



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115993462 A

(43) 申请公布日 2023. 04. 21

(21) 申请号 202211662126.6

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2017.06.07

G01N 35/00 (2006.01)

(30) 优先权数据

G01N 1/28 (2006.01)

62/347,290 2016.06.08 US

G01N 1/34 (2006.01)

B01L 3/00 (2006.01)

(62) 分案原申请数据

201780047636.3 2017.06.07

(71) 申请人 加利福尼亚大学董事会

地址 美国加利福尼亚

(72) 发明人 阿梅德·措比 贾斯汀·斯托夫纳

胡戈·萨拉斯 大卫·杜阿尔特

耶雷德·豪恩 阿兰·威奇罗

德雷克·班亚德

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限

责任公司 11240

专利代理师 张晓影

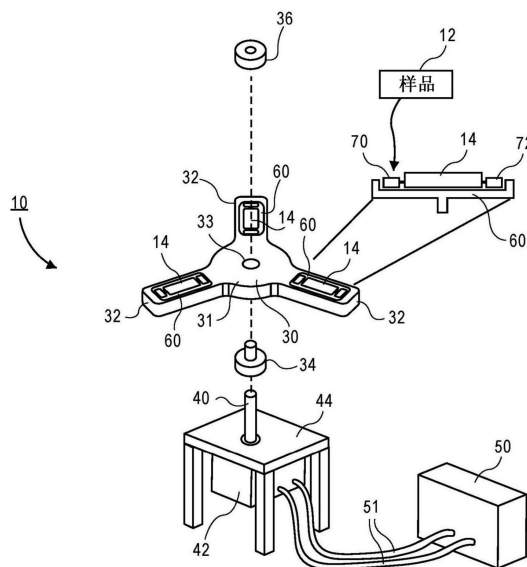
权利要求书3页 说明书26页 附图27页

(54) 发明名称

用于处理组织和细胞的方法和装置

(57) 摘要

本文提供了用于处理组织和细胞的方法和装置。其在一些实施方式中包括使用马达驱动的旋转卡盘使安装在支撑板上的一个或多个微流体芯片旋转。通过使一个或多个微流体芯片以受控方式围绕公共的旋转中心旋转，以受控方式将高流速(和高剪切力)赋予样品。每个微流体芯片可以在支撑板上旋转180使得样品可以来回通过微流体装置。因为支撑板可以相对高的RPM驱动，因此在微流体芯片内产生高流速。这增加了样品上的剪切力并且还减少了所涉及的处理时间，因为样品可以快速通过一个或多个微流体芯片的剪切诱导器件。



1. 一种用于处理生物样品的系统,包括:
 - 马达,具有驱动轴;
 - 支撑板,所述支撑板包括:
 - 接收元件,所述接收元件与所述马达的所述驱动轴可逆地相互作用;
 - 多个臂,从所述支撑板径向延伸,每个臂包括通孔,所述通孔与多个托架中的一个可逆地相互作用;
 - 多个托架,所述多个托架中的每一个包括第一端、第二端以及在所述第一端与所述第二端之间延伸的基部,以及接收区域,所述接收区域配置为与微流体芯片可逆地相互作用,所述微流体芯片配置为允许样品在所述微流体芯片内双向流动,其中所述多个托架中的每个包括从所述基部正交延伸的柱并且尺寸定为通过所述通孔并且突出超过各个臂的下表面;以及
 - 其中所述多个托架中的每一个至少间歇地可旋转180度的弧度并且其中所述多个托架中的每一个从所述支撑板的各个臂是可移动的。
2. 根据权利要求1所述的系统,其中所述多个托架中的每一个的旋转与所述支撑板是平面内或平面外的。
3. 根据权利要求1所述的系统,还包括多个微流体芯片,每个微流体芯片包括:
 - 位于第一样品室与第二样品室之间的中心主体部分,
 - 所述中心主体部分包括第一端与第二端之间延伸的至少一个微流体通道,至少一个微流体通道包括不同的尺寸并且配置为允许样品从第一室到第二室以及然后从第二室到第一室的重复双向流动。
4. 根据权利要求3所述的系统,其中,所述托架的旋转允许双向流动。
5. 根据权利要求3所述的系统,其中,每个微流体芯片在所述第一端和所述第二端中的每一个上可逆地流体连接到相应的样品室。
6. 根据权利要求5所述的系统,其中,每个样品室经由衔接件可逆地流体连接到所述微流体芯片。
7. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述多个托架中的每一个在所述托架的第一端和第二端的每一个上包括捕获元件,所述捕获元件配置为与所述支撑板上的释放元件连通,其中所述捕获元件与释放元件之间的连通允许所述多个托架中的每一个的间歇旋转。
8. 根据权利要求7所述的系统,其中,所述捕获元件包括第一极性的磁体,并且所述释放元件包括相反极性的磁体。
9. 根据权利要求1至8中任一项所述的系统,其中,所述支撑板和所述多个臂是整体结构。
10. 一种用于处理样品的系统,包括:
 - 支撑板,包括多个臂,其中所述多个臂中的每一个从所述支撑板径向延伸,每个臂包括延伸通过其的通孔;
 - 其中所述支撑板配置为离心旋转;
 - 多个托架,
 - 其中所述多个托架中的每一个布置在所述支撑板上的所述多个臂中的相应一个上,所述多个托架中的每一个包括从基部正交延伸的柱并且尺寸定为通过所述通孔并且突出超

过各个臂的下表面，

其中所述多个托架中的每一个配置为接收微流体芯片、第一样品室和第二样品室，其中所述微流体芯片流体连接到第一样品室和第二样品室并且包括在第一室和第二室之间延伸的至少一个微流体通道，所述至少一个微流体通道包括不同的尺寸，其中所述微流体芯片与所述第一样品室和第二样品室之间的各个流体连接允许样品通过至少一个微流体通道的双向流动，并且

其中所述多个托架中的每一个至少间歇地可旋转180度的弧度并且其中所述多个托架中的每一个从所述支撑板的各个臂是可移动的。

11. 根据权利要求10所述的系统，其中，所述第一样品室和第二样品室中的至少一个配置为从所述微流体芯片是可移动的。

12. 根据权利要求10所述的系统，其中，所述第一样品室和第二样品室中的至少一个包括通气口和通气通道，所述通气通道流体连接到所述样品室的内部，其中所述通气口配置为提供通过所述样品室的样品的层流。

13. 根据权利要求10至12中任一项所述的系统，其中，所述多个臂中的每一个还包括第一接合结构和第二接合结构，

其中所述第一接合结构位于距所述第二接合结构一定距离处，并且

其中所述第一接合结构和所述第二接合结构各自配置为与位于所述托架的第一端上的第一结构和位于所述托架的第二端上的第二结构中的一个接合。

14. 根据权利要求13所述的系统，其中，所述第一接合结构和所述第二接合结构配置为可互换地释放和接合所述第一结构和所述第二结构，使得所述托架配置为在关于多个轴之一的多个方向之间移动。

15. 根据权利要求13所述的系统，其中，所述第一接合结构和所述第二接合结构是磁体，并且所述第一结构和所述第二结构包括磁响应材料。

16. 一种用于处理样品的系统，包括：

多个臂，其中所述多个臂中的每一个从中心区域径向延伸，所述中心区域与马达的驱动轴可逆地相互作用；以及

多个托架，

其中所述多个托架中的每一个布置在所述多个臂中的相应一个上，并且所述多个托架中的每一个包括第一端、第二端以及在所述第一端与所述第二端之间延伸的基部，

其中所述多个托架中的每一个配置为可逆地接收多个微流体芯片中的相应一个，所述微流体芯片包括在所述微流体芯片的第一端和第二端之间延伸的至少一个微流体通道，

其中所述多个臂中的每一个包括相互作用区域，所述相互作用区域包括通孔，所述通孔接收从布置在每个臂上的相应的托架的基部延伸并延伸超过各个臂的下表面的柱，并且

其中所述多个托架中的每一个是围绕所述柱间歇可旋转的，从而允许样品在所述微流体芯片的第一端和第二端之间的双向流动，并且其中所述多个托架中的每一个从各个臂是可移动的。

17. 根据权利要求16所述的系统，其中，每个托架包括齿轮组件，所述齿轮组件配置为使所述托架围绕所述柱旋转。

18. 根据权利要求16所述的系统，其中，每个托架包括向心棘轮，所述向心棘轮配置为

使所述托架围绕所述柱旋转。

19. 根据权利要求16至18中任一项所述的系统,其中,多个微流体芯片中的每一个可逆地流体连接到位于所述微流体芯片的第一端和第二端中的每一个上的相应第一样品室和第二样品室。

用于处理组织和细胞的方法和装置

[0001] 本申请是申请日为2017年6月7日、发明名称为“用于处理组织和细胞的方法和装置”的中国专利申请号201780047636.3的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求于2016年6月8日提交的美国临时专利申请第62/347,290号的优先权，其通过引证整体并入本文。根据35U.S.C.§119和任何其它适用法规要求保护优先权。

技术领域

[0004] 技术领域总体上涉及用于将剪切应力施加到活细胞和/或组织、试剂、颗粒和流体的装置和方法。具体地，技术领域涉及利用旋转力结合用于将剪切应力施加到活细胞和/或组织、试剂、颗粒和流体的基于微流体的装置。

背景技术

[0005] 使用各种技术和程序来处理组织。在一些应用中，将化学物质或酶添加到组织中以将较大的组织团块或聚集体破碎成更小和更小的片。例如，消化酶如胶原酶、胰蛋白酶或分散酶用于消化组织，如脂肪组织。这种酶促处理通常涉及洗涤，然后酶促降解和离心。由于消化酶的不同活性水平，该酶促方法可能遭受可变性。此外，这些方法需要增加试剂的成本，包括源自细菌的昂贵的酶，并且需要相当长的时间完成，以及需要额外的处理和/或洗涤步骤以使酶污染的影响最小化。

[0006] 还开发了非酶促方法来处理组织，包括脂肪组织。例如，已经提出了超声空化用于从脂肪组织中分离基质血管部分。参见每个专利第8,440,440号，其通过引证整体并入本文。其它方法涉及使用珠来均化脂肪组织，如国际专利公开号W02014-036094中公开的方法，其通过引证整体并入本文。美国专利第9,580,678号(其通过引证整体并入本文)公开了一种微流体肿瘤解离装置，其使用多个串联布置的通道或级，具有用于破碎肿瘤组织的扩张和收缩区域。注射泵用于使肿瘤组织来回通过微流体装置。

[0007] 对组织如脂肪组织的处理对整形外科重建外科手术领域特别重要，其中脂肪组织从一个位置转移到另一个位置以填充软组织缺陷(即，脂肪移植术)。细胞辅助脂肪移植术(CAL)是一种涉及向脂肪移植物添加基质血管部分(SVF)并且导致脂肪移植物保留的显著改善的技术。通常，使用酶胶原酶通过短消化步骤从脂肪组织收获SVF。最近，开发了一种称为‘纳米脂移植’的技术，其中标准的脂肪组织提取物通过使其手动地在两个连接的注射器之间充分通过然后在人类患者体内重新注射均质的脂肪组织提取物以校正表面皱纹和色素沉着而均质化。还发现纳米脂肪处理方法可以用作机械解离SVF同时对细胞施加应力以产生专能干细胞或甚至多能细胞群的手段。例如，已知纳米脂衍生的SVF具有更大比例的间充质干细胞(MSC)、脂肪间充质干细胞(ADSC)、内皮祖细胞(EPC)和Muse细胞。据推测，施加于细胞的应力量与胚胎干细胞样性质直接相关。

[0008] 例如，MSC可以用于治疗糖尿病性溃疡。目前对糖尿病足溃疡(如同种异体移植物)的治疗是昂贵的，并且由于患者可能的排斥反应可能无效。如果不对此类溃疡进行治疗，则

患者必须进行截肢,这继而会导致另外的健康并发症。治疗这些溃疡的一种创新解决方案是通过使用MSC来直接治疗这些溃疡。然而,获得此类细胞的当前方法是冗长的、复杂的,并且就细胞产量、数量和再现性而言产生可变结果。需要用于获得处理后组织的快速且成本有效的方法。

发明内容

[0009] 鉴于对于以有效、高效和可再现的方式处理组织的装置、系统和方法的需要,本文提供了这种装置、方法和系统的各种实施方式,以及其在开发、生产或以其它方式制备用于治疗受试者或向受试者给予的细胞中的用途。

[0010] 在若干实施方式中,提供了一种用于处理生物样品的系统,其包括:支撑板,包括中心部,包括接收元件;侧部,包括多个相互作用区域,每个相互作用区域配置为与多个托架可逆地相互作用;多个托架,其中多个托架中的每个配置为可操作地连接到支撑板的侧部。

[0011] 在若干实施方式中,接收元件配置为与马达的驱动轴可逆地相互作用,马达配置为向支撑板施加离心运动。在一个实施方式中,中心部处于垂直于马达的驱动轴的旋转轴的平面中,并且侧部从中心部径向延伸并且至少部分处于与中心部的平面平行的平面内。

[0012] 在若干实施方式中,多个托架中的每一个包括第一端和第二端以及在第一端与第二端之间延伸的基部,以及接收区域,其配置为与微流体芯片可逆地相互作用,微流体芯片流体连接到至少一个样品室,样品室配置为接收用于处理的样品。在若干实施方式中,多个托架中的每一个包括柱、杆、轴或其它延伸件,其从基部基本上正交地延伸并且配置为与侧部的多个相互作用区域之一相互作用(例如,连接、附接或以其它方式与其相互作用)。在若干实施方式中,多个托架中的每一个关于多个轴之一共轴定位,其中在操作期间,每个轴基本上平行于马达的驱动轴的旋转轴延伸,并且其中多个托架中的每一个可至少间歇地围绕多个轴之一旋转。取决于实施方式,托架可以旋转到至不同的角度。例如,在若干实施方式中,托架被诱导为旋转过约180度的弧度。

[0013] 在若干实施方式中,系统还包括至少一个微流体芯片,其用于根据系统保持并处理样品。在若干实施方式中,每个微流体芯片包括中心主体部分,其位于第一端与第二端之间,以及至少一个微流体通道,其在第一端与第二端之间延伸,至少一个通道包括不同尺寸并且配置为允许样品从第一端传递到第二端。在若干实施方式中,第一端和第二端中的每一个配置为与样品室流体相互作用。为了便于使用,每个单独的微流体芯片的尺寸为配合在相应托架上的相应接收区域内。在若干实施方式中,每个微流体芯片在第一端和第二端中的每一个上可逆地流体连接到样品室。

[0014] 可选地,一些实施方式包括样品室,其包括通气口和通气通道,通气通道流体连接到样品室的内部。在若干实施方式中,每个样品室经由衔接件可逆地流体连接到微流体芯片。

[0015] 在若干实施方式中,每个托架包括在托架的第一和第二端上的捕获元件,捕获元件配置为与支撑板的侧部上的释放元件连通,其中捕获元件与释放元件之间的连通允许多个托架中的每一个的间歇旋转。换句话说,捕获元件用于将托架保持在期望的位置,直到存在允许捕获元件脱离或以其它方式停止与释放元件相互作用的信号(或力、或力的缺失)为

止,这依次允许托架旋转,随后捕获元件重新接合以便使托架停止运动(在若干实施方式中,这允许托架在组织处理流程中在期望的时间旋转180度的弧度)。在若干实施方式中,捕获元件包括第一极性的磁体,而释放元件包括相反极性的磁体。

[0016] 在若干实施方式中,支撑板的侧部包括盘,相互作用区域围绕盘周向地间隔开。在一些此类实施方式中,侧部和中心部是整体结构,但是在其它实施方式中,支撑板包括在使用之前连接或集成的多件。

[0017] 在若干实施方式中,支撑板的侧部包括多个臂,每个臂包括相应的相互作用区域。在一个实施方式中,臂和中心部是统一结构。在另外的实施方式中,臂和中心部是连接在一起的单独结构。在一些实施方式中,臂相对于中心部铰接。在一些此类实施方式中,铰链允许臂在操作期间移动到与马达的驱动轴的旋转轴基本上平行的轴的平面中。在若干实施方式中,这允许温和的启动和停止过程,使得急剧施加或移除离心力不会破坏细胞/组织样品。

[0018] 在若干实施方式中,侧部的相互作用区域包括通孔,其从相应的托架接收柱(或其它结构)。在若干实施方式中,接收区域位于托架的基部的上表面上。在若干实施方式中,柱从托架的基部的底表面延伸。在此类实施方式中,柱(或其它结构)从托架的底部延伸并通过侧部(例如,臂)的通孔(接收区域)并且例如通过螺母、销、夹具或其它这样的机构固定(尽管允许相对于侧部旋转)。在若干实施方式中,托架中的每一个的间歇旋转通过位于侧部上的齿轮与引发每个托架的旋转的固定齿的相互作用实现。

[0019] 在若干实施方式中,侧部包括至少三个臂,三个臂中的每一个包括相互作用区域,其配置为与包括第一端和第二端的至少三个托架之一相互作用,托架中的每一个配置为与至少三个微流体芯片之一可逆地相互作用,每个芯片包括第一端、第二端和其间的主体,微流体芯片的每一端流体连接到样品室,并且芯片的主体包括在第一端与第二端之间延伸的多个微流体通道,并且其中托架配置为在第一位置与第二位置之间间歇地旋转,在第一位置中,第一端位于距中心部的接收元件第一距离的第一位置处,在第二位置中,第一端位于距中心部的接收元件第二距离的第二位置处,其中第一距离大于第二距离。

[0020] 取决于实施方式,系统可以可选地包括外壳,其中外壳将系统与外部环境分离。

[0021] 取决于实施方式,系统可选地还包括可操作地连接到驱动轴的马达。在若干实施方式中,马达由允许控制马达的转速的控制器单元控制,控制器单元包括允许用户对协议编程(或从预编程的协议中选择)以处理组织的界面。

[0022] 本文还提供了用于处理生物样品的方法。例如,在若干实施方式中,提供了一种处理生物样品的方法,包括将生物样品装载到第一样品室中,第一样品室配置为流体连接到微流体芯片,芯片包括中心主体部分,其位于第一端与第二端之间,第一端配置为流体连接到第一样品室,而第二端与第二样品室流体连接,至少一个微流体通道,其在第一端与第二端之间延伸,至少一个通道包括不同尺寸并且配置为允许样品从第一端传递到第二端,将微流体芯片与作为离心装置的一部分的多个托架中的一个的接收区域可逆地连接,离心装置包括支撑板,其包括中心部和侧部,侧部从中心部径向延伸并且处于与中心部的平面平行的平面内,托架中的每一个可操作地连接到支撑板的侧部并且包括第一端、第二端和在第一端与第二端之间延伸的基部,基部包括接收区域,托架中的每一个配置为可围绕基本上垂直于中心部的平面的轴旋转,其中托架在第一位置开始并且可旋转到第二位置,在第

一位置中,第一端位于距支撑板的中心部的第一距离,在第二位置中,第二端定位为使得第二端位于距支撑板的中心部的第一距离,以及向离心装置施加旋转力,由此使样品从连接到微流体芯片的第一端的第一样品室通过在第一端与第二端之间延伸的至少一个微流体通道并进入第二样品室;允许托架在第一位置与第二位置之间旋转;以及施加附加的旋转力以使样品从第二样品室通过在第二端与第一端之间延伸的至少一个微流体通道并返回第一样品室。在若干实施方式中,生物样品包括脂肪组织,尽管可以使用本文公开的系统和方法来处理其它组织类型。例如,可以容易地处理脂肪组织、肿瘤组织、细胞制剂、脂肪组织提取物、培养细胞等。

[0023] 在若干实施方式中还提供了一种用于处理样品的系统,包括马达,其连接到垂直方向的可旋转卡盘;支撑板,其包含围绕支撑板径向定位的多个可旋转托架,其中支撑板安装在可旋转卡盘上或固定到可旋转卡盘;以及至少一个微流体芯片,其设置在可旋转托架中的一个上,至少一个微流体芯片限定流体路径,流体路径由设置在其中的一个或多个微流体通道形成并且在微流体芯片的第一端口与位于微流控芯片的相对端处的第二端口之间延伸。

[0024] 在若干实施方式中,这样的系统还可以包括设置在可旋转托架中的第一样品保持室和第二样品保持室,第一样品保持室经由第一端口流体连接到至少一个微流体芯片,且第二样品保持室经由第二端口流体连接到至少一个微流体芯片。在若干实施方式中,第一样品保持室和第二样品保持室经由插在第一端口与第一样品保持室以及第二端口与第二样品保持室之间的分别的衔接件流体连接至至少一个微流体芯片。在若干实施方式中,至少一个微流体芯片包括设置在至少一个微流体芯片中的第一样品保持室和第二样品保持室。

[0025] 在若干实施方式中,支撑板包括多个臂,并且其中多个臂中的每一个保持可旋转托架。在若干实施方式中,多个臂固定到单独的中心毂(hub)。在若干实施方式中,支撑板包括第一磁性元件,其设置在支撑板中或支撑板上并且邻近可旋转托架的一端设置,可旋转托架还包括设置在其中或其上的第二磁性元件。

[0026] 可替换地,在若干实施方式中,可旋转托架连接到齿轮组,齿轮组设置在安装至支撑板的齿轮组件中,其中齿轮组在齿轮组件的径向向外的部分上包括开式齿轮(暴露的齿轮,exposed gear)。在若干实施方式中,齿轮组件或支撑板还包括设置在其中的固定磁体,并且可旋转托架包含设置在其相对端处的一对磁性元件。

[0027] 在若干实施方式中,多个可旋转托架是在与支撑板的旋转平面基本上平行的平面中可旋转的。在若干实施方式中,多个可旋转托架是在与支撑板的旋转平面基本上正交的平面中可旋转的。

[0028] 在若干实施方式中,系统还包括电磁体,其设置在支撑板中在多个可旋转托架中的每一个的下方,其中可旋转托架包括延伸通过形成在支撑板中的通孔的磁性柱元件。

[0029] 在若干实施方式中,微流体芯片具有流体路径,其包括由一对锥形区域形成的微流体通道,锥形区域在流体路径的中心区域中连接在狭窄的收缩部中。在若干实施方式中,锥形区域包括连续锥形区域。在一个实施方式中,锥形区域包括连续阶状区域。在另外的实施方式中,流体路径包括微流体通道,微流体通道具有沿着通道的长度显露的多个扩张和收缩区域。在若干实施方式中,多个扩张和收缩区域由微流体通道中的弯曲的壁限定。在若

干实施方式中,多个扩张和收缩区域由微流体通道中的成角度的壁限定。在若干实施方式中,流体路径包括微流体通道,微流体通道具有沿着微流体通道的长度设置的多个鳍形袋。在若干实施方式中,流体路径包括多个尺寸减小的分支通道,分支通道与多个尺寸增大的分支通道重新组合。在一个实施方式中,每个分支通道包括分支部。在附加实施方式中,每个分支部包括尖锐的边缘。

[0030] 在若干实施方式中,第一样品保持室和第二样品保持室中的至少一个包括注射器筒,例如标准的2mL、5mL、10mL、20mL或60mL注射器筒。在若干实施方式中,另外包括插在至少一个微流体芯片与第一样品保持室或第二样品保持室中的一个之间的过滤器。在一些实施方式中,过滤器位于微流体芯片上游或之前并且配置为过滤样品以防止堵塞微流体芯片。在一些示例中,上游过滤器可以包括网,网配置为切割或微粉化组织或组织碎片以允许样品通过微流体芯片而不会堵塞。为了微流体芯片中的微流体剪切的目的,样品的切割或微粉化配置为产生宏观聚集体。在一些实施方式中,过滤器位于微流体芯片的下游或之后,以仅允许特定尺寸的样品离开装置以便收集。

[0031] 在若干实施方式中,系统还包括样品保持室和注射器,样品保持室设置在可旋转托架中并且连接到微流体芯片的第一端口,注射器连接到微流体芯片的第二端口,其中注射器通常垂直于微流体芯片的旋转平面安装。在若干实施方式中,本文公开的系统可以可选地包括垂直可动的板或环,其连接到注射器的柱塞。在若干实施方式中,垂直可动的板或环包括安装在可旋转螺纹杆上的内螺纹轴承。可选地,某些实施方式还包括连接到螺纹杆的第二马达。

[0032] 在一些实施方式中,系统具有第一样品保持室和第二样品保持室中的至少一个,其包括入口,入口具有设置在其中的单向阀。

[0033] 在若干实施方式中,提供了一种使用本文公开的系统的方法,包括使支撑板旋转以经由第一端口将样品移动到至少一个微流体芯片的一个或多个微流体通道中并移出第二端口;使包含至少一个微流体芯片的可旋转托架旋转大约 180° ;使支撑板旋转以经由第二端口将样品移动到一个或多个微流体通道中并移出第一端口;使包含至少一个微流体芯片的可旋转托架旋转大约 180° ;以及多次重复这些步骤直到将样品处理到期望的程度。

[0034] 在若干这样的方法中,样品在流体连接到第一端口的第一样品保持室与流体连接到第二端口的第二样品保持室之间移动。在若干实施方式中,第一样品保持室和第二样品保持室中的至少一个包括注射器筒。

[0035] 在若干实施方式中,样品包括肿瘤组织。在若干实施方式中,样品包括脂肪组织。在若干实施方式中,样品包括具有一种或多种试剂的流体。在若干实施方式中,样品包括颗粒(例如,纳米颗粒、磁性颗粒、涂覆有试剂或抗体的颗粒等)。在若干实施方式中,样品包括包含液体的细胞。

