



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I795380 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 03 月 11 日

(21)申請案號：106142288

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 12 月 01 日

(51)Int. Cl. : **G06T7/00 (2017.01)****G06T7/70 (2017.01)****G06T1/40 (2006.01)****G06T7/20 (2017.01)****C12M1/34 (2006.01)**

(30)優先權：2016/12/01 美國

62/429,071

2017/11/01 美國

62/579,897

(71)申請人：美商伯克利之光生命科技公司 (美國) BERKELEY LIGHTS, INC. (US)

美國

(72)發明人：金 韓松 KIM, HANSOHL E. (US) ; 坦尼 約翰 A TENNEY, JOHN A. (US) ;

索康 約書亞 F SLOCUM, JOSHUA F. (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

CN 104094118A

US 20150165436A1

US 20160171686A1

WO 2015174906A1

期刊 GU ET AL. "Recent advances in convolutional neural networks" PATTERN RECOGNITION, vol. 77, 11 October 2017 (2017-10-11), pages 354 - 377, XP085415169, ISSN: 0031-3203, DOI: 10.1016/j.patcog.2017.10.013

期刊 MILLETARI ET AL. "V-Net: Fully Convolutional Neural Networks for Volumetric Medical Image Segmentation", CORR (ARXIV), XP055293637, DOI: 10.1109/3DV.2016.79 15 June 2016 (2016-06-15), pages 1 - 11,

審查人員：蔡茜堉

申請專利範圍項數：50 項 圖式數：11 共 150 頁

(54)名稱

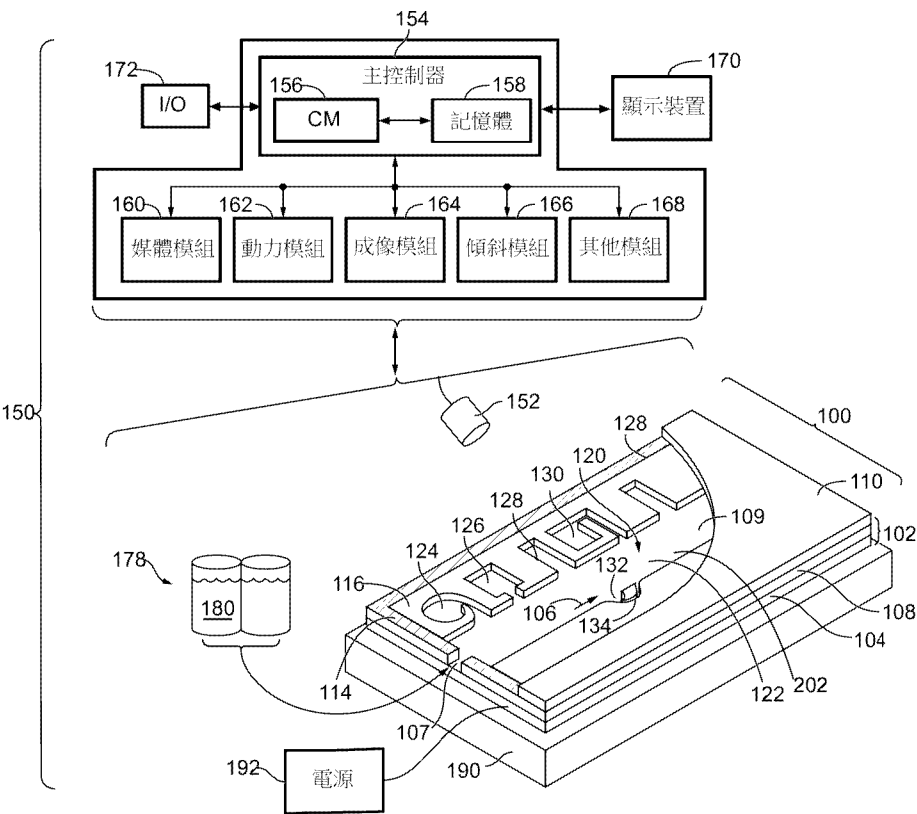
針對微流體裝置中的微物件之自動偵測及重定位

(57)摘要

提供用於一微流體裝置中的微物件之自動偵測及/或計數之方法。另外，提供用於重定位一微流體裝置中的微物件之方法。另外，提供用於分離該微流體裝置之一空間區域中的微物件之方法。

Methods are provided for the automated detection and/or counting of micro-objects in a microfluidic device. In addition, methods are provided for repositioning micro-objects in a microfluidic device. In addition, methods are provided for separating micro-objects in a spatial region of the microfluidic device.

指定代表圖：



【圖1A】

符號簡單說明：

- 100 . . . 微流體裝置
- 102 . . . 外殼
- 104 . . . 支撐結構
- 106 . . . 流動路徑
- 107 . . . 埠
- 108 . . . 微流體線路結構
- 109 . . . 內表面
- 110 . . . 蓋
- 114 . . . 框架
- 116 . . . 微流體線路材料
- 120 . . . 微流體線路
- 122 . . . 通道
- 124 . . . 封存圈
- 126 . . . 封存圈
- 128 . . . 封存圈
- 130 . . . 封存圈
- 132 . . . 阱
- 134 . . . 側通路
- 150 . . . 系統
- 152 . . . 控制及監測設備
- 154 . . . 主控制器
- 156 . . . 控制模組
- 158 . . . 數位記憶體
- 160 . . . 介質模組
- 162 . . . 動力模組
- 164 . . . 成像模組
- 166 . . . 傾斜模組
- 168 . . . 其他模組
- 170 . . . 顯示裝置
- 172 . . . 輸入/輸出裝置
- 178 . . . 介質源
- 180 . . . 流體介質
- 190 . . . 傾斜裝置

I795380

TW I795380 B

192 . . . 電源

202 . . . 區域/室



I795380

【發明摘要】

【中文發明名稱】

針對微流體裝置中的微物件之自動偵測及重定位

【英文發明名稱】

AUTOMATED DETECTION AND REPOSITIONING OF
MICRO-OBJECTS IN MICROFLUIDIC DEVICES

【中文】

提供用於一微流體裝置中的微物件之自動偵測及/或計數之方法。另外，提供用於重定位一微流體裝置中的微物件之方法。另外，提供用於分離該微流體裝置之一空間區域中的微物件之方法。

【英文】

Methods are provided for the automated detection and/or counting of micro-objects in a microfluidic device. In addition, methods are provided for repositioning micro-objects in a microfluidic device. In addition, methods are provided for separating micro-objects in a spatial region of the microfluidic device.

【指定代表圖】

圖1A

【代表圖之符號簡單說明】

100	微流體裝置
102	外殼
104	支撐結構
106	流動路徑

107	埠
108	微流體線路結構
109	內表面
110	蓋
114	框架
116	微流體線路材料
120	微流體線路
122	通道
124	封存圈
126	封存圈
128	封存圈
130	封存圈
132	阱
134	側通路
150	系統
152	控制及監測設備
154	主控制器
156	控制模組
158	數位記憶體
160	介質模組
162	動力模組
164	成像模組
166	傾斜模組

168 其他模組

170 顯示裝置

172 輸入/輸出裝置

178 介質源

180 流體介質

190 傾斜裝置

192 電源

202 區域/室

【發明說明書】

【中文發明名稱】

針對微流體裝置中的微物件之自動偵測及重定位

【英文發明名稱】

AUTOMATED DETECTION AND REPOSITIONING OF
MICRO-OBJECTS IN MICROFLUIDIC DEVICES

【技術領域】

本發明大體上係關於用於偵測一影像中的微物件之自動方法。特定言之，該等方法可包含用於自動偵測一影像中的微物件(諸如定位於一微流體裝置內的細胞、珠)之步驟。

【先前技術】

在非均勻或複雜背景下有效地且穩健地偵測微物件(諸如生物細胞或珠)對自動操縱微流體環境中的微物件至關重要。歸因於某些微物件之透明外觀，具有大小類似於此等微物件的特徵之一非均勻背景造成顯著偵測挑戰。類似地，自動操縱(諸如重定位細胞)因OET技術之特定特徵而複雜化。本發明之一些實施例旨在微流體環境中的微物件之穩健偵測及重定位。

【發明內容】

在一個態樣中，提供用於自動偵測一影像中的微物件之方法。該等方法可包含：針對複數個微物件特性自該影像產生對應複數個像素遮罩；及自該複數個像素遮罩之至少一個像素遮罩識別該影像中的微物件。該等方法可進一步包含獲得該影像中的該等經識別微物件之一計數。產生該複數個像素遮罩可包含使用一機器學習演算法(諸如一迴旋神經網路)處理來自該影像之像素資料。各像素遮罩包括一組像素標註，且該組之各像素標註

表示該影像中的一對應像素表示對應微物件特性之一概率。

在另一態樣中，提供一種機器可讀儲存裝置。該儲存裝置可儲存非暫時性機器可讀指令，且該等指令之執行可致使一運算裝置以：將可包含一或多個微物件之一影像儲存於一記憶體中；在一第一模組中針對複數個微物件特性自該影像產生對應複數個像素遮罩；及在一第二模組中自該複數個像素遮罩之至少一個像素遮罩獲得一微物件計數。可根據本文中所揭示的方法之任何者執行產生及獲得之步驟。該第一模組及該第二模組可彼此相同(即，存在一單個模組)，或其等可為單獨的相異模組。

在另一態樣中，提供重定位包括複數個封存圈(sequestration pen)之一微流體裝置中的微物件之方法。該等方法可包含：識別安置於該微流體裝置內之一組微物件；運算一或多個軌跡，其中各軌跡係連接該組微物件之一個微物件與該複數個封存圈之一個封存圈的一路徑；針對該組微物件之一或多個微物件選擇該一或多個軌跡之一軌跡；及藉由使該一或多個微物件中具有一選定軌跡之至少一個微物件沿其選定軌跡移動而重定位該微物件。可藉由本文中所揭示的方法之任何者執行識別安置於該微流體裝置內的該組微物件之步驟。

在又一態樣中，提供重定位一微流體裝置中的微物件之方法。該等方法可包含：識別安置於該微流體裝置內之一指定空間區域內的一組微物件；計算將該指定空間區域劃分成子區域之一組頂點，該等子區域之各者含有該組微物件之一或多個微物件；基於該組經計算頂點針對該組微物件之一第一微物件產生一第一光籠；及相對於該微流體裝置之該指定空間區域移動該第一光籠以重定位該至少一微物件。可藉由本文中所揭示的方法之任何者執行識別安置於該微流體裝置內的該組微物件之步驟。

自下文詳細描述以及隨附發明申請專利範圍與圖式將明白額外態樣。

【圖式簡單說明】

圖1A繪示根據本發明之一些實施例之用於搭配一微流體裝置及相關聯控制設備使用之一系統之一實例。

圖1B及圖1C繪示根據本發明之一些實施例之一微流體裝置。

圖2A及圖2B繪示根據本發明之一些實施例之隔離圈。

圖2C繪示根據本發明之一些實施例之一詳細封存圈。

圖2D至圖2F繪示根據本發明之一些其他實施例之封存圈。

圖2G繪示根據本發明之一實施例之一微流體裝置。

圖2H繪示根據本發明之一實施例之微流體裝置之一塗佈表面。

圖3A繪示根據本發明之一些實施例之用於搭配一微流體裝置及相關聯控制設備使用之一系統之一特定實例。

圖3B繪示根據本發明之一些實施例之一成像裝置。

圖4A、圖4B、圖4C描繪根據本發明之一項實施例的微物件之並行禁錮(penning)。

圖5繪示根據各種實施例之一電腦系統之一方塊圖。

圖6A至圖6F繪示根據本發明之一特定實施例之可用以分離微物件之經修改光籠之產生。

圖7繪示根據各種實施例之一迴旋神經網路之一示意圖。

圖8A至圖8C繪示根據各種實施例之一剩餘網路、減少取樣塊及增加取樣塊之示意圖。

圖9A至圖9D繪示根據各種實施例之一迴旋神經網路的一更詳細示意圖之區段。

圖10繪示根據各種實施例之用於自動偵測一影像中的微物件之一方法的一流程圖。

圖11繪示根據各種實施例之用於自動偵測一影像中的微物件之一系統。

【實施方式】

本申請案係根據35 U.S.C. 119(e)主張2016年12月1日申請之美國臨時申請案第62/429,071號及2017年11月1日申請之美國臨時申請案第62/579,897號(其等揭示內容之各者之全文以引用的方式併入本文中)之權利的一非臨時申請案。

本說明書描述本發明之例示性實施例及應用。然而，本發明不限於此等例示性實施例及應用或不限於該等例示性實施例及應用之操作方式或其在本文中之描述方式。而且，圖可展示簡化或局部視圖，且圖中之元件之尺寸可被放大或否則可不成比例。另外，當本文中使用術語「在...上」、「附接至」、「連接至」、「耦合至」或類似字詞時，一個元件(例如一材料、一層、一基板等)可「在另一元件上」、「附接至另一元件」、「連接至另一元件」或「耦合至另一元件」，無論該元件是否直接在該另一元件上、直接附接至該另一元件、直接連接至該另一元件或直接耦合至該另一元件或在該元件與該另一元件之間存在一或多個介入元件。同樣地，除非內文另有規定，否則方向(例如上方、下方、頂部、底部、側、向上、向下、下面、上面、上、下、水平、垂直、「x」、「y」、「z」等)(若提供)係相對的，僅供例示的，用於使繪示及論述方便，且絕非意在限制。另外，當參考一元件系列(例如元件a、b、c)時，此參考意欲包含所列元件本身之任何者、非全部所列元件之任何組合及/或全部所列元件之一組合。本說明

書中之章節劃分僅為使檢查方便且不限制所論述之元件之任何組合。

在微流體特徵之尺寸被描述為具有一寬度或一面積之情況下，尺寸通常相對於一x軸及/或y軸尺寸予以描述，該x軸尺寸及/或該y軸尺寸兩者位於平行於微流體裝置之基板及/或蓋的一平面內。一微流體特徵之高度可相對於一z軸方向予以描述，該z軸方向垂直於平行於微流體裝置之基板及/或蓋的一平面。在一些例項中，一微流體特徵(諸如一通道或一通路)之一橫截面積可參考一x軸/z軸、一y軸/z軸或一x軸/y軸面積。

如本文中所使用，「實質上」意謂足以達成所欲目的。因此，術語「實質上」允許相對於一絕對或完美狀態、尺寸、量測、結果或類似者之小幅、微不足道變動，諸如將由一般技術者預期且不會明顯地影響總體效能之變動。當與數值或參數或可表達為數值之特性一起使用時，「實質上」意謂在10%內。

術語「若干」意謂一個以上。

如本文中所使用，術語「複數個」可為2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個或更多。

如本文中所使用： μm 意謂微米， μm^3 意謂立方微米，pL意謂皮升，nL意謂奈升，且 μL (或uL)意謂微升。

如本文中所使用，術語「安置」涵蓋於其含義「定位」內。

如本文中所使用，一「微流體裝置」或「微流體設備」係包含經組態以保持一流體之一或多個離散微流體線路之一裝置，各微流體線路由流體互連之線路元件(包含(但不限於)(若干)區域、(若干)流動路徑、(若干)通道、(若干)室及/或(若干)圈)及至少一個埠(其經組態以允許流體(及視情況，懸浮於流體中之微物件)流動至微流體裝置中及/或流出微流體裝置)組

成。通常，一微流體裝置之一微流體線路將包含一流動區域(其可包含一微流體通道及至少一個室)，且將保持小於約1毫升(例如，小於約750微升、約500微升、約250微升、約200微升、約150微升、約100微升、約75微升、約50微升、約25微升、約20微升、約15微升、約10微升、約9微升、約8微升、約7微升、約6微升、約5微升、約4微升、約3微升或約2微升)之一流體體積。在某些實施例中，微流體線路保持約1微升至約2微升、約1微升至約3微升、約1微升至約4微升、約1微升至約5微升、約2微升至約5微升、約2微升至約8微升、約2微升至約10微升、約2微升至約12微升、約2微升至約15微升、約2微升至約20微升、約5微升至約20微升、約5微升至約30微升、約5微升至約40微升、約5微升至約50微升、約10微升至約50微升、約10微升至約75微升、約10微升至約100微升、約20微升至約100微升、約20微升至約150微升、約20微升至約200微升、約50微升至約200微升、約50微升至約250微升或約50微升至約300微升。微粒體線路可經組態以具有一第一端(其與微流體裝置中的一第一埠(例如，一入口)流體連接)及一第二端(其與微流體裝置中的一第二埠(例如，一出口)流體連接)。

如本文中所使用，一「奈米流體裝置」或「奈米流體設備」係具有一微流體線路之一類型之微流體裝置，該微流體線路含有經組態以保持小於約1微升(例如，小於約750奈升、約500奈升、約250奈升、約200奈升、約150奈升、約100奈升、約75奈升、約50奈升、約25奈升、約20奈升、約15奈升、約10奈升、約9奈升、約8奈升、約7奈升、約6奈升、約5奈升、約4奈升、約3奈升、約2奈升、約1奈升或更小)之一流體體積之至少一個線路元件。一奈米流體裝置可包括複數個線路元件(例如至少2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、15個、20個、25個、50個、75個、100

個、150個、200個、250個、300個、400個、500個、600個、700個、800個、900個、1000個、1500個、2000個、2500個、3000個、3500個、4000個、4500個、5000個、6000個、7000個、8000個、9000個、10000個或更多)。在某些實施例中，該至少一個線路元件之一或多者(例如全部)經組態以保持約100皮升至約1奈升、約100皮升至約2奈升、約100皮升至約5奈升、約250皮升至約2奈升、約250皮升至約5奈升、約250皮升至約10奈升、約500皮升至約5奈升、約500皮升至約10奈升、約500皮升至約15奈升、約750皮升至約10奈升、約750皮升至約15奈升、約750皮升至約20奈升、約1奈升至約10奈升、約1奈升至約15奈升、約1奈升至約20奈升、約1奈升至約25奈升或約1奈升至約50奈升之一流體體積。在其他實施例中，該至少一個線路元件之一或多者(例如全部)經組態以保持約20奈升至約200奈升、約100奈升至約200奈升、約100奈升至約300奈升、約100奈升至約400奈升、約100奈升至約500奈升、約200奈升至約300奈升、約200奈升至約400奈升、約200奈升至約500奈升、約200奈升至約600奈升、約200奈升至約700奈升、約250奈升至約400奈升、約250奈升至約500奈升、約250奈升至約600奈升或約250奈升至約750奈升之一流體體積。

一微流體裝置或一奈米流體裝置可在本文中稱為「微流體晶片」或「晶片」；或「奈米流體晶片」或「晶片」。

如本文中所使用，一「微流體通道」或「流動通道」係指一微流體裝置之流動區域，其具有顯著地長於水平尺寸及垂直尺寸兩者之一長度。例如，流動通道可為水平尺寸或垂直尺寸之長度之至少5倍，例如該長度之至少10倍、該長度之至少25倍、該長度之至少100倍、該長度之至少200倍、該長度之至少500倍、該長度之至少1,000倍、該長度之至少5,000倍或更

長。在一些實施例中，一流動通道之長度係約100,000微米至約500,000微米，包含其間之任何值。在一些實施例中，水平尺寸係約100微米至約1000微米(例如約150微米至約500微米)且垂直尺寸係約25微米至約200微米(例如自約40微米至約150微米)。應注意，一流動通道可在一微流體裝置中具有各種不同空間組態，且因此不限於一完全線性元件。例如，一流動通道可為或包含具有下列組態之一或多個區段：曲線、彎曲、螺旋、傾斜、下降、分叉(例如多個不同流動路徑)及其等之任何組合。另外，流動通道沿其路徑可具有不同橫截面積，其等變寬及收縮以於其中提供所需流體流。流動通道可包含閥，且閥可為微流體技術中已知之任何類型。在美國專利第6,408,878號及第9,227,200號中揭示包含閥的微流體通道之實例，該等專利之各者之全文以引用的方式併入本文中。

如本文中所使用，術語「障礙」一般係指一凸塊或類似類型之結構，其足夠大以便部分(但非完全)阻礙目標微物件在一微流體裝置中之兩個不同區域或線路元件之間的移動。該兩個不同區域/線路元件可為(例如)一微流體封存圈之連接區域及隔離區域。

如本文中所使用，術語「收縮」一般係指一微流體裝置中之一線路元件(或兩個線路元件之間的一介面)之一寬度之一變窄。收縮可定位於(例如)本發明之一微流體封存圈之隔離區域與連接區域之間的介面處。

如本文中所使用，「透明」係指允許可見光穿過而實質上不會在該光穿過時更改該光之一材料。

如本文中所使用，術語「微物件」一般係指可根據本發明而隔離及/或操縱之任何微觀物件。微物件之非限制性實例包含：無生命微物件，諸如微粒；微珠(例如聚苯乙烯珠、Luminex™珠或類似者)；磁珠；微桿；微

絲；量子點及類似者；生物微物件，諸如細胞；生物細胞器；囊泡或複合體；合成囊泡；脂質體(例如，合成或衍生自膜配製物)；脂質奈米筏及類似者；或無生命微物件及生物微物件之一組合(例如附接至細胞之微珠、經脂質體塗佈之微珠、經脂質體塗佈之磁珠或類似者)。珠可包含共價或非共價連接之部分/分子，諸如螢光標記、蛋白質、碳水化合物、抗原、小分子傳訊部分或能夠用於一化驗中之其他化學/生物物種。例如，已在Ritchie等人(2009)之「Reconstitution of Membrane Proteins in Phospholipid Bilayer Nanodiscs」，Methods Enzymol.，464:211-231中描述脂質奈米筏。

如本文中所使用，術語「細胞」與術語「生物細胞」可互換地使用。生物細胞之非限制性實例包含真核細胞、植物細胞、動物細胞(諸如哺乳動物細胞、爬蟲動物細胞、鳥類細胞、魚類細胞或類似者)、原核細胞、細菌細胞、真菌細胞、原生動物細胞或類似者、自組織(諸如肌肉、軟骨、脂肪、皮膚、肝、肺、神經組織及類似者)解離的細胞、免疫細胞(諸如T細胞、B細胞、自然殺手細胞、巨噬細胞及類似者)、胚胎(例如，受精卵)、卵母細胞、卵細胞、精子細胞、融合瘤、經培養之細胞、來自細胞系的細胞、癌細胞、受感染之細胞、經轉染及/或轉形之細胞、報導細胞及類似者。哺乳動物細胞可來自(例如)人類、小鼠、大鼠、馬、山羊、綿羊、奶牛、靈長類動物或類似者。

若生物細胞之群落中能夠繁殖的全部活細胞係衍生自單一親代細胞之子細胞，則該群落係「純系的」。在某些實施例中，純系群落中的所有子細胞係自單一親代細胞衍生不多於10次分裂。在其他實施例中，純系群落中的所有子細胞係自單一親代細胞衍生不多於14次分裂。在其他實施例

中，純系群落中的所有子細胞係自單一親代細胞衍生不多於17次分裂。在其他實施例中，純系群落中的所有子細胞係自單一親代細胞衍生不多於20次分裂。術語「純系細胞」係指相同純系群落之細胞。

如本文中所使用，生物細胞之「群落」係指2個或2個以上細胞(例如約2個至約20個、約4個至約40個、約6個至約60個、約8個至約80個、約10個至約100個、約20個至約200個、約40個至約400個、約60個至約600個、約80個至約800個、約100個至約1000個或大於1000個細胞)。

如本文中所使用，術語「維持(一或若干)細胞」係指提供包括流體組分與氣體組分兩者及(視情況)提供使細胞保持存活及/或擴增所必需之條件的一表面之一環境。

如本文中所使用，術語「擴增」在涉及細胞時係指細胞數目之增加。

流體介質之「組分」係存在於該介質中之任何化學或生化分子，包含溶劑分子、離子、小分子、抗生素、核苷酸及核苷、核酸、胺基酸、肽、蛋白質、糖、碳水化合物、脂質、脂肪酸、膽固醇、代謝物或類似者。

如本文中所使用，「捕獲部分」係提供一微物件之一辨識位點的一化學或生物物種、官能或模體(motif)。選定類別之微物件可在原位產生之捕獲部分中辨識且可結合原位產生之捕獲部分或具有對原位產生之捕獲部分之親和力。非限制性實例包含抗原、抗體及細胞表面黏結模體。

如本文中所使用，「可流動聚合物」係可溶於或可分散於一流體介質(例如，預聚合物溶液)內的聚合物單體或巨分子單體。可流動聚合物可輸入至一微流體流動區域中且在該微流體流動區域中與流體介質之其他組分一起流動。

如本文中所使用，「光引發聚合物」係指在曝光於光時能夠共價交聯、

形成特定共價鍵、改變剛化化學模體周圍之區域化學或形成致使物理狀態改變之離子對及由此形成聚合物網路之聚合物(或可用以產生聚合物之單體分子)。在一些例項中，光引發聚合物可包含結合至能夠共價交聯、形成特定共價鍵、改變剛化化學模體周圍之區域化學或形成致使物理狀態改變之離子對之一或多個化學部分之聚合物片段。在一些例項中，光引發聚合物可需要可光活化自由基引發劑以(例如，經由聚合物之聚合作用)引發聚合物網路之形成。

如本文中所使用，「抗體」係指免疫球蛋白(Ig)且包含多株抗體及單株抗體兩者；靈長類化(例如，人類化)；鼠科；小鼠-人類；小鼠-靈長類動物；及嵌合抗體；及可為完整分子、其片段(諸如scFv、Fv、Fd、Fab、Fab'及F(ab)'₂片段)或完整分子及/或片段之多聚物或聚集物；且可天然生成或可(例如)藉由免疫作用、合成或基因改造產生。如本文使用之「抗體片段」係指衍生自或涉及抗體之片段，其等結合抗原及在一些實施例中可經衍生化以展現(例如)藉由併入半乳糖殘基促進廓清及攝取之結構特徵。此包含(例如)F(ab)、F(ab)'₂、scFv、輕鏈可變區域(VL)、重鏈可變區域(VH)及其組合。

如本文中參考流體介質所使用，「擴散」及「擴散作用」係指流體介質之組分沿濃度梯度向下之熱力學移動。

片語「介質之流動」意謂流體介質主要歸因於除擴散作用外之任何機制之整體移動。例如，介質之流動可涉及流體介質歸因於點間之壓力差而自一個點移動至另一點。此流動可包含液體之連續、脈衝、週期性、隨機、間歇性或往復流動或其任何組合。當一種流體介質流入另一流體介質內時，可導致介質之湍流及混合。

片語「實質上無流動」係指流體介質經時平均之流動速率係小於材料(例如，受關注之分析物)之組分擴散至該流體介質內或於該流體介質內擴散之速率。此一材料之組分之擴散速率可取決於(例如)溫度、該等組分之大小及該等組分與該流體介質之間之相互作用之強度。

如本文中參考微流體裝置內之不同區域所使用，片語「流體連接」意謂：當該等不同區域實質上填充有流體(諸如流體介質)時，該等區域之各者中之流體經連接以便形成單個流體。此不意謂該等不同區域中之流體(或流體介質)在組成上必定相同。實情係，微流體裝置之不同流體連接區域中之流體可具有處於變化中之不同組成(例如不同濃度之溶質，諸如蛋白質、碳水化合物、離子或其他分子)，此係因為溶質沿其等各自濃度梯度移動及/或流體流動通過該微流體裝置。

如本文中所使用，「流動路徑」係指一或多個流體連接線路元件(例如(若干)通道、(若干)區域、(若干)室及類似者)，其等界定且經受介質之流動軌跡。因此，流動路徑係微流體裝置之掃及區域之一實例。其他線路元件(例如未掃及區域)可與包括流動路徑之線路元件流體連接但未經受介質在流動路徑中之流動。

如本文中所使用，「隔離微物件」將微物件限定於該微流體裝置內的界定區域。

微流體(或奈米流體)裝置可包括「掃及」區域及「未掃及」區域。如本文中所使用，「掃及」區域由微流體線路之一或多個流體互連線路元件組成，該一或多個流體互連線路元件之各者在流體流動通過該微流體線路時經歷介質之流動。掃及區域之線路元件可包含(例如)區域、通道及全部或部分室。如本文中所使用，「未掃及」區域由微流體線路之一或多個流

體互連線路元件組成，該一或多個流體互連線路元件之各者在流體流動通過該微流體線路時實質上未經歷流體通量。未掃及區域可流體連接至掃及區域，但是該等流體連接經結構化以實現擴散但在掃及區域與未掃及區域之間實質上無介質流動。因此，微流體裝置可經結構化以實質上使未掃及區域與掃及區域中之介質之流動隔離，同時實質上僅實現該掃及區域與該未掃及區域之間的擴散性流體連通。例如，微流體裝置之流動通道係掃及區域之一實例，而微流體裝置之隔離區域(下文將進一步詳細描述)係未掃及區域之一實例。

可在此一微流體裝置中化驗生物微物件(例如，生物細胞)產生特定生物材料(例如，抗原，諸如抗體)之能力。在化驗之特定實施例中，包括經化驗用於產生所關注分析物之生物微物件(例如，細胞)的樣本材料可裝載至微流體裝置之一掃及區域中。生物微物件(例如，哺乳動物細胞，諸如人類細胞)之若干者可針對特定特性進行選擇且安置於未掃及區域中。剩餘樣本材料接著可流出掃及區域且化驗材料流入掃及區域中。因為選定生物微物件在未掃及區域中，選定生物微物件實質上不受剩餘樣本材料之流出或化驗材料之流入影響。可允許選定生物微物件產生所關注分析物，其可自未掃及區域擴散至掃及區域中，其中所關注分析物可與化驗材料反應以產生局部可偵測反應物，該等反應物之各者可與一特定未掃及區域相關。與一偵測反應物相關聯之任何未掃及區域可經分析以判定(若有)未掃及區域中的哪些生物微物件係所關注分析物之充足產生者。

微流體裝置及用於操作及觀測此等裝置之系統

圖1A繪示可用於引進、培養及/或監測微物件之一微流體裝置100及一系統150之一實例。展示微流體裝置100之一透視圖，其使其蓋110經部分

切除以提供微流體裝置100之一部分視圖。微流體裝置100大體上包括一微流體線路120，其包括一流動路徑106，一流體介質180可流動通過流動路徑106以視情況將一或多個微物件(圖中未展示)攜載至微流體線路120中及/或通過微流體線路120。雖然圖1A中繪示一單個微流體線路120，但適合微流體裝置可包含複數個(例如2個或3個)此等微流體線路。無論如何，微流體裝置100可經組態為一奈米流體裝置。如圖1A所繪示，微流體線路120可包含複數個微流體封存圈124、126、128及130，其中各封存圈可具有與流動路徑106流體連通之一或多個開口。在圖1A之裝置之一些實施例中，封存圈可僅具有與流動路徑106流體連通之一單個開口。如下文將進一步論述，微流體封存圈包括各種特徵及結構，其等已經最佳化以即使在介質180流動通過流動路徑106時亦使微物件保留於微流體裝置(諸如微流體裝置100)中。然而，在轉向前述之前，提供微流體裝置100及系統150之一簡要描述。

如圖1A中大體上所繪示，微流體線路120由一外殼102界定。雖然可將外殼102實體地結構化成不同組態，但在圖1A所展示之實例中，將外殼102描繪為包括支撐結構104 (例如基座)、微流體線路結構108及蓋110。支撐結構104、微流體線路結構108及蓋110可彼此附接。例如，微流體線路結構108可安置於支撐結構104之一內表面109上，且蓋110可安置於微流體線路結構108上方。微流體線路結構108可與支撐結構104及蓋110一起界定微流體線路120之元件。

支撐結構104可位於微流體線路120之底部處且蓋110可位於微流體線路120之頂部處，如圖1A中所繪示。替代地，可使支撐結構104及蓋110依其他定向組態。例如，支撐結構104可位於微流體線路120之頂部處且蓋110

可位於微流體線路120之底部處。無論如何，可存在各包括進入或離開外殼102之一通路之一或多個埠107。通路之實例包含閥、閘、貫通孔或類似者。如所繪示，埠107係由微流體線路結構108中之一間隙產生之一貫通孔。然而，埠107可位於外殼102之其他組件(諸如蓋110)中。雖然圖1A中僅繪示一個埠107，但微流體線路120可具有兩個或兩個以上埠107。例如，可存在用作使流體進入微流體線路120之一入口之一第一埠107，且可存在用作使流體流出微流體線路120之一出口之一第二埠107。一埠107是否用作一入口或一出口可取決於流體流動通過流體路徑106之方向。

支撐結構104可包括一或多個電極(未展示)及一基板或複數個互連基板。例如，支撐結構104可包括一或多個半導體基板，其等之各者電連接至一電極(例如，該等半導體基板之全部或一子集可電連接至一單個電極)。支撐結構104可進一步包括一印刷電路板總成(「PCBA」)。例如，該(等)半導體基板可安裝於一PCBA上。

微流體線路結構108可界定微流體線路120之線路元件。此等線路元件可包括可在微流體線路120填充有流體時流體互連之空間或區域，諸如流動區域(其等可包含或可為一或多個流動通道)、室、圈、阱及類似者。在圖1A所繪示之微流體線路120中，微流體線路結構108包括框架114及微流體線路材料116。框架114可部分或完全圍封微流體線路材料116。框架114可為(例如)實質上包圍微流體線路材料116之一相對剛性結構。例如，框架114可包括金屬材料。

微流體線路材料116可經圖案化具有腔或類似者以界定微流體線路120之線路元件及互連件。微流體線路材料116可包括可透氣之可撓性材料，諸如可撓性聚合物(例如橡膠、塑膠、彈性體、聚矽氧、聚二甲矽氧烷

(「PDMS」)或類似者)。可構成微流體線路材料116之材料之其他實例包含模製玻璃、可蝕刻材料(諸如聚矽氧(例如光可圖案化聚矽氧或「PPS」)、光阻劑(例如SU8)或類似者。在一些實施例中，此等材料(及因此微流體線路材料116)可為剛性的及/或實質上可不透氣。無論如何，微流體線路材料116可安置於支撐結構104上及框架114內。

蓋110可為框架114及/或微流體線路材料116之一整合部分。替代地，蓋110可為一結構相異元件，如圖1A中所繪示。蓋110可包括相同於或不同於框架114及/或微流體線路材料116之材料。類似地，支撐結構104可為與框架114或微流體線路材料116分離之一結構(如所繪示)或可為框架114或微流體線路材料116之一整合部分。同樣地，框架114及微流體線路材料116可為分離結構(如圖1A中所展示)或相同結構之整合部分。

在一些實施例中，蓋110可包括一剛性材料。該剛性材料可為玻璃或具有類似性質之一材料。在一些實施例中，蓋110可包括一可變形材料。該可變形材料可為聚合物，諸如PDMS。在一些實施例中，蓋110可包括剛性材料及可變形材料兩者。例如，蓋110之一或多個部分(例如定位於封存圈124、126、128、130上方之一或多個部分)可包括與蓋110之剛性材料介接之一可變形材料。在一些實施例中，蓋110可進一步包含一或多個電極。該一或多個電極可包括可塗佈於玻璃或一類似絕緣材料上之導電氧化物，諸如氧化銦錫(ITO)。替代地，該一或多個電極可為嵌入於一可變形材料(諸如聚合物(例如PDMS))中之可撓性電極，諸如單壁奈米管、多壁奈米管、奈米線、導電奈米粒子之叢集或其等之組合。例如，U.S. 2012/0325665 (Chiou等人)中已描述可用於微流體裝置中之可撓性電極，該案之內容以引用的方式併入本文中。在一些實施例中，蓋110可經改質(例如，藉由調節

向內面向微流體線路120之一表面之全部或部分)以支援細胞黏著、存活性及/或生長。該改質可包含塗佈合成或天然聚合物。在一些實施例中，蓋110及/或支撐結構104可透光。蓋110亦可包含至少一種可透氣材料，例如PDMS或PPS。

圖1A亦展示用於操作及控制微流體裝置(諸如微流體裝置100)之一系統150。系統150包含電源192、成像裝置(併入成像模組164內，其中圖1A中未繪示成像裝置)及一傾斜裝置(傾斜模組166之部分，其中圖1A中未繪示傾斜裝置)。

