



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108070582 B

(45) 授权公告日 2021.09.14

(21) 申请号 201711309221.7

(22) 申请日 2013.10.30

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 108070582 A

(43) 申请公布日 2018.05.25

(30) 优先权数据
61/720,956 2012.10.31 US (续)

(62) 分案原申请数据
201380061831.3 2013.10.30

(73) 专利权人 伯克利之光生命科技公司
地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 凯文·T·查普曼
伊戈尔·Y·汉德罗斯 (续)

(74) 专利代理机构 隆天知识产权代理有限公司
72003
代理人 张浴月 李晔

(51) Int.Cl.
G12N 13/00 (2006.01) (续)

(56) 对比文件
CN 1412321 A, 2003.04.23
CN 102481571 A, 2012.05.30
CN 102481571 A, 2012.05.30
CN 201834907 U, 2011.05.18
CN 102580794 A, 2012.07.18
US 2004197905 A1, 2004.10.07
US 6958132 B2, 2005.10.25
US 2005175981 A1, 2005.08.11

US 2009170186 A1, 2009.07.02
WO 2004103565 A2, 2004.12.02
US 2004072278 A1, 2004.04.15
CN 101947124 A, 2011.01.19
WO 2011149032 A1, 2011.12.01
WO 2010147078 A1, 2010.12.23

倪中华等. 基于介电泳的生物粒子分离芯片.《东南大学学报》.2005,第35卷(第5期),724-728.

曾雪等. 介电泳芯片的结构设计与模拟分析进展.《MEMS 器件与技术》.2009,第46卷(第1期),34-40.

任玉坤等. 面向微系统的介电泳力微纳粒子操控研究.《物理学报》.2009,第58卷(第11期),7869-7877.

J K Valley等. Optoelectronic Tweezers as a Tool for Parallel Single-Cell Manipulation and Stimulation.《IEEE transactions on biomedical circuits and systems》.2009,第3卷(第6期),424-431. (续)

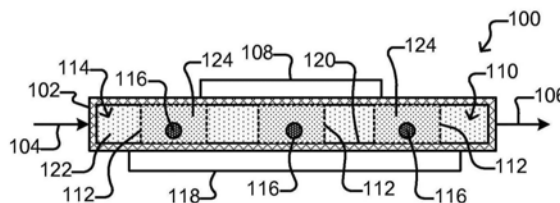
审查员 於娟

权利要求书3页 说明书15页 附图16页

(54) 发明名称
用于生物微目标的围栏

(57) 摘要
可确定性地选择各个生物微目标并移动到微流体装置中的保持围栏中。可向围栏提供第一液体介质的流。物理围栏可构造成阻止第一介质直接流动到围栏中的第二介质中，而允许第一介质与第二介质扩散混合。虚拟围栏可允许到围栏

中的多个围栏的介质的公共流。



CN 108070582 B

[转续页]

[接上页]

(30) 优先权数据

14/060,117 2013.10.22 US

(72) 发明人 加埃唐·L·马蒂厄

J·坦纳·内维尔 吴明强

(51) Int. Cl.

C12N 15/02 (2006.01)

B01L 3/00 (2006.01)

(56) 对比文件

Wang, X. Enhanced cell sorting and manipulation with combined optical tweezer and microfluidic chip technologies.《Lab on a Chip - Miniaturisation for Chemistry and Biology》.2011,第11卷(第21期),3656-3662.

Hu, Ning等. A high-throughput dielectrophoresis-based cell electrofusion microfluidic device.

《ELECTROPHORESIS》.2011,第32卷(第18期), 2488-2495.

Kirschbaum, M.等. Highly controlled electrofusion of individually selected cells in dielectrophoretic field cages.《Lab on a Chip》.2011,第12卷(第3期),443-450.

Rosemarie Wiegand Steubing等. Laser induced cell fusion in combination with optical tweezers: The laser cell fusion trap.《Cytometry》.1991,第12卷(第6期),505-510.

M Gel等. Microorifice-Based High-Yield Cell Fusion on Microfluidic Chip: Electrofusion of Selected Pairs and Fusant Viability.《IEEE transactions on nanobioscience》.2009,第8卷(第4期),300-305.

1. 一种微流体装置,包括:

壳体,包括基底和设置在所述基底的表面上的微流体结构,其中所述基底和所述微流体结构限定用于容纳第一液体介质和悬浮在所述第一液体介质中的生物微目标的内部腔室,并且其中所述微流体结构包括(i)为所述第一液体介质提供流动路径的通道,以及(ii)多个物理保持围栏,其中所述多个保持围栏中的每个保持围栏包括围界和单个开口,其中:

所述围界包围内部空间,所述内部空间被构造成保持悬浮在第二液体介质中的生物微目标,

所述单个开口通向所述通道,以及

所述单个开口被定向成使得没有部分直接面对所述通道的所述流动路径,因此,当所述通道容纳所述第一液体介质的流并且所述保持围栏容纳所述第二液体介质时,阻止所述第一液体介质直接流入到所述内部空间的所述第二液体介质,而允许所述第一液体介质与所述内部空间中的所述第二液体介质扩散混合;以及

其中所述基底的所述表面包括被配置为被选择性地激活和去激活的介电泳(DEP)电极。

2. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中所述多个保持围栏中的至少一个保持围栏包括从所述开口延伸到所述围界中的内壁。

3. 根据权利要求2所述的微流体装置,其中所述至少一个保持围栏的所述内壁包括在所述保持围栏的所述开口与所述保持围栏的所述围界内的内容纳空间之间的屏障。

4. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中所述保持围栏中的至少一个还包括内围栏,所述内围栏包括围界和开口,其中,所述内围栏设置在所述至少一个保持围栏的所述围界内侧。

5. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中:

所述多个保持围栏中的至少一个保持围栏包括保持空间,所述保持空间由设置在所述至少一个保持围栏中的所述围界内侧的内部壁隔开,并且

每个所述保持空间构造成保持所述生物微目标中的一个生物微目标。

6. 根据权利要求1所述的微流体装置,还包括用于在所述多个保持围栏的所述开口中的任何开口处选择性地形成和移除介电泳(DEP)门的装置。

7. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中:

(1) 所述DEP电极包括硬连线电连接;

(2) 所述DEP电极包括光电导层;或者

(3) 所述DEP电极包括光电晶体管。

8. 根据权利要求7所述的微流体装置,其中所述DEP电极被光学地控制。

9. 根据权利要求1所述的微流体装置,还包括电极机构,所述电极机构包括:

第一电极;

第二电极;以及

电极激活基底,

其中所述第一电极是限定所述腔室的第一壁的部分,并且其中所述第二电极和所述电极激活基底是限定所述腔室的第二壁的部分。

10. 根据权利要求9所述的微流体装置,其中所述电极激活基底是光电导材料。

11. 根据权利要求10所述的微流体装置,其中所述电极激活基底具有无特征表面。
12. 根据权利要求10所述的微流体装置,其中所述光电导材料是无掺杂非晶硅。
13. 根据权利要求9所述的微流体装置,其中所述电极激活基底包括半导体材料,所述半导体材料包括形成半导体集成电路的多个掺杂层、电绝缘层和导电层。
14. 根据权利要求9所述的微流体装置,其中所述电极激活基底包括光电晶体管。
15. 根据权利要求1-14中任一项所述的微流体装置,还包括电极机构,所述电极机构包括电润湿装置,以用于移动所述生物微目标中的一个或多个悬浮在其中的液体介质的液滴。
16. 根据权利要求15所述的微流体装置,其中所述电润湿装置包括光电子润湿(OEW)装置。
17. 根据权利要求1-14中任一项所述的微流体装置,还包括:
进入所述壳体中到所述腔室的入口;以及
从所述腔室离开所述壳体的出口。
18. 根据权利要求17所述的微流体装置,其中所述通道和所述多个保持围栏在所述入口和所述出口之间设置在所述腔室中。
19. 根据权利要求18所述的微流体装置,还包括换气器,所述换气器在所述入口和所述多个保持围栏之间设置在所述腔室中。
20. 根据权利要求1-14中任一项所述的微流体装置,还包括设置在所述壳体中的换气器。
21. 根据权利要求1-14中任一项所述的微流体装置,其中所述微流体装置包括多个所述通道,其中所述多个通道中的每个通道与多个所述保持围栏流体上连接。
22. 根据权利要求1-14中任一项所述的微流体装置,其中所述壳体的全部或部分是有透气的。
23. 根据权利要求1-14中任一项所述的微流体装置,其中所述壳体包括柔性材料。
24. 根据权利要求1-14中任一项所述的微流体装置,还包括用于监测所述围栏中的微目标的生物活性的传感器。
25. 根据权利要求24所述的微流体装置,其中所述传感器还配置为检测腔室内的介质的温度、化学成分、pH或渗透压。
26. 一种处理生物微目标的方法,所述方法包括:
将各个生物微目标主动放置在根据权利要求1所述的微流体装置中的保持围栏的内部空间中;
在时段内向所述保持围栏提供第一液体介质的流;以及
在提供所述流时,阻止所述第一液体介质直接流入到所述保持围栏的所述内部空间。
27. 根据权利要求26所述的方法,其中所述阻止包括允许来自所述流的所述第一液体介质与所述保持围栏的所述内部空间中的第二液体介质扩散混合。
28. 根据权利要求26所述的方法,还包括在所述时段期间监测所述保持围栏中的所述微目标的特性。
29. 根据权利要求28所述的方法,其中所述特性是所述保持围栏中的所述微目标的生物活性。

30. 根据权利要求29所述的方法,其中:
所述生物活性包括克隆体产量,以及
所述监测包括监测所述保持围栏中的所述微目标的所述克隆体产量。
31. 根据权利要求29所述的方法,其中:
所述生物活性包括分泌分泌物,以及
所述监测包括监测所述保持围栏中所述微目标的所述分泌物。
32. 根据权利要求28所述的方法,其中所述特性是所述保持围栏中的所述微目标的生物状态。
33. 根据权利要求26-32中任一项所述的方法,其中所述第一液体介质是与所述第二液体介质不同类型的介质。
34. 根据权利要求26-32中任一项所述的方法,其中所述第一液体介质是与所述第二液体介质相同类型的介质。
35. 根据权利要求26-32中任一项所述的方法,还包括从所述微流体装置中的多个微目标中选择具有预定特性的所述微目标的子集,其中,所述主动放置包括仅将所述微目标中的被选子集放置在所述保持围栏中。
36. 根据权利要求35所述的方法,其中:
所述多个微目标处于所述微流体装置中的公共位置中,
所述选择包括选择所述公共位置中的所述被选子集中的所述微目标中的每个微目标,
并且
所述主动放置包括将所述被选子集中的所述微目标中的每个微目标分别从所述公共位置移动到所述保持围栏中的一个保持围栏中。
37. 根据权利要求26-32中任一项所述的方法,其中所述主动放置包括将所述各个微目标中的一个且仅一个微目标放置在每个所述保持围栏中。
38. 根据权利要求26-32中任一项所述的方法,其中所述主动放置包括激活介电泳(DEP)电极,所述介电泳(DEP)电极在所述各个微目标上产生DEP力。
39. 根据权利要求38所述的方法,其中所述激活DEP电极包括用光电镊子装置激活所述DEP电极。
40. 根据权利要求26-32中任一项所述的方法,其中所述提供包括使所述第一液体介质流过所述保持围栏中的开口。
41. 根据权利要求26-32中任一项所述的方法,还包括在所述时段期间将所述各个微目标维持在所述保持围栏中。
42. 根据权利要求26所述的方法,其中所述放置包括将多个不同类型的所述微目标中的每个微目标放置在所述保持围栏中的一个保持围栏中的多个不同的保持空间中的每个保持空间中。

用于生物微目标的围栏

[0001] 申请是申请日为2013年10月30日,申请号为201380061831.3,最早优先权日为2012年10月31日,发明名称为“用于生物微目标的围栏”的进入国家阶段的PCT申请的分案申请。

背景技术

[0002] 在生物科学领域中,通常研究和分析生物微目标诸如细胞的活动。例如,产生至少最少数量的克隆体或分泌所需物质的细胞能够用于药品的生产中或疾病的研究中。因此,可有利的是,确定以最小速度或超过最小速度产生克隆体或分泌特定物质的细胞。本发明的实施例涉及改进的微流体装置以及将所选择的生物微目标放置到保持围栏中、调节围栏中的微目标、监测围栏中的微目标的生物活性,并且/或从围栏中移动其生物活性达到预定阈值的微目标以用于进一步使用或处理的过程。

发明内容

[0003] 在某些实施例中,处理生物微目标的方法可包括:将个别生物微目标主动放置到微流体装置中的保持围栏中的内部空间中;以及在一时段内向围栏提供第一液体介质的流。方法还可包括:在提供所述流的同时,阻止来自该流的第一介质直接流入到保持围栏的内部空间中。

[0004] 在某些实施例中,微流体装置可包括壳体和保持围栏。壳体可设置在基部上,并且该壳体可包括用于第一液体介质的流动路径。保持围栏可设置在壳体内,并且每个围栏可包括包围内部空间的围界。该围界可构造成保持悬浮在第二液体介质中的生物微目标并防止第一介质直接流入到内部中间中的第二介质中。

[0005] 处理生物微目标的方法可包括:通过将保持围栏形式的光图案照射到微流体装置中并由此激活介电泳(DEP)电极,在微流体装置中形成虚拟保持围栏。方法还可包括:将个别生物微目标放置到保持围栏中,其中,保持围栏中的每个保持围栏将该保持围栏中的各个微目标中的任一个或多个与在该保持围栏外侧的全部微目标隔离开。该方法还可包括:在一时段内向保持围栏中的微目标提供液体介质的公共流。