[0036] 在一些实施方式中,在处理组织后,本文公开的方法还包括将处理的组织(例如,脂肪组织)注射到受试者体内。

[0037] 补充上述系统、装置和方法,本文还提供了一种用于处理样品的系统,其包括支撑板,其包括多个臂,其中多个臂从支撑板径向延伸;马达,其连接到支撑板并且配置为使支撑板旋转;以及多个托架,其中多个托架中的每一个布置在支撑板上的多个臂中的一个上,其中多个托架中的每一个关于多个轴之一共轴定位,其中每个轴从上面布置有托架的臂垂

直地延伸,其中多个托架中的每一个配置为接收微流体芯片和用于接收用于处理的样品的至少一个样品室,其中至少一个样品室包括开口,开口流体连接到微流体芯片,并且其中多个托架中的每一个是围绕多个轴之一可旋转的。

[0038] 在若干实施方式中,系统还包括配置为驱动马达的控制器,其中控制器配置为调整马达的转速或每分钟转数(RPM)。在若干实施方式中,控制器是用预定的旋转程序或操作序列可调整或可编程的。在若干实施方式中,控制器配置(或可配置)为将马达的旋转速率渐升至RPM速率,使得样品配置为从微流体芯片的第一端流动到微流控芯片的第二端。在若干实施方式中,控制器配置为使马达的RPM加速或减速,使得多个托架中的每一个配置为围绕多个轴之一旋转。

[0039] 在若干实施方式中,多个托架中的每一个配置为围绕多个轴之一旋转180度。此外在若干实施方式中,多个托架中的每一个配置为接收第一样品室和第二样品室,其中第一样品室位于微流体室的第一端上,并且其中第二样品室位于微流体室的第二端上。

[0040] 一些实施方式包括至少一个样品室,其使用衔接件附接到微流体芯片的一端。衔接件可以包括鲁尔滑锁(Luer slip)、滑动头连接器(slip tip connector)、鲁尔旋锁(Luer lock)和旋转轴环(rotating collar)中的任何一个。取决于实施方式,并且还取决于微流体芯片是一次性的还是可重复使用的(例如,可以消毒),衔接件可以包括金属或聚合物材料。

[0041] 在若干实施方式中,支撑板放置在外罩内,外罩配置为保护用户免受处理样品中的系统的影响。外罩包括任何材料,如塑料材料或金属,材料的厚度设置为足以防止外罩因为降低真空压力、低温、热量变化或由支撑板的离心旋转产生的碎屑而穿透或破裂。在若干实施方式中,如果需要,外罩配置为打开和关闭以放置样品、移除样品或手动旋转一个或多个托架。在若干实施方式中,外罩是光学透明的并且配置为允许监测用于处理样品的系统的操作。

[0042] 在实施方式中,包括多个臂,在一些这样的实施方式中,多个臂中的每一个还包括第一接合结构;位于距第一接合结构的一定距离处的第二接合结构,其中第一接合结构和第二接合结构各自配置为与位于托架的第一端上的第一结构和位于托架的第二端上的第二结构中的一个接合。在若干这样的实施方式中,第一接合结构和第二接合结构配置为可互换地释放和接合第一结构和第二结构,使得托架配置为在关于多个轴之一的多个方向之间移动。

[0043] 在若干实施方式中,第一接合结构和第二接合结构是磁体,并且第一结构和第二结构包括磁响应材料。在若干实施方式中,第一接合结构和第二接合结构包括磁响应材料,并且第一结构和第二结构是磁体。在若干实施方式中,第一接合结构沿着多个臂中的每一个的长度位于第二接合结构远侧。为了使托架移动,在若干实施方式中,加速力或减速力配置为在多个方向之间移动托架。在若干实施方式中,托架包括齿轮组件,齿轮组件配置为在多个方向之间移动托架。在一些实施方式中,托架包括向心棘轮,其配置为在多个方向之间移动托架。

[0044] 为了使得样品能够适当地流过微流体芯片,在若干实施方式中,至少一个样品室包括通气孔和通气通道,通气通道流体连接到样品通道的内部,其中通气孔配置为(例如,通过防止真空)提供通过样品室的层流。在若干实施方式中,通气孔位于样品室的与开口相

对的一端上。取决于实施方式,样品室可以是任何期望的形状,包括矩形、正方形、椭圆形、柱形、卵形或其它多边形形状。在一个实施方式中,样品室为矩形。在一些可替换实施方式中,样品室为注射器。在一些这样的实施方式中,注射器包括具有衔接件端部的腔室,衔接件端部具有开口,开口配置为流体连接到微流体芯片;柱塞,其包括设置在腔室中的密封件;以及压下器,其附接到柱塞的远端并且配置为推进和收回柱塞。在一些实施方式中,注射器包括通气孔和通气通道,通气通道流体连接到腔室的内部,其中通气孔配置为提供通过注射器的层流。此外,在若干实施方式中,注射器可以可选地包括次级注射器柱塞,次级注射器柱塞设置在通气通道内并且配置为选择性地打开和关闭通气通道。在此类实施方式中,次级注射器可选地连接到压下器,使得压下器的移动配置为推进和收回柱塞和次级柱塞两者。在若干实施方式中,注射器的衔接件端部配置为接收针。在若干实施方式中,注射器配置为可从微流体芯片移除,并且样品配置为直接注射到注射部位。

[0045] 在若干实施方式中,多个腔室(例如,用于保持微流体芯片的腔室)中的每一个保持在多个臂中的每一个的开口中,其中多个腔室中的每一个延伸通过多个臂中的每一个的开口。在若干实施方式中,多个腔室中的每一个沿着多个臂中的每一个的平面保持。在若干实施方式中,多个腔室中的每一个用至少一个销保持在多个臂中的每一个的开口中,至少一个销配置为允许多个腔室中的每一个的平面外旋转。在若干实施方式中,多个腔室中的每一个的平面外旋转配置为在多个方向之间移动多个腔室中的每一个。在若干实施方式中,多个腔室中的每一个在180度旋转之间移动(平面内或平面外)。在若干实施方式中,多个腔室中的每一个在多个方向之间移动,其中多个腔室中的每一个沿着多个臂中的每一个的平面安置。

[0046] 在若干实施方式中,本文公开的系统还包括至少一个过滤器,过滤器配置为防止较大尺寸的样品成分进入并堵塞微流体芯片。在若干实施方式中,过滤器附接到样品室以在样品进入微流体芯片的微流体通道之前过滤样品。在一些实施方式中,过滤器位于微流体芯片上游或之前并且配置为过滤样品以防止堵塞微流体芯片。在一些实例中,上游过滤器可以包括网,网配置为切割或微粉化组织或组织碎片以允许样品通过微流体芯片而不会堵塞。为了微流体芯片中的微流体剪切的目的,样品的切割或微粉化配置为产生宏观聚集体。在一些实施方式中,过滤器位于微流体芯片的下游或之后,以仅允许特定尺寸的样品离开装置以便收集。

[0047] 本文还提供了另外的系统。例如,提供了一种用于处理样品的系统,其包括支撑板,马达,其连接到支撑板并且配置为使支撑板旋转;以及至少一个托架,其布置在支撑板上,其中至少一个托架配置为接收微流体芯片和用于接收用于处理的样品的至少一个样品室,并且其中至少一个托架配置为在与支撑板的平面平行的平面中旋转。

[0048] 此外,提供了一种用于处理样品的系统,其包括支撑板,马达,其连接到支撑板并且配置为使支撑板旋转;以及至少一个托架,其布置在支撑板上,其中至少一个托架配置为在与支撑板的平面平行的平面中旋转,微流体芯片,其接收在至少一个托架内,其中微流体芯片包括端口和沿着微流体芯片的长度延伸的至少一个微流体通道;以及至少一个样品室,用于接收用于处理的样品,至少一个样品室流体连接到微流体芯片的第一端口,并且配置为允许样品从至少一个样品室并沿着微流体芯片的长度流动。

[0049] 在若干实施方式中,微流体芯片的长度为约10mm至100mm。在若干实施方式中,至

少一个微流体通道的长度小于(或等于)微流体芯片的长度。在若干实施方式中,微流体通道的宽度和深度在5 μm 至8mm的范围内。应当明白的是,在若干实施方式中,微流体芯片是可移除的。

[0050] 取决于实施方式以及待处理的组织,微流体通道可以具有多种配置。例如,在一个实施方式中,微流体通道具有沙漏形配置。在若干实施方式中,至少一个微流体通道包括第一区域,其包括阶梯式的锥形部,其沿着至少一个微流体通道的长度逐渐减小宽度;收缩区域;以及第二区域,第二区域包括阶梯式的锥形部,其沿着至少一个微流体通道的长度逐渐增加宽度。在另外的实施方式中,至少一个微流体通道具有一系列宽度增加的区域和宽度减小的区域。在若干实施方式中,至少一个微流体通道具有菱形图案。在若干实施方式中,至少一个微流体通道包括多个袋,其可选地为鳍形。在若干实施方式中,至少一个微流体通道包括第一区域和第二区域,第一区域包括一系列分支,且在第二区域中,重新组合各对分支的通道。在若干实施方式中,至少一个微流体通道包括多个孔,其中多个孔配置为分类预定尺寸的样品的部分。

[0051] 本文提供了另外的方法,如例如一种用于处理样品的方法,包括在样品室中提供样品;将样品室插入多个托架中的至少一个,其中样品室流体连接到包括至少一个微流体通道的微流体芯片,其中多个托架之一附接到支撑板,支撑板配置为围绕第一轴旋转,并且其中多个托架中的至少一个配置为围绕第二轴旋转,第二轴平行于第一轴;以及使支撑板围绕第一轴旋转,其中旋转配置为将样品在远离样品室的第一方向上从样品室驱动通过至少一个微流体通道。在若干实施方式中,方法还包括使多个托架中的至少一个围绕第二轴旋转第二方向。在若干实施方式中,方法还包括使支撑板围绕第一轴旋转,其中旋转配置为将样品在朝向样品室的第二方向上驱动通过至少一个微流体通道室。此外,方法可选地还包括从多个托架中的至少一个中移除样品室。

[0052] 提供了另外的系统,包括支撑板,其包括多个臂,其中多个臂从支撑板径向延伸;马达,其连接到支撑板并且配置为使支撑板旋转;多个托架,其中多个托架中的每一个布置在支撑板上的多个臂中的一个上,其中多个托架中的每一个围绕多个轴之一共轴定位,其中每个轴从上面布置有托架的臂垂直地延伸,其中多个托架中的每一个配置为接收微流体芯片和用于接收用于处理的样品的至少一个样品室,并且其中多个托架中的每一个是围绕多个轴中的一个可旋转的;以及外罩,其配置为接收支撑板,外罩配置为保护用户远离用于处理样品的系统,其中外罩包括开口,开口配置为提供通向样品室的入口。在若干实施方式中,至少一个样品室包括通气孔和通气通道,通气通道流体连接到样品通道的内部,其中通气孔配置为提供通过样品室的层流。在若干实施方式中,至少一个样品室包括流体连接到微流体芯片的开口。在若干实施方式中,至少一个样品室包括入口,入口配置为允许从至少一个样品室插入或移除用于处理的样品。在一个实施方式中,入口位于开口的对面,尽管可以可选地使用其它位置。在若干实施方式中,至少一个样品室包括单向阀,其配置为确保样品在处理期间停留在腔室内部。在若干实施方式中,样品室的内部具有与入口相邻的倾斜、斜角或其它形状的表面,表面配置为使样品聚集在入口附近以便于在处理之后移除样品。在一个实施方式中,通气孔位于样品室的与开口相对的一端上。在一些实施方式中,入口配置为与注射器接合,注射器配置为移除样品并允许样品直接注射到目标部位。

[0053] 在若干实施方式中,多个腔室中的每一个保持在多个臂中的每一个的开口中,其

中多个腔室中的每一个延伸通过多个臂中的每一个的开口。在此类实施方式中,多个腔室中的每一个可选地沿着多个臂中的每一个的平面保持。在若干实施方式中,多个腔室中的每一个可选地用至少一个销保持在多个臂中的每一个的开口中,至少一个销配置为允许多个腔室中的每一个的平面外旋转。在若干这样的实施方式中,多个腔室中的每一个的平面外旋转配置为在多个方向之间移动多个腔室中的每一个。在若干实施方式中,多个腔室中的每一个在180度旋转之间移动(例如,0度至45度、45度至90度、90度至135度、135度至180度等)。在若干实施方式中,多个腔室中的每一个在各方向之间移动,其中多个腔室中的每一个沿着多个臂中的每一个的平面安置。在若干实施方式中,系统还包括过滤器,过滤器配置为防止较大尺寸的样品成分进入并堵塞微流体芯片。在一个实施方式中,过滤器附接到样品室。在一些实施方式中,过滤器位于微流体芯片上游或之前并且配置为过滤样品以防止堵塞微流体芯片。在一些实例中,上游过滤器可以包括网,网配置为切割或微粉化组织或组织碎片以允许样品通过微流体芯片而不会堵塞。为了微流体芯片中的微流体剪切的目的,样品的切割或微粉化配置为产生宏观聚集体。在一些实施方式中,过滤器位于微流体芯片的下游或之后,以仅允许特定尺寸的样品离开装置以便收集。

[0054] 在若干实施方式中,提供了一种用于处理样品的系统,包括支撑板,其包括多个臂,其中多个臂从支撑板径向延伸;马达,其连接到支撑板并且配置为使支撑板旋转;多个托架,其中多个托架中的每一个布置在支撑板上的多个臂中的一个上,其中多个托架中的每一个围绕多个轴之一共轴定位,其中每个轴从上面布置有托架的臂垂直地延伸,其中多个托架中的每一个配置为接收微流体芯片和用于接收用于处理的样品的至少一个样品室,并且其中多个托架中的每一个是围绕多个轴中的一个可旋转的;外罩,其包括主体部分和盖,其中主体部分配置为接收处理系统,并且其中盖设置在主体部分上方,并且配置为将处理系统密封在主体部分内并且保护用户远离用于处理样品的系统的影响;旋转支架,包括马达;附接到马达的外螺纹杆,其中马达的旋转使外螺纹杆旋转;包括用于保持注射器的多个接合结构的板,其中板附接到具有内螺纹的轴承,内螺纹配置为与杆的外螺纹接合,其中马达的旋转配置为在垂直方向上升高或降低板,其中注射器包括:腔室,其具有开口,开口配置为流体连接到至少一个样品室,以及柱塞,其设置在腔室内,其中推进和收回柱塞排出并吸入用于处理的样品,并且其中板保持柱塞的远端,并且板在垂直方向上的移动使柱塞在注射器的腔室内降低或升高以排出或吸入用于处理的样品。

[0055] 在若干实施方式中,旋转马达附接到外罩的盖,而在其它实施方式中,旋转马达位于外罩的外部。在若干实施方式中,板为圆形,而在其它实施方式中,板包括环,环由多个臂附接到轴承。在一个实施方式中,板包括中心圆形板和共轴的环。在一些实施方式中,接合结构为钩形,并且配置为允许插入和移除柱塞的远端。在若干实施方式中,系统包括多个间隔开的接合结构以在其附接到微流体室的第一端上的至少一个样品室时或者当其附接到微流体室的第二端上的至少一个样品室时固定注射器。在若干实施方式中,多个臂中的每一个还包括接合结构,接合结构配置为与位于多个托架中的每一个上的对应结构接合以使多个托架中的每一个保持在第一方向上。在若干这样的实施方式中,接合结构配置为释放和接合对应结构,使得托架配置为围绕多个轴中的一个在多个方向之间移动。在若干实施方式中,接合结构包括磁体,并且对应结构包括磁响应材料。相反地,在若干实施方式中,接合结构包括磁响应材料,并且对应结构是磁体。在某些实施方式中,加速力或减速力配置为

在多个方向之间移动托架。在若干实施方式中,托架包括齿轮组件,齿轮组件配置为在多个方向之间移动托架。在若干实施方式中,托架包括向心棘轮,向心棘轮配置为在多个方向之间移动托架。

[0056] 提供了方法,如一种用于处理样品的方法,包括在至少一个样品室中提供样品;将样品室插入多个托架中的至少一个,其中样品室流体连接到包括至少一个微流体通道的微流体芯片,其中多个托架之一附接到支撑板,支撑板配置为围绕第一轴旋转,并且其中多个托架中的至少一个配置为围绕第二轴旋转,第二轴平行于第一轴;以及将注射器固定到样品室,其中注射器的开口流体连接到样品室,并且注射器的柱塞的远端可移除地附接到板,其中板附接到马达并且配置为可在垂直方向上旋转和移动,并且其中板在垂直方向上的移动使柱塞在注射器的筒内降低或升高以在样品室内排出或吸入用于处理的样品;以及使支撑板围绕第一轴旋转,其中旋转配置为将样品在远离样品室的第一方向上从样品室驱动通过至少一个微流体通道。在若干实施方式中,方法还包括在垂直方向上降低板,使得柱塞在注射器的筒内降低以将用于处理的样品排出到样品室中。在若干实施方式中,可选地还存在以下步骤,其中在垂直方向上升高板,使得柱塞在注射器的筒内升高以从样品室中移除用于处理的样品。在若干实施方式中,方法还包括使多个托架中的至少一个围绕第二轴旋转到第二方向。

[0057] 在另外的实施方式中,提供了处理的组织样品用于治疗医学病症的用途。在若干实施方式中,病症是糖尿病性溃疡。在若干实施方式中,病症是由活化细胞如干细胞改善或受益的病症。在若干实施方式中,提供了来自脂肪组织的活化干细胞的用途,来自脂肪组织的活化干细胞由本文公开的用于装置用于治疗疾病或病痛的药物的处理方法和系统产生。

附图说明

[0058] 图1示出了使用安装在旋转的支撑板上的多个可旋转微流体芯片处理样品的系统的一个实施方式的分解视图。

[0059] 图2示出了微流体芯片以及可选的衔接件和相对的模块化的样品室的一个实施方式。

[0060] 图3示出了可选地与本文公开的系统 and 装置使用的外壳装置的一个实施方式。

[0061] 图4示出了作为用于本文公开的系统 and 装置微流体芯片转动或旋转的若干循环的时间的函数的每分钟转数(RPM)的示例性图表。

[0062] 图5示出了具有保持可旋转托架和其中的微流体芯片的三个臂的支撑板的一个实施方式的局部分解视图。

[0063] 图6是图5的支撑板的单个臂的侧视图。

[0064] 图7A示出了根据一个实施方式的样品室的透视图。

[0065] 图7B示出了根据一个实施方式的样品室的透视图。

[0066] 图7C示出了根据一个实施方式的样品室的截面视图。

[0067] 图8A示出了可以装载到托架中的注射器形式的样品保持器的透视图。

[0068] 图8B示出了图8A的注射器的截面视图。

[0069] 图9示出了其上安装有可旋转托架的具有三个臂的支撑板的一个实施方式的俯视图;每个臂包含相应的微流体芯片。托架和微流体芯片被示为转动或旋转180°。

[0070] 图10A示出了并入用于转动托架和微流体芯片的电磁体的下部板或壳体的一个实施方式。

[0071] 图10B示出了并入用于转动托架和微流体芯片的向心棘轮的下部板或壳体的一个实施方式。

[0072] 图11示出了利用托架和/或微流体芯片的平面外翻转的支撑板的另一个实施方式。

[0073] 图12A示出了具有三个臂的支撑板的另一个实施方式的局部分解视图,这三个臂在其中保持可旋转托架和微流体芯片。该实施方式并入齿轮组件以及开式齿轮,其与齿轮形或齿形表面接合以使托架和微流体芯片旋转。

[0074] 图12B示出了齿轮或齿形表面的俯视平面图,该齿轮或齿形表面与从支撑板的臂中的一个上的齿轮组件延伸的开式齿轮接合。

[0075] 图13示出了可选的过滤元件的一个实施方式的透视图。

[0076] 图14A-14J示出了包含在本文公开的微流体芯片中的微流体通道的不同非限制性实施方式。

[0077] 图15示出了示出在不同RPM下使用具有本文公开的系统的微流体芯片(例如,图11)获得的平均流速(mL/min)的图表。为了比较目的,还示出了使用标准注射器泵使流体来回通过脂肪处理芯片所达到的最大流速。

[0078] 图16示出了示出在不同RPM下使用具有本文公开的系统的微流体芯片(例如,图11)获得的平均剪切力(达因/cm²)的图表。为了比较,还示出了使用标准注射器泵使流体来回通过脂肪处理芯片所达到的最大剪切力。

[0079] 图17示出了示出使用本文公开的系统如图5中所描绘的系统的两种不同微流体芯片的作为RPM的函数的流速的图表。

[0080] 图18示出了显示图17的微流体芯片之一的作为剪切速率的函数的流速的图表。

[0081] 图19是从使用本文描述的系统的一个非限制性实施方式以300RPM处理三次的肿瘤组织(MCF7)获得的显微镜图像(4X)。

[0082] 图20是从用作对照的未处理的收获的肿瘤细胞(MCF7)获得的显微镜图像(4X)。

[0083] 图21示出了微流体芯片,其具有位于其表面中的多个贮存器,其用于在其中捕获细胞或细胞聚集体。

[0084] 图22示出了根据另一个实施方式的并入单向阀的样品保持室的截面视图。

[0085] 图23示出了根据另一个实施方式的用于处理样品的系统,其使用进入孔来从安装在旋转支撑板或盘上的样品室装载/取回样品。

[0086] 图24示出了根据另一个实施方式的用于处理样品的系统的另一个实施方式。在该实施方式中,一个或多个注射器(或可变体积的其它样品容器)与一个或多个微流体芯片一起旋转或转动,并且转动或旋转180°以处理来回通过一个或多个微流体芯片的样品。可移动顶板或环固定到注射器的柱塞,并且用于根据板的移动方向排出或取回样品。

[0087] 图25示出了图24的实施方式的移动顶板或环的底视平面图。

[0088] 图26示出了图24的实施方式的透视图,其中微流体芯片和注射器已经旋转180°并且可移动顶板或环已经部分地降低以压下注射器柱塞。

[0089] 图27A示出了通过使用图14B中所示的类型的微流体芯片通过本文公开的组织处

理系统(例如,如图5中所示的组织处理系统)的脂肪组织(“处理的脂肪组织提取物”)的细胞计数结果的图表。图27A还示出了标准脂肪组织提取物(即,未处理)的细胞计数结果。

[0090] 图27B示出了使用图14B中所示的类型的微流体芯片通过图5中所示的组织处理系统的脂肪组织(“处理的脂肪组织提取物”)的细胞活力结果的图表。图27A还示出了标准脂肪组织提取物(即,未处理)的细胞活力结果。

[0091] 图28是示出处理的脂肪组织提取物与标准脂肪组织提取物相比改善的干细胞富集的图表。“*”指示 $p < 0.05$ 时的统计学显著性。

[0092] 图29示出了处理的脂肪组织提取物和标准脂肪组织提取物的干细胞标记物(CD45、CD31、CD34、CD73、CD146、MSC、DPP4/CD55)的图表。

具体实施方式

[0093] 图1示出了根据一个实施方式的用于处理样品12的系统10。系统10包括一个或多个微流体芯片14,其用于处理如本文描述的样品12。在一个实施方式中,样品12可以包括生物样品。例如,在一个特别优选的实施方式中,样品12可以包括从哺乳动物生物体获得的组织样品,如脂肪或脂肪组织或肿瘤组织。在另一个实例中,样品12可以包含随后处理或通过微流体芯片14的细胞。在另一个实施方式中,样品12可以包括颗粒如珠。在又一实施方式中,样品12可以包含流体一种或多种流体试剂或反应物。在又一个不同的实施方式中,样品12可以包含水或基于水的样品。

[0094] 在若干实施方式中,微流体芯片14包括形成在基板8中的一个或多个微流体通道16,例如,如图2中所示。微流体芯片14的长度(沿着最长侧)通常为约10mm至100mm,例如约10mm至约20mm、约20mm至约30mm、约30mm至约40mm、约40mm至约50mm、约50mm至约60mm、约60mm至约70mm、约70mm至约80mm、约80mm至约90mm、约90mm至约100mm,以及它们之间的任何长度(包括端点)。一个或多个微流体通道16总体沿着微流体芯片14的纵向(即,长)轴延伸,并且通常从微流体芯片14的一端横越到微流体芯片14的相对端。在若干实施方式中,微流体通道16的长度小于微流体芯片14的总长度。取决于实施方式,微流体通道16的宽度和深度可以落在约 $5\mu\text{m}$ 至约8mm的范围内。例如,长度(或宽度)的范围可以为约 $5\mu\text{m}$ 至约 $10\mu\text{m}$ 、约 $10\mu\text{m}$ 至约 $20\mu\text{m}$ 、约 $20\mu\text{m}$ 至约 $50\mu\text{m}$ 、约 $50\mu\text{m}$ 至约 $100\mu\text{m}$ 、约 $100\mu\text{m}$ 至约 $200\mu\text{m}$ 、约 $200\mu\text{m}$ 至约 $500\mu\text{m}$ 、约 $500\mu\text{m}$ 至约 $750\mu\text{m}$ 、约 $750\mu\text{m}$ 至约 $1000\mu\text{m}$ 、约1mm至约2mm、约2mm至约3mm、约3mm至约4mm、约4mm至约5mm、约5mm至约6mm、约6mm至约7mm、约7mm至约8mm,以及它们之间的任何尺寸(包括端点)。在附加实施方式中,微流体通道的长度与宽度的比率的范围为约1000:1、约750:1、约500:1、约250:1、约100:1、约50:1、约25:1、约10:1、约2:1、约1:1、约1:2、约1:10、约1:25、约1:50、约1:100、约1:250、约1:500、约1:750、约1:1000,以及列出的那些之间的任何比率。此外,在许多微流体芯片14设计中,宽度和深度由于收缩区域、扩张区域等的存在而变化。

