



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년09월27일

(11) 등록번호 10-2448505

(24) 등록일자 2022년09월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/10 (2017.01) B01L 3/00 (2006.01)
C12Q 1/6806 (2018.01)

(52) CPC특허분류
C12N 15/1003 (2013.01)
B01L 3/502715 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-7004925(분할)

(22) 출원일자(국제) 2014년12월18일

심사청구일자 2021년02월18일

(85) 번역문제출일자 2021년02월18일

(65) 공개번호 10-2021-0022146

(43) 공개일자 2021년03월02일

(62) 원출원 특허 10-2016-7018502
원출원일자(국제) 2014년12월18일

심사청구일자 2019년12월18일

(86) 국제출원번호 PCT/US2014/071323

(87) 국제공개번호 WO 2015/095623

국제공개일자 2015년06월25일

(30) 우선권주장
14/133,361 2013년12월18일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

WO2013130714 A1

JP2007534313 A

KR1020080096567 A

KR1020080103232 A

(73) 특허권자

버클리 라이트즈, 인크.

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

(72) 발명자

채프먼 케빈 티

미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 호턴 스트리트
5858 스위트 320

홉스 에릭 디

미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 호턴 스트리트
5858 스위트 320

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 26 항

심사관 : 한지혜

(54) 발명의 명칭 미세-유체 디바이스에서 개개의 생물학적 세포들로부터 특정 핵산 물질들 캡처

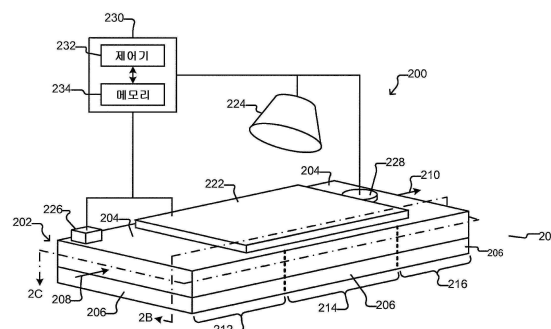
(57) 요약

개개의 생물학적 세포들이 미세-유체 디바이스에서 선택되어 디바이스에 있는 격리 펜들 내로 이동될 수 있다.

세포들은 그 다음에 펜들에서 용해되어, 펜들에서 하나 이상의 캡처 오브젝트들에 의해 캡처될 수 있는 핵산 물질을 릴리스할 수 있다. 캡처된 핵산 물질을 갖는 캡처 오브젝트들은 그 다음에 펜들로부터 제거될 수 있

(뒷면에 계속)

대표도



다. 캡처 오브젝트들은 고유의 식별자들을 포함하여, 각각의 캡처 오브젝트가 오브젝트에 의해 캡처되는 핵산 물질이 비롯되는 개개의 세포에 상관되는 것을 가능하게 할 수 있다.

(52) CPC특허분류

B01L 3/502753 (2013.01)

C12Q 1/6806 (2018.05)

B01L 2200/0647 (2013.01)

말레오 다니엘레

미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 호턴 스트리트
5858 스위트 320

(72) 발명자

쇼트 스티븐 더블유

미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 호턴 스트리트
5858 스위트 320

화이트 마크 피

미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 호턴 스트리트
5858 스위트 320

명세서

청구범위

청구항 1

개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스로서,

미세-유체 디바이스의 채널에 대한 격리 펜 개구 내로 개개의 생물학적 세포를 위치시키는 단계로서, 상기 격리 펜은,

개구로서, 확산에 의해 상기 펜 내의 제 1 액상 매체와 상기 채널 내의 상기 개구를 지나 흐르는 제 2 액상 매체의 교환을 허용하도록 구성된, 상기 개구, 및

인클로저로서, 상기 격리 펜의 내부 공간 내의 생물학적 세포 또는 캡처 오브젝트들이 상기 미세-유체 디바이스의 다른 격리 펜의 내부 공간 내의 생물학적 세포 또는 캡처 오브젝트들과 혼합되는 것을 방지하도록 충분히 인클로저된 상기 격리 펜의 상기 내부 공간을 포함하는, 상기 인클로저

를 포함하는, 상기 개개의 생물학적 세포를 위치시키는 단계;

상기 격리 펜에서 상기 개개의 세포를 용해하는 단계;

용해된 상기 세포로부터의 핵산 물질을 상기 격리 펜에서의 캡처 오브젝트로 캡처하는 단계; 및

상기 캡처하는 단계 후에, 상기 격리 펜으로부터 상기 캡처 오브젝트를 제거하는 단계를 포함하고,

상기 위치시키는 단계는,

상기 미세-유체 디바이스 내의 공통 공간에서 생물학적 세포들의 그룹으로부터 상기 개개의 생물학적 세포를 선택하는 단계로서, 상기 선택하는 단계는 상기 개개의 생물학적 세포를 가두는 동전기력을 선택적으로 생성하기 위해 상기 미세-유체 디바이스의 DEP (dielectrophoresis) 전극들을 선택적으로 활성화시키고 비활성화시키는 것을 포함하는, 상기 개개의 생물학적 세포를 선택하는 단계, 및

상기 개개의 생물학적 세포를 상기 공통 공간으로부터 상기 미세-유체 디바이스 내의 상기 격리 펜으로 이동시키는 단계

를 포함하는, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 선택하는 단계는 특정 특성에 대해 상기 미세-유체 디바이스에서 상기 생물학적 세포들의 그룹을 테스트하는 단계를 포함하고,

상기 개개의 생물학적 세포는 상기 특정 특성에 대해 테스트 양성인 그룹에서의 상기 생물학적 세포들 중 하나인, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 미세-유체 디바이스는 :

기관의 표면에 상기 DEP 전극들을 포함하는 전극 활성화 기관으로서, 각각의 상기 DEP 전극은 선택적으로 활성화되고 비활성화되도록 구성되는, 전극 활성화 기관 ; 및

상기 전극 활성화 기관 상에 배치되는 미세-유체 구조물을 더 포함하는, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 4

제 3 항에 있어서,

상기 개개의 생물학적 세포를 이동시키는 단계는,

상기 개개의 생물학적 세포를 이동시키는 동전기력을 생성하기 위해 상기 DEP 전극들을 선택적으로 활성화시키고 비활성화시키는 것을 포함하는, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 5

제 3 항에 있어서,

상기 미세-유체 디바이스는 각각의 DEP 전극에 대한 전기 접속부를 더 포함하고, 각각의 DEP 전극은 상기 전기 접속부를 통해 각각의 DEP 전극에 제공되는 전압 및/또는 전류를 제어함으로써 각각의 DEP 전극이 개별적으로 활성화되고 비활성화되도록 구성되는, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 6

제 2 항에 있어서,

상기 특정 특성은,

상기 생물학적 세포들의 사이즈 또는 상기 생물학적 세포들의 형태학을 포함하거나; 또는

상기 생물학적 세포들이 특정 물질을 포함하는지 여부 또는 상기 생물학적 세포들이 특정 물질을 생성하는지 여부를 포함하는, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 7

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서,

각각의 격리 펜이 단일의 개개의 세포를 포함하도록 복수의 개개의 세포들은 대응하는 복수의 격리 펜들에 배치되는, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 8

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 용해하는 단계는,

상기 격리 펜이 위치되는 상기 미세-유체 디바이스에서 채널을 통해 용해 시약을 흐르게 하는 단계,

전자기 에너지의 빔을 상기 개개의 세포에 향하게 하는 단계,

상기 개개의 세포를 전기천공하는 단계,

상기 개개의 세포를 용해시키기에 충분하게 상기 개개의 세포의 온도를 변화시키는 단계, 또는

상기 개개의 세포를 용해하기 위해 충분한 음향 에너지를 상기 개개의 세포에 적용하는 단계

를 포함하는, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 9

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 용해하는 단계는 상기 개개의 세포의 제 1 내부 엘리먼트의 막을 손상시키지 않으면서 상기 개개의 세포의 외막을 손상시키는 단계를 포함하고,

상기 외막을 손상시키는 단계는 상기 개개의 세포로부터 제 1 유형의 핵산을 릴리스하고,

상기 캡처 오브젝트는 상기 제 1 유형의 핵산을 캡처하도록 구성된 제 1 캡처 오브젝트인, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 10

제 9 항에 있어서,

다음과 같이

상기 제 1 내부 엘리먼트의 상기 막을 손상시킴으로써 상기 개개의 세포의 상기 제 1 내부 엘리먼트를 상기 격리 펜에서 용해하고,

상기 제 1 내부 엘리먼트를 용해함으로써 릴리스되는 제 2 유형의 핵산 물질을 상기 격리 펜에서 제 2 캡처 오브젝트로 캡처하는

용해하는 단계 및 캡처하는 단계를 반복하는 단계를 더 포함하는, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 11

제 10 항에 있어서,

상기 제 1 내부 엘리먼트는 상기 세포들 중 하나의 세포의 핵산 또는 세포소기관 중 하나인, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 12

제 11 항에 있어서,

상기 세포들 중 상기 하나의 세포를 용해하는 것은 상기 세포들 중 상기 하나의 세포의 제 2 내부 엘리먼트의 막을 손상시키지 않으면서 상기 세포들 중 상기 하나의 세포의 상기 외막을 손상시키는 것을 더 포함하는, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 13

제 12 항에 있어서,

다음과 같이,

상기 제 2 내부 엘리먼트의 상기 막을 손상시킴으로써 상기 개개의 세포의 상기 제 2 내부 엘리먼트를 상기 격리 펜에서 용해하고,

상기 제 2 내부 엘리먼트를 용해함으로써 릴리스되는 제 3 유형의 핵산 물질을 상기 격리 펜에서 제 3 캡처 오브젝트로 캡처하는

용해하는 단계 및 캡처하는 단계를 다시 반복하는 단계를 더 포함하는, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 14

제 13 항에 있어서,

상기 제 1 내부 엘리먼트 또는 상기 제 2 내부 엘리먼트 중 하나는 상기 세포들 중 하나의 세포의 핵이고,

상기 제 1 내부 엘리먼트 또는 상기 제 2 내부 엘리먼트 중 다른 하나는 상기 세포들 중 하나의 세포의 세포소기관인, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 15

제 14 항에 있어서,

제 1 유형의 핵산 물질은 상기 제 2 유형의 핵산 물질과는 상이한 유형의 핵산 물질이고,

상기 제 2 유형의 핵산 물질은 상기 제 3 유형의 핵산 물질과는 상이한 유형의 핵산 물질이고,

상기 제 1 유형의 핵산 물질은 상기 제 3 유형의 핵산 물질과는 상이한 유형의 핵산 물질인, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 16

제 7 항에 있어서,

상기 용해하는 단계는 상기 복수의 격리 펜들에서 상기 복수의 개개의 세포들을 용해하는 단계를 포함하고,

상기 캡처하는 단계는 용해된 상기 세포들로부터의 핵산 물질을 상기 복수의 격리 펜들에서 복수의 캡처 오브젝트들로 캡처하는 단계를 포함하고,

상기 제거하는 단계는 상기 복수의 격리 펜들로부터 상기 복수의 캡처 오브젝트들을 제거하는 단계를 포함하는, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 17

제 16 항에 있어서,

상기 캡처 오브젝트들의 각각은 상기 복수의 모든 다른 캡처 오브젝트로부터 각각의 상기 캡처 오브젝트를 고유하게 식별하는 식별자를 포함하고,

상기 프로세스는 각각의 상기 캡처 오브젝트와 상기 캡처 오브젝트에 의해 캡처되는 핵산 물질에 관한 데이터 사이의 상관관계를 메모리 디바이스에 저장하는 단계를 더 포함하는, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 18

제 17 항에 있어서,

상기 데이터는 상기 캡처 오브젝트에 의해 캡처되는 상기 핵산 물질의 유형을 포함하거나; 또는

상기 상관관계는 상기 캡처 오브젝트에 의해 캡처되는 상기 핵산 물질이 비롯되는 용해된 상기 세포들 중 하나의 용해된 세포의 특성을 포함하는, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 19

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서,

실질적으로 상기 격리 펜의 개구에 차단 오브젝트를 위치시키는 단계를 더 포함하고, 상기 차단 오브젝트는 용해된 상기 세포로부터 핵산 물질을 캡처하도록 구성되는, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 20

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 개개의 생물학적 세포는 클론 세포 군집으로부터의 세포인, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 21

제 20 항에 있어서,

상기 위치시키는 단계는 상기 미세-유체 디바이스 내의 배양 펜에 있는 클론 세포 군집으로부터 상기 격리 펜으로 상기 개개의 세포를 이동시키는 단계를 포함하는, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 22

제 21 항에 있어서,

상기 용해하는 단계는 상기 격리 펜에서 상기 개개의 세포를 용해하는 단계를 포함하고,

상기 캡처하는 단계는 용해된 상기 세포로부터 핵산 물질을 상기 격리 펜에서 하나 이상의 캡처 오브젝트들로 캡처하는 단계를 포함하고,

상기 제거하는 단계는 상기 격리 펜으로부터 상기 하나 이상의 캡처 오브젝트들을 제거하는 단계를 포함하는,

개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 23

제 22 항에 있어서,

상기 캡처 오브젝트들의 각각은 상기 캡처 오브젝트들의 모든 다른 캡처 오브젝트로부터 각각의 상기 캡처 오브젝트를 고유하게 식별하는 식별자를 포함하고,

상기 프로세스는 각각의 상기 캡처 오브젝트의 상기 식별자와 상기 캡처 오브젝트에 의해 핵산 물질이 캡처되는 상기 세포들 중 하나의 세포가 비롯되는 상기 클론 세포 군집의 식별 사이의 상관관계를 메모리 디바이스에 저장하는 단계를 더 포함하는, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 24

제 7 항에 있어서,

상기 용해하는 단계는 제 1 시간에 상기 격리 펜들 중 하나의 격리 펜에서 상기 세포들 중 하나의 세포를 용해하는 단계를 포함하고,

상기 프로세스는 제 2 시간에 상기 격리 펜들 중 제 2 격리 펜에서 상기 세포들 중 제 2 세포를 용해하는 단계를 더 포함하고,

상기 제 2 시간은 상기 제 1 시간 후인, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 25

제 24 항에 있어서,

상기 미세-유체 디바이스 내부의 이벤트에 대해 상기 미세-유체 디바이스를 모니터링하는 단계를 더 포함하고,

상기 제 1 시간은 상기 이벤트의 검출로부터의 제 1 시간 기간이고,

상기 제 2 시간은 상기 이벤트의 상기 검출로부터의 제 2 시간 기간인, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 26

제 22 항에 있어서,

특정 특성들에 대해 상기 미세-유체 디바이스에서 생물학적 세포들의 그룹을 테스트하는 단계를 더 포함하고,

상기 세포들 중 하나의 세포는 상기 특성들 중 제 1 특성에 대해 양성으로 테스트되고,

상기 세포들 중 제 2 세포는 상기 특성들 중 제 2 특성에 대해 양성으로 테스트되는, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스.

청구항 27

삭제

발명의 설명

기술 분야

배경 기술

[0001]

생물 분야들에서, 생물학적 세포들로부터 핵산 물질들을 추출하고 캡처하는 것이 유용할 수도 있다. 그러한 핵산 물질들의 예들은 DNA (deoxyribonucleic acid), RNA (ribonucleic acid), 또는 DNA 혹은 RNA 의 폴리머들, DNA 또는 RNA 를 포함하는 세포소기관들, DNA 또는 RNA 의 폴리머들 또는 올리고머들을 포함하는 세포소기관들 등을 포함한다. 본 발명의 실시형태들은 개개의 생물학적 세포들로부터 특정 유형의 핵산 물질

들을 추출하고 선택적으로 캡처하기 위한 디바이스들 및 프로세스들을 포함한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

- [0002] 본 발명의 일부 실시형태들에서, 개개의 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 캡처하는 프로세스는 개개의 생물학적 세포들을 미세-유체 디바이스에서의 상이한 격리 펜들에 배치하는 것을 포함할 수도 있다. 프로세스는 또한 격리 펜들에서 세포들 중 하나를 용해하고 격리 펜에서의 캡처 오브젝트로 용해된 세포로부터 핵산 물질을 캡처하는 것을 포함할 수 있다. 프로세스는 격리 펜으로부터 캡처 오브젝트를 제거하는 것을 더 포함할 수 있다.
- [0003] 본 발명의 일부 실시형태들에서, 미세-유체 디바이스는 공통 공간, 격리 펜들, 캡처 오브젝트들, 및 선택 수단을 포함할 수 있다. 캡처 오브젝트들은 격리 펜들 중 하나에 위치되도록 사이즈가 정해질 수 있다. 캡처 오브젝트들의 각각은 다른 유형의 핵산 물질에 바인딩하는 것보다 적어도 2 배 큰 특이성을 갖는 특정 유형의 핵산 물질에 바인딩하는 캡처 물질을 포함할 수 있다. 선택 수단은 선택된 개개의 세포들을 상이한 격리 펜들로 이동시키기 위한 것일 수 있다.
- [0004] 본 발명의 일부 실시형태들에서, 미세-유체 디바이스는 격리 펜들, 이동 수단, 및 상관 수단을 포함할 수 있다. 격리 펜들은 생물학적 세포 및 캡처 오브젝트를 포함하도록 사이즈가 정해질 수 있으며, 캡처 오브젝트는 생물학적 세포로부터 핵산을 캡처하도록 구성될 수 있다. 이동 수단은 개개의 생물학적 세포들을 격리 펜들로 이동시키기 위한 것일 수 있다. 상관 수단은 격리 펜들에 있는 캡처 오브젝트들을 격리 펜들에 있는 생물학적 세포들이 비롯되는 클론 세포 군집들과 상관시키는 상관 레코드를 발생시키기 위한 것일 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0005] 도 1 은 본 발명의 일부 실시형태들에 따른 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 선택적으로 캡처하기 위한 프로세스의 예이다.
- 도 2a 는 본 발명의 일부 실시형태들에 따른 도 1 의 프로세스가 수행될 수 있는 미세-유체 디바이스의 사시도이다.
- 도 2b 는 도 2a 의 미세-유체 디바이스의 상부 단면도이다.
- 도 2c 는 도 2a 의 미세-유체 디바이스의 측면 단면도이다.
- 도 3 은 본 발명의 일부 실시형태들에 따른 베이스 내의 캐비티들로서 구성된 격리 펜들의 예들을 도시하는 도 2a 의 미세-유체 디바이스의 베이스의 부분적 측면 단면도이다.
- 도 4a 는, 본 발명의 일부 실시형태들에 따른, 도 2a 내지 도 2c 의 미세-유체 디바이스의 부분적 측면 단면도이며, 여기서 조작기는 광-전자 트위저 (opto-electronic tweezer; OET) 디바이스로서 구성된다.
- 도 4b 는 도 4a 의 부분적 상부 단면도이다.
- 도 5 는 본 발명의 일부 실시형태들에 따른 도 2a 내지 도 2c 의 미세-유체 디바이스의 선택부에 있는 복수의 세포들의 예를 도시한다.
- 도 6 은, 본 발명의 일부 실시형태들에 따른, 도 2a 내지 도 2c 의 미세-유체 디바이스의 선택부에서 개개의 생물학적 세포들을 선택하고, 선택된 세포들을 디바이스에 있는 격리 펜들로 이동시키는 것의 예이다.
- 도 7 은 본 발명의 일부 실시형태들에 따른 용해 시약으로 도 2a 내지 도 2c 의 미세-유체 디바이스의 격리 펜들에서 세포들을 용해하는 예를 도시한다.
- 도 8 은 본 발명의 일부 실시형태들에 따른 용해 메커니즘으로 도 2a 내지 도 2c 의 미세-유체 디바이스의 격리 펜들에서 세포들을 용해하는 예이다.
- 도 9 는 본 발명의 일부 실시형태들에 따른 용해된 세포들로부터 도 2a 내지 도 2c 의 미세-유체 디바이스의 격

리 펜들의 내부 공간들로 흘러가는 핵산 물질을 도시한다.

도 10 은 본 발명의 일부 실시형태들에 따른 도 2a 내지 도 2c 의 미세-유체 디바이스의 펜들 중 하나에서의 캡쳐 오브젝트들의 예를 도시한다.

도 11 은 본 발명의 일부 실시형태들에 따른 캡쳐 오브젝트의 예시적인 구성을 도시한다.

도 12a 는 세포의 외막을 보이는 도 2a 내지 도 2c 의 미세-유체 디바이스의 펜에서의 세포의 예 및 세포의 내부에 있는 엘리먼트들의 예를 도시한다.

도 12b 는 본 발명의 일부 실시형태들에 따른 도 12a 의 세포를 용해하는 예를 도시한다.

도 12c 는 본 발명의 일부 실시형태들에 따른 도 12a 의 세포의 내부 엘리먼트들 중 하나를 용해하는 예이다.

도 12d 는 본 발명의 일부 실시형태들에 따른 도 12a 의 세포의 핵을 용해하는 예를 도시한다.

도 13 은 본 발명의 일부 실시형태들에 따른 도 2a 내지 도 2c 의 미세-유체 디바이스의 격리 펜들로부터 익스포트부로 캡쳐 오브젝트들을 선택하여 이동시키는 것의 예이다.

