

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2023 年 8 月 3 日 (03.08.2023)



(10) 国际公布号
WO 2023/142182 A1

(51) 国际专利分类号:

C12M 1/36 (2006.01)

C12M 1/00 (2006.01)

C12M 1/34 (2006.01)

C12N 15/89 (2006.01)

C12M 1/24 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/076519

(22) 国际申请日: 2022 年 2 月 16 日 (16.02.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

202210088321.6 2022 年 1 月 25 日 (25.01.2022) CN

(71) 申请人: 浙江大学(ZHEJIANG UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路 866 号, Zhejiang 310058 (CN)。

(72) 发明人: 周鸣川(ZHOU, Mingchuan); 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路 866 号, Zhejiang

310058 (CN)。 郭祥雨(GUO, Xiangyu); 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路 866 号, Zhejiang 310058 (CN)。

(74) 代理人: 杭州求是专利事务所有限公司(HANGZHOU QIUSHI PATENT OFFICE CO., LTD.); 中国浙江省杭州市西湖区古墩路 701 号紫金广场 C 座 1506 室/林超, Zhejiang 310000 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK,

(54) **Title:** HIGH-THROUGHPUT CELL MICROMANIPULATION DEVICE BASED ON MICROFLUIDIC CHIP, AND CONTROL METHOD

(54) 发明名称: 基于微流控芯片的高通量细胞显微操作装置及控制方法

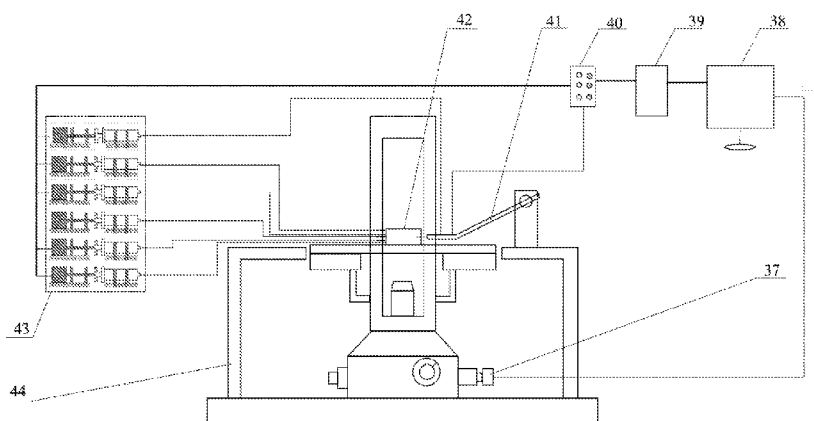


图 1

(57) **Abstract:** A high-throughput cell (2) micromanipulation device based on a microfluidic chip (42), and a control method. The device comprises a digital camera (37), a computer (38), a controller (39), a driver (40), the microfluidic chip (42), an injection device (41), micro plunger pumps (43), and an inverted microscope manipulation table (44); the micro plunger pumps (43) are electrically connected to the computer (38) by means of the driver (40) and the controller (39); five blind holes communicated with five micro plunger pumps (43) are formed in the microfluidic chip (42), a main channel (1) is formed inside the microfluidic chip (42), three channels are formed on one side of the main channel (1), and a conical hole (6) is formed on the other side of the main channel (1); the injection device (41) comprises an injection needle (12), an inner connector (14), an outer connector (15), a piezoelectric element (16), and a retaining rod (17), and the injection needle (12) on the injection device (41) is wrapped by an elastic material (13), embedded in the conical hole (6), and used for injecting a cell (2). According to the device, closed-loop control is formed by means of the digital camera (37) and a stepping motor (36), assembly line-type automatic manipulation for the cell (2) is achieved, the labor of manual manipulation is reduced, the manipulation efficiency and quality are improved, and animal and plant breeding efficiency and scientific



SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

- (84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,
NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU,
IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,
RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

research are accelerated.

(57) 摘要: 一种基于微流控芯片(42)的高通量细胞(2)显微操作装置及控制方法。该装置包括数字摄像头(37)、计算机(38)、控制器(39)、驱动器(40)、微流控芯片(42)、注射装置(41)、微量柱塞泵(43)和倒置显微镜操作台(44), 微量柱塞泵(43)经驱动器(40)、控制器(39)和计算机(38)电连接; 微流控芯片(42)上开有五个微量柱塞泵(43)连通的五个盲孔, 微流控芯片(42)内部开有主通道(1), 并在主通道(1)一侧开有三个通道, 另一侧开有锥形孔(6); 注射装置(41)包含注射针(12)、内接头(14)、外接头(15)、压电元件(16)、加持杆(17), 注射装置(41)上的注射针(12)被弹性材料(13)包裹, 镶嵌在锥形孔(6)中, 用于注射细胞(2)。该装置通过数字摄像头(37)和步进电机(36)形成闭环控制, 实现细胞(2)流水线式的自动化操作, 减少人工手动操作的劳动量, 提高操作效率和质量, 加速动植物育种效率和科学研究。

基于微流控芯片的高通量细胞显微操作装置及控制方法

技术领域

本发明属于微流控芯片，尤其是涉及一种基于微流控芯片的高通量细胞显微操作装置及控制方法，实现对细胞二维姿态的调整。

背景技术

细胞显微操作技术是一种微观尺度下细胞研究的重要手段，已经广泛应用到动植物育种、生物医学研究等领域。传统细胞操作需要经验丰富的操作员完成，操作时要频繁转换显微镜头，并协调操作吸持针和注射针完成细胞操作，属于劳动密集型劳动，长时间操作使人疲劳，不能保证结果的一致性，而且人工操作只能实现单个细胞的操作，不能实现细胞的批量处理，制约了细胞操作的效率。虽然光镊、电镊等操作方法也能实现单细胞操作，但是这些方法会对细胞造成物理损伤或者潜在生理伤害。

发明内容

为了解决背景技术中的问题，本发明提供了一种基于微流控芯片的高通量细胞显微操作装置及控制方法，整个操作过程在密闭微流控芯片内进行，以流体作为动力调整细胞位姿，实现细胞连续流水线操作，缓解由于长期以来人工手动方式调整操作效率低和细胞损伤问题。

本发明采用的技术方案如下：

一、一种基于微流控芯片的高通量细胞显微操作装置

包括倒置显微镜操作台、微流控芯片、六个微量柱塞泵、注射装置、驱动器、控制器和计算机；

微流控芯片置于倒置显微镜操作台上的移动载物台，同时调节载物台和移动部件，使移动载物台正下方的物镜对准微流控芯片；微流控芯片上设置有一个水平布置的 U 型主通道和五个沿竖直方向布置的盲孔，U 型主通道的开口两端分别与位于两侧的两个盲孔底部连通；微流控芯片在主通道中间的一侧设置有分别与中间三个盲孔底部连通的三个通道：第一通道、第二通道、第三通道，在主通道中间的另一侧设置有锥形孔；三个通道与主通道的连通位置形成朝主通道弯曲的弧面，弧面与锥形孔相对布置。