電源192可將電力提供至微流體裝置100及/或傾斜裝置190以根據需要提供偏壓電壓或電流。電源192可(例如)包括一或多個交流(AC)及/或直流(DC)電壓源或電流源。成像裝置194 (成像模組164之部分，下文所論述)可包括用於捕獲微流體線路120內部之影像之一裝置，諸如數位相機。在一些例項中，成像裝置194進一步包括具有一快圖框速率及/或高敏感度(例如，用於弱光應用)之一偵測器。成像裝置194亦可包含用於將刺激輻射及/或光束導引至微流體線路120中且收集自微流體線路120 (或其中含有之微物件)反射或發射之輻射及/或光束之一機構。經發射之光束可在可見光譜中且可(例如)包含螢光發射。經反射之光束可包含源自LED或寬譜燈(諸如水銀燈(例如高壓水銀燈)或氙弧燈)之反射發射。如關於圖3B所論述，成像裝置194可進一步包含顯微鏡(或光學元件串)，其可或可不包含目鏡。

系統150進一步包括經組態以使一微流體裝置100圍繞一或多個旋轉軸旋轉之一傾斜裝置190 (傾斜模組166之部分，下文所論述)。在一些實施例中，傾斜裝置190經組態以圍繞至少一個軸支撐及/或固持包括微流體線路120之外殼102，使得微流體裝置100 (及因此微流體線路120)可保持於水

平定向(即,相對於x軸及y軸成 0°)、垂直定向(即,相對於x軸及/或y軸成 90°)或其間之任何定向上。微流體裝置100 (及微流體線路120)相對於一軸之定向在本文中稱為微流體裝置100 (及微流體線路120)之「傾斜」。例如,傾斜裝置190可使微流體裝置100相對於x軸傾斜 0.1° 、 0.2° 、 0.3° 、 0.4° 、 0.5° 、 0.6° 、 0.7° 、 0.8° 、 0.9° 、 1° 、 2° 、 3° 、 4° 、 5° 、 10° 、 15° 、 20° 、 25° 、 30° 、 35° 、 40° 、 45° 、 50° 、 55° 、 60° 、 65° 、 70° 、 75° 、 80° 、 90° 或其間之任何角度。水平定向(及因此x軸及y軸)係定義為法向於由重力界定之垂直軸。傾斜裝置亦可使微流體裝置100 (及微流體線路120)相對於x軸及/或y軸傾斜大於 90° 之任何角度,或使微流體裝置100 (及微流體線路120)相對於x軸或y軸傾斜 180° 以使微流體裝置100 (及微流體線路120)完全倒置。類似地,在一些實施例中,傾斜裝置190使微流體裝置100 (及微流體線路120)圍繞由微流體線路120之流動路徑106或某一其他部分界定之一旋轉軸傾斜。

在一些例項中,使微流體裝置100傾斜成垂直定向,使得流動路徑106定位於一或多個封存圈上方或下方。如本文中所使用,術語「上方」表示:在由重力界定之一垂直軸上,流動路徑106定位成高於一或多個封存圈(即,流動路徑106上方之封存圈中之物件將具有比流動路徑中之物件高之重力勢能)。如本文中所使用,術語「下方」表示:在由重力界定之一垂直軸上,流動路徑106定位成低於一或多個封存圈(即,流動路徑106下方之封存圈中之物件將具有比流動路徑中之物件低之重力勢能)。

在一些例項中,傾斜裝置190使微流體裝置100圍繞平行於流動路徑106之一軸傾斜。而且,可使微流體裝置100傾斜至小於 90° 之一角度,使得流動路徑106定位於一或多個封存圈上方或下方而非直接定位於封存圈

上方或下方。在其他例項中，傾斜裝置190使微流體裝置100圍繞垂直於流動路徑106之一軸傾斜。在又其他例項中，傾斜裝置190使微流體裝置100圍繞既非平行於流動路徑106亦非垂直於流動路徑106之一軸傾斜。

系統150可進一步包含介質源178。介質源178 (例如容器、儲器或類似者)可包括各用於容納不同流體介質180之多個區段或容器。因此，介質源178可為位於微流體裝置100外部且與微流體裝置100分離之一裝置，如圖1A中所繪示。替代地，介質源178可全部或部分定位於微流體裝置100之外殼102內部。例如，介質源178可包括儲器，其係微流體裝置100之部分。

圖1A亦繪示構成系統150之部分且可結合一微流體裝置100一起使用之控制及監測設備152之實例之簡化方塊圖描述。如所展示，此控制及監測設備152之實例包含包括用於控制介質源178之一介質模組160之一主控制器154、用於控制微流體線路120中之微物件(未展示)及/或介質(例如介質之液滴)之移動及/或選擇之一動力模組162、用於控制用於捕獲影像(例如數位影像)之一成像裝置194 (例如相機、顯微鏡、光源或其等之任何組合)之一成像模組164及用於控制一傾斜裝置190之一傾斜模組166。控制設備152亦可包含用於控制、監測或執行關於微流體裝置100之其他功能之其他模組168。如所展示，設備152可進一步包含一顯示裝置170及一輸入/輸出裝置172。

主控制器154可包括一控制模組156及一數位記憶體158。控制模組156可包括(例如)一數位處理器，其經組態以根據作為非暫時性資料或信號儲存於記憶體158中之機器可執行指令(例如軟體、韌體、原程式碼或類似者)而操作。替代地或另外，控制模組156可包括硬接線數位電路及/或類比

電路。可類似地組態介質模組160、動力模組162、成像模組164、傾斜模組166及/或其他模組168。因此，可由如上文所論述般組態之主控制器154、介質模組160、動力模組162、成像模組164、傾斜模組166及/或其他模組168之任何一或多者執行如關於微流體裝置100或任何其他微流體設備而執行之本文中所論述之功能、程序、處理、動作、行為或一程序之步驟。類似地，主控制器154、介質模組160、動力模組162、成像模組164、傾斜模組166及/或其他模組168可經通信地耦合以傳輸及接收用於本文中所論述之任何功能、程序、動作、行為或步驟中之資料。

介質模組160控制介質源178。例如，介質模組160可控制介質源178以將一選定流體介質180輸入至外殼102中(例如，透過一入口埠107)。介質模組160亦可控制自外殼102移除介質(例如，透過一出口埠(未展示))。因此，可將一或多個介質選擇性地輸入至微流體線路120中及自微流體線路120移除。介質模組160亦可控制流體介質180在微流體線路120內之流動路徑106中之流動。例如，在一些實施例中，在傾斜模組166致使傾斜裝置190使微流體裝置100傾斜至一所要傾斜角之前，介質模組160停止介質180在流動路徑106中流動且停止介質180流動通過外殼102。

動力模組162可經組態以控制微流體線路120中之微物件(未展示)之選擇、捕集及移動。如下文關於圖1B及圖1C論述，外殼102可包括介電泳(DEP)、光電子鑷子(OET)及/或光電潤濕(OEW)組態(圖1A中未展示)，且動力模組162可控制電極及/或電晶體(例如光電晶體)之啟動來選擇及移動流動路徑106及/或封存圈124、126、128、130中之微物件(未展示)及/或介質之液滴(未展示)。

成像模組164可控制成像裝置194。例如，成像模組164可接收及處理

來自成像裝置194之影像資料。來自成像裝置194之影像資料可包括由成像裝置194捕獲之任何類型之資訊(例如,存在或不存在微物件、介質之液滴、標記(諸如螢光標記)之累積等)。使用由成像裝置194捕獲之資訊,成像模組164可進一步計算物件(例如微物件、介質之液滴)之位置及/或此等物件在微流體裝置100內之運動速率。

傾斜模組166可控制傾斜裝置190之傾斜運動。替代地或另外,傾斜模組166可控制傾斜速率及時序以最佳化微物件經由重力而轉移至一或多個封存圈。傾斜模組166與成像模組164通信地耦合以接收描述微物件及/或介質之液滴在微流體線路120中之運動之資料。使用此資料,傾斜模組166可調整微流體線路120之傾斜以調整微物件及/或介質之液滴在微流體線路120中移動之速率。傾斜模組166亦可使用此資料來反覆地調整一微物件及/或介質之液滴在微流體線路120中之位置。

在圖1A所展示之實例中,將微流體線路120繪示為包括一微流體通道122及封存圈124、126、128、130。各圈包括至通道122之一開口,但其他方面經封閉使得圈可實質上將圈內之微物件與通道122之流動路徑106中或其他圈中之流體介質180及/或微物件隔離。封存圈之壁自基座之內表面109延伸至蓋110之內部表面以提供外殼。圈對微流體通道122之開口定向為與流體介質180之流160成一角度使得流106不會被引導至圈中。流可與圈之開口之平面相切或正交。在一些例項中,圈124、126、128、130經組態以將一或多個微物件實體上圍於微流體線路120內。根據本發明之封存圈可包括各種形狀、表面及特徵,其等經最佳化以與DEP、OET、OEWS、流體流動及/或重力一起使用,如將在下文詳細論述及展示。

微流體線路120可包括任何數目個微流體封存圈。雖然展示5個封存

圈，但微流體線路120可具有更少或更多個封存圈。如所展示，微流體線路120之微流體封存圈124、126、128、130各包括可提供可用於維持、隔離、化驗或培養生物微物件之一或多個益處之不同特徵及形狀。在一些實施例中，微流體線路120包括複數個相同微流體封存圈。

在圖1A中所繪示之實施例中，展示一單個通道122及流動路徑106。然而，其他實施例可含有各經組態以包括一流動路徑106之多個通道122。微流體線路120進一步包括與流動路徑106及流體介質180流體連通之一入口閥或埠107，藉此流體介質180可經由入口埠107進入通道122。在一些例項中，流動路徑106包括一單個路徑。在一些例項中，將該單個路徑配置成一Z字形圖案，藉此流動路徑106在替代方向上穿過微流體裝置100兩次或兩次以上。

在一些例項中，微流體線路120包括複數個平行通道122及流動路徑106，其中各流動路徑106內之流體介質180在相同方向上流動。在一些例項中，各流動路徑106內之流體介質在正向或反向方向之至少一者上流動。在一些例項中，複數個封存圈經組態(例如，相對於一通道122)使得封存圈可平行裝載有目標微物件。

在一些實施例中，微流體線路120進一步包括一或多個微物件阱132。阱132一般形成於形成通道122之邊界之一壁中，且可定位成與微流體封存圈124、126、128、130之一或多者之一開口相對。在一些實施例中，阱132經組態以接收或捕獲來自流動路徑106之一單個微物件。在一些實施例中，阱132經組態以接收或捕獲來自流動路徑106之複數個微物件。在一些例項中，阱132包括近似等於一單個目標微物件之體積的一體積。

阱132可進一步包括經組態以有助於目標微物件流動至阱132中之一

開口。在一些例項中，阱132包括具有近似等於一單個目標微物件之尺寸之一高度及寬度之一開口，藉此防止較大微物件進入至微物件阱中。阱132可進一步包括經組態以有助於目標微物件保留於阱132內之其他特徵。在一些例項中，阱132與一微流體封存圈之開口對準且位於與該開口相對之一通道122之側上，使得在使微流體裝置100圍繞平行於微流體通道122之一軸傾斜之後，所捕集之微物件以致使微物件落入至封存圈之開口中之一軌跡離開阱132。在一些例項中，阱132包括一側通路134，其小於目標微物件以促進流動通過阱132且藉此增加在阱132中捕獲微物件之可能性。

在一些實施例中，經由一或多個電極(未展示)而跨流體介質180 (例如，在流動路徑中及/或在封存圈中)施加介電泳(DEP)力以操縱、運輸、分離及分選位於其中之微物件。例如，在一些實施例中，將DEP力施加至微流體線路120之一或多個部分以將一單個微物件自流動路徑106轉移至一所要微流體封存圈中。在一些實施例中，使用DEP力以防止一封存圈(例如封存圈124、126、128或130)內之一微物件自該封存圈移走。進一步言之，在一些實施例中，使用DEP力以自先前根據本發明之實施例而收集之一封存圈選擇性地移除一微物件。在一些實施例中，DEP力包括光電子鑷子(OET)力。

在其他實施例中，經由一或多個電極(未展示)將光電潤濕(OEW)力施加至微流體裝置100之支撐結構104 (及/或蓋110)中之一或多個位置(例如有助於界定流動路徑及/或封存圈之位置)以操縱、運輸、分離及分選定位於微流體線路120中之液滴。例如，在一些實施例中，將OEW力施加至支撐架構104 (及/或蓋110)中之一或多個位置以將一單個液滴自流動路徑106轉移至一所要微流體封存圈中。在一些實施例中，使用OEW力以防止封存

圈(例如封存圈124、126、128或130)內之液滴自該封存圈移走。進一步言之，在一些實施例中，使用OEW力以自先前根據本發明之實施例而收集之一封存圈選擇性地移除液滴。

在一些實施例中，DEP力及/或OEW力與其他力(諸如流動力及/或重力)組合以便操縱、運輸、分離及分選微流體線路120內之微物件及/或液滴。例如，外殼102可經傾斜(例如，藉由傾斜裝置190)以將流動路徑106及定位於流動路徑106中之微物件定位於微流體封存圈上方，且重力可將微物件及/或液滴運輸至圈中。在一些實施例中，可在其他力之前施加DEP力及/或OEW力。在其他實施例中，可在其他力之後施加DEP力及/或OEW力。在又其他例項中，DEP力及/或OEW力可與其他力同時施加或以與其他力交替的方式施加。

圖1B、圖1C及圖2A至圖2H繪示可用於本發明之實施例之實踐中之微流體裝置之各種實施例。圖1B描繪其中微流體裝置200經組態為一光學致動式電動裝置之一實施例。此項技術中已知各種光學致動式電動裝置，包含具有一光電子鑷子(OET)組態之裝置及具有一光電潤濕(OEW)組態之裝置。下列美國專利文件(其等之各者之全文以引用的方式併入本文中)中繪示適合OET組態之實例：美國專利第RE 44,711號(Wu等人)(最初發表為美國專利第7,612,355號)及美國專利第7,956,339號(Ohta等人)。美國專利第6,958,132號(Chiou等人)及美國專利申請公開案第2012/0024708號(Chiou等人)中繪示OEW組態之實例，該兩個專利之全文以引用的方式併入本文中。一光學致動式電動裝置之又一實例包含經組合之OET/OEW組態，其等之實例展示於美國專利公開案第20150306598號(Khandros等人)及第20150306599號(Khandros等人)及其對應PCT公開案WO2015/164846及

WO2015/164847中，全部該等案之全文以引用的方式併入本文中。

例如，已在US 2014/0116881 (2013年10月22日申請之申請案第14/060,117號)、US 2015/0151298 (2014年10月22日申請之申請案第14/520,568號)及US 2015/0165436 (2014年10月22日申請之申請案第14/521,447號)中描述具有其中可放置、培養及/或監測生物微物件之圈的微流體裝置之實例，其等各者之全文以引用的方式併入本文中。美國申請案第14/520,568號及第14/521,447號亦描述分析一微流體裝置中培養的細胞之分泌物之例示性方法。上述申請案之各者進一步描述經組態以產生介電泳(DEP)力(諸如光電子鑷子(OET))或經組態以提供光電潤濕(OEW)之微流體裝置。例如，US 2014/0116881之圖2中所繪示的光電子鑷子裝置係可在本發明之實施例中利用以選擇且移動一個別生物微物件或一生物微物件群組的一裝置之一實例。

微流體裝置動力組態。如上文所描述，系統之控制及監測設備可包括用於選擇及移動一微流體裝置之微流體線路中之物件(諸如微物件或液滴)之一動力模組。微流體裝置可具有取決於所移動之物件之類型及其他考量之各種動力組態。例如，可利用一介電泳(DEP)組態來選擇及移動微流體線路中之微物件。因此，微流體裝置100之支撐結構104及/或蓋110可包括用於對微流體線路120中之一流體介質180中之微物件選擇性地誘發DEP力之一DEP組態且藉此選擇、捕獲及/或移動個別微物件或微物件群組。替代地，微流體裝置100之支撐結構104及/或蓋110可包括用於對微流體線路120中之一流體介質180中之液滴選擇性地誘發電潤濕(EW)力之一EW組態且藉此選擇、捕獲及/或移動個別液滴或液滴群組。

圖1B及圖1C中繪示包括一DEP組態之一微流體裝置200之一個實

例。雖然為簡單起見，圖1B及圖1C分別展示具有一區域/室202之微流體裝置200之一外殼102之一部分之一側視橫截面圖及一俯視橫截面圖，但應瞭解，區域/室202可為具有一更詳細結構(諸如生長室、封存圈、流動區域或流動通道)之一流體線路元件之部分。此外，微流體裝置200可包含其他流體線路元件。例如，微流體裝置200可包含複數個生長室或封存圈及/或一或多個流動區域或流動通道，諸如本文中關於微流體裝置100所描述者。可將一DEP組態併入至微流體裝置200之任何此等流體線路元件或其選擇部分中。應進一步瞭解，上文或下文描述之微流體裝置組件及系統組件之任何者可併入於微流體裝置200中及/或與微流體裝置200一起使用。例如，包含上文所描述之控制及監測設備152之系統150可與微流體裝置200一起使用，系統150包含介質模組160、動力模組162、成像模組164、傾斜模組166及其他模組168之一或多者。

如圖1B中所見，微流體裝置200包含：一支撐結構104，其具有一底部電極204及上覆於底部電極204之一電極啟動基板206；及一蓋110，其具有一頂部電極210，其中頂部電極210與底部電極204間隔開。頂部電極210及電極啟動基板206界定區域/室202之相對表面。因此，區域/室202中含有之介質180提供頂部電極210與電極啟動基板206之間的一電阻連接。亦展示一電源212，其經組態以連接至底部電極204及頂部電極210且在該等電極之間產生一偏壓電壓(如產生區域/室202中之DEP力所需)。電源212可為(例如)一交流(AC)電源。

在某些實施例中，圖1B及圖1C中所繪示之微流體裝置200可具有一光學致動式DEP組態。據此，來自光源216之光之變化圖案218 (其可由動力模組162控制)可選擇性地啟動及撤銷啟動DEP電極於電極啟動基板206之

內表面208之區域214處之變化圖案。(在下文中將具有一DEP組態之一微流體裝置之區域214稱為「DEP電極區域」)。如圖1C中所繪示，引導至電極啟動基板206之內表面208上之一光圖案218以一圖案(諸如正方形)照明選擇DEP電極區域214a(以白色展示)。未經照明之DEP電極區域214(交叉影線)在下文中稱為「暗」DEP電極區域214。通過DEP電極啟動基板206之相對電阻抗(即，自底部電極204直至與流動區域106中之介質180介接之電極啟動基板206之內表面208)大於在各暗DEP電極區域214處通過區域/室202中之介質180之相對電阻抗(即，自電極啟動基板206之內表面208至蓋110之頂部電極210)。然而，一經照明之DEP電極區域214a展現通過電極啟動基板206之一減小相對阻抗，其小於各經照明DEP電極區域214a處通過區域/室202中之介質180之相對阻抗。

在啟動電源212之情況下，上述DEP組態在經照明之DEP電極區域214a與相鄰暗DEP電極區域214之間的流體介質180中產生電場梯度，其繼而產生吸引或排斥流體介質180中之鄰近微物件(未展示)之局部DEP力。因此，可藉由改變自一光源216投射至微流體裝置200中之光圖案218而在區域/室202之內表面208處許多不同此等DEP電極區域214處選擇性地啟動及撤銷啟動吸引或排斥流體介質180中之微物件之DEP電極。DEP力是否吸引或排斥鄰近微物件可取決於諸如電源212之頻率及介質180及/或微物件(未展示)之介電性質之參數。

圖1C中所繪示之經照明DEP電極區域214a之正方形圖案220僅係一實例。可由投射至微流體裝置200中之光圖案218照明(且藉此啟動)DEP電極區域214之任何圖案，且可藉由改變或移動光圖案218而重複地改變經照明/經啟動DEP電極區域214之圖案。

在一些實施例中，電極啟動基板206可包括光導材料或由光導材料組成。在此等實施例中，電極啟動基板206之內表面208可為無特徵的。例如，電極啟動基板206可包括氫化非晶矽(a-Si:H)層或由氫化非晶矽(a-Si:H)層組成。a-Si:H可包括(例如)約8%至約40%之氫(計算為 $100 \times$ 氫原子之數目/ 氫原子及矽原子之總數目)。a-Si:H層可具有約500奈米至約2.0 μm 之一厚度。在此等實施例中，DEP電極區域214可根據光圖案218而產生於電極啟動基板206之內表面208上之任何位置處且呈任何圖案。因此，DEP電極區域214之數目及圖案無需固定，而是可對應於光圖案218。例如，中美國專利第RE 44,711號(Wu等人)(最初發表為美國專利第7,612,355號)中已描述具有一DEP組態(其包括諸如上文所論述之光導層)之微流體裝置之實例，該專利之全文以引用的方式併入本文中。

在其他實施例中，電極啟動基板206可包括一基板，其包括形成半導體積體電路之複數個摻雜層、電絕緣層(或區域)及導電層，諸如半導體領域中所知。例如，電極啟動基板206可包括複數個光電晶體，包含(例如)橫向雙極光電晶體，各光電晶體對應於一DEP電極區域214。替代地，電極啟動基板206可包括由光電晶體開關控制之電極(例如導電金屬電極)，其中各此電極對應於一DEP電極區域214。電極啟動基板206可包含此等光電晶體或經光電晶體控制之電極之一圖案。例如，該圖案可為配置成列及行之實質上正方形光電晶體或經光電晶體控制之電極之一陣列，諸如圖2B中所展示。替代地，該圖案可為形成一六方晶格之實質上呈六邊形光電晶體或經光電晶體控制之電極之一陣列。無論圖案如何，電路元件可形成電極啟動基板206之內表面208處之DEP電極區域214與底部電極210之間的電連接，且該等電連接(即，光電晶體或電極)可由光圖案218選擇性地啟動及撤

銷啟動。當未啟動時，各電連接可具有高阻抗，使得通過電極啟動基板206之相對阻抗(即，自底部電極204至與區域/室202中之介質180介接之電極啟動基板206之內表面208)大於在對應DEP電極區域214處通過介質180之相對阻抗(即，自電極啟動基板206之內表面208至蓋110之頂部電極210)。然而，當由光圖案218中之光啟動時，通過電極啟動基板206之相對阻抗小於在各經照明DEP電極區域214處通過介質180之相對阻抗，藉此啟動對應DEP電極區域214處之DEP電極，如上文所論述。因此，可依由光圖案218判定之一方式在區域/室202中之電極啟動基板206之內表面208處之許多不同DEP電極區域214處選擇性地啟動及撤銷啟動吸引或排斥介質180中之微物件(未展示)之DEP電極。

例如，美國專利第7,956,339號(Ohta等人)中已描述具有包括光電晶體之電極啟動基板之微流體裝置之實例(例如，參見圖21及圖22中所繪示之裝置300及其描述)，該專利之全文以引用的方式併入本文中。例如，美國專利公開案第2014/0124370號(Short等人)中已描述具有包括由光電晶體開關控制之電極之電極啟動基板之微流體裝置之實例(例如，參見貫穿圖式所繪示之裝置200、400、500、600及900及其描述)，該案之全文以引用的方式併入本文中。

在DEP組態之微流體裝置之一些實施例中，頂部電極210係外殼102之一第一壁(或蓋110)之部分，且電極啟動基板206及底部電極204係外殼102之一第二壁(或支撐結構104)之部分。區域/室202可介於第一壁與第二壁之間。在其他實施例中，電極210係第二壁(或支撐結構104)之部分且電極啟動基板206及/或電極210之一或兩者係第一壁(或蓋110)之部分。而且，光源216可替代地用以自下方照明外殼102。

運用具有一DEP組態之圖1B至圖1C之微流體裝置200，動力模組162可藉由將一光圖案218投射至微流體裝置200中以啟動電極啟動基板206之內表面208之DEP電極區域214a處之第一組一或更多個DEP電極而以圍繞及捕獲微小物件之圖案(例如，正方形圖案220)選擇區域/室202中之介質180中之微小物件(未顯示)。接著，動力模組162可藉由相對於微流體裝置200移動光圖案218以啟動DEP電極區域214處之第二組一或多個DEP電極而移動原位產生之捕獲微物件。替代地，可相對於光圖案218移動微流體裝置200。

在其他實施例中，微流體裝置200可具有一DEP組態，其不依賴於電極啟動基板206之內表面208處之DEP電極之光啟動。例如，電極啟動基板206可包括可選擇性地定址及可通電之電極，其經定位成與包含至少一個電極(例如蓋110)相對之一表面。開關(例如，一半導體基板中之電晶體開關)可選擇性地斷開及閉合以啟動或不啟動DEP電極區域214處之DEP電極，藉此在經啟動DEP電極附近對區域/室202中之微物件(未展示)產生淨DEP力。取決於諸如電源212之頻率及區域/室202中之介質(未展示)及/或微物件之介電性質之特性，DEP力可吸引或排斥鄰近微物件。可藉由選擇性地啟動及撤銷啟動一組DEP電極(例如，在形成正方形圖案220之一組DEP電極區域214處)，可捕集區域/室202中之一或多個微物件且使其在區域/室202內移動。圖1A中之動力模組162可控制此等開關且因此啟動及撤銷啟動DEP電極之個別者以選擇、捕集及移動區域/室202周圍之特定微物件(未展示)。此項技術中已知且(例如)在美國專利第6,294,063號(Becker等人)及第6,942,776號(Medoro)中已描述具有包含可選擇性定址及可通電之電極之一DEP組態之微流體裝置，該等專利之全文以引用的方式併入本文中。

作為又一實例，微流體裝置200可具有電潤濕(EW)組態，其可取代DEP組態或可定位於與具有DEP組態之部分分離之微流體裝置200之一部分中。EW組態可為光電潤濕組態或介電潤濕(EWOD)組態，該兩個組態在此項技術中係已知的。在一些EW組態中，支撐結構104具有夾置於一介電層(未展示)與底部電極204之間的一電極啟動基板206。該介電層可包括疏水材料及/或可塗佈有疏水材料，如下文所描述。針對具有EW組態之微流體裝置200，支撐結構104之內表面208係介電層或其疏水塗層之內表面。

介電層(未展示)可包括一或多個氧化物層，且可具有約50奈米至約250奈米(例如，約125奈米至約175奈米)之一厚度。在某些實施例中，介電層可包括氧化物層，諸如金屬氧化物(例如氧化鋁或氧化鉛)。在某些實施例中，介電層可包括除金屬氧化物之外之一介電材料，諸如氧化矽或氮化物。無論確切組成及厚度如何，介電層可具有約10千歐姆至約50千歐姆之一阻抗。

在一些實施例中，向內面向區域/室202之介電層之表面塗佈有疏水材料。該疏水材料可包括(例如)氟化碳分子。氟化碳分子之實例包含全氟聚合物，諸如聚四氟乙烯(例如TEFLON®)或聚(2,3-二氟甲烯基-全氟四氫呋喃)(例如CYTOP™)。組成該疏水材料之分子可共價鍵合至介電層之表面。例如，該疏水材料之分子可藉由連接子(諸如矽氧烷基、膦酸基或硫醇基)而共價鍵合至介電層之表面。因此，在一些實施例中，該疏水材料可包括烷基封端之矽氧烷、烷基封端之膦酸或烷基封端之硫醇。烷基可為長鏈烴(例如，具有至少10個碳或至少16個、18個、20個、22個或22個以上碳之鏈)。替代地，氟化(或全氟化)碳鏈可用於取代烷基。因此，例如，該疏水材料可包括氟烷基封端之矽氧烷、氟烷基封端之膦酸或氟烷基封端之硫

醇。在一些實施例中，該疏水塗層具有約10奈米至約50奈米之一厚度。在其他實施例中，該疏水塗層具有小於10奈米(例如，小於5奈米或約1.5奈米至約3.0奈米)之一厚度。

在一些實施例中，具有電潤濕組態之微流體裝置200之蓋110亦塗佈有疏水材料(未展示)。該疏水材料可為用以塗佈支撐結構104之介電層之相同疏水材料，且疏水塗層可具有實質上相同於支撐結構104之介電層上之疏水塗層之厚度之一厚度。而且，蓋110可包括依支撐結構104之方式夾置於介電層與頂部電極210之間的電極啟動基板206。電極啟動基板206及蓋110之介電層可具有相同於支撐結構104之電極啟動基板206及介電層之組成及/或尺寸。因此，微流體裝置200可具有兩個電潤濕表面。

在一些實施例中，電極啟動基板206可包括光導材料，諸如上文所描述。據此，在某些實施例中，電極啟動基板206可包括氫化非晶矽(a-Si:H)層或由氫化非晶矽(a-Si:H)層組成。例如，a-Si:H可包括約8%至40%之氫(計算為 $100 \times \text{氫原子之數目} / \text{氫原子及矽原子之總數目}$)。a-Si:H層可具有約500奈米至約2.0微米之一厚度。替代地，電極啟動基板206可包括由光電晶體開關控制之電極(例如導電金屬電極)，如上文所描述。此項技術中已知及/或可使用此項技術中已知之電極啟動基板來建構具有光電潤濕組態之微流體裝置。例如，美國專利第6,958,132號(Chiou等人)(該專利之全文以引用的方式併入本文中)揭示具有光導材料(諸如a-Si:H)之光電潤濕組態，而上文所引用之美國專利公開案第2014/0124370號(Short等人)揭示具有由光電晶體開關控制之電極之電極啟動基板。

因此，微流體裝置200可具有光電潤濕組態，且光圖案218可用以啟動電極啟動基板206中之光導EW區域或光響應EW電極。電極啟動基板206之

此等經啟動EW區域或EW電極可在支撐結構104之內表面208 (即，上覆介電層或其疏水塗層之內表面)處產生電潤濕力。可藉由改變入射於電極啟動基板206上之光圖案218 (或相對於光源216移動微流體裝置200)，使接觸支撐結構104之內表面208之液滴(例如，含有水性介質、溶液或溶劑)移動通過存在於區域/室202中之不溶混流體(例如油介質)。

在其他實施例中，微流體裝置200可具有EWOD組態，且電極啟動基板206可包括不依賴於用於啟動之光之可選擇性定址及可通電之電極。因此，電極啟動基板206可包含此等電潤濕(EW)電極之一圖案。例如，該圖案可為配置成列及行之實質上正方形EW電極之一陣列，諸如圖2B中所展示。替代地，該圖案可為形成六方晶格之實質上六邊形EW電極之一陣列。無論圖案如何，可由電開關(例如一半導體基板中之電晶體開關)選擇性地啟動(或撤銷啟動)EW電極。藉由選擇性地啟動及撤銷啟動電極啟動基板206中之EW電極，可使接觸上覆介電層之內表面208或其疏水塗層之液滴(未展示)在區域/室202內移動。圖1A中之動力模組162可控制此等開關且因此啟動及撤銷啟動個別EW電極來選擇及移動區域/室202周圍之特定液滴。此項技術中已知且(例如)美國專利第8,685,344號(Sundarsan等人)中已描述具有含可選擇性定址及可通電之電極之EWOD組態之微流體裝置，該專利之全文以引用的方式併入本文中。

無論微流體裝置200之組態如何，電源212可用以提供供電給微流體裝置200之電路之一電位(例如AC電壓電位)。電源212可相同於圖1中所參考之電源192或可為圖1中所參考之電源192之一組件。電源212可經組態以將AC電壓及/或電流提供至頂部電極210及底部電極204。針對AC電壓，電源212可提供足以產生足夠強以捕集及移動區域/室202中之微物件(未展

示)(如上文所論述)之淨DEP力(或電潤濕力)及/或足以改變區域/室202中之支撐結構104之內表面208(即,介電層及/或介電層上之疏水塗層)之濕潤性質(亦如上文所論述)之頻率範圍及平均或峰值電力(例如電壓或電流)範圍。此等頻率範圍及平均或峰值電力範圍在此項技術中係已知的。例如,參見美國專利第6,958,132號(Chiou等人)、美國專利第RE44,711號(Wu等人)(最初發表為美國專利第7,612,355號)及美國專利申請公開案第US2014/0124370號(Short等人)、第US2015/0306598號(Khandros等人)及第US2015/0306599號(Khandros等人)。

封存圈。一般封存圈224、226及228之非限制性實例展示於圖2A至圖2C中所描繪之微流體裝置230內。各封存圈224、226及228可包括一隔離結構232,其界定一隔離區域240及將隔離區域240流體連接至一通道122之一連接區域236。連接區域236可包括至微流體通道122之一近端開口234及至隔離區域240之一遠端開口238。連接區域236可經組態使得流體介質(未展示)之流自微流體通道122流動至封存圈224、226及228中之最大滲透深度不延伸至隔離區域240中。因此,歸因於連接區域236,安置於封存圈224、226及228之隔離區域240中之微物件(未展示)或其他材料(未展示)可因此與微流體通道122中之介質180之流隔離且實質上不受該流影響。

圖2A至圖2C之封存圈224、226及228各具有直接對微流體通道122敞開之單個開口。封存圈之開口自微流體通道122橫向敞開。電極啟動基板206可下伏於微流體通道122及封存圈224、226與228兩者。電極啟動基板206之位於封存圈外殼內之上表面(形成封存圈之基底)安置於與電極啟動基板206之位於微流通道122(或若不存在通道則為流動區域)內之上表面(形成該微流體裝置之流動通道(或分別流動區域)之基底)相同之水平面或

實質上相同之水平面。電極啟動基板206可無特徵或可具有自其最高高度至其最低凹部變化達小於約3微米、2.5微米、2微米、1.5微米、1微米、0.9微米、0.5微米、0.4微米、0.2微米、0.1微米或更小之一不規則或圖案化表面。基板之上表面跨微流體通道122 (或流動區域)及封存圈兩者的高度變動可小於封存圈之壁或微流體裝置之壁之高度之約3%、2%、1%、0.9%、0.8%、0.5%、0.3%或0.1%。雖然針對微流體裝置200詳細描述，但此亦可適用於本文中所描述之微流體裝置100、200、230、250、280、290、320之任何者。

因此，微流體通道122可為掃及區域之一實例，且封存圈224、226、228之隔離區域240可為未掃及區域之實例。如本文所提及，微流體通道122及封存圈224、226、228可經組態以含有一或多個流體介質180。在圖2A至圖2B中所展示之實例中，埠222連接至微流體通道122且允許將流體介質180引入至微流體裝置230中或自微流體裝置230移除流體介質180。在引入流體介質180之前，微流體裝置可用諸如二氧化碳氣體之氣體底塗。一旦微流體裝置230含有流體介質180，便可選擇性地產生且停止微流體通道122中之流體介質180之流242。例如，如所展示，可將埠222安置於微流體通道122之不同位置(例如相對端)處，且可產生自用作入口之一個埠222至用作出口之另一埠222之介質流242。

圖2C繪示根據本發明之一封存圈224之一實例之一詳細圖。亦展示微物件246之實例。

眾所周知，微流體通道122中之流體介質180之流242流經封存圈224之一近端開口234可致使介質180之副流244流入及/或流出封存圈224。為使一封存圈224之隔離區域240中之微物件246與副流244隔離，封存圈224

之連接區域236之長度 L_{con} (即，自近端開口234至遠端開口238)應大於副流244進入連接區域236之滲透深度 D_p 。副流244之滲透深度 D_p 取決於在微流體通道122中流動之流體介質180之速度及與微流體通道122及至微流體通道122之連接區域236之近端開口234之組態有關之各種參數。針對一給定微流體裝置，微流體通道122及開口234之組態將係固定的，而微流體通道122中之流體介質180之流242之速率將係可變的。據此，針對各封存圈224，可識別通道122中之流體介質180之流242之一最大速度 V_{max} ，其確保副流244之滲透深度 D_p 不超過連接區域236之長度 L_{con} 。只要微流體通道122中之流體介質180之流242之速率不超過最大速度 V_{max} ，則所得副流244可限於微流體通道122及連接區域236且保持在隔離區域240外。因此，微流體通道122中之介質180之流242不會將微物件246拉出隔離區域240。實情係，無論微流體通道122中之流體介質180之流242如何，定位於隔離區域240中之微物件246將留在隔離區域240中。

而且，只要微流體通道122中之介質180之流242之速率不超過 V_{max} ，則微流體通道122中之流體介質180之流242不會將混雜粒子(例如微粒及/或奈米粒子)自微流體通道122移動至一封存圈224之隔離區域240中。因此，使連接區域236之長度 L_{con} 大於副流244之最大滲透深度 D_p 可防止一個封存圈224受來自微流體通道122或另一封存圈(例如圖2D中之封存圈226、228)之混雜粒子污染。

因為微流體通道122及封存圈224、226、228之連接區域236可受微流體通道122中之介質180之流242影響，所以微流體通道122及連接區域236可被視作微流體裝置230之掃及(或流動)區域。另一方面，封存圈224、226、228之隔離區域240可被視作未掃及(或非流動)區域。例如，微流體通道122

