



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년10월01일

(11) 등록번호 10-2307064

(24) 등록일자 2021년09월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 15/14 (2006.01) B01L 3/00 (2006.01)(52) CPC특허분류
G01N 15/1484 (2013.01)
B01L 3/502715 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-7002670(분할)

(22) 출원일자(국제) 2012년03월07일

심사청구일자 2019년01월26일

(85) 번역문제출일자 2019년01월26일

(65) 공개번호 10-2019-0015763

(43) 공개일자 2019년02월14일

(62) 원출원 특허 10-2013-7026363

원출원일자(국제) 2012년03월07일

심사청구일자 2017년02월21일

(86) 국제출원번호 PCT/CA2012/000227

(87) 국제공개번호 WO 2012/119243

국제공개일자 2012년09월13일

(30) 우선권주장

61/449,840 2011년03월07일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

W02010148252 A1*

Lab Chip, Vol. 11, pp. 315-322 (2011.01.21.)*

US20100238442 A1*

US20050068536 A1

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

더 거버닝 카운실 오브 더 유니버시티 오브 토론토

캐나다 온타리오 토론토 킹스 칼리지 씨클 27

(72) 발명자

아이트키슨, 제임스 스튜왈트

캐나다, 온타리오 엠4더블유 2이1, 토론토, 에스티 안드류스 가든스 14

첸, 루

캐나다, 온타리오 엠4와이 1알5, 토론토, 칼레스 스트리트 웨스트, 30, 아파트 1115

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

한인열

전체 청구항 수 : 총 1 항

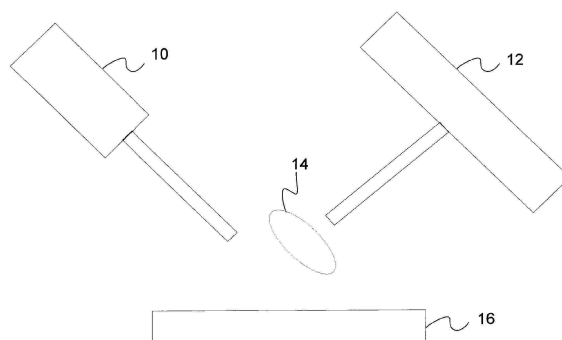
심사관 : 황상필

(54) 발명의 명칭 미세유체기술을 이용한 휴대용 세포 검출 및 분석 방법 및 시스템

(57) 요약

본 발명은 세포 검출 및 분석방법 및 시스템에 관한 것이다. 본 발명은 최소한 광원, 유체칩 및 검출모듈을 포함한다. 세포는 유체칩 특히 광원이 접근할 수 있는 검출창 구역을 통과하여 유동된다. 유동 세포는 식별 및/또는 분석된다. 검출모듈은 칩의 검출창 구역을 지나 흐르는 관심 세포를 계수한다. 검출모듈은 검출창을 지나 유동하는 세포 영상을 생성 또는 달리 포착하도록 작동된다. 본 발명장치는 휴대용으로 원격 지역에서 적용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

B01L 3/502746 (2013.01)
C12Q 1/02 (2013.01)
G01N 15/1463 (2013.01)
G01N 21/6456 (2013.01)
G01N 21/6486 (2013.01)
B01L 2200/0647 (2013.01)
B01L 2300/0877 (2013.01)
B01L 2400/086 (2013.01)
G01N 2021/6421 (2013.01)

(72) 발명자

도우, 제임스 지아후아

캐나다, 온타리오 엠5브이 3브이1, 토론토, 네이비
알프 코트 1202-3

나이이아르, 라케쉬 쿠마르

캐나다, 온타리오 엘4제이 9엘1, 토론틀, 나르 이
아르셀 드라이브 134

명세서

청구범위

청구항 1

휴대용 세포 검출 및 분석시스템에 있어서,

(a) 하나 이상의 세포가 모세관 힘에 의해 내부로 유동할 수 있는 미세유체 채널 (152)을 가지고, 직렬; 병렬; 또는 직렬 및 병렬의 조합으로 하나 이상의 칼라 패널 구역들 또는 필터들이 배치되는 검출창 (154), 및 유체 저항이 감소되고 유속이 증가되어 균일한 층류 (laminar flow)를 형성하는 질의 구역 (46)을 가지는 유체칩;

(b) 유체칩 또는 유체칩 일부를 향하여 배치되는 광원; 및

(c) 검출 모듈을 포함하되, 상기 검출 모듈은, 상기 세포가 검출창 (154)을 통과할 때, 상기 유체 채널을 따라 상기 유체칩 내부를 유동하는 하나 이상의 세포의 하나 이상의 영상을 포착할 수 있고, 상기 세포가 상기 미세 유체 채널로부터 유입되어 분석 챔버에 있을 때, 하나 이상의 영상을 포착할 수 있고,