[0095] 如在图2中描绘的一个非限制性实施方式中所示,第一端口20位于微流体芯片14的一端并且用作样品12的入口(或如本文所解释的出口)。第二端口22位于微流体芯片14的另一相对端。如本文所解释的,可以以任何数量的配置提供一个或多个微流体通道16。

[0096] 微流体芯片14可以由任何数量的材料形成。例如,微流体芯片14可以使用聚合物或塑料材料(例如,聚碳酸酯、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)、聚甲醛、聚乳酸(PLA)或丙烯腈-丁

二烯-苯乙烯(ABS)材料等)。微流体芯片14可以使用其它材料如金属(例如,铝、钢、钛、合金等)形成。微流体芯片14可以使用粘合在一起的一个或多个层制成,以形成完全封闭的微流体芯片14。因此,微流体芯片14可以制成为由一个或多个层或基板8形成的层压结构。例如,微流体芯片14的第一层可以使用聚碳酸酯或PMMA形成,并且可以使用CNC铣削或激光蚀刻(或化学蚀刻)在其中形成微流体通道16,其中第二薄覆盖层粘合或以其它方式粘附到第一层以形成完整的微流控芯片14。可以使用双面压力粘合剂将两个层彼此粘合。也可以使用超声波焊接来完成粘合。可替换地,微流体芯片14可以由整体基板8制成。微流体芯片14可以使用任何数量的制造方法形成,包括三维(3D)打印、注射模制、CNC铣削或激光蚀刻。

[0097] 返回参考图1,系统10包括支撑板30,其在优选实施方式中具有多个臂或翼32,从支撑板30的中心区域或毂31向外延伸。在替代性实施方式中,支撑板仅是具有内部和侧部的盘,臂由侧部代替。在一些实施方式中,臂或翼32是使用一个或多个紧固件(例如,螺钉、螺栓等)固定到毂31的单独结构。在其它实施方式中,臂或翼32与毂31集成为整体结构。中心区域或毂31可以由用于形成臂或翼32的相同或不同的材料制成。例如,中心区域或毂31可以由金属或金属材料(例如,铝、不锈钢、钢等)或聚合物材料(如塑料、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)、聚碳酸酯等)形成。臂或翼32也可以使用金属、金属材料或聚合物,如可用于中心区域或毂31的那些形成。

[0098] 图1中所示的支撑板包括三(3)个这样的臂或翼32,尽管应当明白的是,支撑板可以包括多于单个臂32的任何数量的臂32(例如,一个臂至十个臂)。在本发明的优选实施方式中,支撑板30制成为使得臂32从支撑板30的中心区域径向延伸并且围绕支撑板30对称地布置。例如,在三(3)臂配置中,每个臂32与每个相邻臂方向成约 120° 。在若干实施方式中,臂可以铰接,使得在操作期间,臂以弧形图案移动,定位在垂直于或基本垂直于旋转轴的平面中。支撑板30的中心区域包含孔或孔隙33,其的尺寸为容纳通过孔或孔隙33的旋转卡盘34。使用紧固件36将支撑板30固定到卡盘34。例如,卡盘34可以是带螺纹的,并且紧固件36是螺钉、螺母、夹子、压配合、磁性接合等,其与卡盘34的螺纹接合以将支撑板30牢固地锁定到卡盘34。可替换地,紧固件36可以包括销、磁体等。此外,卡盘34的轴可以具有与支撑板30的孔或孔隙33匹配或锁定的几何轮廓,以帮助将两个部件锁定在一起。当然,可以使用任何其它类型的紧固件或锁来将支撑板30固定到卡盘34。卡盘34使用锁定销、螺钉等(未示出)固定地保持在马达42的驱动轴40上。马达42可以包括任何数量类型的马达,其中可以调整驱动轴40的转速。作为一个实例,马达42包括无刷伺服马达(例如,Parker马达SM232BE, Parker Hannifin Corporation, Charlotte, NC),尽管应当理解的是,可以使用各种各样的马达42。在另一个替代性实施方式中,支撑板30和臂32可以包括到卡盘34本身中。即,支撑微流体芯片14的臂32可以从卡盘34延伸,而不是从放置在卡盘34上的单独的支撑板30延伸。

[0099] 如图1中所示,马达42固定到固定装置44,使得驱动轴40和安装在其中的卡盘34处于基本垂直的方向。在该方向中,支撑板30可以放置在卡盘34的顶部上并使用紧固件36与其锁定。这种布置将支撑板30放置在基本水平的平面中。当马达42被致动并使驱动轴40旋转时,使用卡盘34安装在其上的支撑板30围绕驱动轴40的旋转轴在基本水平的平面内旋转(旋转可以是逆时针或顺时针(或者两者,以交替模式)。参考图3,安装的支撑板30(以及其上装载的微流体芯片14)可以可选地放置在外罩46内部。外罩46保护操作者免受在使用系

统10时可能发生的任何危险或故障。外罩46可以由任何厚的塑料材料(示例:聚碳酸酯、聚甲基丙烯酸甲酯;例如,树脂玻璃(Plexiglass))等)或甚至金属(示例:钢、铝等)制成。可以打开和关闭外罩46以提供将支撑板30等安装到卡盘34的入口。可以使一个或多个部分光学透明,使得可以在视觉上监测系统10的操作。作为使用如图1中所示的单独固定装置44的替代方案,马达42可以安装到外罩46上的基座或其它结构支撑件上,如图3中所示。

[0100] 返回参考图1,马达42经由一根或多根缆线51连接到控制器50。如所示,一根缆线51用于驱动马达42,而另一根缆线51用于反馈。控制器50(可以是步进/伺服控制器50)用于驱动马达42。可以使用控制器50来调整或编程转速或RPM。在优选实施方式中,控制器50可以用旋转程序编程或加载,该旋转程序可以使支撑板30以预定操作顺序旋转。例如,控制器50可以将马达42的旋转速率渐升到期望的RPM速率,使得样品12通过一个或多个微流体芯片14的一个或多个微流体通道16,然后,在一个实施方式中,使RPM减速以使一个或多个微流体芯片14旋转半圈或 180° 。一个或多个微流体芯片14现在处于翻转或反向方向,控制器50然后可以再次将RPM渐升到期望的RPM速率以推动或驱动样品12再次以反向方向通过一个或多个微流体芯片14的一个或多个微流体通道16。该过程可以重复多个循环(例如,一个或多个微流体芯片14的十至三十次 180° 旋转;如10-15、15-20、20-25、25-30次等)。应当明白的是,可以使用更多或更少数量的循环,这取决于例如起始样品的粘度。图4示出了系统10的示例性旋转流动曲线,显示一个或多个微流体芯片14的多次 180° 循环。

[0101] 在一个实施方式中,可以使用如LabVIEW、Java、C、C++、Python等软件对控制器50进行编程。控制器50也可以手动控制。所用的实际转速或RPM可以取决于微流体芯片14的结构和配置。通常,RPM的范围为0至约10,000RPM。较高的RPM产生样品12通过微流体芯片14的较高流速。通过微流体芯片14的流速可以变化,但通常在约0mL/min至700mL/min的范围内。例如,流速的范围可以为约0.2mL/min至约1mL/min、约1mL/min至约2mL/min、约2mL/min至约10mL/min、约10mL/min至约50mL/min、约50mL/min至约100mL/min、约100mL/min至约250mL/min、约250mL/min至约500mL/min、约500mL/min至约700mL/min以及它们之间的任何速率(包括端点)。取决于使用马达42实现的转速,流速的上限可以更大。

[0102] 图4示出了根据一个实施方式使用的一个说明性流动曲线。在该实施方式中,RPM速率在约一秒时间段内渐升或加速(例如,2,000RPM/秒)至最大转速1,600RPM。将RPM速率1,600维持数秒(例如,约8秒),然后快速减速(例如,2,000RPM/秒),这使微流体芯片14旋转 180° 。

[0103] 返回参考图1和图5,每个微流体芯片14被保持或以其它方式固定在可旋转托架60中。每个可旋转托架60可旋转地安装在支撑板30的臂32上。可旋转托架60包括凹槽62(图5中所示),其尺寸为将微流体芯片14容纳在其中。微流体芯片14可以通过摩擦配合、突片、夹子、止动件等保持在其中。在一个实施方式中,可旋转托架60还包括用于保持相应样品室70、72的第一端64和第二端66。样品室70位于第一端64中,而样品室72位于托架60的第二端66中。每个样品室70、72经由端口20、22流体连接到微流体芯片14,例如,如图2中所示。样品室70经由第一端口20流体连接到微流体芯片14。样品室72经由第二端口22流体连接到微流体芯片14。注意,可选地,样品室70、72中的一个或两个可以使用衔接件80连接到微流体芯片14。衔接件80在图2、5和6中示出,并且可以包括任何数量的设计和配置。作为说明而非限制,这些包括鲁尔滑锁(例如,滑动头连接器)、鲁尔旋锁(例如,旋转轴环)等。衔接件80可以

使用包括金属(例如,铝、钢、不锈钢等)或聚合物材料(例如,塑料、聚碳酸酯、丙烯酸酯、树脂材料等)的任何数量的材料形成。

[0104] 样品室70、72中的一个装载有待通过微流体芯片14的样品12。样品室70、72设计成保持一定体积的样品12或将通过一个或多个微流体芯片14处理的其它材料。样品室70、72的保持体积可以在>0mL至~100mL的范围内,并且可以通过改变腔室尺寸的大小来改变。例如,在若干实施方式中,样品室体积的范围可以为约1ml至约3ml、约3ml至约5ml、约5ml至约10ml、约10ml至约25ml、约25ml至约50ml、约50ml至约75ml、约75ml至约100ml或它们之间的任何体积(包括端点)。在本发明的一个实施方式中,样品室70、72装载有样品12或通过微流体芯片14的其它材料。参考图7A-7C,样品室70、72设计有衔接头74,其是任何类型的注射器衔接头,如鲁尔滑锁(例如,滑动头连接器)、鲁尔旋锁(例如,旋转轴环)等。样品室70、72还设计有如图7C中所示的通气通道76,其直径的范围可以为0mm至约10mm(例如,约1mm至约2mm、约2mm至约4mm、约4mm至约6mm、约6mm至约8mm,或约8mm至约10mm)以允许层流但不允许湍流通过微流体芯片14。取决于实施方式,可以使用多个通气孔。通气通道76通向大气中,并且;在一个实施方式中,如图7C中所示,经由通气孔77(图7A-7C)在样品室70、72的端部附近出口,并且连接到靠近衔接件头74的样品室70、72的内部。可选地,小的过滤器可以放置在通气孔77中或以其它方式与通气孔77连通以防止污染或泄漏。样品室70、74可以由如树脂材料、塑料或金属等多种材料中的一种或多种制成。这些可以通过许多常见的制造方法制造,如注射模制、树脂打印(例如,3D打印)、吹塑、机械加工等。在一个实施方式中,为了填充样品室70、72,注射器(无针)的端部或尖端插入位于样品室70、72上的衔接头74中,并且注射器柱塞被压下以用样品12或包括在注射器筒中的材料填充腔室体积。样品室70、72优选地是模块化部件,其可以从托架60的端部64、66插入和/或移除,如图5中所示。例如,腔室70可以装载在装置或系统10的外部,然后插入托架60的端部64中。

[0105] 在如图8A-8B中所示的另一个实施方式中,注射器室86用作样品室70、72,并且可以放置在托架60的一端或两端64、66中。端部64、66被设计成适应注射器室86的长度。该实施方式是特别有利的,因为其允许医生在处理之后直接使用注射器室86。例如,如果使用本文描述的系统10处理脂肪或脂肪组织,则将得到的处理的组织装载到注射器室86中,其可以易于从系统10中移除并用于将处理的脂肪直接注射到受试者的施用部位中。在这方面,系统10使用一个或多个随带的注射器腔室86而不是样品腔室70、72。一旦处理完成,移除注射器室86,将针添加到端部,并且将现在处理的样品可选地注射到受试者体内。

[0106] 注射器室86包括注射器筒88,其限定保持样品的三维体积。包括橡胶或聚合物密封件的标准柱塞90设置在筒88中并且包括用于推进柱塞90的近端压下器92。注射器筒88的一端包括衔接件端94,其可以包括与微流体芯片14接合的鲁尔滑锁(例如,滑动头连接器)、鲁尔旋锁(例如,旋转轴环)等。在一个实施方式中,注射器室86连接到通气通道96,该通气通道沿着筒88的长度延伸并且经由孔89与筒88的内部连通并终止于向大气开放的通气孔98(最佳地如图8B中所示)。通气通道96允许通气并允许稳定层流通过注射器筒88和微流体芯片14。在一个实施方式中,包括橡胶或聚合物密封件的较小的次级注射器柱塞100设置在通气通道96中并且是在其中可移动的,以选择性地打开/关闭通气通道96。具体地,如图8B中所示,当次级注射器柱塞100的密封件相对于通气孔98位于近侧时,通气通道96打开,并且注射器筒88的内部可以向大气通气。然而,当次级注射器柱塞100的密封件相对于通气孔

98位于远侧时,通气通道96关闭,注射器筒88的内部不通气;注射器室86用作标准注射器。次级注射器柱塞100可以连接到相同的近侧压下器92,使得压下器92的移动将引起柱塞90、100两者的移动。注射器室86和如压下器92的其它部件可以由任何数量的材料,包括聚合物材料,如树脂、塑料等制成。可以使用常规的制造技术,如注射模制、树脂打印等。注射器室86也可以由金属或金属材料形成。

[0107] 现在参考图5和6,公开了支撑板30的一个具体实施方式。在该实施方式中,支撑板30使用中心板104形成,该中心板具有固定到中心板104的多个臂32。中心板104包括孔或孔隙106,其尺寸为容纳卡盘34(参见图1)。该实施方式中的每个臂32形成有下板108和上板110。下板108和上板110可以使用任何数量的紧固件如螺钉、螺栓等彼此固定。板108、110包括形成在其中的孔或孔隙112,其对齐并且尺寸为容纳从托架60延伸的柱114。如图6中最佳地所示,柱114延伸通过下板108和上板110中的孔112并且在臂32下方突出一段距离。柱114包括孔,其通过柱114并接收用于将托架60固定到臂32(但仍然允许转动或旋转)的销或夹子118。

[0108] 在该实施方式中,磁体或磁性元件120设置在支撑板30中,该支撑板可以包括中心板104,如图5中所示。如图5和6中所示,两个较小的磁体或磁性元件122设置在托架60的下表面上(或并入到托架60的结构中)并用于暂时将托架60保持在两个180°配置中的一个中,其中托架60的纵向轴沿着臂32的径向长度对齐。例如,位于托架60中的磁性元件122可以包括实际的磁体(例如,稀土磁体或其它类型),或者其可以包括易受磁性影响的螺钉、螺栓或金属片。如本文所解释的,托架60能够在两个180°方向之间来回切换,使得样品12可以在正向或反向方向上流过微流体芯片14。如本文所解释的,可以使用许多不同的形式来在这两个方向之间切换托架60。这包括使用减速力或加速力来切换托架60的方向。可替换地,设置在臂32中的电磁体可以用于在这两个方向之间切换托架60(和微流体芯片14)。在又一可替换的实施方式中,齿轮组件可以与径向的一组齿轮齿结合使用,其能够使托架60在180°方向之间转动。又一个替代性实施方式使用向心棘轮以基于支撑板30的RPM的减小将托架60机械地旋转到不同的方向。又一个替代性实施方式可以用活塞或减震器类的装置代替棘轮。

[0109] 图9示意性地示出了具有三个不同臂32的支撑板30,每个臂包含可旋转托架60,托架在其中包含微流体芯片14。在俯视图或上视图中,可旋转托架60各自定向为具有径向向内定位在臂32上的第一端(①)和径向向外定位在臂32上的第二端(②)。在该配置中,响应于支撑板30的旋转,样品12或其它材料在径向向外的方向上通过微流体芯片14。即,对于从样品室70开始的样品12,样品12从样品室70移动并进入微流体芯片14并前进到样品室72中。接下来,如图9的下部所示,各自具有微流体芯片14的托架60旋转180°以反转托架60及其微流体芯片14的方向。在这种配置中,第一端(①)在臂32上径向向外定位,第二端(②)在臂32上径向向内定位。在样品室72中的样品12现在径向向内定位,并且支撑板30的旋转现在使样品12从样品室72移动并进入微流体芯片14并进一步前进到样品室70中。该过程可以重复任何数量的循环。

[0110] 在图5和6的实施方式中,支撑板30的减速在托架60上施加力,其破坏磁体120、122之间的力,从而使托架60围绕柱114旋转并将托架60重定向180°,由此相对的磁体122然后被吸引至另一个磁体120并将托架60固定在新的方向上。然后支撑板30再次加速以使样品

12在反转流动方向上移动通过微流体芯片14;由此可以再次执行使托架60和它们相应的微流体芯片14旋转的过程。

[0111] 参考图10A,在一个替代性实施方式中,安装在下板108上的电磁体130用于使托架60旋转或转动180°。可以使用通过轴40输送的板载电池或电线为电磁130供电。在该实施方式中,柱114包含磁体115,其在柱114的相对侧上产生相反的磁极。电磁体130还包括如所示的两个磁极,并且当被致动时,驱使柱114旋转,使得电磁体130的北极与磁体115的南极相邻。相反地,电磁体130的南极与磁体115的北极相邻。通过反转电磁体130的极性使托架60旋转。

[0112] 图10B示出了又一种实施方式,其中向心棘轮用于使托架60旋转或转动。在该实施方式中,下板108包含固定到柱114的带棘轮的齿轮或轮134。棘轮齿轮134与一组棘轮齿136接合,其在一端连接到弹簧138。弹簧138在相对端处固定地固定到下板108。棘轮齿136的相对端连接到细丝、线、线缆或绳140,其连接到重物142。在系统10的操作期间,当支撑板30旋转时,向心力使重物142在下板108上径向向外移动,由此弹簧138延伸以适应该力。应注意的是,由于齿的方向,棘轮齿136在该操作期间不移动棘轮齿轮134。当支撑板30减速或停止时,弹簧138的张紧力径向向内(在箭头A的方向上)拉动棘轮齿136(和重物142),由此棘轮齿136现在与棘轮齿轮134接合并引起柱114的旋转。柱114的旋转使托架60旋转180°。

[0113] 图11示出了支撑板30a的另一个实施方式,其包括中心孔或孔隙31a。在该实施方式中,代替微流体芯片14在与支撑板30的平面大致上平行的水平平面中旋转,微流体芯片14相对于支撑板30的旋转平面在平面外翻转(例如,垂直于臂所处的径向平面)。在该实施方式中,微流体芯片14可以包括销144,其与位于支撑板30上的槽146接合,允许平面外旋转。注意,在该实施方式中;可以提供保持微流体芯片14的托架60,其可以通过与图5和6中所示的微流体芯片14类似的方式旋转。

[0114] 图12A示出了支撑板30b的另一个实施方式。在该实施方式中,支撑板30b具有中心孔隙或孔33,其用于支撑如本文描述的支撑板30卡盘34。支撑板30b支撑若干齿轮箱或齿轮组件150,如图12A中所示,其有效地用作支撑板的臂32。在该实施方式中,存在三个这样的齿轮组件150,每个齿轮组件150使用铝螺钉等(未示出)固定到支撑板30b的中心毂152,如图12A中所示。齿轮组件150包括底部壳体153,其容纳两个齿轮154、156。外齿轮154围绕位于底部壳体153中的柱158旋转,并且定位为使得齿轮154的齿的一部分暴露超出齿轮组件150的径向边缘。在这方面,齿轮154的齿可以与另一个齿轮或齿轮表面接合(参见图12B)以使该外齿轮154旋转。第二内齿轮156机械地接合到外齿轮154。如本文所解释的,该内齿轮156用于使包含微流体芯片14'的托架60'旋转。

[0115] 如图12A中所示,存在齿轮组件150的顶盖160。顶盖160在其中包括孔隙162,连接到托架60'的轴或柱164在其中通过并机械连接到内齿轮156。另一个孔隙166形成在顶盖160中,该孔隙的尺寸为接收磁体168(例如,稀土磁体或其它类型)。磁体168固定地固定在该孔隙166中和在形成于支撑板30中的部分凹槽中。磁体168用于在托架60'旋转期间将微流体芯片14'的方向保持在两个方向中的一个中(直到微流体芯片14'旋转180°)。托架60'的尺寸为将微流体芯片14'保持在其上。微流体芯片14'和托架60'在角处具有孔170,使得微流体芯片14'可以使用可移除紧固件(例如,螺钉等)固定到托架60';尽管微流体芯片14'可以使用任何其它类型的紧固件固定。此外,在托架60'的下侧有接收磁性螺钉172(例如,

钢螺钉)的两个位置。这些螺钉172用于在支撑板30b旋转期间将托架60' (和微流体芯片14')保持在两个方向中的一个上。为了使该实施方式的托架60'旋转,如图12B中所示,使具有齿轮齿180的表面(如箭头A所示)与外齿轮154接触,同时支撑板30旋转(支撑板30'对于该操作可以以降低的速度旋转)。支撑板30的旋转使齿轮154在固定表面上移动(例如,在箭头B的方向上),齿轮齿180使齿轮154旋转并实现托架60'的旋转。在图12A和12B的实施方式中,微流体芯片14'包括直接形成在微流体芯片14'内部的样品室70'、72'。在该实施方式中,在一个或多个微流体通道16的端部处的端口20'、22'通向相应的芯片上样品室70'、72'。

[0116] 图13示出了可选的过滤元件190,其可以并入本文描述的系统10中。过滤元件190用于保持较大尺寸的样品成分不会进入微流体通道16并堵塞它们。过滤元件190使用网格状过滤器图案或网193。在一个实施方式中,过滤器构成端部件192(或顶部),其可以具有任何类型的注射器附件,如鲁尔滑锁(例如,滑动头连接器)、鲁尔旋锁(例如,旋转轴环)等。其中包括网193的另一个端部件194相对于相对的端部件192密封以形成完整的过滤元件190。端部件194还可以具有任何类型的注射器附件,如鲁尔滑锁(例如,滑动头连接器)、鲁尔旋锁(例如,旋转轴环)等。在一些实施方式中,过滤元件190位于微流体芯片14、14'上游或之前,并且配置为过滤样品以防止微流体芯片14、14'堵塞。在一些实例中,上游过滤元件190可以包括网,其配置为切割或微粉化组织或组织碎片以允许样品通过微流体芯片14、14'而不会堵塞。为了微流体芯片14、14'中的微流体剪切的目的,样品的切割或微粉化配置为产生宏观聚集体。在一些实施方式中,过滤元件190位于微流体芯片14、14'的下游或之后,以仅允许特定尺寸的样品离开装置用于收集。

[0117] 图14A-14J示出了微流体芯片14的若干不同实施方式,其具有用于微流体通道16的不同配置。图14A示出了具有带沙漏设计的微流体通道16的微流体芯片14。在该实施方式中,微流体通道16具有渐缩的(锥形的,tapered)侧面轮廓200、202,其到达小的收缩区域204,该收缩区域大致在沿着微流体芯片14的长度的中间。如图14A中所示,微流体芯片14的第一级(从左到右)具有由截面积(x)限定的入口206,该截面积从向外渐变208至大于x的截面积。然后,微流体通道16渐缩200、202至横截面积小于x的收缩区域204。该设计意味着当样品12通过收缩区域204的较小截面积时逐渐增加该样品的速度。在替代性实施方式中,代替渐缩200、202至收缩区域204,微流体通道16可以具有阶梯式锥形部212,如图14B中所示。注意,也可以省略微流体芯片14任一侧上的初始扩张部208,在这种情况下,微流体通道16的截面积逐渐减小直到收缩区域204。在一个特定实施方式中,收缩区域204可以具有约1.5mm的宽度和约1.5mm的深度。在若干实施方式中,长度或宽度的范围可以为约0.1mm至约0.3mm、约0.3mm至约0.6mm、约0.6mm至约0.9mm、约0.9mm至约1.2mm、约1.2mm至约1.5mm、约1.5至约1.7mm、或约1.7mm至约2.0mm、或列出的那些之间的任何值(包括端点)。取决于实施方式,也可以使用更大的尺寸。入口206(或出口)可以具有更大的尺寸,如例如约6mm的深度和约5mm的宽度。同样地,入口的长度(或宽度)可以取决于实施方式而变化,例如范围为约2mm至约3mm、约3mm至约4mm、约4mm至约5mm、约5mm至约6mm、约6mm至约7mm、约7mm至约8mm或所列出那些之间的任何值(包括端点)。微流体通道的收缩区域204的长度由y限定,并且可以约为1.5mm的数量级。可以使用其它尺寸,例如约0.5mm至0.7mm、约0.7mm至约1.0mm、约1.0mm至约1.2mm、约1.2mm至约1.5mm、约1.5mm至约1.7mm、约1.7至2.0mm或列出那些之间的

任何值(包括端点)。

[0118] 图14C示出了具有单个微流体通道16的微流体芯片14,该微流体通道具有一系列扩张区域220和收缩区域222。在该设计中,微流体通道16可以在入口224处具有初始截面积 x 。然后,通道可以在扩张区域220处向外扩张到大于 x 的截面积。扩张区域220的宽度(在最大宽度处测量的)可以在约1mm至约5mm的范围内。例如,扩张区域220的一个示例性宽度是1.3mm。其它实施方式可以采用其它宽度,如约1mm至约1.2mm、约1.2mm至约1.4mm、约1.4mm至约1.7mm、约1.7mm至约2.0mm、约2.0mm至约2.5mm、约2.5mm至约3.0mm、约3.0mm至约4.0mm、4.0mm至约5.0mm,或列出的那些之间的任何值(包括端点)。在微流体通道16扩张之后,微流体通道16然后在收缩区域222处变小到小于或等于 x 的截面积。收缩区域222的宽度可以在约100 μm 至约3mm范围内。收缩区域222的具体示例性宽度是400 μm 。其它实施方式采用的宽度例如为约100 μm 至约150 μm 、约150 μm 至约200 μm 、约200 μm 至约250 μm 、约250 μm 至约500 μm 、约500 μm 至约750 μm 、约750 μm 至约1000 μm 、约1000 μm 至约1.5mm、约1.5mm至约2mm、约2mm至约2.5mm、约2.5mm至约3.0mm、以及它们之间的任何值(包括端点)。

