



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 117015596 B

(45) 授权公告日 2024. 02. 09

(21) 申请号 202180090664.X

(22) 申请日 2021.11.18

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 117015596 A

(43) 申请公布日 2023.11.07

(30) 优先权数据
63/115,507 2020.11.18 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2023.07.14

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/059856 2021.11.18

(87) PCT国际申请的公布数据
W02022/109113 EN 2022.05.27

(73) 专利权人 塞尔菲公司
地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 韩世运 伊恩·西歇尔
亚历山大·阿莱克谢耶夫 金玉澈

(74) 专利代理机构 北京银龙知识产权代理有限公司 11243
专利代理师 钟海胜 宋琴芝

(51) Int.Cl.
C12M 3/00 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 110198785 A, 2019.09.03
US 2011256551 A1, 2011.10.20
US 2016228647 A1, 2016.08.11
WO 2020037117 A1, 2020.02.20

审查员 刘宝

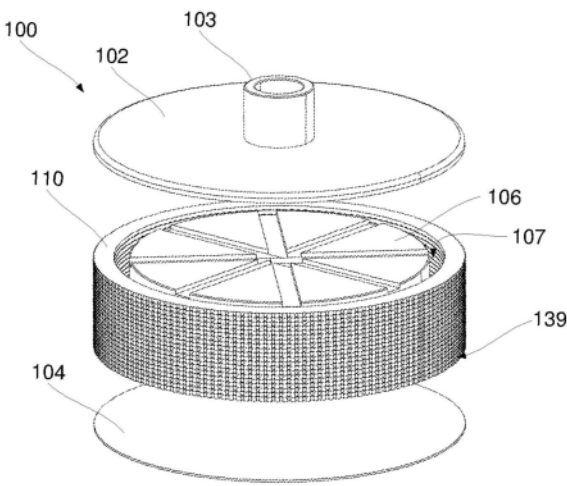
权利要求书2页 说明书14页 附图29页

(54) 发明名称

机械穿孔类有效负载递送至生物细胞的方法和系统

(57) 摘要

本发明描述了机械穿孔类高通量有效负载递送至生物细胞中的方法和系统。例如,一个系统可以处理至少10亿个细胞/分钟、或至少250亿个细胞/分钟,这大大高于传统方法。细胞处理装置包括通过堆叠多个处理部件而形成的处理组件。每个处理组件包括通道,该通道可以用于过滤、机械穿孔和/或分离细胞介质中的细胞。此功能取决于每个通道的配置。例如,每个通道包括一个或多个脊,使得每个脊与相邻的一个处理部件形成处理间隙。该脊可以延伸到侧壁或者与壁形成旁路间隙。该处理间隙可以被特别配置为当细胞通过这些间隙时压缩细胞,从而启动机械穿孔处理。



1. 一种使用机械穿孔处理细胞的细胞处理装置,所述细胞处理装置包括:
处理组件,包括多个处理部件,所述多个处理部件包括沿主轴堆叠的处理部件、第二处理部件和第三处理部件,其中:
所述多个处理部件中的每一个包括分隔件,
每个分隔件包括第一分隔件壁、第二分隔件壁和在所述第一分隔件壁和所述第二分隔件壁之间延伸的第一表面,
所述多个处理部件中的每一个还包括通道壁、从通道壁突出的脊和第二表面,
所述处理部件的所述第一表面直接接触所述第二处理部件的所述第二表面,
所述处理部件的所述第一分隔件壁、所述第二分隔件壁、所述通道壁以及所述第二处理部件的所述第二表面限定出在垂直于所述主轴的方向上延伸的多个通道,并且所述多个通道被配置用于使含有细胞群的细胞介质流动,使得所述处理部件的所述脊延伸到所述多个通道中的每一个中,以及
所述处理部件的所述脊中的每一个与所述第二处理部件的所述第二表面形成间隙,使得所述间隙小于细胞群中的至少一个细胞的直径,从而导致在所述细胞群通过所述间隙时,至少一个细胞压缩。
2. 根据权利要求1所述的细胞处理装置,其中:
所述多个处理部件中的每一个的形状呈环形,
所述主轴是环形的中心轴,以及
每个所述通道从所述主轴径向地延伸。
3. 根据权利要求1所述的细胞处理装置,其中,所述多个处理部件的通道彼此平行延伸。
4. 根据权利要求1所述的细胞处理装置,还包括入口部件和出口部件,所述出口部件紧靠所述入口部件进行密封并且形成内部空腔,并且其中,所述处理组件位于所述内部空腔中。
5. 根据权利要求1所述的细胞处理装置,其中,所述多个处理部件中的每一个包括入口开口和出口开口,所述多个通道在所述入口开口和所述出口开口之间延伸。
6. 根据权利要求5所述的细胞处理装置,其中,所述入口开口和所述出口开口中的每一个在垂直于所述主轴的平面内具有三角形边界。
7. 根据权利要求6所述的细胞处理装置,还包括入口板和出口板,所述多个处理部件沿所述主轴堆叠在所述入口板和所述出口板之间,其中:
所述入口板包括入口突出部,所述入口突出部延伸到所述多个处理部件中的每一个的出口开口中,并且在所述多个处理部件的不同处理部件的出口开口中占据不同的体积,以及
所述出口板包括出口突出部,所述出口突出部延伸到所述多个处理部件中的每一个的入口开口中,并且在所述多个处理部件的不同处理部件的出口开口中占据不同的体积。
8. 根据权利要求5所述的细胞处理装置,其中,所述入口开口和所述出口开口中的每一个具有沿着含有所述细胞群的细胞介质的流动方向变化的横截面积,从而维持所述细胞介质的恒定的线性流量。
9. 根据权利要求1所述的细胞处理装置,其中,所述多个处理部件粘合在一起,在所述

多个处理部件中的每一对之间形成密封。

10. 根据权利要求1所述的细胞处理装置, 其中, 所述多个处理部件中的每一个包括多个试剂分配路径, 所述多个试剂分配路径中的每一个包括在一个所述通道内的试剂分配路径开口, 所述试剂分配路径开口接近于所述一个或多个脊。

11. 根据权利要求1所述的细胞处理装置, 其中, 所述处理组件的至少一部分可操作作为初级过滤器、机械穿孔器或分离器中的一个或多个。

12. 根据权利要求11所述的细胞处理装置, 其中, 所述处理组件可操作作为所述初级过滤器和所述机械穿孔器两者, 使得含有所述细胞群的细胞介质通过所述机械穿孔器的线性流量高于通过所述初级过滤器的线性流量。

13. 根据权利要求1所述的细胞处理装置, 还包括入口压力传感器和出口压力传感器, 用于监测通过所述多个处理部件的压力降。

14. 根据权利要求1所述的细胞处理装置, 还包括:

入口, 用于连接到细胞介质来源;

出口, 流体地连接到所述多个通道中的每一个并用于连接到细胞介质接收器; 以及细胞介质收集器, 包括收集器腔和收集器端口, 其中:

所述收集器腔与所述收集器端口、所述入口和所述多个通道中的每一个流体地连接, 以及

所述收集器端口用于连接到气流来源。

15. 根据权利要求14所述的细胞处理装置, 其中, 所述入口位于距离所述处理组件比距离所述收集器端口更近的位置。

16. 根据权利要求14所述的细胞处理装置, 其中, 所述入口位于距离所述收集器端口比距离所述处理组件更近的位置。

17. 根据权利要求14所述的细胞处理装置, 其中, 所述细胞介质收集器还包括一个或多个液位传感器, 用于测量所述收集器腔内的细胞介质的一个或多个液位。

18. 根据权利要求1所述的细胞处理装置, 其中, 所述多个处理部件中的每一个由硅形成。

19. 根据权利要求1所述的细胞处理装置, 还包括位于所述处理部件与所述第二处理部件之间的垫圈, 并且所述垫圈在所述处理部件与所述第二处理部件之间形成密封。

20. 根据权利要求1所述的细胞处理装置, 其中, 所述第二处理部件包括分配路径, 所述分配路径与由所述处理部件、所述第二处理部件和所述第三处理部件形成的所述多个通道中的每一个流体地连接。

机械穿孔类有效负载递送至生物细胞的方法和系统

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求根据35 U.S.C. §119(e) 下的2020年11月18日提交的美国临时专利申请第63/115,507号的权益,出于所有目的该申请的公开内容通过引用整体并入本文。

背景技术

[0003] 细胞内递送具有许多有价值的应用,例如基因转染、编辑、细胞标记和细胞询问(cell interrogation)。然而,传统的递送方法(例如,显微注射法、电穿孔法、化学穿孔法和超声穿孔法)已证明递送效率和细胞活力较低,特别是对于大分子(例如,至少2000kDa尺寸的分子)和大颗粒(例如,至少50nm尺寸的颗粒)。此外,许多传统的递送方法不能高速处理细胞。例如,细胞通常需要单独处理,这显著降低处理速度。人们所需要的是用于将高通量有效负载递送到生物细胞中的新方法和系统。

发明内容

[0004] 本文描述的是用于将机械穿孔类的(mechanoporation-based)高通量有效负载(payload)递送至生物细胞中的方法和系统。例如,一个系统可以处理至少10亿个细胞/分钟、或至少250亿个细胞/分钟,这大大高于传统方法。细胞处理装置包括通过堆叠多个处理部件而形成的处理组件。每个处理部件包括通道,该通道可以用于过滤、机械穿孔和/或分离细胞介质中的细胞。此功能取决于每个通道的配置。例如,每个通道包括一个或多个脊,使得每个脊与相邻的一个处理部件形成处理间隙。该脊可以延伸到侧壁或者与壁形成旁路间隙。该处理间隙可以被特别配置为在细胞通过这些间隙时压缩细胞,从而启动机械穿孔处理。

附图说明

[0005] 图1A是根据一些实例的细胞处理装置的示意性透视图。

[0006] 图1B是根据一些实例的图1A中细胞处理装置的示意性分解图。

[0007] 图2A、图2B和图2C是根据一些实例的集中于处理通道的图1A中细胞处理装置的各个部件的示意图。

[0008] 图2D和图2E是根据一些实例的两个处理部件在堆叠之前和之后形成处理组件的示意图。

[0009] 图2F是根据一些实例的处理通道的示意性侧视剖视图。

[0010] 图2G-图2J是根据一些实例的处理通道的示意性俯视剖视图。

[0011] 图3A是由入口部件和出口部件形成的细胞处理装置的另一个实例的示意性分解图,该入口部件和出口部件彼此密封并封闭包括多个处理部件的处理组件。

[0012] 图3B是图3A中的细胞处理装置的示意性剖视图。

[0013] 图3C是图3A中细胞处理装置的入口部件的示意性俯视图。

[0014] 图3D是图3C中一部分入口部件的俯视图,示出了处理部件中的通道和脊。

[0015] 图3E和图3F是图3C中入口部件的示意性剖视图,示出了根据一些实例的部分内部空腔和位于内部空腔内的处理部件。

[0016] 图4A是通过在入口板和出口板之间堆叠的处理部件而形成的细胞处理装置的另一实例的示意性透视图。

[0017] 图4B是图4A中细胞处理装置的示意性分解图。

[0018] 图4C是图4A中细胞处理装置中使用的处理部件的俯视示意图,示出了入口开口、出口开口和在这些开口之间延伸的多个通道。

[0019] 图4D是具有堆叠在入口板和出口板之间的处理部件的细胞处理装置的另一实例的示意性透视图。

[0020] 图4E是图4D中细胞处理装置的示意性剖视图。

[0021] 图4F是图4D中细胞处理装置的分解剖视图。

[0022] 图4G是图4E中部分细胞处理装置的放大视图,示出了延伸到每个处理部件的入口开口中并且占据每个不同处理部件的出口开口中的不同体积的出口突出部。

[0023] 图4H是细胞处理装置的另一实例的示意性剖视图。

[0024] 图5A是根据一些实例的通过处理部件延伸的递送通道的示意性俯视剖视图。

[0025] 图5B是根据一些实例的在两个处理部件中的递送通道的示意性侧视剖视图。

[0026] 图5C是显示了这些部件中递送通道的处理部件的另一实例。

[0027] 图6A是根据一些实例的显示了处理组件中各种部件的集成的处理系统的框图。

[0028] 图6B是根据一些实例的显示了处理组件中各种部件的集成的处理组件的示意性侧视剖视图。

[0029] 图6C是根据一些实例的分离器中通道的示意性俯视剖视图。

[0030] 图7A是包括细胞处理装置的处理系统的另一个实例的示意图。

[0031] 图7B是图7A中细胞处理装置的示意性透视图。

[0032] 图7C是图7B中细胞处理装置的示意性剖视图。

[0033] 图7D和图7E示出了细胞处理装置的另一实例的示意性透视图和剖视图。

[0034] 图8A和图8B是细胞处理装置的另外两个实例的示意性透视图。

[0035] 图9是根据一些实例的对应于使用细胞处理装置处理细胞的机械穿孔方法的处理流程图。

具体实施方式

[0036] 在下面的描述中,概述了许多具体细节以提供对本发明的全面理解。本发明可以在没有这些具体细节中的一些或全部的情况下实施。在其他情况下,没有详细描述众所周知的处理操作以避免模糊本发明。虽然将结合具体实施例描述本发明,但是应当理解,这并不旨在将本发明限制于这些实施例。

[0037] 介绍

[0038] 微流体技术为生物细胞的处理和操作提供了新的机会,例如将有效负载递送到细胞中以进行基因工程和其他应用。对于本公开的目的,“微流体”技术被定义为使流体通过最小尺寸小于1mm的通道的处理。例如,一种装置可以包括形成小于1mm的间隙的一个或多个收缩部。

[0039] 微流体技术的具体实例是机械穿孔,它涉及对细胞的机械作用,以将有效负载递送到细胞中。例如,细胞穿过狭窄的间隙(也可以称为收缩部)。该间隙由脊形成,例如从一个壁向另一壁延伸的脊。该脊(以及由此产生的间隙)可以具有特定的几何形状(例如,尖锐的脊)。此外,细胞可以在某些处理条件(例如,高线性流量)下流动。这些结构和处理条件的各种组合可以导致细胞快速压缩,从而导致一些细胞体积损失。当细胞通过每个收缩部并允许恢复时,细胞通过吸收周围介质(包括有效负载)恢复到原始体积。因此,体积损失随后体积增长的组合导致非常有效地将有效负载转移到细胞中。这种有效负载转移可以称为对流递送,以区别于例如基于扩散的递送,在基于扩散的递送期间,有效负载通过浓度梯度驱动穿过细胞膜。然而,基于扩散的递送需要很长时间,并且限于小尺寸的有效负载。机械穿孔提供了更快的转移速度,并且有效负载尺寸的影响较小。

[0040] 细胞压缩在流动通道中实现,每个流动通道包括一个或多个脊。如上所述,每个脊形成间隙,该间隙的尺寸(G)小于至少对处于松弛状态/非压缩状态的细胞而言的细胞直径(D)。间隙尺寸、脊几何形状和线性流量的组合导致了细胞压缩和体积损失。具有体积变化的机械穿孔应与其他微流体技术区分,后者不基于体积变化,上文简要地提到了其中之一。例如,其他微流体技术(例如膜剪切(membrane shearing))涉及改变细胞膜的孔隙率,从而实现基于扩散的有效负载递送。更具体地说,膜剪切不涉及快速压缩和体积变化。相反,细胞通过锥形漏斗,该锥形漏斗与细胞膜形成全周接触。这种全周接触确保了大部分细胞膜经历剪切,导致具有足够大孔的膜穿孔,以便有效负载在细胞内部扩散。

[0041] 微流体技术的一方面是流动通道的小尺寸,导致以低雷诺数(Reynolds numbers)(例如,小于1)表示的流动条件。因此,流体粘度是这些流动条件的主要因素。此外,单个通道的总吞吐量是有限的。例如,宽度为1mm的单个通道的体积流量可以小于1ml/min。该流量对应于约 10^7 个细胞/小时的处理速度。与此同时,工业应用需要大得多的处理速度,例如 10^9 个细胞/小时或 10^{10} 个细胞/小时,这显著地限制了过去微流体技术的采用。

