

(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  
2024年12月19日 (19.12.2024)



(10) 国际公布号  
**WO 2024/255215 A1**

- (51) 国际专利分类号:  
*C12M 1/00* (2006.01) *B01L 3/00* (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2024/070505
- (22) 国际申请日: 2024年1月4日 (04.01.2024)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:  
202310694083.8 2023年6月13日 (13.06.2023) CN
- (71) 申请人: 广州凯普医药科技有限公司 (GUANGZHOU HYBRIBIO MEDICINE TECHNOLOGY LTD.) [CN/CN]; 中国广东省广州市黄埔区九龙镇中新知识城凤凰三横路71号2号试剂车间四楼, Guangdong 510700 (CN)。广东凯普科技智造有限公司 (HYBRIBIO MEDTECH DEVICE CO., LTD) [CN/CN]; 中国广东省潮州市

经济开发试验区高新区D5-3-3-4小区A幢六层601室, Guangdong 521011 (CN)。广东凯普生物科技股份有限公司 (GUANGDONG HYBRIBIO BIOTECH CO., LTD.) [CN/CN]; 中国广东省潮州市湘桥区经济开发区试验区北片高新区D5-3-3-4小区, Guangdong 521000 (CN)。

- (72) 发明人: 吴永光 (WU, Yongguang); 中国广东省广州市黄埔区九龙镇中新知识城凤凰三横路71号2号试剂车间四楼, Guangdong 510700 (CN)。陈翔 (CHEN, Xiang); 中国广东省广州市黄埔区九龙镇中新知识城凤凰三横路71号2号试剂车间四楼, Guangdong 510700 (CN)。郑焱 (ZHENG, Yan); 中国广东省广州市黄埔区九龙镇中新知识城凤凰三横路71号2号试剂车间四楼, Guangdong 510700 (CN)。刘梦羽 (LIU, Mengyu); 中国广东省广州市黄埔区九龙镇中新知识城凤凰三横路71号2号试剂车间四楼, Guangdong 510700 (CN)。

(54) Title: MICRO-FLUIDIC CHIP FOR SORTING LIVING CELLS

(54) 发明名称: 一种用于活体细胞分选的微流控芯片

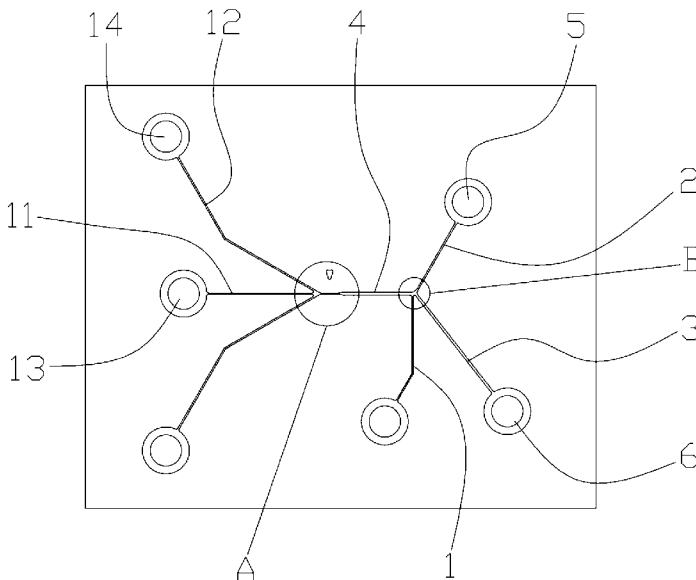


图1

(57) Abstract: The present invention relates to a micro-fluidic chip for sorting living cells. A sample flow channel is in communication with a liquid intake end of a sorting flow channel; an air intake flow channel, a target flow channel and a non-target flow channel are in communication with a liquid output end of the sorting flow channel; an included angle between the target flow channel and the sorting flow channel is 100-130 °; an included angle between the non-target flow channel and the sorting flow channel is 100-140 °; and an intersection point between the axis of the air intake flow channel and the axis of the sorting flow channel is 0.02-0.05 mm away from an intersection point between the sorting flow channel, the target flow channel and the non-target flow channel. In the present solution, the micro-fluidic chip can enlarge a sorting area, and can prolong the retention time of cells in the sorting area, such that an airflow can

(CN)。萧俭杭(XIAO, Jianhang); 中国广东省广州市黄埔区九龙镇中新知识城凤凰三横路71号2号试剂车间四楼, Guangdong 510700 (CN)。

谢龙旭(XIE, Longxu); 中国广东省广州市黄埔区九龙镇中新知识城凤凰三横路71号2号试剂车间四楼, Guangdong 510700 (CN)。

(74) 代理人: 广州粤高专利商标代理有限公司(YOGO PATENT AND TRADEMARK AGENCY LIMITED COMPANY); 中国广东省广州市天河区体育西路中石化大厦B塔4416室, Guangdong 510620 (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, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, 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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, 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, ME, 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))。

---

accurately blow target cells into the target flow channel, thereby improving the cell sorting accuracy.

