はデバイス 1 1 0 0 の断面上面図である) に示されるように、光トラップ 4 0 2 が選択的に作り出されて、第 1 のチャンネル 1 1 0 8 内の培地 1 1 8 の流れ 1 1 2 8 から第 1 の種類のマイクロ物体 1 2 0 を選択するとともに、選択されたマイクロ物体 1 2 0 をチャンネル 1 1 0 8 , 1 1 2 0 の間に配設されたチャンバ 1 1 1 4 , 1 1 1 6 内の障壁 1 1 2 2 へと移動させてもよい。同様に、光トラップ 4 0 4 が選択的に作り出されて、第 2 のチャンネル 1 1 2 0 内の培地 1 1 8 の流れ 1 1 3 0 から第 2 の種類のマイクロ物体 1 2 2 を選択するとともに、選択されたマイクロ物体 1 2 2 を障壁 1 1 2 2 へと移動させてもよい。このようにして、マイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 のグループ 2 0 2 は障壁 1 1 2 2 において形成されてもよい。図 1 1 C には、マイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 のグループ 2 0 2 の一例が、チャンバ 1 1 1 4 内の障壁 1 1 2 2 において示されている。

40

【 0 0 6 3 】

[0076] 破壊機構 1 2 6 が、上述のように、グループ 2 0 2 のマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 のうち 1 つ以上の膜を破壊してもよい。障壁 1 1 2 2 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。

【 0 0 6 4 】

[0077] (例えば試薬 6 0 2 又は 1 0 2 2 のような) 試薬の流れ 1 1 2 6 がチャンネル 1

50

1 1 0 内に与えられてもよい。障壁 1 1 2 2 の開口部 1 1 2 4 が、その流れ 1 1 2 6 が障壁 1 1 2 2 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 2 0 2 のマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 が結合されて、例えば図 1 1 C のチャンバ 1 1 1 6 内の障壁 1 1 2 2 において、結合されたマイクロ物体 2 0 4 となってもよい。結合されたマイクロ物体 2 0 4 は、選択され、(例えばトラップ 4 0 2 , 4 0 4 のような光トラップとともに)チャンバ 1 1 1 4 , 1 1 1 6 の外部に移動されてもよい。

【0065】

[0078] 上述のように、グループ 2 0 2 にされたマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 の膜は必ずしも破壊される必要はなく、したがって、図 9 A 乃至 1 1 C のデバイス 9 0 0 , 1 0 0 0 , 1 1 0 0 のいくつかの実施形態は破壊機構 1 2 6 を備えない。やはり上述のように、グループ 2 0 2 にされたマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 はその代わりに、電気穿孔法にさらされたり、まとめて繫留されたり、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 1 0 0 , 9 0 0 , 1 0 0 0 , 1 1 0 0 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 1 2 0 , 1 2 2 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 1 2 は、デバイス 1 0 0 (例えば図 1 A , 1 B 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は複数のマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 , 1 2 2 0 (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 1 1 2 でグループ化され、結合領域 1 1 6 で結合される。マイクロ物体 1 2 2 0 は注入口ポート 1 0 4 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 1 0 0 に入り得る。上述のように、デバイス 1 0 0 は 2 つよりも多くの注入口ポート 1 0 4 を有していてもよい。

20

【0067】

[0080] 図 1 2 は、複数のマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 , 1 2 2 0 がグループ化領域 1 1 2 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 1 0 0 の動作を図示している。マイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 , 1 2 2 0 のグループ化は、2 つよりも多くのマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 , 1 2 2 0 が選択されグループ化されてグループ 1 2 0 2 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 1 2 0 2 は 3 つ以上のマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 , 1 2 2 0 を含み得る。マイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 , 1 2 2 0 は、マイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 を選択し結合してグループ 2 0 2 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 1 2 0 2 とされ得る。結合領域 1 1 4 において、各グループ 1 2 0 2 にされたマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 , 1 2 2 0 は結合され、結合されたマイクロ物体 1 2 0 4 とされる。マイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 , 1 2 2 0 からなる各グループ 1 2 0 2 は、本明細書に記載されたグループ 2 0 2 を結合して結合されたマイクロ物体 2 0 4 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 1 2 2 0 は、マイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 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 1 2 2 0 は、マイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 のいずれかと同一であってもよいし、又は異なってもよい。例えば、マイクロ物体 1 2 0 は生体細胞であってもよく、マイクロ物体 1 2 2 , 1 2 2 0 は選択可能なマーカ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 1 2 0 はチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞のような細胞であってもよく、マイクロ物体 1 2 2 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 1 2 2 0 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 1 2 には 3 つのマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 , 1 2 2 0 が示さ