상기 시스템에서 상기 유체칩, 광원 및 검출 모듈이 정지된 (stationary) 상태에서 다중-칼라 형광 검출 분석이 가능하고, 상기 다중-칼라 형광 검출 분석은 상기 유체칩에 대한 다중-파장 검출 분석이며,

상기 시스템은 진공펌프 및 색선별거울이 없는, 휴대용 세포 검출 및 분석시스템.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 일반적으로 입자 검출 및 분석, 더욱 상세하게는 유체칩을 이용한 입자 검출 및 분석에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 인체 체액 중 미세 입자들 예컨대 백혈구, 세균 및 바이러스 계수 결과는 건강 상태 측정에 중요하다. 임상적 중요성의 예시로는 HIV 양성 환자의 CD4 T-세포 및 화학요법 환자의 과립구/혈소판 계수를 포함한다. 현재, 유세포분석기는 신속한 혈구 분석에 자주 사용되는 도구이다. 유세포분석기는 유체 흐름 중에 입자를 부유시키고 고속으로 광학 검출 구역을 통과시키는 기술이다. 층류 유동 (sheath flow) 유체역학 집속 적용에 따라, 입자들은 파일 파일에서 배열되고, 각각의 입자는 개별적으로 광속에 의해 질의된다. 입자 검출 및 분석은 표적 입자 집단의 광학 특성, 예컨대 형광 및/또는 산란 신호에 기초한다.

[0003] 유세포분석기는 널리 사용되는 진전된 장비이지만, 통상적인 유세포분석기는 크기 및 시스템 비용으로 인하여 전세계적으로 일반적인 임상 적용에는 사용되지 못하고 있다. 선행 유세포분석장비는 복잡한 기반구조 및 고도로 훈련된 운전자가 필요하다. 이러한 한계로 인하여 유세포분석기는 너무 고가이고 자원 부족 지역 및 원격지에서 사용되기에 수월하지 않다.

[0004] 많은 선행기술의 입자 조작, 분류, 계수, 분석 및/또는 선택 시스템 및 유닛은 크고 무거운 분석시스템을 필요로 한다. 이러한 시스템은 수송하기 어렵고 수정 상황에서 활용되기 어렵다. 더욱이, 일부 선행시스템은 일 유형의 입자에 특정된 내부 메커니즘을 포함하므로, 다른 유형의 입자들 분석에 이용될 수 없다.

[0005] 관련 선행시스템의 예시로는 자기적 표지 세포를 챔버 또는 큐벳에 통과 이동시키는 수단인 미국특허출원공개번호 2006/0024756에 개시된 발명을 포함한다. 큐벳 챔버는 세포 이동에 영향을 주는 두 개의 웨지-형상의 자석들 사이에 놓인다. 본 발명은 원격지에서 사용이 편리한 소형의, 강건한 저렴한 것을 개시한다.

[0006] 다른 선행 예시로는 PCT 출원번호 PCT/KR2004/001736에 기재된 것이고 미세입자들 계수 장치이다. 본 발명은 미세입자들을 담고 있는 칩, 및 칩 위치를 이동시키는 이송장치를 포함한다. 특정 위치에 있는 칩 영역이 촬영되고, 이송장치는 칩을 소정 시간 간격에서 소정 거리 위치로 이송시켜, 바로 옆의 영역이 촬영된다. 이러한 방식에서 칩의 모든 부-영역들이 촬영될 때까지 칩이 이송되고 촬영된다. 사진들을 분석하여 각각의 부-영역들에서의 미세입자 개수가 계수된다. 각각의 부-영역에서 계수된 미세입자 개수는 합산되어 샘플 중 미세입자들의 총 개수가 계산된다.

[0007] 또 다른 선행기술 예시로는 PCT 출원번호 PCT/EP2006/068153에 개시되고 입자들 계수 장치 및 방법에 관한 것이다. 본 발명은 반응 챔버 내에 위치한 입자들의 변위를 포함한다. 다수의 변위자가 본 발명에 포함되고, 변위자는 여러 유형일 수 있다. 예를들면, 변위자는 서로에 대하여 제1 표면 및/또는 제2 표면, 또는 최소한 하나 이상의 부분들의 수직 이동을 허용한다. 입자들 변위는 하나 이상의 입자 중들에 대한 존재 및/또는 개수에 대한 유의한 수치의 검출/결정을 원활하게 하기 위한 것이다.