附图说明

[0006] 图1A示出了根据本发明的某些实施例的微流体装置的实例。

[0007] 图1B是图1A的装置的侧剖视图。

[0008] 图1C是图1A的装置的俯视剖视图。

[0009] 图2示出了图1A的装置的剖视侧视图,示意了构造有根据本发明的某些实施例的光镊子(OET)装置的实例。

[0010] 图3是构造有根据本发明的某些实施例的图2的OET装置和虚拟围栏的图1A的装置的俯视局部剖视图。

[0011] 图4是构造有根据本发明某些实施例的图2的OET装置以及围栏的图1A的装置的俯

视局部剖视图,所述围栏是物理和/或虚拟的。

[0012] 图5A示意了根据本发明的某些实施例的限定流体通道和围栏的设置于基部的显微流体结构的实例。

[0013] 图5B是图5A的显微流体结构和基部的俯视剖视图。

[0014] 图6A示意了根据本发明的某些实施例的限定流体通道和围栏的设置于基部的显微流体结构的实例。

[0015] 图6B是图6A的显微流体结构和基部的俯视剖视图。

[0016] 图7示意了根据本发明的某些实施例的图6B所示的围栏的变型的实例。

[0017] 图8A、8B、9和10示意了根据本发明的某些实施例的围栏的替代构造的实例。

[0018] 图11A和11B示意了根据本发明的某些实施例的使用光阱选择和移动微目标。

[0019] 图12A和12B示意了根据本发明的某些实施例的使用虚拟屏障选择和移动微目标。

[0020] 图13A示意了根据本发明的某些实施例的限定流体通道和围栏的设置于基部的显微流体结构的实例。

[0021] 图13B是图13A的显微流体结构和基部的俯视剖视图。

[0022] 图14和15示出了根据本发明的实施例的图13B的围栏阵列的替代构造的实例。

[0023] 图16示出了根据本发明的某些实施例的包括将生物微目标放置到微流体装置中的围栏中的过程的实例。

[0024] 图17示意了根据本发明的某些实施例的过程,其示出构造有图2的OET装置的图1A的装置的运行的实例。

[0025] 图18A-18C示意了根据图17的步骤的处理细胞的实例。

[0026] 图19示意了根据图17的步骤的随着克隆体在围栏中繁殖而扩大的围栏的实例。

[0027] 图20示意了根据图6的步骤的去掉其中克隆体繁殖太慢的围栏并排出这些围栏中的克隆体的实例。

[0028] 图21示意了根据图17的步骤的将子克隆体放入新的围栏中的实例。

[0029] 图22示意了根据本发明的某些实施例的过程,其示出构造有图2的OET装置的图1A的装置的运行的另一实例。

具体实施方式

[0030] 本说明书描述了本发明的示例实施例和应用。然而,本发明不限于这些示例实施例和应用,或者不限于示例实施例和应用运行的方式或在本文中描述。而且,附图可示出简化或局部视图,并且附图中的元件尺寸为了清晰可不按比例扩大或者缩小。此外,当在本文中使用术语“在...上”、“附接到”、或“联接到”时,一个元件(例如,材料、层、基底等)能够“在另一个元件上”、“附接到另一个元件”、或“联接到另一个元件”,而不管该一个元件直接在另一个元件上、附接或联接到该另一个元件,还是有一个或多个介入元件在该一个元件和该另一个元件之间。此外,如果提供的话,方向(例如,在上面、在下面、顶部、底部、侧面、上、下、在...下面、在...上面、上面、下面、水平、垂直、“x”、“y”、“z”等)是相对的并且仅作为实例、为了便于说明和讨论以及不作为限制地提供。此外,在对一系列元件(例如元件a、b、c)做附图标记的情况下,这些附图标记旨在包括所列出的元件自身的任一个、小于全部所列出的元件的任何组合和/或全部所列出的元件的组合。

[0031] 词语“基本上”和“通常”是指足以达到预期目的。术语“多个”是指一个以上。

[0032] 术语“细胞”是指生物细胞。关于细胞,术语“克隆体”指的是相同的细胞,因为每个细胞都是从同一母细胞繁殖。克隆体因此是同一母细胞的全部“子细胞”。

[0033] 如本文所使用的,术语“生物微目标”包括生物细胞和诸如蛋白、胚胎、质粒、卵母细胞、精子、遗传物质(例如,DNA)、转染载体、杂交瘤、转染细胞等以及上述的组合的复合物。

[0034] 如本文所使用的,介电泳(DEP)电极是指在用于容纳液体介质的腔室的内表面上的端子或用于容纳液体介质的腔室的内表面的区域,在该端子或区域处,能够选择性地激活或去激活足以吸引或排斥介质中的微目标的介质中的DEP力。

[0035] 如本文中关于液体或气体所使用的,术语“流”包括但不限于液体或气体的连续、脉冲、周期、随机、间歇或往复流。“对流”是由压力驱动液体或气体流。“扩散流”或“扩散”是由随机热运动驱动的液体或气体流。如关于两种或两种以上液体或气体介质所使用的,术语“扩散混合”是指介质由于因随机热运动引起的介质的自发混合而混合。如本文关于“对流”、“扩散流”、“扩散”或“扩散混合”所使用的,术语“基本上”是指超过50%。

[0036] 术语“确定性的”,当用于描述选择或放置微目标时,是指从微目标组选择或放置具体确定或期望的微目标。确定性地选择或放置微目标因此不包括仅以微目标的组或子组随机选择或放置的微目标中的任何一个。

[0037] 如本文所使用的,术语“处理”微目标的意思包括下列中的任何一项或多项:移动(例如,在液体介质流中,借助OET装置等)、分类和/或选择微目标中的一个或多个;改变微目标中的一个或多个,其中,这种改变的实例包括繁殖细胞或其它活生物体的微目标种群,将两个或更多个的这样的微目标融合在一起,以及转染一个或多个微目标;监测微目标;监测细胞或其它活生物体的微目标的繁殖、分泌等;和/或调节细胞或其它活生物体的微目标。

[0038] 本发明的实施例包括确定性地将各个生物微目标放置在微流体装置中的保持围栏中。能够向围栏提供第一液体介质流,但围栏可被构造成阻止第一介质直接流入到围栏中的第二介质中,而允许该流中的第一介质和围栏中的第二介质的扩散混合。

[0039] 图1A-1C示出了根据本发明的某些实施例的微流体装置100的实例。如图所示,微流体装置100可包括壳体102、电极机构108和监测机构118。同样如图所示,壳体102可包括保持一种或多种液体介质114的内部腔室110,多个微目标116可悬浮在液体介质114中。介质114可设置在腔室110的内表面120上。微目标116的多个保持围栏112可设置在腔室110中。如将会看到的,每个围栏112可以是虚拟围栏、物理围栏和/或组合虚拟/物理围栏。

[0040] 装置100中的介质114可包括例如第一介质122和第二介质124。第一介质122可以是在流动路径126中的介质114,而第二介质124可以是在保持围栏112内侧的介质114。第一介质122可以是类型与第二介质124相同的介质。或者,第一介质122可以是类型与第二介质124的不同的介质。

[0041] 壳体102可包括限定腔室110的围界。如图所示,壳体102还可包括一个或多个入口104,介质114和微目标116可通过该一个或多个入口104被输入到腔室110中。在通道110中可存在介质114的一个或多个流动路径126。例如,如图1C所示,通道110可包括从入口104到出口106的介质114的流动路径126。

[0042] 入口104可例如是输入端口、开口、阀、通道等。壳体102还可包括一个或多个出口，介质114和微目标116可通过该一个或多个出口出口移除。微目标116可替代地以其它方式从壳体102移除。例如，如下所述，针状吸出器(未示出)可刺穿壳体102，并且可通过吸出器移除一个或多个微目标116。出口106可例如是输入端口、开口、阀门、通道等。作为另一实例，出口106可包括诸如2013年4月4日提交的美国专利申请系列号13/856,781(律师档案号BL1-US)所公开的输出机构中的任何输出机构的液滴输出机构。壳体102的全部或部分能够是透气的以允许气体(例如，环境空气)进入和离开腔室110，例如，用以维持腔室110中的微目标116。例如，气体流可施加到壳体102的透气部分。例如，脉冲的、调节的或以其它方式控制的气体流可根据需要施加(例如，当试验表明壳体102中的微目标(例如细胞)需要气体时)。

[0043] 虽然未示出，装置100可包括检测诸如温度、介质114的化学成分(例如，介质114中的溶解氧、二氧化碳等的水平)、介质114的PH、介质114的渗透压等的介质114或腔室110的相关条件的传感器或类似部件。壳体102例如可包括这种传感器或部件，该传感器或部件可构造有控制器(未示出)以控制通过入口104的介质114的输入，用来维持介质114的某些条件恒定或可控制地调节介质114的某些条件(诸如以上确定的条件)。

[0044] 电极机构108(图1B所示)可构造成在介质114中的微目标116上产生选择性动电力。例如，电极机构108可构造成选择性地激活(例如，打开)和去激活(例如，关掉)在介质114设置在其上的腔室110的内表面120处的介电泳(DEP)电极。DEP电极可在介质114中产生吸引或排斥微目标116的力，并且电极机构108可因此选择和/或移动介质114中的一个或多个微目标116。例如，在某些实施例中，电极机构108可构造成使得与在内表面120处的DEP电极的硬连线电连接可激活和去激活各个DEP电极。在其它实施例中，可光学地控制在内表面120处的各个DEP电极。包括光电镊子机构的实例在图2中示出并在下面描述。

[0045] 例如，电极机构108可包括一个或多个光学(例如激光)镊子装置和/或一个或多个光电镊子(OET)装置(例如，如美国专利第7,612,355号所公开的，其全部内容以引用方式并入本文)。作为又一实例，电极机构108可包括用于移动微目标116中的一个或多个悬浮在其中的介质114的液滴的一个或多个装置(未示出)。这种装置(未示出)可包括电润湿装置，诸如光电润湿(OEW)装置(例如，如美国专利第6,958,132号所披露的)。电极机构108可因此在某些实施例中具有作为DEP装置的特征。

[0046] 监测机构118可包括用于观察、识别或检测介质114中的各个微目标的任何机构。在某些实施例中，监测机构118还可包括监测围栏112中的微目标116的生物活性或生物状态的机构。

[0047] 如图2所示，监测机构118可包括成像装置220。例如，成像装置220可包括用于捕捉在腔室110中，包括在围栏112中，的微目标116的图像的摄相机或类似装置。同样如图所示，控制器218可控制成像装置220并处理由成像装置220捕捉的图像。虽然图2中示出为设置在装置102的下方，但是成像装置220可设置在其它位置，诸如在装置102的上方或侧面。

[0048] 同样如图2所示，电极机构108可包括OET装置。例如，如图所示，电极机构108可包括第一电极204、第二电极210、电极激活基底208和电源212。如图所示，腔室110中的介质114和电极激活基底208可将电极204、210隔开。来自光源214的光216的图案可选择性地激活在腔室110的内表面120处的各个DEP电极的所需图案。即，光图案216中的光可将在腔室

110的内表面120的小“电极”区域的图案处的电极激活基底208的电阻抗减小到小于介质114的阻抗。上述在介质114中形成从表面120的电极区域到第一电极204的电场梯度,该电场梯度则形成吸引或排斥附近的微目标116的局部DEP力。可因此通过从光源214(例如,激光光源或其它类型的光源)投射到微流体装置100中的不同光图案216而在腔室110的内表面120处的很多不同的这种电极区域处选择性地激活和去激活吸引或排斥介质114中的微目标116的各个DEP电极的不同图案。

[0049] 在某些实施例中,电极激活基底208可以是光电导材料,并且内表面120可以是无特征的。在这些实施例中,可在腔室110的内表面120上的任何地方并以任何图案中形成DEP电极。多个实例在上述美国专利第7,612,355号中说明,其中,上述专利的附图所示的无参杂非晶硅材料24可以是可构成电极激活基底208的光电导材料的实例。

[0050] 在其它实施例中,电极激活基底208可包括诸如半导体材料的电路基底,半导体材料包括形成诸如半导体领域中已知的半导体集成电路的多个参杂层、电绝缘层以及导电层。在这些实施例中,电路元件可形成在腔室110的内表面120处的电极区域和第二电极210之间的电连接,第二电极210可通过改变光图案216的图案选择性地激活和去激活。当去激活时,每个电连接可具有高阻抗,使得从在腔室110的内表面120处的相对应的电极区域到第二电极210的电压降大于从第一电极204穿过介质114到相对应的电极区域的电压降。然而,当通过光图案216中的光激活时,每个电连接可具有低阻抗,使得从在腔室110的内表面120处的相对应的电极区域到第二电极210之间的电压降小于从第一电极204穿过介质114到相对应的电极区域的电压降,这在如上所述激活了相对应的电极区域处的DEP电极。因此可通过光图案216在腔室110的内表面120处的很多不同的“电极”区域处选择性地激活和去激活吸引或排斥介质114中的微目标的DEP电极。电极激活基底208的这样的构造的非限制实例包括美国专利第7,956,339号的图21和22所示的基于光电晶体管的OET装置200。

[0051] 在某些实施例中,第一电极204可以是壳体102的上壁202的一部分,并且电极激活基底208和第二电极210可以是壳体102的下壁206的一部分,如图2大体示意。如图所示,上壁202和下壁206可限定腔室110,并且介质114可设置在腔室110的内表面120上。然而,上述不过是实例。在其它实施例中,第一电极204可以是下壁206的一部分,而电极激活基底208和/或第二电极210中的一个或两个可以是壳体102的上壁202的一部分。作为另一实例,第一电极204可以与电极激活基底208和第二电极210是同一壁202或206的一部分。例如,电极激活基底208可包括第一电极204和/或第二电极210。此外,光源214可替代地位于壳体102的下方,并且/或成像装置220和光源214可替代地位于壳体102的同一侧上。

[0052] 如所提到的,在本发明的某些实施例中,每个围栏112的部分或全部可以是“虚拟的”,如本文所使用的,这意味着围栏112的部分或全部包括来自在腔室110的内部表面120的电极区域处的激活的DEP电极的DEP力(如上所述)而不是物理屏障。