도 14 는 본 발명의 일부 실시형태들에 따른 클론 생물학적 세포들로부터 핵산 물질을 선택적으로 캡쳐하기 위한 프로세스의 예이다.

도 15 는, 본 발명의 일부 실시형태들에 따른, 미세-유체 디바이스에서 상이한 클론 군집들로부터 개개의 클론 생물학적 세포들을 선택하고, 선택된 세포들을 디바이스에서의 격리 펜들로 이동시키는 것의 예를 도시한다.

도 16a 내지 도 16d 는 미세유체 디바이스에서의 격리 펜들 내에서 용해되는 세포들의 이미지들이다. 도 16a 는 용해 완충액의 미세유체 디바이스로의 유입 이전의 세포들을 포함하고 있는 펜들의 이미지이다. 도 16b, 도 16c, 및 도 16d 는, 용해 완충액의 유입 후의, 각각 시간 $t=0$ 분, 5분, 및 10 분에서 동일한 펜들의 이미지들이다. 세포들의 칼세인 AM 염색이 세포 용해를 모니터링하기 위한 마커로서 이용된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0006] 본 명세서에서는 본 발명의 예시적인 실시형태들 및 응용들을 설명한다. 본 발명은, 그러나, 이러한 예시적인 실시형태들 및 응용들, 또는 예시적인 실시형태들 및 응용들이 동작하거나 본원에서 설명된 방식들로 제한되지 않는다. 또한, 도면들은 간소화된 또는 부분 뷰들을 도시할 수도 있고, 도면들에서의 엘리먼트들의 치수들은 과장되거나 그렇지 않으면 비례적이지 않을 수도 있다. 또한, 용어 "상에", "에 부착된" 또는 "에 연결된" 이 본원에서 이용될 때, 하나의 엘리먼트가 직접적으로 다른 엘리먼트 상에, 다른 엘리먼트에 부착되거나, 다른 엘리먼트에 연결되는 것과 상관 없이 하나의 엘리먼트 (예를 들어, 물질, 층, 기관 등) 가 다른 엘리먼트 "상에", "에 부착된", "에 연결된" 수 있거나, 하나의 엘리먼트와 다른 엘리먼트 사이에 하나 이상의 중간 엘리먼트들이 있다. 또한 방향들 (예를 들어, 위, 아래, 상부, 하부, 측면, 위쪽, 아래쪽, 위에, 아래에, 상부에, 하부에, 수평, 수직, "x", "y", "z" 등) 은, 제공된다면, 상대적이고, 단지 예로서 그리고 설명 및 논의를 용이하게 하기 위해 제공되고, 제한으로서 제공되지 않는다. 또한, 여기서 엘리먼트들 (예를 들어, 엘리먼트들 a, b, c) 의 리스트에 대해 참조가 이루어지며, 그러한 참조는 그 자체에 의해 열거된 엘리먼트들 중 임의의 하나, 열거된 엘리먼트들 모두보다 적은 것의 임의의 조합, 및/또는 열거된 엘리먼트들 모두의 조합을 포함하고자 한다.

[0007] 본원에서 이용되는 바와 같은, "실질적으로" 는 의도한 목적으로 작용하기에 충분하다는 것을 의미한다. 용어 "실질적으로" 는 따라서 당업자에 의해 예상되거나 전체 성능에 눈에 띄게 영향을 주지는 않을, 절대적이거나 완벽한 상태, 치수, 측정, 결과 등으로부터의 작고 사소한 변형들을 가능하게 한다. 수치적 값들 또는 파라미터들 또는 수치적 값들로 표현될 수 있는 특성들에 대해 이용되는 경우, "실질적으로" 는 10 퍼센트 이내를 의미한다. 용어 "것들" 은 하나를 초과하는 것을 의미한다.

[0008] 본원에서 이용되는 바와 같은, 용어 "배치된" 은 그것의 내에 "위치되는" 을 의미하는 것을 망라한다.

[0009] 본원에서 이용되는 바와 같은, 용어 "캡쳐 오브젝트" 는 다음의: 미세 입자들, 미세 비드들 (예를 들어, 폴리스티렌 비드들, Luminex™ 비드들 등), 자기 비드들, 미세로드들, 미세와이어들, 퀀텀 도트들 등과 같은 무생물 미세-오브젝트들; 세포들, (예를 들어, 합성의 또는 막 표본들로부터 도출된) 리소좀들, 지질 나노래프트 (lipid nanoraft) 들 등과 같은 생물학적 미세-오브젝트들; 또는 무생물 미세-오브젝트들과 생물학적 미세-오브젝트들의 조합 (예를 들어, 세포들에 부착된 미세비드들, 리소좀-코팅된 미세-비드들, 리소좀-코팅된 자기 비드

들 등) 중 하나 이상을 망라한다. 액체 나노레프트들은, 예를 들어, <Ritchie 외 (2009) "Reconstitution of Membrane Proteins in Phospholipid Bilayer Nanodiscs", Methods Enzymol., 464:211-231> 에서 설명된다.

[0010] 용어 "세포" 는 식물 세포, 동물 세포, 박테리아 세포, 균류 세포, 조직으로부터 해리된 배아, 난모, 정자 세포들, 혈액 세포들, 융합세포들, 배양된 세포들, 세포 라인으로부터의 세포들, 암 세포들, 감염된 세포들, 감염 및/또는 변형된 세포들, 리포터 세포들 등일 수 있는 생물학적 세포를 의미한다. 동물 세포는, 예를 들어, 사람, 생쥐, 쥐, 말, 염소, 양, 소, 영장류 등과 같은 포유류로부터 것일 수 있다.

[0011] 생물학적 세포에 대해 이용되는 바와 같은, "용해" 는 세포로부터 핵산 물질을 릴리스하기에 충분하도록 세포의 적어도 하나의 막을 끊거나 파열하거나 그렇지 않으면 절충하는 것을 의미한다. 생물학적 세포에 대해 이용되는 경우, "내부 엘리먼트" 는 세포의 외막의 내부에 있고 그 자체의 막에 의해 바운딩되는 생물학적 세포의 임의의 엘리먼트 또는 성분을 의미하고, 내부 엘리먼트를 용해하는 것은 엘리먼트로부터 핵산을 릴리스하기 위해 충분히 엘리먼트의 막을 끊거나 파열하거나 그렇지 않으면 절충하는 것을 의미한다. 세포의 내부 엘리먼트들의 예들은 세포의 핵 및 세포기관을 포함한다.

[0012] 본 발명의 일부 실시형태들에서, 개개의 생물학적 세포들은 다수의 상이한 가능한 특성들 중 임의의 것에 기초하여 미세-유체 디바이스에서 선택될 수 있다. 핵산 물질은 그러면 세포가 미세-유체 디바이스에 있는 격리 펜에 있는 동안에 개개의 세포로부터 추출될 수 있다. 펜에 있는 캡처 오브젝트들은 세포로부터 특정 유형의 핵산 물질을 각각 캡처할 수 있으며, 그 후에 캡처 오브젝트들은 펜으로부터 제거될 수 있고, 예를 들어, 미세-유체 디바이스로부터 익스포트될 (export) 수 있다. 캡처 오브젝트들은 고유의 식별자들을 포함하여, 각각의 캡처 오브젝트가 오브젝트에 의해 캡처되는 핵산 물질이 비롯되는 개개의 세포에 상관되는 것을 가능하게 할 수 있다. 고유한 식별자들은 또한 세포로부터 캡처된 핵산 물질의 유형과 같은 추가적인 정보를 제공할 수 있다.

[0013] 도 1 은 단계 102 에서 개개의 생물학적 세포들이 미세-유체 디바이스에서 선택되어 단계 104 에서 디바이스에 있는 격리 펜들로 이동될 수 있는 프로세스 (100) 의 예를 도시한다. 대안으로, 이미 펜들에 있는 개개의 세포들은 단계 102 에서 하나 이상의 특정 특성들에 대해 선택될 수 있고, 특성 또는 특성들이 부족한 펜들에 있는 세포들은 단계 104 에서 펜들의 외부로 이동될 수 있어, 선택된 세포들을 펜들에 남긴다. 그와 상관없이, 단계 106 에서 선택된 세포들이 격리 펜들에서 용해되어, 용해된 세포들로부터의 핵산 물질을 펜들에 릴리스할 수 있다. 단계 108 에서, 펜들에 있는 캡처 오브젝트들은 특정 유형들의 핵산 물질을 캡처할 수도 있다. 캡처 오브젝트들은 그 다음에 단계 110 에서 펜들로부터 제거되고, 미세-유체 디바이스에서 익스포트되거나, 저장되거나, 추가로 프로세싱될 수도 있다.

[0014] 도 2a 내지 도 2c 는 도 1 의 프로세스 (100) 가 수행될 수 있는 미세-유체 디바이스 (200) 의 예를 도시하고, 도 4a 및 도 4b 는 광-전자 트위저 (OET) 디바이스로서 구성된 디바이스 (200) 의 조작기 (222) 의 예를 도시한다. 도 5 내지 도 12 는 미세-유체 디바이스 (200), 예를 들어, 도 4a 및 도 4b 에 도시된 바와 같은 OET 디바이스로서 구성된 조작기 (222) 상에서 수행되는 도 1 의 프로세스 (100) 의 예를 도시한다. 도 5 내지 도 12 에 도시된 디바이스 (200) 로 수행되는 프로세스 (100) 의 예로 돌아가기 전에, 미세-유체 디바이스 (200) 가 논의된다.

[0015] 도 2a 내지 도 2c 는 프로세스 (100) 가 수행될 수 있는 미세-유체 디바이스 (200) 의 예를 도시한다. 도시된 바와 같이, 미세-유체 디바이스 (200) 는 하우징 (202), 조작기 (222), 검출기 (224), 흐름 제어기 (226), 익스포트 메커니즘 (228), 및 제어 모듈 (230) 을 포함할 수 있다.

[0016] 도시된 바와 같이, 하우징 (202) 은 액상 매체 (244) 를 담기 위한 하나 이상의 채널들 (240) 을 포함할 수 있다. 도 2b 는 매체 (244) 가 고르게 (예를 들어, 평평하게) 그리고 피쳐 없이 배치될 수 있는 채널 (240) 의 내부 표면 (242) 을 도시한다. 내부 표면 (242) 은, 그러나, 대안으로, 고르지 않고 (예를 들어, 평평하지 않고) 전기 단자들 (미도시) 과 같은 피쳐들을 포함할 수 있다.

[0017] 하우징 (202) 은 매체 (244) 가 채널 (240) 내로 투입될 수 있는 하나 이상의 입구들 (208) 을 포함할 수 있다. 입구 (208) 는, 예를 들어, 투입 포트, 개구, 밸브, 다른 채널, 유체 커넥터들 등일 수 있다. 하우징 (202) 은 또한 하나 이상의 출구들 (210) 을 포함할 수 있다. 예를 들어, 매체 (244) 는 출구 (210) 를 통해 제거될 수 있다. 출구 (210) 는, 예를 들어, 출력 포트, 개구, 밸브, 다른 채널, 유체 커넥터들 등일 수 있다. 다른 예로서, 출구 (210) 는 2013 년 4 월 4 일에 출원된 미국 특허 출원 제 13/856,781 호 (변호사 사건관리 번호 BL1-US) 에 개시된 출력 메커니즘들 중 임의의 것과 같은 액적 출력 메커니즘을 포함할 수 있다.

하우징 (202) 의 전부 또는 일부분은 가스가 투과가능하여 가스가 채널 (240) 에 진입하고 나가는 것을 가능하게 할 수 있다.

[0018] 하나의 입구 (208) 및 하나의 출구 (210) 가 도시되나, 하나를 초과하는 입구 (208) 및/또는 하나를 초과하는 출구 (210) 가 있을 수 있다. 또한, 입구들 (208) 및/또는 출구들 (210) 은 도 2a 내지 도 2c 에 도시된 것과 상이한 위치들에 있을 수 있다. 예를 들어, 선택되지 않은 세포들과 같은 폐기물을 위한 디바이스 (200) 의 선택부 (212) 와 같이 하기에서 설명될 곳에서 출구 (미도시) 가 있을 수 있다.

[0019] 하우징 (202) 은 또한 베이스 (예를 들어, 기관) (206) 상에 배치된 미세-유체 구조물 (204) 을 포함할 수 있다. 미세-유체 구조물 (204) 은 가스를 투과시킬 수 있는 플렉시블한 물질 (예를 들어, 고무, 플라스틱, 탄성중합체, 실리콘, PDMS (polydimethylsioxane) 등) 을 포함할 수 있다. 대안으로, 미세-유체 구조물 (204) 은 단단한 물질들, 또는 플렉시블하지 않은 (offlexible) 물질과 단단한 물질의 조합들을 포함하여 다른 물질들을 포함할 수 있다. 플렉시블한 (예를 들어, 변형할 수 있는) 표면들에 의해 적어도 부분적으로 바운딩되는 채널들 및 챔버들 (또는 펜들) 과 같은 미세유체 엘리먼트들을 규정하는 미세-유체 구조물들의 예들은 (2014 년 12 월 8 일에 출원된) 미국 가출원 제 62/089,065 호에 설명되며, 그 전체 내용들은 참조로서 본원에 포함된다. 베이스 (206) 는 하나 이상의 기관들을 포함할 수 있다. 단일 기관으로 도시되긴 했으나, 베이스 (206) 는 다수의 기관들과 같은 다수의 상호 접속되는 기관들을 포함할 수 있다. 미세-유체 구조물 (204) 은 유사하게 다수의 상호접속된 구조물들을 포함할 수 있다.

[0020] 미세-유체 구조물 (204) 및 베이스 (206) 는 채널 (240), 및/또는 하나 이상의 챔버들 (예를 들어, 격리 펜들 (252)) 을 규정할 수 있다. 하나의 채널 (240) 이 도 2a 내지 도 2c 에 도시되나, 미세-유체 구조물 (204) 및 베이스 (206) 는 매체 (244) 를 위한 다수의 그러한 채널들, 챔버들 등등을 규정할 수 있고, 그러한 채널들 및 챔버들은 상호접속되어 미세-유체 회로들을 형성할 수 있다.

[0021] 도 2b 및 도 2c 에 도시된 바와 같이, 격리 펜들 (252) 은 채널 (240) 에 배치될 수 있다. 예를 들어, 각각의 격리 펜 (252) 은 내부 공간 (256) 및 채널 (240) 로부터 내부 공간 (256) 으로의 개구 (258) 를 규정하는 인클로저 (254) 를 포함할 수 있다. 임의의 패턴으로 배치된 채널 (240) 에서의 많은 그러한 격리 펜들 (252) 이 있을 수 있고, 격리 펜들 (252) 은 임의의 다양한 상이한 사이즈들 및 형상들일 수 있고, 펜들 (252) 은 하나를 초과하는 개구 (258) 를 가질 수 있다. 각각의 격리 펜 (252) 의 개구 (258) 는, 예를 들어, 확산에 의해, 펜 (252) 에서의 액상 매체 (244) 와 펜 (252) 의 개구 (258) 를 지나 흐르는 액상 매체 (244) 의 자연적인 교환을 가능하게 하도록 사이즈가 정해지고 포지셔닝될 수 있다. 대안으로, 각각의 격리 펜 (252) 의 개구 (258) 는 (예를 들어, 하나 이상의 세포들, 하나 이상의 캡처 오브젝트들, 및/또는 용해 완충액과 같은 시약들) 수성 매체의 액적들이 격리 펜들 (252) 안으로 또는 밖으로 이동되는 것을 가능하게 하도록 사이즈가 정해지고 포지셔닝될 수 있다. 그렇지 않으면, 그러나, 인클로저들 (254) 은 하나의 펜 (252) 의 내부 공간 (256) 에 있는 생물학적 물질 또는 오브젝트들 (미도시) (예를 들어, 생물학적 세포들, 분비 물질, 핵산 물질 등) 이 임의의 다른 펜 (252) 의 내부 공간 (256) 에 있는 그러한 생물학적 물질 또는 오브젝트들과 혼합되는 것을 방지하도록, 그리고 설명될 바와 같이, 하나의 펜 (256) 에 있는 캡처 오브젝트들의 다른 펜 (256) 의 캡처 오브젝트들과의 혼합을 방지하도록, 펜들 (252) 의 내부 공간들 (256) 을 충분히 인클로징할 수 있다.

[0022] 3 개의 행으로 배치된 12 개의 펜들 (252) 이 도시되나, 더 많거나 더 적은 펜들 (252) 이 있을 수 있고, 펜들 (252) 은 다른 패턴들로 배치될 수 있다. 또한, 펜들 (252) 은 도시된 것과 상이한 형상들, 사이즈들, 배향들 등을 가질 수 있다. 예를 들어, 펜들 (252) 은 임의의 형상들, 사이즈들, 배향들을 가질 수 있거나, (2013 년 10 월 22 에 출원된) 제 US2014/0116881 호 또는 (2014 년 10 월 22 일에 출원된) 미국 특허 출원 제 14/520,568 호에 개시된 패턴들 중 임의의 패턴으로 배치될 수 있으며, 그 전체 내용들은 참조로서 본원에 첨부된다.

[0023] 도 2c 에 도시된 바와 같은, (예를 들어, 베이스 (206) 의 표면 (242) 으로부터 미세-유체 구조물 (204) 의 상부까지) 채널 (240) 의 전체 길이를 확장시키는 인클로저들 (254) 을 포함하는 격리 펜들 (252) 은 예일 뿐이고 변형들이 고려된다. 예를 들어, 인클로저들 (254) 은 채널 (240) 의 전체 길이를 확장시킬 필요가 없다.

[0024] 도 3 은 격리 펜들 (352) 이 인클로저들 (254) 대신에 베이스 (206) 에 있는 캐비티들을 포함하는 다른 예를 도시한다. 예를 들어, 도시된 바와 같이, 각각의 펜 (352) 은 베이스 (206) 내에 캐비티의 측벽들 (354) 에 의해 규정되는 내부 공간 (356) 을 포함할 수 있다. 각각의 그러한 펜 (352) 의 개구 (358) 는 베이스 (206) 의 표면 (242) 에 있을 수 있다. 본원에서, 펜 (252) 의 임의의 언급, 논의, 예시 등은 측벽들 (354), 내부 공간 (356), 및 개구 (358) 가 펜 (252) 의 인클로저 (254), 내부 공간 (256), 및 개구 (258) 에

각각 대응할 수 있는 펜 (352) 으로 대체될 수 있다.

[0025] 매체 (244) 는 격리 펜들 (252) 에서 개구들 (258) 을 지나 (예를 들어, 입구 (208) 로부터 출구 (210) 로) 흐르게 될 수 있다. 그러한 매체 (244) 의 흐름은, 예를 들어, 격리 펜들 (252) 에 있는 생물학적 오브젝트들 (미도시) 에 영양분들을 제공할 수 있다. 다른 예로서, 매체 (244) 의 흐름은 또한 격리 펜들 (252) 로부터의 폐기물의 제거를 제공할 수 있다. 또한 보여질 바와 같이, 매체 (244) 의 흐름은 매체에 있는 물질 (예를 들어, 하기에서 논의되는, 도 7 에 도시된 바와 같은 용해 시약 (706)) 이 펜들 (252) 에서 매체 (244) 와 혼합하게 할 수 있다. 대안으로, 매체 (244) 는 수성 매체의 액적들을 포함하는 오일-기반 매체일 수 있다. 액적들은 격리 펜들 (252) 안으로 이동될 수 있고 그 안에서 선택적으로 결합될 수 있는 세포들, 캡처 오브젝트들, 및/또는 시약들 (예를 들어, 용해 완충액) 을 포함할 수 있다.

[0026] 조작기 (222) 는 매체 (244) 에 있는 오브젝트들 (미도시) 에 대한 동전기력들을 선택적으로 생성하도록 구성될 수 있다. 예를 들어, 조작기 (222) 는 채널 (240) 의 내부 표면 (242) 에서 DEP (dielectrophoresis) 전극들을 선택적으로 활성화시키고 (예를 들어, 턴 온) 비활성화시키도록 (예를 들어, 턴 오프) 구성될 수 있다. DEP 전극들은 각각의 전극을 개별적으로 활성화시키고 비활성화시키도록 전류 및/또는 전압 레벨들이 변화될 수 있는 전기 접속부에 각각 접속될 수 있다. 다른 예로서, DEP 전극들은 도 4a 및 도 4b 에서 도시되고 하기에서 논의되는 예에서와 같이 광 활성화되고 비활성화될 수 있다. 그와 관계없이, DEP 전극들은 매체 (244) 에 있는 오브젝트들 (미도시) 을 끌어당기거나 쫓아내는 힘을 매체 (244) 에 생성할 수 있고, 조작기 (222) 는 따라서 매체 (244) 에서 하나 이상의 오브젝트들을 선택하여 이동시킬 수 있다.