[0008] 또 다른 선행 기술의 예시는 PCT 출원번호 PCT/EP2009/053106에 개시되고 다중 분석 각각을 위한 샘플 분석방법에 관한 것이다. 상기 발명은 채널 내 다중 테스트 영역들을 가지는 미세유체장치를 포함한다. 테스트 영역은 액체 샘플, 예컨대 전혈과 접촉된다. 채널은 두 개의 벽을 가지고 최소한 하나의 벽은 유연하다. 미세유체장치는 압축되어 챔버 벽들의 내면 사이 거리를 좁힌다. 각각의 분석대상 존재는 각각의 해당 위치 내면 사이 거리가 좁혀진 다중 테스트 영역에서의 작용을 광학적으로 검출하여 결정된다. 각각의 테스트 영역에서의 작용은 샘플 중 표적 분석대상 존재를 표시한다.

[0009] 미국 특허출원공개번호 2009/0215072는 휴대용 분석 검출 장치 및 방법에 관한 선행기술을 개시한다. 본 장치는 카트리지 내 샘플저장소를 포함한다. 샘플저장소는 혼합 챔버를 포함하고, 여기에서 샘플 채취 장치에 의해 채취되는 샘플은 시약과 반응한다. 구동기는 카트리지와 결합되어 유체가 카트리지를 관통하도록 구동한다. 미세체-기판 검출 구역이 카트리지에 포함된다. 세포 집단은 미세 체 표면에 기계적으로 포획된다. 광학 플랫폼의 빛이 검출구역을 통과하고 광학 플랫폼의 검출기는 샘플 영상을 획득한다. 영상은 소프트웨어, 알고리즘, 및/또는 신경회로망을 이용하여 분석 처리된다. 상기 발명은 분석대상물을 검출하기 위한 입자 집단의 화학적 검출을 포함하여, 유체 중 특정 분석대상물의 존재는 분석대상물과의 결합에 의해 검출된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명은 선행기술에 의해 현재 제시되는 것보다 더욱 단순하고, 더욱 소형이고, 비용 효율적인 휴대용의 세포 검출 및 분석시스템을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0011] 일 양태에서 본 발명은 세포 검출 및 분석시스템에 관한 것이고 다음으로 구성된다: 하나 이상의 세포가 내부로 유동할 수 있는 미세유체 채널을 가지는 유체칩; 유체칩 또는 유체칩 일부를 향하여 배치되는 광원; 및 유체칩 내부를 유동하는 하나 이상의 세포의 하나 이상의 영상을 포착할 수 있는 검출 모듈.

[0012] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석시스템에 있어서, 유체칩은 검출창을 포함하고 검출 모듈은 검출창을 통해 유체칩 내부를 유동하는 하나 이상의 세포의 영상을 포착하는 것을 특징으로 한다.

[0013] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석시스템에 있어서, 광원은 유체칩 상부 또는 하부에 배치되는 광원인 것을 특징으로 한다.

[0014] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석시스템에 있어서, 검출모듈은 CMOS 검출기 또는 CCD 검출기를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0015] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석시스템에 있어서, 검출모듈은 검출모듈에 의해 포착된 하나 이상의 영상을 분석하고 분석 결과를 생성하는 영상분석프로그램을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0016] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석시스템에 있어서, 영상 분석 프로그램은 진단 결과를 생성하는 것을 특징으로 한다.

[0017] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석시스템에 있어서, 시스템은 휴대용인 것을 특징으로 한다.

[0018] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석시스템에 있어서, 유체칩, 광원 및 검출모듈은 단일 하우징 내부에 포함되는 것을 특징으로 한다.

[0019] 일 양태에서 본 발명은 세포 검출 및 분석 방법에 관한 것이고, 다음단계로 구성된다: 하나 이상의 세포를 가지는 세포 샘플을 유체칩으로 도입하는 단계; 세포 샘플을 유체칩 내부 미세유체 채널을 통과하도록 유동시키는 단계; 및 유체칩 내부를 유동하는 세포 샘플을 분석하기 위하여 광학 영상모듈을 작동하는 단계.

[0020] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석방법에 있어서, 다음 단계를 더욱 포함한다: 광학 영상모듈은 유

체칩 검출창 구역을 지나 유동하는 세포 샘플의 하나 이상의 영상을 포착하도록 검출기를 작동하는 단계; 광학 영상모듈은 하나 이상의 영상을 분석하기 위하여 영상 분석 프로그램을 작동하는 단계; 및 영상 분석 프로그램은 세포 샘플 관련 세포 분석 결과를 생성하는 단계.