(57) 摘要: 本发明涉及一种用于活体细胞分选的微流控芯片, 样品流道与分选流道的进液端连通, 进气流道、目标流道和非目标流道与分选流道的出液端连通, 目标流道与分选流道夹角为 $100^{\circ}$  - $130^{\circ}$ , 非目标流道与分选流道夹角为 $100^{\circ}$  - $140^{\circ}$ ; 进气流道轴线和分选流道轴线的交点与分选流道、目标流道和非目标流道三者的交点相距 $0.02\text{mm}$ - $0.05\text{mm}$ 。本方案中的微流控芯片可以扩大分选区, 延长细胞在分选区的停留时间, 气流可以准确的将目标细胞吹至目标流道内, 提高细胞的分选准确率。

## 一种用于活体细胞分选的微流控芯片

### 技术领域

5 本发明涉及细胞分选技术领域，具体地，涉及一种用于活体细胞分选的微流控芯片。

### 背景技术

随着在细胞领域越来越深入的研究，人们对细胞的了解越来越多。在研究细胞时，细胞分选是细胞生理和病理研究的关键环节。目前市面上进行细胞分选的主要技术手段是采用流式细胞仪和微流控芯片结合的方式将目标细胞从细胞群中分选出来。细胞分选芯片可采用压电式、磁性式或气动式的驱动结构驱动细胞改变运动轨迹，与其他方式相比，气动式的驱动结构对细胞的损伤最小。因此，需要分选出活性细胞时，大多选择气动式驱动结构的细胞分选芯片对目标细胞进行分选，如现有的一种同时检测细胞内多种荧光信号的分选装置，其微流控芯片包括检测区域、分选区、进气口、废液池和目标细胞池，检测区域与分选区之间通过第一细胞流道进行连接，分选区与废液池之间通过第二细胞流道进行连接，进气口与分选区通过气体流道进行连接，目标细胞池和分选区通过分选流道进行连接。第一细胞流道、第二细胞流道、气体流道和分选流道在分选区四周呈十字排布。该方案采用向气体流道喷气的方式将目标细胞吹至分选流道，气体在改变目标细胞路径时对目标细胞损伤更小，但是该方案中分选区面积过小，当分选流道内细胞液流速过快时，目标细胞在分选区停留的时间过短，难以确保气体通道内的气流能够准确将目标细胞吹至分选流道内，使细胞分选准确率不高。

### 发明内容

25 本发明为解决上述现有技术方案中微流控芯片的分选区面积过小，当分选流道内细胞液流速过快时，目标细胞在分选区停留的时间过短，难以确保气体通道内的气流能够准确将目标细胞吹至分选流道内，使细胞分选准确率不高的问题，提供了一种用于活体细胞分选的微流控芯片。本方案中可以进一步扩大分选区的面积，延长目标细胞经过分选区的时间，使得目标细胞可以被准确的吹至目标流道内，能够提高细胞分选的准确率。

30

本发明采用的技术方案是：一种用于活体细胞分选的微流控芯片，包括样品区、与样品区连通的样品流道、电磁进气阀、与电磁进气阀连通的进气流道、目标细胞池、与目标细胞池连通的目標流道、非目标细胞池、与非目标细胞池连通的非目标流道和分选流道。样品流道与分选流道的进液端连通，目标流道和非目标流道与分选流道的出液端连通，进气流道与分选流道连通并位于分选流道上靠近其出液口的一端。进气流道和非目标流道位于分选流道的一侧，目标流道位于分选流道的另一侧，目标流道与分选流道夹角为  $100^{\circ} - 130^{\circ}$ ，非目标流道与分选流道夹角为  $100^{\circ} - 140^{\circ}$ ，进气流道的轴线与分选流道的轴线垂直；进气流道轴线和分选流道轴线的交点与分选流道、目标流道和非目标流道三者的交点距离  $d$  为  $0.02\text{mm} - 0.05\text{mm}$ 。细胞分选区为分选流道上与目标流道、非目标流道和进气流道相交的一端。

微流控芯片工作时，样品区域内的目标细胞和非目标细胞随着细胞液的流动进入样品流道并在样品流道内单个线性排布。随着细胞液不断地向前流动，目标细胞和非目标细胞进入分选流道。识别细胞目标信号装置对进入分选流道内的细胞进行识别，当识别出细胞为目标细胞时，控制电磁进气阀向进气流道泵气，当目标细胞移动至分选区时，进气流道内的气体可以恰好移动至分选区，将目标细胞吹至目标流道内；当识别出细胞为非目标细胞时，电磁进气阀不向进气流道泵气，非目标细胞移动至分选区后，继续随细胞液流至非目标流道内。

本方案将目标流道、非目标流道和进气流道设置与分选流道相交形状且进气流道轴线和分选流道轴线的交点与进气流道、目标流道和非目标流道三者的交点距离  $d$  的距离为  $0.02\text{mm} - 0.05\text{mm}$  时，增大分选区长度，目标细胞在分选区内停留的时间更长，使得可以有更多合适的时机向气体流道内泵气，完成气体将目标细胞吹入目标流道的工作，对目标细胞分选的准确率更高。

当进气流道内的气体进入分选区后，气体对细胞会施加一个垂直于细胞原路径的偏向力，使得目标细胞收到气体提供的偏向力后目标细胞的移动路径发生改变，变成向目标细胞流道移动的抛物线路径，该抛物线的形状受原细胞流速和进气气压的大小决定，该抛物线两条渐进性的夹角即为分选流道与目标流道的夹角。目标细胞在分选区内移动时，需保证目标细胞在沿分选流道轴线方向的移动距离为  $d$  时，目标细胞进入目标细胞流道内并且目标细胞的运动方向与目标流道的轴线平行，当  $d$  的距离为  $0.02\text{mm} - 0.05\text{mm}$ 、目标流道与分选流道

夹角为  $100^{\circ}$  -  $130^{\circ}$  时目标细胞可以顺利进入目标细胞流道且目标细胞的运动方向与目标细胞流道的轴线方向平行。并且，由于目标流道与分选流道夹角为  $100^{\circ}$  -  $130^{\circ}$  时目标细胞改变路径所需的偏向力小于目标流道与分选流道垂直时目标细胞改变路径所需的偏向力。本申请中的进气气体气压小于现有技术中的进气气压时仍可以完成细胞分选工作，进气气压更小时气体对目标细胞的损伤更小，因此与现有技术相比本申请对目标细胞的损伤更小。同时，非目标流道与分选流道夹角为  $100^{\circ}$  -  $140^{\circ}$  时，在目标细胞在受到进气流道内气体提供的偏向力后目标细胞的运动方向与非目标流道轴线的夹角更大，进一步防止目标细胞进入非目标流道内。