[0027] 예를 들어, 조작기 (222) 는 하나 이상의 광학 (예를 들어, 레이저) 트위저 디바이스들, (예를 들어, (본원에 참조로서 그 전체가 포함되는) 미국 특허 출원 제 7,612,355 호에, 또는 (또한 본원에 참조로서 그 전체가 포함되는) 2013 년 10 월 10 일에 출원된 제 US2014/0124370 호에 개시된 바와 같은) 하나 이상의 광전자 트위저들 (OET) 디바이스들, 및/또는 광트랜지스터들 (예를 들어, 측면 바이폴라 트랜지스터들) 을 갖는 하나 이상의 디바이스들을 포함할 수 있다. 또 다른 예로서, 조작기 (222) 는 오브젝트들 중 하나 이상이 그 안에 있는, 매체 (244) 의 액적을 이동시키기 위한 하나 이상의 디바이스들 (미도시) 을 포함할 수 있다. 그러한 디바이스들 (미도시) 은 (예를 들어, 미국 특허 출원 제 6,958,132 호에서 논의되며, 그 전체 내용들이 참조로서 본원에 포함되는 바와 같은) 광전자 습윤 (OEW) 디바이스들, (예를 들어, 2011 년 7 월 31 일에 출원된 제 US2012/0024708 호 또는 2014 년 12 월 5 일에 출원된 미국 가출원 제 62/088,532 호에서 논의되며, 그 양자 모두는 그 전체가 참조로서 본원에 포함되는 바와 같은) 단일-측면 OEW 디바이스들과 같은 전기습윤 디바이스들, 또는 다른 전기습윤 디바이스들을 포함할 수 있다. 조작기 (222) 는 따라서 일부 실시형태들에서 DEP 디바이스라고 특징지을 수 있다.

[0028] 도 4a 및 도 4b 는 조작기 (222) 가 DEP 디바이스의 한 유형인 OET 디바이스 (400) 를 포함하는 예를 도시한다. 도시된 바와 같이, OET 디바이스 (400) 는 제 1 전극 (404), 제 2 전극 (410), 전극 활성화 기관 (408), 전원 (412) (예를 들어, 교류 (AC) 전원), 및 광원 (420) 을 포함할 수 있다. 채널 (240) 및 전극 활성화 기관 (408) 에 있는 매체 (244) 는 전극들 (404, 410) 을 분리할 수 있다. 광원 (420) 으로부터의 광 (422) 의 패턴들을 변화시키는 것은 채널 (240) 의 내부 표면 (242) 의 DEP 영역들 (414) 에 있는 전극들의 패턴들을 변화시켜 선택적으로 활성화시키고 비활성화시킬 수 있다. (이후부터 영역들 (414) 은 "전극 영역들" 이라고 지칭된다.)

[0029] 도 4b 에 도시된 예에서, 베이스 (206) 의 내부 표면 (242) 으로 향하는 광 패턴 (422') 은 도시된 정사각형 패턴에서 빗금쳐진 전극 영역들 (414a) 을 비춘다. 다른 전극 영역들 (414) 은 빛이 비추이지 않고 이후부터는 "어두운" 전극 영역들 (414) 로 지칭된다. 어두운 전극 영역 (414) 에서부터 제 2 전극 (410) 까지 전극 활성화 기관 (408) 에 걸친 전기적 임피던스는 제 1 전극 (404) 에서부터 어두운 전극 영역 (414) 까지 채널 (240) 에 있는 매체 (244) 를 걸친 임피던스보다 크다. 전극 영역 (414a) 에 빛을 비추는 것은, 그러나, 빛이 비춰진 전극 영역 (414a) 에서부터 제 2 전극 (410) 까지 전극 활성화 기관 (408) 에 걸친 임피던스를 채널 (240) 에 있는 매체 (244) 에 걸친 제 1 전극 (404) 으로부터 빛이 비춰진 전극 영역 (414a) 으로의 임피던스보다 적게 감소시킨다.

[0030] 활성화된 전원 (412) 으로, 앞서의 것은 빛이 비춰진 전극 영역들 (414a) 과 인접한 어두운 전극 영역들 (414) 사이에서 매체 (244) 에 전계 구배를 생성하며, 이는 결과적으로 매체 (244) 에 있는 근처의 오브젝트들 (미도시) 을 끌어당기거나 쫓아내는 국지적 DEP 힘들을 생성한다. 매체 (244) 에 있는 오브젝트들을 끌어당기거나 쫓아내는 DEP 전극들은 따라서 광원 (420) (예를 들어, 레이저 소스, 고휘도 방전 램프, 또는 다른 유형의

광원) 으로부터 미세-유체 디바이스 (200) 로 투사되는 광 패턴들 (422) 을 변화시킴으로써 채널 (240) 의 내부 표면 (242) 에 있는 많은 상이한 그러한 전극 영역들 (414) 에서 선택적으로 활성화되고 비활성화될 수 있다.

DEP 힘들이 근처의 오브젝트들을 끌어당기거나 쫓아내는지 여부는 전원 (412) 의 주파수 및 매체 (244) 및/또는 오브젝트들 (미도시) 의 유전 속성들과 같은 그러한 파라미터들에 의존할 수 있다.

[0031] 도 4b 에 도시된 빛이 비춰진 전극 영역들 (414a) 의 정사각형 패턴 (422') 은 단지 예일 뿐이다. 전극 영역들 (414) 의 임의의 패턴은 디바이스 (200) 에 투사되는 광의 패턴 (422) 으로 빛이 비춰질 수 있고, 빛이 비춰진 전극 영역들 (422') 의 패턴은 광 패턴 (422) 을 변화시킴으로써 반복적으로 변화될 수 있다.

[0032] 일부 실시형태들에서, 전극 활성화 기관 (408) 은 광도전 물질일 수도 있고, 내부 표면 (242) 은 피체가 없을 수 있다. 그러한 실시형태들에서, DEP 전극들 (414) 은 광 패턴 (422) 에 따라 채널 (240) 의 내부 표면 (242) 상의 어디든 그리고 임의의 패턴으로 생성될 수 있다 (도 4a 참조). 전극 영역들 (414) 의 개수 및 패턴은 따라서 고정되지 않고 광 패턴 (422) 에 대응한다. 예들은 앞서 언급된 미국 특허 제 7,612,355 호에 예시되며, 여기서 앞서의 특허의 도면들에서 도시된 도핑되지 않은 비결정 실리콘 물질 (24) 은 전극 활성화 기관 (408) 을 구성할 수 있는 광도전 물질의 예일 수 있다.

[0033] 다른 실시형태들에서, 전극 활성화 기관 (408) 은 반도체 분야들에서 알려진 바와 같은 반도체 집적 회로들을 형성하는 복수의 도핑된 층들, 전기 절연 층들, 및 전기 도전 층들을 포함하는 반도체 물질과 같은 회로 기관을 포함할 수 있다. 그러한 실시형태들에서, 전기 회로 엘리먼트들은 채널 (240) 의 내부 표면 (242) 에 있는 전극 영역들 (414) 과 광 패턴 (422) 에 의해 선택적으로 활성화되고 비활성화될 수 있는 제 2 전극 (410) 사이에 전기적 접속들을 형성할 수 있다. 전극 활성화 기관 (408) 의 그러한 구성들의 비제한적인 예들은 미국 특허 제 7,956,339 호의 도 21 및 도 22 에 도시된 광 트랜지스터-기반 OET 디바이스 (400), 및 앞서 언급된 US 특허 출원 제 14/051,004 호 (변호사 사건관리 번호 BL9-US) 의 도면들에 걸쳐 도시된 OET 디바이스들을 포함한다. 광트랜지스터들은, 예를 들어, 측면 바이폴라 광트랜지스터들일 수 있다.

[0034] 일부 실시형태들에서, 도 4a 에서 도시된 바와 같이 일반적으로, 제 1 전극 (404) 은 하우징 (202) 의 제 1 벽 (402) 의 일부분일 수 있고, 전극 활성화 기관 (408) 및 제 2 전극 (410) 은 하우징 (202) 의 제 2 벽 (406) 의 일부분일 수도 있다. 도시된 바와 같이, 채널 (240) 은 제 1 벽 (402) 과 제 2 벽 (406) 사이에 있을 수도 있다. 앞서의 언급은, 그러나, 단지 예이다. 다른 실시형태들에서, 제 1 전극 (404) 은 제 2 벽 (406) 의 일부분일 수 있고, 전극 활성화 기관 (408) 및/또는 제 2 전극 (410) 중 하나 또는 양자 모두는 제 1 벽 (402) 의 일부분일 수 있다. 다른 예로서, 제 1 전극 (404) 은 전극 활성화 기관 (408) 및 제 2 전극 (410) 과 동일한 벽 (402 또는 406) 의 일부분일 수 있다. 예를 들어, 전극 활성화 기관 (408) 은 제 1 전극 (404) 및/또는 제 2 전극 (410) 을 포함할 수 있다. 또한, 광원 (420) 은 대안으로 하우징 (202) 아래에 위치될 수 있다.

[0035] 도 4a 및 도 4b 의 OET 디바이스 (400) 로서 구성된, 조작기 (222) 는 따라서 광 패턴 (422) 을 디바이스 (200) 에 투사하여 오브젝트를 캡처하는 패턴으로 채널 (240) 의 내부 표면 (242) 의 전극 영역들 (414) 에서 하나 이상의 DEP 전극들을 활성화시킴으로써 채널 (240) 에서의 매체 (244) 에 있는 오브젝트 (미도시) 를 선택할 수 있다. 조작기 (222) 는 그 다음에 디바이스 (200) 에 대해 광 패턴 (422) 을 이동시킴으로써 캡처된 오브젝트를 이동시킬 수 있다. 대안으로, 디바이스 (200) 는 광 패턴 (422) 에 대해 이동될 수 있다. 예들이 도 6 및 도 12 에서 도시되고 하기에서 논의된다. 격리 펜들 (252) 을 규정하는 인클로저들 (254) 이 도 2b 및 도 2c 에서 도시되고 물리적 인클로저들로서 위에서 논의되나, 인클로저들 (254) 은 대안으로 광 패턴 (422) 에 의해 활성화되는 DEP 힘들을 포함하는 가상 인클로저들일 수 있다.

[0036] 언급된 바와 같이, 도 4a 및 도 4b 의 OET 디바이스 (400) 는 조작기 (222) 의 단지 예이다. 예를 들어, 전극 영역들 (414) 은 광 패턴 (422) 을 변화시킴으로써 활성화되고 비활성화되는 것으로 도시되고 위에서 논의되나, 디바이스 (400) 는 그 대신에 각각의 전극 영역 (414) 에 대한 (표면 (242) 에 전기 도전 단자를 포함할 수 있는) 전기 접속부들 (미도시) 을 제공하여, 전기 접속부들을 통해 각각의 전극 영역 (414) 에 제공되는 전압 및/또는 전류를 제어함으로써 각각의 전극 영역 (414) 을 개별적으로 활성화시키고 비활성화시킬 수 있다. 그렇게 구성된 디바이스 (400) 는 광원 (420) 을 포함하거나 광 패턴 (422) 을 디바이스 (400) 로 향하게 할 필요가 없다. 다른 대안은, 2014 년 4 월 25 일에 출원된 미국 출원 제 14/262,140 호, 또는 2014 년 4 월 25 일에 출원된 미국 출원 제 14/262,200 호에 설명되며, 양자 모두는 그 전체가 참조로서 본원에 포함된 바와 같은, 단일-측면 OEW 디바이스와 같은 OEW 디바이스, 또는 결합된 OET/OEW 디바이스이다. 또한, 그 전체 내용들이 참조로서 본원에 포함된, 2014 년 12 월 10 일에 출원된 미국 가출원 제 62/090,303 호에서 설명된 바와

같이, 미세유체 디바이스에 걸쳐 균일하게 적용될 수 있는 힘들, 예컨대 중력은 앞서의 것 중 임의의 것과 연계하여 이용될 수 있다.

[0037] 도 2a 내지 도 2c 를 다시 참조하면, 검출기 (224) 는 채널 (240) 에서의 이벤트들을 검출하기 위한 메커니즘일 수 있다는 것이 유의된다. 예를 들어, 검출기 (224) 는 매체에 있는 오브젝트 (미도시) 의 (예를 들어, 형광 또는 발광으로 인한) 하나 이상의 방사선 특성들을 검출할 수 있는 광검출기를 포함할 수 있다. 그러한 검출기 (224) 는, 예를 들어, 매체 (244) 에 있는 하나 이상의 오브젝트들 (미도시) 이 전자기 방사선을 방출하는 것 및/또는 방사선의 대략적인 파장, 밝기, 강도 등을 검출하도록 구성될 수 있다. 적합한 광검출기들의 예들은 제한없이 광증배기 튜브 검출기들 및 아발란치 (avalanche) 광검출기들을 포함한다.

[0038] 검출기 (224) 는 대안으로 또는 이에 더해 매체 (244) 에 있는 오브젝트들 (미도시) 을 포함하여 채널 (240) 의 디지털 이미지들을 캡처하기 위한 이미징 디바이스를 포함할 수 있다. 검출기 (224) 가 포함할 수 있는 적합한 이미징 디바이스들의 예들은 CCD (charge coupled device) 들 및 CMOS (complementary metal-oxide-semiconductor) 이미지저들과 같은 디지털 카메라들 또는 광센서들을 포함한다. 이미지들은 그러한 디바이스들로 캡처되고 (예를 들어, 제어 모듈 (230) 에 의해) 분석될 수 있다. 그러한 이미지들은 또한 컴퓨터 모니터 (미도시) 와 같은 디스플레이 디바이스 상에 디스플레이될 수 있다.

[0039] 흐름 제어기 (226) 는 채널 (240) 에서 매체 (244) 의 흐름을 제어하도록 구성될 수 있다. 예를 들어, 흐름 제어기 (226) 는 흐름의 방향 및/또는 속도를 제어할 수 있다. 흐름 제어기 (226) 의 비제한적인 예들은 하나 이상의 펌프들 또는 유체압 구동기들을 포함한다. 일부 실시형태들에서, 흐름 제어기 (226) 는, 예를 들어, 채널 (240) 에서 매체 (244) 의 흐름의 속도를 감지하기 위한 하나 이상의 센서들 (미도시) 과 같은 추가적인 엘리먼트들을 포함할 수 있다.

[0040] 익스포트 메커니즘 (228) 은 미세-유체 디바이스 (200) 로부터 오브젝트들 (미도시) 의 익스포트를 가능하게 할 수 있다. 예를 들어, 도 2b 및 도 2c 에 도시된 바와 같이, 익스포트 메커니즘 (228) 은 하우징 (202) 을 관통하는 통로 (246) 및 스테이징 영역 (248) 을 포함할 수 있다. 통로 (246) 는 대안으로 미세-유체 구조물 (204) 의 베이스 (206) 또는 측벽을 관통할 수 있다. 오브젝트들 (미도시) 은 스테이징 영역 (248) 으로 이동되어 통로 (246) 를 통해 디바이스 (200) 로부터 익스포트될 수 있다. 익스포트 메커니즘 (228) 은, 예를 들어, (2014 년 10 월 22 일에 출원된) 미국 특허 출원 제 14/520,510 호에 개시된 익스포트 메커니즘들의 예들 중 임의의 것과 같을 수 있다. 대안으로, 익스포트 메커니즘 (228) 은 단순히 출구 (210) 를 포함할 수 있다.

[0041] 제어 모듈 (230) 은 조작기 (222), 검출기 (224), 흐름 제어기 (226), 및/또는 익스포트 메커니즘 (228) 으로부터 신호들을 수신하여 제어하도록 구성될 수 있다. 도시된 바와 같이, 제어 모듈 (230) 은 제어기 (232) 및 메모리 (234) 를 포함할 수 있다. 일부 실시형태들에서, 제어기 (232) 는 디지털 전자, 광학, 또는 자기 메모리 디바이스일 수 있는 메모리 (234) 에 비일시적 신호들로서 저장된 머신 판독가능 명령들 (예를 들어, 소프트웨어, 펌웨어, 마이크로코드 등) 에 따라 동작하도록 구성된 디지털 전자 제어기 (예를 들어, 마이크로프로세서, 마이크로제어기, 컴퓨터 등) 일 수 있다. 대안으로, 제어기 (232) 는 하드와이어링된 디지털 회로부 및/또는 아날로그 회로부, 또는 머신 판독가능 명령들에 따라 동작하는 디지털 전자 제어기와 하드와이어링된 디지털 회로부 및/또는 아날로그 회로부의 조합을 포함할 수 있다.

[0042] 도시된 바와 같이, 미세-유체 디바이스 (200) 는 (디바이스 (200) 에서 공통 공간의 예일 수 있는) 선택부 (212), 격리부 (214), 및/또는 익스포트부 (216) 를 포함할 수 있다. 이러한 부분들 (212, 214, 216) 은 디바이스 (200) 의 물리적 분할들 또는 단지 개념적 분할들을 나타낼 수 있다. 이와 상관없이, 보여질 바와 같이, 생물학적 세포들 (미도시) 은 선택부 (212) 에 로딩될 수 있으며, 여기서 생물학적 세포들 (미도시) 중 개개의 생물학적 세포들이 식별되고 선택된다. 격리부 (214) 는 격리 펜들 (252) 을 포함할 수 있으며, 여기에 선택부 (212) 에서 선택된 개개의 생물학적 세포들 (미도시) 이 위치되고 서로 격리될 수 있다.

[0043] 언급된 바와 같이, 도 5 내지 도 12 는 도 2a 내지 도 2c 의 미세-유체 디바이스 (200) 상에서의 프로세스 (100) 의 동작의 예를 도시한다. 프로세스 (100) 는 이제 도 5 내지 도 12 에 도시된 예들을 참조하여 논의된다.

[0044] 도 1 에 도시된 바와 같이, 단계 102 에서, 프로세스 (100) 는 개개의 생물학적 세포들을 선택할 수 있다. 도 5 및 도 6 은 일 예를 도시한다. 도 5 에 도시된 바와 같이, 미세-유체 디바이스 (200) 의 선택부 (212) 에 생물학적 세포들 (502) 이 있을 수 있다. 세포들 (502) 은 모두 동일한 유형의 세포일 수 있다. 대

안으로, 세포들 (502) 은 다양한 상이한 유형의 세포들을 포함할 수 있다. 이와 상관없이, 세포들 (502) 은, 예를 들어, 입구 (208) 를 통해 미세-유체 디바이스 (200) 에 로딩될 수 있다.

[0045] 프로세스 (100) 는 임의의 다양한 상이한 기준들 또는 원하는 특성들에 기초하여 개별적으로 세포들 (502) 중 하나 이상을 선택할 수 있다. 예를 들어, 프로세스 (100) 는, 단계 102 의 일부로서, 하나 이상의 특성들에 대해 디바이스 (200) 의 선택부 (212) 에서 세포들 (502) 을 테스트하여 특성 또는 특성들을 갖는 것으로 결정된 세포들 (502) 중의 세포들을 선택할 수 있다. 다른 예로서, 프로세스 (100) 는 특성 또는 특성들을 갖지 않는 것으로 결정된 세포들 (502) 중의 세포들을 선택할 수 있다.

[0046] 단계 102 의 일부로서 테스트될 수 있는 특성들의 예들은 세포들 (502) 의 사이즈 및/또는 형태학 (예를 들어, 형태 및 구조) 을 포함한다. 따라서, 예를 들어, 검출기 (224) 는 디바이스 (200) 의 선택부 (212) 에 있는 세포들 (502) 의 이미지들을 캡처할 수 있다. 세포들 (502) 의 캡처된 이미지들은 그 다음에 분석되어 하나 이상의 미리 결정된 사이즈 또는 형태학 특성들을 충족시키는 세포들 (502) 중의 세포들을 식별할 수 있다. 예를 들어, 세포들 (502) 의 캡처된 이미지들은 분석되어 사이즈와 연관된 다음의 특성들: 미리 결정된 임계 사이즈 보다 큰, 보다 작은, 또는 실질적으로 동일한, 또는 높은 임계 사이즈 및 낮은 임계 사이즈 사이의 사이즈들의 범위 내에 있는 중 하나 이상을 충족시키는 세포들 (502) 중의 세포들을 식별할 수 있다. 다른 예로서, 세포들 (502) 의 캡처된 이미지들은 분석되어 세포들 (502) 의 형태 및/또는 구조와 관련되는 하나 이상의 미리 결정된 형태학 특성들을 충족시키는 세포들 (502) 중의 세포들을 식별할 수 있다. 이와 상관없이, 세포들 (502) 의 캡처된 이미지들은 (예를 들어, 전자 디스플레이 디바이스 (미도시) 상에) 디스플레이되고 사람 오퍼레이터에 의해 분석될 수 있다. 대안으로 또는 이에 더해, 세포들 (502) 의 캡처된 이미지들은 제어 모듈 (230) 에 의해 분석될 수 있다. 예를 들어, 제어 모듈 (230) 은 메모리 (234) 에 저장된 머신 관독가능 명령들 (예를 들어, 소프트웨어, 펌웨어, 마이크로코드 등), 및/또는 그러한 이미지들을 분석하여 사이즈 및 형태학에 관한 특정 기준들을 충족시키는 세포들 (502) 중의 세포들을 식별하기 위한 하드웨어화된 전기 회로들 (미도시) 을 포함할 수 있다.