[0042] 此外,尽管所有可能的处理和材料变化,加工速度仍应保持在设定值或接近设定值。例如,细胞介质通常含有不需要的颗粒、异常细胞和其他此类成分,它们不能通过微通道,尤其是不能通过通道内由脊形成的间隙。这些介质成分可以在一些通道中累积,甚至阻塞通过通道的流动,从而降低整个设备的吞吐能力。

[0043] 不同的方法可以提高通道的处理速度。例如,可以增加所提供的流过通道的细胞介质中的细胞浓度。然而,较高的细胞浓度(例如,大于1000万个细胞/mL)可以导致不良的细胞间碰撞。这些细胞间碰撞可以损伤细胞,从而降低细胞的恢复和活力。此外,这些碰撞可以导致通道堵塞,从而导致处理速度降低。

[0044] 另一种方法是通过增加穿过通道的压力差来增加线性流速。例如,1m/s的线性速度在一些通道中可能需要高达 10^6 Pa的压力差。如此高的压力差需要复杂且昂贵的设备。此外,高流速可以损害细胞。

[0045] 另一种增加处理速度的方法涉及使用多个平行通道。这种方法使体积流量成比例增加,而不需要增加线性流速/压力差、细胞浓度和其他类似方法。然而,这种多通道方法需要特别考虑在平行操作的所有通道中保持相同或相似的条件。保持这种处理条件统一性可以是具有挑战性的。例如,所有通道需要具有相似的介质线性流量、介质中细胞浓度、介质中有效负载浓度等。此外,必须在多个处理运行/不同批次中维持这些条件。

[0046] 本文描述的是机械穿孔类的高通量有效负载递送至生物细胞群中的方法和系统,其解决了上述的各种挑战。具体地,细胞处理装置包括处理组件,在一些实例中该处理组件可以是可更换的和/或一次性的。例如,进行处理后,至少可以容易地更换处理组件的各个部件,在一些情况下可以导致通道部分堵塞。例如,测量穿过处理组件和整个处理组件的压力差(对于给定的体积流量),或者当该压力差达到或超过特定阈值时,更换组件的一些部件。此外,可以更换处理组件的部件,以形成处理组件的不同配置,例如不同的机械穿孔特性。最后,各个部件易于制造,例如使用注塑成型。

[0047] 细胞处理装置实例

[0048] 图1A及图1B是根据一些实例的细胞处理装置100的示意图(以组装形式和分解图)。细胞处理装置100包括处理组件110、入口部件102和阻挡器104。处理组件110设置在入口部件102和阻挡器104之间。更具体地,每个入口部件102和阻挡器104对着处理组件110进行密封。共同地,处理组件110、入口部件102和阻挡器104限定并包围细胞处理装置100的空腔107。空腔107也可以称为入口开口。在一些实例中,细胞处理装置100还包括位于空腔107内侧的分配部件106。

[0049] 参见图1A和图1B,入口部件102包括向空腔107提供流体通路的入口103。在细胞处理装置100的操作期间,含有细胞群的细胞介质通过入口103递送到空腔107中。然后,分配部件106将细胞介质均匀地分配到空腔107的不同部分并靠近处理组件110。

[0050] 处理组件110包括多个通道139,其允许细胞介质通过处理组件110,同时在每个通道中经受机械穿孔。在一些实例中,处理组件110包括至少约100个通道、至少约500个通道、或甚至至少约1000个通道。参见图1A和图1B中的实例,每个通道139从细胞处理装置100的主轴101径向延伸通过处理组件110。然而,其他实例(例如,当通道139彼此平行延伸时)也在该范围内。

[0051] 图2A是从不同角度的细胞处理装置100的另一示意图,可称为底部透视图。在该实例中,阻挡器104不包括任何出口。相反,出口可以设置在外壳中(图1A、图1B和图2A中未示出)。下文进一步描述入口和出口的各种实例。

[0052] 图2B是图2A中的处理组件110的放大图,显示了形成处理组件110的处理部件119。例如,处理部件119沿着细胞处理装置100的主轴101(在Z方向上)堆叠在一起。在该实例中,主轴101也可以被称为中心轴。具体地,处理部件119成形为环,主轴101延伸通过这些环的中心。

[0053] 更具体地,图2B示出了处理部件111、第二处理部件112和第三处理部件113沿Z轴堆叠在一起。处理部件119可以包括任意数量的处理部件(例如,一个、两个、三个、四个、五个或更多个)。该数量取决于细胞处理装置100的所需处理速度/处理吞吐量,如下文进一步描述。应当注意的是,较大数量的处理部件119还允许使用细胞处理装置100更长的持续时间。具体地,这些处理部件119的通道可能随着时间的推移而被堵塞。较大数量的处理部件119对应于较大数量的通道,这将花费更长的时间来堵塞(例如,当通道继续堵塞时,容量降低的细胞处理装置100可以继续操作)。然而,增加处理部件119的数量可以对于将细胞介质均匀分布到每个通道存在各种挑战。如上所述,每个通道需要以基本相同的方式处理细胞,例如以相同的流速、压力、介质浓度等。

[0054] 参见图2C,处理部件111包括通道139。每个处理部件111可以包括任意数量的通

道。与处理部件的数量类似,该通道数量取决于细胞处理装置100的所需处理速度/吞吐量。因此,细胞处理装置100的总处理吞吐量取决于每个通道的吞吐量、每个处理部件中的通道数量,以及装置中处理部件的数量(如下式显示):

[0055] 装置吞吐量=通道吞吐量×每个部件的通道数×部件数量

[0056] 在一些实例中,每个处理部件119具有相同的设计,例如,以确保处理一致性和互操作性。例如,处理部件119可以作为消耗品提供,并且在使用细胞处理装置100之前组装到处理部件111中。

[0057] 在一些实例中,每个处理部件119是单独制造,例如使用注塑成型和/或热压花。注塑成型工具可以通过CNC加工和/或镀镍形成(例如,用于形成脊140的工具部分)。与处理部件119的其他部件不同,脊140具有许多需要显著精度的小特征。

[0058] 在堆叠这些处理部件119之前,每个处理部件119包括具有脊140的开口通道,该脊140位于通道的底部上并且朝开口延伸。一旦该处理部件119与另一个处理部件119堆叠,通道就被封闭,并且脊140面向其另一个处理部件119,脊140与这些脊140中的每个形成间隙。在一些实例中,每个处理部件119包括所有通道壁,如例如,在图2F中示意性地显示的。例如,每个处理部件119可以由结合在一起以形成封闭通道130的两个部分形成。这些处理部件119可以堆叠在一起以形成细胞处理装置100。在一些实例中,单独形成的处理部件119各自包括多个封闭通道,可以用于提高通道尺寸的均匀性。用于通道139的材料可以是热塑性塑料,例如环烯烃共聚物(COC)、环烯烃聚合物(COP)、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)、聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)和聚苯乙烯(PS)。此外,可以使用非热塑性材料,例如玻璃、硅、金属等。

[0059] 在一些实例中,两个相邻的处理部件119使用不同的方法粘合在一起,例如热粘合、粘合剂粘合、溶剂粘合、超声粘合、激光焊接、压敏粘合剂和紫外线(UV)胶。此外,在一些实例中,在两个相邻的处理部件119之间形成密封以防止细胞介质在这些部件之间流动。密封可以另外地形成或不使部件粘合而形成。在一些实例中,密封通过粘合形成。在一些实例中,密封由垫圈形成。密封的一个示例在图2D和图2E中显示。具体地,处理部件111包括密封通道125,而第二处理部件112包括密封突出部126。当处理部件111与第二处理部件112堆叠时,密封突出部126插入密封通道125中以形成密封。应当注意,每个密封突出部126和密封通道125(以及由这些部件形成的密封)均沿周向封闭。图2B示出了处理部件119的两个相邻处理部件直接彼此连接,而无需任何中间部件的实例。

[0060] 位于每个通道中的机械穿孔特征的实例

[0061] 参见2C,每个通道130包括一个或多个脊140。每个这些脊140被配置为当细胞通过由该脊形成的间隙时压缩细胞。在一些实例中,脊140被配置为同时压缩沿脊长度分布的多个细胞,例如1个细胞~100个细胞,或者多于100个细胞。换句话说,由于脊的长度远大于脊的直径,因此多个细胞可以被同样地压缩。因此,每个通道130中的脊140的数量取决于每次通过细胞处理装置100期间所需压缩的次数。在一些实例中,每个通道130中的脊140的数量是1~50个,或更具体地,2~20个,例如5~15个。在一些实例中,每个通道130中脊的数量对于细胞处理装置100的所有通道来说是相同的。在一些实例中,每个通道130的总长度为约0.05mm~100mm,或更具体地,约1mm~10mm。较短的通道长度有利于降低产生所需流速需要的压力。在一些实例中,脊140沿通道长度均匀地分布。或者,脊140可以聚集为更靠近通道出口,例如,以使细胞与脊140相互作用之前能够聚集细胞。在一些实例中,脊140聚集为更

靠近通道入口,例如,在与脊140相互作用之后,允许细胞更长时间地以更高的速度保留在流体中。在一些实例中,通道入口和/或通道出口位于处理部件119的前边缘和后边缘处。在一些实例中,通道入口和/或出口可以穿过处理部件119的通道壁132布置,例如,以减少由于制造过程而进入每个通道130的灰尘量。

[0062] 进一步参见图2C,每个通道130位于两个分隔件120之间。在一些实例中,分隔件120的宽度为 $1\mu\text{m} \sim 100\mu\text{m}$ 、或 $0.1\text{mm} \sim 0.5\text{mm}$ 、或 $0.5\text{mm} \sim 10\text{mm}$ 。此外,每个通道130由第一分隔件壁121、第二分隔件壁122和通道壁132限定。脊140从通道壁132突出并且可以在第一分隔件壁121和第二分隔件壁122之间延伸。然而,脊140的高度小于第一分隔件壁121和第二分隔件壁122的高度。在一些实例中,第一分隔件壁121的高度与第二分隔件壁122的高度相同。在一些实例中,分隔件壁120的高度为 $1\mu\text{m} \sim 50\mu\text{m}$ 、或 $20\mu\text{m} \sim 500\mu\text{m}$ 、或 $0.1\text{mm} \sim 10\text{mm}$ 、或大于 10mm 。Y方向上的通道宽度限定了由压缩脊140同时处理的细胞数量。更宽的通道允许更大量的细胞平行压缩。然而,较宽的通道更可能变形(例如,在通道内的内部压力下),影响由脊140形成的间隙的均匀性。另一方面,窄通道更容易堵塞。在一些实例中,通道宽度为约 $10\mu\text{m} \sim$ 约 1mm ,或更具体地为约 $0.1\text{mm} \sim 0.5\text{mm}$,或约 $0.4\text{mm} \sim 0.8\text{mm}$ 。在一些实例中,通道宽度为约 $1\text{mm} \sim$ 约 10mm ,或宽于 5mm 。

[0063] 图2D示出了处理部件111和第二处理部件112在堆叠这些部件之前的侧剖视图。处理部件111包括由分隔件120形成并且面向第二处理部件112的第一表面123。第二处理部件112包括背向该部件的分隔件120并且面向第一处理部件111的第二表面124。

[0064] 图2E示出了在堆叠这些部件之后/在形成处理组件110之后,处理部件111和第二处理部件112的侧视剖视图。在此阶段,处理部件111的第一表面123接触第二处理部件112的第二表面124,从而隔离相邻的通道130。在一些实例中,第一表面123粘合和/或密封到第二表面124。这些通道的高度(沿Z方向)由分隔件壁(例如,图2D所示的第一分隔件壁121)的高度限定。因为脊140比分隔件壁短,所以处理部件111的脊140与第二处理部件112的第二表面124形成间隙141。这些间隙141被具体配置为当细胞穿过每个间隙141时压缩这些细胞,并导致每个细胞的体积变化。现在将参考图2F描述附加的间隙特征。

[0065] 参见图2F,每个间隙141标识有相应的高度,标记为“H”。选择间隙高度使得细胞被压缩以通过间隙141。换言之,间隙高度小于细胞尺寸($H < D$)。应当指出的是,图2F示出了脊140的横截面轮廓为矩形的实例。然而,其他形状的轮廓也在范围内,例如圆柱形、梯形或三角形。在一些实施方式中,多个压缩表面可以是直角的。

[0066] 至少矩形脊140的另一个特征是脊表面142在X方向上的长度(标识为“L”),其也可以称为脊厚度。在一些实例中,脊表面长度在约 $1\mu\text{m} \sim 100\mu\text{m}$,或者更具体地在约 $20\mu\text{m} \sim 50\mu\text{m}$ 。该长度与线性流量一起限定了细胞被脊压缩持续的时间。在一些实例中,脊表面142平行于第二表面124。换言之,间隙141由两个平行表面限定。这些平行的压缩表面允许对整个细胞进行均匀压缩。另外,压缩表面可以是集中的和/或发散的。应当注意,除了细胞压缩之外,脊140还在细胞介质内产生流体动力混合

[0067] 参见图2F,间隙141是基于细胞尺寸、所需的压缩以及机械穿孔的其他特性来选择的。在一些实例中,间隙高度(H)为 $1\mu\text{m} \sim 20\mu\text{m}$,或者为 $10\mu\text{m} \sim 100\mu\text{m}$,或者更具体地,为 $3\mu\text{m} \sim 8\mu\text{m}$ 。此外,间隙高度(H)还可以相对于细胞尺寸(D)来限定,细胞尺寸(D)被定义为细胞的平均最大横截面尺寸。更具体地,间隙高度与细胞尺寸的比率(H/D)限定细胞压缩。在一些实

例中,该H/D比率为25%~75%,或者更具体地为30%~60%。内部通道高度(IH)限定了脊之间的流速,以及细胞在连续压缩之间花费的时间。在一些实例中,IH为约 $2\mu\text{m}$ ~ $100\mu\text{m}$,或更具体地为 $5\mu\text{m}$ ~ $10\mu\text{m}$,或为 $10\mu\text{m}$ ~ $15\mu\text{m}$ 。在一些实例中,IH为约 $10\mu\text{m}$ ~ 1mm ,或更具体地为 $50\mu\text{m}$ ~ $100\mu\text{m}$ 。

[0068] 对于同一通道中的所有脊140,间隙高度(H)可以是相同的。或者并且参见图2F所示,对于不同的脊140,间隙高度(H)可以不同。例如,间隙高度沿着流动方向减小,从而当细胞流过细胞处理装置100时,使细胞经受更高的压缩。在一些实例中,当较大的细胞被压缩在较大的间隙中时,这些细胞可以保持扁平(煎饼状)形状,然后通过较小的间隙,同样不会从流动中去除。此特征可称为分级压缩。此外,如果存在(例如,在不同的群体中)的话,较小的间隙可以开始处理较小的细胞。因此,使用沿通道变化的间隙尺寸可以改善对异质细胞群的对流细胞内递送。此外,这种具有不同压缩间隙的通道可用于通过减少细胞大小异质性的影响来改善细胞分选。

[0069] 细胞内递送由细胞压缩率控制,该细胞压缩率是细胞为了通过脊形成的间隙而损失体积的比率。细胞压缩率可以由流速、脊的几何形状、间隙高度与细胞尺寸的比率、脊的宽度、脊的角度和压缩表面涂层来确定。此外,已经发现体积损失(V_{loss})随着细胞压缩率的增加而增加。可以具体选择各种处理和装置特性来实现所需的细胞压缩率。在一些实例中,脊140相对于每个通道中的中心流动轴109以0度~90度的角度(α)取向,例如在图2G-图2J中示意性显示。更具体地,脊的角度(α)为10度~30度,或者为30度~90度,更具体地为约45度。在一些实例中,脊140形成V形,例如如图2G所示。或者,脊140是直的,例如如图2H所示。在一些实例中,脊140是弯曲的,例如如图2I和图2J所示。此外,在一些实例中,脊140可以两个侧壁都延伸,例如如图2G所示,或者,与侧壁的至少一个形成侧壁间隙,例如如图2H-图2J所示。该侧壁间隙可以称为沟槽,并且可以接收不可压缩的细胞(例如,沿着脊140推入侧壁间隙中),从而降低通道堵塞的风险。