移动载物台一侧安装有移动部件，移动部件上设置有有夹持注射装置的注

射针夹持器，注射装置的注射针对准微流控芯片的锥形孔，且注射针平行于移动载物台布置，通过压电块推动注射针注射。

每个微量柱塞泵包括步进电机、滚珠丝杠、微量注射管，步进电机与微量注射管均通过支撑架安装于固定板上，滚珠丝杠的螺杆与步进电机的输出轴连接，滚珠丝杠的螺母与微量注射管的活塞杆连接；每个微量柱塞泵的步进电机均与驱动器连接，驱动器经控制器连接至计算机。

注射装置的注水孔与其中一个微量柱塞泵的微量注射管管口连通，其余五个微量柱塞泵的微量注射管管口分别与五个盲孔的顶部连通。

所述注射装置主要由注射针、内接头、外接头、压电元件、加持杆组成；外接头前端面开设有螺纹孔，中间开设有与螺纹孔相通且不贯穿外接头的内腔，内腔上方开设有与内腔相通且从外接头顶端伸出的注水孔；外接头后端设置有凸台；内接头后端与外接头的螺纹孔通过螺纹连接，中间开设有固定注射针的前后通孔，注射针前部注射头伸出通孔后进入微流控芯片的锥形孔内，注射头与锥形孔之间填充有密封两者之间间隙的弹性材料；注射针末端穿过螺纹孔与内腔连通，内腔与注射针末端之间嵌装有夹紧注射针的锥形橡胶环，通过锥形橡胶环使注射针与内腔之间保持密封，在内接头的挤压下锥形橡胶环将注射针牢牢地束缚在外接头的内腔中。

压电元件包括压电外壳、压电块、后端盖，外接头的凸台伸入压电外壳前部开设的卡槽内，凸台与卡槽之间嵌装有连接凸台和卡槽的弹性垫圈；压电外壳中间安装有压电块，与压电块连接的电线穿出压电外壳后与驱动器连接；凸台后端面开设有装配压电块的凹槽，压电外壳后端安装的后端盖设有与压电块位置对应的凸块，通过凸块挤压压电块使压电块前端面贴合凹槽；加持杆一端与压电元件的后端盖连接，另一端固定于注射针夹持器上。

显微镜操作仪上安装有与计算机连接的数字摄像头，数字摄像头将摄取的细胞图像信息传输至计算机；显微镜操作仪上安装有调节视野清晰度的调焦手轮。

第一通道、第二通道和第三通道平行布置，第二通道位于弧面中心且正对锥形孔，第二通道和第三通道分布于第二通道两侧；弧面直径大于待注射细胞直径，且小于待注射细胞直径的 1.2 倍。

与主通道输入端连通的盲孔为第五盲孔，与主通道输出端连通的盲孔为第一盲孔，与第一通道、第二通道和第三通道连通的盲孔分别为第二盲孔、第三盲孔和第四盲孔。

所述微量注射管与第一盲孔的直径适配，第一盲孔的直径为 0.75mm；主通道的直径为待注射细胞直径的 1.2~1.5 倍，第二通道的直径为待注射细胞直径的五分之一，第一通道和第三通道的直径为待注射细胞直径的五分之二。

控制器的核心为单片机，通过 PID 控制方法调节微量柱塞泵流量，从而控制微流控芯片内部通道的流速，实现细胞姿态的调整。

所述的微流控芯片集成了细胞输送、细胞吸持、细胞旋转、细胞注射、细胞释放功能。

二、采用基于微流控芯片的高通量细胞显微操作装置的控制方法
包括以下步骤：

步骤 1：将装置安装在显微操作实验台上，通过调节移动载物台、移动部件、物镜和调焦手轮使经过微流控芯片主通道的细胞成像最清晰；

步骤 2) 与第五盲孔连通的微量柱塞泵装载一半容量的细胞悬浮液，细胞悬浮液中添加有适量的细胞活性染料，可对细胞染色，便于细胞的检测识别；与第一盲孔、第二盲孔、第四盲孔分别连通的三个微量柱塞泵均装载一半容量的纯液体；与第三盲孔连通的微量柱塞泵不装载液体，完全排除内部空气后，将微量柱塞泵与注射针连接；与注射器联通的微量柱塞泵装载一半容量的外源物质；

步骤 3：与第一盲孔、第五盲孔连通的微量柱塞泵同时启动，匀速向主通道注射细胞悬浮液，计算机处理数字摄像头拍摄的图像，当检测到进入主通道的细胞位于弧形面对应位置处时，计算机通过控制器使得与第一盲孔、第五盲孔连通的微量柱塞泵停止运动，与第三盲孔连通的微量柱塞泵启动，产生恒定负压后通过第二通道吸附细胞，使细胞固定；细胞固定后，与第二盲孔、第四盲孔连通的微量柱塞泵同时启动：微量柱塞泵通过第一通道喷射流体，通过第三通道吸取流体，使细胞正向旋转而不移动；反之，微量柱塞泵通过第三通道喷射流体，通过第一通道吸取流体，使细胞反向旋转而不移动；使细胞从当前姿态调整到目标姿态；

步骤 4：当计算机检测到细胞调整到目标姿态后，与第二盲孔和第四盲孔相连的微量柱塞泵停止；控制器通过驱动器控制注射装置内的压电元件通电，压电块变长驱动注射针通过锥形孔穿刺细胞，与注射针相连的微量柱塞泵启动，将外源物质注射到细胞内部，注射时间到达预先设置时间后，与注射针相连的微量柱塞泵停止，压电元件断电，压电块恢复原长度，弹性材料和弹性垫圈复位并驱动注射针从细胞内部拔出；与第三盲孔连通的微量柱塞泵复位，将细胞

释放，同时启动与第一盲孔和第五盲孔连通的微量柱塞泵，使完成注射的细胞朝第一盲孔移动；

步骤 5：重复步骤 3）~步骤 4）实现连续细胞的注射操作。

本发明的有益效果是：

本发明是通过设计微流控芯片实现细胞在封闭空间中流水线式操作，在不破坏细胞的前提下，通过调节微量柱塞泵的流量控制内部通道的流速实现细胞姿态和位置的调整，不仅降低人工操作的劳动量，提高细胞操作的质量和效率，而且实现细胞操作整个过程可控。

附图说明

图 1 是本发明装置的结构示意图；

图 2 是本发明装置的微量柱塞泵示意图；

图 3 是本发明装置的倒置显微镜结构示意图；

图 4 是本发明装置的注射装置结构图；

图 5 是本发明装置的微流控芯片及主通道的结构图；

图 6 是本发明装置的微流控芯片通道布置图；

图 7 是微流控芯片的操作策略示意图，（a）为细胞输送示意图，（b）为细胞吸持示意图，（c）为细胞旋转示意图，（d）为细胞注射示意图，（e）为细胞释放示意图。

图 8 是本发明装置的控制流程图。

图中：1、主通道，2、细胞，3、第一通道，4、第二通道，5、第三通道，6、锥形孔，7、第一盲孔，8、第二盲孔，9、第三盲孔，10、第四盲孔，11、第五盲孔，12、注射针，13、弹性材料，14、内连接头，15、外连接头，16、压电元件，17、加持杆，18、卡槽，19、锥形橡胶环，20、内孔，21、注水孔，22、弹性垫圈，23、凸台，24、电线，25、压电块，26、后端盖，27、光源调节器，28、移动部件、29、注射针夹持器，30、物镜，31、移动载物台，32、调焦手轮，33、固定板，34、微量注射管，35、滚珠丝杠，36、步进电机，37、数字摄像头，38、计算机，39、控制器，40、驱动器，41、注射装置，42、微流控芯片，43、微量柱塞泵，44、倒置显微镜操作台。

