



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년12월01일

(11) 등록번호 10-2334118

(24) 등록일자 2021년11월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A01N 1/02 (2006.01) B01L 3/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류  
A01N 1/0284 (2013.01)  
A01N 1/0221 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2017-7032049

(22) 출원일자(국제) 2016년04월22일

심사청구일자 2021년04월20일

(85) 번역문제출일자 2017년11월03일

(65) 공개번호 10-2017-0139048

(43) 공개일자 2017년12월18일

(86) 국제출원번호 PCT/US2016/029032

(87) 국제공개번호 WO 2016/172621

국제공개일자 2016년10월27일

(30) 우선권주장

62/151,382 2015년04월22일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

JP2008054511 A

JP2009524806 A

WO2014070873 A1

WO2007120829 A2

(73) 특허권자

버클리 라이트즈, 인크.

미국, 캘리포니아 94608, 에머리빌, 스위트 320,  
호턴 스트리트 5858

(72) 발명자

화이트 마크 피

미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 호턴 스트리트  
5858 스위트 320

채프먼 케빈 터

미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 호턴 스트리트  
5858 스위트 320

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 36 항

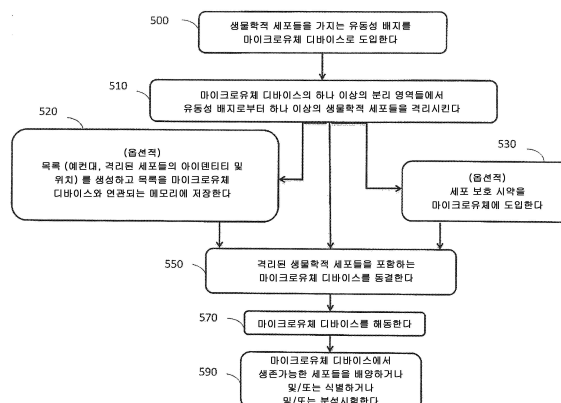
심사관 : 이경철

(54) 발명의 명칭 마이크로유체 디바이스 상에서의 세포들의 동결 및 보관

## (57) 요약

생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법은 유동성 배지를 마이크로유체 디바이스에 도입하는 단계, 유동성 배지는 생물학적 세포들을 포함; 마이크로유체 디바이스의 하나 이상의 분리 영역들에서 유동성 배지로부터 하나 이상의 생물학적 세포들을 격리시키는 단계; 및 안에 격리된 하나 이상의 생물학적 세포들을 포함하는 마이크로유체 디바이스를 동결하는 단계를 포함한다.

## 대표도



(52) CPC특허분류

**A01N 1/0263** (2013.01)  
**B01L 3/502715** (2013.01)  
**B01L 3/502761** (2013.01)  
**C12M 47/04** (2013.01)  
**B01L 2200/0668** (2013.01)  
**B01L 2300/024** (2013.01)  
**B01L 2300/0864** (2013.01)  
**B01L 2300/18** (2013.01)  
**B01L 2300/1894** (2013.01)

(72) 발명자

**맥팔랜드 앤드류 더블유**

미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 호턴 스트리트  
5858 스위트 320

**홉스 에릭 디**

미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 호턴 스트리트  
5858 스위트 320

---

**로우 랜덜 디 주니어**

미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 호턴 스트리트  
5858 스위트 320

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법으로서,

상기 마이크로유체 디바이스는 흐름 영역 및 복수의 분리 챔버들을 포함하고, 각각의 분리 챔버는 분리 영역 및 상기 분리 영역을 상기 흐름 영역에 유체 접촉하는 접촉 영역을 포함하고, 각각의 분리 영역은 단일 개구를 포함하고 상기 마이크로유체 디바이스의 비스위프된 영역이며, 상기 방법은

상기 마이크로유체 디바이스의 상기 흐름 영역 내로 유동성 배지를 도입하는 단계로서, 상기 유동성 배지는 생물학적 세포들을 포함하는, 상기 유동성 배지를 도입하는 단계;

상기 흐름 영역에 있는 상기 유동성 배지로부터 하나 이상의 생물학적 세포들을 격리시키는 단계로서, 상기 격리시키는 단계는 상기 하나 이상의 생물학적 세포들을 상기 마이크로유체 디바이스의 하나 이상의 상기 분리 챔버들 각각의 상기 분리 영역 내로 이동시키는 단계를 포함하는, 상기 하나 이상의 생물학적 세포들을 격리시키는 단계; 및

안에 격리된 상기 하나 이상의 생물학적 세포들을 포함하는 상기 마이크로유체 디바이스를 동결하는 단계를 포함하는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

단일 생물학적 세포는 복수의 분리 영역들의 각각에서 격리되는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 3

제 1 항에 있어서,

각각의 분리 영역은  $1.5 \times 10^5$  입방 마이크론 내지  $1.5 \times 10^6$  입방 마이크론의 범위의 체적을 가지는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 4

삭제

#### 청구항 5

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 마이크로유체 디바이스를 동결하기 전에, 하나 이상의 격리된 상기 생물학적 세포들의 각각에 대한 적어도 아이덴티티 및 분리 영역 위치를 포함하는 목록을 생성하는 단계, 및 상기 마이크로유체 디바이스와 연관되는 메모리에 상기 목록을 저장하는 단계를 더 포함하는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 6

제 5 항에 있어서,

상기 목록은, (i) 있다면, 상기 마이크로유체 디바이스 내에서 그들의 격리 후에 하나 이상의 격리된 상기 생물학적 세포들에 대해 수행된 프로세싱; 및 (ii) 임의의 이러한 사전 또는 사후 격리 프로세싱의 과정에서 얻어진 데이터 중 하나 이상을 식별하는 정보를 더 포함하는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 7

제 5 항에 있어서,

상기 메모리는 상기 마이크로유체 디바이스와 커플링되고 상기 마이크로유체 디바이스와 함께 동결된 칩 또는 다른 디바이스를 포함하는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 8

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 마이크로유체 디바이스를 동결하는 단계는,  $0^{\circ}\text{C}$  의 온도까지의 상기 마이크로유체 디바이스의 초기 제어된 냉각과, 뒤이어서, 영하의 온도까지의 상기 마이크로유체 디바이스의 후속 냉각을 포함하는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 9

제 8 항에 있어서,

상기 초기 제어된 냉각은 상기 마이크로유체 디바이스를 분당  $0.1^{\circ}\text{C}$  내지 분당  $2^{\circ}\text{C}$  의 범위의 레이트에서 냉각하는 것을 포함하는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 10

제 8 항에 있어서,

상기 영하의 온도는  $-20^{\circ}\text{C}$  이하인, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 11

삭제

#### 청구항 12

삭제

#### 청구항 13

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 마이크로유체 디바이스를 동결하기 전에, 세포 보호 시약을 상기 마이크로유체 디바이스 내로 도입하는 단계를 더 포함하는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 14

제 13 항에 있어서,

상기 세포 보호 시약은 디메틸 술폭시드 (DMSO) 를 포함하는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 15

삭제

#### 청구항 16

제 14 항에 있어서,

상기 DMSO 는 상기 마이크로유체 디바이스 내로 15체적% 내지 25체적% 의 농도에서 도입되어, 격리된 생물학적 세포들을 포함하는 하나 이상의 상기 분리 영역들로 확산되도록 허용되거나, 또는 하나 이상의 상기 분리 영역들의 각각에서 10체적% 의 DMSO 농도를 얻기에 충분한 시간의 양 동안 상기 마이크로유체 디바이스를 통해서 관류되는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 17

삭제

#### 청구항 18

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 마이크로유체 디바이스를 해동하는 단계로서, (i) 상기 마이크로유체 디바이스의 제어된 가열, 및 (ii) 상기 마이크로유체 디바이스를 실온까지 자체 가열하도록 허용하는 것 중 하나 또는 양쪽을 포함하는, 상기 마이크로유체 디바이스를 해동하는 단계, 및 상기 마이크로유체 디바이스로부터 적어도 하나의 격리된 세포 및/또는 그로부터 발생된 세포들을 취출하는 단계를 더 포함하는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 19

제 18 항에 있어서,

상기 마이크로유체 디바이스를 해동한 후, 상기 마이크로유체 디바이스에서 하나 이상의 생존가능한 세포들을 배양하여 그 안에 추가적인 세포들을 발생시키는 단계를 더 포함하는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 20

삭제

#### 청구항 21

삭제

#### 청구항 22

삭제

#### 청구항 23

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

하나 이상의 격리된 상기 생물학적 세포들은 제 1 분리 영역에서 격리된 적어도 하나 이상의 시작 세포들을 포함하며,

상기 방법은,

상기 마이크로유체 디바이스를 동결하기 전에, 상기 제 1 분리 영역에서 복수의 새로운 세포들을 발생시키기 위해 상기 하나 이상의 시작 세포들을 배양하는 단계를 더 포함하며, 상기 복수의 새로운 세포들은 상기 마이크로유체 디바이스를 해동한 후 적어도 하나의 생존가능한 세포가 상기 제 1 분리 영역에 위치되도록, 적어도 8 개인, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 24

삭제

#### 청구항 25

삭제

#### 청구항 26

삭제

#### 청구항 27

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

하나 이상의 격리된 상기 생물학적 세포들의 분석시험을 수행하는 단계를 더 포함하고, 상기 분석시험은 세포 분비물 또는 세포 표면 마커를 검출하기 위해 사용되는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 28

삭제

#### 청구항 29

삭제

#### 청구항 30

삭제

#### 청구항 31

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 흐름 영역 및 하나 이상의 분리 영역들은 세포 부착을 방지하거나 또는 감소시키기 위해 차단 용액으로 처리되는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 32

삭제

#### 청구항 33

삭제

#### 청구항 34

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 마이크로유체 디바이스는 코팅 재료를 포함하는 내측 기관 표면을 포함하는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 35

제 34 항에 있어서,

상기 코팅 재료는 연결기 및 알킬 모이어티를 가지는 분자들을 포함하며,

상기 연결기는 상기 내측 기관 표면에 공유 결합되어, 상기 코팅 재료의 상기 분자들은 상기 내측 기관 표면에 공유 결합된 조밀하게-패킹된 단분자막 구조를 형성하는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 36

제 35 항에 있어서,

상기 알킬 모이어티는 플루오로알킬 모이어티 또는 퍼플루오로알킬 모이어티인, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 37

삭제

#### 청구항 38

제 35 항에 있어서,

상기 연결기는 실록시 연결기인, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 39

제 35 항에 있어서,

상기 알킬 모이어티는 적어도 10 개의 탄소 원자들을 포함하는 탄소들의 선형 사슬을 포함하는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 40

삭제

#### 청구항 41

제 34 항에 있어서,

상기 코팅 재료는 연결기 및 양이온의 모이어티 및/또는 음이온의 모이어티를 가지는 분자들을 포함하며,

상기 연결기는 상기 내측 기관 표면에 공유 결합되는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 42

삭제

#### 청구항 43

삭제

#### 청구항 44

삭제

#### 청구항 45

삭제

#### 청구항 46

제 34 항에 있어서,

상기 코팅 재료는 상기 내측 기관 표면에 공유 결합된 중합체를 포함하고, 상기 코팅 재료는 알킬렌 에테르 모이어티들, 사카라이드 모이어티들, 또는 아미노산 모이어티들을 포함하는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 47

제 46 항에 있어서,

상기 코팅 재료는 텍스트란 또는 폴리-에틸렌 글리콜을 포함하는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 48

삭제

#### 청구항 49

마이크로유체 디바이스로부터 생물학적 세포들을 저장하여 추출하는 방법으로서,

상기 마이크로유체 디바이스는 흐름 영역 및 복수의 분리 챔버들을 포함하고, 각각의 분리 챔버는 분리 영역 및

상기 분리 영역을 상기 흐름 영역에 유체 접속하는 접속 영역을 포함하고, 각각의 분리 영역은 단일 개구를 포함하고 상기 마이크로유체 디바이스의 비스유프된 영역이며, 상기 방법은

상기 흐름 영역에 있는 하나 이상의 생물학적 세포들을 격리시키는 단계로서, 상기 격리시키는 단계는 상기 하나 이상의 생물학적 세포들을 상기 마이크로유체 디바이스의 하나 이상의 상기 분리 챔버들 각각의 상기 분리 영역 내로 이동시키는 단계를 포함하는, 상기 하나 이상의 생물학적 세포들을 격리시키는 단계;

시간 기간 동안, 안에 격리된 상기 하나 이상의 생물학적 세포들을 포함하는 상기 마이크로유체 디바이스를 동결하는 단계;

상기 마이크로유체 디바이스를 해동하는 단계; 및

상기 마이크로유체 디바이스로부터 적어도 하나의 격리된 세포 및/또는 그로부터 발생된 세포들을 추출하는 단계

를 포함하는, 마이크로유체 디바이스로부터 생물학적 세포들을 저장하여 추출하는 방법.

#### 청구항 50

제 1 항에 있어서,

상기 흐름 영역은 흐름 채널을 포함하고, 각각의 분리 챔버의 상기 접속 영역은 20 마이크로미터 내지 100 마이크로미터의 폭  $W_{con}$  을 갖는 상기 흐름 채널과 유체 소통하는 근위 개구, 및 상기 분리 챔버의 각각의 분리 영역과 유체 소통하는 원위 개구를 포함하고, 상기 접속 영역의 상기 근위 개구로부터 상기 원위 개구까지의 길이  $L_{con}$  은 상기 근위 개구의 폭  $W_{con}$  의 적어도 1.0 배인, 마이크로유체 디바이스로부터 생물학적 세포들을 저장하여 추출하는 방법.

#### 청구항 51

제 50 항에 있어서,

상기 접속 영역의 길이  $L_{con}$  은 상기 근위 개구의 폭  $W_{con}$  의 적어도 1.5 배인, 마이크로유체 디바이스로부터 생물학적 세포들을 저장하여 추출하는 방법.

#### 청구항 52

제 50 항에 있어서,

상기 접속 영역의 길이  $L_{con}$  은 상기 근위 개구의 폭  $W_{con}$  의 적어도 2.0 배인, 마이크로유체 디바이스로부터 생물학적 세포들을 저장하여 추출하는 방법.

#### 청구항 53

제 50 항에 있어서,

각각의 접속 영역의 상기 근위 개구의 폭  $W_{con}$  은 20 마이크로미터 내지 60 마이크로미터의 범위인, 마이크로유체 디바이스로부터 생물학적 세포들을 저장하여 추출하는 방법.

#### 청구항 54

제 50 항에 있어서,

상기 접속 영역의 상기 근위 개구의 길이  $L_{con}$  은 20 마이크로미터 내지 500 마이크로미터의 범위인, 마이크로유체 디바이스로부터 생물학적 세포들을 저장하여 추출하는 방법.

#### 청구항 55

제 50 항에 있어서,

상기 흐름 채널의 폭은 50 마이크로미터 내지 500 마이크로미터의 범위인, 마이크로유체 디바이스로부터 생물학적 세포들을 저장하여 추출하는 방법.

#### 청구항 56

제 50 항에 있어서,

상기 흐름 채널의 높이는 20 마이크론 내지 100 마이크론의 범위인, 마이크로유체 디바이스로부터 생물학적 세포들을 저장하여 취출하는 방법.

#### 청구항 57

제 50 항에 있어서,

각각의 분리 영역의 체적은  $2 \times 10^4$  입방 마이크론 내지  $2 \times 10^6$  입방 마이크론의 범위인, 마이크로유체 디바이스로부터 생물학적 세포들을 저장하여 취출하는 방법.

#### 청구항 58

제 1 항에 있어서,

상기 마이크로유체 디바이스는

내측 표면 상에 전극 활성화 기판을 포함하는 베이스, 및

이 위에 배치된 마이크로유체 회로 구조로서, 상기 마이크로유체 회로 구조는 상기 복수의 분리 챔버들을 포함하는, 상기 마이크로유체 회로 구조

를 포함하는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

#### 청구항 59

제 58 항에 있어서,

상기 전극 활성화 기판은 유전영동 (DEP) 구성을 포함하는, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 방법.

### 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 개시물은 일반적으로 마이크로유체 디바이스들을 이용한 생물학적 세포들의 프로세싱 및 저장에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 마이크로유체공학의 분야가 계속 발전함에 따라, 마이크로유체 디바이스들은 생물학적 세포들과 같은, 마이크로-오브젝트들을 프로세싱하고 조작하기 위한 편리한 플랫폼들이 되었다. 그럼에도 불구하고, 특히, 생물 과학에 적용되는, 마이크로유체 디바이스들의 완전한 잠재력은 아직 실현되지 않았다. 예를 들어, 마이크로유체 디바이스들이 생물학적 세포들의 분석에 적용되고 있지만, 시험관들 및 미세정량 플레이트들과 같은, 용기들이 이러한 세포들의 저장 및 보관을 위해 계속 사용되고 있다. 이들 유형들의 용기들 (시험관들 및 미세정량 플레이트들) 은 마이크로유체 디바이스들과 잘 조화되지 않는다. 더욱이, 이들은 상대적으로 크고 따라서 많은 양의 고가의 냉동기 공간을 점유하며, 이들이 생물학적 세포들을 저장 및 보관을 위해 사용될 때 상당량의 고가의 세포 보호 시약들을 필요로 한다.

### 발명의 내용

### 해결하려는 과제

### 과제의 해결 수단

[0003] 본원에서 개시된 실시형태들에 따르면, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는

예시적인 방법은 (i) 유동성 배지를 마이크로유체 디바이스에 도입하는 단계로서, 유동성 배지는 생물학적 세포들을 포함하는, 상기 도입하는 단계, (ii) 마이크로유체 디바이스의 하나 이상의 분리 영역들에서 유동성 배지로부터의 하나 이상의 생물학적 세포들을 격리시키는 단계, 및 (iii) 안에 격리된 하나 이상의 생물학적 세포들을 포함하는 마이크로유체 디바이스를 동결시키는 단계를 포함한다. 마이크로유체 디바이스는 하나 이상의 분리 영역들이 유체 접촉되는 흐름 영역을 포함할 수 있다. 겨우 단일 생물학적 세포만이 처음에 마이크로유체 디바이스 내에서 격리될 수도 있지만, 더 일반적으로는, 적어도 단일 세포가 마이크로유체 디바이스 내 복수의 분리 영역들의 각각에서 격리될 것이다. 더욱이, 본 방법의 실시형태들에서 사용되는 전형적인 마이크로유체 디바이스는 약  $1.5 \times 10^5$  입방 마이크로미터 내지 약  $1.5 \times 10^6$  입방 마이크로미터의 범위인 체적을 (제한 없이) 각각 가지는, 수십개 내지 수백개 또는 그 이상의 분리 영역들을 어디든지 가지며, 따라서, 무려 약 10 개의 세포들 내지 약 50 개의 세포들이나 격리가능할 수도 있다. 일 실시형태에서, 마이크로유체 디바이스를 동결하기 전에, 마이크로유체 디바이스의 제 1 분리 영역에서의 격리된 ("시작하는") 세포들 중 하나 이상은, 적어도 하나의 생존가능한 세포가 마이크로유체 디바이스를 해동한 후 제 1 분리 영역에 존재하도록, 제 1 분리 영역에서 복수의 "새로운" 세포들을 적절한 개수 (예컨대, 적어도 8 개 이상, 더 바람직하게는, 적어도 10, 16, 20, 24, 30 개 또는 더 이상의 세포들)로 발생시키기 위해 배양될 수 있다.

[0004] 개시된 방법들을 실시하는데 필수적이지는 않지만, 바람직한 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스를 동결하기 전에, 마이크로유체 디바이스의 함량들의 목록이 생성되어, 미래의 추출 및 참조를 위해 저장된다. 예를 들어, 목록은 일 예로서 그리고 한정 없이, 하나 이상의 격리된 세포들의 각각에 대한 아이덴티티 (예컨대, 환자/대상 표본 번호와 같은, 격리된 세포들의 기원) 및 분리 영역 위치를 포함할 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 목록은 (i) 유동성 배지에서의 생물학적 세포들이 얻어진 방법, (ii) 있다면, 마이크로유체 디바이스로의 그들의 도입 이전 또는 이후 생물학적 세포들에 대해 수행된 프로세싱, (iii) 있다면, 분리 챔버 내에서의 그들의 격리 이후 하나 이상의 격리된 생물학적 세포들에 대해 수행된 프로세싱; 및 (iv) 임의의 이러한 사전-또는 사후-격리 프로세싱의 과정에서 얻어진 데이터 중 하나 이상을 식별하는 정보를 더 포함한다. 마이크로유체 디바이스는 바코드, 스티커, RFID, 또는 기타 등등과 같은 식별 표지를 포함할 수도 있으며, 디바이스 목록은 디바이스에 대한 식별 표지를 참조하는 데이터베이스에 저장될 수도 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 디바이스 목록은 마이크로유체 디바이스에 커플링되고 동결된 메모리 칩 (예컨대, EEPROM 또는 기타 등등)에 저장될 수도 있다.

[0005] 여러 실시형태들에서, 본 방법은 (동결 디바이스 전에) 디메틸 술폰(DMSO)과 같은, 세포 보호 시약을 마이크로유체 디바이스에 도입하는 단계를 더 포함한다. 하나의 이러한 실시형태에서, DMSO는 하나 이상의 격리된 생물학적 세포들이 동결 마이크로유체 디바이스를 동결할 때에 약 10% DMSO를 함유하는 용액에 의해 실질적으로 포위되도록 선택된 개별 농도 및 지속기간에서 마이크로유체 디바이스로 도입된다. 하나의 이러한 실시형태에서, DMSO는 (예컨대, 마이크로유체 디바이스에서 분리 영역들의 전체 체적에 대한 흐름 영역의 체적의 비에 의존하여) 약 15체적% 내지 약 25체적%의 농도에서 마이크로유체 디바이스로 도입되며, 격리된 생물학적 세포들을 포함하는 하나 이상의 분리 영역들로 확산하도록 허용된다. 다른 이러한 실시형태에서, DMSO는 하나 이상의 분리 영역들의 각각에서 약 10%의 DMSO 농도를 달성하기에 충분한 시간의 양 동안 마이크로유체 디바이스를 통해서 관류된다.

[0006] 여러 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스를 동결하는 것은 거의 동결 온도 (예컨대, 약  $4^{\circ}\text{C}$ ), 또는 동결 온도 (예컨대, 약  $0^{\circ}\text{C}$ )까지의 마이크로유체 디바이스의 초기 제어된 냉각과, 뒤이은 영하의 온도까지의 마이크로유체 디바이스의 추가적인 냉각을 포함할 수도 있다. 일 예로서, 그리고 제한 없이, 마이크로유체 디바이스의 초기 제어된 냉각은 분당 약  $1^{\circ}\text{C}$  내지 분당 약  $2^{\circ}\text{C}$ 의 범위인 레이트에서 있을 수도 있지만, 더 느린 레이트 (예컨대, 분당  $0.1^{\circ}\text{C}$ ) 또는 더 빠른 레이트 (예컨대, 분당  $3^{\circ}\text{C}$  이상)가 또한 사용될 수도 있다. 여러 실시형태들에서, 영하의 온도는 약  $-20^{\circ}\text{C}$  이하이며, 더 바람직하게는, 약  $-80^{\circ}\text{C}$  이하이며, 일부 실시형태들에서 약  $-150^{\circ}\text{C}$  이하를 포함한다.

[0007] 본 방법은 해동 후 격리된 세포들을 테스트하고, 평가하고, 분석시험하고, 시퀀싱하고 및/또는 아니면 사용하기 위해, 예를 들어, (i) 마이크로유체 디바이스의 제어된 가열, 및 (ii) 마이크로유체 디바이스를 실온까지 자체 가열하도록 허용하는 것 중 하나 또는 양쪽에 의해, 마이크로유체 디바이스를 해동하는 단계를 더 포함할 수도 있다. 예를 들어, 일부 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스를 해동한 후, 본 방법은 마이크로유체 디바이스에서 (예컨대, 마이크로유체 디바이스를 통한 유동성 세포 성장 배지의 연속 또는 간헐 관류에 의해) 하나 이상의 생존가능한 세포들을 배양하여 그 안에 추가적인 세포들을 발생시키는 단계를 포함한다. 이러한 실시형태들에서, 본 방법은 (해동 이후) 하나 이상의 격리된 세포들 및/또는 그로부터 발생된 세포들 중 어느 것

이 마이크로유체 디바이스를 해동한 후 생존가능 여부를 식별하는 단계, 및/또는 마이크로유체 디바이스로부터 적어도 하나의 격리된 세포 및/또는 그로부터 발생된 세포들을 추출하는 단계를 더 포함할 수도 있다. 일 예로서, 해동 이후, 하나 이상의 세포들의 분석시험은 세포 분비물 (예컨대, 항체 또는 시토킨을 포함하는 면역 분자) 또는 세포 표면 마커를 검출하기 위해 마이크로유체 디바이스에서 수행될 수도 있다.

[0008] 어떤 실시형태들에서, 본 방법들은 파울링 (fouling) 및/또는 세포 스티킹 (sticking) 을 감소시키도록 컨디셔닝된 그의 내측 표면들 (예컨대, 기관 표면, 커버 표면, 및/또는 회로 재료의 표면들) 중 하나 이상을 가지는 마이크로유체 디바이스 상에서 수행될 수도 있다. 예를 들어, 흐름 영역 및 하나 이상의 분리 영역들은 파울링을 방지하고 및/또는 세포 부착을 감소시키기 위해 차단 용액으로 처리될 수도 있다. 따라서, 차단 용액은 혈청, 혈청 알부민 (예컨대, BSA), 중합체, 세척제, 효소들, 또는 이들의 임의의 조합과 같은, 하나 이상의 내측 표면들에 결합하는 차단제를 포함할 수 있다.

[0009] 어떤 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스는 코팅 재료를 포함하는 내측 기관 표면 (및/또는 회로 재료의 내측 커버 표면 및/또는 내측 표면들) 을 포함할 수 있다. 일부 실시형태들에서, 코팅 재료는 연결기 및 알킬 모이어티를 가지는 분자들을 포함한다. 연결기는 내측 기관 표면에 공유 결합될 수 있으며, 예를 들어, 실록시 연결기일 수 있다. 알킬 모이어티는 예를 들어, 비치환된 알킬 모이어티 또는 치환된 알킬 모이어티, 예컨대, 플루오로알킬 모이어티 또는 퍼플루오로알킬 모이어티일 수 있다. 알킬 모이어티는 적어도 10 개의 탄소 원자들 (예컨대, 적어도 12, 14, 16, 18, 20, 22개, 또는 더 이상의 탄소 원자들) 을 포함하는 탄소들의 선형 사슬을 포함할 수 있다. 코팅 재료의 분자들은 내측 기관 표면 (및/또는 회로 재료의 내측 커버 표면 및/또는 내측 표면들) 에 공유 결합된 조밀하게-패킹된 단분자막 구조를 형성할 수 있다.

[0010] 일부 실시형태들에서, 코팅 재료는 연결기 및 양이온의 모이어티 및/또는 음이온의 모이어티를 가지는 분자들을 포함하며, 여기서, 연결기는 내측 기관 표면 (및/또는 회로 재료의 내측 커버 표면 및/또는 내측 표면들) 에 공유 결합된다. 양이온의 모이어티는 제 4 암모늄 기를 포함할 수 있다. 음이온의 모이어티는 포스포산, 카르복시산, 또는 술폰 산을 포함할 수 있다. 일부 관련된 실시형태들에서, 코팅 재료는 연결기 및 쌍성 이온 모이어티를 가지는 분자를 포함할 수 있으며, 여기서, 연결기는 내측 기관 표면 (및/또는 회로 재료의 내측 커버 표면 및/또는 내측 표면들) 에 공유 결합된다. 쌍성 이온 모이어티는 카르복시페타인들, 술포페타인들, 술폰 산들, 및 아미노산들로부터 선택된다. 일부 실시형태들에서, 양이온, 음이온, 또는 쌍성 이온 모이어티들은 차단제와 이온 결합가능하다.

[0011] 일부 실시형태들에서, 코팅 재료는 알킬렌 에테르 모이어티들, 사카라이드 모이어티들, 또는 아미노산 모이어티들을 포함하는 중합체를 포함한다. 예를 들어, 코팅 재료는 텍스트란을 포함할 수 있다. 대안적으로, 또는 추가적으로, 코팅 재료는 폴리-에틸렌 글리콜을 포함할 수 있다.

[0012] 개시된 발명들의 실시형태들의 다른 및 추가 양태들 및 특징들은 첨부 도면들을 고려하여 다음의 상세한 설명으로부터 명백히 알 수 있을 것이다.