[0070] 应当注意,脊140的横截面形状(如图2F所示)限定了细胞压缩轮廓。在一些实例中,该形状是矩形(如图2F所示)、或梯形、或三角形。在一些实例中,形成压缩间隙141的脊表面142是基本上平坦的(例如,平行于第二表面124),或者是倾斜的,形成沿X轴变化的间隙。在一些实例中,脊表面142几乎是圆柱形的。

[0071] 参见图2F,通道内相邻脊140之间的空间,以及最后一个脊之后和出口之间的空间可称为恢复空间145。两个相邻脊之间的恢复空间145的长度(沿X方向)可称为脊间距(S)。脊间距取决于流速、细胞特性、先前压缩的水平等。在一些实例中,脊间距为 $1\mu\text{m}$ ~ $100\mu\text{m}$,或为 $50\mu\text{m}$ ~ $10000\mu\text{m}$,例如为 $200\mu\text{m}$ ~ $500\mu\text{m}$ 。每个恢复空间145的体积和流量决定平均恢复时间,即细胞在经受另一次压缩之前在恢复空间145中花费的时间。已经发现,当恢复时间增加时,体积增益(V_{gain})增加。可以通过增加恢复空间145的长度来增加恢复时间。

[0072] 处理组件外壳实例

[0073] 如上所述,处理组件110包括沿主轴101堆叠的多个处理部件119。每个处理部件119包括在垂直于主轴101的方向上延伸并被配置为用于流动细胞的多个通道139。处理组件110可以封装在各种外壳实例中,其将处理组件110与环境隔离,为处理组件110提供支撑,并确保细胞介质均匀地流入每个通道139中。

[0074] 图3A是细胞处理装置100的实例的示意性分解图,细胞处理装置100包括入口部件

310(包括入口103)和出口部件320(包括出口105),入口部件310和出口部件320彼此密封并且封闭包括多个处理部件119的处理组件110。图3B是图3A中的细胞处理装置100的示意性剖视图。具体地,入口部件310和出口部件320限定内部空腔330,内部空腔330容纳处理组件110。内部空腔330的形状被具体限定,以确保细胞介质(通常沿Z轴流过细胞处理装置100)均匀地分布到处理组件110的每个通道139中。应当注意,多个通道139位于每个处理部件119上,并且沿X轴相对于彼此偏移。此外,多个处理部件119沿Y轴堆叠在一起,形成处理组件110。因此,内部空腔330的形状提供沿X轴以及沿Y轴的均匀细胞介质分布,同时细胞介质从入口103递送至每个通道139,例如以确保通过每个通道139的流量相同。类似地,当细胞介质从每个通道139离开并被引导至出口105时,内部空腔330的形状提供沿着X轴以及沿着Y轴的均匀细胞介质收集(例如,以确保整体流动的阻力均匀)。应当注意,细胞介质通常沿Z轴流动。内部空腔330和通道139的附加特征在图3C-图3F中显示,示出了入口部件310。应当注意,入口部件310和出口部件320可以具有对称设计,例如如图3B所示。

[0075] 图3C是图3A中的细胞处理装置100的入口部件310的示意性俯视图。入口部件310被示出为支撑处理组件110。例如,在细胞处理装置100的组装期间,在相对于彼此附接和密封入口部件310和出口部件320之前,可以将处理组件110插入到入口部件310(或出口部件320)中。图3D是图3C中的入口部件310的一部分的放大俯视图,示出了处理部件119中的通道139和脊140。虽然仅顶部处理部件119在图3C和图3D可见,但任何数量的处理部件119可以沿Y轴堆叠。图3E和图3F是图3C中的入口部件310的示意性剖视图,示出了根据一些示例的内部空腔330的一部分和位于内部空腔330内的处理部件119。

[0076] 图4A是由堆叠在入口板430和出口板440之间的处理部件119形成的细胞处理装置100的另一个实例的示意性透视图。图4B是图4A中的细胞处理装置100的示意性分解图。在该实例中,处理组件110由八个处理部件119形成。然而,任何数量的处理部件119都在范围内。图4C是在图4A的细胞处理装置中使用的处理部件119的俯视示意图,示出了入口开口410和出口开口420。图4C还示出了在入口开口410和出口开口420之间延伸的多个通道139。在该实例中,每个入口开口410和出口开口420在垂直于主轴101(并且平行于图4C中的X-Z平面)的平面内具有三角形边界。在一些实例中,三角形边界形状防止流动中停滞区的形成。

[0077] 在细胞处理装置100的操作期间,细胞介质通过入口板430进入细胞处理装置100,并且被引导至与入口板430相邻的处理部件119的入口开口410。应当注意,所有处理部件119的入口开口410可以重叠,并在入口板430和出口板440之间形成穿过细胞处理装置100的连续通道。类似地,所有处理部件119的出口开口420可重叠,并在入口板430和出口板440之间形成穿过细胞处理装置100的连续通道。在一些实例中,入口开口410的横截面是相同的,并且是出口开口420横截面的镜像,例如如图4C所示。

[0078] 返回到操作实例,一旦细胞介质位于与入口板430相邻的处理部件119的入口开口410内,一部分细胞介质流过该处理部件119的通道139进入出口开口420。剩余的细胞介质被引导至其他处理部件119的入口开口410。最终,所有细胞介质穿过处理部件119的通道139,并进入由处理部件119的出口开口420形成的通道,然后从细胞处理装置100移除。

[0079] 在一些实例中,细胞处理装置100通过堆叠多个基本相同的细胞处理部件119来组装。虽然由处理部件119的入口开口410和出口开口420形成的通道提供了细胞介质的均匀

分布和收集,但是这些通道还需要大量的细胞介质来填充通道。至少部分(或全部)细胞介质无法从通道中回收。因此,通道代表细胞处理装置100内的“死体积(dead volume)”。该“死体积”可以通过延伸到这些通道中的特殊突出部来减小。具体地,当这些外部突出部(例如,设置为入口板430和出口板440的一部分)允许处理部件119相同,并且在需要时(例如,当处理部件119的通道139被堵塞时)被替换。现在将参照图4D-图4G描述这些突出部特征。

[0080] 具体来说,图4D是细胞处理装置100的示意性透视图,细胞处理装置100具有堆叠在入口板430和出口板440之间的处理部件119。图4E是图4D中的细胞处理装置100的示意性剖视图。图4F是图4D中的细胞处理装置100的分解剖视图,提供一些部件和特征的附加表示。入口板430包括入口突出部432,入口突出部432延伸到每个处理部件119的出口开口420中并且在不同的处理部件119的出口开口中占据不同体积。具体地,入口突出部432是锥形的并且阻塞最近(相邻)的处理部件119的出口开口420中的大部分体积,以及最远处理部件119的出口开口420中的最小体积。由于出口开口420携带最少量的细胞介质(在所有处理部件119中),即仅已经流过最近(邻近)处理部件119的细胞介质,因此,未阻塞的体积在最近(相邻)处理部件119中是最大的。下一个处理部件119的出口开口420携带已经流过该下一个处理部件119,也从最近的(相邻的)处理部件119接收的细胞介质。最后,最远的处理部件119的出口开口420携带流过所有处理部件119的所有细胞介质,从而需要最畅通无阻的体积。以类似的方式并参见图4G,出口板440包括出口突出部442,出口突出部442延伸到每个处理部件119的入口开口410中并且在不同处理部件119的出口开口420中占据不同体积。通过每个入口开口410的不同体积流量的相同原理适用于入口侧。这种将不同体积流量(在入口和出口通道内的不同位置处)和这些通道的不同横截面积(由入口突出部432和出口突出部442的不同阻塞体积提供)匹配,在细胞处理装置100内产生更均匀的线性流量,如现在将参考图4H描述的。

[0081] 使用各种分配路径将细胞介质供应到每个通道139中。这些路径经过专门设计,使得通过每个通道139的线性流量基本相同。这种流量均匀性确保所有细胞以相似的方式处理,例如,在相同的时间段内经受相同的压缩率,并允许相同的弛豫时间。这些路径由细胞处理装置100的各种部件提供,例如分配部件106、处理组件110和/或其他部件。

[0082] 图4H示出了根据一些实例的一部分细胞处理装置100侧的横截面。具体地,图4H示出了分配部件106、外壁150和位于分配部件106和外壁150之间的处理组件110。分配部件106和处理组件110之间的空间用于将细胞介质供应到处理组件110内的通道139。外壁150和处理组件110之间的空间用于去除穿过通道139的细胞介质。图4H还示出了细胞介质被递送到细胞处理装置100顶部处的分配部件106和处理组件110之间的空间(邻近入口部件102)。细胞介质被从细胞处理装置100底部处的外壁150和处理组件110之间的空间(邻近阻挡器104)移除。

[0083] 图4H中的横截面示出了在入口部件102和阻挡器104之间垂直堆叠的六个通道139。当细胞介质进入分配部件106和处理组件110之间的空间时,细胞介质被引导到通道139中。为了清楚起见,由处理部件111和第二处理部件112形成的通道可以被称为第一通道,而第二处理部件112和第三处理部件113之间形成的通道可以被称为第二通道。当细胞介质进入第一通道时,运行到分配部件106和处理组件110之间的空间中的细胞介质通过第一通道的体积流量较小。由于每个通道允许一些细胞介质流过该通道,因此在流过每个新

通道之后会出现体积流量的进一步降低。如果分配部件106和处理组件110之间的空间的横截面保持恒定,则细胞介质的线性流量将与体积流量成比例地下降。图4H所示的宽度减少($W_1 > W_2 > W_3$)允许在分配部件106和处理组件110之间的空间内保持细胞介质的线性流量基本恒定。类似但相反的过程发生在外壁150和处理组件110之间的空间。随着从每个新通道接收到额外的细胞介质,该空间中的体积流量从上到下逐渐增加。因此,该空间的宽度从上到下增加($W'_1 < W'_2 < W'_3$)。总体而言,供应通道的横截面积在通道层之间变化,使得线性流速在细胞处理装置100的所有部分中是均匀的。这可以防止流动中形成停滞区。

[0084] 在一些实例中,一个或多个处理部件包括分配路径和/或收集路径。这些路径应与包含压缩脊的处理通道区分开来。图5A示出了布置成树状结构的分配路径160的实例。在每个分支级别处,每个分配路径通道分支为两个相同的子路径,以为每个分支提供相同的流动条件(例如,在这些路径的每个分支中使用特定直径)。这些子路径也可以称为分支路径。这种分支结构确保每个通道139具有相同的线性流量。此外,当所有通道139的横截面相同时,体积流量也是相同。虽然图5A示出了双向分支,本领域普通技术人员将理解任意分支包括任意数量的子路径(两个、三个、四个等等)。此外,虽然图5A示出了两个级别的分支,本领域普通技术人员将理解任意的分支包括任意数量的这些分支级别(两个、三个、四个等等)。

[0085] 总体而言,配置如图5A所示,并且其他类似配置可以用于确保所有处理通道都被供应相同量的介质、试剂和细胞,这是维持产品质量和一致性所需的。为了在分配通道和收集通道中保持相似的流速,总通道横截面积(即,每个分支级别的通道横截面积之和)可以在每个分支级别(分配通道和收集通道)保持恒定,这样 $A_{\text{总}} = N * A$,其中, $A = H * W$, N 是通道的数量。由于制造限制(例如当通道过宽时,壁松垂),可以设置通道尺寸,使得 W/H 不超过20。平行微通道的数量可以受到制造工艺、具有分配通道和收集通道网络的微通道布局的占用空间、微通道中的阻止或改变流体流动的气泡形成、以及供应通道的横截面尺寸的限制。类似地,可以在出口处使用分支通道结构来收集介质和处理过的细胞。出口部分的这种布置可以用于确保每个处理通道139上的流阻相似。

[0086] 图5B示出了设置在处理部件中、或更具体地在第二处理部件112中,堆叠在处理部件111和第三处理部件113之间的分配路径160的另一个实例。在该实例中,分配路径160与两个通道流体连通,两个通道为由处理部件111和第二处理部件112形成的通道130,以及由第二处理部件112和第三处理部件113形成的通道130。这样,分配路径160可以在每个其他处理部件中提供。图5C示出了另一个部件,其中,在每个处理部件中提供分配路径160。

[0087] 在图5B和图5C中显示的分配路径160可以用于更有效地使用试剂(例如,减少所需的昂贵试剂的体积)。在这些实例中,使用分配路径160可以将试剂直接供应到处理通道130中,而不与含有细胞的介质预混合,至少不在处理组件110的外部预混合。当试剂不稳定和在细胞介质中降解时,也可以使用该方法。在一些实例中,试剂的流速比细胞介质的流速低,细胞介质的流速是试剂的流速的至少约10倍、100倍、或甚至1000倍。在这些实例中,与处理通道130相比,分配路径160可以具有小得多的横截面积。此外,分配路径160中的压力与处理通道130中的压力匹配或超过处理通道130中的压力,以防止细胞介质回流到分配路径中160。

[0088] 处理部件119中的处理通道130的布置可以取决于处理部件119和整个处理组件110的形状。例如,图2A示出了圆形处理部件119。在该实例中,处理通道130径向延伸,例如

从细胞处理装置100的主轴101。当处理部件是矩形时,处理通道130可以彼此平行地延伸。使用圆形层的优点是堆叠设计更简单,堆叠设计可以使用置于各个层之间的环形橡胶垫圈来防止泄漏。相比之下,使用矩形层可能需要使用垫圈,以防止流体在角落处引导至更容易泄漏的组件。

[0089] 在一些实例中,包括脊140的处理部件119与不具有脊的试剂递送部件交替。在这些实例中,处理通道130可以完全通过处理部件119形成,或者通过将处理部件119与试剂递送部件堆叠来形成。

[0090] 通道设计可以包括增强试剂与介质混合的结构元件,例如柱、脊、通道收缩部。可以包括驱动的混合元件,例如磁珠、磁性细丝和声学驱动细丝。该混合确保了介质的均匀性。

[0091] 在一些实例中,该装置可以包括平行布置的多个细胞处理装置100。同时地使用多个并联装置可以受到装置中总流量的要求的限制。在一些实例中,流量被顺序地供应到不同的装置。当检测到严重堵塞而降低流量时,流量将被引导至下一个装置。在一些实例中,通过监测供应通道内的流量,来控制流量从一个设备切换到另一设备。在一些实例中,多个细胞处理装置100串联连接,以提供多级的机械穿孔。在一些实例中,实施了多个细胞处理装置100的串联连接,以提高递送效率或将不同的有效负载顺序地递送到细胞群中。

[0092] 过滤器和分离集成实例

[0093] 在一些实例中,细胞处理装置100被配置为进行除机械穿孔之外的附加功能。此外,这些附加功能之一可以在进行机械穿孔的同一处理组件中进行。例如,处理组件可以被配置为进行过滤和细胞分离。

[0094] 图6A是包括处理组件110的细胞处理装置100的示意图,该处理组件110顺序地包括初级过滤器510、机械穿孔器(mechanoporator)520和分离器530。初级过滤器510、机械穿孔器520和分离器530中的每一个由一个或多个处理部件形成。然而,对于初级过滤器510、机械穿孔器520和分离器530中的每一个而言,这些处理部件的配置是不同的,如下文参考图6B和图6C进一步描述的。图6A还示出了预过滤器502和混合器504作为细胞处理装置100的附加部件。这些部件可以与处理组件110分离。

[0095] 细胞最初被递送到预过滤器502中。预过滤器的目的是去除(从介质中)任何显著大于平均细胞尺寸的合成颗粒和生物颗粒,并且可以导致处理微通道堵塞。预过滤器的一些实例包括,但不限于,具有与平均细胞尺寸相当的间隔的柱阵列、形成间隙的跨通道脊,所述间隙与处理通道中的间隙类似。

[0096] 然后,将预过滤的细胞从预过滤器502递送到混合器504中。在一些实例中,介质(例如,液体基质)和/或有效负载也被递送到混合器504中。混合器504将细胞与介质和有效负载结合,形成细胞介质。然后,将细胞介质递送到处理组件110中。更具体地,首先将细胞介质递送到初级过滤器510中,在初级过滤器510中基于细胞的压缩性来过滤细胞。在一些实例中,使用初级过滤器510之后,使用混合器504将细胞与有效负载混合。穿过初级过滤器510的细胞然后被递送至机械穿孔器520。机械穿孔器的功能如上文所述。然后,处理过的细胞从机械穿孔器520流动至分离器530。现在将更详细地描述这些部件中每一个。