10 优选的，分选流道包括第一流道和第二流道，第一流道的直径为  $0.1\text{mm}$ - $0.12\text{mm}$ ；第二流道的直径为  $0.18\text{mm}$ - $0.2\text{mm}$ ，第一流道与样品流道连通，第二流道与目标流道、非目标流道和进气流道连通。第二流道的直径大于第一流道流道的直径，可以减缓细胞在第二流道内的运动速度，还能防止进气流道内的气流向第一流道方向运动，当存在部分气流向第一流道的方向运动时，该  
15 股气流冲不过第二流道和第一流道的连接端，可以防止其反流冲击细胞，致使细胞受损。

优选的，第二流道上与第一流道连接的一端为锥形。第一流道和第二流道连接处为锥形，使得第一流道内的样品液可以平缓的进入并充满第二流道。

20 优选的，第二流道、进气流道、非目标流道和目标流道之间均设有圆弧倒角，其中，第二流道与进气流道之间的圆弧倒角为第一倒角；进气流道和非目标流道之间的倒角为第二倒角；非目标流道和目标流道之间的倒角为第三倒角；目标流道和第二流道之间的倒角为第四倒角。第一倒角的半径为  $0.08\text{mm}$ - $0.1\text{mm}$ ；第二倒角的半径为  $0.08\text{mm}$ - $0.1\text{mm}$ ；第三倒角的半径为  $0.12\text{mm}$ - $0.15\text{mm}$ ；第四倒角的半径为  $0.18\text{mm}$ - $0.2\text{mm}$ 。在第二流道、进气流道、非目标流道和目标流道之  
25 间相交的侧壁在交点处设置圆弧倒角，倒角的弧度与细胞抛物线形的运动路径重合，可以对细胞的运动起到导向作用，细胞与侧壁抵接时侧壁交点的圆弧倒角也不会损伤细胞。经实验测得，当第一倒角的半径为  $0.08\text{mm}$ - $0.1\text{mm}$ ；第二倒角的半径为  $0.08\text{mm}$ - $0.1\text{mm}$ ；第三倒角的半径为  $0.12\text{mm}$ - $0.15\text{mm}$ ；第四倒角的半径为  $0.18\text{mm}$ - $0.2\text{mm}$  时，倒角对细胞的导向作用最好。

30 优选的，样品流道包括细胞流道和鞘液流道，样品区包括混合细胞区和鞘

液区，细胞流道与混合细胞区连通，鞘液流道与鞘液区连通，鞘液流道和细胞流道相交于分选流道的进液端。鞘液流道有两个，两个鞘液流道分别位于细胞流道的相对两侧并以细胞流道的轴线为对称轴对称排布，鞘液流道与细胞流道的直径相同，非目标流道的直径为目标流道直径的两倍。鞘液可以包裹细胞使

5 细胞呈直线单行排列流入细胞仪检测区域。鞘液流道有两个并分别位于细胞流道的两侧，使得流入分选流道内的细胞位于分选流道的中部。鞘液流道与细胞流道的直径相同，非目标流道的直径为目标流道直径的两倍使得在进入分选流道后细胞悬液与其两侧鞘液的比例为 1: 1: 1，当分选流道内的液体在不经外界干扰时，靠近目标流道一侧的鞘液流入目标流道，细胞悬液和另一侧鞘液流

10 入非目标流道，自动完成非目标细胞进入非目标流道的导向工作。

优选的，目标流道的长度不长于 5mm。由于向进气流道内泵入的气体气压不易过大，否则进入微流控芯片内的气体在整个流道内串扰。气体对目标细胞的推力不足以使目标细胞在目标流道内行走太长的距离，当目标流道过长时，目标细胞停会留在目标流道内而不能到达目标细胞池，因此目标流道的长度不能过长，经实验测得，当目标流道的长度不长于 5mm 时，气体对目标细胞的推力可以使目标细胞顺利通过目标流道进入目标细胞池。

15

优选的，鞘液流道与细胞流道所呈夹角为  $25^{\circ}$  -  $35^{\circ}$ 。鞘液流道上设有蛇形流阻段用以降低鞘液流道内鞘液的流速。随着鞘液流道与细胞流道所呈夹角角度的增加，鞘液与细胞液汇聚后鞘液流对细胞液流的冲击变大，冲击细胞液

20 流中的细胞。经实验测得，当鞘液流道与细胞流道所呈夹角为  $25^{\circ}$  -  $35^{\circ}$  时，鞘液可以与细胞液平稳的混合。流阻形状为蛇形，鞘液在通过蛇形的鞘液流道后会减少鞘液的动能，降低鞘液的流速，进而减缓进入第一流道内样本溶液的流速，降低细胞的移动速度。

与现有技术相比，本发明的有益效果在于：本方案中的微流控芯片在进行

25 细胞筛选时不会对细胞造成损伤。本方案扩大了细胞的分选区，使得目标细胞在细胞分选区内停留的时间增加，有更多合适的时机泵气，防止泵气过慢导致目标细胞进入非目标细胞池内，提高细胞分选的准确率，并且采用更小气压的气体即可完成推动目标细胞进入目标流道的目标。分选流道可以降低细胞移动速度还能防止气体反流，在进一步提高细胞分选准确率的同时还能避免细胞受

30 损。第二流道、进气流道、非目标流道和目标流道之间相交的侧壁在交点处设

有圆弧倒角，对进入分选区的细胞起到导向作用。

### 附图说明

图 1 是本发明一种用于活体细胞分选的微流控芯片的结构示意图；

图 2 是本发明一种用于活体细胞分选的微流控芯片的图 1 中的 B 部放大图；

5 图 3 是本发明一种用于活体细胞分选的微流控芯片的图 1 中的 A 部放大图。

### 具体实施方式

附图仅用于示例性说明，不能理解为对本专利的限制；为了更好说明本实施例，附图某些部品会有省略、放大或缩小，并不代表实际产品的尺寸；对于本领域技术人员来说，附图中某些公知结构及其说明可能省略是可以理解的。