### 도면의 간단한 설명

[0013] 도 1a 는 생물학적 세포들을 배양하기 위한 마이크로유체 디바이스를 포함하는 시스템의 예시적인 실시형태의 사시도이다.

도 1b 는 도 1a 의 마이크로유체 디바이스의 측 단면도이다.

도 1c 는 도 1a 의 마이크로유체 디바이스의 상부 단면도이다.

도 1d 는 유전영동 (DEP) 구성을 갖는 마이크로유체 디바이스의 측면 단면도의 일 실시형태이다.

도 1e 는 도 1d 의 마이크로유체 디바이스의 상부 단면도이다.

도 2 는 도 1a 의 마이크로유체 디바이스에서 사용될 수도 있는 분리 챔버의 일 예를 예시하며, 여기서, 흐름 채널로부터 분리 영역까지의 접속 영역의 길이는 흐름 채널에서 흐르는 배지의 투과 깊이보다 더 크다.

도 3 은 흐름 채널에서 흐르는 배지의 투과 깊이보다 더 긴, 흐름 채널로부터 분리 영역까지의 접속 영역을 포함하는, 도 1a 의 마이크로유체 디바이스에서 사용될 수도 있는 분리 챔버의 다른 예이다.

도 4a 내지 도 4c 는 본원에서 사용되는 분리 챔버의 추가적인 예를 포함한, 마이크로유체 디바이스의 다른 실시형태를 나타낸다.

도 5 는 기관 및 디바이스 커버 양자의 내측 표면에 공유 결합되는 코팅 재료를 가지는 마이크로유체 디바이스의 일 실시형태를 나타낸다.

도 6 은 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하고, (동결에 의해) 저장하고, 해동하고, 그리고 추가로 프로세싱하는 예시적인 방법의 개략적인 흐름도이다.

도 7 은 마이크로유체 디바이스에서 격리된 생물학적 세포들의 목록을 생성하고 저장하는 예시적인 방법의 개략적인 흐름도이다.

도 8 은 안에 격리된 하나 이상의 생물학적 세포들을 포함하는 마이크로유체 디바이스를 동결하는 예시적인 방법의 개략적인 흐름도이다.

도 9 는 안에 격리된 하나 이상의 생물학적 세포들을 포함하는 동결 마이크로유체 디바이스를 해동하는 예시적인 방법의 개략적인 흐름도이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 본 명세서에서는 본 발명의 예시적인 실시형태들 및 애플리케이션들을 설명한다. 본 발명은, 그러나, 이들 예시적인 실시형태들 및 애플리케이션들에, 또는 예시적인 실시형태들 및 애플리케이션들이 동작하거나 또는 본원에서 설명되는 방법에 한정되지 않는다. 더욱이, 도면들은 단순화된 또는 부분 도들을 나타낼 수도 있으며, 도면들에서의 엘리먼트들의 치수들은 명료성을 위해 확대되거나 또는 아니면 비율대로 확대되지 않을 수도 있다. 게다가, 용어들 "상에 (on)", "에 부착된", 또는 "에 커플링된" 이 본원에서 사용될 때, 하나의 엘리먼트 (예컨대, 재료, 층, 기관, 등) 는 하나의 엘리먼트가 바로 다른 엘리먼트 상에 있거나, 부착되거나, 또는 커플링되든지 또는 하나의 엘리먼트와 다른 엘리먼트 사이에 하나 이상의 간섭하는 엘리먼트들이 존재하든지에 관계없이 다른 엘리먼트 "상에", "그에 부착되거나" 또는 "그에 커플링될" 수 있다. 또한, 방향들 (예컨대, 위에 (above), 아래에 (below), 상부 (top), 저부 (bottom), 측면 (side), 위로 (up), 아래로 (down), 아래에 (under), 가로질러 (over), 상부의 (upper), 하부의 (lower), 수평, 수직, "x", "y", "z", 등) 은, 제공되는 경우, 상대적이며, 단지 일 예로서, 예시 및 설명의 용이를 위해 비한정적으로 제공된다. 게다가, 엘리먼트들 (예컨대, 엘리먼트들 a, b, c) 의 리스트에 대해 참조가 이루어지는 경우, 이러한 참조는 리스트된 엘리먼트들 단독, 모든 리스트된 엘리먼트들 미만의 임의의 조합, 및/또는 리스트된 엘리먼트들의 모두의 조합 중 하나를 포함하도록 의도된다.

[0015] 명세서에서의 섹션 분할들은 단지 검토의 용이성을 위한 것이며 설명되는 엘리먼트들의 임의의 조합을 한정하지 않는다.

[0016] 본원에서 사용될 때, "실질적으로" 는 의도된 목적에 따라 작용하기에 충분하다는 것을 의미한다. 용어 "실질적으로" 는 따라서 예컨대, 당업자에 의해 예상되지만 전체 성능에 눈에 띄게 영향을 미치지 않을, 절대적 또는 완전한 상태, 치수, 측정치, 결과, 또는 기타 등등으로부터의 작은, 중요하지 않은 변경들을 허용한다. 수치 값들, 또는 수치 값들로서 표현될 수 있는 파라미터들 또는 특성들에 대해 사용될 때, "실질적으로" 는 10 퍼센트 이내를 의미한다. 용어 "하나들 (ones)" 는 하나 보다 많은 것을 의미한다.

[0017] 본원에서 사용될 때, 용어 "마이크로-오브젝트" 는 극미립자들, 마이크로비드들 (예컨대, 폴리스티렌 비드들, Luminex™ 비드들, 또는 기타 등등), 자기 비드들, 상자성 비드들, 마이크로로드들, 와이크로와이어들, 양자 도트들, 및 기타 등등과 같은, 무생물의 마이크로-오브젝트들; 세포들 (예컨대, 배아들, 난모세포들, 정자들, 조직으로부터 분리된 세포들, 혈액 세포들, T 세포들, B 세포들, 대식세포들, NK 세포들, 수지상 세포들 (DCs), 및 기타 등등을 포함한 면역 세포들, 하이브리도마들, 배양 세포들, 조직으로부터 분리된 세포들, 세포감염되거나 및/또는 형질변환될 수도 있는, CHO 세포들과 같은, 세포주로부터의 세포들, 순환 종양 세포들 (CTCs), 감염 세포들, 리포터 세포들, 및 기타 등등을 포함한 암 세포들), 리포솜들 (예컨대, 합성 또는 막 제조용 물질들로부터 유도된 것), 지질 나노레프트들, 및 기타 등등과 같은, 생물학적 마이크로-오브젝트들; 또는 무생물의 마이크로-오브젝트들과 생물학적 마이크로-오브젝트들 (예컨대, 세포들에 부착된 마이크로비드들, 리포솜-코팅된 마이크로-비드들, 리포솜-코팅된 자기 비드들, 또는 기타 등등) 의 조합 중 하나 이상을 포괄할 수 있다. 지질 나노레프트들은 예컨대, Methods Enzymol., (2009), 464:211-231, Ritchie 등, "Reconstitution of Membrane Proteins in Phospholipid Bilayer Nanodiscs" 에 설명되어 있다. 비드들은 분석시험에 이용가능한 형광 라벨들, 단백질들, 작은 분자 시그널링 모이어티들, 항원들, 또는 화학적/생물학적 종과 같은, 공유결합으로 또는 비-공유결합으로 부착된 다른 모이어티들/분자들을 더 가질 수도 있다.

- [0018] 본원에서 사용될 때, 용어 "세포" 는 식물 세포, 동물 세포 (예컨대, 포유동물 세포), 박테리아 세포, 곰팡이 세포, 또는 기타 등등일 수 있는 생물학적 세포를 지칭한다. 포유류의 세포는 예를 들어, 인간, 생쥐, 쥐, 말, 염소, 양, 암소, 영장류동물, 또는 기타 등등으로부터 유래할 수 있다.
- [0019] 본원에서 사용될 때, 용어 "(a) 세포(들) 를 유지하는 것" 은 세포들을 생존가능하게 및/또는 팽창하게 유지하는데 필요한 조건들을 제공하는, 유체 및 가스 컴포넌트들 양쪽, 그리고, 옵션적으로 표면을 포함하는 환경을 제공하는 것을 지칭한다.
- [0020] 유체 배지의 "컴포넌트" 는 용매 분자들, 이온들, 작은 분자들, 항생제들, 뉴클레오티드들 및 뉴클레오시드들, 핵산들, 아미노산들, 펩티드들, 단백질들, 당류들, 탄수화물들, 지질들, 지방 산들, 콜레스테롤, 대사물질들, 또는 기타 등등을 포함한, 배지에 존재하는 임의의 화학적 또는 생화학 분자이다.
- [0021] 유체 배지와 관련하여 본원에서 사용될 때, "확산하다 (diffuse)" 및 "확산 (diffusion)" 은 농도 기울기 아래로의 유체 배지의 컴포넌트의 열역학적 이동을 지칭한다.
- [0022] 어구 "배지의 흐름" 은 주로 확산 이외의 임의의 메커니즘에 의한 유체 배지의 벌크 이동을 의미한다. 예를 들어, 배지의 흐름은 지점들 사이의 압력 차이로 인한 하나의 지점으로부터 다른 지점으로의 유체 배지의 이동을 수반할 수 있다. 이러한 흐름은 액체의 연속적, 펄스적, 주기적, 무작위적, 간헐적, 또는 왕복하는 흐름, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 하나의 유체 배지가 다른 유체 배지로 흐를 때, 배지들의 난류 (turbulence) 및 혼합이 일어날 수 있다.
- [0023] 어구 "실질적으로 어떤 흐름도 없는" 은, 시간에 따라 평균할 때, 유체 배지로의 또는 내에서의 재료 (예컨대, 관심 분석물질) 의 컴포넌트들의 확산의 레이트보다 작은 유체 배지의 흐름의 레이트를 지칭한다. 이러한 재료의 컴포넌트들의 확산의 레이트는 예를 들어, 온도, 컴포넌트들의 사이즈, 및 컴포넌트들과 유체 배지 사이의 상호작용들의 강도에 의존할 수 있다.
- [0024] 마이크로유체 디바이스 내 상이한 영역들과 관련하여 본원에서 사용될 때, 어구 "유체 접촉된" 은 상이한 영역들이 유체 배지들과 같은 유체로 실질적으로 충전될 때, 영역들 각각에서의 유체가 유체의 단일 본체를 형성하도록 접촉된다는 것을 의미한다. 이것은 상이한 영역들에서의 유체들 (또는, 유체 배지들) 이 조성에서 반드시 동일하다는 것을 의미하지 않는다. 대신, 마이크로유체 디바이스의 상이한 유체 접촉된 영역들에서의 유체들은 용질들이 그들의 개개의 농도 기울기들 아래로 이동하고 및/또는 유체들이 디바이스를 통과하여 흐름에 따라서 유입하는 상이한 조성들 (예컨대, 단백질들, 탄수화물들, 이온들, 또는 다른 분자들과 같은, 용질들의 상이한 농도들) 을 가질 수 있다.
- [0025] 일부 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스는 "스윕된 (swept)" 영역들 및 "비스윕된" 영역들을 포함할 수 있다. 유체 접촉들이 스윕된 영역과 미스윕된 영역 사이에 확산이 가능하지만 어떤 실질적인 배지들의 흐름도 불가능하도록 구조화된다고 가정하면, 미스윕된 영역은 스윕된 영역에 유체 접촉될 수 있다. 따라서, 마이크로유체 디바이스는 단지 스윕된 영역과 미스윕된 영역 사이에 확산 유체 소통을 실질적으로 가능하게 하면서도, 스윕된 영역에서의 배지의 흐름으로부터 미스윕된 영역을 실질적으로 분리하도록 구조화될 수 있다.
- [0026] "마이크로유체 채널" 또는 "흐름 채널" 은 본원에서 사용될 때 수평 치수 및 수직 치수 양쪽보다 현저하게 더 긴 길이를 가지는 마이크로유체 디바이스의 흐름 영역을 지칭한다. 예를 들어, 흐름 채널은 수평 또는 수직 치수의 적어도 5 배의 길이, 예컨대, 적어도 10 배의 길이, 적어도 25 배의 길이, 적어도 100 배의 길이, 적어도 200 배의 길이, 적어도 300 배의 길이, 적어도 400 배의 길이, 적어도 500 배의 길이, 또는 더 긴 길이일 수 있다. 일부 실시형태들에서, 흐름 채널의 길이는 그 사이의 임의의 범위를 포함하여, 약 20,000 마이크로미터 내지 약 100,000 마이크로미터의 범위이다. 일부 실시형태들에서, 수평 치수는 약 100 마이크로미터 내지 약 300 마이크로미터 (예컨대, 약 200 마이크로미터) 의 범위이며, 수직 치수는 약 25 마이크로미터 내지 약 100 마이크로미터, 예컨대, 약 40 내지 약 50 마이크로미터의 범위이다. 흐름 채널이 마이크로유체 디바이스에서 다양한 상이한 공간 구성들을 가질 수도 있으며 따라서 완전한 선형 엘리먼트에만 제한되지 않는다는 점에 유의한다. 예를 들어, 흐름 채널은 다음 구성들: 곡선, 굴곡, 나선, 오름 경사, 내리막 경사, 포크 (예컨대, 다수의 상이한 흐름 통로들), 및 이들의 임의의 조합을 가지는 하나 이상의 섹션들일 수도 있거나 또는 포함할 수도 있다. 게다가, 흐름 채널은 그의 경로를 따라서 상이한 단면적들을 가질 수도 있으며, 그 내부에 원하는 유체 흐름을 제공하기 위해 넓어지거나 수축될 수도 있다.
- [0027] 어떤 실시형태들에서, 마이크로-유체 디바이스의 흐름 채널은 (위에서 정의된) 스윕된 영역의 일 예인 반면,

마이크로유체 디바이스 의 (아래에서 좀더 자세히 설명되는) 분리 영역은 비스위프된 영역의 일 예이다.

[0028] 특정의 생물학적 재료들 (예컨대, 항체들과 같은 단백질들) 을 생산하는 생물학적 마이크로-오브젝트들 (예컨대, 생물학적 세포들) 의 능력은 이러한 마이크로유체 디바이스에서 분석시험될 수 있다. 예를 들어, 관심 분석물질의 생산을 위해 분석시험될 생물학적 마이크로-오브젝트들 (예컨대, 세포들) 을 포함하는 표본 재료는 마이크로유체 디바이스의 스위프된 영역으로 로드될 수 있다. 생물학적 마이크로-오브젝트들 (예컨대, 인간 세포들과 같은 포유류의 세포들) 중 하나들이 특정의 특성들에 대해 선택되고 비스위프된 영역들에 배치될 수 있다. 그후 나머지 표본 재료가 스위프된 영역으로부터 유출되고 분석시험 재료가 스위프된 영역으로 유출될 수도 있다. 선택된 생물학적 마이크로-오브젝트들이 비스위프된 영역들에 있기 때문에, 선택된 생물학적 마이크로-오브젝트들은 나머지 표본 재료의 유출 또는 분석시험 재료의 유입에 의해 실질적으로 영향을 받지 않는다. 선택된 생물학적 마이크로-오브젝트들은 관심 분석물질을 생성하도록 허용될 수 있으며, 이 관심 분석물질은 비스위프된 영역들로부터 스위프된 영역으로 확산될 수 있으며, 여기서, 관심 분석물질은 분석시험 재료와 반응하여, 특정의 비스위프된 영역과 각각 연관될 수 있는 로컬라이즈된 검출가능한 반응들을 생성할 수 있다. 검출된 반응과 연관되는 임의의 비스위프된 영역이 비스위프된 영역에서의 생물학적 마이크로-오브젝트들 중 어느 것이, 있다면, 관심 분석물질의 충분한 생산자인지를 결정하기 위해 분석될 수 있다.

[0029] **마이크로유체 디바이스를 포함하는 시스템.** 도 1a 내지 도 1c 는 본원에서 설명하는 방법들에서 사용될 수 있는 마이크로유체 디바이스 (100) 를 가지는 시스템의 일 예를 예시한다. 나타낸 바와 같이, 마이크로유체 디바이스 (100) 는 복수의 상호접속된 유체 회로 엘리먼트들을 포함하는 마이크로유체 회로 (132) 를 둘러싼다. 도 1a 내지 도 1c 에 예시된 예에서, 마이크로유체 회로 (132) 는 분리 챔버들 (136, 138, 140) 이 유체 접속되는 흐름 채널 (134) 을 포함한다. 예시된 실시형태에서는 하나의 흐름 채널 (134) 및 3개의 분리 챔버들 (136, 138, 140) 이 도시되지만, 대안적인 실시형태들에서는, 하나 보다 많은 흐름 채널 (134), 그리고 3보다 더 많거나 더 적은 분리 챔버들 (136, 138, 140) 이 각각 있을 수도 있는 것으로 이해되어야 한다. 마이크로유체 회로 (132) 는 또한 유체 챔버들, 저장소들 등과 같은 추가적인 또는 상이한 유체 회로 엘리먼트들을 포함할 수 있다.

[0030] 마이크로유체 디바이스 (100) 는 하나 이상의 유체 배지들을 포함할 수 있는 마이크로유체 회로 (132) 를 둘러싸는 인클로저 (102) 를 포함한다. 디바이스 (100) 는 상이한 방법들로 물리적으로 구조화될 수 있지만, 도 1a 내지 도 1c 에 나타낸 실시형태에서, 인클로저 (102) 는 서포트 구조 (104) (예컨대, 베이스), 마이크로유체 회로 구조 (112), 및 커버 (122) 를 포함한다. 서포트 구조 (104), 마이크로유체 회로 구조 (112), 및 커버 (122) 는 서로 부착될 수 있다. 예를 들어, 마이크로유체 회로 구조 (112) 는 서포트 구조 (104) 상에 배치될 수 있으며, 커버 (122) 는 마이크로유체 회로 구조 (112) 를 가로질러 배치될 수 있다. 서포트 구조 (104) 및 커버 (122) 에 의해, 마이크로유체 회로 구조 (112) 는 마이크로유체 회로 (132) 를 정의할 수 있다. 마이크로유체 회로 (132) 의 내측 표면은 106 으로서 도면들에서 식별된다.

[0031] 서포트 구조 (104) 는 도 1a 및 도 1b 에 예시된 바와 같이 저부에 있으며 커버 (122) 는 디바이스 (100) 의 상부에 있을 수 있다. 대안적으로, 서포트 구조 (104) 및 커버 (122) 는 다른 방위들로 있을 수 있다. 예를 들어, 서포트 구조 (104) 가 상부에 있을 수 있고 커버 (122) 는 디바이스 (100) 의 저부에 있을 수 있다. 구성에 관계없이, 하나 이상의 유체 액세스 (즉, 유입 및 유출) 포트들 (124) 이 제공되며, 각각의 유체 액세스 포트 (124) 는 유체 재료가 인클로저 (102) 로 유입되거나 또는 유출될 수 있게 하는, 마이크로유체 회로 (132) 와 소통하는 통로 (126) 를 포함한다. 유체 통로들 (126) 은 밸브, 게이트, 관통 홀, 또는 기타 등등을 포함할 수도 있다. 예시된 실시형태에서는 2개의 유체 액세스 포트들 (124) 이 도시되지만, 디바이스 (100) 의 대안적인 실시형태들은 마이크로유체 회로 (132) 로 그리고 그로부터의 유체 재료의 유입 및 유출을 제공하는 오직 하나 또는 2개보다 많은 유체 액세스 포트들 (124) 을 가질 수 있는 것으로 이해되어야 한다.

[0032] 마이크로유체 회로 구조 (112) 는 마이크로유체 회로 (132), 또는 인클로저 (102) 내에 위치한 다른 유형들의 회로들의 회로 엘리먼트들을 정의하거나 또는 아니면 수용할 수 있다. 도 1a 내지 도 1c 에 예시된 실시형태에서, 마이크로유체 회로 구조 (112) 는 프레임 (114) 및 마이크로유체 회로 재료 (116) 를 포함한다.

[0033] 서포트 구조 (104) 는 기판 또는 복수의 상호접속된 기판들을 포함할 수 있다. 예를 들어, 서포트 구조 (104) 는 하나 이상의 상호접속된 반도체 기판들, 인쇄 회로 보드들 (PCB), 또는 기타 등등, 및 이들의 조합들 (예컨대, PCB 상에 탑재된 반도체 기판) 을 포함할 수 있다. 프레임 (114) 은 마이크로유체 회로 재료 (116) 를 부분적으로 또는 완전히 둘러쌀 수 있다. 프레임 (114) 은 예를 들어, 마이크로유체 회로 재료 (116) 를 실질적으로 둘러싸는 상대적으로 강성한 구조일 수 있다. 예를 들어, 프레임 (114) 은 금속 재료

를 포함할 수 있다.

[0034] 마이크로유체 회로 재료 (116) 는 마이크로유체 회로 (132) 의 마이크로유체 회로 엘리먼트들 및 상호접속부들을 정의하기 위해 캐비티들 또는 기타 등등으로 패터닝될 수 있다. 마이크로유체 회로 재료 (116) 는 가스 투과성일 수 있는 가요성 재료 (예컨대, 고무, 플라스틱, 탄성체, 실리콘, 폴리디메틸실록산 ("PDMS"), 또는 기타 등등) 일 수 있다. 마이크로유체 회로 재료 (116) 를 포함할 수도 있는 재료들의 다른 예들은 몰딩된 유리, 실리콘과 같은 에칭가능한 재료 (예컨대, 포토-패턴형성가능한 실리콘), 포토-레지스트 (예컨대, SU8), 또는 기타 등등을 포함한다. 일부 실시형태들에서, 이러한 재료들, 따라서 마이크로유체 회로 재료 (116) 는 강성이거나 및/또는 가스에 실질적으로 불투과성일 수 있다. 사용되는 재료(들) 에 관계없이, 마이크로유체 회로 재료 (116) 는 프레임 (114) 내에, 서포트 구조 (104) 상에 배치된다.

[0035] 커버 (122) 는 프레임 (114) 및/또는 마이크로유체 회로 재료 (116) 의 일체 부분일 수 있다. 대안적으로, 커버 (122) 는 (도 1a 및 도 1b 에 예시된 바와 같이) 구조적으로 별개의 엘리먼트일 수 있다. 커버 (122) 는 프레임 (114) 및/또는 마이크로유체 회로 재료 (116) 와는 동일한 또는 상이한 재료들을 포함할 수 있다. 이와 유사하게, 서포트 구조 (104) 는 예시된 바와 같이, 프레임 (114) 또는 마이크로유체 회로 재료 (116) 와는 별개의 구조, 또는 프레임 (114) 또는 마이크로유체 회로 재료 (116) 의 일체 부분일 수 있다. 유사하게, 프레임 (114) 및 마이크로유체 회로 재료 (116) 는 도 1a - 도 1c 에 나타난 바와 같은 별개의 구조들 또는 동일한 구조의 일체 부분들일 수 있다. 일부 실시형태들에서, 커버 또는 뚜껑 (122) 은 강성 재료로 제조된다. 강성 재료들은 유리 또는 기타 등등일 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 강성 재료는 전도성 (예컨대, ITO-코팅된 유리) 이거나 및/또는 세포 부착, 생존력 및/또는 성장을 서포트하도록 개질될 수도 있다. 개질은 합성 또는 천연 중합체의 코팅을 포함할 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 도 1a 내지 도 1c 의 개별 분리 챔버 (136, 138, 140) 를 가로질러 위치된 커버 또는 뚜껑 (122) 의 부분, 또는 도 2, 도 3, 및 도 4 에 예시된 아래에서-설명되는 실시형태들에서의 등가물은, PDMS 를 포함하지만 이에 한정되지 않는, 변형가능한 재료로 제조된다. 따라서, 커버 또는 뚜껑 (122) 은 강성한 및 변형가능한 부분들 양쪽을 가지는 복합 구조물일 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 커버 (122) 및/또는 서포트 구조 (104) 는 광에 투명하다.

[0036] 커버 (122) 는 또한 PDMS 를 포함하지만 이에 한정되지 않는, 가스 투과성인 적어도 하나의 재료를 포함할 수도 있다.

[0037] **다른 시스템 컴포넌트들.** 도 1a 는 또한 생물학적 세포 배양을 위한 시스템을 함께 제공하는, 마이크로유체 디바이스 (100) 와 함께 이용될 수 있는 제어/모니터링 시스템 (170) 의 단순화된 블록도 묘사를 예시한다. (개략적으로) 나타난 바와 같이, 제어/모니터링 시스템 (170) 은 제어 모듈 (172) 및 제어/모니터링 장비 (180) 를 포함한다. 제어 모듈 (172) 은 디바이스 (100) 를 직접 및/또는 제어/모니터링 장비 (180) 를 통해서 제어 및 모니터링하도록 구성될 수 있다.

[0038] 제어 모듈 (172) 은 제어기 (174) 및 메모리 (176) 를 포함한다. 제어기 (174) 는 예를 들어, 디지털 프로세서, 컴퓨터, 또는 기타 등등일 수 있으며, 메모리 (176) 는 예를 들어, 데이터 및 머신 실행가능한 명령들 (예컨대, 소프트웨어, 펌웨어, 마이크로코드, 또는 기타 등등) 을 비일시성 데이터 또는 신호들로서 저장하는 비일시성 디지털 메모리일 수 있다. 제어기 (174) 는 메모리 (176) 에 저장된 이러한 머신 실행가능한 명령들에 따라서 동작하도록 구성될 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 제어기 (174) 는 하드와이어드 디지털 회로 및/또는 아날로그 회로를 포함할 수 있다. 따라서, 제어 모듈 (172) 은 본원에서 설명하는 방법들에 유용한 임의의 프로세스, 본원에서 설명되는 이러한 프로세스의 단계, 기능, 행위 (act), 또는 기타 등등을 (자동적으로 또는 사용자-지시된 입력에 기초하여) 수행하도록 구성될 수 있다.

[0039] 제어/모니터링 장비 (180) 는 마이크로유체 디바이스 (100) 를 제어하거나 또는 모니터링하는 다수의 상이한 유형들의 디바이스들 중 임의의 디바이스 및 마이크로유체 디바이스 (100) 에 의해 수행되는 프로세스들을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제어/모니터링 장비 (180) 는 마이크로유체 디바이스 (100) 에 전력을 제공하기 위한 전력 소스들 (미도시); 마이크로유체 디바이스 (100) 에 유체 배지들을 제공하거나 그들로부터 배지들을 제거하기 위한 유체 배지들 소스들 (미도시); 비한정적인 예로서, 마이크로유체 회로 (132) 에서의 마이크로-오브젝트들 (미도시) 의 선택 및 이동을 제어하기 위한 (아래에서 설명되는) 선택기 제어 모듈과 같은, 기동 모듈들; 비한정적인 예로서, 마이크로유체 회로 (132) 내에서 (예컨대, 마이크로-오브젝트들의) 이미지들을 캡처하기 위한 (아래에서 설명되는) 검출기와 같은 이미지 캡처 메커니즘들; 비한정적인 예로서, 반응들을 자극하기 위해 에너지를 마이크로유체 회로 (132) 로 안내하기 위한 도 1d 에 예시된 실시형태의 아래에서-설명되는 광원 (320) 과 같은, 자극 메커니즘들; 및 기타 등등을 포함할 수 있다.