[0097] 类似于机械穿孔器520,初级过滤器510由沿着细胞处理装置100的主轴101堆叠在一起的处理部件形成。初级过滤器510的处理部件可以与机械穿孔器520的处理部件堆叠在

一起。然而,初级过滤器510的处理部件与机械穿孔器520的处理部件不同,如下文参考图6B和图6C进一步描述的。初级过滤器510被配置为捕获异常细胞和其他颗粒,因为它们的尺寸或机械特性不能穿过机械穿孔器520的间隙,并且可以被卡在机械穿孔器520的处理通道中,导致机械穿孔器520的堵塞。

[0098] 在一些实例中,细胞介质穿过初级过滤器510的线性流速小于穿过机械穿孔器520的线性流速(例如,穿过机械穿孔器520的线性流速是穿过初级过滤器510的线性流速的至少约2倍、至少约5倍、或甚至约10倍)。穿过初级过滤器510的较低流速用于防止当细胞经过初级过滤器510中的捕获颗粒和不可压缩细胞附近时损坏细胞。在一些实例中,线性流速的差异通过在初级过滤器510中使用比机械穿孔器520中更多数量的处理部件(和相应的通道)来实现,例如在图6B中示意性显示。图6B示出了细胞处理装置100,其包括由初级过滤器510和机械穿孔器520形成的处理组件110。初级过滤器510中的处理部件的数量大于机械穿孔器520中的处理部件的数量,例如,初级过滤器510中的处理部件的数量是机械穿孔器520中的处理部件的数量的至少约2倍、至少约5倍、甚至约10倍。假设初级过滤器510和机械穿孔器520中的每个处理部件具有相同数量的通道,并且这些通道具有相同的平均横截面,则通过初级过滤器510中的每个通道的线性流量与通过机械穿孔器520中的每个通道的线性流量的比率,与初级过滤器510中的处理部件的数量与机械穿孔器520中的处理部件的数量的比率成反比。因此,初级过滤器510、机械穿孔器520和处理组件110的其他子组件中处理部件的数量可以用于控制通过每个这些子组件中的线性流量。应当注意,通过每个这些子组件的体积流量是相同的。总的来说,初级过滤器510、机械穿孔器520和其他子组件可以集成到同一处理组件110中。或者,这些子组件可以是独立的部件。

[0099] 参见图6A,在穿过机械穿孔器520之后,细胞介质可以被供应至分离器530,该分离器530将处理过的细胞与剩余的细胞介质(例如,介质和剩余的有效负载)分离。这些介质和剩余的有效负载可以再循环(例如,供应回混合器504),在混合器504中这些成分与新的细胞、额外的有效负载和/或额外的介质组合(例如,以实现供应到处理组件中的细胞介质的所需组成)。新试剂的量可以基于分离器530的分离效率来限定。

[0100] 参见图6C,在一些实例中,分离器530包括沿通道(例如,第一分隔壁121)的一侧聚集细胞的对角脊140。脊140的末端与第一分隔壁121之间的间隔可以称为侧壁间隙143(或“沟槽”)。当细胞流过通道并遇到脊140时,脊140将细胞引向侧壁间隙143,同时允许介质的其余部分(包括剩余的有效负载)流过脊140与通道的另一壁之间的分离间隙。分离间隙与上文参考图2F描述的间隙141类似,并用于压缩细胞。分离器530还包括第一出口146,其与侧壁间隙143对齐,并用于从分离器530去除处理细胞。此外,分离器530包括用于去除剩余介质(与处理过的细胞分离)的第二出口147。如上所述,该介质可以返回到混合器504。

[0101] 在一些实例中,细胞处理装置100包括用于处理控制的传感器,例如压力、温度、氧气传感器。例如,压力传感器位于入口(处理通道之前)和出口(处理通道之后),以确定通过处理通道的压力降,或更具体地,通过初级过滤器510和/或通过机械穿孔器520的压力降。压力差的监测可以用于确定堵塞。在一些实例中,化学传感器用于控制细胞条件。流量传感器可用于控制流量。来自传感器的信号可用于控制各种装置(例如,泵、细胞介质供应等)的操作。例如,压力和流量数据可用于控制过滤元件的功能。当过滤元件捕获大量颗粒和异常细胞时,可以使用降低的流量或增加的压力来中断处理并更换或冲洗过滤元件。

[0102] 图7A是表示包括细胞处理装置100的处理系统190的另一个实例的示意图。细胞处理装置100包括入口103和出口105。入口103用于连接至细胞介质来源191,例如无菌袋。出口105用于连接至细胞介质接收器192,例如无菌袋。虽然在图7A中没有具体标识,但处理系统190还可以包括各种阀、连接器等。

[0103] 参见图7B和图7C,细胞处理装置100包括细胞介质收集器710,其包括收集器腔712和收集器端口720。在处理系统190的操作期间,收集器腔712首先填充细胞介质(例如,来自细胞介质来源191)。例如,可以使用流体连接至收集器端口720的设备(例如真空泵)在收集器腔712中产生减少的压力(例如,1Pa~1kPa)。该减少的压力导致细胞介质填充收集器端口720。应当注意,在该空腔填充的操作期间,通过出口105的流动被阻挡(例如,使用出口阀)。一旦收集器腔712被填充,通过入口103的流动被阻挡(例如,使用入口阀),同时启用流通的出口105。可以使用相同或不同的流体地连接到收集器端口720的设备,对收集器腔712加压(例如, 10^5Pa ~ 10^6)。该压力导致细胞介质流过处理部件119,或更具体地,流过处理部件119中的通道139。

[0104] 参见图7C,出口105流体地连接至多个通道139中的每个。收集器腔712与收集器端口720、入口103和多个通道139中的每个流体地连接。收集器端口720可以用于连接至气流来源。在该实例中,入口103设置于距离处理组件110比距离收集器端口720更近的位置。与顶部填充相比,该方法对细胞介质施加更小的机械应力(更温和的填充)。此外,底部填充产生的泡沫较少。在一些实例中,顶部填充装置配备有液体引导特征,以防止细胞介质(液体)在收集器腔中掉落/飞溅。

[0105] 图7D和7E以及图8A和图8B是细胞处理装置100的附加实例的示意图,其中,入口103设置于比处理组件110更靠近收集器端口720的位置。应当注意,在填充期间,一些气泡可以被引入到细胞处理装置100中。顶部填充方法通过从顶部释放空气,来最大限度地减少气泡的形成。如果液体是从底部填充的,并且液体内部最初有一些空气,空气必须通过液体才能逸出,这可以导致气泡产生并干扰液位传感器。顶部填充方法有助于防止气泡形成,例如,允许空气从顶部逸出并避免气泡滞留。

[0106] 参见图7E,在一些实例中,细胞介质收集器710还包括一个或多个液位传感器714,用于测量收集器腔712内的细胞介质的一种或多种液位。液位传感器714的一些实例包括,但不限于,电容传感器、超声波传感器和磁性传感器。当使用磁性传感器时,带有磁铁的浮子可以位于空腔中。浮子随着细胞介质的液位改变位置。

[0107] 操作方法实例

[0108] 图9是根据一些实例的对应于使用细胞处理装置100处理细胞的机械穿孔方法900的处理流程图。上文描述了细胞处理装置100的各种实例。

[0109] 机械穿孔方法900包括(框910)使包含细胞的细胞介质流过细胞处理装置100的入口103。在一些实例中,在细胞介质来源191中搅动细胞介质以防止细胞重力沉降。这种搅拌可以通过机械或磁力搅拌器来实现,在细胞介质来源191中引起瞬时或连续的介质运动。

[0110] 机械穿孔方法900还包括(框920)将细胞处理装置100内的细胞介质分布在沿细胞处理装置100的主轴101堆叠的每个处理部件119中的多个通道139中。

[0111] 机械穿孔方法900还包括(框930)使细胞介质流过多个通道139。每个通道139包括一个或多个脊140。每个脊140与相邻的一个处理部件119形成间隙141,使得间隙141小于细

胞介质中的细胞的直径。细胞介质流过多通道139引起细胞压缩,同时细胞通过间隙141,例如如上文参见图2F所述的。

[0112] 此外,进行使细胞介质流过多通道139,同时一部分细胞介质在进入多个通道139中的每一个时经历相同的压力。该相同的加压特征通过空气泵或另一压力源实现。

[0113] 结论

[0114] 尽管为了理解清晰,已经相当详细地描述了前述构思,但是显然,可以在所附权利要求书的范围内实施某些改变和修改。应当注意,存在许多实施方法、系统和装置的替代方式。因此,本实例应被认为是说明性的而非限制性的。

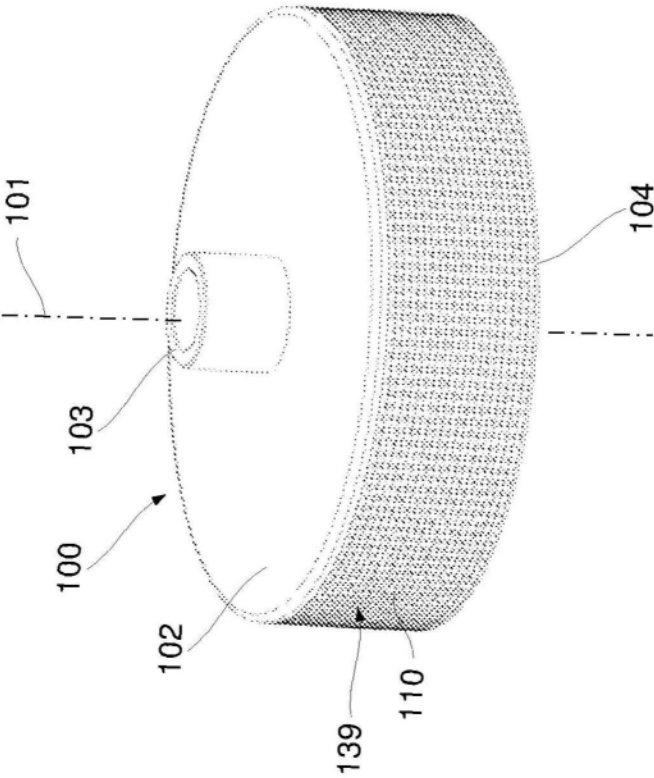


图1A

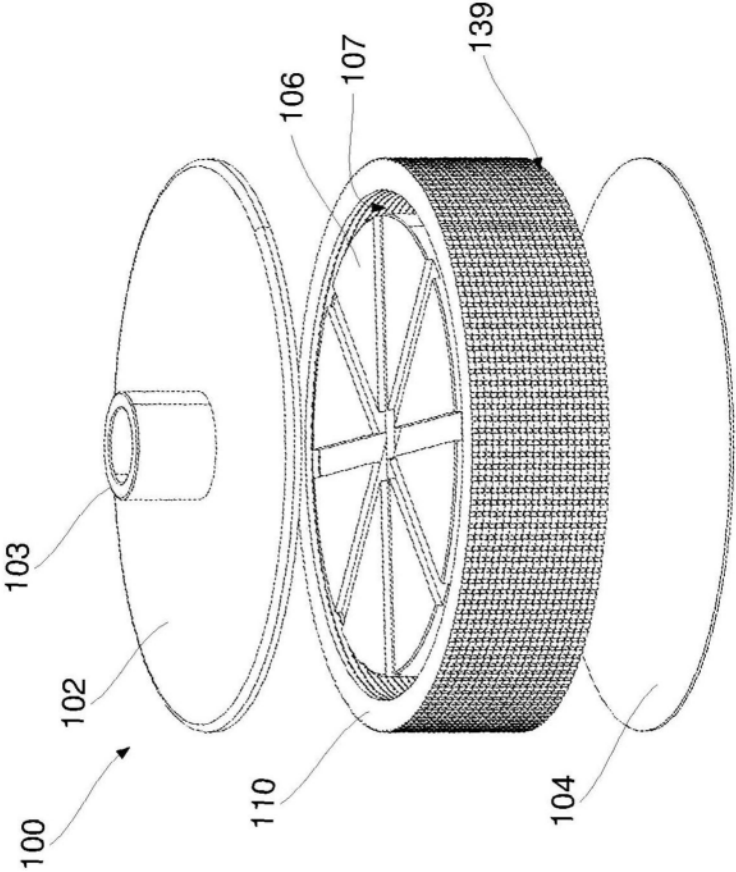
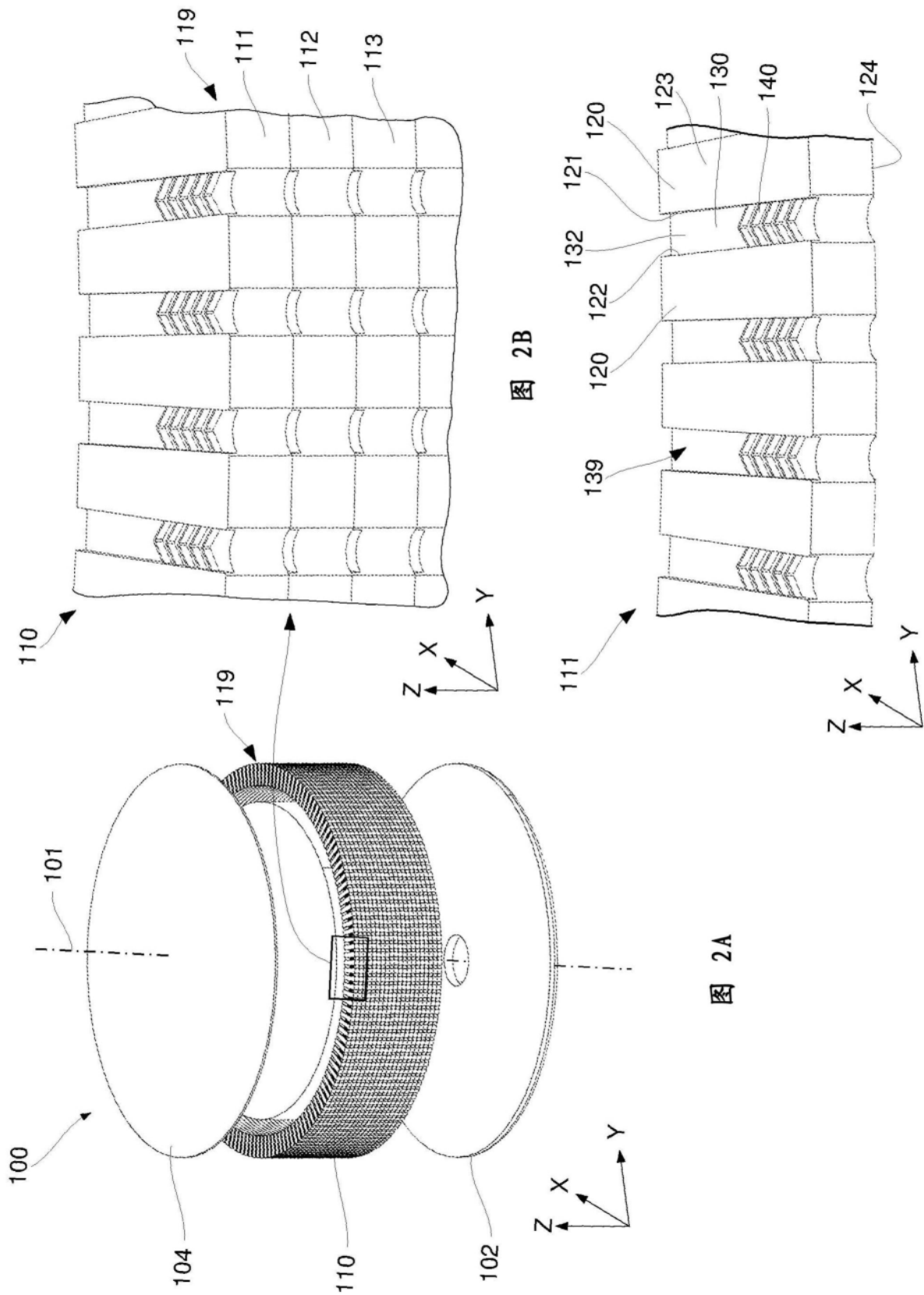