[0119] 图14D示出了具有微流体通道16的微流体芯片14,该微流体通道包括一系列分支230,由此微流体通道16分支成两个较小的微流体通道。如图14D中所示,可能存在多级分支。较小的微流体通道16将两个微流体通道重组组合成一个微流体通道。当微流体通道16组合成微流体芯片14的相对侧上的单个通道时,该过程完成。在该实施方式中,微流体芯片14可以设计成在入口232(或出口)处具有初始截面积 x 。然后,微流体通道16可以在第一区域234处扩张、收缩或保持等于入口截面积 x 。然后,单个微流体通道16分支成两个微流体通道236。这些分支的微流体通道236现在小于第一区域234的初始截面积 x 。然后,分支的微流体通道236再次分支以形成四个微流体通道238。这些微流体通道238的截面积更加小于初始截面积 x 。通常,分支通道的截面积可以由 x/y 确定或者更小,其中 x 是初始截面积,而 y 是该部分中的平行通道的数量。微流体通道(236、238)的每个后续级小于上游的微流体通道。在该实施方式中,在每个分支点处,形成边缘240,其是尖锐的尖端或尖头,其形成在会聚的微流体通道的渐缩壁的顶点处。这形成了刀刃,其可以在脂肪或其它组织经过时切割它。

[0120] 图14E示出了微流体芯片14的另一个实施方式,其中微流体通道16具有菱形图案,其中入口250具有截面积 x 。该通道具有向收缩区域252急剧变窄,使得截面积小于或等于初始截面积 x 的部分。在收缩区域252之后,微流体通道向外急剧扩张以到达具有大于或等于 x 的截面积的扩张区域254。该实施方式可以具有多个收缩区域252和扩张区域254。扩张区域254的宽度(在最大宽度处测量的)的范围可以为约1mm至约3mm,例如约1mm至约1.25mm、约1.25mm至约1.5mm、约1.5mm至约1.75mm、约1.75mm至约2.0mm、约2.0mm至约2.25mm、约2.25mm至约2.5mm、约2.5mm至约2.75mm、约2.75mm至约3.0mm、以及它们之间的任何值(包括端点)。收缩区域252的宽度可以在约100 μm 至约1mm的范围内,例如宽度为约100 μm 至约200 μm 、约200 μm 至约300 μm 、约300 μm 至约400 μm 、约400 μm 至约500 μm 、约500 μm 至约600 μm 、约600 μm 至约700 μm 、约700 μm 至约800 μm 、约800 μm 至约900 μm 、约900 μm 至约1000 μm 、它们之间的任何值(包括端点)。

[0121] 图14F示出了微流体芯片14的另一个实施方式,该微流体芯片使用单个微流体通道16,其具有沿着微流体通道16的长度设置的多个鳍形袋260。鳍形袋260引起通过微流体芯片14的流体流中的湍流,这在样品12上施加高剪切应力。例如,包含细胞或组织的样品12

可以通过具有鳍形袋260的微流体通道16,并且可以响应于高剪切应力环境而分析细胞。鳍形袋260在其开口处可以具有等于或小于入口262的截面积的最大截面积。鳍形袋260渐缩到一个点。

[0122] 图14G示出了微流体芯片14的另一个实施方式。在该实施方式中,微流体芯片14并入刀刃分支240以及多个扩张区域220和收缩区域222。图14H示出了微流体芯片14的另一个实施方式,其包括没有任何刀刃的分支270以及多个扩张区域220和收缩区域222。如图14H中所示,在分支270中的每一个处形成圆角或非锐角。作为一个具体示例,收缩区域222可以具有约400 μm 的宽度和约300 μm 的深度。在若干实施方式中,收缩区域的宽度的范围为约200 μm 至约500 μm ,包括约200 μm 至约250 μm 、约250 μm 至约300 μm 、约300 μm 至约350 μm 、约350 μm 至约400 μm 、约400 μm 至约450 μm 、约450 μm 至约500 μm 、以及它们之间的任何宽度(包括端点)。同样,收缩区域的深度的范围可以为约200 μm 至约500 μm ,包括约200 μm 至约250 μm 、约250 μm 至约300 μm 、约300 μm 至约350 μm 、约350 μm 至约400 μm 、约400 μm 至约450 μm 、约450 μm 至约500 μm 、以及它们之间的任何宽度(包括端点)。在若干实施方式中,扩张区域220可以具有约300 μm 的深度和约1.3mm的宽度。在另外的实施方式中,宽度扩张区域的范围可以为约200 μm 至约500 μm ,包括约200 μm 至约250 μm 、约250 μm 至约300 μm 、约300 μm 至约350 μm 、约350 μm 至约400 μm 、约400 μm 至约450 μm 、约450 μm 至约500 μm 、以及它们之间的任何宽度(包括端点)。取决于实施方式,宽度的范围可以为约0.5mm至约3mm,包括约0.5mm至约0.75mm、约0.75mm至约1.0mm、约1.0mm至约1.1mm、约1.1至约1.2mm、约1.2mm至约1.3mm、约1.3mm至约1.4mm、约1.4mm至约1.5mm、约1.5mm至约2.0mm、约2.0mm至约2.5mm、约2.5mm至约3.0mm、以及任何它们之间的宽度(包括端点)。在一个实施方式中,微流体通道16在入口或出口处的最大深度为约6mm。其它实施方式采用的深度范围为约3至约7mm,包括约3mm至约4mm、约4mm至约5mm、约5mm至约6mm、约6mm至约7mm以及它们之间的任何深度(包括端点)。

[0123] 图14I示出了微流体芯片14的另一个实施方式,其包括刀刃分支240和在最小的分支通道中的类似于图14A和14B中的沙漏部分280。图14J示出了微流体芯片14的又一实施方式,其包括刀刃分支240和位于刀刃分支240的恰好上游或之前的沙漏部分280。

[0124] 在一个特定实施方式中,使用本文描述的系统处理脂肪组织。首先,医生或其它医疗保健专业人员将从患者取得吸脂样品12,具体取决于应用,其为2cc至100cc的任何范围,如约2cc至约10cc、约10cc至约25cc、约25cc至约50cc、约50cc至约75cc、约75cc至约100cc或它们之间的任何体积(包括端点)。然后首先通过用磷酸盐缓冲盐水(PBS)缓冲溶液(或其它可接受的缓冲液)洗涤血液多次来处理脂肪。一旦完成该过程,使用注射器等将脂肪样品12加载到样品室70、72中,并将样品室与微流体芯片14、14'一起装载到托架60、60'中。可替换地,代替将脂肪样品12装载到单独的样品室70、72中,注射器的内容物(例如,图8A和8B的注射器室86)可以与微流体芯片14、14'一起直接装载到托架60、60'中。该过程可以用于单个微流体芯片14、14'或用于多个微流体芯片14、14'(例如,用于大样品处理或来自不同受试者的样品)。

[0125] 随着样品室70、72(或注射器室86)和微流体芯片14、14'装载到它们相应的托架60、60'中,使用控制器50操作马达40来开始该运行。转速最初渐升到期望的RPM速率,其一个非限制性实施方式在图4中示出。这导致脂肪样品12从样品室70(假设这是径向上最向内的样品室)移动到微流体芯片14中,其中样品在一个或多个微流体通道16中经受剪切力。样

品继续进入另一个样品室72,然后使用本文描述的任何一种方式(例如,减速、电磁、机械齿轮传动、向心棘轮、手动旋转等)使托架60、60'和微流体芯片14、14'旋转180°。在微流体芯片14、14'转动、旋转或翻转之后,支撑板30旋转以将样品从样品室72驱动到微流体芯片14、14'中,其中样品暴露于一个或多个微流体通道16中的附加剪切力。样品继续径向向外移动并进入样品室70。托架60、60'和微流体芯片14、14'再次旋转180°,并且该过程重复期望的循环数量。

[0126] 在脂肪样品12已经通过微流体芯片14、14'期望的循环数量或次数之后,从样品室70、72(或注射器室86)移除现在处理的脂肪样品12。在一个实施方式中,然后将处理的脂肪样品12从样品室70、72转移到单独的注射器,该注射器附接在头部74处,由此可以取出处理的样品12。处理的样品12现在处于注射器中,然后可选地将其注射到受试者体内。可替换地,如果注射器室86用作样品室,则注射器室86用于直接向受试者注射其中包含的脂肪样品12。

[0127] 该设计还允许在相对较短的时间段内(例如根据一些实施方式小于十分钟)进行快速和多次反复。例如,在若干实施方式中,20次反复可以在4分钟内完成,而100次反复可以在20分钟内完成。在该平台中,可以实现0mL/min至700mL/min(或更高)的任何流速,例如0mL/min至约10mL/min、约10mL/min至约25mL/min、约25mL/min至约50mL/min、约50mL/min至约75mL/min、约75mL/min至约100mL/min、约100mL/min至约200mL/min、约200mL/min至约300mL/min、约300mL/min至约400mL/min、约400mL/min至约500mL/min、约500mL/min至约600mL/min、约600mL/min至约700mL/min以及它们之间的任何速率(包括端点)。在先前基于注射泵的过程中,流体泵可以达到的最大流速为约12.5mL/min。例如,图15示出了使用图11中所示类型的系统10通过微流体芯片14的作为RPM的函数的平均流速的图表。此外,本文描述的系统10能够产生高剪切力;远高于使用基于注射泵的过程产生的剪切力,如图16中所示。该设计还具有在约10秒内执行单次反复处理的优点,这比其它基于泵的处理快得多。

[0128] 图17示出了实验获得的数据的图表,示出了使用图5中所示的系统10处理的,通过两个不同的微流体芯片14的流速(mL/min)作为RPM的函数。第一微流体芯片14是图14G中所示的类型(例如,具有扩张和收缩区域的分支微流体通道)并且包括200μm的深度和300μm的宽度。第二微流体芯片14是图14G中所示的类型(例如,具有扩张和收缩区域的分支微流体通道)并且包括1mm的深度和300μm的宽度。如图17中所示,即使在低于1,500的RPM下也可实现高流速。图18示出了示出具有较小尺寸(例如,200μm的深度和300μm的宽度)的微流体芯片14的作为RPM的函数的计算的剪切应力的图表。使用以下方程式计算剪切应力:

$$[0129] \quad \tau = \frac{6\mu Q}{w h^2} \quad (1)$$

[0130] 其中 τ 是剪切应力,“6”是常数, μ 是流体粘度, Q 是流速, w 是通道的宽度,而 h 是通道的深度。如图18中所示,使用微流体芯片14实现高达60,000达因/cm²(每次通过微流体芯片14)的剪切力。当然,使用更高RPM的马达42可以实现高于60,000达因/cm²的剪切力。在若干实施方式中,可以实现约10,000达因/cm²至约100,000达因/cm²的范围的剪切力,包括约10,000达因/cm²至约20,000达因/cm²、约20,000达因/cm²至约30,000达因/cm²、约30,000达因/cm²至约40,000达因/cm²、约40,000达因/cm²至约50,000达因/cm²、约50,000达因/cm²至约

60,000达因/cm²、约60,000达因/cm²至约70,000达因/cm²、约70,000达因/cm²至约80,000达因/cm²、约80,000达因/cm²至约90,000达因/cm²、约90,000达因/cm²至约100,000达因/cm²或它们之间(包括端点)的任何力。

[0131] 系统10的一个主要应用是解离、富集和活化在脂肪组织中存在的干细胞。如本文所解释的,在微流体芯片14、14'的一个或多个微流体通道16内产生的剪切力用于分解脂肪组织、间充质干细胞和在脂肪组织内存在的其它细胞。本文所示的各种微流体芯片14设计(例如,图14A-14J)对样品施加增加的剪切应力。例如,微流体通道16的收缩部、渐变部和成形表面分解脂肪组织并活化在其中存在的细胞。

[0132] 系统10可以用在其它应用中。例如,该系统可以用于肿瘤细胞分离。在这个意义上,其还可以用于一般的细胞解离器或细胞分离器,其中样品被分解成单个细胞或几个细胞的聚集体。图19示出了对使用本文描述的系统10通过微流体芯片14的肿瘤细胞拍摄的显微图像。如图19中所示,在视场中存在大量单个细胞。这与未处理的肿瘤组织的对照相反,该未处理的肿瘤组织可以在图20中看到,其具有少得多的单个细胞。可以用于系统10的另外的组织类型包括例如脑组织和骨髓。细胞也可以通过微流体芯片14、14'在细胞上施加剪切应力,使得它们可以经历表型或其它变化(例如,间充质干细胞)。单独地,微流体芯片14、14'通过向聚集体施加剪切应力以剪除单个细胞以进行分离来分解细胞聚集体。然后将这些单细胞分类(例如,肿瘤类型)或分析单细胞的细胞内信号或分泌物。

[0133] 图21示出了微流体芯片14的一个实施方式,其可以用于分选单个细胞或按大小分选细胞以用于实验室或诊断。例如,在分解肿瘤细胞或胰岛细胞之后,微流体芯片14可以用于分选和捕集单个肿瘤细胞用于研究。微流体芯片14设计为分选单个细胞或任何特定大小的聚集体。微流体芯片14具有样品进入/离开的两个入口或出口292,其具有截面积(x)。然后样品流过主通道294,其横截面积大于、小于或等于入口/出口的截面积(x)。当样品流过主通道294时,其经过形成在微流体芯片14的底部和/或侧面中的小贮存器296。贮存器296可以包括尺寸小于例如约100微米直径的孔。这些贮存器296小于或等于主通道294的截面积。取决于应用,可以将小贮存器296制成单个细胞或聚集体的特定尺寸。贮存器也可以与主通道294成相对于垂直0至90°的角度(例如,0°至10°、10°至30°、30°至45°、45°至60°、60°至90°等)以增加效果并更好地捕集细胞。在一个实施方式中,可以将捕集的细胞从微流体芯片14中冲出以进行下游分析。在替代性实施方式中,细胞可以保留在贮存器296中并且在芯片上直接成像或以其它方式分析。

[0134] 此外,该系统10可以安装任何类型的微流体芯片14、14',因此允许其对几乎任何微流体装置都是通用的。因为该平台可以集成任何用于处理的芯片,所以未来的应用可以包括:干细胞治疗、阿尔茨海默症治疗、关节炎治疗、伤口护理治疗、美容、脊髓损伤、骨折损伤、脑损伤、溃疡治疗、器官治疗、血液治疗、修复治疗、免疫治疗、营养应用、生发治疗、视力治疗、神经治疗、肌肉治疗和软骨置换。

[0135] 图22示出了样品室300的另一个实施方式,其可以与图23中所示的外罩46'实施方式一起使用。在该实施方式中,样品室300包括内室302,其与入口304和出口306流体连通。入口304用于向内室302填充样品,并且包括设置在其中的单向阀308。单向阀308可以包括任何类型的机械阀,并且还可以包括可释放的隔膜。如下文所解释的,入口304和单向阀308的尺寸为使得包含样品的注射器320(图23)可以插入该入口304并打开单向阀308,使得注

射器320的内容物可以装载到内室302中或从内室302移除。

[0136] 腔室300的出口306例如使用端口20、22与微流体芯片14流体连通。内室302包括倾斜的下表面310。倾斜的下表面310倾斜以驱使腔室300的内容物朝向入口304,使得当提取处理的样品时,取回整个样品。样品室300包括通气通道312,其在内室302与样品室300的外部之间连通(即,通向大气)。如图22中所示,通气通道312从腔室300的前部的内侧(连接到微流体芯片14的一侧)通向腔室300的后部的大气(后部是附接注射器以填充内室302的位置)。这允许在处理期间的气流,因此流体均匀地移动通过。

[0137] 图23示出了与图22中所示的腔室300一起使用的外罩46'的实施方式。如图23中所示,微流体芯片14与腔室300一起安装在托架60上。该实施方式中的外罩46'包括碗48,其可以用于捕获在该过程期间无意中溢出或释放的任何样品。外罩46'还包括位于外罩46'一侧的入口孔52,其尺寸为容纳注射器320,使得样品可以在处理后装载到腔室300或从腔室300中移除。图23示出了注射器320,其延伸通过入口孔52并插入腔室300的入口304中,由此未处理的样品可以在处理完成之后被装载到内室302或从其中移除。

[0138] 为了装载或卸载腔室300,微流体芯片14与入口孔52对齐,然后注射器320插入该入口孔52并进入该入口304以打开单向阀308。一旦完成,移除注射器320,其然后关闭单向阀308并防止任何样品泄漏。然后通过托架60及其微流体芯片14的多个旋转或转动循环来如本文描述的处理微流体芯片14,使得样品来回通过微流体芯片14。在处理之后,可以旋转支撑板30以使微流体芯片14与入口孔52对齐。使用者将注射器320附接到腔室300的入口304,打开单向阀308。然后可以将处理的样品提取到注射器320中。倾斜的下表面310有助于排出腔室300的整个内容物。可以对每个微流体芯片14进行该卸载过程。

[0139] 图24-26示出了系统10的另一个实施方式。在该实施方式中,系统10包括顶板或环350,其与一个或多个注射器352接合,该注射器相对于微流体芯片14垂直安装。使用衔接件80等(例如,图2)将注射器352的出口连接到微流体芯片14的端口20,该衔接件将注射器352的端部与微流体芯片14流体连接。如本文所公开的,微流体芯片14的相对端可以连接到样品室70、72。注射器352的注射器柱塞354经由顶板或环350使用钩子或夹子356保持,该钩子或夹子的尺寸为保持注射器柱塞354,如图25中所示。在优选实施方式中,存在径向向内(例如,内部)的第一组钩子或夹子356以及径向向外(例如,外部)定位的第二组钩子或夹子356,如图25中所示。在一些实例中,第一组钩子或夹子356和第二组钩子或夹子356配置为允许注射器柱塞354的远端容易地固定到每个钩子或夹子356中的每一个和从其中移除。取决于微流体芯片14和附接的注射器352的“旋转”状态,这些不同的钩子或夹子356与注射器柱塞354接合。如下面将更详细讨论的,当托架60旋转时,附接到微流体芯片14的注射器352可以从径向向内的位置旋转到径向向外的位置。当托架60旋转时,注射器352的远端可以从径向向内的第一组钩子或夹子356脱离,并且随后接合/固定到径向向外定位的第二组钩子或夹子356。

[0140] 因此,在该实施方式中,一个或多个注射器352通常垂直于微流体芯片14的旋转平面保持。顶板或环350可旋转地安装在轴承358上,该轴承具有内螺纹并与螺纹杆360接合,该螺纹杆附接到旋转马达362。轴承358使得顶板或环350能够与微流体芯片14和附接的一个或多个注射器352一起旋转。旋转马达362的启动引起螺纹杆360的旋转和顶板或环350的垂直移动。沿一个方向的旋转导致顶板或环350在箭头A的方向上向下移动,由此将注射器

柱塞354向下推入注射器352的筒中。马达362在该方向上的移动用于将注射器352的内容物排出到微流体芯片14中。相反,旋转马达362在相反方向上的移动导致螺纹杆360在相反方向上旋转并实现顶板或环350在向上方向上的移动(由箭头B所示),由此将注射器柱塞354从注射器352的筒中拉出。马达362在该方向上的移动用于将样品从微流体芯片14拉入或排出到注射器352中。旋转马达362可以固定到外罩46的顶部,如图24中所示。

[0141] 在该实施方式中,随着微流体芯片14安装在支撑板30上的托架60中,注射器352在一端(如图24所示的径向向内位置)经由衔接件80等或在另一端经由钩子或夹子356附接到微带芯片14。系统10包括控制面板370,其可以安装在外罩46上并且可以用于编程运行参数(例如,RPM速率、运行时间、减速率、循环数、循环时间等)。控制面板370还可以用于使用显示器372等监测特定运行的状态。提供按钮374,使得用户可以与控制面板370交互。系统10开始于支撑板30使用马达42旋转,如前文所解释的。在旋转过程期间,注射器352与微流体芯片14一起旋转。启动旋转马达362以使顶板或环350向下行进以使样品从注射器352移动并进入微流体装置14。驱动支撑板30和旋转马达362的主马达42停止旋转,并且具有微流体芯片14的注射器352将旋转180°(例如,减速导致旋转,尽管也可以使用任何其它旋转方式)。图26示出了微流体芯片14和注射器352旋转180°到径向向外的位置。如上面所讨论,托架60和附接的微流体芯片14和注射器352的旋转可以通过各种方式完成。注射器352的旋转使柱塞354与柱塞354的远端所附接的钩子或夹子356脱离。然后,注射器352可以与一组不同的钩子或夹子356(即,径向向外的钩子或夹子356)接合。然后启动驱动支撑板30和旋转马达362的主马达42(在相反方向上),由此顶板或环350远离微流体芯片14移动并用于在相反方向上将样品拉过微流控芯片14。该过程可以重复任何次数或循环。在处理之后,可以将包含现在处理的样品的注射器352从系统10中移除并且该注射器直接用于向患者或受试者注射处理的样品(例如,脂肪组织)。

[0142] 如本文所解释的,系统10的一个主要用途是处理脂肪组织以产生治疗和/或美容应用。一个有利方面是处理在不需要添加酶或其它消化剂(例如,胶原酶)的情况下进行。例如,需要用于伤口愈合应用的处理组织的非化学处理,由此保留天然的细胞外基质成分。当然,在其它实施方式中,例如在其中在实验室环境中评估样品的那些环境中,可以添加可选的消化剂,如胶原酶或其它化学品或化学试剂。这些添加的试剂可以用于提高细胞内和亚细胞成分收获的效率。

[0143] 虽然脂肪(或其它)组织被描述为使用微流体芯片14处理,但是应当理解的是,组织处理可以伴随各种另外的处理操作,如洗涤步骤或过滤步骤。这些另外的处理步骤可以包括在芯片上(例如,在微流体芯片14上),或者它们在芯片外进行(即,在微流体芯片14上处理样品之后)。例如,可以将洗涤溶液装载到腔室70、72或可以用于洗涤微流体芯片14中的样品的其它单独的洗涤室(未示出)中。同样,可以使用如图13中公开的过滤元件190来在离开微流体芯片时过滤样品。可以使用多个过滤器来执行顺序过滤。

[0144] 在又一实施方式中,通过系统10的样品12包括细胞。系统12可以用于通过使细胞通过微流体芯片14并使其暴露于高剪切力来破坏(即,裂解)细胞。细胞裂解将释放细胞内容物,其可以含有一种或多种亚细胞细胞器、细胞成分、膜结合细胞器、细胞外囊泡、蛋白质、核酸、旁分泌因子等。在若干实施方式中,这些成分可以在细胞内释放并且可以具有治疗和/或美容功效。这些释放的细胞内成分可以具有治疗或美容功效。例如,患者自身的细

胞可以通过系统10并经受破坏或裂解以释放细胞内内容物。然后可以取回细胞内容物并将其用于患者体内。这些可以在一些实施方式中在处理之后立即使用,或者它们可以被收集和存储以供将来使用。在一些实施方式中,所提取的细胞内成分可以用于同一患者(即,自体的)或不同的患者(即,同种异体的)。在另外的实施方式中,可选地培养处理的细胞,例如在具有适当营养物等的体外培养基中,以促进细胞生长。在若干实施方式中,选择条件以增强细胞的分泌蛋白产生。这可以包括某些生长因子、培养基浓度/pH,或在一些实施方式中,包括低氧培养条件(例如,约0.1%、约0.5%、约1% O₂)以优化分泌蛋白的产生。在若干实施方式中,培养的细胞(后处理)分泌可以从培养基中分离的一种或多种成分。在若干实施方式中,培养的细胞(后处理)产生膜整合的或膜维系的一种或多种因子,其也可通过裂解或以其它方式处理细胞而分离。在若干实施方式中,这些分离的因子可以存储并用作现成的治疗剂以用于同种异体或自体治疗。可以从培养的(后处理)细胞中分离的成分的非限制性示例包括各种蛋白质、细胞因子、外来体等,如上描述的。在若干实施方式中,这些因子包括但不限于VEGF、HGF、IGF-1、SDF-1、PDGF-BB、NGF-β、SCF、bFGF、TNF-α、HGFA、MFG-E8以及它们的组合。在若干实施方式中,分离包括miRNA的外来体,包括例如单独地包括、彼此组合地或与其它微RNA组合地包括miR-223、miR-146b、miR-126和miR-199a的外来体。

[0145] 图27A和27B分别示出了使用图14B中所示类型的微流体芯片14通过图5中所示的组织处理系统的脂肪组织以及新鲜的、未处理的脂肪组织(标准脂肪组织提取物)的细胞计数和细胞活力结果的图表。新鲜的脂肪组织保持未处理(标准脂肪组织提取物)或使用组织处理系统(处理的脂肪组织提取物)以1600RPM处理二十(20)个循环(每个循环包括微流体芯片14的360°旋转)。随后,将每个处理后的样品与0.1%胶原酶组合以收获基质血管成分。