[0047] 단계 102 의 일부분으로서 테스트될 수 있는 특성들의 다른 예들은 세포들 (502) 이 하나 이상의 특정 물질들 (예를 들어, 특정 단백질, 특정 항체 등) 을 포함하거나 생성하는지 (예를 들어, 발현하거나 분비하는지) 여부를 결정하는 것을 포함한다. 예를 들어, 세포들 (502) 은 그러한 특정 물질들 중 하나 이상의 존재에 대해 구별하여 검출가능한 방식으로 반응하는 시약으로 (디바이스 (200) 의 선택부 (212) 로 로딩되기 전에 또는 후에) 처리될 수 있다. 그러한 시약들의 예들은 특정 물질을 포함하거나 생성하는 세포들 (502) 을 염색하는 마커들을 포함한다. 검출기 (224) 는 디바이스 (200) 의 선택부 (212) 에 있는 처리된 세포들 (502) 의 이미지들을 캡처할 수 있고, 세포들 (502) 의 이미지들은 분석되어 특정 물질의 존재 (또는 부재) 를 나타내는 세포들 (502) 중의 세포들을 식별할 수 있다. 언급된 바와 같이, 세포들 (502) 의 이미지들은 사람 사용자를 위해 디스플레이되어 분석되고/되거나 위에서 논의된 바와 같이 일반적으로 제어 모듈 (230) 에 의해 분석될 수 있다. 사이즈, 형태학, 및/또는 단백질 발현 (예를 들어, 항체 발현) 과 같은 세포 특성들을 검출하는 방법들은, 예를 들어, 양자 모두 2014 년 10 월 22 일에 출원된 미국 출원 제 14/520,568 호 및 제 14/521,447 호에서 설명되었으며, 양자 모두는 그것들의 전체가 참조로서 본원에 포함된다.

[0048] 디바이스 (200) 의 선택부 (212) 에 있는 세포들 (502) 의 이미지들을 분석하도록 프로그래밍된 검출기 (224) 및/또는 제어기 (230) 는 특정 특성에 대해 개개의 생물학적 세포들을 식별하는 수단의 예일 수 있다.

[0049] 따라서, 단계 102 에서, 프로세스 (100) 는 (상이한 특성들일 수 있는) 하나 이상의 특정 특성들에 대해 디바이스 (200) 의 선택부 (212) 에 있는 세포들 (502) 을 테스트하고 그러한 특정 특성들 중 하나 이상에 대해 양성인 세포들 (502) 중의 하나 이상의 세포들을 선택할 수 있다. 대안으로, 프로세스 (100) 는, 단계 102 에서, 그러한 특성들에 대해 음성인 세포들 (502) 중의 하나 이상의 세포들을 선택할 수 있다.

[0050] 이와 상관없이, 단계 104 에서, 프로세스 (100) 는 단계 102 에서 선택된 세포들 (502) 을 디바이스 (200) 의 선택부 (212) 로부터 디바이스 (200) 의 격리부 (214) 에 있는 격리 펜들 (252) 로 이동시킬 수 있다. 예를 들어, 각각의 선택된 세포 (502) 은 각각의 펜 (252) 이 단계 102 에서 선택된 세포들 (502) 중 오직 하나만을 포함하도록 상이한 펜 (252) 으로 이동될 수 있다.

[0051] 도 6 은 (단계 102 의 일부분일 수 있는) 디바이스 (200) 의 선택부 (212) 에 있는 개개의 세포들 (502) 을 선택하고 선택된 개개의 세포들 (502) 을 격리 펜들 (252) 로 이동시키는 (단계 104) 예를 도시한다. 도 6 에 도시된 바와 같이, 프로세스 (100) 는 단계 102 에서 디바이스 (200) 의 선택부 (212) 에 있는 원하는 세포 (502) 을 광 트랩 (602) 으로 가둠으로써 단계 102 에서 특정한 개개의 세포 (502) 을 선택할 수 있다. 예

를 들어, 도 4a 및 도 4b 의 OET 디바이스 (400) 로서 구성된 조작기 (222) (도 2a 내지 도 2c 참조) 는 개개의 세포들 (502) 을 가두는 광 트랩들 (602) 을 생성할 수 있다. OET 디바이스 (400) 는 그 다음에 광 트랩들 (602) 을 펜들 (252) 로 이동시킬 수 있으며, 이는 가둬진 세포들 (502) 을 펜들 (252) 로 이동시킨다. 도식된 바와 같이, 각각의 세포 (502) 는 개별적으로 가둬져 홀딩 펜 (252) 으로 이동될 수 있다.

[0052] 광 트랩들 (602) 은 도 4a 및 도 4b 에 대해 위에서 논의된 바와 같은 미세-유체 디바이스 (200) 의 채널 (240) 의 내부 표면 (242) 상에 투사되는 광의 변화하는 패턴 (422) 의 일부분일 수 있다. 선택된 세포 (502) 가 펜 (252) 안에 있게 되면, 해당 세포 (502) 에 대응하는 광 트랩 (602) 은 턴 오프될 수 있다. 검출기 (224) 는 세포들 (502) 및 펜들 (252) 의 이미지들을 포함하여 채널 (240) 전부 또는 일부의 이미지들을 캡처할 수 있고, 이러한 이미지들은 특정한 개개의 세포들 (502) 을 가두어 특정 펜들 (252) 로 이동시키는 것을 가능하게 할 수 있다. 검출기 (224) 및/또는 (예를 들어, 도 4a 및 도 4b 의 OET 디바이스로서 구성된) 조작기 (222) 는 따라서 선택부 (212) 로부터 디바이스 (200) 의 격리부 (214) 에 있는 펜들 (252) 로 개개의 세포들 (502) 을 선택하여 이동시키는 수단의 하나 이상의 예들일 수 있다.

[0053] 조작기 (222) 는 (예를 들어, 디바이스 (200) 의 선택부 (212) 및/또는 펜들 (252) 에서) 개개의 생물학적 세포들 (502) 을 선택하여 선택된 개개의 세포들 (502) 을 (예를 들어, 격리 펜들 (252) 안으로 또는 밖으로) 이동시키는 수단의 예이다. 본원에서 도시되거나, 논의되거나, 개시된 조작기 (222) (도 4a 및 도 4b 에 도시된 OET 디바이스를 포함하나 이로 제한되지는 않는) 의 임의의 구성은 따라서 디바이스 (200) 에서 개개의 생물학적 세포들 (502) 을 선택하고/하거나 디바이스 (200) 에서 선택된 개개의 세포들 (502) 을 이동시키는 수단의 예이다. (예를 들어, 미세유체 디바이스 (200) 에 대해 기술어진 또는 기술될 수 있는 지지부에 의해 적용되는) 중력과 같이 전역에 작용하는 힘은 세포들 (502) 을 이동시키는 것을 보조하는데 이용될 수 있다. 대안으로, 수성 매체의 액적들 내에 포함되어 있는 개개의 세포들 (502) 은 OEW 디바이스를 이용하여 선택되어 홀딩 펜 (252) 내로 이동될 수 있다.

[0054] 위에서 언급된 바와 같이, 대안으로, 세포들 (502) 은 단계 102 에 앞서 펜들 (252) 내에 있을 수 있고, 프로세스 (100) 는 단계 102 에서 위에서 논의된 바와 같이 일반적으로 하나 이상의 특성들에 대해 펜들 (252) 내에 있는 세포들 (502) 을 선택할 수 있다. 프로세스 (100) 는 그 다음에, 단계 104 에서, 선택되지 않은 세포들 (502) 을 펜들 (252) 밖으로 이동시켜, 펜들 (252) 에는 선택된 세포들 (502) 을 남겨둘 수 있다.

[0055] 다시 도 1 로 돌아가면, 단계 106 에서, 프로세스 (100) 는 격리 펜들 (252) 에서 세포들 (502) 을 용해할 수 있다. 도 7 및 도 8 은 펜들 (252) 에서 세포들 (502) 을 용해하는 예들을 도시하며, 이는 따라서 용해 펜들의 예들일 수 있다. 단계 106 에서 용해되는 세포들 (502) 은 도 7 내지 도 12 에서 702 로 라벨링된다.

[0056] 도 7 에 도시된 바와 같이, 격리 펜들 (252) 에 있는 세포들 (502) 은 디바이스 (200) 의 격리부 (214) 를 관통하며 용해 시약 (706) 을 흐르게 함으로써 (704) 용해되어 용해된 세포들 (702) 을 생성할 수 있다. 예를 들어, 용해 시약 (706) 은 용해 시약 (706) 이 (예를 들어, 펜들 (252) 의 개구들 (258) 을 통한 확산에 의해) 펜들 (252) 의 내부 공간들 (256) 내로 진입하여 펜들 (252) 에 있는 세포들 (502) 을 용해하기에 충분한 시간 기간 동안 입구 (208) 로부터 출구 (210) 로 흐르게 될 수 있다. 도시되지는 않았으나, 그 후에 매체 (244) 는 디바이스 (200) 로부터 용해 시약 (706) 을 충분히 플러싱하도록 디바이스의 격리부 (214) 를 통해 흐르게 될 수 있다. 대안으로, 용해 시약 (706) 의 하나 이상의 액적들은 (예를 들어, OEW 디바이스를 이용하여) 각각의 펜 (252) 내로 이동되어 용해될 세포 (502) 를 포함하는 액적과 합쳐질 수 있다.

[0057] 용해 시약 (706) 은 공지된 임의의 적합한 용해 완충액 (또는 결합된 용해/핵산 바인딩 완충액) 일 수 있다. 예를 들어, 용해 완충액은 완충제, 킬레이트제 (chelating agent), 염제 (salt), 세정제 또는 카오토로픽제 (chaotropic agent), RNase 억제제, 프로테아제, 변성제, 또는 이의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 완충제는, 예를 들어, (예를 들어, 약 10 mM 내지 약 100 mM 의 농도의) TrisHCl 와 같은 Tris 완충제일 수 있다. 완충제는 생리학적으로 호환가능한 pH (예를 들어, 약 pH 7.0 내지 약 pH 8.5) 를 제공할 수 있다. 킬레이트제는, 예를 들어, (예를 들어, 약 1 mM 내지 약 10 mM 의 농도의) EDTA 또는 EGTA 와 같은 2가 양이온 킬레이트제일 수 있다. 염제는, 예를 들어, (예를 들어, 약 100 mM 내지 약 1 M 농도의) LiCl, NaCl, 또는 KCl 과 같은 염화 소금일 수 있다. 세정제는, 예를 들어, (예를 들어, 약 0.1% 내지 약 1.0% 의 농도의) SDS (sodium dodecyl sulfate), LiDS (lithium dodecyl sulfate) 등과 같은 이온 세정제, (예를 들어, 약 0.1% 내지 약 2.0% 의 농도의) Triton X-100, NP-40, Tween 세정제 (예를 들어, Tween 20) 등과 같은 비-이온 세정제일 수 있다. 카오토로픽제는, 예를 들어, (예를 들어, 약 0.1 M 내지 약 6.0 M 의 농도의) 구아니딘 (guanidine) (예를 들어, 구아니딘 HCl 또는 구아니딘 이소티오시아네이트 (guanidine isothiocyanate)) 또는

엘리먼트를 포함할 수 있다. RNase 억제제는 마이크로리터당 약 0.1 유닛 내지 2.0 유닛의 농도일 수 있다.

프로테아제는, 예를 들어, (예를 들어, 약 100 ng/ml 내지 약 1 mg/ml 의 농도의) Proteinase K 등일 수 있다. 변성제는, 예를 들어, (예를 들어, 약 0.01 M 내지 약 1 M 의 농도의) 포름아미드 (formamide) 또는 DTT 를 포함할 수 있다. 따라서, 소정의 실시형태들에서, 용해 시약 (706) 은 완충제 (예를 들어, Tris HCl), 염화 소금 (예를 들어, NaCl), 이온 및/또는 비-이온 세정제 (예를 들어, SDS), 프로테아제, 및 RNase 억제제를 포함할 수 있다. 다른 실시형태들에서, 용해 시약 (706) 은 완충제 (예를 들어, Tris HCl), 염화 소금 (예를 들어, LiCl), 2가 양이온 킬레이트제 (예를 들어, EDTA), 변성제 (예를 들어, DTT), 및 이온 및/또는 비-이온 세정제 (예를 들어, LiDS) 를 포함할 수 있다.

[0058] 도 8 은 펜들 (252) 에 있는 세포들 (502) 을 용해하여 용해된 세포들 (702) 을 생성하는 것의 다른 예를 도시한다. 도시된 바와 같이, 도 8 은 디바이스 (200) 의 일부분 또는 별도로 일 수 있는 용해 메커니즘 (806) 을 포함한다. 용해 메커니즘 (806) 은 용해 빔들 (808) 을 펜들 (252) 에 있는 세포들 (502) 중 하나 이상으로 향하도록 제어되어 용해된 세포들 (702) 을 생성할 수 있다. 각각의 용해 빔 (808) 은 세포들 (502) 중 하나를 용해하기에 충분한 에너지를 포함할 수 있다. 용해 메커니즘 (806) 은, 예를 들어, 레이저 메커니즘일 수 있고, 용해 빔들 (808) 은 레이저 빔들을 포함할 수 있다. 용해 메커니즘 (806) 은 용해 빔 (808) 을 세포들 (502) 중 특정 하나로 향하게 하도록 (예를 들어, 도 2a 의 제어 모듈 (230) 에 의해) 제어될 수 있다.

[0059] 용해 메커니즘 (806) 은 한 번에 하나씩 개개의 세포들 (502) 을 선택적으로 용해하도록 제어될 수 있다. 예를 들어, 용해 메커니즘 (806) 은 한 번에 하나씩 순차적으로 펜들 (252) 에 있는 세포들 (502) 을 용해하도록 제어될 수 있다. 다른 예로서, 용해 메커니즘 (806) 은 실질적으로 병렬로 펜들 (252) 에 있는 세포들 (502) 중 하나를 초과하나 전체보다는 적은 서브세트를 용해하도록 제어될 수 있다. 또 다른 예로서, 용해 메커니즘 (806) 은 실질적으로 동시에 펜들 (252) 에 있는 세포들 (502) 의 모두를 용해하도록 제어될 수 있다.

[0060] 도 7 및 도 8 은 펜들 (252) 에 있는 세포들 (502) 을 용해하는 예들을 도시한다. 용해하는 다른 예들은 전기천공법, 온도 (예를 들어, 상위 용해 임계치를 초과하는 열기 또는 하위 용해 임계치보다 적은 냉기), 전기장 에너지, 또는 음향 에너지를 펜들 (252) 에 있는 세포들 (502) 중 하나 이상에 적용하는 것을 포함한다. 예를 들어, 용해 메커니즘 (806) 은 전기천공법, 전기장 에너지, 또는 음향 에너지를 적용하거나 세포들 (502) 을 용해하기에 충분하게 세포들 (502) 중 하나 이상의 온도를 제어하기 위한 유사한 메커니즘으로 대체될 수 있다. 세포들 (502) 을 용해하기 위한 대안적인 방식의 다른 예는 (예를 들어, 도 2a 내지 도 2c 의 조작기 (222) 로) 세포들 (502) 을 캡처하여 칼 구조물, 창 구조물 등과 같은 기계 천공 디바이스 (미도시) 와의 접촉부로 이동시키는 것이다. 앞서 언급한 것 또는 다른 디바이스들 및 프로세스들 중 임의의 것이 단계 106 에서 펜들 (252) 에 있는 세포들 (502) 중 하나 이상을 용해하는데 이용되어 용해된 세포들 (702) 을 생성할 수 있다.

[0061] 어떻게 용해되는지와 상관없이, 용해된 세포 (702) 의 막은 충분히 파괴되어 용해된 세포 (702) 로부터의 핵산 물질이 용해된 세포 (702) 로부터 자유롭게 되어 흘러나와 대응하는 펜 (252) 의 내부 공간 (256) 안으로 (또는 대응하는 펜 (252) 내에 담겨 있는 수성 액적 내로) 간다. 도 9 에 도시된 예는 펜들 (252) 에 있는 용해된 세포들 (702) 로부터의 핵산 물질 (902) 을 보여준다. 언급된 바와 같이, 격리 펜들 (252) 은 하나의 펜 (252) 에 있는 용해된 세포 (702) 로부터의 핵산 물질 (902) 이 흘러들어가 다른 펜 (252) 에 있는 상이한 용해된 세포 (702) 로부터의 핵산 물질 (902) 과 섞이는 것을 방지할 수 있다. 격리 펜들 (252) 은 또한 하나의 펜 (252) 에 있는 액적들, 물질들, 엘리먼트들, 또는 오브젝트들 (예를 들어, 하기에서 논의될 캡처 오브젝트들 (1002)) 이 다른 펜들 (252) 에 있는 액적들, 물질들, 엘리먼트들, 또는 오브젝트들과 섞이는 것을 방지할 수 있다.

[0062] 핵산 물질 (902) 은, 예를 들어, DNA (deoxyribonucleic acid), RNA (ribonucleic acid) 등을 포함할 수 있다. 그러한 DNA 는 mitDNA (mitochondrial DNA), nDNA (nuclear DNA), 또는 엑솜 (exome) DNA 를 포함하는 임의의 유형의 DNA 일 수 있다. 그러한 RNA 는 miRNA (micro RNA), mRNA (messenger RNA), rRNA (ribosomal RNA), rnRNA (small nuclear RNA), 또는 tRNA (transfer RNA) 를 포함하는 임의의 유형의 RNA 일 수 있다.

[0063] 용해 에너지 (808) (예를 들어, 레이저 빔들) 를 생성하여 격리 펜들 (252) 에 있는 개개의 세포들 (502) 로 향하게 하도록 구성된 용해 메커니즘 (806) (예를 들어, 레이저), 격리 펜들 (252) 에 있는 세포들 (502) 을 전기천공하도록 구성된 전기천공 디바이스, 세포들 (502) 을 용해하기에 충분하게 격리 펜들 (252) 에 있는 세포들 (502) 을 가열하거나 냉각하도록 구성된 온도 제어 디바이스, 또는 충분한 음향 에너지를 격리 펜들 (252) 에 있는 세포들 (502) 에 적용하여 세포들 (502) 을 용해하도록 구성된 음향 디바이스는 모두 격리 펜들 (252) 에 있는 세포들 (502) 을 용해하는 용해 수단의 예들이다.