图1B



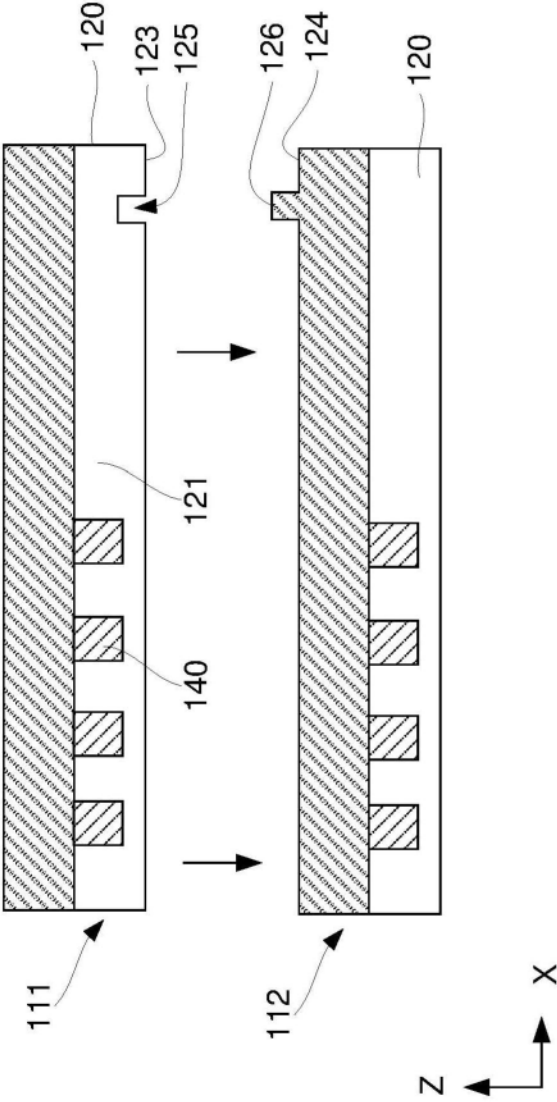


图2D

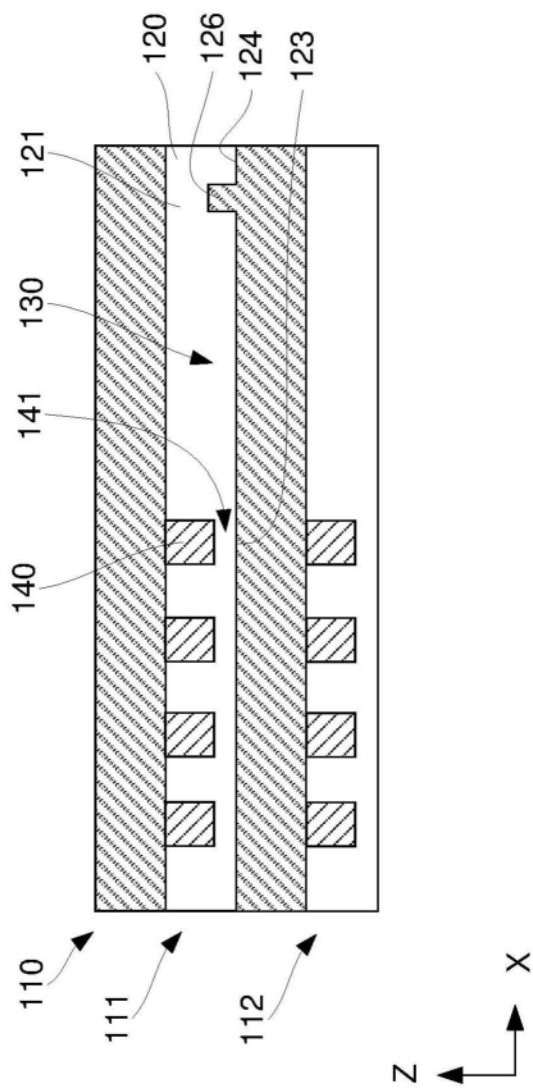


图2E

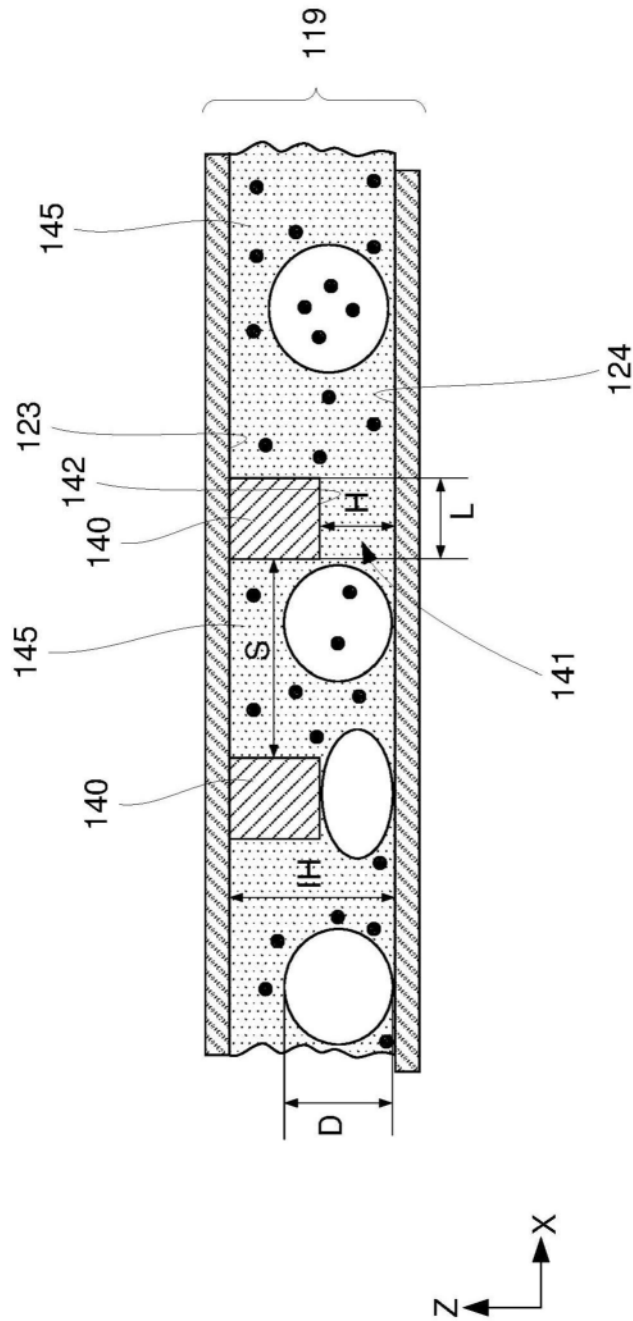


图2F

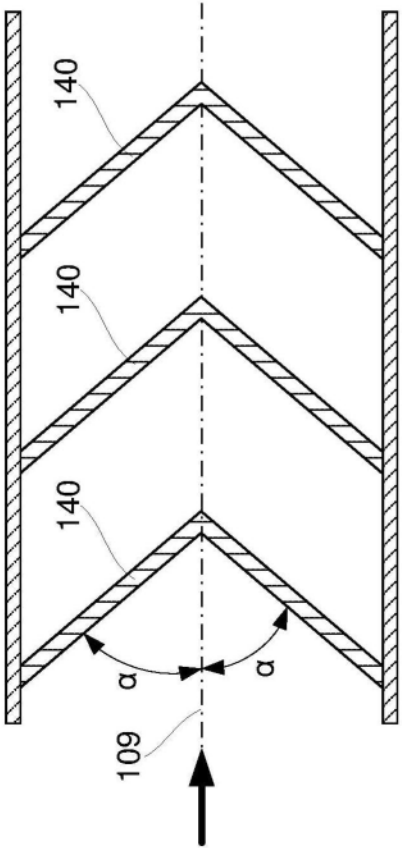


图2G

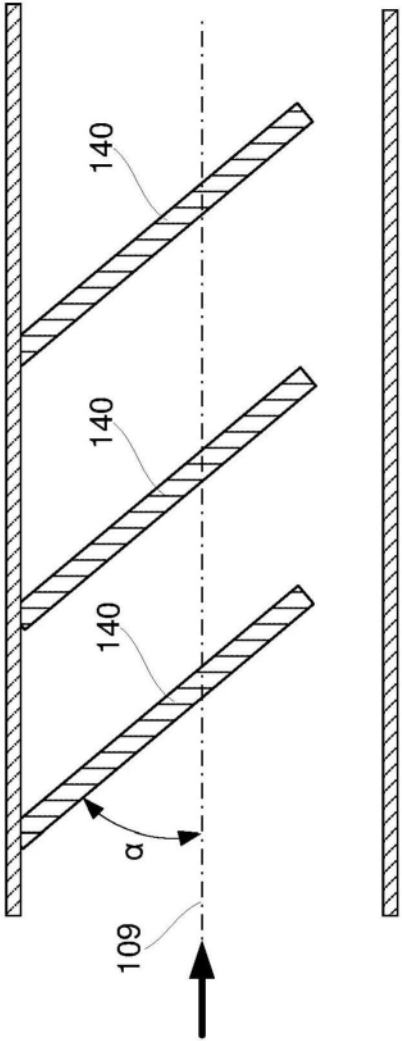


图2H

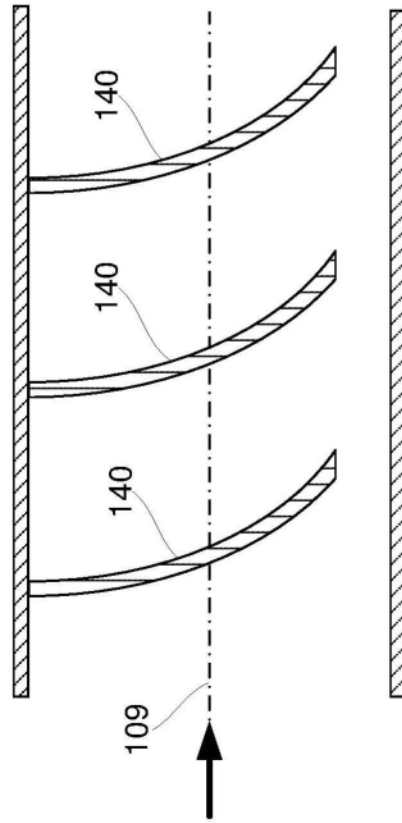


图2I

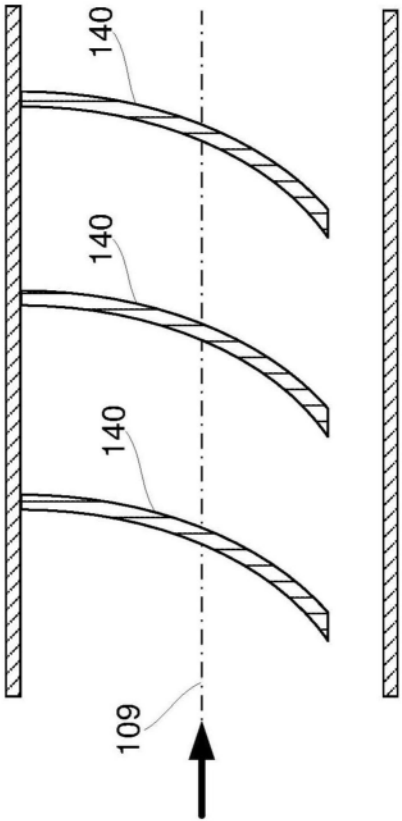


图2J

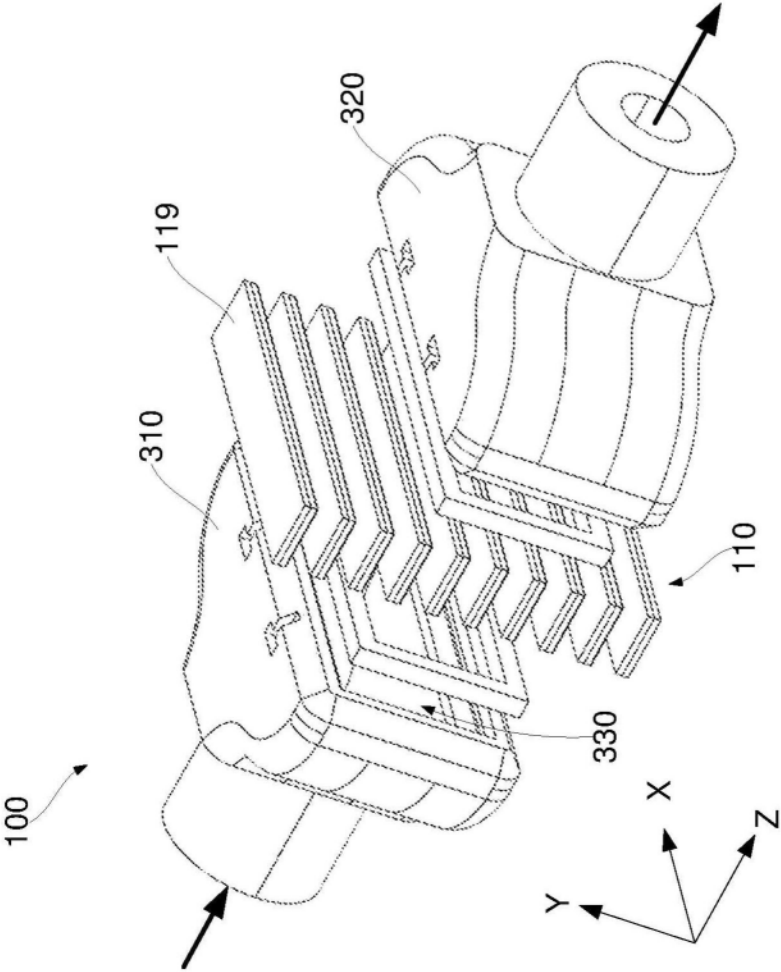


图3A