[0146] 简而言之,通过将I型胶原酶(Sigma-Aldrich CO., St. Louis, Mo.)与磷酸盐缓冲液组合制备0.1%酶消化溶液,然后使用0.22μm真空过滤器(Millipore Corp., Billerica, Mass.)将其灭菌。将1:1体积的胶原酶溶液与脂肪组织提取物在37℃的水浴中温育养30分钟,间歇地涡旋。然后加入等体积的对照培养基(改良杜氏伊格尔培养基(Dulbecco's Modified Eagle Medium)、10%胎牛血清、500IU青霉素和500μg链霉素)以中和酶活性,并使混合物分离至少10分钟。分离含有基质血管成分的液体清液下层,通过100μm细胞过滤网(Corning, Inc., Durham, N.C.)过滤,并以1800rpm离心8分钟。然后将每一种沉淀物重悬于红细胞裂解缓冲液(15.5mM氯化铵、1mM碳酸氢钾和0.01mM乙二醇四乙酸)中5分钟,以使红细胞污染最小化。加入5ml对照培养基之后,将悬浮液最后一次离心。在每个离心步骤后通过抽吸除去含水部分。然后将得到的沉淀物重悬于对照培养基中并进行染色和分析。

[0147] 将从每个样品获得的新鲜分离的基质血管成分(SVF)的一部分进行吖啶橙/碘化丙锭染色(Logos Biosystems, Inc., Annandale, Va.),并使用双荧光自动细胞计数器(Logos Biosystems)定量,其描绘了活细胞相对死亡细胞和有核细胞相对无核细胞。最后,将单细胞悬浮液等分到聚苯乙烯管中并用碘化丙锭染色。使每个管进行流式细胞仪(Miltenyi Biotec, Inc., Bergisch Gladbach, Germany)的绝对细胞计数功能以评估活力。图27A示出了标准脂肪组织提取物以及处理的脂肪组织提取物(使用图5的装置)的细胞计数的图表。使用该装置以1600RPM处理样品导致恢复的SVF细胞数量减少~4倍。如图27B所示,使用该装置以1600RPM进行处理不会导致恢复的细胞的活力的任何可辨别的差异。通

常,发现在不同的施加剪切速率下,随着细胞上累积剪切力的增加,这导致细胞的破坏增加。

[0148] 使用流式细胞术在标准脂肪组织提取物和处理的脂肪组织提取物中分析干细胞亚型和干细胞标记物。首先,通过门控活细胞(在前向散射相对侧向散射窗口的X轴上的200标记的右侧)来识别间充质干细胞(MSC)群体。接下来,专门门控CD45阴性的活细胞群体。最后,识别CD31阴性和CD45阳性的细胞。发现处理的脂肪组织提取物含有比标准脂肪组织提取物对应物更大比例的MSC(CD45-/CD31-/CD34+)。

[0149] 图28示出了从标准脂肪组织提取物与处理的脂肪组织提取物(使用图5的装置)获得的细胞的SVF中识别的干细胞标记物和亚型的图示。CD34是在装置处理后上调近3倍的通用干细胞标记物。类似地,发现对糖尿病伤口愈合至关重要的MSC亚群(CD45-/CD31-/CD34+)和MSC亚群(CD45-/CD31-/CD34+/DPP4+/CD55+)都在处理后富集。用‘*’表示的图形条表示 $p < 0.05$ 。

[0150] 分析使用图5的装置处理的糖尿病脂肪组织提取物和标准糖尿病脂肪组织提取物(未处理)的干细胞标记物和亚型。图29示出了处理的脂肪组织提取物和标准脂肪组织提取物的干细胞标记物(CD45、CD31、CD34、CD73、CD146、MSC、DPP4/CD55)的图表。CD34是一种通用干细胞标记物。在该特定受测患者体内,CD34在装置处理后上调近2倍。类似地,其它MSC标记物(CD73、CD146)以及内皮标记物(CD31)在装置处理后上调。最后,发现对糖尿病伤口愈合至关重要的MSC亚群(CD45-/CD31-/CD34+)和MSC亚群(CD45-/CD31-/CD34+/DPP4+/CD55+)都在糖尿病组织处理后富集。

[0151] 可以预期可以进行上面公开的实施方式的特定特征和方面的各种组合或子组合,并且各种组合或子组合仍然落入一项或多项发明内。此外,本文中对与实施方式相关的任何特定特征、方面、方法、性质、特性、质量、属性、元素等的公开内容可以用于本文阐述的所有其它实施方式中。因此,应当理解的是,所公开的实施方式的各种特征和方面可以彼此组合或替换以便形成所公开的发明的变化模式。因此,期望本文公开的本发明的范围不应受上述具体公开的实施方式的限制。此外,虽然本发明易于进行各种修改和替换形式,但是其具体示例已在附图中示出并在本文中详细描述。然而,应当理解的是,本发明不限于所公开的特定形式或方法,相反,本发明将涵盖落入所描述的各种实施方式和所附权利要求的精神和范围内的所有修改、等同物和替代物。本文公开的任何方法不需要按照顺序执行。本文公开的方法包括从业者采取的某些动作;然而,这些动作也可以明确地或暗示地包括对这些行为的任何第三方指示。例如,诸如“管理扩增的NK细胞群”等行为包括“指导对扩增的NK细胞群的管理”。此外,在根据马库什群组描述本公开的特征或方面的情况下,本领域技术人员将认识到,本公开也因此以马库什群组的任何单独成员或成员子群组的形式描述。

[0152] 本文公开的范围还涵盖任何和所有重叠、子范围以及它们的组合。诸如“至多”、“至少”、“大于”、“小于”、“在...之间”等语言包括所引用的数字。以诸如“约”或“大约”等术语开头的数字包括所引用的数字。例如,“约10纳米”包括“10纳米”。