中之第一流體介質180中之組分(未展示)可實質上僅藉由第一介質180之組分自微流體通道122擴散通過連接區域236且進入隔離區域240中之第二流體介質248而與隔離區域240中之第二流體介質248混合。類似地，隔離區域240中之第二介質248之組分(未展示)可實質上僅藉由第二介質248之組分自隔離區域240擴散通過連接區域236且進入微流體通道122中之第一介質180而與微流體通道122中之第一介質180混合。在一些實施例中，在一封存圈之隔離區域與流動區域之間藉由擴散進行的流體介質交換之程度大於流體交換之約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%，或大於約99%。第一介質180可為相同於或不同於第二介質248之一介質。而且，第一介質180及第二介質248起初可相同，接著變為不同(例如，透過由隔離區域240中之一或多個細胞調節第二介質248，或藉由改變流動通過微流體通道122之介質180)。

由微流體通道122中之流體介質180之流242引起之副流244之最大滲透深度 D_p 可取決於如上文所提及之若干參數。此等參數之實例包含：微流體通道122之形狀(例如，微流體通道可將介質引導至連接區域236中，轉移介質使其遠離連接區域236，或在實質上垂直於至微流體通道122之連接區域236之近端開口234之一方向上引導介質)；微流體通道122在近端開口234處之寬度 W_{ch} (或橫截面積)；連接區域236在近端開口234處之寬度 W_{con} (或橫截面積)；微流體通道122中之流體介質180之流242之速度 V ；第一介質180及/或第二介質248之黏度或類似者。

在一些實施例中，微流體通道122及封存圈224、226、228之尺寸可如下相對於微流體通道122中之流體介質180之流242之向量而定向：微流體通道寬度 W_{ch} (或微流體通道122之橫截面積)可實質上垂直於介質180之

流242；連接區域236在開口234處之寬度 W_{con} (或橫截面積)可實質上平行於微流體通道122中之介質180之流242；及/或連接區域之長度 L_{con} 可實質上垂直於微流體通道122中之介質180之流242。上述僅為實例，且微流體通道122及封存圈224、226、228之相對位置可相對於彼此呈其他定向。

如圖2C中所繪示，連接區域236之寬度 W_{con} 自近端開口234至遠端開口238之可為均勻。因此，連接區域236在遠端開口238處之寬度 W_{con} 可為本文中針對連接區域236在近端開口234處之寬度 W_{con} 所識別之值之任何者。替代地，連接區域236在遠端開口238處之寬度 W_{con} 可大於連接區域236在近端開口234處之寬度 W_{con} 。

如圖2C中所繪示，隔離區域240在遠端開口238處之寬度可實質上相同於連接區域236在近端開口234處之寬度 W_{con} 。因此，隔離區域240在遠端開口238處之寬度可為本文中針對連接區域236在近端開口234處之寬度 W_{con} 所識別之值之任何者。替代地，隔離區域240在遠端開口238處之寬度可大於或小於連接區域236在近端開口234處之寬度 W_{con} 。而且，遠端開口238可小於近端開口234且連接區域236之寬度 W_{con} 可在近端開口234與遠端開口238之間變窄。例如，連接區域236可在近端開口與遠端開口之間變窄，其使用各種不同幾何形狀(例如，使連接區域倒角，斜切連接區域)。進一步言之，連接區域236之任何部分或子部分可變窄(例如連接區域相鄰於近端開口234之一部分)。

圖2D至圖2F描繪含有微流體線路262及流動通道264之微流體裝置250之另一例示性實施例，其等係圖1A之各自微流體裝置100、線路132及通道134之變體。微流體裝置250亦具有複數個封存圈266，其等係上文所描述之封存圈124、126、128、130、224、226或228之額外變體。特定言

之，應瞭解，圖2D至圖2F中所展示之裝置250之封存圈266可替代裝置100、200、230、280、290、320中之上文所描述之封存圈124、126、128、130、224、226或228之任何者。同樣地，微流體裝置250係微流體裝置100之另一變體且亦可具有相同於或不同於上文所描述之微流體裝置100、200、230、280、290、320之DEP組態以及本文中所描述之其他微流體系統組件之任何者。

圖2D至圖2F之微流體裝置250包括支撐結構(圖2D至圖2F中不可見，但可相同於或大體上類似於圖1A中所描繪之裝置100之支撐結構104)、微流體線路結構256及蓋(圖2D至圖2F中不可見，但可相同於或大體上類似於圖1A中所描繪之裝置100之蓋110)。微流體線路結構256包含框架252及微流體線路材料260，其等可相同於或大體上類似於圖1A中所展示之裝置100之框架114及微流體線路材料116。如圖2D中所展示，由微流體線路材料260界定之微流體線路262可包括多個封存圈266流體連接至之多個通道264(展示兩個，但可存在更多個)。

各封存圈266可包括隔離結構272、隔離結構272內之隔離區域270、及連接區域268。自微流體通道264處之一近端開口274至隔離結構272處之一遠端開口276，連接區域268將微流體通道264流體連接至隔離區域270。一般言之，根據圖2B及圖2C之上述論述，通道264中之第一流體介質254之流278可產生自微流體通道264流入及/或流出封存圈266之各自連接區域268之第一介質254之副流282。

如圖2E中所繪示，各封存圈266之連接區域268大體上包含延伸於至通道264之近端開口274與至隔離結構272之遠端開口276之間的區域。連接區域268之長度 L_{con} 可大於副流282之最大滲透深度 D_p ，在該情況中，副流

282將延伸至連接區域268中而未被重導引朝向隔離區域270 (如圖2D中所展示)。替代地，如圖2F中所繪示，連接區域268可具有小於最大滲透深度 D_p 之長度 L_{con} ，在該情況中，副流282將延伸通過連接區域268且經重導引朝向隔離區域270。在此後一情況中，連接區域268之長度 L_{c1} 及 L_{c2} 之總和大於最大滲透深度 D_p ，使得副流282不會延伸至隔離區域270中。無論連接區域268之長度 L_{con} 是否大於滲透深度 D_p 或連接區域268之長度 L_{c1} 及 L_{c2} 之總和是否大於滲透深度 D_p ，通道264中之第一介質254之流278 (其不超過最大速度 V_{max})將產生具有滲透深度 D_p 之副流，且封存圈266之隔離區域270中之微物件(未展示，但可相同於或大體上類似於圖2C中所展示之微物件246)不會被通道264中之第一介質254之流278拉出隔離區域270。通道264中之流278亦不會將混雜材料(未展示)自通道264拉入至封存圈266之隔離區域270中。因而，擴散係使微流體通道264中之第一介質254中之組分可自微流體通道264移動至封存圈266之隔離區域270中之第二介質258中之唯一機制。同樣地，擴散係使封存圈266之隔離區域270中之第二介質258中之組分可自隔離區域270移動至微流體通道264中之第一介質254之唯一機制。第一介質254可為相同於第二介質258之介質，或第一介質254可為不同於第二介質258之介質。替代地，第一介質254及第二介質258可起初相同，接著變為不同，例如，透過由隔離區域270中之一或多個細胞調節第二介質，或藉由改變流動通過微流體通道264之介質。

如圖2E中所繪示，微流體通道264中微流體通道264之寬度 W_{ch} (即，橫向於流動通過微流體通道之流體介質之方向(由圖2D中之箭頭278指示)截取)可實質上垂直於近端開口274之寬度 W_{con1} 且因此實質上平行於遠端開口276之寬度 W_{con2} 。然而，近端開口274之寬度 W_{con1} 及遠端開口276之寬

度 W_{con2} 無需實質上彼此垂直。例如，在近端開口274之寬度 W_{con1} 定向之軸(未展示)與遠端開口276之寬度 W_{con2} 定向之另一軸之間的角度可除垂直外且因此除 90° 外。經替代定向之角度之實例包含下列角度：約 30° 至約 90° 、約 45° 至約 90° 、約 60° 至約 90° 或類似者。

在封存圈(例如124、126、128、130、224、226、228或266)之各種實施例中，隔離區域(例如240或270)經組態以含有複數個微物件。在其他實施例中，隔離區域可經組態以僅含有1個、2個、3個、4個、5個或類似相對較小數目個微物件。據此，隔離區域之體積可為(例如)至少 1×10^6 立方微米、 2×10^6 立方微米、 4×10^6 立方微米、 6×10^6 立方微米或更大。

在封存圈之各種實施例中，微流體通道(例如122)在近端開口(例如234)處之寬度 W_{ch} 可為約50微米至1000微米、50微米至500微米、50微米至400微米、50微米至300微米、50微米至250微米、50微米至200微米、50微米至150微米、50微米至100微米、70微米至500微米、70微米至400微米、70微米至300微米、70微米至250微米、70微米至200微米、70微米至150微米、90微米至400微米、90微米至300微米、90微米至250微米、90微米至200微米、90微米至150微米、100微米至300微米、100微米至250微米、100微米至200微米、100微米至150微米或100微米至120微米。在一些其他實施例中，微流體通道(例如122)在近端開口(例如234)處之寬度 W_{ch} 可為約200微米至800微米、200微米至700微米或200微米至600微米。上述僅為實例，且微流體通道122之寬度 W_{ch} 可為上文所列之端點之任何者內的任何寬度。而且，微流體通道122之 W_{ch} 可經選擇以落於該微流通道除於封存圈之近端開口處外之區域中之此等範圍之任何者內。

在一些實施例中，封存圈具有約30微米至約200微米或約50微米至約

150微米之高度。在一些實施例中，封存圈具有約 1×10^4 平方微米至 3×10^6 平方微米、 2×10^4 平方微米至 2×10^6 平方微米、 4×10^4 平方微米至 1×10^6 平方微米、 2×10^4 平方微米至 5×10^5 平方微米、 2×10^4 平方微米至 1×10^5 平方微米或 2×10^5 平方微米至 2×10^6 平方微米之橫截面積。

在封存圈之各種實施例中，微流體通道(例如122)在近端開口(例如234)處之高度 H_{ch} 可為下列高度之任何者內之高度：20微米至100微米、20微米至90微米、20微米至80微米、20微米至70微米、20微米至60微米、20微米至50微米、30微米至100微米、30微米至90微米、30微米至80微米、30微米至70微米、30微米至60微米、30微米至50微米、40微米至100微米、40微米至90微米、40微米至80微米、40微米至70微米、40微米至60微米或40微米至50微米。上述僅為實例，且微流體通道(例如122)之高度 H_{ch} 可為上文所列之端點之任何者內之高度。微流體通道122之高度 H_{ch} 可經選擇以落於該微流通道除於封存圈之近端開口處外之區域中之此等高度之任何者內。

在封存圈之各種實施例中，微流體通道(例如122)在近端開口(例如234)處之橫截面積可為約500平方微米至50,000平方微米、500平方微米至40,000平方微米、500平方微米至30,000平方微米、500平方微米至25,000平方微米、500平方微米至20,000平方微米、500平方微米至15,000平方微米、500平方微米至10,000平方微米、500平方微米至7,500平方微米、500平方微米至5,000平方微米、1,000平方微米至25,000平方微米、1,000平方微米至20,000平方微米、1,000平方微米至15,000平方微米、1,000平方微米至10,000平方微米、1,000平方微米至7,500平方微米、1,000平方微米至5,000平方微米、2,000平方微米至20,000平方微米、2,000平方微米至

15,000平方微米、2,000平方微米至10,000平方微米、2,000平方微米至7,500平方微米、2,000平方微米至6,000平方微米、3,000平方微米至20,000平方微米、3,000平方微米至15,000平方微米、3,000平方微米至10,000平方微米、3,000平方微米至7,500平方微米或3,000平方微米至6,000平方微米。上述僅為實例，且微流體通道(例如122)在近端開口(例如234)處之橫截面積可為上文所列之端點之任何者內之任何面積。

在封存圈之各種實施例中，連接區域(例如236)之長度 L_{con} 可為約1微米至600微米、5微米至550微米、10微米至500微米、15微米至400微米、20微米至300微米、20微米至500微米、40微米至400微米、60微米至300微米、80微米至200微米或約100微米至150微米。上述僅為實例，且連接區域(例如236)之長度 L_{con} 可為上文所列之端點之任何者內之任何長度。

在封存圈之各種實施例中，連接區域(例如236)在近端開口(例如234)處之寬度 W_{con} 可為約20微米至500微米、20微米至400微米、20微米至300微米、20微米至200微米、20微米至150微米、20微米至100微米、20微米至80微米、20微米至60微米、30微米至400微米、30微米至300微米、30微米至200微米、30微米至150微米、30微米至100微米、30微米至80微米、30微米至60微米、40微米至300微米、40微米至200微米、40微米至150微米、40微米至100微米、40微米至80微米、40微米至60微米、50微米至250微米、50微米至200微米、50微米至150微米、50微米至100微米、50微米至80微米、60微米至200微米、60微米至150微米、60微米至100微米、60微米至80微米、70微米至150微米、70微米至100微米或80微米至100微米。上述僅為實例，且連接區域(例如236)在近端開口(例如234)處之寬度 W_{con} 可不同於上述實例(例如上文所列之端點之任何者內之任何值)。

在封存圈之各種實施例中，連接區域(例如236)在近端開口(例如234)處之寬度 W_{con} 可至少與封存圈意欲裝載之微物件(例如，生物細胞，其可為T細胞、B細胞、或卵子或胚胎)之最大尺寸一樣大。上述僅為實例，且連接區域(例如236)在近端開口(例如234)處之寬度 W_{con} 可不同於上述實例(例如上文所列之端點之任何者內之寬度)。

在封存圈之各種實施例中，連接區域之近端開口之寬度 W_{pr} 可至少與封存圈意欲裝載之微物件(例如，生物微物件，諸如細胞)之最大尺寸一樣大。例如，寬度 W_{pr} 可為約50微米、約60微米、約100微米、約200微米、約300微米或可為約50微米至300微米、約50微米至200微米、約50微米至100微米、約75微米至150微米、約75微米至100微米或約200微米至300微米。

在封存圈之各種實施例中，連接區域(例如236)在近端開口234處之長度 L_{con} 對連接區域(例如236)在近端開口234處之寬度 W_{con} 之比率可大於或等於下列比率之任何者：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或更大。上述僅為實例，且連接區域236在近端開口234處之長度 L_{con} 對連接區域236在近端開口234處之寬度 W_{con} 之比率可不同於上述實例。

在微流體裝置100、200、23、250、280、290、320之各種實施例中， V_{max} 可經設定為約0.2微升/秒、約0.5微升/秒、約0.7微升/秒、約1.0微升/秒、約1.3微升/秒、約1.5微升/秒、約2.0微升/秒、約2.5微升/秒、約3.0微升/秒、約3.5微升/秒、約4.0微升/秒、約4.5微升/秒、約5.0微升/秒、約5.5微升/秒、約6.0微升/秒、約6.7微升/秒、約7.0微升/秒、約7.5微升/秒、約8.0微升/秒、約8.5微升/秒、約9.0微升/秒、約10微升/秒、約11微升/秒、

約12微升/秒、約13微升/秒、約14微升/秒或約15微升/秒。

在具有封存圈之微流體裝置之各種實施例中，封存圈之隔離區域(例如240)之體積可為(例如)至少 5×10^5 立方微米、 8×10^5 立方微米、 1×10^6 立方微米、 2×10^6 立方微米、 4×10^6 立方微米、 6×10^6 立方微米、 8×10^6 立方微米、 1×10^7 立方微米、 5×10^7 立方微米、 1×10^8 立方微米、 5×10^8 立方微米或 8×10^8 立方微米或更大。在具有封存圈之微流體裝置之各種實施例中，封存圈之體積可為約 5×10^5 立方微米、 6×10^5 立方微米、 8×10^5 立方微米、 1×10^6 立方微米、 2×10^6 立方微米、 4×10^6 立方微米、 8×10^6 立方微米、 1×10^7 立方微米、 3×10^7 立方微米、 5×10^7 立方微米或約 8×10^7 立方微米或更大。在一些其他實施例中，封存圈之體積可為約1奈升至約50奈升、2奈升至約25奈升、2奈升至約20奈升、2奈升至約15奈升或2奈升至約10奈升。

在各種實施例中，微流體裝置具有如本文中所論述之實施例之任何者中組態之封存圈，其中微流體裝置具有約5個至約10個封存圈、約10個至約50個封存圈、約100個至約500個封存圈、約200個至約1000個封存圈、約500個至約1500個封存圈、約1000個至約2000個封存圈或約1000個至約3500個封存圈、約3000個至約7000個封存圈、約5000個至約10,000個封存圈、約9,000個至約15,000個封存圈或約12,000個至約20,000個封存圈。封存圈無需皆為相同大小且可包含各種組態(例如在封存圈內具不同寬度、不同特徵)。

圖2G繪示根據一項實施例之微流體裝置280。圖2G中所繪示之微流體裝置280係微流體裝置100之程式化圖。實際上，微流體裝置280及其構成線路元件(例如通道122及封存圈128)將具有本文中所論述之尺寸。圖2G中所繪示之微流體線路120具有兩個埠107、四個相異通道122及四個相異流

動路徑106。微流體裝置280進一步包括朝向各通道122敞開之複數個封存圈。在圖2G所繪示之微流體裝置中，封存圈具有類似於圖2C中所繪示之圈之幾何形狀，且因此具有連接區域及隔離區域兩者。據此，微流體線路120包含掃及區域(例如通道122及連接區域236在副流244之最大滲透深度 D_p 內之部分)及未掃及區域(例如隔離區域240及連接區域236不在副流244之最大滲透深度 D_p 內之部分)兩者。

圖3A至圖3B展示根據本發明之可用以操作及觀測微流體裝置(例如100、200、230、250、280、290、320)之系統150之各種實施例。如圖3A中所繪示，系統150可包含經組態以固持微流體裝置100(未展示)或本文中所描述之任何其他微流體裝置之結構(「巢套」)300。巢套300可包含能夠與微流體裝置320(例如光學致動之電動裝置100)介接且提供自電源192至微流體裝置320之電連接之插座302。巢套300可進一步包含整合式電信號產生子系統304。電信號產生子系統304可經組態以將一偏壓電壓供應至插座302，使得當由插座302固持微流體裝置360320時，跨微流體裝置320中之一對電極而施加該偏壓電壓。因此，電信號產生子系統304可為電源192之部分。將一偏壓電壓施加至微流體裝置320之能力不意謂在由插座302固持微流體裝置320時將隨時施加偏壓電壓。實情係，在大多數情況中，將間歇地施加偏壓電壓，例如，僅在需要在微流體裝置320中促進電動力(諸如介電泳或電潤濕)產生時施加偏壓電壓。

如圖3A中所繪示，巢套300可包含一印刷電路板總成(PCBA)322。電信號產生子系統304可安裝於PCBA 322上且電整合至PCBA 322中。例示性支撐件亦包含安裝於PCBA 322上之插座302。

通常，電信號產生子系統304將包含波形產生器(未展示)。電信號產生

子系統304可進一步包含經組態以放大自該波形產生器接收之一波形之一示波器(未展示)及/或一波形放大電路(未展示)。該示波器(若存在)可經組態以量測供應至由插座302固持之微流體裝置320之波形。在某些實施例中，該示波器量測接近於微流體裝置320 (且遠離於該波形產生器)之一位置處之波形以因此確保量測實際上施加至裝置之波形之較大精確度。例如，可將自該示波器量測獲得之資料作為回饋提供至該波形產生器，且該波形產生器可經組態以基於此回饋而調整其輸出。一適當組合之波形產生器及示波器之一實例係Red Pitaya™。

在某些實施例中，巢套300進一步包括一控制器308，諸如用以感測及/或控制電信號產生子系統304之一微處理器。適合微處理器之實例包含Arduino™微處理器，諸如Arduino Nano™。控制器308可用以執行功能及分析或可與一外部主控制器154 (如圖1A中所展示)通信以執行功能及分析。在圖3A所繪示之實施例中，控制器308透過一介面310 (例如一插頭或連接器)而與一主控制器154通信。

在一些實施例中，巢套300可包括電信號產生子系統304，其包括Red Pitaya™波形產生器/示波器單元(「Red Pitaya單元」)及放大由該Red Pitaya單元產生之波形且將經放大電壓傳遞至微流體裝置100之波形放大電路。在一些實施例中，該Red Pitaya單元經組態以量測微流體裝置320處之經放大電壓且接著根據需要而調整其自身輸出電壓，使得微流體裝置320處之經量測電壓係所要值。在一些實施例中，該波形放大線路可具有由安裝於PCBA 322上之一對DC-DC轉換器產生之+6.5 V至-6.5 V電源供應器，從而導致微流體裝置100處之高達13 V_{pp}之信號。

如圖3A中所繪示，支撐結構300 (例如巢套)可進一步包含熱控制子系

統306。熱控制子系統306可經組態以調節由支撐結構300固持之微流體裝置320之溫度。例如，熱控制子系統306可包含一帕耳帖(Peltier)熱電裝置(未展示)及一冷卻單元(未展示)。該帕耳帖熱電裝置可具有經組態以與微流體裝置320之至少一個表面介接之一第一表面。該冷卻單元可為(例如)一冷卻塊(未展示)，諸如經液體冷卻之鋁塊。該帕耳帖熱電裝置之一第二表面(例如與該第一表面相對之一表面)可經組態以與此一冷卻塊之一表面介接。該冷卻塊可連接至經組態以使經冷卻流體循環通過該冷卻塊之一流體路徑314。在圖3A中所繪示之實施例中，支撐結構300包括入口316及出口318以自一外部儲器(未展示)接收經冷卻流體，將該經冷卻流體引入至流體路徑314中且通過該冷卻塊，且接著使該經冷卻流體返回至該外部儲器。在一些實施例中，該帕耳帖熱電裝置、該冷卻單元及/或流體路徑314可安裝於支撐結構300之一殼體312上。在一些實施例中，熱控制子系統306經組態以調節該帕耳帖熱電裝置之溫度以便達到微流體裝置320之一目標溫度。例如，可藉由一熱電電源供應器(諸如Pololu™熱電電源供應器(Pololu Robotics and Electronics公司))而達成該帕耳帖熱電裝置之溫度調節。熱控制子系統306可包含回饋電路，諸如由類比電路提供之一溫度值。替代地，該回饋電路可由數位電路提供。

在一些實施例中，巢套300可包含具有一回饋電路之一熱控制子系統306，該回饋電路係包含電阻器(例如，具有電阻1千歐姆 $\pm 0.1\%$ ，溫度係數 ± 0.02 ppm/C0)及NTC熱阻器(例如，具有標稱電阻1千歐姆 $\pm 0.01\%$)之類比分壓器電路(未顯示)。在一些例項中，熱控制子系統306量測來自回饋電路之電壓且接著使用經計算溫度值作為至板上PID控制迴路演算法之輸入。來自該PID控制迴路演算法之輸出可驅動(例如) Pololu™馬達驅動

(未展示)上之方向性及經脈寬調變之信號接針兩者以致動熱電電源供應器，藉此控制帕耳帖熱電裝置。

巢套300可包含一串列埠324，其允許控制器308之微處理器經由介面310 (未展示)與一外部主控制器154通信。另外，控制器308之微處理器可與電信號產生子系統304及熱控制子系統306通信(例如，經由一Plink工具(未展示))。因此，經由控制器308、介面310及串列埠324之組合，電信號產生子系統304及熱控制子系統306可與外部主控制器154通信。依此方式，主控制器154可尤其藉由針對輸出電壓調整執行按比例調整計算而輔助電信號產生子系統304。經由耦合至外部主控制器154之一顯示裝置170而提供之一圖形使用者介面(GUI) (未展示)可經組態以繪製分別自熱控制子系統306及電信號產生子系統304獲得之溫度及波形資料。替代地或另外，該GUI可允許控制器308、熱控制子系統306及電信號產生子系統304之更新。

如上文所論述，系統150可包含一成像裝置194。在一些實施例中，成像裝置194包括一光調變子系統330 (參見圖3B)。光調變子系統330可包含一數位鏡裝置(DMD)或一微快門陣列系統(MSA)，其等之任一者可經組態以自一光源332接收光且將該經接收光之一子集傳輸至顯微鏡350之一光學元件串中。替代地，光調變子系統330可包含產生其自身光(且因此無需光源332)之一裝置，諸如有機發光二極體顯示器(OLED)、矽上液晶(LCOS)裝置、矽上鐵電液晶裝置(FLCOS)或透射式液晶顯示器(LCD)。光調變子系統330可為(例如)投影機。因此，光調變子系統330能夠發射結構化及非結構化光兩者。在某些實施例中，系統150之成像模組164及/或動力模組162可控制光調變子系統330。

在某些實施例中，成像裝置194進一步包括一顯微鏡350。在此等實施例中，巢套300及光調變子系統330可個別地經組態以安裝於顯微鏡350上。顯微鏡350可為(例如)一標準研究級光顯微鏡或螢光顯微鏡。因此，巢套300可經組態以安裝於顯微鏡350之置物台344上及/或光調變子系統330可經組態以安裝於顯微鏡350之一埠上。在其他實施例中，本文中所描述之巢套300及光調變子系統330可為顯微鏡350之整合組件。

在某些實施例中，顯微鏡350可進一步包含一或多個偵測器348。在一些實施例中，偵測器348由成像模組164控制。偵測器348可包含目鏡、一電荷耦合裝置(CCD)、相機(例如數位相機)或其等之任何組合。若存在至少兩個偵測器348，則一個偵測器可為(例如)快圖框速率相機且另一偵測器可為高靈敏度相機。此外，顯微鏡350可包含一光學元件串，其經組態以自微流體裝置320接收反射光及/或發射光且將該反射光及/或發射光之至少一部分聚焦於一或多個偵測器348上。顯微鏡之光學元件串亦可包含用於不同偵測器之不同管透鏡(未展示)，使得各偵測器上之最終放大倍率可不同。

在某些實施例中，成像裝置194經組態以使用至少兩個光源。例如，一第一光源332可用以產生結構化光(例如，經由光調變子系統330)且一第二光源334可用以提供非結構化光。第一光源332可產生用於經光學致動之電動及/或螢光激發之結構化光，且第二光源334可用以提供亮場照明。在此等實施例中，動力模組164可用以控制第一光源332且成像模組164可用以控制第二光源334。顯微鏡350之光學元件串可經組態以：(1)自光調變子系統330接收結構化光且在一微流體裝置(諸如光學致動之電動裝置)由巢套300固持時將該結構化光聚焦於該裝置中之至少一第一區域上；及(2)自該微流體裝置接收反射光及/或發射光且將此反射光及/或發射光之至少一

部分聚焦至偵測器348上。光學元件串可進一步經組態以自一第二光源接收非結構化光且在該微流體裝置由巢套300固持時將該非結構化光聚焦於該裝置之至少一第二區域上。在某些實施例中，該微流體裝置之該第一區域及該第二區域可為重疊區域。例如，該第一區域可為該第二區域之一子集。在其他實施例中，第二光源334可另外或替代地包含一雷射，該雷射可具有任何合適波長之光。圖3B中所展示的光學系統之表示僅係一示意表示，且光學系統可包含額外濾波器、陷波濾波器、透鏡及類似者。當第二光源334包含用於明場及/或螢光激發以及雷射照明之一或多個光源時，該(等)光源之實體配置可自圖3B中所展示之實體配置變化，且雷射照明可引入於光學系統內之任何合適實體位置處。光源334及光源332/光調變子系統330之位置亦可互換。

在圖3B中，展示將光供應至一光調變子系統330之第一光源332，光調變子系統330將結構化光提供至系統355 (未展示)之顯微鏡350之光學元件串。展示經由一分光器336將非結構化光提供至光學元件串之第二光源334。來自光調變子系統330之結構化光及來自第二光源334之非結構化光一起自分光器336穿過光學元件串而到達一第二分光器(或二向色濾波器338，取決於由光調變子系統330提供之光)，其中光經向下反射穿過物鏡340而至樣本平面342。接著，來自樣本平面342之反射光及/或發射光往回穿過物鏡340，穿過分光器及/或二向色濾波器338且到達二向色濾波器346。到達二向色濾波器346之光之僅一部分穿過且到達偵測器348。

在一些實施例中，第二光源334發射藍光。使用一適當二向色濾波器346，自樣本平面342反射之藍光能夠穿過二向色濾波器346且到達偵測器348。相比而言，來自光調變子系統330之結構化光自樣本平面342反射，

但不穿過二向色濾波器346。在此實例中，二向色濾波器346濾除具有長於495奈米之一波長之可見光。來自光調變子系統330之光之此濾除將僅在自光調變子系統發射之光不包含短於495奈米之任何波長之情況下完成(如所展示)。實際上，若來自光調變子系統330之光包含短於495奈米之波長(例如藍光波長)，則來自光調變子系統之一些光將穿過濾波器346而到達偵測器348。在此一實施例中，濾波器346用以改變自第一光源332及第二光源334到達偵測器348之光量之間的平衡。若第一光源332顯著地強於第二光源334，則此可為有益的。在其他實施例中，第二光源334可發射紅光，且二向色濾波器346可濾除除紅光之外之可見光(例如具有短於650奈米之一波長之可見光)。

塗佈溶液及塗佈劑。非意欲受理論束縛，當一微流體裝置(例如，DEP組態及/或EW組態之微流體裝置)之至少一或多個內表面已經調節或塗佈以便呈現在該微流體裝置與維持於其中之(若干)生物微小物件之間提供主要界面之有機及/或親水性分子之層時，可促進生物微小物件(例如，生物細胞)於微流體裝置內之維持(即，該生物微小物件於微流體裝置內展現增加之存活率、較大之擴增及/或較大之可攜性)。在一些實施例中，該微流體裝置之該等內表面之一或多者(例如，DEP組態之微流體裝置之電極啟動基板之內表面、該微流體裝置之蓋及/或線路材料之表面)可藉由塗佈溶液及/或塗佈劑來處理或改質以產生所要有機及/或親水性分子層。

塗層可在引入(若干)生物微物件之前或之後施加，或可與(若干)生物微物件同時引入。在一些實施例中，(若干)生物微物件可引進至包含一或多個塗佈劑之流體介質中的微流體裝置中。在其他實施例中，該微流體裝置(例如，DEP組態之微流體裝置)之(若干)內表面係在將該(等)生物微物件

引入至該微流體裝置中之前使用包括塗佈劑之塗佈溶液處理或「底塗」。

在一些實施例中，微流體裝置之至少一個表面包含提供適合於(若干)生物微物件之維持及/或擴增之有機及/或親水性分子層(例如，提供如下文所描述之經調節表面)之塗佈材料。在一些實施例中，微流體裝置之實質上所有內表面包含塗佈材料。(若干)塗佈內表面可包含一流動區域(例如通道)、室或封存圈或其組合之表面。在一些實施例中，複數個封存圈之各者具有塗佈有塗佈材料之至少一個內表面。在其他實施例中，複數個流動區域或通道之各者具有塗佈有塗佈材料之至少一個內表面。在一些實施例中，複數個封存圈之各者及複數個通道之各者之至少一個內表面塗佈有塗佈材料。

塗佈劑/溶液。可使用任何習知塗佈劑/塗佈溶液，包含但不限於：血清或血清因子、牛血清白蛋白(BSA)、聚合物、清潔劑、酶及其任何組合。

基於聚合物之塗佈材料。至少一個內表面可包含包括聚合物之塗佈材料。該聚合物可共價或非共價結合(或可非特異性黏著)至該至少一個表面。聚合物可具有各種結構模體，諸如於嵌段聚合物(及共聚物)、星形聚合物(星形共聚物)及接枝或梳形聚合物(接枝共聚物)中發現之模體，其等全部可適合用於本文中所揭示之方法。

聚合物可包含具有伸烷基醚部分之聚合物。廣泛多種含有伸烷基醚之聚合物可適合用於本文中所描述之微流體裝置中。含有伸烷基醚之聚合物之一個非限制性例示性類別係兩親性非離子嵌段共聚物，其等包含在聚合物鏈內呈不同比率且位於不同位置中之聚環氧乙烷(PEO)及聚環氧丙烷(PPO)子單元之嵌段。Pluronic®聚合物(BASF)係此類型之嵌段共聚物且在此項技術中已知在與活細胞接觸時適用。聚合物之平均分子量 M_w 可在自約

2000 Da至約20 KDa之範圍內。在一些實施例中，PEO-PPO嵌段共聚物可具有大於約10 (例如12至18)之一親水性-親脂性平衡(HLB)。可用於產生一塗佈表面之特定Pluronic®聚合物包含Pluronic® L44、L64、P85及F127 (包含F127NF)。含有伸烷基醚之聚合物之另一類別係聚乙二醇 (PEG $M_w < 100,000$ Da)或替代地聚環氧乙烷(PEO, $M_w > 100,000$)。在一些實施例中，PEG可具有約1000Da、約5000Da、約10,000Da或約20,000Da之 M_w 。

在其他實施例中，塗佈材料可包含含有羧酸部分之聚合物。羧酸子單元可為含有烷基、烯基或芳族部分之子單元。一個非限制性實例係聚乳酸 (PLA)。在其他實施例中，塗佈材料可包含在聚合物主鏈之一末端或聚合物主鏈之側鏈處含有磷酸部分之聚合物。在又其他實施例中，塗佈材料可包含含有磺酸部分之聚合物。磺酸子單元可為含有烷基、烯基或芳族部分之子單元。一個非限制性實例係聚苯乙烯磺酸(PSSA)或聚茴香腦磺酸。在進一步實施例中，塗佈材料可包含包含胺部分之聚合物。聚胺基聚合物可包含天然聚胺聚合物或合成聚胺聚合物。天然聚胺之實例包含精胺、精三胺及腐胺。

在其他實施例中，塗佈材料可包含含有糖部分之聚合物。在一非限制性實例中，聚糖(諸如黃原膠或聚葡萄糖)可適用於形成可減少或防止細胞黏附於微流體裝置中之材料。例如，具有約3KDa之大小之聚葡萄糖可用以對微流體裝置內之表面提供塗佈材料。

在其他實施例中，塗佈材料可包含含有核苷酸部分(即，核酸)之聚合物，其可具有核糖核苷酸部分或去氧核糖核苷酸部分，從而提供聚電解質表面。核酸可僅含有天然核苷酸部分或可含有非天然核苷酸部分，其等包括核鹼基、核糖或磷酸部分類似物，諸如(但不限於) 7-去氫腺嘌呤、戊糖、

膦酸甲酯或硫代膦酸甲酯部分。

在又其他實施例中，塗佈材料可包含含有胺基酸部分之聚合物。含有胺基酸部分之聚合物可包含含有天然胺基酸之聚合物或含有非天然胺基酸之聚合物，其等之任一者可包含肽、多肽或蛋白質。在一個非限制性實施例中，蛋白質可為牛血清白蛋白(BSA)及/或血清(或多個不同血清之一組合)，其包括作為塗佈劑之白蛋白及/或一或多種其他類似蛋白質。血清可來自任何習知源，包含但不限於胎牛血清、綿羊血清、山羊血清、馬血清及類似者。在某些實施例中，塗佈溶液中之BSA係以自約1 毫克/毫升至約100 毫克/毫升(包含5 毫克/毫升、10 毫克/毫升、20 毫克/毫升、30 毫克/毫升、40 毫克/毫升、50 毫克/毫升、60 毫克/毫升、70 毫克/毫升、80 毫克/毫升、90 毫克/毫升或更大或其間之任何值)之濃度存在。在某些實施例中，塗佈溶液中之血清可以約20% (v/v)至約50% v/v (包含25%、30%、35%、40%、45%或更大或其間之任何值)之濃度存在。在一些實施例中，BSA可作為塗佈劑以約5 毫克/毫升存在於塗佈溶液中，而在其他實施例中，BSA可作為塗佈劑以約70 毫克/毫升存在於塗佈溶液中。在某些實施例中，血清作為塗佈劑以30%存在於塗佈溶液中。在一些實施例中，細胞外間質(ECM)蛋白質可提供於塗佈材料內以用於最佳化細胞黏著以培養細胞生長。可包含於塗佈材料中之細胞基質蛋白質可包含(但不限於)膠原、彈性蛋白、含RGD之鈦(例如纖連蛋白)或層黏連蛋白。在又其他實施例中，生長因子、細胞介素、激素或其他細胞傳訊物種可提供於微流體裝置之塗佈材料內。

在一些實施例中，塗佈材料可包含含有環氧烷部分、羧酸部分、磺酸部分、磷酸部分、糖部分、核苷酸部分或胺基酸部分之多於一者之聚合物。

在其他實施例中，經聚合物調節之表面可包含各具有下列者之一種以上聚合物之混合物：環氧烷部分、羧酸部分、磺酸部分、磷酸部分、糖部分、核苷酸部分及/或胺基酸部分，該等聚合物可獨立或同時併入至塗佈材料中。