- [0040] 좀더 자세하게 설명하면, 이미지 캡처 검출기는 도 1a 내지 도 1c, 도 2, 및 도 3 에 나타난 실시형태들의 흐름 채널 (134), 도 4a 내지 도 4c 에 나타난 실시형태의 흐름 채널 (434), 및 도 1d-1e 에 나타난 실시형태의 흐름 영역 (240) 을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 흐름 영역들, 및/또는 개별 흐름 영역들 및/또는 분리 챔버들을 점유하는 유체 배지에 함유된 마이크로-오브젝트들을 포함하여, 개별 예시된 마이크로유체 디바이스들 (100, 300, 및 400) 의 분리 챔버들에서 이벤트들을 검출하기 위한 하나 이상의 이미지 캡처 디바이스들 및/또는 메커니즘들을 포함할 수 있다. 예를 들어, 검출기는 유체 배지에서 마이크로-오브젝트 (미도시) 의 (예컨대, 형광 또는 루미네스스로 인한) 하나 이상의 방사 특성들을 검출하는 것이 가능한 광 검출기를 포함할 수 있다. 이러한 검출기는 예를 들어, 배지에서의 하나 이상의 마이크로-오브젝트들 (미도시) 이 전자기 방사선을 방사하고 있다는 것 및/또는 그 방사선의 근사적인 파장, 휘도, 강도, 또는 기타 등등을 검출하도록 구성될 수 있다. 검출기는 광의 가시광선, 적외선, 또는 자외선 파장들 하에서 이미지들을 캡처할 수도 있다. 적합한 광검출기들의 예들은 제한없이, 광전자증배관 검출기들 및 아발란치 (avalanche) 광검출기들을 포함한다.
- [0041] 검출기가 포함할 수 있는 적합한 이미징 디바이스들의 예들은 디지털 카메라들 또는 광센서들, 예컨대 전하 결합 디바이스들 및 보충적인 금속-산화물-반도체 (CMOS) 이미지저들을 포함한다. 이미지저들은 이러한 디바이스들로 캡처되어 (예컨대, 제어 모듈 (172) 및/또는 인간 조작자에 의해) 분석될 수 있다.
- [0042] 흐름 제어기는 개별 예시된 마이크로유체 디바이스들 (100, 300, 및 400) 의 흐름 영역들/흐름 채널들/스위프된 영역들에서의 유체 배지의 흐름을 제어하도록 구성될 수 있다. 예를 들어, 흐름 제어기는 흐름의 방향 및/또는 속도를 제어할 수 있다. 흐름 제어기의 이러한 흐름 제어 엘리먼트들의 비한정적인 예들은 펌프들 및 유체 액츄에이터들을 포함한다. 일부 실시형태들에서, 흐름 제어기는 예를 들어, 흐름 영역/흐름 채널/스위프된 영역에서의 흐름의 속도 및/또는 배지의 pH 를 감지하기 위한 하나 이상의 센서들과 같은 추가적인 엘리먼트들을 포함할 수 있다.
- [0043] 제어 모듈 (172) 은 선택기 제어 모듈, 검출기, 및/또는 흐름 제어기로부터 신호를 수신하고 그들을 제어하도록 구성될 수 있다.
- [0044] 특히 도 1d 에 나타난 실시형태를 참조하면, 광원 (320) 은 조사 및/또는 형광 여기에 유용한 광을 마이크로유체 회로 (132) 로 안내할 수도 있다. 대안적으로, 또는 추가적으로, 광원은 마이크로-오브젝트들을 선택하여 이동시키기 위해 DEP 구성된 마이크로유체 디바이스들에 요구되는 활성 에너지를 제공하는 것을 포함하는 반응들을 자극하기 위해 에너지를 마이크로유체 회로 (132) 로 안내할 수도 있다. 광원은 고압 수은 램프, 크세논 아크 램프, 다이오드, 레이저 또는 기타 등등과 같은, 광 에너지를 마이크로유체 회로 (132) 로 투사할 수 있는 임의의 적합한 광원일 수도 있다. 다이오드는 LED 일 수도 있다. 하나의 비한정적인 예에서, LED 는 넓은 스펙트럼 "백색" 광 LED (예컨대, Prizmatix 에 의한 UHP-T-LED-White) 일 수도 있다. 광원은 디지털 마이크로미러 디바이스 (DMD), MSA (마이크로어레이 시스템) 또는 레이저와 같은, 구조화된 광을 발생시키기 위한 프로젝터 또는 다른 디바이스를 포함할 수도 있다.
- [0045] **생물학적 세포들을 포함한 마이크로-오브젝트들을 선택하여 이동시키기 위한 기동 모듈들 (motive modules).**  
위에서 설명한 바와 같이, 제어/모니터링 장비 (180) 는 마이크로유체 회로 (132) 에서 마이크로-오브젝트들 (미도시) 을 선택하여 이동시키기 위한 기동 모듈들을 포함할 수 있다. 다양한 기동 메커니즘들이 이용될 수 있다. 예를 들어, 유전영동 (DEP) 메커니즘들이 마이크로유체 회로에서 마이크로-오브젝트들 (미도시) 을 선택하여 이동시키기 위해 이용될 수 있다. 도 1a 내지 도 1c 의 마이크로유체 디바이스 (100) 의 서포트 구조 (104) 및/또는 커버 (122) 는 DEP 힘들을 마이크로유체 회로 (132) 에서의 유체 배지 (미도시) 내 마이크로-오브젝트들 (미도시) 상에 선택적으로 유도함으로써 개개의 마이크로-오브젝트들을 선택하고, 캡처하고, 및/또는 이동시키기 위한 DEP 구성들을 포함할 수 있다. 제어/모니터링 장비 (180) 는 이러한 DEP 구성들을 위한 하나 이상의 제어 모듈들을 포함할 수 있다. 대안적으로, 세포들을 포함한, 마이크로-오브젝트들은 중력, 자기력, 유체 흐름 및/또는 기타 등등을 이용하여 마이크로유체 회로 내에서 이동되거나 또는 마이크로유체 회로로부터 배출될 수도 있다.
- [0046] 서포트 구조 (104) 및 커버 (122) 를 포함하는 DEP 구성을 가지는 마이크로유체 디바이스의 일 예는 도 1d 및 1e 에 예시된 마이크로유체 디바이스 (300) 이다. 단순성의 목적들을 위해, 도 1d 및 도 1e 가 마이크로유체 디바이스 (300) 의 흐름 영역 (240) 의 부분의 측면 단면도 및 상부 단면도를 나타내지만, 마이크로유체 디바이스 (300) 는 또한 마이크로유체 디바이스들 (100 및 400) 에 대해 본원에서 설명되는 것들과 같은, 하나 이상의 분리 챔버들 뿐만 아니라, 하나 이상의 추가적인 흐름 영역들/흐름 채널들을 포함할 수도 있으며, 그리고, DEP 구성은 마이크로유체 디바이스 (300) 의 이러한 영역들 중 임의의 영역에 포함될 수도 있는 것으로 이해되

어야 한다. 또한, 위에서 또는 아래에 설명되는 마이크로유체 시스템 컴포넌트들 중 임의의 컴포넌트가 마이크로유체 디바이스 (300) 에 통합되거나 및/또는 그와 조합하여 사용될 수도 있는 것으로 이해되어야 한다.

예를 들어, 도 1a 내지 도 1c 의 마이크로유체 디바이스 (100) 와 함께 위에서 설명된 제어/모니터링 장비 (180) 를 포함하는 제어 모듈 (172) 은 또한 이미지-캡처 검출기, 흐름 제어기, 및 선택기 제어 모듈 중 하나 이상을 포함하여, 마이크로유체 디바이스 (300) 와 함께 사용될 수도 있다.

[0047] 도 1d 에서 볼 수 있는 바와 같이, 마이크로유체 디바이스 (300) 는 제 1 전극 (304), 제 1 전극 (304) 으로부터 이격된 제 2 전극 (310), 및 전극 (310) 을 덮는 전극 활성 기관 (308) 을 포함한다. 개별 제 1 전극 (304) 및 전극 활성 기관 (308) 은 흐름 영역 (240) 의 대향 표면들을 정의하며, 흐름 영역 (240) 에 포함된 배지 (202) 는 전극 (304) 과 전극 활성 기관 (308) 사이에 저항성 흐름 통로를 제공한다. 제 1 전극 (304) 및 제 2 전극 (310) 에 접속되어, 흐름 영역 (240) 에서의 DEP 힘들의 발생을 요구할 때, 전극들 사이에 바이어싱 전압을 생성하도록 구성된 전력 소스 (312) 가 또한 도시된다. 전력 소스 (312) 는 예를 들어, 교류 전류 (AC) 전력 소스일 수 있다.

[0048] 어떤 실시형태들에서, 도 1d 및 도 1e 에 예시된 마이크로유체 디바이스 (300) 는 광전자 트위저 (OET) 구성과 같은, 광학적으로-구동되는 DEP 구성을 가질 수 있다. 이러한 실시형태들에서, 선택기 제어 모듈에 의해 제어될 수도 있는 광원 (320) 으로부터의 광 (322) 의 패턴들을 변경하는 것이 흐름 영역 (240) 의 내측 표면 (242) 상의 목표된 위치들 (314) 상의 "DEP 전극들" 의 패턴들을 변경하는 것을 선택적으로 활성화시키는데 이용될 수 있다. 이하에서, 흐름 영역 (240) 의 내측 표면 (242) 상의 목표된 영역들 (314) 은 "DEP 전극 영역들" 로서 지칭된다.

[0049] 도 1e 에 예시된 예에서, 내측 표면 (242) 상으로 안내된 광 패턴 (322') 은 나타낸 평방 패턴으로, 크로스-해칭된 DEP 전극 영역들 (314a) 을 조사한다. 다른 DEP 전극 영역들 (314) 은 조사되지 않으며 이하에 "어두운" DEP 전극 영역들 (314) 로서 지칭된다. DEP 전극 활성 기관 (308) 을 통한 (즉, 내측 표면 (242) 상의 각각의 어두운 전극 영역 (314) 으로부터 제 2 전극 (310) 까지의) 전기 임피던스는 배지 (202) 를 통한 (즉, 제 1 전극 (304) 으로부터, 흐름 영역 (240) 에서의 배지 (202) 를 가로질러, 내측 표면 (242) 상의 어두운 DEP 전극 영역들 (314) 까지의) 전기 임피던스보다 크다. 그러나, DEP 전극 영역들 (314a) 을 조사하는 것은, 전극 활성 기관 (308) 을 통한 (즉, 내측 표면 (242) 상의 조사된 DEP 전극 영역들 (314a) 로부터 제 2 전극 (310) 까지의) 임피던스를, 배지 (202) 를 통한 (즉, 제 1 전극 (304) 으로부터, 흐름 영역 (240) 에서의 배지 (202) 를 가로질러, 내측 표면 (242) 상의 조사된 DEP 전극 영역들 (314a) 까지의) 임피던스 미만으로 감소시킨다.

[0050] 전원 (312) 이 활성화되면서, 전술한 것은 배지 (202) 에서, 각각의 조사된 DEP 전극 영역들 (314a) 과 인접한 어두운 DEP 전극 영역들 (314) 사이에 전기장 기울기를 생성하고, 이것은 결국 유체 배지 (202) 에서의 인접한 마이크로-오브젝트들 (미도시) 을 끌어당기거나 또는 미는 로컬 DEP 힘들을 생성한다. 이와 같이, 배지 (202) 에서 마이크로-오브젝트들을 끌어당기거나 또는 미는 DEP 전극들은 광원 (320) 으로부터 마이크로유체 디바이스 (300) 로 투사되는 광 패턴들 (322) 을 변경함으로써 흐름 영역 (240) 내에서 마이크로-오브젝트들을 조작하기, 즉, 이동시키기 위해, 선택적으로 활성화되고 비활성화될 수 있다. 광원 (320) 은 예를 들어, 레이저 또는 프로젝터와 같은 다른 유형의 구조화된 광원일 수 있다. DEP 힘들이 인접한 마이크로-오브젝트들을 당기거나 또는 미는 지 여부는, 제한 없이, 전원 (312) 의 주파수 및 배지 (202) 및/또는 마이크로-오브젝트들 (미도시) 의 유전체 성질들과 같은 파라미터들에 의존할 수 있다.

[0051] 도 1e 에 예시된 조사된 DEP 전극 영역들 (314a) 의 예시된 정사각형 패턴 (322') 은 단지 일 예이다. DEP 전극 영역들 (314) 의 임의 개수의 패턴들 또는 구성들은 소스 (320) 로부터 디바이스 (300) 로 투사된 광 (322) 의 대응하는 패턴으로 선택적으로 조사될 수 있으며, 조사된 DEP 전극 영역들 (322') 의 패턴은 유체 배지 (202) 에서의 마이크로-오브젝트들을 조작하기 위해 광 패턴 (322) 을 변경함으로써 반복적으로 변경될 수 있다.

[0052] 일부 실시형태들에서, 전극 활성화 기관 (308) 은 광 전도 재료일 수 있으며, 내측 표면 (242) 의 나머지는 피쳐가 없을 수 있다. 예를 들어, 광도전 재료는 비결정 실리콘으로 제조될 수 있으며, 약 500 nm 내지 약 2  $\mu$ m 두께 (예컨대, 실질적으로 1 미크론 두께) 의 두께를 가지는 층을 형성할 수 있다. 이러한 실시형태들에서, DEP 전극 영역들 (314) 은 광 패턴 (322) (도 1e 에 나타낸 광 패턴 (322') 참조) 에 따라서 흐름 영역 (240) 의 내측 표면 (242) 상에 어느 곳에서 그리고 임의의 패턴으로 생성될 수 있다. 조사된 DEP 전극 영역들 (314a) 의 개수 및 패턴은 따라서 고정되지 않고 각각의 투영된 광 패턴들 (322) 에 대응한다. 예들이

미국 특허 제 7,612,355호에 예시되어 있으며, 여기서는, 비-도핑된 비결정 실리콘 재료가 전극 활성 기관 (308) 을 포함할 수 있는 광도전 재료의 일 예로서 사용된다.

[0053] 다른 실시형태들에서, 전극 활성화 기관 (308) 은 반도체 분야들에서 알려져 있는 바와 같은 반도체 집적 회로 들을 형성하는, 복수의 도핑된 층들, 전기 절연층들, 및 전기 전도성 층들을 포함하는 기관을 포함할 수 있다.

예를 들어, 전극 활성 기관 (308) 은 포토-트랜지스터들의 어레이를 포함할 수 있다. 이러한 실시형태들 에서, 전기 회로 엘리먼트들은 흐름 영역 (240) 의 내측 표면 (242) 에서의 DEP 전극 영역들 (314) 과 각각의 광 패턴들 (322) 에 의해 선택적으로 활성화될 수 있는 제 2 전극 (310) 사이에 전기 접속들을 형성할 수 있다.

활성화되지 않을 때, 각각의 전기적 접속을 통한 (즉, 내측 표면 (242) 상의 대응하는 DEP 전극 영역 (314) 으로부터, 전기적 접속을 통해서, 제 2 전극 (310) 까지의) 전기 임피던스는 배지 (202) 를 통한 (즉, 제 1 전극 (304) 으로부터, 배지 (202) 를 통해서, 내측 표면 (242) 상의 대응하는 DEP 전극 영역 (314) 까지의) 임피던스보다 클 수 있다. 광에 의해 광 패턴 (322) 으로 활성화될 때, 그러나, 조사된 전기적 접속들을 통한 (즉, 각각의 조사된 DEP 전극 영역 (314a) 으로부터, 전기적 접속을 통해서, 제 2 전극 (310) 까지의) 전기 임피던스는 배지 (202) 를 통한 (즉, 제 1 전극 (304) 으로부터, 배지 (202) 를 통해서, 대응하는 조사된 DEP 전극 영역 (314a) 까지의) 전기 임피던스 미만의 양으로 감소되므로, 위에서 설명한 바와 같이, 대응하는 DEP 전극 영역 (314) 에서 DEP 전극을 활성화시킬 수 있다. 따라서, 배지 (202) 에서의 마이크로-오브젝트들 (미도시) 을 당기거나 또는 미는 DEP 전극들은 흐름 영역 (240) 의 내측 표면 (242) 에서의 많은 상이한 DEP 전극 영역들 (314) 에서 광 패턴 (322) 에 의해 선택적으로 활성화되고 비활성화될 수 있다. 전극 활성 기관 (308) 의 이러한 구성들의 비한정적인 예들은 미국 특허 제 7,956,339호의 도 21 및 도 22 에서 예시된 포토트랜지스터-기반의 디바이스 (300) 를 포함한다.

[0054] 다른 실시형태들에서, 전극 활성 기관 (308) 은 광-구동될 수도 있는 복수의 전극들을 포함하는 기관을 포함할 수 있다. 전극 활성 기관 (308) 의 이러한 구성들의 비한정적인 예들은 미국 특허출원 공개 번호 2014/0124370 에 예시되고 설명된 광-구동되는 디바이스들 (200, 400, 500, 및 600) 을 포함한다. 여전히 다른 실시형태들에서, 서포트 구조 (104) 및/또는 커버 (122) 의 DEP 구성은 마이크로유체 디바이스의 내측 표면에서의 DEP 전극들의 광 활성화에 의존하지 않지만, 미국 특허 제 6,942,776호에서 설명된 것과 같은, 적어도 하나의 전극을 포함하는 표면에 대하여 위치된 선택적으로 어드레스가능하고 활성화가능한 (energizable) 전극들을 이용한다.

[0055] DEP 구성된 디바이스의 일부 실시형태들에서, 일반적으로 도 1d 에 예시된 바와 같이, 제 1 전극 (304) 은 하우스징 (102) 의 제 1 벽 (302) (또는, 커버) 의 부분일 수 있으며, 전극 활성화 기관 (308) 및 제 2 전극 (310) 은 하우스징 (102) 의 제 2 벽 (306) (또는, 베이스) 의 부분일 수 있다. 나타낸 바와 같이, 흐름 영역 (240) 은 제 1 벽 (302) 과 제 2 벽 (306) 사이에 있을 수 있다. 전술한 것은, 그러나, 단지 예이다. 대안적인 실시형태들에서, 제 1 전극 (304) 은 제 2 벽 (306) 의 부분일 수 있으며, 전극 활성화 기관 (308) 및/또는 제 2 전극 (310) 중 하나 (또는, 양쪽) 는 제 1 벽 (302) 의 부분일 수 있다. 더욱이, 광원 (320) 은 대안적으로 하우스징 (102) 아래에 위치될 수 있다. 어떤 실시형태들에서, 제 1 전극 (304) 은 인듐-주석-산화물 (ITO) 전극일 수도 있지만, 다른 재료들이 또한 사용될 수도 있다.

[0056] 따라서, 도 1d 내지 도 1e 의 마이크로유체 디바이스 (300) 의 광학적으로-구동되는 DEP 구성들과 함께 사용될 때, 선택기 제어 모듈은 흐름 영역 (240) 의 내측 표면 (242) 의 DEP 전극 영역들 (314) 에서 대응하는 하나 이상의 DEP 전극들을 마이크로-오브젝트를 둘러싸서 "캡처하는" 연속적인 패턴들로 활성화시키기 위해 하나 이상의 연속된 광 패턴들 (322) 을 디바이스 (300) 로 투사함으로써 흐름 영역 (240) 에서의 배지 (202) 에서 마이크로-오브젝트 (미도시) 를 선택할 수 있다. 그후, 선택기 제어 모듈은 디바이스 (300) 에 대해 광 패턴 (322) 을 이동시킴으로써 흐름 영역 (240) 내에서 캡처된 마이크로-오브젝트를 이동시킬 수 있다 (또는, 디바이스 (300) (따라서, 그 안의 캡처된 마이크로-오브젝트) 가 광원 (320) 및/또는 광 패턴 (322) 에 대해 이동될 수 있다). 마이크로유체 디바이스 (300) 의 전기적으로-구동되는 DEP 구성들을 특징으로 하는 실시형태들에 대해, 선택기 제어 모듈은 마이크로-오브젝트를 둘러싸서 "캡처하는" 패턴을 형성하는 흐름 영역 (240) 의 내측 표면 (242) 의 DEP 전극 영역들 (314) 에서의 DEP 전극들의 서브세트를 전기적으로 활성화시킴으로써, 흐름 영역 (240) 에서의 배지 (202) 에서 마이크로-오브젝트 (미도시) 를 선택할 수 있다. 그후, 선택기 제어 모듈은 전기적으로 활성화중인 DEP 전극들의 서브세트를 변경함으로써 흐름 영역 (240) 내에서 캡처된 마이크로-오브젝트를 이동시킬 수 있다.

[0057] **분리 챔버 구성들.** 디바이스 (100) 의 분리 챔버들 (136, 138, 및 140) 의 비한정적인 예들이 도 1a - 도 1c 에 도시된다. 특히 도 1c 를 참조하면, 각각의 분리 챔버 (136, 138, 140) 는 분리 영역 (144), 및 분

리 영역 (144) 을 흐름 채널 (134) 에 유체 접속하는 접속 영역 (142) 을 정의하는 분리 구조 (146) 를 포함한다. 접속 영역들 (142) 은 흐름 채널 (134) 로의 근위 개구 (152), 및 개별 분리 영역 (144) 으로의 원위 개구 (154) 를 각각 갖는다. 접속 영역들 (142) 은 바람직하게는, 흐름 채널 (134) 에서 최대 속도 ( $V_{max}$ ) 로 흐르는 유체 배지 (미도시) 의 흐름의 최대 투과 깊이가 분리 영역 (144) 으로 부주의하게 확장되지 않도록 구성된다. 따라서, 개별 분리 챔버 (136, 138, 140) 의 분리 영역 (144) 에 배치된 마이크로-오브젝트 (미도시) 또는 다른 재료 (미도시) 가 흐름 채널 (134) 에서의 배지 (미도시) 의 흐름으로부터 분리되어, 그에 의해 실질적으로 영향을 받지 않을 수 있다. 따라서, 흐름 채널 (134) 은 스위프된 영역의 일 예일 수 있으며, 분리 챔버들 (136, 138, 140) 의 분리 영역들은 비스위프된 영역들의 예일 수 있다. 위에서 언급한 바와 같이, 개별 흐름 채널 (134) 및 분리 챔버들 (136, 138, 140) 은 하나 이상의 유체 배지들 (미도시) 을 포함하도록 구성된다. 나타낸 실시형태에서, 도 1a 내지 도 1c 에서, 유체 액세스 포트들 (124) 은 흐름 채널 (134) 에 유체 접속되며 유체 배지 (미도시) 가 마이크로유체 회로 (132) 로 도입되거나 또는 그로부터 제거될 수 있게 한다. 일단 마이크로유체 회로 (132) 가 유체 배지를 포함하면, 그 안에서의 특정의 유체 배지들의 흐름들이 흐름 채널 (134) 에서 선택적으로 발생될 수 있다. 예를 들어, 배지의 흐름이 입구로서 기능하는 하나의 유체 액세스 포트 (124) 로부터 출구로서 기능하는 다른 유체 액세스 포트 (124) 까지 생성될 수 있다.

[0058] 도 2 는 도 1a 내지 도 1c 의 디바이스 (100) 의 분리 챔버 (136) 의 일 예의 상세도를 예시한다. 분리 챔버들 (138, 140) 은 유사하게 구성될 수 있다. 분리 챔버 (136) 에 위치된 마이크로-오브젝트들 (222) 의 예들이 또한 도시된다.

[0059] 알려져 있는 바와 같이, 분리 챔버 (136) 의 근위 개구 (152) 를 지나는 마이크로유체 흐름 채널 (134) 에서의 (방향 화살표 212 로 표시된) 유체 배지 (202) 의 흐름은 분리 챔버 (136) 로 및/또는 그로부터의 (방향 화살표 214 로 표시된) 배지 (202) 의 2차 흐름을 초래할 수 있다. 2차 흐름 (214) 으로부터 분리 챔버 (136) 의 분리 영역 (144) 에서 마이크로-오브젝트들 (222) 을 분리하기 위해, 근위 개구 (152) 로부터 원위 개구 (154) 까지의 접속 영역 (142) 의 길이  $L_{con}$  는 바람직하게는, 흐름 채널 (134) 에서의 흐름 (212) 의 속도는 최대 ( $V_{max}$ ) 일 때 접속 영역 (142) 으로의 2차 흐름 (214) 의 최대 투과 깊이  $D_p$  보다 더 크다. 흐름 채널 (134) 에서의 흐름 (212) 이 최대 속도  $V_{max}$  를 초과하지 않는 한, 흐름 (212) 및 결과적인 2차 흐름 (214) 은 개별 흐름 채널 (134) 및 접속 영역 (142) 에 제한되며, 분리 챔버 (136) 의 분리 영역 (144) 안에 들어가지 않는다. 따라서, 흐름 채널 (134) 에서의 흐름 (212) 은 마이크로-오브젝트들 (222) 을 분리 챔버 (136) 의 분리 영역 (144) 으로부터 인출하지 않을 것이다.

[0060] 더욱이, 흐름 (212) 은 분리 챔버 (136) 의 분리 영역 (144) 으로의 흐름 채널 (134) 에 위치될 수도 있는 여러 가지 종류의 입자들 (예컨대, 극미립자들 및/또는 나노입자들) 을 이동시키지 않을 것이다. 따라서, 최대 투과 깊이  $D_p$  보다 더 긴 접속 영역 (142) 의 길이  $L_{con}$  를 가지는 것은 흐름 채널 (134) 로부터 또는 다른 분리 챔버 (138, 140) 로부터의 여러가지 종류의 입자들에 의한 분리 챔버 (136) 의 오염을 방지할 수 있다.

[0061] 흐름 채널 (134) 및 분리 챔버들 (136, 138, 140) 의 접속 영역들 (142) 이 흐름 채널 (134) 에서의 배지 (202) 의 흐름 (212) 에 의해 영향을 받을 수 있기 때문에, 흐름 채널 (134) 및 접속 영역들 (142) 은 마이크로유체 회로 (132) 의 스위프된 (또는, 흐름) 영역들로 간주될 수 있다. 반면에, 분리 챔버들 (136, 138, 140) 의 분리 영역들 (144) 은 비스위프된 (또는, 비-흐름) 영역들로 간주될 수 있다. 예를 들어, 흐름 채널 (134) 에서의 제 1 배지 (202) 에서의 컴포넌트들 (미도시) 은 실질적으로 단지 흐름 채널 (134) 로부터 접속 영역 (142) 을 통해서 분리 영역 (144) 에서의 제 2 배지 (204) 로의 제 1 배지 (202) 의 컴포넌트들의 확산에 의해서만, 분리 영역 (144) 에서의 제 2 배지 (204) 와 혼합될 수 있다. 이와 유사하게, 분리 영역 (144) 에서의 제 2 배지 (204) 의 컴포넌트들 (미도시) 은 실질적으로 단지 분리 영역 (144) 으로부터 접속 영역 (142) 을 통해서 흐름 채널 (134) 에서의 제 1 배지 (202) 로의 제 2 배지 (204) 의 컴포넌트들의 확산에 의해서만 흐름 채널 (134) 에서의 제 1 배지 (202) 와 혼합될 수 있다. 제 1 배지 (202) 는 제 2 배지 (204) 와는 동일한 배지 또는 상이한 배지일 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 더욱이, 제 1 배지 (202) 및 제 2 배지 (204) 는 동일하게 시작하여, 그후 예컨대, 분리 영역 (144) 에서의 하나 이상의 세포들에 의한 제 2 배지의 컨디셔닝을 통해서, 또는 흐름 채널 (134) 을 통해서 흐르는 배지를 변경함으로써, 상이해질 수 있다.

[0062] 흐름 채널 (134) 에서의 흐름 (212) 에 의해 초래되는 2차 흐름 (214) 의 최대 투과 깊이  $D_p$  는 다수의 파라미터들에 의존할 수 있다. 이러한 파라미터들의 예들은 (제한 없이) 흐름 채널 (134) 의 형상 (예컨대, 채널

은 배지를 접속 영역 (142) 으로 안내하고, 접속 영역 (142) 으로부터 배지를 우회시키거나, 또는 간단히 접속 영역 (142) 을 지나서 흐르게 할 수 있다; 근위 개구 (152) 에서의 흐름 채널 (134) 의 폭  $W_{ch}$  (또는, 단면적); 근위 개구 (152) 에서의 접속 영역 (142) 의 폭  $W_{con}$  (또는, 단면적); 흐름 채널 (134) 에서의 흐름 (212) 의 최대 속도  $V_{max}$ ; 제 1 배지 (202) 및/또는 제 2 배지 (204) 의 점도 등을 포함한다.

[0063] 일부 실시형태들에서, 흐름 채널 (134) 및/또는 분리 챔버들 (136, 138, 140) 의 치수들은 흐름 채널 (134) 에서의 흐름 (212) 에 대해 다음과 같이 배향된다: 흐름 채널 폭  $W_{ch}$  (또는, 흐름 채널 (134) 의 단면적) 은 흐름 (212) 에 실질적으로 수직할 수 있으며; 근위 개구 (152) 에서의 접속 영역 (142) 의 폭  $W_{con}$  (또는, 단면적) 은 흐름 (212) 에 실질적으로 평행할 수 있으며; 그리고 접속 영역의 길이  $L_{con}$  은 흐름 (212) 에 실질적으로 수직할 수 있다. 전술한 것은 단지 예들이며, 흐름 채널 (134) 및 분리 챔버들 (136, 138, 140) 의 치수들은 서로에 대해 부가적인 및/또는 추가적인 방위들일 수 있다.

[0064] 도 2 에 예시된 바와 같이, 접속 영역 (142) 의 폭  $W_{con}$  은 근위 개구 (152) 로부터 원위 개구 (154) 까지 균일할 수 있다. 따라서, 원위 개구 (154) 에서의 접속 영역 (142) 의 폭  $W_{con}$  은 근위 개구 (152) 에서의 접속 영역 (142) 의 폭  $W_{con}$  에 대응하는 아래에서-식별되는 범위들 중 임의의 범위일 수 있다. 대안적으로, 원위 개구 (154) 에서의 접속 영역 (142) 의 폭  $W_{con}$  은 근위 개구 (152) 에서의 접속 영역 (142) 의 폭  $W_{con}$  보다 (예컨대, 도 3 의 실시형태에 나타낸 바와 같이) 더 크거나 또는 (예컨대, 도 4a 내지 도 4c 의 실시형태에 나타낸 바와 같이) 더 작을 수 있다.