[0153] 虽然已经示出和描述了本发明的实施方式,但是在不脱离本发明的范围的情况下可以进行各种修改。因此,除了以下权利要求及其等同物之外,本发明不应受到限制。

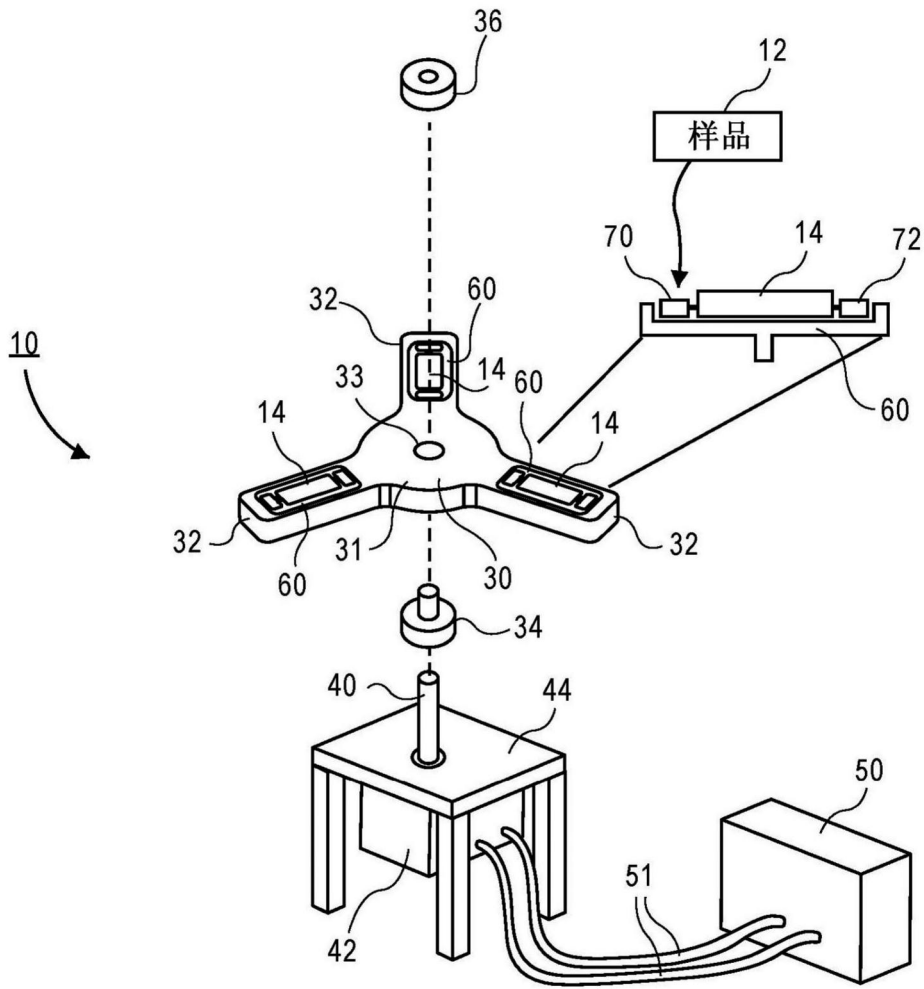


图1

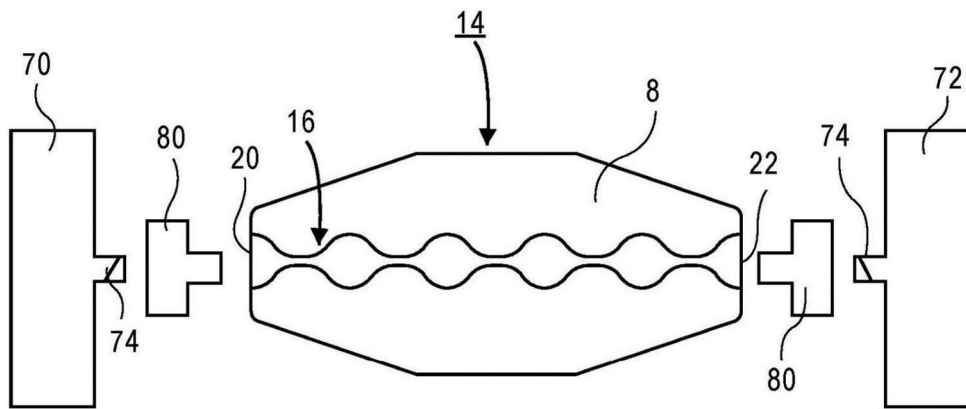


图2

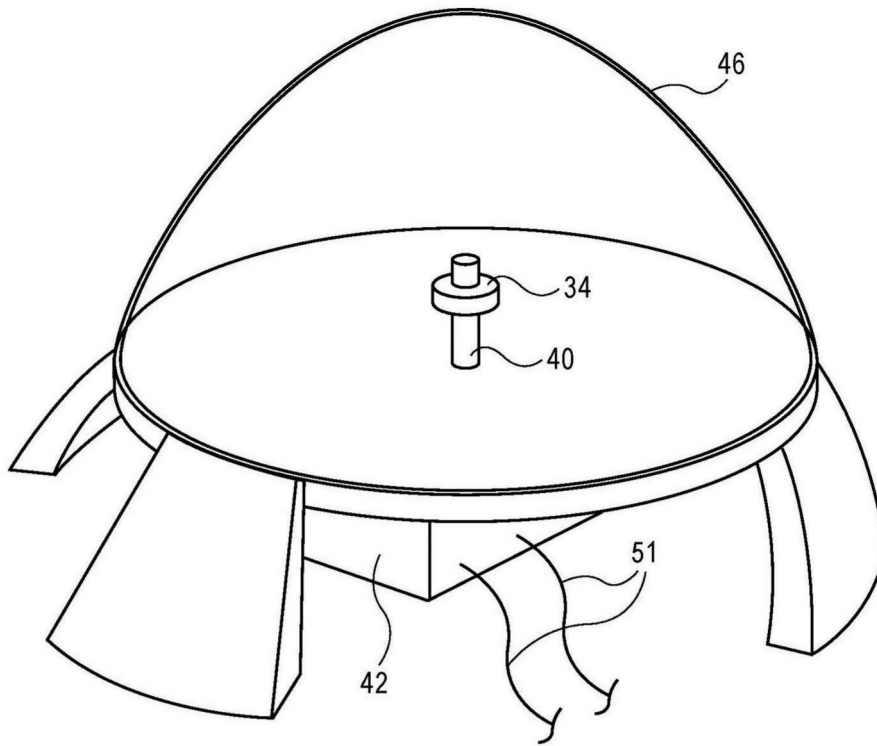


图3

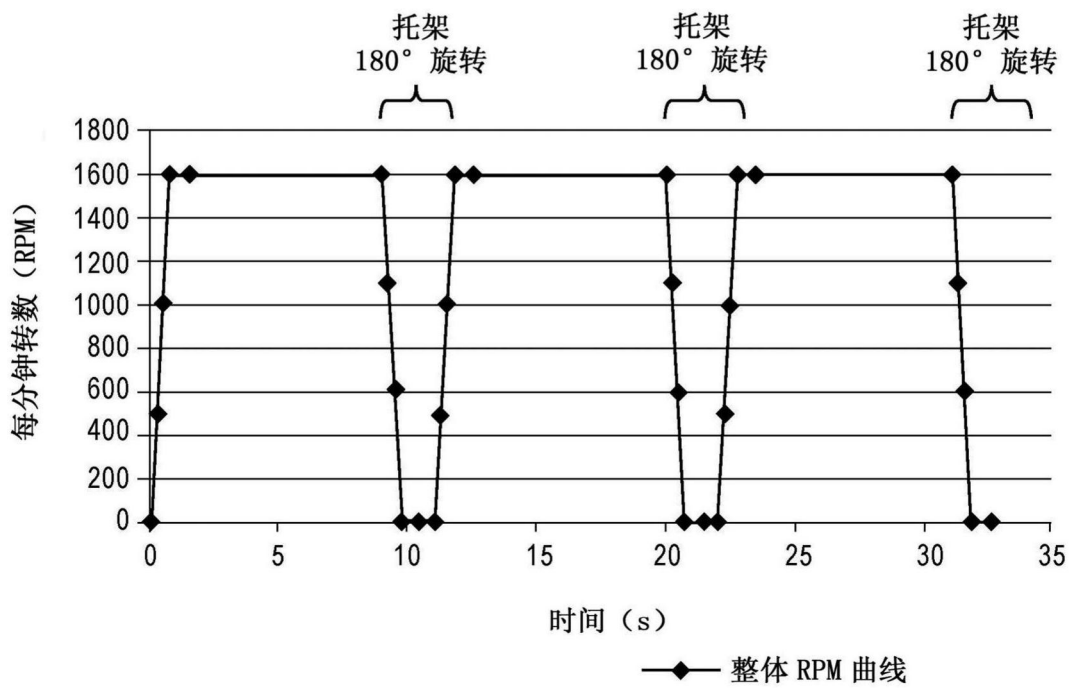


图4

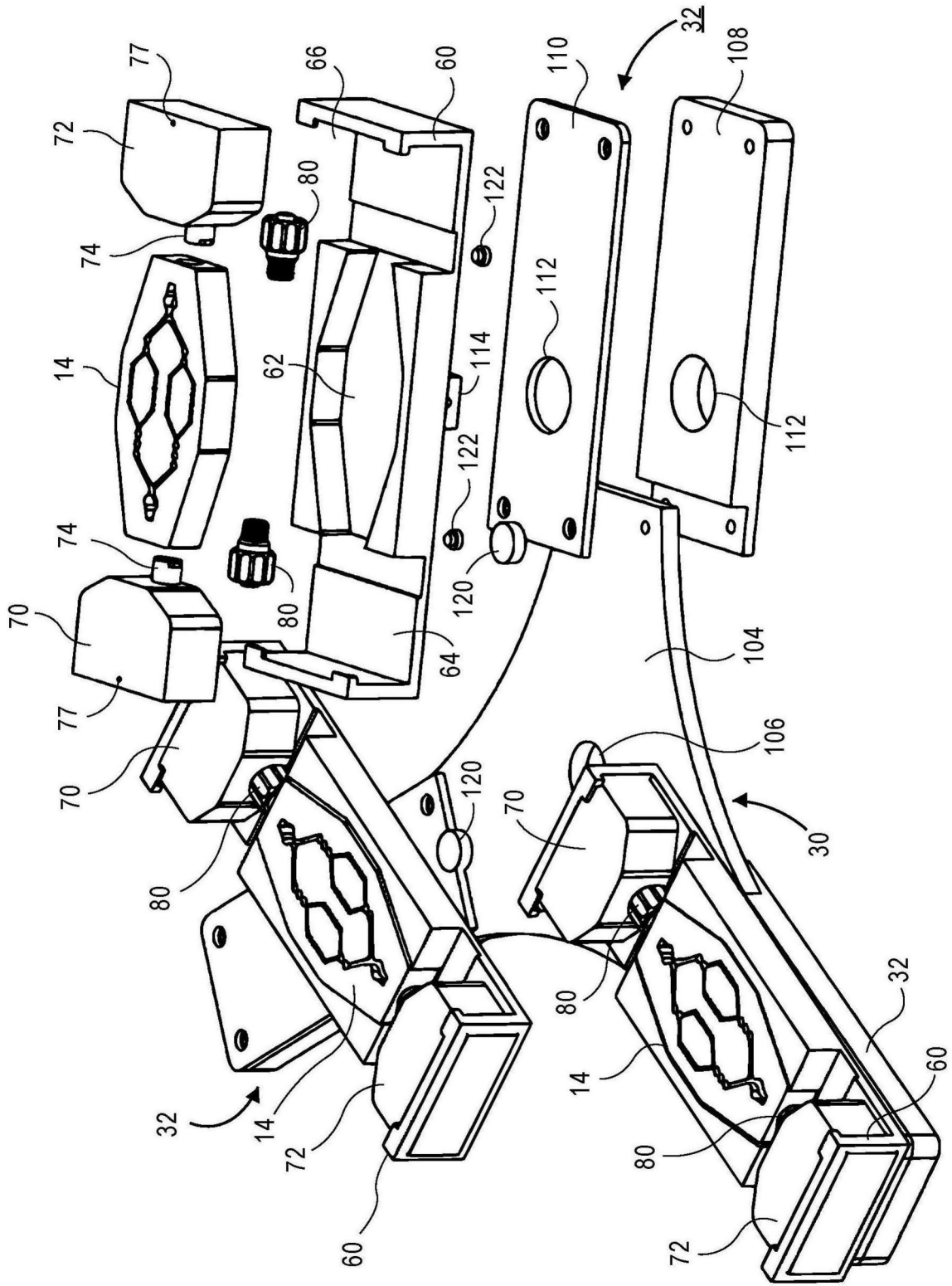


图5

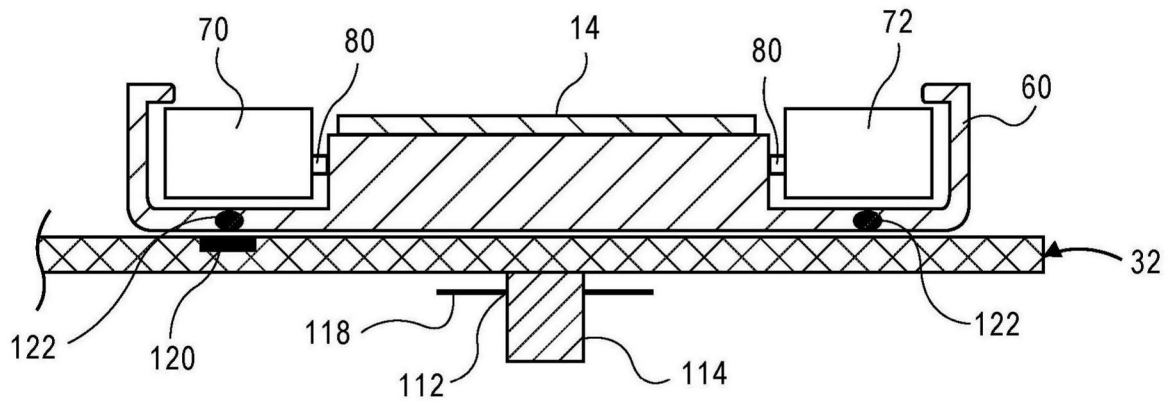


图6

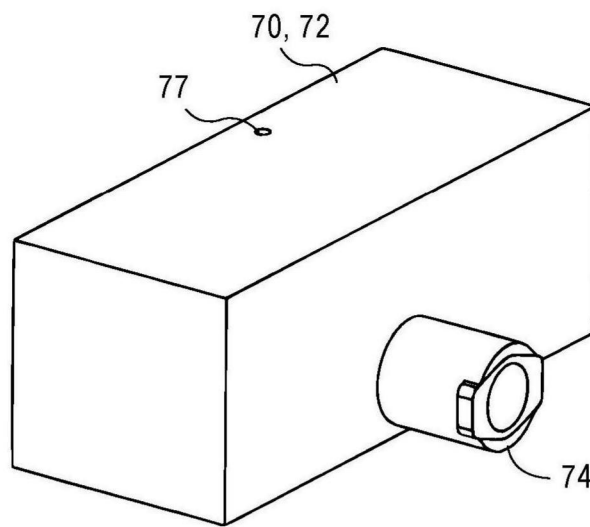


图7A

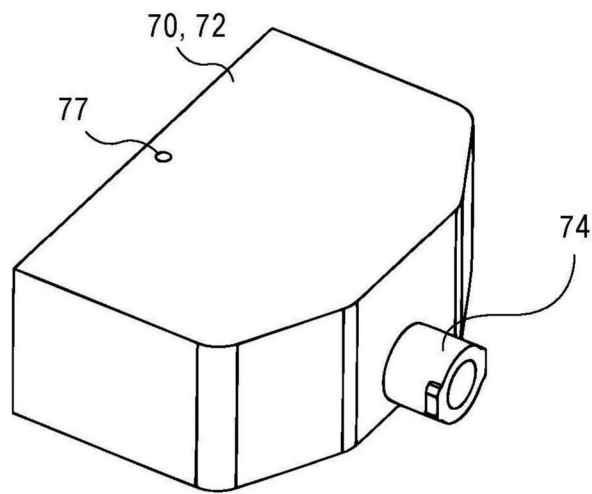


图7B

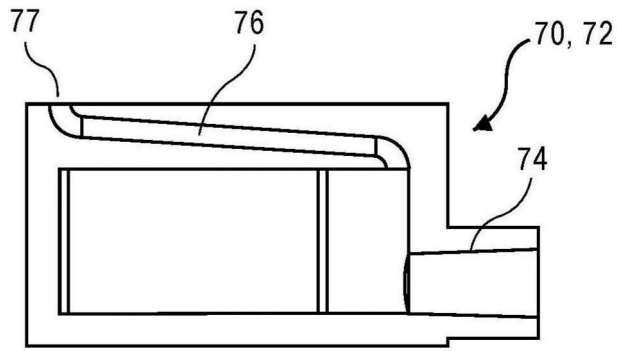


图7C

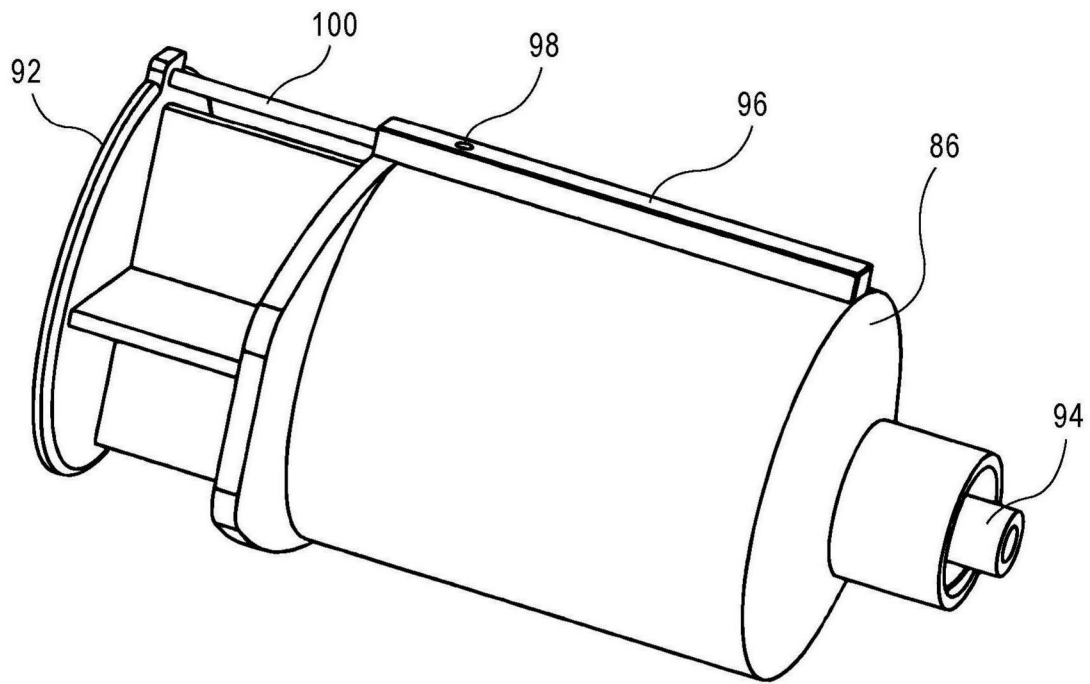


图8A

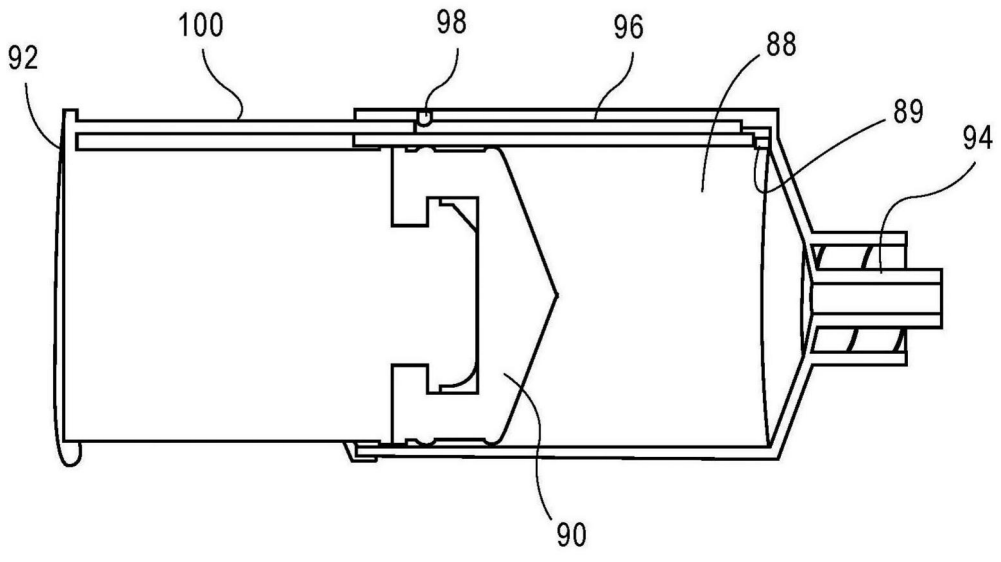


图8B

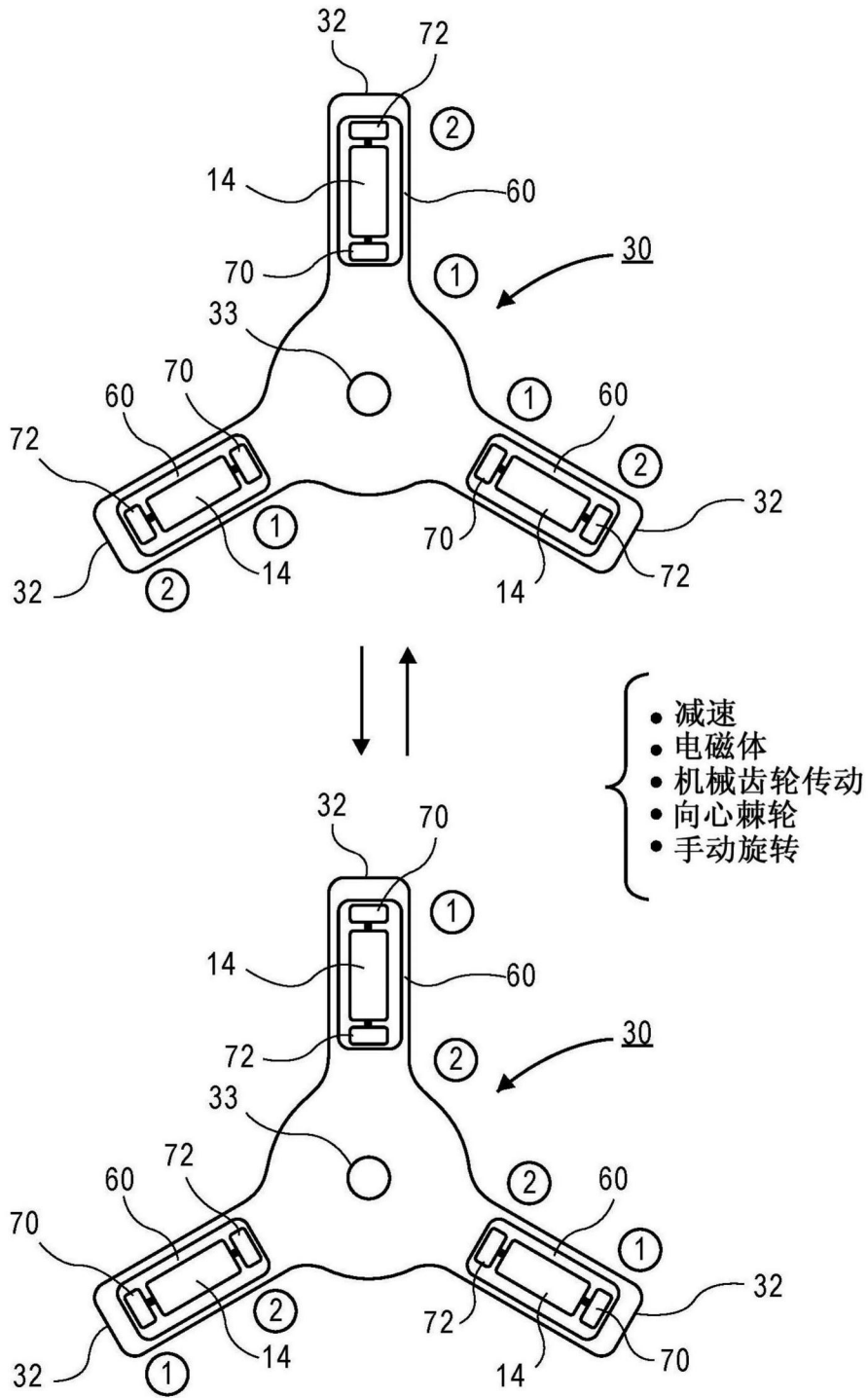


图9

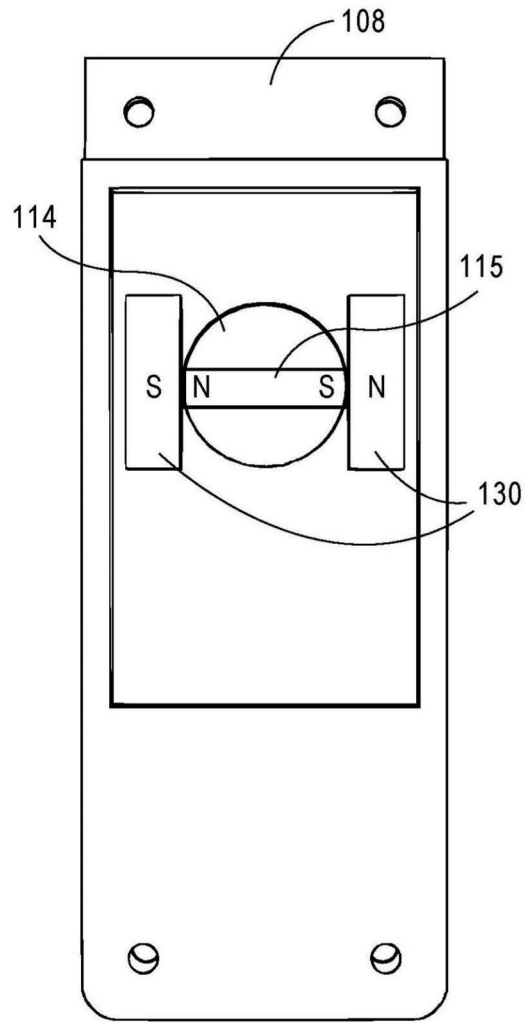


图10A

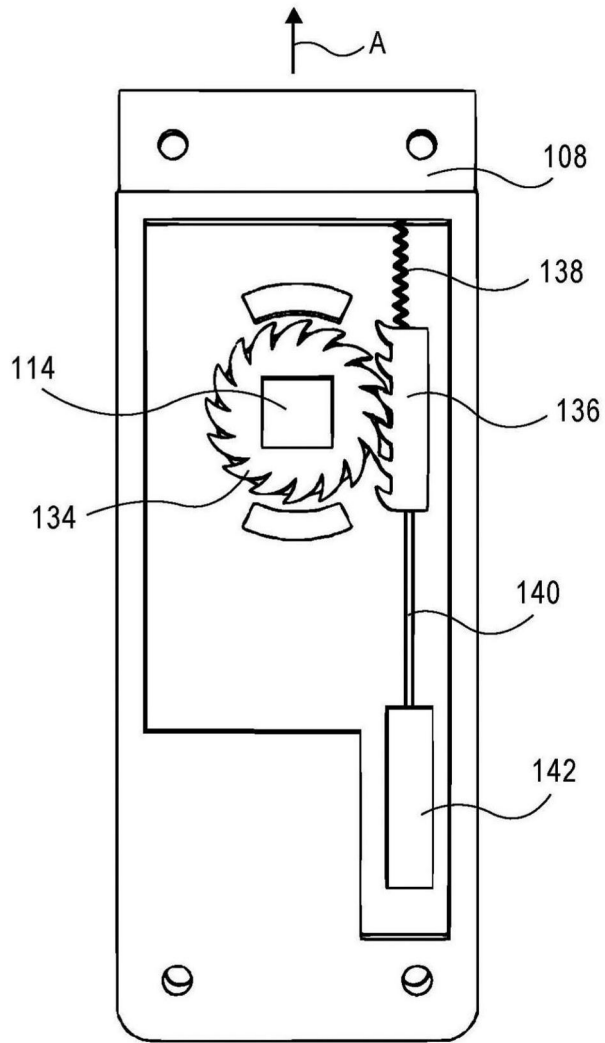