共價連接之塗佈材料。在一些實施例中，至少一個內表面包含共價連接之分子，其等在微流體裝置內提供適合(若干)生物微物件之維持/擴增之有機及/或親水性分子層，從而針對此等細胞提供經調節表面。

共價連接之分子包含連接基團，其中該連接基團共價連接至微流體裝置之一或多個表面，如下文所描述。該連接基團亦共價連接至經組態以提供適合於(若干)生物微物件之維持/擴增之有機及/或親水性分子層之一部分。

在一些實施例中，經組態以提供適合於(若干)生物微物件之維持/擴增之有機及/或親水性分子層之共價連接之分子可包含烷基或氟烷基(其包含全氟烷基)部分；單糖或聚糖(其可包含但不限於聚葡萄糖)；醇(包含但不限於丙炔醇)；多元醇，其等包含但不限於聚乙醇；伸烷基醚，其等包含但不限於聚乙二醇；聚電解質(其等包含但不限於聚丙烯酸或聚乙基膦酸)；胺基(包含其衍生物，諸如但不限於烷基化胺、羥基烷基化胺基、胍及含有未芳族化氮環原子之雜環基，諸如但不限於嗎啉基或哌嗪基)；羧酸，其等包含但不限於丙炔酸(其可提供羧酸陰離子表面)；膦酸，其等包含但不限於乙炔基膦酸(其可提供膦酸陰離子表面)；磺酸鹽陰離子；羧基甜菜鹼；磺基甜菜鹼；胺磺酸；或胺基酸。

在各種實施例中，經組態以在微流體裝置中提供適合於(若干)生物微物件之維持/擴增之有機及/或親水性分子層之共價連接之部分可包含非聚

合部分(諸如烷基部分、取代烷基部分(諸如氟烷基部分(其包含(但不限於)全氟烷基部分))、胺基酸部分、醇部分、胺基部分、羧酸部分、磷酸部分、磺酸部分、胺磺酸部分或糖部分。替代地，共價連接之部分可包含聚合部分，其等可為上文所描述之部分之任何者。

在一些實施例中，共價連接之烷基部分可包括形成直鏈之碳原子(例如至少10個碳或至少14個、16個、18個、20個、22個或22個以上碳之直鏈)且可為無分支烷基部分。在一些實施例中，該烷基可包含經取代之烷基(例如，該烷基中之一些碳可經氟化或經全氟化)。在一些實施例中，該烷基可包含接合至一第二片段(其可包含一未經取代烷基)之一第一片段(其可包含全氟烷基)，其中該第一片段及該第二片段可直接或間接(例如，藉由醚鍵)接合。該烷基之該第一片段可定位於連接基團之遠端，且該烷基之該第二片段可定位於連接基團之近端。

在其他實施例中，共價連接之部分可包含至少一個胺基酸，其可包含一種類型以上胺基酸。因此，共價連接之部分可包含肽或蛋白質。在一些實施例中，共價連接之部分可包含胺基酸，其可提供用於支援細胞生長、存活性、可攜性或其等之任何組合之兩性離子表面。

在其他實施例中，共價連接之部分可包含至少一個環氧烷部分，且可包含如上文所描述之任何環氧烷聚合物。含有伸烷基醚聚合物之一種有用種類係聚乙二醇(PEG $M_w < 100,000\text{Da}$)或替代地聚環氧乙烷(PEO, $M_w > 100,000$)。在一些實施例中，PEG可具有約1000Da、5000Da、10,000Da或20,000Da之 M_w 。

共價連接之部分可包含一或多個糖。該等共價連接之糖可為單糖、雙糖或聚糖。該等共價連接之糖可經改質以引入反應性配對部分，其允許偶

合或修飾以結合至表面。例示性反應配對部分可包含醛基、炔烴或鹵基部分。多糖可以隨機方式改質，其中糖單體之各者可經改質或多糖內之糖單體之僅一部分經改質以提供可直接或間接偶合至一表面之一反應配對部分。一個範例可包含可經由無分支連接子而間接偶合至一表面之聚葡萄糖聚糖。

該共價連接之部分可包括一或更多個胺基。該胺基可為經取代之胺部分、胍部分、含有氮之雜環部分或雜芳基部分。含有胺基之部分可具有允許微流體裝置內及視需要封存圈及/或流動區域(例如，通道)內之環境之pH改質之結構。

提供經調節表面之塗佈材料可包含僅一種類型之共價連接之部分或可包含一種以上不同類型之共價連接之部分。例如，經氟烷基(包括全氟烷基)調節之表面可具有複數個完全相同之共價連接之部分，例如，其等具有相同連接基團及至表面之共價連接；相同整體長度及相同數目個包括氟烷基部分之氟亞甲基單元。替代地，該塗佈材料可具有結合至表面之一種以上類型之共價連接之部分。例如，該塗佈材料可包括具有共價連接之具有指定數目個亞甲基或氟亞甲基單元之烷基或氟烷基部分之分子，及可進一步包含具有共價連接至具有較大數目個亞甲基或氟亞甲基單元之烷基或氟烷基鏈之帶電部分之其他組分子，其等可提供於經塗佈表面呈現大型部分之能力。在此例項中，具有不同、更少空間需求末端及較少主鏈原子之第一組分子可有助於官能化整個基板表面及藉此防止與組成基板本身之矽/氧化矽、氧化鉛或氧化鋁之非所需黏著或接觸。在另一實例中，該等共價連接之部分可提供在該表面上以隨機方式呈現交替電荷之兩性離子表面。。

經調節表面性質。除經調節表面之組成之外，其他因素(諸如疏水性

材料之實體厚度)亦可影響DEP力。各種因素可更改經調節表面之實體厚度，諸如經調節表面形成於基板上之方式(例如氣相沈積、液相沈積、旋轉塗佈、溢流塗佈及靜電塗佈)。在一些實施例中，經調節表面具有約1奈米至10奈米；約1奈米至7奈米；約1奈米至5奈米或其間的任何個別值之一厚度。在其他實施例中，由共價連接之部分形成之經調節表面可具有約10奈米至約50奈米之一厚度。在各種實施例中，如本文中所描述般製備之經調節表面具有小於10奈米之一厚度。在一些實施例中，經調節表面之共價連接之部分可在共價連接至微流體裝置之表面(例如DEP組態之基板表面)時形成單層且可具有小於10奈米(例如，小於5奈米或約1.5奈米至3.0奈米)之一厚度。此等值與藉由旋轉塗佈製備之表面之厚度(例如，該表面通常可具有約30奈米之一厚度)形成對比。在一些實施例中，經調節表面無需完全形成之單層以適用於DEP組態之微流體裝置內之操作。

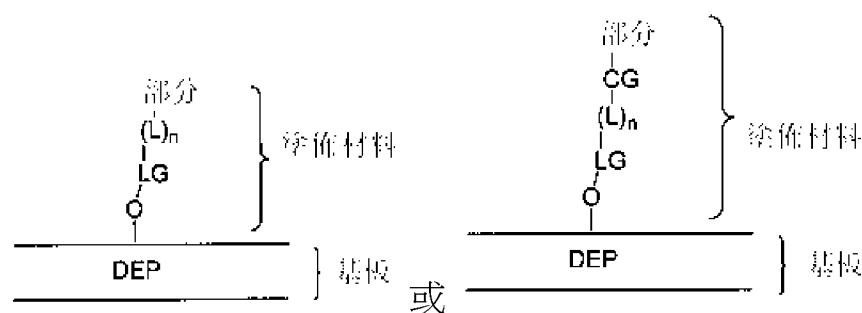
在各種實施例中，提供微流體裝置之經調節表面之塗佈材料可提供所要電性質。非意欲受理論束縛，影響塗佈有特定塗佈材料之表面之穩健性的一個因素係固有電荷捕集。不同塗佈材料可捕集電子，此可導致塗佈材料之分解。塗佈材料中的缺陷可增大電荷捕集且導致塗佈材料之進一步分解。類似地，不同塗佈材料具有可影響電荷捕集之不同介電強度(即，導致介電質分解之最小施加電場)。在某些實施例中，塗佈材料可具有減小或限制電荷捕集量之一總體結構(例如，密集單層結構)。

除經調節表面之電性質之外，經調節表面亦可具有有益於與生物分子一起使用之性質。例如，含有氟化(或全氟化)碳鏈之一經調節表面可相對於烷基封端之鏈提供減少表面污垢之量之益處。如本文中所使用，表面污垢係指微流體裝置之表面上之無差別材料沈積之量，其可包含諸如蛋白質

及其降解產物、核酸及各自降解產物及類似者之生物材料之永久或半永久沈積。

經單一或多部分調節之表面。如下文所描述，共價連接之塗佈材料可藉由已含有經組態以在微流體裝置中提供適用於(若干)生物微物件之維持/擴增之有機及/或親水性分子層之部分之分子之反應來形成。替代地，共價連接之塗佈材料可藉由將經組態以提供適用於(若干)生物微物件之維持/擴增之有機及/或親水性分子層之部分偶合至本身已共價連接至表面之表面改質配體而以兩部分順序形成。

製備共價連接之塗佈材料之方法。在一些實施例中，共價連接至微流體裝置之表面(例如，包含封存圈及/或流動區域之至少一個表面)之塗佈材料具有式1或式2之結構。當該塗佈材料係以一個步驟引入至該表面時，其具有式1之結構，而當該塗佈材料係以多個步驟程序引入時，其具有式2之結構。



塗佈材料可共價連接至DEP組態或EW組態基板之表面之氧化物。該DEP組態或EW組態基板可包括矽、氧化矽、氧化鋁或氧化鉛。氧化物可作為該基板之天然化學結構之部分存在或可如下文論述般引入。

塗佈材料可經由連接基團(「LG」)連接至氧化物，其可為自矽氧烷或磷酸基團與該等氧化物之反應形成之矽烷氧基或磷酸酯基。經組態以在微

流體裝置中提供適用於(若干)生物微物件之維持/擴增之有機及/或親水性分子層之部分可為本文描述之部分之任何者。該連接基團LG可直接或間接連接至經組態以在該微流體裝置中提供適用於(若干)生物微物件之維持/擴增之有機及/或親水性分子層之部分。當該連接基團LG係直接連接至該部分時，選用連接子(「L」)不存在且n為0。當該連接基團LG係間接連接至該部分時，連接子L存在且n為1。該連接子L可具有直鏈部分，其中該直鏈部分之主鏈可包括選自矽、碳、氮、硫及磷原子之任何組合之1至200個非氫原子，受限於如此項技術中已知的化學結合限制。其可間插可選自醚、胺基、羰基、醯胺基及/或磷酸酯基、伸芳基、伸雜芳基或雜環基之一或多個部分之任何組合。在一些實施例中，該連接子L之主鏈可包括10至20個原子。在其他實施例中，該連接子L之主鏈可包括約5個原子至約200個原子；約10個原子至約80個原子；約10個原子至約50個原子；或約10個原子至約40個原子。在一些實施例中，該等主鏈原子全部係碳原子。

在一些實施例中，經組態以提供適合於(若干)生物微物件之維持及/或擴增之有機及/或親水性分子層之部分可以多步驟程序添加至基板之表面且具有式2之一結構，如上文所展示。部分可為上文所描述的部分之任何者。

偶合基團CG表示反應性部分 R_x 與反應性配對部分 R_{px} (即，經組態以與反應性部分 R_x 反應之部分)反應所得之基團。例如，一個典型偶合基團CG可包括甲醯胺基，其係胺基與羧酸衍生物(諸如活性酯、酸氯化物或類似物)反應之結果。其他CG可包括伸三唑基、甲醯胺基、硫醯胺基、肟、烷硫基、二硫化物、醚或烯基或可在反應性部分與其各自反應性配對部分反應之後形成之任何其他合適基團。該偶合基團CG可定位於連接子L之第二端處

(即，接近經組態以在微流體裝置中提供適用於(若干)生物微物件之維持/擴增之有機及/或親水性分子層之部分之端)，其可包括如上文描述之元素之任何組合。在一些其他實施例中，該偶合基團CG可間插該連接子L之主鏈。當該偶合基團CG係伸三唑基時，其可為源自點擊偶合反應之產物且可經進一步取代(例如，二苯并環辛烯基稠合伸三唑基)。

在一些實施例中，塗佈材料(或表面改質配體)係使用化學氣相沈積沈積於微流體裝置之內表面上。該氣相沈積程序可視需要(例如)藉由預清潔蓋110、微流體線路材料116及/或基板(例如，DEP組態基板之電極啟動基板206之內表面208或EW組態基板之支持結構104之介電層)；藉由曝露於溶劑浴、聲波降解法或其組合來改良。替代地或另外，此預清潔可包含在氧電漿清潔劑中處理蓋110、微流體線路材料116及/或基板，此可移除各種雜質，而同時引入經氧化之表面(例如，於該表面處之氧化物，其可如本文描述般共價改質)。替代地，可使用液相處理諸如鹽酸及過氧化氫之混合物或硫酸及過氧化氫之混合物(例如，食人魚溶液，其可具有硫酸對過氧化氫在約3:1至約7:1之範圍內之比率)來替代氧電漿清潔劑。

在一些實施例中，使用氣相沈積以在微流體裝置200已經組裝以形成界定微流體線路120之外殼102之後塗佈該微流體裝置200之內表面。非意欲受理論束縛，將此塗佈材料沈積於經完全組裝之微流體線路120上可有利於防止由在微流體線路材料116與電極啟動基板206介電層及/或蓋110之間之弱化鍵引起之分層。在其中採用兩步驟程序之實施例中，表面改質配體可經由如上文描述之氣相沈積引入，且隨後引入經組態以提供適用於(若干)生物微物件之維持/擴增之有機及/或親水性分子層之部分。後續反應可藉由將經表面改質之微流體裝置曝露於溶液中之合適偶合試劑進行。

圖2H描繪具有提供經調節表面之例示性共價連接之塗佈材料之微流體裝置290之橫截面圖。如繪示，塗佈材料298 (示意性展示)可包括具有共價結合至基座286(其可為DEP基板)之內表面294及微流體裝置290之蓋288之內表面292兩者之密集分子之單層。塗佈材料298可安置於實質上所有內表面294、292上，該等內表面接近微流體裝置290之外殼284並向內面向微流體裝置290之外殼284，在一些實施例中及如上文論述，該等內表面包括用以於微流體裝置290內界定線路元件及/或結構之微流體線路材料(未展示)之表面。在替代實施例中，塗佈材料298可安置於微流體裝置290之該等內表面之僅一者或一些者上。

在圖2H中展示之實施例中，塗佈材料298可包含有機矽氧烷分子單層，各分子經由矽氧基連接子296共價結合至微流體裝置290之內表面292、294。可使用上文論述之塗佈材料298之任何者(例如，烷基封端、氟烷基封端之部分、PEG封端之部分、聚葡萄糖封端之部分或針對有機矽氧基部分含有正電荷或負電荷之末端部分)，其中該末端部分係安置於其面向外殼之末端處(即，塗佈材料298之單層之部分未結合至內表面292、294且接近外殼284)。

在其他實施例中，用以塗佈微流體裝置290之(若干)內表面292、294之塗佈材料298可包含陰離子、陽離子或兩性離子部分或其任何組合。非意欲受理論束縛，藉由使微流體線路120之外殼284之內表面呈現陽離子部分、陰離子部分及/或兩性離子部分，該塗佈材料298可與水分子形成牢固之氫鍵，使得具有水合作用之所得水充當自與非生物分子(例如，基板之矽及/或氧化矽)之相互作用分離該等生物微物件之層(或「擋板」)。另外，在其中該塗佈材料298係結合塗佈劑一起使用之實施例中，該塗佈材料298之

陰離子、陽離子及/或兩性離子可與存在於外殼284中之介質180 (例如，塗佈溶液)中之非共價塗佈劑(例如，溶液中之蛋白質)之帶電部分形成離子鍵。

在又其他實施例中，該塗佈材料可包括或經化學改質以在其面向外殼之末端處呈現親水性塗佈劑。在一些實施例中，該塗佈材料可包含含有伸烷基醚之聚合物，諸如PEG。在一些實施例中，該塗佈材料可包含聚糖，諸如聚葡萄糖。如同上文論述之帶電部分(例如，陰離子、陽離子及兩性離子部分)，該親水性塗佈劑可與水分子形成牢固之氫鍵使得具有水合作用之所得水充當自與非生物分子(例如，基板之矽及/或氧化矽)之相互作用分離該等生物微物件之層(或「擋板」)。

可在2016年4月22日申請且其全文以引用的方式併入之美國申請案第15/135,707號中找到適當塗佈處理及改質之進一步細節。

用於維持微流體裝置之封存圈內的細胞之存活率之額外系統組件。為促進細胞群體之生長及/或擴增，可由系統之額外組件提供有利於維持官能細胞之環境條件。例如，此等額外組件可提供營養素、細胞生長傳訊物種、pH調變、氣體交換、溫度控制及自細胞移除廢棄產物。

電腦系統

圖5係繪示一電腦系統1000之一方塊圖，可在該電腦系統1000上實施本教示之實施例或實施例之部分。在本發明之各種實施例中，電腦系統1000可包含用於傳達資訊之一匯流排1002或其他通信機構及與匯流排1002耦合以用於處理資訊之一處理器1004。在各種實施例中，電腦系統1000亦可包含耦合至匯流排1002以用於判定待由處理器1004執行之指令的一記憶體1006，該記憶體1006可為一隨機存取記憶體(RAM)或其他動態

儲存裝置。記憶體1006亦可用於在執行待由處理器1004執行之指令期間儲存暫時變數或其他中間資訊。在各種實施例中，電腦系統1000可進一步包括耦合至匯流排1002以儲存用於處理器1004之靜態資訊及指令的一唯讀記憶體(ROM) 1008或其他靜態儲存裝置。一儲存裝置1010 (諸如一磁碟或光碟)可經提供且耦合至匯流排1002以用於儲存資訊及指令。

在各種實施例中，電腦系統1000可經由匯流排1002耦合至用於向一電腦使用者顯示資訊之一顯示器1012，諸如一陰極射線管(CRT)或液晶顯示器(LCD)。一輸入裝置1014 (包含文數字及其他鍵)可耦合至匯流排1002以用於將資訊及命令選擇傳達至處理器1004。另一類型之使用者輸入裝置係用於將方向資訊及命令選擇傳達至處理器1004且用於控制顯示器1012上之游標移動的一游標控件1016，諸如一滑鼠、一軌跡球或游標方向鍵。此輸入裝置1014通常具有在兩個軸(一第一軸(即，x)及一第二軸(即，y))上之兩個自由度，其允許裝置指定在一平面中之位置。然而，應瞭解，本文中亦預期容許3維(x、y及z)游標移動之輸入裝置1014。

與本發明之某些實施方案一致，可由電腦系統1000回應於處理器1004執行記憶體1006中含有的一或多個指令之一或多個序列而提供結果。此等指令可自另一電腦可讀媒體或電腦可讀儲存媒體(諸如儲存裝置1010)讀取至記憶體1006中。記憶體1006中含有的指令之序列之執行可致使處理器1004執行本文中所描述之程序。替代地，可替代或組合軟體指令使用硬接線電路以實施本教示。因此，本發明之實施方案不限於硬體電路及軟體之任何特定組合。

如本文中所使用，術語「電腦可讀媒體」(例如，資料儲存器、資料儲存裝置等)或「電腦可讀儲存媒體」係指參與將指令提供至處理器1004

以供執行之任何媒體。此一媒體可採取許多形式，包含但不限於非揮發性媒體、揮發性媒體及傳輸媒體。非揮發性媒體之實例可包含但不限於光碟、固態磁碟、磁碟，諸如儲存裝置1010。揮發性媒體之實例可包含但不限於動態記憶體，諸如記憶體1006。傳輸媒體之實例可包含但不限於同軸電纜、銅線及光纖，包含構成匯流排1002之電線。

常見形式之電腦可讀媒體包含例如軟碟、軟性磁碟、硬碟、磁帶或任何其他磁性媒體、CD-ROM、任何其他光學媒體、打孔卡片、紙帶、具有洞圖案之任何其他實體媒體、RAM、PROM及EPROM、FLASH-EPROM、任何其他記憶體晶片或匣或電腦可自其讀取之任何其他有形媒體。

除電腦可讀媒體之外，指令或資料亦可作為信號提供於一通信設備上包含之傳輸媒體上以將一或多個指令序列提供至電腦系統1000之處理器1004以供執行。例如，一通信設備可包含具有指示指令及資料之信號的一收發器。指令及資料經組態以致使一或多個處理器實施本發明中所概述之功能。資料通信傳輸連接之代表性實例可包含但不限於電話數據機連接、廣域網路(WAN)、區域網路(LAN)、紅外線資料連接、NFC連接等。

應瞭解，本文中所描述包含流程圖、圖及隨附揭示內容之方法可使用電腦系統1000實施為一獨立裝置或實施在共用電腦處理資源之一分佈式網路(諸如一雲端運算網路)上。

進一步應瞭解，在某些實施例中，機器可讀儲存裝置經提供以用於儲存非暫時性機器可讀指令以執行或實行本文中所描述之方法。機器可讀指令可控制影像處理、迴旋神經網路(CNN)流(下文詳細描述)、邏輯與記憶體模組及微物件偵測與計數之所有態樣，如下文詳細描述。進一步言之，機器可讀指令最初可載入至記憶體模組中或經由雲端或經由API存取。

所關注微物件之自動偵測。在一個態樣中，提供用於自動偵測一影像尤其一數位影像(或已數位化之一影像)中的所關注微物件之方法。所關注微物件可安置於一微流體裝置內。所關注微物件可為細胞，諸如哺乳動物細胞(例如，血細胞、融合瘤細胞、癌細胞、經轉形之細胞、生殖細胞、胚胎或類似者)。替代地，所關注微物件可為諸如可用於化驗中之珠(例如，微珠、磁珠或類似者)。方法可涉及使用一機器學習演算法以處理影像資料(即，與影像中的像素有關之資料)。機器學習演算法可包含神經網路，諸如迴旋神經網路。

影像分類需要接受一輸入影像且輸出最佳描述該影像的類別或類別概率。此可使用裝配有一處理引擎之一電腦系統完成，該處理引擎利用演算法以處理輸入影像且輸出一結果。影像偵測亦可利用一類似處理引擎，藉此系統接受一輸入影像且使用預程式化至處理引擎中之演算法以高準確度位準識別該影像內之所關注物件。

關於輸入影像，系統通常將輸入影像定向為像素值陣列。取決於影像解析度及大小，此等像素值將係對應於(長度) $\times$ (寬度) $\times$ (通道之#)之數字之一陣列。通道數目亦可稱為深度。例如，陣列可為 $L \times W \times \text{紅綠藍色彩模型 (RGB值)}$ 。RGB將被視為三個通道，各通道表示RGB色彩模型中的三個色彩之一者。例如，系統通常可特性化具有(RGB之)代表性陣列 $20 \times 20 \times 3$ 之 20×20 影像，其中陣列中的各點被指派表示像素強度之值(例如0至255)。給定此值陣列，處理引擎可使用其演算法處理此等值以輸出描述影像係特定類別之概率(例如，細胞係0.80，細胞壁係0.15且非細胞係0.05)之數字。

迴旋神經網路(CNN)通常藉由首先查找低階特徵(舉例而言，諸如邊緣及曲線)且接著透過一系列迴旋層前進至更抽象(例如，經分類影像之類型

獨有)概念來完成影像處理及分類/偵測之進階形式。CNN可藉由透過一系列迴旋、非線性、匯集(或減少取樣，如下文將更詳細論述)及完全連接層傳遞一影像而如此做，且獲得一結果。再者，輸出可為一單種類別或最佳描述影像或偵測影像上的物件之類別之一概率。

關於CNN中之層，第一層一般係一迴旋層(Conv)。此第一層將使用一系列參數處理影像之代表性陣列。CNN將使用一濾波器(或神經元或核心)分析影像子集之一集合，而非處理整個影像。子集將包含陣列中的一焦點以及周圍點。例如，濾波器可檢查 32×32 影像中的一系列 5×5 區(或區域)。此等區域可稱為感受域。因為濾波器通常上將擁有相同於輸入之深度，故具有 $32 \times 32 \times 3$ 之尺寸之一影像將具有相同深度(例如 $5 \times 5 \times 3$)之一濾波器。使用上述例示性尺寸迴旋之實際步驟將涉及：沿輸入影像滑動濾波器；將濾波值乘以影像之原始像素值以運算逐元素乘積；及加總此等值以針對影像之該檢查區域達到一單個數字。

在使用 $5 \times 5 \times 3$ 濾波器完成此迴旋步驟之後，將得到具有 $28 \times 28 \times 1$ 之尺寸之一激發圖(或濾波圖)。針對各所使用之額外層，更佳地預留空間維度使得使用兩個濾波器將導致 $28 \times 28 \times 2$ 之激發圖。各濾波器通常將具有共同表示最終影像輸出所需之特徵識別符的獨有特徵(例如，色彩、邊緣、曲線等)。此等濾波器在組合使用時允許CNN處理一影像輸入以偵測存在於各像素處的該等特徵。因此，若濾波器用作曲線偵測器，則濾波器沿影像輸入之迴旋將產生激發圖中對應於曲線之高可能性(高加總逐元素乘積)、曲線之低可能性(低加總逐元素乘積)或零值(其中某些點處的輸入體積不提供將激發曲線偵測器濾波器之內容)的數字陣列。因而，Conv中的濾波器(亦稱為通道)數目愈大，激發圖上提供之深度(或資料)愈深，且因此將導致更

準確輸出之關於輸入之資訊愈多。

CNN之準確度與產生一結果所需之處理時間及功率平衡。換言之，所使用之濾波器(或通道)愈多，執行Conv所需之時間及處理功率愈多。因此，滿足CNN方法之需要的濾波器(或通道)之選擇及數目應經特定選擇以在考量可用時間及功率的同時儘可能準確地產生一輸出。

為進一步使CNN能夠偵測更複雜特徵，可添加額外Conv以分析自先前Conv (即，激發圖)之輸出。例如，若第一Conv查找一基本特徵(諸如曲線或邊緣)，則第二Conv可查找一更複雜特徵(諸如形狀)，其可為在先前Conv層中偵測到的個別特徵之一組合。藉由提供一系列Conv，CNN可偵測愈來愈高階之特徵以最終達到偵測特定所要物件之一概率。此外，因為Conv堆疊於彼此頂部上以分析先前激發圖輸出，所以堆疊中的各Conv自然進入藉由在各Conv層級處發生之按比例縮小而分析愈來愈大的感受域，由此允許CNN在偵測所關注物件時回應於像素空間之生長區域。

CNN架構通常由處理塊群組組成，包含用於對一輸入體積(影像)迴旋之至少一個處理塊及用於反迴旋(或轉置迴旋)之至少一個處理塊。另外，處理塊可包含至少一個匯集塊及非匯集塊。匯集塊可用以按比例縮小一影像之解析度以產生可用於Conv之一輸出。此可提供運算效率(有效時間及功率)，其繼而可改良CNN之實際效能。此等匯集或子取樣塊使濾波器保持為小且使運算需求合理，此等塊可粗略化輸出(可導致丟失感受域內的空間資訊)，從而將其自輸入之大小減小達特定倍數。

非匯集塊可用以重建此等粗略輸出以產生具有相同於輸入體積之尺寸的一輸出體積。一非匯集塊可被視為用以使激發輸出返回至原始輸入體積尺寸之迴旋塊之一逆運算。

然而，非匯集程序通常僅簡單地將粗略輸出放大成一稀疏激發圖。為避免此結果，反迴旋塊密緻化此稀疏激發圖以產生放大及密緻激發圖，最終在任何進一步必需處理之後，得到具有更接近於輸入體積之大小及密度的一最終輸出體積。作為迴旋塊之一逆運算，反迴旋塊使單個激發輸出點與多個輸出相關聯以放大且密緻化所得激發輸出，而非將感受域中的多個陣列點縮減至單個數字。

應注意，雖然匯集塊可用以按比例縮小一影像且非匯集塊可用以放大此等按比例縮小激發圖，但迴旋塊及反迴旋塊可經結構化以迴旋/反迴旋及按比例縮小/放大而無需單獨匯集塊及非匯集塊。

取決於在一影像輸入中偵測所關注物件，匯集程序及非匯集程序可具有缺點。因為匯集通常藉由查看無視窗重疊之子影像視窗而按比例縮小，所以在發生按比例縮小時存在一明顯空間資訊損失。

一處理塊可包含與一迴旋或反迴旋層封裝在一起之其他層。此等層可包含例如一經整流線性單元層(ReLU)或指數線性單元層(ELU)，其等係在其處理塊中檢查來自Conv之輸出的激發功能。ReLU或ELU層充當一閘控功能以僅推進對應於Conv獨有的所關注特徵之肯定偵測之該等值。

給定一基本架構，接著針對一訓練程序準備CNN以在(所關注物件之)影像分類/偵測中提高其準確度。此涉及稱為反向傳播(backprop)之一程序，該程序使用用以訓練CNN之訓練資料集或樣本影像使得其在達到一最佳或臨限準確度時更新其參數。反向傳播涉及將取決於反向傳播之參數緩慢或快速地訓練CNN之一系列重複步驟(訓練反覆)。反向傳播步驟通常包含根據一給定學習速率之正向傳遞、損失函數、反向傳遞及參數(權重)更新。正向傳遞涉及透過CNN傳遞一訓練影像。損失函數係輸出中之誤差之

一量度。反向傳遞判定損失函數之促成因數。權重更新涉及更新濾波器之參數以使CNN移動朝向最佳。學習速率判定每次反覆權重更新之程度以到達最佳。若學習速率過低，則訓練可花費過長時間且涉及過多處理能力。若學習速率過快，則各權重更新可過大以致不允許精確地達成一給定最佳值或臨限值。

反向傳播程序可致使訓練複雜化，因此導致在開始訓練之後需要更低學習速率及更特定且小心判定的初始參數。此一複雜化係當在各反覆結束時發生權重更新時，Conv之參數改變使網路之行進距離更深。例如，若CNN具有如上文所論述允許更高階特徵分析之複數個Conv，則第一Conv之參數更新在各後續Conv相乘。淨效應係取決於一給定CNN之深度，最小參數改變可具有大影響。此現象稱為內部共變量偏移。

相對於已知CNN，本文中所揭示之實施例具有若干優點。此等優點包含例如提供一種避免丟失匯集層中固有之空間資訊、減小/最小化反向傳播程序中固有之內部共變量偏移且減小在深神經網路中通常所需之處理時間及速度以達成更複雜特徵偵測之CNN。

如上文所描述，CNN由感受域之多個層組成。此等係處理輸入影像之部分的「神經元」(或核心)集合。此等集合之輸出接著經拼接使得其等輸入區域重疊，以獲得原始影像之一更佳表示；針對每一此層重複此步驟。拼接允許CNN容忍輸入影像之平移。已例如在Long等人之CVPR 2015「Fully Convolutional Networks for Semantic Segmentation」及Noh等人之ICCV 2015「Learning Deconvolutional Networks for Semantic Segmentation」中描述CNN，其等之各者之內容以引用的方式併入本文中。

CNN可包括迴旋層及完全連接層之組合，其中其中在各層之末端或各

層之後施加逐點非線性。引入對小輸入區域之一迴旋運算以減少自由參數之數目且改良一般化。迴旋網路之一個主要優點係在迴旋層中使用共用權重，此意謂相同濾波器(權重庫)用於層中之各像素；此減小記憶體使用量且改良效能。

在一項實施例中，CNN係由相異層之一堆疊形成，該等層透過一可微分函數將輸入體積變換成一輸出體積(例如，保持類別分數)。

在此實施例中，迴旋層針對此實施例定義為空、單株及多株。層之參數可包含一組可學習濾波器，該組可學習濾波器具有一小感受域，但延伸通過輸入體積之全深度。在正向傳遞期間，各濾波器跨輸入體積之寬度及高度迴旋，從而運算濾波器之條目與輸入之間的點積且產生該濾波器之一2維激發圖。因此，網路學習在其等於輸入中之某個空間位置處看見某種特定類型之特徵時激發的濾波器。

堆疊用於沿深度維度之所有濾波器之激發圖，形成迴旋層之一全輸出體積。輸出體積中之每一條目因此亦可被解釋為查看輸入中之一小區域且與相同激發圖中之神經元共用參數的一神經元之一輸出。

在一項實施例中，空間配置係基於控制迴旋層之輸出體積之大小的超參數：諸如深度、步幅及填補零。

在一項實施例中，輸出體積之深度控制層中連接至輸入體積之相同區域的神經元之數目。所有此等神經元將學習針對輸入中之不同特徵激發。例如，若第一迴旋層將原始影像視為輸入，則沿深度維度之不同神經元可在存在色彩之各種定向邊緣或斑點時激發。

在一項實施例中，步幅控制如何分配圍繞空間維度(寬度及高度)之深度行。在步幅係1時，將僅隔1個空間單位將一新神經元深度行分配至空間

位置。此導致行之間的感受域嚴重重疊，且亦導致大輸出體積。相反地，若使用更高步幅，則感受域將更少重疊且所得輸出體積將具有更小空間尺寸。

有時，在輸入體積邊界上用零填補輸入係方便的。此填補零之大小係一第三參數。填補零提供輸出體積空間大小之控制。特定言之，有時可期望確切地保存輸入體積之空間大小。

在此實施例中，可在迴旋層中使用參數共用方案來控制自由參數之數目。其依賴於一個合理假設：若一個圖塊特徵可用於在某個空間位置處運算，則其亦可用於在一不同位置處運算。換言之，將一單一二維深度切片表示為一深度切片，各深度切片中之神經元可限於使用相同權重及偏壓。

由於一單一深度切片中之所有神經元共用相同參數化，故CONV層之各深度切片中的正向傳遞可運算為用輸入體積迴旋神經元權重(因此名稱係：迴旋層)。

因此，常見的是，將權重集合稱為濾波器，其係用輸入迴旋。此迴旋之結果係一激發圖，且各不同濾波器之激發圖集合沿深度維度堆疊在一起以產生輸出體積。參數共用促成CNN架構之平移不變性。

在各種實施例中，例如，如所繪示，由圖7之神經網路700提供神經網路(或CNN)。與例示性神經網路有關之額外細節係在圖8及圖9A至圖9D中予以繪示且在描述此實施例時將僅用於參考目的，因為由圖8及圖9A至圖9D捕獲之CNN特徵可結合圖7之所繪示網路或結合本文中的各種其他實施例使用。

在圖7中，神經網路700包含一第一減少取樣塊710、一第二減少取樣塊730及一第三減少取樣塊750與相關聯第一處理塊(或剩餘網路塊) 720、

第二處理塊740及第三處理塊760。第一減少取樣塊710接收一輸入影像701。如所繪示，各減少取樣塊之後可為相關聯處理(或剩餘)塊。處理(或剩餘)塊可為單分支或多分支，如下文詳細論述。

CNN可包括複數個減少取樣塊(舉例而言，諸如如圖7中之3個)，其中各減少取樣塊可包括一減少取樣迴旋層(Conv)、一批次正規化(norm)層及包括一閘控功能之一激發層。

圖8B繪示一減少取樣塊之一實例，其接受輸入871且提供一輸出879，且包含具有核心大小 $D \times D$ 之Conv 874、批次norm層876及激發層878。激發層可為例如ELU或ReLU。在各種實施例中，激發層直接自批次norm層接收影像資料，該批次norm層直接自減少取樣迴旋層接收影像資料。減少取樣迴旋層可用以減小其接收的影像資料之空間解析度。此將參考圖9A至圖9D更詳細論述。

處理塊(或剩餘網路塊)可為一單分支處理塊或一多分支處理塊，其中各分支處理來自前一減少取樣塊之輸出，且接著組合兩個分支之輸出以產生一減少取樣激發圖以用於對一最終輸出之進一步減少取樣或增加取樣。

圖8A繪示一多分支處理塊800 (或剩餘網路塊)之一實例，其經組態以自一上遊減少取樣塊(未描繪，參見與圖8有關之論述)接受輸入805 (例如，呈激發圖之形式)。塊800包含一第一分支810及一第二分支840。第一分支810包含：一第一迴旋層815 (Conv)，其具有 $N \times N$ 之一核心；一第一批次正規化(norm)層820，其自第一Conv 815接收資料；一第一激發層825 (其可包含或充當一閘控功能)，其自第一批次norm層820接收資料；一第二Conv 830，其具有 $M \times M$ 之一核心，該第二Conv 830接收傳遞通過第一激發層825之資料；及一第二批次norm層835，其自第二Conv 830接收資料。應注意，