50

れ、グループ 1 2 0 2 にグループ化され、結合されて結合されたマイクロ物体 1 2 0 4 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 1 2 0 2 にグループ化され、結合されて結合されたマイクロ物体 1 2 0 4 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 9 0 0 , 1 0 0 0 , 1 1 0 0 はいずれも、概ね図 1 2 に図示され上述されたように、2 つのマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 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。

【 0 0 7 0 】

[0083] 図 1 3 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 1 3 0 0 の一例を示す。ステップ 1 3 0 2 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 1 0 0 , 9 0 0 , 1 0 0 0 , 1 1 0 0 ）の培地 1 1 8 は、複数の第 1 の種類のマイクロ物体 1 2 0 及び複数の第 2 の種類のマイクロ物体 1 2 2 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 1 2 0 及び第 2 の種類のマイクロ物体 1 2 2 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 1 3 0 2 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 1 2 0 , 1 2 2 よりも多くが存在してもよい。例えば、図 1 2 に示すように、3 つ以上の種類のマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 , 1 2 2 0 があってもよい。

10

【 0 0 7 1 】

[0084] ステップ 1 3 0 4 においては、生物学的マイクロ物体のうちステップ 1 3 0 2 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 1 2 0（図 1 A 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 1 2 2 とグループ化されてグループ 2 0 2 を形成してもよい。別の一例として、図 1 2 に示すように、選択されたマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 は第 3 の種類のマイクロ物体 1 2 2 0 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 1 3 0 4 は、図面に示され又は上述されたマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 , 1 2 2 0 のグループ 2 0 2 , 1 2 0 2 を作り出すいずれの方法によっても達成され得る。

20

【 0 0 7 2 】

[0085] 概ね上述の議論に従って、ステップ 1 3 0 4 は、グループ 2 0 2 , 1 2 0 2 にされたマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 , 1 2 2 0 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 1 3 0 4 は、グループ 2 0 2 , 1 2 0 2 内のマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 , 1 2 2 0 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 1 3 0 4 は、グループ 2 0 2 , 1 2 0 2 内のマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 , 1 2 2 0 を相互に繋留することも含んでもよい。同じく概ね上述の議論に従って、ステップ 1 3 0 4 は、グループ 2 0 2 , 1 2 0 2 にされたマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 , 1 2 2 0 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 2 0 2 , 1 2 0 2 にされたマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 , 1 2 2 0 を選択することを含んでもよい。

30

【 0 0 7 3 】

[0086] ステップ 1 3 0 6 において、ステップ 1 3 0 4 で作り出されたグループ 2 0 2 , 1 2 0 2 のマイクロ物体 1 2 0 , 1 2 2 , 1 2 2 0 は、結合（例えば融合）されて結合されたマイクロ物体 2 0 4 , 1 2 0 4 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っても達成され得る。概ね上述したように、ステップ 1 3 0 6 で作り出された、結合されたマイクロ物体 2 0 4 , 1 2 0 4 は、図示され本明細書中に記載されたデバイス 1 0 0 , 9 0 0 , 1 0 0 0 , 1 1 0 0 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 2 0 4 , 1 2 0 4 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