[0065] 또한 도 2 에 예시된 바와 같이, 원위 개구 (154) 에서의 분리 영역 (144) 의 폭은 근위 개구 (152) 에서의 접속 영역 (142) 의 폭  $W_{con}$  과 실질적으로 동일할 수 있다. 따라서, 원위 개구 (154) 에서의 분리 영역 (144) 의 폭은 근위 개구 (152) 에서의 접속 영역 (142) 의 폭  $W_{con}$  에 대응하는 아래에서-식별되는 범위들 중 임의의 범위일 수 있다. 대안적으로, 원위 개구 (154) 에서의 분리 영역 (144) 의 폭은 근위 개구 (152) 에서의 접속 영역 (142) 의 폭  $W_{con}$  보다 (예컨대, 도 3 에 나타낸 바와 같이) 더 크거나 또는 더 작을 수 있다 (미도시).

[0066] 일부 실시형태들에서, 흐름 채널 (134) 에서의 흐름 (212) 의 최대 속도  $V_{max}$  는 흐름 채널이 위치되는 개별 마이크로유체 디바이스 (예컨대, 디바이스 (100)) 에서 구조적 고장을 초래함이 없이 흐름 채널 (134) 이 유지할 수 있는 최대 속도와 실질적으로 동일하다. 일반적으로, 흐름 채널이 유지할 수도 있는 최대 속도는 마이크로유체 디바이스의 구조적 무결성 및 흐름 채널의 단면적을 포함한, 여러 인자들에 의존한다. 본원에서 개시되고 설명되는 예시적인 마이크로유체 디바이스들에 대해, 약 3,500 내지 10,000 평방 마이크론의 단면적을 가지는 흐름 채널에서의 최대 흐름 속도  $V_{max}$  는 약 1.5 내지 15  $\mu\text{L}/\text{sec}$  이다. 대안적으로, 흐름 채널에서의 흐름의 최대 속도  $V_{max}$  는 분리 영역들이 흐름 채널에서의 흐름으로부터 분리되는 것을 보장하도록 설정될 수 있다. 특히, 분리 챔버의 접속 영역의 근위 개구의 폭  $W_{con}$  에 기초하여,  $V_{max}$  는 접속 영역으로의 2차 흐름의 투과의 깊이  $D_p$  가  $L_{con}$  보다 작게 보장하도록 설정될 수 있다. 예를 들어, 약 40 내지 50 마이크론의 폭  $W_{con}$  및 약 50 내지 100 마이크론의  $L_{con}$  을 가지는 근위 개구를 갖는 접속 영역을 가지는 분리 챔버에 대해,  $V_{max}$  는 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 또는 2.5  $\mu\text{L}/\text{sec}$  에서, 또는 대략 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 또는 2.5  $\mu\text{L}/\text{sec}$ 에서, 설정될 수 있다.

[0067] 일부 실시형태들에서, 접속 영역 (142) 의 길이  $L_{con}$  와 분리 챔버 (136, 138, 140) 의 분리 영역 (144) 의 대응하는 길이의 총합은 흐름 채널 (134) 을 흐르는 또는 아니면 그에 포함된 제 1 배지 (202) 로의 분리 영역 (144) 에 포함된 제 2 배지 (204) 의 컴포넌트들의 상대적으로 빠른 확산을 위해 충분히 짧을 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태들에서, (1) 접속 영역 (142) 의 길이  $L_{con}$  와, (2) 분리 챔버 (136, 138, 140) 의 분리 영역 (144) 에 위치한 생물학적 마이크로-오브젝트와 접속 영역의 원위 개구 (154) 사이의 거리의 총합은 다음 범위들: 약 40 마이크론 내지 500 마이크론, 50 마이크론 내지 450 마이크론, 60 마이크론 내지 400 마이크론, 70 마이크론 내지 350 마이크론, 80 마이크론 내지 300 마이크론, 90 마이크론 내지 250 마이크론, 100 마이크론 내지 200 마이크론, 또는 전술한 말단 지점들 중 하나를 포함하는 임의의 범위 중 하나일 수 있다. 분자 (예컨대, 항체와 같은 관심 분석물질) 의 확산의 레이트는 (제한 없이) 온도, 배지의 점도, 및 분자의 확산의

계수  $D_0$  를 포함한, 다수의 인자들에 의존한다. 예를 들어, 약  $20^\circ \text{C}$  에서의 수성 용액 내 IgG 항체에 대한  $D_0$  는 약  $4.4 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{sec}$  이며, 반면 세포 배양 배지의 운동학적인 점도는 약  $9 \times 10^{-4} \text{ m}^2/\text{sec}$  이다. 따라서, 약  $20^\circ \text{C}$  에서의 세포 배양 배지 내 항체는 약 0.5 마이크로/sec 의 확산의 레이트를 가질 수 있다. 따라서, 일부 실시형태들에서, 분리 영역 (144) 에 위치한 생물학적 마이크로-오브젝트로부터 흐름 채널 (134) 로의 확산을 위한 시간 기간은 약 10 분 이하 (예컨대, 약 9, 8, 7, 6, 5 분 이하) 일 수 있다. 확산에 대한 시간 기간은 확산의 레이트에 영향을 미치는 파라미터들을 변경함으로써 조작될 수 있다. 예를 들어, 배지들의 온도는 (예컨대, 약  $37^\circ \text{C}$  와 같은 생리학적 온도까지) 증가되거나 또는 (예컨대, 약  $15^\circ \text{C}$ ,  $10^\circ \text{C}$ , 또는  $4^\circ \text{C}$  까지) 감소되어 확산의 레이트를 각각 증가시키거나 또는 감소시킬 수 있다. 대안적으로, 또는 추가적으로, 배지에서의 용질들의 농도들은 증가되거나 또는 감소될 수 있다.

[0068] 도 2 에 예시된 분리 챔버 (136) 의 물리적인 구성은 단지 예이며, 분리 챔버들에 대한 많은 다른 구성들 및 변형예들이 가능하다. 예를 들어, 분리 영역 (144) 은 복수의 마이크로-오브젝트들 (222) 을 포함하는 사이즈로 예시되지만, 분리 영역 (144) 은 단지 약 하나, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 유사하게 상대적으로 작은 수의 마이크로-오브젝트들 (222) 만을 포함하도록 크기가 정해질 수 있다. 따라서, 분리 영역 (144) 의 체적은 예를 들어, 적어도 약  $3 \times 10^3$ ,  $6 \times 10^3$ ,  $9 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^4$ ,  $2 \times 10^4$ ,  $4 \times 10^4$ ,  $8 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $2 \times 10^5$ ,  $4 \times 10^5$ ,  $8 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $2 \times 10^6$ ,  $4 \times 10^6$ ,  $6 \times 10^6$  입방 마이크로, 또는 더 이상일 수 있다.

[0069] 다른 예로서, 분리 챔버 (136) 는 도 2 에서 흐름 채널 (134) 로부터 수직으로 연장하고 따라서 일반적으로 흐름 채널 (134) 과 약  $90^\circ$  각도들을 형성하는 것으로 도시된다. 대안적으로는, 분리 챔버 (136) 는 흐름 채널 (134) 로부터, 예를 들어, 약  $30^\circ$  로부터 약  $150^\circ$  까지의 임의의 각도와 같은, 다른 각도들로 확장될 수 있다.

[0070] 또한, 다른 예로서, 접속 영역 (142) 및 분리 영역 (144) 은 도 2 에서 실질적으로 직사각형의 구성을 가지는 것으로 예시되지만, 접속 영역 (142) 및 분리 영역 (144) 중 하나 또는 양자는 (제한 없이) 계란형, 삼각형, 원형, 모래시계-형상 등을 포함한, 상이한 구성을 가질 수 있다.

[0071] 또한 다른 예로서, 접속 영역 (142) 및 분리 영역 (144) 은 도 2 에서 실질적으로 균일한 폭들을 가지는 것으로 예시된다. 즉, 접속 영역 (142) 의 폭  $W_{\text{con}}$  은 전체 길이  $L_{\text{con}}$  을 따라서 근위 개구 (152) 로부터 원위 개구 (154) 까지 균일한 것으로 도시된다. 분리 영역 (144) 의 대응하는 폭은 유사하게 균일하며; 접속 영역 (142) 의 폭  $W_{\text{con}}$  및 분리 영역 (144) 의 대응하는 폭은 동일하게 도시된다. 그러나, 대안적인 실시형태들에서, 전술한 것 중 임의의 것은 상이할 수 있다. 예를 들어, 접속 영역 (142) 의 폭  $W_{\text{con}}$  은 길이  $L_{\text{con}}$  을 따라서, 근위 개구 (152) 로부터 원위 개구 (154) 까지, 예컨대, 부등변 사각형, 또는 모래시계의 방식으로 변할 수 있으며; 분리 영역 (144) 의 폭은 또한 길이  $L_{\text{con}}$  을 따라서, 예컨대, 삼각형, 또는 플라스크의 방식으로 변할 수 있으며; 그리고 접속 영역 (142) 의 폭  $W_{\text{con}}$  은 분리 영역 (144) 의 폭과는 상이할 수 있다.

[0072] 도 3 은 전술한 변형예들의 일부 예들을 나타내는, 분리 챔버 (336) 의 대안적인 실시형태를 예시한다. 대안적인 분리 챔버 (336) 는 마이크로유체 디바이스 (100) 에서의 챔버 (136) 에 대한 대체물로서 설명되지만, 본원에서 개시되거나 또는 설명되는 마이크로유체 디바이스 실시형태들 중 임의의 실시형태에서 분리 챔버 (336) 는 분리 챔버들 중 임의의 챔버를 대체할 수 있는 것으로 인식되어야 한다. 더욱이, 주어진 마이크로유체 디바이스에 제공되는 하나의 분리 챔버 (336) 또는 복수의 분리 챔버들 (336) 이 있을 수도 있다.

[0073] 분리 챔버 (336) 는 접속 영역 (342), 및 분리 영역 (344) 을 포함하는 분리 구조 (346) 를 포함한다. 접속 영역 (342) 은 흐름 채널 (134) 로의 근위 개구 (352) 및 분리 영역 (344) 으로의 원위 개구 (354) 를 갖는다. 도 3 에 예시된 실시형태에서, 접속 영역 (342) 은 그의 폭  $W_{\text{con}}$  이 접속 영역  $L_{\text{con}}$  의 길이를 따라서, 근위 개구 (352) 로부터 원위 개구 (354) 까지 증가하도록 확장된다. 그러나, 상이한 형상을 가지는 것 이외에, 접속 영역 (342), 분리 구조 (346), 및 분리 영역 (344) 은 일반적으로 도 2 에 나타난 분리 챔버 (136) 의 위에서 설명한 접속 영역 (142), 분리 구조 (146), 및 분리 영역 (144) 과 동일하게 기능한다.

[0074] 예를 들어, 흐름 채널 (134) 및 분리 챔버 (336) 는 2차 흐름 (214) 의 최대 투과 깊이  $D_p$  가 접속 영역 (342) 으로 확장하지만 분리 영역 (344) 으로는 확장하지 않도록 구성될 수 있다. 따라서, 접속 영역 (342) 의 길이  $L_{\text{con}}$  은 도 2 에 나타난 접속 영역들 (142) 에 대해 일반적으로 위에서 설명된 바와 같은 최대 투과 깊이  $D_p$

보다 더 클 수 있다. 또한, 위에서 설명한 바와 같이, 분리 영역 (344) 에서의 마이크로-오브젝트들 (222) 은 흐름 채널 (134) 에서의 흐름 (212) 의 속도가 최대 흐름 속도  $V_{\max}$  를 초과하지 않는 한, 분리 영역 (344) 에서 머무를 것이다. 따라서, 흐름 채널 (134) 및 접속 영역 (342) 은 스위프된 (또는, 흐름) 영역들의 예이며, 분리 영역 (344) 은 비스위프된 (또는, 비-흐름) 영역의 일 예이다.

[0075] 도 4a 내지 도 4c 는 도 1a 내지 도 1c 의 개별 마이크로유체 디바이스 (100), 회로 (132) 및 흐름 채널 (134) 의 변형예들인, 마이크로유체 회로 (432) 및 흐름 채널들 (434) 을 포함하는 마이크로유체 디바이스 (400) 의 다른 예시적인 실시형태를 도시한다. 마이크로유체 디바이스 (400) 는 또한 위에서 설명한 분리 챔버들 (136, 138, 140 및 336) 의 추가적인 변형예들인 복수의 분리 챔버들 (436) 을 갖는다. 특히, 도 4a 내지 도 4c 에 나타낸 디바이스 (400) 의 분리 챔버들 (436) 은 디바이스들 (100 및 300) 에서의 위에서 설명한 분리 챔버들 (136, 138, 140, 336) 중 임의의 챔버를 대체할 수 있는 것으로 인식되어야 한다. 이와 유사하게, 마이크로유체 디바이스 (400) 는 마이크로유체 디바이스 (100) 의 다른 변형이며, 또한 위에서 설명한 마이크로유체 디바이스 (300) 뿐만 아니라, 본원에서 설명되는 다른 마이크로유체 시스템 컴포넌트들 중 임의의 컴포넌트와 동일한 또는 상이한 DEP 구성을 가질 수도 있다.

[0076] 도 4a 내지 도 4c 의 마이크로유체 디바이스 (400) 는 (도 4a 내지 도 4c 에서 볼수 없지만, 도 1a 내지 도 1c 에 도시된 디바이스 (100) 의 서포트 구조 (104) 와 동일하거나 또는 일반적으로 유사할 수 있는) 서포트 구조, 마이크로유체 회로 구조 (412), 및 (도 4a 내지 도 4c 에서 볼수 없지만, 도 1a 내지 도 1c 에 도시된 디바이스 (100) 의 커버 (122) 와 동일하거나 또는 일반적으로 유사할 수 있는) 커버를 포함한다. 마이크로유체 회로 구조 (412) 는 도 1a 내지 도 1c 에 나타낸 디바이스 (100) 의 프레임 (114) 및 마이크로유체 회로 재료 (116) 와 동일하거나 또는 일반적으로 유사할 수 있는, 프레임 (414) 및 마이크로유체 회로 재료 (416) 를 포함한다. 도 4a 에 나타낸 바와 같이, 마이크로유체 회로 재료 (416) 에 의해 정의된 마이크로유체 회로 (432) 는 다수의 분리 챔버들 (436) 이 유체 접속되는 다중 흐름 채널들 (434) (2개가 도시되지만 더 이상 있을 수 있음) 을 포함할 수 있다.

[0077] 각각의 분리 챔버 (436) 는 분리 구조 (446), 분리 구조 (446) 내 분리 영역 (444), 및 접속 영역 (442) 을 포함할 수 있다. 흐름 채널 (434) 에서의 근위 개구 (472)로부터 분리 구조 (436) 에서의 원위 개구 (474) 까지, 접속 영역 (442) 은 흐름 채널 (434) 을 분리 영역 (444) 에 유체 접속한다. 일반적으로 도 2 의 상기 설명에 따르면, 흐름 채널 (434) 에서의 제 1 유체 배지 (402) 의 흐름 (482) 은 분리 챔버들 (436) 의 개별 접속 영역들 (442) 로의 및/또는 그들로부터의 흐름 채널 (434) 으로부터의 제 1 배지 (402) 의 2차 흐름들 (484) 을 생성할 수 있다.

[0078] 도 4b 에 예시된 바와 같이, 각각의 분리 챔버 (436) 의 접속 영역 (442) 은 흐름 채널 (434) 로의 근위 개구 (472) 와 분리 구조 (446) 로의 원위 개구 (474) 사이에 연장하는 영역을 일반적으로 포함한다. 접속 영역 (442) 의 길이  $L_{\text{con}}$  은 2차 흐름 (484) 의 최대 투과 깊이  $D_p$  보다 클 수 있으며, 이 경우, 2차 흐름 (484) 은 (도 4a 에 나타낸 바와 같이) 분리 영역 (444) 측으로 방향변경될 없이, 접속 영역 (442) 으로 확장할 것이다. 대안적으로, 도 4c 에서 예시된 바와 같이, 접속 영역 (442) 은 최대 투과 깊이  $D_p$  미만인 길이  $L_{\text{con}}$  을 가질 수 있으며, 이 경우, 2차 흐름 (484) 은 접속 영역 (442) 을 통하여 확장하고 분리 영역 (444) 측으로 방향변경될 것이다. 이 후자의 상황에서, 접속 영역 (442) 의 길이들  $L_{c1}$  및  $L_{c2}$  의 총합이 최대 투과 깊이  $D_p$  보다 크므로, 2차 흐름 (484) 이 분리 영역 (444) 으로 확장되지 않을 것이다. 접속 영역 (442) 의 길이  $L_{\text{con}}$  이 투과 깊이  $D_p$  보다 크던지, 또는 접속 영역 (442) 의 길이들  $L_{c1}$  및  $L_{c2}$  의 총합이 투과 깊이  $D_p$  보다 크던지, 최대 속도  $V_{\max}$  를 초과하지 않는 흐름 채널 (434) 에서의 제 1 배지 (402) 의 흐름 (482) 은 투과 깊이  $D_p$  를 가지는 2차 흐름을 발생시킬 것이며, 분리 챔버 (436) 의 분리 영역 (444) 에서의 (도시되지 않지만 도 2 에 나타낸 마이크로-오브젝트들 (222) 와 동일하거나 또는 일반적으로 유사할 수 있는) 마이크로-오브젝트들은 흐름 채널 (434) 에서의 제 1 배지 (402) 의 흐름 (482) 에 의해 분리 영역 (444) 으로부터 인출되지 않을 것이다. 흐름 채널 (434) 에서의 흐름 (482) 은 여러가지 종류의 재료들 (미도시) 을 흐름 채널 (434) 으로부터 분리 챔버 (436) 의 분리 영역 (444) 으로 끌어당기지 않을 것이다. 이와 같이, 확산은 단지 흐름 채널 (434) 에서의 제 1 배지 (402) 내 컴포넌트들이 흐름 채널 (434) 으로부터 분리 챔버 (436) 의 분리 영역 (444) 에서의 제 2 배지 (404) 로 이동할 수 있는 메커니즘이다. 이와 유사하게, 확산은 단지 분리 챔버 (436) 의 분리 영역 (444) 에서의 제 2 배지 (404) 내 컴포넌트들이 분리 영역 (444) 으로부터 흐름 채널 (434) 에서의 제 1 배지 (402) 로 이동할 수 있는 메커니즘이다. 제 1 배지 (402) 는 제 2 배지 (404) 와 동일한 배지일

수 있거나, 또는 제 1 배지 (402) 는 제 2 배지 (404) 와는 상이한 배지일 수 있다. 대안적으로, 제 1 배지 (402) 및 제 2 배지 (404) 는 동일하게 시작하여, 그후 예컨대, 분리 영역 (444) 에서의 하나 이상의 세포들에 의한 제 2 배지의 컨디셔닝을 통해서, 또는 흐름 채널 (434) 을 통해서 흐르는 배지를 변경함으로써, 상이해 질 수 있다.

[0079] 도 4b 에 예시된 바와 같이, 흐름 채널 (434) 에서의 (즉, 도 4a 에서 화살표들 (482) 로 표시된 흐름 채널을 통한 유체 배지 흐름의 방향을 가로지르는 방향을 취할 때) 흐름 채널들 (434) 의 폭  $W_{ch}$  은 근위 개구 (472) 의 폭  $W_{con1}$  에 실질적으로 수직하며, 따라서 원위 개구 (474) 의 폭  $W_{con2}$  에 실질적으로 평행할 수 있다. 그러나, 근위 개구 (472) 의 폭  $W_{con1}$  및 원위 개구 (474) 의 폭  $W_{con2}$  는 서로 실질적으로 수직할 필요는 없다. 예를 들어, 근위 개구 (472) 의 폭  $W_{con1}$  이 배향되는 축 (미도시) 과 원위 개구 (474) 의 폭  $W_{con2}$  가 배향되는 다른 축 사이의 각도는 수직이 아니며 따라서  $90^\circ$  이외의 각도일 수 있다. 대안적으로 각도들의 예들은 다음 범위들: 약  $30^\circ$  내지 약  $90^\circ$ , 약  $45^\circ$  내지 약  $90^\circ$ , 약  $60^\circ$  내지 약  $90^\circ$ , 또는 기타 등등 중 임의의 범위에서의 각도들을 포함한다.

[0080] 분리 챔버들 (136, 138, 140, 336, 또는 436) 의 여러 실시형태들에서, 분리 챔버의 분리 영역은 배양물에서 단지 약  $1 \times 10^3$ ,  $5 \times 10^2$ ,  $4 \times 10^2$ ,  $3 \times 10^2$ ,  $2 \times 10^2$ ,  $1 \times 10^2$ , 50, 25, 15, 또는 10 개의 세포들만을 유지하도록 구성된 체적을 가질 수도 있다. 다른 실시형태들에서, 분리 챔버의 분리 영역은 약  $1 \times 10^3$  이하,  $1 \times 10^4$  이하, 또는  $1 \times 10^5$  이하까지 세포들을 유지하는 체적을 갖는다.

[0081] 분리 챔버들 (136, 138, 140, 336, 또는 436) 의 여러 실시형태들에서, 근위 개구 (152) 에서의 흐름 채널 (134) 의 폭  $W_{ch}$  (분리 챔버들 (136, 138, 또는 140)); 근위 개구 (352) 에서의 흐름 채널 (134) 의 폭  $W_{ch}$  (분리 챔버들 (336)); 또는 근위 개구 (472) 에서의 흐름 채널 (434) 의 폭  $W_{ch}$  (분리 챔버들 (436)) 은 다음 범위들: 약 50-1000 마이크로, 50-500 마이크로, 50-400 마이크로, 50-300 마이크로, 50-250 마이크로, 50-200 마이크로, 50-150 마이크로, 50-100 마이크로, 70-500 마이크로, 70-400 마이크로, 70-300 마이크로, 70-250 마이크로, 70-200 마이크로, 70-150 마이크로, 90-400 마이크로, 90-300 마이크로, 90-250 마이크로, 90-200 마이크로, 90-150 마이크로, 100-300 마이크로, 100-250 마이크로, 100-200 마이크로, 100-150 마이크로, 및 100-120 마이크로 중 임의의 범위일 수 있다. 전술한 것은 단지 예들이며, 흐름 채널 (134 또는 434) 의 폭  $W_{ch}$  는 다른 범위들 (예컨대, 위에서 리스트된 종점들 중 임의의 종점에 의해 정의되는 범위) 일 수 있다.

[0082] 분리 챔버들 (136, 138, 140, 336, 또는 436) 의 여러 실시형태들에서, 근위 개구 (152) 에서의 흐름 채널 (134) (분리 챔버들 (136, 138, 또는 140)), 근위 개구 (352) 에서의 흐름 채널 (134) (분리 챔버들 (336)), 또는 근위 개구 (472) 에서의 흐름 채널 (434) (분리 챔버들 (436)) 의 높이  $H_{ch}$  는 다음 범위들: 약 20-100 마이크로, 20-90 마이크로, 20-80 마이크로, 20-70 마이크로, 20-60 마이크로, 20-50 마이크로, 30-100 마이크로, 30-90 마이크로, 30-80 마이크로, 30-70 마이크로, 30-60 마이크로, 30-50 마이크로, 40-100 마이크로, 40-90 마이크로, 40-80 마이크로, 40-70 마이크로, 40-60 마이크로, 또는 40-50 마이크로 중 임의의 범위일 수 있다. 전술한 것은 단지 예들이며, 및 흐름 채널 (134 또는 434) 의 높이  $H_{ch}$  는 다른 범위들 (예컨대, 위에서 리스트된 종점들 중 임의의 종점에 의해 정의되는 범위) 일 수 있다.

[0083] 분리 챔버들 (136, 138, 140, 336, 또는 436) 의 여러 실시형태들에서, 근위 개구 (152) 에서의 흐름 채널 (134) (분리 챔버들 (136, 138, 또는 140)), 근위 개구 (352) 에서의 흐름 채널 (134) (분리 챔버들 (336)), 또는 근위 개구 (472) 에서의 흐름 채널 (434) (분리 챔버들 (436)) 의 단면적은 다음 범위들: 약 500-50,000 평방 마이크로, 500-40,000 평방 마이크로, 500-30,000 평방 마이크로, 500-25,000 평방 마이크로, 500-20,000 평방 마이크로, 500-15,000 평방 마이크로, 500-10,000 평방 마이크로, 500-7,500 평방 마이크로, 500-5,000 평방 마이크로, 1,000-25,000 평방 마이크로, 1,000-20,000 평방 마이크로, 1,000-15,000 평방 마이크로, 1,000-10,000 평방 마이크로, 1,000-7,500 평방 마이크로, 1,000-5,000 평방 마이크로, 2,000-20,000 평방 마이크로, 2,000-15,000 평방 마이크로, 2,000-10,000 평방 마이크로, 2,000-7,500 평방 마이크로, 2,000-6,000 평방 마이크로, 3,000-20,000 평방 마이크로, 3,000-15,000 평방 마이크로, 3,000-10,000 평방 마이크로, 3,000-7,500 평방 마이크로, 또는 3,000 내지 6,000 평방 마이크로 중 임의의 범위일 수 있다. 전술한 것은 단지 예들이며, 근위 개구 (152) 에서의 흐름 채널 (134), 근위 개구 (352) 에서의 흐름 채널 (134), 또는 근위 개구 (472) 에서의 흐름 채널 (434) 의 단면적은 다른 범위들 (예컨대, 위에서 리스트된 종점들 중 임의의 종점

에 의해 정의되는 범위) 일 수 있다.

[0084] 분리 챔버들 (136, 138, 140, 336, 또는 436)의 여러 실시형태들에서, 접속 영역의 길이  $L_{con}$ 은 다음 범위들: 약 1-200 마이크로, 5-150 마이크로, 10-100 마이크로, 15-80 마이크로, 20-60 마이크로, 20-500 마이크로, 40-400 마이크로, 60-300 마이크로, 80-200 마이크로, 및 100-150 마이크로 중 임의의 범위일 수 있다. 전술한 것은 단지 예들이며, 접속 영역 (142) (분리 챔버들 (136, 138, 또는 140)), 접속 영역 (342) (분리 챔버들 (336)), 또는 접속 영역 (442) (분리 챔버들 (436))의 길이  $L_{con}$ 은 전술한 예들과는 상이한 범위들 (예컨대, 위에서 리스트된 중점들 중 임의의 중점에 의해 정의되는 범위) 일 수 있다.

[0085] 분리 챔버들 (136, 138, 140, 336, 또는 436)의 여러 실시형태들에서, 근위 개구 (152)에서의 접속 영역 (142) (분리 챔버들 (136, 138, 또는 140)), 근위 개구 (352)에서의 접속 영역 (342) (분리 챔버들 (336)), 또는 근위 개구 (472)에서의 접속 영역 (442) (분리 챔버들 (436))의 폭  $W_{con}$ 은 다음 범위들: 약 20-500 마이크로, 20-400 마이크로, 20-300 마이크로, 20-200 마이크로, 20-150 마이크로, 20-100 마이크로, 20-80 마이크로, 20-60 마이크로, 30-400 마이크로, 30-300 마이크로, 30-200 마이크로, 30-150 마이크로, 30-100 마이크로, 30-80 마이크로, 30-60 마이크로, 40-300 마이크로, 40-200 마이크로, 40-150 마이크로, 40-100 마이크로, 40-80 마이크로, 40-60 마이크로, 50-250 마이크로, 50-200 마이크로, 50-150 마이크로, 50-100 마이크로, 50-80 마이크로, 60-200 마이크로, 60-150 마이크로, 60-100 마이크로, 60-80 마이크로, 70-150 마이크로, 70-100 마이크로, 및 80-100 마이크로 중 임의의 범위일 수 있다. 전술한 것은 단지 예들이며, 근위 개구 (152)에서의 접속 영역 (142); 근위 개구 (352)에서의 접속 영역 (342); 또는 근위 개구 (472)에서의 접속 영역 (442)의 폭  $W_{con}$ 은 전술한 예들 (예컨대, 위에서 리스트된 중점들 중 임의의 중점에 의해 정의되는 범위)과는 상이할 수 있다.

