



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년05월21일

(11) 등록번호 10-2113377

(24) 등록일자 2020년05월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
**B01L 3/00** (2006.01) **G01N 33/558** (2006.01)  
**G01N 33/58** (2006.01)

(52) CPC특허분류  
**B01L 3/502761** (2013.01)  
**G01N 33/558** (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-7013301

(22) 출원일자(국제) 2014년10월22일

심사청구일자 2019년07월29일

(85) 번역문제출일자 2016년05월19일

(65) 공개번호 10-2016-0072251

(43) 공개일자 2016년06월22일

(86) 국제출원번호 PCT/US2014/061837

(87) 국제공개번호 WO 2015/061497

국제공개일자 2015년04월30일

(30) 우선권주장

61/996,969 2013년10월22일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

W02009130694 A2

(뒷면에 계속)

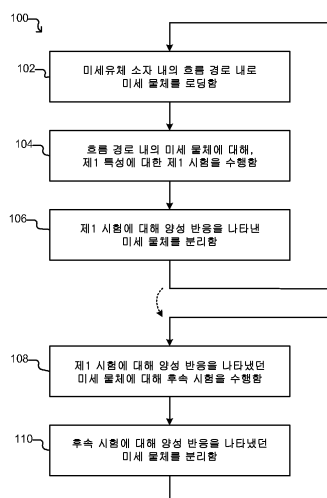
전체 청구항 수 : 총 37 항

심사관 : 김민석

(54) 발명의 명칭 **격리 펜을 갖는 미세유체 소자 및 이를 사용한 생물학적 미세 물체를 시험하는 방법****(57) 요약**

미세유체 소자는 비일소된 영역과 유체 연통인 1개 이상의 일소된 영역을 포함할 수 있다. 일소된 영역과 비일소된 영역 간의 유체 연통은 확산을 가능하게는 하지만, 일소된 영역과 비일소된 영역 간에 실질적으로 매질의 흐름은 없다. 관심 대상의 분석물을 생성하는 생물학적 미세 물체의 능력은 이러한 미세유체 소자 내에서 분석할

(뒷면에 계속)

**대표도** - 도1

수 있다. 미세유체 소자 내에 로딩된 샘플 시료 내의 생물학적 미세 물체는 구체적인 특성들에 대하여 선택되어 비일소된 영역 내로 배치될 수 있다. 이후, 샘플 시료는 일소된 영역으로부터 배출되고, 분석 시료가 일소된 영역 내로 유입될 수 있다. 일소된 영역 내의 매질의 흐름은 비일소된 영역의 생물학적 미세 물체에는 실질적으로 영향을 주지는 않지만, 생물학적 미세 물체에 의해 생성된 임의의 관심 대상의 분석물이 비일소된 영역으로부터 일소된 영역으로 확산될 수 있어, 여기서 분석물은 분석 시료와 반응하여 검출가능한 국소 반응을 일으킬 수 있다. 이렇게 검출된 임의의 반응을 분석하여 관심 대상의 분석물을 생성한 생물학적 미세 물체가 있다면 그것이 어떤 것인지를 측정할 수 있다.

(52) CPC특허분류

**G01N 33/582** (2013.01)  
*B01L 2200/0652* (2013.01)  
*B01L 2200/0668* (2013.01)  
*B01L 2300/0864* (2013.01)  
*B01L 2400/0424* (2013.01)  
*B01L 2400/0433* (2013.01)  
*B01L 2400/0454* (2013.01)  
*G01N 2469/20* (2013.01)

(72) 발명자

**네빌 제이 테너**

미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 스위트 370 홀  
 리스 스트리트 5885

**말레오 다니엘레**

미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 스위트 370 홀  
 리스 스트리트 5885

**쇼트 스티븐 더블유**

미국 94608 캘리포니아주 에머리빌 스위트 370 홀  
 리스 스트리트 5885

(56) 선행기술조사문헌

W02012037030 A2  
 W02014070873 A1  
 JP2012522518 A  
 US20130261021 A1

(30) 우선권주장

62/058,658 2014년10월01일 미국(US)  
 14/520,568 2014년10월22일 미국(US)

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

인클로저를 포함하는 미세유체 소자로서,

지지체 구조, 상기 지지체 구조 상에 배치된 미세유체 회로 구조 및 미세유체 회로를 한정하는 커버를 포함하고,

상기 미세유체 회로는

제 1 유체 매질의 흐름을 포함하도록 구성된 흐름 영역;

상기 제 1 유체 매질이 상기 흐름 영역 내로 투입될 수 있는 하나 이상의 주입구;

상기 제 1 유체 매질이 제거될 수 있는 하나 이상의 배출구; 및

미세유체 격리 펜으로서,

제 2 유체 매질을 포함하도록 구성된 격리 영역을 포함하는 격리 구조; 및

상기 격리 영역을 상기 흐름 영역에 유체 연통시키는 연결 영역을 포함하는, 상기 미세유체 격리 펜을 포함하고

상기 연결 영역은 상기 흐름 영역의 적어도 일부를 포함하는 미세유체 채널로 향하는 근위부 개구 및 상기 격리 영역으로 향하는 원위부 개구를 포함하고, 그리고 상기 근위부 개구로부터 상기 원위부 개구까지의 상기 연결 영역의 길이 ( $L_{con}$ ) 가 상기 연결 영역의 상기 근위부 개구의 너비 ( $W_{con}$ ) 의 적어도 1.0 배이고,

상기 미세유체 회로는, 확산에 의해 상기 제 2 유체 매질의 성분들과 상기 제 1 유체 매질을 혼합하거나 또는 확산에 의해 상기 제 1 유체 매질의 성분들과 상기 제 2 유체 매질을 혼합할 수 있도록 구성되고, 또한, 상기 격리 영역은 단일의 개구를 가지며 상기 미세유체 소자의 비흐름 영역인, 미세유체 소자.

#### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 연결 영역의 상기 근위부 개구에서의 상기 미세유체 채널의 너비는 50 마이크론 내지 500 마이크론인, 미세유체 소자.

#### 청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 근위부 개구로부터 상기 원위부 개구까지의 상기 연결 영역의 길이 ( $L_{con}$ ) 는 상기 연결 영역의 상기 근위부 개구의 너비 ( $W_{con}$ ) 의 적어도 1.5 배인, 미세유체 소자.

#### 청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 근위부 개구로부터 상기 원위부 개구까지의 상기 연결 영역의 길이 ( $L_{con}$ ) 는 상기 연결 영역의 상기 근위부 개구의 너비 ( $W_{con}$ ) 의 적어도 2.0 배인, 미세유체 소자.

#### 청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 근위부 개구로부터 상기 원위부 개구까지의 상기 연결 영역의 길이 ( $L_{con}$ ) 와 상기 연결 영역의 상기 근위부 개구의 너비 ( $W_{con}$ ) 는,  $5.0 \mu\text{l}/\text{sec}$  이하의 흐름 속도로 상기 미세유체 채널을 통해 흐르는 상기 제 1 유체 매질의 상기 격리 펜으로의 침투 깊이가 상기 길이 ( $L_{con}$ ) 미만이 되도록 크기화되는, 미세유체 소자.

#### 청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 연결 영역의 상기 근위부 개구의 너비 ( $W_{con}$ ) 는 20 마이크론 내지 100 마이크론인, 미세유체 소자.

#### 청구항 7

제 1 항에 있어서,

상기 근위부 개구로부터 상기 원위부 개구까지의 상기 연결 영역의 길이 ( $L_{con}$ ) 는 60 마이크론 내지 500 마이크론인, 미세유체 소자.

#### 청구항 8

제 1 항에 있어서,

상기 근위부 개구에서의 상기 미세유체 채널의 높이 ( $H_{ch}$ ) 는 20 내지 100 마이크론인, 미세유체 소자.

#### 청구항 9

제 1 항에 있어서,

상기 미세유체 소자는 제 1 전극, 전극 활성화 기관, 및 제 2 전극을 더 포함하고, 상기 제 1 전극은 상기 인클로저의 제 1 벽의 일부이고, 상기 전극 활성화 기관 및 상기 제 2 전극은 상기 인클로저의 제 2 벽의 일부인, 미세유체 소자.

#### 청구항 10

제 9 항에 있어서,

상기 전극 활성화 기관은 광 활성화되는, 미세유체 소자.

#### 청구항 11

제 9 항에 있어서,

상기 전극 활성화 기관은

- a. 광전도성 물질, 및 DEP 전극을 포함하는 상기 전극 활성화 기관; 또는
- b. 반도체 집적 회로를 형성하는, 복수의 도핑층, 전기 절연층 및 전기 전도층을 포함하는 반도체 재료로서, 상기 기관의 내부 표면의 전극 영역에 DEP 전극을 제공하는, 상기 반도체 재료를 포함하는, 미세유체 소자.

#### 청구항 12

제 9 항에 있어서,

상기 미세유체 소자의 상기 제 1 벽은 커버이고 상기 미세유체 소자의 상기 제 2 벽은 기재인, 미세유체 소자.

#### 청구항 13

제 1 항에 있어서,

상기 미세유체 격리 펜을 한정하는 배리어는 상기 미세유체 소자의 기재의 표면으로부터 상기 표면의 맞은편 상기 미세유체 소자의 상부 벽까지 확장되는, 미세유체 소자.

#### 청구항 14

제 1 항에 있어서,

상기 연결 영역의 상기 너비 ( $W_{con}$ )는 상기 근위부 개구로부터 상기 원위부 개구까지 균일한, 미세유체 소자.

#### 청구항 15

제 1 항에 있어서,

상기 격리 영역의 용적은 적어도  $1 \times 10^5$  세제곱 마이크론인, 미세유체 소자.

#### 청구항 16

제 1 항에 있어서,

상기 커버는 상기 미세유체 회로 구조의 미세유체 회로 재료의 일체 부분이거나 또는 상기 지지체 구조는 상기 미세유체 회로 재료의 일체 부분인, 미세유체 소자.

#### 청구항 17

제 1 항에 있어서,

상기 근위부 개구는 상기 흐름 영역에서 상기 제 1 유체 매질의 상기 흐름의 방향에 수직인, 미세유체 소자.

#### 청구항 18

제 12 항에 있어서,

상기 격리 영역의 너비는 상기 연결 영역의 상기 너비 ( $W_{con}$ )와 동일한, 미세유체 소자.

#### 청구항 19

제 14 항에 있어서,

상기 격리 영역의 너비는 상기 연결 영역의 상기 너비 ( $W_{con}$ )와 동일한, 미세유체 소자.

#### 청구항 20

미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법으로서,

상기 소자는 적어도 하나의 미세유체 격리 펜이 유체 연통되는 미세유체 채널을 포함하며, 상기 적어도 하나의 격리 펜은 격리 영역 및 상기 격리 영역을 제 1 항에 기재된 미세유체 소자에 따른 상기 미세유체 채널에 유체 연통시키는 연결 영역을 포함하는 유체 격리 구조를 포함하고,

상기 방법은

하나 이상의 생물학적 세포를 상기 적어도 하나의 격리 펜의 상기 격리 영역에 로딩하는 단계;

상기 로딩된 생물학적 세포가 관심 대상의 분석물을 생성할 수 있게 하기에 충분한 시간 동안 상기 생물학적 세포를 배양하는 단계;

상기 적어도 하나의 격리 펜의 상기 연결 영역으로부터 상기 미세유체 채널로 향하는 개구에 인접한, 상기 미세유체 채널 내의 위치에 포획용 미세 물체를 배치하는 단계로서, 상기 포획용 미세 물체는 상기 관심 대상의 분석물에 특이적으로 결합할 수 있는 적어도 1종의 친화제를 포함하는, 상기 포획용 미세 물체를 배치하는 단계; 및

상기 미세유체 채널 내의 상기 위치에서 상기 관심 대상의 분석물에 대한 상기 포획용 미세 물체의 결합을 모니터링하는 단계

를 포함하는, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 21

제 20 항에 있어서,

상기 생물학적 세포를 로딩하는 단계는

상기 미세유체 소자의 상기 미세유체 채널 내로 한 군의 생물학적 세포를 흐르게 하는 단계; 및

상기 군의 하나 이상의 생물학적 세포를 상기 적어도 하나의 격리 펜의 각각으로 이동시키는 단계를 포함하는, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 22

제 20 항에 있어서,

상기 적어도 하나의 격리 펜에 로딩한 후, 상기 미세유체 채널 내에 잔류하고 있는 임의의 생물학적 세포를 플러싱하는 단계를 추가로 포함하는, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 23

제 21 항에 있어서,

상기 생물학적 세포를 로딩하는 단계가 예정된 기준을 충족하는 상기 군으로부터 상기 생물학적 세포의 개개의 세포를 선택하는 단계를 더 포함하며,

선택하는 단계는 상기 생물학적 세포가 상기 미세유체 채널 내에, 또는 상기 적어도 하나의 격리 펜의 상기 연결 영역 또는 상기 격리 영역 내에 있는 동안에 수행되는, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 24

제 20 항에 있어서,

상기 포획용 미세 물체를 배치하는 단계는

상기 포획용 미세 물체를 상기 미세유체 채널에서 흐르게 하는 단계, 및

상기 포획용 미세 물체가 상기 적어도 하나의 격리 펜의 상기 연결 영역으로부터 상기 개구에 인접하도록 상기 흐름을 실질적으로 중단시키는 단계

를 포함하는, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 25

제 20 항에 있어서,

상기 포획용 미세 물체는 표지를 포함하는, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 26

제 20 항에 있어서,

상기 미세유체 채널 내에 포획용 미세 물체를 배치하는 단계는 포획용 미세 물체와 표지제의 혼합물을 상기 미세유체 채널 내에 배치하는 단계를 포함하는, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 27

제 26 항에 있어서,

상기 표지제는 형광성 표지를 포함하는, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 28

제 20 항에 있어서,

상기 관심 대상의 분석물은 항체인, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 29

제 28 항에 있어서,

상기 적어도 1종의 친화제는 상기 항체에 의해 특이적으로 인식되는 항원인, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 30

제 29 항에 있어서,

상기 항원은 단백질, 탄수화물, 지질, 핵산, 대사산물, 항체 또는 이들의 조합 중 하나인, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 31

제 28 항에 있어서,

상기 적어도 1종의 친화제는 Fc 분자, 항체, 단백질 A 또는 단백질 G 인, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 32

제 20 항에 있어서,

상기 미세유체 소자는 격리 영역을 포함하는 유체 격리 구조 및 상기 격리 영역을 상기 미세유체 채널로 유체 연통시키는 연결 영역을 각각 포함하는 복수개의 상기 격리 펜을 포함하며; 그리고

상기 포획용 미세 물체를 배치하는 단계는, 상기 복수개의 격리 펜의 상기 연결 영역으로부터 상기 미세유체 채널로 향하는 개구에 인접한 상기 미세유체 채널을 상기 포획용 미세 물체 또는 포획용 미세 물체와 표지제의 혼합물로 실질적으로 충전하는 단계를 포함하는, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 33

제 20 항에 있어서,

상기 적어도 하나의 격리 펜의 상기 연결 영역의 길이 ( $L_{con}$ ) 가 상기 채널 내에서 최대 허용 흐름 속도 ( $V_{max}$ ) 로 흐르는 매질의 침투 깊이 ( $D_p$ ) 보다 크며,

상기 방법은 상기 채널의 임의의 흐름을 상기 최대 허용 흐름 속도 ( $V_{max}$ ) 미만으로 유지하는 단계를 더 포함하는, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 34

제 20 항에 있어서,

상기 미세유체 소자는 제 3 항 또는 제 4 항에 기재된 미세유체 소자인, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 35

제 20 항에 있어서,

상기 적어도 하나의 격리 펜 내로 상기 하나 이상의 생물학적 세포를 로딩하는 단계는, 상기 생물학적 세포 중 특정 세포를 포획하고 이동시키기 위해 상기 미세유체 소자의 유전영동 (DEP) 구성을 활성화시키는 단계를 포함하는, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 36

제 23 항에 있어서,

상기 선택하는 단계는 상기 생물학적 세포를 선택하기 위해 유전영동 (DEP) 구성을 활성화하는 단계를

포함하고, 상기 이동시키는 단계는 상기 생물학적 세포를 이동시키기 위해 유전영동 (DEP) 구성을 활성화하는 단계를 포함하는, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 37

제 35 항에 있어서,

상기 DEP 구성을 활성화시키는 단계는 광을 사용하여 활성화하는 단계를 포함하는, 미세유체 소자 내의 생물학적 세포를 분석하는 방법.

#### 청구항 38

삭제

#### 청구항 39

삭제

#### 청구항 40

삭제

#### 청구항 41

삭제

#### 청구항 42

삭제

#### 청구항 43

삭제

#### 청구항 44

삭제

#### 청구항 45

삭제

#### 청구항 46

삭제

#### 청구항 47

삭제

#### 청구항 48

삭제

#### 청구항 49

삭제

#### 청구항 50

삭제

#### 청구항 51



삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

## 발명의 설명

## 기술 분야

삭제

## 배경 기술

[0003] 미세유체학 분야가 지속적으로 발전함에 따라, 미세유체 소자는 생물학적 세포와 같은 미세 물체를 가공하고 조작하는데 있어서 편리한 기반 플랫폼이 되었다. 본 발명의 일부 실시양태는 개선된 미세유체 소자 및 미세유체 소자를 작동하는 방법에 대한 것이다.

## 발명의 내용

[0004]

발명의 개요

[0005]

발명의 일부 실시양태에서, 미세유체 소자는 흐름 영역 및 미세유체 격리 펜을 포함할 수 있다. 흐름 영역은 제1 유체 매질의 흐름을 포함하도록 구성될 수 있다. 미세유체 격리 펜은 격리 구조 및 연결 영역을 포함할 수 있다. 격리 구조는 제2 유체 매질을 포함하도록 구성된 격리 영역을 포함할 수 있다. 연결 영역은 격리 영역을 흐름 영역에 유체 연통시킬 수 있어서, 흐름 영역과 미세유체 격리 펜이 유체 매질로 실질적으로 채워질 때, 제2 매질의 성분들이 제1 매질 내로 확산될 수 있거나, 또는 제1 매질의 성분들이 제2 매질 내로 확산될 수 있고; 제1 매질은 흐름 영역으로부터 격리 영역 내로 실질적으로 흐르지 않는다.

[0006]

본 발명의 일부 실시양태는 1개 이상의 미세유체 격리 펜이 유체 연통되어 있는 미세유체 채널을 포함할 수 있는 미세유체 소자 내에서 생물학적 미세 물체를 분석하는 방법을 포함한다. 1개 이상의 격리 펜은 격리 영역 및 격리 영역을 채널에 유체 연통시키는 연결 영역을 포함하는 유체 격리 구조를 포함할 수 있다. 방법은 1개 이상의 생물학적 미세 물체를 1개 이상의 격리 펜에 로딩하는 단계, 및 상기 로딩된 생물학적 미세 물체가 관심 대상의 분석물을 생성하기에 충분한 시간 동안 생물학적 미세 물체를 배양하는 단계를 포함할 수 있다. 또한, 방법은 1개 이상의 격리 펜의 연결 영역으로부터 채널로 향하는 개구에 인접하고 있는 채널 내에 포획용 미세 물체를 배치하는 단계, 및 포획용 미세 물체의 관심 대상의 분석물에 대한 결합을 모니터링하는 단계를 포함할 수 있다. 포획용 미세 물체는 관심 대상의 분석물에 특이적으로 결합할 수 있는 1종 이상의 친화제를 포함할 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0007]

도 1은 본 발명의 일부 실시양태에 따른 미세유체 소자 내의 미세 물체에 대해 2개 이상의 시험이 수행될 수 있는 방법의 일례를 나타낸 것이다.

도 2a는 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 1의 방법이 수행될 수 있는 미세유체 소자의 사시도를 나타낸 것이다.

도 2b는 도 2a의 미세유체 소자의 측단면도를 나타낸 것이다.

도 2c는 도 2a의 미세유체 소자의 상단면도를 나타낸 것이다.

도 3a는 본 발명의 일부 실시양태에 따라 선택기가 유전영동 (DEP) 장치로 구성된, (용이한 도해를 위해) 배리어를 없앤 도 2a-2c의 미세유체 소자의 일부 측단면도를 나타낸 것이다.

도 3b는 도 3a의 일부 상단면도를 나타낸 것이다.

도 4a는 본 발명의 일부 실시양태에 따른 또 다른 일례의 미세유체 소자의 사시도를 나타낸 것이다.

도 4b는 도 4a의 미세유체 소자의 측단면도를 나타낸 것이다.

도 4c는 도 4a의 미세유체 소자의 상단면도를 나타낸 것이다.

도 5는 채널에서 격리 영역에 이르는 연결 영역의 길이가 채널 내에서 흐르는 매질의 침투 깊이보다 큰, 본 발명의 일부 실시양태에 따른 격리 펜의 일례를 도시한 것이다.

도 6은 채널에서 격리 영역에 이르는 연결 영역의 길이가 채널 내에서 흐르는 매질의 침투 깊이보다 큰, 본 발명의 일부 실시양태에 따른 격리 펜의 또 다른 일례를 도시한 것이다.

도 7a-7c는 본 발명의 일부 실시양태에 따른 격리 펜 구성의 또 다른 일례를 도시한 것이다.

도 8은 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 2a-2c의 미세유체 소자의 흐름 경로 내로 생물학적 미세 물체를 로딩하는 일례를 도시한 것이다.

도 9는 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 4a-4c의 미세유체 소자의 채널 내로 생물학적 미세 물체를 흐르게 하는 일례를 도시한 것이다.

도 10은 본 발명의 일부 실시양태에 따른 제1 특성에 대하여 도 2a-2c의 미세유체 소자의 흐름 경로 내에서 생물학적 미세 물체를 시험하는 일례를 도시한 것이다.

도 11은 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 2a-2c의 미세유체 소자 내에서 생물학적 미세 물체를 선택하는 일례를 도시한 것이다.

도 12는 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 4a-4c의 미세유체 소자 내에서 생물학적 미세 물체를 선택하는 일례를 도시한 것이다.

도 13은 선택된 생물학적 미세 물체를 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 2a-2c의 미세유체 소자 내의 홀딩 펜 내로 이동시키는 일례를 도시한 것이다.

도 14는 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 2a-2c의 미세유체 소자의 흐름 경로 내의 생물학적 미세 물체를 플러싱(flushing)하는 일례를 도시한 것이다.

도 15는 선택된 생물학적 미세 물체를 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 4a-4c의 미세유체 소자의 채널로부터 격리 펜 내로 이동시키는 일례를 도시한 것이다.

도 16은 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 4a-4c의 미세유체 소자의 채널의 생물학적 미세 물체를 플러싱하는 일례를 도시한 것이다.

도 17은 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 2a-2c의 미세유체 소자의 홀딩 펜 내의 생물학적 미세 물체에 분석 시료를 제공하는 일례를 도시한 것이다.

도 18은 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 2a-2c의 미세유체 소자의 홀딩 펜 내로 확산된 분석 시료를 도시한 것이다.

도 19는 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 4a-4c의 미세유체 소자의 채널 내의 분석 시료 및 관심 대상의 분석물을 생성하는 격리 펜 내의 생물학적 미세 물체를 도시한 것이다.

도 20은 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 4a-4c의 미세유체 소자의 채널 내에서 격리 펜의 격리 영역으로부터 확산되어 나와, 채널로 향하는 근위부 개구에 인접하고 있는 분석 시료들과 반응하는 관심 대상의 분석물의 성분들의 일례를 도시한 것이다.

도 21은 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 4a-4c의 미세유체 소자 내에서 표지된 포획용 미세 물체를 포함하는 분석 시료의 일례를 나타낸 것이다.

도 22는 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 4a-4c의 미세유체 소자 내에서 포획용 미세 물체 및 표지제의 혼합물을 포함하는 분석 시료의 일례를 나타낸 것이다.

도 23은 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 22의 포획용 미세 물체, 표지제의 성분 및 관심 대상의 분석물의 예를 도시한 것이다.

도 24는 본 발명의 일부 실시양태에 따른 다중 친화제를 포함하는 포획용 미세 물체 복합체의 예를 나타낸 것이다.

도 25는 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 4a-4c에 도시된 장치와 같은 미세유체 소자 내에서 국소 반응을 검출하여, 양성 생물학적 미세 물체를 함유하는 격리 펜을 확인하는 것의 예를 나타내는 방법을 도시한 것이다.

도 26은 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 2a-2c의 소자 내에서 홀딩 펜의 음성 생물학적 미세 물체를 흐름 경로 내로 이동시키는 것을 도시한 것이다.

도 27은 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 2a-2c의 미세유체 소자 내의 흐름 경로의 음성 생물학적 미세 물체를 플러싱하는 것을 나타낸 것이다.

도 28은 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 4a-4c의 미세유체 소자 내의 분석 시료를 채널에서 제거하는 예를 도시한 것이다.

도 29는 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 4a-4c의 미세유체 소자 내에서 음성 생물학적 미세 물체를 양성 생물학적 미세 물체로부터 분리시키는 예를 나타낸 것이다.

도 30은 본 발명의 일부 실시양태에 따른 도 4a-4c의 미세유체 소자 내의 격리 펜 내에서 클론 생물학적 미세 물체를 생성하는 예를 나타낸 것이다.

도 31a-c는 미세채널 및 미세채널에 직접적으로 연결되어 있는 복수개의 격리 펜을 포함하는 미세유체 소자를 나타낸 것이다. 각 격리 펜은 복수개의 마우스 비장 세포를 함유한다. 도 31a는 미세채널 소자의 일부의 명시야 이미지이다. 도 31b 및 31c는 텍사스 레드 (Texas Red) 필터를 이용하여 취득된 형광 이미지이다. 도 31b에서, 이미지는 실시예 1에 기술된 항원 특이성 검정을 시작한지 5분 후에 취득하였다. 도 31c에서, 이미지는 실시예

1에 기술된 항원 특이성 검정을 시작한지 20분 후에 수득하였다. 도 31c에서 흰색 화살표들은 분석에서 양성 신호를 발생시켰던 격리 펜을 가리키고 있다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0008] 대표적인 실시양태의 상세한 설명
- [0009] 본 명세서는 본 발명의 대표적인 실시양태 및 본 발명의 적용례에 대해 설명한다. 그러나, 본 발명은 이러한 대표적인 실시양태 및 적용례에 제한되지 않으며, 또는 대표적인 실시예 및 적용례가 본 명세서에서 운용되거나 설명되는 방식에 한정되지 않는다. 아울러, 도면들은 단순화되거나 부분적인 도면만을 도시할 수 있으며, 명확하게 표현하기 위해서 도면에서의 부재들의 치수는 과장될 수 있거나 아니면 비율이 맞지 않을 수 있다. 또한, "~위에 (on)", "~에 부착된" 또는 "~에 결합된" 과 같은 용어가 본 명세서에 사용될 때, 하나의 부재가 다른 부재 바로 위에 있거나, 다른 부재에 직접 부착되거나, 다른 부재에 직접 결합되는지의 여부, 또는 하나의 부재와 다른 부재 사이에 하나 이상의 개재하는 부재가 있는지의 여부에 관계없이, 하나의 부재 (예를 들어, 재료, 층, 기관 등)가 다른 부재 "위에" 있거나, 다른 부재에 "부착"되거나 또는 다른 부재에 "결합"될 수 있다. 또한, 만일 방향성 (예를 들어, 위, 아래, 상부, 하부, 측부, 위로, 아래로, 아래에, 위에, 상부에, 하부에, 수평, 수직, "x", "y", "z" 등)이 제공되는 경우, 이들은 상대적이며 단지 예로서 그리고 예시 및 논의의 편의를 위하여 제공되는 것이지 한정하기 위해 제공되지 않는다. 또한, 부재들의 목록 (예를 들어, 부재 a, b, c)이 언급되는 경우, 이러한 언급은 그 자체의 열거된 부재들 중 임의의 하나, 열거된 모든 부재보다 적은 임의의 조합 및/또는 열거된 모든 부재들의 조합을 포함하는 것을 의미한다.
- [0010] 본원에서, "실질적으로" 라는 말은 의도된 목적으로 작용하기에 충분하다는 것을 의미한다. 복수형으로 된 용어는 하나 이상을 의미한다.
- [0011] 본원에서, "미세 물체 (micro-object)" 라는 용어는 하기 중 하나 이상을 포함할 수 있다: 무생물인 미세 물체, 예컨대 미세입자, 미세비드 (예를 들어, 폴리스티렌 비드, 루미넥스 (Luminex™) 비드 등), 자성 비드, 미세막대, 마이크로와이어, 양자점 등; 생물학적 미세 물체, 예컨대 세포 (예를 들어, 배아, 난모 세포, 정자, 조직으로부터 해리된 세포, 혈액 세포, 하이브리도마, 배양된 세포, 세포주의 세포, 암세포, 감염된 세포, 형질감염된 세포 및/또는 형질전환된 세포, 리포터 세포 등), 리포좀 (예를 들어, 합성되거나 막 체제로부터 유도됨), 지질 나노래프트 등; 또는 무생물 미세 물체와 생물학적 미세 물체의 조합 (예를 들어, 세포에 부착된 미세비드, 리포좀 코팅된 미세비드, 리포좀 코팅된 자성 비드 등). 지질 나노래프트는 예를 들어, 문헌 [Ritchie et al. (2009) "Reconstitution of Membrane Proteins in Phospholipid Bilayer Nanodiscs," Methods Enzymol., 464:211-231]에 기술된 바 있다.
- [0012] 본원에서, "세포" 라는 용어는 생물학적 세포를 지칭하는데, 이는 식물 세포, 동물 세포 (예를 들어, 포유동물 세포), 박테리아 세포, 진균 세포 등일 수 있다. 동물 세포는 예를 들어, 인간, 마우스, 래트, 말, 염소, 양, 소, 영양류 등으로부터 유래할 수 있다.
- [0013] 유체 매질의 "성분" 이란 매질 내에 존재하는 임의의 화학적 또는 생화학적 분자로서, 예컨대 용매 분자, 이온, 소분자, 항생물질, 뉴클레오타이드 및 뉴클레오시드, 핵산, 아미노산, 펩타이드, 단백질, 당, 탄수화물, 지질, 지방산, 콜레스테롤, 대사산물 등을 들 수 있다.
- [0014] 본원에서 유체 매질과 관련하여 사용되는 "확산되다" 및 "확산" 이라는 말은 유체 매질의 성분이 농도 기울기를 따라 열역학적으로 이동하는 것을 지칭한다.
- [0015] "매질의 흐름(flow)"이라는 말은, 주로 확산 이외의 여타의 메카니즘으로 인한 유체 매질의 벌크성 이동을 지칭한다. 예를 들어, 매질의 흐름은 두 지점의 압력 차이로 인하여 유체 매질이 한 지점에서 다른 지점으로의 이동을 포함할 수 있다. 이러한 흐름은 액체의 연속형, 펄스형, 주기형, 랜덤형, 간헐성 또는 반복성 흐름 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 한 유체 매질이 다른 유체 매질로 흘러 들어가는 경우, 난류 및 매질의 혼합이 생길 수 있다.
- [0016] "실질적으로 흐르지 않는다" 라는 말은 재료 (예를 들어, 관심 대상의 분석물)의 성분들이 유체 매질 내로 또는 유체 매질 내에서 확산하는 속도 미만인 유체 매질의 흐름 속도를 지칭한다. 이러한 재료 성분의 확산 속도는, 예를 들어 온도, 성분들의 크기 및 성분들과 유체 매질 간의 상호작용의 강도에 따라 다를 수 있다.
- [0017] 본원에서 미세유체 소자 내에 서로 다른 영역들과 관련하여 사용되는 "유체 연통" 이라는 말은, 서로 다른 영역들이 유체 매질과 같은 유체로 실질적으로 채워져 있는 경우, 각 영역의 유체가 단일 유체를 형성하기 위해 연

결되어 있는 것을 의미한다. 이는 서로 다른 영역에 존재하는 유체 (또는 유체 매질)의 조성이 반드시 동일하다는 것을 의미하는 것은 아니다. 오히려, 미세유체 소자 내에서 유체 연통된 서로 다른 영역들의 유체들은 다른 조성 (예를 들어, 서로 다른 농도의 용질, 예컨대 단백질, 탄수화물, 이온, 또는 다른 분자들)을 가질 수 있으며, 이들의 조성은 용질이 이들의 각 농도 기울기를 따라 이동하고/하거나 유체가 소자를 통해 흐를 때 변화한다.