- [0021] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석방법에 있어서, 영상 분석 프로그램은 세포 샘플 관련 진단 결과를 생성하는 단계를 더욱 포함한다.
- [0022] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석방법에 있어서, 광학 영상모듈은 세포 샘플을 분석하기 위하여 하나 이상의 계산 및 하나 이상의 알고리즘을 적용하는 단계를 더욱 포함한다.
- [0023] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석방법에 있어서, 다음 단계를 더욱 포함한다: 유체칩 및 광학 영상모듈을 포함하는 휴대용 장치 제조단계 (creating); 및 사용자가 세포 검출 및 분석을 수행하기 위하여 휴대용 장치를 여러 지역들 (locations)로 휴대하는 단계.
- [0024] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석방법에 있어서, 세포 검출 및 분석을 위하여 휴대용 장치를 하나 이상의 다음 지역들로 휴대하는 단계를 더욱 포함한다: 하나 이상의 원격 지역; 하나 이상의 개발 지역; 하나 이상의 발전 지역.
- [0025] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석방법에 있어서, 광학 영상시스템의 세포 샘플 분석을 저장 수단에 저장하는 단계를 더욱 포함한다.
- [0026] 일 양태에서 본 발명은 세포 검출 및 분석장치에 관한 것이고 다음으로 구성된다: 하나 이상의 하우징; 세포 샘플의 하나 이상의 세포가 통과하여 유동하는 미세유체채널을 포함하는 유체칩; 하나 이상의 하우징 중 하나에 포함되고, 영상시스템이 유체칩 또는 유체칩 일부를 향하여 배치될 때 유체칩 내부를 유동하는 하나 이상의 세포의 하나 이상의 영상을 포착하는 광학 영상시스템; 및 세포 샘플 분석 결과를 생성하기 위하여 하나 이상의 영상을 활용하는 세포 샘플 분석수단.
- [0027] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석장치에 있어서, 유체칩은 다음을 더욱 포함한다: 세포 샘플이 미세유체 채널로 도입되는 입구; 세포 샘플이 유체칩으로부터 제거되는 출구; 및 유체칩 내부에 배치되는 포트.
- [0028] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석장치에 있어서, 출구에 인접하게 배치되며, 세포 샘플이 미세유체칩을 통과하여 유동한 후 세포 샘플을 회수하는 폐기저장소를 더욱 포함한다.
- [0029] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석장치에 있어서, 유체칩, 광학 영상시스템 및 세포 샘플 분석수단은 하나의 휴대용, 핸드헬드 하우징에 포함되는 것을 특징으로 한다.
- [0030] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석장치에 있어서, 핸드헬드 장치에 의해 사용자에게 세포 샘플 분석이 제시되는 장치에 연결되는 핸드헬드 장치를 더욱 포함한다.
- [0031] 본 발명의 일 실시태양에서 세포 검출 및 분석장치에 있어서 다중-형광 검출을 적용하는 광학 영상시스템 및 세포 샘플 분석수단을 더욱 포함한다.
- [0032] 일 양태에서, 본 발명은 광원; 유체칩; 및 검출 모듈을 포함하는 세포 검출 및 분석시스템에 관한 것이다.
- [0033] 다른 양태에서, 본 발명은 다음으로 구성되는 세포 검출 및 분석방법에 관한 것이다: 세포 샘플을 유체칩으로 도입; 세포 샘플을 검출창 구역을 지나 유체칩 내부로 유동; 창 구역을 지나 유동하는 세포 샘플을 분석하기 위하여 검출모듈을 작동.
- [0034] 이러한 측면에서, 본 발명의 최소한 하나의 실시태양을 상세히 설명하기 전에, 본 발명은 하기 상세한 설명 및 도면에 제시된 구성 및 부품들로 국한되는 것이 아니라는 것을 이해하여야 한다. 본 발명은 다양한 방법으로 구현되고 진행될 수 있는 다음 실시태양들을 포함할 수 있다. 또한 본원에 적용되는 용어들은 상세한 설명을 위하여 사용되는 것이고 제한적인 것으로 간주되어서는 아니된다는 것을 이해하여야 한다.

발명의 효과

- [0035] 본 발명은 선행기술에 의해 현재 제시되는 것보다 더욱 단순하고, 더욱 소형이고, 비용 효율적인 휴대용의 세포 검출 및 분석시스템을 제공한다. 또한 본 발명은 공지 선행기술보다 양호하거나 동등한 임상 성능을 달성할 수 있다. 본 발명 실시태양이 소형일 뿐 아니라, 일부 실시태양들에서 부품들은 규격품들이라는 사실로 인하여, 낮은 전력으로 충분하고 제조 및 활용에 비용이 절감되므로, 본 발명은 원격 지역뿐 아니라 발전 지역에서 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 선행 시스템이 너무 대형이고, 고가이고 고장이 발생하는 경우 부품 구하기가 어렵

고 전력 단속 또는 부족 지역, 예컨대 원격 지역 또는 개발 지역에서 활용되지 못하였던 현장 세포 검출 및 분석을 제공할 수 있다. 따라서, 본 발명은 발전 지역뿐 아니라 지구촌 원격 및 개발 지역에서도 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

본 발명 및 기타 목적들은 상세한 설명으로 더욱 명확하게 이해될 것이다. 이러한 상세한 설명은 도면들을 참조한다:

도 1은 본 발명 실시태양의 광학 영상시스템 구성을 보인다.

도 2 본 발명 실시태양의 광학 영상시스템 구성을 보인다.