图10B

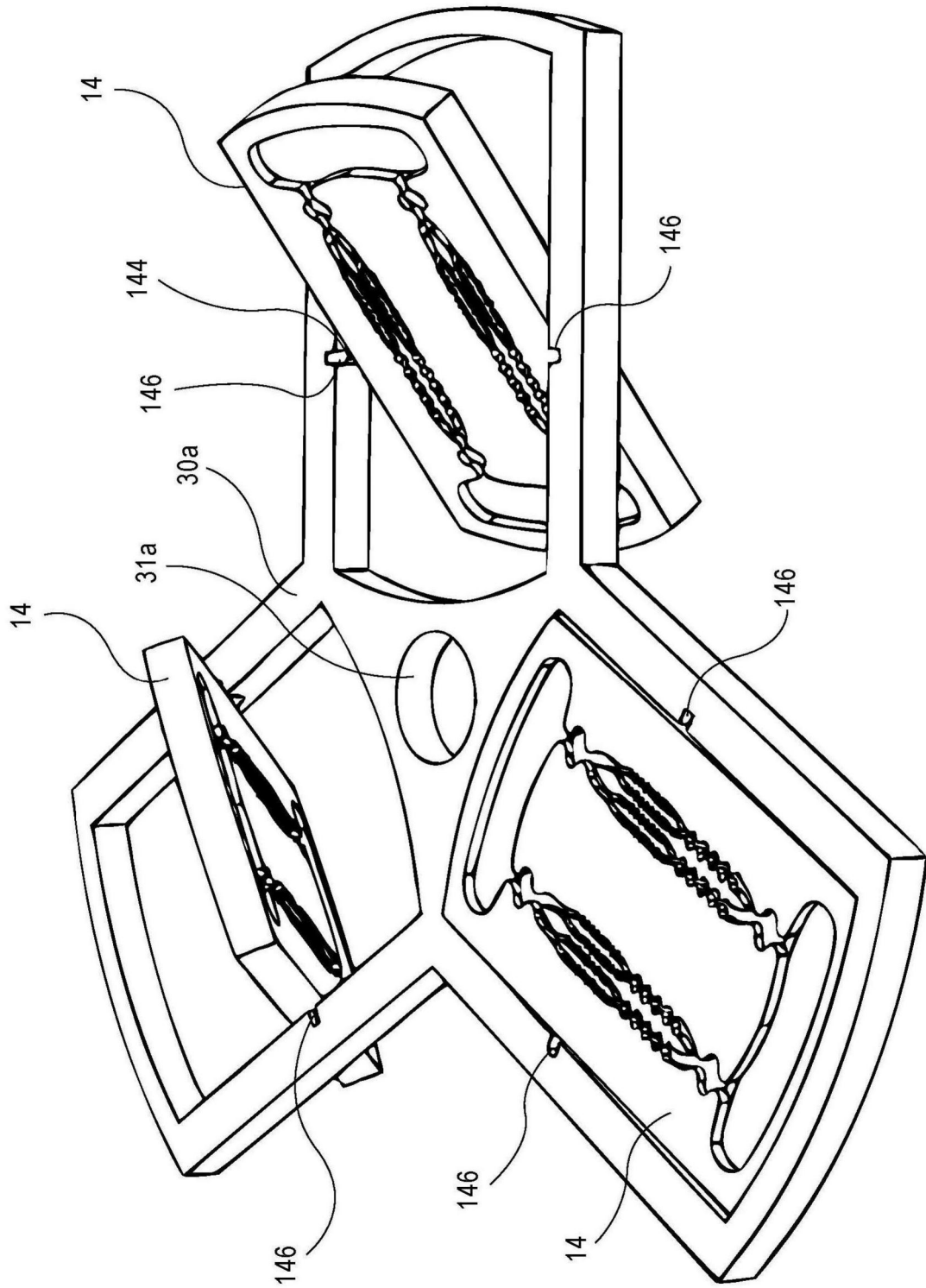


图11

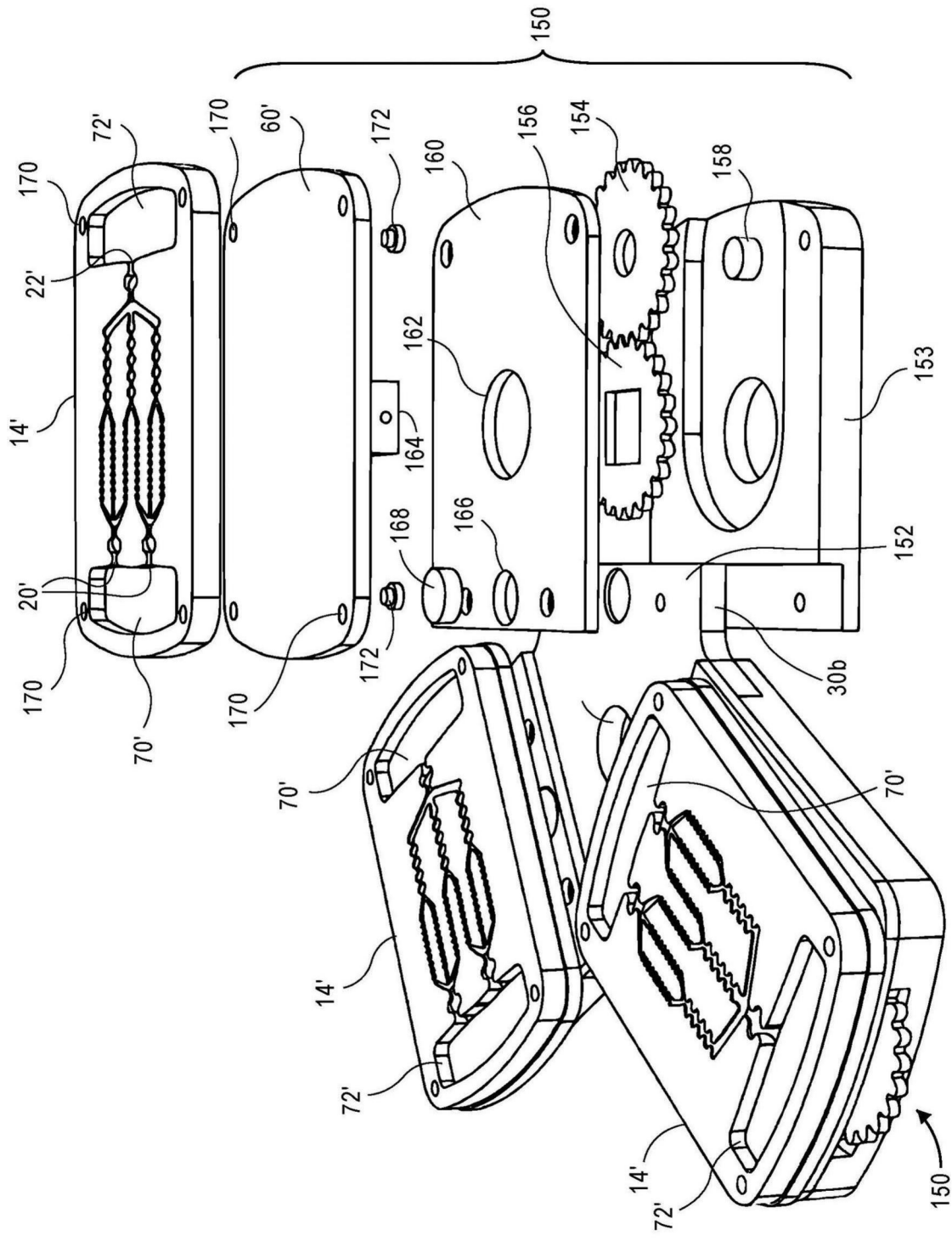


图12A

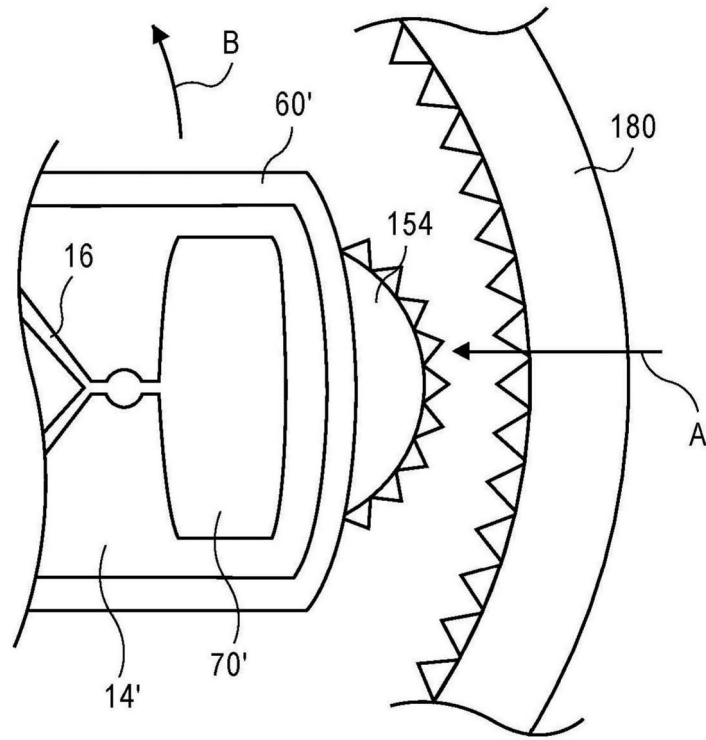


图12B

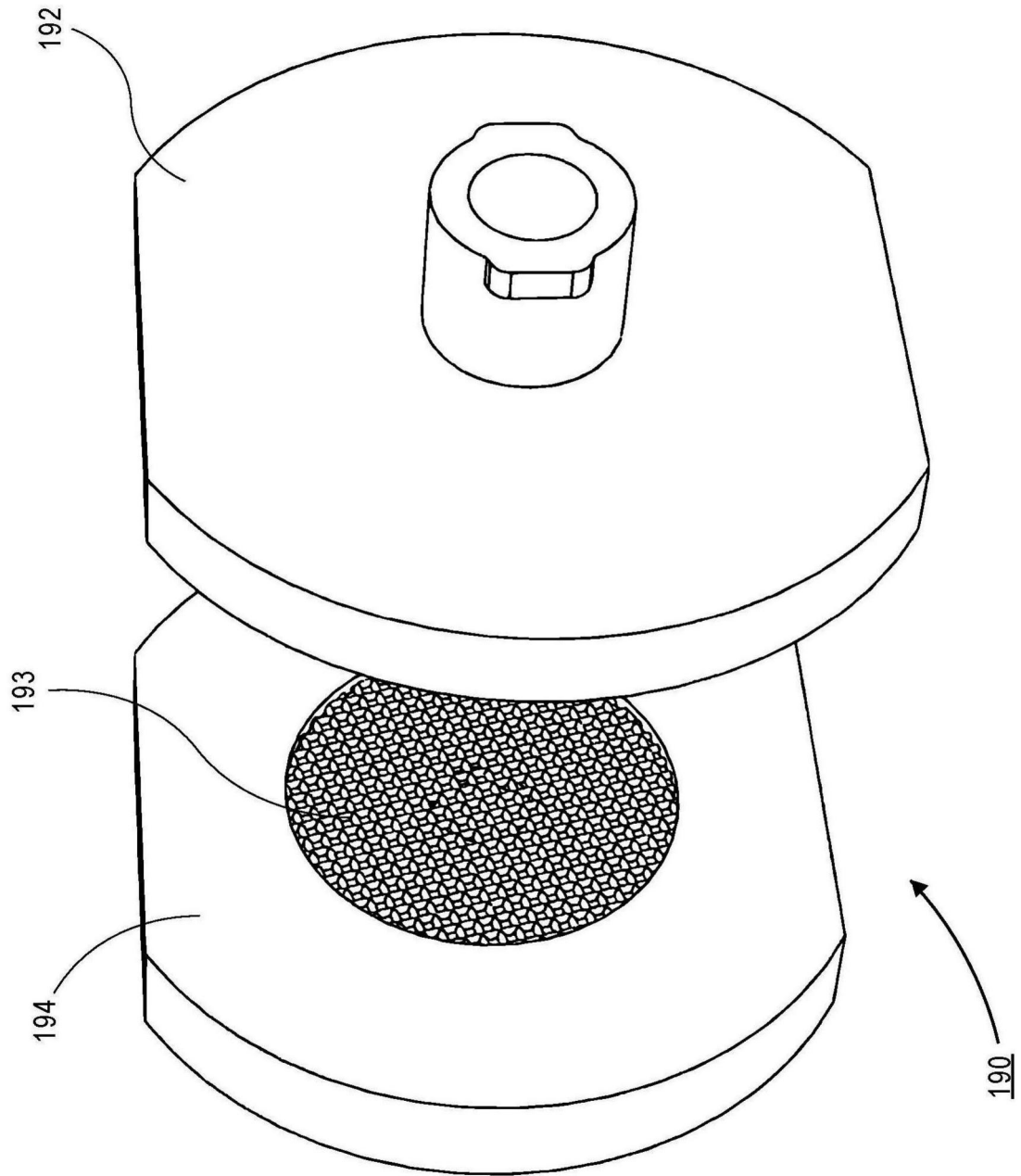


图13

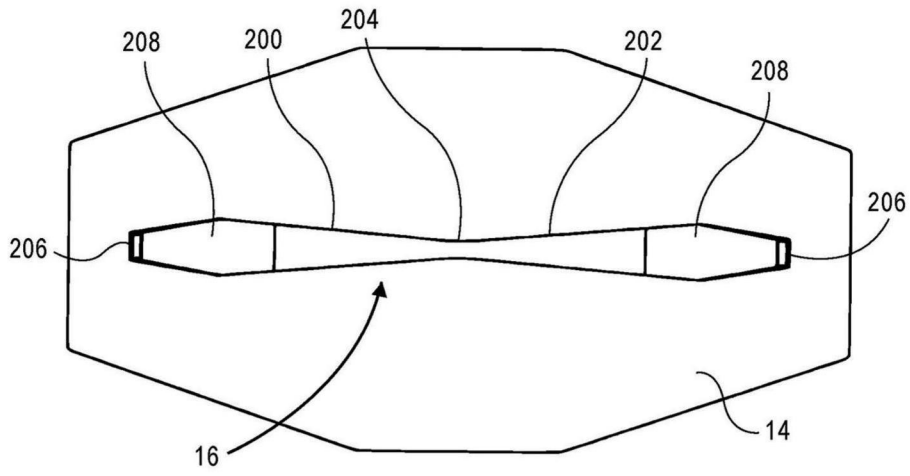


图14A

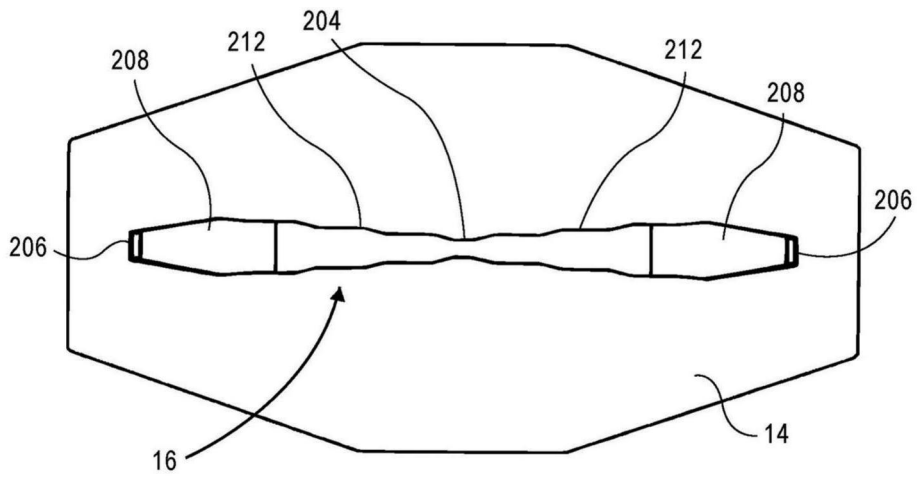


图14B

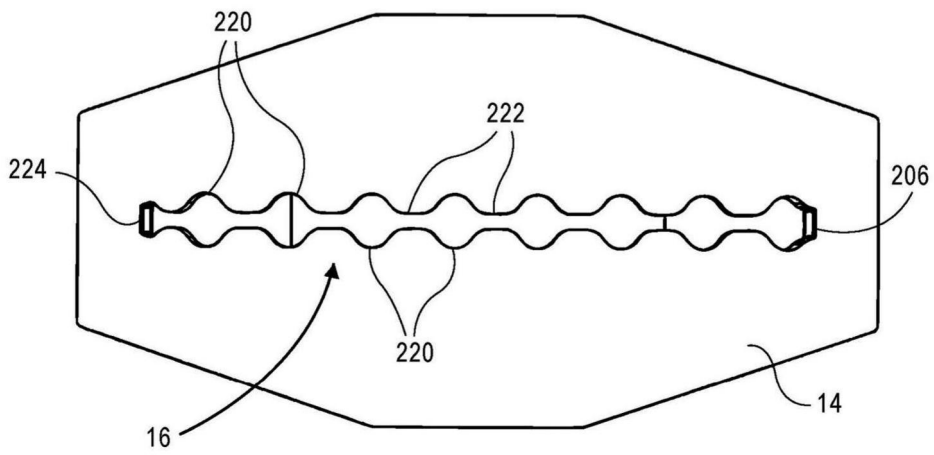


图14C

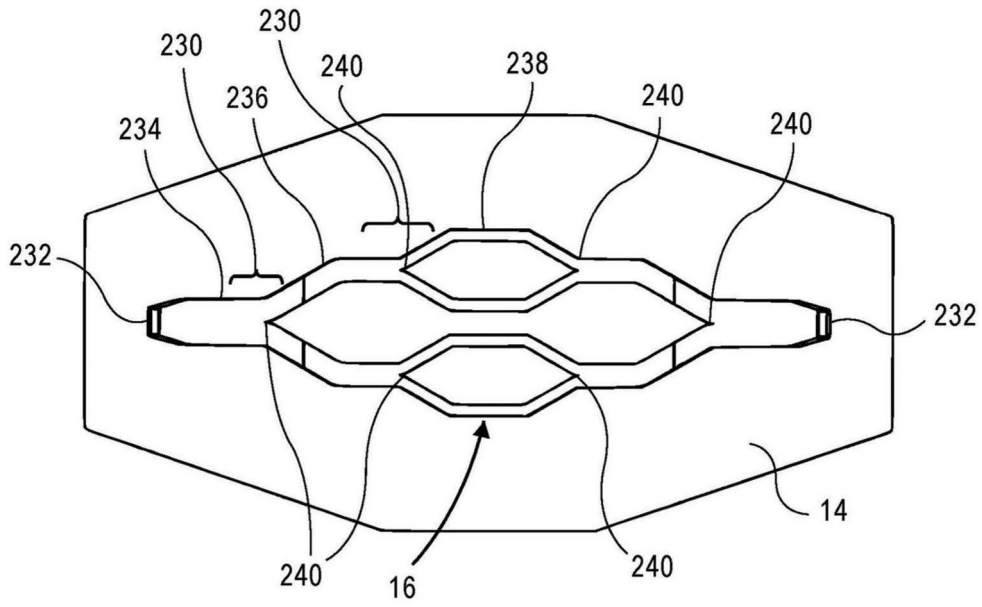


图14D

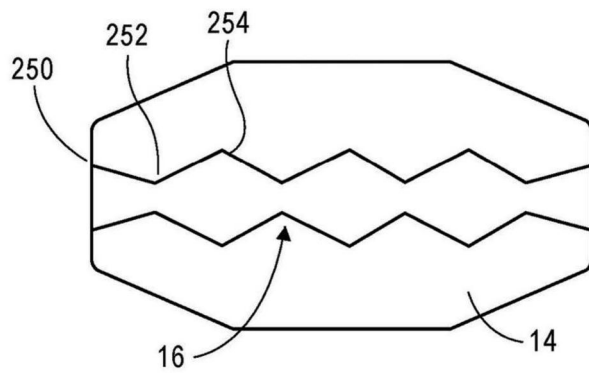


图14E

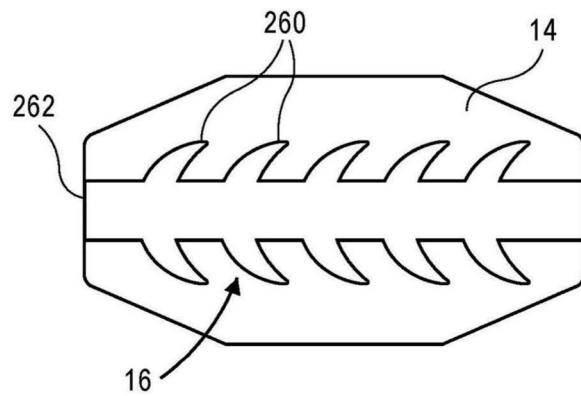


图14F

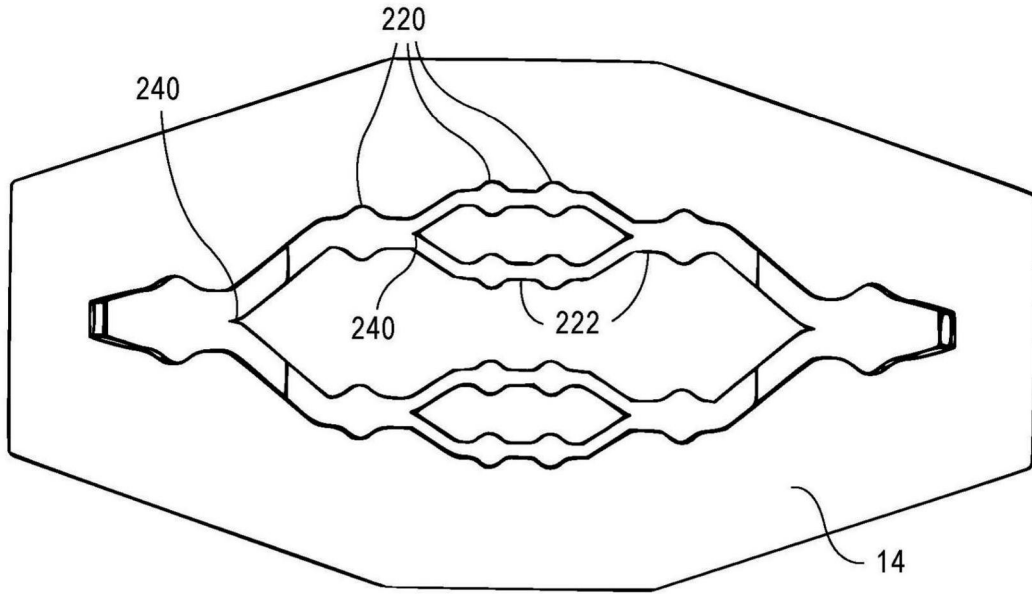


图14G

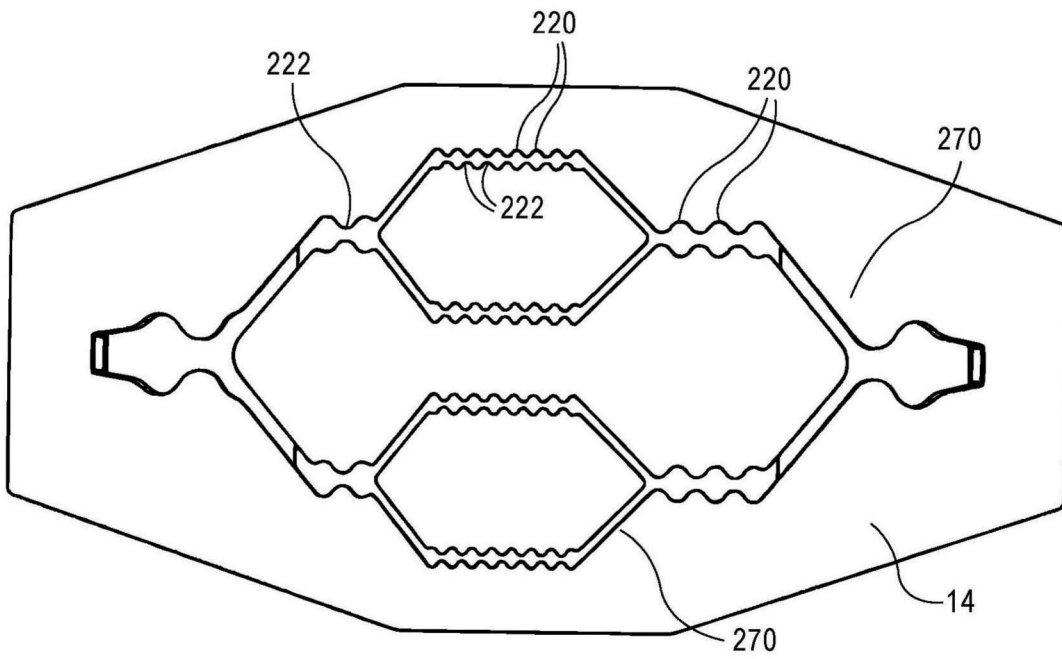


图14H

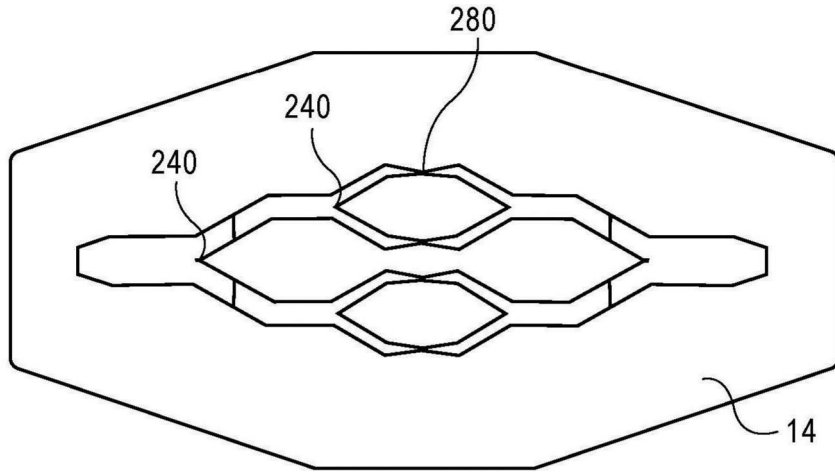


图14I

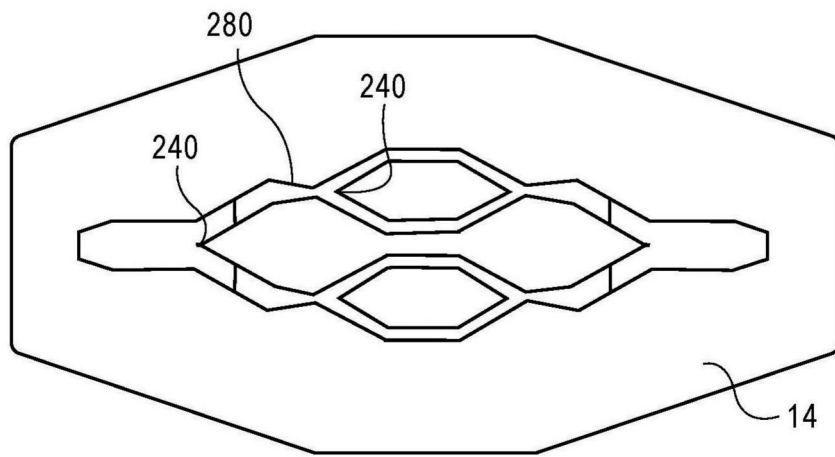


图14J

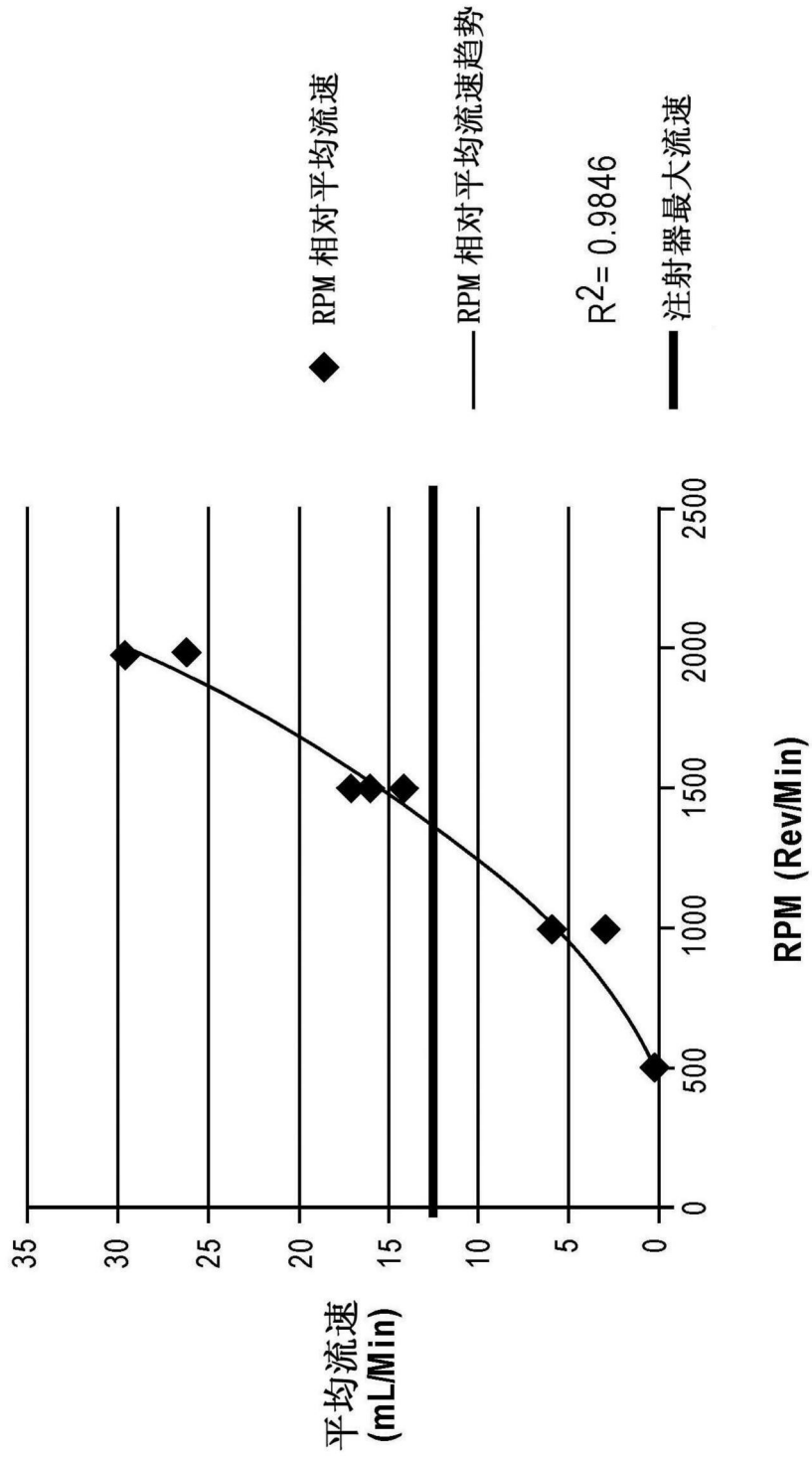