【 0 0 7 4 】

[0087] 図示するように、複数の結合されたマイクロ物体 2 0 4 , 1 2 0 4 を生み出した

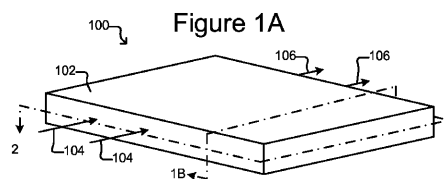
50

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。

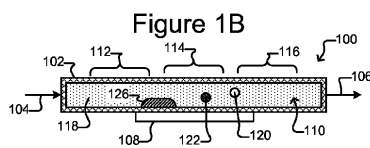
【0075】

[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。

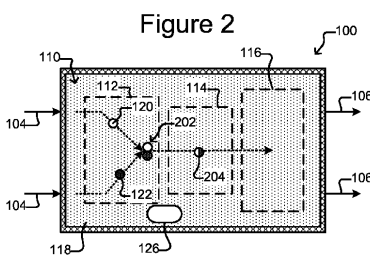
【図 1 A】



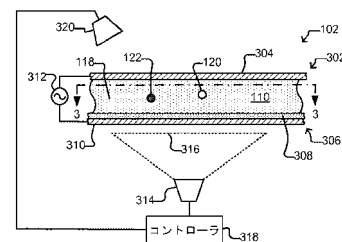
【図 1 B】



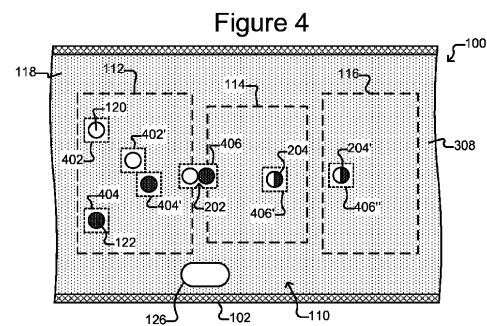
【図 2】



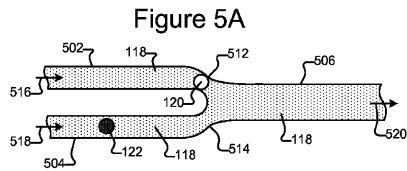
【図 3】



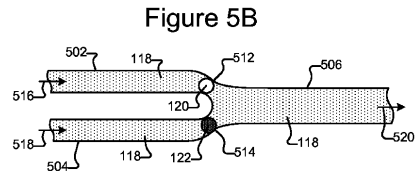
【図 4】



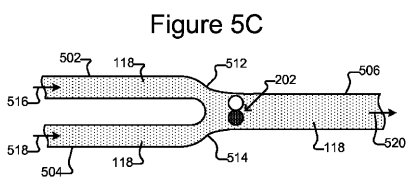
【図 5 A】



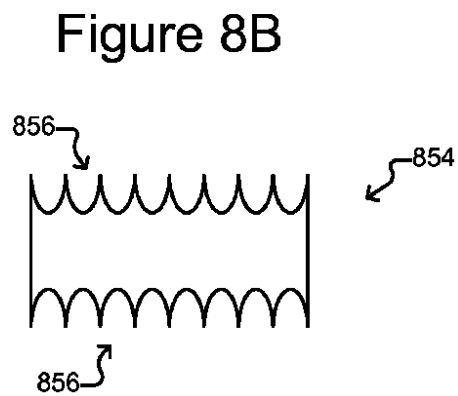
【図 5 B】



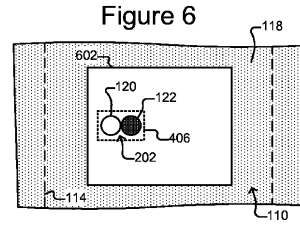
【図 5 C】



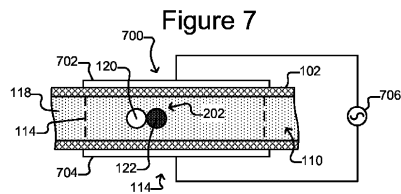
【図 8 B】



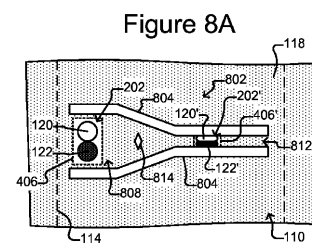
【図 6】



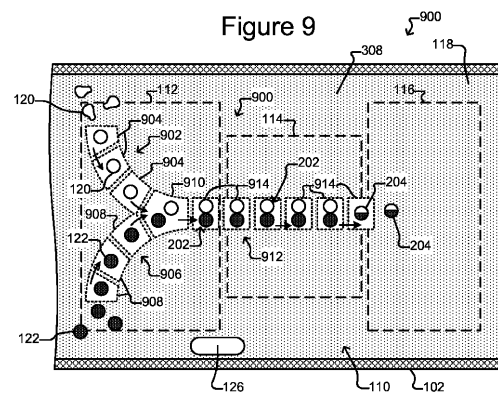
【図 7】



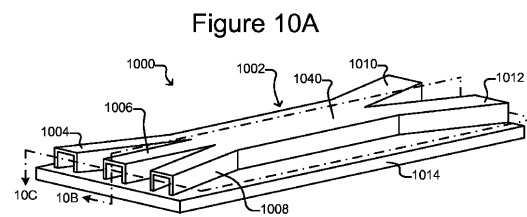
【図 8 A】

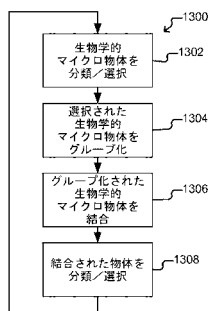
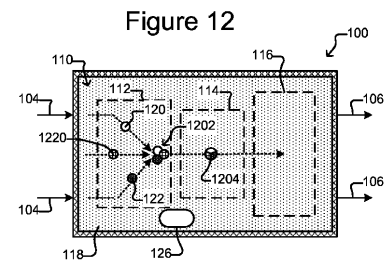
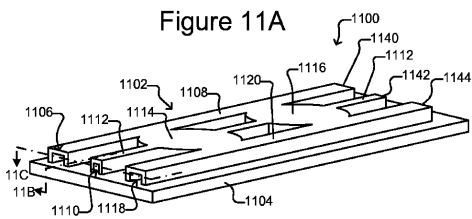
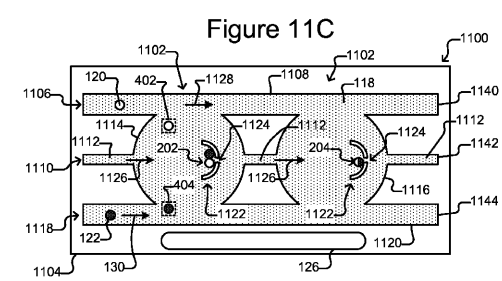
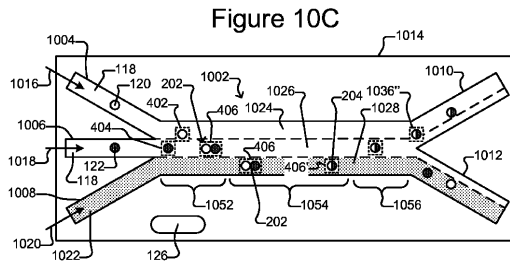
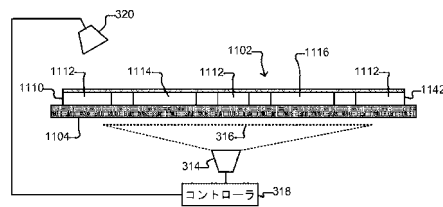
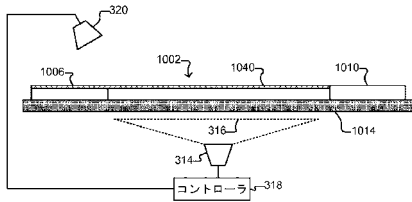


【図 9】





【図 10 A】





【 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		
Y	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		
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		
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.		
* 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 "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		
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 Cheongsu-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 REPORT

International 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 1 2 Q 1/68 (2006.01) C 1 2 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, TM), 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, RS, 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, HR, 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 9 4 6 0 8, エメリービル, ホリス ストリート 5 8 8 5
 , スイート 3 7 0

(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 9 4 6 0 8, エメリービル, ホリス ストリート 5 8 8 5
 , スイート 3 7 0

(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 9 4 6 0 8, エメリービル, ホリス ストリート 5 8 8 5
 , スイート 3 7 0

(72)発明者 マチュー, ガエタン, エル.
 アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 4 6 0 8, エメリービル, ホリス ストリート 5 8 8 5
 , スイート 3 7 0

(72)発明者 ショート, スティーブン, ダブリュー.
 アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 4 6 0 8, エメリービル, ホリス ストリート 5 8 8 5
 , スイート 3 7 0

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