도 3a는 0 초 ($T=0$)에서 본 발명 입자 검출시스템에 의해 생성된 영상을 보인다.

도 3b는 1 초 ($T=1$)에서 본 발명 입자 검출시스템에 의해 생성된 영상을 보인다.

도 3c는 2 초 ($T=2$)에서 본 발명 입자 검출시스템에 의해 생성된 영상을 보인다.

도 3d는 3 초 ($T=3$)에서 본 발명 입자 검출시스템에 의해 생성된 영상을 보인다.

도 3e는 4 초 ($T=4$)에서 본 발명 입자 검출시스템에 의해 생성된 영상을 보인다.

도 3f는 5 초 ($T=5$)에서 본 발명 입자 검출시스템에 의해 생성된 영상을 보인다.

도 4a는 0 초 ($T=0$)에서 분석 챔버가 충전되기 전 본 발명 분석 챔버 내부 입자 분포를 보인다.

도 4b는 5 초 ($T=5$)에서 분석 챔버가 충전된 후 본 발명 분석 챔버 내부 입자 분포를 보인다.

도 5는 본 발명 CCD 검출기에 의해 생성된 4 영상들 세트이다.

도 6a는 미세유체칩을 도시한 것이다.

도 6b는 세포/입자 검출 및 분석 미세칩 장치 구성, 및 세포/입자 검출 및 분석 미세칩 구성 확대도, 특히 포스트를 보이는 도면이다.

도 7a는 본 발명에 사용되는 2종의 반달-형상 필터의 투과 스펙트럼을 보인다.

도 7b는 본 발명에 사용되는 2종의 반달-형상 필터의 투과 스펙트럼을 보인다

도 8 a는 유속으로서 세포 샘플 유속을 도시한 것이다.

도 8b는 각각의 랩 타임으로서 세포 샘플 채널 충전시간을 도시한 것이다.

도 9a는 50 ms 노출, S/B: 3/2에서 광학 영상시스템 검출기에 의해 포착된 영상이다.

도 9b는 25 ms 노출, S/B: 1300/900에서 광학 영상시스템 검출기에 의해 포착된 영상이다.

도 9c는 15 ms 노출, S/B: 750/550에서 광학 영상시스템 검출기에 의해 포착된 영상이다.

도 9d는 10 ms 노출, S/B: 695/500에서 광학 영상시스템 검출기에 의해 포착된 영상이다.

도 10은 선행 유세포분석기 및 본 발명에서 수행된 테스트 결과 비교 표이다.

도 11은 선행 유세포분석기 시스템 및 본 발명의 테스트 결과의 선형성을 보인 것이다.

도 12는 광학 영상시스템에서 서로 나란히 놓인 2종의 반달 형상 광학 필터를 가지는 본 발명 실시태양에 의해 포착된 2종의 칼라 형광 영상이다.

도 13은 광원이 일회용 카트리지 상부 모서리를 향하는 본 발명 실시태양의 광학 영상시스템 구성도이다.

도 14는 광원이 일회용 카트리지 바닥 모서리를 향하는 본 발명 실시태양의 광학 영상시스템 구성도이다.

도면에서, 본 발명의 실시태양들은 예시적인 것이다. 상세한 설명 및 도면들은 설명 및 이해를 돕기 위한 목적으로만 기재된 것이고 본 발명을 제한할 의도는 아니라는 것을 이해하여야 한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

본 발명은 세포 검출 및 분석방법, 장치, 컴퓨터 프로그램 제품, 및 시스템에 관한 것이다. 본 발명은 최소한

[0036]

[0037]

광원, 유체칩 및 검출모듈을, 핵심 (core) 요소들로 포함한다. 세포 또는 기타 입자는 유체칩을 통과하여 유동된다. 유체칩은 광원이 접근할 수 있는 검출창 구역을 포함한다. 관심 세포가 검출창 구역을 지나 칩을 통과하여 유동할 때 이들 세포는, 예를들면, 관심 세포에 형광을 유발시키는 광원 조사 (illumination)에 의해 식별된다. 검출모듈을 활용하여 관심 세포, 예를들면, 형광세포를 분석한다. 검출모듈은 칩의 검출창 구역을 지나 흐르는 관심 세포를 계수 또는 달리 분석하도록 작동된다. 검출모듈은 검출창을 지나 유동하는 세포 영상을 생성 또는 달리 포착하도록 작동된다. 포착 영상은 단독 또는 병합되어 세포 분석에 활용된다.

[0038] 본 발명의 일 실시태양에서 본 발명의 검출창 구역은 검출모듈에 포함된 광학 센서 능동 영역이다.