- [0064] 일부 실시형태들에서, 프로세스 (100) 는, 단계 106 의 일부로서, 펜들 (252) 에 있는 세포들 (502) 중 하나 이상을 용해하는 시간을 제어할 수 있다.
- [0065] 예를 들어, 단계 106 의 일부로서, 프로세스 (100) 는 세포들 (502) 을 선택하기 위해 단계 102 에서 사용되는 세포들 (502) 의 특성들 중 하나 이상에 대응하도록 펜들 (252) 에 있는 하나 이상의 세포들 (502) 을 용해하는 시간을 맞출 수 있다. 프로세스 (100) 는 단계 102 의 일부분으로서 검출되는 바와 같은 세포들 (502) 또는 세포들 (502) 을 구성하거나 그로부터 분비되는 물질의 특정 형태학 또는 사이즈에 대응하도록 펜들 (252) 에 있는 하나 이상의 세포들 (502) 을 용해하는 타이밍을 제어할 수 있다. 따라서, 예를 들어, 제 1 사이즈 범위 내의 사이즈를 갖는 펜들 (252) 에 있는 하나 이상의 세포들 (502) 은 제 1 시간에 용해될 수 있으며, 그 다음에 (제 1 사이즈 범위와 상이할 수 있는) 제 2 사이즈 범위 내의 사이즈를 갖는 펜들에 있는 하나 이상의 세포들 (502) 은 (제 1 시간과 상이할 수 있는 (예를 들어, 추후 또는 이전 시간) 제 2 시간에 용해될 수 있는 등이다. 다른 예로서, 특정 형태학 특성들을 갖는 펜들 (252) 에 있는 세포들 (502) 은 제 1 시간에 용해될 수 있으며, 그 다음에 상이한 형태학 특성을 갖는 펜들 (252) 에 있는 하나 이상의 세포들 (502) 은 (제 1 시간과 상이할 수 있는 (예를 들어, 추후 또는 이전 시간)) 제 2 시간에 용해될 수 있는 등이다. 소정의 실시형태들에서, 하나 이상의 세포들을 용해하는데 걸리는 시간의 양은, 예를 들어, 약 1 분 내지 약 10 분 (예를 들어, 약 5 분 내지 약 10 분) 일 수 있다.
- [0066] 단계 106 에서 용해하는 타이밍을 제어하는 다른 예로서, 프로세스 (100) 는 특정 이벤트에 대응하도록 펜들 (252) 에 있는 하나 이상의 세포들 (502) 을 용해하는 시간을 맞출 수 있다. 예를 들어, 단계 106 는 특정 이벤트를 위해 펜들 (252) 및/또는 선택 영역 (212) 을 모니터링하는 단계를 포함할 수 있고, 프로세스 (100) 는 그 다음에 검출된 이벤트로부터 펜들 (252) 에 있는 하나 이상의 세포들 (502) 을 용해하는 시간을 맞출 수 있다. 이벤트의 예들은 펜들 (252) 또는 선택 영역 (212) 에 있는 하나 이상의 세포들 (502) 의 형태학 또는 분비 또는 분리에서의 변화를 포함할 수 있다. 선택 영역 (212) 및/또는 펜들 (252) 은 검출기 (224) 로 펜들 (252) 및/또는 선택 영역 (212) 의 이미지들을 캡처함으로써 그러한 이벤트들에 대해 모니터링될 수 있고, 이미지들은 사람 오퍼레이터 및/또는 위에서 언급된 바와 같이 일반적으로 그러한 이미지들을 분석하도록 (예를 들어, 소프트웨어, 마이크로코드, 펌웨어 등으로 프로그래밍된) 구성된 제어 모듈 (230) 에 의해 분석될 수 있다.
- [0067] 용해하는 타이밍은 위에서 논의된 용해 메커니즘들 중 임의의 것을 제어함으로써 제어될 수 있다. 예를 들어, 사람 사용자 및/또는 제어 모듈 (230) 은 특정 시간들에 펜들 (252) 에 있는 특정 세포들 (502) 을 용해하도록 용해 메커니즘 (806) 을 제어할 수 있다. 다른 예로서, 도시되지는 않았으나, 디바이스 (200) 는 채널 (240) 같은 다수의 채널들을 포함할 수 있고, 그러한 채널들 (240) 의 각각은 격리 펜들 (252) 을 포함할 수 있다. 각각의 그러한 채널 (240) 에서의 펜들 (252) 에 있는 세포들 (502) 의 용해 시간은 각각의 채널 (240) 에 대한 용해의 적용을 선택적으로 제어함으로써 제어될 수 있다. 예를 들어, 용해 시약 (예를 들어, 706 같은 것) 은 각각 개개의 채널 (240) 을 통해 상이한 시간들에 흐르게 될 수 있다. 다른 예로서, 용해 온도, 용해 전기장 에너지, 용해 음향 에너지 등이 각각의 채널 (240) 에 상이한 시간들에 선택적으로 적용될 수 있다.
- [0068] 다시 도 1 을 참조하면, 단계 108 에서, 단계 106 에서 용해된 세포들로부터의 핵산 물질의 하나 이상의 유형들의 핵산 물질은 펜들에서 하나 이상의 캡처 오브젝트들로 캡처될 수 있다. 펜들 (252) 중 하나를 도시하는 도 10 은 일 예를 도시한다.
- [0069] 도 10 에 도시된 바와 같이, 하나 이상의 캡처 오브젝트들 (1002) (2 개가 도시되나 보다 많거나 보다 적게 있을 수도 있다) 이 용해된 세포 (702) 를 갖는 펜 (252) 의 내부 공간 (256) 에 배치될 수 있다. 보여질 바와 같이, 각각의 그러한 캡처 오브젝트 (1002) 는 펜 (252) 에 있는 용해된 세포 (702) 로부터의 특정 유형의 핵산 물질 (902) 을 바인딩하도록 구성될 수 있다. 디바이스 (200) 에 있는 펜들 (252) 의 각각에 하나 이상의 유사한 캡처 오브젝트들이 있을 수 있다.
- [0070] 도 11 은 오브젝트 (1002) 의 예시적인 구성을 도시한다. 즉, 디바이스 (200) 의 펜들 (252) 중 임의의 펜에 있는 각각의 캡처 오브젝트 (1002) 는 도 11 에 도시된 캡처 오브젝트 (1002) 처럼 구성될 수 있다.
- [0071] 도 11 에서 도시된 바와 같이, 캡처 오브젝트 (1002) 는 베이스 (1102) 및 캡처 물질 (1104) 을 포함할 수 있다. 베이스 (1102) 는 미세-비드, 미세-로드 등과 같은 미세-오브젝트일 수 있다. 베이스는, 예를 들어, 스트렙타비딘 (streptavidin) 코팅된 비드, 자기 비드 등일 수 있다. 캡처 물질 (1104) 은 임의의 다른 유형의 핵산 물질보다 상당히 큰 (예를 들어, 2 배, 3 배, 5 배, 10 배, 또는 그 이상을 큰) 특이성을 갖는 특

정 유형의 핵산 물질을 바인딩하는 물질을 포함할 수 있다. 예를 들어, 캡처 물질 (1104)은 임의의 다른 유형의 DNA 또는 RNA 보다 큰 (예를 들어, 2 배, 3 배, 5 배, 10 배, 또는 그 보다 큰) 특이성을 갖는 특수 유형의 DNA 또는 RNA (예를 들어, 위에서 식별된 임의의 유형들의 DNA 또는 RNA)를 바인딩할 수 있다. 용해된 세포 (702)를 갖는 웰 (252)에 있는 각각의 캡처 오브젝트 (1002)는 상이한 캡처 물질 (1104)을 가지고 따라서 웰 (252)에 있는 용해된 세포 (702)로부터 상이한 유형의 핵산 물질 (예를 들어, DNA 또는 RNA)을 캡처할 수 있다. 대안으로, 용해된 세포 (702)를 갖는 웰 (252)에 있는 각각의 캡처 오브젝트 (1002)는 동일한 캡처 물질 (1104)을 가질 수 있다. 일 예에서, 폴리-dT 올리고 (poly-dT oligo)들이 mRNA를 바인딩하는데 이용될 수 있다. 대안으로, 올리고들은 특히 항체 중쇄들 및/또는 경쇄들을 인코딩하는 mRNA들의 보존된 영역을 바인딩할 수 있다.

[0072] 또한 도 11에 도시된 바와 같이, 각각의 캡처 오브젝트 (1002)는 식별자 (1106)를 포함할 수 있으며, 식별자는 캡처 오브젝트 (1002)를 고유하게 식별하는 코드를 포함할 수 있다. 웰들 (252)에 있는 각각의 캡처 오브젝트 (1002)는 따라서 디바이스 (200)에 있는 캡처 오브젝트들 (1002) 모두가 서로 고유하게 식별될 수 있도록 고유한 식별자 (1106)를 가질 수 있다.

[0073] 식별자 (1106)는 캡처 오브젝트 (1002)를 고유하게 식별하고 하나의 캡처 오브젝트 (1002)를 다른 캡처 오브젝트 (1002)와 구별하는 것을 가능하게 할 수 있는 임의의 엘리먼트 또는 물질일 수 있다. 예를 들어, 식별자 (1106)는 캡처 오브젝트 (1002)를 고유하게 식별하는 생물학적 물질을 포함할 수 있다. 고유한 사용자-특정 시퀀스를 갖도록 제작된, 올리고뉴클레오타이드 (oligonucleotides)들과 같은 합성 핵산 물질 (예를 들어, 상대적으로 짧은 단일-가닥의 DNA 또는 RNA 분자들)이 그러한 식별자 (1106)의 예이다. 복수의 캡처 오브젝트들 (1002)의 각각의 식별자 (1106)는 상이한 그러한 사용자-특정 시퀀스를 가져, 캡처 오브젝트들 (1002)이 서로 쉽게 구별되는 것을 가능하게 할 수 있다. 다른 예로서, 식별자 (1106)는 캡처 오브젝트 (1002)를 고유하게 식별하는 코드를 갖는 전자적으로, 광학적으로, 또는 자기적으로 판독가능한 엘리먼트를 포함할 수 있다.

[0074] 캡처 오브젝트들 (1002)은 도 1의 단계 108의 일부분으로서 웰들 (252)내에 위치될 수 있다. 대안으로, 캡처 오브젝트들 (1002)은 단계 102 내지 단계 106 중 임의의 단계 전에, 중에, 또는 후에 웰들 (252)내에 위치될 수 있다. 캡처 오브젝트들 (1002)은 캡처 오브젝트들 (1002)과 타겟 핵산들 사이를 바인딩하는데 도움이 되는 바인딩 완충액과 함께 웰들 (252)내에 위치될 수 있다.

[0075] 바인딩 완충액은 위에서 설명된 바와 같은 용해 완충액과 동일할 수 있다. 따라서, 예를 들어, 결합된 용해/바인딩 완충액이 도 1의 방법의 단계 106 및 단계 108 양자 모두에 이용될 수 있다. 소정의 실시형태들에서, 적합한 용해/바인딩 완충액은 완충제, 킬레이트제, 염제, 세정제, 변성제, 또는 이의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 완충제는, 예를 들어, (예를 들어, 약 10 mM 내지 약 100 mM의 농도의) TrisHCl와 같은 Tris 완충제일 수 있다. 완충제는 생리학적으로 호환가능한 pH (예를 들어, 약 pH 7.0 내지 약 pH 8.5)를 제공할 수 있다. 킬레이트제는, 예를 들어, (예를 들어, 약 1 mM 내지 약 10 mM의 농도의) EDTA 또는 EGTA와 같은 2가 양이온 킬레이트제일 수 있다. 염제는, 예를 들어, (예를 들어, 약 100 mM 내지 약 1 M 농도의) LiCl, NaCl, 또는 KCl과 같은 염화 소금일 수 있다. 세정제는, 예를 들어, (예를 들어, 약 0.1% 내지 약 1.0%의 농도의) SDS (sodium dodecyl sulfate), LiDS (lithium dodecyl sulfate) 등과 같은 이온 세정제, (예를 들어, 약 0.1% 내지 약 2.0%의 농도의) Triton X-100, NP-40, Tween 세정제 (예를 들어, Tween 20) 등과 같은 비-이온 세정제일 수 있다. 변성제는, 예를 들어, (예를 들어, 약 0.01 M 내지 약 1 M의 농도의) 포름아미드 (formamide) 또는 DTT를 포함할 수 있다. 따라서, 예를 들어, 결합된 용해/바인딩 완충액은 완충제 (예를 들어, Tris HCl), 염화 소금 (예를 들어, LiCl), 2가 양이온 킬레이트제 (예를 들어, EDTA), 변성제 (예를 들어, DTT), 및 이온 및/또는 비-이온 세정제 (예를 들어, LiDS)를 포함할 수 있다.

[0076] 소정의 실시형태들에서, 적합한 바인딩 완충액은 완충제, 킬레이트제, 염제, 또는 이의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 완충제는, 예를 들어, (예를 들어, 약 10 mM 내지 약 100 mM의 농도의) TrisHCl와 같은 Tris 완충제일 수 있다. 완충제는 생리학적으로 호환가능한 pH (예를 들어, 약 pH 7.0 내지 약 pH 8.5)를 제공할 수 있다. 킬레이트제는, 예를 들어, (예를 들어, 약 1 mM 내지 약 10 mM의 농도의) EDTA 또는 EGTA와 같은 2가 양이온 킬레이트제일 수 있다. 염제는, 예를 들어, (예를 들어, 약 100 mM 내지 약 1 M 농도의) LiCl, NaCl, 또는 KCl과 같은 염화 소금일 수 있다. 따라서, 예를 들어, 바인딩 완충액은 완충제 (예를 들어, Tris HCl), 염화 소금 (예를 들어, LiCl), 2가 양이온 킬레이트제 (예를 들어, EDTA)를 포함할 수 있다.

[0077] 특정한 개개의 캡처 오브젝트들 (1002)은, 예를 들어, 선택된 세포들 (502)이 웰들 (252)내에 위치되는 것과

동일한 방식으로, 펜들 (252) 의 각각에 위치될 수 있으며: 캡처 오브젝트들 (1002) 은 입구 (208) 를 통해 디바이스 (200) 의 선택부 (212) 내로 로딩될 수 있고, 위에서 논의된 바와 같이 선택된 세포 (502) 가 광 트랩 (602) 에 의해 가둬져 펜 (252) 내로 이동되는 것처럼 일반적으로 특정한 개개의 캡처 오브젝트들 (1002) 은 광 트랩 (미도시) 에 의해 개별적으로 가둬져 특정 펜 (252) 내로 이동될 수 있다. 대안으로, 캡처 오브젝트들 (1002) 은 수성 액적들 내에 포함될 수 있고, 액적들은, 예를 들어, OEW 를 이용하여 펜들 (252) 내로 이동될 수 있다. 개개의 캡처 오브젝트들 (1002) 은 펜 (252) 내로 이동될 수 있고, 그러한 이동은 병렬로, 한번에 하나씩 순차적으로, 또는 부분적으로 병렬로 그리고 부분적으로 순차적일 수 있다.

[0078] 언급된 바와 같이, 용해된 세포 (702) 를 갖는 펜 (252) 에 있는 하나 이상의 오브젝트들 (1002) 의 각각은 상이한 캡처 물질 (1104) 을 가질 수 있고, 따라서 용해된 세포 (702) 로부터 상이한 특정 유형의 핵산 물질을 캡처할 수 있다. 프로세스 (100) 는 따라서 펜 (252) 에 있는 용해된 세포 (702) 로부터 임의의 하나 이상의 특정 유형들의 핵산 물질을 캡처할 수 있다.

[0079] 또한 언급된 바와 같이, 각각의 펜 (252) 의 인클로저 (254) 는 핵산 물질 (902) 을 펜 (252) 의 내부 공간 (256) 내에 유지하도록 구성될 수 있다. 대안으로 또는 이에 더해, 예를 들어, 도 10 에 도시된 바와 같이, 차단 오브젝트 (1004) 가 일반적으로 펜 (252) 의 개구 (258) 에 위치될 수 있다. 차단 오브젝트 (1004) 는 차단 오브젝트 (1004) 가 펜 (252) 에 있는 용해된 세포 (702) 로부터의 상이한 유형의 핵산 물질 (902) 의 대부분 또는 전부를 상대적으로 높은 특이성으로 바인딩하도록 구성될 수 있다는 점을 제외하면 캡처 오브젝트 (1002) 와 일반적으로 유사할 수 있다. 또 다른 대안들에서, OEW-형 구성에 이용되는 오일이 격리 펜들 (252) (예를 들어, 채널) 사이의 공간에 그리고 선택적으로 펜들 (252) 의 개구 (258) 에 위치될 수 있다. 차단 오브젝트 (1004) 또는 오일 (미도시) 은 따라서 또한 펜 (252) 에 있는 용해된 세포 (702) 로부터의 핵산 물질 (902) 이 펜 (252) 을 빠져나가 다른 펜 (252) 에 있는 핵산 물질 (902) 과 섞이는 것을 방지할 수 있다.

[0080] 차단 오브젝트 (1004) 는 캡처 오브젝트 (1002) 와 유사할 수 있다. 예를 들어, 차단 오브젝트 (1004) 는 베이스 (도시되지는 않았으나 도 11 의 베이스 (1102) 같은 것일 수 있다) 및 캡처 물질 (도시되지는 않았으나 캡처 물질 (1104) 같은 것일 수 있다) 을 포함할 수 있다. 언급된 바와 같이, 그러나, 차단 오브젝트 (1004) 의 캡처 물질 (미도시) 은 펜 (252) 에 있는 용해된 세포 (702) 로부터의 핵산 물질 (902) 의 대부분 또는 전부를 바인딩하도록 구성될 수 있다.

[0081] 도 7 내지 도 10 에 도시된 예들에서, 펜 (252) 에 있는 세포 (502) 의 외막 및 세포 (502) 의 내부에 있는 엘리먼트들의 막들의 0 개에서 전부까지 중에서 임의의 개수의 막이 도 1 의 단계 106 에서 용해될 수 있다. 각각의 용해된 세포들 (702) 은 따라서 그것의 외막 및 단계 106 에서 용해되는 세포 (702) 내부에 있는 임의의 내부 막들 중 0 개, 일부, 또는 전부를 가질 수도 있고, 핵산 물질 (902) 은 용해된 세포 (702) 내부의 임의의 곳에서부터의 핵산 물질 (902) 의 일부 또는 전부를 포함할 수 있다. 위에서 논의된 바와 같이, 단계 108 에서, 펜 (252) 에 있는 특정 유형들의 핵산 물질 (902) 은 펜 (252) 에 있는 하나 이상의 캡처 오브젝트들 (1002) 로 캡처될 수 있다.

[0082] 도 12a 및 도 12b 는 막들의 모두가 아니라, 세포 (502) 의 막들 중 오직 선택된 하나 이상의 막들만이 용해되도록 도 1 의 단계 106 가 수행될 수 있는 예를 도시한다.

[0083] (도 10 처럼, 디바이스 (200) 에 있는 펜들 (252) 중 하나를 도시하는) 도 12a 는 펜 (252) 에 있는 세포 (502) 의 예시적인 컴포넌트들을 도시한다. 세포 (502) 의 컴포넌트들은 핵 (1204) 및 세포소기관들 (1208) (2 개가 도시되나 보다 많거나 보다 적게 있을 수 있다) 을 포함할 수 있다. 공지된 바와 같이, 외막 (1202) 이 세포 (502) 를 바운딩하고, 핵막 (1206) 이 핵 (1204) 을 바운딩하고, 미토콘드리아 막 (1210) 이 각각의 세포소기관 (1208) 을 바운딩한다.

[0084] 도 12b 에 도시된 바와 같이, 단계 106 에서 펜 (252) 에 있는 세포 (502) 의 막들 (1202, 1206, 1210) 모두를 용해하기 보다는, 막들 (1202, 1206, 1210) 중 하나 이상 그러나 전부보다는 적은 수의 막들이 단계 106 에서 용해될 수 있다. 도 12b 에 도시된 예에서, 세포 (502) 의, 외막 (1202), 그러나 핵막 (1206) 은 아니고, 또는 미토콘드리아 막들 (1210) 중 임의의 막이 단계 106 에서 용해된다. 릴리스된 핵산 물질 (1222) 은 따라서 핵 (1204) 또는 세포소기관들 (1208) 내부로부터의 핵산 물질을 포함하지 않을 것이다. 따라서, 도 12b 에 도시된 예에서, 릴리스된 핵산 물질 (1222) 은 RNA (예를 들어, 위에서 식별된 임의의 유형들의 RNA) 일 수 있다.

[0085] 단계 108 은 그 다음에 지금 용해된 세포 (702) 로부터 릴리스된 하나 이상의 유형들의 핵산 물질 (1222) 을 캡

쳐하도록 위에서 논의된 바와 같이 일반적으로 수행될 수 있다. 예를 들어, 도 12b 에 도시된 바와 같이, 용해된 세포 (702) 로부터 릴리스된 하나 이상의 유형의 핵산 물질 (1222) 을 캡처하도록 구성된 하나 이상의 캡처 오브젝트들 (1002a) (1 개가 도시되지만 더 많을 수 있다) 이 펜 (252) 내에 있을 수 있다.

[0086] 도 12c 및 도 12d 에 도시된 바와 같이, 단계 106 및 단계 108 은 1회 이상 반복되어 펜 (252) 에 있는 지금 용해된 세포 (702) 의 하나 이상의 추가적인 막들을 용해하고, 따라서 각각의 추가적인 막이 용해됨에 따라 릴리스된 추가적인 유형들의 핵산 물질을 릴리스하고 캡처할 수 있다.

[0087] 도 12c 에 도시된 예에서, 세포소기관들 (1208) 중 하나의 미토콘드리아 막 (1210) 은 도 1 의 단계 106 의 반복에서 용해되며, 이는 지금 용해된 세포소기관 (1238) 으로부터 핵산 물질 (1224) 을 릴리스할 수 있다. (용해된 세포소기관 (1208) 은 도 12c 에서 1238 로 라벨링된다.) 릴리스된 핵산 물질 (1224) 은 통상적으로 세포소기관들에서 발견되는 바와 같은 mtDNA 와 같은 핵산 물질을 포함할 수 있다. 도 1 의 단계 108 은 그 다음에 용해된 세포소기관 (1238) 으로부터 릴리스된 하나 이상의 유형들의 핵산 물질 (1224) 을 캡처하도록 위에서 논의된 바와 같이 일반적으로 반복될 수 있다. 예를 들어, 도 12c 에 도시된 바와 같이, 용해된 세포소기관 (1238) 으로부터 릴리스된 하나 이상의 유형의 핵산 물질 (1224) 을 캡처하도록 구성된 하나 이상의 캡처 오브젝트들 (1002b) (1 개가 도시되지만 더 많을 수 있다) 이 펜 (252) 내에 있을 수 있다. 핵 (1204) 을 용해하기 전에 세포소기관 (1208) 이 용해되는 예에서, 펜 (252) 의 내부 공간 (256) 에 있는 핵 (1204) 으로부터의 자유 핵 DNA 가 없기 때문에 용해된 세포소기관 (1208) 으로부터의 고도로 농축된 mtDNA 가 캡처될 수 있다.

[0088] 도 12d 에 예시된 예에서, 핵 (1204) 의 핵막 (1206) 은 도 1 의 단계 106 의 다른 반복에서 용해될 수 있으며, 이는 지금 용해된 핵 (1234) 으로부터 핵산 물질 (1226) 을 릴리스할 수 있다(용해된 핵 (1204) 은 도 12d 에서 1234 로 라벨링된다). 릴리스된 핵산 물질 (1226) 은, 세포의 핵에서 통상적으로 발견되는, 다양한 유형들의 DNA 와 같은 핵산 물질을 포함할 수 있다. 단계 108 는 그 다음에 용해된 핵 (1234) 으로부터 릴리스된 하나 이상의 유형들의 핵산 물질 (1226) 을 캡처하도록 위에서 논의된 바와 같이 일반적으로 다시 반복될 수 있다. 예를 들어, 도 12d 에 도시된 바와 같이, 용해된 핵 (1234) 으로부터 릴리스된 하나 이상의 유형의 핵산 물질 (1226) 을 캡처하도록 구성된 하나 이상의 캡처 오브젝트들 (1002c) (1 개가 도시되지만 더 많을 수 있다) 이 펜 (252) 내에 있을 수 있다.