[0053] 图3(其示出壳体102的部分的局部俯视图)示出了图1A-1C的装置100的实例,其中,围栏112(其在图3中标注为302)是根据本发明的某些实施例的虚拟围栏302。图3中的虚拟围栏302可通过例如构造成图2的OET装置的电极机构108在腔室110中形成。即,虚拟围栏302可包括在腔室110的内表面120处的激活的DEP电极的图案。虽然每个围栏302中示出了一个微目标116,但可替代地在每个围栏中存在一个以上的微目标116。

[0054] 如图3所示,可在流动路径126中提供通过腔室110的介质114的流314。如图3所示,

每个围栏302可将该围栏302中的微目标(多个微目标)116与其它围栏302中的微目标116隔离开。然而,介质114的流314可以是提供至围栏302中的一些或全部以及因此围栏302中的微目标116的公共流314。如图3所示地构造,每个围栏302可因此使该围栏302内侧的微目标(多个微目标)116与该围栏302的外侧的微目标116,包括在其它围栏302中的微目标116,隔离开,并且因此防止来自特定的围栏302的外侧的微目标116与该特定的围栏302内侧的微目标(多个微目标)混合,同时允许介质114的公共流314流入(通过对流)和流出多个围栏116,并因此例如供应营养物质并从多个围栏116中的微目标116运走废弃物。

[0055] 虚拟围栏302可包括在如图2所示通过光源214投射到微流体装置100的壳体102中的光图案216中的光围界。图2的OET装置的光源212可构造有频率,该频率致使限定每个围栏302的光围界排斥微目标116,从而每个围栏302将微目标保持在该围栏302内侧。此外,通过改变投射到壳体102中的光图案216,虚拟围栏302中的一个或多个可被移动、扩张或收缩、去掉等。

[0056] 如图3所示,图2中描绘的OET装置还可形成光阱304(例如,笼),其捕集微目标116以选择和移动微目标116。光阱304可例如是捕集微目标116的光笼。图2中的光源212的频率可以是这样的,即,使得光阱304排斥所选择的微目标116。可因此通过在电极激活基底208上移动光阱304而在腔室110中移动微目标116。检测器220可捕捉通道110(例如,流动路径126)中的微目标116的图像,通道110可以是公共空间的实例。微目标116中的具体期望的个别微目标可因此被识别并通过(例如,构造为图2的OET装置的)选择器118选择,例如,通过光阱302、412,如下参照图3和4讨论。检测器220和(例如,构造为图2的OET装置的)选择器118可因此是确定性地选择或放置微目标116中的一个或多个的装置的实例。

[0057] 虽然图3中示出为方形,但是围栏302可替代地是其它形状。例如,围栏302可以是圆形、椭圆形、矩形、三角形等。此外,围栏302不必完全封闭。例如,围栏302中的任何围栏可具有开口308,如图3中的围栏302所示意。虽然被示出为圆形,但光阱304可以是其它形状,诸如方形、椭圆形、矩形、三角形等。此外,围栏302可以有不同尺寸并且可以不同的定向设置。

[0058] 图4(其示出了壳体102的部分的局部俯视剖视图)示出了图1A-1C的装置100的构造的另一实例。在图4所示的构造中,围栏112(在图4中标记为402)可以是全部物理的或既有物理的又有虚拟的。例如,如图所示,每个围栏402可包括物理屏障404(例如,作为壳体102的部分),所述物理屏障404可限定围界406或是围界406的一部分,围界406具有与通过腔室110的介质114的流314流体连通(例如,接触)的开口408。

[0059] 大体如参照图3所述,可在流动路径126中提供通过腔室110的介质114的流314。每个围栏402可将该围栏402中的微目标(多个微目标)116与其它围栏302中的微目标116隔离开。例如,每个围栏302可防止该围栏302外侧的任何微目标116与该围栏302内侧的微目标116中的任何微目标混合。然而,介质114的流314可以是提供至全部围栏402以及因此围栏402中的全部微目标116的公共流314。然而,围栏402可构造成使得来自流314的第一介质122并不直接流入围栏402中的任何围栏,但围栏402的结构可允许来自流314的第一介质122与围栏402的第二介质124的扩散混合。

[0060] 例如,每个围栏402的屏障404可成形并定向成阻止来自流动路径126中的流314的第一介质122直接流入到围栏402中。例如,每个围栏402可成形并定向成使得物理屏障404

的一部分直接面对流314的方向,而没有开口(例如开口408)直接面对流314的方向。在图3所示的实例中,围栏402中的每个因此阻止来自流动路径126中的流314的第一介质122直接流入到围栏402中。

[0061] 作为另一实例,屏障404可成形并定向成阻止来自流动路径126中的流314的第一介质122对流流入到围栏402中。然而,每个围栏402可成形并定向成允许来自流动路径126中的流314的第一介质122与围栏402内侧的第二介质424的基本上仅扩散混合。例如,每个围栏402可包括成形并定向成允许这样的扩散混合的开口。

[0062] 然而,在某些实施例中,开口402可定向成开口408关于介质114的流314指向任何方向。同样如图所示,围栏402中的任何围栏可包括物理屏障和虚拟部分。例如,在某些实施例中,可在物理屏障404中的一个或多个的开口408处形成或移除包括在腔室110的内表面120上的相邻激活DEP电极的虚拟门410,以使围栏402选择性地完全封闭,如图4大体示意。虚拟门410可对应于投射到电极激活基底208上的光图案214中的光。(参见图2。)

[0063] 同样如图4所示,围栏402中的一个或多个包括一个以上的这样的虚拟门410。例如,如图所示,围栏402a包括进入围栏402a的一个以上的开口408a、408b,并且可在每个这样的开口408a、408b处存在虚拟门410a、410b。在操作中,微目标116可在第一虚拟门410a关掉时通过第一开口408a移动到围栏402a中,并且微目标116可稍后在第二虚拟门410b关掉时通过第二开口408b移出围栏402a。

[0064] 可通过构造为图2的OET装置的电极机构108在腔室110的表面120上形成光阱412(其可与光阱304类似或相同)。光阱412可形成为捕集微目标116以选择微目标116。图2中的电源212的频率可以是这样的,即,使得光阱412排斥所选择的微目标116。因此可通过在光电导层308上移动光阱412而在腔室110中移动微目标116。例如,可通过形成捕集微目标116的光阱412并接着在内表面102上移动光阱412来选择微目标116并将微目标116移动到围栏402中和/或移出围栏402。

[0065] 虽然图4中示出为部分方形,但围栏402可替代地是其它形状。例如,围栏402可以是部分圆形、椭圆形、矩形、三角形等。光阱412可类似地具有除了所示的圆形外的其它形状。

[0066] 类似围栏302和402,围栏112在某些实施例中也可构造成阻止来自流动路径126中的公共流的第一介质122直接(例如对流)流入到围栏112中,而允许来自流动路径126中的公共流的第一介质122与围栏112内侧的第二介质的基本上仅扩散混合。

[0067] 然而,壳体102不必构造具有用于介质114的单个公共空间。而是,壳体102可包括容纳介质114并且介质114可流动通过的一个或多个互连腔室、通道等。图5A-7示出了实例。

[0068] 如图5A和5B中所示,装置100的壳体102(参见图1A-1C)可包括基部(例如,基底)502,一个或多个显微流体结构500被设置在该基部502上。基部502可包括例如如以上参照图2所述的下壁206,并且显微流体结构500的顶表面的全部或部分可包括上壁202,该上壁206包括上述任何变型。

[0069] 如图所示,显微流体结构500可包括通道504和围栏506,围栏506中的每个可包括围界510和至通道504的开口508。如图所示,围栏506和通道504可离基部502相同的高度或不同的高度。通道504和围栏506可对应于图1A-1C和2的腔室110,而基部502的表面522可对应于图1A-1C和2的腔室110的内表面120。因此,在其中壳体102包括基部502和图2的OET装

置的本发明的实施例中,可根据在基部502的表面522处的而不是腔室110的内表面120处的光图案216激活和去激活DEP电极。

[0070] 可(例如,使用如上所述的检测器220和选择器118)确定性地选择一个或多个微目标116并将该一个或多个微目标116从通道504(其可以是公共空间和/或流动路径的实例)通过开口508移动到围栏506的围界510中。微目标116然后可将微目标(多个微目标)保持在围栏506中一个时段。每个围栏的开口508和围界510的大小可设置并构造成,并且通道504中的介质114的流520的流量可以是这样的,即,使得流520在围界510内侧形成几乎没有至没有的明显对流。一旦被放置在围栏506中,微目标(多个微目标)116就因此趋于停留在围栏506中,直到被从围栏506主动移除。通过在通道504中的介质114和围界510之间的开口508的扩散可提供用于围栏506中的微目标(多个微目标)116的营养物质从通道504到围界510中的流入以及来自微目标(多个微目标)116的废弃物从围界510到通道504中的流出。

[0071] 围栏506可构造成使得通道504中的流520中的第一介质122不直接流入围栏506中的任何围栏,但围栏506的结构允许来自流520的第一介质122通过围栏506中的开口508与围栏506内侧的第二介质124扩散混合,大体如上所论述。

[0072] 通道504和围栏506可以是物理结构,如图5A和5B所示。例如,显微流体结构500可包括柔性材料(例如,橡胶、塑料以及弹性体、聚二甲硅氧烷(“PDMS”)等),所述柔性材料在某些实施例中还可以是可透气的。或者,显微流体结构500可包括包含刚性材料的其它材料。虽然示出一个通道504和三个围栏506,但显微流体结构500可包括一个以上的通道504和多于或少于三个的围栏506。如图5B所示,可以可选地形成和移除虚拟门512,从而关闭和打开围栏506中的每个围栏的开口508。可通过激活在基部502的表面522处的DEP电极来形成这些虚拟门512,大体如关于内表面120所述。

[0073] 虽然通道504和围栏506在图5A和5B中示出为物理的,但通道504和围栏506可替代地是虚拟的。例如,通道504和/或围栏506中的全部或部分可通过激活在基部502的上表面522处的DEP电极来形成,大体如上所述。

[0074] 在图6A和6B所示的实例中,装置100的壳体102(参见图1A-1C)可包括图5A和5B的基部502和设置在基部502的表面522上的显微流体结构602。如图6B可看见,显微流体结构602可包括围栏结构612,该围栏结构612可包括围栏606。每个这样的围栏606可包括围界610,微目标116可放置在该围界610中并保持一段时间。同样如图6B所示,显微流体结构602可限定通道604,并且每个围栏606的开口608可与在通道604中的一个通道中的介质114流体连通(例如接触)。

[0075] 可确定性地选择一个或多个微目标116(如上所述)并将该一个或多个微目标116从其中一个通道604(其可以是公共空间和/或流动路径的实例)通过开口608移动到围栏606的围界610中。接着微目标(多个微目标)116可被保持在围栏606中一段时间。此后,微目标(多个微目标)116可通过开口608从围界610移动到通道604中。通道604中的介质114的流620可使微目标116在通道604中移动。

[0076] 由于围栏606的开口608与通道604流体连通,所以通道604中的介质114的流620可提供营养物质至围栏606中的微目标116并在微目标116被保持在围栏606中的时段期间允许来自微目标116的废弃物流出。通道604中的流620可因此构成介质114至围栏606的公共流,围栏606类似围栏506,可另外物理上分开并隔离微目标116。

[0077] 围栏606可构造成使得通道604中的流620中的第一介质122并不直接流入围栏606中的任何围栏,但围栏606的结构允许来自流620的第一介质122通过围栏606中的开口608与围栏606内侧的第二介质124扩散混合。例如,围栏606可以是物理的(而不是虚拟的),并且围栏606的开口608可沿任何方向定向,只要没有开口608的部分直接面对流620即可。因此围栏606可阻止第一介质122直接流入围栏606。

[0078] 围栏606可以是如图6B所示的物理结构。例如,显微流体结构600可包括以上关于图5A和5B的显微流体结构500所述的材料中的任何材料。虽然图6B中示出了两个通道604和十二个围栏606,但显微流体结构602可包括多于或少于两个通道604和多于或少于十二个围栏606。虽然未示出,可以可选地在围栏606中的一个或多个的开口608处形成类似图5B的门512的虚拟门。

[0079] 虽然包括围栏结构612的显微流体结构602在图6A和6B中示出为物理的,但结构602的所有部分可替代地是虚拟的,并因此通过激活在基部502的表面522处的DEP电极来产生,如以上关于内表面120所述。例如,围栏结构612的全部或部分可以是虚拟的,而不是物理的。

[0080] 除了通道704(其可以是流动路径126的实例)设置在围栏结构712之间外,图7类似于图6B,如图所示。另外地,每个围栏706可类似于每个围栏606。例如,每个围栏706可包括围界710,微目标116可被放置并保持在围界710中。同样如图7所示,每个围栏706的开口可与通道704中的介质114流体连通(例如,接触)。可确定性选择(如上所述)一个或多个微目标116并将该一个或多个微目标116从通道704(其可以是公共空间的实例)通过开口708移动到围栏706的围界710中,微目标(多个微目标)116可被保持在围界710中一段时间。此后,微目标(多个微目标)116可从围界710通过开口708移动到通道704中。通道704中的介质114的流720可使微目标116在通道704中移动。可替代地或此外,可通过DEP力、离心力等移动微目标116。

[0081] 由于围栏706的开口708与通道704流体连通,所以通道中的介质114的流720还可在微目标116被保持在围栏706中的时段期间提供营养物质至围栏706中的微目标116并提供来自微目标116的废弃物的流出。通道704中的流720可因此构成介质114至围栏706中的全部围栏的公共流。