[0039] 본 발명은 선행기술에 의해 현재 제시되는 것보다 더욱 단순하고, 더욱 소형이고, 비용 효율적인 휴대용의 세포 검출 및 분석시스템을 제공한다. 또한 본 발명은 공지 선행기술보다 양호하거나 동등한 임상 성능을 달성할 수 있다. 본 발명 실시태양이 소형일 뿐 아니라, 일부 실시태양들에서 부품들은 규격품들이라는 사실로 인하여, 낮은 전력으로 충분하고 제조 및 활용에 비용이 절감되므로, 본 발명은 원격 지역뿐 아니라 발전 지역에서 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 선행 시스템이 너무 대형이고, 고가이고 고장이 발생하는 경우 부품 구하기가 어렵고 전력 단속 또는 부족 지역, 예컨대 원격 지역 또는 개발 지역에서 활용되지 못하였던 현장 세포 검출 및 분석을 제공할 수 있다. 따라서, 본 발명은 발전 지역뿐 아니라 지구촌 원격 및 개발 지역에서도 활용될 수 있다.

[0040] 본 명세서에서 용어 "세포" 또는 "세포들"은 모든 유형의 입자 및 입자물질을 포함한다. 용어 "세포 샘플" 또는 유사한 용어는 본 발명에서 사용되고 본 발명에 의해 분석 및/또는 계수되는 세포 샘플을 언급하는 것이다. 용어 "영상"은 광학 영상을 언급하거나, 다른 유형의 영상을 포함할 수 있다.

[0041] 본 발명의 하나 이상의 핵심 요소는 하우징에 내장될 수 있고, 하우징은 임의의 적합한 하우징 재료, 예컨대 플라스틱 재료로 제조될 수 있다. 하우징 크기 및 형태는, 하기되는 바와 같이 본 발명 구성에 따라 달라진다. 본 발명은 휴대용일 수 있고 일부 실시태양들에서 손으로 취급이 가능한 크기일 수 있다.

[0042] 본 발명 실시태양들에서 시스템 또는 장치의 일부 핵심 요소는 하우징 외부에 있을 수 있지만 하우징 내부 요소와 연결되고 (예를들면, 유선, 무선, 등), 기타 실시태양들에서 기타 추가 요소가 하나 이상의 핵심 요소와 함께 하우징에 포함될 수 있다. 추가 요소는 본 발명 기능을 개선시키고, 또는 본 발명 사용자를 조력하는 요소, 예컨대 본 발명 사용자가 특정 상황에서, 예컨대 원격 지역에서 본 발명을 적용할 때 적용되는 비상신호 또는 기타 요소일 수 있다.

[0043] 도 18 및 19는 본 발명 실시태양의 예시를 도시한 것이고 일부 부품들은 하우징에 내장되고, 기타 부품들은 하우징에 외장된다. 도 19에 도시된 바와 같이, 본 발명은 핸드헬드 장치로 작동되고 하우징에 내장되는 포탈장치 (88)를 포함한다. 본 장치는 디스플레이 (90) 및 키패드 (92)를 포함한다. 본 발명의 영상 분석방법 및 프로그램을 작동시키는 요소, 및 저장수단은, 하우징에 내장되거나 또는 이들 부품은 하우징에 외장 가능하다. 추가적으로, 광학 영상시스템 (94)이 장치에 포함되고 본 장치의 베이스로부터 연장될 수 있다. 광학 영상시스템 (94)은 하우징에 외부에 있는 카트리지 (98) 상부에 배치되고, 카트리지는 일회용 카트리지일 수 있고 미세유체칩일 수 있다. 광원 (96)은 하우징에 외장 가능하고 칩 상부측에 빛을 제공하도록 배치된다. 본 실시태양에서 본 발명의 일부 부품들은 단일 하우징 내부에 수용되고, 본 발명의 기타 부품들은 하우징 외부에 놓일 수 있다.

[0044] 도 15에 도시된 본 발명의 기타 실시태양에서, 본 발명 부품들은 단일 하우징 (100)에 내장된다. 분석기 (102)는 영상 분석시스템 및 프로그램을 작동시키는데 필요한 요소 및 저장수단을 포함한다. 광학 영상시스템 (106), 일회용 카트리지일 수 있는 카트리지 (108), 및 카트리지가 놓이는 카트리지 하우징 (110)은 하우징에 포함될 수 있다.