Conv 815之核心($N \times N$)及Conv 830之核心($M \times M$)可具有相同大小或可不同。如圖9A至圖9C中所繪示(下文所論述)，來自所繪示剩餘網路中的串列Conv之核心係相同的(3×3)。無論如何，Conv 815/830通常較佳具有大於 1×1 之一核心。

第二分支840包含：一第三Conv 845；一第三批次norm層850，其自第三Conv 845接收資料；及一第二激發層855 (其可包含或充當一閘控功能)，其自第三批次norm層850接收資料。塊800進一步包含一重組層860，該重組層860接收來自第二批次norm層835之資料及傳遞通過第二激發層855之資料。最後，塊800包含一塊激發層862，該塊激發層862可針對在自塊800產生一輸出864以用於進一步處理之前自重組層860接收的資料充當一閘控功能。如上文所提及，激發層可為例如ELU或ReLU。在各種實施例中，(若干)激發層係一ELU。

在圖8中，第二分支840處理自前一減少取樣塊接收的影像資料達小於第一分支810之程度。特定言之，第二分支840之第三Conv 845使用 1×1 之濾波器視窗(或維度或核心)，而第一分支810之第一及第二Conv 815/830分別使用如上文所論述通常將大於 1×1 之一濾波器視窗(或維度或核心) $N \times N$ 及 $M \times M$ 。可取決於需要、考量舉例而言諸如影像類型、影像品質、物件類型、物件大小、物件形狀、輸出要求、時間約束、步幅長度(下文所論述)及功率/處理資源之因素而視需要調整此等濾波器視窗。例如，第一及第二Conv 815/830可使用 3×3 之濾波器視窗(或維度)(參見下文繪示此濾波器視窗大小之圖9A至圖9D)。

雖然圖8中的兩個分支具有具一之步幅之Conv，但步幅亦可不同。然而，為允許重組層860有效，使第一分支810上的Conv 815/830之步幅相乘

的乘積必須等於第二分支840之Conv 845之步幅。

在激發步驟之前插入批次正規化層提供有助於最小化內部共變量偏移之優點。因而，藉由在Conv之後插入批次norm層且藉由延伸，批次norm可正規化Conv之輸出，因此將經正規化資料提供至激發步驟，從而允許激發之更穩定分佈。藉由在反向傳播程序期間最小化內部共變量偏移，可經由更高學習速率(權重更新之程度)更積極地完成訓練神經網路，從而導致更快CNN學習而不損失效率及準確度，因為CNN朝著網路中的給定濾波器之最佳參數而努力。

此外，將經最低限度處理之資訊之分支(例如， 1×1 Conv分支)添加於剩餘網路允許在訓練期間更容易地學習。此最低限度處理之分支提供用以追蹤先前參數對一最終結果之影響的一更直接途徑。實際上，此分支在一給定剩餘網路內用於幾乎相同於跳躍連接(下文更詳細論述)之目的，從而允許某個資訊傳遞通過網路而不變以免損失可在減少取樣期間丟失之空間資訊。

總而言之，因此，相對於此項技術中已知之神經網路，單獨及結合批次正規化層使用剩餘網路允許在訓練期間更容易地且更有效地學習。此優點係藉由例如在減少取樣期間留存更多空間資訊及最小化內部共變量偏移來完成。亦使用跨步(下文更詳細論述)(相對於已知方法(諸如匯集)，其允許在減少取樣期間的更多重疊)以及跳躍連接(其允許在神經網路程序期間正向饋送經更少處理之資訊(在如上文所論述之減少取樣步驟內且在如下文將論述之增加取樣步驟之前))來完成最小化空間資訊之損失。

藉由使用多分支剩餘網路(尤其具有使用一 1×1 濾波器視窗(即，未經減少取樣)的分支之一者)，允許神經網路對來自前一Conv之輸出資料進一

步迴旋同時維持相同解析度以確保在重組層860處組合作為一單個視窗的每一像素之分析與來自另一分支(其可以更大核心或濾波器大小經歷多次迴旋)之資料以輸出為進一步減少取樣準備之品質影像資料(未自前一Conv減少取樣)。

返回至圖7，神經網路700進一步包含一第一增加取樣塊770、一第二增加取樣塊780及一第三增加取樣塊790，在第三增加取樣塊790之後具有輸出799。各增加取樣塊可包括一轉置迴旋(或反迴旋)層、一增加取樣批次norm層及包括一閘控功能之一增加取樣激發層。

圖8C繪示一增加取樣塊之一實例，其接受輸入881且提供一輸出889，並且包含具有核心大小 $Z \times Z$ 之一轉置Conv 884、一批次norm層886及一激發層888。將關於圖9A至圖9D更詳細論述此等子組件。各增加取樣塊之轉置迴旋層可經組態以增大其接收的影像資料之空間解析度，且由此重建減少取樣輸出。另外，增加取樣塊之一或多者亦可包含一重組層，藉此(經由跳躍連接，下文所論述)合併來自增加取樣批次正規化層之影像資料與來自前一剩餘網路塊之影像資料。

關於一神經網路之架構，增加取樣塊之數目可經組態以等於減少取樣塊之數目。在各種實施例中，神經網路具有 n 個減少取樣塊、 n 個剩餘網路(或處理)塊、具有一重組層之 $n-1$ 個增加取樣塊之 n 個增加取樣塊(參見圖9D之論述)。如下文將更詳細論述，當空間解析度在減少取樣程序期間以分數減小時，可期望以相同分數率增大空間解析度。例如，若空間解析度每次透過一減少取樣塊(或經組合減少取樣塊及剩餘網路塊)減半($1/2$)，則繼而最有效的可是使空間解析度加倍(2倍)以恢復至原始影像尺寸。

例如，在圖7中，各Conv使影像資料之空間解析度減小2倍且各轉置

Conv使影像資料之空間解析度增大2倍。空間解析度減小可例如藉由每次使一迴旋濾波器(或核心)滑動兩個像素來完成。此兩個像素滑動稱為步幅長度。在每次滑動兩個像素之情況中，步幅將係2。藉由使用一步幅長度2，Conv可藉由使自Conv輸出的激發圖之尺寸減半而減少取樣。

然而，藉由跨步而非如上文所教示之匯集，可避免損失可在匯集中固有的空間資訊。濾波器大小判定被拉入單一像素分析中以影響網路中的下一層之各像素之局部資訊量。一般言之，濾波器大小係奇數以集中於所關注像素。例如， 5×5 濾波器將檢查周圍24個像素以分析一給定區域之一個中心像素。使用匯集，檢查一第一區域以有效地判定對應於該第一區域中的像素之一單個值。一旦濾波器移動至一第二區域上，在該濾波器掃及期間不再分析第一區域中的像素。取決於所進行的影像分析之類型(例如所偵測的物件類型)，此可導致極具誤導性、粗略或不準確的結果。

另一方面，使用步幅理論，一旦檢查一第一區域(例如 5×5 區域)且一第二區域(亦係 5×5)出現兩像素步幅，便將存在明顯重疊使得像素點將被查看一次以上且針對多個像素納入考量，但仍始終允許減少取樣，因為一兩像素步幅取樣之最終結果將導致先前大小之一半之一影像輸出(激發圖輸出)。因此，使用跨步，將發生減少取樣且與匯集相比具有小得多的空間資訊損失。用於判定適當步幅長度之因素包含例如影像類型、影像品質、物件類型、物件大小、物件形狀、輸出要求、時間約束及功率/處理資源。

如所繪示，若輸入影像701之空間解析度係X，則減少取樣塊710可將空間解析度減小一半至 $X/2$ ，接著藉由減少取樣塊730減小至 $X/4$ ，接著藉由減少取樣塊750減小至 $X/8$ 。增加取樣塊770接著可使 $X/8$ 輸入加倍至 $X/4$ ，塊780使 $X/4$ 輸入加倍至 $X/2$ 且塊790使 $X/2$ 輸入加倍至X，或在輸出799

處加倍至原始大小。圖7在視覺上用各減少取樣塊之遞減高度及各增加取樣塊之遞增高度表示此。

隨著減少取樣進行，CNN可經設計以增大其處理之特徵複雜度，自較低階特徵分析至較高階特徵分析。如前文所論述，為進一步使CNN能夠偵測更複雜特徵，可添加額外Conv以分析來自先前Conv (即，激發圖)之輸出。例如，若第一Conv查找基本特徵(諸如曲線或邊緣)，則第二Conv可查找更複雜特徵(諸如形狀)，其可為在先前Conv層中偵測到的個別特徵之一組合。藉由提供一系列Conv，CNN可偵測愈來愈高階之特徵以最終達到指定所要物件偵測。此外，因為Conv堆疊於彼此頂部上以分析先前激發圖輸出，所以堆疊中的各Conv自然會藉由在各Conv層級處發生之按比例縮小來分析愈來愈大的感受域，由此允許CNN在偵測所關注物件時回應於像素空間之一生長區域。

在圖7中，各Conv及處理塊將通道深度增大2倍且各增加取樣塊將通道深度減小2倍直至第三增加取樣塊790。如所繪示，在減少取樣塊710及處理塊720處，使用32個通道或濾波器。在減少取樣塊730及處理塊740處，通道數目係64。最後，減少取樣塊750及處理塊760使用128個通道。相反地，增加取樣塊770使通道減半回至64，增加取樣塊780使通道減半至32且增加取樣塊790使通道減半至3 (其重要性將在下文更詳細論述)。圖7在視覺上用各減少取樣塊之遞增寬度及各增加取樣塊之遞減寬度(除最終塊790以外)表示此通道使用增大及減小。

雖然空間解析度之改變速率(原始、X/2、X/4、X/8、X/4、X/2、原始)與通道深度之改變速率幾乎相反(0、32、64、128、64、32、3、0)，但此對CNN架構而言係非必需的。然而，空間解析度對通道數目之一致改變

有利地允許CNN藉由使濾波器深度之一循序增大與輸入資料(激發圖尺寸)之一循序減小抵消而最大化輸出799之時間、處理功率及品質。實際上，當CNN上之處理需求透過各連續減少取樣塊而隨濾波器之深度增大時，CNN藉由減小通過各連續減少取樣塊之影像陣列輸入(激發圖尺寸)而抵消此以允許CNN跨更大深度分析更小輸入。對應地，發生相反情況以使增加取樣塊恢復至輸出799。

影像體積之重建亦可由跳躍架構形式輔助。例如，插入於一神經網路內的跳躍連接可將資訊自先前減少取樣層投射至隨後增加取樣層使得此先前、經最低限度處理之資訊變為重建程序之部分。在不使用跳躍架構之情況下，將在減少取樣程序期間丟失在初始Conv層中捕獲、可在增加取樣期間極力輔助重建之某個資訊。換言之，此有價值資訊將已經減少取樣至其對待進一步使用之資訊而言過於抽象之點。使用跳躍架構將此資訊自原生層饋送至隨後減少取樣層允許先前資訊經留存且用於有效增加取樣。

在各種實施例中，神經網路可包含：一第一增加取樣塊，其具有(例如，經由一跳躍連接)自一第二剩餘網路塊接收影像資料之一重組層；一第二增加取樣塊，其具有(例如，經由一跳躍連接)自一第一剩餘網路塊接收影像資料之一重組層；及一第三增加取樣塊，其不包含一重組層。

在圖7中，例如，提供一第一跳躍連接792及一第二跳躍連接794。第一跳躍連接792以X/2解析度將輸出資訊自處理塊720正向饋送至增加取樣塊780之一重組層，亦以X/2解析度將輸出資訊正向饋送至批次後norm層(下文所論述)。經由此跳躍連接，神經網路以相同於對應增加取樣塊之解析度提供先前且經最低限度處理之資訊，以允許更準確且有效的增加取樣。第二跳躍連接794藉由以X/4解析度將輸出資訊自處理塊740正向饋送

至增加取樣塊770之一重組層，亦以X/4解析度將輸出資訊正向饋送至批次後norm層(下文所論述)而類似地起作用。

如上文所提及，CNN可用於許多目的，包含影像分類及影像偵測(亦係一影像內的物件偵測)。因而，取決於CNN之目標，輸出必須應答向CNN提出之主要問題。在本文中的各種實施例中，CNN用於影像偵測。在各種實施例中，影像偵測可用於偵測所關注物件。在各種實施例中，所關注物件可為微物件。在各種實施例中，影像偵測可用於將微物件分類成複數種微物件類型之至少一者。在各種實施例中，微物件係生物細胞。在各種實施例中，生物細胞係免疫細胞，舉例而言，諸如T細胞、B細胞、NK細胞、巨噬細胞或其組合。在各種實施例中，生物細胞係來自細胞系之細胞(例如，CHO細胞)或癌細胞。在各種實施例中，生物細胞係卵母細胞、精子或胚胎。

關於三個通道在圖7之增加取樣塊790中的所繪示使用，在各種實施例中，利用CNN之系統自一影像輸入獲得一微物件計數。系統可藉由標註輸入影像之複數個像素而如此做，該組之各像素標註表示影像中的一對應像素表示對應微物件特性之一概率。自此分析，可獲得一微物件計數。在各種實施例中，複數個微物件特性包括至少三個微物件特性。在各種實施例中，複數個微物件特性包括至少一微物件中心、一微物件邊緣及一非微物件(或細胞中心、細胞邊緣及非細胞)。圖7之增加取樣塊790藉由其三個通道深度而繪示此三個微物件特性化。因而，圖7之最後增加取樣塊790提供神經網路700判定一準確微物件(例如細胞)計數所必需之物件特性化。

圖9A至圖9D繪示根據各種實施例的一更詳細迴旋神經網路(CNN)900之一示意圖。示意圖併入上文所論述之許多神經網路原理且出於該原

因，此等原理將不再詳細重複。然而，應注意，雖然原理可類似，但在本文中的各種實施例中使用之參數皆可基於如上文所論述之特定原因(其包含例如影像類型、影像品質、物件類型、物件大小、物件形狀、輸出要求、時間約束及功率/處理資源)而改變。因而，圖9A至圖9D之示意圖中使用的參數僅係實例。

出於定向目的，圖9A自左至右繪示根據各種實施例之一第一減少取樣塊910，接著繪示一第一剩餘網路塊920。圖9B自左至右展示根據各種實施例之自(圖9A之)第一剩餘網路塊920接收資料的一第二減少取樣塊930，接著展示一第二剩餘網路塊940。圖9C自左至右展示根據各種實施例之自(圖9B之)第二剩餘網路塊940接收資料的一第三減少取樣塊950，接著展示一第三剩餘網路塊960。圖9D自左至右展示一第一增加取樣塊970、一第二增加取樣塊980及一第三增加取樣塊990。第一增加取樣塊970自第三剩餘網路塊960(圖9C)接收資料，且包含一第一增加取樣重組層976，藉此重組來自第一增加取樣塊970之一批次正規化層之資料與經由一第二跳躍連接794自第二剩餘網路塊940之一最終ELU層948正向饋送之資料。類似地，第二增加取樣塊980包含一第二增加取樣重組層986，藉此重組來自第二增加取樣塊980之一批次正規化層之資料與經由一第一跳躍連接792自第一剩餘網路塊920之一最終ELU層928正向饋送之資料。

再次參考圖9A，CNN 900包含經組態以接收一影像輸入901之第一減少取樣塊910。第一減少取樣塊910包含一第一Conv 912、一第一批次norm層914及一第一激發層916(例如，圖9A中的一ELU)。第一Conv 912可具有針對核心大小及步幅之不同參數。此處，核心係 5×5 且步幅係兩個像素。來自層916之輸出饋送給第一剩餘網路塊920，其包含一第一分支922及一

第二分支924。剩餘網路之佈局之一般論述可參見圖8。在第一分支922中，兩個Conv具有 3×3 之核心大小。圖9A亦繪示正向饋送輸出於一第一重組層926及第一ELU 928之後的資料之第一跳躍連接792之起點，如上文所論述。亦應注意，針對CNN 900之此級按比例縮小2倍(減少取樣至 $\frac{1}{2}$ 空間解析度)且在此級處使用32個特徵通道。

參考圖9B，CNN 900進一步包含第二減少取樣塊930，其包含一第二Conv 932、一第二批次norm層934及一第二激發層936 (例如，圖9B中的一ELU)。第二減少取樣塊930經組態以自第一ELU 928接收輸出。第二Conv 932可具有針對核心大小及步幅之不同參數。此處，核心亦係 5×5 且步幅亦係兩個像素。來自層936之輸出饋送給第二剩餘網路塊940，其包含一第三分支942及一第四分支944。剩餘網路之佈局之一般論述可參見圖8。在第三分支942中，兩個Conv具有 3×3 之核心大小。圖9B亦繪示正向饋送輸出於第二重組層946及第二ELU 948之後的資料之第二跳躍連接794之起點，如上文所論述。亦應注意，相對於圖9A之前一級，CNN 900之此級按比例縮小2倍(相對於原始減少取樣至 $\frac{1}{4}$ 空間解析度)且在此級處使用64個特徵通道。

參考圖9C，CNN 900包含第三減少取樣塊950，其包含一第三Conv 952、一第三批次norm層954及一第三激發層956 (例如，圖9C中的一ELU)。第三減少取樣塊950經組態以自第二ELU 948接收輸出。第三Conv 952可具有針對核心大小及步幅之不同參數。此處，核心亦係 5×5 且步幅亦係兩個像素。來自層956之輸出饋送給第三剩餘網路塊940，其包含一第五分支962及一第六分支964。剩餘網路之佈局之一般論述可參見圖8。在第五分支962中，兩個Conv具有 3×3 之核心大小。亦應注意，CNN 900之此級

按比例縮小2倍(減少取樣至 $1/8$ 空間解析度)且在此級處使用128個特徵通道。

參考圖9D，CNN 900包含第一增加取樣塊970、第二增加取樣塊980及第三增加取樣塊990。第一增加取樣塊970包含一第一增加取樣Conv 972、一第一增加取樣批次norm層974、第一增加取樣重組層976及一第一增加取樣激發層978 (例如ELU)。第一增加取樣重組層976經組態以自第一跳躍連接794接收輸入，組合該輸入與來自第一增加取樣批次norm層974之輸出，且將該經組合輸出饋送至第一增加取樣激發層978。如上文參考減少取樣Conv 912/932/952所論述，增加取樣Conv層可具有針對核心大小及步幅之不同參數。此處，第一增加取樣Conv 972之核心係 5×5 且步幅係兩個像素。亦應注意，相對於來自第三剩餘網路960之輸出，CNN 900之此級按比例放大2倍(增加取樣至 $1/4$ 空間解析度)且在此級處使用64個特徵通道。

第二增加取樣塊980包含一第二增加取樣Conv 982、一第二增加取樣批次norm層984、第二增加取樣重組層986及一第二增加取樣激發層988 (例如ELU)。第二增加取樣重組層986經組態以自第一跳躍連接792接收輸入，組合該輸入與來自第二增加取樣批次norm層984之輸出，且將該經組合之輸出饋送至第二增加取樣激發層988。如上文參考減少取樣Conv 912/932/952所論述，增加取樣Conv層可具有針對核心大小及步幅之不同參數。此處，針對第二增加取樣Conv 982，核心係 5×5 且步幅係兩個像素。亦應注意，相對於來自第一增加取樣塊970之輸出，CNN 900之此級按比例放大2倍(增加取樣至 $1/2$ 空間解析度)且在此級處使用32個特徵通道。

第三增加取樣塊990包含一第三增加取樣Conv 992、一第三增加取樣

批次norm層994及一第三增加取樣激發層996 (例如ELU)。層996產生用於CNN 900之一輸出999。如上文參考減少取樣Conv 912/932/952所論述，增加取樣Conv層可具有針對核心大小及步幅之不同參數。此處，針對第三增加取樣Conv 992，核心係5×5且步幅係兩個像素。亦應注意，相對於來自第二增加取樣塊980之輸出，CNN 900之此級按比例放大2倍(增加取樣至原始空間解析度)且在此級處使用3個特徵通道。

如上文關於圖7所論述，在各種實施例中，利用CNN之系統自一影像輸入獲得一微物件計數。系統可藉由標註輸入影像之複數個像素而如此做，該組之各像素標註表示影像中的一對應像素表示對應微物件特性之一概率。自此分析，可獲得一微物件計數。在各種實施例中，複數個微物件特性包括至少三個微物件特性。在各種實施例中，複數個微物件特性包括至少一微物件中心、一微物件邊緣及一非微物件(或細胞中心、細胞邊緣及非細胞)。圖9D之增加取樣塊990藉由其三個通道深度而繪示此三個微物件特性化。因而，圖9D之最後增加取樣塊990提供神經網路900判定一準確微物件(例如細胞)計數所必需之物件特性化。

根據各種實施例，揭示用於自動偵測一影像中的微物件之系統及方法。在各種實施例中，微物件係生物細胞。在各種實施例中，生物細胞係免疫細胞，舉例而言，諸如T細胞、B細胞、NK細胞、巨噬細胞或其組合。在各種實施例中，生物細胞係來自細胞系之細胞(例如，CHO細胞)或癌細胞。在各種實施例中，生物細胞係卵母細胞、精子或胚胎。

圖10係繪示根據各種實施例之用於自動偵測一影像中的微物件之一方法的一例示性流程圖。例如，可在圖11之一系統1200上實行例示性流程圖，如下文將更詳細描述。如本文中所描繪，可由系統1200之影像擷取單

元1202之成像元件1206實行的步驟1110包含接收一微流體裝置之成像資料。

如本文中所描繪，步驟1120詳述可由系統1200之影像擷取單元1202之影像預處理引擎1208實施的一例示性工作流程步驟。在步驟1120中，該方法包含預處理影像資料以減少影像資料中的異常。

如本文中所描繪，步驟1130詳述可由系統1200之微物件偵測單元1204之神經網路1210實施的一例示性工作流程步驟。在步驟1130，該方法包含使用一神經網路處理成像資料中的像素資料以根據複數個微物件特性標註像素資料且輸出像素資料中的各像素之概率值。輸出概率值可呈複數個像素遮罩之形式，各遮罩對應於來自複數個微物件特性之一微物件特性。各遮罩可包括關於與該遮罩相關聯之特定微物件特性的影像之一組像素標註(或一組概率值)。

如本文中所描繪，步驟1140詳述可由系統1200之微物件偵測單元1204之臨限值引擎1212實施的一例示性工作流程步驟。在步驟1140，該方法包含應用一臨限值以判定至少滿足一經定義臨限值之像素概率。

如本文中所描繪，步驟1150詳述可由系統1200之微物件偵測單元1204之偵測引擎1214實施的一例示性工作流程步驟。在步驟1150，該方法包含基於可在臨限值應用之後識別的微物件之數目判定一微物件計數。

圖11係根據各種實施例之用於自動偵測一影像中的微物件之一系統的一示意圖。如本文中所描繪，系統1200可包含一影像擷取單元1202、一影像預處理引擎1208、一微物件偵測單元1204及用於輸出一最終微物件之一輸入/輸出裝置(I/O裝置) 1216。

I/O裝置1216亦可經組態以經由系統1000之一相關聯顯示裝置1012及/或輸入裝置1014 (參見圖5)接收使用者輸入，該使用者輸入可呈可傳送至例如影像擷取單元1202、影像預處理引擎1208、微物件偵測單元1204或其等組合之資料(例如，參數、使用者要求等)之形式。替代地或組合地，電腦系統1000之輸入裝置1014 (參見圖5)亦可用以將使用者輸入、參數及/或類似者直接傳送至例如影像擷取單元1202、影像預處理引擎1208、微物件偵測單元1204或其等組合。此外，I/O裝置1216可經組態以將自例如偵測引擎1214接收之資料或影像顯示於一嵌入式顯示裝置1012上。裝置1216亦可經組態以將資料或影像傳送至用於資料或影像顯示之一單獨顯示器1012。

影像擷取單元1202 (諸如但不限於上文在圖1A中所描繪的成像模組164)可包含一成像元件1206 (諸如但不限於成像裝置194)。替代地，單元1202亦可經組態以包含(或容置)影像預處理引擎1208。

成像元件1206可經組態以捕獲一或多個影像(或影像資料)。影像可具有例如一微流體裝置之複數個室(例如封存圈)及/或周圍結構(例如通道)。微流體裝置可包含本文中所描述之各種實例之任何者(諸如但不限於上文在圖1A至圖1C、圖2A至圖2B、圖2D及圖2G至圖2H中所描繪的微流體裝置100、200、230、250、280及290)。微流體裝置可包含一流動區域及可流體連接至流動區域之一室或複數個室，其中該等室之各者可容納一或多個微物件。如前文所提及，室可為例如封存圈。應瞭解，室可具有如由其等所用於之特定應用所需的任何形狀、大小或定向。流動區域可為一單個微流體通道或複數個微流體流動通道(諸如但不限於如上文在圖1A及圖2A

至圖2C中所描繪的通道122及如上文在圖2D至圖2F中所描繪的流動通道264)，其等提供一單個流動路徑或複數個流動路徑(諸如但不限於上文在圖1A及圖2B中所描繪的流動路徑106)。流動區域可與一單個室或複數個室流體連通。替代地，流動區域可經由一可逆封閉物(舉例而言，諸如閥)與單個室或複數個室流體連通。流動區域可經組態以經由如前文所描述之一入口接收材料流。材料流可包含例如微物件流、黏結劑或反應劑或包含材料之介質流。

在各種實施例中，成像元件1206亦可經組態以在正向發送以用於進一步處理之前對捕獲影像調整大小。調整大小可例如藉由分級(例如四個像素分級至一個像素)來完成。

影像預處理引擎1208可經組態以根據各種實施例準備一影像用於進一步分析。例如，若捕獲影像在由引擎1208接收之前分級，則引擎1208可將影像調整大小至全大小以補償分級。引擎1208可使用例如像素值之間的線性內插調整大小。引擎1208可視需要將影像翻轉及/或旋轉至一所要定向。引擎1208可使用例如藉由檢查在點之間具有已知間距的一點陣列而運算之一查找表將一失真校正步驟應用於影像。

在各種實施例中，引擎1208可跨影像執行階亮度程序。例如，引擎1208可使用一多項式最佳擬合校正，諸如二次或更高次多項式最佳擬合校正。視情況，可使用正弦波或指數函數代替多項式函數。調平可藉由使影像亮度乘以縮放影像而達成，其中在系統校準期間判定最佳擬合函數之所要乘數。引擎1208亦可執行一輻射校正，以減去例如源於自發螢光之背景亮度。

在各種實施例中，有時需要螢光影像以視覺化可以其他方式呈現半透

明之細胞(例如，作為更佳地偵測/計數特定細胞之一方式，可使用DAPI以污染細胞核)。在該等情況中，引擎1208可縮放、偏移及/或旋轉螢光影像以對準明場影像，其中使用點陣列來完成校準。

在各種實施例中，可使用傅立葉變換以減少來自微流體裝置上的一導電矽基板之干擾。傅立葉變換允許影像之一頻率表示，其促進識別與導電矽基板(諸如光電晶體陣列)相關聯的假影及干擾。時間函數自身之傅立葉變換係復值頻率函數，其絕對值表示存在於原函數中的該頻率之量，且其複自變數係該頻率中的基本正弦波之相位偏移。傅立葉變換稱為原始信號之頻域表示。術語傅立葉變換係指頻域表示及使頻域表示與時間函數相關聯的數學運算。傅立葉變換不限於時間函數，但為具有統一語言，原函數之域通常稱為時域。

如下文將更詳細論述，與微流體裝置之特徵(舉例而言，諸如光電晶體陣列)相比，所關注微物件可具有類似、混雜形態。另外，與微流體裝置之各種特徵相比，微物件(諸如細胞)可相對半透明。據此，在識別所關注微物件之前識別且移除微流體裝置之非所要特徵(例如，微流體裝置之光電晶體陣列、壁或線路元件)可係有幫助的。可使用傅立葉分析以在微物件偵測之前移除例如一電晶體圖案。此步驟可在引擎1208內或替代地在微物件偵測單元1204之一偵測引擎1214中以一後處理步驟發生(下文更詳細描述)。

在各種實施例中，預處理影像可包含利用亮度正規化或對比度增強以減少來自微流體裝置上的導電矽基板之干擾。

在各種實施例中，引擎1208可製成如上文所描述之影像之複本且傳送至各種「用戶端」1220 (例如，GUI、影像處理、電影製作、影像捕獲、

記憶體/儲存裝置/伺服器)。

在各種實施例中，可使用分水嶺演算法以填充原始影像輸入上的細胞邊界。此演算法非常類似於拓撲圖般處理一影像，其中所關注物件作為集水基地且該等物件之邊緣作為圍繞基地之分水嶺線。如此一來，此影像分析方法允許圍繞物件(集水基地)之物件邊界(分水嶺線)之一更清楚界定。

圖11之系統1200之微物件偵測單元1204可通信地連接至影像擷取單元1202。在各種實施例中，微物件偵測單元1204可包含一神經網路1210、一臨限值引擎1212及一偵測引擎1214。應瞭解，被描繪為微物件偵測單元1204之部分(且在本文中描述)之各組件(例如引擎、模組等)可實施為硬體、韌體、軟體或其等任何組合。

在各種實施例中，微物件偵測單元1204可實施為具有影像擷取單元1202之一整合式儀器系統總成。即，微物件偵測單元1204及影像擷取單元1202可容置於相同外殼總成中且經由習知裝置/組件連接構件(例如串列匯流排、光纜、電纜等)通信。

在各種實施例中，微物件偵測單元1204可實施為經由光學、串列埠、網路或數據機連接通信地連接至影像擷取單元1202之一獨立運算裝置(如圖11中所展示)。例如，影像處理單元可經由允許將由影像擷取單元1202擷取之成像資料傳輸至微物件偵測單元1204以供分析之LAN或WAN連接而連接。

在各種實施例中，可在經由WAN (或等效)連接通信地連接至影像擷取單元102之共用電腦處理資源之一分佈式網路(諸如雲端運算網路)上實施微物件偵測單元1204之功能。例如，微物件偵測單元1204之功能可經劃分以在一雲端處理服務(諸如AMAZON WEB SERVICES™)上的一或多個

運算節點中實施。

神經網路1210可經設計且經組態以自影像預處理引擎1208接收影像資料輸入，且根據複數個微物件特性標註影像資料中的像素資料，基於像素標註將概率值指派給像素資料中的各像素，且輸出概率影像資料。神經網路1210可為一迴旋神經網路且可具有利用上文所描述的架構實例之任何組合的一架構(參見例如圖7、圖8與圖9A至圖9D及相關聯論述)。

臨限值引擎1212可經設計且經組態以自神經網路1210接收輸出概率影像資料且應用一給定臨限值以判定至少滿足一經定義臨限值之像素概率。例如，在各種實施例中，微物件類型可為細胞中心、細胞邊界或非細胞類型之一者且包含微物件特性，諸如圓形度特徵、大小特徵或兩者。可比較指派至像素標註之概率與一指派臨限值以促進進一步分析或消除低於臨限值的像素。臨限值可為經使用者定義且若像素標註之概率低於臨限值，則將像素標註重分類為另一類型。一般指派之概率指示像素標註之可信度。例如，可如下般指派概率：將0.15指派給邊界，將0.8指派給細胞中心且將0.05指派給非細胞。當分析一像素叢集時，可與臨近像素一起使用各像素標註以判定正確識別之可能性。

圖11之系統1200之偵測引擎1214可經設計且經組態以接收影像輸出資料，且經校正以用於在臨限值引擎1212中進行臨限值分析，應用影像後處理技術且輸出一微物件計數。

使用如下般提供之一些實例預期眾多後處理技術。引擎1214可經組態以將(在微流體裝置中)封存圈之CAD模型對準於實際影像輸出以精確地尋找圈位置。在螢光影像之情況中(取決於所偵測的細胞類型)，引擎1214可經組態以藉由減法(例如，藉由減去自模糊(影像)常式獲得的一對應影像)

而移除背景。引擎1214亦可經組態以針對微物件計數將一影像輸出切成個別圈。引擎1214亦可應用可移除所關注物件周圍的任何結構(例如，微流體裝置或圈壁)之一像素遮罩。最後，引擎1214可基於可在臨限值及後處理之後識別的物件判定一微物件計數。該計數及來自引擎1214之輸出影像可傳送至I/O裝置1216，其中該計數及輸出影像可例如儲存、傳送至一記憶體儲存裝置，經進一步分析及/或傳送至用戶端1220。

根據各種實施例，影像擷取單元1202及微物件偵測單元1204可整合至一單個實體單元中。替代地，影像擷取單元1202及微物件偵測單元1204可單獨定向、設置於獨立單元中使得單元仍通信地連接以交換資訊。

上文所描述的微物件偵測單元1204之各組件可為硬體或可部分或全部為一軟體模組。

微物件之自動偵測。提供用於自動偵測一影像中的一所關注微物件之方法。與影像中的一或多個其他特徵相比，所關注微物件可具有類似、混雜形態。例如，在一些例項中，安置於一微流體裝置內的微物件之偵測可藉由具有類似於所關注微物件之形態的微流體裝置之特徵而複雜化。例如，在其中細胞具有10微米之直徑之例項中，可難以區別細胞與在兩個維度上具有10微米節距之一光電晶體(即，各光電晶體具有10微米×10微米大小)。另外，與微流體裝置之各種特徵相比，微物件(諸如細胞)可相對半透明。據此，在識別所關注微物件之前識別且移除微流體裝置之非所要特徵(例如，微流體裝置之光電晶體陣列、壁或線路元件)係有幫助的。

在一些實施例中，一單個像素可對應於微流體裝置中實質上小於一所關注微物件之橫截面積的一面積。例如，微物件可具有約80微米²之一橫截面積，而一像素可對應於約2微米²之一面積。在此等實施例中，將需要一

或多個像素叢集以覆蓋微物件之橫截面積(例如，在上述實例中，將需要實質上40個像素以覆蓋微物件之橫截面積，或需要24個像素以覆蓋微物件之周邊之橫截面積)。

一組像素叢集之分析可進一步包括除像素叢集之區域及周邊外的若干其他特徵。可根據全域形態(即，該組一或多個像素叢集之大小及形狀)、區域形態(即，個別像素叢集之大小及形狀)、正及負光強度值 L_i 及基於此等元素之一組合的其他特徵(例如，依據大小而變化之光強度)分析該組像素叢集。可使用各種方法以分析該組像素叢集，包含傳統機器學習技術，其中上文所論述的特徵係針對一組微物件影像進行運算且用以訓練一分類器以基於相同特徵識別新影像中的所關注微物件。

亦可結合使用力(諸如OET或DEP力)操縱或重定位微物件而使用微物件識別(下文更詳細論述)。在一些實施例中，在微流體裝置之一特定線路元件(例如通道或封存圈)或位置中識別的微物件可移動至微流體裝置之另一類型之線路元件或位置(即，重定位於微流體裝置之另一類型之線路元件或位置中)。例如，可在微流體線路中的一通道中識別且在微流體線路中的封存圈中重定位微物件(本文中稱為「禁錮」一微物件)。相反地，在微流體線路中的封存圈中識別之微物件可移動至微流體線路中的通道。替代地，可在一個封存圈中識別且在一空封存圈中重定位一或多個微物件(本文中稱為「重新禁錮」一微物件)。根據實施例，可使用各種機制重定位微物件，包含OET及DEP力。類似地，可循序地、並行地或其等任何組合(例如，循序地重定位並行之多個細胞群組)微物件重定位(即，一次一個微物件)。

在其中微物件自通道重定位至個別封存圈(或自一個別封存圈重新禁錮至另一封存圈)之例項中，可使用不同演算法以將微物件指派至空封存

圈。在一些實施例中，將使用一演算法以將微物件指派至空封存圈使得最小化微物件與圈之間的距離(即，微物件在重定位期間必須行進之軌跡或路徑)。在此等實施例中，亦最小化用以移動微物件的力(例如OET或DEP力)之使用，因為微物件僅需要行進一最小距離以重定位於一空封存圈中。

在此等實施例中，可使用通道中的一局部微物件密度(即，通道之一特定空間區域內的微物件之數目)以判定適合於將通道中的特定微物件指派至空封存圈之一演算法。可以若干方式運算局部微物件密度。在一些實施例中，可基於一固定大小面積(例如，200微米²或通道係100微米長且在通道寬度內延伸之一面積)或使用利用各種面積大小之方法計算局部微物件密度。在其他實施例中，可基於經識別微物件之叢集或經識別微物件之間的距離運算局部微物件密度。亦可藉由將通道細分成網格或使用「滑動視窗」方法以運算通道之重疊區域之密度而運算局部微物件密度。