10 附图中描述位置关系仅用于示例性说明，不能理解为对本专利的限制。

本发明实施例的附图中相同或相似的标号对应相同或相似的部品；在本发明的描述中，需要理解的是，若有术语“上”、“下”、“左”、“右”“长”“短”等指示的方位或位置关系为基于附图所示的方位或位置关系，仅是为了便于描述本发明和简化描述，而不是指示或暗示所指的装置或元件必须具有特定的方位、以特定的方位构造和操作，因此附图中描述位置关系的用语仅用于示例性说明，不能理解为对本专利的限制，对于本领域的普通技术人员而言，可以根据具体情况理解上述术语的具体含义。

下面通过具体实施例，并结合附图，对本发明的技术方案作进一步的具体描述：

#### 20 实施例 1

如图 1-图 2 所示为一种用于活体细胞分选的微流控芯片的实施例 1，包括样品区、与样品区连通的样品流道、电磁进气阀、与电磁进气阀连通的进气流道 1、目标细胞池 5、与目标细胞池 5 连通的的目标流道 2、非目标细胞池 6、与非目标细胞池 6 连通的的非目标流道 3 和进行细胞分选的分选流道 4。样品流道与分选流道 4 的进液端连通，目标流道 2 和非目标流道 3 与分选流道 4 的出液端连通，进气流道 1 与分选流道 4 连通并为其分选流道 4 上靠近其出液口的一端。进气流道 1 和非目标流道 3 位于分选流道 4 的一侧，目标流道 2 位于分选流道 4 的另一侧。目标流道 2 与分选流道 4 夹角为  $120^\circ$ ，非目标流道 3 与分选流道 4 夹角为  $128^\circ$ ，进气流道 1 的轴线与分选流道 4 的轴线垂直；进气流道 1 轴线和分选流道 4 轴线的交点与分选流道 4、目标流道 2 和非目标流道 3

三者的交点距离  $d$  为 0.05m。分选区为分选流道 4 上与目标流道 2、非目标流道 3 和进气流道 1 相交的一端。

本实施例的工作原理或工作过程：微流控芯片工作时，样品区域内的目标细胞和非目标细胞随着细胞液的流动进入样品流道并在样品流道内单个线性排布。随着细胞液不断地向前流动，目标细胞和非目标细胞穿过分选流道 4 后进入分选区。识别细胞目标信号装置对进入分选流道 4 内的细胞进行识别，当识别出细胞为目标细胞时，控制电磁进气阀向进气流道 1 泵气，当目标细胞移动至分选流道 4 末端的分选区时，进气流道 1 内的气体可以恰好移动至分选区，将目标细胞吹至目标流道 2 内；当识别出细胞为非目标细胞时，电磁进气阀不向进气流道 1 泵气，非目标细胞移动至分选流道 4 末端的分选区时，继续随细胞液流至非目标流道 3 内。

表 1 微流控芯片对照实验

	对照组 1	对照组 2	本申请 1	本申请 2
目标细胞	488 荧光细胞	488 荧光细胞	488 荧光细胞	488 荧光细胞
总待检细胞数	50000	50000	50000	100000
总目标细胞数	8030	38500	10000	5000
鞘液流速 (mm/s)	120	120	120	120
气压 (mbra)	20	30	20	30
实验时长 (min)	103	183	128	96
目标细胞总数	67	1562	6487	3821
准确率	0.83%	4.05%	81.24%	76.42%

对照组所使用的细胞分选芯片为现有技术一种同时检测细胞内多种荧光信号的分选装置中的微流控芯片，本申请所使用的微流控芯片为本方案所记载的微流控芯片。从对照组 1 和对照组 2 与本申请 1 和本申请 2 相比可知，对于同种目标细胞，在相同的进气气压和细胞流速的情况下，本申请中细胞分选的准确率远大于对照组中细胞分选的准确率。从对照组 1 和本申请 1 与对照组 2 和本申请 2 相比，在细胞流速相同的情况下，进气气压越大，细胞分选的准确率越高，但是从对照组 1 和对照 2 与本申请 1 和申请 2 来看，两组实验气压均等量减小时，对照组中细胞分选的准确率波动比本申请中细胞分选的准确率波动

更大。从上述实验数据可知，增大细胞分选区并调节目标流道与分选流道夹角后，对细胞分选的准确率可以有显著的提升且当使用更小气压驱动目标细胞偏转时，气压波动对细胞分选的准确率影响较小，仍可以获得良好的细胞分选效果。

5           本实施例的有益效果：本方案扩大了细胞的分选区，使得目标细胞在细胞分选区内停留的时间增加，有更多合适的时机泵气，防止泵气过慢导致目标细胞进入非目标细胞池内，提高细胞分选的准确率。并且在驱动细胞偏转时采用更小气压的气体即可完成推动目标细胞进入目标流道的目的，气体的气压更小，则气流对目标细胞的损伤更小，使得目标细胞的活性更高。

## 10           实施例 2

一种用于活体细胞分选的微流控芯片的实施例 2，如图 1-图 3 所示，在实施例 1 的基础上，对分选流道 4 和分选区的结构进一步限定。

          具体的，分选流道 4 包括第一流道 401 和第二流道 402，第一流道 401 的直径为 0.1mm；第二流道 402 的直径为 0.2mm，第一流道 401 与样品流道连通，  
15       第二流道 402 与目标流道 2、非目标流道 3 和进气流道 1 连通。