具体实施方式

下面结合附图和实施例对本发明作进一步说明。

如图 1 所示，本发明装置包括数字摄像头 37、计算机 38、控制器 39、驱动器 40、注射装置 41、微流控芯片 42、六个微量柱塞泵 43 和倒置显微镜操作

台 44；注射装置 41 和微流控芯片 42 安装在倒置显微镜操作台 44 上，微流控芯片 43 分别与注射装置 41、五个微量柱塞泵 43 连接，所有微量柱塞泵 43 的步进电机 36 经驱动器 40、控制器 39、计算机 38 和数字摄像头 37 依次电连接。

如图 2 所示，每个微量柱塞泵 43 包括步进电机 36、滚珠丝杠 35、微量注射管 34 和固定板 33，步进电机 36 输出轴与滚珠丝杠 35 输入轴连接、滚珠丝杠 35 输出轴与微量注射管 34 连接，并安装在固定板 33 上；微流控芯片 42 上开有深度相同的第一盲孔 7、第二盲孔 8、第三盲孔 9、第四盲孔 10、第五盲孔 11，分别与五个微量柱塞泵 43 连接，侧面开有锥形孔 6，并在微流控芯片 42 内部开有主通道 1，并在主通道 1 一侧开有第一通道 3、第二通道 4、第三通道 5；

如图 3 所示，倒置显微镜操作台 44 包括光源调节器 27、移动部件 28、注射针夹持器 29、物镜 30、可移动载物台 31、调焦手轮 32，位于移动载物台 31 正下方的物镜 30 正对经过微流控芯片 42 主通道的细胞，数字摄像头 37 安装在倒置显微操作仪 44 上。

如图 4 所示，注射装置 41 包括注射针 12、内接头 14、外接头 15、压电元件 16、加持杆 17，外接头 15 包括内腔 20、注水孔 21、弹性垫圈 22、凸台 23，压电元件 16 包括卡槽 18、电线 24、压电块 25、后端盖 26，注射针 12 穿过内接头 14 内腔，注射针 12 末端嵌套锥形橡胶环 19，内接头 14 和外接头 15 通过螺纹连接，并在内接头 14 的挤压下锥形橡胶环 19 将注射针牢牢地束缚在外接头 15 的内腔 20 中，外接头 15 上开有注水孔 21，与第六个微量柱塞泵 28 连接；外接头 15 末端凸台 23 安装有弹性垫圈 22，压电元件 16 内的卡槽 18 将凸台 23 锁住，压电块 25 装配凸台 23 的凹槽内，压电块 25 与后端盖 26 中心对齐，并挤压紧致。

如图 5 所示，微流控芯片 42 中主通道 1 与第一通道 3、第二通道 4、第三通道 5、锥形孔 6 连通，第一盲孔 7、第五盲孔 11 与主通道 1 连通，第二盲孔 8 与第一通道 3 连通，第三盲孔 9 第一通道 4 连通，第四盲孔 10 第一通道 5 连通，锥形孔 6 与第一通道 3、第二通道 4、第三通道 5 不在同一侧，且第二通道 4 位置与锥形孔 6 位置正相对。

如图 6 所示，第一通道 3、第二通道 4、第三通道 5 与主通道 1 的连通位置形成朝主通道 1 弯曲的弧面，第一通道 3、第二通道 4、第三通道 5 相互平行布置，第二通道 4 处于弧面中心，第一通道 3 和第三通道 5 分布与第二通道 4 的两侧，共面于弧面赤道，弧面的直径大于所需操作的细胞的直径，小于所需操作的细胞直径的 1.2 倍。

控制器 25 的核心为单片机, 并通过 PID 控制方法调节微量柱塞泵 28 流量, 从而控制微流控芯片 27 内部通道的流速, 实现细胞姿态的调整。

如图 7 所示, 本发明的工作原理及步骤如下:

1) 将本发明装置安装在显微操作实验台上, 移动载物台 31、物镜 30 并调节调焦手轮 32 直到微流控芯片 42 内细胞 2 成像最清晰。

2) 将微量柱塞泵 43 预先装载一半容量的特定溶液, 与第五盲孔 11 相连的微量柱塞泵 43 装载一半容量的细胞悬浮液, 与第一盲孔 7、第二盲孔 8、第四盲孔 10 相连的微量柱塞泵 43 装载一半容量的纯液体, 与第三盲孔 9 相连的微量柱塞泵 28 不装载任何液体, 并将内部空气完全排除, 微量柱塞泵 43 与注射装置 41 上的注水孔 21 连接。

3) 注射针 12 配合弹性材料 13 使用, 嵌入锥形孔 6 中, 保证锥形孔 6 不漏水, 注射装置 41 安装在注射加持器 29 上, 与压电块 25 连接的电线 24 与驱动器 40 连接。

4) 将六个微量柱塞泵 43 与驱动器 40、控制器 39、计算机 38 和数字摄像头 37 依次电连接, 并进一步检查确保所述装置能正常工作。

5) 细胞输送: 启动与第一盲孔 7、第五盲孔 11 连通的微量柱塞泵 43, 匀速向内部主通道 1 注射细胞悬浮液。

6) 细胞吸持: 计算机 38 处理数字摄像头 37 拍摄的图像, 当检测到细胞 2 位于第二通道 4 对应位置处时, 计算机 38 通过控制器 39 使得与第一盲孔 7、第五盲孔 11 相连的微量柱塞泵 43 停止运动, 与第三盲孔 9 相连的微量柱塞泵 43 启动, 产生恒定负压吸附细胞, 使细胞固定。

7) 细胞旋转: 与第二盲孔 8 和第四盲孔 10 连通的微量柱塞泵 43 同时启动, 与第二盲孔 8 连通的微量柱塞泵 43 喷射流体, 与第四盲孔 10 连通的微量柱塞泵 43 吸取流体时, 细胞发生顺时针旋转运动而不移动, 或者与第四盲孔 10 相连的微量柱塞泵 43 喷射流体, 与第二盲孔 8 连通的微量柱塞泵 43 吸取流体时, 使细胞仅发生旋转运动而不移动, 细胞从当前的姿态调整到目标姿态, 实现细胞二维姿态的调整。