若局部微物件密度高於臨限值 $T1_{density}$ ，則可將微物件指派至最近空封存圈使得最小化微物件與封存圈之間的距離。若局部微物件密度低於一臨限值 $T1_{density}$ ，則可將空封存圈指派至最接近於空封存圈之微物件使得最小化微物件與封存圈之間的距離。在一些例項中，可基於空圈之數目以及通道內的一預定義臨近區域中的微物件之密度而運算局部 $T1_{density}$ 。

運算微物件與空封存圈之間的距離(即，微物件或路徑需要在禁錮期間移動之軌跡)之不同方法可用以將特定微物件指派至空封存圈。在一些實施例中，可僅基於最佳軌跡使用OET及/或DEP力運算微物件與潛在封存圈之間的距離。在一些例項中，使用OET或DEP力之最佳軌跡涉及用以移動微物件的正交運動路徑之一組合(例如，僅沿y軸及x軸的相異移動之組合)。在其他例項中，距離可基於微物件與封存圈之間的最短可行路徑而無

約束(即，微物件可沿任何路徑行進以到達封存圈)。在大多數實施例中，將使用如由用以計算距離(軌跡)之演算法判定的相同軌跡重定位(即，「禁錮」或「重新禁錮」)微物件。

類似地，在其中將較大數目個微物件指派至封存圈(或反之亦然)之例項中，可使用不同演算法以運算微物件至圈之最佳指派(或反之亦然)。此等演算法可使用判定一微物件至封存圈指派(其最小化微物件需要移動以將微物件重定位至封存圈中之總距離(即，軌跡之長度))之不同運算方法。例如，演算法可使用所有軌跡之長度之總和作為試探法以最小化微物件需要行進之距離。在一些實施例中，約束(諸如微物件可在重定位期間移動之最大距離)可引入至最佳指派之運算中。可使用各種組合演算法以運算微物件與封存圈之間的最佳指派。合適演算法包含：貪心演算法、非線性演算法、基於試探之演算法及約束搜尋。此項技術中已知其他類似演算法。

一旦已針對微物件運算最佳指派及軌跡，則可使用力(諸如OET及/或DEP)以將微物件移動至其等指派圈。可使用環繞微物件且使微物件經受OET及/或DEP力之光圖案(諸如「光籠」)或藉由使用棒或類似結構以將OET及/或DEP力施加於微物件而重定位微物件。通常，光籠將係實質上圍封微物件之一結構(例如，正方形、圓或多邊形)。然而，在一些例項中，光籠可含有裂口或開口使得微物件不被完全圍封。

如上文所論述，在大多數實施例中，微物件將根據用以運算微物件至圈之最佳指派的距離(軌跡)而移動。根據實施例，微物件可循序地或並行地或其等任何組合(例如，循序地移動並行之細胞群組)移動。在其中微物件並行移動之實施例中，用以運算最佳指派或軌跡之演算法可比較軌跡且藉由修改軌跡及微物件至圈之指派而確保微物件在其等並行移動時不碰

撞。在一特定實施例中，當識別一潛在碰撞時，演算法可「掃及」至圈之微物件指派。在此實施例中，當第一微物件之最佳軌跡與第二微物件之最佳軌跡交叉時，將第一微物件之最佳軌跡指派至第二微物件且將第二微物件之最佳軌跡指派至第一微物件。在另一特定實施例中，演算法延遲第一微物件之重定位直至使得第一微物件及第二微物件可沿其等各自軌跡移動而不碰撞之一時間。

在一些例項中，微物件密度可如此高以至在將微物件指派至封存圈及重定位(即，「禁錮」或「重新禁錮」)微物件之前微物件需要彼此分離。例如，微物件密度可如此高以至不可使用OET及/或DEP力禁錮微物件，因為不可在一單個微物件上使用用以使用OET及/或DEP力重定位物件之光籠而不干擾其他微物件。在其中重要的是最小化施加至微物件的OET及/或DEP力之量的例項中，此干擾尤其令人擔憂。例如，其中微物件可被OET及/或DEP力或被OET力之副產物(例如，與OET及/或DEP力相關聯之電解作用)損害之例項。在此等例項中，可使用在微物件識別期間產生之資訊(例如，微物件之半徑、形心、周邊及位置)以移動微物件使得可禁錮或重新禁錮微物件而不干擾其他細胞(本文中稱為「分離」微物件)。

為識別其中微物件需要在禁錮之前分離的例項，可基於一經界定空間區域運算一局部微物件密度且比較該局部微物件密度與一第二臨限值 $T2_{density}$ 。替代地，可運算微物件之間的距離(例如，微物件之形心之間的距離、微物件之周邊之間的距離)且使用該距離以判定微物件是否需要分離。然而，如可瞭解，在一些例項中，微物件之間的距離可過小以致無法將微物件識別為單獨微物件。在此等例項中，可在重定位(即，「禁錮」)微物件以確保各封存圈含有一單個微物件之後重識別微物件。

在一些實施例中，使用光盒以在禁錮(或重新禁錮)之前或期間分離微物件。當形成光盒(或光籠)時，可使用一除法演算法以運算一組頂點，該組頂點分隔微流體裝置之空間區域(例如通道或封存圈之部分)中的各經識別微物件與相同空間區域中的其他微物件。然而，如熟習此項技術者可瞭解，該組頂點可經繪製使得僅微流體裝置之空間區域中的微物件之一子組與其他微物件分離。例如，該組頂點可僅分離空間區域中歸因於其等非常接近於其他微物件而需要重定位的微物件之子組。

在一特定實施例中，使用各微物件之形心運算Delaunay三角量測。Delaunay三角量測產生連接微物件之形心的一組三角形。接著基於使用量測三角量測運算的三角形之圓周運算Voronoi圖。Voronoi圖係一組頂點，該組頂點將空間區域劃分成一組子區域使得最大化該組頂點與微物件形心之間的距離。此項技術中已知運算分隔空間區域中的各細胞與其他細胞之一組頂點之其他方法。

一旦已運算該組頂點，可組合OET及/或DEP力使用該組頂點以移動微物件。圖6A至圖6F繪示根據本發明之各種實施例的微物件分離。圖6A繪示一經指定空間區域內的一組微物件之Delaunay三角量測及對應Voronoi圖。圖6B繪示無Delaunay三角量測之對應Voronoi圖。圖6C繪示通常用以移動上覆於Voronoi圖的微物件之光籠。圖6D繪示藉由運算圖6C之典型光籠與Voronoi圖之間的交叉而產生之經修改光籠。圖6E繪示使用經修改光籠分離彼此非常接近之微物件。圖6F繪示已分離的微物件。

在一項實施例中，藉由產生連結該組頂點之一頂點子集之複數個光棒而產生一或多個光籠，其中該頂點子集包括最接近於且環繞待移動之各微物件之頂點(或由該等頂點組成)。例如，可使用圖6B中所展示的多邊形形

狀之任何者以界定環繞一微物件之一光籠。在某些實施例中，以此方式形成之一光籠可經收縮以由此分離光籠內的微物件與經指定空間區域中的其他微物件及/或光籠。在其他實施例中，光籠可藉由將一「標準」光籠設計(例如正方形或圓)疊加於多邊形形狀上(參見圖6C)且產生起因於標準光籠設計與多邊形形狀之交叉的光籠(如圖6D中所繪示)而界定。在此實例中，頂點與光籠之交叉定義為其中光籠不交叉或重疊之一區域，從而允許重新繪製「標準」光籠使得其不干擾其他微物件。無論形成方法為何，一旦形成，便可使用光籠以藉由憑藉使微物件遠離彼此移動而重定位微物件來分離微物件。在一些例項中，可在重定位微物件時重新繪製經修改光籠使得在微物件處於最終位置中時繪製原始光籠。

在各種實施例中，可使用非標準(或「經修改」)光籠以重定位微物件。取決於實施例，使用兩個接近微物件之經修改光籠以在針對各微物件運算且選擇軌跡及至一封存圈之指派之前或之後重定位微物件。在一些實施例中，使用經修改光籠以反覆地或循序地重定位微物件。另外，可使用經修改光籠以將微物件禁錮於其等指派封存圈中。在一些實施例中，可在重定位或禁錮其他微物件之前重定位或禁錮最接近於空間區域之周邊或在空間上最接近之微物件。

圖4A、圖4B及圖4C繪示使用光盒之微物件禁錮。在圖4A中，展示在識別一微流體線路之通道內的生物細胞且將細胞指派至圈之後不久之該等細胞。環繞細胞之黑盒繪示細胞識別演算法之輸出，即，由細胞周圍之一盒指示的細胞之一識別。環繞黑盒之白盒係用以重定位細胞的OET力之光籠。最後，將環繞細胞之盒連接至封存圈的黑線繪示在將細胞指派至封存圈中運算之最佳軌跡。圖4B展示在一稍後時間點之相同細胞，其中光籠已

沿其等選定軌跡移動。圖4C展示在一第三時間點之相同細胞，其中光籠已幾乎完全沿其等選定軌跡移動以將細胞定位於封存圈中。

在移動微物件中，用以移動細胞之OET及/或DEP之速度可逐步加速以「斜升」微物件之運動且確保微物件不會自其等光籠丟失。例如，在一特定實施例中，微物件之初始速度可自低初始速度逐步加速至較高行進速度。可在其中自動重定位(例如，禁錮、重新禁錮及輸出)微物件之例項及其中手動重定位微物件(例如手動選擇且移動細胞)之例項兩者中應用此逐步加速。類似地，當微物件到達其等軌跡之末端且處於其等最終位置時，高行進速度可「斜降」至零之最終速度。

本發明之方法可用於自動偵測所有類型之微流體裝置中的微物件。在某些實施例中，微流體裝置可包含一流動區域(或流動通道)及一或多個室(或封存圈)。替代地或另外，微流體裝置可為一電動裝置(諸如一光學致動電動裝置)或可包含針對電動學組態之一區域。電動裝置(尤其係具有一電晶體(例如光電晶體)陣列之電動裝置)在陣列中的電晶體具有類似於所偵測微物件之橫截面積的一面積之情況下可提供一特別複雜背景。本文中所描述的方法可在偵測安置於此一裝置中的微物件時尤其有效。

在某些實施例中，本發明進一步提供用於儲存非暫時性機器可讀指令以實行本文中所描述的方法之任何者的機器可讀儲存裝置。機器可讀指令可控制用以獲得影像之成像裝置及/或對準影像、產生差分影像及/或分析差分影像之一處理器(例如，在一運算裝置中)。

取決於應用，可藉由各種方式實施本文中所描述的方法。例如，可在硬體、韌體、軟體或其等任何組合中實施此等方法。針對一硬體實施方案，可在一或多個特定應用積體電路(ASIC)、數位信號處理器(DSP)、數位信

號處理裝置(DSPD)、可程式化邏輯裝置(PLD)、場可程式化閘陣列(FPGA)、處理器、控制器、微控制器、微處理器、電子裝置、經設計以執行本文中所描述的功能之其他電子單元或其等組合內實施處理單元。

在各種實施例中，本發明之方法可實施為以習知程式設計語言(諸如C、C++等)撰寫之韌體及/或一軟體程式及應用程式。若實施為韌體及/或軟體，則可在一非暫時性電腦可讀媒體(其中程式經儲存以致使電腦執行上文所描述的方法)上實施本文中所描述的實施例。應瞭解，本文中所描述之各種引擎可設置於一電腦系統(諸如圖5之電腦系統100)上，藉此處理器1004將執行由此等引擎提供之分析及判定，經受由記憶體組件1006/1008/1010之任何者或一組合提供的指令及經由輸入裝置1014提供的使用者輸入。

雖然結合各種實施例描述本發明，但本發明並非意欲限於此等實施例。相反地，本發明涵蓋各種替代物、修改及等效物，如熟習此項技術者將瞭解。

此外，在描述各種實施例中，本說明書可已將一方法及/或程序呈現為一特定步驟序列。然而，就方法或程序不依賴於本文中所陳述的特定步驟序列而言，方法或程序不應限於所描述的特定步驟序列。如一般技術者將瞭解，其他步驟序列可係可行的。因此，本說明書中所陳述的特定步驟順序不應被解譯為限制發明申請專利範圍。另外，針對方法及/或程序之發明申請專利範圍不應限於以寫入順序執行其等步驟，且熟習此項技術者可容易瞭解序列可變化且仍保持於各種實施例之精神及範疇內。

可使用其他電腦系統組態(包含手持型裝置、微處理器系統、基於微處理器或可程式化消費性電子裝置、迷你電腦、主機電腦及類似者)實踐本文中所描述的實施例。亦可在分佈式運算環境中(其中由透過一網路連結之

遠端處理裝置執行任務)中實踐實施例。

亦應瞭解，本文中所描述的實施例可採用涉及儲存於電腦系統中的資料之各種電腦實施操作。此等操作係需要實體操縱實體量之該等操作。通常但並非必需，此等量採取能夠儲存、傳送、組合、比較及以其他方式操縱的電信號或磁性信號之形式。此外，通常以術語(諸如產生、識別、判定或比較)提及所執行的操縱。

形成本文中所描述的實施例之部分的任何操作係有用機器操作。本文中所描述的實施例亦與用於執行此等操作之一裝置或一設備有關。本文中所描述的系統及方法可經特殊建構以用於所要目的或其可為由儲存於電腦中的電腦程式選擇性地啟動或組態之一通用電腦。特定言之，各種通用機器可與根據本教示寫入之電腦程式一起使用，或建構一更特殊設備以執行所要操作可係方便的。

某些實施例亦可體現為一電腦可讀媒體上的電腦可讀碼。電腦可讀媒體係可儲存此後可由一電腦系統讀取之資料的任何資料儲存裝置。電腦可讀媒體之實例包含硬碟機、網路附接儲存裝置(NAS)、唯讀記憶體、隨機存取記憶體、CD-ROM、CD-R、CD-RW、磁帶及其他光學、快閃記憶體及非光學資料儲存裝置。電腦可讀媒體亦可分佈於一網路耦合電腦系統上使得以一分佈方式儲存且執行電腦可讀碼。

雖然已在本說明書中描述本發明之特定實施例及應用，但此等實施例及應用僅係例示性的，且許多變動係可行的。

【符號說明】

- 100 微流體裝置
- 102 外殼

104	支撐結構
106	流動路徑
107	埠
108	微流體線路結構
109	內表面
110	蓋
114	框架
116	微流體線路材料
120	微流體線路
122	通道
124	封存圈
126	封存圈
128	封存圈
130	封存圈
132	阱
134	側通路
150	系統
152	控制及監測設備
154	主控制器
156	控制模組
158	數位記憶體
160	介質模組
162	動力模組

164	成像模組
166	傾斜模組
168	其他模組
170	顯示裝置
172	輸入/輸出裝置
178	介質源
180	流體介質
190	傾斜裝置
192	電源
200	微流體裝置
202	區域/室
204	底部電極
206	電極啟動基板
208	內表面
210	頂部電極
212	電源
214	介電泳(DEP)電極區域
214a	介電泳(DEP)電極區域
216	光源
218	光圖案
220	正方形圖案
222	埠
224	封存圈

226	封存圈
228	封存圈
230	微流體裝置
232	隔離結構
234	近端開口
236	連接區域
238	遠端開口
240	隔離區域
242	流
244	副流
246	微物件
248	第二流體介質
250	微流體裝置
252	框架
254	第一流體介質
256	微流體線路結構
258	第二介質
260	微流體線路材料
262	微流體線路
264	流動通道
266	封存圈
268	連接區域
270	隔離區域

272	隔離結構
274	近端開口
276	遠端開口
278	流
280	微流體裝置
282	副流
284	外殼
286	基座
288	蓋
290	微流體裝置
292	內表面
294	內表面
296	矽烷氧基連接子
298	塗佈材料
300	巢套
302	插座
304	電信號產生子系統
306	熱控制子系統
308	控制器
312	殼體
314	流體路徑
316	入口
318	出口

320	微流體裝置
322	印刷電路板總成(PCBA)
324	串列埠
330	光調變子系統
332	光源
334	第二光源
336	分光器
338	二向色濾波器
340	物鏡
342	樣本平面
344	置物台
346	二向色濾波器
348	偵測器
350	顯微鏡
700	神經網路
701	輸入影像
710	第一減少取樣塊
720	第一處理塊
730	第二減少取樣塊
740	第二處理塊
750	第三減少取樣塊
760	第三處理塊
770	第一增加取樣塊

780	第二增加取樣塊
790	第三增加取樣塊
792	第一跳躍連接
794	第二跳躍連接
799	輸出
800	多分支處理塊
805	輸入
810	第一分支
815	第一迴旋層
820	第一批次正規化(norm)層
825	第一激發層
830	第二Conv
835	第二批次norm層
840	第二分支
845	第三Conv
850	第三批次norm層
855	第二激發層
860	重組層
862	塊激發層
864	輸出
871	輸入
874	Conv
876	批次norm層

878	激發層
879	輸出
881	輸入
884	轉置Conv
886	批次norm層
888	激發層
889	輸出
900	迴旋神經網路(CNN)
901	影像輸入
910	第一減少取樣塊
912	第一Conv
914	第一批次norm層
916	第一激發層
920	第一剩餘網路塊
922	第一分支
924	第二分支
926	第一重組層
928	第一指數線性單元層(ELU)
930	第二減少取樣塊
932	第二Conv
934	第二批次norm層
936	第二激發層
940	第二剩餘網路塊

942	第三分支
944	第四分支
946	第二重組層
948	第二指數線性單元層(ELU)
950	第三減少取樣塊
952	第三Conv
954	第三批norm層
956	第三激發層
960	第三剩餘網路塊
962	第五分支
964	第六分支
970	第一增加取樣塊
972	第一增加取樣Conv
974	第一增加取樣批次norm層
976	第一增加取樣重組層
978	第一增加取樣激發層
980	第二增加取樣塊
982	第二增加取樣Conv
984	第二增加取樣批次norm層
986	第二增加取樣重組層
988	第二增加取樣激發層
990	第三增加取樣塊
992	第三增加取樣Conv

994	第三增加取樣批次norm層
996	第三增加取樣激發層
992	第一跳躍連接
994	第二跳躍連接
1000	電腦系統
1002	匯流排
1004	處理器
1006	記憶體
1008	唯讀記憶體(ROM)
1010	儲存裝置
1012	顯示器
1014	輸入裝置
1016	遊標控件
1110	步驟
1120	步驟
1130	步驟
1140	步驟
1150	步驟
1200	系統
1202	影像擷取單元
1204	微物件偵測單元
1206	成像元件
1208	影像預處理引擎

1210	神經網路
1212	臨限值引擎
1214	偵測引擎
1216	輸入/輸出(I/O)裝置
1220	用戶端
D_p	滲透深度
L_{c1}	長度
L_{c2}	長度
L_{con}	長度
W_{con}	寬度
W_{con1}	寬度
W_{con2}	寬度
W_{ch}	寬度

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種使用自動偵測及重定位放置於一微流體裝置內之微物件之一影像之方法，該方法包括：

獲得放置於該微流體裝置內之該等微物件之一影像；

自該影像減去由該微流體裝置之至少一個組件產生的一重複圖案；

針對複數個微物件特性自該影像產生對應之複數個像素遮罩，其中產生該複數個像素遮罩包括使用包括一神經網路之一機器學習演算法處理來自該影像之像素資料，且其中各像素遮罩包括一組像素標註，該組之各像素標註表示該影像中的一對應像素表示對應微物件特性之一概率；

自該複數個像素遮罩之至少一個像素遮罩獲得一微物件計數；

產生接近(proximity)於該等微物件之一第一微物件之一力，其中基於該至少一個像素遮罩之至少部分來判定該接近；及

移動該力至該微流體裝置之一指定空間區域從而重定位該第一微物件。

【第2項】

如請求項1之方法，其中該複數個微物件特性包括至少三個微物件特性，且該複數個微物件特性至少包括：(i)微物件中心；(ii)微物件邊緣；及(iii)非微物件。

【第3項】

如請求項2之方法，其中獲得一微物件計數包括：自對應於該微物件中心特性之像素遮罩或包含對應於該微物件中心特性之該像素遮罩的一像

素遮罩組合獲得一微物件計數。

【第4項】

如請求項1之方法，其中該神經網路包括複數個減少取樣塊，各減少取樣塊包括一第一減少取樣迴旋層、一第一批次正規化層及包含一閘控功能之一第一ELU層，且其中該等第一減少取樣迴旋層之各者減小其接收的影像資料之空間解析度。

【第5項】

如請求項4之方法，其中該等減少取樣塊之一或多者由該第一減少取樣迴旋層、該第一批次正規化層及該第一ELU層組成，其中該第一ELU層直接自該第一批次正規化層接收影像資料，且其中該第一批次正規化層直接自該第一減少取樣迴旋層接收影像資料。

【第6項】

如請求項5之方法，其中各減少取樣迴旋層使其接收的該影像資料之空間解析度減小2倍，且該等第一減少取樣迴旋層之各者包括一 5×5 迴旋濾波器。

【第7項】

如請求項4之方法，其中該複數個減少取樣塊之一或多個減少取樣塊之後係具有一分支結構之一剩餘網路塊，其中該剩餘網路塊之該分支結構包括一第一分支及一第二分支，且其中該第一分支處理自前一減少取樣塊接收之影像資料達小於該第二分支之一程度。

【第8項】

如請求項7之方法，其中該剩餘網路塊之該第一分支包括一第二迴旋層、一第二批次正規化層及包含一閘控功能之一第二ELU層。

【第9項】

如請求項7之方法，其中該剩餘網路塊之該第二分支包括兩個或兩個以上處理單元，其中各處理單元包括一迴旋層及一批次正規化層。

【第10項】

如請求項9之方法，其中該剩餘網路塊之該第二分支由一第三迴旋層、一第三批次正規化層、包括一閘控功能之一第三ELU層、一第四迴旋層及一第四批次正規化層組成，其中該第四批次正規化層直接自該第四迴旋層接收影像資料，其中該第四迴旋層直接自該第三ELU層接收影像資料，其中該第三ELU層直接自該第三批次正規化層接收影像資料，且其中該第三批次正規化層直接自該第三迴旋層接收影像資料。

【第11項】

如請求項7之方法，其中將來自該剩餘網路塊之該第一分支的影像資料及該剩餘網路塊之該第二分支的影像資料重組且傳送至包括一閘控功能之一第四ELU層。

【第12項】

如請求項1之方法，其中該神經網路包括一第一減少取樣塊、一第一剩餘網路塊、一第二減少取樣塊、一第二剩餘網路塊、一第三減少取樣塊及一第三剩餘網路塊。

【第13項】

如請求項12之方法，其中該第一減少取樣塊及該第一剩餘網路塊各包括32個通道及為該影像之該空間解析度的 $\frac{1}{2}$ 之一空間解析度、該第二減少取樣塊及該第二剩餘網路塊各包括64個通道及為該影像之該解析度的 $\frac{1}{4}$ 之一空間解析度或該第三減少取樣塊及該第三剩餘網路塊各包括128個通道

及為該影像之該解析度的 $\frac{1}{8}$ 之一空間解析度。

【第14項】

如請求項4之方法，其中該神經網路包括針對該複數個減少取樣塊之各減少取樣塊的一增加取樣塊，各增加取樣塊包括一轉置迴旋層、一增加取樣批次正規化層及包括一閘控功能之一增加取樣ELU層，且其中各增加取樣塊之該轉置迴旋層增大其接收的影像資料之空間解析度。

【第15項】

如請求項14之方法，其中該等增加取樣塊之一或多者之各者包括一重組層，在該重組層中合併來自該增加取樣批次正規化層之影像資料與來自前一剩餘網路塊之影像資料。

【第16項】

如請求項14之方法，其中該一或多個增加取樣塊之各者由該轉置迴旋層、該增加取樣批次正規化層、該重組層及該增加取樣ELU層組成，其中該增加取樣ELU層直接自該重組層接收影像資料，且其中該增加取樣批次正規化層直接自該重建轉置層接收影像資料。

【第17項】

如請求項14之方法，其中各轉置迴旋層將其接收的影像資料之空間解析度增大2倍。

【第18項】

如請求項14之方法，其中當該神經網路具有 n 個減少取樣塊及 n 個剩餘網路塊時，該網路具有包含一重組層之 $n-1$ 個增加取樣塊。

【第19項】

如請求項14之方法，其中該神經網路包括：一第一增加取樣塊，其具

有自一第二剩餘網路塊接收影像資料之一重組層；一第二增加取樣塊，其具有自一第一剩餘網路塊接收影像資料之一重組層；及一第三增加取樣塊，其不包含一重組層。

【第20項】

如請求項19之方法，其中該第一增加取樣塊包括64個通道且輸出具有為該影像之該空間解析度的 $\frac{1}{4}$ 之一空間解析度的影像資料、該第二增加取樣塊包括32個通道且輸出具有為該影像之該空間解析度的 $\frac{1}{2}$ 之一空間解析度的影像資料或該第三增加取樣塊包括3個通道且輸出具有相同於該影像之該解析度之一空間解析度之影像資料。

【第21項】

如請求項1之方法，其中減去由該微流體裝置之該至少一個組件產生的該重複圖案係發生在產生該複數個像素遮罩之前。

【第22項】

如請求項21之方法，其中減去由該微流體裝置之該至少一個組件產生的該重複圖案包括將一傅立葉變換應用於該影像以識別該重複圖案，或其中該微流體裝置之該至少一個組件係包括一光電晶體陣列之一基板表面。

【第23項】

如請求項21之方法，進一步包括下列之一或多者：將該影像翻轉及/或旋轉成一所要定向、使用一多項式最佳擬合校正跨該影像調平亮度或在成像程序期間校正引入該影像中之失真。

【第24項】

如請求項1之方法，其進一步包括：將該微物件計數中識別之該等微物件分類成複數種微物件類型之至少一者。

【第25項】

如請求項1之方法，其中該等微物件係生物細胞、免疫細胞、癌細胞、來自一細胞系之細胞、卵母細胞、精子或胚胎。

【第26項】

如請求項1之方法，其中使用介電泳(DEP)或光電子鑷子(OET)產生該力。

【第27項】

如請求項26之方法，其中該DEP或OET力包括一光籠，該光籠經組態以環繞一微物件並使用棒、多邊形或類似結構使該微物件經受該OET及/或DEP力以將該OET及/或DEP力施加於該微物件。

【第28項】

如請求項1之方法，其進一步包括：

運算一或多個軌跡，其中各軌跡係連接該等微物件之一微物件與該複數個封存圈之一封存圈的一路徑；

針對該等微物件之一或多個微物件，自該一或多個軌跡選擇一軌跡；及

藉由使該一或多個微物件中具有一選定軌跡之至少一微物件沿其選定軌跡移動而重定位該至少一微物件。

【第29項】

如請求項1之方法，其進一步包括：

計算將該指定空間區域劃分成子區域之一組頂點，該組頂點之各者含有該等微物件之一或多個微物件；及

基於經計算之該組頂點，針對該一或多個微物件之一第一微物件產

生一第一光籠。

【第30項】

一種非暫時性電腦可讀媒體，其中一程式經儲存以用於引起一電腦執行使用自動偵測及重定位放置在一微流體裝置內的微物件之一影像之一方法，該方法包括：

將可包含放置在該微流體裝置內之一或多個微物件之一影像儲存於一記憶體中；

自該影像減去由該微流體裝置之至少一個組件產生的一重複圖案；

針對複數個微物件特性自該影像產生對應之複數個像素遮罩；

自該複數個像素遮罩之至少一個像素遮罩獲得一微物件計數；

產生接近於該等微物件之一第一微物件之一力，其中基於該至少一個像素遮罩之至少部分來判定該接近；及

移動該力至該微流體裝置之一指定空間區域以重定位該第一微物件，

其中根據請求項1至29或請求項32至49中任一項執行該產生步驟及該獲得步驟。

【第31項】

如請求項30之非暫時性電腦可讀媒體，其中該等微物件係生物細胞。

【第32項】

一種使用自動偵測放置在一微流體裝置內的微物件之一影像之一方法，該方法包括：

接收該微流體裝置之影像資料；

預處理該影像資料以減少該影像資料中的異常，其中由該微流體裝

置之至少一個組件產生的一重複圖案自該影像被減去；

使用一神經網路處理該影像資料中的像素資料以根據複數個微物件特性標註該像素資料且輸出該影像資料中的各像素之概率值，其中該神經網路包括複數個減少取樣塊，各減少取樣塊包括一減少取樣迴旋層、一減少取樣批次正規化層及一減少取樣激發層；

應用一臨限值以判定至少滿足一經定義臨限值之像素概率；及

基於可在臨限值應用之後識別的微物件之數目判定一微物件計數。

【第33項】

如請求項32之方法，其中各減少取樣迴旋層將影像資料之空間解析度減小2倍，且其中各減少取樣迴旋層包括一5×5迴旋濾波器。

【第34項】

如請求項32之方法，其中該複數個減少取樣塊之一或多個減少取樣塊之後係具有一分支結構之一剩餘網路塊，其中該剩餘網路塊之該分支結構包括一第一分支及一第二分支，且其中該第一分支處理自前一減少取樣塊接收之影像資料達小於該第二分支之一程度。

【第35項】

如請求項34之方法，其中該剩餘網路塊之該第一分支包括一第一分支迴旋層、一第一分支批次正規化層及一第一分支激發層，其中該第一分支激發層直接自該第一分支批次正規化層接收影像資料，且其中該第一分支批次正規化層直接自該第一分支迴旋層接收影像資料。

【第36項】

如請求項34之方法，其中該剩餘網路塊之該第二分支包括兩個或兩個以上處理單元，其中各處理單元包括一剩餘迴旋層及一剩餘批次正規化層。

【第37項】

如請求項36之方法，其中該剩餘網路塊之該第二分支包括一第一剩餘迴旋層、一第一剩餘批次正規化層、一第二分支激發層、一第二剩餘迴旋層及一第二剩餘批次正規化層，其中該第二剩餘批次正規化層直接自該第二剩餘迴旋層接收影像資料，其中該第二剩餘迴旋層直接自該第二分支激發層接收影像資料，其中該第二分支激發層直接自該第一剩餘批次正規化層接收影像資料，且其中該第一剩餘批次正規化層直接自該第一剩餘迴旋層接收影像資料。

【第38項】

如請求項37之方法，其中該第一剩餘迴旋層包括一第一剩餘迴旋濾波器且該第二剩餘迴旋層包括一第二剩餘迴旋濾波器，且其中該第一剩餘迴旋濾波器及該第二剩餘迴旋濾波器具有相同尺寸。

【第39項】

如請求項34之方法，其中將來自該第一分支之影像資料及來自該第二分支之影像資料重組且傳送至一剩餘網路激發層。

【第40項】

如請求項34之方法，其中該神經網路包括一第一減少取樣塊、一第一剩餘網路塊、一第二減少取樣塊、一第二剩餘網路塊、一第三減少取樣塊及一第三剩餘網路塊。

【第41項】

如請求項40之方法，其中該第一減少取樣塊及該第一剩餘網路塊各包括32個通道及為該影像之該空間解析度的 $\frac{1}{2}$ 之一空間解析度，其中該第二減少取樣塊及該第二剩餘網路塊各包括64個通道及為該影像之該解析度的

$\frac{1}{4}$ 之一空間解析度，且其中該第三減少取樣塊及該第三剩餘網路塊各包括128個通道及為該影像之該解析度的 $\frac{1}{8}$ 之一空間解析度。

【第42項】

如請求項32之方法，其中該神經網路包括針對該複數個減少取樣塊之各減少取樣塊的一增加取樣塊，各增加取樣塊包括一轉置迴旋層、一增加取樣批次正規化層及一增加取樣激發層，且其中各增加取樣塊之該轉置迴旋層增大其接收的影像資料之空間解析度，且其中該等增加取樣塊之一或多者包括一重組層，在該重組層中合併來自該增加取樣批次正規化層之影像資料與來自前一剩餘網路塊之影像資料。

【第43項】

如請求項42之方法，其中一或多個增加取樣塊包括該轉置迴旋層、該增加取樣批次正規化層、該重組層及該增加取樣激發層，其中該增加取樣激發層直接自該重組層接收影像資料，其中該重組層直接自該增加取樣批次正規化層接收影像資料，且其中該增加取樣批次正規化層直接自該轉置迴旋層接收影像資料，或其中各轉置迴旋層將影像資料之空間解析度增大2倍。

【第44項】

如請求項43之方法，其中當該神經網路具有 n 個減少取樣塊及 n 個剩餘網路塊時，該網路具有包含一重組層之 $n-1$ 個增加取樣塊。

【第45項】

如請求項43之方法，其中該神經網路包括：一第一增加取樣塊，其具有自一第二剩餘網路塊接收影像資料之一重組層；一第二增加取樣塊，其具有自一第一剩餘網路塊接收影像資料之一重組層；及一第三增加取樣