[0018] 일부 실시양태에서, 미세유체 소자는 "일소된(swept)" 영역 및 "비일소된" 영역을 포함할 수 있다. 유체 연통이 일소된 영역과 비일소된 영역 간의 매질의 확산은 가능하게 하지만 매질이 실질적으로 흐르지 않도록 구축된다면, 비일소된 영역은 일소된 영역과 유체 연통될 수 있다. 따라서, 미세유체 장치는 일소된 영역과 비일소된 영역 간에 실질적으로 확산성 유체 연통만을 가능하도록 하면서, 비일소된 영역을 일소된 영역의 매질의 흐름으로부터 실질적으로 격리시키도록 구축될 수 있다.

[0019] 생물학적 미세 물체 (예를 들어, 생물학적 세포)가 특정 생물학적 재료를 생성하는 능력은 이러한 미세유체 소자 내에서 분석될 수 있다. 예를 들어, 관심 대상의 분석물의 생성에 대하여 분석될 생물학적 미세 물체를 포함하는 샘플 시료는 미세유체 소자의 일소된 영역 내에 로딩될 수 있다. 생물학적 미세 물체들은 특정한 특성들에 대해 선택되어 비일소된 영역에 배치될 수 있다. 이후, 잔류하고 있는 샘플 시료는 일소된 영역으로부터 배출될 수 있고, 분석 시료가 일소된 영역 내로 유입될 수 있다. 선택된 생물학적 미세 물체가 비일소된 영역에 존재하기 때문에, 선택된 생물학적 미세 물체는 잔류하고 있는 샘플 시료의 유출 또는 분석 시료의 유입에 의해서는 실질적으로 영향을 받지 않는다. 선택된 생물학적 미세 물체는 관심 대상의 분석물을 생성하게 될 수 있고, 이는 비일소된 영역으로부터 일소된 영역으로 확산되어 들어갈 수 있으며, 여기서 관심 대상의 분석물은 분석 시료와 반응하여 검출가능한 국소 반응들을 만들 수 있고, 이들 각각의 반응들은 특정 비일소 영역과 관련될 수 있다. 비일소 영역 내의 생물학적 미세 물체 중 관심 대상의 분석물을 충분하게 생성하는 것이 있다면 어떤 것이 그러한지를 측정하기 위해 검출가능한 반응과 연관된 비일소 영역을 분석할 수 있다.

[0020] 도 1은 본 발명의 일부 실시양태에 따른 미세유체 소자 내에서 미세 물체를 시험하는 방법(100)의 일례를 도시한 것이다. 도 2a-2c는 방법(100)이 수행될 수 있는 미세유체 소자(200)의 일례를 도시한 것이고, 도 3a 및 3b는 미세유체 소자(200)의 일부가 될 수 있는 유전영동 (DEP) 소자의 일례를 도시한 것이다. 도 4a-4c는 방법(100)이 수행될 수 있는 미세유체 소자(200)의 또 다른 예를 도시한 것이다. 그러나, 도 2a-2c의 소자(200) 또는 도 4a-4c의 소자(400) 그 어느 것도 도 1의 방법(100)을 수행하는 것에만 한정되지는 않는다. 방법(100)도 소자(200 또는 400) 상에서 수행하는 것으로 한정되지는 않는다.

[0021] 도 1에 나타난 바와 같이, 방법(100)은 단계(102)에서 미세 물체의 혼합물을 미세유체 소자 내의 흐름 경로 내에 로딩할 수 있다. 단계(102)에서 로딩된 혼합물은 다른 유형의 미세 물체뿐만 아니라 잔해물 및 다른 물체들도 포함할 수 있다. 단계(104)에서, 방법(100)은 제1 특성에 대해 흐름 경로 내에 있는 미세 물체를 시험할 수 있고, 단계(106)에서는, 방법(100)은 제1 특성에 대해 양성 반응을 나타낸 미세 물체와 제1 특성에 대해 양성 반응을 나타내지 않은 미세 물체 (예를 들어, 음성 반응을 보인 미세 물체)를 분리할 수 있다. 나타난 바와 같이, 방법(100)은 단계(102-106)를 임의의 횟수로 반복할 수 있다. 예를 들어, 단계(102-106)는 k회 수행될 수 있으며, 그 후 미세 물체의 k 혼합물은 단계(102)에서 로딩되어, 단계(104, 106)에서 제1 특성에 대해 모두 양성 반응을 나타냈던 미세 물체의 초기 그룹으로 분류되었다. k라는 수는 1 이상의 임의의 정수일 수 있다 (이후, 시험에 대해 양성 반응을 나타낸 생물학적 미세 물체는 간혹 "양성" 생물학적 미세 물체로 지칭되며, 시험에 대해 양성 반응을 나타내지 않은 생물학적 미세 물체는 간혹 "음성" 생물학적 미세 물체로 지칭된다).

[0022] 이후, 방법(100)은 단계(108)로 진행될 수 있는데, 여기에서 방법(100)은 미세 물체의 초기 그룹에 대하여 후속 시험을 수행할 수 있다. 단계(108)에서 수행된 후속 시험은 단계(104)에서 수행된 제1 시험과는 다를 수 있다. 예를 들어, 후속 시험은 단계(104)에서 시험된 제1 특성과는 다른 후속 특성에 대하여 시험할 수 있다. 또 다른 예로서, 단계(108)에서 수행된 후속 시험은 단계(104)에서와 동일한 특성 (상기 언급한 제1 특성)에 대해서 시험할 수 있으나, 후속 시험은 다른 감응도, 정확도, 정밀도 등을 가질 수 있다. 예를 들어, 단계(108)에서 수행된 후속 시험은 제1 특성에 대하여 단계(104)에서 수행된 제1 시험보다 더 민감할 수 있다. 이와는 상관없이, 단계(110)에서, 방법(100)은 후속 시험 단계(108)에서 양성 반응을 나타낸 미세 물체와 후속 시험에 대해 음성 반응을 나타낸 미세 물체를 분리할 수 있다.

[0023] 단계(104)의 제1 시험과 단계(108)의 후속 시험이 동일한 특성에 대해 시험을 하는 경우, 단계(108 및 110) 이후, 서로 다른 2개의 시험에 있어서 특성 (단계(104)의 논의에서 상기 언급된 제1 특성)에 대해 양성 반응을 나타냈던 미세 물체는, 단계(102)의 k번의 수행으로 미세유체 소자 내에 로딩된 미세 물체의 k 혼합물로부터 분리



되었다. 나타낸 바와 같이, 단계(108 및 110)는 반복될 수 있으며, 각 반복 수행에 있어서, 방법(100)은 동일한 특성에 대해 시험하는 단계(108)에서 다른 후속 시험을 적용할 수도 있다. 실제로, 단계(108 및 110)는  $n$ 회 반복될 수 있으며, 그 후 방법(100)은 단계(102)에서 미세유체 소자 내에 로딩된 미세 물체의  $k$  혼합물로부터 단계(104 및 108)에서 시험된 제1 특성에 대해  $n+1$ 회 양성 반응을 나타냈던 미세 물체를 분류하였다.  $n$ 이라는 수는 1 이상의 임의의 정수일 수 있다.

[0024] 언급한 바와 같이, 방법(100)은 다르게는 단계(104)에서 시험된 제1 특성과는 다른 후속 특성에 대하여 단계(108)에서 시험할 수 있다. 이러한 실시양태에서는, 제1 특성과 후속 특성을 모두 갖는 미세 물체는 단계(102)에서 미세유체 소자 내로 로딩된 미세 물체의  $k$  혼합물로부터 분류되었다. 단계(108 및 110)가 반복되는 경우, 각 반복 수행에 있어서, 방법(100)은 단계(108)에서 다른 후속 특성에 대해 시험할 수 있다. 예를 들어, 단계(108)를 각각 수행함에 있어서, 방법(100)은 제1 특성과 다를 뿐만 아니라 단계(108 및 110)를 거치는 동안 시험된 임의의 선행하는 후속 특성들과도 다른 후속 특성에 대해 시험할 수 있다. 단계(110)를 각각 수행함에 있어서, 방법(100)은 단계(108)에서 후속 특성에 대해 양성 반응을 나타내는 미세 물체를 분리할 수 있다.

[0025] 언급한 바와 같이, 단계(108 및 110)는  $n$ 회 반복될 수 있다. 단계(108 및 110)를  $n$ 회 수행한 후, 방법(100)은 단계(102)에서 미세유체 소자 내에 로딩된 미세 물체의  $k$  혼합물로부터 단계(104 및 108)에서 시험된 모든  $n+1$  특성을 갖는 미세 물체를 분류하였다.  $n$ 이라는 수는 1 이상의 임의의 정수일 수 있다.

[0026] 당해 방법(100)의 변형도 고려할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 단계(108)의 반복은 때로는 단계(104) 또는 단계(108) 이전의 임의의 수행 단계에서 시험되지 않은 신규한 특성에 대해 시험할 수 있고, 어떤 때에는 단계(104) 또는 단계(108) 이전의 임의의 수행 단계에서 시험된 동일한 특성에 대해 시험할 수 있다. 또 다른 예로서, 단계(106) 또는 단계(110)의 임의의 반복 수행에서, 방법(100)은 양성 반응을 나타낸 미세 물체로부터 음성 반응을 나타낸 미세 물체를 분리해 낼 수 있다. 또 다른 예로서, 방법(100)은 단계(106)로 진행하기 전에 단계(104)를 여러 번 반복할 수 있다. 이러한 예에서, 방법(100)은 단계(104)의 각 반복 수행에 있어서 서로 다른 특성들에 대해 시험한 후, 단계(104)의 적어도 한 번의 반복 수행에 대해 음성 반응을 나타냈던 미세 물체로부터 단계(104)의 각 반복 수행에서 양성 반응을 나타냈던 미세 물체를 분리해 낼 수 있다. 이와 마찬가지로, 단계(108)는 단계(110)로 진행하기 전에 여러 번 반복할 수 있다.

[0027] 이제, 미세유체 소자(200 및 400)의 예를 도 2a-7c와 관련하여 설명한다. 다음으로, 미세 물체가 생물학적 세포와 같은 생물학적 미세 물체를 포함하는 소자(200 및 400)를 이용한 방법(100) 작동의 예는 도 8-30과 관련하여 기술할 것이다.

[0028] 도 2a-2c는 방법(100)이 수행될 수 있는 미세유체 소자(200)의 일례를 도시한 것이다. 나타낸 바와 같이, 미세유체 소자(200)는 하우징(202), 선택기(222), 검출기(224), 흐름 조절기(226) 및 컨트롤 모듈(230)을 포함할 수 있다.

[0029] 나타낸 바와 같이, 하우징(202)은 액체 매질(244)을 보유하기 위한 하나 이상의 흐름 영역(240)을 포함할 수 있다. 도 2b는 매질(244)이 고르고 (예를 들어, 편평하고) 단조롭게 배치될 수 있는 흐름 영역(240)의 내부 표면(242)을 도시하고 있다. 그러나, 내부 표면(242)은 다르게는 고르지 않게 (예를 들어, 편평하지 않게) 될 수 있으며, 단자와 같은 특징을 포함할 수 있다 (도시하지 않음).

[0030] 하우징(202)은 매질(244)이 흐름 영역(240) 내로 투입될 수 있는 하나 이상의 주입구(208)를 포함할 수 있다. 주입구(208)는 예를 들어, 투입 포트, 개구, 밸브, 또 다른 채널, 유체 연결기 등일 수 있다. 또한, 하우징(202)은 매질(244)이 제거되는 하나 이상의 배출구(210)를 포함할 수도 있다. 배출구(210)는 예를 들어, 배출 포트, 개구, 밸브, 채널, 유체 연결기 등일 수 있다. 또 다른 예로서, 배출구(210)는 2013년 4월 4일에 출원된 미국 특허 출원 제13/856,781호 (변호사 사건 일람번호 BL1-US)에 개시된 임의의 배출 메커니즘과 같은 액적 배출 메커니즘을 포함할 수도 있다. 모든 하우징(202) 또는 하우징의 일부는 기체 투과성이어서, 기체 (예를 들어, 주변 공기)가 흐름 영역(240)으로 유입되어 배출될 수 있도록 할 수 있다.

[0031] 또한, 하우징(202)은 기재(206) (예를 들어, 기관) 상에 배치된 미세유체 구조(204)를 포함할 수도 있다. 미세유체 구조(204)는 기체 투과성일 수 있는 유연성 물질, 예컨대 고무, 플라스틱, 탄성체, 실리콘 (예를 들어, 패틴화가능한 실리콘), 폴리디메틸실록산 ("PDMS") 등을 포함할 수 있다. 다르게는, 미세유체 구조(204)는 강성 재료를 포함하는 기타의 재료를 포함할 수 있다. 기재(206)는 하나 이상의 기관을 포함할 수 있다. 기재(206)는 단일 구조로 도시되어 있지만, 다중 기관과 같은 상호연결된 다중 구조를 포함할 수 있다. 마찬가지로, 미세유체 구조(204)도 상호연결될 수 있는 다중 구조를 포함할 수 있다. 예를 들어, 미세유체 구조(104)는 구조 내의

다른 재료와 동일하거나 이와는 상이한 물질로 제조된 커버 (도시하지 않음)를 추가로 포함할 수 있다.

[0032] 미세유체 구조(204)와 기재(206)는 흐름 영역(240)을 한정할 수 있다. 하나의 흐름 영역(240)을 도 2a-2c에 나타내었지만, 미세유체 구조(204)와 기재(206)는 매질(244)을 위한 여러 가지 흐름 영역을 한정할 수 있다. 흐름 영역(240)은 미세유체 회로를 형성하기 위해 상호연결될 수 있는 채널 (도 2c에서 252) 및 챔버를 포함할 수 있다. 하나 이상의 흐름 영역(240)을 포함하는 인클로저에 있어서, 각 흐름 영역(240)은 각각 흐름 영역(240)으로 매질(244)을 투입하고 이로부터 제거하기 위한 하나 이상의 주입구(108) 및 하나 이상의 배출구(110)와 연결될 수 있다.

[0033] 도 2b 및 2c에 나타낸 바와 같이, 흐름 영역(240)은 매질(244)을 위한 하나 이상의 채널(252)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 채널(252)은 일반적으로 주입구(208)로부터 배출구(210)로 이어질 수 있다. 또한, 나타낸 것과 같이, 비흐름 공간 (또는 격리 영역)을 한정하는 홀딩 펜(256)은 흐름 영역(240) 내에 배치될 수 있다. 즉, 각 홀딩 펜(256) 내부 중 적어도 일부는, 비어있는 흐름 영역(240)이 초기에 매질(244)로 채워져 있는 경우를 제외하고는, 채널(252)의 매질(244)이 직접적으로 흘러들어가지 않는 비흐름 공간일 수 있다. 예를 들어, 각 홀딩 펜(256)은 그 내부가 비흐름 공간을 포함할 수 있는 부분 인클로저를 형성하는 하나 이상의 배리어(254)를 포함할 수 있다. 따라서, 홀딩 펜(256)을 한정하는 배리어(254)는, 흐름 영역(240)이 매질(244)로 채워지는 동안에도 매질(244)이 채널(252)의 임의의 홀딩 펜(256)의 보호된 내부로 직접 흐르는 것을 방지할 수 있다. 예를 들어, 펜(256)의 배리어(254)는, 흐름 영역(240)이 매질(244)로 채워지는 동안에도 채널(252)로부터 펜(256)의 비흐름 공간 내로의 매질(244)의 벌크 흐름을 실질적으로 방지할 수 있고, 그 대신에 채널(252)의 매질과 펜(256) 내부의 비흐름 공간의 매질이 실질적으로 확산되어 혼합하는 것만을 허용하게 된다. 따라서, 홀딩 펜(256) 내의 비흐름 공간과 채널(252) 사이에 영양분과 폐기물의 교환은 실질적으로 확산에 의해서만 일어날 수 있게 된다.

[0034] 전술한 것들은 펜(256) 내부로 향하는 개구가 채널(252) 내의 매질(244)의 흐름에 직접 대면하지 않도록 펜(256)을 배향시킴으로써 달성될 수 있다. 예를 들어, 매질의 흐름이 도 2c의 채널(252) 내에서 주입구(208)로부터 배출구(210)로 (따라서 왼쪽에서 오른쪽으로) 이루어지는 경우, 각각의 펜(256)은 채널(252)로부터 펜(256) 내로의 매질(244)의 직접적인 흐름을 실질적으로 방해하는데, 이는 도 2c에서 각 펜(256)의 개구가 이러한 흐름 속으로 직접 들어가도록 왼쪽으로 대면하고 있지 않기 때문이다.

[0035] 흐름 영역(240) 내에 임의의 패턴으로 배치된 이러한 홀딩 펜(256)들은 여러 가지로 존재할 수 있으며, 홀딩 펜(256)은 여러 가지 임의의 서로 다른 크기와 형태를 가질 수 있다. 도 2c에서는 미세유체 구조(204)의 측벽에 기대어 배치된 것으로 나타나 있지만, 하나 이상의 펜(256) (모든 펜을 포함)은 채널(252) 내의 미세유체 구조(204)의 측벽으로부터 떨어져 배치된 독립된 구조일 수 있다. 도 2c에 나타낸 바와 같이, 홀딩 펜(256)의 개구는 하나 이상의 펜(256)의 개구에 인접할 수 있는 채널(252)과 인접하여 배치될 수 있다. 14개의 펜(256)들에 인접한 하나의 채널(252)이 나타나 있지만, 더 많은 채널(252)이 존재할 수 있으며, 임의의 특정 채널(252)에 인접한 펜(256)은 이보다 더 많거나 적을 수도 있다.

[0036] 펜(256)의 배리어(254)는 미세유체 구조(204)와 관련하여 상기 논의된 임의 유형의 재료를 포함할 수 있다. 배리어(254)는 미세유체 구조(204)와 동일한 재료 또는 상이한 재료를 포함할 수 있다. 배리어(254)는 도 2b에 나타낸 바와 같이 기재(206)의 표면(242)으로부터 미세유체 구조(204)의 흐름 영역(240) 전반에 걸쳐 상부 벽 (표면(242)의 맞은편)까지 확장될 수 있다. 다르게는, 하나 이상의 배리어(254)는 단지 흐름 영역(240)의 일부분에만 걸쳐 확장될 수 있어서, 미세유체 구조(204)의 표면(242) 또는 상부 벽까지 전반적으로 확장되지는 않는다.

[0037] 선택기(222)는 매질(244) 내의 미세 물체 (도시하지 않음) 상에 동전기력을 선택적으로 발생시키도록 설치될 수 있다. 예를 들어, 선택기(222)는 흐름 영역(240)의 내부 표면(242)의 전극을 선택적으로 활성화 (예를 들어, 턴 온(turn on)) 및 비활성화 (예를 들어, 턴 오프(turn off))시키도록 설치될 수 있다. 전극은 매질(244) 내에서 미세 물체 (도시하지 않음)을 끌어당기거나 밀어내는 매질(244) 내의 힘을 발생시킬 수 있으며, 이에 따라 선택기(222)는 매질(244) 내에서 하나 이상의 미세 물체를 선택하여 이동시킬 수 있다. 전극은 예를 들어, 유전영동(DEP) 전극일 수 있다.

[0038] 예를 들어, 선택기(222)는 [예를 들어, 본 명세서에서 참고로 그 전문이 포함되는 미국 특허 제7,612,355호 또는 미국 특허 출원 제14/051,004호 (변호사 사건 일람번호 BL9-US)에 개시된 바와 같은] 하나 이상의 광학 (예를 들어, 레이저) 핀셋 (tweezer) 장치 및/또는 하나 이상의 광전자 핀셋 (OET) 장치를 포함할 수 있다. 또 다른 예로서, 선택기(222)는 하나 이상의 미세 물체가 현탁된 매질(244)의 액적을 이동시키기 위한 하나 이상의 장치 (도시하지 않음)를 포함할 수 있다. 이러한 장치 (도시하지 않음)는 (예를 들어, 미국 특허 제6,958,132호



에 개시된 바와 같은) 광전 습윤 (OEW, optoelectric wetting) 장치와 같은 전기 습윤 (electrowetting) 장치를 포함할 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서 선택기(222)는 DEP 장치로 특정될 수 있다.

[0039] 도 3a 및 3b는 선택기(222)가 DEP 소자(300)를 포함하는 일례를 도시하고 있다. 나타난 바와 같이, DEP 소자(300)는 제1 전극(304), 제2 전극(310), 전극 활성화 기관(308), 전원(312) (예를 들어, 교류 (AC) 전원) 및 광원(320)을 포함할 수 있다. 흐름 영역(240) 내의 매질(244)과 전극 활성화 기관(308)은 전극(304, 310)을 분리할 수 있다. 광원(320)의 광 패턴(322) 변화는 흐름 영역(240)의 내부 표면(242)의 영역(314)의 DEP 전극의 패턴의 변화를 선택적으로 활성화 및 비활성화시킬 수 있다 (이하에서, 영역(314)은 "전극 영역"으로 지칭한다).

[0040] 도 3b에 도시된 예에서, 내부 표면(242) 상으로 향하는 광 패턴(322')은 보이는 것과 같이 빗금을 교차하여 음영 처리된 전극 영역(314a)을 정사각형 형태로 비추고(조사하고) 있다. 다른 전극 영역(314)들은 비춰지지 않아서 이하에서 "어두운" 전극 영역(314)으로 지칭한다. 각 어두운 전극 영역(314)으로부터 제2 전극(310)까지 전극 활성화 기관(308)에 걸친 상대적인 전기 임피던스는 제1 전극(304)으로부터 흐름 영역(240) 내의 매질(244)에 걸쳐 어두운 전극 영역(314)에 이르는 상대적 임피던스보다 크다. 그러나, 전극 영역(314a)을 비추게 되면 비춰진 전극 영역(314a)으로부터 제2 전극(310)까지 전극 활성화 기관(308)에 걸친 상대적 임피던스는, 제1 전극(304)으로부터 흐름 영역(240) 내의 매질(244)에 걸쳐 비춰진 전극 영역(314a)까지의 상대적 임피던스 미만으로 감소하게 된다.

[0041] 전원(312)이 활성화되면, 상기한 것들은 비춰진 전극 영역(314a) 및 인접하고 있는 어두운 전극 영역(314) 사이의 매질(244) 내에 전기장 기울기를 형성하고, 이는 결과적으로 매질(244) 내의 주변 미세 물체 (도시하지 않음)를 끌어당기거나 밀어내는 국소적인 DEP 힘을 생성하게 된다. 따라서, 매질(244) 내의 미세 물체를 끌어당기거나 밀어내는 DEP 전극은, 광원(320) (예를 들어, 레이저 광원 또는 기타 유형의 광원)으로부터 투사된 광 패턴(322)을 미세유체 소자(200) 내로 비춰지도록 변화시킴으로써, 흐름 영역(240)의 내부 표면(242)의 이러한 여러 가지 서로 다른 전극 영역(314)에서 선택적으로 활성화되고 비활성화될 수 있다. DEP 힘이 주변 미세 물체를 끌어당기거나 밀어내는지의 여부는 전원(312)의 주파수 및 매질(244) 및/또는 미세 물체 (도시하지 않음)의 유전 특성과 같은 파라미터에 따라 달라질 수 있다.

[0042] 도 3b에 도시된 비춰진 전극 영역(314a)의 정사각형 패턴(322')은 일례일 뿐이다. 임의의 패턴의 전극 영역(314)이 소자(200) 내로 투사된 광 패턴(322)에 의해 비춰질 수 있으며, 비춰진 전극 영역의 패턴(322')은 광 패턴(322)을 변화시킴으로써 반복적으로 변화될 수 있다.

[0043] 일부 실시양태에서, 전극 활성화 기관(308)은 광전도성 물질일 수 있고, 내부 표면(242)은 단조로울 수 있다. 이러한 실시양태에서, DEP 전극(314)은 광 패턴(322)에 따라 흐름 영역(240)의 내부 표면(242) 상의 어디에도 그리고 어떠한 패턴으로도 형성될 수 있다 (도 3a 참조). 따라서, 전극 영역(314)의 수와 패턴은 고정되어 있는 것이 아니고, 광 패턴(322)에 상응하게 된다. 전술한 미국 특허 제7,612,355호에서 이러한 예들이 도시되어 있는데, 여기서는 특허의 도면에 도시된 도핑되지 않은 비정질 실리콘 물질(24)이 전극 활성화 기관(308)을 구성할 수 있는 광전도성 물질의 한 예가 될 수 있음이 나타나 있다.

[0044] 다른 실시양태에서, 전극 활성화 기관(308)은 반도체 분야에서 알려진 바와 같은 반도체 집적 회로를 형성하는 복수의 도핑층, 전기 절연층 및 전기 전도층을 포함하는 반도체 재료와 같은 회로 기관을 포함할 수 있다. 이러한 실시양태에서, 전기 회로 부재들은 흐름 영역(240)의 내부 표면(242)의 전극 영역(314)과 광 패턴(322)에 의해 선택적으로 활성화 및 비활성화될 수 있는 제2 전극(310) 간에 전기적 연결을 형성할 수 있다. 각 전기적 연결이 활성화되지 않을 때에는, 상응하는 전극 영역(314)으로부터 제2 전극(310)까지의 상대적 임피던스가 제1 전극(304)으로부터 매질(244)을 통해 상응하는 전극 영역(314)까지의 상대적 임피던스보다 큰 것인, 높은 임피던스를 가질 수 있다. 그러나, 광 패턴(322) 내의 광에 의해 활성화되는 경우, 각 전기적 연결은 상응하는 전극 영역(314)으로부터 제2 전극(310)까지의 상대적 임피던스가 제1 전극(304)으로부터 매질(244)을 통해 상응하는 전극 영역(314)까지의 상대적 임피던스보다 작은 것인, 작은 임피던스를 가질 수 있어, 이로써 앞서 거론한 바와 같이 상응하는 전극 영역(314)에서 DEP 전극을 활성화시키게 된다. 따라서, 매질(244) 내에서 미세 물체(도시하지 않음)를 끌어당기거나 밀어내는 DEP 전극은, 광 패턴(322)에 의하여 흐름 영역(240)의 내부 표면(242)의 여러 가지 서로 다른 전극 영역(314)에서 선택적으로 활성화 및 비활성화될 수 있다. 이러한 구성을 갖는 전극 활성화 기관(308)의 비제한적인 예로서는 미국 특허 제7,956,339호의 도 21 및 22에 도시된 광트랜지스터 기반의 장치(300) 및 전술한 미국 특허 출원 제14/051,004호의 도면을 통해 도시된 장치(200, 400, 500 및 600)를 포함한다.