8) 细胞注射: 当计算机 38 检测到细胞调整到目标姿态后, 与第二盲孔 8 和第四盲孔 10 相连的微量柱塞泵 43 停止; 控制器 39 通过驱动器 40 控制注射装置 41 内的压电元件 16 通电, 压电块 25 变长驱动注射针 12 通过锥形孔 6 穿刺细胞 2, 与注射针 12 相连的微量柱塞泵 43 启动, 将外源物质注射到细胞 2 内部, 注射时间到达预先设置时间后, 与注射针 12 相连的微量柱塞泵 43 停止,

压电元件 16 断电，压电块 25 恢复原长度，弹性材料 13 和弹性垫圈 22 复位并驱动注射针 12 从细胞 2 内部拔出。

9) 细胞释放：与第三盲孔 9 相连的微量柱塞泵 43 复位，将细胞释放，与第三盲孔 9 相连的微量柱塞泵 43 复位，将细胞释放，同时启动与第一盲孔 7 和第五盲孔 11 连通的微量柱塞泵 43，使完成注射的细胞朝第一盲孔 7 移动，完成细胞注射。

10) 重复上述 4) -9) 的步骤可实现连续细胞操作。

权利要求书

1、一种基于微流控芯片的高通量细胞显微操作装置，其特征在于：包括倒置显微镜操作台（44）、六个微量柱塞泵（43）、微流控芯片（42）、注射装置（41）、驱动器（40）、控制器（39）和计算机（38）；

微流控芯片（42）置于显微镜操作台（44）中间的移动载物台（31）上，移动载物台（31）正下方的物镜（30）对准微流控芯片（42）；微流控芯片（42）上设置有一个水平布置的U型主通道（1）和五个沿竖直方向布置的盲孔，U型主通道（1）的开口两端分别与位于两侧的两个盲孔底部连通；微流控芯片（42）在主通道（1）中间的一侧设置有三个通道：第一通道（3）、第二通道（4）、第三通道（5），三个通道一端分别与中间三个盲孔的底部连通，另一端均与主通道（1）连通；在主通道（1）中间的另一侧设置有与主通道（1）连通的锥形孔（6）；三个通道与主通道（1）的连通位置形成朝主通道（1）弯曲的弧面，弧面与锥形孔（6）相对布置；

移动载物台（31）一侧安装有移动部件（28），移动部件（28）上设置有有夹持注射装置（41）的注射针夹持器（29），注射装置（41）的注射针（12）对准微流控芯片（42）的锥形孔（6），且注射针（12）平行于移动载物台（31）布置，通过压电块（25）推动注射针（12）注射；

每个微量柱塞泵（43）包括步进电机（36）、滚珠丝杠（35）、微量注射管（34），步进电机（36）与微量注射管（34）均通过支撑架安装于固定板（33）上，滚珠丝杠（35）的螺杆与步进电机（36）的输出轴连接，滚珠丝杠（35）的螺母与微量注射管（34）的活塞杆连接；每个微量柱塞泵（43）的步进电机（36）均与驱动器（40）连接，驱动器（40）经控制器（39）连接至计算机（38）；

注射装置（41）的注水孔（21）与其中一个微量柱塞泵（43）的微量注射管（34）管口连通，其余五个微量柱塞泵（43）的微量注射管（34）管口分别与五个盲孔的顶部连通。

2、根据权利要求1所述的一种基于微流控芯片的高通量细胞显微操作装置，其特征在于：所述注射装置（41）主要由注射针（12）、内连接头（14）、外连接头（15）、压电元件（16）、加持杆（17）组成；

外连接头（15）前端面开设有螺纹孔，中间开设有与螺纹孔相通且不贯穿外连接头（15）的内腔（20），内腔（20）上方开设有与内腔（20）相通且从外连接头（15）顶部伸出的注水孔（21）；外连接头（15）后端设置有凸台；

内连接头（14）后端与外连接头（15）的螺纹孔通过螺纹连接，中间开设有固定注射针（12）的前后通孔，注射针（12）前部注射头伸出通孔后进入微流控芯片（42）的锥形孔（6）内，注射头与锥形孔之间填充有密封两者之间间隙的弹性材料（13）；注射针（12）末端穿过螺纹孔与内腔（20）连通，内腔（20）与注射针（12）末端之间嵌装有夹紧注射针（12）的锥形橡胶环（19），通过锥形橡胶环（19）使注射针（12）与内腔（20）之间保持密封；

压电元件（16）包括压电外壳、压电块（25）、后端盖（26），外连接头（15）的凸台（23）伸入压电外壳前部开设的卡槽（18）内，凸台（23）与卡槽（18）之间嵌装有弹性垫圈（22）；压电外壳中间安装有压电块（25），与压电块（25）连接的电线（24）穿出压电外壳后与驱动器（40）连接；凸台（23）后端面开设有装配压电块（25）的凹槽，压电外壳后端安装的后端盖（26）设有与压电块（25）位置对应的凸块，通过凸块挤压压电块（25）使压电块（25）前端面贴合凹槽；

加持杆（17）一端与压电元件（16）的后端盖（26）连接，另一端固定于注射针夹持器（29）上。

3、根据权利要求1所述的一种基于微流控芯片的高通量细胞显微操作装置，其特征在于：显微镜操作台（44）上安装有与计算机（38）连接的数字摄像头（37），数字摄像头（37）将摄取的细胞图像信息传输至计算机（38）；显微镜操作台（45）上安装有调节视野清晰度的调焦手轮（32）。

4、根据权利要求1所述的一种基于微流控芯片的高通量细胞显微操作装置，其特征在于：第一通道（3）、第二通道（4）和第三通道（5）平行布置，第二通道（4）位于弧面中心且正对锥形孔，第二通道（4）和第三通道（5）分布于第二通道（4）两侧；弧面直径大于待注射细胞直径，且小于待注射细胞直径的1.2倍。

5、根据权利要求1所述的一种基于微流控芯片的高通量细胞显微操作装置，其特征在于：与主通道（1）输入端连通的盲孔为第五盲孔（11），与主通道（1）输出端连通的盲孔为第一盲孔（7），与第一通道（3）、第二通道（4）和第三通道（5）连通的盲孔分别为第二盲孔（8）、第三盲孔（9）和第四盲孔（10）。

6、根据权利要求5所述的一种基于微流控芯片的高通量细胞显微操作装置，其特征在于：所述微量注射管（34）与第一盲孔（7）的直径适配；主通道（1）的直径为待注射细胞直径的1.2~1.5倍，第二通道（4）的直径为待注射细胞直径的五分之一，第一通道（3）和第三通道（5）的直径为待注射细胞直径的五

分之二。

7、根据权利要求1所述的一种基于微流控芯片的高通量细胞显微操作装置，其特征在于：控制器（39）的核心为单片机，通过PID控制方法调节微量柱塞泵（44）流量，从而控制微流控芯片（43）内部通道的流速，实现细胞姿态的调整。