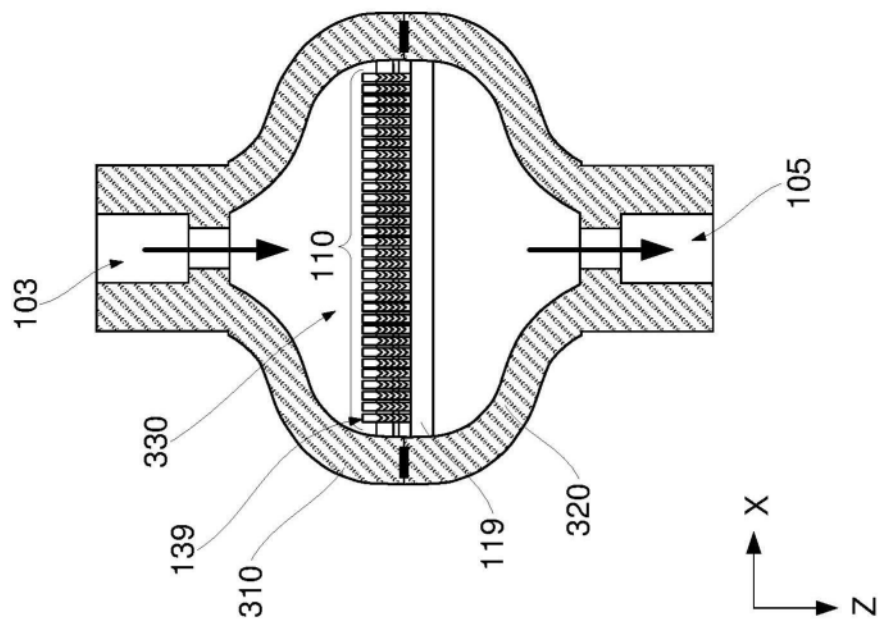


图3B

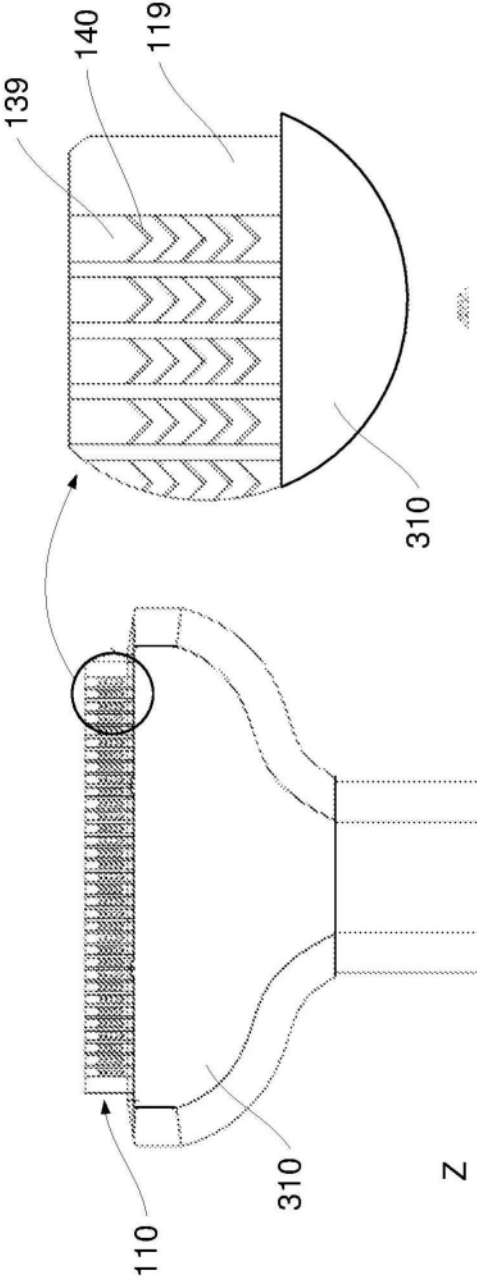


图 3D

图 3C

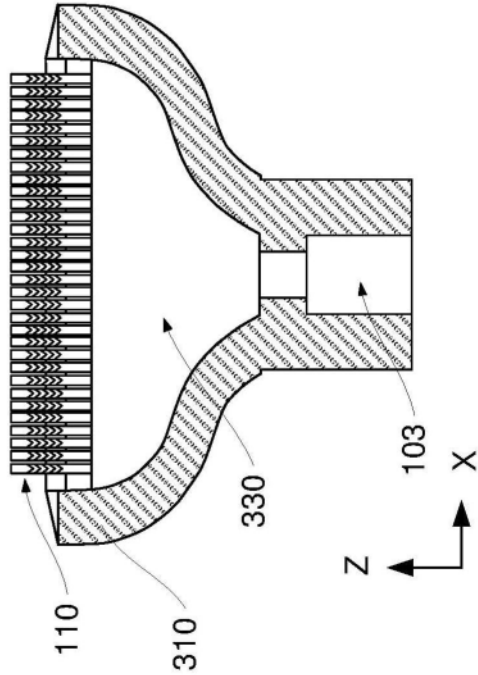


图3E

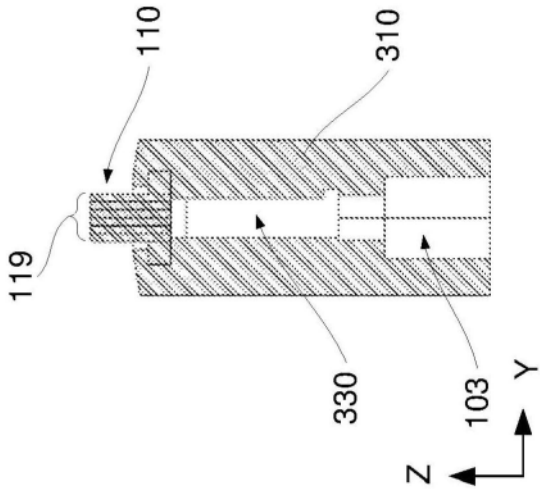


图3F

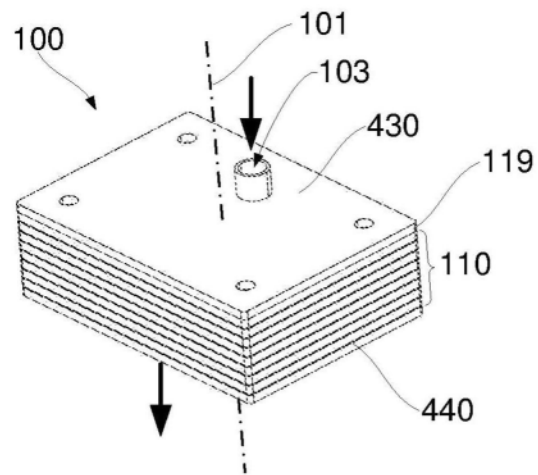


图4A

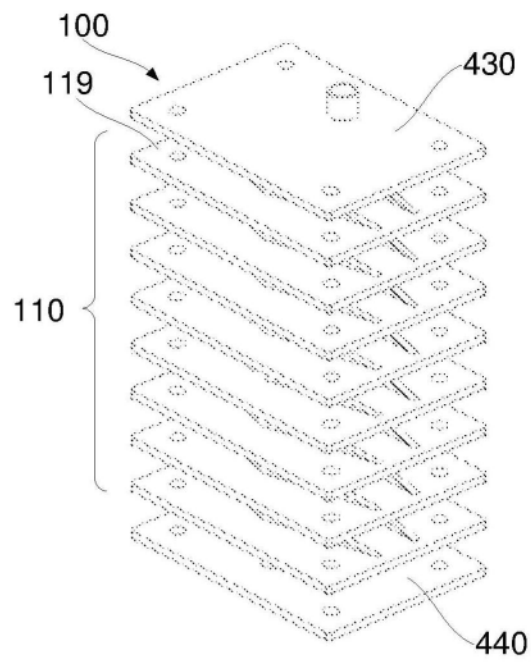


图4B

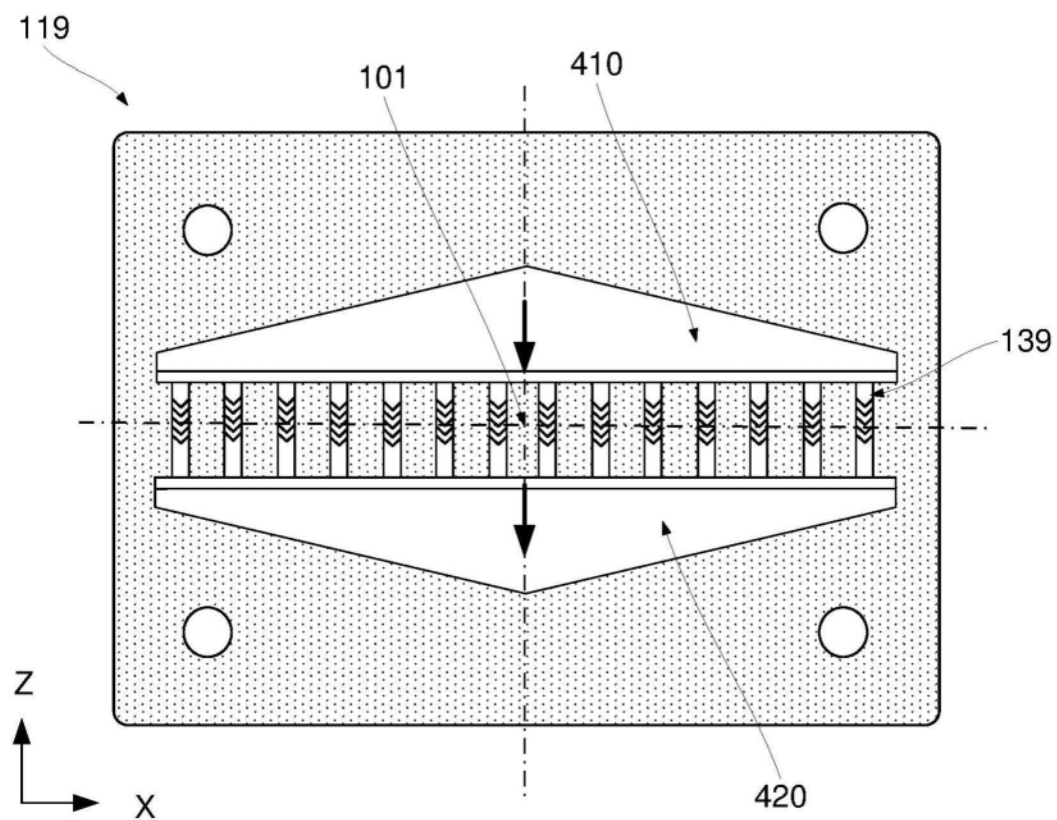


图4C

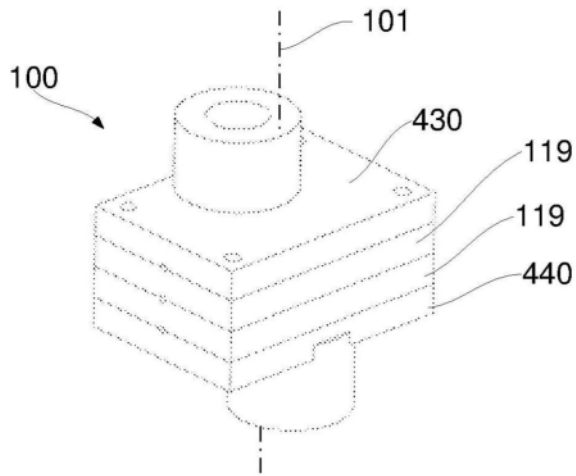


图 4D

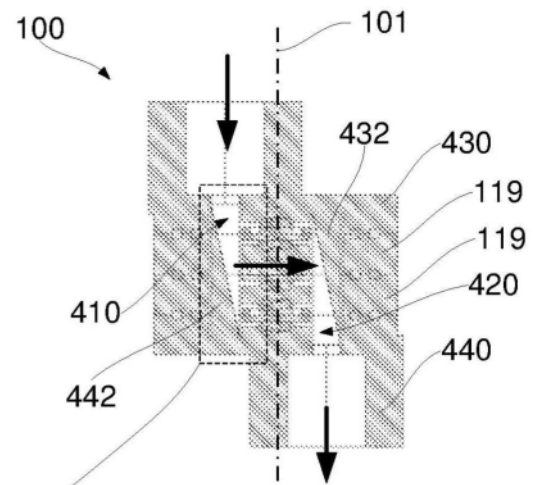