[0082] 围栏706可构造成使得通道704中的流720中的第一介质122并不直接流入围栏706中的任何围栏,但围栏706的结构允许通道704中的第一介质122通过围栏706中的开口706与围栏706中的第二介质124扩散混合。例如,围栏706可以是物理的,并且可定向成使得没有围栏706的开口直接面对流720。

[0083] 虽然图7中示出了一个通道704和十二个围栏706,但可存在更多或更少。虽然未示出,可以可选地在围栏708中的一个或多个的开口706处形成类似图5B的门512的虚拟门。虽然显微流体结构712在图7中示出为物理的,但围栏结构702中的全部或部分可替代地是虚拟的,并因此通过激活在基部502的表面522处的DEP电极来形成,如以上关于内表面120所述。

[0084] 图5A-7所示的围栏506、606、706(或本文所公开的任何围栏)的形状和构型仅是实例,但这些围栏506、606、706(或本文所公开的任何围栏)可采用其它形状和/或构型。例如,围栏506、606、706中的任何围栏(或本文所公开的任何围栏)可以是圆形、椭圆形、三角形

等,而不是方形或矩形。作为其它实例,围栏506、606、706中的任何围栏(或本文所公开的任何围栏)可由图8A-10所示的围栏806、826、906、926替代。

[0085] 如图8A所示,围栏可包括小于围界810(例如,对应于围界510、610、710)的全宽的开口812(例如,对应于开口506、606、706)。同样如图8A所示,围栏806可包括一个或多个第二开口814(示出一个,但可存在更多)。开口812可大于微目标116(在图8A中未示出),并且第二开口814可小于微目标116。第二开口814可允许例如介质114(在图8A中未示出)流入或流出围栏806。例如,介质114可通过开口812流入围栏806并通过第二开口814流出围栏806。同样如图8A所示,围栏的壁不必具有相同的厚度。

[0086] 如图8B所示,围栏826可包括内壁834,该内壁834从开口832(例如,对应于开口508、608、708、812)延伸,以形成在围界840(例如,对应于围界510、610、710)内的内容纳空间836。

[0087] 如图9所示,围栏906可包括一个或多个另外的围栏916(示出一个但可存在更多)。例如,包括开口922和围界920的一个或多个第二内围栏916(示出一个但可存在更多)可设置在外围栏906的围界910内侧,该外围栏906可包括开口912。一个或多个微目标116(在图9中未示出)可设置在每个内围栏916和外围栏906的围界中。

[0088] 如图10所示,(包括开口932和围界930的)围栏926可包括由内部壁934隔开的多个保持空间936(虽然示出三个,但可存在更多或更少)。一个或多个微目标114(在图10中未示出)可设置在每个保持空间936中。例如,不同类型的微目标116可设置在每个保持空间936中。

[0089] 本文所公开的围栏中的任何围栏可构造成类似或具有图8A-10所示的围栏806、826、906、926的特征中的任何特征。

[0090] 不管围栏的构造如何,可通过各种机构中的任何机构确定性地选择微目标116并将该微目标116从通道504、604、704中的流520、620、720移动到图5A-7中的围栏506、606、706(包括图8A-10所示的围栏506、606、706的变型)中。图11A-12B示出了其中图2的OET装置用于该目的的实例。在图11A-12B中,通道1104可以是通道504、604、704中的任何通道;围栏1106可以是通道506、606、706中的任何围栏;并且介质114的流1120可以是图5A-7中的流520、620、720中的任何流。

[0091] 如图11A所示,可通过形成捕集微目标116的光阱1108(例如,类似光阱304)在通道1104中的流1120中确定性地选择微目标116,这可将微目标116捕集在光阱1108中。如图11B所示,可接着将光阱1108从通道1104移动到围栏1106中,在该围栏1106中,微目标116可从光阱1108释放。光阱1108可类似光阱304、412并可以以与如上所述地在内表面120上形成并移动光阱304、412的相同方式通过图2的OET装置在基部502的表面522上形成并移动。

[0092] 如图12A所示,通过在通道1104中的微目标116的路径中形成虚拟屏障1208,可在通道1104中的流1120中确定性地选择微目标116。如图12B所示,虚拟屏障1208可使微目标116偏转到围栏1106中。虚拟屏障1208可通过使用图2的OET装置激活在基部502的表面522上的DEP电极来形成,大体如上所述。一旦所选择的微目标116被偏转到围栏1106中,就可从通道1104移除虚拟屏障1208。

[0093] 如上所述,微目标116可被容纳在本文所公开的围栏中的任何围栏中一段时间,在这一段时间之后,微目标116可从围栏移除。在某些实施例中,微目标116可以以图11A-12B

所示的方式中的任何方式从围栏移除。

[0094] 例如,可在围栏1106中形成捕集微目标116的光阱1108,并且可使该光阱1108离开围栏1106移动到通道1104中,这是图11A和11B所示的过程的逆过程。一旦在通道1104中,光阱1108可去掉,以将微目标116释放到通道1104中的介质114的流1120中。

[0095] 作为另一实例,可在围栏1106中形成类似于图12A和12B所示的屏障1208的虚拟屏障,以轻推微目标116离开围栏1106进入通道1104中的介质114的流1120中。上述是图12A和12B所示的过程的逆过程。

[0096] 作为又一实例,本文所公开的物理围栏中的任何物理围栏可构造成类似上述美国专利申请系列号13/856,781(律师档案号BL1-US)所公开的输出机构800。在这种构造中,围栏可构造成类似上述专利申请中的挤出机构804,并且可提供类似上述专利中的击打机构的击打机构来从围栏挤出微目标116。

[0097] 图13A和13B示出了微流体装置1300,该微流体装置可以是图1A-1C的装置100的实例,其中基部502和显微流体结构1302是壳体102的实例,腔室1308是腔室110的实例,入口1314是入口104的实例,出口1316是出口106的实例,并且围栏1306是围栏112的实例。(与图1A-1C相比较)

[0098] 如图13A和13B所示,装置1300可包括设置在基部502(以上参照图5A和5B描述了该基部502)上的显微流体结构1302。如图13B中可看见,显微流体结构1302和基部502可限定用于介质114和微目标116的腔室1308。具有微目标116的介质114可通过入口1314输入到腔室1308中,并通过出口1316从腔室1308输出。因此可从入口1314到出口1316在腔室1308中提供介质114的流1320。入口1314和出口1316可与如上所述的图1A-1C的入口104和出口106相同或类似。通道1304是介质114的流动路径和/或公共空间的实例。

[0099] 同样如图13B所示,换气器1310和围栏1306的阵列1312以及通道1304可在入口1314和出口1316之间并因此在介质114的流1320中设置在腔室1308中。介质114的流1320可因此从入口1314,经过换气器1310、经过围栏阵列1312的通道1304,并离开出口1316。替代地,入口1314可位于换气器1310和围栏1304之间,并且因此换气器1310可位于入口1314的上游。

[0100] 通道1304和围栏1306可以类似本文所述的通道和围栏中的任何通道和围栏。例如,通道1304可类似通道504、604、704、1104、1304中的任何通道,包括上述那些通道的任何变型,并且围栏1306可类似围栏112、302、402、506、606、706、806、806、1106、1206中的任何围栏,包括上述那些围栏的任何变型。

[0101] 围栏1306的开口可与通道1304中的一个通道流体连通(例如,接触)。当微目标116(在图13A和13B中未示出)随介质114的流1320移动时,可在通道1304中选择微目标116中的一些微目标并将所述微目标移动到围栏1306中。可使用上述任何技术或机构(例如,通过类似光阱304、412、1108的光阱;通过类似屏障1208的虚拟屏障;或类似的)在通道1304中确定性地选择微目标116并移动到围栏1306中。介质114的流1320还可以是运送营养物质到围栏1306中的微目标116和提供来自围栏1306中的微目标116的废弃物的流出的公共流,其另外地可以使微目标116彼此隔离。此外,每个围栏1306可构造成使得通道1304中的流1320中的介质114(例如,图1B和1C所示的第一介质122)并不直接流入围栏1306中的任何围栏,但每个围栏130的结构可允许来自通道1304中的流1320的介质114与围栏1306中的介质114(例

如,图1B和1C所示的第二介质124)扩散混合,大体如上所述。

[0102] 图13B中的围栏阵列1312的构造只是实例。图14和15示出了可替代构造的实例。

[0103] 如图14所示,围栏阵列1400可包括多行围栏1402,并且围栏1402的开口可与单个通道1404流体连通(例如,接触)。围栏阵列1400和通道1404可替代图13B中的围栏阵列1312和通道1304,并且图13B中的介质114的流1320可通过通道1404。

[0104] 图15中的围栏阵列1500和通道1504也可替代图13B中的围栏阵列1312和通道1304。如图15所示,围栏阵列1500可包括具有与通道1504c直接流体连通的开口的多行围栏1502。多个第一分支通道1504b可将输入通道1504a连接至直接流经围栏1502的通道1504c。其它(第二)分支通道1504d可将通道1504c连接至输出通道1504e。图13B中的介质114的流1320可进入第一通道1504a、通过分支通道1504b到与围栏1502直接流体连通的通道1504c、通过其它分支通道1504d到第二通道1504e。

[0105] 图14和15中的通道1404和1504可类似如上所述的通道1304。围栏1402、1502可同样类似如上所述的围栏1306。通道1404、1504可以是公共空间和/或流动路径的实例。每个围栏1402、1502可构造成使得通道1404、1504中的流中的介质114(例如,图1B和1C所示的第一介质122)不直接流入围栏1402、1502,但每个围栏1402、1502的结构可允许来自通道1404、1504中的流的介质114与围栏1402、1502中的介质(例如,图1B和1C所示的第二介质124)扩散混合,大体如上所述。

[0106] 图16示出了用于处理围栏中的生物微目标的过程1600的实例。可使用上述微流体装置中的任何微流体装置或类似装置来实施该过程1600。例如,可使用微流体装置100和1300,包括上述那些装置(例如,如图2-12B、14和15所示)的任何变型,来实施过程1600。

[0107] 如图16所示,在步骤1602处,过程1600可将生物微目标装载到微流体装置中。例如,过程1600可通过入口104将介质114中的微目标116引入到图1A-1C的装置100的腔室110中。作为另一实例,过程1600可通过入口1314将介质114中的微目标116引入到图13A和13B的装置1300的腔室1308中。

[0108] 在步骤1604,过程可选择在步骤1602处装载的生物微目标中的个别微目标。例如,过程1600可选择具有特定特征的少于介质114中的微目标116中的全部的子集。可例如使用图2的成像装置220来监测微目标116。在步骤1604处,可确定性地选择具有具体所需特征的一个微目标116并将其装载到一个围栏中,使得步骤1604导致在多个围栏中的每个围栏中有一个且仅有一个微目标116。替代地,一个以上微目标116可装载到围栏中。

[0109] 在步骤1606处,过程1600可将步骤1604处所选择的微目标116放置到微流体装置的围栏中。例如,在步骤1606处,过程1600可使用上述技术中的任何技术将所选微目标116放置到围栏112、302、402、506、606、706、806、906、1106、1206、1306、1402、1502中。如上所述和全部附图所示,上述围栏可将微目标116物理上彼此隔开。即,每个围栏可将该围栏中的微目标116或多个微目标116与显微装置100、1300中的所有其它微目标116物理地隔开。在步骤1606处将所选微目标116放置在围栏中之后,过程1600可将微目标116保持在围栏中一段时间。

[0110] 在步骤1608处,过程1600可向围栏提供液体介质114的流。步骤1608可通过如所述地在腔室110、1308或通道504、604、704、1104中提供流314、314、520、620、720、1120、1320中的任何流来实现。应注意,在步骤1606处,通过被放置在物理隔开的围栏中,各个微目标116

可彼此物理隔离,但在步骤1608处,围栏中的那些微目标116可被提供相同的介质114的流。如上所述,围栏112、302、404、506、606、706、806、906、1106、1206、1402、1502可构造成阻止来自腔室110、1308或通道504、604、704、1104中的流314、314、520、620、720、1120、1320的介质114(例如,图1B和1C所示的第一介质122)直接流入围栏112、302、404、506、606、706、806、906、1106、1206、1402、1502,而允许来自流314、314、520、620、720、1120、1320的介质114(例如,图1B和1C所示的第一介质122)与围栏内侧的介质114(例如,图1B和1C所示的第二介质124)扩散混合。

[0111] 如所提到的,在步骤1606处放置到围栏中的微目标116可被保持在围栏中一时段,在该时段期间,步骤1608可对微目标116提供介质114的流,该介质114的流通过上述扩散混合可对围栏中的微目标116提供营养物质并提供来自微目标116的废弃物的流出。在步骤1610处,过程1600可监测围栏中的微目标116的一个或多个生物活性。这些生物活性的实例可包括克隆体产量、某些生物物质的分泌等。在步骤1610处的监测可以是在该时段内连续的、在该时段内周期性的,在该时段的结束处等。在步骤1610处的监测可以以适于分析微目标116的生物活性的任何方式实施。例如,在步骤1610处的监测可使用图2的成像装置220,利用在围栏中或邻近围栏的传感器(未示出)等来实施。

[0112] 在步骤1612处,过程1600可选择达到与在步骤1610处监测的生物活性或状态相关联的预定标准、阈值或条件的围栏中的微目标116。在步骤1612处选择的微目标116可从围栏移除以进一步处理或使用。例如,可使用上述任何技术或过程从围栏移除所选择的微目标116。作为另一实例,可通过用针状吸出器(未示出)刺穿壳体并用吸出器移除微目标116来从围栏移除一个或多个微目标116。具体受控数量的微目标116可例如通过选择并移除该数量的微目标116来移除,或如果微目标116是生物细胞,当被克隆的细胞的群体(colony)达到期望数量时移除全部细胞。

[0113] 在步骤1614处,过程1600可丢弃在步骤1612处未选择的微目标116,所述未被选择的微目标是未达到与在步骤1610处监测的生物活性或状态相关联的预定标准、阈值或条件的微目标116。