          具体的，第二流道 402 上与第一流道 401 连接的一端为锥形。

          具体的，第二流道 402、进气流道 1、非目标流道 3 和目标流道 2 之间均设有圆弧倒角，其中，第二流道 402 与进气流道 1 之间的圆弧倒角为第一倒角 7；进气流道 1 和非目标流道 3 之间的倒角为第二倒角 8；非目标流道 3 和目标流道 2 之间的倒角为第三倒角 9；目标流道 2 和第二流道 402 之间的倒角为第四倒角 10。第一倒角 7 的半径为 0.1mm；第二倒角 8 的半径为 0.1mm；第三倒角 9 的半径为 0.15mm；第四倒角 10 的半径为 0.2mm。

          本实施例的有益效果：第二流道 402 的直径大于第一流道 401 流道的直径，可以减缓细胞在第二流道 402 内的运动速度，还能防止进气流道 1 内的气流向  
25       第一流道 401 方向运动，当存在部分气流向第一流道 401 的方向运动时，该股气流冲不过第二流道 402 和第一流道 401 的连接端，可以防止其反流冲击细胞，致使细胞受损。第一流道 401 和第二流道 402 连接处为锥形，使得第一流道 401 内的样品液可以平缓的进入并充满第二流道 402。在第二流道 402、进气流道 1、非目标流道 3 和目标流道 2 之间相交的侧壁在交点处设置圆弧倒角，圆弧倒角的形状与细胞的抛物线形运动路径相同，可以对流入分选区的细胞进行导向作  
30

用，更便于非目标细胞流入非目标流道 3，目标细胞流入目标流道 2。

### 实施例 3

一种用于活体细胞分选的微流控芯片的实施例 3，如图 1-图 3 所示，在实施例 1 或实施例 2 的基础上，对样品流道、目标流道 2 和非目标流道 3 进一步  
5 限定。

具体的，样品流道包括细胞流道 11 和鞘液流道 12，样品区包括混合细胞区 13 和鞘液区 14，细胞流道 11 与混合细胞区 13 连通，鞘液流道 12 与鞘液区 14 连通，鞘液流道 12 和细胞流道 11 相交于分选流道 4 的进液端。鞘液流道 12 有两个，两个鞘液流道 12 分别位于细胞流道 11 的相对两侧并以细胞流道 11 的  
10 轴线为对称轴对称排布，鞘液流道 12 与细胞流道 11 的直径相同，非目标流道 3 的直径为目标流道 2 直径的两倍。

具体的，目标流道 2 的长度为 4mm。鞘液流道 12 与细胞流道 11 所呈夹角为  $25^\circ$ 。鞘液流道 12 上设有蛇形流阻段（图中未示出）用以降低鞘液流道 12 内鞘液的流速。

本实施例的有益效果：鞘液流道 12 与细胞流道 11 的直径相同，非目标流道 3 的直径为目标流道 2 直径的两倍使得在进入分选流道 4 后细胞悬液与其两侧鞘液的比例为 1: 1: 1，当分选流道 4 内的液体在不经外界干扰时，靠近目标流道 2 一侧的鞘液流入目标流道 2，细胞悬液和另一侧鞘液流入非目标流道 3，自动完成非目标细胞进入非目标流道 3 的导向工作。当目标流道 2 的长度为 4mm  
15 时，气体对目标细胞的推力可以使目标细胞顺利通过目标流道 2 进入目标细胞池 5。随着鞘液流道 12 与细胞流道 11 所呈夹角角度的增加，鞘液与细胞液汇聚后鞘液流对细胞液流的冲击变大，冲击细胞液流中的细胞。经实验测得，当鞘液流道 12 与细胞流道 11 所呈夹角为  $25^\circ$  时，鞘液可以与细胞液平稳的混合。流阻形状为蛇形，鞘液在通过蛇形的鞘液流道 12 后会减少鞘液的动能，降低鞘  
20 液的流速，进而减缓进入第一流道 401 内样本溶液的流速，降低细胞的移动速度。

显然，本发明的上述实施例仅仅是为清楚地说明本发明所作的举例，而并非是对本发明的实施方式的限定。对于所属领域的普通技术人员来说，在上述说明的基础上还可以做出其它不同形式的变化或变动。这里无需也无法对所有的实施方式予以穷举。凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替  
30

换和改进等，均应包含在本发明权利要求的保护范围之内。

## 权 利 要 求 书

1. 一种用于活体细胞分选的微流控芯片，其特征在于，包括样品区、与所述样品区连通的样品流道、电磁进气阀、与所述电磁进气阀连通的进气流道(1)、  
5 目标细胞池(5)、与所述目标细胞池(5)连通的目標流道(2)、非目标细胞池(6)、与所述非目标细胞池(6)连通的非目标流道(3)和分选流道(4)；

所述样品流道与所述分选流道(4)的进液端连通，所述目标流道(2)和所述非目标流道(3)与所述分选流道(4)的出液端连通，所述进气流道(1)与所述分选流道(4)连通并位于所述分选流道(4)上靠近其出液口的一端，  
10 所述目标流道(2)位于所述分选流道(4)的一侧，所述进气流道(1)和所述非目标流道(3)位于所述分选流道(4)的另一侧，所述目标流道(2)与所述分选流道(4)夹角为 $100^{\circ}$  - $130^{\circ}$ ，所述非目标流道(3)与所述分选流道(4)夹角为 $100^{\circ}$  - $140^{\circ}$ ，所述进气流道(1)的轴线与所述分选流道(4)的轴线垂直；所述进气流道(1)的轴线和所述分选流道(4)的轴线的交点与所述分  
15 选流道(4)、所述目标流道(2)和所述非目标流道(3)三者的交点相距 $0.02\text{mm}$ - $0.05\text{mm}$ 。