[0045] 도 16에 도시된 본 발명 기타 실시태양에서, 본 발명은 두 영역들을 가지는 분석장치 (112)로 구성되고, 즉 핸드헬드 장치일 수 있는 장치 (114)는, 규격품 장치 (일반 공급 부품들에서 입수될 수 있고 본 발명을 위해 특히 주문으로 제공되는 것이 아닌 부품), 예를들면, 예컨대 휴대용 정보단말기, 스마트 폰, 웹북, 휴대용 컴퓨터, 휴대용 컴퓨터, 핸드헬드 컴퓨터, 태블릿, 또는 임의의 기타 휴대용 장치일 수 있다. 광학 분석모듈 (116)은 본 장치에 연결된다. 연결은 무선 또는 유선 연결일 수 있다. 광학 분석모듈 (116)은 장치 (114)와 연동되어 광학 분석모듈 및 장치의 조합으로 본 발명이 제공된다. 이러한 본 발명의 실시태양에서 광학 분석모듈은 임의의 다음과 같은 작동을 수행한다: 영상 포착, 영상 또는 기타 데이터 저장, 및 핸드헬드 장치 플랫폼에 따른 영상 분석. 광학 분석모듈이 핸드헬드 장치 플랫폼에 따라 수행되도록 작동하는 인터페이스, 예컨대 변환 인터페이스는, 핸드헬드 장치 또는 광학 분석모듈에 의해 전송되거나 달리 획득될 수 있다.

[0046] 본 발명은 본 발명의 실시태양들 잠재적 소형화를 포함하여 공지 선행 방법 및 시스템에 비하여 여러 이점들을

제공한다. 일부 선행시스템은 크고 다루기 힘든 유닛, 또는 현장 상황, 예컨대 원격 또는 개발 지역 현장에서, 유닛 사용 방법으로 인해 활용되기 어려운 유닛 (예를들면, 유닛에 파손 요소가 사용되고, 유닛은 휴대용이 아니고, 유닛은 특정 지역을 제외하고는 활용될 수 없고, 또한 임의의 부품이 손상 또는 파손된 경우 임의의 유닛 부품들 교체가 쉽지 않다, 등)을 포함한다. 본 발명의 하나의 실시태양은 휴대용 장치, 예컨대 핸드헬드 장치 또는 기타 휴대용 장치로 구성되고 설계되어, 사용 분야 지점에서 활용될 수 있다. 예를들면, 휴대용 장치는 원격 지역이라도 현장 질병 감시, 수질 감시, 또는 기타 세포 또는 입자 감시에 활용될 수 있다.

[0047] 또한 본 발명은 본 발명의 요소들의 재배치 (reposition)가 필요하지 않다는 점에서 선행기술에 비하여 이점을 제공한다. 선행기술들은 칩 또는 기타 샘플 용기 재배치를 포함하고, 샘플 관찰 수단, 예컨대 윈도우 또는 챔버의 위치이동이 필요하다. 또한 선행기술은 소정량의 샘플을 측정하기 위하여 기타 이동 부품들, 예컨대 레이저 스캐닝 미러 또는 CCD 센서 배치용 이동 스테이지 등을 포함한다. 이러한 선행기술은 샘플 영역들을 놓칠 수 있으므로 분석 결과가 부정확하고 따라서, 예컨대 놓친 샘플 영역으로 인하여 샘플의 세포 계수는 잘못 계산될 수 있다. 본 발명은 유체 샘플이 칩을 통과하는 동안 더욱 상세하게는 칩 검출창 구역을 지나는 동안 분석된다. 따라서, 유닛 요소는 이동되거나 재배치 되지 않고, 대신 샘플 자체가 검출창 구역을 지나 유동하면서 이동된다.

[0048] 더욱이, 소정의 질병 진단 및 감시에 있어서, 정확한 분석 결과를 얻기 위하여 최소량의 샘플을 검사하여야 한다. 선행 광학 영상시스템의 물리적 한계로 인하여, 이러한 요건을 충족하기 위하여 대형 샘플 영역이 영상화되어야 한다. 피-영상화 샘플 영역은 광학 검출기 크기를 초과할 수 있고 일반적으로 선행기술은 전체 샘플 필드를 포괄하도록 광원 또는 검출기를 이동시킨다. 이로 인하여 선행기술 결과는 부정확해질 수 있다. 본 발명은 검출모듈을 흐르는 유체 세포 샘플을 포함하여 본 발명이 작동되는 동안 검출모듈은 동일 위치를 유지하므로 본 발명은 선행기술에 비하여 장점을 제공한다.

[0049] 선행기술에 비하여 본 발명이 제공하는 이점은 하기와 같이 본 발명에서 필터가 적용된다면, 필터는 재배치될 필요가 없다는 것이다. 일반적으로 필터를 포함하는 선행기술은 세포의 필터 분석에 있어서, 다른 분석이 진행되는 영역과는 동떨어진 특정 영역에서 진행되거나, 또는 필터가 위치 이동 또는 재배치될 필요가 있다. 필터를 포함하는 본 발명의 실시태양은 필터를 일 영역에 배치하고 세포가 필터를 통과하여 유동할 때 필터를 활용한다. 따라서 필터를 이동시킬 필요가 없다. 더욱이, 여러 유형의 필터들 (예컨대 일련의 갈라 필터)은 본 발명에서 동일한 시스템 일반 영역, 예컨대 검출창 구역에 포함될 수 있다.