[0089] 도 12a 내지 도 12d 에 도시된 예들에서, 위에서 예시되거나 논의된 임의의 방식으로, 막들 (1202, 1206, 1208) 은 용해될 수 있고, 캡처 오브젝트들 (1002a, 1002b, 1002c) 은 펜 (252) 내로 이동될 수 있다. 또한, 각각의 캡처 오브젝트 (1002a, 1002b, 1002c) 는 단계 108 의 각각의 반복의 끝에 (예를 들어, 일반적으로 도 13 에서 도시되고 하기에서 논의되는 바와 같이) 펜 (252) 으로부터 제거될 수 있거나, 캡처 오브젝트 (1002a, 1002b, 1002c) 모두는 단계 108 의 마지막 반복 후에 펜 (252) 으로부터 (예를 들어, 도 13 에 도시되고 하기에서 논의된 바와 같이 일반적으로) 제거될 수 있다.

[0090] 도 12c 및 도 12d 가 세포소기관 (1208) 을 용해하고 그 다음에 핵 (1204) 을 용해하는 것을 도시하긴 하나, 다른 순서들이 가능하다. 예를 들어, 핵 (1204) 은 (도 12c 에 도시된 바와 같이) 세포소기관 (1208) 을 용해하기 전에 (도 12d 에 도시된 바와 같이) 용해될 수 있다. 다른 예로서, 다수의 세포소기관들 (1208) 이 (도 12c 에 도시된 바와 같이 각각) 용해될 수 있고, 핵막 (1206) 은 세포소기관들 (1208) 중 2 개를 용해하는 사이에 (도 12d 에 도시된 바와 같이) 용해될 수 있다. 도 12a 내지 도 12d 가 디바이스 (100) 의 오직 하나의 펜 (252) 을 도시하긴 하나, 이러한 도면들에서 도시된 캡처 오브젝트들 (1002) 로 용해하는 것 및 캡처하는 것은 또한 디바이스 (100) 에 있는 펜들 (252) 의 다른 것들에서 수행될 수 있다. 또한, 도 12a 내지 도 12d 에서의 예시적인 세포 (502) 는 핵막 (1206) 을 가지고 따라서 진핵 세포인 것으로 도시되나, 도면들에서 도시되고 본원에서 논의되는 세포들 (502) 은 원핵 세포들과 같은 다른 유형들의 세포들일 수 있다.

[0091] 도 1 로 다시 돌아가면, 단계 110 에서, 프로세스 (100) 는 펜들 (252) 중 하나 이상으로부터 캡처 오브젝트들 (1002) 중 하나 이상을 제거할 수 있다. 도 13 은 광 케이지들 (1302) 이 펜들 (252) 에 있는 캡처 오브젝트들 (1002) 을 가워 캡처 오브젝트들 (1002) 을 디바이스 (200) 의 익스포트부 (216) 로 이동시킬 수 있는 예를 도시한다. (도 4a 및 도 4b 에 도시된 바와 같이 구성된 OET 디바이스 또는 대안으로 그리고 OEW 디바이스를 포함하여, 위에서 논의되거나 언급된 DEP 디바이스들 중 임의의 것은 따라서 디바이스 (200) 의 격리 펜들 (252) 에 있는 개개의 캡처 오브젝트들 (1002) (또는 그러한 캡처 오브젝트들을 포함하는 액적들) 을 선택하고 선택된 캡처 오브젝트들 (1002) 을 격리 펜들 (252) 밖으로 이동시키는 수단의 예이다.) 예를 들어, 캡처 오브젝트들 (1002) 은 익스포트 메커니즘 (228) 의 스테이징 영역 (248) 으로 이동되어 통로 (246) 를 통해 디

바이스 (200) 로부터 익스포트될 수 있다. 앞서의 것은, 예를 들어, (2014 년 10 월 22 일에 출원된) 앞서 언급된 US 특허 출원 제 14/520,510 호 (변호사 사건관리 번호 BL14-US) 에서 개시된, 임의의 방식으로 수행될 수 있다. 대안으로, 캡처 오브젝트들 (1002) 은 출구 (210) 를 통해 디바이스 (200) 로부터 익스포트될 수 있다. 또 다른 대안으로서, 단계 110 에서 펜들 (252) 로부터 제거된 캡처 오브젝트들 (1002) 은 디바이스 (200) 에서의 다른 위치들에 저장되고/되거나 더 프로세싱될 수 있다.

[0092] 도 1 의 프로세스 (100) 는 따라서 미세-유체 디바이스 (200) 에 있는 세포들의 그룹으로부터 하나 이상의 특정 특성을 갖는 결정된 특정 개개의 세포들 (502) 을 식별하고 선택할 수 있고, 프로세스 (100) 는 펜들 (252) 의 각각이 선택된 세포들 (502) 중 오직 하나만을 포함하도록 디바이스 (200) 에 있는 격리 펜들 (252) 내에 선택된 세포들 (502) 을 개별적으로 놓을 수 있다. 프로세스 (100) 는 그 다음에 펜들 (252) 중 하나에 있는 단일 세포 (502) 로부터 핵산 물질을 추출하고 펜 (252) 에 있는 하나 이상의 캡처 오브젝트들 (1002) 로 단일 세포 (502) 로부터 하나 이상의 특정 유형들의 핵산 물질 (예를 들어, 위에서 식별된 임의의 하나 이상의 유형들의 DNA 또는 RNA) 을 캡처할 수 있다. 대안으로, 프로세스 (100) 는 펜 (252) 에 하나를 초과하는 세포 (502) 를 위치시킬 수 있고/있거나, 펜에 있는 단일 세포 (502) 는 자라서 펜 (252) 에 있는 다수의 그러한 세포들로 증식할 수 있다. 이와 상관없이, 프로세스 (100) 는 그 다음에 캡처 오브젝트들 (1002) 및 따라서 캡처 오브젝트들 (1002) 에 의해 캡처된 핵산 물질을 펜들 (252) 로부터 제거하여 디바이스 (200) 로부터 캡처 오브젝트들 (1002) 을 익스포트하거나, 디바이스 (200) 에 있는 다른 위치들에 캡처 오브젝트들 (1002) 을 저장하거나, 디바이스 (200) 에서 캡처 오브젝트들 (1002) 을 더 프로세싱할 수 있다.

[0093] 언급된 바와 같이, 각각의 캡처 오브젝트 (1002) 는 고유한 식별자 (1006) 를 포함할 수 있으며, 이는 각각의 캡처 오브젝트 (1002) 에서의 핵산 물질을 핵산 물질이 비롯되는 세포 (502) 와 상관시키는 것을 가능하게 한다. 예를 들어, 제어 모듈 (230) 은 캡처 오브젝트들 (1002) 의 고유한 식별자들 (1106) 의 각각의 (예를 들어, 메모리 (234) 에 저장된) 디지털 레코드, 및 각각의 캡처 오브젝트 (1002) 에 대한, 캡처 오브젝트 (1002) 에 의해 캡처된 핵산 물질에 관한 정보를 유지하도록 프로그래밍될 수 있다. 예를 들어, 제어기 (230) 는 특정 캡처 오브젝트 (1002) 의 고유한 식별자 (1106) 와 연관된 다음의 정보: 핵산 물질이 캡처된 특정 펜 (252) 의 식별, 핵산 물질이 캡처된 세포 (502) 의 특성들, 캡처된 핵산 물질의 유형, 핵산 물질이 캡처된 프로세싱 조건들 등 중 임의의 것을 메모리 (234) 에 저장할 수 있다. 위에서 설명된 바와 같이 프로그래밍된 제어기 (230) 는 따라서 캡처 오브젝트들과 각각의 캡처 오브젝트에 의해 캡처된 핵산 물질에 관한 데이터 사이의 상관관계를 저장하는 수단의 예일 수 있다.

[0094] 실제로, 도 2a 의 제어 모듈 (230) 은 제어하도록 구성될 수 있거나 (예를 들어, 소프트웨어, 펌웨어, 마이크로코드 등; 하드웨어; 등등으로 프로그래밍될 수 있거나), 프로세스 (100) 의 일부, 거의 대부분, 또는 전부의 사람 오퍼레이터에 의해 제어를 제공할 수 있다. 예를 들어, 제어 모듈 (230) 은 위에서 설명된 임의의 방식으로 프로세스 (100) 의 단계 102 내지 단계 110 중 임의의 것 또는 모두를 이행하기 위해 조작기 (222), 검출기 (224), 흐름 제어기 (226), 및/또는 출력 메커니즘 (228) 의 동작을 제어하도록 구성될 수 있다.

[0095] 도 1 에 도시된 프로세스 (100) 및 도 5 내지 도 13 에 도시된 프로세스 (100) 의 동작은 단지 예들이고, 변형들이 고려된다. 예를 들어, 단계 102 내지 단계 110 중 하나 이상은 도 1 에 도시된 것과 상이한 순서로 수행될 수 있다. 다른 예로서, 단계 102 내지 단계 110 의 모두가 수행될 필요가 있는 것은 아니고, 프로세스 (100) 는 따라서 단계 102 내지 단계 110 중 모두보다 적은 것을 포함할 수 있다. 또 다른 예로서, 단계 102 내지 단계 110 에 더해 단계들이 수행될 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 세척 단계들이 단계 102 내지 단계 110 중 임의의 단계 전에, 중에, 또는 후에 수행되어, 예를 들어, 캡처 오브젝트들 (1002) 중 하나 이상을 세척할 수 있다. 또 다른 예로서, 프로세스 (100) 가 펜 (252) 에 오직 하나의 세포 (502) 를 위치시키고 그 다음에 각각의 펜 (252) 에 있는 오직 단일의 세포 (502) 로부터 핵산 물질을 추출하여 캡처하는 것으로 도시되고 위에서 논의되나, 프로세스 (100) 는 대안으로 펜 (252) 에 다수의 세포들 (502) 을 위치시키고 펜 (252) 에 있는 다수의 세포들로부터 핵산 물질을 추출하여 캡처할 수 있다. 또 다른 예로서, 개개의 세포 (502) 가 펜 (252) 에 위치되고 세포들 (502) 중 하나 이상으로부터 핵산 물질을 릴리스하고 캡처하기에 앞서 자라서 다수의 세포들로 증식하는 것이 가능하게 되며 따라서 자라고 그 다음에 용해될 수 있다. 용해되지 않은 추가적인 세포들 (502) 은 용해된 세포 (702) 의 살아있는 자손으로서 펜 (252) 으로부터 익스포트될 수 있다.

[0096] 도 14 는 생물학적 세포들로부터 핵산을 추출하고 캡처하기 위한 프로세스 (1400) 의 다른 예를 도시한다. 보여질 바와 같이, 프로세스 (1400) 는 클론 세포 군집들로부터 격리 펜들로 선택된 클론 세포들을 이동시킬 수 있으며, 여기서 프로세스 (1400) 는 클론 세포들을 용해하여 펜들에 있는 캡처 오브젝트들로 세포들로부터 릴리

스된 핵산을 캡처할 수 있다. 프로세스는 또한 각각의 그러한 캡처 오브젝트를 캡처 오브젝트에 의해 핵산이 캡처되는 클론 세포가 취해진 클론 세포 군집들과 상관시키는 상관관계 레코드를 저장할 수 있다.

[0097] 도 15 는 프로세스 (1400) 가 수행될 수 있는 미세-유체 디바이스 (1500) 의 예의 상부 단면도를 도시한다. 디바이스 (1500) 는 디바이스 (1500) 가 선택부 (212) 대신에 (또는 그에 더해) 배양부 (1512) 를 포함할 수 있다는 것을 제외하고 (예를 들어, 도 3, 도 4a, 도 4b, 도 7, 및 도 8 중 임의의 것에서 도시된 임의의 변형을 포함하여 도 2a 내지 도 2c 에 도시된 바와 같은) 디바이스 (200) 와 일반적으로 동일할 수 있다. 도시된 바와 같이, 배양부 (1512) 에 배양 펜들 (1552) (2 개가 도시되나 더 많거나 더 적게 있을 수 있다) 이 있을 수 있다. 배양 펜들 (1552) 이외에, 배양부 (1512) 는 본원에서 예시되거나 설명된 임의의 변형을 포함하여 도 2a 내지 도 2c 의 선택부 (212) 와 일반적으로 동일하거나 유사할 수 있다.

[0098] 배양 펜들 (1552) 의 예들은 도 15 에서 도시된다. 도시된 바와 같이, 각각의 배양 펜 (1552) 은 일반적으로 격리 펜 (252) 과 유사할 수 있다. 예를 들어, 배양 펜 (1552) 은 내부 공간 (1556) 및 채널 (240) 로부터 내부 공간 (1556) 으로의 개구 (1558) 를 규정하는 인클로저 (1554) 를 포함할 수 있다. 인클로저 (1554), 내부 공간 (1556), 및 개구 (1558) 는 도 2a 내지 도 2c 의 디바이스 (200) 의 (본원에서 도시되거나 설명된 임의의 변형을 포함하여) 각각 인클로저 (254), 내부 공간 (256), 및 내부 공간 (256) 과 일반적으로 유사할 수 있다. 예를 들어, 인클로저 (1554) 는 인클로저 (254) 에 대해 위에서 언급된 물질들 중 임의의 것을 포함할 수 있다. 다른 예로서, 각각의 격리 펜 (1552) 의 개구 (1558) 는 펜 (1552) 에서의 액상 매체 (244) 와 펜 (1552) 의 개구 (1558) 를 지나 흐르는 액상 매체 (244) 의 자연적인 교환을 가능하게 하도록 사이즈가 정해지고 포지셔닝될 수 있다. 그렇지 않으면, 그러나, 인클로저들 (1554) 은 하나의 배양 펜 (1552) 의 내부 공간 (1556) 에 있는 생물학적 물질, 세포들, 또는 오브젝트들이 임의의 다른 배양 펜 (1552) 의 내부 공간 (1556) 에 있는 그러한 생물학적 물질, 세포들, 또는 오브젝트들과 섞이는 것을 방지하기에 충분하게 배양 펜들 (1552) 의 내부 공간들 (1556) 을 인클로징할 수 있다.

[0099] 도 15 에 도시된 배양 펜들 (1552) 의 개수, 패턴, 및 구성은 일 예이고, 변형들이 가능하다. 예를 들어, 각각의 배양 펜 (1552) 은 대신에 도 3 에서 도시된 펜들 (352) 과 같은 것일 수 있다.

[0100] 일반적으로 도 15 에서 도시된 바와 같이, 클론 세포들의 군집 (1504) 은 배양 펜들 (1552) 중 하나 이상에서 배양될 수 있다. 도 15 의 예에서, 클론 세포들 (1502a) 의 제 1 군집 (1504a) 은 제 1 배양 펜 (1552a) 에서 배양되고, 클론 세포들 (1502b) 의 제 2 군집 (1504b) 은 제 2 배양 펜 (1552b) 에서 배양된다. 언급된 바와 같이, 2 개를 초과하는 배양 펜들 (1552) 이 있을 수 있고, 클론 세포들 (1502) 의 상이한 군집 (1504) 이 임의의 개수의 배양 펜들 (1552) 의 각각에서 배양될 수 있다.

[0101] 각각의 그러한 군집 (1504) 은 부모 세포를 펜 (1552) 에 위치시키고 부모 세포가 펜 (1552) 에 딸 세포들을 생성하는 것을 가능하게 함으로써 배양 펜들 (1552) 중 하나에 생성될 수 있다. 예를 들어, 부모 세포 및 결과적인 딸 세포들은 배양 펜 (1552) 의 개구 (1558) 를 지나서 채널 (240) 에서의 매체 (244) 의 흐름에 영양분들의 흐름을 제공함으로써 펜 (1552) 에서 배양될 수 있다. 그러한 영양분들은, 예를 들어, 개구 (1558) 를 통한 매체 (244) 의 확산에 의해, 펜 (1552) 내부로 흐를 수 있고 세포 폐기물이 펜 (1552) 밖으로 흘러 나올 수 있다.

[0102] 특정 배양 펜 (1552) 에서의 세포들 (1502) 모두는 따라서 펜 (1552) 내에 위치한 부모 세포 및 부모 세포에 의해 또는 부모 세포로부터 생성된 딸 세포들로부터만 구성될 수 있다. 따라서, 예를 들어, 제 1 배양 펜 (1552a) 에 있는 제 1 군집 (1552) 에서의 세포들 (1502a) 의 모두는 부모 세포 또는 부모 세포의 자손일 수 있다. 제 1 군집 (1504a) 은 따라서 클론 군집일 수 있고, 제 1 군집 (1504a) 의 세포들 (1502a) 의 모두는 클론 세포들일 수 있다. 유사하게, 예를 들어, 제 2 배양 펜 (1552b) 에 있는 제 2 군집 (1504b) 에서의 세포들 (1502b) 의 모두는 부모 세포 또는 부모 세포의 자손일 수 있다. 제 2 군집 (1504b) 은 따라서 클론 군집일 수 있고, 제 2 군집 (1504b) 의 세포들 (1502b) 의 모두는 클론 세포들일 수 있다.

[0103] 이제 도 14 를 참조하면, 단계 1402 에서, 프로세스 (1400) 는 디바이스 (1500) 에 있는 배양 펜들 (1552) 에 있는 군집들 (1504) 로부터 개개의 클론 세포들 (1502) 을 선택할 수 있고, 단계 1404 에서, 프로세스 (1400) 는 디바이스 (1500) 의 격리부 (214) 에서 선택된 개개의 클론 세포들 (1502) 을 격리 펜들 (252) 로 이동시킬 수 있다. 도 15 는 일 예를 도시한다. 도 15 에 도시된 바와 같이, 제 1 군집 (1504a) 으로부터의 단일의 개개의 세포 (1502a) 는 제 1 배양 펜 (1552a) 으로부터 선택되어 격리 펜들 중 제 1 격리 펜 (252a) 으로 이동될 수 있다 (1520a). 소정의 실시형태들에서, 디바이스 (1500) 의 격리부 (214) 는 OEW 에 대해 구성될 수 있고, 제 1 군집 (1504a) 으로부터의 개개의 세포 (1502a) 의 이동은 오일 매체에 개개의 세포 (1502a) 를

포함하는 수성 매체의 액적을 생성하고 액적을 격리 펜 (252a) 으로 이동시키는 것을 수반할 수 있다. 이전에 언급된 바와 같이, 격리 펜들 (252) 은 용해 펜들의 예들일 수 있다. 유사하게, 제 2 군집 (1504b) 으로부터의 단일의 개개의 세포 (1502b) 는 제 2 배양 펜 (1552b) 으로부터 선택되어 격리 펜들 중 제 2 격리 펜 (252b) 으로 이동될 수 있다 (1520b). 언급된 바와 같이, 2 개를 초과하는 그러한 배양 펜들 (1552) 이 있을 수 있고, 클론 세포 군집 (1504) 으로부터의 클론 세포 (1502) 는 따라서 복수의 (예를 들어, 모든) 격리 펜들 (252) 에 배치될 수 있다. 예를 들어, 오직 하나의 클론 세포 (1502) 만이 복수의 격리 펜들 (252) 의 각각에 위치될 수 있고, 각각의 그러한 클론 세포 (1502) 는 상이한 배양 펜 (1552) 에 있는 상이한 클론 세포 군집 (1504) 으로부터 기인할 수 있다. 대안으로, 하나를 초과하는 클론 세포 (1502) 가 격리 펜 (252) 에 위치될 수 있으나, 임의의 하나의 격리 펜 (252) 에 위치된 클론 세포들 (1502) 모두는 동일한 클론 세포 군집 (1504) 으로부터 기인할 수 있다.

[0104] 각각의 클론 세포 (1502) 는 무작위로 또는 도 2 의 단계 102 에 대해 위에서 논의된 임의의 선택 기준을 이용하여 그것의 세포 군집 (1504) 으로부터 선택될 수 있다. 클론 세포들 (1502) 은 단계 104 에 대해 위에서 논의된 임의의 방식으로 배양 펜 (1552) 에서 선택되어 이동될 수 있다. 예를 들어, 각각의 클론 세포 (1502) 는 광 트랩 (602) 과 같은 광 트랩 (도 15 에서는 미도시) 으로 가뒀질 수 있으며, 광 트랩은 도 6 에 대해 위에서 논의된 바와 같이 생성되고 조작될 수 있다.