[0114] 图17示出了根据本发明的某些实施例的用于从单个母细胞繁殖克隆细胞的群体的示例过程1700。该过程1700可以是图16的过程1600的实例。例如,过程1700可在实施图16的步骤1602和1604之后开始;步骤1702-1706可在步骤1606和1608期间实施;步骤1708可以是步骤1610的实例;步骤1710可以是步骤1614的实例;并且步骤1712可以是步骤1612的实例。

[0115] 为了便于说明和讨论,以下将过程1700论述为通过构造有图2的OET装置以形成并操纵图3的虚拟围栏302的装置100来实施。然而,过程1700可通过其中围栏是虚拟围栏的装置100或装置1300的其它构造来实施。

[0116] 如图17所示,在步骤1702处,过程1700可处理围栏中的细胞。这种处理可包括将两个细胞融合成一个细胞,通过将生物载体注入到细胞中来转染细胞,等等。图18A-18C示出了实例。

[0117] 如图18A所示,两种不同类型的微目标116和1804可放置在腔室110中的介质114中。图2的OET装置可产生光阱1806、1808(例如,像光阱304)以选择第一细胞类型116中的一个和第二细胞类型1804中的一个。然后光阱1806和1808可移动成接触,使得第一细胞类型

116和第二细胞类型如图18B所示形成接触。这些成对细胞1810可接着经受将成对细胞1810融合在一起以形成如图18C所示的融合细胞1812的一次或多次处理(例如,融合化学制剂(例如,聚乙二醇(PEG),仙台病毒,刺穿其中一个细胞116、1804的薄膜、电场、压力等等)包含在流314中)。即,每个融合细胞1812可包括融合在一起的第一细胞类型116中的一个和第二细胞类型1804中的一个。光阱1806和1808可以类似并且可以类似包括其任何变型的如上所述的光阱304、412地形成和操作。

[0118] 同样如图18C所示,各个融合细胞1812可放置在虚拟围栏1814、1816、1818、1820中。虽然示出了四个围栏1814、1816、1818、1820,但可存在更多或更少。虚拟围栏1814、1816、1818、1820可与如上所述的图3的围栏302相同或类似。

[0119] 替代地,图18A中的成分1804可以是要转染成微目标116的细胞载体。在这种情况下,图18C中的每个细胞1812可以是用载体1804转染的微目标116中的一个。

[0120] 作为又一替代实施例,图18C中的细胞1812(不管是融合细胞还是转染细胞)可在另一装置中处理并然后放置到围栏1814、1816、1818、1820中。在这种替代实施例中,步骤1702不包括在图17的过程中。作为又一替代实施例,细胞1812可以是单个细胞而不是融合或转染细胞。

[0121] 再次参照图17,在步骤1704处,可在每个围栏1814、1816、1818、1820中从围栏中的细胞1812繁殖克隆体。这可通过将培养基包含在通过腔室114的流314中促进。在步骤1706处,围栏1814、1816、1818、1820可随克隆体在每个围栏中繁殖而扩大。图19示出了实例。如图19所示,随着每个围栏1814、1816、1818、1820中的细胞1812的数量增加,围栏1814'、1816'、1818'、1820'的大小可扩大以容纳每个围栏中的繁殖克隆体种群。

[0122] 在图17的步骤1708处,可以检查每个围栏1814、1816、1818、1820并且可以分析围栏中的克隆体繁殖。例如,粘结到克隆体的荧光标签(例如,当被刺激时或另外地发荧光的生物荧光复合物)可包含在通过腔室110的流314中。然后可分析每个围栏1814、1816、1818、1820发荧光的水平以确定每个围栏中的克隆体繁殖。

[0123] 在步骤1710处,其中克隆体1812以少于最小量繁殖(或另外地是不良的)的围栏1814、1816、1818、1820中的克隆体可被丢弃。图20示出了实例。为了图20所示的实例的目的,假设在步骤1710处,确定了图19的围栏1814'、1820'中的克隆体1812繁殖少于最小阈值量并将被丢弃。如图20所示,围栏可被去掉,以释放这些围栏中的克隆体1812。可简单地通过从射入图2的壳体102中的光图案216移除对应于围栏1814'、1820'的光而去掉围栏1814'、1820'。之前在围栏1814'、1820'中的当前被释放的克隆体1812可排出腔室110(例如,通过流314)并丢弃。

[0124] 如图17所示,步骤1704至1710可重复以继续在围栏1816'、1818'中繁殖克隆体1812。替代地,在步骤1712处,可从围栏1814'、1820'选择克隆体1812中的个别一些并作为子克隆体放置在新的围栏中,并且重复步骤1704至1710可以在新的围栏中繁殖、试验并丢弃缓慢繁殖的克隆体。图21示出了其中选择来自图20中的围栏1816'、1818'的个别子克隆体1812并且分别放置在新的围栏2102中的实例。新的围栏2102可以以如上所述地与形成和操作围栏1814、1816相同的方式来形成和操纵。可大体如上所述地(例如,利用类似图4的光阱304、412的光阱)选择并移动个别子克隆体1812。

[0125] 图22示出了过程2200,该过程2200是图17的过程1700的变型。

[0126] 如图22所示,一个或多个细胞可被保持在围栏中并分泌到围栏中。例如,如图18C所示,细胞1812可设置在每个围栏1814、1816、1818、1820中。替代地,在每个围栏1814、1816、1818、1820中可存在一个以上细胞1812。细胞1812可以是如以上参照图18A-18C所述的融合或转染细胞。替代地,细胞1812可以是简单细胞,而不是融合或转染细胞。

[0127] 在图22的步骤2204处,可以检查每个围栏1814、1816、1818、1820并且可以分析围栏中的细胞1812的生产率。例如,可从每个围栏1814、1816、1818、1820移除一个或多个细胞1812,并观察、试验等,以确定所移除的细胞的分泌生产率。

[0128] 在步骤2206处,其中细胞1812以小于阈值水平分泌的围栏1814、1816、1818、1820可被丢弃。这可大体如图20所示和如上所述地实现。即,含有低速生产细胞1812的围栏1814、1816、1818、1820可被去掉,并且该低速生产细胞1812大体根据以上图20的讨论地被洗掉。

[0129] 再次参照图22,步骤2202至2206可重复以继续使在剩余的围栏中的细胞1812分泌,以试验每个围栏中的细胞的分泌生产率,并丢弃低速生产围栏中的细胞1812。替代地,在步骤2208处,可选择高速生产细胞1812中的个别一些,并作为子细胞放置在新的围栏中(例如,大体根据图21所示的实例),并且步骤2202至2206可重复以使子细胞在其新的围栏中分泌,试验每个围栏中的子细胞的分泌生产率,并丢弃低速分泌围栏中的子细胞。