2. 根据权利要求1所述的一种用于活体细胞分选的微流控芯片，其特征在于，所述分选流道(4)包括第一流道(401)和第二流道(402)，所述第一流道(401)的直径为 $0.1\text{mm}$ - $0.12\text{mm}$ ；所述第二流道(402)的直径为 $0.18\text{mm}$ - $0.2\text{mm}$ ，  
20 所述第一流道(401)与所述样品流道连通，所述第二流道(402)与所述目标流道(2)、所述非目标流道(3)和所述进气流道(1)连通。

3. 根据权利要求2所述的一种用于活体细胞分选的微流控芯片，其特征在于，所述第二流道(402)上与所述第一流道(401)连接的一端为锥形。

4. 根据权利要求2所述的一种用于活体细胞分选的微流控芯片，其特征在于，所述第二流道(402)、所述进气流道(1)、所述非目标流道(3)和所述  
25 目标流道(2)之间均设有圆弧倒角，其中，所述第二流道(402)与所述进气流道(1)之间的圆弧倒角为第一倒角(7)；所述进气流道(1)和所述非目标流道(3)之间的倒角为第二倒角(8)；所述非目标流道(3)和所述目标流道(2)之间的倒角为第三倒角(9)；所述目标流道(2)和所述第二流道(402)  
30 之间的倒角为第四倒角(10)。

5. 根据权利要求 4 所述的一种用于活体细胞分选的微流控芯片，其特征在于，所述第一倒角（7）的半径为 0.08mm-0.1mm；所述第二倒角（8）的半径为 0.08mm-0.1mm；所述第三倒角（9）的半径为 0.12mm-0.15mm；所述第四倒角（10）的半径为 0.18mm-0.2mm。

5        6. 根据权利要求 1 所述的一种用于活体细胞分选的微流控芯片，其特征在于，所述样品流道包括细胞流道（11）和鞘液流道（12），所述样品区包括混合细胞区（13）和鞘液区（14），所述细胞流道（11）与所述混合细胞区（13）连通，所述鞘液流道（12）与所述鞘液区（14）连通，鞘液流道（12）和细胞流道（11）相交于分选流道（4）的进液端。

10       7. 根据权利要求 6 所述的一种用于活体细胞分选的微流控芯片，其特征在于，所述鞘液流道（12）有两个，两个所述鞘液流道（12）分别位于所述细胞流道（11）的相对两侧并以所述细胞流道（11）的轴线为对轴对称排布，所述鞘液流道（12）与所述细胞流道（11）的直径相同，所述非目标流道（3）的直径为所述目标流道（2）直径的两倍。

15       8. 根据权利要求 7 所述的一种用于活体细胞分选的微流控芯片，其特征在于，所述目标流道（2）的长度不长于 5mm。

9. 根据权利要求 7 所述的一种用于活体细胞分选的微流控芯片，其特征在于，所述鞘液流道（12）与所述细胞流道（11）所呈夹角为  $25^{\circ}$  -  $35^{\circ}$ 。

20       10. 根据权利要求 9 所述的一种用于活体细胞分选的微流控芯片，其特征在于，所述鞘液流道（12）上设有蛇形流阻段用以降低所述鞘液流道（12）内鞘液的流速。