[0086] 분리 챔버들 (136, 138, 140, 336, 또는 436)의 여러 실시형태들에서, 근위 개구 (152)에서의 접속 영역 (142) (분리 챔버들 (136, 138, 또는 140)), 근위 개구 (352)에서의 접속 영역 (342) (분리 챔버들 (336)), 또는 근위 개구 (472)에서의 접속 영역 (442) (분리 챔버들 (436))의 폭  $W_{con}$ 은 다음 범위들: 약 2-35 마이크로, 2-25 마이크로, 2-20 마이크로, 2-15 마이크로, 2-10 마이크로, 2-7 마이크로, 2-5 마이크로, 2-3 마이크로, 3-25 마이크로, 3-20 마이크로, 3-15 마이크로, 3-10 마이크로, 3-7 마이크로, 3-5 마이크로, 3-4 마이크로, 4-20 마이크로, 4-15 마이크로, 4-10 마이크로, 4-7 마이크로, 4-5 마이크로, 5-15 마이크로, 5-10 마이크로, 5-7 마이크로, 6-15 마이크로, 6-10 마이크로, 6-7 마이크로, 7-15 마이크로, 7-10 마이크로, 8-15 마이크로, 및 8-10 마이크로 중 임의의 범위일 수 있다. 전술한 것은 단지 예들이며, 근위 개구 (152)에서의 접속 영역 (142), 근위 개구 (352)에서의 접속 영역 (342), 또는 근위 개구 (472)에서의 접속 영역 (442)의 폭  $W_{con}$ 은 전술한 예들 (예컨대, 위에서 리스트된 중점들 중 임의의 중점에 의해 정의되는 범위)과는 상이할 수 있다.

[0087] 분리 챔버들 (136, 138, 140, 336, 또는 436)의 여러 실시형태들에서, 근위 개구 (152)에서의 접속 영역 (142)의 폭  $W_{con}$ 에 대한 접속 영역 (142)의 길이  $L_{con}$ 의 비 (분리 챔버들 (136, 138, 또는 140)), 근위 개구 (352)에서의 접속 영역 (342)의 폭  $W_{con}$ 에 대한 접속 영역 (342)의 길이  $L_{con}$ 의 비 (분리 챔버들 (336)), 또는 근위 개구 (472)에서의 접속 영역 (442)의 폭  $W_{con}$ 에 대한 접속 영역 (442)의 길이  $L_{con}$ 의 비 (분리 챔버들 (436))는 다음 비율들: 약 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 또는 더 이상의 비 중 임의의 비보다 크거나 또는 동일할 수 있다. 전술한 것은 단지 예들이며, 근위 개구 (152)에서의 접속 영역 (142)의 폭  $W_{con}$ 에 대한 접속 영역 (142)의 길이  $L_{con}$ 의 비, 근위 개구 (372)에서의 접속 영역 (342)의 폭  $W_{con}$ 에 대한 접속 영역 (342)의 길이  $L_{con}$ 의 비; 또는 근위 개구 (472)에서의 접속 영역 (442)의 폭  $W_{con}$ 에 대한 접속 영역 (442)의 길이  $L_{con}$ 의 비는 전술한 예들과는 상이할 수 있다.

[0088] 분리 챔버들 (136, 138, 140, 336, 또는 436)을 가지는 마이크로유체 디바이스들의 여러 실시형태들에서,  $V_{max}$ 는 약 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 또는 2.5  $\mu\text{L}/\text{sec}$ 로 설정될 수 있다.

[0089] 분리 챔버들 (136, 138, 140, 336, 또는 436)을 가지는 마이크로유체 디바이스들의 여러 실시형태들에서, 분리 영역 (144) (분리 챔버들 (136, 138, 또는 140)), (344) (분리 챔버들 (336)) 또는 (444) (분리 챔버들 (436))

의 체적은 예를 들어, 적어도 약  $3 \times 10^3$ ,  $6 \times 10^3$ ,  $9 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^4$ ,  $2 \times 10^4$ ,  $4 \times 10^4$ ,  $8 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $2 \times 10^5$ ,  $4 \times 10^5$ ,  $8 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $2 \times 10^6$ ,  $4 \times 10^6$ ,  $6 \times 10^6$  입방 마이크로미터, 또는 그 이상일 수 있다.

[0090] 일부 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스는 분리 챔버들 (136, 138, 140, 336, 또는 436) 을 가지며, 겨우 약  $1 \times 10^2$  개에 지나지 않는 생물학적 세포들이 유지될 수도 있으며, 분리 챔버들의 체적은 겨우 약  $2 \times 10^6$  입방 마이크로미터일 수도 있다.

[0091] 일부 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스는 분리 챔버들 (136, 138, 140, 336, 또는 436) 을 가지며, 겨우 약  $1 \times 10^2$  개의 생물학적 세포들이 유지될 수도 있으며, 분리 챔버들의 체적은 겨우 약  $4 \times 10^5$  입방 마이크로미터일 수도 있다.

[0092] 또한 다른 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스는 분리 챔버들 (136, 138, 140, 336, 또는 436) 을 가지며, 겨우 약 50 생물학적 세포들이 유지될 수도 있으며, 분리 챔버들의 체적은 겨우 약  $4 \times 10^5$  입방 마이크로미터일 수도 있다.

[0093] 여러 실시형태에서, 마이크로유체 디바이스는 본원에서 설명되는 실시형태들 중 임의의 실시형태에서와 같이 구성된 분리 챔버들을 가지며, 여기서, 마이크로유체 디바이스는 약 100 내지 약 500 개의 분리 챔버들; 약 200 내지 약 1000 개의 분리 챔버들, 약 500 내지 약 1500 개의 분리 챔버들, 약 1000 내지 약 2000 개의 분리 챔버들, 또는 약 1000 내지 약 3500 개의 분리 챔버들을 갖는다.

[0094] 어떤 다른 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스는 본원에서 설명되는 실시형태들 중 임의의 실시형태에서와 같이 구성된 분리 챔버들을 가지며, 여기서, 마이크로유체 디바이스는 약 1500 내지 약 3000 개의 분리 챔버들, 약 2000 내지 약 3500 개의 분리 챔버들, 약 2000 내지 약 4000 개의 분리 챔버들, 약 2500 내지 약 4000 개의 분리 챔버들, 또는 약 3000 내지 약 4500 개의 분리 챔버들을 갖는다.

[0095] 일부 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스는 본원에서 설명되는 실시형태들 중 임의의 실시형태에서와 같이 구성된 분리 챔버들을 가지며, 여기서, 마이크로유체 디바이스는 약 3000 내지 약 4500 개의 분리 챔버들, 약 3500 내지 약 5000 개의 분리 챔버들, 약 4000 내지 약 5500 개의 챔버들, 약 4500 내지 약 6000 개의 분리 챔버들 또는 약 5000 내지 약 6500 개의 챔버들을 갖는다.

[0096] 추가적인 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스는 본원에서 설명되는 실시형태들 중 임의의 실시형태에서와 같이 구성된 분리 챔버들을 가지며, 여기서, 마이크로유체 디바이스는 약 6000 내지 약 7500 개의 분리 챔버들, 약 7000 내지 약 8500 개의 분리 챔버들, 약 8000 내지 약 9500 개의 분리 챔버들, 약 9000 내지 약 10,500 개의 분리 챔버들, 약 10,000 내지 약 11,500 개의 분리 챔버들, 약 11,000 내지 약 12,500 개의 분리 챔버들, 약 12,000 내지 약 13,500 개의 분리 챔버들, 약 13,000 내지 약 14,500 개의 분리 챔버들, 약 14,000 내지 약 15,500 개의 분리 챔버들, 약 15,000 내지 약 16,500 개의 분리 챔버들, 약 16,000 내지 약 17,500 개의 분리 챔버들, 약 17,000 내지 약 18,500 개의 분리 챔버들을 갖는다.

[0097] 여러 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스는 본원에서 설명되는 실시형태들 중 임의의 실시형태에서와 같이 구성된 분리 챔버들을 가지며, 여기서, 마이크로유체 디바이스는 약 18,000 내지 약 19,500 개의 분리 챔버들, 약 18,500 내지 약 20,000 개의 분리 챔버들, 약 19,000 내지 약 20,500 개의 분리 챔버들, 약 19,500 내지 약 21,000 개의 분리 챔버들, 또는 약 20,000 내지 약 21,500 개의 분리 챔버들을 갖는다.

[0098] **분리 챔버들의 다른 특성들.** 디바이스 (100) (도 1a 내지 도 1c) 의 개별 분리 챔버들 (136, 138, 140) 을 정의하고 디바이스 (400) (도 4a 내지 도 4c) 의 분리 챔버들 (436) 의 분리 구조 (446) 를 형성하는 마이크로유체 회로 재료 (116) (도 1a 내지 도 1c) 및 (416) (도 4a 내지 도 4c) 의 배리어들이 물리적인 배리어들로서 위에서 예시되고 설명되지만, 배리어들이 광에 의해 광 패턴 (322) 으로 활성화되는 DEP 힘들을 포함하는 "가상" 배리어들로서 대안적으로 생성될 수 있는 것으로 인식되어야 한다.

[0099] 어떤 다른 실시형태들에서, 개별 분리 챔버들 (136, 138, 140, 336 및 436) 은 (예컨대, 검출기 및/또는 광원 (320) 을 안내하는 선택기 제어 모듈에 의해) 조사로부터 차폐될 수 있거나, 또는 단지 짧은 시간 기간들 동안에만 선택적으로 조사될 수 있다. 따라서, 분리 챔버들에 포함된 세포들 및 다른 생물학적 마이크로-오브젝트들이 분리 챔버들 (136, 138, 140, 336 및 436) 로 이동되어진 후 추가적인 (즉, 어쩌면 위험한) 조사로부터 보호될 수 있다.

- [0100] **유체 배지.** 흐름 채널 및 하나 이상의 분리 챔버들을 가지는 마이크로유체 디바이스들에 관한 상기 설명과 관련하여, 유체 배지 (예컨대, 제 1 배지 및/또는 제 2 배지) 는 생물학적 마이크로-오브젝트를 실질적으로 분석시험가능한 상태로 유지할 수 있는 임의의 유체일 수 있다. 분석시험가능한 상태는 수행되는 생물학적 마이크로-오브젝트 및 분석시험에 의존할 것이다. 예를 들어, 생물학적 마이크로-오브젝트가 관심 단백질의 분비에 대해 분석시험되고 있는 세포이면, 세포는 세포가 단백질을 발현 및 분비할 수 있다면 실질적으로 분석시험가능할 것이다.
- [0101] **생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하기.** 도 5a 는 생물학적 세포들을 유지 및 저장하는데 (예컨대, 동결할 때) 사용되는 (선행 기술의) 미세정량 웰 플레이트들의 다수의 스택들을 나타낸다. 위에서 언급한 바와 같이, 미세정량 웰 플레이트들은 마이크로유체 디바이스들과 잘 인터페이스하지 않는다. 더욱이, 이들은 상대적으로 크고 따라서 많은 양의 고가의 냉동기 공간을 점유하며, 이들이 생물학적 세포들의 저장 및 보관에 사용될 때 상당량의 고가의 세포 보호 시약들을 필요로 한다. 비교에 의해, 도 5b 는 본원에서의 개시된 실시형태들에 따라서 구성된 예시적인 마이크로유체 디바이스의 픽처이다.
- [0102] 좀더 자세하게 설명하면, 본원에서 자세하게 예시되고 설명되는 마이크로유체 디바이스의 기반구조는, 특히, 동일한 마이크로유체 디바이스가 세포들의 하향스트림 실험들 및 분석, 예컨대, 시퀀싱, 배양, 확대/클로닝/서브클로닝, 분석시험, 등 (이하에서, 일괄하여 "테스팅" 으로서 지칭됨) 에 사용될 수 있기 때문에, 생물학적 세포들에 대한 훨씬 더 효율적인 저장 용기가 되기에 적합하다. 특히, 분리 챔버들 (예컨대, 위에서 설명한 도 1a 내지 도 1c 에 나타난 디바이스 (100) 의 분리 챔버들 (136, 138 및 140)) 의 개별 분리 영역들로의 생물학적 세포들의 격리를 포함하여, 표본이 마이크로유체 디바이스에서 처음에 프로세싱된 후, 격리된 세포들의 목록 (또는, 라이브러리) 이 생성되어 마이크로유체 디바이스와 연관된 저장배지에 저장될 수도 있으며, 그 후 디바이스는 영하의 저장 냉동기에, 격리된 세포들의 테스팅에 대한 요구가 있을 때까지, (몇 일, 몇 주, 몇 월 또는 심지어 몇 년 동안) 냉동되어 저장될 수도 있다.
- [0103] 이를 위해서 그리고 도 6 을 참조하면, 마이크로유체 디바이스에서 생물학적 세포들을 프로세싱하여 저장하는 예시적인 방법은 단계 500 에서, 유동성 배지를 마이크로유체 디바이스에 도입하는 단계를 포함하며, 유동성 배지는 생물학적 세포들을 포함한다. 단계 510 에서, 유동성 배지로부터의 하나 이상의 생물학적 세포들은 마이크로유체 디바이스의 하나 이상의 분리 영역들에 격리된다. 단계 550 에서, 마이크로유체 디바이스는 안에 격리된 하나 이상의 생물학적 세포들을 포함하여, 저장을 위해 동결된다.
- [0104] **동결 전 세포 확대.** 겨우 단일 생물학적 세포만이 처음에 마이크로유체 디바이스 내에서 격리될 수도 있지만, 더 일반적으로는 적어도 단일 세포가 마이크로유체 디바이스 내 복수의 분리 영역들의 각각에 격리될 것이다. 방법의 실시형태들에서 사용되는 전형적인 마이크로유체 디바이스는 각각의 분리 영역이 약  $1.5 \times 10^5$  입방 마이크론 내지 약  $1.5 \times 10^6$  입방 마이크론의 범위인 체적을 (제한 없이) 가지는, 수십개 내지 수백개 또는 그 이상의 분리 영역들 어디든지 가질 수도 있으며, 따라서 무려 약 10 개의 세포들 내지 약 50 개, 또는 그 이상이나 되는 세포들을 격리가능할 수도 있다. 일 실시형태에서, 마이크로유체 디바이스를 동결하기 전에, 마이크로유체 디바이스의 제 1 분리 영역에서의 격리된 ("시작하는") 세포들 중 하나 이상이 복수의 "새로운" 세포들을 제 1 분리 영역에서 적어도 하나의 생존가능한 세포가 마이크로유체 디바이스를 해동한 후 제 1 분리 영역에 존재하도록 적절한 개수로 발생시키도록 배양된다.
- [0105] 이를 위해서, 동결 디바이스를 동결하기 전에 적어도 8개의 생물학적 세포들을 각각의 관심 분리 챔버에 축적하기에, 더 바람직하게는, 디바이스를 동결하기 전에 적어도 10, 16, 20, 24, 30, 또는 40 개의 생물학적 세포들을 각각의 관심 분리 챔버에 축적하기에, 충분한 배양을 허용하는 것이 바람직할 수도 있다. 일부의 경우, 일부 실시형태들에서 마이크로유체 디바이스에서 적절한 크기로 된 분리 챔버들을 가지며 동결하기 전에 50, 60, 70, 80, 90, 또는 심지어 100 개 또는 그 이상의 세포들 어디든지 관심 분리 영역들의 각각에 축적하는 것을 포함하여, 디바이스를 동결하기 전에 심지어 더 많은 수의 세포들을 각각의 관심 분리 영역에 축적하는 것이 바람직할 수도 있다. 현재 개시된 마이크로유체 디바이스들 내에서 생물학적 세포들을 확대하는 방법들은 2016년 4월 22일에 출원된 미국 특허출원 번호 제 15/135,707호에 설명되어 있으며, 이의 전체 내용들이 본원에 참고로 포함된다.
- [0106] **차단 용액들 및 차단제들.** 이론에 의해 제한하려고 의도함이 없이, 세포들이 동결되고 그 후 해동된 후, 세포 용해의 발생율이 높으며, 그 결과, 마이크로유체 디바이스의 내부 표면들이 (예컨대, 마이크로유체 디바이스의 내부 표면들, 특히 기관 표면에 부착하는 단백질들, 핵산들, 및 다른 생물학적 분자들을 포함한, 용해 세포

(들)의 세포 내용물들로 인해) 더러워질 수 있으며, 마이크로유체 디바이스의 더러워진 내측 표면들에 부착하거나 또는 "스티킹하는" 비-용해된 세포들을 초래할 수 있다. 일부 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스의 내측 표면들 중 하나 이상 (예컨대, DEP-구성된 마이크로유체 디바이스의 전극 활성 기관의 내측 표면, 마이크로유체 디바이스의 커버, 및/또는 회로 재료의 표면들)이 세포 점착 또는 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키기 위해 차단 용액 및/또는 차단제로 처리된다. 일부 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스에서 동결될 세포들이 하나 이상의 차단제들을 포함하는 차단 용액에 이입된다.

[0107] 다른 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스 (예컨대, DEP-구성된 마이크로유체 디바이스)의 내측 표면(들)은 마이크로유체 디바이스로의 세포들의 도입 전에 차단제를 포함하는 차단 용액으로 처리되거나 또는 "준비된다". 혈청 또는 혈청 인자들, 소 혈청 알부민 (BSA), 중합체들, 세척제들, 효소들, 및 이들의 임의의 조합을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 임의의 편리한 차단제/차단 용액이 사용될 수 있다. 일부 특정의 실시형태들에서, 차단제는 마이크로유체 디바이스의 내측 표면(들)을 처리하는데 사용될 것이다. 일 예에서, 알킬렌 에테르 모이어티들을 포함하는 중합체가 차단 용액에 차단제로서 포함될 수 있다. 매우 다양한 알킬렌 에테르 함유 중합체들이 적합할 수도 있다. 알킬렌 에테르 함유 중합체들의 하나의 비한정적인 예시적인 클래스는 중합체 사슬 내 상이한 비들 및 위치들에서 폴리에틸렌 산화물 (PEO) 및 폴리프로필렌 산화물 (PPO) 서브유닛들의 블록들을 포함하는 양친매성 비이온성 블록 공중합체들이다. Pluronic® 중합체들 (BASF)은 이러한 유형의 블록 공중합체들이며 살아있는 세포들과 접촉할 때 사용하기에 적합한 것으로 당업계에 알려져 있다. 중합체들은 평균 분자량  $M_w$  가 약 2000Da 내지 약 20KDa의 범위이다. 일부 실시형태들에서, PEO-PPO 블록 공중합체는 약 10 보다 큰 (예컨대, 12-18 의) 친수성-친유성 밸런스 (HLB)를 가질 수 있다. 컨디셔닝된 표면을 만드는데 유용한 특정의 Pluronic® 중합체들은 Pluronic® L44, L64, P85, 및 F127 (F127NF를 포함)를 포함한다. 알킬렌 에테르 함유 중합체들의 다른 클래스는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG  $M_w$  <100,000Da) 또는 대안적으로 폴리에틸렌 산화물 (PEO,  $M_w$  >100,000)이다. 일부 실시형태들에서, PEG는 약 1000Da, 5000Da, 10,000Da 또는 20,000Da의  $M_w$ 를 가질 수도 있다. 다른 예에서, DNase는 마이크로유체 디바이스의 기관 및/또는 벽들에의 스티킹을 초래할 수도 있는 세포핵의 DNA를 제거하기 위해 차단 용액에 차단제로 포함될 수 있다.

[0108] 일부 실시형태들에서, 차단 용액은 여러 단백질들 및/또는 펩티드들을 차단제들로서 포함할 수 있다. 특정의 실시형태에서, 본 개시물에서 사용되는 차단 용액은 차단제들로서 알부민 (예컨대, BSA) 및/또는 알부민을 포함하는 혈청 (또는, 다수의 상이한 혈청들의 조합)과 같은 단백질 및/또는 하나 이상의 다른 유사한 단백질들을 포함한다. 혈청은 태아 송아지 혈청, 양 혈청, 암소 혈청, 말 혈청 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 임의의 편리한 소스로부터 유래할 수 있다. 어떤 실시형태들에서, 차단 용액 내 BSA는 5 mg/mL, 10 mg/mL, 20 mg/mL, 30 mg/mL, 40 mg/mL, 50 mg/mL, 60 mg/mL, 70 mg/mL, 80 mg/mL, 90 mg/mL, 또는 더 이상 또는 이들 사이의 어디든지 포함하여, 약 1 mg/mL 내지 약 100 mg/mL의 범위로 존재한다. 어떤 실시형태들에서, 차단 용액 내 혈청은 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 또는 더 이상 또는 이들 사이의 어디든지 포함하여, 약 20% (v/v) 내지 약 50% v/v의 범위로 존재한다. 일부 실시형태들에서, BSA는 차단 용액에 차단제로서 5 mg/mL로 존재하는 반면, 다른 실시형태들에서, BSA는 차단 용액에서 차단제로서 70 mg/mL로 존재한다. 어떤 실시형태들에서, 혈청은 차단 용액에 차단제로서 30%로 존재한다.

[0109] **코팅 재료들.** 실시형태에 따라서, 전술한 차단제들/차단 용액들 중 임의의 것이 마이크로유체 디바이스 (예컨대, DEP-구성된 및/또는 EW-구성된 마이크로유체 디바이스)의 내측 표면(들) 중 하나 이상을 코팅하는데 사용되는 여러 코팅 재료들로 대체되거나 또는 그들과 조합하여 사용될 수 있다. 일부 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스의 적어도 하나의 표면은 표면 파울링을 감소시키고 및/또는 세포들이 표면에 스티킹하는 것을 방지하거나 또는 감소시키는 코팅 재료를 포함한다. 일부 실시형태들에서, 실질적으로 마이크로유체 디바이스의 모든 내측 표면들은 코팅 재료를 포함한다. 코팅된 내측 표면(들)은 흐름 영역 (예컨대, 채널), 챔버, 또는 격리 펜, 또는 이들의 조합의 표면을 포함할 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 복수의 격리 펜들의 각각은 코팅 재료들로 코팅된 적어도 하나의 내측 표면을 갖는다. 다른 실시형태들에서, 복수의 흐름 영역들 또는 채널들 각각은 코팅 재료들로 코팅된 적어도 하나의 내측 표면을 갖는다. 일부 실시형태들에서, 복수의 격리 펜들의 각각 및 복수의 채널들의 각각의 적어도 하나의 내측 표면은 코팅 재료들로 코팅된다.

[0110] **중합체-기반의 코팅 재료들.** 적어도 하나의 내측 표면은 중합체를 포함하는 코팅 재료를 포함할 수도 있다. 중합체는 적어도 하나의 표면에 공유 또는 비-공유 결합 (또는, 링크)될 수도 있다. 중합체는 블록 중

합체들 (및 공중합체들), 스타 (star) 중합체들 (스타 공중합체들), 및 이식 또는 콤 (comb) 중합체들 (이식 공중합체들) 에서 발견되는 바와 같은 다양한 구조적 모티프들을 가질 수도 있으며, 이들 모두는 본원에서 개시된 방법들에 모두 적합할 수도 있다.

- [0111] 중합체는 알킬렌 에테르 모이어티들을 포함하는 중합체를 포함할 수도 있다. 매우 다양한 알킬렌 에테르 함유 중합체들이 본원에서 설명되는 마이크로유체 디바이스들에의 사용에 적합할 수도 있다. 알킬렌 에테르 함유 중합체들의 하나의 비한정적인 예시적인 클래스는 중합체 사슬 내 상이한 비들 및 위치들에 폴리에틸렌 산화물 (PEO) 및 폴리프로필렌 산화물 (PPO) 서브유닛들의 블록들을 포함하는 양친매성 비이온성 블록 공중합체들이다. Pluronic® 중합체들 (BASF) 은 이러한 유형의 블록 공중합체들이며, 살아있는 세포들과 접촉할 때 사용하기에 적합한 것으로 당업계에 알려져 있다. 중합체들은 평균 분자량  $M_w$  가 약 2000Da 내지 약 20KDa 의 범위이다. 일부 실시형태들에서, PEO-PPO 블록 공중합체는 약 10 보다 큰 (예컨대, 12-18 의) 친수성-친유성 밸런스 (HLB) 를 가질 수 있다. 코팅된 표면을 만드는데 유용한 특징의 Pluronic® 중합체들은 Pluronic® L44, L64, P85, 및 F127 (F127NF 를 포함) 을 포함한다. 알킬렌 에테르 함유 중합체들의 다른 클래스는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG  $M_w < 100,000$ Da) 이거나 또는 대안적으로 폴리에틸렌 산화물 (PEO,  $M_w > 100,000$ ) 이다. 일부 실시형태들에서, PEG 는 약 1000Da, 5000Da, 10,000Da 또는 20,000Da 의  $M_w$  를 가질 수도 있다.
- [0112] 다른 실시형태들에서, 코팅 재료는 카르복시산 모이어티들을 함유하는 중합체를 포함할 수도 있다. 카르복시산 서브유닛은 알킬, 알케닐 또는 방향족 모이어티 함유 서브유닛일 수도 있다. 하나의 비한정적인 예는 폴리락트산 (PLA) 이다.
- [0113] 다른 실시형태들에서, 코팅 재료는 술폰 산 모이어티들을 함유하는 중합체를 포함할 수도 있다. 술폰 산 서브유닛은 알킬, 알케닐 또는 방향족 모이어티 함유 서브유닛일 수도 있다. 하나의 비한정적인 예는 폴리스티렌 술폰 산 (PSSA) 또는 폴리아네솔 (polyanethole) 술폰 산이다. 이들 후자의 예시적인 중합체들은 고분자 전해질들이며, 세포 스티킹을 방지하기 위해 표면의 특성들을 변화시킬 수도 있다.
- [0114] 일부 실시형태들에서, 코팅 재료는 폴리우레탄과 같은, 그러나 이에 한정됨이 없이, 우레탄 모이어티들을 함유하는 중합체를 포함할 수도 있다.
- [0115] 다른 실시형태들에서, 코팅 재료는 중합체 백본의 말단 또는 중합체의 백본으로부터의 펜던트에 포스페이트 모이어티들을 함유하는 중합체를 포함할 수도 있다.
- [0116] 다른 실시형태들에서, 코팅 재료는 사카라이드 모이어티들을 함유하는 중합체를 포함할 수도 있다. 비한정적인 예에서, 잔탄 겔 또는 텍스트란과 같은 조류 또는 곰팡이 폴리사카라이드들로부터 유래된 것과 같은 폴리사카라이드들이 마이크로유체 디바이스에서 세포 스티킹을 감소시키거나 또는 방지할 수도 있는 재료를 형성하는데 적합할 수도 있다. 예를 들어, 사이즈 약 3Kda 를 가지는 텍스트란 중합체가 마이크로유체 디바이스 내 표면에 코팅 재료를 제공하기 위해 사용될 수도 있다.
- [0117] 다른 실시형태들에서, 코팅 재료는 리보뉴클레오티드 모이어티들 또는 디옥시리보뉴클레오티드 모이어티들을 가질 수도 있는, 뉴클레오티드 모이어티들을 함유하는 중합체, 즉 핵산을 포함할 수도 있다. 핵산은 단지 천연 뉴클레오티드 모이어티들을 함유할 수도 있거나, 또는 7-디아자아데닌, 펜토오스, 메틸 포스포네이트 또는 포스포로티오레이트 모이어티들과 같은, 핵염기, 리보오스 또는 포스페이트 모이어티 아날로그들 (analogs) 을 제한 없이 포함하는 비천연 뉴클레오티드 모이어티들을 함유할 수도 있다. 핵산 함유 중합체는 세포 스티킹을 감소시키거나 또는 방지할 수도 있는 고분자 전해질을 포함할 수도 있다.
- [0118] 또한 다른 실시형태들에서, 코팅 재료는 아미노산 모이어티들을 함유하는 중합체를 포함할 수도 있다. 아미노산 모이어티들을 함유하는 중합체는 천연 아미노산 함유 중합체 또는 비천연 아미노산 함유 중합체를 포함할 수도 있으며, 이들 중 어느 쪽이든 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질을 포함할 수도 있다. 하나의 비한정적인 예에서, 단백질은 소 혈청 알부민 (BSA) 일 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 세포외 기질 (ECM) 단백질이 세포 성장을 촉진시키기 위해 최적화된 세포 부착을 위해서 코팅 재료 내에 제공될 수도 있다. 코팅 재료에 포함될 수도 있는 세포 기질 단백질은 아교질, 엘라스틴, RGD-함유 펩티드 (예컨대, 파이프록네티), 또는 라미닌을 포함할 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 또한 다른 실시형태들에서, 성장 인자들, 시토킨들, 호르몬들 또는 다른 세포 시그널링 종 (cell signaling species) 이 마이크로유체 디바이스의 코팅 재료 내에 제공될 수도 있다.