塊，其不包含一重組層。

【第46項】

如請求項45之方法，其中：

該第一增加取樣塊包括64個通道且輸出具有為該影像之該空間解析度的 $\frac{1}{4}$ 之一空間解析度的影像資料；

該第二增加取樣塊包括32個通道且輸出具有為該影像之該空間解析度的 $\frac{1}{2}$ 之一空間解析度的影像資料；或

該第三增加取樣塊包括3個通道且輸出具有相同於該影像之該解析度之一空間解析度之影像資料。

【第47項】

如請求項32之方法，其進一步包括：將該等微物件分類成複數種微物件類型之至少一者。

【第48項】

如請求項32之方法，其進一步包括：使用含有微物件之一組訓練影像訓練該神經網路。

【第49項】

如請求項32之方法，其中該等微物件係生物細胞。

【第50項】

一種使用自動偵測放置在一微流體裝置內的微物件之一影像之系統，其包括：

一影像擷取單元，其包括：

一成像元件，其經組態以捕獲該微流體裝置之一或多個影像，及

一成像預處理引擎，其經組態以減少該影像資料中的異常，其中由

該微流體裝置之至少一個組件產生的一重複圖案自該影像資料被減去；及

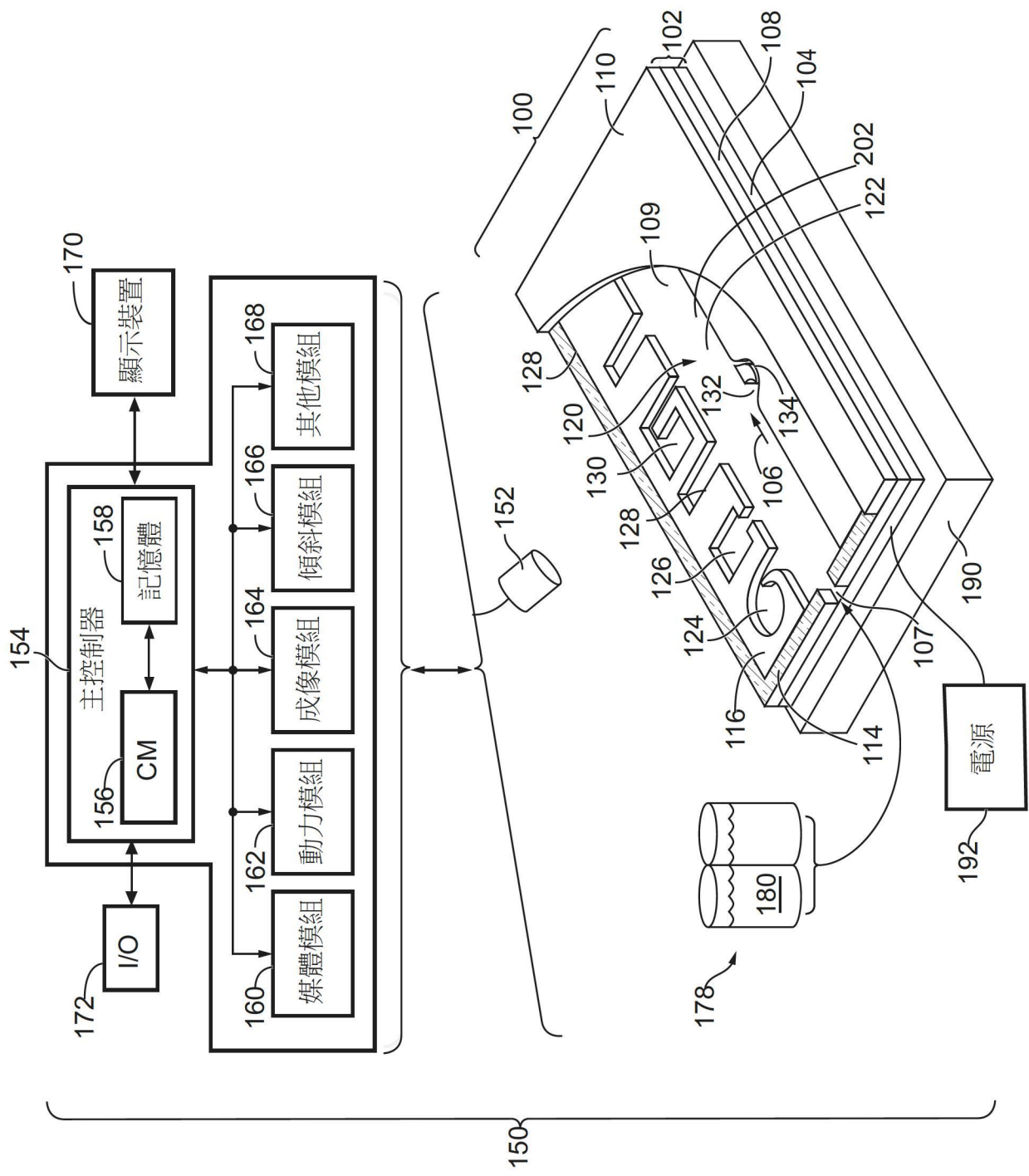
一微物件偵測單元，其通信地連接至該影像擷取單元，其包括：

一神經網路，其經組態以根據複數個微物件特性標註一影像中的像素資料且輸出該像素資料中的各像素之概率值；

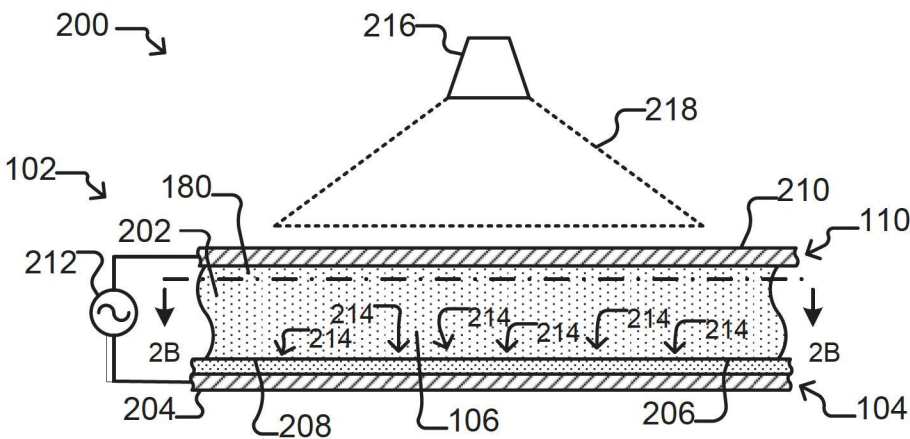
一臨限值引擎，其經組態以判定至少滿足一經定義臨限值之像素概率；及

一偵測引擎，其經組態以應用影像後處理技術且輸出一微物件計數。

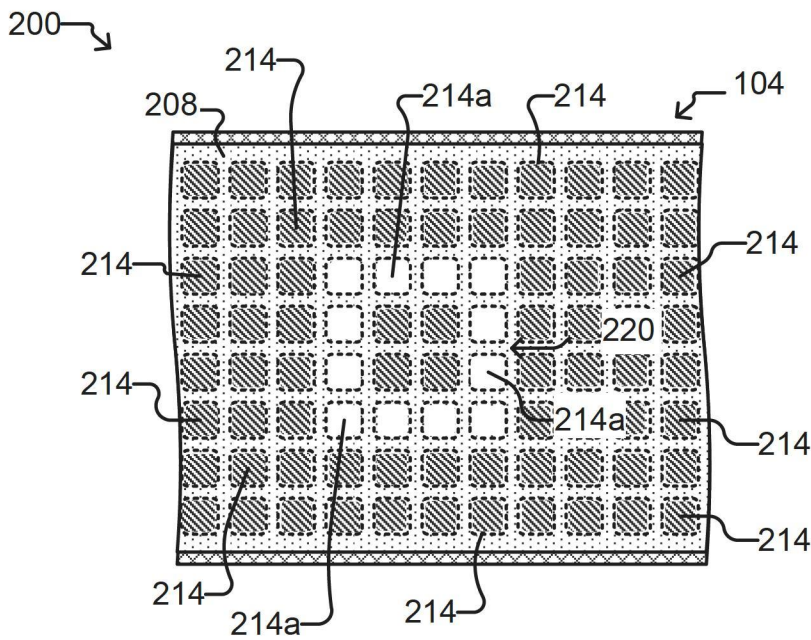
【發明圖式】



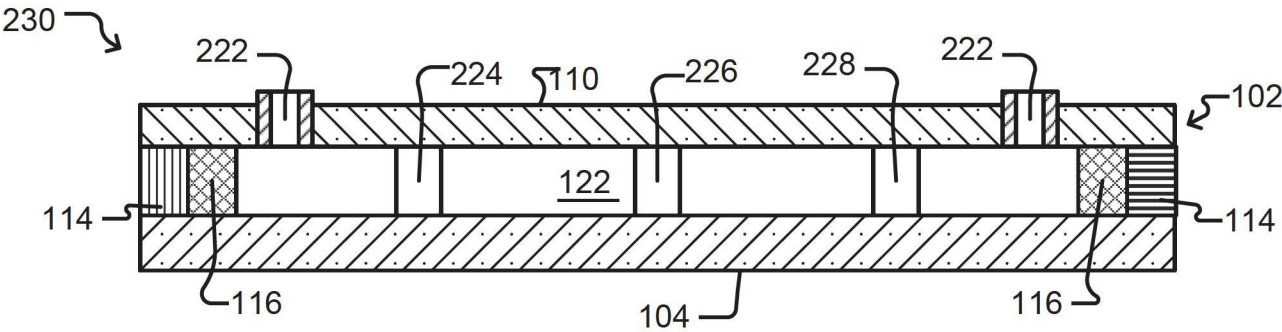
【圖1A】



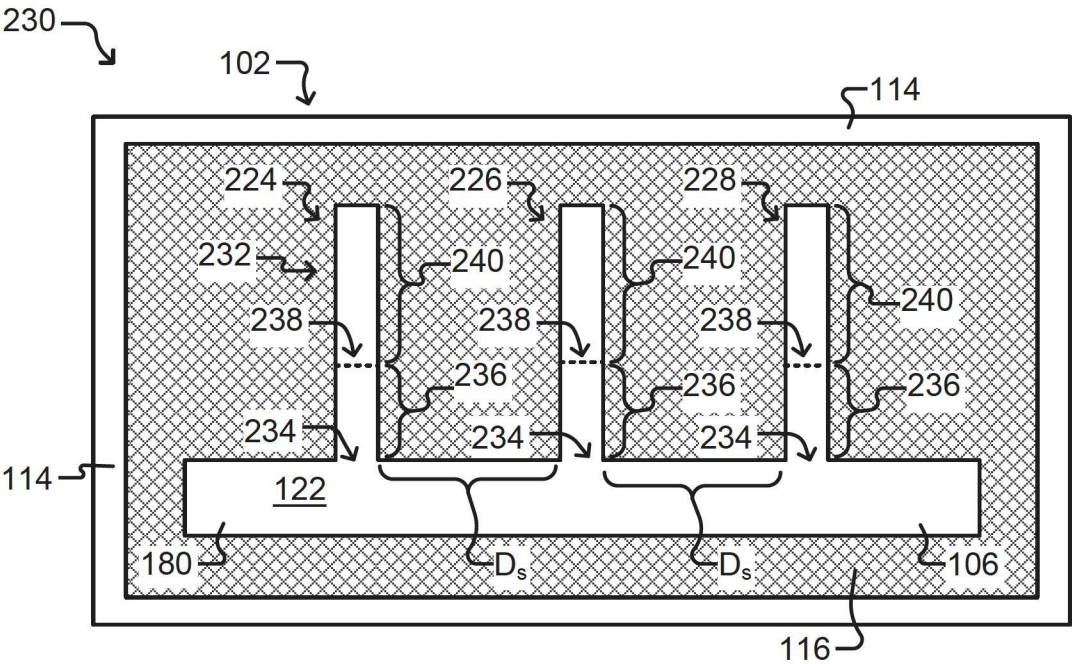
【圖1B】



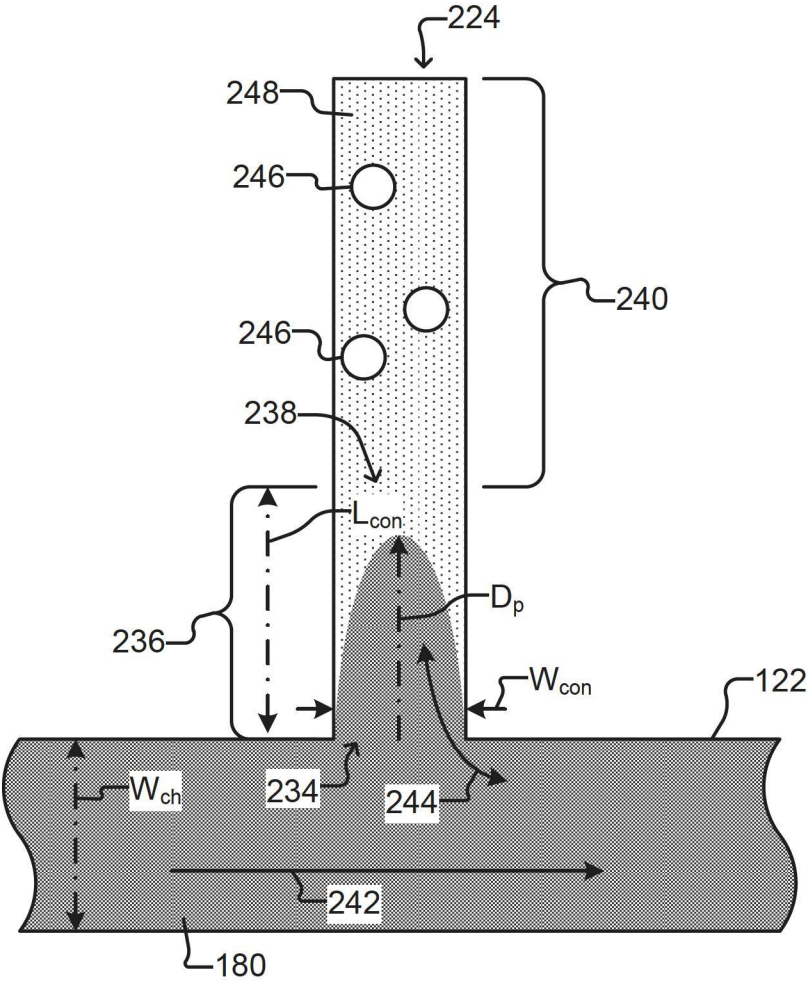
【圖1C】



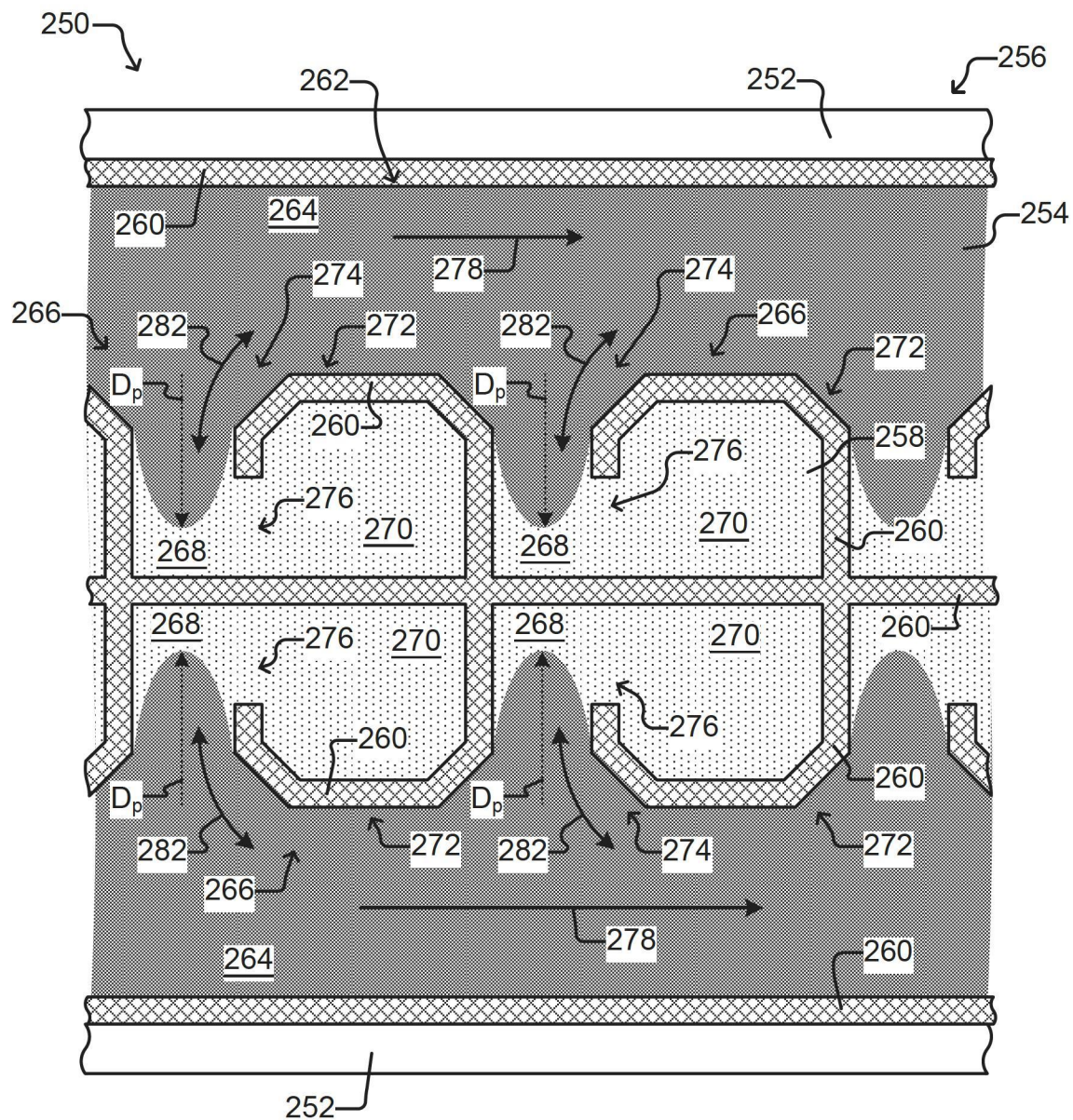
【圖2A】



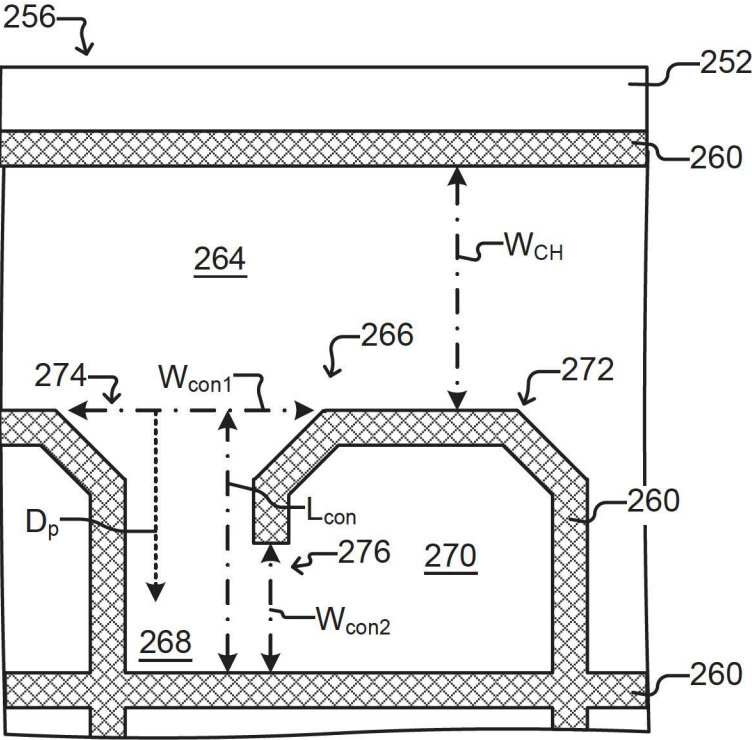
【圖2B】



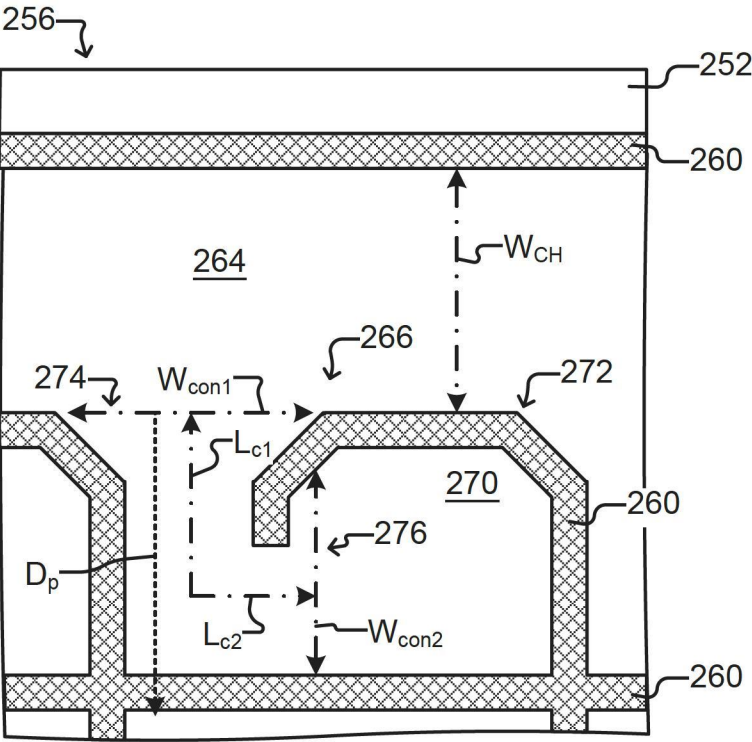
【圖2C】



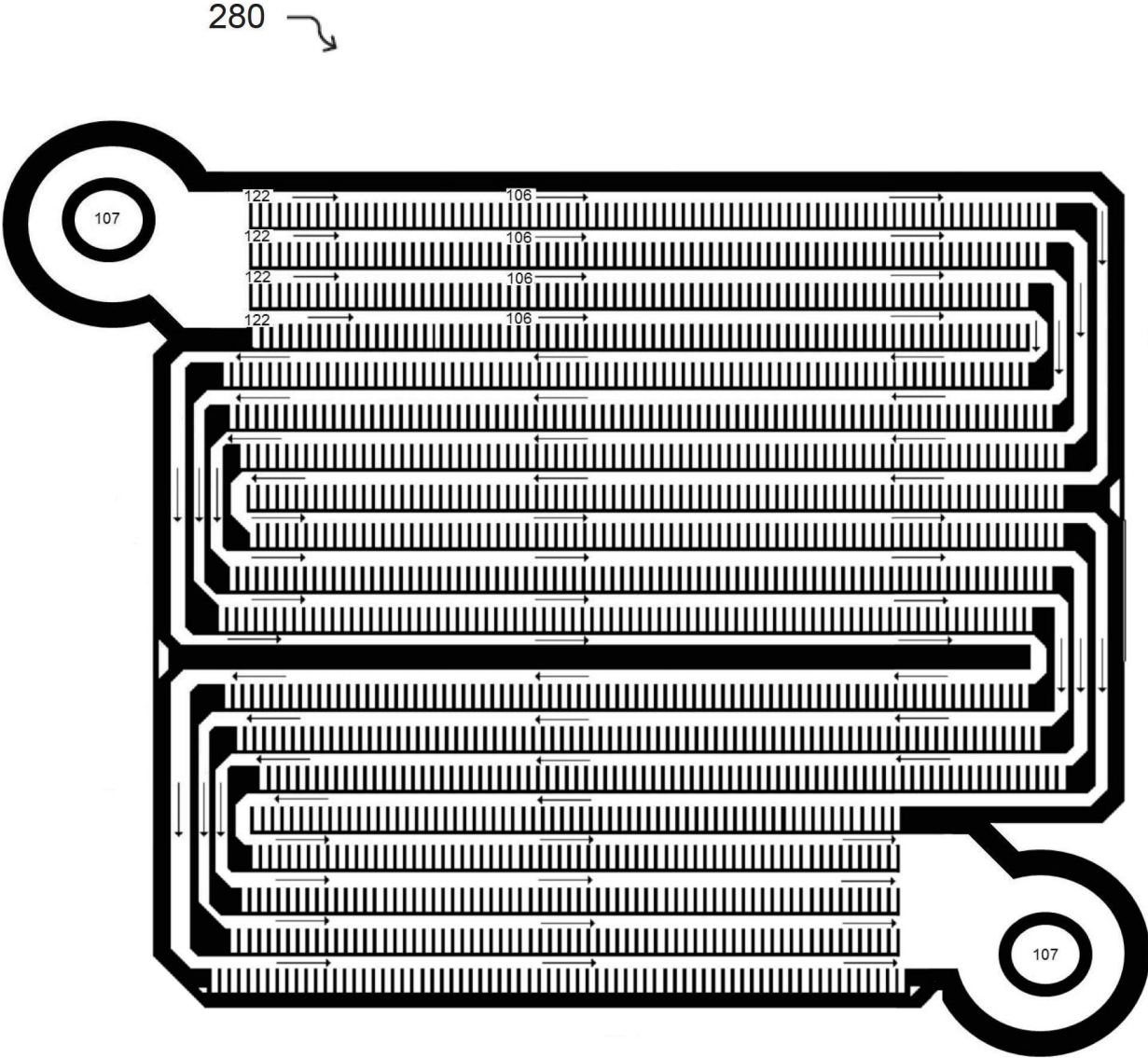