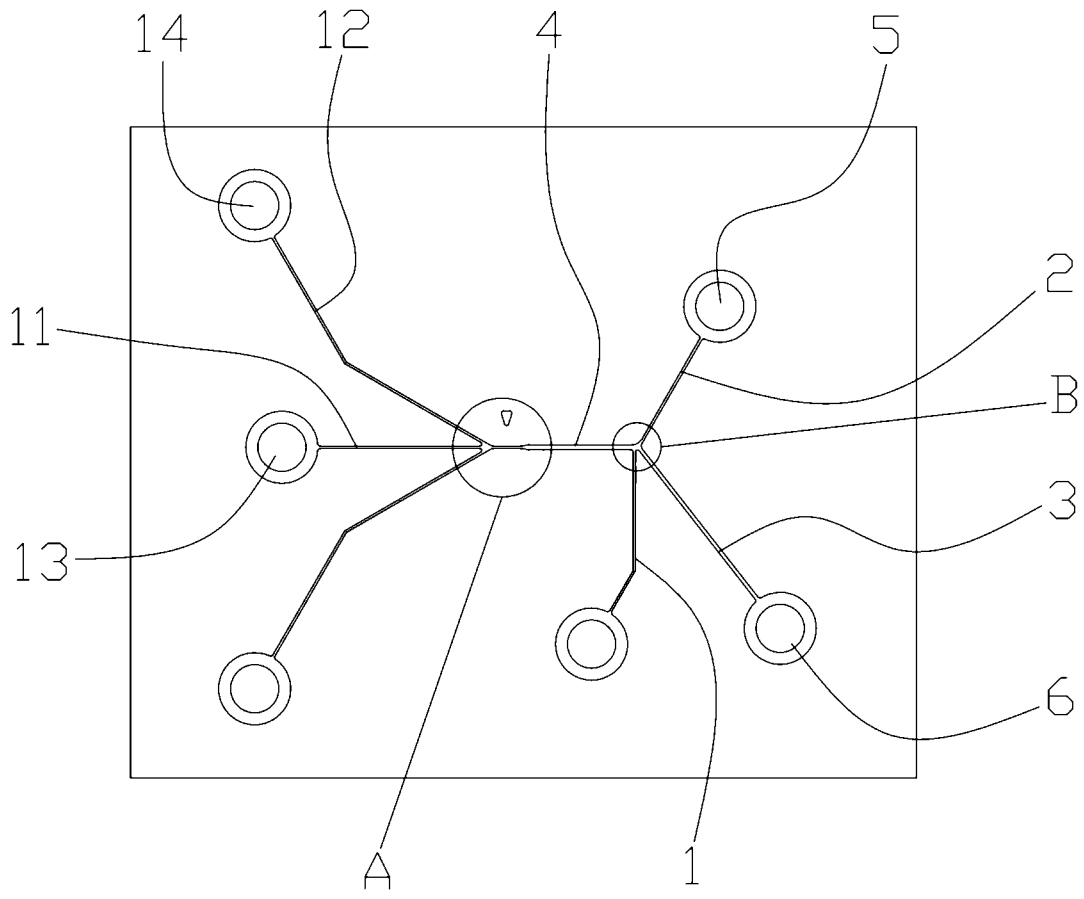


图 1

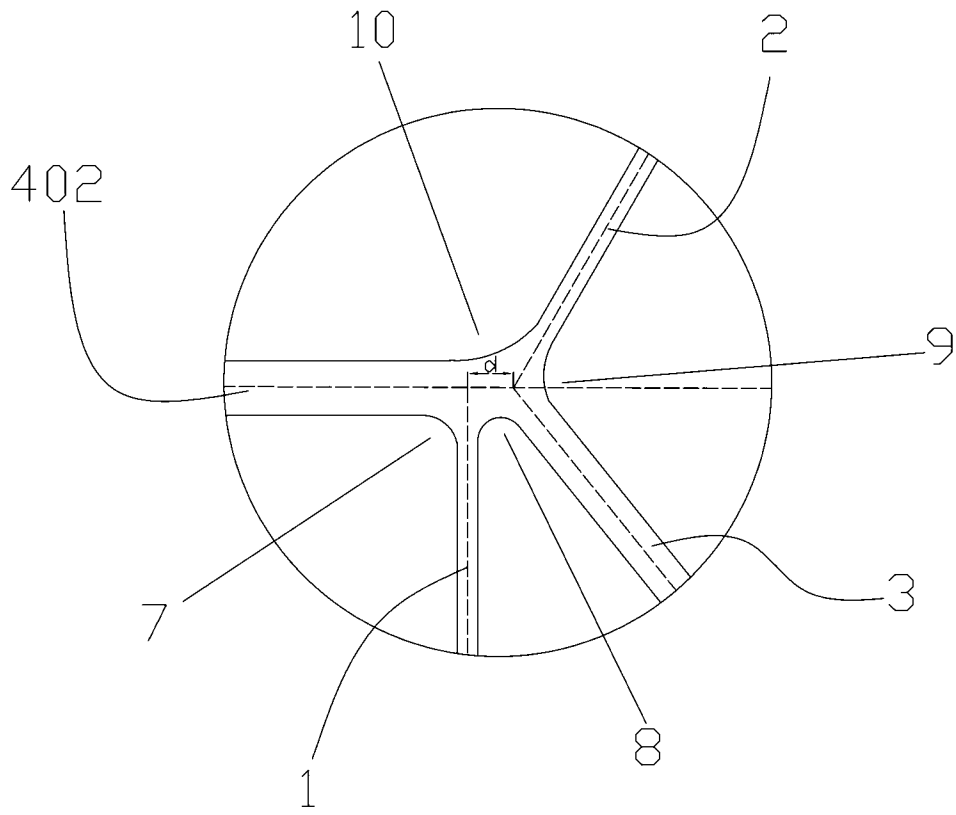


图 2

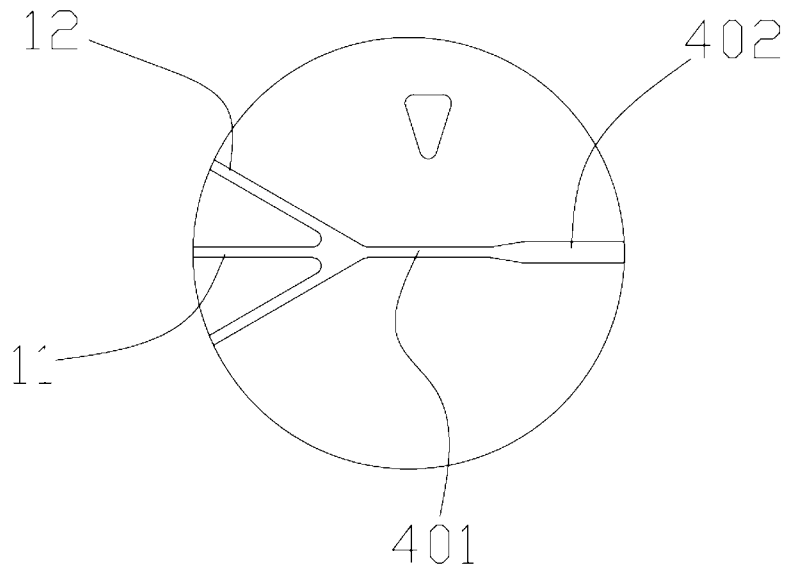


图 3

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2024/070505

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
C12M 1/00(2006.01)i; B01L 3/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC:C12M,B01L		
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) CNABS; WPABSC; CNTXT; CNKI; 百度学术, BAIDU SCHOLAR; 细胞, 分选, 空气, 泵, 流道, 通道, 变宽, 芯片等; DWPI; WPABS; VEN; ENTXT; PUBMED; ISI WEB OF SCIENCE: cell?, sort+, air, pump?, channel?, widen+, chip?等		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 114292741 A (TSINGHUA UNIVERSITY) 08 April 2022 (2022-04-08) see claims 1-9, and description, paragraphs [0041]-[0067], and figures 1-8	1, 6-10
Y	CN 114292741 A (TSINGHUA UNIVERSITY) 08 April 2022 (2022-04-08) see claims 1-9, and description, paragraphs [0041]-[0067], and figures 1-8	2-5
Y	CN 217140437 U (HANGZHOU CHUNXUN BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) 09 August 2022 (2022-08-09) see description, paragraphs [0017]-[0106], and figures 1-7	2-5
Y	CN 214088461 U (CELLOMICS BIOMEDICAL (SHENZHEN) CO., LTD.) 31 August 2021 (2021-08-31) see description, paragraphs [0017]-[0043], and figures 1-3	4-5
PX	CN 116445246 A (GUANGZHOU HYBRIBIO MEDICINE TECHNOLOGY CO., LTD. et al.) 18 July 2023 (2023-07-18) claims 1-10	1-10
A	CN 114471760 A (NANTONG UNIVERSITY) 13 May 2022 (2022-05-13) see description, paragraphs [0034]-[0044]	1-10
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "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 <b>02 April 2024</b>		Date of mailing of the international search report <b>12 April 2024</b>
Name and mailing address of the ISA/CN <b>China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088</b>		Authorized officer  Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2024/070505**