8、采用权利要求1~7任一所述装置的控制方法，其特征在于：包括以下步骤：

步骤1）将装置安装在显微操作实验台上，通过调节移动载物台（31）、物镜（30）和调焦手轮（32）使经过微流控芯片（42）主通道的细胞成像最清晰；

步骤2）与第五盲孔（11）连通的微量柱塞泵（44）装载一半容量的细胞悬浮液，细胞悬浮液中添加有细胞活性染料；与第一盲孔（7）、第二盲孔（8）、第四盲孔（10）分别连通的三个微量柱塞泵（43）均装载一半容量的纯液体；与第三盲孔（9）连通的微量柱塞泵（43）不装载液体，完全排除内部空气后，将微量柱塞泵（43）与注射装置（41）上的注水孔（21）连接；与注射装置（41）连通的微量柱塞泵（43）装载一半容量的外源物质；

步骤3）细胞输送：与第一盲孔（7）、第五盲孔（11）连通的微量柱塞泵（43）同时启动，匀速向主通道（1）注射细胞悬浮液；

步骤4）细胞吸持：计算机（38）处理数字摄像头（37）拍摄的图像，当检测到进入主通道的细胞（2）位于弧形面对应位置处时，计算机（38）通过控制器（39）使得与第一盲孔（7）、第五盲孔（11）连通的微量柱塞泵（43）停止运动，与第三盲孔（9）连通的微量柱塞泵（43）启动，产生恒定负压后通过第二通道（4）吸附细胞，使细胞固定；

步骤5）细胞旋转：细胞固定后，与第二盲孔（8）、第四盲孔（10）连通的微量柱塞泵（43）同时启动：微量柱塞泵（43）通过第一通道（3）喷射流体，通过第三通道（5）吸取流体，使细胞正向旋转而不移动；反之，微量柱塞泵（43）通过第三通道（5）喷射流体，通过第一通道（3）吸取流体，使细胞反向旋转而不移动；使细胞从当前姿态调整到目标姿态；

步骤6）细胞注射：当计算机（38）检测到细胞调整到目标姿态后，与第二盲孔（8）和第四盲孔（10）相连的微量柱塞泵（43）停止；控制器（39）通过驱动器（40）控制注射装置（41）内的压电块（25）通电，压电块（25）伸长推动外连接头（15）上的凸台前移，从而带动注射针（12）穿过锥形孔（6）刺穿细胞（2），与注射针（12）相连的微量柱塞泵（43）启动，将外源物质注射

到细胞（2）内部，注射时间到达预先设置时间后，与注射针（12）相连的微量柱塞泵（43）停止，控制压电块（25）断电，压电块（25）恢复原长度，弹性材料（13）和弹性垫圈（22）在弹力作用下复位并带动注射针（12）从细胞（2）内拔出；

步骤 8）细胞释放：与第三盲孔（9）连通的微量柱塞泵（43）复位，将细胞释放，同时启动与第一盲孔（7）和第五盲孔（11）连通的微量柱塞泵（43），使完成注射的细胞朝第一盲孔（7）移动；