[0130] 虽然已经在本说明书中描述了本发明的具体实施例和应用,但这些实施例和应用仅是示例性的,并且能够有很多变型。

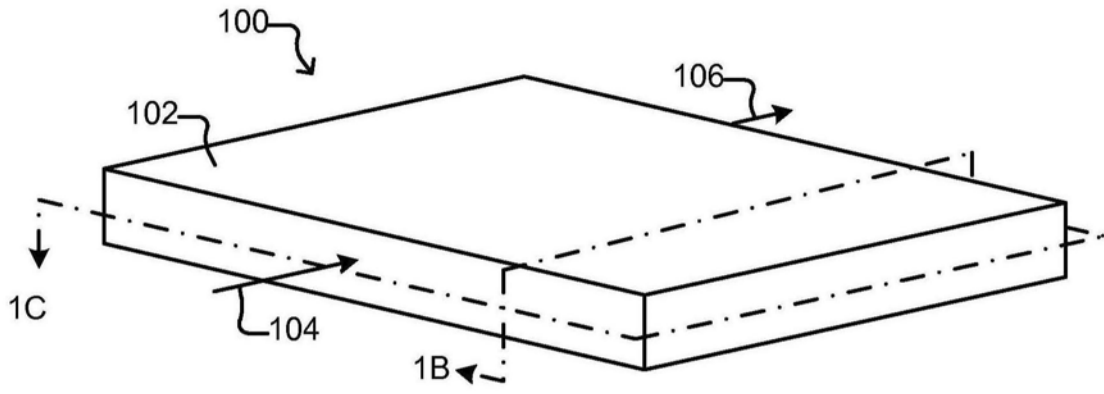


图1A

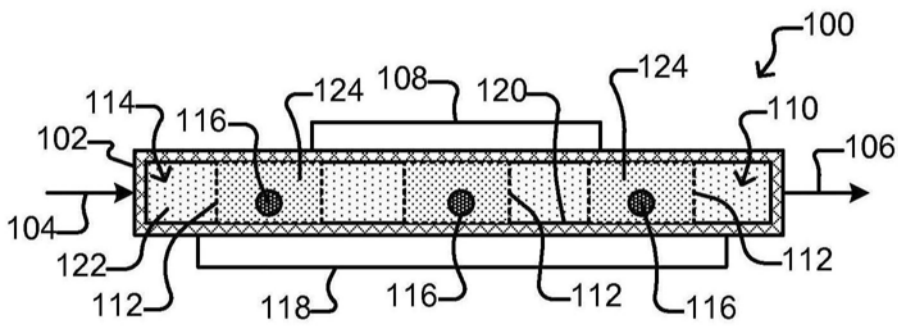


图1B

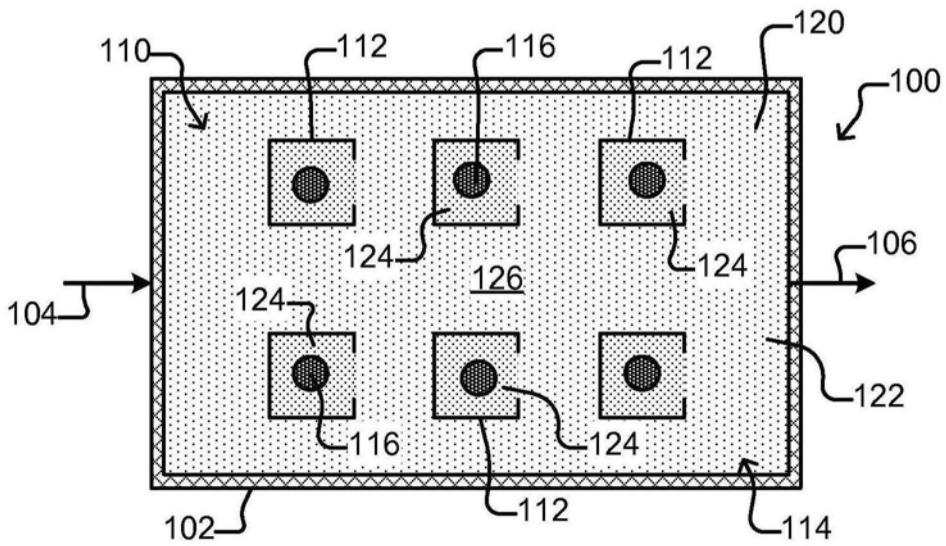


图1C

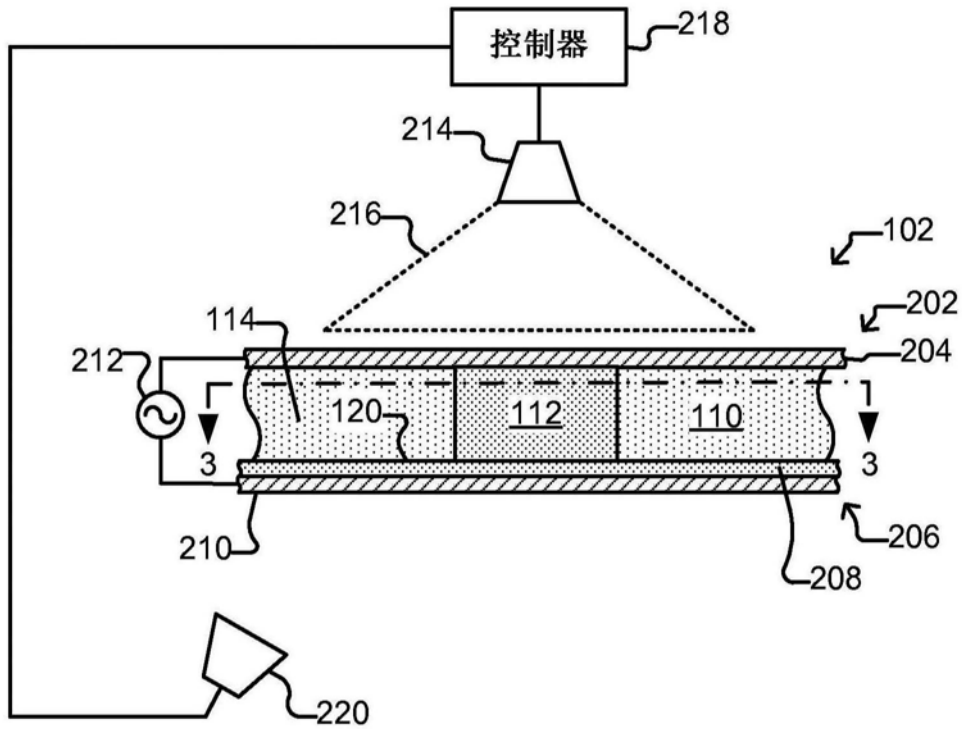


图2

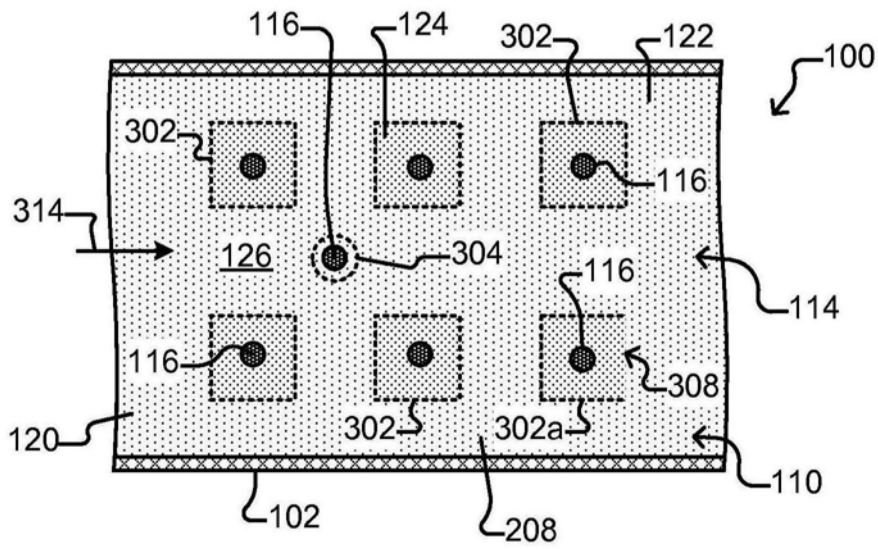


图3

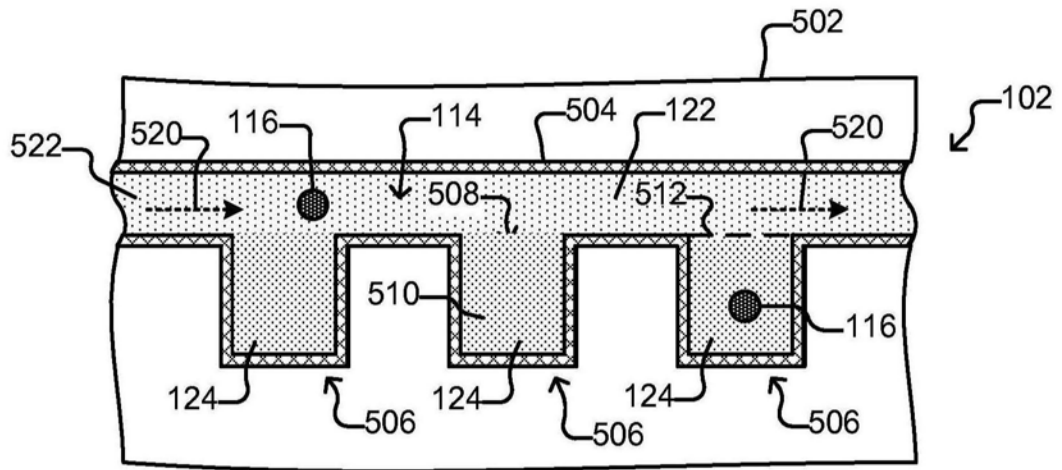


图5B

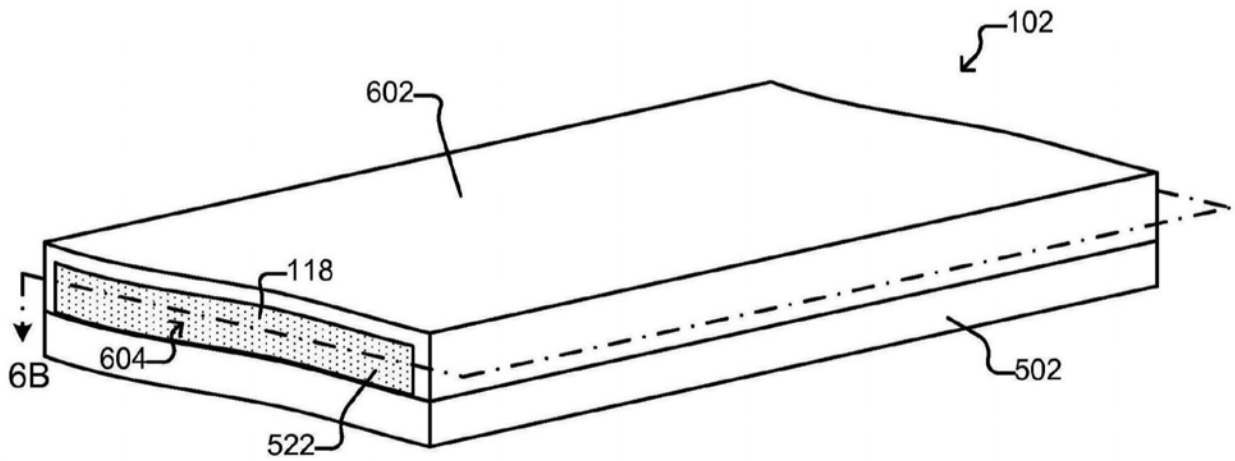


图6A

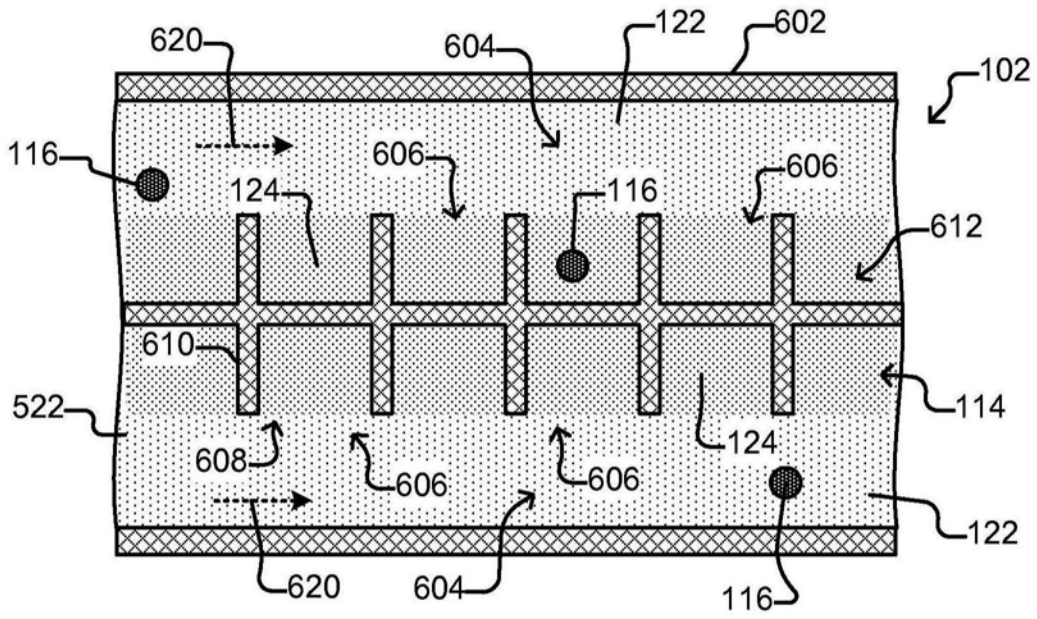


图6B

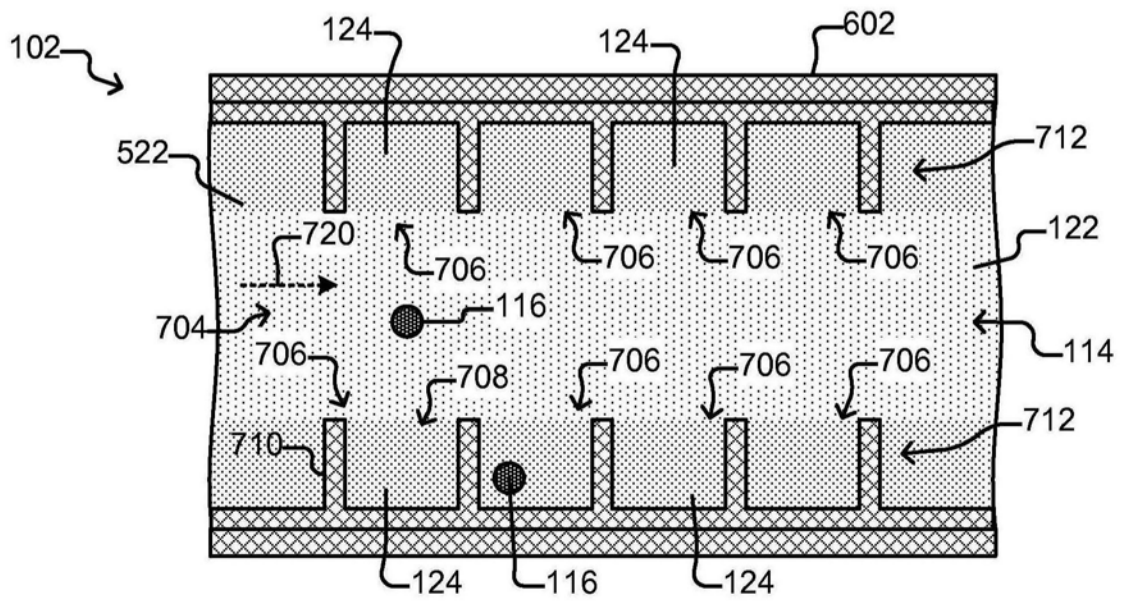


图7