图 4E

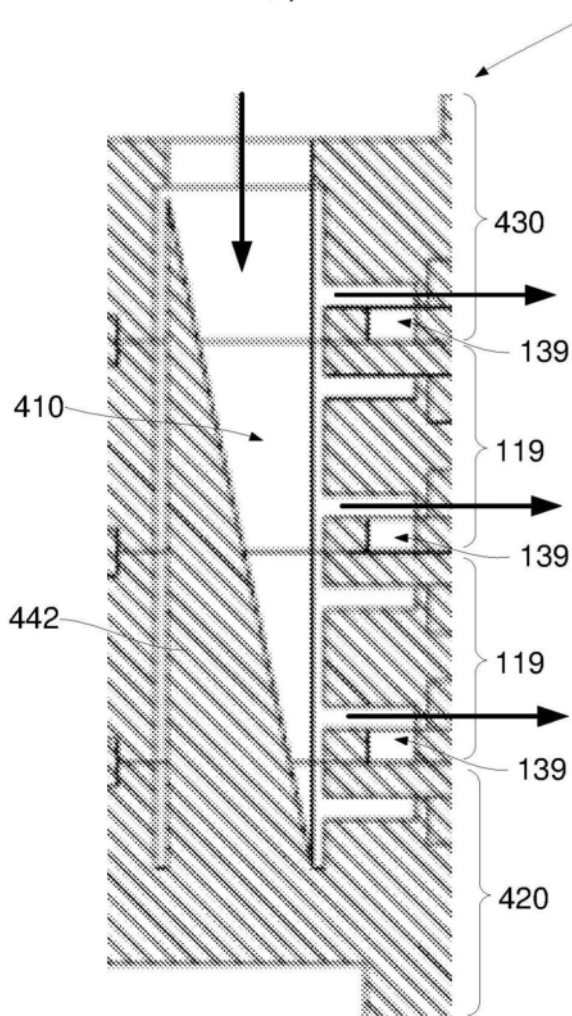


图 4G

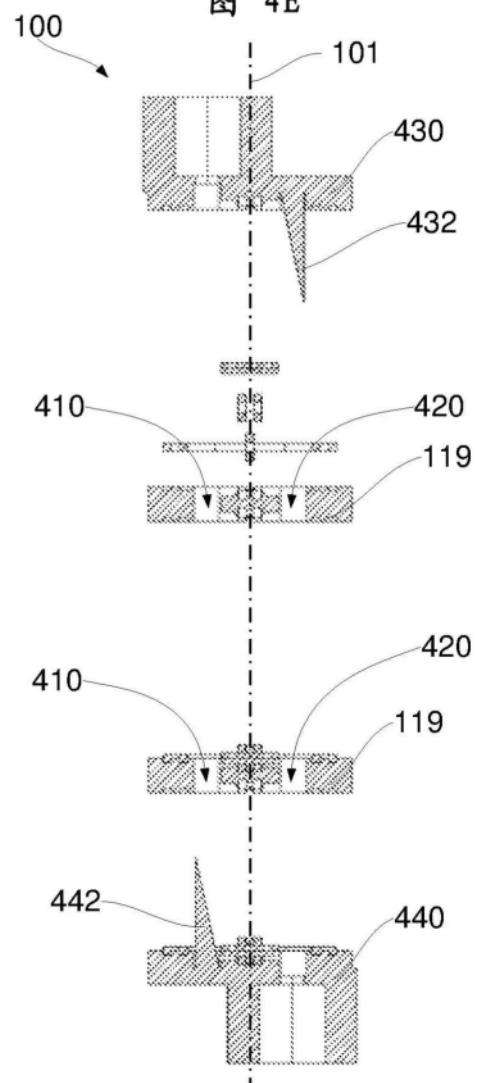


图 4F

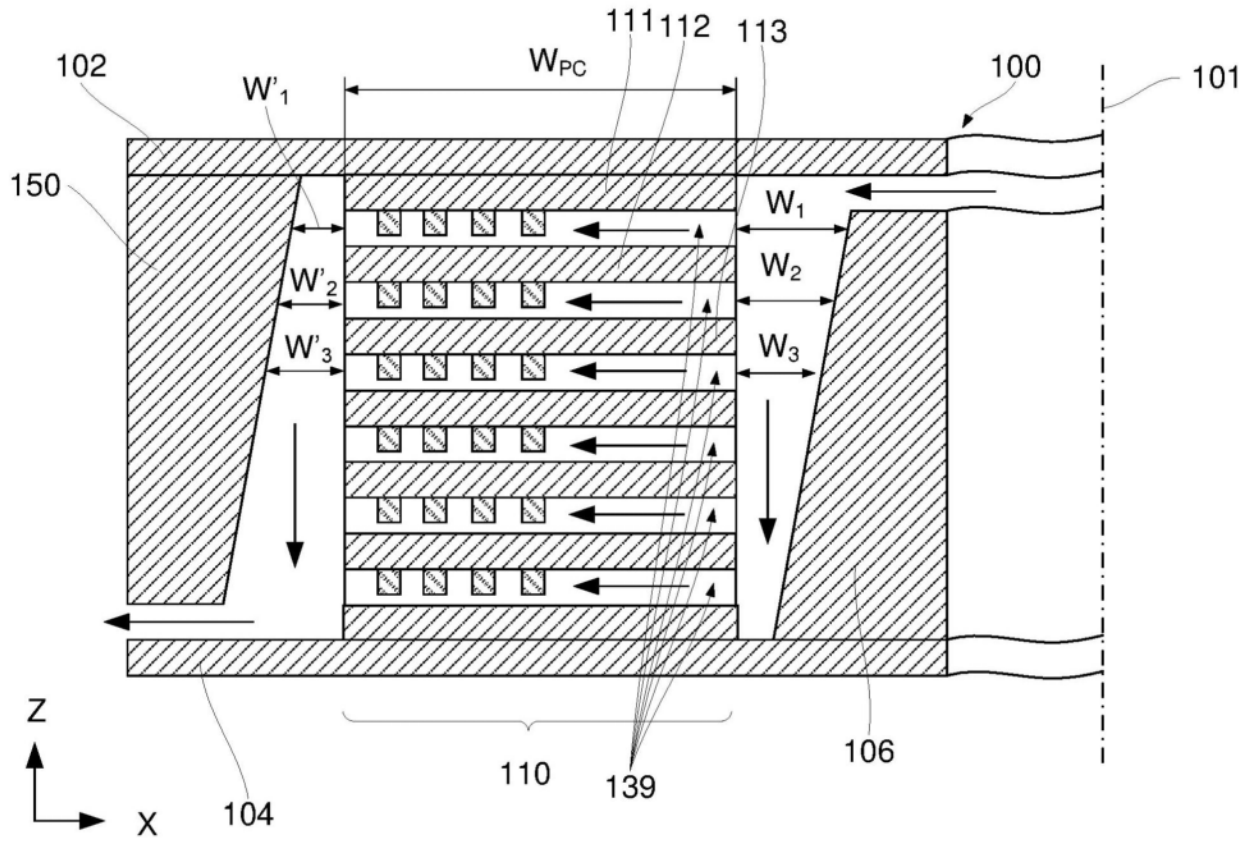


图4H

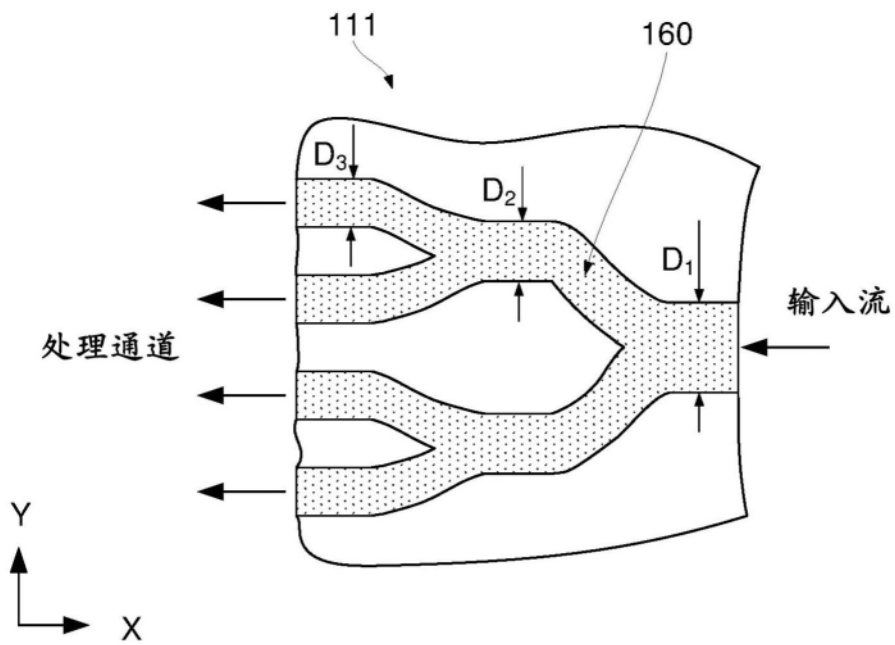


图5A

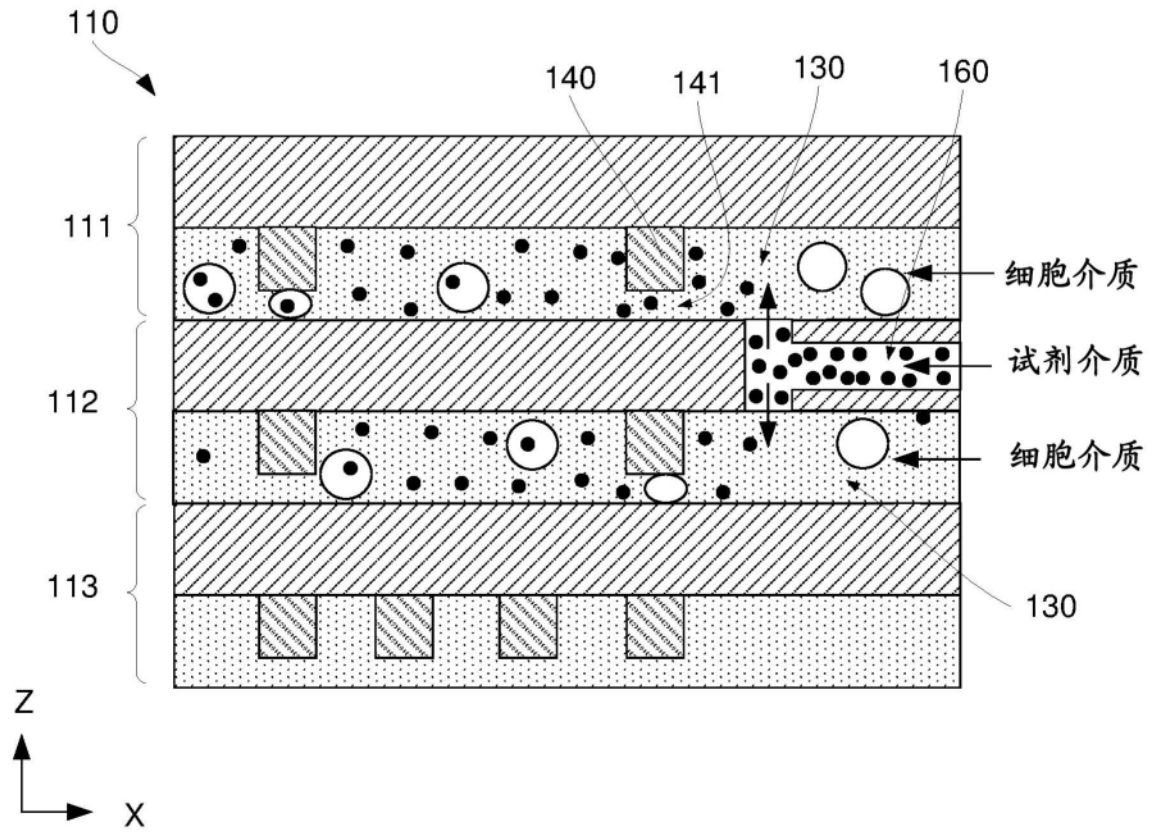


图5B

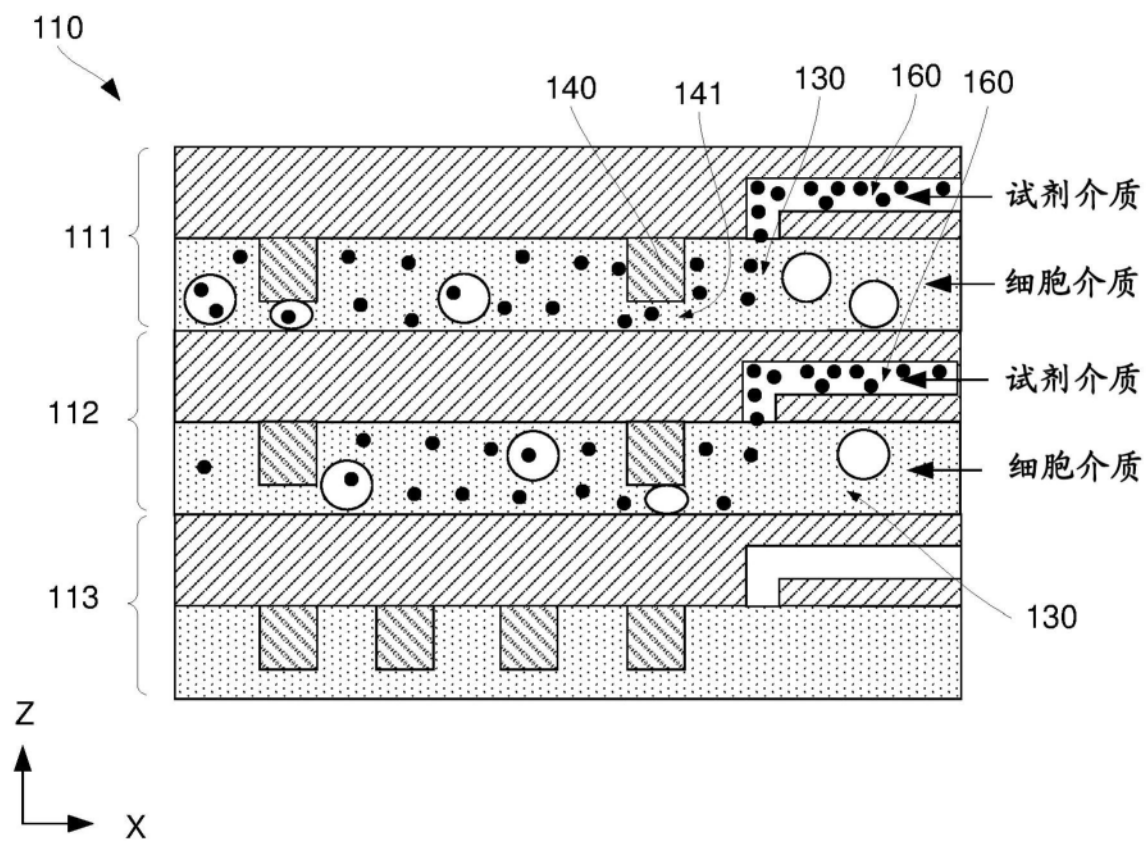


图5C

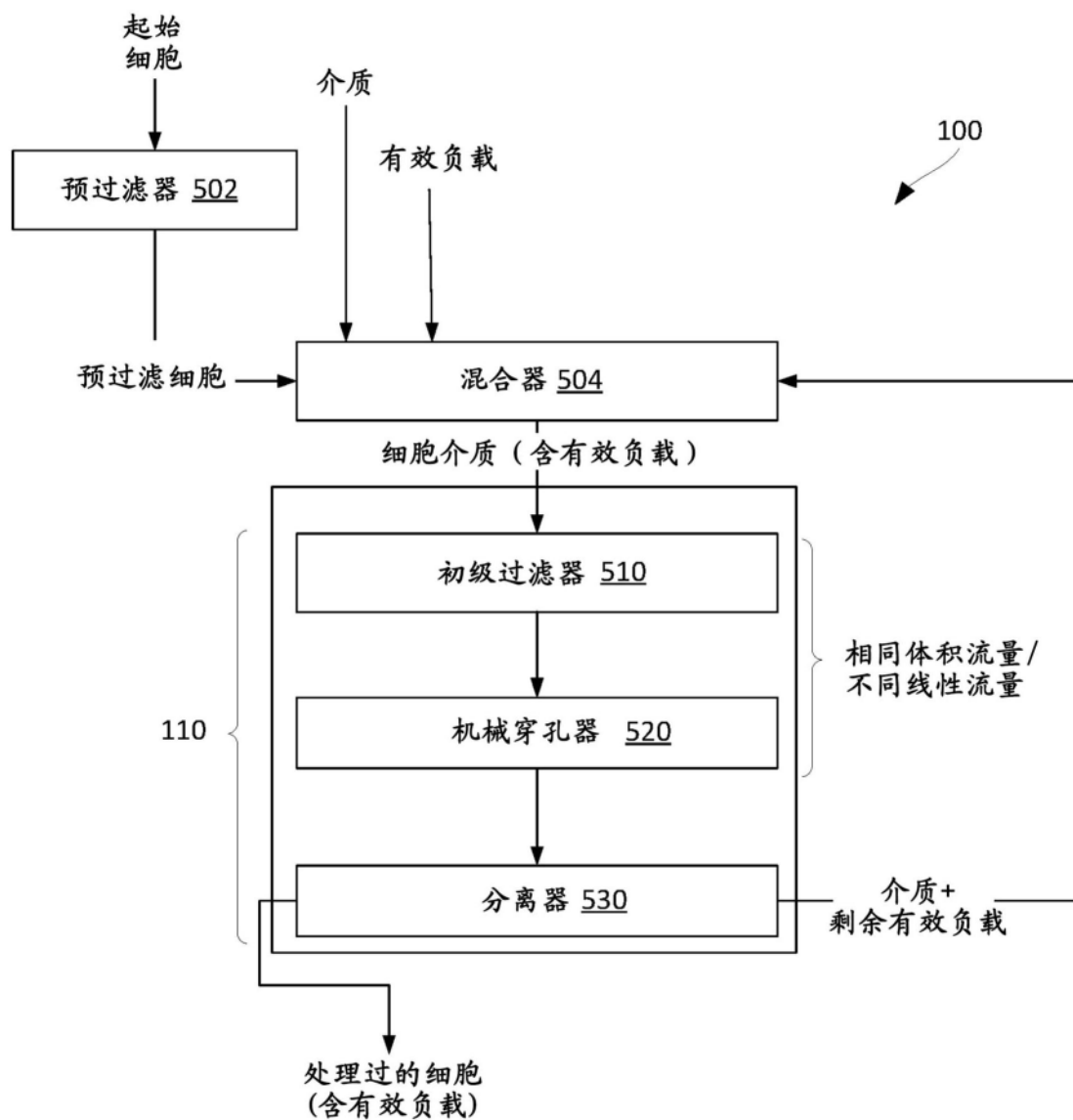


图6A

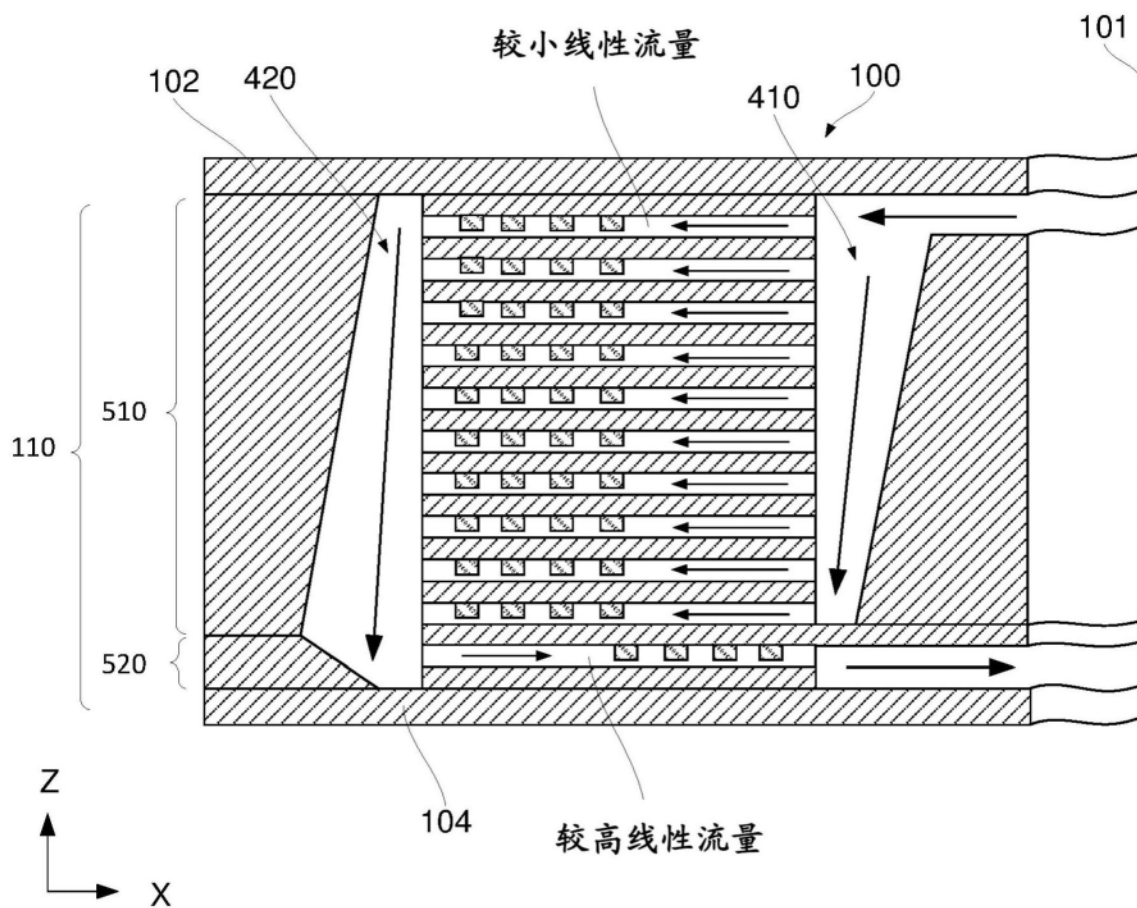


图6B