步骤 9）重复步骤 3）~步骤 8）实现连续细胞的注射操作。

9、根据权利要求 8 所述的控制方法，其特征在于：微流控芯片（42）集成了细胞输送、细胞吸持、细胞旋转、细胞注射、细胞释放的功能。

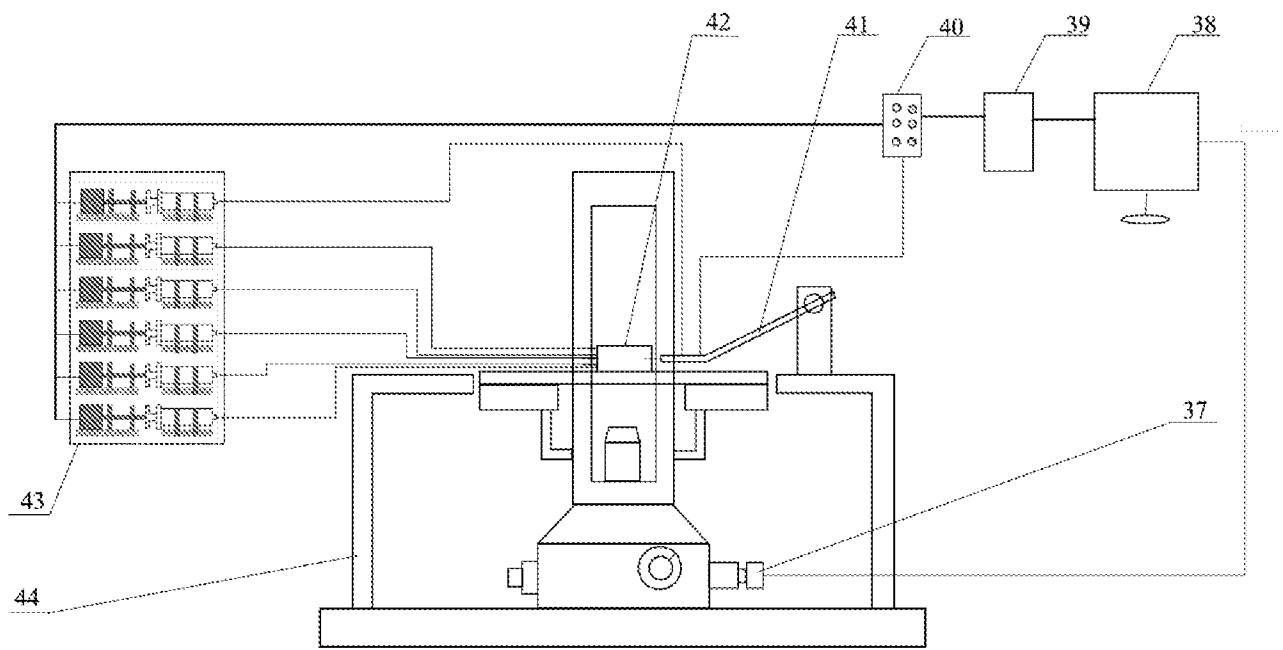


图 1

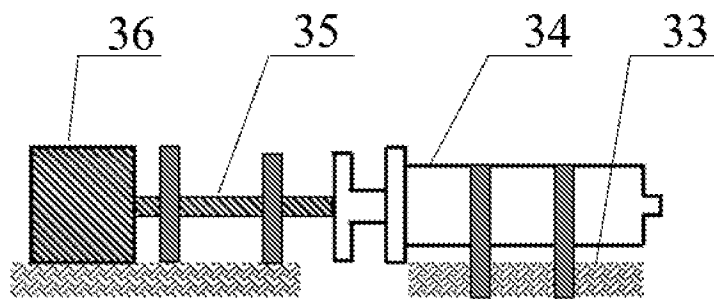


图 2

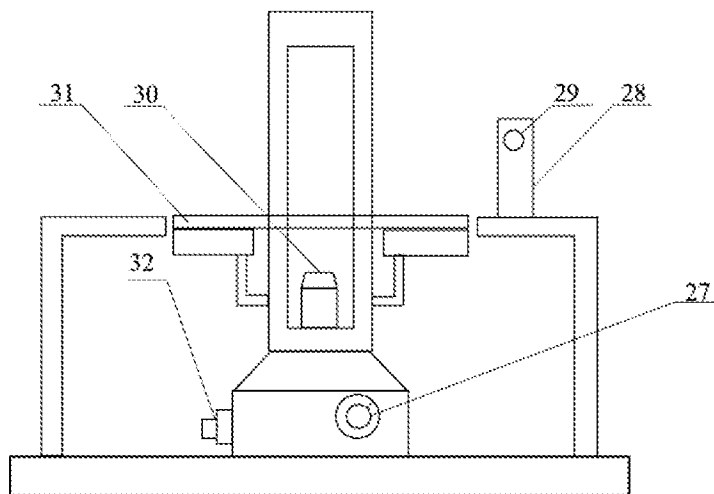


图 3

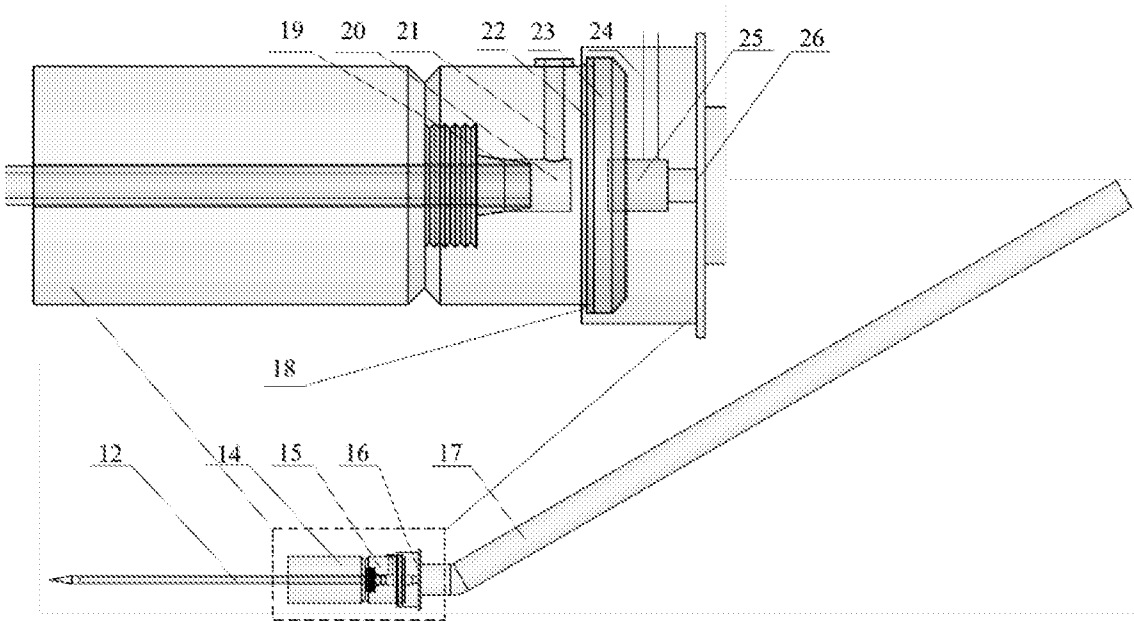


图 4

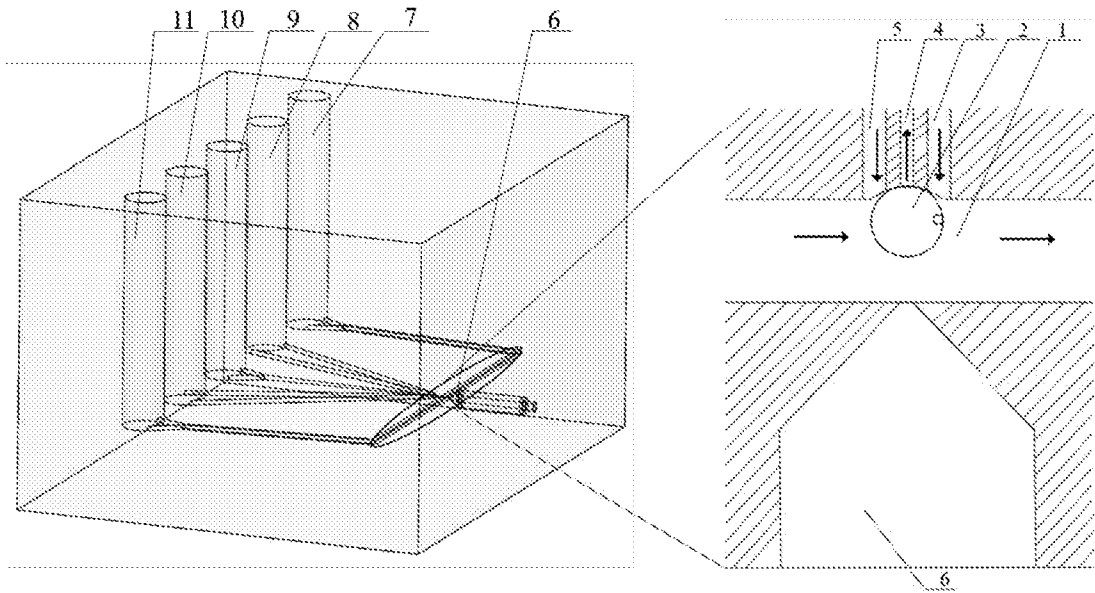


图 5

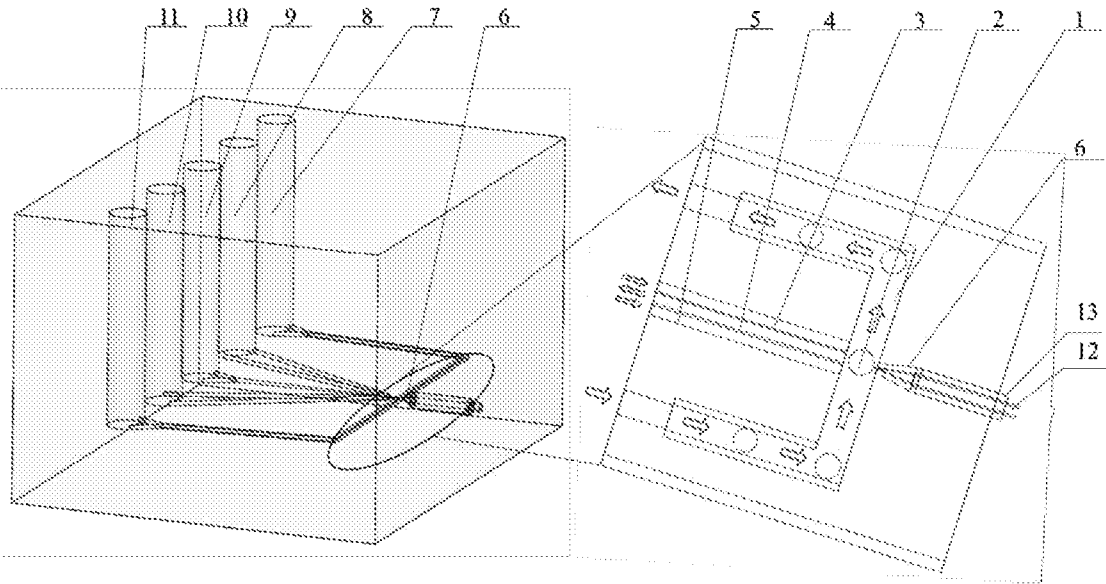


图 6

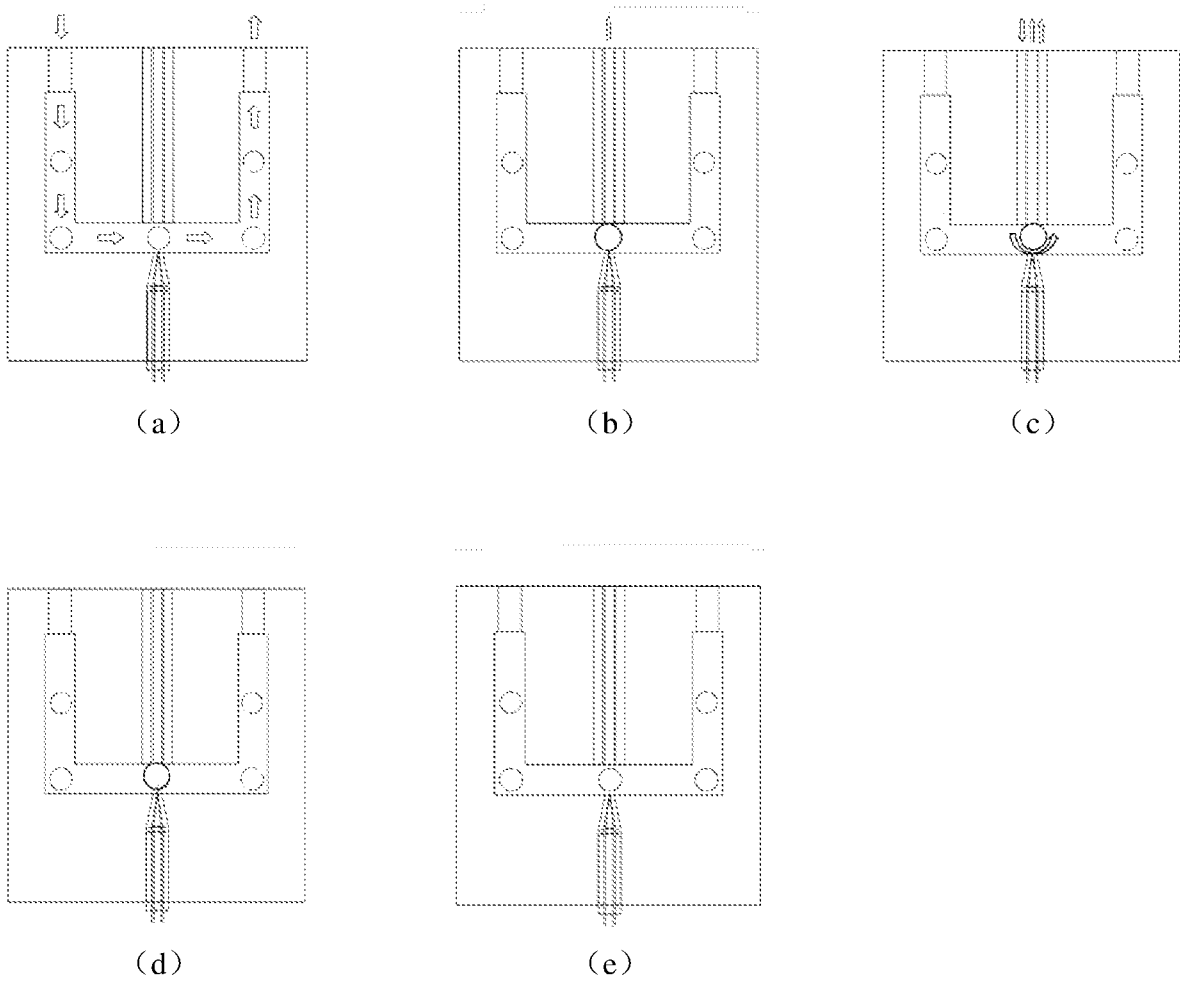


图 7

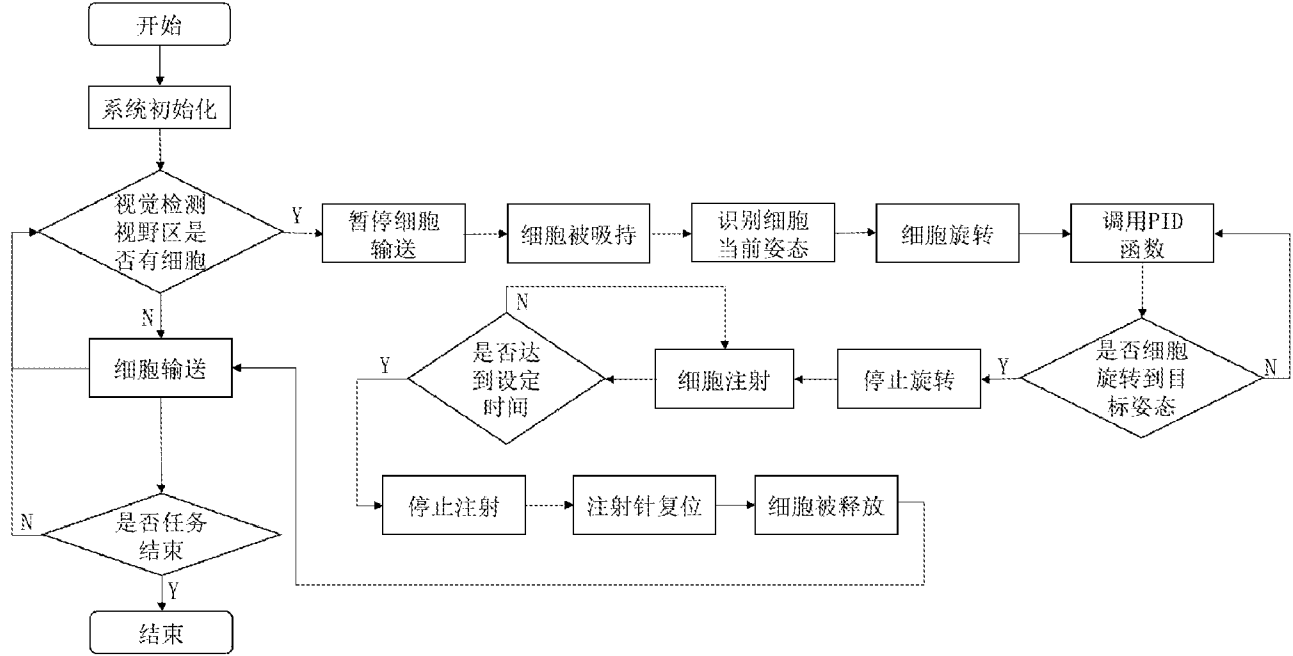


图 8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/076519

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12M 1/36(2006.01)i; C12M 1/34(2006.01)i; C12M 1/24(2006.01)i; C12M 1/00(2006.01)i; C12N 15/89(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12M; C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNPAT, CNKI, WPI, EPODOC: 浙江大学, 周鸣川, 郭祥雨, 微流控, 显微, 细胞, 注射, 柱塞泵, 显微镜, 压电, U, 通道, 倒, 垫圈, 注射针, 注水孔, 微观流场, 微流体, 微通道, 微喷管, 塞, 旋转, 转动, 吸附, 吸持, microfluid+, cell?, micro-scale?, microfluidic biochip