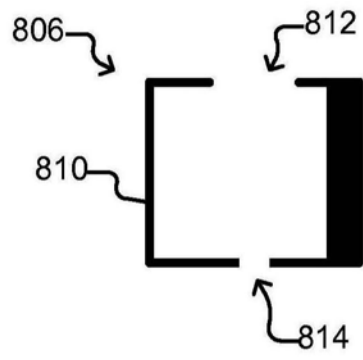


图8A

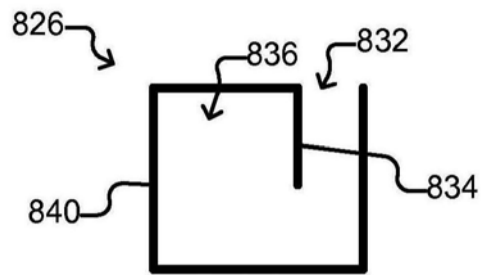


图8B

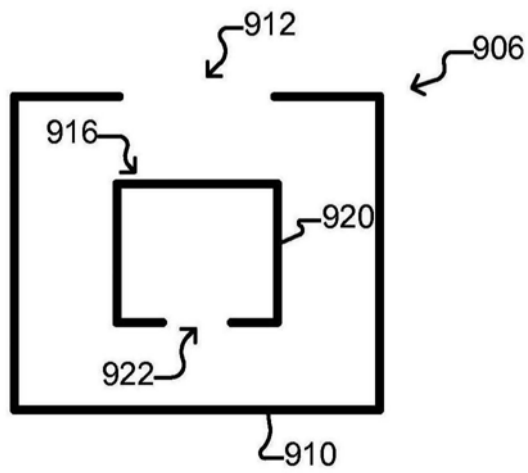


图9

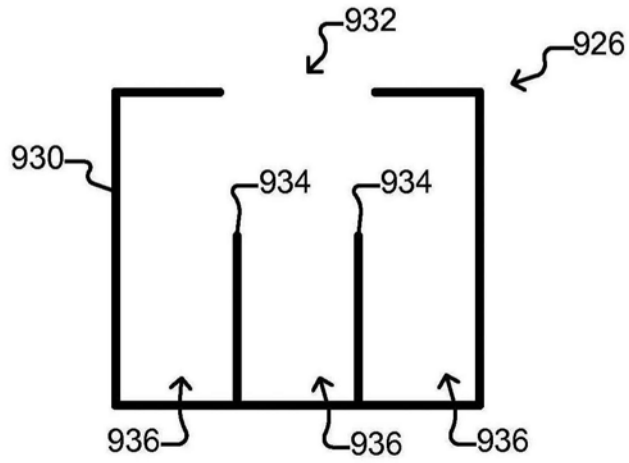


图10

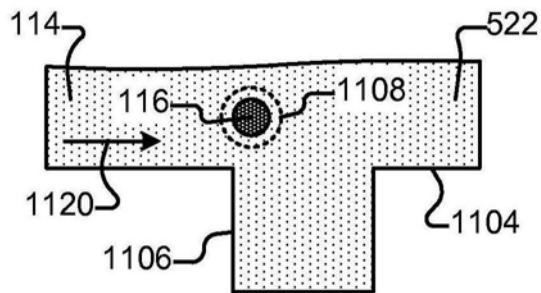


图11A

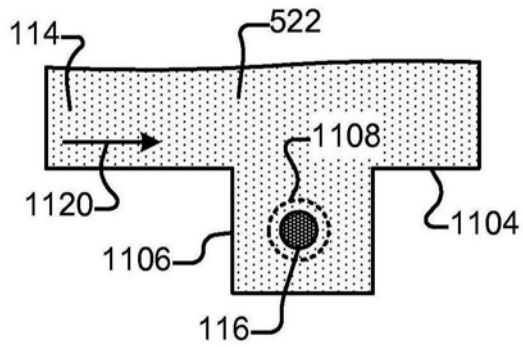


图11B

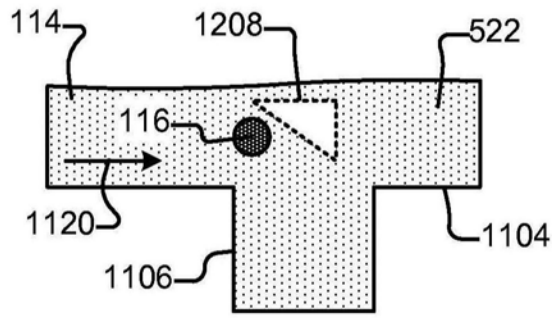


图12A

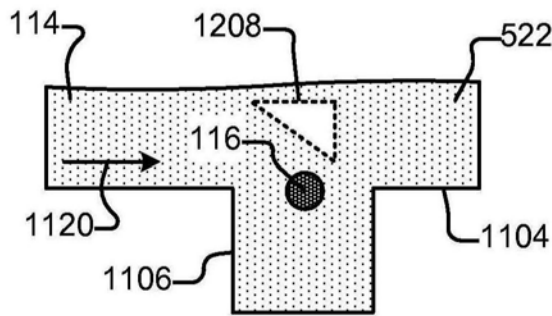


图12B

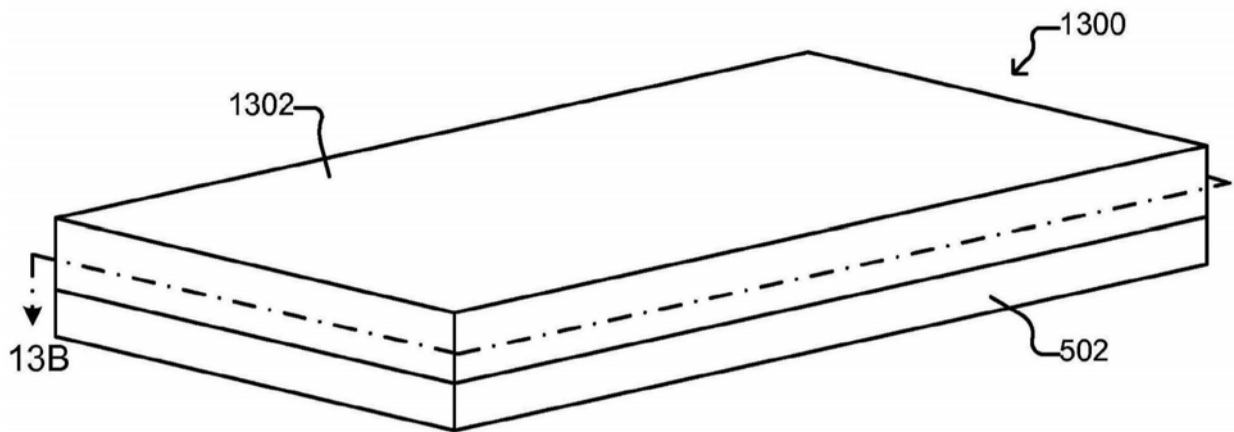


图13A

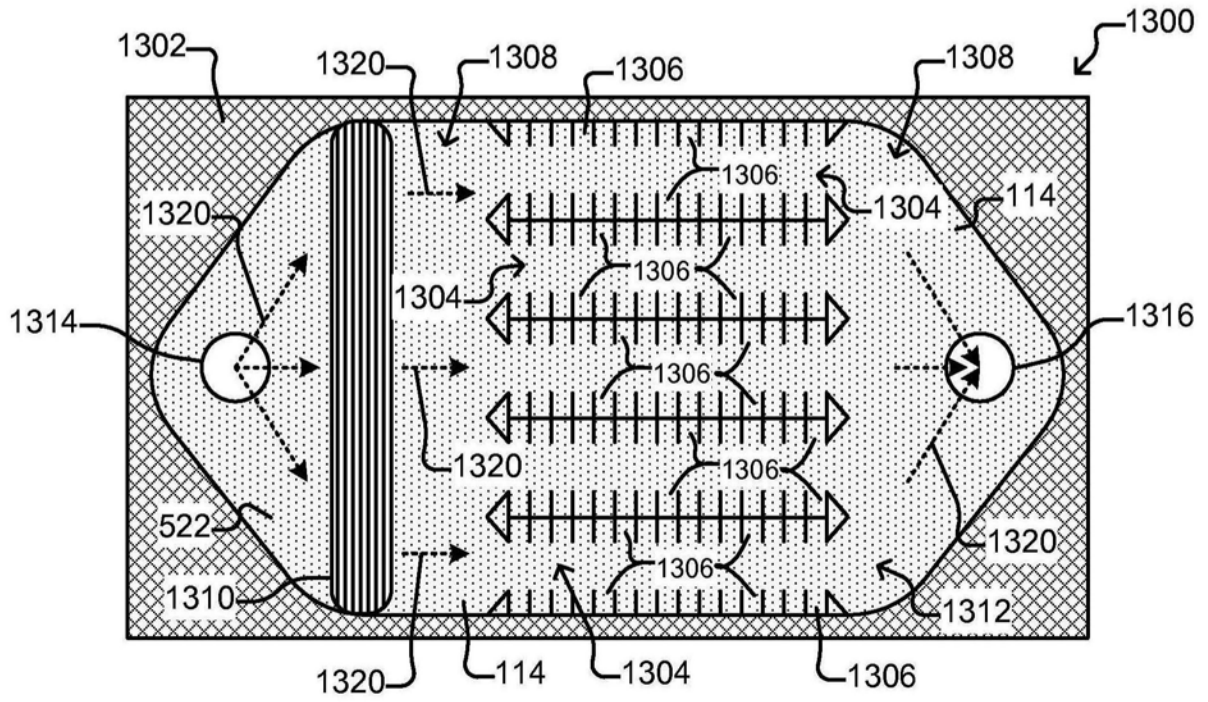


图13B

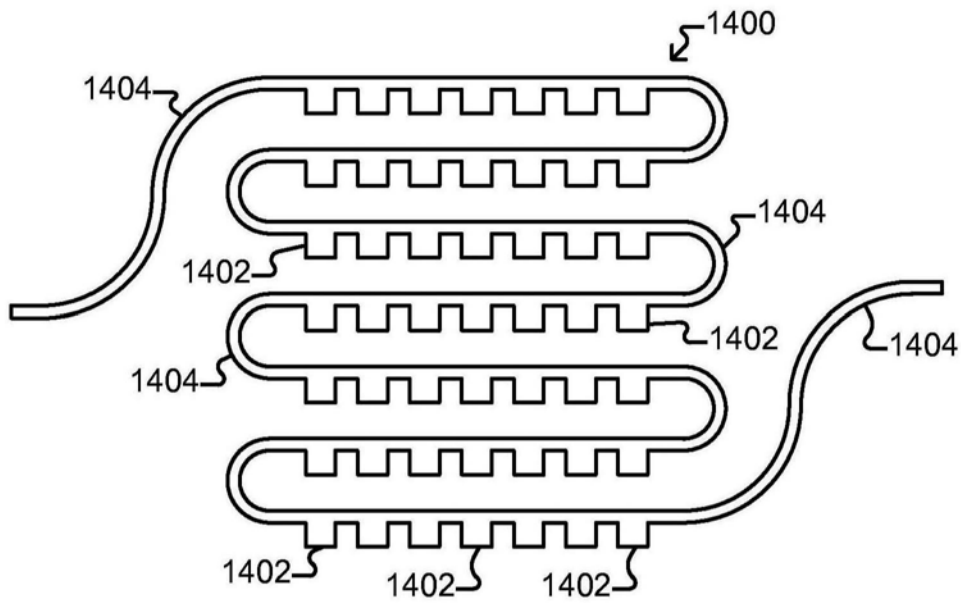