- [0045] 일부 실시양태에서, 제1 전극(304)은 하우징(202)의 제1 벽(302) (또는 커버)의 일부일 수 있고, 전극 활성화 기관(308)과 제2 전극(310)은 일반적으로 도 3a에 도시된 바와 같이 하우징(202)의 제2 벽(306) (또는 기재)의 일부일 수 있다. 나타낸 것과 같이, 흐름 영역(240)은 제1 벽(302)과 제2 벽(306) 사이에 존재할 수 있다. 그러나, 전술한 것은 단지 일례이다. 다른 실시양태에서, 제1 전극(304)은 제2 벽(306)의 일부일 수 있고, 전극 활성화 기관(308) 및/또는 제2 전극(310) 중 하나 또는 양자 모두는 제1 벽(302)의 일부일 수 있다. 또 다른 예로서, 제1 전극(304)은 전극 활성화 기관(308) 및 제2 전극(310)과 동일한 벽(302 또는 306)의 일부일 수 있다. 예를 들어, 전극 활성화 기관(308)은 제1 전극(304) 및/또는 제2 전극(310)을 포함할 수 있다. 더불어, 광원(320)은 다르게는 하우징(202) 밑에 위치할 수 있다.
- [0046] 도 3a 및 3b의 DEP 소자(300)로서 구성되면, 선택기(222)는 이에 따라 소자(200) 내로 광 패턴(322)을 투사하여 흐름 영역(240)의 내부 표면(242)의 전극 영역(314)에서 하나 이상의 DEP 전극을 미세 물체를 둘러싸서 포획하는 패턴으로 활성화시킴으로써, 매질(244) 내의 미세 물체 (도시하지 않음)를 선택할 수 있다. 이후, 선택기(222)는 소자(200)에 대하여 광 패턴(322)을 이동시킴으로써 포획된 미세 물체를 이동시킬 수 있다. 다르게는, 소자(200)는 광 패턴(322)에 대해 상대적으로 이동시킬 수 있다.
- [0047] 홀딩 펜(256)을 한정하는 배리어(254)가 도 2b 및 2c에 도시되어 있고, 물리적 배리어로서 상기에서 논의되어 있지만, 배리어(254)는 다르게는 광 패턴(322)에 의해 활성화된 DEP 힘을 포함하는 가상 배리어일 수 있다.
- [0048] 다시 도 2a-2c를 참조하면, 검출기(224)는 흐름 영역(240) 내의 사건들을 감지하기 위한 기구일 수 있다. 예를 들어, 검출기(224)는 매질 내의 미세 물체 (도시하지 않음)의 (예를 들어, 형광 또는 발광으로 인한) 하나 이상의 방사 특성을 감지할 수 있는 광검출기를 포함할 수 있다. 이러한 검출기(224)는 예를 들어, 매질(244) 중 하나 이상의 미세 물체 (도시하지 않음)가 전자기 방사선 및/또는 방사선에 근접한 파장, 휘도, 강도 등을 방사하는 것을 감지하도록 구성될 수 있다. 적절한 광검출기의 예로서는, 이에 제한되지는 않지만, 광전증배관 (photomultiplier tube) 검출기 및 아발란치 (avalanche) 광검출기를 포함한다.
- [0049] 검출기(224)는, 다르게는 또는 그밖에, 매질(244) 내에서 미세 물체 (도시하지 않음)를 포함하는 흐름 영역(240)의 디지털 이미지를 캡처하기 위한 영상 장치를 포함할 수 있다. 검출기(224)가 포함할 수 있는 적절한 영상 장치의 예로서는 디지털 카메라 또는 광센서, 예컨대 전하 결합 소자 및 상보성 금속 산화막 반도체 영상 장치를 포함한다. 이미지는 이러한 소자를 이용하여 (예를 들어, 컨트롤 모듈(230) 및/또는 인간 작동자에 의해) 캡처되어 분석된다.
- [0050] 흐름 조절기(226)는 흐름 영역(240) 내에서 매질(244)의 흐름을 조절하도록 설치될 수 있다. 예를 들어, 흐름 조절기(226)는 흐름의 방향 및/또는 속도를 조절할 수 있다. 흐름 조절기(226)의 비제한적인 예로서는 하나 이상의 펌프 또는 유체 작동기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 흐름 조절기(226)는 예컨대 흐름 영역(240) 내에서 매질(244)의 흐름 속도를 감지하기 위한 하나 이상의 센서 (도시하지 않음)와 같은 추가의 구성요소들을 포함할 수 있다.
- [0051] 컨트롤 모듈(230)은 선택기(222), 검출기(224), 및/또는 흐름 조절기(226)로부터 신호를 받아 이들을 조절하도록 설치될 수 있다. 나타낸 것과 같이, 컨트롤 모듈(230)은 컨트롤러(232) 및 메모리(234)를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 컨트롤러(232)는 디지털 전자 장치, 광학 장치, 또는 자성 메모리 장치일 수 있는 메모리(234) 내에 비일시적인 신호로 저장된 기계 판독 명령어 (예를 들어, 소프트웨어, 펌웨어, 마이크로코드 등)에 따라 작동하도록 설정된 디지털 전자식 컨트롤러 (예를 들어, 마이크로프로세서, 마이크로컨트롤러, 컴퓨터 등)일 수 있다. 다르게는, 컨트롤러(232)는 하드와이어드 (hardwired) 디지털 회로망 및/또는 아날로그 회로망, 또는 기계 판독 명령어에 따라 작동하는 디지털 전자식 컨트롤러와 하드와이어드 디지털 회로망 및/또는 아날로그 회로망의 조합을 포함할 수 있다. 컨트롤러(232)는 본원에 개시된 모든 방법(100, 2500) 또는 이중 임의의 일부 방법을 수행하도록 설정될 수 있다.
- [0052] 일부 실시양태에서, 펜(256)은 (예를 들어, 검출기(224) 및/또는 선택기(222)에 의해) 조사로부터 차폐될 수 있거나, 또는 단시간 동안 다만 선택적으로 조사될 수 있다. 따라서, 생물학적 미세 물체는 추가의 조사로부터 보호될 수 있거나, 또는 생물학적 미세 물체에 대한 추가의 조사는 생물학적 미세 물체가 펜(256) 내로 이동된 후에 최소화될 수 있다.
- [0053] 도 4a-4c는 미세유체 소자(400)의 또 다른 일례를 도시하고 있다. 나타낸 바와 같이, 미세유체 소자(400)는 복수개의 상호연결된 유체 회로 부재들을 포함하는 미세유체 회로(432)를 에워쌀 수 있다. 도 4a-4c에 도시된 예에서, 미세유체 회로(432)는 격리 펜(436, 438, 440)이 유체 연통되어 있는 흐름 영역/채널(434)을 포함한다. 1

개의 채널(434)과 3개의 격리 펜(436, 438, 440)이 나타나 있지만, 채널(434)은 1개 이상으로 존재할 수 있으며, 임의의 특정 채널과 연결된 격리 펜(436, 438, 440)은 3개보다 더 많거나 적을 수 있다. 채널(434)과 격리 펜(436, 438, 440)은 유체 회로 부재의 실례이다. 또한, 미세유체 회로(432)는 추가의 또는 상이한 유체 회로 부재, 예컨대 유체 챔버, 저장소 등을 포함할 수도 있다.

[0054] 각 격리 펜(436, 438, 440)은 격리 영역(444)을 한정하는 격리 구조(446) 및 격리 영역(444)을 채널(434)에 유체 연통시키는 연결 영역(442)을 포함할 수 있다. 연결 영역(442)은 채널(434)로 향하는 근위부 개구(452) 및 격리 영역(444)으로 향하는 원위부 개구(454)를 포함할 수 있다. 연결 영역(442)은 채널(434) 내에서 최대 속도( $V_{max}$ )로 흐르는 유체 매질 흐름 (도시하지 않음)의 최대 침투 깊이가 격리 영역(444) 안까지 확장되지 않도록 구성될 수 있다. 따라서, 펜(436, 438, 440)의 격리 영역(444) 내에 배치된 미세 물체 (도시하지 않음) 또는 기타의 재료 (도시하지 않음)는 채널(434) 내의 매질의 흐름으로부터 격리되어 이에 의해 실질적으로 영향을 받지 않을 수 있다 (도시하지 않음). 따라서, 채널(434)은 일소된 영역의 일례가 될 수 있고, 격리 펜(436, 438, 440)의 격리 영역은 비일소된 영역의 일례가 될 수 있다. 상기한 것에 대해 보다 상세한 논의를 하기 전에, 미세유체 소자(400)에 대한 간단한 설명과 관련 컨트롤 시스템(470)의 실례를 제공한다.

[0055] 당해 미세유체 소자(400)는 1개 이상의 유체 매질을 함유할 수 있는 미세유체 회로(432)를 에워싸고 있는 인클로저(402)를 포함할 수 있다. 소자(400)는 물리적으로 다양한 방식에 의해 구성될 수 있지만, 도 4a-4c에 나타낸 예에서는, 인클로저(402)가 지지체 구조(404) (예를 들어, 기재), 미세유체 회로 구조(412) 및 커버(422)를 포함하는 것으로 그려져 있다. 지지체 구조(404), 미세유체 회로 구조(412) 및 커버(422)는 서로 부착될 수 있다. 예를 들어, 미세유체 회로 구조(412)는 지지체 구조(404) 상에 배치될 수 있고, 커버(422)는 미세유체 회로 구조(412) 위에 배치될 수 있다. 지지체 구조(404)와 커버(422)를 이용하여, 미세유체 회로 구조(412)는 미세유체 회로(432)를 한정할 수 있다. 미세유체 회로(432)의 내부 표면은 도면에서 번호 406으로 식별되어 있다.

[0056] 당해 지지체 구조(404)는, 도 4a 및 4b에 도시된 바와 같이, 소자(400)의 바닥에 존재할 수 있으며, 커버(422)는 소자(400)의 상부에 존재할 수 있다. 다르게는, 지지체 구조(404) 및 커버(422)는 다른 배향으로 존재할 수도 있다. 예를 들어, 지지체 구조(404)는 소자(400)의 상부에 존재할 수 있으며, 커버(422)는 소자(400)의 바닥에 존재할 수 있다. 이와는 상관없이, 인클로저(402)로 들어가거나 이로부터 나오는 통로(426)를 각각 포함하는 1개 이상의 포트(424)가 존재할 수 있다. 통로(426)의 예로서는 밸브, 게이트, 관통구 등을 포함한다. 2개의 포트(424)만을 나타내었으나, 소자(400)는 오직 1개 또는 2개 이상의 포트를 가질 수 있다.

[0057] 당해 미세유체 회로 구조(412)는 인클로저(402) 내의 미세유체 회로(432) 또는 회로들의 회로 부재들을 한정할 수 있다. 도 4a-4c에 도시된 실례에서, 미세유체 회로 구조(412)는 프레임(414) 및 미세유체 회로 재료(416)를 포함한다.

[0058] 당해 지지체 구조(404)는 하나의 기관 또는 복수개의 상호연결된 기관들을 포함할 수 있다. 예를 들어, 지지체 구조(404)는 1개 이상의 상호연결된 반도체 기관, 인쇄회로기관 등을 포함할 수 있다. 프레임(414)은 미세유체 회로 재료(416)를 부분적으로 또는 완전히 에워쌀 수 있다. 프레임(414)은, 예를 들어, 실질적으로 미세유체 회로 재료(416)를 둘러싸는 상대적으로 강성인 구조일 수 있다. 예를 들어, 프레임(414)은 금속 재료를 포함할 수 있다.

[0059] 당해 미세유체 회로 재료(416)는 미세유체 회로(432)의 미세유체 회로 부재 및 상호연결을 한정하기 위해 공동 등으로 패터닝될 수 있다. 미세유체 회로 재료(416)는 기체 투과성일 수 있는 유연성 물질, 예컨대 고무, 플라스틱, 탄성체, 실리콘 (예를 들어, 패터닝가능한 실리콘), PDMS 등을 포함할 수 있다. 미세유체 회로 재료(416)를 구성할 수 있는 기타의 재료로서는, 성형 유리, 에칭가능한 물질, 예컨대 실리콘, 포토레지스트 (예를 들어, SU8) 등을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 재료들은 - 따라서 미세유체 회로 재료(416)들도 - 강성이 고/강성이거나 기체에 실질적으로 불투과성일 수 있다. 이와는 상관없이, 미세유체 회로 재료(416)는 지지체 구조(404) 위에, 그리고 프레임(414) 내부에 배치될 수 있다.

[0060] 당해 커버(422)는 프레임(414) 및/또는 미세유체 회로 재료(416)의 일체 부분일 수 있다. 다르게는, 커버(422)는 (도 4a 및 4b에 도시된 바와 같이) 구조적으로 뚜렷한 구성요소일 수 있다. 커버(422)는 프레임(414) 및/또는 미세유체 회로 재료(416)와 동일하거나 상이한 재료를 포함할 수 있다. 이와 유사하게, 지지체 구조(404)는 도시된 바와 같이 프레임(414) 또는 미세유체 회로 재료(416)와는 별개의 구조일 수 있거나, 또는 프레임(414) 또는 미세유체 회로 재료(416)의 일체 부분일 수도 있다. 이와 마찬가지로, 프레임(414) 및 미세유체 회로 재료(416)는 도 4a-4c에 나타낸 것과 같이 별개의 구조일 수 있거나, 또는 동일한 구조의 일체 부분일 수 있다. 일



부 실시양태에서, 커버(422) 및/또는 지지체 구조(404)는 광 투과성일 수 있다.

[0061] 또한, 도 4a는 미세유체 소자(400)와 함께 사용될 수 있는 컨트롤/모니터링 시스템(470)의 예를 블록 다이어그램으로 단순화시켜 도시한 것이다. 나타낸 바와 같이, 시스템(470)은 컨트롤 모듈(472) 및 컨트롤/모니터링 장비(480)를 포함할 수 있다. 컨트롤 모듈(472)은 직접적으로 및/또는 컨트롤/모니터링 장비(480)를 통해 소자(400)를 제어하여 모니터링하도록 구성될 수 있다.

[0062] 당해 컨트롤 모듈(472)은 디지털 컨트롤러(474) 및 디지털 메모리(476)를 포함할 수 있다. 컨트롤러(474)는 예를 들어, 디지털 프로세서, 컴퓨터 등일 수 있고, 디지털 메모리(476)는 데이터 및 기계적으로 실행가능한 명령어 (예를 들어, 소프트웨어, 펌웨어, 마이크로코드 등)를 비일시적 데이터 또는 신호로 저장하기 위한 비일시적 디지털 메모리일 수 있다. 컨트롤러(474)는 메모리(476) 내에 저장된 이러한 기계적으로 실행가능한 명령어에 따라 작동하도록 설정될 수 있다. 다르게는 또는 그 밖에, 컨트롤러(474)는 하드와이어드 (hardwired) 디지털 회로망 및/또는 아날로그 회로망을 포함할 수 있다. 따라서, 컨트롤 모듈(472)은 본원에서 논의된 모든 방법(예를 들어, 도 1의 방법(100) 및/또는 도 25의 방법(2500)) 또는 이중 임의의 일부 방법, 이러한 방법의 단계, 기능, 작용 등을 수행하도록 설정될 수 있다.

[0063] 당해 컨트롤/모니터링 장비(480)는 미세유체 소자(400) 및 미세유체 소자(400)를 이용하여 수행되는 방법을 제어 또는 모니터링하기 위한 임의 다수의 서로 다른 유형의 장치를 포함할 수 있다. 예를 들어, 장비(480)는 미세유체 소자(400)에 전력을 공급하기 위한 전원 (도시하지 않음); 미세유체 소자(400)에 유체 매질을 공급하거나 이로부터 매질을 제거하기 위한 유체 매질 공급원 (도시하지는 않았으나, 도 2a의 번호 226과 같은 흐름 조절기를 포함할 수 있음); 미세유체 회로(432) 내의 미세 물체 (도시하지 않음)의 선택 및 이동을 제어하기 위한 모티브 모듈 (도시하지는 않았으나, 도 2a의 번호 222와 같은 선택기를 포함할 수 있음); 미세유체 회로(432) 내부의 (예를 들어, 미세 물체의) 이미지를 캡처하기 위한 이미지 캡처 기구 (도시하지는 않았으나, 도 2a의 검출기(224)와 같을 수 있음); 미세유체 회로(432) 내로 에너지를 부여하여 반응을 촉진시키기 위한 촉진 기구 (도시하지 않음) 등을 포함할 수 있다.

[0064] 언급한 바와 같이, 컨트롤/모니터링 장비(480)는 미세유체 회로(432)에서 미세 물체 (도시하지 않음)를 선택하여 이동시키기 위한 모티브 모듈을 포함할 수 있다. 다양한 모티브 기구들이 사용될 수 있다. 예를 들어, 유전 영동 (DEP) 기구 (예를 들어, 도 2a의 선택기(222)와 같음)를 사용하여 미세유체 회로 내에서 미세 물체 (도시하지 않음)를 선택하여 이동시킬 수 있다. 미세유체 소자(400)의 기재(404) 및/또는 커버(422)는 미세유체 회로(432)의 유체 매질 (도시하지 않음) 내의 미세 물체 (도시하지 않음) 상에 DEP 힘을 선택적으로 유도하여, 개개의 미세 물체를 선택, 포획 및/또는 이동시키기 위한 DEP 구성을 포함할 수 있다. 컨트롤/모니터링 장비(480)는 이러한 DEP 구성을 위한 1개 이상의 컨트롤 모듈을 포함할 수 있다.

[0065] 당해 지지체 구조(404) 또는 커버(422)의 이러한 DEP 구성의 일례는 광전자 핀셋 (OET) 구성이다. 지지체 구조(404) 또는 커버(422)의 적절한 OET 구성 및 이와 관련된 모니터링 및 컨트롤 장비의 예는 하기 미국 특허 문헌들 (이들 문헌 각각은 그 전문이 본원에 참고로 포함됨)에 예시되어 있다: 미국 특허 제7,612,355호; 미국 특허 제7,956,339호; 미국 특허 출원 공보 제2012/0325665호; 미국 특허 출원 공보 제2014/0124370호; 미국 특허 출원 제14/262,140호 (계류중); 및 미국 특허 출원 제14/262,200 (계류중). 따라서, 미세 물체 (도시하지 않음)는, OET와 같은 DEP 장치 및 기법을 이용하여 미세유체 소자(400)의 미세유체 회로(432) 내에서 개별적으로 선택, 포획 및 이동시킬 수 있다.

[0066] 언급한 바와 같이, 채널(434) 및 펜(436, 438, 440)은 1개 이상의 유체 매질 (도시하지 않음)을 함유하도록 구성될 수 있다. 도 4a-4c에 나타낸 실례에 있어서, 포트(424)들은 채널(434)에 연결되어 있어 유체 매질 (도시하지 않음)이 미세유체 회로(432) 내로 도입되거나 이로부터 제거될 수 있도록 한다. 일단 미세유체 회로(432)가 유체 매질을 함유하게 되면 (도시하지 않음), 채널(434) 내에 유체 매질의 흐름 (도시하지 않음)이 선택적으로 발생하고 중단될 수 있다. 예를 들어, 나타낸 바와 같이, 포트(424)는 채널(434)의 서로 다른 위치 (예를 들어, 반대편 끝쪽)에 위치할 수 있으며, 매질의 흐름 (도시하지 않음)은, 주입구로 기능하는 한 포트(424)로부터 배출구로 기능하는 또 다른 포트(424)로 향하여 발생할 수 있다.

[0067] 상기 논의한 바와 같이, 각 격리 펜(436, 438, 440)은 연결 영역(442) 및 격리 영역(444)을 포함할 수 있다. 연결 영역(442)은 채널(434)로 향하는 근위부 개구(452) 및 격리 영역(444)으로 향하는 원위부 개구(454)를 포함할 수 있다. 채널(434) 및 각 격리 펜(436, 438, 440)은 채널(434) 내에서 흐르는 매질의 흐름 (도시하지 않음)의 최대 침투 깊이가 연결 영역(442) 내로는 확장되나 격리 영역(444)으로는 확장되지 않도록 구성될 수 있다.

- [0068] 도 5는 격리 펜(436)의 실례를 상세하게 도시하고 있다. 펜(438, 440)도 이와 유사하게 구성될 수 있다. 펜(436) 내의 미세 물체(522)도 나타나 있다. 알려진 바와 같이, 펜(436)의 근위부 개구(452)를 지나는 미세유체 채널(434) 내 유체 매질(502)의 흐름(512)은 매질(502)의 펜 내로 유입되고/되거나 이로부터 유출되는 제2 흐름(514)을 발생시킬 수 있다. 펜(436)의 격리 영역(444) 내의 미세 물체(522)를 제2 흐름(514)으로부터 격리시키기 위해서는, 근위부 개구(452)로부터 원위부 개구(454)까지의 격리 펜(436) 연결 영역(442) 길이( $L_{con}$ )가, 채널(434) 내의 흐름(512)의 속도가 최대( $V_{max}$ )인 경우에 제2 흐름(514)의 연결 영역(442)으로의 최대 침투 깊이( $D_p$ )보다 클 수 있다. 채널(434) 내의 흐름(512)이 최대 속도( $V_{max}$ )를 초과하지 않는 한, 흐름(512) 및 이로써 생성된 제2 흐름(514)은 이에 따라 채널(434)과 연결 영역(442)으로 제한되어 격리 영역(444)으로 들어가지 않을 수 있다. 따라서, 채널(434) 내의 흐름(512)이 격리 영역(444)으로부터 미세 물체(522)를 끌어당기지 못할 것이다. 따라서, 격리 영역(444) 내의 미세 물체(522)는 채널(434) 내의 흐름(512)과는 상관없이 격리 영역(444) 내에 머물게 될 것이다.
- [0069] 더욱이, 흐름(512)은 채널(434)의 여러 가지 입자들 (예를 들어, 미세입자 및/또는 나노입자)을 펜(436)의 격리 영역(444) 내로 이동시키지 않을 것이고, 흐름(512)은 또한 격리 영역(444)으로부터 여러 가지 입자들을 끌어당겨 채널(434)로 넣지도 않을 것이다. 연결 영역(442)의 길이( $L_{con}$ )가 최대 침투 깊이( $D_p$ )보다 크면, 한 펜(436)에 있어서 채널(434) 또는 또 다른 펜(438, 440)의 여러 가지 입자들로 인한 오염을 방지할 수 있다.
- [0070] 채널(434)과 펜(436, 438, 440)의 연결 영역(442)이 채널(434) 내 매질(502)의 흐름(512)에 의해 영향을 받을 수 있기 때문에, 채널(434)과 연결 영역(442)은 미세유체 회로(432)의 일소된 (또는 흐름) 영역으로 간주될 수 있다. 반면에, 펜(436, 438, 440)의 격리 영역(444)은 비일소된 (또는 비흐름) 영역으로 간주될 수 있다. 예를 들어, 채널(434) 내의 제1 매질(502) (예를 들어, 제1 매질(502) 내의 성분들 (도시하지 않음))은, 채널(434)의 제1 매질(502)이 연결 영역(442)을 통해 격리 영역(444) 내의 제2 매질(504) 내로 들어가는 실질적으로 확산에 의해서만 격리 영역(444) 내의 제2 매질(504) (예를 들어, 제2 매질(504) 내의 성분들 (도시하지 않음))과 혼합될 수 있다. 이와 유사하게, 제2 매질(504) (예를 들어, 제2 매질(504) 내의 성분들 (도시하지 않음))은, 격리 영역(444)의 제2 매질(504)이 연결 영역(442)을 통해 채널(434)의 제1 매질(502) 내로 들어가는 실질적으로 확산에 의해서만 채널(434) 내의 제1 매질(502) (예를 들어, 제1 매질(502) 내의 성분들 (도시하지 않음))과 혼합될 수 있다. 제1 매질(502)은 제2 매질(504)과 동일한 매질이거나 상이한 매질일 수 있다. 더욱이, 제1 매질(502)과 제2 매질(504)은 동일하게 출발한 후 (예를 들어, 격리 영역(444) 내의 1개 이상의 생물학적 미세 물체에 의하거나, 또는 채널(434)을 통해 흐르는 매질을 변화시킴에 의한 제2 매질의 컨디셔닝을 통해) 다르게 될 수 있다.
- [0071] 채널(434) 내의 흐름(512)에 의해 야기된 제2 흐름(514)의 최대 침투 깊이( $D_p$ )는 다수의 파라미터들에 따라 달라질 수 있다. 이러한 파라미터의 예로서는 하기를 포함한다: 채널(434)의 형태 (예를 들어, 채널은 매질을 연결 영역(442) 내로 향하게 할 수 있고, 연결 영역(442)으로부터 매질을 전향시킬 수 있거나, 또는 단지 연결 영역(442)을 지나 흐르게 할 수 있음); 근위부 개구(452)에서 채널(434)의 너비( $W_{ch}$ ) (또는 단면적); 근위부 개구(452)에서 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ ) (또는 단면적); 채널(434) 내의 흐름(512)의 최대 속도( $V_{max}$ ); 제1 매질(502) 및/또는 제2 매질(504)의 점도 등.
- [0072] 일부 실시양태에서, 채널(434) 및 격리 펜(436, 438, 440)의 차원(dimension)은 채널(434) 내의 흐름(512)에 대하여 하기와 같이 배향될 수 있다: 채널 너비( $W_{ch}$ ) (또는 채널(434)의 단면적)는 흐름(512)에 실질적으로 수직일 수 있고, 근위부 개구(552)에서 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ ) (또는 단면적)는 흐름(512)에 실질적으로 평행일 수 있으며, 연결 영역의 길이( $L_{con}$ )는 흐름(512)에 실질적으로 수직일 수 있다. 상기한 것들은 다만 예시일 뿐이며, 채널(434) 및 격리 펜(436, 438, 440)의 차원은 서로에 대하여 다른 배향으로 존재할 수도 있다.
- [0073] 일부 실시양태에서, 근위부 개구(452)에서 채널(434)의 너비( $W_{ch}$ )는 임의의 하기 범위 이내일 수 있다: 50-1000 마이크로, 50-500 마이크로, 50-400 마이크로, 50-300 마이크로, 50-250 마이크로, 50-200 마이크로, 50-150 마이크로, 50-100 마이크로, 70-500 마이크로, 70-400 마이크로, 70-300 마이크로, 70-250 마이크로, 70-200 마이크로, 70-150 마이크로, 90-400 마이크로, 90-300 마이크로, 90-250 마이크로, 90-200 마이크로, 90-150 마이크로, 100-300 마이크로, 100-250 마이크로, 100-200 마이크로, 100-150 마이크로 및 100-120 마이크로. 상기한 것들은 다만 예시일 뿐이며, 채널(434)의 너비( $W_{ch}$ )는 다른 범위 (예를 들어, 상기 열거된 임의의 중점에

의해 규정된 범위) 일 수 있다.

- [00074] 일부 실시양태에서, 근위부 개구(152)에서 채널(134)의 높이( $H_{ch}$ )는 임의의 하기 범위 이내일 수 있다: 20-100 마이크론, 20-90 마이크론, 20-80 마이크론, 20-70 마이크론, 20-60 마이크론, 20-50 마이크론, 30-100 마이크론, 30-90 마이크론, 30-80 마이크론, 30-70 마이크론, 30-60 마이크론, 30-50 마이크론, 40-100 마이크론, 40-90 마이크론, 40-80 마이크론, 40-70 마이크론, 40-60 마이크론, 또는 40-50 마이크론. 상기한 것들은 다만 예시일 뿐이며, 채널(134)의 높이( $H_{ch}$ )는 다른 범위 (예를 들어, 상기 열거된 임의의 중점에 의해 규정된 범위) 일 수 있다.

[00075] 일부 실시양태에서, 근위부 개구(452)에서 채널(434)의 단면적은 임의의 하기 범위 이내일 수 있다: 500-50,000 제곱 마이크론, 500-40,000 제곱 마이크론, 500-30,000 제곱 마이크론, 500-25,000 제곱 마이크론, 500-20,000 제곱 마이크론, 500-15,000 제곱 마이크론, 500-10,000 제곱 마이크론, 500-7,500 제곱 마이크론, 500-5,000 제곱 마이크론, 1,000-25,000 제곱 마이크론, 1,000-20,000 제곱 마이크론, 1,000-15,000 제곱 마이크론, 1,000-10,000 제곱 마이크론, 1,000-7,500 제곱 마이크론, 1,000-5,000 제곱 마이크론, 2,000-20,000 제곱 마이크론, 2,000-15,000 제곱 마이크론, 2,000-10,000 제곱 마이크론, 2,000-7,500 제곱 마이크론, 2,000-6,000 제곱 마이크론, 3,000-20,000 제곱 마이크론, 3,000-15,000 제곱 마이크론, 3,000-10,000 제곱 마이크론, 3,000-7,500 제곱 마이크론, 또는 3,000-6,000 제곱 마이크론. 상기한 것들은 다만 예시일 뿐이며, 근위부 개구(452)에서 채널(434)의 단면적은 다른 범위 (예를 들어, 상기 열거된 임의의 중점에 의해 규정된 범위) 일 수 있다.

[00076] 일부 실시양태에서, 연결 영역의 길이( $L_{con}$ )는 임의의 하기 범위일 수 있다: 1-200 마이크론, 5-150 마이크론, 10-100 마이크론, 15-80 마이크론, 20-60 마이크론, 20-500 마이크론, 40-400 마이크론, 60-300 마이크론, 80-200 마이크론 및 100-150 마이크론. 상기한 것들은 다만 예시일 뿐이며, 연결 영역의 길이( $L_{con}$ )는 상기한 예들과는 다른 범위 (예를 들어, 상기 열거된 임의의 중점에 의해 규정된 범위) 일 수 있다.

[00077] 일부 실시양태에서, 근위부 개구(452)에서 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ )는 임의의 하기 범위일 수 있다: 20-500 마이크론, 20-400 마이크론, 20-300 마이크론, 20-200 마이크론, 20-150 마이크론, 20-100 마이크론, 20-80 마이크론, 20-60 마이크론, 30-400 마이크론, 30-300 마이크론, 30-200 마이크론, 30-150 마이크론, 30-100 마이크론, 30-80 마이크론, 30-60 마이크론, 40-300 마이크론, 40-200 마이크론, 40-150 마이크론, 40-100 마이크론, 40-80 마이크론, 40-60 마이크론, 50-250 마이크론, 50-200 마이크론, 50-150 마이크론, 50-100 마이크론, 50-80 마이크론, 60-200 마이크론, 60-150 마이크론, 60-100 마이크론, 60-80 마이크론, 70-150 마이크론, 70-100 마이크론 및 80-100 마이크론. 상기한 것들은 다만 예시일 뿐이며, 근위부 개구(452)에서 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ )는 상기한 예들과는 다른 범위 (예를 들어, 상기 열거된 임의의 중점에 의해 규정된 범위) 일 수 있다.