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	吕品 等 (LYU, Pin et al.). "可调节细胞位姿的显微注射芯片设计及其分析 (Design and Analysis of the Microinjection Chip with the Function of Adjusting the Position and Orientation of the Cells)" 微纳电子技术 (Micronanoelectronic Technology), Vol. 53, No. 10, 31 October 2006 (2006-10-31), ISSN: 1671-4776, pp. 664-670	1-9
Y	CN 113801776 A (ZHEJIANG UNIVERSITY) 17 December 2021 (2021-12-17) description, paragraphs [0033]-[0043], and figures 1-5	1-9
Y	CN 103255049 A (SOOCHOW UNIVERSITY) 21 August 2013 (2013-08-21) description, paragraphs [0030]-[0047], and figures 1-2	1-9
A	CN 113008766 A (BEIJING INSTITUTE OF TECHNOLOGY) 22 June 2021 (2021-06-22) entire document	1-9
A	CN 205556699 U (DALIAN MARITIME UNIVERSITY) 07 September 2016 (2016-09-07) entire document	1-9



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 September 2022

Date of mailing of the international search report

10 October 2022

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing
100088, China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/076519**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 106148165 A (CHANGZHOU CAMPUS OF HOHAI UNIVERSITY) 23 November 2016 (2016-11-23) entire document	1-9
A	CN 108893248 A (ZHANGJIAGANG INSTITUTE OF INDUSTRIAL TECHNOLOGIES SOOCHOW UNIVERSITY et al.) 27 November 2018 (2018-11-27) entire document	1-9
A	US 2019388892 A1 (NEMAMETRIX INC. et al.) 26 December 2019 (2019-12-26) entire document	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/076519

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	113801776	A	17 December 2021	None			
CN	103255049	A	21 August 2013	None			
CN	113008766	A	22 June 2021	None			
CN	205556699	U	07 September 2016	None			
CN	106148165	A	23 November 2016	CN	106148165	B	12 April 2019
CN	108893248	A	27 November 2018	None			
US	2019388892	A1	26 December 2019	WO	2020005802	A1	02 January 2020

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/076519

A. 主题的分类 C12M 1/36(2006.01)i; C12M 1/34(2006.01)i; C12M 1/24(2006.01)i; C12M 1/00(2006.01)i; C12N 15/89(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类																							
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) C12M; C12N 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNPAT, CNKI, WPI, EPDOC: 浙江大学, 周鸣川, 郭祥雨, 微流控, 显微, 细胞, 注射, 柱塞泵, 显微镜, 压电, U, 通道, 倒, 垫圈, 注射针, 注水孔, 微观流场, 微流体, 微通道, 微喷管, 塞, 旋转, 转动, 吸附, 吸持, microfluid+, cell?, micro-scale?, microfluidic biochip																							
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>吕品 等. “可调节细胞位姿的显微注射芯片设计及其分析” 微纳电子技术, 第53卷, 第10期, 2006年10月31日 (2006 - 10 - 31), ISSN: 1671-4776, 第664-670页</td> <td>1-9</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 113801776 A (浙江大学) 2021年12月17日 (2021 - 12 - 17) 说明书第[0033]-[0043]段, 图1-5</td> <td>1-9</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 103255049 A (苏州大学) 2013年8月21日 (2013 - 08 - 21) 说明书第[0030]-[0047]段, 图1-2</td> <td>1-9</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 113008766 A (北京理工大学) 2021年6月22日 (2021 - 06 - 22) 全文</td> <td>1-9</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 205556699 U (大连海事大学) 2016年9月7日 (2016 - 09 - 07) 全文</td> <td>1-9</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 106148165 A (河海大学常州校区) 2016年11月23日 (2016 - 11 - 23) 全文</td> <td>1-9</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	Y	吕品 等. “可调节细胞位姿的显微注射芯片设计及其分析” 微纳电子技术, 第53卷, 第10期, 2006年10月31日 (2006 - 10 - 31), ISSN: 1671-4776, 第664-670页	1-9	Y	CN 113801776 A (浙江大学) 2021年12月17日 (2021 - 12 - 17) 说明书第[0033]-[0043]段, 图1-5	1-9	Y	CN 103255049 A (苏州大学) 2013年8月21日 (2013 - 08 - 21) 说明书第[0030]-[0047]段, 图1-2	1-9	A	CN 113008766 A (北京理工大学) 2021年6月22日 (2021 - 06 - 22) 全文	1-9	A	CN 205556699 U (大连海事大学) 2016年9月7日 (2016 - 09 - 07) 全文	1-9	A	CN 106148165 A (河海大学常州校区) 2016年11月23日 (2016 - 11 - 23) 全文	1-9
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																					
Y	吕品 等. “可调节细胞位姿的显微注射芯片设计及其分析” 微纳电子技术, 第53卷, 第10期, 2006年10月31日 (2006 - 10 - 31), ISSN: 1671-4776, 第664-670页	1-9																					
Y	CN 113801776 A (浙江大学) 2021年12月17日 (2021 - 12 - 17) 说明书第[0033]-[0043]段, 图1-5	1-9																					
Y	CN 103255049 A (苏州大学) 2013年8月21日 (2013 - 08 - 21) 说明书第[0030]-[0047]段, 图1-2	1-9																					
A	CN 113008766 A (北京理工大学) 2021年6月22日 (2021 - 06 - 22) 全文	1-9																					
A	CN 205556699 U (大连海事大学) 2016年9月7日 (2016 - 09 - 07) 全文	1-9																					
A	CN 106148165 A (河海大学常州校区) 2016年11月23日 (2016 - 11 - 23) 全文	1-9																					
☒ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。																							
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件																							
国际检索实际完成的日期 2022年9月21日		国际检索报告邮寄日期 2022年10月10日																					
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		授权官员 李若楠 电话号码 86-(10)-53962446																					

C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 108893248 A (苏州大学张家港工业技术研究院 等) 2018年11月27日 (2018 - 11 - 27) 全文	1-9
A	US 2019388892 A1 (NEMAMETRIX INC. 等) 2019年12月26日 (2019 - 12 - 26) 全文	1-9

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/076519

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN	113801776	A	2021年12月17日	无	
CN	103255049	A	2013年8月21日	无	
CN	113008766	A	2021年6月22日	无	
CN	205556699	U	2016年9月7日	无	
CN	106148165	A	2016年11月23日	CN 106148165	B 2019年4月12日
CN	108893248	A	2018年11月27日	无	
US	2019388892	A1	2019年12月26日	WO 2020005802	A1 2020年1月2日