[0105] 대안으로, 또는 이에 더해, OEW 는 클론 세포 (1502) 를 포함하는 수성 매체의 액적을 생성하도록 이용될 수 있다. 또 다른 대안들에서, 세포 군집들 (1504) 은 디바이스 (1500) 의 외부에 위치될 수 있고, 군집들 (1504) 로부터의 개개의 클론 세포들 (1502) 은 (예를 들어, 입구 (208) 를 통해) 디바이스 (1500) 로 임포트될 (import) 수 있다. 단계 1402 는 따라서 프로세스 (1400) 에서 생략되거나 배제될 수 있다. 디바이스 (1500) 로 임포트되면, 복제 세포들 (1502) 은 (예를 들어, 일반적으로 도 5 및 도 6 에 도시된 바와 같이) 선택되어 격리 펜들 (252) 로 이동될 수 있다.

[0106] 이와 상관없이, 단계 1402 및/또는 단계 1404 후에, 하나 이상의 복제 세포들 (1502) 은 이제 디바이스 (1500) 의 복수의 격리 펜들 (252) 의 각각에 있고, 각각의 펜 (252) 에 있는 하나 이상의 복제 세포들 (1502) 은 동일한 클론 군집 (1504) 으로부터 기인할 수 있다. 보여질 바와 같이, 세포들 (1502) 은 그 다음에 단계 1406 에서 용해될 수 있고, 용해된 세포들 (1502) 로부터 릴리스된 핵산 물질은 단계 1408 에서 캡처될 수 있다. 하기에서 논의된 바와 같이, 단계 1406 및 단계 1408 은 도 1 의 단계 106 및 단계 108 처럼 일반적으로 수행될 수 있다.

[0107] 예를 들어, 단계 1406 에서, 격리 펜들 (252) 에 있는 세포들 (1502) 이 용해되어 용해된 세포 (도 15 에 미도시) 를 생성할 수 있다. 세포들 (1502) 은 격리 펜들 (252) 에서 세포들 (502) 을 용해하기 위한 단계 106 에 대해 위에서 논의된 방식들 중 임의의 방식으로 격리 펜들 (252) 에서 용해될 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 세포들 (1502) 은 도 7 또는 도 8 에 도시된 바와 같이 또는 위에서 논의된 임의의 대안으로 격리 펜들 (252) 에서 용해될 수 있다. 단계 1406 에서 용해하는 것은 일반적으로 도 7, 도 8, 및/도 12a 내지 도 12d 에 도시된 바와 같이 (순차적으로 및/또는 실질적으로 동시에) 세포들 (1502) 의 막들 중 임의의 하나 이상의 막들을 용해하는 것을 포함할 수 있다. 일반적으로 도 9 및 도 12a 내지 도 12d 에 도시된 바와 같이, 단계 1502 에서 용해하는 것은 세포들 (1502) 로부터의 핵산 물질을 격리 펜들 (252) 의 내부 공간들 (256) 로 릴리스할 수 있다.

[0108] 단계 1408 에서, 단계 1406 에서 용해된 세포들 (1502) 로부터의 핵산 물질의 하나 이상의 유형들의 핵산 물질은 펜들 (252) 에서 하나 이상의 캡처 오브젝트들 (1002) 로 캡처될 수 있다. 단계 1408 은 본원에서 예시되고 논의된 바와 같은 임의의 변형을 포함하여 단계 108 가 수행되는 것과 동일한 방식으로 수행될 수 있다. 예를 들어, 용해된 세포들 (1502) 로부터 릴리스된 하나 이상의 특정 유형들의 핵산 물질은 단계 108 에 대해 위에서 논의된 바와 같이 펜들 (252) 에 있는 하나 이상의 캡처 오브젝트들 (1002) 로 격리 펜들 (252) 에서 캡처될 수 있다.

[0109] 단계 1410 에서, 프로세스 (1400) 는 격리 펜들 (252) 에 있는 각각의 캡처 오브젝트들 (1002) 을 캡처 오브젝트 (1002) 에 의해 핵산 물질이 캡처되는 세포 (1502) 가 비롯되는 세포 군집 (1504) 과 상관시키는 상관관계 레코드를 생성하고/하거나 유지할 수 있다. 예를 들어, 격리 펜들 (252) 에 있는 각각의 캡처 오브젝트 (1002) 에 대해, 상관관계 레코드는 캡처 오브젝트 (1002) 의 고유한 식별자 (예를 들어, 도 11 에 도시된 식별자 (1106)) 를 캡처 오브젝트 (1002) 에 의해 핵산 물질이 캡처된 세포 (1502) 에 관한 다음의 정보: 세포 (1502) 가 취해진 클론 세포 군집 (1504) 의 아이덴티티 (예를 들어, 배양 펜 (1552) 과 같은 위치), 세포

(1502)의 하나 이상의 특성들 등 중 임의의 것과 상관시킬 수 있다.

[0110] 도 15는 제 1 세포 군집 (1504a) 으로부터의 제 1 세포 (1502a) 를 갖는 제 1 격리 펜 (252a) 에 있는 제 1 캡처 오브젝트 (1002a) 를 도시한다. 제 1 세포 (1502a) 가 단계 1406 에서 용해된 후에, 제 1 캡처 오브젝트 (1002a) 는 그러므로 제 1 세포 (1502a) 로부터 용해된 핵산 물질을 캡처할 수 있다. 유사하게, 제 2 격리 펜 (252b) 에 있는 제 2 캡처 오브젝트 (1002b) 는 제 2 세포 (1502b) 가 용해된 후에 릴리스된 핵산 물질을 캡처할 수 있다. 도 10 의 단계 1410 에서 생성된 상관관계 레코드는 따라서 제 1 세포 군집 (1504a) 및/또는 그것의 배양 펜 (1552a) 의 식별과 상관관계가 있는 제 1 캡처 오브젝트 (1002a) 의 고유한 식별자를 포함할 수 있고, 상관관계 레코드는 또한 제 2 세포 군집 (1504b) 및/또는 그것의 배양 펜 (1552b) 의 식별과 상관관계가 있는 제 2 캡처 오브젝트 (1002b) 의 고유한 식별자를 포함할 수 있다. 일부 실시형태들에서, 제어 모듈 (230) 은 그러한 상관관계 레코드를 생성, (예를 들어, 메모리 (234) 에) 저장, 및 유지 (예를 들어, 업데이트) 하기 위해 (예를 들어, 머신 관독가능 명령들 (예를 들어, 소프트웨어, 펌웨어, 또는 마이크로코드) 로) 프로그램 래밍될 수 있다.

[0111] 단계 1412 에서, 프로세스 (1400) 는, 격리 펜들 (252) 중 하나 이상으로부터, 캡처 오브젝트들 중 하나 이상 그리고 그에 따라 캡처 오브젝트들에 의해 캡처된 핵산 물질을 제거할 수 있다. 단계 1412 는 본원에서 예시되거나 논의된 것의 임의의 변형을 포함하여 도 1 의 단계 110 처럼 일반적으로 수행될 수 있다.

[0112] 프로세스 (1400) 는 단지 예이고, 변형들이 고려된다. 예를 들어, 단계 1402 내지 단계 1412 중 하나 이상은 도 14 에 도시된 것과 상이한 순서로 수행될 수 있다. 다른 예로서, 단계 1402 내지 단계 1412 의 모두가 수행될 필요가 있는 것은 아니고, 프로세스 (1400) 는 따라서 단계 1402 내지 단계 1412 모두보다 적은 단계를 포함할 수 있다. 또 다른 예로서, 단계 1402 내지 단계 1412 에 더해 단계들이 수행될 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 세척 단계들이 단계 1402 내지 단계 1412 중 임의의 단계 전에, 중에, 또는 후에 수행되어, 예를 들어, 캡처 오브젝트들 중 하나 이상을 세척할 수 있다. 본 발명의 특정 실시형태들 및 응용들이 본 명세서에서 설명되었으나, 이러한 실시형태들 및 응용들은 단지 예시이고, 많은 변형들이 가능하다.

[0113] **예들**

[0114] 예 1 : 펜들에서의 세포 용해

[0115] 미세유체 디바이스의 격리 펜들에서 세포 용해를 테스트하기 위해, 세포들이 격리 펜들에 로딩되었고, 용해 완충액이 디바이스를 통해 흐르게 되었고, Calcién AM 염색을 이용하여 세포 용해가 모니터링되었다. 용해 완충액은 다음과 같았다:

[0116] RNase 억제제: 2 유닛/마이크로리터;

[0117] NaCl: 0.135 M;

[0118] Tris-HCl (pH 8.0): 9 mM;

[0119] DTT (Dithiothreitol) 4.5 mM; 및

[0120] SDS: 1%.

[0121] 도 16a 내지 도 16d 에 도시된 바와 같이, 펜들로 로딩된 세포들 (도 16a) 은 용해 완충액 (도 16b) 의 유입 후에 t=0 분에 Calcién AM 을 이용하여 검출가능하다. 용해 완충액의 유입 5 분 후에, 세포들은 여전히 대부분 온전하나 용해되기 시작한다 (도 16c). 용해 완충액의 유입 10 분 후에, 세포 용해가 완료된 것이 보인다 (도 16d).

[0122] 용해 완충액의 앞서 언급한 성분들 중 임의의 것은, 당업자들에 의해 이해되는 바와 같이, 등가의 완충액들, 염제들, 킬레이트제들로 대체될 수 있다.

[0123] 예 2: 바인딩 조건들

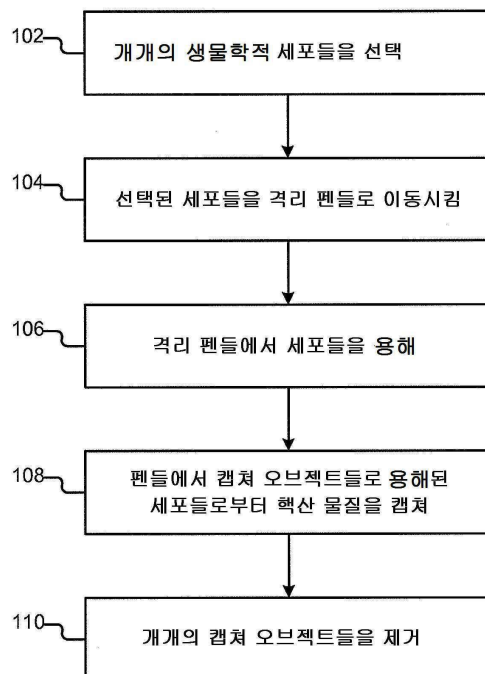
[0124] (예 1 에서 설명된 바와 같은) 미세유체 디바이스의 격리 펜들에서 세포들의 용해 다음에, 캡처 오브젝트들이 세포 용해물에 존재하는 동안에 미세유체 디바이스를 통해 바인딩 완충액이 흐르게 함으로써 타겟 핵산들의 캡처 오브젝트들과의 바인딩이 수행될 수 있다. 바인딩 완충액은 다음과 같을 수 있다:

[0125] Tris-HCl (pH 7.5): 20 mM;

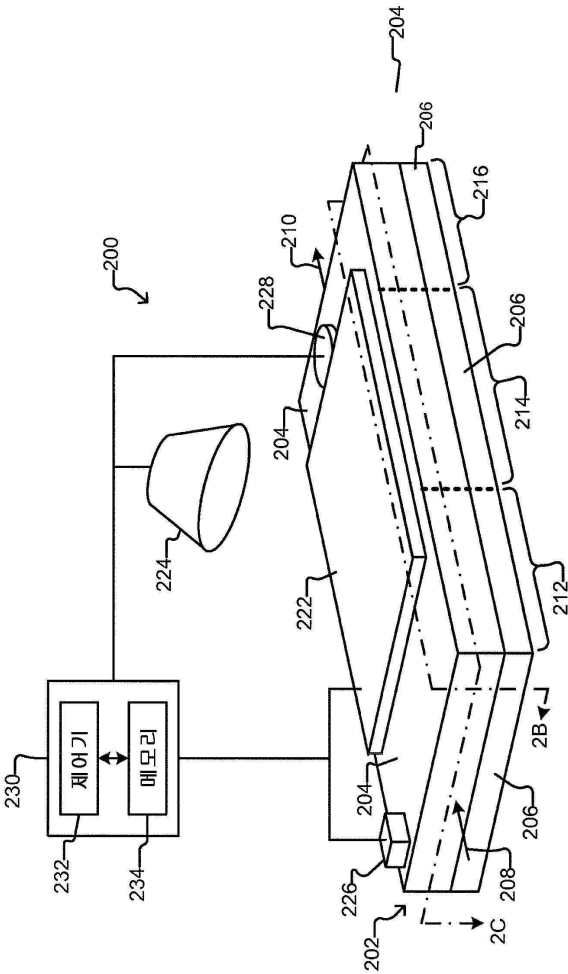
- [0126] LiCl: 1.0 M; 및
- [0127] EDTA: 2 mM.
- [0128] 바인딩 완충액의 앞서 언급한 컴포넌트들 중 임의의 것은, 당업자들에 의해 이해되는 바와 같이, 등가의 완충액들, 염제들, 킬레이트제들로 대체될 수 있다.
- [0129] 예 3: 결합된 용해/바인딩 완충액의 이용
- [0130] 별개의 용해 완충액 및 바인딩 완충액을 이용하는 것에 대한 대안으로서, 세포 용해 및 핵산 캡처는 결합된 용해/바인딩 완충액을 이용하여 달성될 수 있다. 따라서, 세포가 미세유체 디바이스에 있는 격리 펜들로 로딩될 수 있고, 결합된 용해/바인딩 완충액이 세포 용해를 달성하기에 충분한 시간 동안 디바이스를 통해 흐르게 될 수 있다. 용해/바인딩 완충액은 캡처 오브젝트들이 용해될 세포들에 인접하게 배치되기 이전에, 실질적으로 동시에, 또는 후에 흐르게 될 수 있다. 결합된 용해/바인딩 완충액은 다음과 같을 수 있다:
- [0131] Tris-HCl (pH 7.5): 100 mM;
- [0132] LiCl: 500 mM;
- [0133] EDTA: 10 mM;
- [0134] LiDS: 1%; 및
- [0135] DTT: 5 mM.
- [0136] 결합된 용해/바인딩 완충액의 앞서 언급한 컴포넌트들 중 임의의 것은, 당업자들에 의해 이해되는 바와 같이, 등가의 완충액들, 염제들, 킬레이트제들로 대체될 수 있다.