[00078] 다른 실시양태에서, 근위부 개구(452)에서 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ )는 임의의 하기 범위일 수 있다: 2-35 마이크론, 2-25 마이크론, 2-20 마이크론, 2-15 마이크론, 2-10 마이크론, 2-7 마이크론, 2-5 마이크론, 2-3 마이크론, 3-25 마이크론, 3-20 마이크론, 3-15 마이크론, 3-10 마이크론, 3-7 마이크론, 3-5 마이크론, 3-4 마이크론, 4-20 마이크론, 4-15 마이크론, 4-10 마이크론, 4-7 마이크론, 4-5 마이크론, 5-15 마이크론, 5-10 마이크론, 5-7 마이크론, 6-15 마이크론, 6-10 마이크론, 6-7 마이크론, 7-15 마이크론, 7-10 마이크론, 8-15 마이크론 및 8-10 마이크론. 상기한 것들은 다만 예시일 뿐이며, 근위부 개구(452)에서 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ )는 상기한 예들과는 다른 범위 (예를 들어, 상기 열거된 임의의 중점에 의해 규정된 범위) 일 수 있다.

[00079] 일부 실시양태에서, 근위부 개구(452)에서 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ )에 대한 연결 영역의 길이( $L_{con}$ )의 비율은 하기 임의의 비율 이상일 수 있다: 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 또는 그 이상. 상기한 것들은 다만 예시일 뿐이며, 근위부 개구(452)에서 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ )에 대한 연결 영역의 길이( $L_{con}$ )의 비율은 상기한 예들과는 다를 수 있다.

[00080] 도 5에 도시된 바와 같이, 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ )는 근위부 개구(452)에서 원위부 개구(454)까지 균일할 수 있다. 따라서, 원위부 개구(454)에서 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ )는 근위부 개구(452)에서 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ )에 대하여 상기 확인된 임의의 범위일 수 있다. 다르게는, 원위부 개구(454)에서 연결 영역(442)의 너

비( $W_{con}$ )는, 근위부 개구(452)에서 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ )보다 (예를 들어, 도 6에 나타난 바와 같이) 더 크거나 또는 (예를 들어, 도 7a-7c에 나타난 바와 같이) 더 작을 수 있다.

[0081] 도 5에서도 도시된 바와 같이, 원위부 개구(454)에서 격리 영역(444)의 너비는 근위부 개구(452)에서 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ )와 실질적으로 동일할 수 있다. 따라서, 원위부 개구(454)에서 격리 영역(444)의 너비는 근위부 개구(452)에서 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ )에 대해 상기 확인된 임의의 범위일 수 있다. 다르게는, 원위부 개구(454)에서 격리 영역(444)의 너비는 근위부 개구(452)에서 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ )보다 (예를 들어, 도 6에 나타난 바와 같이) 더 크거나 또는 더 작을 수 있다 (도시하지 않음).

[0082] 일부 실시양태에서, 채널(434) 내의 흐름(512)의 최대 속도( $V_{max}$ )는, 채널이 위치해 있는 미세유체 소자 내에 구조적 장애를 일으키지 않으면서 채널이 유지할 수 있는 최대 속도이다. 채널이 유지할 수 있는 최대 속도는 미세유체 소자의 구조적 완전성 및 채널의 단면적을 비롯한 여러 가지 인자들에 따라 다를 수 있다. 본 발명의 예시적인 미세유체 소자에 있어서, 약 3,000 내지 4,000 제곱 마이크론의 단면적을 갖는 채널에서의 최대 흐름 속도( $V_{max}$ )는 약 10  $\mu\text{L}/\text{sec}$ 이다. 다르게는, 채널(434) 내의 흐름(512)의 최대 속도( $V_{max}$ )는 격리 영역(444)이 채널(434) 내의 흐름(512)으로부터 확실히 격리되도록 설정될 수 있다. 특히, 격리 펜(436, 438, 440) 연결 영역(442)의 근위부 개구(452) 너비( $W_{con}$ )를 기준으로,  $V_{max}$ 는 연결 영역 내로의 제2 흐름(514)의 침투 깊이( $D_p$ )가  $L_{con}$  미만이 되도록 설정될 수 있다. 예를 들어, 약 30 내지 40 마이크론의 너비( $W_{con}$ )의 근위부 개구(452)를 갖는 연결 영역을 보유하는 격리 펜에 있어서,  $V_{max}$ 는 약 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 또는 1.5  $\mu\text{L}/\text{sec}$ 로 설정될 수 있다.

[0083] 일부 실시양태에서, 연결 영역(442)의 길이( $L_{con}$ )와 격리 펜(436, 438, 440)의 격리 영역(444)에 상응하는 길이를 합한 길이는 격리 영역(444) 내의 제2 매질(504)의 성분들이 채널(434) 내의 제1 매질(502)로 상대적으로 빠르게 확산하기에는 충분히 짧을 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, (1) 연결 영역(442)의 길이( $L_{con}$ ) 및 (2) 격리 펜(436, 438, 440)의 격리 영역(444)에 위치한 생물학적 미세 물체와 연결 영역의 원위부 개구(454) 간의 거리를 합친 길이는 하기 범위일 수 있다: 40 마이크론 내지 300 마이크론, 50 마이크론 내지 550 마이크론, 60 마이크론 내지 500 마이크론, 70 마이크론 내지 180 마이크론, 80 마이크론 내지 160 마이크론, 90 마이크론 내지 140 마이크론, 100 마이크론 내지 120 마이크론, 또는 상기한 중점들 중 하나를 포함하는 임의의 범위. 분자 (예를 들어, 관심 대상의 분석물, 예컨대 항체)의 확산 속도는 다수의 인자들, 예컨대 온도, 매질의 점도 및 분자의 확산 계수( $D_0$ )에 따라 다를 수 있다. 20°C 수용액에서 IgG 항체에 대한  $D_0$ 는 약  $4.4 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{sec}$ 인 반면, 생물학적 미세 물체 배지의 점도는 약  $9 \times 10^{-4} \text{ m}^2/\text{sec}$ 이다. 따라서, 예를 들어, 20°C에서 생물학적 미세 물체 배지 내의 항체는 약 0.5 마이크론/sec의 확산 속도를 가질 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 격리 영역(444) 내에 위치한 생물학적 미세 물체가 채널(434) 내로 확산되는 시간은 약 10분 이하 (예를 들어, 9, 8, 7, 6, 5분 또는 그 미만)일 수 있다. 확산 시간은 확산 속도에 영향을 주는 파라미터들을 변화시킴으로써 조절될 수 있다. 예를 들어, 매질의 온도를 (예를 들어, 37°C와 같은 생리학적 온도로) 높이거나 또는 (예를 들어, 15°C, 10°C, 또는 4°C로) 낮춤으로써, 확산 속도를 각각 증대시키거나 감소시킬 수 있다.

[0084] 도 5에 도시된 격리 펜(436)의 구성은 단지 하나의 예일 뿐, 여러 가지 변형들을 가할 수 있다. 예를 들어, 격리 영역(444)이 복수개의 미세 물체(522)를 포함하는 크기로 도시되어 있으나, 격리 영역(444)은 단지 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 이와 유사하게 상대적으로 적은 수의 미세 물체(522)를 포함하도록 크기가 변화될 수 있다. 따라서, 격리 영역(444)의 용적은, 예를 들어, 적어도  $3 \times 10^3$ ,  $6 \times 10^3$ ,  $9 \times 10^3$ ,  $1 \times 10^4$ ,  $2 \times 10^4$ ,  $4 \times 10^4$ ,  $8 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $2 \times 10^5$ ,  $4 \times 10^5$ ,  $8 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $2 \times 10^6$  제곱 마이크론, 또는 그 이상일 수 있다.

[0085] 또 다른 예로서, 격리 펜(436)은 채널(434)로부터 일반적으로 수직으로 신장되어 있어서, 채널(434)과 일반적으로 90°의 각을 형성하는 것으로 나타나 있다. 격리 펜(436)은 다르게는 다른 각도로, 예를 들어, 30° 내지 150° 사이의 임의의 각으로 채널(434)로부터 신장될 수 있다.

[0086] 또 다른 예로서, 연결 영역(442) 및 격리 영역(444)은 도 5에서 실질적으로 직사각형인 것으로 도시되어 있지만, 연결 영역(442) 및 격리 영역(444) 중 어느 하나 또는 양자 모두는 다른 형태를 가질 수도 있다. 이러한 형태의 예로서는, 타원형, 삼각형, 원형, 모래시계형 등을 포함한다.



- [0087] 또 다른 예로서, 연결 영역(442) 및 격리 영역(444)은 도 5에서 실질적으로 균일한 너비를 갖는 것으로 도시되어 있다. 즉, 도 5에서, 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ )가 근위부 개구(452)에서 원위부 개구(454)에 이르기까지 균일한 것으로 나타나 있고; 이에 상응하는 격리 영역(444)의 너비도 유사하게 균일하며; 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ ) 및 이에 상응하는 격리 영역(444)의 너비가 동일한 것으로 나타나 있다. 상기한 것들 중 어떤 것이라도 도 5에 나타난 것과는 다를 수 있다. 예를 들어, 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ )는 근위부 개구(452)에서 원위부 개구(454)에 이르기까지 (예를 들어, 사다리꼴 형태 또는 모래시계 형태로) 다양하게 변화시킬 수 있으며; 격리 영역(444)의 너비는 (예를 들어, 삼각형 또는 플라스크 형태로) 다양하게 변화시킬 수 있고; 연결 영역(442)의 너비( $W_{con}$ )는 이에 상응하는 격리 영역(444)의 너비와는 다를 수 있다.
- [0088] 도 6은 상기 언급한 변형들 중 일부에 관한 예들을 보여주는 격리 펜의 일례를 도시한 것이다. 도 6에 나타난 펜은 본원의 도면 또는 논의에서 기술된 펜(436, 438, 440) 중 어느 것이라도 대체할 수 있다.
- [0089] 도 6의 격리 펜은 연결 영역(642) 및 격리 영역(644)을 포함하는 격리 구조(646)를 포함할 수 있다. 연결 영역(642)은 채널(434)로 향하는 근위부 개구(652) 및 격리 영역(644)으로 향하는 원위부 개구(654)를 포함할 수 있다. 도 6에 도시된 예에서, 연결 영역(642)은 그 너비( $W_{con}$ )가 근위부 개구(652)로부터 원위부 개구(654)에 이르기까지 증가되도록 확장된다. 그러나, 형태 그 밖의 것에 있어서도, 연결 영역(642), 격리 구조(646) 및 격리 영역(644)은 상기 논의한 바와 같이 도 5의 연결 영역(442), 격리 구조(446) 및 격리 영역(444)과 일반적으로 동일할 수 있다.
- [0090] 예를 들어, 도 6의 채널(434)과 격리 펜은 제2 흐름(514)의 최대 침투 깊이( $D_p$ )가 격리 영역(644)이 아닌 연결 영역(642) 내로 확장되도록 구성될 수 있다. 따라서, 연결 영역(642)의 길이( $L_{con}$ )는 일반적으로 도 5와 관련하여 상기 논의한 바와 같이 최대 침투 깊이( $D_p$ )보다 클 수 있다. 또한, 상기 논의한 바와 같이, 채널(434) 내의 흐름(512) 속도가 최대 흐름 속도( $V_{max}$ )를 초과하지 않는한, 격리 영역(644) 내의 미세 물체(522)도 이에 따라 격리 영역(644) 내에 머물게 될 것이다. 따라서, 채널(434) 및 연결 영역(642)은 일소된 (또는 흐름) 영역의 일례이며, 격리 영역(644)은 비일소된 (또는 비흐름) 영역의 일례이다.
- [0091] 도 7a-7c는 도 4a-4c의 미세유체 회로(432) 및 채널(434)의 변형에 대한 실례뿐만 아니라, 격리 펜(436, 438, 440)의 변형에 대한 추가적인 실례들도 나타내고 있다. 도 7a-7c에 나타난 격리 펜(736)은 본원의 임의의 도면 또는 논의에 기술된 펜(436, 438, 440) 중 어느 것이라도 대체할 수 있다. 이와 마찬가지로, 미세유체 소자(700)는 본원의 임의의 도면 또는 논의에 기술된 미세유체 소자(400)를 대체할 수 있다.
- [0092] 도 7a-7c의 미세유체 소자(700)는 지지체 구조 (나타내지는 않았지만, 도 4a-4c의 번호 404과 같을 수 있음), 미세유체 회로 구조(712) 및 커버 (나타내지는 않았지만, 422와 같을 수 있음)를 포함할 수 있다. 미세유체 회로 구조(712)는 프레임(714) 및 미세유체 회로 재료(716)를 포함할 수 있는데, 이들은 도 4a-4c의 프레임(414) 및 미세유체 회로 재료(416)와 동일하거나 일반적으로 이와 유사할 수 있다. 도 7에 나타난 바와 같이, 미세유체 회로 재료(716)에 의해 한정된 미세유체 회로(732)는 다중 격리 펜(736)들이 유체 연통되어 있는 다중 채널(734) (2개를 나타내었으나, 더 많이 존재할 수 있음)을 포함할 수 있다.
- [0093] 각 격리 펜(736)은 격리 구조(746), 격리 구조(746) 내의 격리 영역(744) 및 연결 영역(742)을 포함할 수 있다. 채널(734)의 근위부 개구(772)로부터 격리 구조(736)의 원위부 개구(774)에 이르기까지, 연결 영역(742)은 채널(734)을 격리 영역(744)으로 유체 연통시킬 수 있다. 일반적으로 도 5에서 상기 논의된 바에 따르면, 채널(734) 내의 제1 유체 매질(702)의 흐름(782)은, 채널(734)로부터 채널(734)에 연결되어 있는 펜(736)의 연결 영역(742)으로 유입되고/되거나 유출되는 제1 매질(702)의 제2 흐름(784)을 생성할 수 있다.
- [0094] 도 7b에 도시된 바와 같이, 연결 영역(742)은 채널(734)로 향하는 근위부 개구(772)와 격리 구조(746)로 향하는 원위부 개구(774) 사이에 면적을 포함한다. 연결 영역(742)의 길이( $L_{con}$ )는 제2 흐름(784)의 최대 침투 깊이( $D_p$ )보다 클 수 있는데, 이 경우 제2 흐름(784)은 격리 영역(744)으로 전향하여 가는 일 없이 연결 영역(742)까지 확장될 것이다 (도 7a에 나타난 바와 같음). 다르게는, 도 7c에 도시된 바와 같이, 연결 영역(742)은 최대 침투 깊이( $D_p$ ) 미만인 길이( $L_{con}$ )를 가질 수 있는데, 이 경우 제2 흐름(784)은 연결 영역(742)을 통해 확장되어 격리 영역(744)으로 전향하여 갈 수 있다. 이 후자의 경우에는, 연결 영역(742)의 길이  $L_{c1}$  및  $L_{c2}$ 를 합한 길이가 최대 침투 깊이( $D_p$ )보다 클 수 있다. 이러한 식으로, 제2 흐름(784)은 격리 영역(744)으로 확장되지 않을 것이다.



연결 영역(742)의 길이( $L_{con}$ )가 최대 침투 깊이( $D_p$ )보다 크거나, 또는 연결 영역(742)의 길이  $L_{c1}$  및  $L_{c2}$ 를 합한 길이가 최대 침투 깊이( $D_p$ )보다 크건 간에, 최대 속도( $V_{max}$ )를 초과하지 않는 채널(734) 내의 제1 매질(702)의 흐름(782)은 침투 깊이( $D_p$ )를 갖는 제2 흐름을 발생시킬 것이고, 펜(736)의 격리 영역(744) 내의 미세 물체 (도시하지는 않았으나, 도 5에서 번호 522와 같을 수 있음)는 채널(734) 내의 제1 매질(702)의 흐름(782)에 의하여 격리 영역(744)으로부터 나오게 되지는 않을 것이다. 채널(734) 내의 흐름(782)도 채널(734)로부터 펜(736)의 격리 영역(744) 내로 또는 격리 영역(744)으로부터 채널(734) 내로 여러 가지 재료들을 끌어당기지는 않을 것이다. 채널(734) 내의 제1 매질(702)의 성분들은 오직 확산에 의해서만 채널(734)로부터 펜(736)의 격리 영역(744) 내의 제2 매질로 이동할 수 있다. 이와 마찬가지로, 펜(736)의 격리 영역(744) 내의 제2 매질의 성분들도 오직 확산에 의해서만 격리 영역(744)으로부터 채널(734) 내의 제1 매질(702)로 이동할 수 있다. 제1 매질(702)은 제2 매질(704)과 동일한 매질일 수 있거나, 또는 제1 매질(702)은 제2 매질(704)과는 다른 매질일 수 있다. 다르게는, 제1 매질(702)과 제2 매질(704)은 동일하게 출발한 후 (예를 들어, 격리 영역(744) 내의 1개 이상의 생물학적 미세 물체에 의하거나, 또는 채널(734)을 통해 흐르는 매질을 변화시킴에 의한 제2 매질의 컨디셔닝을 통해) 다르게 될 수 있다.

[0095] 도 7b에 도시된 바와 같이, 채널(734) 내의 흐름(782) 방향에 수직인 채널(734)의 너비( $W_{ch}$ ) (도 7a 참조)는 근위부 개구(772)의 너비( $W_{con1}$ )에 실질적으로 수직일 수 있어서, 원위부 개구(774)의 너비( $W_{con2}$ )에 실질적으로 평행이다. 그러나, 근위부 개구(772)의 너비( $W_{con1}$ ) 및 원위부 개구(774)의 너비( $W_{con2}$ )는 서로에 대해 실질적으로 수직일 필요는 없다. 예를 들어, 근위부 개구(772)의 너비( $W_{con1}$ )가 배향된 축과 원위부 개구(774)의 너비( $W_{con2}$ )가 배향된 축 사이의 각 (도시하지 않음)은 수직 이외에도 여러 각들이 될 수 있기 때문에,  $90^\circ$  이외의 각일 수 있다. 다른 각의 예로서는 하기 임의의 범위일 수 있다:  $30^\circ$  내지  $90^\circ$ ,  $45^\circ$  내지  $90^\circ$ ,  $60^\circ$  내지  $90^\circ$  등.

[0096] 채널과 1개 이상의 격리 펜을 갖는 미세유체 소자에 대한 상기 논의와 관련하여, 유체 매질 (예를 들어, 제1 매질 및/또는 제2 매질)은 실질적으로 분석가능한 상태 생물학적 미세 물체를 유지할 수 있는 임의의 유체일 수 있다. 분석가능한 상태는 생물학적 미세 물체 및 수행할 분석 방법에 따라 다를 것이다. 예를 들어, 생물학적 미세 물체가 관심 대상의 단백질의 분비에 대해 분석 중인 생물학적 미세 물체인 경우, 생물학적 미세 물체는 독자적으로 생존이 가능해서 단백질을 발현하여 분비할 수 있어야 실질적으로 분석가능할 것이다.

[0097] 도 8-30은 도 2a-2c의 미세유체 소자(200) 또는 도 4a-4c의 미세유체 소자(400)에서 생물학적 미세 물체 (예를 들어, 생물학적 세포)를 시험하는 도 1의 방법(100)의 일례를 도시한 것이다. 그러나, 방법(100)은 생물학적 미세 물체를 분류하는 것 또는 미세유체 소자(200, 400) 상에서 작업하는 것에 한정되지 않는다. 미세유체 소자(200, 400)도 방법(100)을 수행하는 것에 한정되지 않는다. 더욱이, 방법(100)의 단계들의 측면을 소자(200)와 관련해서는 논의할 수 있는 반면, 소자(400)에 대해서는 논의할 수 없고, 이와 반대의 경우도 그러하며, 이러한 측면들은 다른 장치 또는 기타 유사한 미세유체 소자에 적용될 수 있다.

[0098] 단계(102)에서, 방법(100)은 미세유체 소자 내로 생물학적 미세 물체를 로딩할 수 있다. 도 8은 생물학적 미세 물체(802) (예를 들어, 생물학적 세포)가 미세유체 소자(200)의 흐름 영역(240) (예를 들어, 채널(252))에 로딩되는 일례를 도시하고 있다. 도 9는 생물학적 미세 물체(904)를 포함하는 샘플 시료(902)가 미세유체 소자(400)의 채널(434) 내로 흐르는 일례를 나타내고 있다.

[0099] (도 10, 11, 13, 14, 17, 18, 26 및 27과 같이, 소자(200)의 흐름 영역(240)에 대한 일부 상단면도를 도시하고 있는) 도 8에 나타난 바와 같이, 생물학적 미세 물체(802)의 혼합물은 미세유체 소자(200)의 채널(252)로 로딩될 수 있다. 예를 들어, 생물학적 미세 물체(802) 주입구(208)를 통해 소자(200) 내로 투입될 수 있으며 (도 2a-2c 참고), 생물학적 미세 물체(802)는 채널(252) 내 매질(244)의 흐름(804)과 함께 이동할 수 있다. 흐름(804)은 대류 흐름일 수 있다. 일단 생물학적 미세 물체(802)가 채널(252) 내에 펜(256)에 인접하여 존재하게 되면, 흐름(804)은 단계(104 및 106)를 수행하기에 충분한 시간 동안 펜(256)에 인접한 흐름 채널(252) 내에 생물학적 미세 물체(802)를 보유하기 위해 중지되거나 늦춰질 수 있다. 채널(252)에 로딩된 생물학적 미세 물체(802)의 혼합물은 서로 다른 유형의 생물학적 미세 물체들 및 기타의 성분들, 예컨대 잔해물, 단백질, 오염물질, 입자들 등을 포함할 수 있다.

[0100] 도 9는 생물학적 미세 물체(904)를 포함하는 샘플 시료(902)가 미세유체 소자(400)의 채널(434) 내로 흐르는 일례를 도시하고 있다. 생물학적 미세 물체(904) 이외에, 샘플 시료(902)는 기타의 미세 물체 (도시하지 않음) 또는 재료들 (도시하지 않음)을 포함할 수도 있다. 일부 실시양태에서, 채널(434)은 본원에 개시된 단면적, 예를

들어, 약 3,000 내지 6,000 제곱 마이크론, 또는 약 2,500 내지 4,000 제곱 마이크론을 가질 수 있다. 샘플 시료(902)는 본원에 개시된 속도, 예를 들어, 약 0.05 내지 0.25  $\mu\text{L}/\text{sec}$  (예를 들어, 약 0.1 내지 0.2  $\mu\text{L}/\text{sec}$  또는 약 0.14 내지 0.15  $\mu\text{L}/\text{sec}$ )로 채널(434)로 흐를 수 있다. 일부 실시양태에서, 도 4a의 컨트롤 모듈(472)은 컨트롤/모니터링 장비(480)로 하여금 샘플 시료(902)를 함유하고 있는 제1 유체 매질 (도시하지 않음)이 포트(424)를 통하여 채널(434) 내로 흐르게 할 수 있다. 일단 샘플 시료(902)가 채널(434) 내에 존재하게 되면, 채널(434) 내 매질의 흐름 (도시하지 않음)은 늦춰지거나 실질적으로 중단될 수 있다. 채널(434) 내의 매질의 흐름 (도시하지 않음)을 개시하고 중단하는 작업은 포트(424)의 통로(426)를 포함하는 밸브 (도시하지 않음)를 여닫는 것을 포함할 수 있다.

[0101] 당해 생물학적 미세 물체(802, 904)는 관심 대상인 특정 분석물(들)의 생성에 대해 분석할 임의의 생물학적 미세 물체(802, 904)일 수 있다. 생물학적 미세 물체(802, 904)의 예로서는, 포유동물 생물학적 미세 물체, 인간 생물학적 미세 물체, 면역 생물학적 미세 물체 (예를 들어, T 생물학적 미세 물체, B 생물학적 미세 물체, 대식 세포 등), B 생물학적 미세 물체 하이브리도마, 줄기 생물학적 미세 물체 (예를 들어, 골수 유래의 줄기 생물학적 미세 물체, 지방조직 유래의 줄기 생물학적 미세 물체 등), 형질전환된 생물학적 미세 물체 세포주 (예를 들어, 형질전환된 CHO 생물학적 미세 물체, HeLa 생물학적 미세 물체, HEK 생물학적 미세 물체 등), 곤충류 생물학적 미세 물체 (예를 들어, Sf9, Sf21, HighFive 등), 원생동물 생물학적 미세 물체 (예를 들어, 레이시마니아 타렌톨레(*Leishmania tarentolae*)), 효모 생물학적 미세 물체 (예를 들어, S. 사카로마이세스, P. 파스토리스 등), 박테리아 생물학적 미세 물체 (예를 들어, E. 콜라이, B. 서브틸리스, B. 투린지엔시스 등), 상기한 것들의 임의의 조합 등과 같은 생물학적 미세 물체를 포함한다. 생물학적 미세 물체(904)의 예로서는 또한 배아, 예컨대 포유동물 배아 (예를 들어, 인간, 영장류, 곰과, 개과, 고양이과, 소과, 양속, 염소속, 말속, 돼지과 등) 등도 포함한다. 관심 대상의 분석물의 예로서는 단백질, 탄수화물, 지질, 핵산, 대사산물 등을 포함한다. 관심 대상의 분석물의 다른 예로서는 항체, 예컨대 IgG (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 하위부류), IgM, IgA, IgD 또는 IgE 부류의 항체를 포함하는 재료들을 포함한다.

[0102] 단계(104)에서, 방법(100)은 단계(102)에서 미세유체 소자 내로 로딩된 생물학적 미세 물체에 대하여 제1 시험을 수행할 수 있다. 단계(104)는 제1 시험에 따른 복수개의 생물학적 미세 물체를 선택하는 단계를 포함할 수 있다. 다르게는, 단계(104)는 제1 시험을 수행하지 않고 생물학적 미세 물체들 중 하나를 선택하는 단계를 포함할 수 있다. 도 10은 미세유체 소자(200)의 채널(252) 내의 생물학적 미세 물체(802)에 대하여 수행된 제1 시험의 일례를 도시한 것이며, 도 11은 제1 시험에 따른 생물학적 미세 물체(802)를 선택하는 단계의 일례를 도시한 것이다 (당해 선택된 생물학적 미세 물체는 도 11 이후에는 1002로 표시됨). 도 12는 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)가 미세유체 소자(400)의 채널(434) 내의 미세 물체(904) 중에서 선택되는 일례를 나타낸 것이다.

[0103] 제1 시험은 임의의 가능한 시험들을 얼마든지 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 시험은, 미세유체 소자(200) 또는 미세유체 소자(400) 어디에서 수행되었던 간에, 생물학적 미세 물체(802) 또는 생물학적 미세 물체(904)의 제1 특성에 대해 시험할 수 있다. 단계(104)에서 수행된 제1 시험은 목적하는 특성에 대해 시험하는 임의의 시험일 수 있다. 예를 들어, 목적하는 특성은 생물학적 미세 물체(802) 또는 생물학적 미세 물체(904)의 크기, 모양 및/또는 형태에 대한 것일 수 있다. 제1 시험은 생물학적 미세 물체(802) 또는 생물학적 미세 물체(904)의 이미지를 캡처하는 단계 및 상기 이미지를 분석하여 생물학적 미세 물체(802) 또는 생물학적 미세 물체(904) 중 어느 것이 목적하는 특성을 보유하는지를 측정하는 단계를 포함할 수 있다. 또 다른 예로서, 단계(104)에서 수행된 제1 시험은 생물학적 미세 물체(802) 또는 생물학적 미세 물체(904) 중 어느 것이 제1 특성을 시사하는 검출가능한 특정 상태를 나타내는지를 측정할 수 있다. 예를 들어, 제1 특성은 1개 이상의 세포 표면 마커의 발현일 수 있고, 단계(104)에서 수행된 제1 시험은 생물학적 미세 물체(802, 904)에 대한 이러한 세포 표면 마커의 존재 또는 부재를 검출할 수 있다. 적절한 세포 표면 마커 또는 세포 표면 마커들의 조합에 대해 시험함으로써, 특정한 세포 유형들을 단계(104)에서 확인하여 선택할 수 있다. 이러한 특정 세포 유형의 예로서는 건강한 세포, 암 세포, 감염된 세포 (예를 들어, 바이러스 또는 기생충에 의한 감염), 면역 세포 (예를 들어, B 세포, T 세포, 대식세포), 줄기 세포 등을 포함할 수 있다.

[0104] 도 10에 나타난 예에서, 미세유체 소자(200) 내의 생물학적 미세 물체(802)의 검출가능한 상태는 에너지(1006) 방사(선)인데, 이는 예를 들어 전자기 방사(선)일 수 있다. 생물학적 미세 물체(802)는, 제1 특성을 갖는 생물학적 미세 물체(802)로 하여금 에너지(1006)를 방사하도록 만드는 분석 시료 (도시하지 않음)를 사용하여 (당해 미세유체 소자(200) 내로 또는 채널(252)에 로딩되기 전에) 사전 처리될 수 있다.

[0105] 단계(104)에서 시험된 제1 특성의 예로서는, 이에 제한되지는 않지만, 생물학적 미세 물체(802)의 생물학적 상태 (예를 들어, 세포 유형) 또는 특정 생물학적 활성을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 특성은 관찰가능한 물

리적 특성, 예컨대 크기, 모양, 색상, 질감, 표면 형태, 식별가능한 하위 성분들, 또는 기타 특징적인 표시일 수 있다. 다르게는, 제1 특성은 투과성, 전도성, 커패시턴스(정전용량), 환경 변화에 대한 반응, 또는 관심 대상의 특정 생물학적 재료의 생성 (예를 들어, 발현, 분비 등)과 같은 분석가능한 특성일 수 있다. 관심 대상의 특정 생물학적 재료는 세포 표면 마커 (예를 들어, 막 연관 단백질, 당단백질 등)일 수 있다. 관심 대상의 특정 생물학적 재료의 또 다른 예는 치료 단백질, 예컨대 관심 대상의 항원에 특이적으로 결합하는 항체 (예를 들어, IgG 유형의 항체)이다. 따라서, 선택된 생물학적 미세 물체(1002)는 특정 생물학적 재료, 예컨대 세포 표면 마커를 생성 (예를 들어, 발현)하는 것에 대하여 양성 반응을 나타내는 1개 이상의 생물학적 미세 물체(802)일 수 있고, 선택되지 못한 생물학적 미세 물체(1004)는 상기에 대하여 양성 반응을 나타내지 않는 생물학적 미세 물체(802)일 수 있다. 생물학적 미세 물체(802)를 사전 처리할 수 있는 적절한 분석 시료로는 관심 대상인 특정 생물학적 재료에 결합하면서 에너지(1006)를 방사하는 표지를 포함하는 시약을 포함한다.