【圖2D】



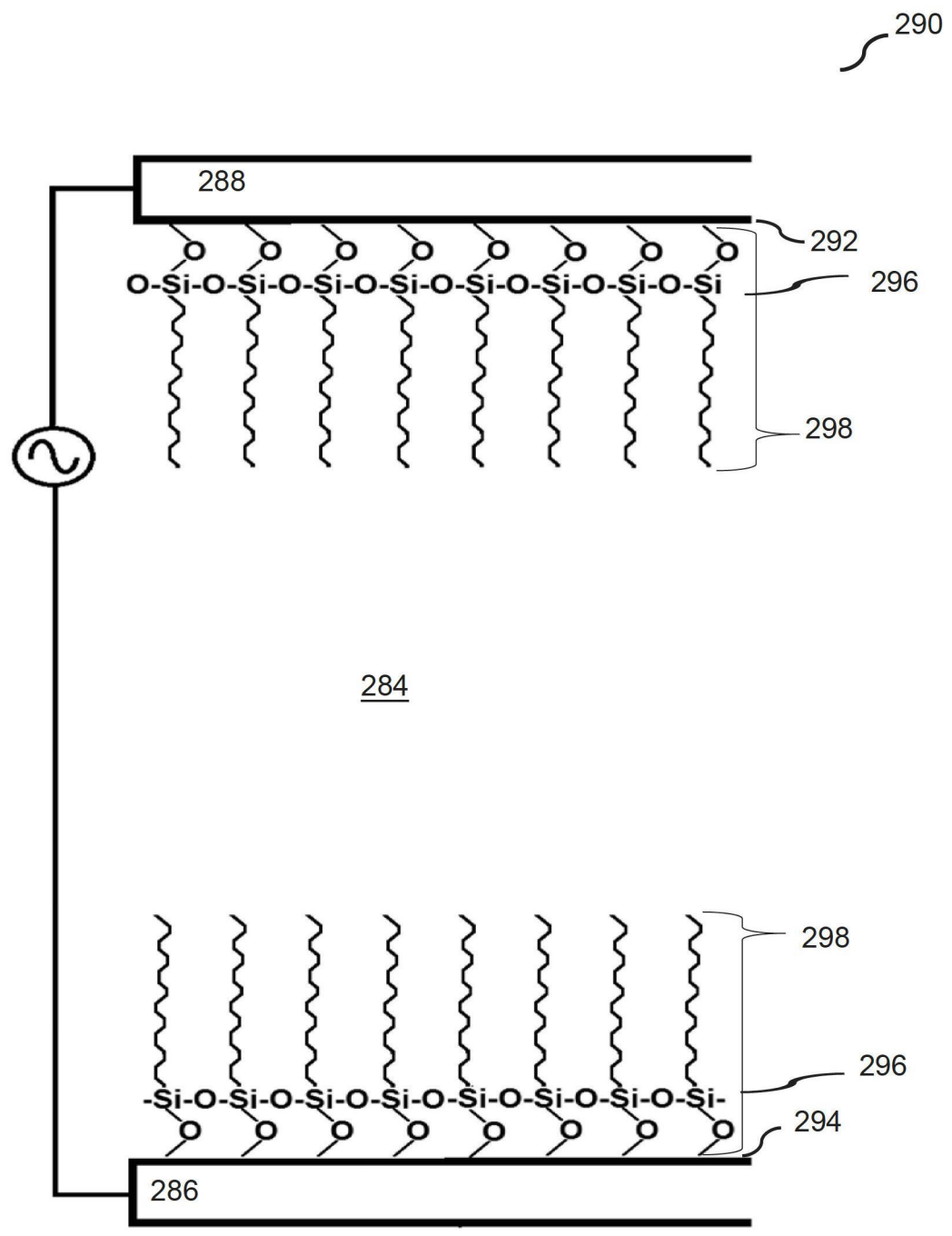
【圖2E】



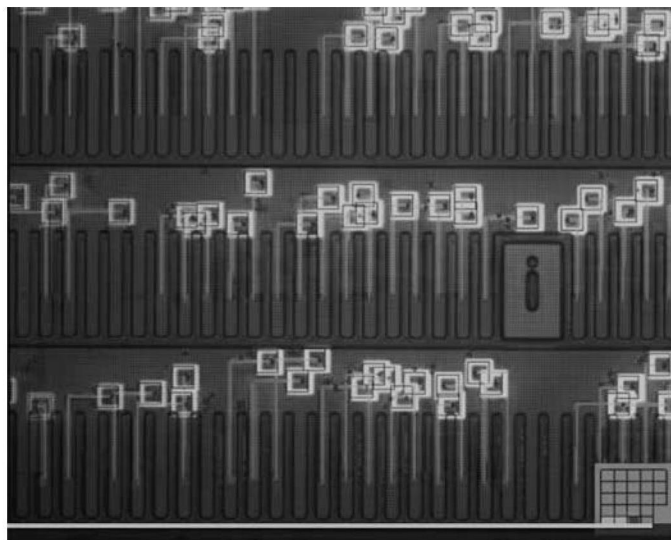
【圖2F】



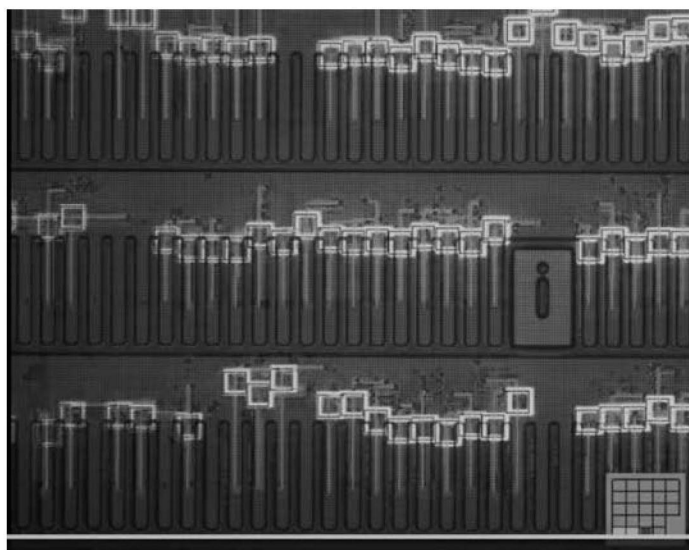
【圖2G】



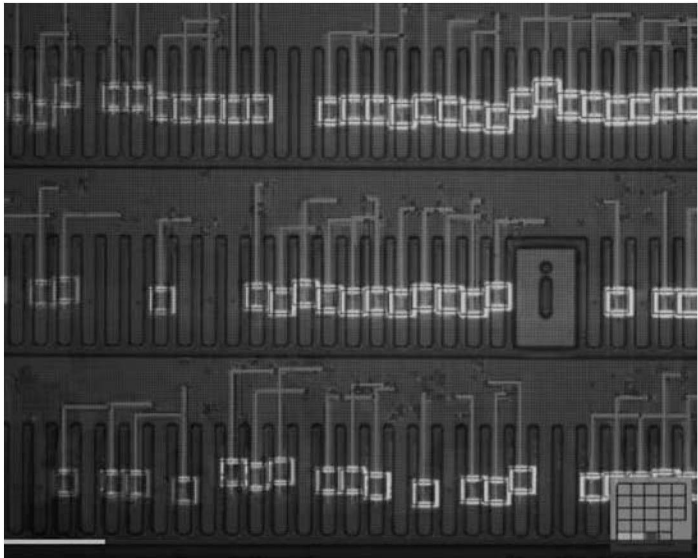
【圖2H】



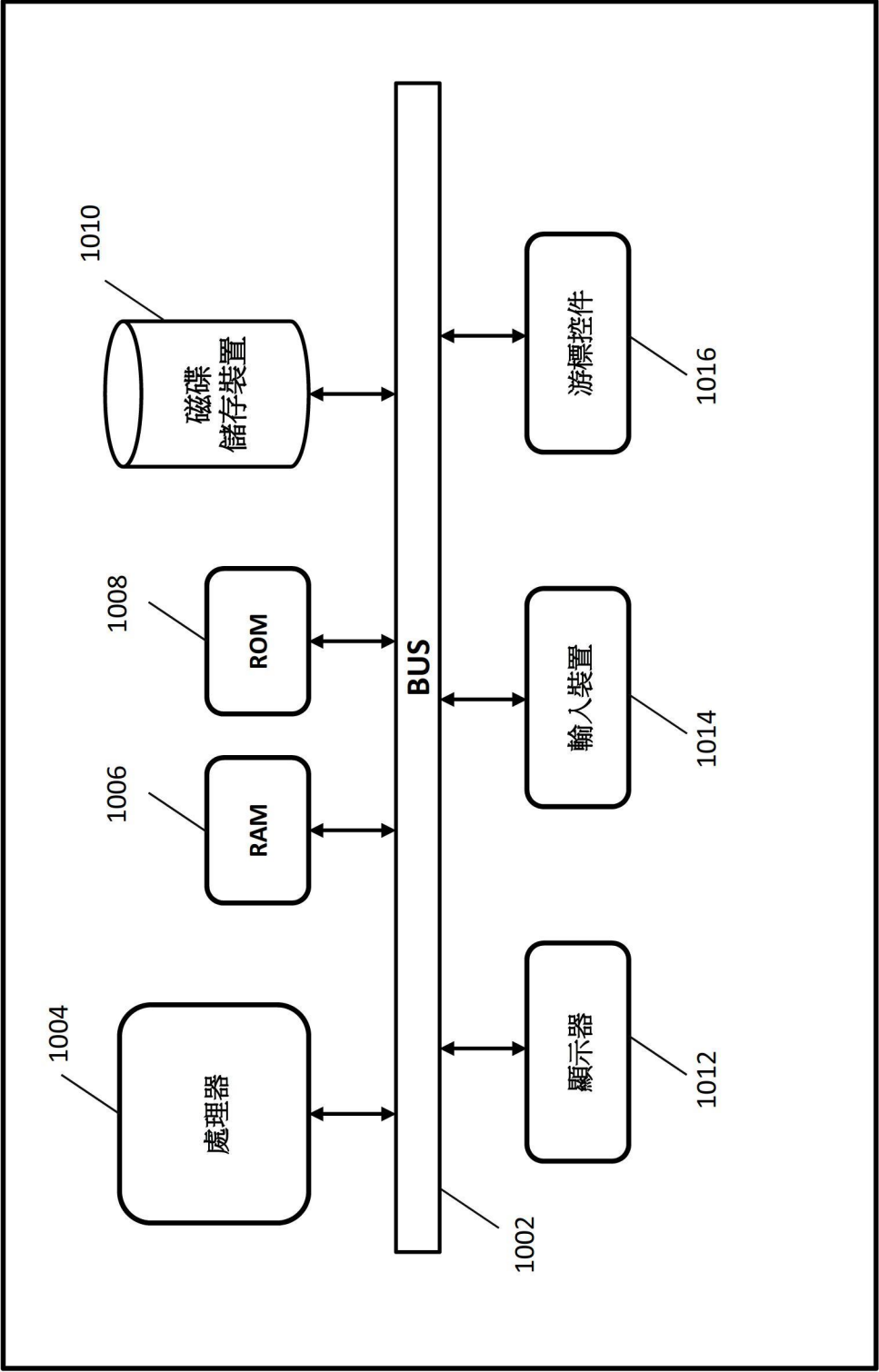
【圖4A】



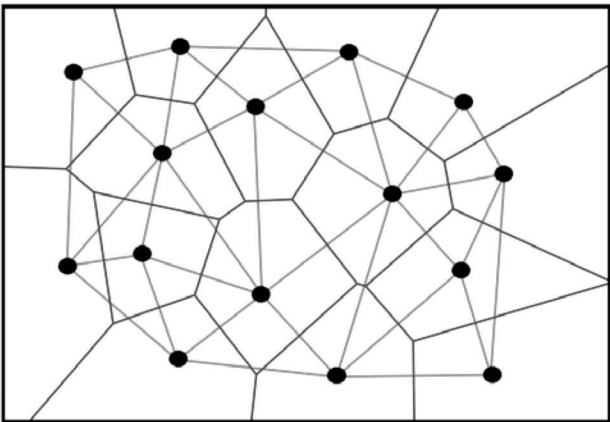
【圖4B】



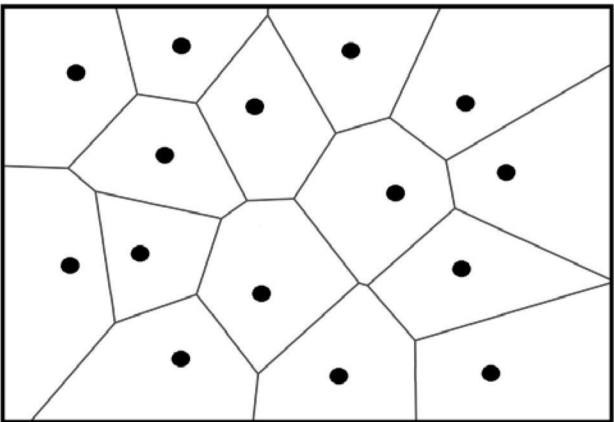
【圖4C】



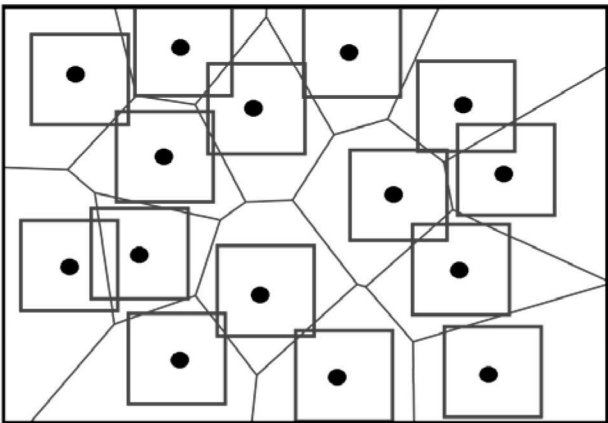
【圖5】



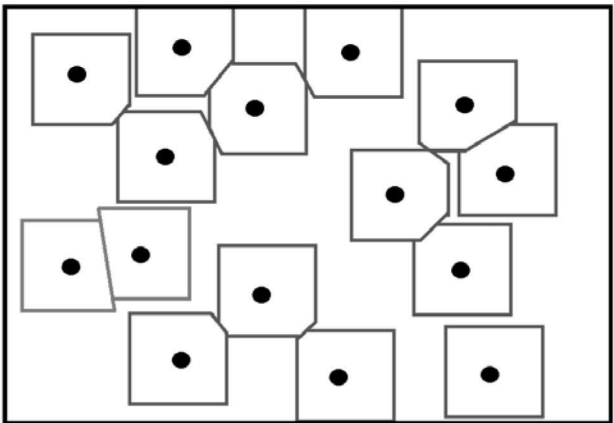
【圖6A】



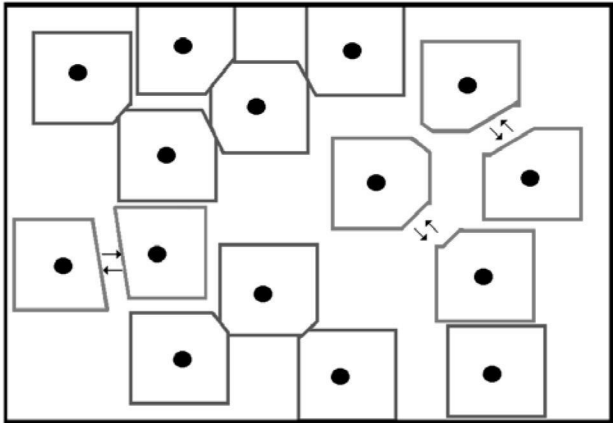
【圖6B】



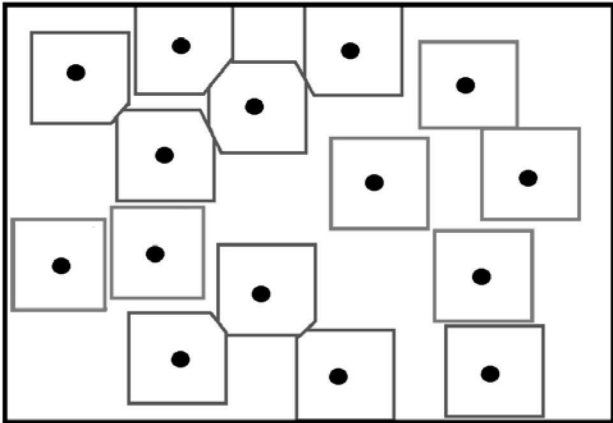
【圖6C】



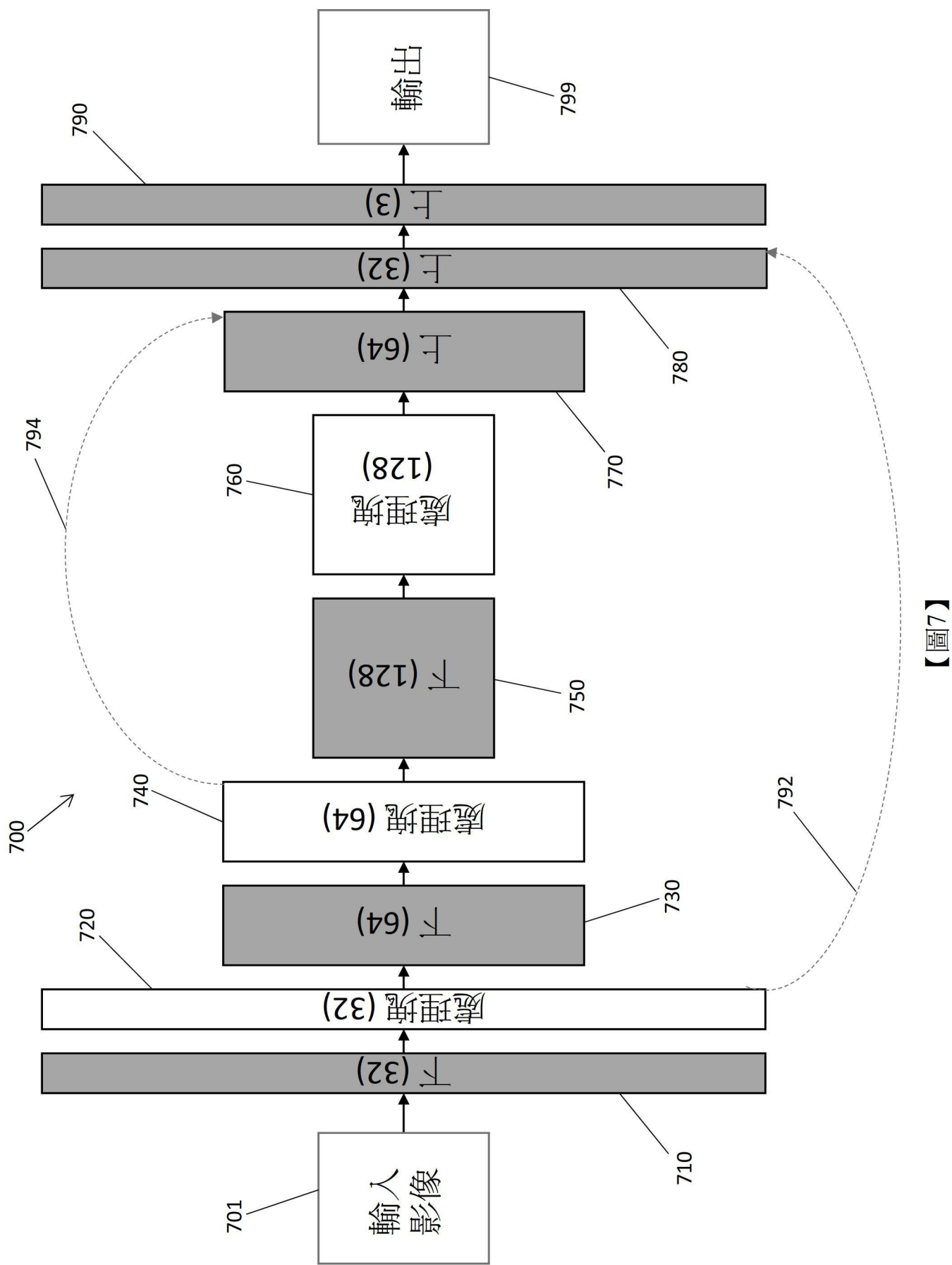
【圖6D】



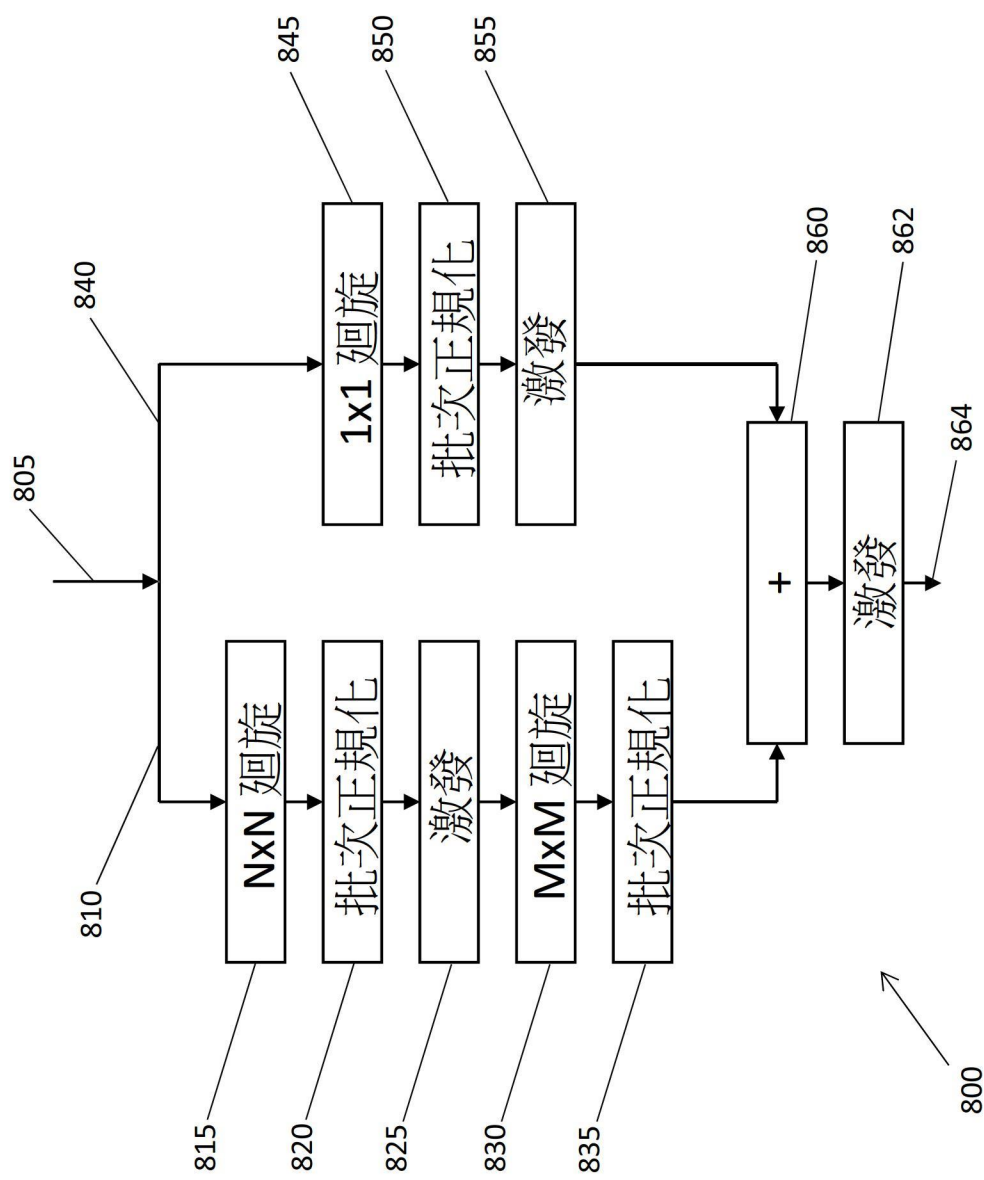
【圖6E】



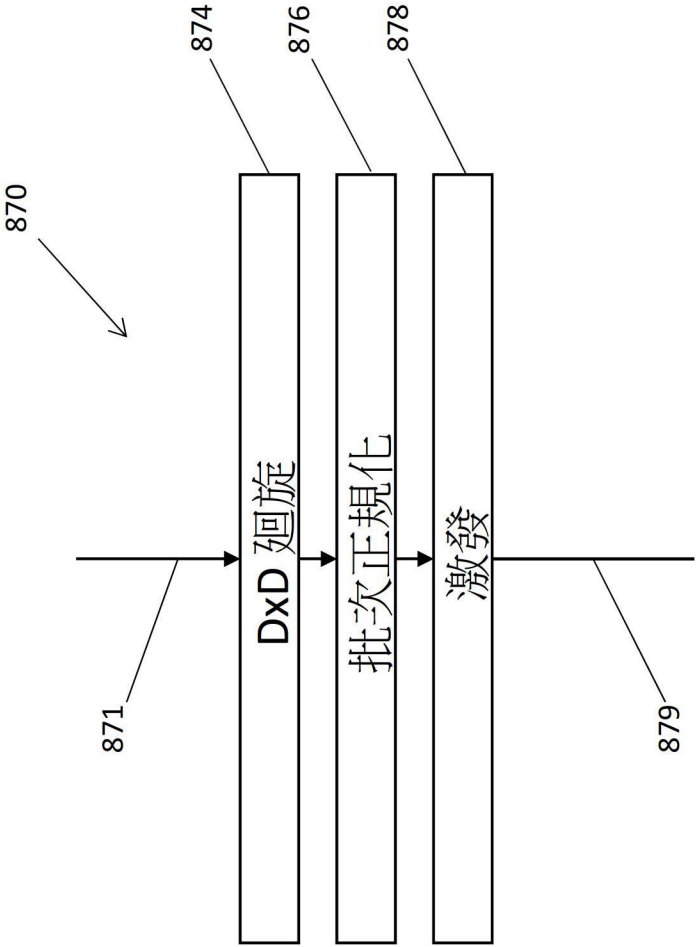
【圖6F】



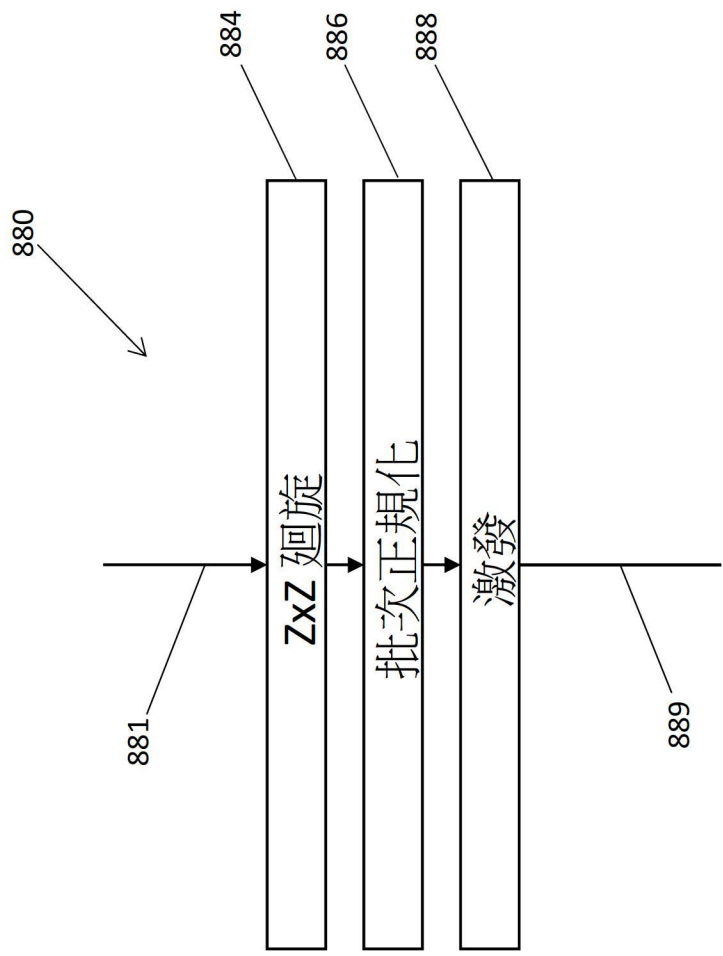
【圖7】



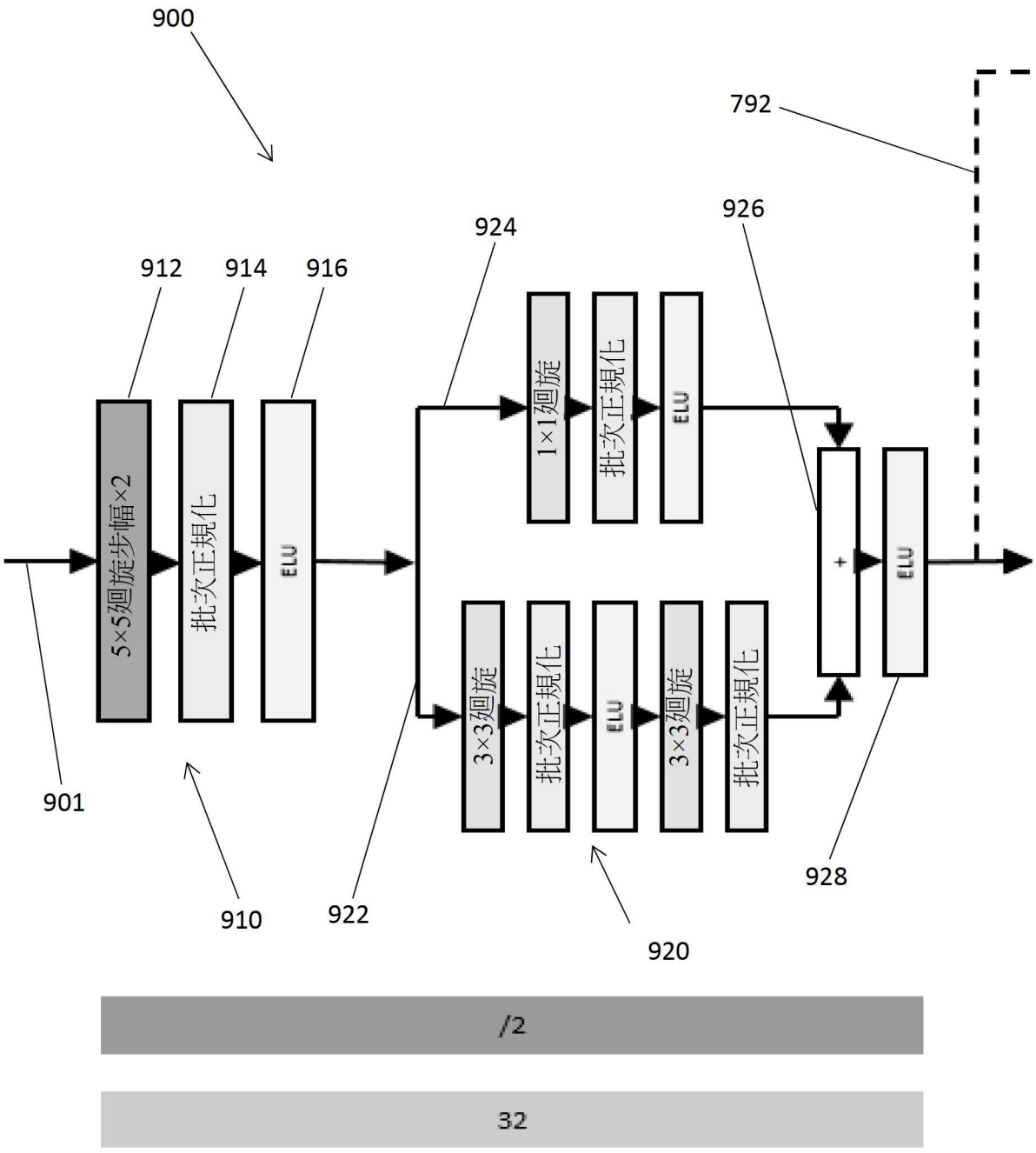
【圖8A】



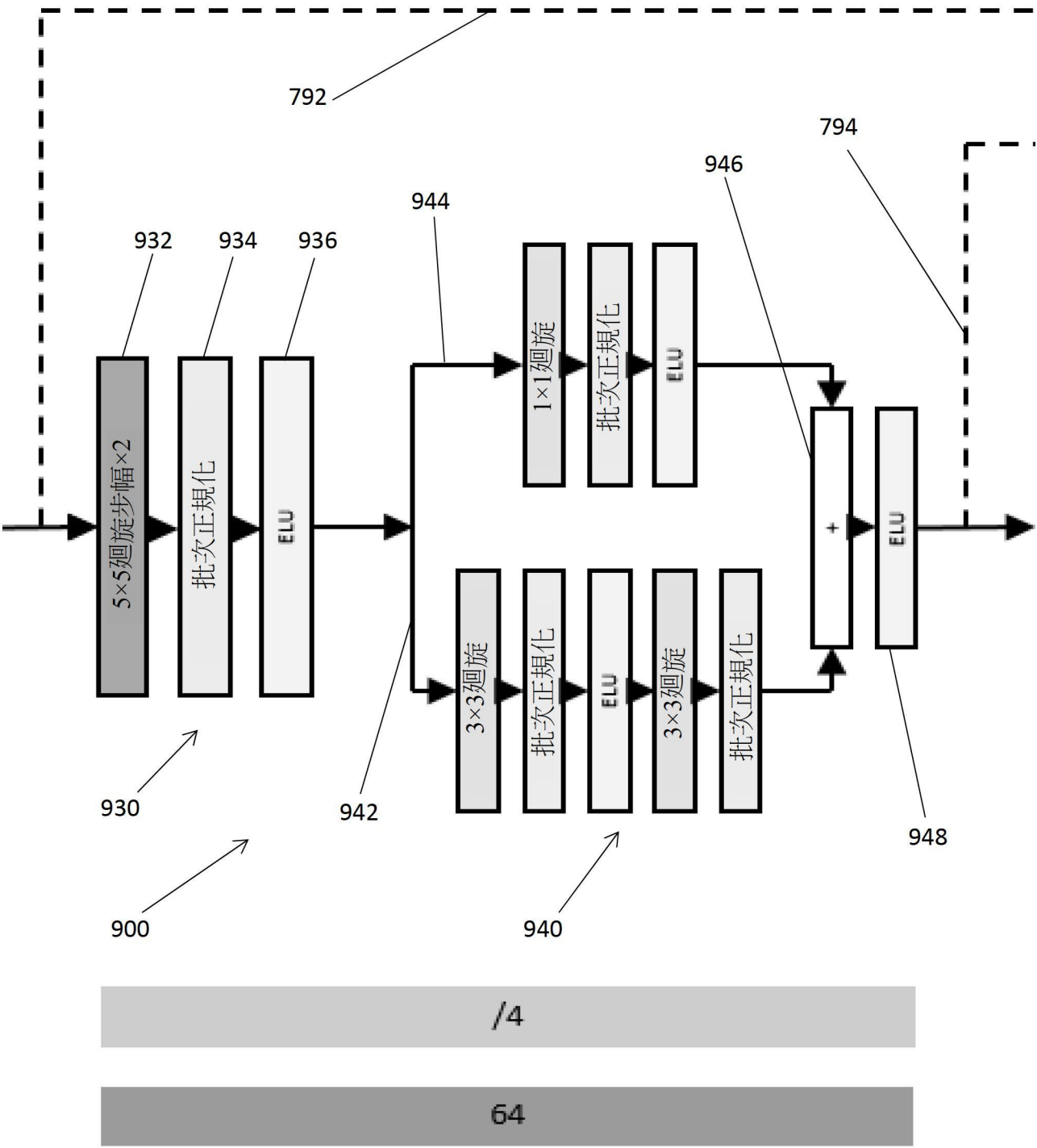
【圖8B】



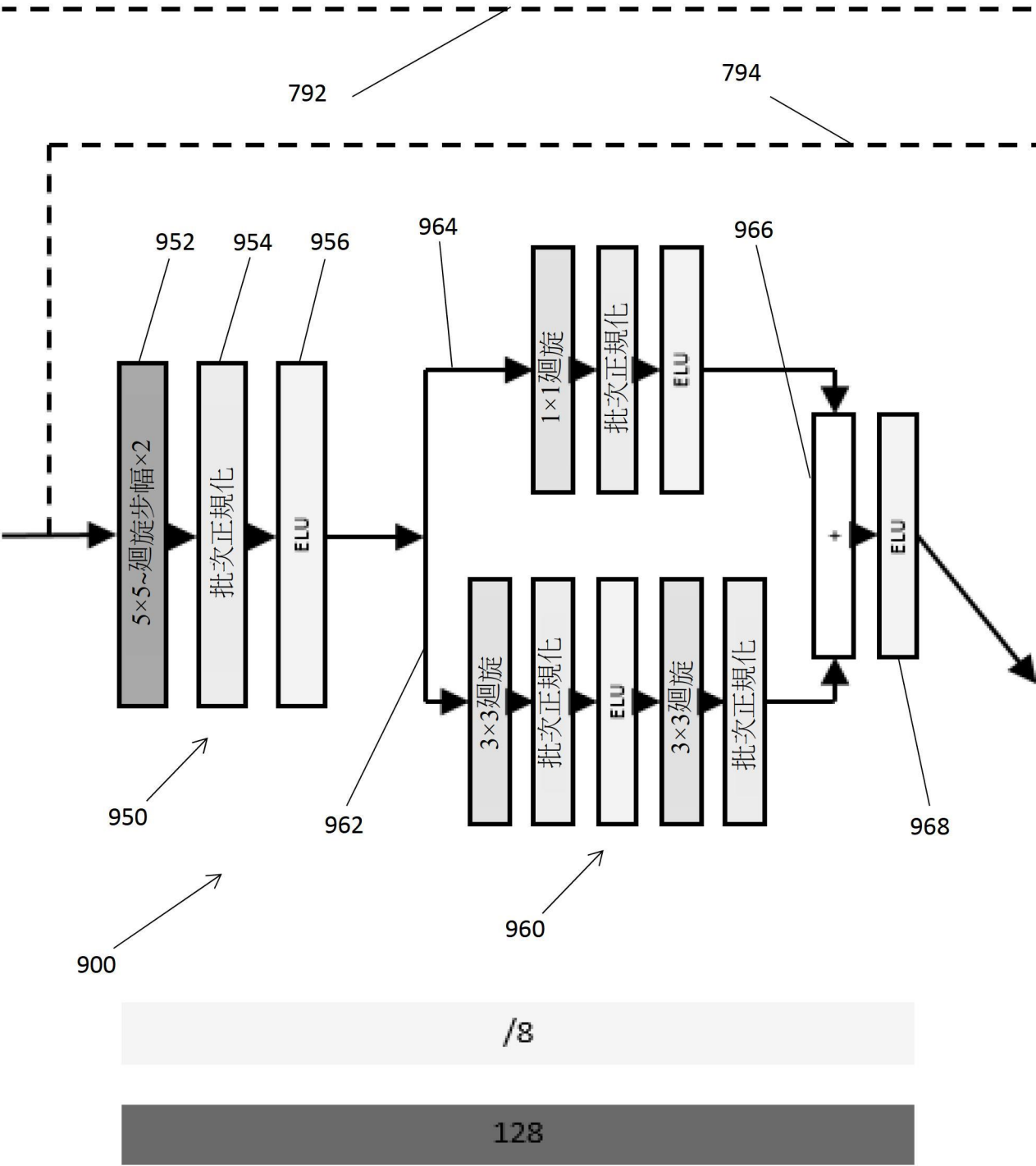
【圖8C】



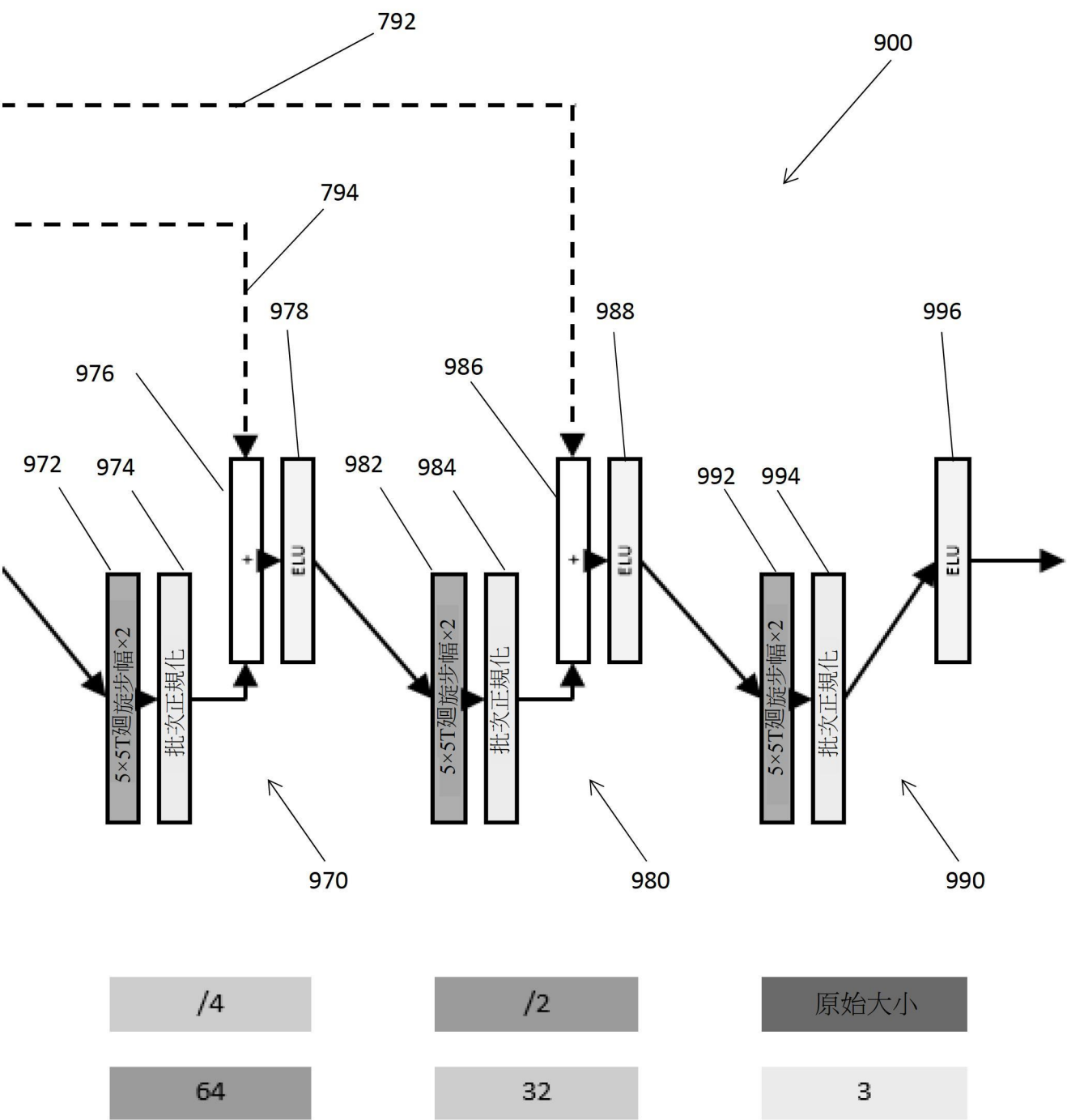
【圖9A】



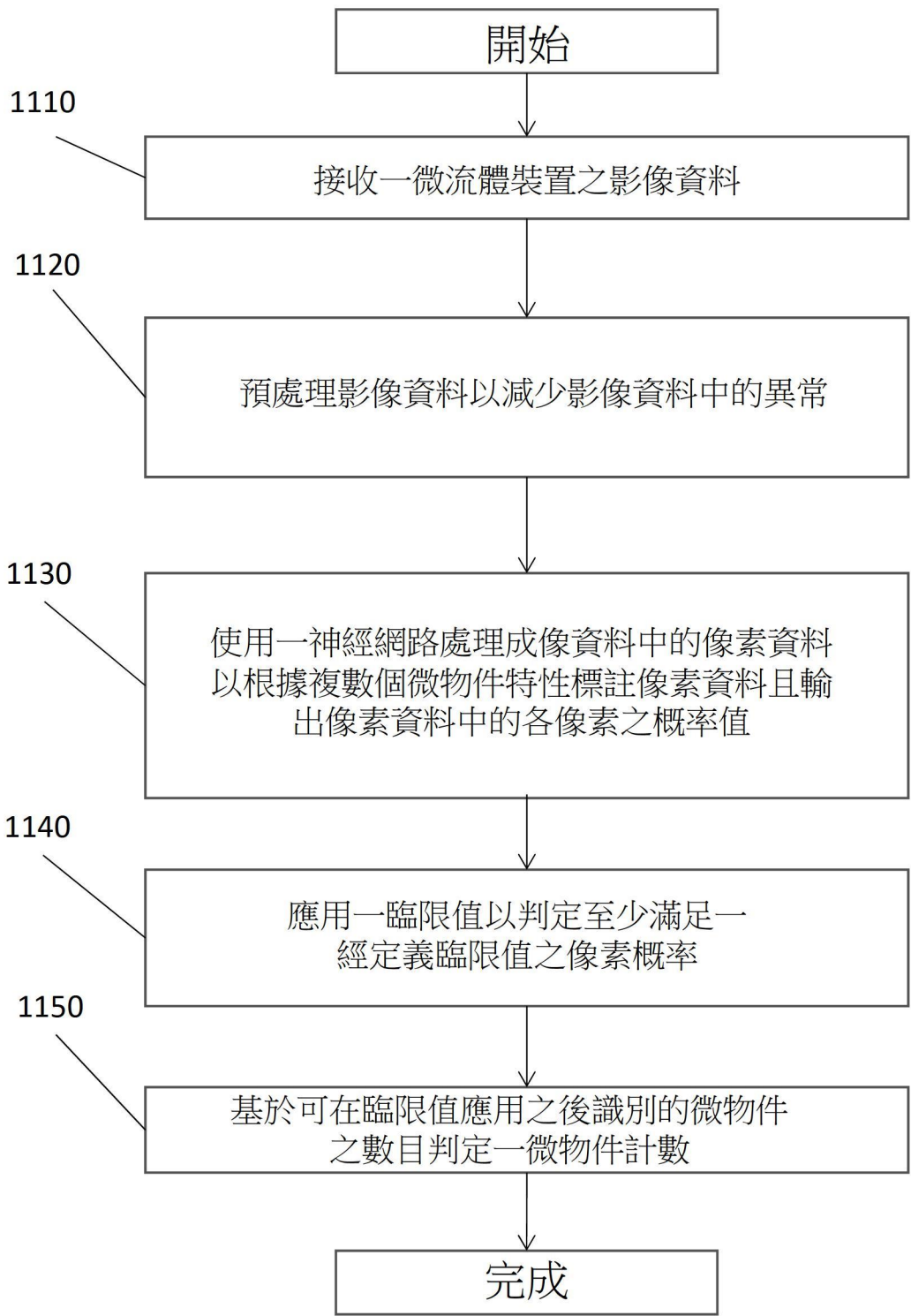
【圖9B】



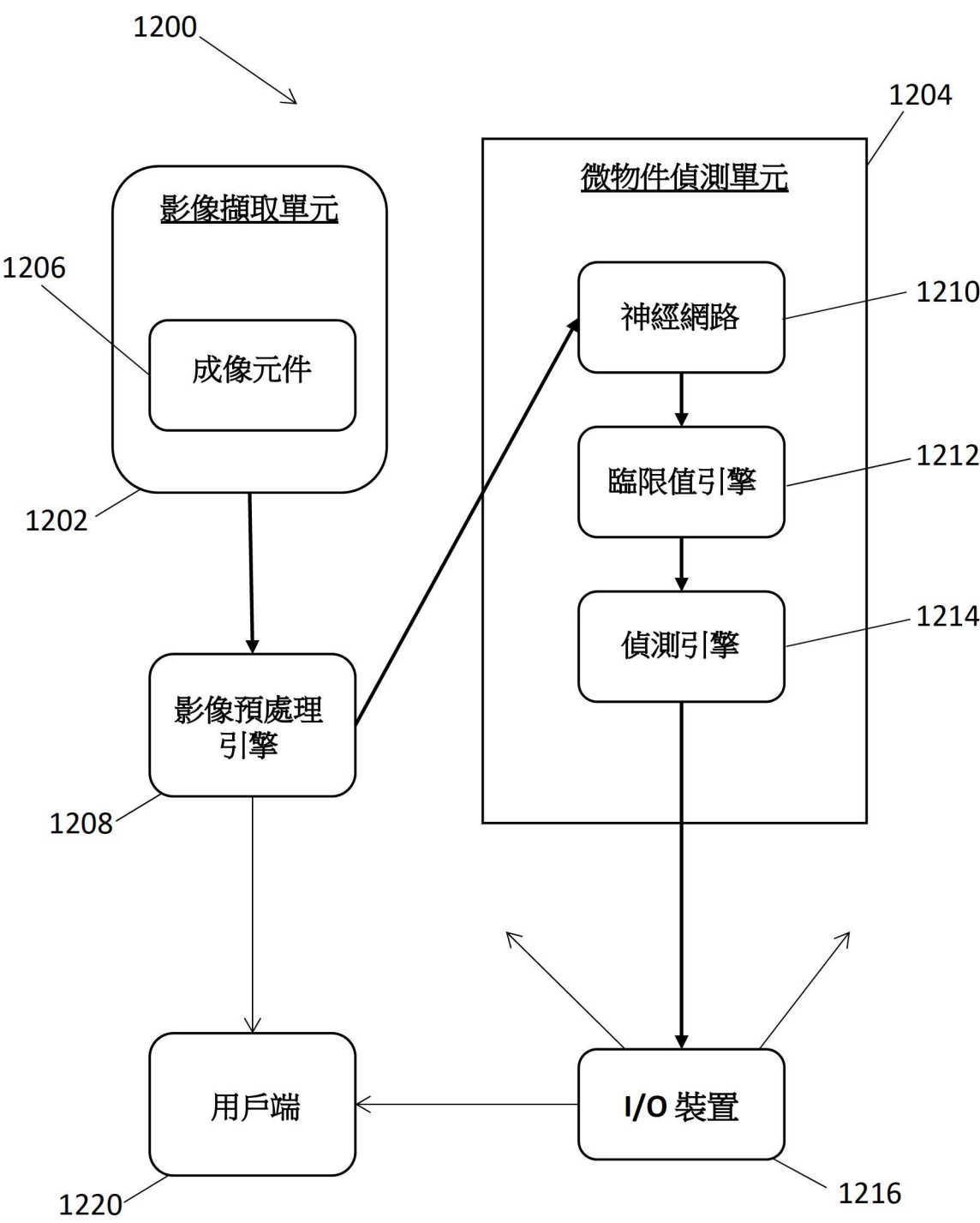
【圖9C】



【圖9D】



【圖10】



【圖11】