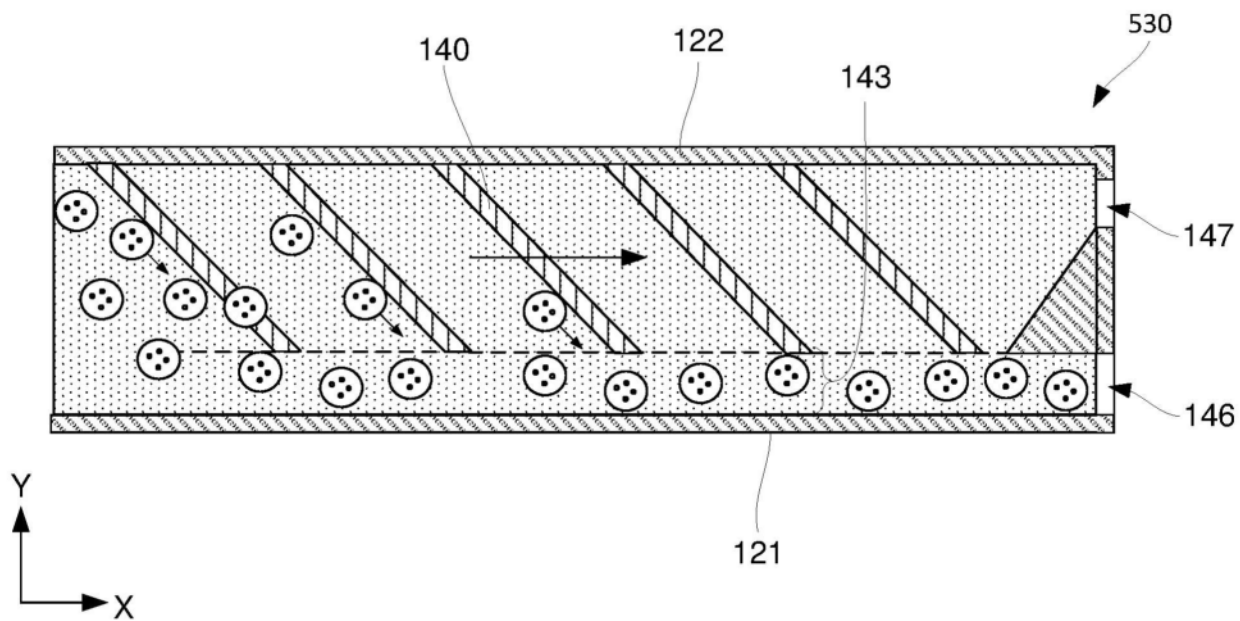


图6C

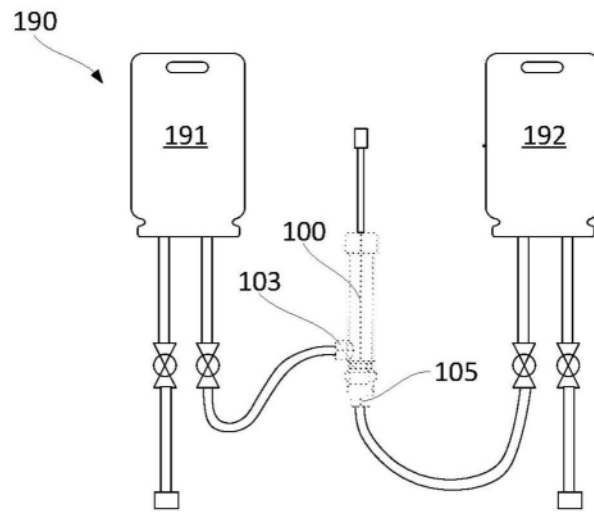


图7A

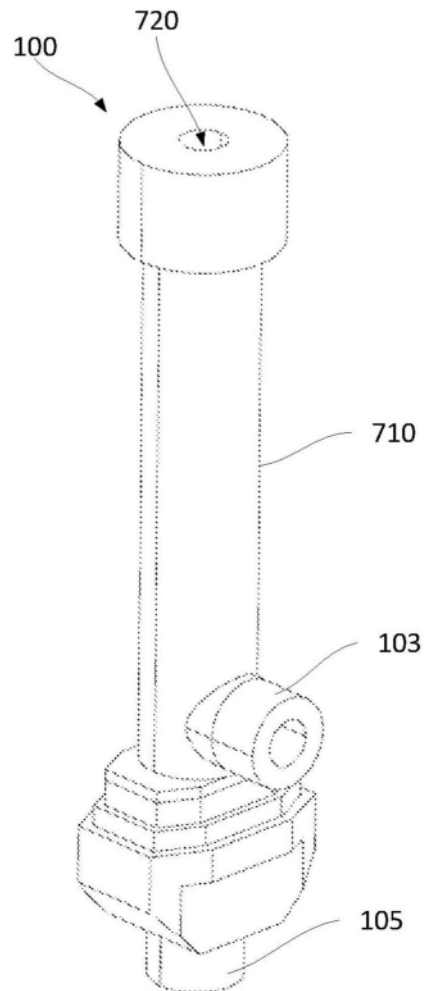


图7B

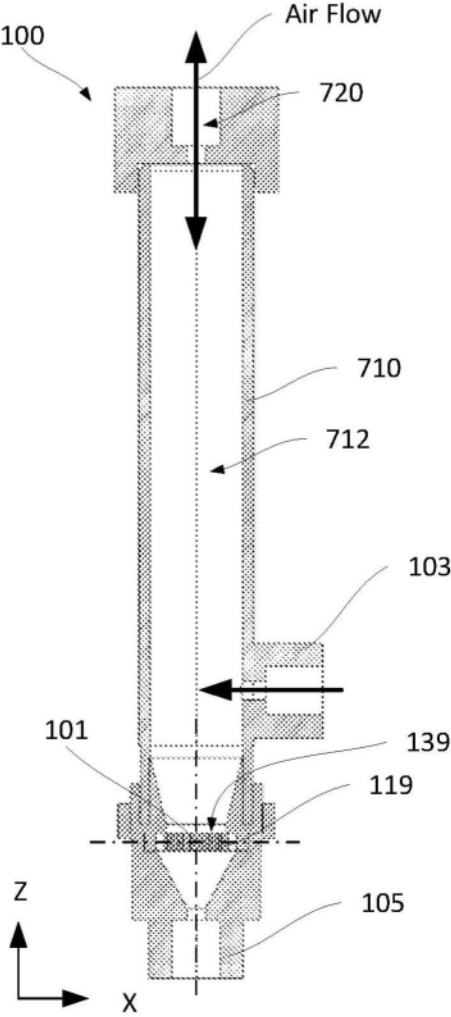


图7C

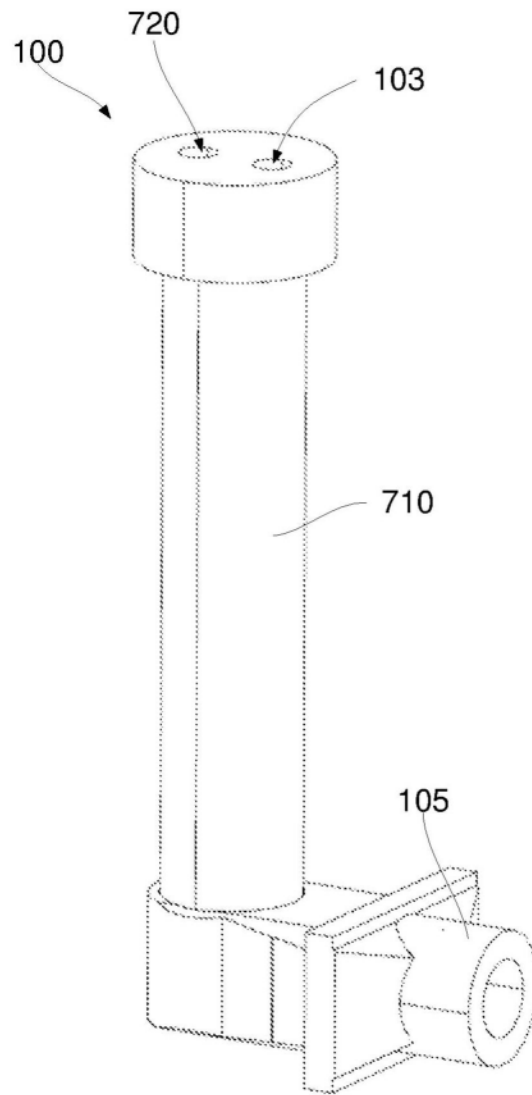


图7D

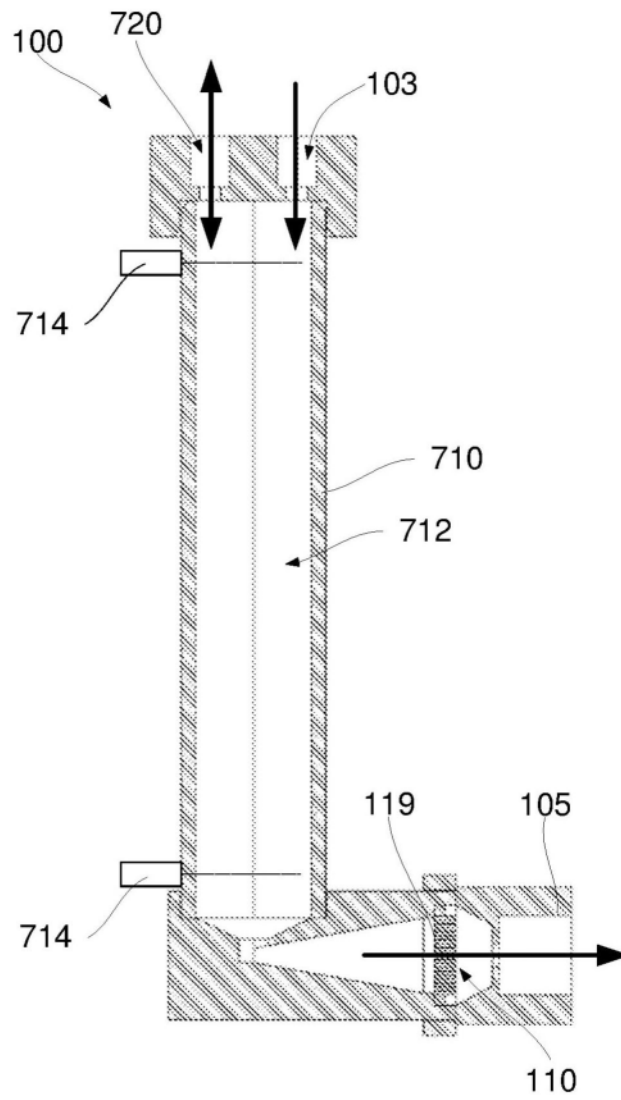


图7E

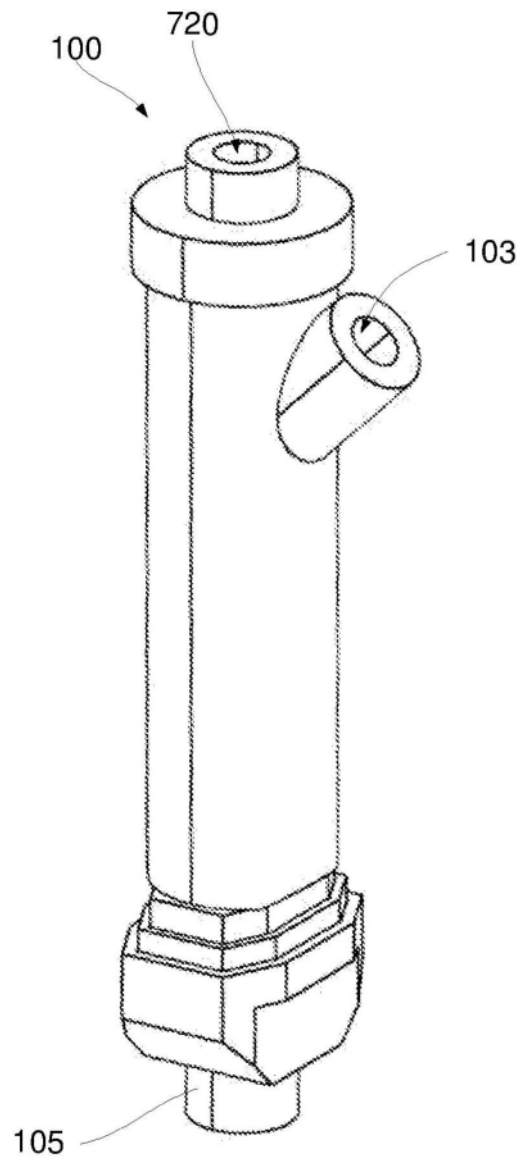


图8A

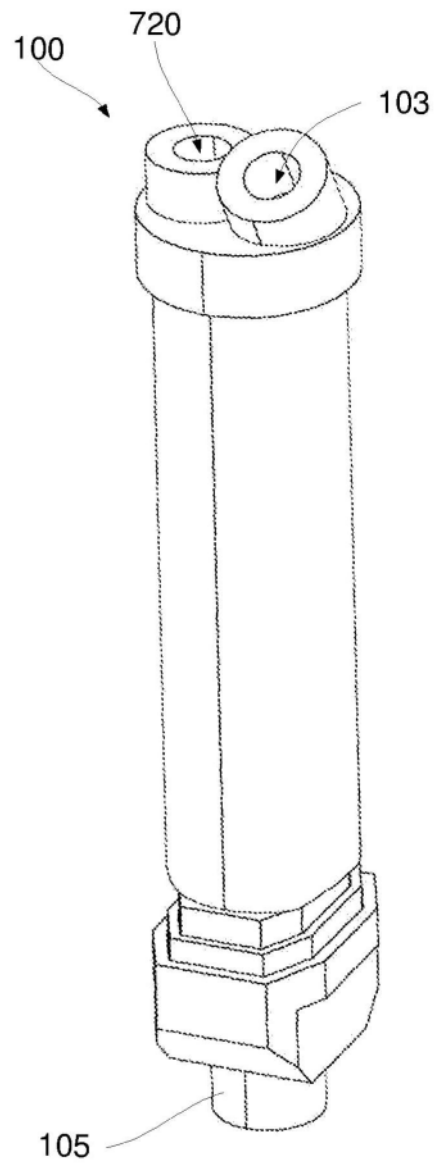


图8B

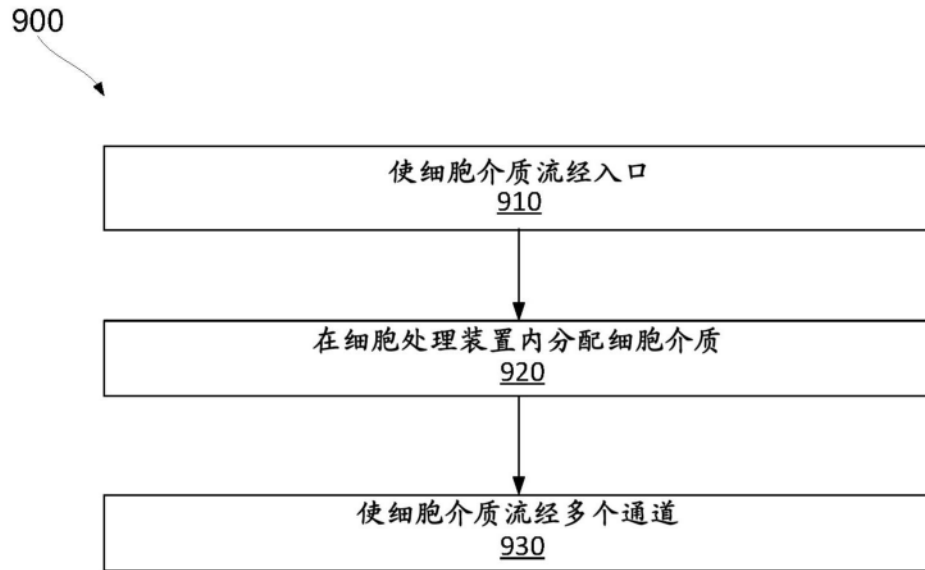


图9