[0106] 도 11에 나타난 바와 같이, 생물학적 미세 물체(1002)는 광 트랩(1102)을 이용하여 미세 물체(1002)를 포집하여 덩으로써 선택될 수 있다. 광 트랩(1102)은, 일반적으로 상기 도 3a 및 3b와 관련하여 논의된 바와 같이 변화하는 광 패턴을 채널(252) 내로 향하도록 함으로써, 미세유체 소자(200)의 채널(252) 내에서 생성되고, 이동되고, 턴 오프될 수 있다. 선택되지 못한 생물학적 미세 물체는 도 11에서 1004로 표시된다. 도 11에 도시된 예에서, 광 트랩(1102)은 선택되지 못한 생물학적 미세 물체(1004)에 대해서는 생성되지 않는다.

[0107] 도 12는 단계(104)에서 미세유체 소자(400)의 채널(434) 내의 생물학적 미세 물체(904)들 중에서 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)를 선택하는 단계를 도시하고 있다. 선택은 단계(104)에서 수행된 제1 시험의 결과에 대응되는 것일 수 있다. 다르게는, 미세 물체(1202, 1204, 1206)의 선택은 무작위 선택일 수 있으므로, 제1 시험을 수행하지 않고 이루어진다. 제1 시험을 기반으로 하는 경우, 단계(104)는, 예를 들어, 상기 논의한 바와 같이, 1개 이상의 관찰가능한 물리적 특성 또는 분석가능한 특성에 대하여 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)를 선택하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)는 임의의 다수의 검출 가능한 특징들, 예컨대 생물학적 미세 물체의 유형에 특이적인 특징들 및/또는 생물학적 미세 물체의 생존 능력 또는 건강과 관련된 특징들을 기초로 하여 샘플 시료(902) 내의 미세 물체(904)들로부터 선택될 수 있다. 이러한 특징들의 예로는, 크기, 모양, 색상, 질감, 투과성, 전도성, 커패시턴스(정전용량), 생물학적 미세 물체의 유형에 특이적인 마커의 발현, 환경 변화에 대한 반응 등을 포함한다. 한 특정 실시양태에서, 직경이 임의의 하기 범위인 원형 단면을 갖는 생물학적 미세 물체(904)가 샘플 시료(602)로부터 선택될 수 있다: 0.5-2.5 마이크로, 1-5 마이크로, 2.5-7.5 마이크로, 5-10 마이크로, 5-15 마이크로, 5-20 마이크로, 5-25 마이크로, 10-15 마이크로, 10-20 마이크로, 10-25 마이크로, 10-30 마이크로, 15-20 마이크로, 15-25 마이크로, 15-30 마이크로, 15-35 마이크로, 20-25 마이크로, 20-30 마이크로, 20-35 마이크로, 또는 20-40 마이크로. 또 다른 예로서, 크기가 100 내지 500 마이크로 (예를 들어, 100 내지 200 마이크로, 150 내지 300 마이크로, 200 내지 400 마이크로, 또는 250 내지 500 마이크로)인 생물학적 미세 물체(604)가 샘플 시료(902)로부터 선택될 수 있다.

[0108] 도 12에 나타난 예가 채널(434) 내에서 미세 물체(1202, 1204, 1206)를 선택하는 것에 대하여 도시하였으나, 샘플 시료(902)는 다르게는 적어도 부분적으로는 펌(436, 438, 440)의 연결 영역(442) 내에 존재할 수 있다. 따라서, 미세 물체(1202, 1204, 1206)는 연결 영역(442) 내에 존재하는 동안에 선택될 수 있다.

[0109] 일부 실시양태에서, 컨트롤 모듈(472)은 컨트롤/모니터링 장비(480)로 하여금 샘플 시료(902) 내의 생물학적 미세 물체(904)의 이미지를 캡처하도록 함으로써 단계(104)에서 제1 시험을 수행할 수 있다. 공지된 이미지 분석 알고리즘으로 구성될 수 있는 컨트롤 모듈(472)은 이미지를 분석하여 목적하는 특성을 보유하는 복수개의 생물학적 미세 물체(904)를 식별할 수 있다. 다르게는, 인간 사용자가 캡처된 이미지를 분석할 수도 있다.

[0110] 생물학적 미세 물체의 특징을 분석함에 있어서, 인간 사용자 및/또는 컨트롤 모듈(472)은 분석 과정을 제어할 수 있다. 예를 들어, 생물학적 미세 물체는 투과성, 전도성, 또는 (예를 들어, 생물학적 미세 물체의 표면 단백질에 특이적인 항체를 이용하여) 생물학적 미세 물체의 유형에 특이적인 마커에 대하여 분석될 수 있다.

[0111] 단계(106)에서, 방법(100)은 선택된 생물학적 미세 물체 또는 단계(104)의 일부로서 선택된 생물학적 미세 물체를 분리할 수 있다. 그러나, 생물학적 미세 물체가 단계(104)에서 제1 시험을 수행하지 않고 선택되는 경우, 단계(106)는 건너뛰거나 또는 단지 선택되지 못한 생물학적 미세 물체를 채널(252) (및 선택적으로 흐름 영역(240))로부터 플러싱하는 단계로만 이루어질 수 있다. 도 13 및 14는 선택된 생물학적 미세 물체(1002)가 미세유체 소자(200) 내의 홀딩 펌(256)으로 이동하고, 선택되지 못한 생물학적 미세 물체(1004)가 채널(252)로부터 플러싱하여 제거되는 일례를 도시하고 있다. 도 15 및 16은 선택된 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)가 미



세유체 소자(400)의 펜(436, 438, 440)의 격리 영역(444) 내로 이동된 후, 선택되지 못한 미세 물체(904)가 흐름 채널(434)로부터 플러싱하여 제거되는 일례를 나타내고 있다.

[0112] 도 11과 관련하여 상기 언급한 바와 같이, 각 생물학적 미세 물체(1002)는 광 트랩(1102)을 이용하여 선택될 수 있다. 예를 들어, 도 3a 및 3b의 DEP 장치(300)로 구성된 선택기(222) (도 2a-2c 참조)는 선택된 개개의 생물학적 미세 물체(1002)를 포집하는 광 트랩(1102)을 생성할 수 있다. 도 13에 나타난 바와 같이, DEP 장치(300)는 이후 광 트랩(1102)을 펜(256) 내로 이동시킬 수 있는데, 이로써 가두었던 선택된 생물학적 미세 물체(1002)를 펜(256) 내로 이동시키게 된다. 도시된 바와 같이, 각각의 선택된 생물학적 미세 물체(1002)는 개별적으로 포획되어 홀딩 펜(256) 내로 이동할 수 있다. 다르게는, 1개 초과 선택된 생물학적 미세 물체(1002)들이 단일 트랩(1102)에 의해 포획될 수 있고/있거나, 1개 초과 선택된 생물학적 미세 물체(1002)들이 임의의 한 펜(256) 내로 이동시킬 수 있다. 이와는 상관없이, 2개 이상의 선택된 생물학적 미세 물체(1002)들은 채널(252) 내에서 선택됨과 동시에 펜(256) 내로 이동시킬 수 있다.

[0113] 광 트랩(1102)은 도 3a 및 3b와 관련하여 상기 논의한 바와 같이, 미세유체 소자(200)의 흐름 영역(240)의 내부 표면(242) 상에 투사된 변화하는 광 패턴(322)의 일부일 수 있다. 일단 선택된 생물학적 미세 물체(1002)가 펜(256) 내에 존재하게 되면, 그 생물학적 미세 물체(1002)에 대응하는 광 트랩(1102)은 도 14에 도시된 바와 같이 턴 오프될 수 있다. 검출기(224)는 선택되고 선택되지 못한 생물학적 미세 물체(1002, 1004), 채널(252) 및 펜(256)의 이미지들을 비롯하여 흐름 영역(240)의 일부 또는 모든 이미지들을 캡처할 수 있고, 이러한 이미지들은 선택된 개개의 생물학적 미세 물체(1002)를 식별하고, 포획하여, 특정 펜(256)으로 이동시키는 작업을 용이하게 할 수 있다. 따라서, 검출기(224) 및/또는 (예를 들어, 도 3a 및 3b의 DEP 장치로 구성된) 선택기(222)는 제1 특성에 대하여 양성 반응을 나타내는 미세 물체 (예를 들어, 선택된 생물학적 미세 물체(1002))를 제1 특성에 대해 음성 반응을 나타내는 미세 물체 (예를 들어, 선택되지 못한 생물학적 미세 물체(1004))로부터 구별하는 수단에 대한 1개 이상의 실례일 수 있다.

[0114] 도 14에 나타난 바와 같이, 펜(256) 내에 선택된 생물학적 미세 물체(1002)를 가지면서, 매질(244)의 흐름(804) (예를 들어, 벌크 흐름)은 선택되지 못한 생물학적 미세 물체(1004)를 채널(252) 밖으로 플러싱할 수 있다. 언급한 바와 같이, 단계(102)에서 생물학적 미세 물체(904)를 채널(252) 내로 로딩한 후, 매질(252)의 흐름(804)은 중단되거나 늦춰질 수 있다. 단계(106)의 일부로서, 선택되지 못한 생물학적 미세 물체(1004)를 채널(252) 밖으로, 일부 예에 있어서는, (예를 들어, 배출구(210)를 통해) 미세유체 소자(200) 밖으로 플러싱하기 위하여 흐름(804)을 재개하거나 증가시킬 수 있다.

[0115] 당해 선택된 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)는 여러 가지 가능한 임의의 방법으로 미세유체 소자(400)의 격리 펜(436, 438, 440)의 격리 영역(444) 내로 이동시킬 수 있다. 예를 들어, 상기 논의한 바와 같이, 미세유체 소자의 인클로저(402)는 샘플 시료(902) 내의 복수개의 특정 생물학적 미세 물체(904)를 포획하여 이동시키는데 이용될 수 있는 DEP 구성을 포함할 수 있다.

[0116] 예를 들어, 도 15에 도시된 바와 같이, 컨트롤 모듈(472)은 각각의 선택된 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)에 있어서, 채널(434)에서부터 격리 펜(436, 438, 440) 중 하나의 격리 영역(444)까지의 경로(1512, 1514, 1516)를 맵핑할 수 있다. 이후, 컨트롤 모듈(472)은 컨트롤/모니터링 장비(480)의 DEP 모듈 (도시하지 않음)로 하여금 변화하는 광 패턴을 형성해 이를 미세유체 회로(432) 내로 향하게 하여, 격리 펜(436, 438, 440)의 격리 영역(444)으로의 경로(1512, 1514, 1516)를 따라 선택된 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)를 포획하여 이동시킬 수 있다. 또한, 컨트롤 모듈(472)은 각각의 선택된 생물학적 미세 물체와 각각의 선택된 생물학적 미세 물체가 이동하여 들어가는 특정 격리 펜(436, 438, 440)을 식별하는 데이터를 메모리(476)에 저장할 수 있다.

[0117] 도 15의 실례에서는 펜(436, 438, 444) 마다 하나의 선택된 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)를 나타내었으나, 1개 이상의 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)를 하나의 펜으로 이동시킬 수 있다. 샘플 시료(902)로부터 하나의 펜(136, 138, 140) 내로 이동시킬 수 있는 생물학적 미세 물체의 수의 예로서는 하기를 포함한다: 1, 2, 3, 4, 5, 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-10, 2-50, 2-40, 2-30, 2-20, 2-10, 3-50, 3-40, 3-30, 3-20, 3-10, 4-50, 4-40, 4-30, 4-20, 4-10, 5-50, 5-40, 5-30, 5-20 및 5-10개. 상기한 것들은 다만 예시일 뿐이며, 다른 개수의 생물학적 미세 물체(904)도 샘플 시료(902)로부터 하나의 펜(436, 438, 440) 내로 이동시킬 수 있다.

[0118] 일부 실시양태에서, 적어도 일부의 샘플 시료(902)는 단계(104)에서 펜(436, 438, 440)의 격리 영역(444) 내로 로딩될 수 있다. 또한, 단계(104)의 일부로서, 미세 물체(1202, 1204, 1206)는 격리 영역(144) 내에서 선택될

수 있다. 이러한 실시양태에서, 격리 영역(444)에는 선택된 미세 물체(1202, 1204, 1206)만을 남기고, 선택되지 못한 미세 물체(904)를 포함하는 샘플 시료(902)는 단계(106)에서 격리 영역(444)에서 제거될 수 있다.

[0119] 도 16에 도시된 바와 같이, 채널(434)은 단계(106)의 일부로서 플러싱 매질을 이용한 채널(434)의 플러싱에 의하여 선택되지 못한 미세 물체(904)를 포함하는 샘플 시료(902)를 제거할 수 있다 (도시하지 않음). 도 16에서, 채널(134)을 통한 플러싱 매질의 흐름은 번호 1602로 표시한다. 플러싱 매질의 흐름(1602)은 흐름(1602) 속도가 상기 논의한 바와 같은 최대 침투 깊이( $D_p$ )에 상응하는 최대 흐름 속도( $V_{max}$ ) 미만으로 유지되도록 조절될 수 있다. 또한 상기 논의한 바와 같이, 이는 선택된 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)를 이들의 각 펜(436, 438, 440)의 격리 영역(444) 내에 보유하여, 채널(434) 또는 펜(436, 438, 440) 중 하나의 재료가 또 다른 펜들을 오염시키는 것을 방지할 것이다. 일부 실시양태에서, 플러싱 매질은 본원에 개시된 단면적, 예를 들어, 약 3,000 내지 6,000 제곱 마이크론, 또는 약 2,500 내지 4,000 제곱 마이크론을 갖는 채널(434) 내로 흐를 수 있다. 플러싱 매질은 본원에 개시된 속도, 예를 들어, 약 0.05 내지 5.0  $\mu\text{L/sec}$  (예를 들어, 약 0.1 내지 2.0  $\mu\text{L/sec}$ , 0.2 내지 1.5  $\mu\text{L/sec}$ , 0.5 내지 1.0  $\mu\text{L/sec}$ , 또는 약 1.0 내지 2.0  $\mu\text{L/sec}$ )로 채널로 흐를 수 있다. 단계(106)의 일부로서 채널(434)을 세척하는 단계는 채널(434)을 수회 플러싱하는 것을 포함할 수 있다.

[0120] 일부 실시양태에서, 컨트롤 모듈(472)은 컨트롤/모니터링 장비(480)로 하여금 채널(434)을 세척하도록 할 수 있다. 예를 들어, 컨트롤 모듈(472)은 컨트롤/모니터링 장비(480)로 하여금 포트(424)를 통해 플러싱 매질을 채널(434)로 유입시켜 또 다른 포트(424)로 배출시키게 할 수 있다. 컨트롤 모듈(472)은 흐름(1602) 속도를 최대 흐름 속도( $V_{max}$ ) 미만으로 유지할 수 있다. 예를 들어, 약 3,000 내지 6,000 제곱 마이크론 (또는 약 2,500 내지 4,000 제곱 마이크론)의 단면적을 갖는 채널(434)에 있어서, 컨트롤 모듈(472)은 흐름(1602) 속도를 5.0  $\mu\text{L/sec}$ 의  $V_{max}$  미만 (예를 들어, 4.0, 3.0 또는 2.0  $\mu\text{L/sec}$ )으로 유지할 수 있다.

[0121] 단계(102-106) 이후, 방법(100)은 미세유체 소자 (예를 들어, 200, 400) 내의 생물학적 미세 물체 (예를 들어, 802, 904)의 혼합물을 선택된 생물학적 미세 물체 (예를 들어, 1004, 1202, 1204, 1206)와 선택되지 못한 생물학적 미세 물체 (예를 들어, 1004, 904)로 분류하였다. 방법(100)은 또한 선택된 생물학적 미세 물체를 미세유체 소자 내의 홀딩 펜 (예를 들어, 256, 436, 438, 440) 내에 위치시키고, 선택되지 못한 생물학적 미세 물체는 플러싱하여 제거하였다. 상기 논의한 바와 같이, 단계(102-106)는 반복할 수 있으므로  $k$ 회 수행하였는데, 여기서  $k$ 는 1 (이 경우, 단계(102-106)는 한번 수행되고 반복되지 않음)이상이다. 그 결과로 미세유체 소자 내의 홀딩 펜 내에 수많은 선택된 생물학적 미세 물체들이 존재할 수 있다.

[0122] 단계(106)을 수행하기 전에  $\ell$  개 이하의 서로 다른 특징들에 대해 시험하는 단계(104)를  $\ell$  회 수행할 수 있다 (여기서,  $\ell$  은 1 이상의 양의 정수임). 예를 들어, 단계(104)는 생물학적 미세 물체의 제1 특성, 예컨대 크기, 모양, 형태, 질감, 가시적 마커 등을 시험할 수 있으며, 이후, 단계(104)는 후속 특성, 예컨대 분석가능한 특성에 대해 시험하기 위해 반복될 수 있다. 따라서, 선택된 생물학적 미세 물체는  $\ell$  개만큼 많은 서로 다른 특징들에 대해 양성 반응을 나타내는 단계(102)에서 로딩된 생물학적 미세 물체들의 그룹의 생물학적 미세 물체를 포함할 수 있다.

[0123] 언급한 바와 같이, 선택된 생물학적 미세 물체를 채널 (예를 들어, 252, 434)로부터 펜 내로 이동시키는 단계와 선택되지 못한 생물학적 미세 물체를 채널로부터 플러싱하는 단계는 단계(106)가 어떻게 수행될 수 있는지에 대한 일례일 뿐이다. 다른 예로서는, 선택되지 못한 생물학적 미세 물체를 채널로부터 펜 내로 이동시키는 단계 및 선택된 생물학적 미세 물체를 채널로부터 플러싱하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 선택된 생물학적 미세 물체는 채널로부터 플러싱되어 미세유체 소자의 다른 곳에 수집되거나 또는 또 다른 소자 (도시하지 않음)로 전달될 수 있고, 여기서 선택된 생물학적 미세 물체는 추가로 가공 처리될 수 있다. 선택되지 못한 생물학적 미세 물체는 차후에 홀딩 펜으로부터 제거되어 폐기될 수 있다.

[0124] 단계(108)에서, 방법(100)은 선택된 생물학적 미세 물체 또는 생물학적 미세 물체에 대해 시험을 수행할 수 있다. 제1 시험이 단계(104)의 일부로서 수행된 경우에, 이 시험은 후속 시험 (예를 들어, 제2 시험)이 될 수 있다 (이하에서는, 단계(108)에서 수행된 시험은 상기 단계(104)를 논의할 때 언급된 "제1 시험"과 구별하기 위해 "후속 시험" 이라 지칭한다). 상기 언급한 바와 같이, 단계(108)에서 수행된 후속 시험은 단계(104)의 제1 시험과 동일한 특성 (즉, 제1 특성) 또는 다른 특징에 대하여 시험할 수 있다. 또한, 언급한 바와 같이, 단계(108)에서 수행된 후속 시험이 제1 특성 (따라서 단계(104)에서 시험된 동일한 특성)에 대한 것인 경우라 하더라도, 후속 시험은 제1 시험과 다를 수 있다. 예를 들어, 후속 시험은 제1 특성의 검출하기 위한 제1 시험보다 더 민감할 수 있다.

- [0125] 도 17 및 18은 단계(108)에서 수행된 후속 시험이 단계(104)에서 시험된 제1 특성과는 다른 분석가능한 특성에 대하여 미세유체 소자(200) 내에서 수행되는 일례를 도시하고 있다. 도 19-25는 단계(108)의 시험이 미세유체 소자(400) 내에서 수행되는 일례를 도시하고 있다.
- [0126] 도 17에 도시된 바와 같이, 펌(256) 내의 선택된 생물학적 미세 물체(1002)를 분석 시료(1702)에 노출시키기에 충분한 양으로 분석 시료(1702)를 채널(252) 내로 흐르게(804) 할 수 있다. 예를 들어, 배리어(254)가 비록 채널(252)에서 펌(256)의 내부 공간으로 분석 시료(1702)가 직접 흐르는 것을 방해할 수는 있지만, 분석 시료(1702)는 펌(256)의 내부로 들어가, 확산에 의하여 펌 내의 선택된 생물학적 미세 물체(1002)에 도달할 수 있다. 분석 시료(1702)는 뚜렷한, 검출가능한 상태를 나타내기 위하여, 후속 특성을 갖는 선택된 생물학적 미세 물체(1002)와 반응하는 재료를 포함할 수 있다. 분석 시료(1702)와 결과적으로 생성된 뚜렷한, 검출가능한 상태는 단계(104)에서의 제1 시험과 관련하여 상기 논의된 임의의 분석 시료 및 상태와는 다를 수 있다. 세척 버퍼(도시하지 않음)도 또한 채널(252) 내로 흘러보내 펌(256) 내로 확산시켜 선택된 생물학적 미세 물체(1002)를 세척해 버릴 수 있다.
- [0127] 당해 검출가능한 상태는 1개 이상의 기준, 예컨대 문턱값 강도, 특정 주파수대의 빈도 등을 갖는 에너지의 방사(선)일 수 있다. 생물학적 미세 물체(1002)의 색상은 특정 주파수대의 전자기 방사선을 방사하는 한 예이다. 도 18에 나타난 예에서는, 단계(108)에서 후속 특성에 대하여 양성 반응을 나타낸 선택된 생물학적 미세 물체(1002)는 계속 번호 1002로 표시되지만, 단계(108)에서 후속 특성에 대하여 (예를 들어, 양성 반응을 나타내지 않고) 음성 반응을 나타낸 생물학적 미세 물체는 번호 1802로 표시된다.
- [0128] 단계(410)에서 시험된 후속 특성의 예로는 생물학적 미세 물체(1002)의 생존 능력을 들 수 있다. 예를 들어, 후속 특성은 생물학적 미세 물체(1002)가 살아있는지 또는 죽었는지의 여부일 수 있으며, 분석 시료는 생존성 측정 염료 (viability dye), 예컨대 7-아미노액티노마이신 D일 수 있다. 이러한 염료는 살아있는 생물학적 미세 물체(1002)를 특정한 색상으로 변화시키고/시키거나 죽어있는 생물학적 미세 물체를 이와는 다른 색상으로 변화시킬 수 있다. 검출기(224) (도 2a-2c 참조)는 홀딩 펌(256) 내의 생물학적 미세 물체(1002)의 이미지를 캡처할 수 있고, 컨트롤 모듈(230)은 이미지들을 분석하여 어떤 생물학적 미세 물체가 살아있는 생물학적 미세 물체(1002)에 해당하는 색상을 나타내는지에 대한 측정 및/또는 어떤 생물학적 미세 물체가 죽어있는 생물학적 미세 물체(1002)에 해당하는 색상을 나타내는지에 대한 측정을 할 수 있도록 구성될 수 있다. 다르게는, 인간 작동자는 검출기(224)의 이미지들을 분석할 수 있다. 따라서, 이렇게 구성된 검출기(224) 및/또는 컨트롤 모듈(230)은 구체적인 특성 (예를 들어, 제1 특성 또는 후속 특성)에 대하여 미세유체 소자의 흐름 경로 내에서 액체 매질 내의 미세 물체를 시험하기 위한 시험 수단에 대한 하나 이상의 예가 될 수 있다.
- [0129] 도 19는 단계(108)에서 수행된 시험이 미세유체 소자(400)의 격리 펌(236, 238, 240) 내의 선택된 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)에 의해 생성된 관심 대상의 분석물(1902)에 대한 것인 일례를 도시하고 있다. 관심 대상의 분석물(1902)의 성분들은 번호 1904로 표시하였다. 관심 대상의 분석물은, 예를 들어, 단백질, 핵산, 탄수화물, 지질, 대사산물, 또는 특정 유형의 세포 (예를 들어, 건강한 세포, 암 세포, 바이러스에 감염된 세포 또는 기생충에 감염된 세포, 염증 반응을 나타내는 세포 등)에 의해 분비되거나 아니면 방출된 기타의 분자들일 수 있다. 관심 대상의 특정 분석물은 예를 들어, 성장 인자, 사이토카인 (예를 들어, 염증성 또는 기타), 바이러스성 항원, 기생충 항원, 암세포 특이적 항원, 또는 치료제 (예를 들어, 호르몬 또는 치료 항체와 같은 치료제)일 수 있다.
- [0130] 도 19에 도시된 예에서, 단계(108)는 분석 시료(1910)를 미세유체 소자(400) 내에 로딩하는 단계 및 분석물의 성분들(1904)의 국소 반응이 있다면 이를 검출하는 단계를 포함할 수 있다. 또한, 단계(108)는 분석 시료(1910)를 채널(434)에 로딩한 후 배양 기간을 제공하는 단계를 포함할 수도 있다.
- [0131] 도 19에 나타난 바와 같이, 분석 시료(1910)는 채널(434) 또는 적어도 펌(436, 438, 440)의 근위부 개구(442)에 직접 인접한 영역을 실질적으로 채울 수 있다. 또한, 분석 시료(110)는 격리 펌(436, 438, 440)의 적어도 일부분 이상의 연결 영역(442)으로 확장될 수 있다. 일부 실시양태에서, 분석 시료는 본원에 개시된 단면적, 예를 들어, 약 3,000 내지 6,000 제곱 마이크로미터 또는 약 2,500 내지 4,000 제곱 마이크로미터를 갖는 채널(434) 내로 흐르게 한다. 분석 시료는 본원에 개시된 속도, 예를 들어, 약 0.02 내지 0.25  $\mu\text{L}/\text{sec}$  (예를 들어, 약 0.03 내지 2.0  $\mu\text{L}/\text{sec}$ , 0.05 내지 0.15  $\mu\text{L}/\text{sec}$ , 생물학적 세포 분석 시료에 대해서는 더 느린 속도를 사용하고, 비세포성 분석 시료에 대해서는 더 빠른 속도를 사용함)로 채널 내로 흐르게 할 수 있다. 일단 분석 시료(1910)가 채널(434) 내의 한 자리에 로딩되면, 채널(434) 내의 흐름은 늦춰지거나 또는 실질적으로 중단될 수 있다.
- [0132] 임의의 한 펌(436, 438, 440)에서 생성된 분석물의 성분들(1904)이 채널(434) 내로 확산될 수 있기 전에 분석



시료(1910)가 펜(436, 438, 440)의 근위부 개구(452)에 인접한 자리에 위치하도록, 분석 시료(1910)를 채널(434) 내로 충분히 빠르게 흘러 보낼 수 있다. 이로써, 선택된 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)가 펜(436, 438, 440) 내에 배치되고, 분석 시료(1910)가 채널(434)에 로딩이 완료되는 시간 사이에, 한 펜(436, 438, 440)의 분석물의 성분들(1904)이 채널(434) 및/또는 다른 펜들을 오염시키는 문제를 피할 수 있다.

[0133] 따라서, 분석 시료(1910)가 채널(434)에 로딩되는 속도는, 실질적인 양의 분석물의 성분들(1904)이 펜(436, 438, 440)의 격리 영역(444)으로부터 채널(434) 내로 확산되는 최소 시간  $T_{diff}$  미만인  $T_{load}$  시간에 걸쳐 분석 시료(1910)를 근위부 개구(452)에 인접한 자리로 완전히 로딩하는 최소 흐름 속도( $V_{min}$ ) 이상일 수 있다. 이러한 맥락에서 사용된 "실질적인 양"이라는 말은 분석물의 성분들이 어느 격리 펜에서 유래한 것인지에 대한 정확한 감지를 방해하기에 충분한, 분석물 성분들의 검출가능한 양을 의미한다. 최소 흐름 속도( $V_{min}$ )는 여러 가지 서로 다른 파라미터들에 대한 함수일 수 있다. 이러한 파라미터들의 예로서는, 채널(434)의 길이, 펜(436, 438, 440)의 연결 영역(442)의 길이( $L_{con}$ ), 분석물 성분들(1904)의 확산 속도, 매질 점도, 주위 온도 등을 포함한다. 최소 흐름 속도( $V_{min}$ )의 예로는 약 0.04  $\mu\text{L}/\text{sec}$  이상의 속도 (예를 들어, 약 0.10, 0.11, 0.12, 0.13, 0.14  $\mu\text{L}/\text{sec}$  이상)를 포함한다.

[0134] 채널(434)에 분석 시료(1910)를 로딩하기 위한 최소 흐름 속도( $V_{min}$ )는 상기 논의한 바와 같이 펜(436, 438, 440)의 연결 영역(442)의 길이( $L_{con}$ ) 미만인 침투 깊이( $D_p$ )에 상응하는 최대 흐름 속도( $V_{max}$ ) 미만일 수 있다. 예를 들어,  $V_{max}/V_{min}$ 의 비율은 임의의 하기 범위일 수 있다: 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 100 또는 그 이상.

[0135] 당해 분석 시료(1910)를 로딩한 후에 제공되는 배양 시간은 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)가 관심 대상의 분석물(1902)을 생성하기에 충분한 시간일 수 있으며, 분석물의 성분들(1904)이 펜(436, 438, 440)의 격리 영역(444)으로부터 이에 해당하는 연결 영역(442) 또는 근위부 개구(452)까지 확산되기에 충분한 시간일 수 있다. 예를 들어, 배양 시간은 분석물의 성분들(1904)이 채널(434) 내로 확산되기에 충분한 시간을 제공할 수 있다.