- [0119] 추가적인 실시형태들에서, 코팅 재료는 아민 모이어티들을 포함하는 중합체를 포함할 수도 있다. 폴리아미노 중합체는 천연 폴리아민 중합체 또는 합성 폴리아민 중합체를 포함할 수도 있다. 천연 폴리아민들의 예들은 스펜트린, 스펜트미딘, 및 푸트레신을 포함한다.
- [0120] 일부 실시형태들에서, 코팅 재료는 하나 보다 많은, 알킬렌 산화물 모이어티들, 카르복시산 모이어티들, 술폰 산 모이어티들, 포스페이트 모이어티들, 사카라이드 모이어티들, 뉴클레오타이드 모이어티들, 또는 아미노산 모이어티들을 함유하는 중합체를 포함할 수도 있다. 다른 실시형태들에서, 중합체 컨디셔닝된 표면은 코팅 재료에 독립적으로 또는 동시에 포함될 수도 있는, 알킬렌 산화물 모이어티들, 카르복시산 모이어티들, 술폰 산 모이어티들, 포스페이트 모이어티들, 사카라이드 모이어티들, 뉴클레오타이드 모이어티들, 및/또는 아미노산 모이어티들을 각각 가지는 하나 보다 많은 중합체의 혼합물을 포함할 수도 있다.
- [0121] **공유 결합된 코팅 재료들.** 일부 실시형태들에서, 적어도 하나의 내측 표면은 표면 파울링을 감소시키고 및/또는 마이크로유체 디바이스의 표면의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키는 공유 결합된 분자들을 포함한다. 공유 결합된 분자들은 연결기를 포함하며, 여기서, 연결기는 마이크로유체 디바이스의 표면에 공유 결합된다. 연결기는 또한 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 마이크로유체 디바이스의 표면의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 모이어티에 공유 결합된다. 연결기가 링크하는 표면은 마이크로유체 디바이스가 DEP 구성을 포함하는 실시형태들에 있어, 실리콘 및/또는 실리콘 이산화물을 포함할 수 있는 마이크로유체 디바이스의 기관의 표면을 포함할 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 공유 결합된 코팅 재료들은 실질적으로 마이크로유체 디바이스의 내측 표면들의 모두를 코팅한다.
- [0122] 일부 실시형태들에서, 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 마이크로유체 디바이스의 표면의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 공유 결합된 모이어티는 알킬 또는 (퍼플루오로알킬을 포함하는) 플루오로알킬 모이어티들; 모노사카라이드들 또는 (텍스트란을 포함할 수도 있지만 이에 한정되지 않는) 폴리사카라이드들; (프로파르길 알코올을 포함하지만 이에 한정되지 않는) 알코올류; 폴리비닐 알코올을 포함하지만 이에 한정되지 않는 폴리알콜들; 폴리에틸렌 글리콜을 포함하지만 이에 한정되지 않는 알킬렌 에테르들; (폴리아크릴산 또는 폴리비닐 포스폰산을 포함하지만 이에 한정되지 않는) 고분자 전해질들; (알킬화된 아민들, 하이드록시알킬화된 아미노 기, 구아니디늄, 및 모르폴리닐 또는 피페라지닐과 같은, 그러나 이에 한정되지 않는 비방향족화된 질소 고리 원자를 함유하는 이종고리 기들과 같은, 그러나 이에 한정되지 않는 그 유도체들을 포함하는) 아미노 기들; (카르복실레이트 음이온의 표면을 제공할 수도 있는) 프로피올 산을 포함하지만 이에 한정되지 않는 카르복시산들; (포스포네이트 음이온의 표면을 제공할 수도 있는) 에틸닐 포스폰산을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 포스폰산들; 술포네이트 음이온들; 카르복시베타인들; 술포베타인들; 술팜 산들; 또는 아미노산들을 포함할 수도 있다.
- [0123] 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 마이크로유체 디바이스의 표면의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 공유 결합된 모이어티는 본원에서 설명된 바와 같은 임의의 중합체일 수도 있으며, 알킬렌 산화물 모이어티들, 카르복시산 모이어티들, 사카라이드 모이어티들, 술폰 산 모이어티들, 포스페이트 모이어티들, 아미노산 모이어티들, 핵산 모이어티들, 또는 아미노 모이어티들을 함유하는 하나 이상 중합체들을 포함할 수도 있다.
- [0124] 다른 실시형태들에서, 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 마이크로유체 디바이스의 표면의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 공유 결합된 모이어티는 알킬 모이어티, (퍼플루오로알킬 모이어티를 포함하지만 이에 한정되지 않는) 플루오로알킬 모이어티와 같은 치환된 알킬 모이어티, 아미노산 모이어티, 알코올 모이어티, 아미노 모이어티, 카르복시산 모이어티, 포스폰산 모이어티, 술폰 산 모이어티, 술팜 산 모이어티, 또는 사카라이드 모이어티와 같은, 비-중합체 모이어티들을 포함할 수도 있다.
- [0125] 일부 실시형태들에서, 공유 결합된 모이어티는 선형 사슬 (예컨대, 적어도 10 개의 탄소들, 또는 적어도 14, 16, 18, 20, 22 개, 또는 더 이상의 탄소들의 선형 사슬) 을 형성하는 탄소 원자들을 포함하는 알킬 기일 수도 있다. 따라서, 알킬 기는 비분지된 알킬일 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 알킬 기는 치환된 알킬 기를 포함할 수도 있다 (예컨대, 알킬 기에서의 탄소들의 일부가 플루오르화되거나 또는 퍼플루오르화될 수 있다). 알킬 기는 비-치환된 탄소들의 선형 사슬에 결합된 치환된 (예컨대, 플루오르화된 또는 퍼플루오르화) 탄소들의 선형 사슬을 포함할 수도 있다. 예를 들어, 알킬 기는 비-치환된 알킬 기를 포함할 수도 있는, 제 2 세그먼트에 결합된, 퍼플루오로알킬 기를 포함할 수도 있는, 제 1 세그먼트를 포함할 수도 있다. 제 1 및 제 2 세그먼트들은 (예컨대, 에테르 결합에 의해) 직접 또는 간접적으로 결합될 수도 있다. 알킬 기의 제 1 세그먼트는 연결기의 원위에 위치될 수도 있으며, 알킬 기의 제 2 세그먼트는 연결기의 근위에 위치될 수도 있

다. 다른 실시형태에서, 알킬 기는 분지된 알킬 기를 포함할 수도 있으며 알킬 기의 알킬 백본을 차단하는 하나 이상의 아릴렌 기를 더 가질 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 알킬 또는 플루오로화된 알킬 기의 분지된 또는 아릴렌-차단된 부분은 연결기의 원위의 지점 및 표면의 공유 결합에 위치된다.

[0126] 다른 실시형태들에서, 공유 결합된 모이어티는 하나 보다 많은 아미노산의 유형을 포함할 수도 있는 적어도 하나의 아미노산을 포함할 수도 있다. 따라서, 공유 결합된 모이어티는 펩티드 또는 단백질을 포함할 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 공유 결합된 모이어티는 세포 성장, 생존력, 이식성, 또는 이들의 임의의 조합을 서포트하기 위한 쌍성 이온 표면을 제공할 수도 있는 아미노산을 포함할 수도 있다.

[0127] 공유 결합된 모이어티는 하나 이상의 사카라이드들을 포함할 수도 있다. 공유 결합된 사카라이드들은 모노-, 디-, 또는 폴리사카라이드들일 수도 있다. 공유 결합된 사카라이드들은 표면의 부착을 위한 커플링 또는 정교화를 허용하는 반응 페어링 모이어티를 도입하기 위해 개질될 수도 있다. 예시적인 반응 페어링 모이어티들은 알데히드, 알킨 또는 할로 모이어티들을 포함할 수도 있다. 폴리사카라이드들은 무작위 방식으로 개질될 수도 있으며, 사카라이드 단량체들의 각각은 개질될 수도 있거나 또는 단지 폴리사카라이드들 내 사카라이드 단량체들의 부분만이 표면에 직접 또는 간접적으로 커플링될 수도 있는 반응 페어링 모이어티를 제공하도록 개질된다. 하나의 표본은 비분지된 링커를 통해서 표면에 간접적으로 커플링될 수도 있는 텍스트란 폴리사카라이드들을 포함할 수도 있다.

[0128] 공유 결합된 모이어티는 하나 이상의 아미노 기들을 포함할 수도 있다. 아미노 기는 치환된 아민 모이어티, 구아니딘 모이어티, 질소-함유 이중환형 모이어티 또는 헤테로아릴 모이어티일 수도 있다. 아미노 함유 모이어티들은 마이크로유체 디바이스 내에서, 옵션적으로는, 격리 펜들 및/또는 흐름 영역들 (예컨대, 채널들) 내에 환경의 pH 변화를 허용하는 구조들을 가질 수도 있다.

[0129] 코팅 재료는 단지 공유 결합된 모이어티의 일종만을 포함할 수도 있거나 또는 하나 보다 많은 상이한 종류의 공유 결합된 모이어티를 포함할 수도 있다. 예를 들어, (피플루오로알킬을 포함하는) 플루오로알킬 컨디셔닝된 표면들은 모두 동일한, 예컨대, 플루오로알킬 모이어티를 포함하는 플루오로메틸렌 유닛들의 표면의 동일한 연결기 및 공유 결합, 동일한 전체 길이, 및 동일한 개수를 가지는, 복수의 공유 결합된 모이어티들을 가질 수도 있다. 대안적으로, 코팅 재료는 표면에 부착된 하나 보다 많은 종류의 공유 결합된 모이어티를 가질 수도 있다. 예를 들어, 코팅 재료는 규정된 개수의 메틸렌 또는 플루오로메틸렌 유닛들을 가지는 공유 결합된 알킬 또는 플루오로알킬 모이어티들을 가지는 분자들을 포함할 수도 있으며, 더 많은 개수의 메틸렌 또는 플루오로메틸렌 유닛들을 가지는 알킬 또는 플루오로알킬 사슬에 부착된 공유결합으로 대전된 (charged) 모이어티들을 가지는 분자들의 추가적인 세트를 더 포함할 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 하나 보다 많은 종류의 공유 결합된 모이어티를 가지는 코팅 재료는, 더 많은 개수의 백본 원자들, 따라서, 표면의 공유 결합으로부터의 더 긴 길이를 가지는 분자들의 제 1 세트가 코팅된 표면에서 부피가 큰 모이어티들을 제공하기 위한 용량을 제공할 수도 있는 반면, 상이한, 덜 입체적으로 (sterically) 요구되는 말단들 및 더 적은 백본 원자들을 가지는 분자들의 제 2 세트는 전체 기관 표면을 기능화시키는 것을 도움으로써 기관 자체를 구성하는 실리콘 또는 알루미늄과의 원하지 않는 접촉 또는 접촉을 방지할 수 있도록, 설계될 수도 있다. 다른 예에서, 공유 결합된 모이어티들은 교번 전하들을 무작위 방식으로 표면 상에 제공하는 쌍성 이온 표면을 제공할 수도 있다.

[0130] **컨디셔닝된 표면 특성들.** 일부 실시형태들에서, 공유 결합된 모이어티들은 마이크로유체 디바이스의 표면 (예컨대, DEP 구성된 기관 표면) 에 공유 결합될 때 단분자막을 형성할 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 공유 결합된 모이어티들에 의해 형성되는 컨디셔닝된 표면은 10 nm 미만 (예컨대, 5 nm 미만, 또는 약 1.5 내지 3.0 nm) 의 두께를 가질 수도 있다. 다른 실시형태들에서, 공유 결합된 모이어티들에 의해 형성되는 컨디셔닝된 표면은 약 10 nm 내지 약 50 nm 의 두께를 가질 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 컨디셔닝된 표면은 DEP-구성된 마이크로유체 디바이스 내 동작을 위해 완벽하게 형성된 단분자막이 적합하게 기능할 것을 요구하지는 않는다.

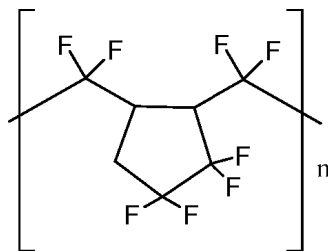
[0131] 여러 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스의 코팅 재료는 바람직한 전기적 특성들을 제공할 수도 있다. 이론에 의해 제한하려고 의도함이 없이, 특정의 코팅 재료로 코팅된 표면의 강건성에 영향을 미치는 하나의 인자는 고유 전하 트래핑이다. 상이한 코팅 재료들은 전하들을 트래핑할 수도 있으며, 이는 코팅 재료의 파괴를 초래할 수 있다. 코팅 재료에서의 결합들은 전하 트래핑을 증가시켜 코팅 재료의 추가적인 파괴를 초래할 수도 있다. 이와 유사하게, 상이한 코팅 재료들은 전하 트래핑에 영향을 미칠 수도 있는 상이한 유전체 강도들 (즉, 유전 파괴를 초래하는 최소 인가된 전기장) 을 갖는다. 어떤 실시형태들에서, 코팅 재료는 그 전하 트래핑의 양을 감소시키거나 또는 제한하는 전체 구조 (예컨대, 조밀하게-패킹된 단분자막 구조) 를 가질

수 있다.

- [0132] 코팅 재료의 조성물을 제외하고는, 코팅 재료의 물리적 (및 전기적) 두께와 같은 다른 인자들이 마이크로유체 디바이스에서의 기관에 의한 DEP 힘 및/또는 전기습윤 힘의 발생에 영향을 미칠 수 있다. 코팅 재료가 기관 상에 퇴적되는 방법 (예컨대, 증착, 액상 퇴적, 스핀 코팅, 또는 정전 코팅) 을 포함한, 여러 인자들이 코팅 재료의 물리적 및 전기적 두께를 변경할 수 있다. 코팅 재료의 물리적 두께 및 균일성은 타원편광계측기를 이용하여 측정될 수 있다.
- [0133] 그들의 전기적 특성들 이외에도, 코팅 재료는 생물학적 분자들과의 사용에 유익한 특성들을 가질 수도 있다. 예를 들어, 플루오르화된 (또는, 퍼플루오르화) 알킬 기들을 포함하는 코팅 재료들은 표면 파울링의 양을 감소시키는데 있어서 비치환된 알킬 기들에 비해 이점을 제공할 수도 있다. 표면 파울링은, 본원에서 사용할 때, 마이크로유체 디바이스의 표면 상에 무차별적으로 퇴적되는 재료의 양을 지칭하며, 단백질 및 분해 산물들, 핵산들, 및 개별 분해 산물들과 같은, 생체물질들의 영구적인 또는 반-영구적인 퇴적을 포함할 수도 있다. 이러한 파울링은 표면의 생물학적 마이크로-오브젝트들의 접착의 양을 증가시킬 수 있다.
- [0134] 마이크로유체 디바이스들에서 사용될 수 있는 상이한 코팅 재료들에 대한 여러 전기적 및 기능적 특성들이 아래 테이블에 포함된다.
- [0135] 컨디셔닝된 표면의 조성물을 제외하고는, 소수성 재료의 물리적인 두께와 같은 다른 인자들이 DEP 힘에 영향을 미칠 수 있다. 컨디셔닝된 표면이 기관 상에 형성되는 방법 (예컨대, 증착, 액상 퇴적, 스핀 코팅, 플러딩 (flooding), 및 정전 코팅) 과 같은, 여러 인자들이 컨디셔닝된 표면의 물리적인 두께를 변경할 수 있다. 컨디셔닝된 표면의 물리적인 두께 및 균일성은 타원편광계측기를 이용하여 측정될 수 있다.
- [0136] 그의 전기적 특성들에 더해서, 컨디셔닝된 표면은 또한 생물학적 분자들과의 사용에 유익한 특성들을 가질 수도 있다. 예를 들어, 플루오르화된 (또는, 퍼플루오르화) 탄소 사슬들을 포함하는 컨디셔닝된 표면은 표면 파울링의 양을 감소시키는데 있어서 알킬-말단 사슬들에 비해 이점을 제공할 수도 있다. 표면 파울링은, 본원에서 사용할 때, 마이크로유체 디바이스의 표면 상의 무분별한 재료 퇴적의 양을 지칭하며, 단백질 및 그의 분해 산물들, 핵산들 및 개별 분해 산물들 및 기타 등등과 같은, 생체물질들의 영구적인 또는 반-영구적인 퇴적을 포함할 수도 있다.
- [0137] DEP 구성들에서 사용될 수도 있는 컨디셔닝된 표면들에 대한 여러 특성들이 아래 테이블에 포함된다. 볼 수 있는 바와 같이, 본원에서 설명된 바와 같은 모든 공유 결합된 컨디셔닝된 표면들이었던 엔트리들 1 내지 7 에 대해, 타원편광법에 의해 측정된 두께는 일관하여 엔트리 8, 즉, 비-공유 스핀 코팅에 의해 형성된 CYTOP 표면의 두께보다 더 얇았다 (N/A 는 테이블 전체 걸쳐서 이용불가능한 데이터를 나타낸다). 파울링은, 플루오르화된 표면들이 일반적으로 알킬 (하이드로카본) 컨디셔닝된 표면들보다 덜 파울링되었기 때문에, 형성의 모드보다 표면의 화학적 성질에 더 의존하는 것으로 발견되었다.
- [0138] **테이블 1.** CYTOP, 즉, 비-공유결합으로 형성된 표면과 비교한, 표면을 공유결합으로 개질하여 준비된 여러 컨디셔닝된 표면들의 특성들.

| 표면 개질 유형                                              | 표면 개질 시약의 화학식                                                                                                                                             | 두께        | 파울링                        |
|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|----------------------------|
| 알킬 말단 실록산 (C <sub>15</sub> )                          | CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>15</sub> -Si-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>                                                                    | N/A       | 플루오르화된 층들보다 더 많은 파울링.      |
| 알킬 말단 실록산 (C <sub>18</sub> )                          | CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>17</sub> -Si-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>                                                                    | ~ 2nm     | 플루오르화된 층들보다 더 많은 파울링.      |
| 알킬-말단 포스포네이트 에스테르 C <sub>18</sub> PA                  | CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>17</sub> -P=O(OH) <sub>2</sub>                                                                                   | N/A       | 플루오르화된 층들보다 더 많은 파울링.      |
| 알킬 말단 실록산 (C <sub>22</sub> )                          | CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>21</sub> -Si-(OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>                                                    | ~2-2.5 nm | 플루오르화된 층들보다 더 많은 파울링.      |
| 플루오로-알킬-말단 알킬-실록산 C <sub>10</sub> F                   | CF <sub>3</sub> -(CF <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -Si-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>                                    | ~1 nm     | 알킬-말단 층들보다 더 많은 파울링에 대한 내성 |
| 플루오로-알킬-말단 알킬-실록산 (C <sub>18</sub> F)                 | CF <sub>3</sub> -(CF <sub>2</sub> ) <sub>15</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -Si-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>                                   | ~2 nm     | 알킬-말단 층들보다 더 많은 파울링에 대한 내성 |
| 플루오로-알킬-말단 알콕시-알킬-실록산 C <sub>8</sub> FC <sub>13</sub> | CF <sub>3</sub> -(CF <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> -Si(OCH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> | ~2 nm     | N/A                        |
| CYTOP 불소중합체 <sup>1,2</sup>                            |                                                                                                                                                           | ~30 nm    | 알킬-말단 층들보다 더 많은 파울링에 대한 내성 |

[0139]



[0140]

1. CYTOP 구조:

[0141]

2. 스핀 코팅됨, 공유결합되지 않음.

[0142]

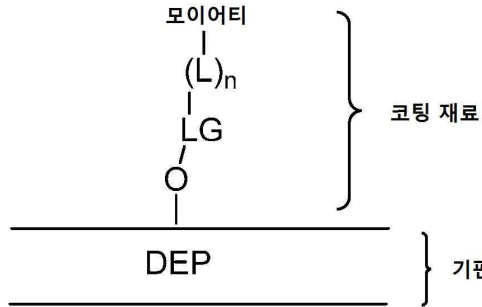
**표면의 연결기.** 코팅 재료를 형성하는 공유 결합된 모이어티들은 연결기를 통해서 표면에 부착된다. 연결기는 (예컨대, DEP-구성된 기판에 대해) 실리콘 산화물 또는 (예컨대, EW-구성된 기판에 대해) 알루미늄 산화물 또는 하프늄 산화물을 포함할 수 있는, 기판 표면의 산화물들과의 실록산-함유 시약의 반응에 의해 형성된 실록시 연결기일 수도 있다. 어떤 다른 실시형태들에서, 연결기는 기판 표면의 산화물들과의 시약을 함유하는 포스포산의 반응에 의해 형성된 포스포네이트 에스테르일 수도 있다.

[0143]

**멀티-부분 컨디셔닝된 표면.** 공유 결합된 코팅 재료는 아래에서 설명되는 바와 같이, 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 마이크로유체 디바이스의 표면의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 모이어

티 (예컨대, 알킬 실록산 시약 또는 퍼플루오로알킬 실록산 시약을 포함할 수도 있는 플루오로-치환된 알킬 실록산 시약) 를 이미 함유하는 분자의 반응에 의해 형성될 수도 있다. 대안적으로, 공유 결합된 코팅 재료는 표면 파울링을 감소시키고 및/또는 자체가 표면에 공유 결합된 표면 개질 리간드에의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 모이어티를 커플링함으로써 형성될 수도 있다.

**[0144] 공유 결합된 코팅 재료를 준비하는 방법들.** 일부 실시형태들에서, (예컨대, 격리 펜들 및/또는 흐름 영역들의 적어도 하나의 표면을 포함한) 마이크로유체 디바이스의 표면에 공유 결합되는 코팅 재료는 화학식 1 의 구조를 갖는다.



**[0145]** 화학식 1

**[0147]** 코팅 재료는 DEP-구성된 기판의 표면의 산화물들에 공유 결합될 수도 있다. DEP-구성된 기판은 실리콘 또는 알루미늄 또는 하프늄 산화물을 포함할 수도 있으며, 산화물들은 기판의 본래의 화학적 구조의 부분으로서 제공될 수도 있거나 또는 아래에서 설명되는 바와 같이 도입될 수도 있다.

**[0148]** 코팅 재료는 산화물들과의 실록산 또는 포스포산 기의 반응으로부터 형성된 실록시 또는 포스포네이트 에스테르 기일 수도 있는 연결기 ("LG") 를 통해서 산화물들에 부착될 수도 있다. 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 마이크로유체 디바이스의 표면의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 모이어티는 본원에서 설명되는 모이어티들 중 임의의 모이어티일 수 있다. 연결기 LG 는 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 마이크로유체 디바이스의 표면의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 모이어티에 직접 또는 간접적으로 접속될 수도 있다. 연결기 LG 가 모이어티에 직접 접속될 때, 옵션적인 링커 ("L") 가 존재하지 않으며 n은 0 이다. 연결기 LG 가 모이어티에 간접적으로 접속될 때, 링커 L 이 존재하며 n은 1 이다. 링커 L 은 선형 부분을 가질 수도 있으며, 여기서, 선형 부분의 백본은 당업계에 공지되어 있는 바와 같이 화학적 본딩 제한들을 받는, 실리콘, 탄소, 질소, 산소, 황 및 인 원자들의 임의의 조합 중에서 선택된 1 내지 200 개의 비-하이드로젠 원자들을 포함할 수도 있다. 일부 비한정적인 예들에서, 이것은 에테르, 아미노, 카르보닐, 아미도, 또는 포스포네이트 기들을 포함하는 기로부터 선택된 하나 이상의 모이어티들의 임의의 조합으로 차단될 수도 있다. 추가적으로, 링커 L 은 링커의 백본을 차단하는 하나 이상의 아릴렌, 헤테로아릴렌, 또는 이종고리 기들을 가질 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 링커 L 의 백본은 10 내지 20 개의 원자들을 포함할 수도 있다. 다른 실시형태들에서, 링커 L 의 백본은 약 5 개의 원자들 내지 약 200 개의 원자들; 약 10 개의 원자들 내지 약 80 개의 원자들; 약 10 개의 원자들 내지 약 50 개의 원자들; 또는 약 10 개의 원자들 내지 약 40 원자들을 포함할 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 백본 원자들은 모두 탄소 원자들이다. 다른 실시형태들에서, 백본 원자들은 모두 탄소들이 아니며, 당업계에 공지되어 있는 바와 같이 화학적 본딩 제한들을 받는, 실리콘, 탄소, 질소, 산소, 황 또는 인 원자들의 임의의 가능한 조합을 포함할 수도 있다.

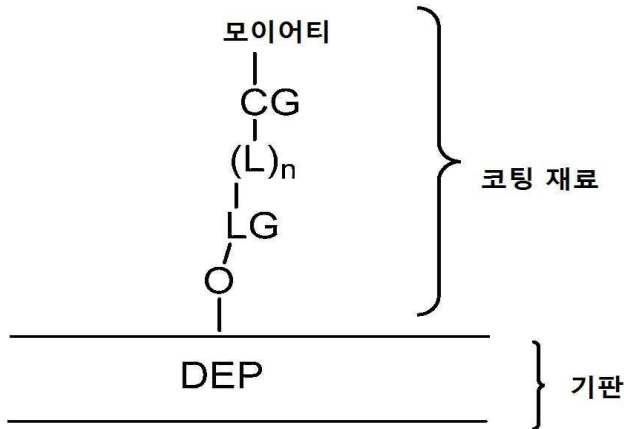
**[0149]** 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 마이크로유체 디바이스의 표면의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 모이어티가 기판의 표면에 하나의 단계 프로세스로 첨가될 때, 화학식 2 의 분자가 다음 코팅 재료를 도입하기 위해 사용될 수도 있다:

**[0150]** 모이어티 - (L)<sub>n</sub> - LG.

**[0151]** 화학식 2

**[0152]** 일부 실시형태들에서, 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 마이크로유체 디바이스의 표면의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 모이어티가 기판의 표면에 멀티-단계 프로세스로 첨가될 수도 있다. 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 모이어티가 표면에 단계적 방식으로 커플링될 때, 링커 L 은 화학식 3 에 나타난 바와 같이, 커플링 기 CG 를 더 포함할 수도

있다.



[0153]

[0154]

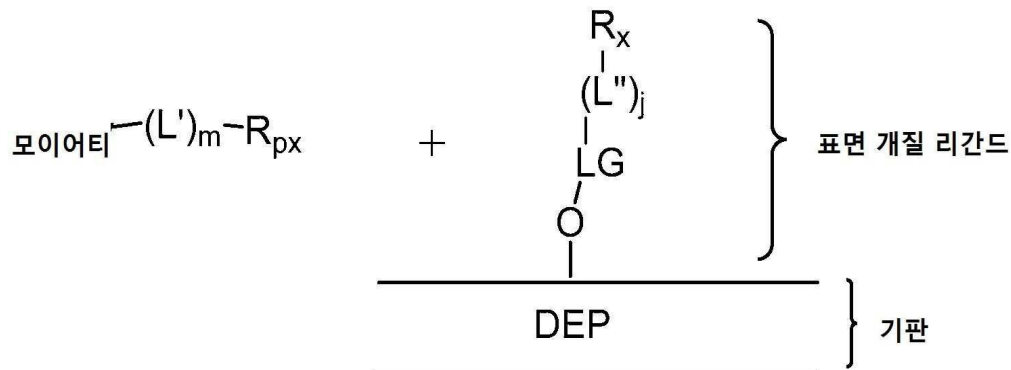
화학식 3

[0155]

일부 실시형태들에서, 커플링 기 CG 는 반응 모이어티 R<sub>x</sub> 와 반응 페어링 모이어티 R<sub>px</sub> (즉, 반응 모이어티 R<sub>x</sub> 와 반응하도록 구성된 모이어티) 의 반응으로부터의 최종적인 기를 나타낸다. 예를 들어, 하나의 전형적인 커플링 기 CG 는 활성화된 에스테르, 산 염화물 또는 기타 등등과 같은, 카르복시산의 유도체와의 아미노 기의 반응의 결과물인 카르복사미드 기를 포함할 수도 있다. 다른 CG 는 트리아졸리렌 기, 카르복사미드, 티오아미드, 옥심, 메르캡탈, 디설파이드, 에테르, 또는 알케닐 기, 또는 그의 개별 반응 페어링 모이어티와의 반응 모이어티의 반응 시 형성될 수도 있는 임의의 다른 적합한 기를 포함할 수도 있다. 커플링 기 CG 는 링커 L 의 제 2 단부 (즉, 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 마이크로유체 디바이스의 표면에의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 모이어티의 근위의 단부) 에 위치될 수도 있다. 어떤 다른 실시형태들에서, 커플링 기 CG 는 링커 L 의 백본을 차단할 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 커플링 기 CG 는, 이들 중 어느 하나가 클릭 커플링 반응들에서의 사용을 위해 당업계에 공지되어 있는 바와 같이, 반응 모이어티 R<sub>x</sub> 또는 반응 페어링 모이어티 R<sub>px</sub> 일 수도 있는, 알킨 기와 아지드 기 사이의 반응의 결과물인 트리아졸리렌이다. 트리아졸리렌 기는 또한 추가로 치환될 수도 있다. 예를 들어, 디벤조시클로옥테닐 융합된 (fused) 트리아졸리렌 기는 표면 개질 분자의 아지도 반응 모이어티 R<sub>x</sub> 와의 디벤조시클로옥티닐 반응 페어링 모이어티 R<sub>px</sub> 에 결합된 모이어티의 반응으로부터 유래할 수도 있으며, 이는 다음 단락들에서 좀더 자세히 설명된다. 다양한 디벤조시클로옥티닐 개질된 분자들은 당업계에 공지되어 있거나 또는 세포 성장, 생존력, 이식성, 또는 이들의 임의의 조합을 서포트하도록 구성된 모이어티를 포함하도록 합성될 수도 있다.