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 114292741 A	08 April 2022	None	
CN 217140437 U	09 August 2022	None	
CN 214088461 U	31 August 2021	None	
CN 116445246 A	18 July 2023	None	
CN 114471760 A	13 May 2022	None	

<p>A. 主题的分类</p> <p>C12M 1/00(2006.01)i; B01L 3/00(2006.01)i</p> <p>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</p>																									
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>IPC:C12M,B01L</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>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))</p> <p>CNABS; WPABSC; CNTXT; CNKI; 百度学术和检索词: 细胞, 分选, 空气, 泵, 流道, 通道, 变宽, 芯片等; DWPI; WPABS; VEN; ENTXT; PUBMED; ISI WEB OF SCIENCE和检索词: cell?, sort+, air, pump?, chan-nel?, widen+, chip?等</p>																									
<p>C. 相关文件</p> <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>X</td> <td>CN 114292741 A (清华大学) 2022年4月8日 (2022 - 04 - 08) 参见权利要求1-9, 说明书第[0041]-[0067]段, 图1-8</td> <td>1,6-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 114292741 A (清华大学) 2022年4月8日 (2022 - 04 - 08) 参见权利要求1-9, 说明书第[0041]-[0067]段, 图1-8</td> <td>2-5</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 217140437 U (杭州纯迅生物科技有限公司) 2022年8月9日 (2022 - 08 - 09) 参见说明书第[0017]-[0106]段, 图1-7</td> <td>2-5</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 214088461 U (晶准生物医学(深圳)有限公司) 2021年8月31日 (2021 - 08 - 31) 参见说明书第[0017]-[0043]段, 图1-3</td> <td>4-5</td> </tr> <tr> <td>PX</td> <td>CN 116445246 A (广州凯普医药科技有限公司等) 2023年7月18日 (2023 - 07 - 18) 权利要求1-10</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 114471760 A (南通大学) 2022年5月13日 (2022 - 05 - 13) 参见说明书第[0034]-[0044]段</td> <td>1-10</td> </tr> </tbody> </table> <p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <table border="0"> <tr> <td> <p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“D” 申请人在国际申请中引证的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“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)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“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</p> </td> <td> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&amp;” 同族专利的文件</p> </td> </tr> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	CN 114292741 A (清华大学) 2022年4月8日 (2022 - 04 - 08) 参见权利要求1-9, 说明书第[0041]-[0067]段, 图1-8	1,6-10	Y	CN 114292741 A (清华大学) 2022年4月8日 (2022 - 04 - 08) 参见权利要求1-9, 说明书第[0041]-[0067]段, 图1-8	2-5	Y	CN 217140437 U (杭州纯迅生物科技有限公司) 2022年8月9日 (2022 - 08 - 09) 参见说明书第[0017]-[0106]段, 图1-7	2-5	Y	CN 214088461 U (晶准生物医学(深圳)有限公司) 2021年8月31日 (2021 - 08 - 31) 参见说明书第[0017]-[0043]段, 图1-3	4-5	PX	CN 116445246 A (广州凯普医药科技有限公司等) 2023年7月18日 (2023 - 07 - 18) 权利要求1-10	1-10	A	CN 114471760 A (南通大学) 2022年5月13日 (2022 - 05 - 13) 参见说明书第[0034]-[0044]段	1-10	<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“D” 申请人在国际申请中引证的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“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)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“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</p>	<p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&amp;” 同族专利的文件</p>
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																							
X	CN 114292741 A (清华大学) 2022年4月8日 (2022 - 04 - 08) 参见权利要求1-9, 说明书第[0041]-[0067]段, 图1-8	1,6-10																							
Y	CN 114292741 A (清华大学) 2022年4月8日 (2022 - 04 - 08) 参见权利要求1-9, 说明书第[0041]-[0067]段, 图1-8	2-5																							
Y	CN 217140437 U (杭州纯迅生物科技有限公司) 2022年8月9日 (2022 - 08 - 09) 参见说明书第[0017]-[0106]段, 图1-7	2-5																							
Y	CN 214088461 U (晶准生物医学(深圳)有限公司) 2021年8月31日 (2021 - 08 - 31) 参见说明书第[0017]-[0043]段, 图1-3	4-5																							
PX	CN 116445246 A (广州凯普医药科技有限公司等) 2023年7月18日 (2023 - 07 - 18) 权利要求1-10	1-10																							
A	CN 114471760 A (南通大学) 2022年5月13日 (2022 - 05 - 13) 参见说明书第[0034]-[0044]段	1-10																							
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“D” 申请人在国际申请中引证的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“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)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“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</p>	<p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&amp;” 同族专利的文件</p>																								
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2024年4月2日</p>	<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2024年4月12日</p>																								
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p>	<p>授权官员</p> <p>穆飞航</p> <p>电话号码 (+86) 010-62412295</p>																								

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2024/070505

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 114292741 A	2022年4月8日	无	
CN 217140437 U	2022年8月9日	无	
CN 214088461 U	2021年8月31日	无	
CN 116445246 A	2023年7月18日	无	
CN 114471760 A	2022年5月13日	无	