[0136] 당해 배양 시간은 단지 수동적으로 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)로 하여금 격리 펜(436, 438, 440) 내에서 관심 대상의 분석물(1902)을 자연적으로 생성하도록 하는 것을 포함할 수 있다. 다르게는, 배양 시간은 예를 들어, 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)에 영양분, 성장 인자 및/또는 유도 인자를 제공함으로써; 격리 펜(436, 438, 440)의 격리 영역(444) 내의 매질의 온도, 화학 조성, pH 등을 조절함으로써; 빛과 같은 자극 에너지를 격리 영역(444) 내로 향하게 함으로써 능동적으로 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)를 자극하여 관심 대상의 분석물(1902)을 생성하도록 하는 것을 포함할 수 있다.

[0137] 본원에서 사용된 "배양" 및 "배양하다"라는 용어는 단지 수동적으로 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)로 하여금 격리 펜(436, 438, 440) 내에서 관심 대상의 분석물(1902)을 자연적으로 생성하도록 하는 것부터 분석물의 생성을 능동적으로 자극하는 것에 이르는 상기한 범위를 망라한다. 분석물(1902)의 생성을 자극하는 것은 또한 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)의 성장을 자극하는 것을 포함한다. 따라서, 예를 들어, 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)는, 이들이 관심 대상의 분석물(1902)을 생성하기 전에 및/또는 분석물을 생성하도록 자극받는 동안에, 성장하도록 자극될 수 있다. 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)가 단일 생물학적 미세 물체로서 격리 펜(436, 438, 440) 내에 로딩된 경우, 성장 자극은 관심 대상의 분석물을 발현 및/또는 분비하는 (또는 발현 및/또는 분비하도록 자극될 수 있는) 생물학적 미세 물체 클론 개체군의 생성을 유도할 수 있다.

[0138] 일부 실시양태에서, 컨트롤 모듈(472)은 컨트롤/모니터링 장비(480)로 하여금 배양 시간(150) 동안 1개 이상의 작업을 수행하도록 할 수 있다. 예를 들어, 컨트롤 모듈(472)은 컨트롤/모니터링 장비(480)로 하여금 성장 배지 및/또는 유도 배지를 주기적으로 또는 연속적인 흐름으로 제공하도록 할 수 있다. 다르게는, 컨트롤 모듈(472)은 컨트롤/모니터링 장비(480)로 하여금 관심 대상의 분석물이 채널(434) 내로 확산되기에 충분한 시간 동안 생물학적 미세 물체를 배양하도록 할 수 있다. 예를 들어, 항체와 같은 단백질 분석물의 경우, 컨트롤 모듈(472)은 생물학적 미세 물체가 채널(434)로부터 분리되는 매 1 마이크로미터당 약 2초간에 해당되는 확산 시간을 제공할 수 있다. 항체보다 현저하게 작은 단백질 및 기타 분석물들에 있어서는, 확산에 필요한 시간은 매 1 마이크로미터당 1.5초 또는 그 미만 (예를 들어, 1.25 s/ $\mu\text{m}$ , 1.0 s/ $\mu\text{m}$ , 0.75 s/ $\mu\text{m}$ , 0.5 s/ $\mu\text{m}$ , 또는 그 미만)과 같이 더 짧을 수 있다. 반대로, 항체보다 현저하게 큰 단백질 및 기타 분석물들에 있어서는, 확산을 위해 할당된 시간은 매 1 마이크로미터당 2.0초 또는 그 이상 (예를 들어, 2.25 s/ $\mu\text{m}$ , 2.5 s/ $\mu\text{m}$ , 2.75 s/ $\mu\text{m}$ , 3.0 s/ $\mu\text{m}$ , 또는 그

이상)과 같이 더 길 수도 있다.

- [0139] 배양 시간은 방법(100)의 후속 단계를 수행하는 동안에도 지속될 수 있다. 또한, 배양 시간은 단계(106)를 완료하기 전에 (예를 들어, 단계(102-106) 중 임의의 한 단계 동안) 시작될 수 있다.
- [0140] 당해 분석 시료(1910)는 관심 대상의 분석물(902)의 분석물 성분들(1904)과 상호작용면서 이러한 상호작용으로부터 검출가능한 반응을 생성하도록 구성될 수 있다. 도 20에 도시된 바와 같이, 격리 펜(436, 438) 내의 생물학적 미세 물체(1202, 1204) 분석물의 성분들(1904)은 격리 펜(436, 438)의 근위부 개구(452)에 인접하고 있는 분석 시료(1910)와 상호작용하여 검출가능한 국소 반응을 만들어 낸다. 그러나, 격리 펜(440) 내의 생물학적 미세 물체(1206)는 관심 대상의 분석물(1902)을 생성하지 않는다. 결과적으로, 이러한 (예를 들어, 번호 2002와 같은) 국소 반응은 격리 펜(440)의 원위부 개구(452)에 인접한 곳에서는 일어나지 않는다.
- [0141] 당해 국소 반응(2002)은 검출가능한 반응일 수 있다. 예를 들어, 반응(2002) 국소 발광 (예를 들어, 형광)일 수 있다. 더욱이, 국소 반응(2002)은 인간 관찰자, 도 4A의 컨트롤/모니터링 장비(480) 내의 카메라 (도시하지 않음) 등에 의해 별도로 검출가능하도록 충분히 국소화되어 분리될 수 있다. 예를 들어, 채널(434)은 (예를 들어, 번호 2002와 같은) 반응이 국소화되도록, 즉 상응하는 격리 펜(436, 438)의 근위부 개구(452)에 직접 인접하고 있는 공간에 국한되도록 분석 시료(1910)로 충분히 채워질 수 있다. 보이는 바와 같이, 반응(2002)은 격리 펜(436, 438, 440)의 1개 이상의 근위부 개구(452)에 직접적으로 인접하고 있는 분석 시료(1910)의 여러 가지 성분들의 응집으로부터 연유할 수 있다.
- [0142] 인접한 격리 펜들(436, 438, 440)의 근위부 개구(452)는, 적어도 인접하고 있는 원위부 개구들(452)에서 (예를 들어, 번호 2002와 같은) 국소 반응이 예를 들어, 인간 관찰자에 의해, 카메라에 의해 캡처된 이미지 내 등에서 서로 구별할 수 있을 정도로 충분한 거리  $D_s$  (도 4C 참조) 만큼의 간격을 두고 떨어져 있을 수 있다. 인접한 격리 펜들(436, 438, 440)에 대한 적절한 거리  $D_s$ 의 예로서는, 적어도 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 마이크로미터, 또는 그 이상을 포함한다. 다르게는, 또는 그 이외에, 분석 시료(910) (예를 들어, 포획용 미세 물체, 예컨대 생물학적 미세 물체, 비드 등)의 성분들은 격리 펜 앞에서 결합될 수 있다. 예를 들어, DEP 힘 등을 이용하여, 격리 펜(436, 438, 440)의 근위부 개구(452)에 인접하여 위치한 채널(434) 영역에 포획용 미세 물체를 함께 모아 집중시킬 수 있다.
- [0143] 언급한 바와 같이, 포획용 미세 물체 (예를 들어, 생물학적 미세 물체, 비드 등)와 같은 성분들을 포함하는 분석 시료(1910)는 적어도 일부가 격리 펜(436, 438, 440)의 연결 영역(442) 내로 들어가 배치될 수 있다. 이러한 경우, 반응(2002, 2004)은 실질적으로 전부 채널(434) 내에서 일어나는 것이 아니라, 전부가, 실질적으로 전부가, 또는 부분적으로 연결 영역(442) 내에서 일어날 수 있다. 더욱이, 분석 시료(1910) 내의 포획용 미세 물체 (예를 들어, 생물학적 미세 물체, 비드 등)는 격리 영역(444) 내에 배치될 수 있다. 예를 들어, DEP 힘 등을 사용하여 포획용 미세 물체를 선택하여 격리 영역(444) 내로 이동시킬 수 있다. 격리 펜의 격리 영역 내에 배치되어 있는 포획용 미세 물체에 있어서, 포획용 미세 물체는 생물학적 미세 물체(들)에 근접하게 배치할 수 있고/있거나 또는 생물학적 미세 물체(들)에 의해 점유된 부분과 다른 격리 영역의 부분 (예를 들어, 하위 구획)에 배치될 수 있다.
- [0144] 당해 분석 시료(1910)는 관심 대상의 분석물(1902)과 직접 또는 간접적으로 특이적 상호작용을 하여 검출가능한 반응 (예를 들어, 번호 2002)을 만들어 내는 임의의 시료일 수 있다. 도 19-23은 분석물이 2개의 항원 결합 부위를 갖는 항체를 포함하고 있는 일례를 도시하고 있다. 당업자라면 누구나 관심 대상의 분석물이 2개의 항원 결합 부위를 갖는 항체 이외의 다른 어떤 것인 상황에서도 동일한 예들이 용이하게 적용될 수 있음을 알 수 있을 것이다.
- [0145] 채널(434)과 격리 펜(436)의 근위부 개구(452) 부분을 나타내고 있는 도 21은 표지된 포획용 미세 물체(2112)를 포함하는 분석 시료(1910)의 일례를 도시하고 있다. 각각의 표지된 포획용 미세 물체(2112)는 분석물의 성분들(1904)에 특이적으로 결합할 수 있는 결합 물질과 표지 물질을 모두 포함할 수 있다. 분석물의 성분들(1904)이 격리 펜(436)의 근위부 개구(452)를 향하여 확산하기 때문에, 개구(452)에 직접 인접하고 있는 (또는 격리 펜 내의) 표지된 포획용 미세 물체(2112)는 분석물의 성분들(1904)에 결합할 수 있고, 이로써 근위부 개구(452)에 직접 인접하고 있는 곳에서 (또는 그 내부에서) 국소 반응(2002) (예를 들어, 표지된 포획용 미세 물체(2112)의 응집)을 유도할 수 있다.
- [0146] 분석물 성분들(1904)의 표지된 포획용 미세 물체(2112)에 대한 결합은 표지된 포획용 미세 물체(2112)가 근위부 개구(452)에 직접 인접하고 있거나 그 내부에 있는 경우에 가장 강하다. 이는 분석물 성분들(1904)의 농도가 격



리 영역(444)과 연결 영역(442) 내에서 가장 높아서, 분석물 성분들(1904)의 표지된 포획용 미세 물체(2112)에 대한 결합을 선호하여 이들 영역 내에서 이들의 응집을 촉진시키기 때문이다. 분석물의 성분들(1904)이 채널(234) 내로 확산되어 나가 근위부 개구(452)로부터 멀어져감에 따라, 이들은 농도는 낮아지게 된다. 그 결과, 근위부 개구(452)로부터 멀리 떨어져 위치하고 있는 표지된 포획용 미세 물체(2112)에 결합하는 분석물의 성분들(1904)은 더 적어지게 된다. 분석물의 성분들(1904)의 표지된 포획용 미세 물체(2112)에 대한 결합 감소는, 결과적으로 근위부 개구(452)로부터 멀리 떨어져 위치하고 있는 표지된 포획용 미세 물체(2112)의 응집의 감소를 유발하게 된다. 따라서, 펜(436, 438, 440)의 근위부 개구(452)에 직접 인접하고 (내부에) 있지 않은 표지된 포획용 미세 물체(2112)는 검출가능한 국소 반응(2002)을 생성하지 못한다 (또는 근위부 개구(452)에 직접 인접하거나 그 내부에서 발생하는 국소 반응(2002)보다 그 정도가 더 낮게 검출되는 국소 반응(2002)을 생성한다).

[0147] 표지된 포획용 미세 물체(2112) 상의 결합 물질에 대해 2개의 결합 부위를 가지지 못한 분석물의 성분들에 있어서, 표지된 포획용 미세 물체는 2개의 서로 다른 결합 물질 (하기에 논의되며 도 23에 나타나 있음)을 포함할 수 있으며, 이들 각각은 분석물의 성분들에 의해 특이적으로 결합될 수 있다. 다르게는, 분석법은 분석물의 성분들이 다량체화하는 경우 (예를 들어, 동종이량체, 동종삼량체 등을 형성하는 경우) 효과를 볼 수 있다.

[0148] 당해 표지된 포획용 미세 물체(2112)의 예로서는, 무생물 미세 물체 및 생물학적 미세 물체 모두를 포함한다. 무생물 미세 물체로는 미세구조, 예컨대 미세비드 (예를 들어, 폴리스티렌 미세비드), 미세막대, 자성 비드, 양자점 등을 포함한다. 미세구조는 크거나 (예를 들어, 직경이 10-15 마이크로미터, 또는 그 이상) 또는 작을 수 있다 (예를 들어, 직경이 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1 마이크로미터 미만 또는 그 이하). 생물학적 미세물체의 예로서는, 생물학적 미세물체 (예를 들어, 리포터 생물학적 미세물체), 리포좀 (예를 들어, 합성되거나 막 제제로부터 유도됨), 리포좀 코팅된 미세막대, 지질 나노래프트 (문헌 [Ritchie et al. (2009) "Reconstitution of Membrane Proteins in Phospholipid Bilayer Nanodiscs," Methods Enzymol., 464:211-231] 참조) 등을 포함한다.

[0149] 도 22는 포획용 미세 물체(2212) 및 표지제 (이의 성분은 2222로서 식별되며, 이하에서는 "표지(2222)"로 지칭함)의 혼합물을 포함하는 분석 시료(1910)의 일례를 도시하고 있다. 도 23은 포획용 미세 물체(2212), 분석물 성분(1904) 및 표지(2222)의 구성예를 나타내고 있다. 포획용 미세 물체(2212)는 분석물 성분(1904)의 제1 영역(2302)에 특이적으로 결합하는 제1 친화제(2312)를 포함할 수 있다. 표지(2222)는 분석물 성분(1904)의 제2 영역(2304)에 특이적으로 결합하는 제2 친화제(2322)를 포함할 수 있다. 도 22에 도시된 바와 같이, 반응(2002)은 분석물 성분(1904)의 제1 영역(2302)이 포획용 미세 물체(2212)의 제1 친화제(2312)에 결합하고, 분석물 성분(1904)의 제2 영역(2304)이 표지(2222)의 제2 친화제(2322)에 결합하는 경우에 일어난다.

[0150] 격리 펜(436)의 격리 영역(444) 내에서 생물학적 미세 물체(1202)에 의해 생성된 분석물의 성분들(1904)이 근위부 개구(452)를 향하여 확산하게 됨에 따라, 분석물의 성분들(1904)은 개구(452)에 직접 인접하고 있는 (또는 그 내부에 있는) 포획용 미세 물체(2212) 및 표지(2222)에 결합함으로써, 포획용 미세 물체(2212)의 표면 상에 표지(2112)가 축적되게끔 유도할 수 있다. 분석물의 성분들(1904)의 표지된 포획용 미세 물체(2212)에 대한 결합은 포획용 미세 물체(2212)가 근위부 개구(452)에 직접 인접하여 있는 (또는 그 내부에 있는) 경우에 가장 크다. 상기 논의와 마찬가지로, 이는 격리 영역(444) 및 연결 영역(442) 내에서 상대적으로 높은 농도를 갖는 분석물의 성분들(1904)이, 포획용 미세 물체(2212)의 표면에서 분석물의 성분들(1904)의 포획용 미세 물체(2212)에 대한 결합과 이에 수반되는 표지(2222)의 결합을 용이하도록 하기 때문이다. 분석물의 성분들(1904)이 채널(434) 내로 확산되어 나가 근위부 개구(452)로부터 멀어져감에 따라, 이들의 농도는 낮아지고 근위부 개구(452)로부터 멀리 떨어져 위치하는 포획용 미세 물체(2212)에 결합하는 분석물의 성분들(1904)은 더 적어지게 된다. 분석물 성분들(1904)의 포획용 미세 물체(2212)에 대한 결합의 감소는 근위부 개구(452)로부터 멀리 떨어져 위치하는 포획용 미세 물체(2212)의 표면에서 표지(2222)의 축적 감소를 유발하게 된다. 따라서, 펜(436, 438, 440)의 근위부 개구(452)에 직접 인접하고 있지 않은 (또는 그 내부에 있지 않은) 포획용 미세 물체(2212)들은 검출가능하게 표지되지 않거나, 또는 이들은 근위부 개구(452)에 직접 인접하거나 그 내부에서 발생하는 경우보다 더 낮게 검출되는 정도로 표지화된다.

[0151] 포획용 미세 물체(2212)의 예로서는 표지된 포획용 미세 물체(2112)에 대하여 상기 확인된 모든 예들을 포함한다. 제1 친화제(2312)의 예로서는 분석물의 성분들(1904)을 특이적으로 인식하는 수용체 또는 분석물의 성분들(1904)에 의해 특이적으로 인식되는 리간드를 포함한다. 예를 들어, 항체 분석물의 경우에, 제1 친화제(2312)는 관심 대상의 항원일 수 있다.

[0152] 표지(2222)의 예로서는 발광성 표지 (예를 들어, 형광 표지)를 포함하는 표지제 및 분해시 형광을 내는 신호 분

자를 분해할 수 있는 효소를 포함하는 표지제를 포함한다.

- [0153] 당해 분석 시료(1910)의 예로서는 복수의 친화제를 함유하는 포획용 미세 물체 복합체를 포함하는 분석 시료를 포함한다. 도 24는 제1 친화제(2402) 및 제2 친화제(2404)를 포함하는 포획용 미세 물체 복합체(2412)의 예를 도시하고 있다. 제1 친화제(2402)는 분석물 성분(1904)의 제1 영역(2302)에 특이적으로 결합할 수 있으며 (도 23 참조), 제2 친화제(2404)는 동일한 분석물 성분(1904)의 제2 영역(2304) 또는 이와는 다른 분석물 성분에 특이적으로 결합할 수 있다. 더욱이, 제1 친화제(2402) 및 제2 친화제(2404)는 임의로는 분석물 성분(1904)의 제1 영역(2302)과 제2 영역(2304)에 동시에 결합할 수도 있다.
- [0154] 제1 친화제(2402)의 예로서는 상기 거론된 것들을 포함한다. 제2 친화제(2404)의 예로서는 분석물 성분들(1904)의 제2 영역(2304)을 특이적으로 인식하는 수용체 또는 분석물 성분들(1904)의 제2 영역(2304)에 의해 특이적으로 인식되는 리간드를 포함한다. 예를 들어, 항체 분석물의 경우에, 제2 친화제(2404)는 항체의 불변 영역에 결합할 수 있다. 상기한 것의 예로서는 Fc 분자, 항체 (예를 들어, 항-IgG 항체), 단백질 A, 단백질 G 등을 포함한다.
- [0155] 당해 분석 시료(1910)의 또 다른 예는 복수의 포획용 미세 물체를 포함하는 것이다. 예를 들어, 분석 시료(1910)는 제1 친화제(2402)를 포함하는 제1 포획용 미세 물체 (도시하지 않음) 및 제2 친화제(2404)를 포함하는 제2 포획용 미세 물체 (도시하지 않음)를 포함할 수 있다. 제1 포획용 미세 물체는 제2 포획용 미세 물체와 다를 수 있다. 예를 들어, 제1 포획용 미세 물체는 제1 포획용 미세 물체와 제2 포획용 미세 물체를 구별 짓는 크기, 색상, 모양, 또는 다른 특징들을 가질 수 있다. 다르게는, 제1 포획용 미세 물체 및 제2 포획용 미세 물체는 각기 포함하는 친화제의 유형을 제외하고는 실질적으로 동일한 유형의 포획용 미세 물체일 수 있다.
- [0156] 당해 분석 시료(1910)의 또 다른 예는 서로 다른 관심 대상의 분석물에 결합하도록 고안된 복수의 유형의 포획용 미세 물체를 포함한다. 예를 들어, 분석 시료(1910)는 제1 친화제를 포함하는 제1 포획용 미세 물체 (도시하지 않음) 및 제2 친화제를 포함하는 제2 포획용 미세 물체 (도시하지 않음)를 포함할 수 있는데, 여기서 상기 제1 친화제 및 제2 친화제는 동일한 관심 대상의 분석물에 결합하지 않는다. 제1 포획용 미세 물체는 제1 포획용 미세 물체와 제2 포획용 미세 물체를 구별 짓는 크기, 색상, 모양, 표지 또는 다른 특징들을 가질 수 있다. 이러한 방식으로, 복수의 관심 대상의 분석물을 동시에 스크리닝할 수 있다.
- [0157] 분석 시료(1910)의 구체적인 함량과는 상관없이, 일부 실시양태에서, 컨트롤 모듈(472)은 컨트롤/모니터링 장비(480)로 하여금 분석 시료(1910)를 채널(434) 내로 로딩하도록 할 수 있다. 컨트롤 모듈(472)은 채널(434) 내 분석 시료(1910)의 흐름을 상기 논의된 최소 흐름 속도( $V_{\min}$ )와 최대 흐름 속도( $V_{\max}$ ) 사이로 유지할 수 있다. 일단 분석 시료(1910)가 펌(436, 438, 440)의 근위부 개구(452)에 인접하여 자리하게 되면, 컨트롤 모듈(472)은 채널(434) 내 분석 시료(1910)의 흐름을 실질적으로 중단할 수 있다.
- [0158] 당해 미세유체 소자(400)에서 수행되는 경우, 단계(108)는 분석물 성분들(1904)이 채널(434) 내에 로딩된 분석 시료(1910)와 반응함을 나타내는, 격리 펌(436, 438, 440)의 1개 이상의 근위부 개구(452)에 직접 인접한 곳에서의 국소 반응(2002)을 검출하는 단계를 포함할 수 있다. 국소 반응(2002)이 격리 펌(436, 438, 440)의 임의의 근위부 개구(452)에 직접 인접하고 있는 곳에서 검출되는 경우, 검출된 국소 반응(2002) 중 어떤 반응이 격리 펌(436, 438, 440) 내에서 1개 이상의 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)의 양성 수행 반응을 나타내는지 결정할 수 있다. 일부 실시양태에서, 인간 사용자는 채널(434) 또는 펌(436, 438, 440)의 연결 영역(442)을 관찰하여, 국소 반응(2002)이 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)의 양성 수행 반응을 나타내는지에 대해 모니터링하여 결정할 수 있다. 다른 실시양태에서, 컨트롤 모듈(472)은 이렇게 하도록 구성될 수 있다. 도 25의 방법(2500)은 국소 반응(2002)이 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)의 양성 수행 반응을 나타내는지에 대해 모니터링하여 결정하는 단계를 수행하기 위한 컨트롤 모듈(472) 작동의 일례이다.
- [0159] 단계(2502)에서, 방법(2500)을 수행하는 컨트롤 모듈(472)은 카메라 또는 기타의 이미지 캡처 장치 (도시하지는 않았으나, 도 4A의 컨트롤/모니터링 장비(480)의 구성요소일 수 있음)를 이용하여 채널(434) 또는 격리 펌(436, 438, 440)의 연결 영역(442) 중 하나 이상의 이미지를 캡처할 수 있다. 각 이미지를 캡처하기 위한 노출 시간의 예로서는 10 ms 내지 2초, 10 ms 내지 1.5초, 10 ms 내지 1초, 50 내지 500 ms, 50 내지 400 ms, 50 내지 300 ms, 100 내지 500 ms, 100 내지 400 ms, 100 내지 300 ms, 150 내지 500 ms, 150 내지 400 ms, 150 내지 300 ms, 200 내지 500 ms, 200 내지 400 ms 또는 200 내지 300 ms를 포함한다. 컨트롤 모듈(472)은 하나 또는 복수개의 이러한 이미지를 캡처할 수 있다. 컨트롤 모듈(472)이 하나의 이미지를 캡처하는 경우, 그 이미지는 하기에 언급된 최종 이미지일 수 있다. 컨트롤 모듈(472)이 복수개의 이미지를 캡처하는 경우, 컨트롤 모듈(472)은 2개 이상의 캡처된 이미지를 최종 이미지 내로 결합시킬 수 있다. 예를 들어, 컨트롤 모듈(472)은 2개 이상의

캡처된 이미지를 평균할 수 있다. 일부 실시양태에서, 컨트롤 모듈(472)은 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200개 또는 그 이상의 캡처된 이미지를 캡처 및 평균하여 최종 이미지를 생성할 수 있다.

[0160] 단계(2504)에서, 컨트롤 모듈(472)은 최종 이미지에서 국소 반응(2002)의 임의의 징후를 식별할 수 있다. 상기 논의한 바와 같이, 국소 반응(2002)의 예로서는 발광 (예를 들어, 형광)을 포함하며, 따라서, 컨트롤 모듈(472)은 격리 펜(436, 438, 440)의 임의의 한 근위부 개구(452)에 직접 인접하고 있는 곳에서의 발광에 대한 최종 이미지를 분석할 수 있다. 컨트롤 모듈(472)은 최종 이미지 내에서 국소 반응(2002)을 식별하기 위한 임의의 이미지 처리 기법을 이용하도록 프로그래밍될 수 있다. 도 20에 도시된 실례에 있어서, 컨트롤 모듈(472)은 격리 펜(436, 438)의 근위부 개구(452)에 직접 인접하고 있는 곳에서의 국소 반응(2002)을 검출할 수 있다.

[0161] 단계(2506)에서, 컨트롤 모듈(472)은 단계(2504)에서 검출된 각각의 국소 반응(2002)을 이에 대응하는 격리 펜(436, 438, 440)과 연관시킬 수 있다. 예를 들어, 컨트롤 모듈(472)은 단계(2504)에서 검출된 각각의 국소 반응(2002)을 반응(1002)에 대해 가장 가까운 근위부 개구(452)를 갖는 격리 펜(436, 438, 440)에 연관시킴으로써 그렇게 할 수 있다. 도 20의 예에 있어서, 컨트롤 모듈(472)은 반응(2002)을 격리 펜(436, 438)에 연관시킬 수 있다.

[0162] 당해 컨트롤 모듈(472)은 검출된 반응이 단계(2506)에서 연관된 각 격리 펜(436, 438, 440)에 대해 도 25의 단계(2508 및 2510)를 수행할 수 있다. 따라서, 도 20의 실례와 관련하여, 컨트롤 모듈(472)은 격리 펜(436)에 대해 단계(2508 및 2510)를 수행한 후, 격리 펜(438)에 대하여 단계(2508 및 2510)를 반복할 수 있다.

[0163] 단계(2508)에서, 컨트롤 모듈(472)은 현재 격리 펜(436)에 관련된 검출된 반응(1002)이 현재 펜(436) 내의 생물학적 미세 물체(1202)에 대해 양성적 결과를 나타내는지를 측정할 수 있다. 예를 들어, 컨트롤 모듈(472)은 단계(2502)에서 수득된 최종 이미지로부터 검출된 반응(1002)과 관련된 데이터를 추출하여, 추출된 데이터가 양성적 결과를 나타내는지를 측정할 수 있다. 임의 다수의 서로 다른 기준들이 사용될 수 있다. 예를 들어, 검출된 반응(2002)은 발광일 수 있고, 양성적 결과를 측정하기 위한 기준으로는 문턱값을 초과하는 발광의 강도, 문턱값을 초과하는 발광의 휘도, 예정된 색상 범위 내에 속하는 발광의 색상 등을 포함할 수 있다. 단계(2508)에서, 컨트롤 모듈(472)이 검출된 반응을 양성인 것으로 측정하는 경우, 컨트롤 모듈(472)이 단계(2510)로 진행될 수 있으며, 여기서 컨트롤 모듈(472)은 현재 격리 펜(436)을 양성 생물학적 미세 물체(1202)를 함유하는 것으로 식별할 수 있다. 단계(2508)에서의 측정이 음성인 경우, 컨트롤 모듈(472)은 검출된 반응이 단계(2506)에서 연관된 다음 격리 펜(438)에 대해 단계(2508)를 반복할 수 있다.

[0164] 도 20에 도시된 예에서, 격리 펜(436)에 관련된 국소 반응(2002)은 단계(2508)에서 양성인 것으로 판명되었지만, 격리 펜(438)에 관련된 국소 반응(2002)은 음성 (예를 들어, 발광이 검출되지는 하였으나, 격리 펜(438)을 양성이라고 판명하는 문턱값 미만임)으로 판명된 것으로 추정된다. 이미 언급하였듯이, 격리 펜(440)의 근위부 개구(452)에 인접한 곳에서는 반응이 감지되지 않았다. 결과적으로, 컨트롤 모듈(472)은 격리 펜(436)만을 양성 생물학적 미세 물체를 갖는 것으로 식별한다. 도 25에는 나타내지 않았지만, 컨트롤 모듈(472)은, 방법(2500)의 일부로서, 격리 펜(438, 440)을 음성으로 식별한다.

[0165] 도 1을 다시 살펴보면, 단계(110)에서, 방법(100)은 단계(108)에서 양성 반응을 나타냈던 생물학적 미세 물체와 음성 반응을 나타냈던 생물학적 미세 물체를 분리할 수 있다. 도 26 및 27은 단계(108)에서 후속 특성에 대해 음성 반응을 나타냈던 생물학적 미세 물체(1002)가 미세유체 소자(200)의 채널(252)로 이동된 후 플러싱되는 일례를 도시하고 있다. 도 29는 음성 생물학적 미세 물체(1204, 1206)가 미세유체 소자(400) 내에서 양성 생물학적 미세 물체(1202)로부터 분리되는 일례를 나타내고 있다.

[0166] 도 26에 나타낸 바와 같이, 단계(110)에서 음성 반응을 나타냈던 각 생물학적 미세 물체(1002)는 홀딩 펜(256) 내에서 광 트랩(2602)을 이용하여 선택되어 포획될 수 있다. 음성 미세 물체는 도 26에서 1802로 표시된다. 이후, 광 트랩(2602)은 홀딩 펜(256)으로부터 채널(252) 내로 이동시킬 수 있다. 도 27에 나타낸 바와 같이, 트랩(2602)은 채널(252) 내에서 턴 오프될 수 있으며, 매질(244)의 흐름(804) (예를 들어, 대류 흐름)은 음성 생물학적 미세 물체(1802)를 채널(252) (및 임의로는 흐름 영역(240))으로부터 플러싱할 수 있다. 분석 시료(1702)는 펜(256)으로부터 확산되어 나올 수 있고, 흐름(804) 또한 분석 시료(1702)를 채널(252)에서 플러싱하여 제거할 수 있다.