[0156]

코팅 재료가 멀티-단계 프로세스로 형성될 때, 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 마이크로유체 디바이스의 표면에의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 모이어티가 그에 공유 결합된 표면 개질 리간드 (화학식 6) 를 가지는 기판과의 모이어티-함유 시약 (화학식 5) 의 반응에 의해 도입될 수도 있다.



[0157]

[0158]

화학식 5

화학식 6

[0159]

화학식 4 의 개질된 표면은 기판의 산화물에 링크되며 화학식 1 의 컨디셔닝된 표면에 대해 위에서 설명한 바와

같이 유사하게 형성되는,  $-LG-(L'')_j-R_x$  의 화학식을 가지는, 그에 부착된 표면 개질 리간드를 갖는다. 기판의 표면은 위에서 설명한 바와 같이 DEP-구성된 기판 표면일 수 있으며, 기판에 고유하거나 또는 그 내부에 도입되는 산화물들을 포함할 수 있다. 연결기 LG 는 위에서 설명한 바와 같다. 링커  $L''$  은 존재하거나 ( $j=1$ ) 또는 부재할 수도 있다 ( $j=0$ ). 링커  $L''$  은 선형 부분을 가질 수도 있으며, 여기서, 선형 부분의 백본은 당업계에 공지되어 있는 바와 같이 화학적 본딩 제한들을 받는, 실리콘, 탄소, 질소, 산소, 황 및 인 원자들의 임의의 조합 중에서 선택된, 1 내지 100 개의 비-하이드로젠 원자들을 포함할 수도 있다. 일부 비한정적인 예들에서, 이것은, 에테르, 아미노, 카르보닐, 아미도, 또는 포스포네이트 기들의 임의의 조합으로 차단될 수도 있다. 추가적으로, 링커  $L''$  은 링커의 백본을 차단하는 하나 이상의 아릴렌, 헤테로아릴렌, 또는 이중고리 기들을 가질 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 링커  $L''$  의 백본은 10 내지 20 개의 탄소 원자들을 포함할 수도 있다. 다른 실시형태들에서, 링커  $L''$  의 백본은 약 5 개의 원자들 내지 약 100 개의 원자들; 약 10 개의 원자들 내지 약 80 개의 원자들, 약 10 개의 원자들 내지 약 50 개의 원자들, 또는 약 10 개의 원자들 내지 약 40 개의 원자들을 포함할 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 백본 원자들은 모두 탄소 원자들이다. 다른 실시형태들에서, 백본 원자들은 모두 탄소들이 아니며, 당업계에 공지되어 있는 바와 같이 화학적 본딩 제한들을 받는, 실리콘, 탄소, 질소, 산소, 황 또는 인 원자들의 임의의 가능한 조합을 포함할 수도 있다.

[0160] 반응 모이어티  $R_x$  는 표면과의 표면 개질 리간드의 공유 결합의 원위의 표면 개질 리간드의 말단에 존재한다.

반응 모이어티  $R_x$  는 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 마이크로유체 디바이스의 표면의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 모이어티를 도입시키기 위한 커플링 반응들에 유용한 임의의 적합한 반응 모이어티이다. 일부 실시형태들에서, 반응 모이어티  $R_x$  는 아지도, 아미노, 브로모, 티올, 활성화된 에스테르, 숙신이미드 또는 알킬닐 모이어티일 수도 있다.

[0161] **모이어티-함유 시약.** 모이어티-함유 시약 (화학식 5) 은 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 마이크로유체 디바이스의 표면의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 모이어티를 공급하도록 구성된다.

[0162] 모이어티- $(L')_m-R_{px}$

[0163] 화학식 5

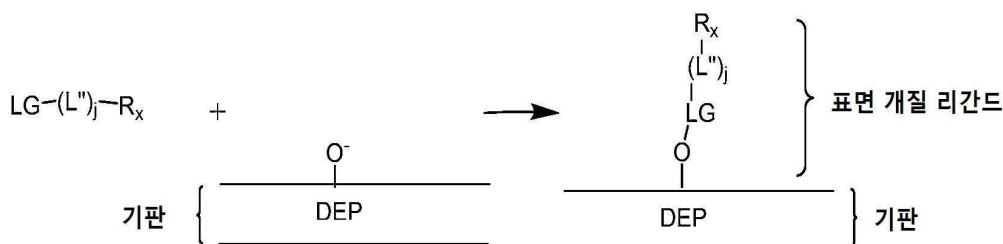
[0164] 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 모이어티-함유 시약의 마이크로유체 디바이스의 표면의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 모이어티가 반응 모이어티  $R_x$  와의 반응 페어링 모이어티  $R_{px}$  의 반응에 의해 표면 개질 리간드에 링크된다. 반응 페어링 모이어티  $R_{px}$  는 개별 반응 모이어티  $R_x$  와 반응하도록 구성된 임의의 적합한 반응 기이다. 하나의 비한정적인 예에서, 하나의 적합한 반응 페어링 모이어티  $R_{px}$  는 알킬일 수도 있으며, 반응 모이어티  $R_x$  는 아지도일 수도 있다. 반응 페어링 모이어티  $R_{px}$  는 대안적으로, 아지도 모이어티일 수도 있으며, 개별 반응 모이어티  $R_x$  는 알킬일 수도 있다. 다른 실시형태들에서, 반응 페어링 모이어티  $R_{px}$  는 활성화 에스테르 작용기일 수도 있으며, 반응 모이어티  $R_x$  는 아미노 기일 수도 있다. 다른 실시형태들에서, 반응 페어링 모이어티  $R_{px}$  는 알데히드일 수도 있으며, 반응 모이어티  $R_x$  는 아미노일 수도 있다. 다른 반응 모이어티-반응 페어링 모이어티 조합들이 가능하며, 이들 예들은 결코 한정하는 것이 아니다.

[0165] 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 화학식 5 의 모이어티-함유 시약의 마이크로유체 디바이스의 표면의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 모이어티는 알킬 또는 (퍼플루오로알킬을 포함하는) 플루오로알킬 모이어티들; 모노사카라이드들 또는 (텍스트란을 포함할 수도 있지만 이에 한정되지 않는) 폴리사카라이드들; (프로파르길 알코올을 포함하지만 이에 한정되지 않는) 알코올류; 폴리비닐 알코올을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 폴리알콜들; 폴리에틸렌 글리콜을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 알킬렌 에테르들; (폴리아크릴산 또는 폴리비닐 포스포산을 포함하지만 이에 한정되지 않는) 고분자 전해질들; (알킬화 아민들, 하이드록시알킬화 아미노 기, 구아니디늄, 및 모르폴리늄 또는 피페라지늄과 같은, 그러나 이에 한정되지 않는, 비방향족화된 질소 고리 원자를 포함하는 이중고리 기들과 같은, 그러나 이에 한정되지 않는, 그 유도체들을 포함하는) 아미노 기들; (카르복실레이트 음이온의 표면을 제공할 수도 있는) 프로피올 산을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 카르복시산들; (포스포네이트 음이온의 표면을 제공할 수도 있는) 에틸닐 포스포산을 포함하지만 이에 한정되지 않는, 포스포산들; 술포네이트 음이온들; 카르복시페타인들; 술포페타인들; 술폰 산들; 또는 아미노산들을 포함한, 본원에서 설명되는 모이어티들 중 임의의 모이어티를 포함할 수도 있다.

[0166] 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 화학식 5의 모이어티-함유 시약의 마이크로유체 디바이스의 표면에의 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 모이어티는 반응 페어링 모이어티  $R_{px}$ 에 직접 접촉되거나 (즉,  $L'$ , 여기서  $m=0$ ) 또는 간접적으로 접촉될 수도 있다. 반응 페어링 모이어티  $R_{px}$ 가 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 모이어티에 간접적으로 접촉될 때, 반응 페어링 모이어티  $R_{px}$ 는 링커  $L'$  ( $m=1$ )에 접촉될 수도 있다. 반응 페어링 모이어티  $R_{px}$ 는 링커  $L'$ 의 제 1 단부에 접촉될 수도 있으며, 표면 파울링을 감소시키거나 및/또는 세포 스티킹을 방지하거나 또는 감소시키도록 구성된 모이어티는 링커  $L'$ 의 제 2 단부에 접촉될 수도 있다. 링커  $L'$ 은 선형 부분을 가질 수도 있으며, 여기서, 선형 부분의 백본은 당업계에 공지되어 있는 바와 같이 화학적 본딩 제한들을 받는, 실리콘, 탄소, 질소, 산소, 황 및 인 원자들의 임의의 조합 중에서 선택된 1 내지 100 개의 비-하이드로젠 원자들을 포함한다. 일부 비한정적인 예들에서, 이것은 에테르, 아미노, 카르보닐, 아마이드, 또는 포스포네이트 기들의 임의의 조합으로 차단될 수도 있다. 추가적으로, 링커  $L'$ 은 링커  $L'$ 의 백본을 차단하는 하나 이상의 아릴렌, 헤테로아릴렌, 또는 이종고리 기들을 가질 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 링커  $L'$ 의 백본은 10 내지 20 개의 원자들을 포함할 수도 있다. 다른 실시형태들에서, 링커  $L'$ 의 백본은 약 5 개의 원자들 내지 약 100 개의 원자들; 약 10 개의 원자들 내지 약 80 개의 원자들; 약 10 개의 원자들 내지 약 50 개의 원자들; 또는 약 10 개의 원자들 내지 약 40 개의 원자들을 포함할 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 백본 원자들은 모두 탄소 원자들이다. 다른 실시형태들에서, 백본 원자들은 모두 탄소들이 아니며, 당업계에 공지되어 있는 바와 같이 화학적 본딩 제한들을 받는, 실리콘, 탄소, 질소, 산소, 황 또는 인 원자들의 임의의 가능한 조합을 포함할 수도 있다.

[0167] 모이어티-함유 시약 (화학식 5)이 표면 개질 리간드 (화학식 3)를 가지는 표면과 반응할 때, 화학식 2의 컨디셔닝된 표면을 가지는 기관이 형성된다. 따라서, 링커  $L'$  및 링커  $L''$ 는 공식적으로 링커  $L$ 의 부분이며, 반응 모이어티  $R_x$ 와 반응 페어링 모이어티  $R_{px}$ 의 반응은 화학식 2의 커플링 기 CG를 생성한다.

[0168] **표면 개질 시약.** 표면 개질 시약은 구조  $LG-(L'')_j-R_x$  (화학식 4)를 가지는 화합물이다. 연결기 LG는 기관의 표면의 산화물들과 공유 결합한다. 기관은 DEP-구성된 기관일 수도 있으며 실리콘 또는 알루미늄 또는 하프늄 산화물을 포함할 수도 있으며, 산화물들은 기관의 본래의 화학적 구조의 부분으로서 제공될 수도 있거나 또는 본원에서 설명되는 바와 같이 도입될 수도 있다. 연결기 LG는 기관의 표면 상에서의 산화물과의 실록산 또는 포스포산 기의 반응으로부터 형성된, 실록시 또는 포스포네이트 에스테르 기와 같은, 본원에서 설명되는 임의의 연결기일 수도 있다. 반응 모이어티  $R_x$ 는 위에서 설명된다. 반응 모이어티  $R_x$ 는 연결기 LG에 직접 ( $L''$ ,  $j=0$ ) 또는 링커  $L''$  ( $j=1$ )를 통해서 간접적으로 접촉될 수도 있다. 연결기 LG는 링커  $L''$ 의 제 1 단부에 부착될 수도 있으며, 반응 모이어티  $R_x$ 는 일단 표면 개질 시약이 화학식 6에서와 같이 표면에 부착되면 기관의 표면의 원위일, 링커  $L''$ 의 제 2 단부에 접촉될 수도 있다.



[0169]

[0170]

[0171] 링커  $L''$ 은 선형 부분을 가질 수도 있으며, 여기서, 선형 부분의 백본은 실리콘, 탄소, 질소, 산소, 황 및 인 원자들의 임의의 조합 중에서 선택된 1 내지 100 개의 비-하이드로젠 원자들을 포함한다. 일부 비한정적인 예들에서, 이것은 에테르, 아미노, 카르보닐, 아마이드, 또는 포스포네이트 기들의 임의의 조합으로 차단될 수도 있다. 추가적으로, 링커  $L''$ 은 링커  $L''$ 의 백본을 차단하는 하나 이상의 아릴렌, 헤테로아릴렌, 또는 이종고리 기들을 가질 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 링커  $L''$ 의 백본은 10 내지 20 개의 원자들을 포함할 수도 있다. 다른 실시형태들에서, 링커  $L''$ 의 백본은 약 5 개의 원자들 내지 약 100 개의 원자들; 약 10 개의 원자들 내지 약 80 개의 원자들, 약 10 개의 원자들 내지 약 50 개의 원자들, 또는 약 10 개의 원자들 내지 약 40 개의 원자들을 포함할 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 백본 원자들은 모두 탄소 원자들이다.

다른 실시형태들에서, 백본 원자들은 모두 탄소들이 아니며, 당업계에 공지되어 있는 바와 같이 화학적 본딩 제한들을 받는, 실리콘, 탄소, 질소, 산소, 황 또는 인 원자들의 임의의 가능한 조합을 포함할 수도 있다.

[0172] 일부 실시형태들에서, 코팅 재료 (또는, 표면 개질 리간드) 는 화학적 증착을 이용하여 마이크로유체 디바이스의 내측 표면들 상에 퇴적된다. 화학적 증착을 통해서, 코팅 재료는 코팅 재료를 포함하는 분자들이 마이크로유체 디바이스의 내측 표면들의 분자들에 공유 결합되는 조밀하게-팩킹된 단분자막들을 얻을 수 있다. 바람직한 팩킹 밀도를 얻기 위해, 예를 들어, 알킬-말단 실록산을 포함하는 분자들이 적어도 110° C (예컨대, 적어도 120° C, 130° C, 140° C, 150° C, 160° C, 등) 의 온도에서, 적어도 15 시간 (예컨대, 적어도 20, 25, 30, 35, 40, 45, 또는 더 이상의 시간들) 의 기간 동안, 증착될 수 있다. 이러한 증착은 일반적으로 진공 하에서 그리고 수화된 설페이트 염 (예컨대,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ) 과 같은, 수원의 존재하에 수행된다. 일반적으로, 증착의 온도 및 지속시간을 증가시키는 것은 소수성 코팅 재료의 향상된 특성들을 발생시킨다.

[0173] 증착 프로세스는 옵션적으로, 예를 들어, 커버 (110), 마이크로유체 회로 재료 (116), 및/또는 기관 (예컨대, DEP-구성된 기관의 전극 활성 기관 (206) 의 내측 표면 (208), 또는 EW-구성된 기관의 서포트 구조 (104) 의 유전체 층) 을 사전-세정함으로써, 향상될 수 있다. 예를 들어, 이러한 사전-세정은 아세톤 배쓰 (bath), 에탄올 배쓰, 또는 이들의 조합과 같은, 용매 배쓰를 포함할 수 있다. 용매 배쓰는 음과처리를 포함할 수 있다. 대안적으로, 또는 추가적으로, 이러한 사전-세정은 여러 불순물들을 제거하는 동시에, 산화된 표면 (예컨대, 본원에서 설명된 바와 같이 공유결합으로 개질될 수도 있는, 표면에서의 산화물들) 을 도입할 수 있는 산소 플라스마 클리너에서, 커버 (110), 마이크로유체 회로 재료 (116), 및/또는 기관을 처리하는 것을 포함할 수 있다. 산소 플라스마 클리너는 예를 들어, 진공 조건들 하에서, 100W 에서 60 초간 동작될 수 있다. 대안적으로, 표면을 산화시키기 위해 하이드로젠 과산화물과 같은 산화제들을 포함하는 액상 처리들이 산소 플라스마 클리너 대신 사용될 수도 있다. 예를 들어, 염산과 하이드로젠 과산화물의 혼합물 또는 황산과 하이드로젠 과산화물의 혼합물 (예컨대, 약 3:1 내지 약 7:1 의 범위의 하이드로젠 과산화물에 대한 황산의 비를 가질 수도 있는 피라냐 (piranha) 용액) 이 산소 플라스마 클리너 대신 사용될 수도 있다.

[0174] 일부 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스 (200) 가 마이크로유체 회로 (120) 를 정의하는 인클로저 (102) 를 형성하기 위해 조립된 후 마이크로유체 디바이스 (200) 의 내측 표면들을 코팅하기 위해 증착이 사용된다. 완전-조립된 마이크로유체 회로 (120) 상의 조밀하게-팩킹된 단분자막을 포함하는 코팅 재료의 퇴적이 여러 기능적 특성들을 제공할 때에 유익할 수도 있다. 이론에 의해 제한하려고 의도함이 없이, 완전-조립된 마이크로유체 회로 (120) 상에 이러한 코팅 재료를 퇴적하는 것은 마이크로유체 회로 재료 (116) 와 전극 활성 기관 (206)/유전체 층 및/또는 커버 (110) 사이의 약한 결합에 의해 초래되는 박리를 방지할 때에 유익할 수도 있다.

[0175] 도 4a 내지 도 4d 는 코팅 재료들의 예시적인 클래스들을 포함하는 마이크로유체 디바이스들 (500) 의 단면도들을 도시한다. 예시된 바와 같이, (개략적으로 나타낸) 코팅 재료들 (529) 은 기관 (504) 의 내측 표면 (508) 및 마이크로유체 디바이스 (500) 의 커버 (510) 의 내측 표면 (509) 양자에 공유 결합된 조밀하게-팩킹된 분자들의 단분자막을 포함할 수 있다. 코팅 재료 (529) 는 일부 실시형태들에서 그리고 위에서 설명한 바와 같이, 마이크로유체 디바이스 (500) 내 회로 엘리먼트들 및/또는 구조들을 정의하는데 사용되는 마이크로유체 회로 재료 (미도시) 의 표면들을 포함한, 마이크로유체 디바이스 (500) 의 인클로저 (502) 에 근접하여 내측으로 향하는 모든 내측 표면들 (508, 509) 상에 배치될 수 있다. 대안적인 실시형태들에서, 코팅 재료 (529) 는 마이크로유체 디바이스 (500) 의 내측 표면들 중 오직 하나 또는 일부 상에 배치될 수 있다.

[0176] 도 5 에 나타난 실시형태에서, 코팅 재료 (529) 는 알킬-말단 실록산 분자들의 단분자막을 포함하며, 각각의 분자는 실록시 기를 통해서 마이크로유체 디바이스 (500) 의 내측 표면들 (508, 509) 에 공유 결합된다. 그러나, 위에서 설명된 코팅 재료들 (529) 중 임의의 재료 (예컨대, 알킬-말단 포스포네이트 에스테르 분자들) 가 사용될 수 있다. 좀더 구체적으로, 알킬 기는 적어도 10 개의 탄소 원자들 (예컨대, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22개, 또는 더 이상의 탄소 원자들) 의 선형 사슬을 포함할 수 있으며, 옵션적으로, 치환된 알킬 기일 수도 있다. 위에서 설명한 바와 같이, 조밀하게-팩킹된 분자들의 단분자막을 포함하는 코팅 재료들 (529) 은 최초의 전하 트랩핑, 감소된 물리적/전기적 두께, 및 실질적으로 균일한 표면과 같은, DEP 구성된 마이크로유체 디바이스들 (500) 에서의 사용을 위한 유익한 기능적 특성들을 가질 수 있다.

[0177] 일부 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스 (500) 의 내측 표면(들) (508, 509) 을 코팅하는데 사용되는 코팅 재료 (529) 는 세포 부착을 감소시키는 기능적 이점을 제공한다. 특정의 실시형태에서, 코팅 재료 (529) 는 플루오로알킬 기 (예컨대, 플루오로화된 알킬 기 또는 퍼플루오로화 알킬 기) 를 그의 인클로저-대향 말단 (즉, 내측 표면들 (508, 509) 에 결합되지 않지만 인클로저 (502) 에 근접한, 코팅 재료 (529) 의 단분자막의 부분)

에 포함할 수 있다. 위에서 설명한 바와 같이, 코팅 재료 (529) 는 플루오로알킬-말단 실록산 또는 플루오로알킬-말단 포스포네이트 에스테르의 단분자막을 포함할 수 있으며, 여기서, 플루오로알킬 기는 코팅 재료 (529) 의 인클로저-대향 말단에 존재한다. 이러한 코팅 재료 (529) 는 감소된 파울링, 더 일반적으로는, 세포들의 외부 멤베레인들 상에 존재하는 것들과 같은 생물학적 분자들의 감소된 접착력에서 기능적 이점을 제공한다.

[0178] 일부 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스 (500) 의 내측 표면들 (508, 509) 을 코팅하는데 사용되는 코팅 재료 (529) 는 차단 용액에서의 차단제를 결합시킬 수 있는 하나 이상의 모이어티들을 제공할 때에 기능적 이점을 제공한다. 실시형태에 따라서, 코팅 재료 (529) 는 양이온을 포함하는 모이어티 ("양이온의 모이어티") (예컨대, 제 4 암모늄 기) 를 그의 인클로저-대향 말단에 포함할 수도 있거나, 또는 제공하도록 (예컨대, 반응에 의해) 화학적으로 개질될 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 코팅 재료 (529) 는 포스포산, 카르복시산, 또는 술폰 산 모이어티와 같은, 음이온을 포함하는 모이어티 ("음이온의 모이어티") 를 그의 인클로저-대향 말단에 포함할 수도 있거나, 또는 제공하도록 화학적으로 개질될 수도 있다. 일부 실시형태들에서, 코팅 재료 (529) 는 양이온들 및 음이온들의 혼합물을 그의 인클로저-대향 말단들에 포함할 수도 있거나 또는 제공하도록 화학적으로 개질될 수도 있다.

[0179] **목록들을 생성하기.** 개시된 방법들을 실시하는데 필수적이지는 않지만, 바람직한 실시형태들에서, 마이크로유체 디바이스를 동결하기 전에, 단계 520 에서, 마이크로유체 디바이스의 함량들의 목록이 생성되어, 미래의 취출 및 참조를 위해 저장된다. 예를 들어, 그리고 도 7 을 추가로 참조하면, 목록 (521) 은 하나 이상의 격리된 세포들의 각각에 대한 기본적인 아이덴티티 (522) 및 분리 영역 위치를 포함할 수 있다. 격리된 세포들의 아이덴티티는 세포들의 기원, 특히, 세포들이 얻어진 표본의 기원을 포함할 수 있다. 이것은 예를 들어, 표본 번호 (예컨대, 환자/대상 표본 번호) 및/또는 표본으로부터 격리된 각각의 세포를 나타내는 임의의 라벨과 같은 정보가 적을 수도 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 세포들의 "아이덴티티" 는 세포들이 대상으로부터 수집된 특성의 해부학적 위치의 아이덴티티 뿐만 아니라, 세포들이 유래된 표본이 마이크로유체 디바이스로의 세포들의 도입 전에 어떻게 프로세싱되었는지에 관한 정보를 포함할 수 있다. 이러한 표본 프로세싱은 조직 생검 또는 미세 바늘 흡인물 (FNA) 과 같은, 조직 표본으로부터 세포들을 분리하는 것, 또는 혈액, 소변, 침, 정액, 구강세포 채취물, 활액, 수양액, 유리체액, 조직 배양물 (예컨대, 배양된 배아들), 등과 같은, 체액의 표본으로부터 세포들을 수집/농축하는 것을 포함할 수도 있다. 특히, 세포 표본이 얻어진 대상이 인간일 필요는 없다. 예를 들어, 세포 식별 (identification) 은 대상이 비-인간 포유동물 또는 다른 동물 (예컨대, 실험 동물, 가정 애완동물, 가축화된 농장 동물, 동물원 동물, 야생 동물, 등) 이었다는 것을 표시할 수도 있다.

[0180] 격리된 생물학적 세포들의 목록 (또는, "라이브러리") (521) 에 포함될 수도 있는 추가 정보는, 있다면, 마이크로유체 디바이스 내 그들의 격리 전 또는 후에 하나 이상의 격리된 생물학적 세포들에 대해 수행되는 프로세스들 (523 및 524); 및 임의의 이러한 사전- 또는 사후-격리 프로세싱의 과정에서 얻어진 데이터 (525) 를 포함한다. 그후, 격리된 세포들의 목록 또는 라이브러리 (521) 가 (단계 526 에서) 마이크로유체 디바이스와 연관되는 메모리에 저장된다. 예를 들어, 마이크로유체 디바이스는 바코드, 스티커, RFID, 또는 기타 등등과 같은 식별 표지를 포함할 수도 있으며, 디바이스 목록은 디바이스에 대한 식별 표지를 참조하는 데이터베이스에 저장될 수도 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 디바이스 목록은 마이크로유체 디바이스에 커플링된, 즉, 함께 동결된 메모리 칩 (예컨대, EEPROM 또는 기타 등등) 에 저장될 수도 있다.

[0181] 여러 실시형태들에서, 도 6 에서의 옵션적인 단계 530 로서 표시된 바와 같이, 본 방법은 (디바이스를 동결하기 전에) 디메틸 술폭시드 (DMSO) 와 같은 세포 보호 시약을 마이크로유체 디바이스로 도입시키는 것을 더 포함한다. 하나의 이러한 실시형태에서, DMSO 는 마이크로유체 디바이스를 동결시에 하나 이상의 격리된 생물학적 세포들이 약 10% DMSO 를 함유하는 용액에 의해 실질적으로 둘러싸이도록 선택된 개별 농도 및 지속기간에서, 마이크로유체 디바이스로 도입된다. 하나의 이러한 실시형태에서, DMSO 는 (예컨대, 분리 영역들의 전체 체적에 대한 흐름 영역의 체적의 비에 의존하여) 약 15체적% 내지 약 25체적% 의 농도에서 마이크로유체 디바이스로 도입되어, 격리된 생물학적 세포들을 포함하는 하나 이상의 분리 영역들로 확산하도록 허용된다. 하나의 이러한 실시형태에서, DMSO 는 하나 이상의 분리 영역들의 각각에서 약 10% 의 DMSO 농도를 얻기에 충분한 시간의 양 동안 마이크로유체 디바이스를 통해서 관류된다.

[0182] 도 8 을 참조하면, 마이크로유체 디바이스를 동결하는 것 (도 6 에서의 단계 550) 은 거의 동결 온도 (예컨대, 약 4° C) 또는 동결 온도 (예컨대, 약 0° C) 까지의 마이크로유체 디바이스의 초기 제어된 냉각 (540) 과, 뒤이은, 영하의 온도까지의 마이크로유체 디바이스의 추가적인 냉각 (544) 을 포함할 수도 있다. 대안적으로,

초기 냉각은 비-제어될 수도 있다 (542). 일 예로서, 그리고 한정 없이, 마이크로유체 디바이스의 초기 제어된 냉각 (540) 은 분당 약  $1^{\circ}\text{C}$  내지 분당 약  $2^{\circ}\text{C}$  의 범위인 레이트일 수도 있지만, 더 느린 레이트 (예컨대, 분당 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 또는  $0.9^{\circ}\text{C}$ ) 또는 더 빠른 레이트 (예컨대, 분당 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9,  $3.0^{\circ}\text{C}$  이상) 가 또한 사용될 수도 있다. 제어된 냉각의 레이트는 상황들에 따라서, 예를 들어, 분당 약  $0.1^{\circ}\text{C}$  또는  $0.2^{\circ}\text{C}$  만큼 느린 것에서부터, 분당 약  $3.0^{\circ}\text{C}$  또는  $4.0^{\circ}\text{C}$  만큼 빠른 것까지의 범위에서, 변경될 수 있다. 여러 실시형태들에서, 영하의 온도는 약  $-20^{\circ}\text{C}$  이하이며, 더 바람직하게는, 약  $-80^{\circ}\text{C}$  이하이며, 일부 실시형태들에서는 약  $-150^{\circ}\text{C}$  이하를 포함한다.