图15

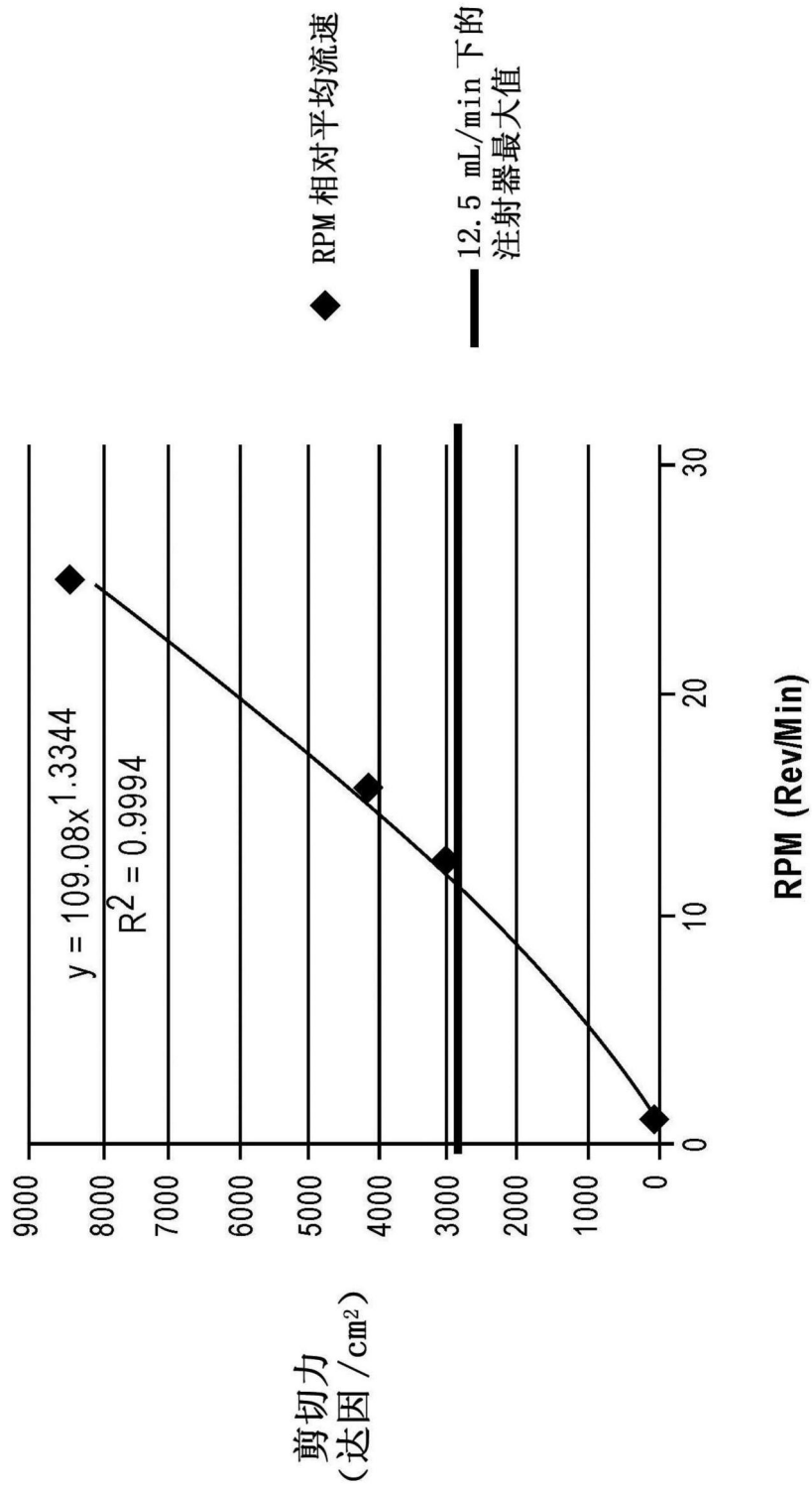


图16

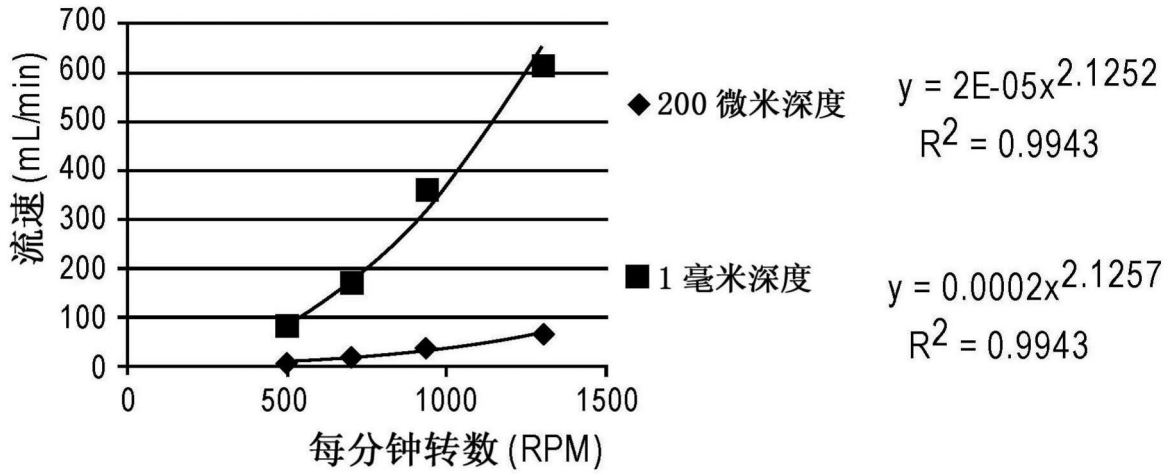


图17

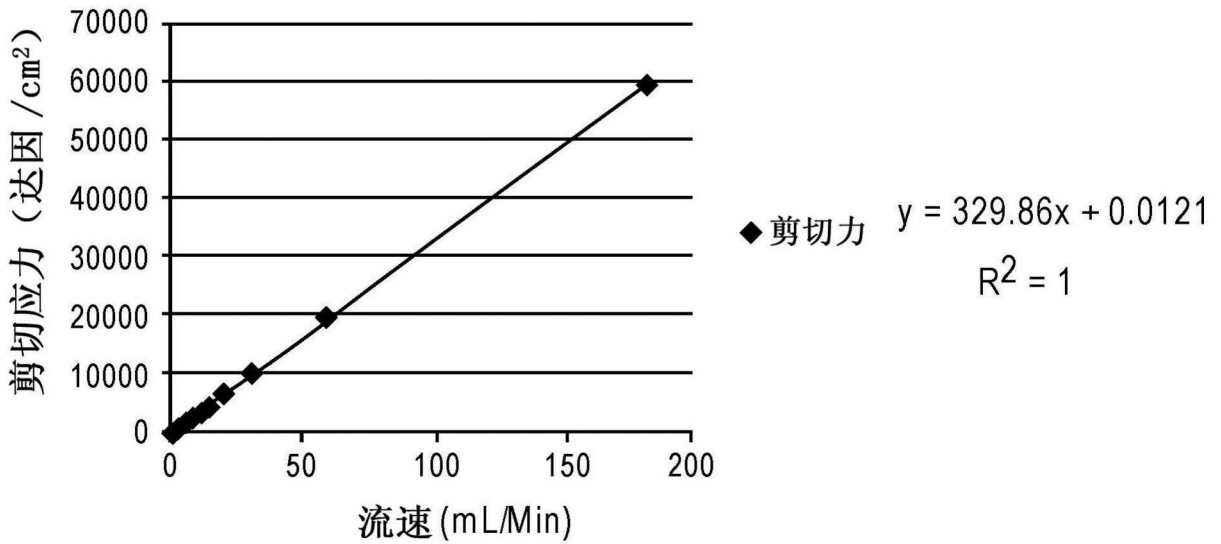


图18

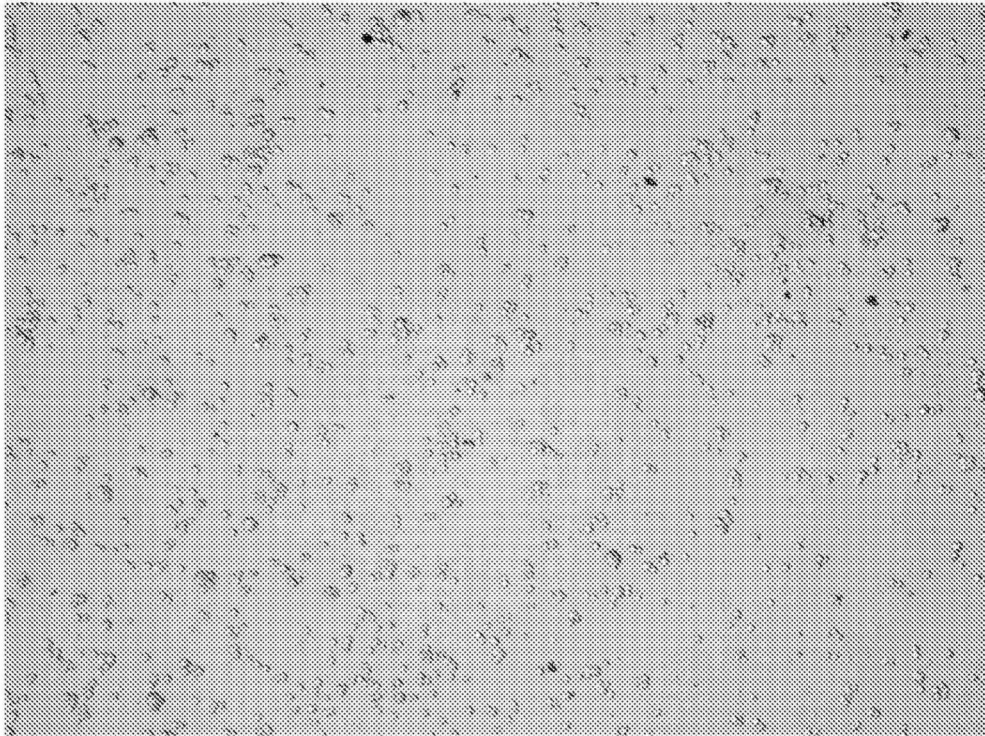


图19

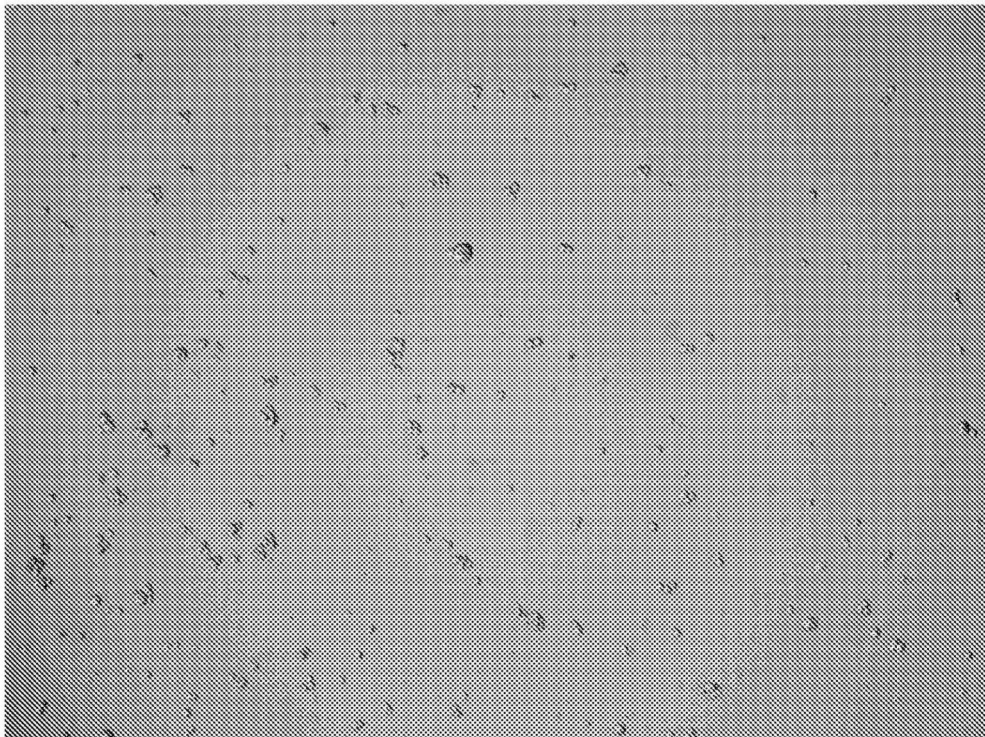


图20

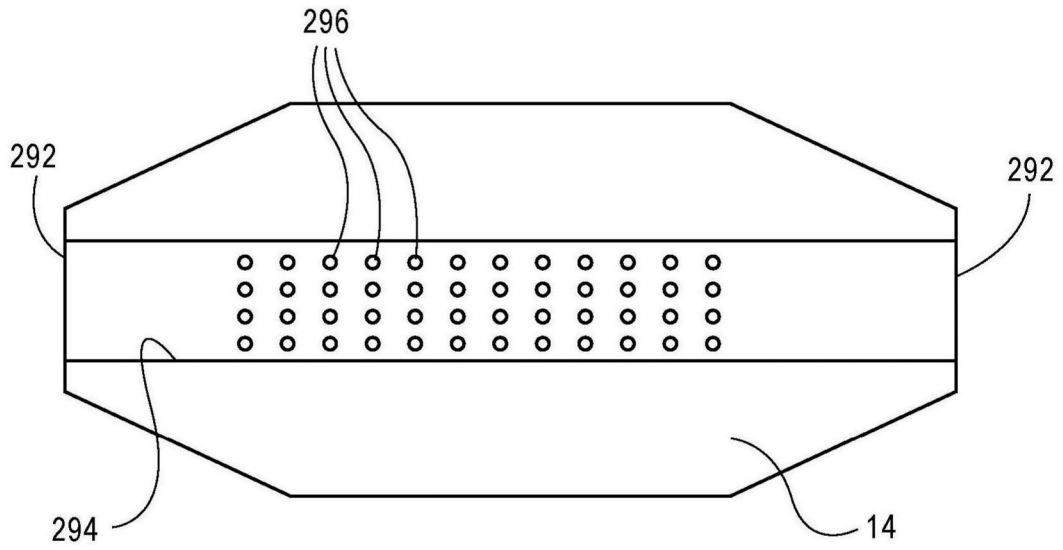


图21

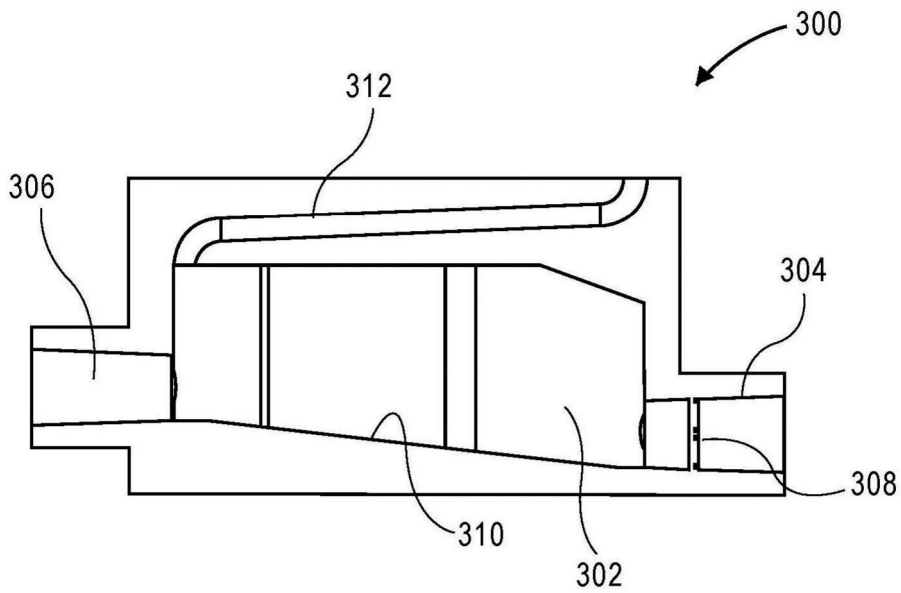


图22

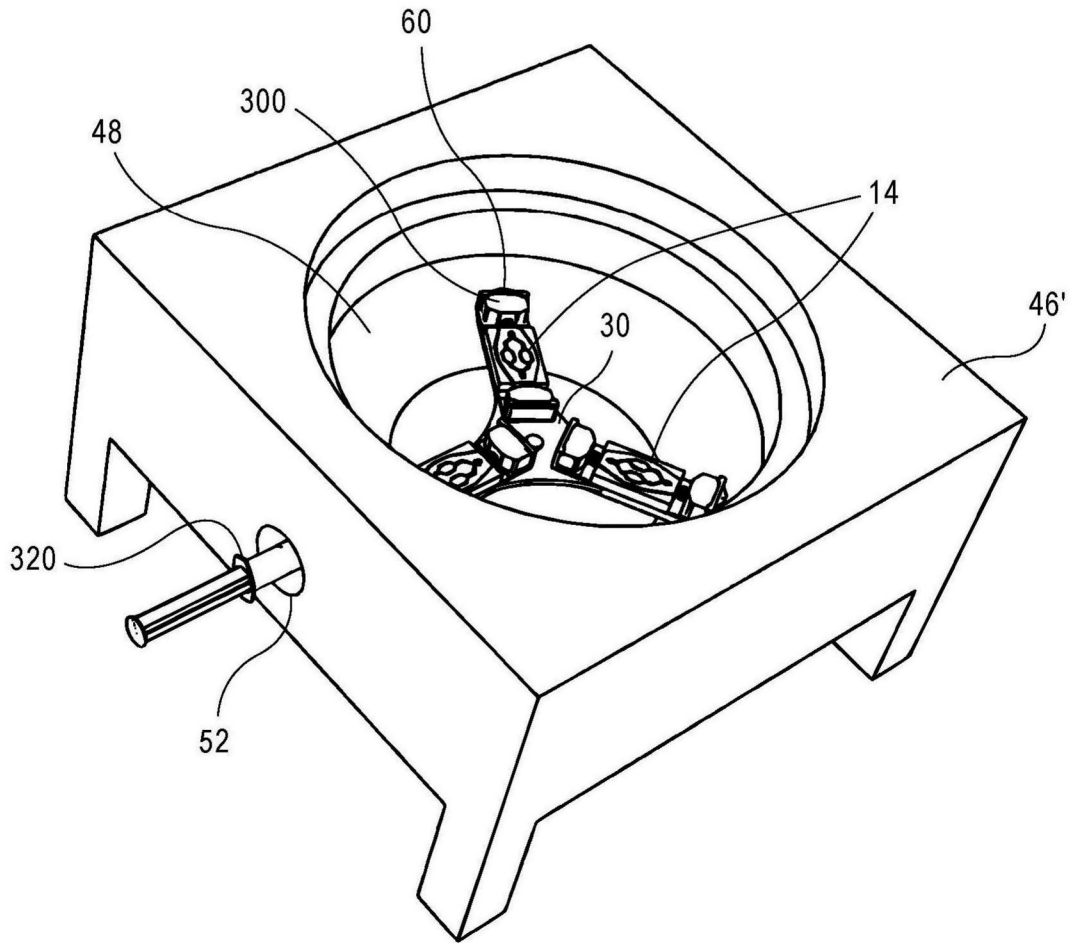


图23

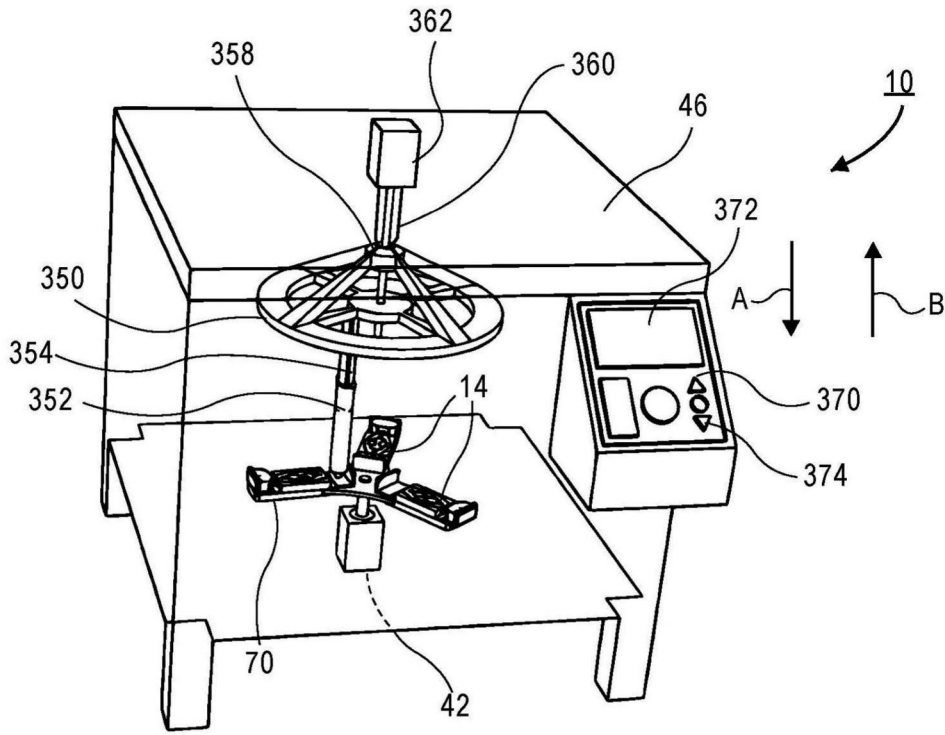


图24

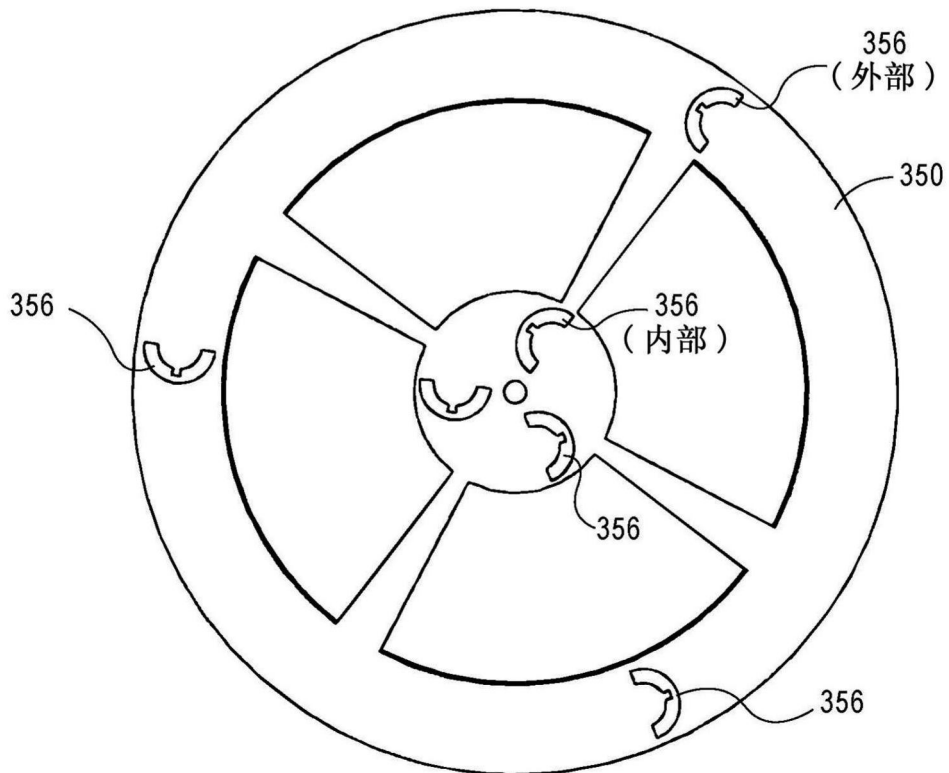


图25

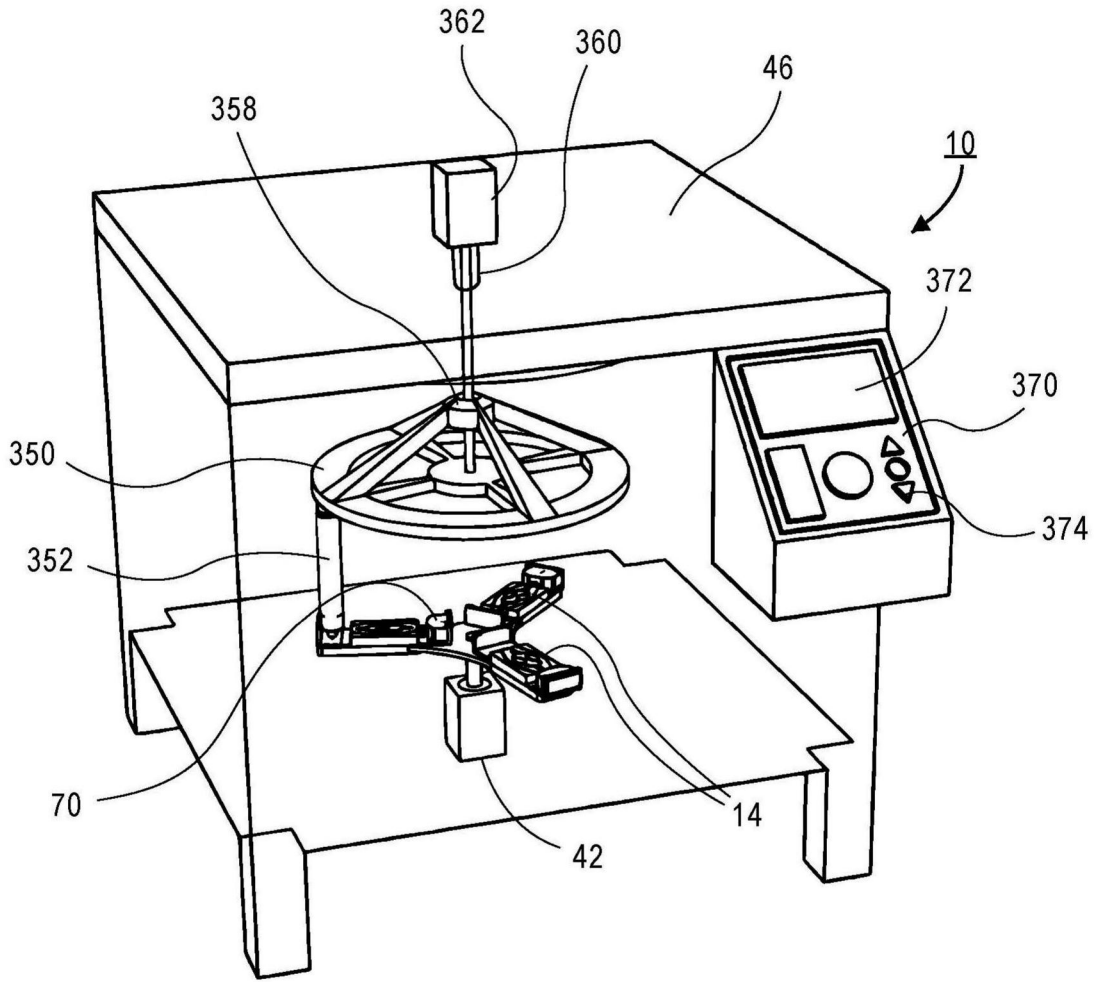


图26

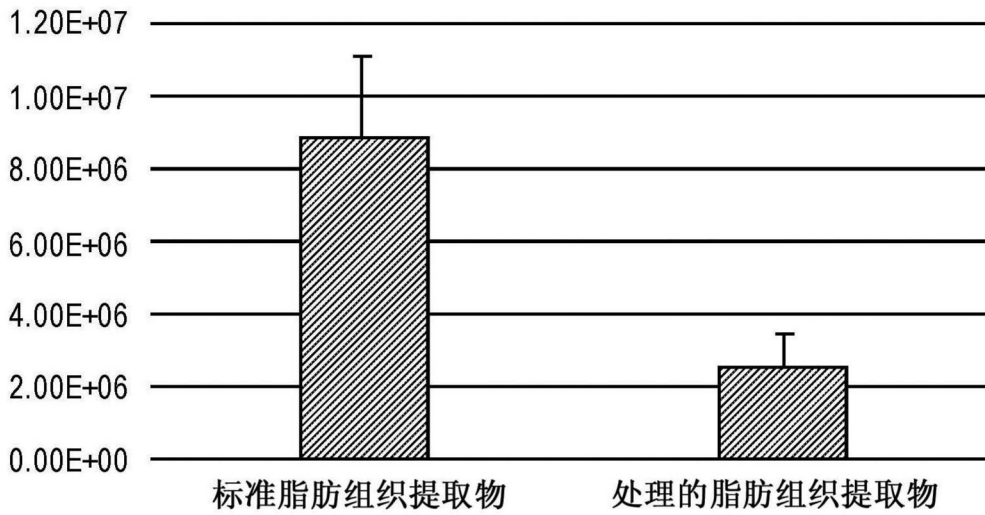


图27A

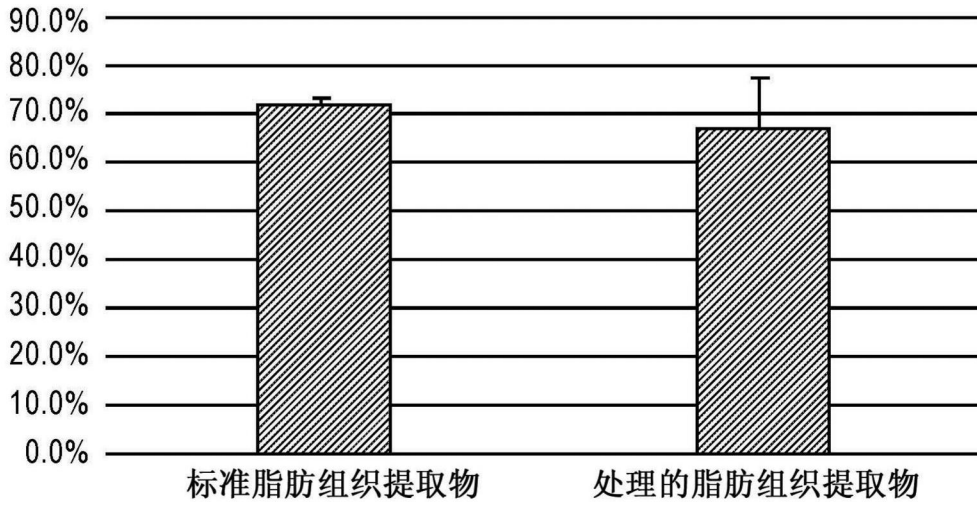


图27B

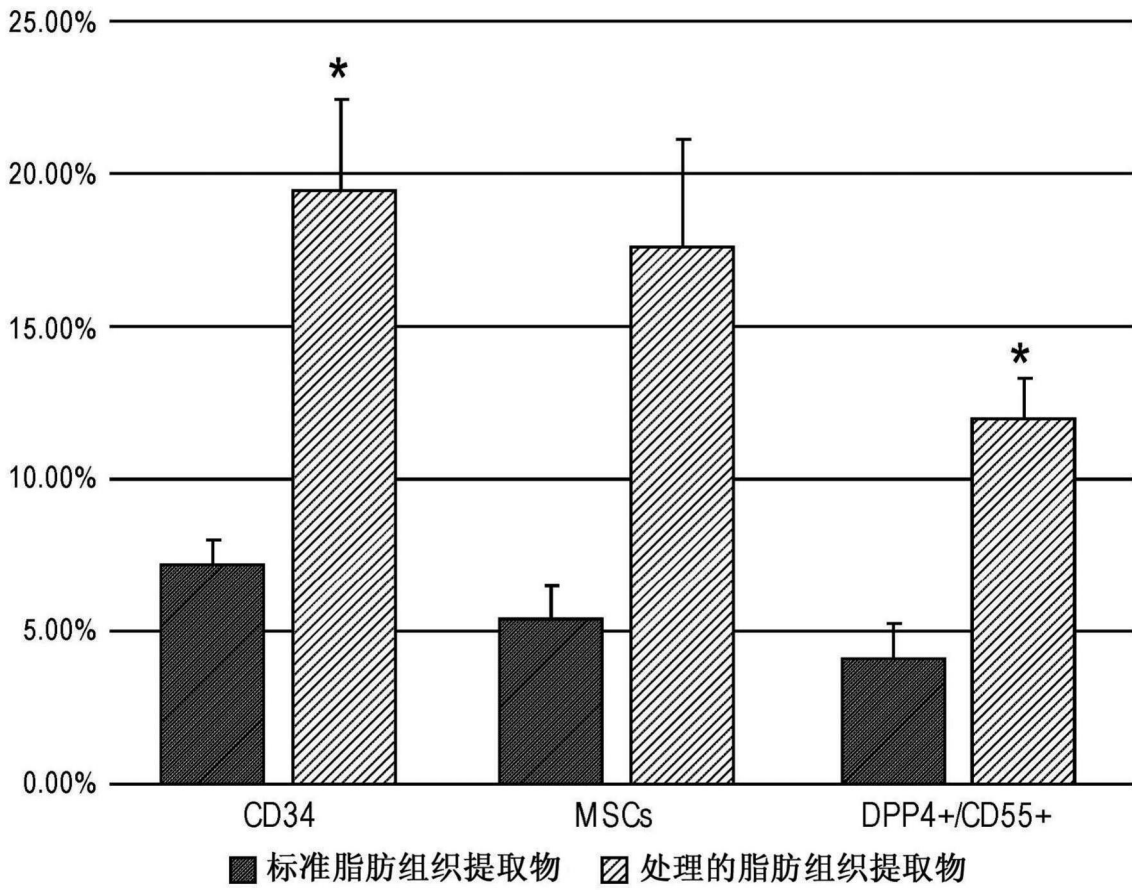


图28

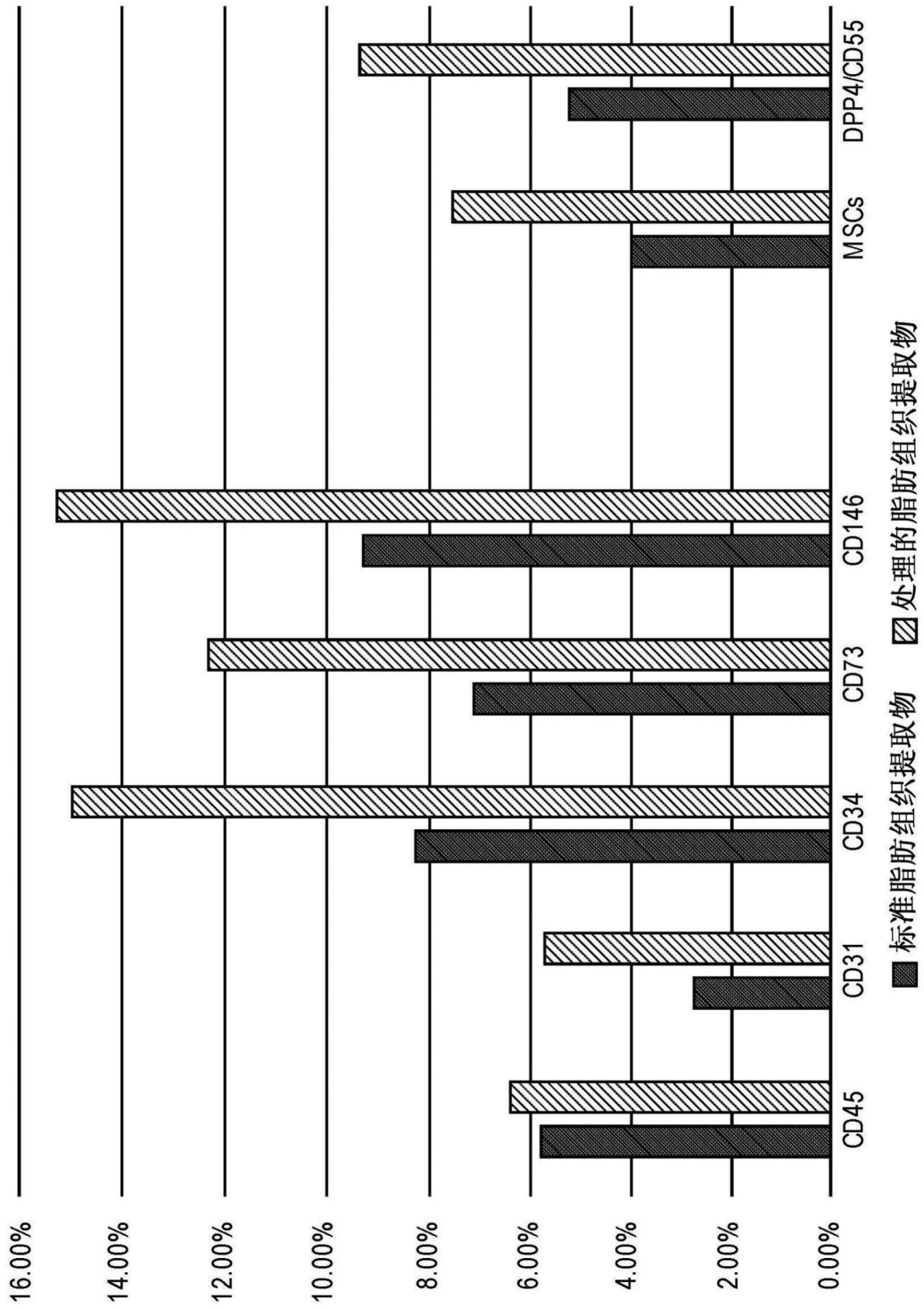


图29