[0167] 광 트랩(2602)은 상기 논의한 바와 같이 생성되어 조작될 수 있다. 예를 들어, 도시된 바와 같이, 각각의 음성 생물학적 미세 물체(2602)는 개별적으로 포획되어 홀딩 펜(256)에서 채널(252) 내로 이동시킬 수 있다. 다르게



는, 1개 이상의 음성 생물학적 미세 물체(2602)는 단일 트랩(2602)에 의해 포획될 수 있다. 예를 들어, 단일 펜(256) 내에 1개 이상의 생물학적 미세 물체(2602)가 존재할 수 있다. 이와는 상관없이, 2개 이상의 음성 생물학적 미세 물체(2602)는 펜(256)에서 선택됨과 동시에 채널(252) 내로 이동시킬 수 있다.

[0168] 검출기(224)는 펜(256) 내의 생물학적 미세 물체(1002)의 이미지를 비롯하여 흐름 영역(240)의 일부 또는 모든 이미지들을 캡처할 수 있고, 이러한 이미지들은 개개의 음성 생물학적 미세 물체(2602)들을 식별하고, 포획하여 특정 펜(256)으로부터 채널(252) 내로 이동시키는 단계를 용이하게 할 수 있다. 따라서, 검출기(224) 및/또는 (예를 들어, 도 3a 및 3b의 DEP 장치로 구성된) 선택기(222)는 한 특성에 대해 양성 반응을 나타낸 미세 물체를 특성에 대해 음성 반응을 나타낸 미세 물체로부터 분리하는 수단에 대한 하나 이상의 예일 수 있다.

[0169] 도 27에 나타난 바와 같이, 채널(252) 내의 음성 생물학적 미세 물체(1802)를 이용하여, 매질(244)의 흐름(804)은 생물학적 미세 물체(1802)를 채널(252)로부터, 일부 실시예에서는, (예를 들어, 배출구(210)를 통해) 미세 유체 소자(200)로부터 플러싱할 수 있다. 예를 들어, 흐름(804)이 사전에 중단되거나 늦춰진 경우, 흐름(804)은 재개되거나 증가될 수 있다.

[0170] 다르게는, 단계(108)에서 양성 반응을 나타냈던 생물학적 미세 물체(1002)는 펜(256)으로부터 채널(252) 내로 이동하여 단계(110)에서 채널(252)의 흐름(804)에 의해 플러싱될 수 있다. 이러한 예에서, 단계 (104 및 108) 모두에 있어서 양성 반응을 나타냈던 생물학적 미세 물체(1002)는 저장, 추가의 가공 처리, 또 다른 장치 (도시하지 않음)로의 전달 등을 위해 미세유체 소자(200) 내의 어디에서든 수집될 수 있다. 단계(108)에서 음성 반응을 나타냈던 생물학적 미세 물체(1802)는 차후 홀딩 펜(256)으로부터 제거되어 폐기될 수 있다.

[0171] 도 28 및 29에 나타난 바와 같이, 분석 시료(1910)는 채널(434)로부터 플러싱(2802)될 수 있다 (도 28). 이후, 도 29에 나타난 바와 같이, 단계(108)에서 음성 반응을 나타냈던 미세유체 소자(400) 내의 생물학적 미세 물체 (1204, 1206)는 격리 펜(438, 440)으로부터 채널(434) 내로 이동시킬 수 있고, 여기에서 음성 생물학적 미세 물체(1204, 1206)는 (예를 들어, 채널(434) 내 매질의 흐름 (도시하지는 않았으나, 도 28의 2802과 유사할 수 있음)에 의해) 채널(434)로부터 제거될 수 있다. 생물학적 미세 물체(1204, 1206)는 생물학적 미세 물체(1202, 1204, 1206)를 채널(434)로부터 격리 펜(436, 438, 440) 내로 이동시키는 데 있어서 상기 논의한 임의의 방식 (예를 들어, DEP, 중력 등)으로 격리 펜(438, 440)에서 채널(434)로 이동시킬 수 있다.

[0172] 단계(108 및 110) 이후, 방법(100)은 추가로, 단계(108)에서 수행된 시험에 따라 단계(104)에서 선택된 미세 물체 (예를 들어, 1002, 1202, 1204, 1206)를 분류한다. 더욱이, 후속 시험 단계(108)의 후속 시험에 대해서도 양성 반응을 나타냈던 단계(104)에서 선택된 미세 물체들은 홀딩 펜 (예를 들어, 256, 436, 438, 440) 내에 잔류할 수 있는 한편, 음성 미세 물체들은 제거될 수 있다.

[0173] 상기 논의한 바와 같이, 단계(108 및 110)는 반복하여  $n$ 회 수행할 수 있는데, 이때  $n$ 은 정수 1 (이 경우 단계 (108 및 110)는 1회만 수행되고 반복되지 않음) 이상이다. 단계(108)의 각 반복 수행에서 수행된 후속 시험은 서로 다른 시험일 수 있다. 다르게는, 단계(108)의 반복 수행에서 수행된 후속 시험은 단계(104)에서 이미 수행했던 시험 또는 이전에 수행했던 단계(108)의 시험과 동일할 수 있다. 따라서, 단계(102)에서 로딩된 생물학적 미세 물체 (예를 들어, 생물학적 미세 물체)는 일련의  $n+1$  시험을 받을 수 있다. 일부 실시양태에서,  $n+1$  시험의 각 시험은 서로 다른 시험일 수 있고, 일부 실시양태에서,  $n+1$  시험의 각 시험은 서로 다른 특성에 대해 시험할 수도 있다. 따라서, 방법(100)은 초기의 생물학적 미세 물체의 혼합물로부터  $n+1$  시험들(각 시험은 다를 수 있음)에 양성 반응을 나타내는 그룹을 분류할 수 있고, 일부 실시양태에서, 방법(100)은 초기의 생물학적 미세 물체의 혼합물로부터  $n+1$ 개의 서로 다른 특성에 대해 양성 반응을 나타내는 그룹을 분류할 수 있다.

[0174] 다르게는, 방법(100)은 단계(104)에서 생물학적 미세 물체를 선택한 후, 시험 단계(108)에서 (동시 수행했거나 또는 단계(108)의 반복에 의해) 생물학적 미세 물체가 양성 반응을 나타낸 시험의 횟수에 따라 선택된 생물학적 미세 물체에 대해 순위를 매길 수 있다. 이러한 방식으로 복수개의 특성들을 평가하는 것은 항체 특성화를 비롯하여 수많은 용도를 위해 바람직하다. 예를 들어, 상기 다중 평가는 하기한 것들 중 임의의 하나에 도움이 될 수 있다: 구조 특이적 항체를 동정하는 것 (예를 들어, 서로 다른 시험들은 특정 항원의 상이한 구조에 결합하는 항체 분석물의 능력이 될 수 있음); 항체 분석물의 에피토프 맵핑 (예를 들어, 유전학적 및 화학적으로 변형된 항원을 이용함); 항체 분석물의 중 교차반응성의 평가 (예를 들어, 서로 다른 시험들은 인간, 마우스, 래트 및/또는 기타 동물들 (예를 들어, 실험 동물)에서 유래한 동종성 항원에 결합하는 항체 분석물의 능력을 평가할 수 있음); 및 항체 분석물의 IgG 아이소타이핑. 항체의 에피토프 맵핑을 위한 화학적으로 변형된 항원의 생성에 대해서는 예를 들어, 문헌 [Dhungana et al. (2009), Methods Mol. Biol. 524: 119-34]에 기술된 바 있다.

- [0175] 전체 방법(100)은 1회 이상 반복할 수 있다. 따라서, 단계(108 및 110)를 n회 수행한 후, 단계(102-106)를 다시 k회 수행한 후, 단계(108 및 110)를 n회 더 수행할 수 있다. k라는 수는 방법(100)의 각 반복 수행 횟수와 동일할 필요는 없다. 이와 유사하게, n이라는 수도 방법(100)의 각 반복 수행 횟수와 동일할 필요는 없다. 예를 들어, 도 27에 나타난 흐름(804)은 새로운 생물학적 미세 물체의 혼합물을 도 8에 도시된 바와 같이 미세유체 소자(200)의 채널(252) 내로 로딩할 수 있으며, 이에 따라 방법(100)을 특정 횟수로 반복함에 있어서 단계(108 및 110)의 마지막 반복 수행은, 미세유체 소자(200)에서 방법(100)의 다음 수행에서의 단계(102)의 일부일 수 있다.
- [0176] 당해 방법(100)은 이와 유사하게 미세유체 소자(400)에 있어서도 여러 번 반복할 수 있다. 예를 들어, 방법(100)은, 단계(110)에서 격리 펜(436, 438, 440) 내에 보유된 양성 생물학적 미세 물체를 재시험 또는 재분석하기 위해; 양성 생물학적 미세 물체를 감소된 밀도 (예를 들어, 격리 펜당 하나의 생물학적 미세 물체, 초기 시험은 격리 펜당 복수개의 생물학적 미세 물체를 가지고 수행했다고 가정함)로 재시험 또는 재분석하기 위해; 단계(108)의 차후 반복 수행에서 미세유체 소자(400) 내에 로딩된 새로운 생물학적 미세 물체를 시험 또는 분석하기 위해; 서로 다른 분석물 시료에 관하여 (예를 들어, 제2 또는 추가의 관심 대상의 분석물을 검출하도록 고안된 분석 시료(1910)를 이용하여 단계(108)를 반복함으로써) 단계(110)에서 격리 펜(436, 438, 440) 내에 보유된 양성 생물학적 미세 물체를 시험 또는 분석하기 위해; 기타 등등을 위해 반복할 수 있다.
- [0177] 도 30은 또 다른 예를 도시하고 있다. 보이는 바와 같이, 단계(110)이 수행된 후, 격리 펜 (예를 들어, 436) 내에 보유된 1개 이상의 생물학적 미세 물체 (예를 들어, 1202)는 격리 펜 (예를 들어, 436) 내에서 생물학적 미세 물체의 클론 개체군(3002)을 생성하도록 할 수 있다. 이후, 방법(100)의 모든 단계 또는 일부의 단계 (예를 들어, 단계(108 및 110))를 개체군(3002)을 시험 또는 분석하는데 사용할 수 있다. 다르게는, 생물학적 미세 물체는 상기 논의한 바와 같이 분리하여 재시험할 수 있다. 또 다른 대안으로서는, 생물학적 미세 물체는 방법(100)이 완료되기 전에 (예를 들어, 단계(106) 또는 단계(108) 이후, 하지만 단계(110) 이전에) 개체군으로 성장하도록 할 수 있다.
- [0178] 본 명세서에서는 본 발명의 특정 실시양태들과 적용 양태들에 대해 기술하였지만, 이러한 실시양태들과 적용 양태들은 단지 예시를 든 것이며, 여러 가지 변형이 가능하다. 예를 들어, 도 1의 방법(100)과 도 25의 방법(2500)은 단지 예시일 뿐이지, 여러 가지 변형들을 고려할 수 있다. 따라서, 예를 들어, 방법(100) 및/또는 방법(2500)의 단계들 중 적어도 일부 단계들은 나타난 것과는 다른 순서로 수행될 수 있으며, 일부 단계들은 동시에 수행될 수 있거나, 아니면 다른 단계들의 수행과 중첩될 수 있다. 다른 예로서, 방법(100, 2500)은 나타내지 않은 추가의 단계들을 포함할 수 있거나, 또는 나타난 단계들 중 일부의 단계들을 생략할 수도 있다.
- [0179] 실시예
- [0180] 실시예 1 - 인간 CD45에 결합할 수 있는 IgG 항체를 분리하는 마우스 비장 세포 스크리닝
- [0181] 인간 CD45에 결합하는 IgG 유형의 항체를 분리하는 마우스 비장 세포를 동정하기 위해 스크리닝을 수행하였다. 실험 설계는 하기의 단계들을 포함하였다:
- [0182] 1. CD45 항원 코팅된 비드의 제조;
- [0183] 2. 마우스 비장 세포의 수확;
- [0184] 3. 미세유체 소자 내로 세포 로딩; 및
- [0185] 4. 항원 특이성 분석.
- [0186] 본 실험에 사용된 시약들은 하기 표 1에 나타난 것들을 포함한다.

표 1

[0187]	명칭	판매처	카탈로그 번호	로트 번호
1	Slide-A-Lyzer™ MINI 투석기, 7K MWCO, 0.1mL	써모 피어스 (Thermo Pierce)	69560	OJ189254
2	CD45 단백질	R&D시스템즈(Systems)	1430-CD	112722
3	PBS pH 7.2 ( $Mg^{2+}$ 및 $Ca^{2+}$ )	피셔 사이언티픽(Fisher Scientific)	BP29404	

4	SPHERO™ 스트렙타비딘 코팅된 비드 (8 $\mu$ m)	스페로테크 (Spherotech)	SVP-60-5	AC01
5	EZ-Link™ NHS-PEG4-비오틴, No-Weight™ Format	써모 피어스	21329	
6	하이브리도마 SFM 배지	라이프 테크놀로지 (Life Technologies)	12045-076	
7	소태아혈청	하이클론(Hyclone)	#SH30084.03	
8	페니실린-스트렙토마이신 (10,000 U/mL)	라이프 테크놀로지	15140-122	
9	염소 항-마우스 F(ab) <sub>2</sub> -Alexa Fluor® 568	라이프 테크놀로지	Cat# A11019	Lot#1073003
10	스트렙타비딘-Alexa Fluor®488	라이프 테크놀로지	Catalog #S32354	Lot #1078760
11	마우스 항 CD45 IgG <sub>1</sub>	R&D 시스템즈	MAB1430	ILP0612061
12	BD 펠콘(Falcon™) 세포 여과기, 40 $\mu$ m, 블루	BD	352340	

[0188] **CD45 항원 코팅된 비드의 제조**

[0189] 하기의 방법으로 CD45 항원 코팅된 미세비드를 제조하였다:

[0190] 50  $\mu$ g의 무담체 CD45를 500  $\mu$ L의 PBS (pH 7.2)에 재현탁시켰다.

[0191] Slide-A-Lyzer™ 미니컵(mini cup)을 500  $\mu$ L의 PBS로 행귀낸 후, 미세원심분리관에 넣었다.

[0192] 500  $\mu$ L의 0.1  $\mu$ g/ $\mu$ L CD45 용액을 상기 행귀낸 slide-a-lyzer 미니컵에 첨가하였다.

[0193] 170  $\mu$ L의 PBS를 2 mg의 NHS-PEG4-비오틴(Biotin)에 첨가한 후, 4.1  $\mu$ L의 NHS-PEG4-비오틴을 CD45 항원을 함유하고 있는 Slide-A-Lyzer™ 미니컵에 첨가하였다.

[0194] 실온에서 1시간 동안 EZ-Link™ NGS-PEG4-비오틴을 CD45 항원과 함께 배양하였다.

[0195] 상기 배양 후, Slide-A-Lyzer™ 미니컵을 미세원심분리관에서 제거하여 제2 미세원심분리관 내의 1.3 mL의 PBS (pH 7.2)에 넣고, 첫 번째 1시간 동안 4℃에서 흔들면서 배양하였다. 이어서, 상기 Slide-A-Lyzer™ 미니컵을 1.3 mL의 신선한 PBS (pH 7.2)를 함유하는 제3 미세원심분리관에 옮겨 담은 후, 두 번째 1시간 동안 4℃에서 흔들면서 배양하였다. 이 마지막 단계를 3회 더 반복하여, 총 5번의 1시간 배양을 수행하였다.

[0196] 100  $\mu$ L의 비오틴화 CD45 용액 (~ 50 ng/ $\mu$ L)을 표지된 미세원심분리관에 파이펫팅하여 넣었다.

[0197] 500  $\mu$ L의 스페로테크 (Spherotech)사의 SPHERO™ 스트렙타비딘이 코팅된 비드를 미세원심분리관으로 파이펫팅하여 넣고, PBS (pH 7.4) 중에서 3회 (1000  $\mu$ L/1회 세척)세척한 후, 3000 RCF로 5분간 원심분리하였다.

[0198] 비드들을 500  $\mu$ L의 PBS (pH 7.4) 중에 재현탁시켜, 비드 농도를 5 mg/mL가 되게 하였다.

[0199] 50  $\mu$ L의 비오틴화 단백질을 상기 재현탁된 스페로테크의 SPHERO™ 스트렙타비딘이 코팅된 비드와 혼합하였다. 상기 혼합물을 2시간 동안 흔들면서 4℃에서 배양한 후, 3000 RCF로 4℃에서 5분간 원심분리하였다. 상청액을 버리고 CD45 코팅된 비드를 1 mL의 PBS (pH 7.4) 중에서 3회 세척하였다. 이후, 상기 비드를 3000 RCF로 4℃에서 5분간 더 원심분리하였다. 마지막으로, 상기 CD45 비드를 500  $\mu$ L의 PBS (pH 7.4) 중에 재현탁시켜 4℃로 저장하였다.

[0200] **마우스 비장 세포의 수확**

[0201] CD45로 면역화시킨 마우스의 비장을 수확하여 DMEM 매질 + 10% FBS 중에 투입하였다. 가위를 사용하여 상기 비장을 다져놓았다.

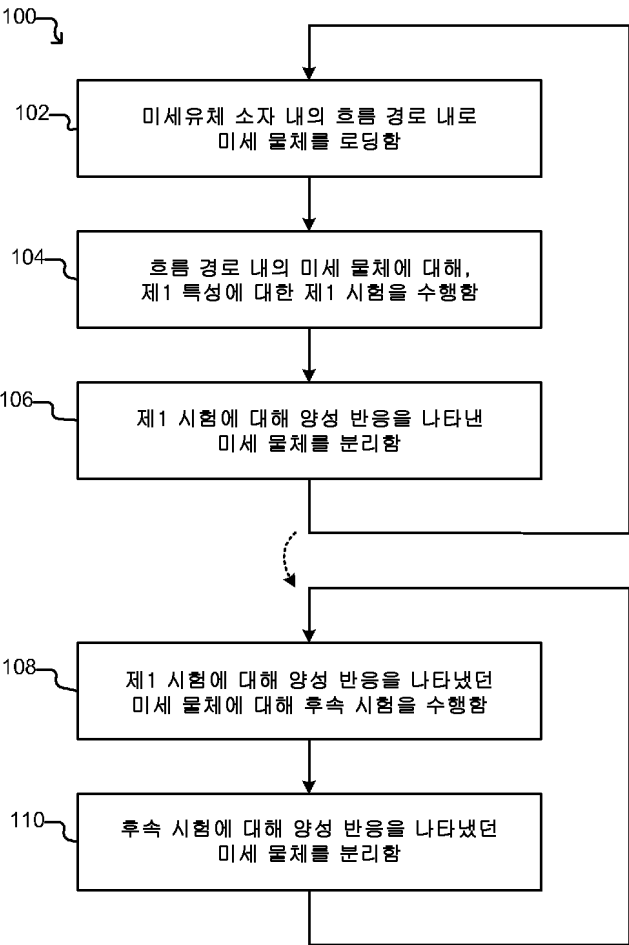
[0202] 상기 다져진 비장을 40  $\mu$ m의 세포 여과기 (strainer)에 투입하였다. 10 mL의 파이펫을 사용하여 세포 여과기를 통해 단일 세포를 세척하였다. 유리 막대를 사용하여 상기 비장을 더 분쇄하여 단일 세포가 세포 여과기를 통과하게 한 후, 10 mL의 파이펫을 사용하여 세포 여과기를 통해 단일 세포를 다시 세척하였다.

[0203] 적혈구 세포를 시판되는 키트를 사용하여 용해시켰다.

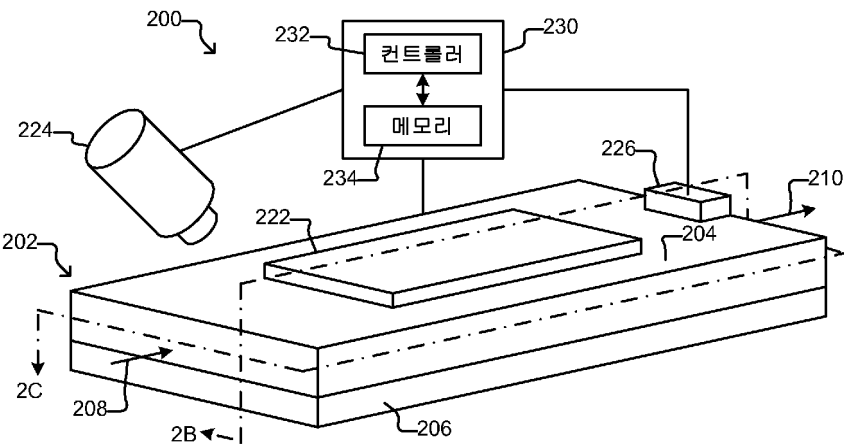
- [0204] 상기 세포를 200xG로 회전 속도를 낮추고, 10 ml의 파이프트를 사용하여 비장 세포를 DMEM 매질 + 10% FBS 중에  $2 \times 10^8$  개의 세포/ml의 농도로 재현탁시켰다.
- [0205] **미세유체 소자 내에 세포 로딩**
- [0206] 비장 세포를 미세유체 칩에 넣고, 펜당 20-30개의 세포를 함유하는 펜에 로딩하였다. 100  $\mu$ L의 배지를 1  $\mu$ L/s로 소자를 통해 흘려보내 원치않는 세포를 제거하였다. 온도를 36℃로 설정하고, 배지를 0.1  $\mu$ L/s로 30분 동안 관류시켰다.
- [0207] **항원 특이성 분석**
- [0208] 1:2500로 염소 항-마우스 F(ab')<sub>2</sub>-Alexa Fluor® 568를 포함하는 세포 배지를 제조하였다.
- [0209] 100  $\mu$ L의 CD45 비드를 1:2500로 염소 항-마우스 F(ab')<sub>2</sub>-Alexa Fluor® 568를 포함하는 22  $\mu$ L의 세포 배지 중에 재현탁시켰다.
- [0210] 다음으로, 상기 재현탁된 CD45 비드를, 비장 세포를 함유하는 펜에 인접하도록 그러나 펜 바로 바깥에 위치할 때까지 1  $\mu$ L/s의 속도로 미세유체 칩의 주채널 내로 흐르게 하였다. 이후, 유체 흐름을 중단시켰다.
- [0211] 이후, 비드의 위치를 측정하기 위해 미세유체 칩에 명시야 이미지를 확보하였다.
- [0212] 다음으로, 텍사스 레드 필터를 사용하여 세포와 비드의 이미지를 캡처하였다. 이미지는 1시간 동안 매 5분 마다 촬영하였고, 각각 1000 ms로 노출을 지속하였고, 게인(gain)은 5로 조절하였다.
- [0213] **결과**
- [0214] 비드 상에 현상되는 양성 신호가 관찰되었는데, 이는 특정 펜으로부터 주채널 내로 확산되는 IgG-아이소타입 항체의 확산을 반영하는 것이며, 여기서 이들은 CD45-코팅된 비드에 결합할 수 있다. 항-CD45 항체의 비드에 대한 결합은 제2차 염소 항-마우스 IgG-568이 비드와 결합하여 검출가능한 신호를 생성할 수 있게 해준다. 도 31a-31c 및 흰색 화살표를 참조한다.
- [0215] 본 발명의 방법을 이용하면, 양성 신호와 관련된 각 비장 세포의 그룹을 분리해 단일 세포로서 새로운 펜으로 이동시켜 재분석할 수 있다. 이러한 방식으로, 항-CD45 IgG 항체를 발현하는 단일 세포를 검출할 수 있다.
- [0216] 상기 나타난 임의의 변형들 이외에도, 당업계의 숙련자라면 본 상세한 설명의 개념과 범위를 벗어나지 않으면서 수많은 기타의 변형 및 대안적인 방식들을 고안할 수 있다. 따라서, 현재 가장 실행가능하고 바람직한 측면들로 간주되는 것과 관련하여 그 정보를 위에서 상세하게 기술하였으나, 이에 제한되지는 않지만 형태, 기능, 작동 방식 및 용도를 비롯한 수많은 변형들을 본원에 기재한 원리 및 개념에서 벗어나지 않으면서 가할 수 있다는 점은 당업계의 숙련자에게는 명백할 것이다. 본원에서, 모든 측면에 있어서 실시예와 실시양태들은 단지 예시하기 위한 것일 뿐이지, 어떠한 식으로도 본 발명을 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 또한, 본원에서 단계라는 용어가 사용되었는데, 이 용어는 단순히 상술한 방법들 중 서로 다른 부분들에 대한 주의를 끌기 위해 사용될 있는 것이지, 이러한 용어가 상기 방법들 중 임의의 부분들에 있어서 출발 시점 또는 중단 시점을 기술하거나, 어떠한 식으로도 본 발명을 한정하려고 하는 것이 아님을 주지하여야 할 것이다.