图14

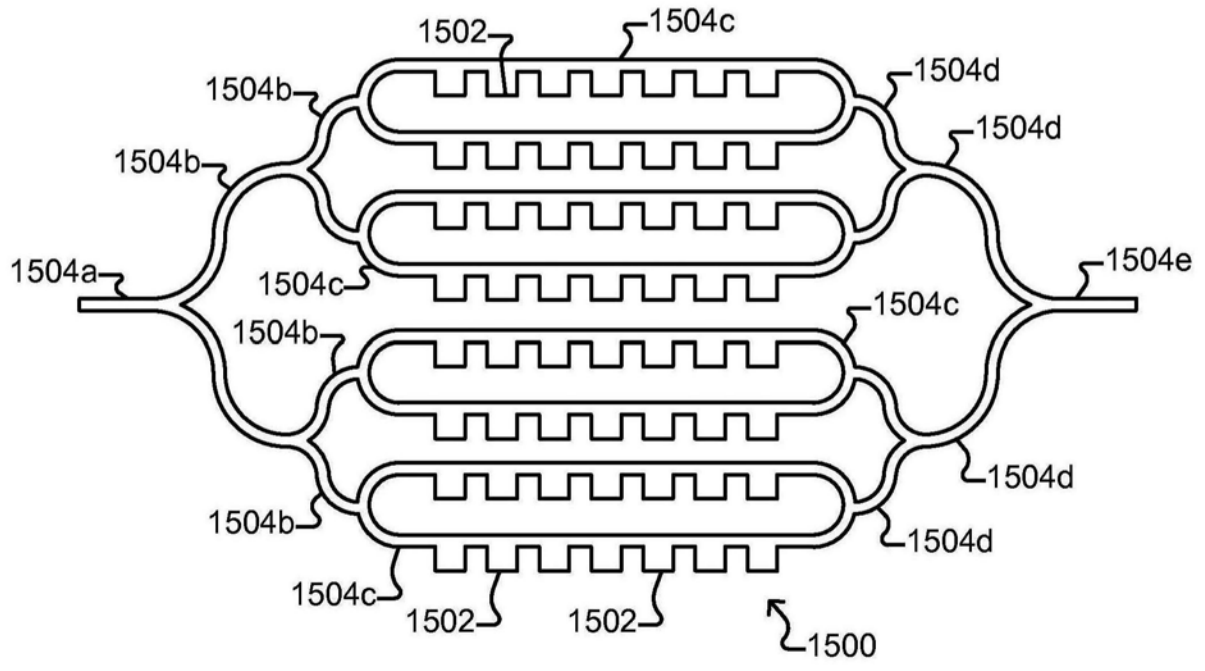


图15

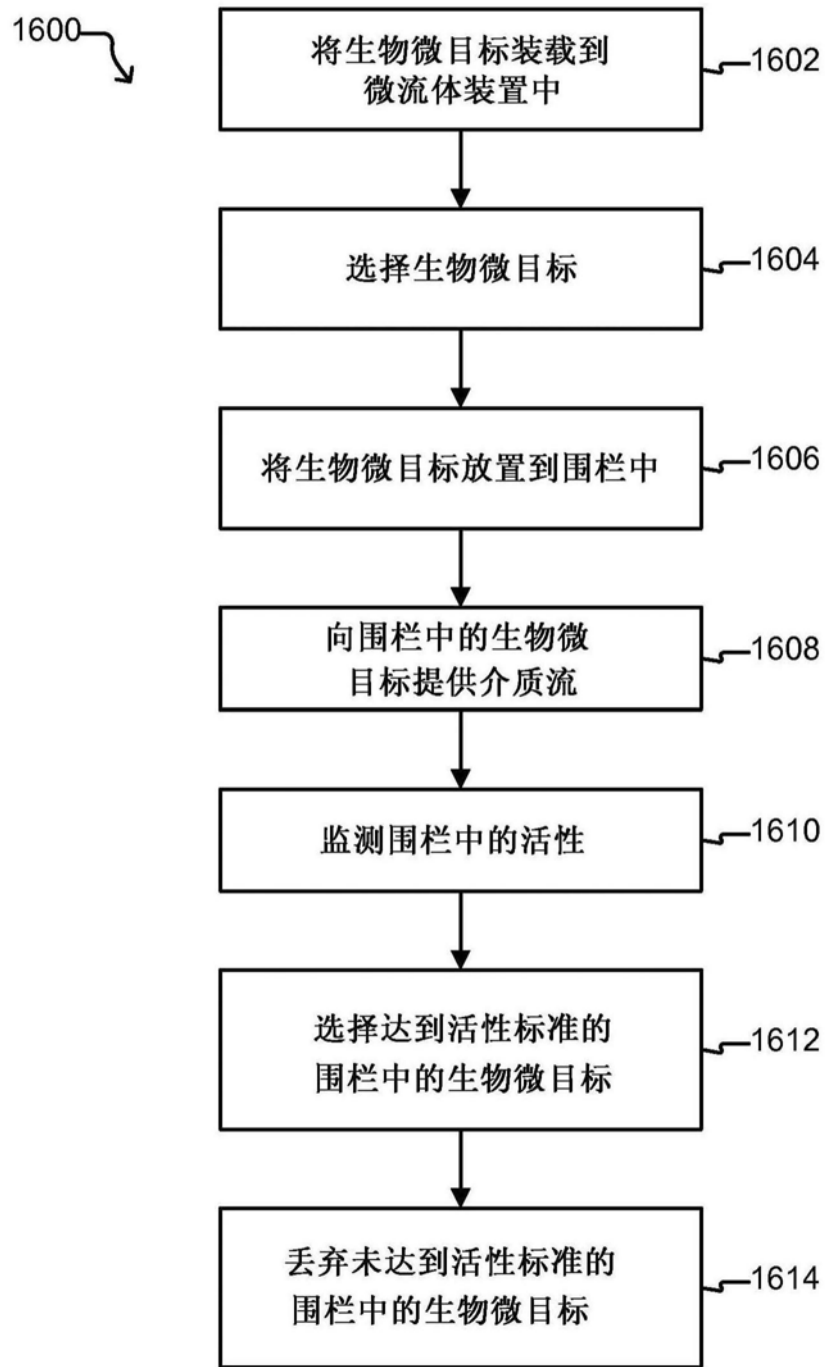


图16

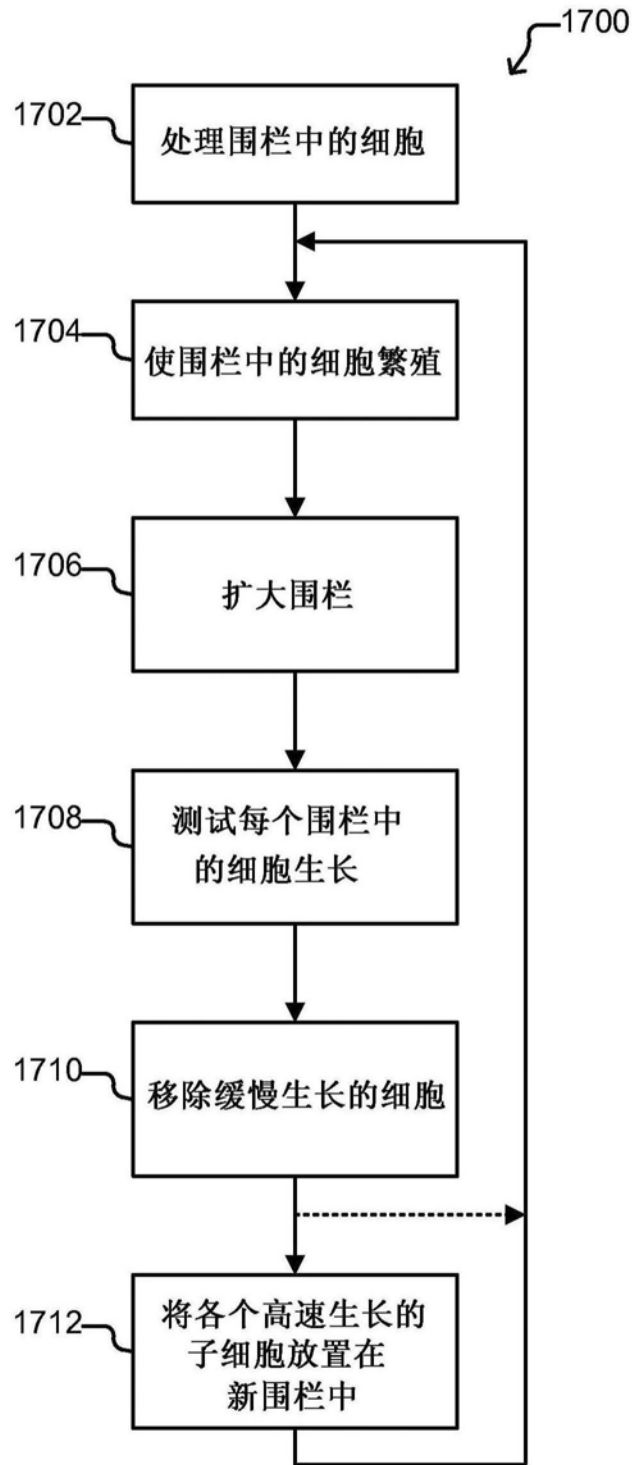


图17

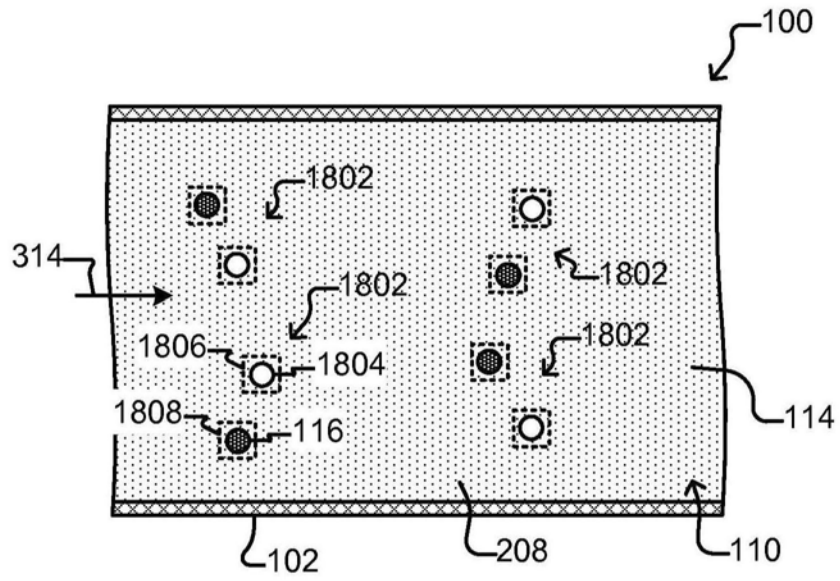


图18A

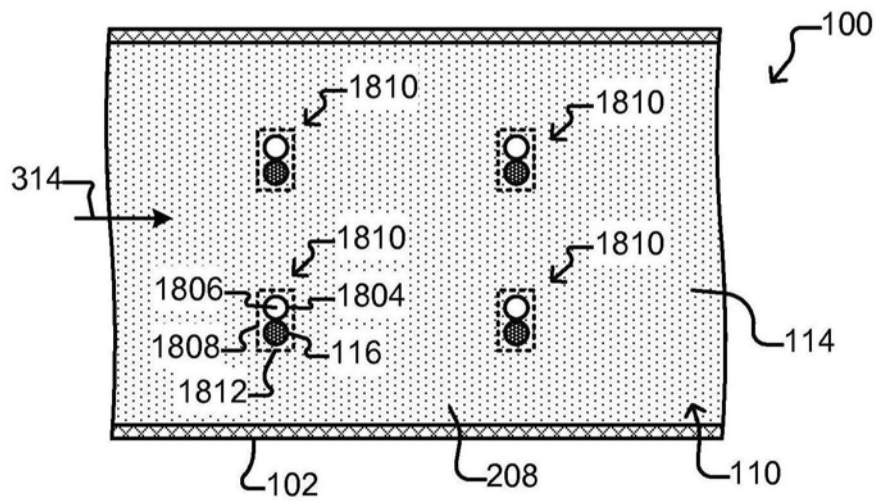


图18B

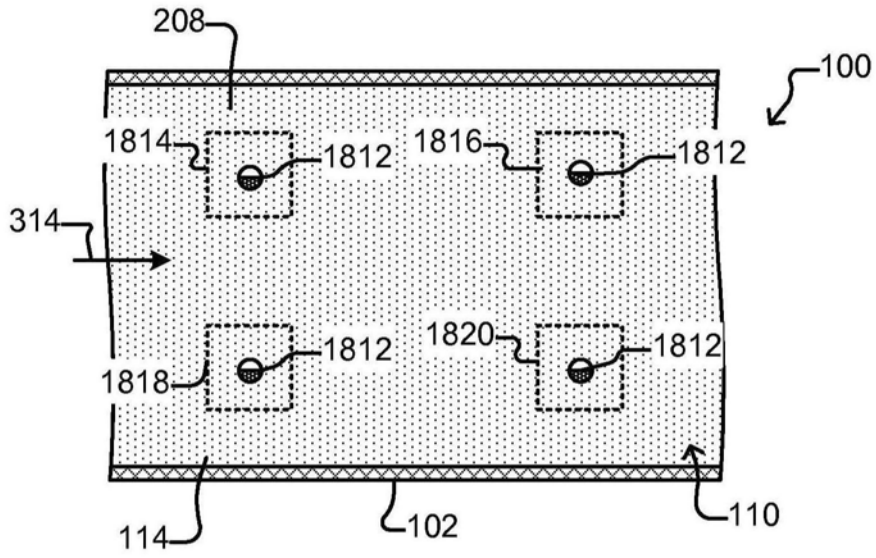


图18C

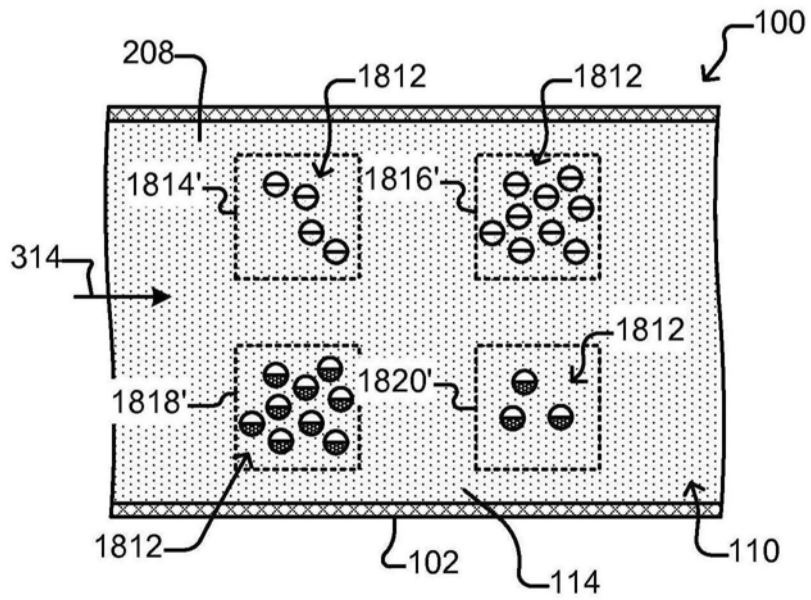


图19

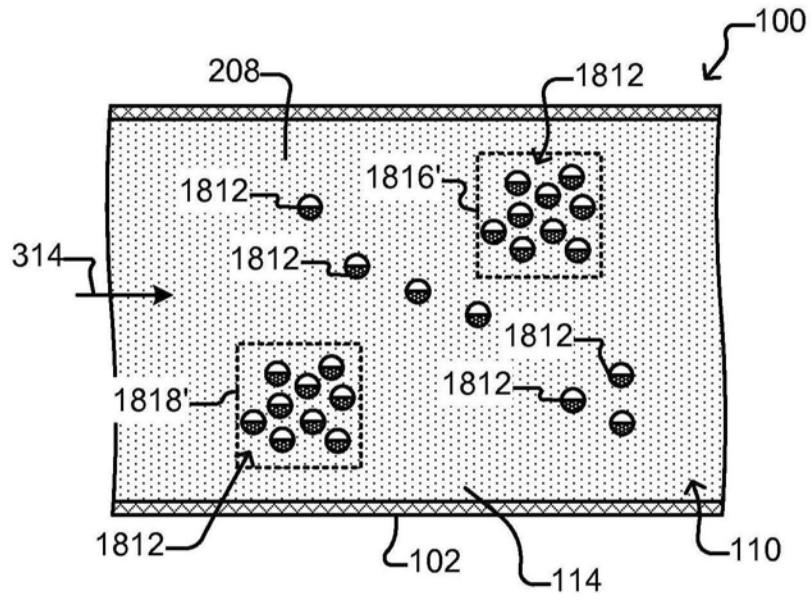


图20

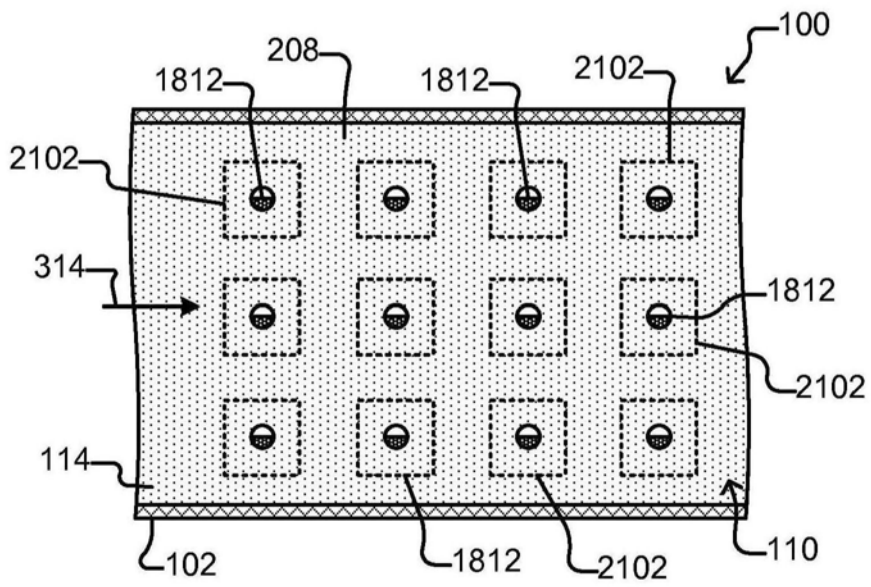


图21

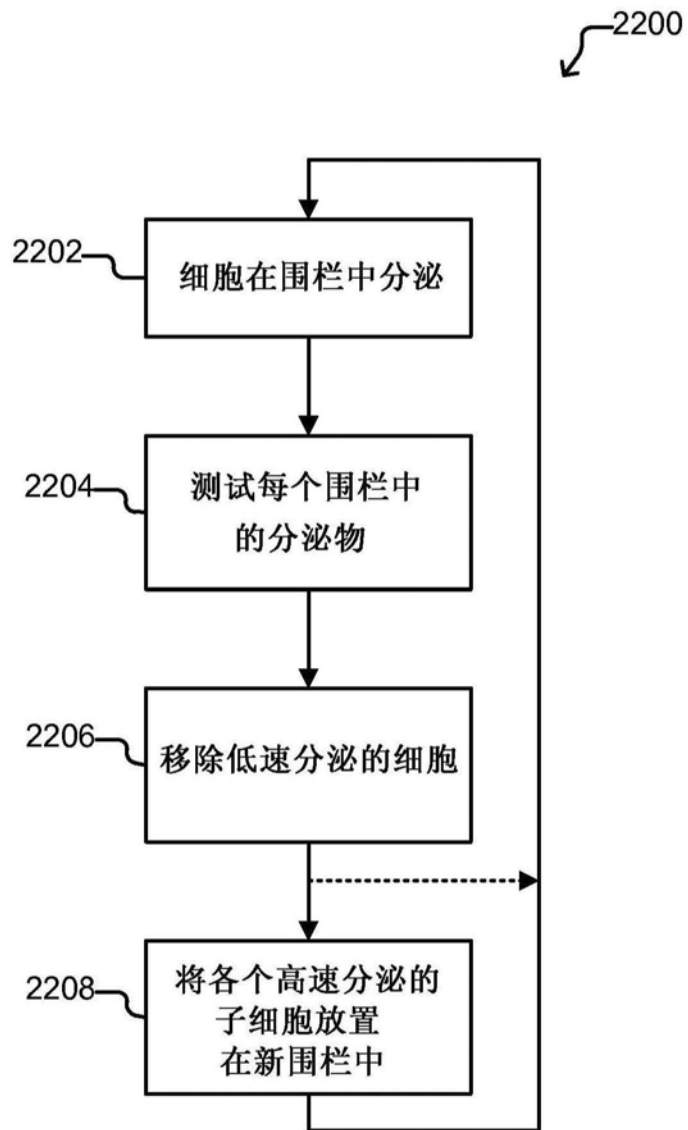


图22