도면

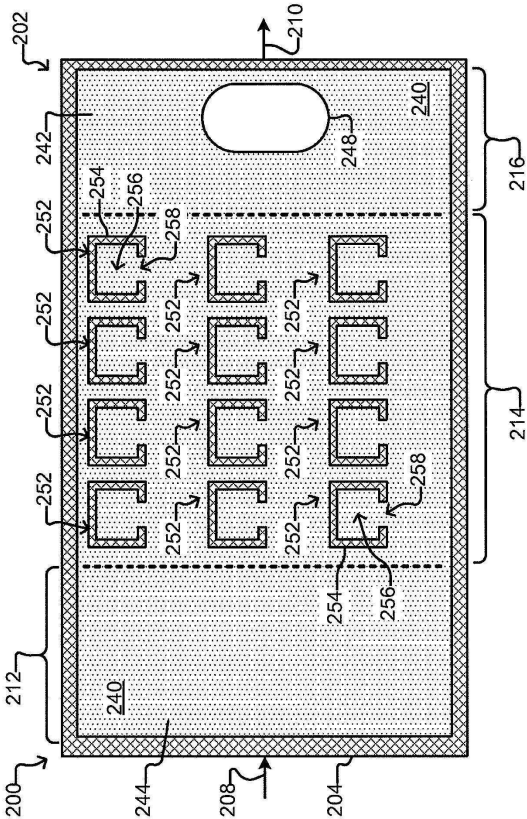
도면1



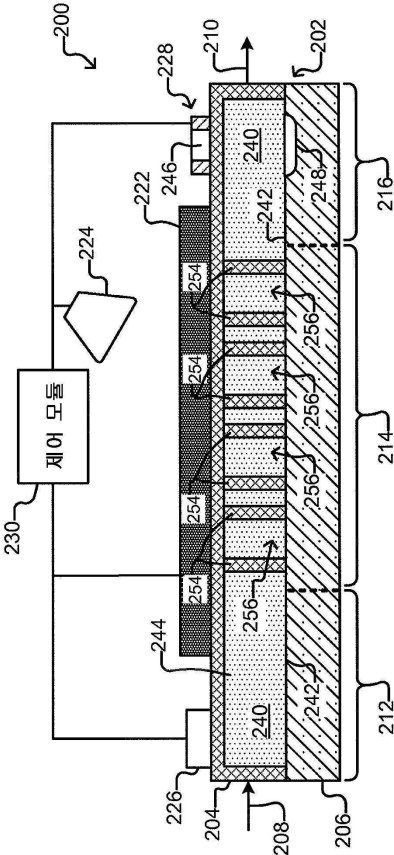
도면2a



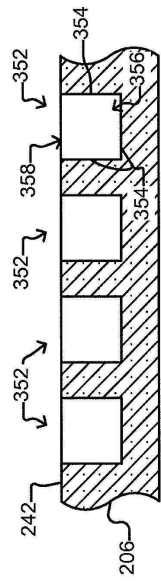
도면2b



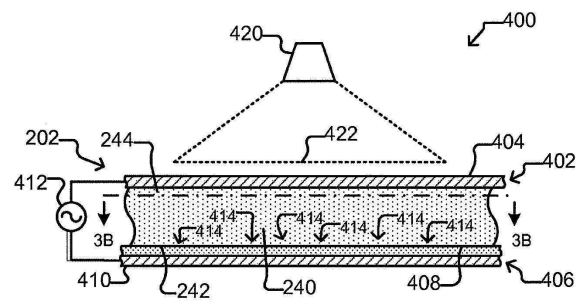
도면2c



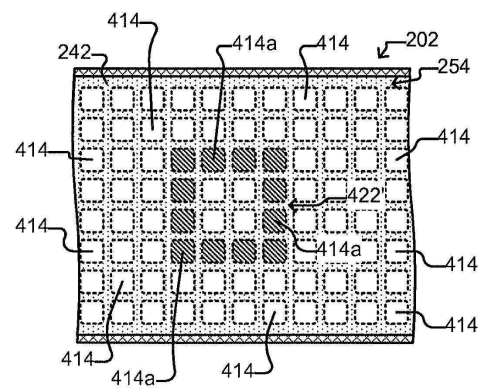
도면3



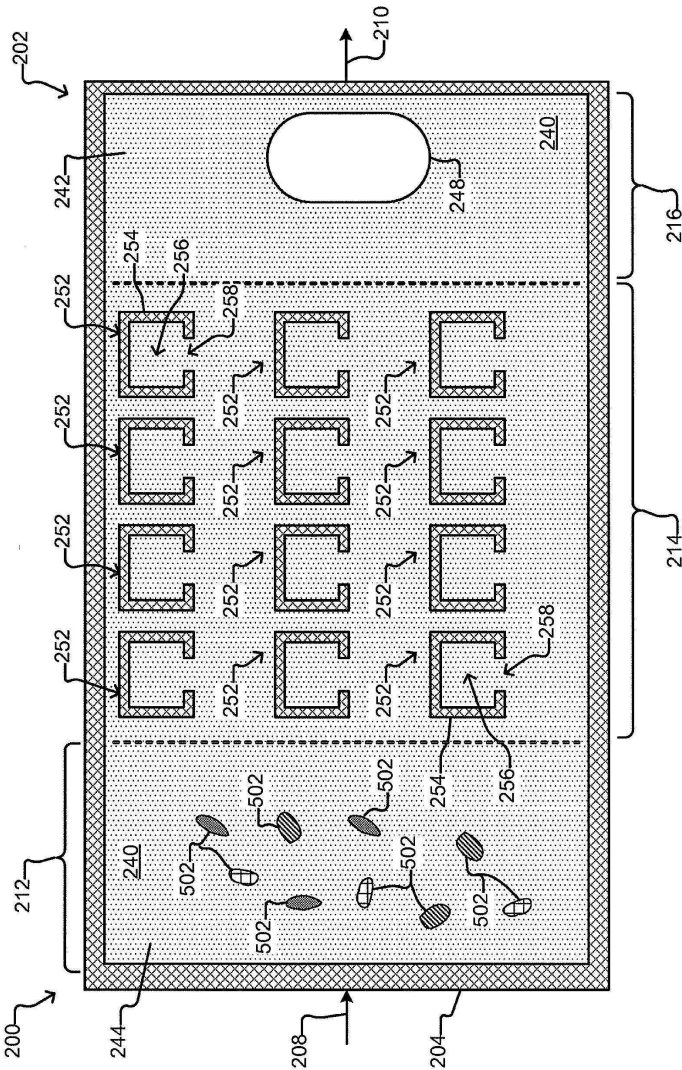
도면4a



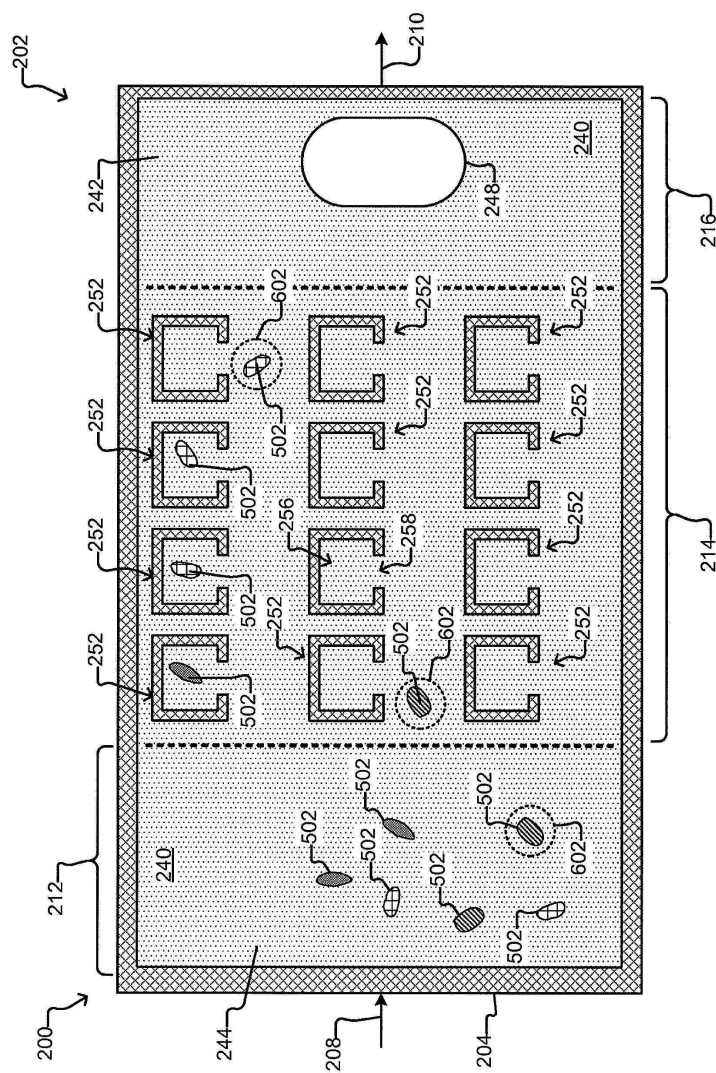
도면4b



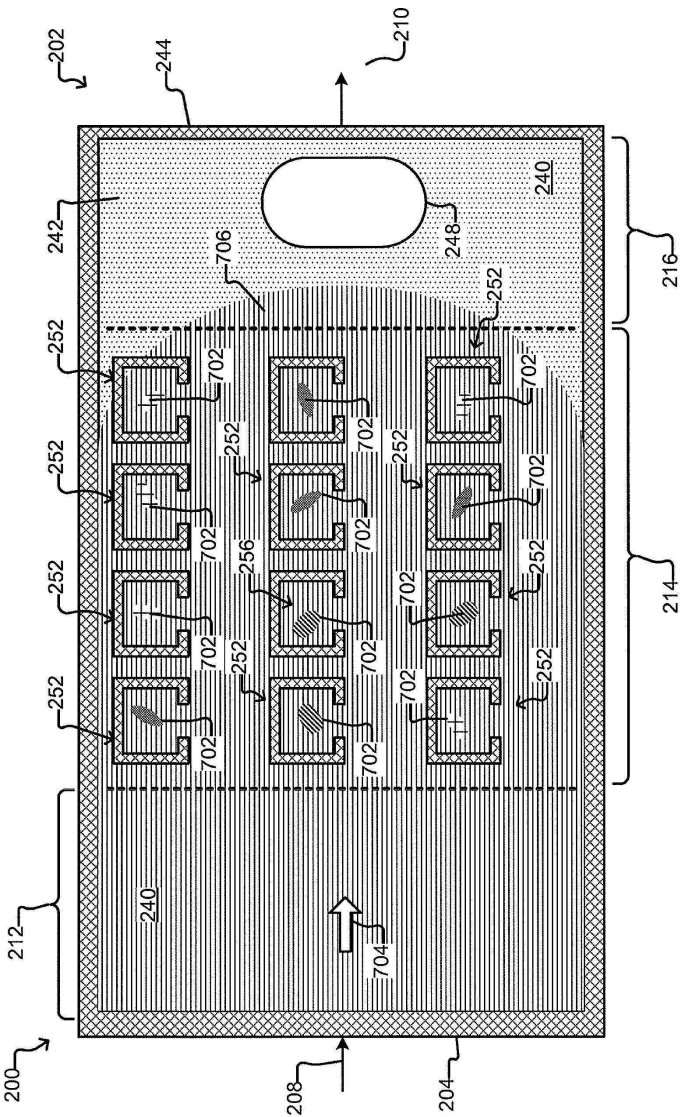
도면5



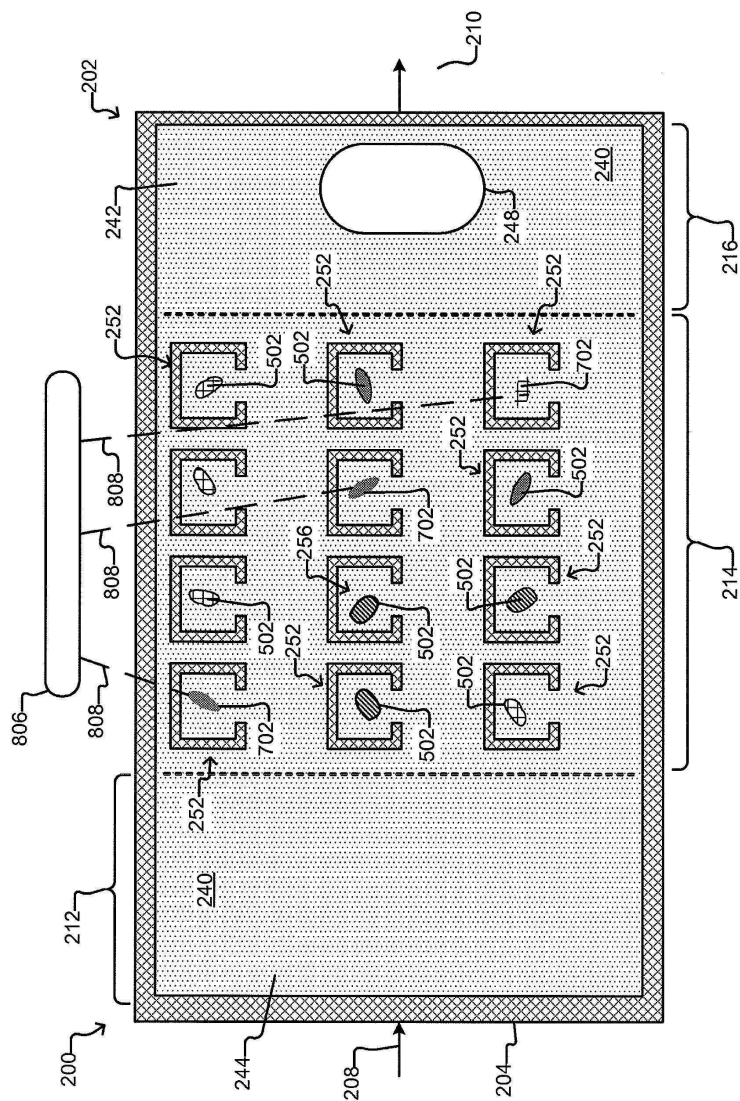
도면6



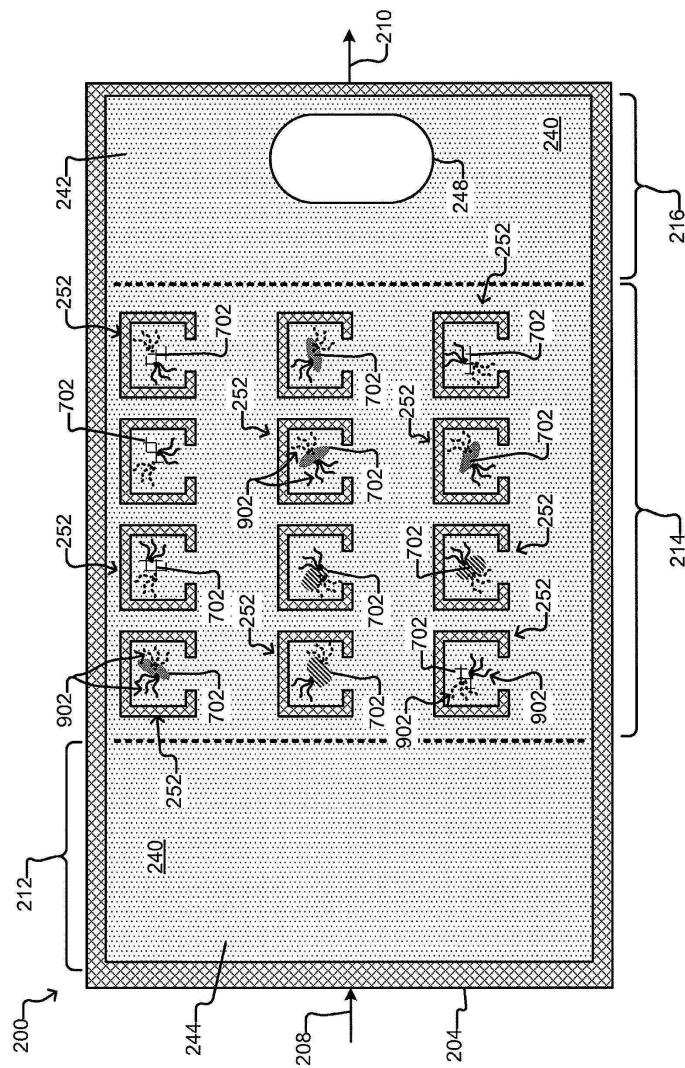
도면7



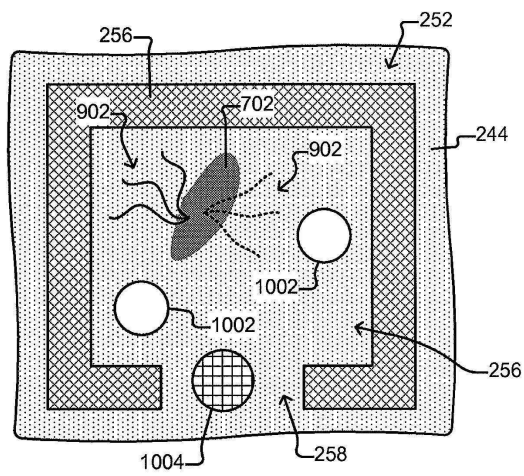
도면8



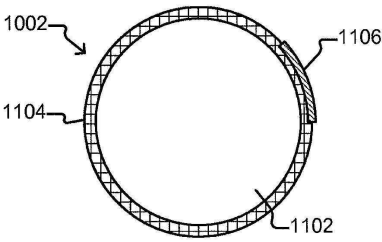
도면9



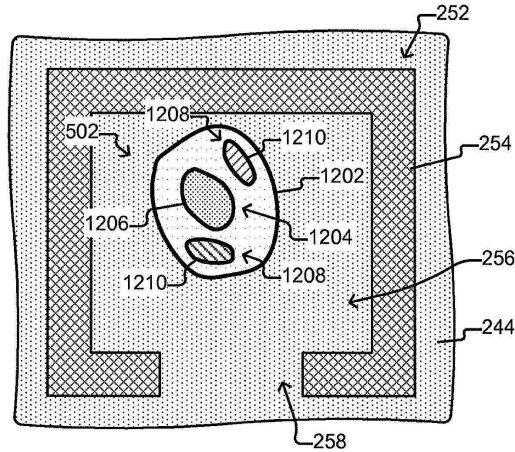
도면 10



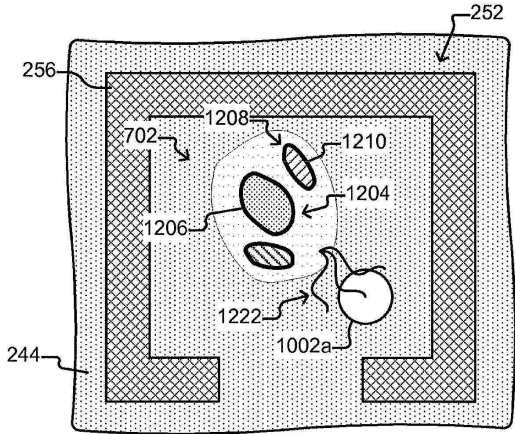
도면11



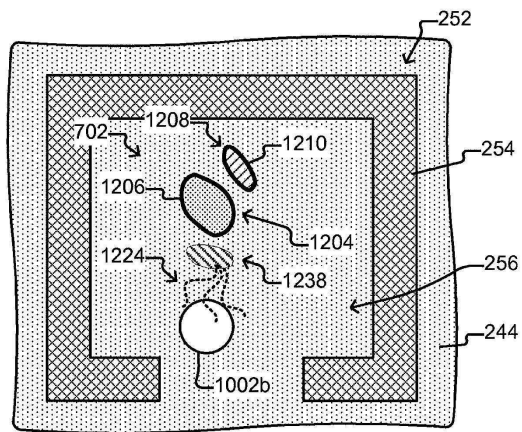
도면12a



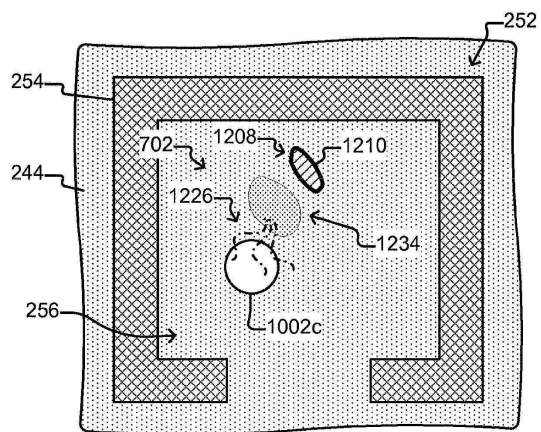
도면12b



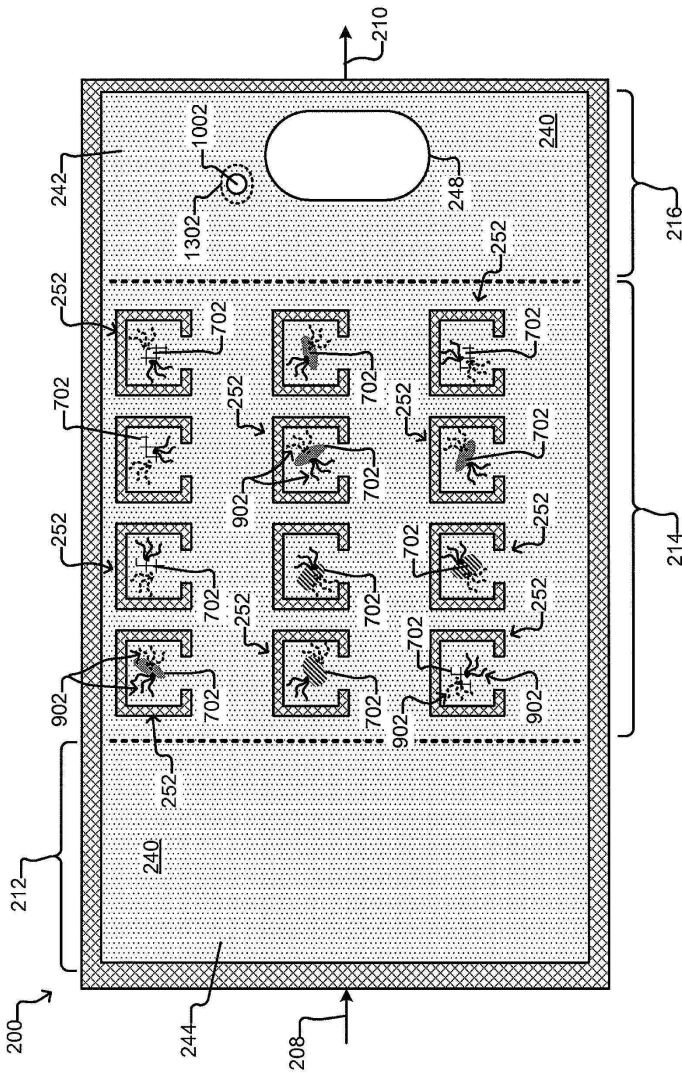
도면12c



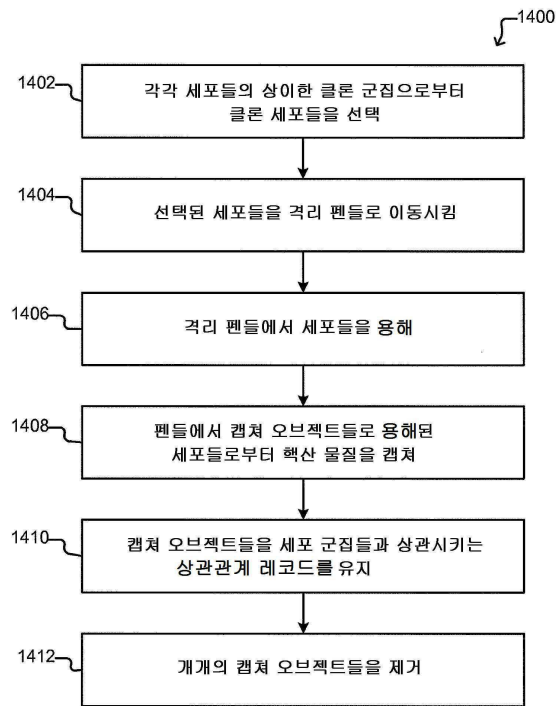
도면12d



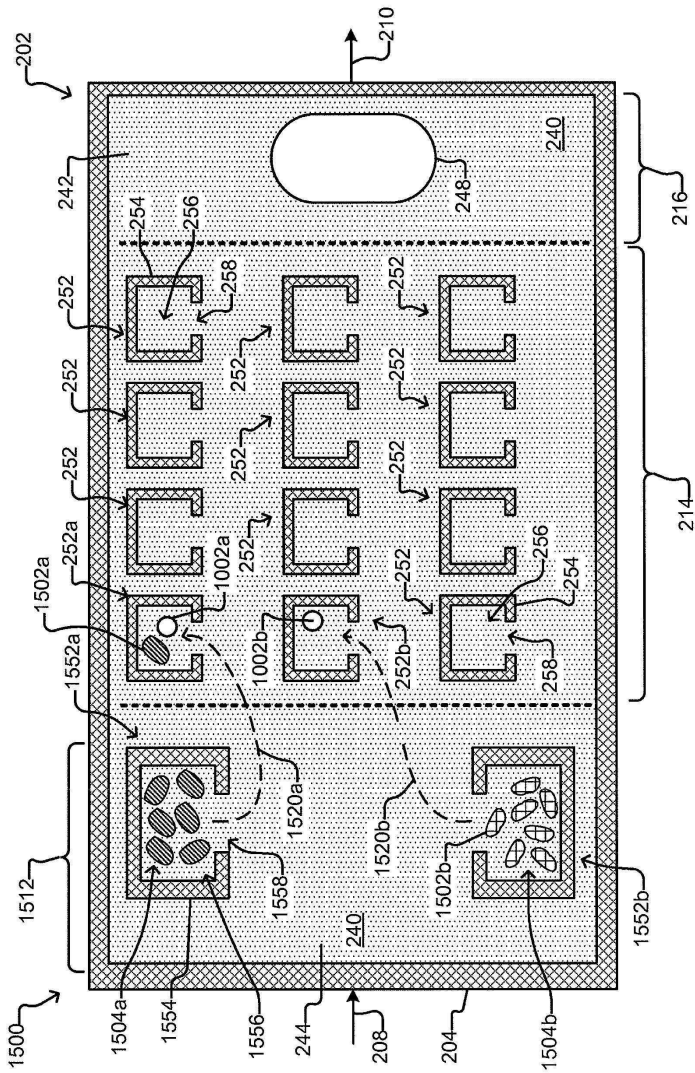
도면13



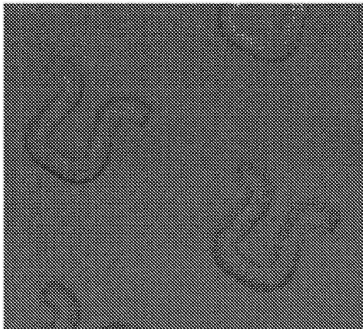
도면14



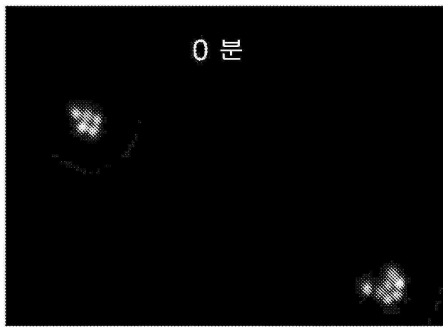
도면15



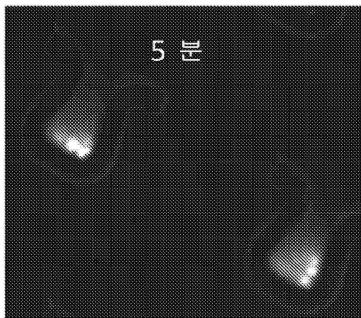
도면16a



도면16b



도면16c



도면16d