[0183] 또한 도 9 를 참조하면, 본 방법은 해동 후 격리된 세포들을 테스트하고, 평가하고, 분석시험하고, 시퀀싱하고 및/또는 아니면 사용하기 위해서, (단계 560 에서), 영하의 저장소로부터 마이크로유체 디바이스를 추출하는 단계, 및 그후 마이크로유체 디바이스의 제어된 가열 (heating) 을 수행하는 단계 (562) 및/또는 마이크로유체 디바이스를 실온까지 자체 가열하도록 허용하는 단계 (단계 564) 를 포함하는, 마이크로유체 디바이스를 해동하는 단계 (단계 570) 를 더 포함할 수도 있다. 예를 들어, 도 6 에 단계 590 으로 지시된 바와 같이, 마이크로유체 디바이스를 해동한 후, 마이크로유체 디바이스에서, 예컨대, 마이크로유체 디바이스를 통한 유동성 세포 성장 배지의 연속 또는 간헐 관류에 의해 하나 이상의 생존가능한 세포들을 배양하여 그 안에 추가적인 세포들을 발생시키는 것이 바람직할 수도 있다. 이러한 실시형태들에서, 세포들의 프로세싱은 (해동 이후) 하나 이상의 격리된 세포들 및/또는 그로부터 발생된 세포들 중 어느 것이 마이크로유체 디바이스를 해동한 후에 생존가능함을 식별하고, 및/또는 마이크로유체 디바이스로부터 적어도 하나의 격리된 세포 및/또는 그로부터 발생된 세포들을 추출하는 것을 더 포함할 수도 있다. 일 예로서, 해동 이후, 분석시험은 세포 분비물 (예컨대, 항체 또는 시토카인을 포함하는 면역 분자) 또는 세포 표면 마커를 검출하기 위해 마이크로유체 디바이스에서 하나 이상의 세포들에 대해 수행될 수도 있다.

[0184] 실시예들

[0185] **실시예 1 - 마이크로유체 디바이스 상에서 1F5 하이브리도마 세포들 (ATCC HB-9645) 을 동결하기.**

[0186] 본 출원의 발명자들은 표준 배양 플레이트에서 성장된 생물학적 세포들을 마이크로유체 디바이스로  $36^{\circ}\text{C}$  에서 도입시켰다. 그후, 세포들을 조작하여 (여전히  $36^{\circ}\text{C}$  에서) 마이크로유체 디바이스에서의 개별 분리 영역들로 격리시켰다. (배지 중) 15% DMSO 용액을 마이크로유체 디바이스로 흘려 보냈으며, 그후 디바이스를 어떤 추가적인 관류 없이,  $36^{\circ}\text{C}$  에서 30분간 인큐베이션하였다. 그후, 마이크로유체 디바이스를  $0^{\circ}\text{C}$  까지  $1.8^{\circ}\text{C}/\text{분}$  의 제어된 레이트로 냉각시켰다. 격리된 세포들이 동결 프로세스 동안 계속 이동하였지만 온도가 감소됨에 따라 느려지는 것을 관찰하였다. 디바이스를 스티로폼 박스에 넣은 다음,  $-80^{\circ}\text{C}$  냉동기에 밤새 두었다. 다음날, 마이크로유체 디바이스를 냉동기 (그리고 스티로폼 박스) 로부터 꺼내어, 최고 실온까지 가열시켰다 (가정은 상대적으로 작은 디바이스 사이즈 때문에 디바이스 온도가 1분 이내에 실내 온도까지 상승한다는 것이다). 그후, 디바이스를 Peltier 를 약  $24^{\circ}\text{C}$  로 설정한 상태에서 테스트 기구 상에 배치하였으며, 배지의 관류를 개시하였다. 그후, 디바이스의 온도가  $36^{\circ}\text{C}$  까지 대략  $3^{\circ}\text{C}/\text{분}$  으로 상승되었다. 일부 세포들이 디바이스의 해동 동안 이동하기 시작하였으며 일부 생존가능한 (살아있는) 것들이 생물학적 세포들에 대한 표준 동결-해동 프로시저들에 따라서, 하루 종일 계속 이동하였으며 하루가 끝날 무렵에는, 작은 백분율로 살아 있음을 관찰하였다. 마이크로유체 디바이스 (및 그 안에 격리된 세포들) 가 동결되어 해동된 후, OET 프로세스가 마이크로유체 디바이스 (및 그 안에 격리된 세포들) 에서 계속 작동하였다.

[0187] **실시예 2 - 마이크로유체 디바이스 상에서 전립샘 암 세포들을 동결하기.**

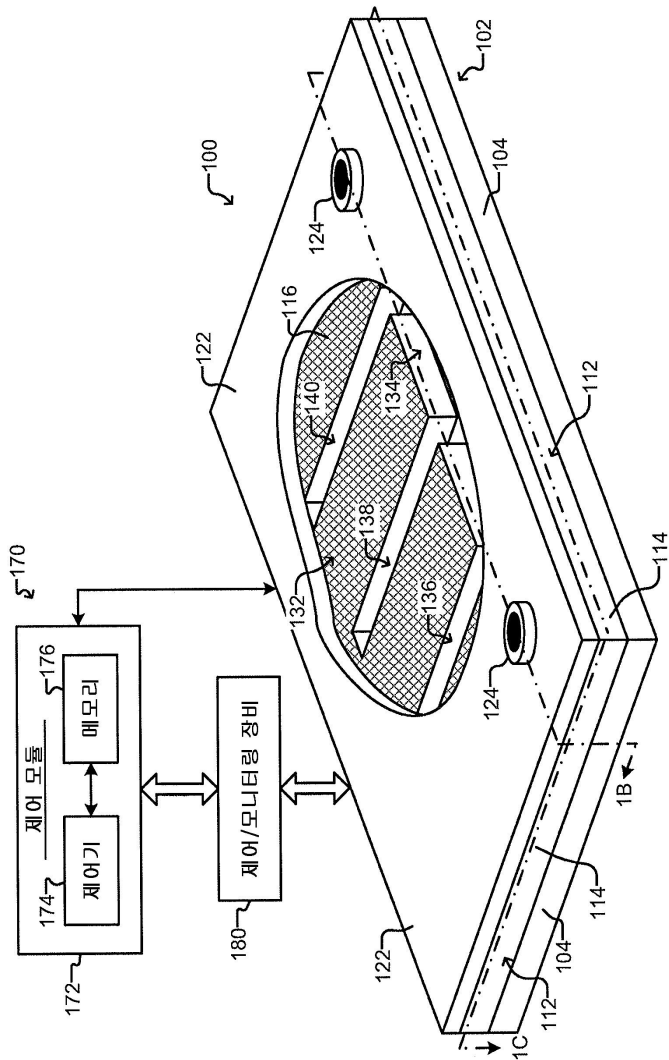
[0188] 조직 생검을 단일 세포들로 분리하여 마이크로유체 디바이스로 도입하였다. 12mL 의 세포 현탁액을 디바이스에  $1 \times 10^6$  세포들/mL 의 농도로 이입시켰으며, 여기서, 디바이스는 대략 1000 개의 세포들의 임의의 시간에 볼 수 있는 명목상의 세포들의 양을 가지는, 대략 1.0 mL 의 전체 채널 체적을 갖는다. 세포들을 자동화된 페닝 (penning) 알고리즘을 이용하여, 분리 챔버들로 개별적으로 넣었다. 디바이스 온도는 세포 로딩 및 분리 프로세스 동안  $12^{\circ}\text{C}$  로 설정하였다. 그후, 마이크로유체 디바이스를 동결하기에 충분한 시간 동안 냉동기에 두었다. 그후, 디바이스를 냉동기로부터 꺼내어 해동하였으며, 기구 상에 ( $T = 12^{\circ}\text{C}$  에서) 두었다. 분리 챔버들에서의 생존가능한 세포들은 OET 를 이용하여 이동가능하였으며 시퀀싱과 같은, 추가적인 분석을 위해 반출될 수 있음을 관찰하였다.

[0189] 실시형태들이 도시되고 설명되었지만, 본원에서 개시되는 본 발명의 컨셉들의 범위로 부터 일탈함이 없이 다양한 변경들이 이루어질 수도 있다. 따라서, 본 발명(들) 은, 다음 청구항들에서 정의된 것을 제외하고는, 한정

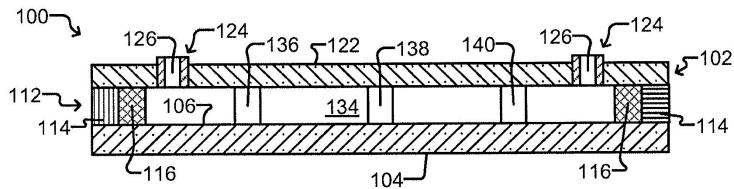
되지 않아야 한다.

도면

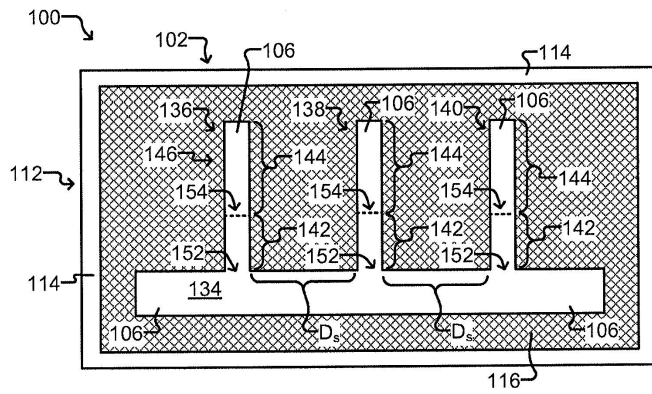
도면1a



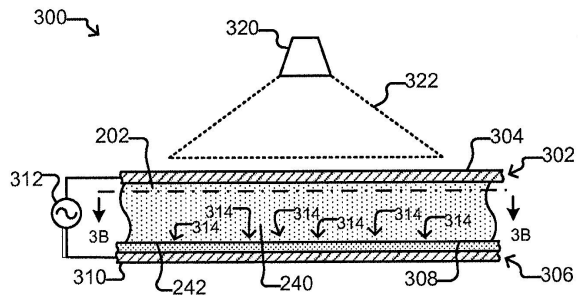
도면1b



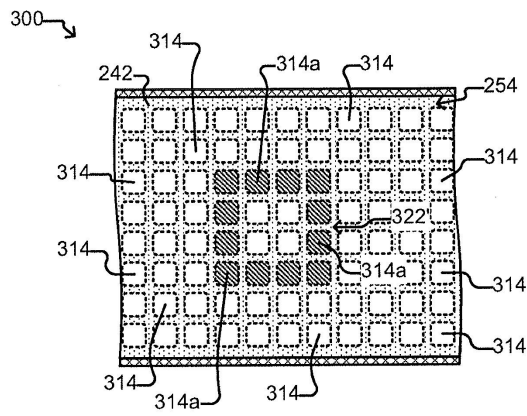
도면1c



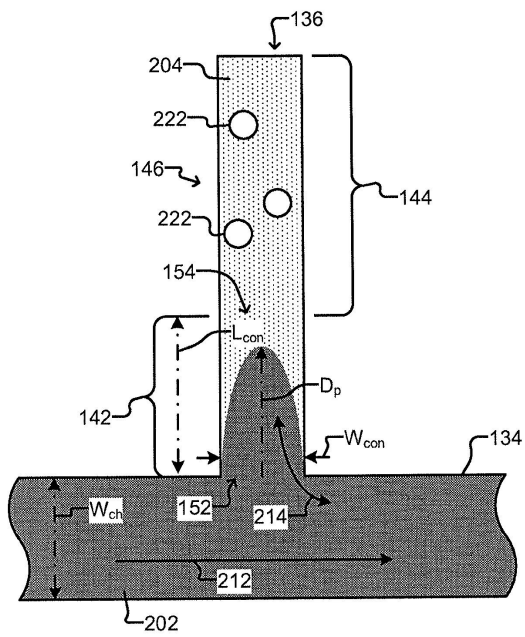
도면1d



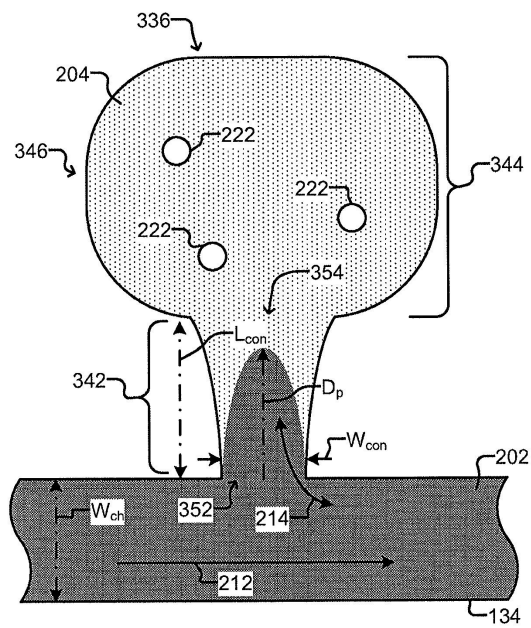
도면1e



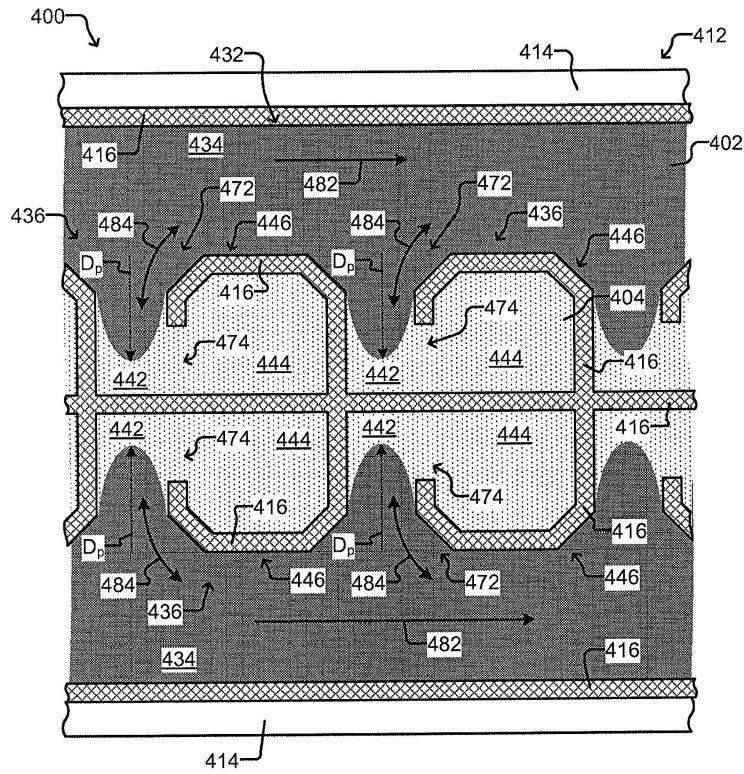
도면2



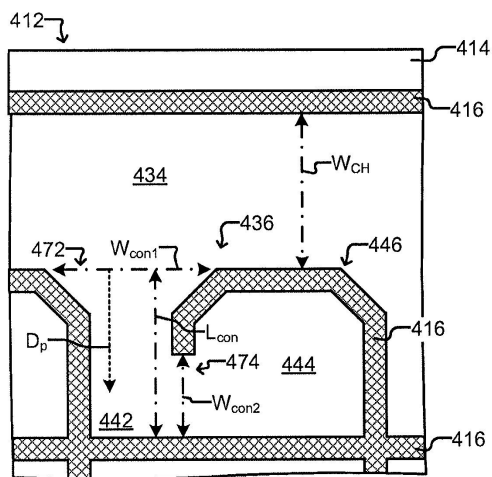
도면3



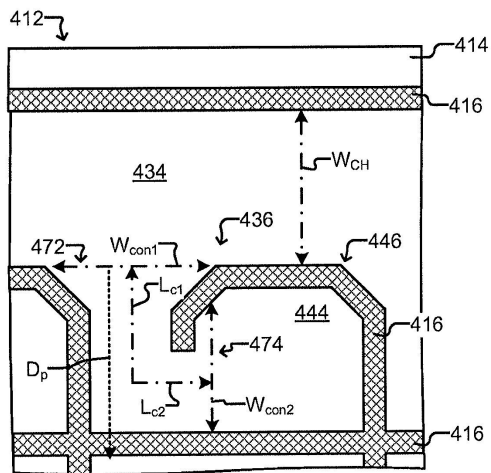
도면4a



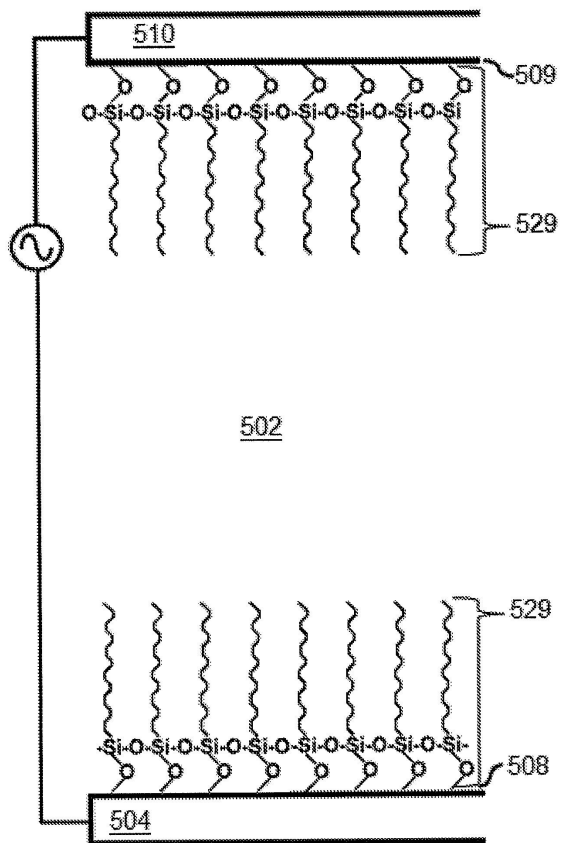
도면4b



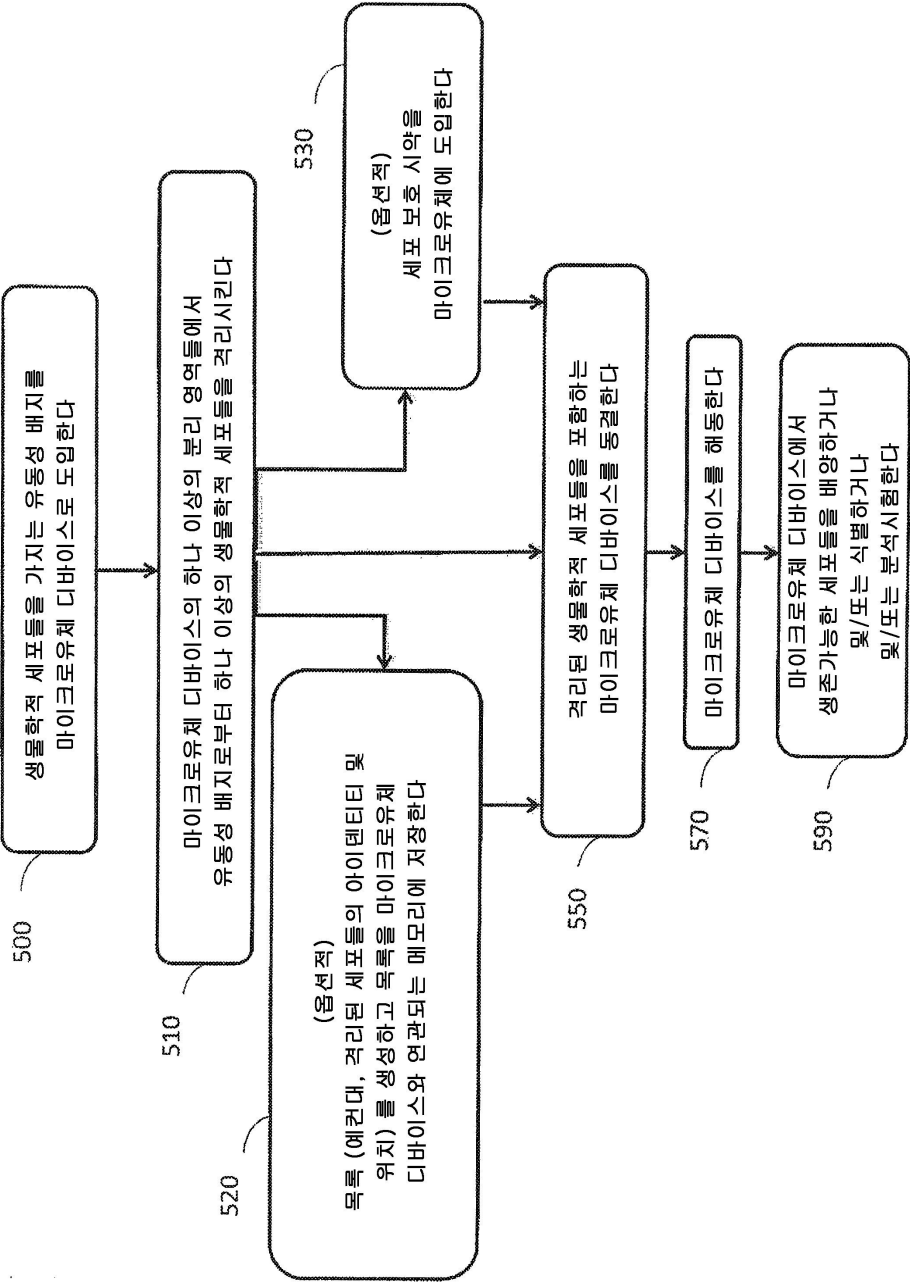
도면4c



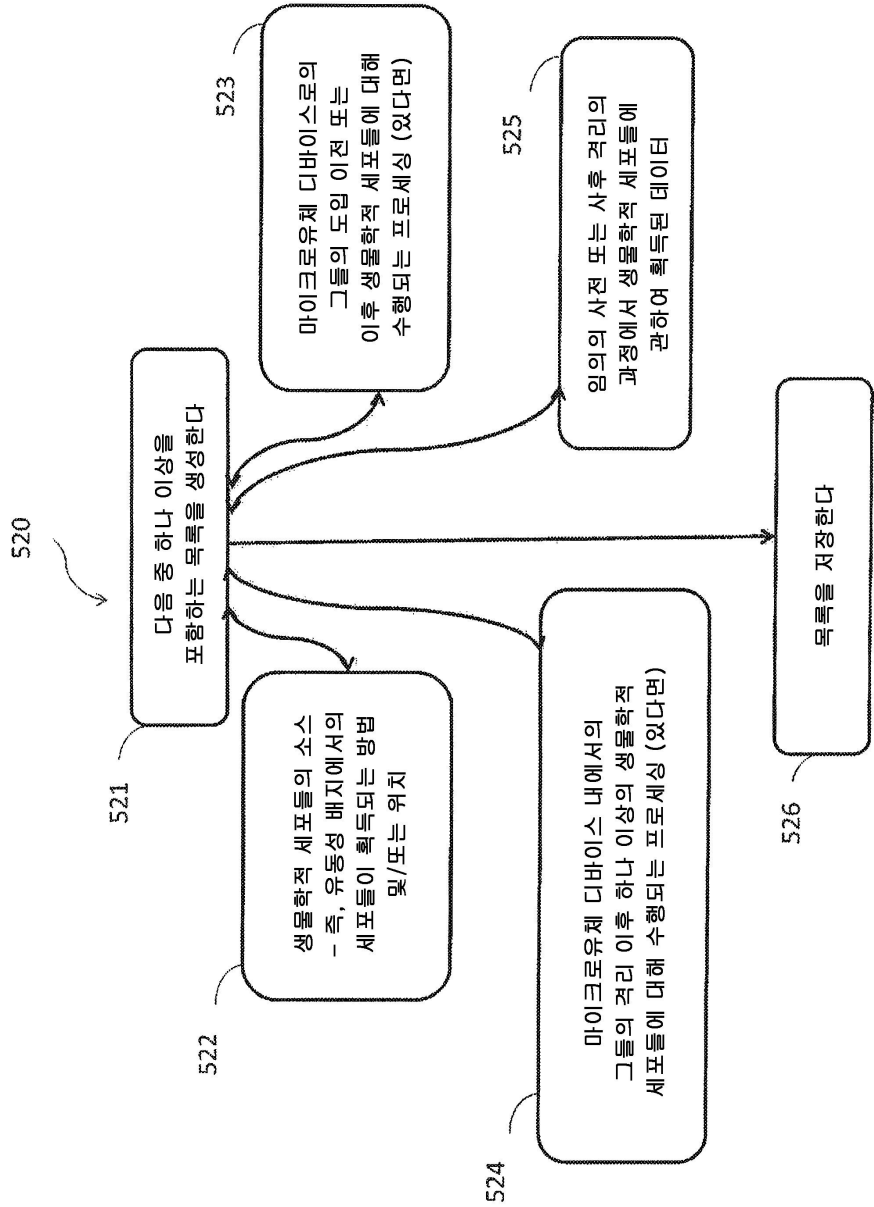
도면5



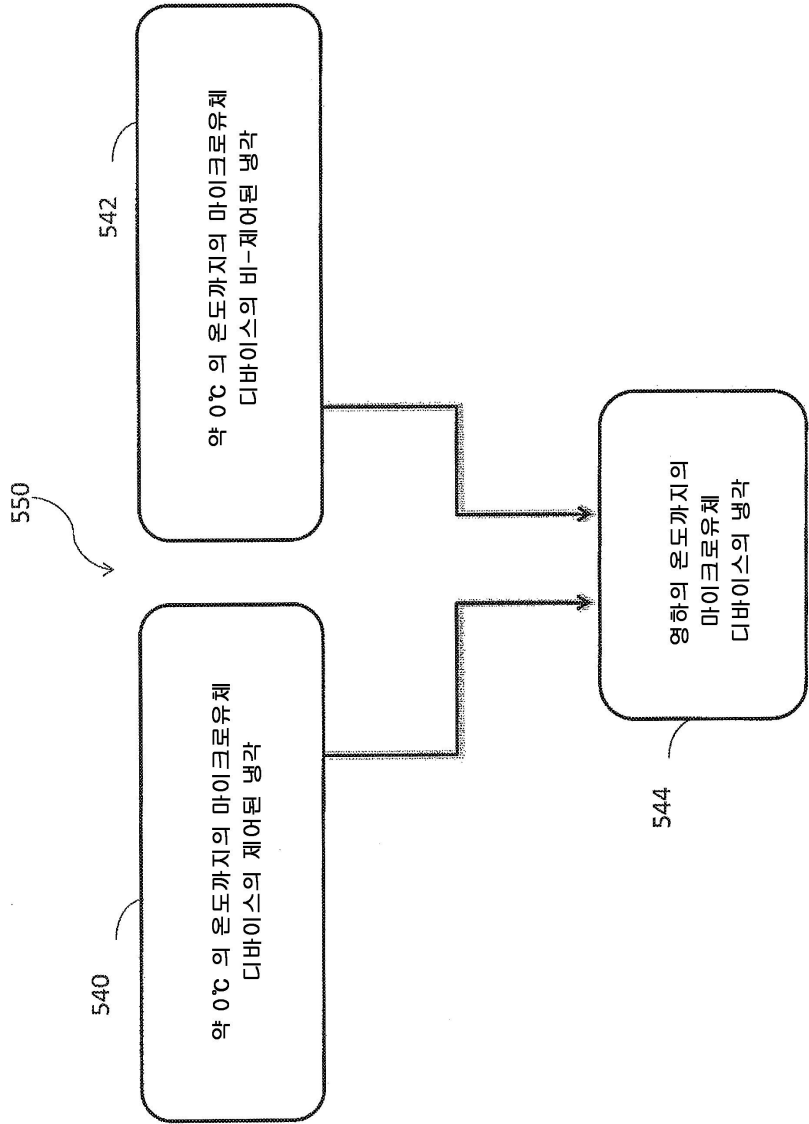
도면6



도면7



도면8



도면9