도면

도면1

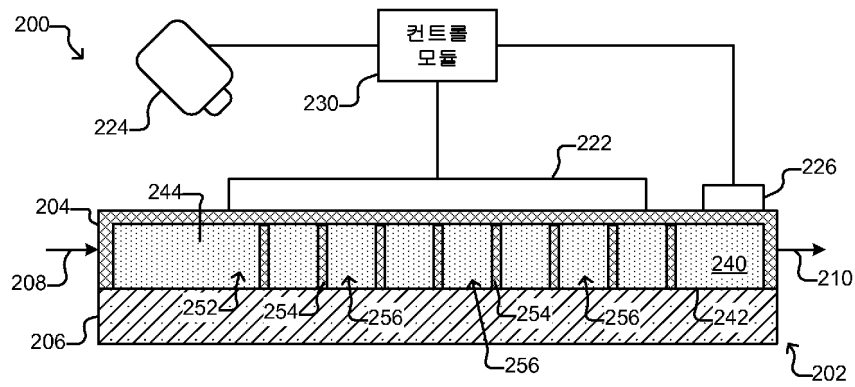


도면2a

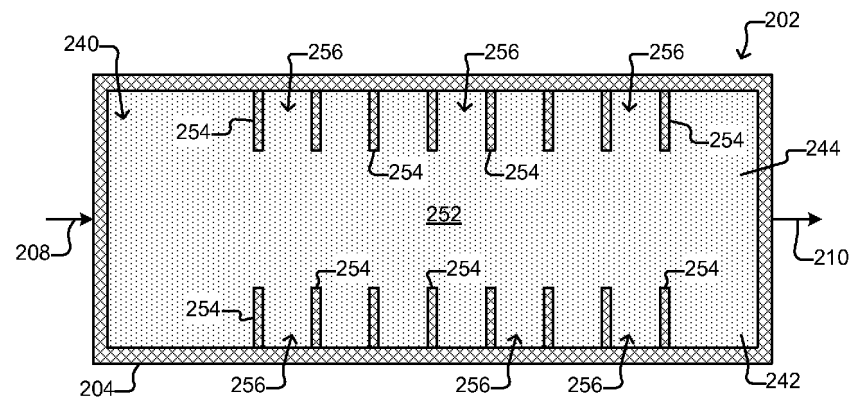




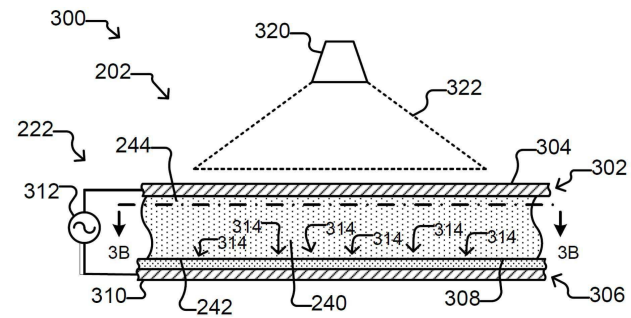
도면2b



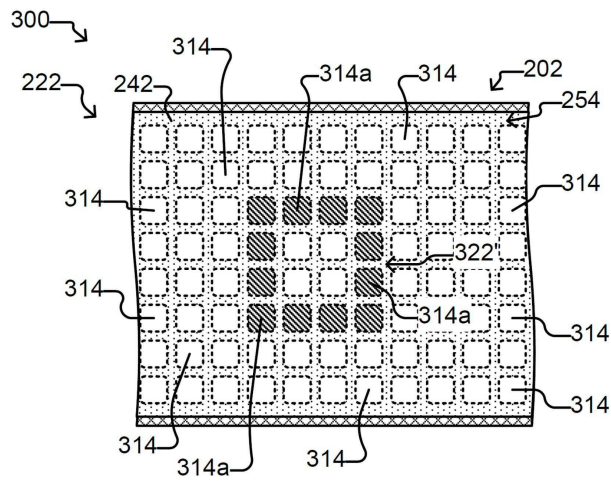
도면2c



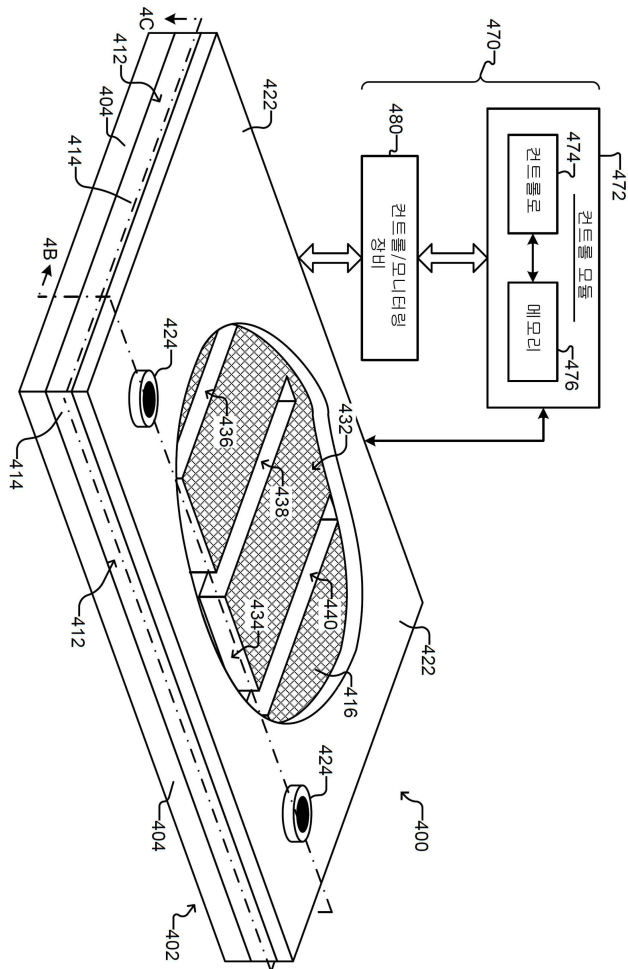
도면3a



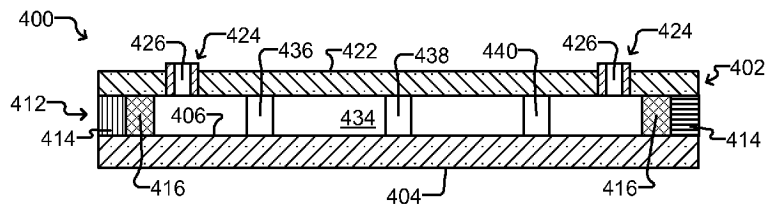
도면 3b



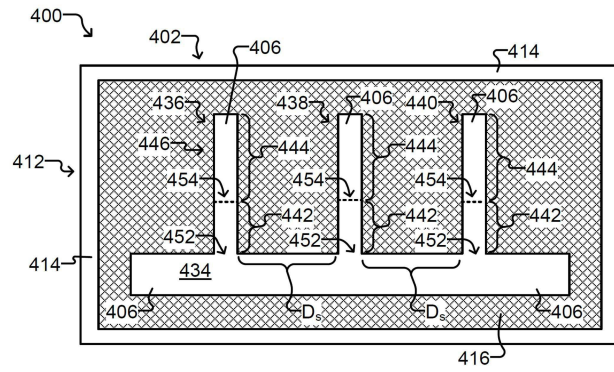
도면4a



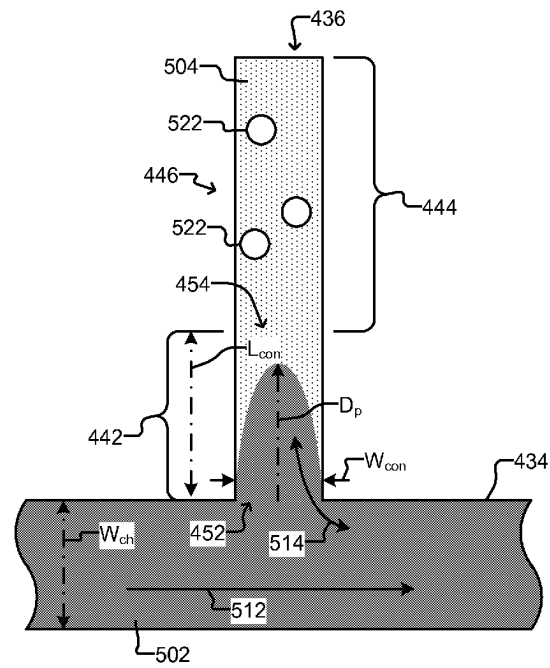
도면4b



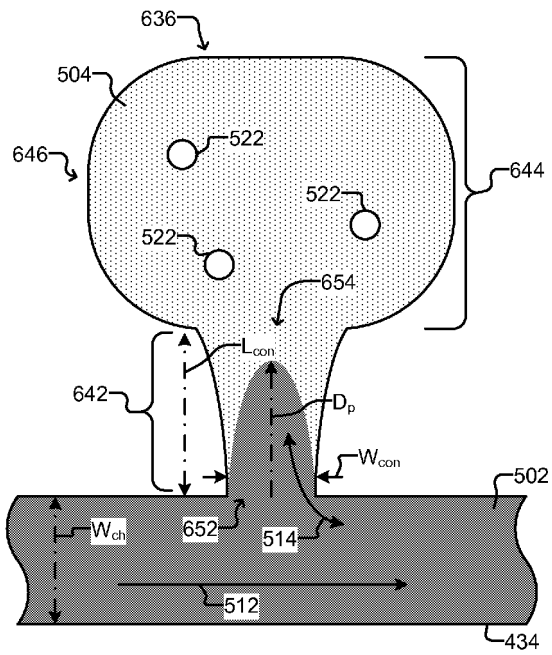
도면4c



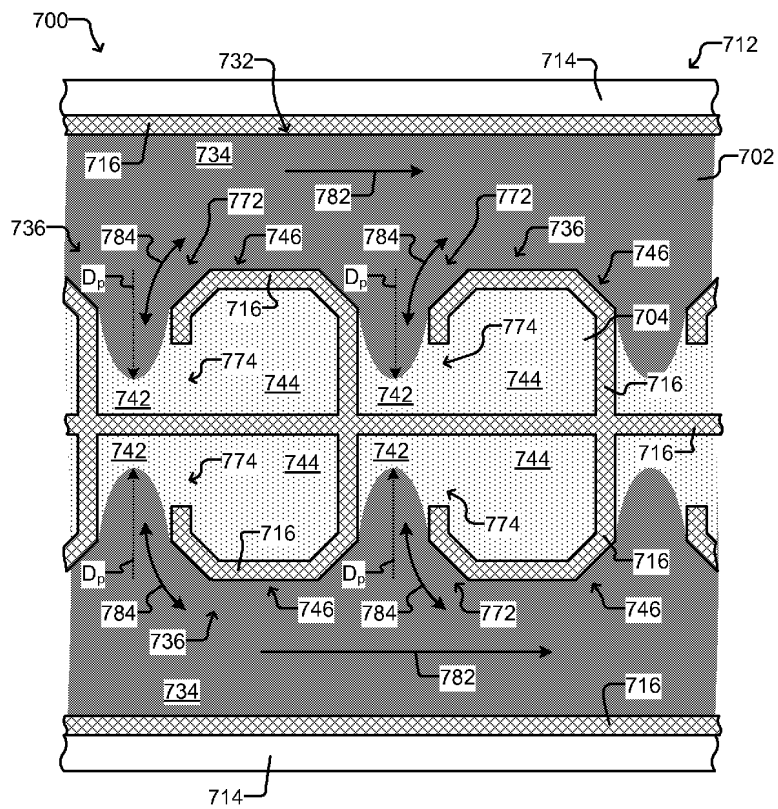
도면5



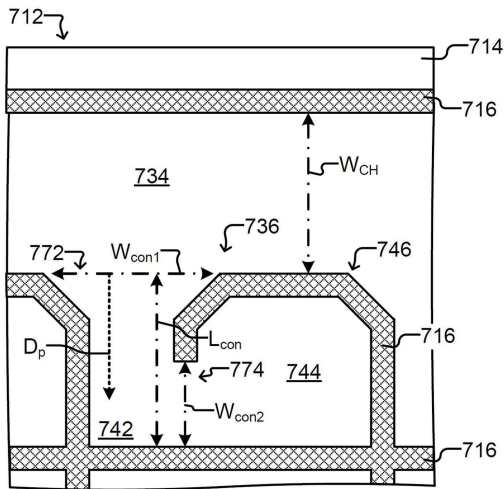
도면6



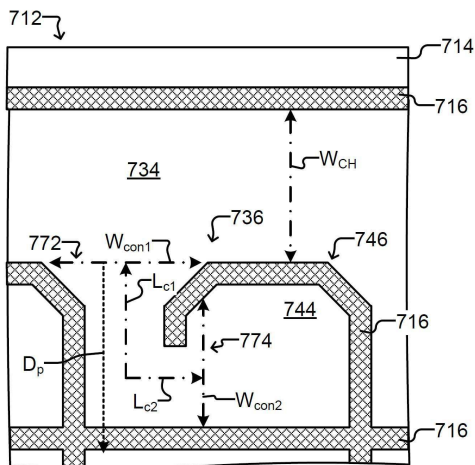
도면7a



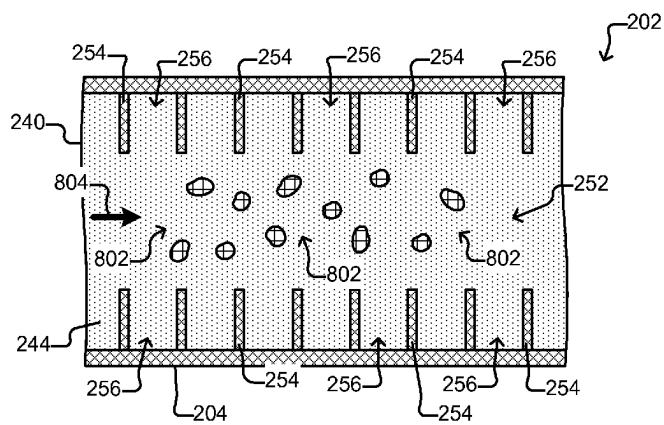
도면7b



도면7c

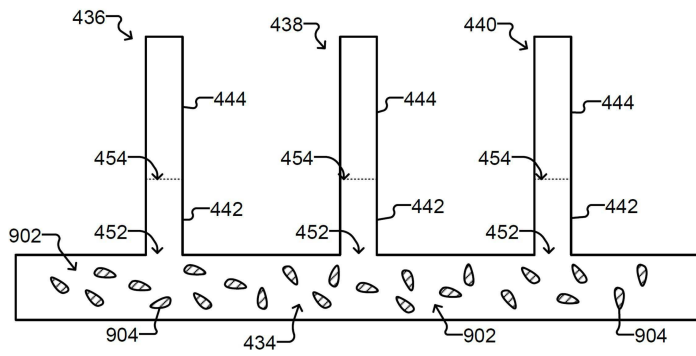


도면8

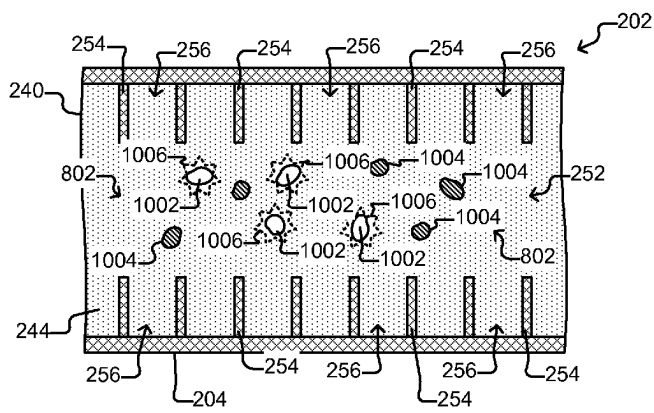




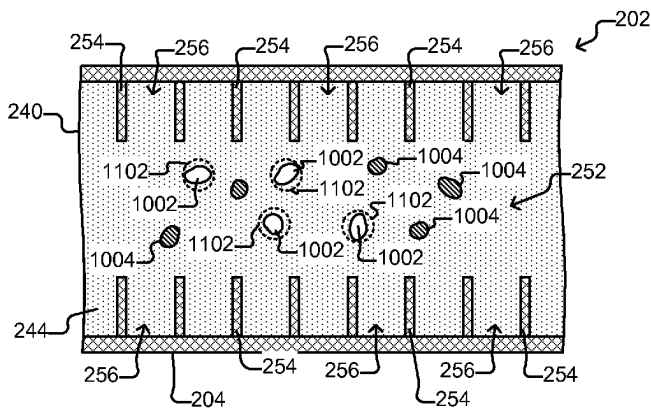
도면9



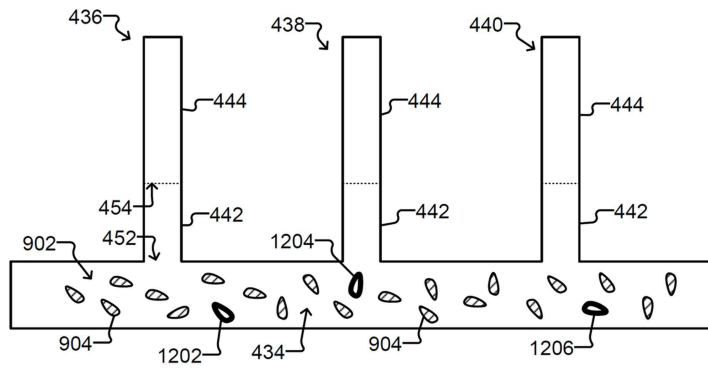
도면10



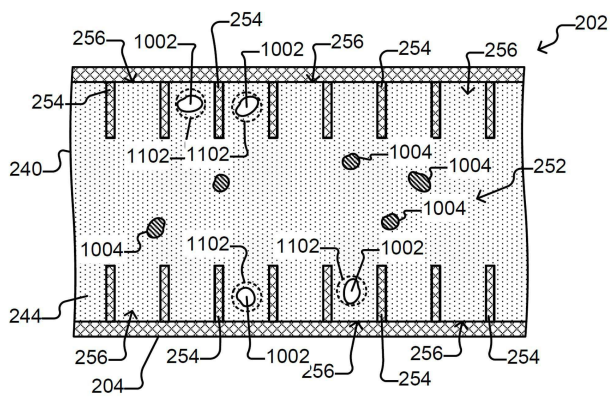
도면11



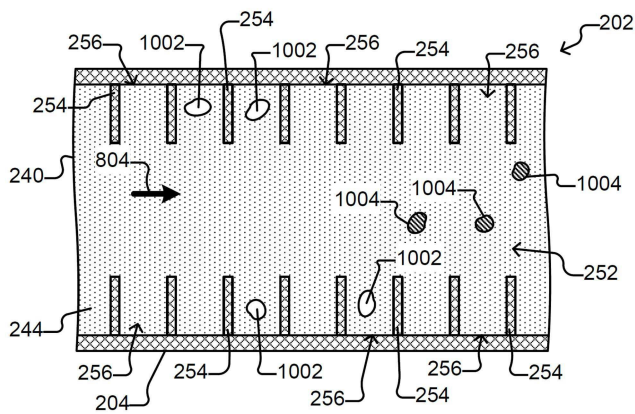
도면12



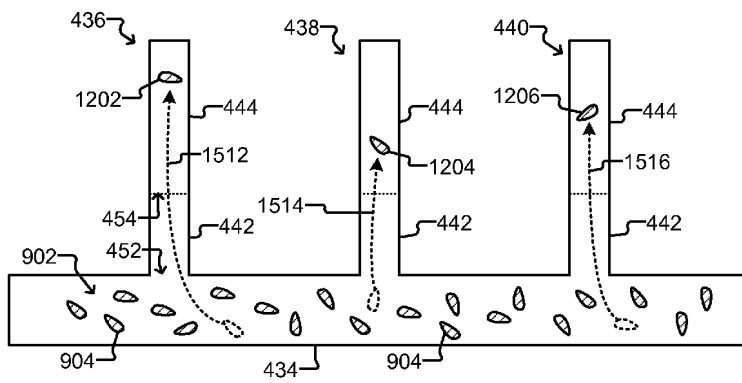
도면13



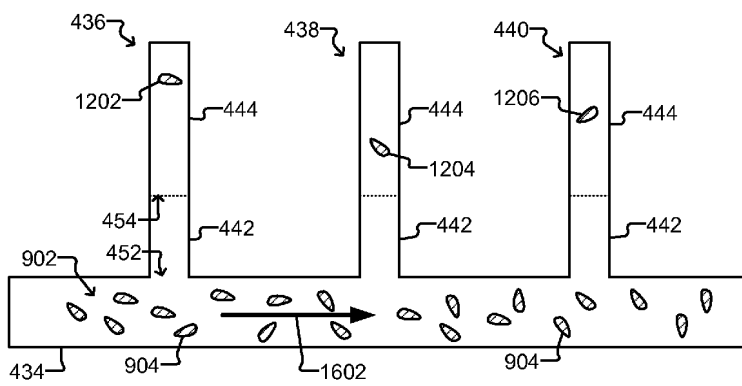
도면14



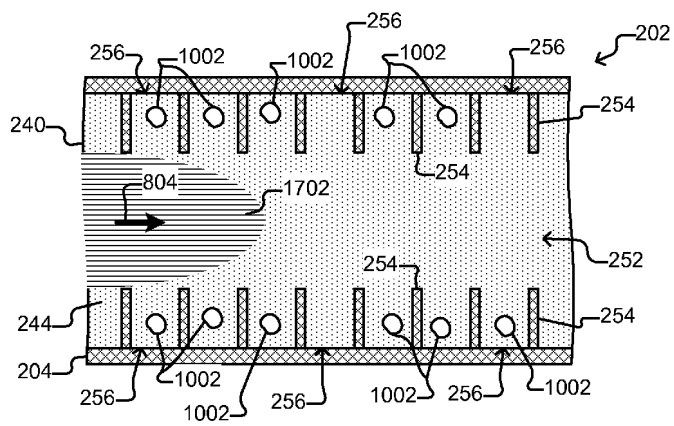
도면 15



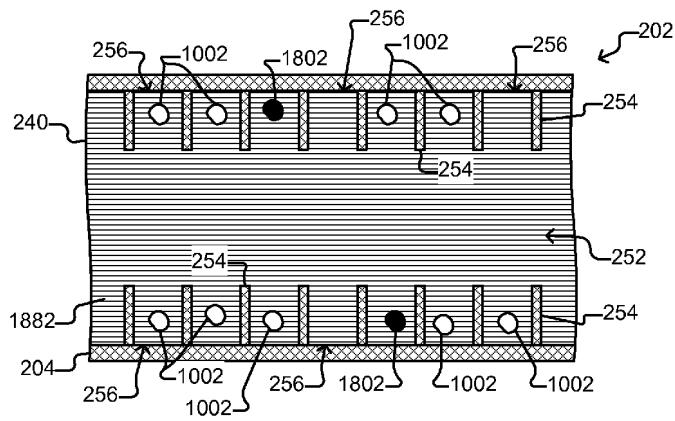
도면 16



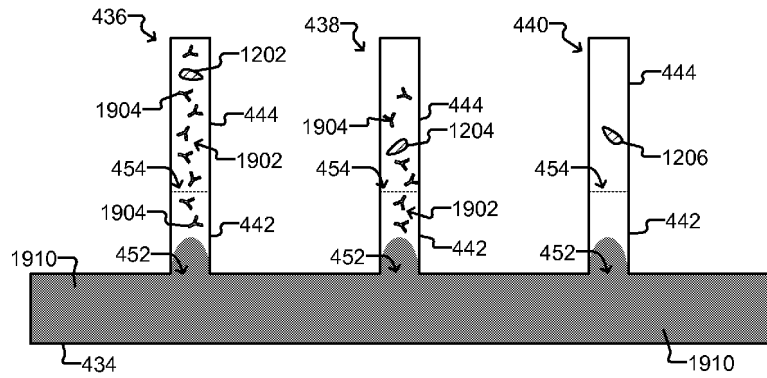
도면17



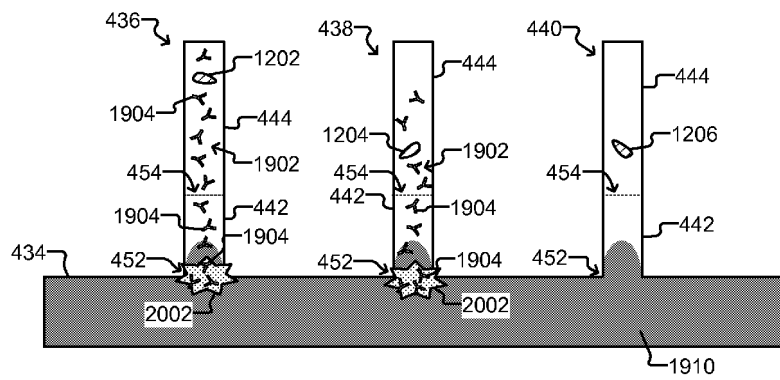
도면18



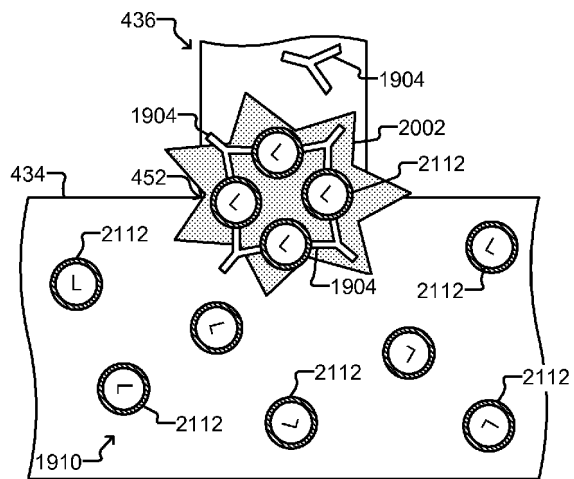
도면19



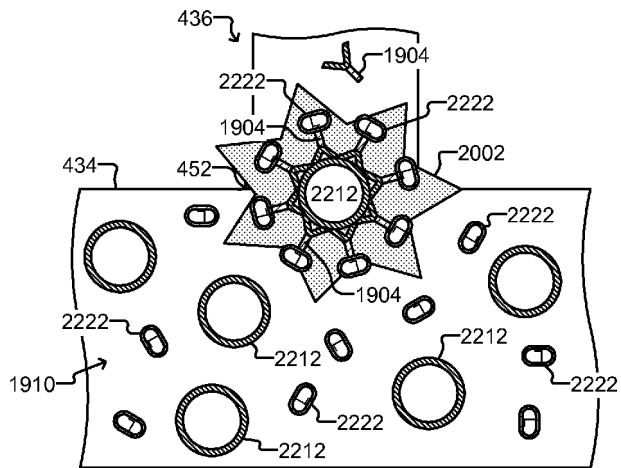
도면20



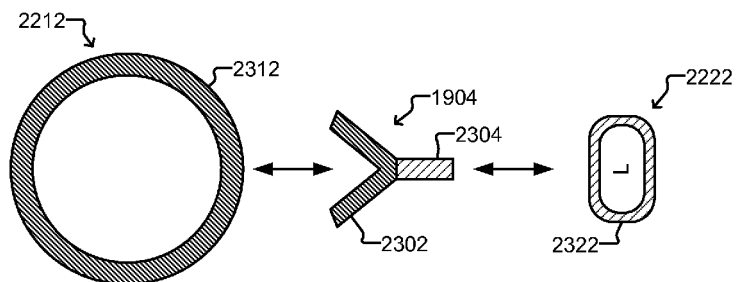
도면21



도면22

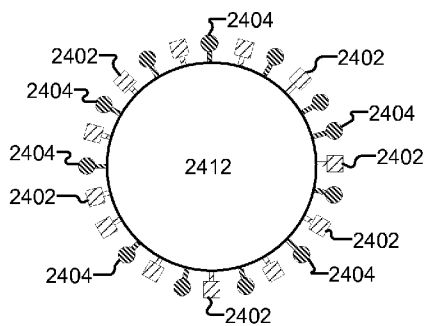


도면23

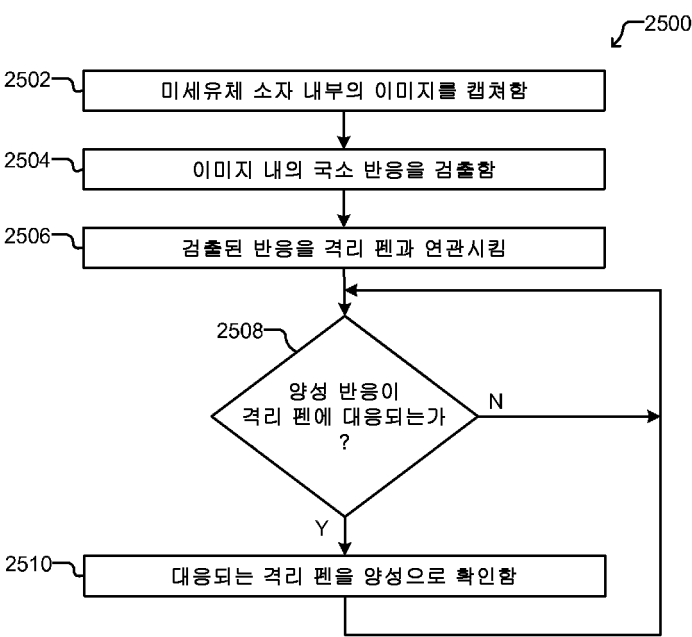




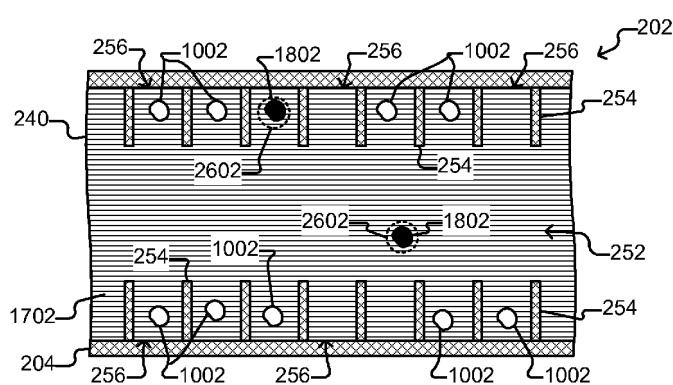
도면24



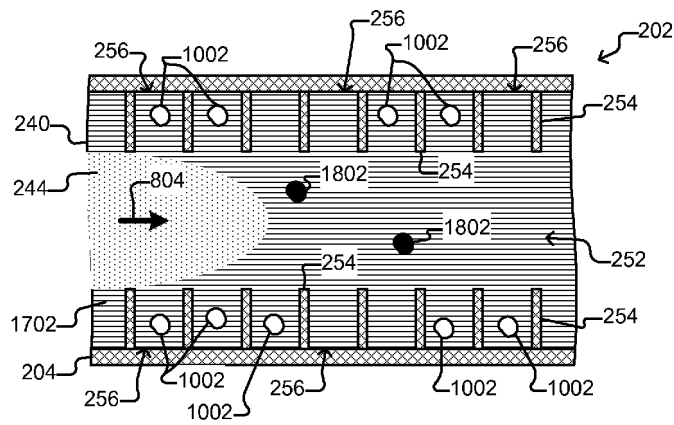
도면25



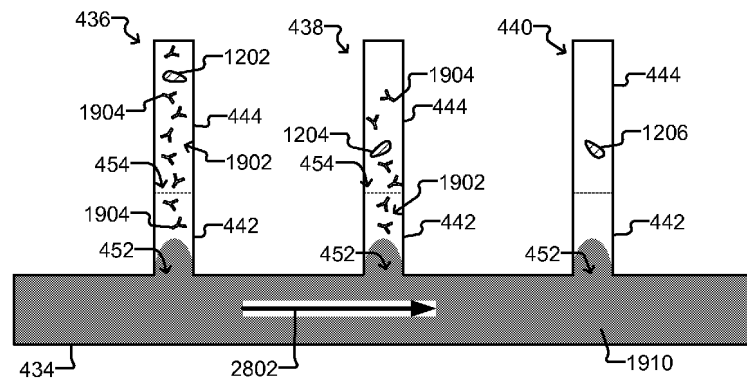
도면26



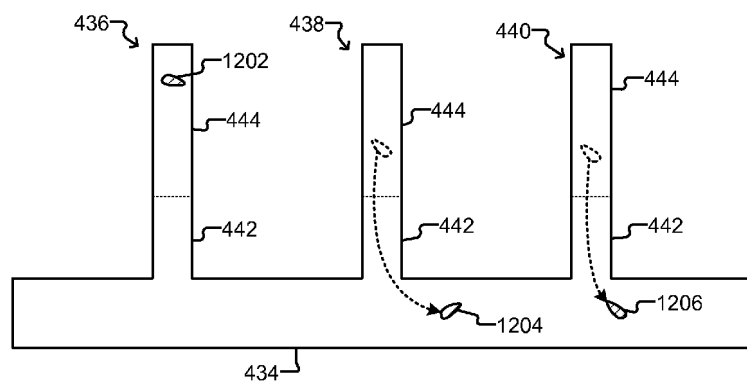
도면27



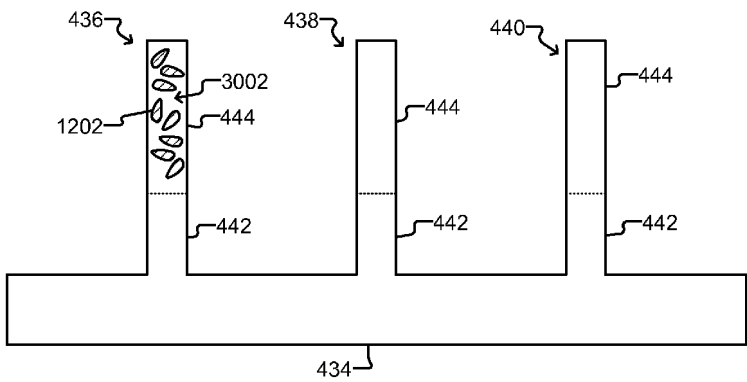
도면28



도면29

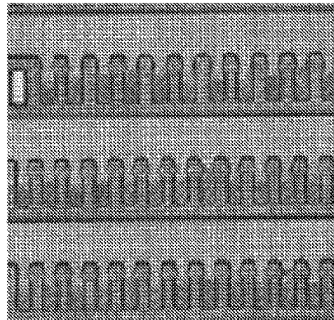


도면30



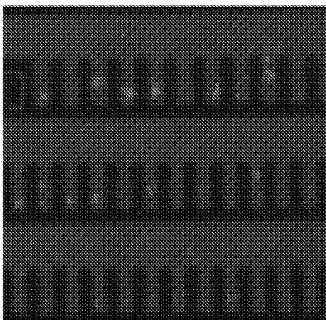
도면31a

명시아  
0분



도면31b

텍사스 레드  
5분



도면31c

텍사스 레드  
20분