[0050] 선행기술에 비하여, 본 발명이 제공하는 다른 이점의 예시로는, 본 발명의 포착기술이 연속적이라는 것이다. 선행기술은 시간지연에 기초하거나, 설정 시간 간격에서 영상을 포착한다. 이러한 샘플 영상 포착방법은 불완전한 영상 세트를 제공할 수 있다. 간격 사이에 포착되지 않은 샘플 양태가 존재할 수 있다. 본 발명에서, 영상은 하기와 같이 연속적으로 취한다. 영상은 칩 검출창 구역을 지나는 세포 유동을 포착한다. 결과적으로, 본 발명은 모든 세포가 포착되는 영상 세트를 생성한다.

[0051] 선행기술 대비 본 발명의 또 다른 이점은, 본 발명은 시스템에 의해 분석되는 세포 유형이 다양할 수 있다. 일부 선행기술은 특정 유형의 세포 또는 입자들을 분석하도록 설계된다. 따라서, 선행기술 크기 및 구성은 특정 유형의 세포를 수용하도록 개발되었다. 본 발명은 여러 유형의 세포 분석에 활용된다. 세포가 유체칩 검출창 구역을 지나 흐르므로, 본 발명의 실시태양들에서 유체칩 검출창 구역은 작을 수 있다. 본 발명은 작은 검출창 구역으로 작동된다는 사실로 인하여 본 발명은 작은 유닛, 예컨대 휴대용 유닛, 또는 더욱 작은 크기로 설계되고 구성된다.

[0052] 선행기술 대비 본 발명의 또 다른 이점은 본 발명에서 요구되는 (세포) 샘플 크기는 선행기술에서 요구되는 샘플 크기보다 더욱 작을 수 있다. 일부 선행기술은 대량의 입자 도말이 요구된다. 그러나, 세포가 본 발명 검출창 구역을 통과하여 유동될 때 샘플 세포가 분석되므로, 본 발명을 활용하여 유용한 분석 결과를 얻기 위하여 언제나 대량의 입자 도말이 필요하지 않다. 모든 세포가 본 발명의 검출창 구역을 지나 유동될 때 포착될 수 있고, 이는 본 발명에 있어서 샘플 크기가 더욱 작을 수 있고 이로 인한 결과는 여전히 정확하게 유용할 수 있다는 것을 의미한다.

[0053] 선행기술 대비 본 발명의 또 다른 이점은 본 발명에서 세포 응집 (clumping) 가능성이 줄어든다는 것이다. 세포 응집으로 인하여 선행기술은 방해 받을 수 있다. 응집 세포는 선행기술 정확도를 감소시킨다. 특히, 세포가 샘플에서 응집되면 세포 계수에 오류가 생길 수 있다. 본 발명에서는 세포가 이동 중 (예를들면, 세포가 본 발명의 검출창 구역을 통과하여 유동하는 동안) 세포가 분석되므로 세포 응집을 피할 수 있다. 따라서, 본 발명에서 세포 유동으로 인하여 본 발명 세포 분석 결과는 선행기술에 의해 생성되는 결과보다 더욱 정확할 수 있다.

- [0054] 본 발명 및 기타 선행 세포/입자 검출시스템을 비교하면 선행 시스템과 대비하여 본 발명은 선행 시스템에서 필요한 임의의 추가 이동 부품들, 예컨대 레이저 스캐닝 미러 또는, CCD 센서 배치 이동 스테이지를 생략할 수 있다. 본 발명은 이러한 이동 부품들 없이 소정량의 샘플을 측정할 수 있다. 소정의 질병 진단 및 감시 수행하여 정확한 분석 결과를 얻기 위하여 최소량의 샘플이 검사되어야 한다. 선행기술의 광학 영상시스템에서 물리적 한계로 인하여, 이러한 요건을 충족시키기 위하여 대량의 샘플 영역이 영상화되어야 한다. 피-영상화 영역이 광학 검출기 크기를 초과할 때, 전체 샘플 필드를 포괄하기 위하여 광원 또는 검출기 이동은 불가피하다. 본 발명의 시스템 및 방법은 하기되는 바와 같이 선행기술에서 포함된 이동 부품들을 필요하지 않다. 이동 부품들을 생략할 수 있으므로 본 발명은 선행 시스템보다 더욱 작은 크기로 형성될 수 있다. 본 발명은 휴대용 세포분석기를 제공하여, 의도적으로 설계된 미세유체칩과 조합되는 본 발명의 영상방법으로 선행 시스템 대비 소형화 광학 입자 검출시스템을 제공한다. 본 발명은 대면적 (wide field) 동적 영상 플랫폼일 수 있다. 본 발명은 지구촌 건강 분야의 현장 진단을 위하여 소형화되고 핸드헬드 분석기에 일체화될 수 있다.
- [0055] 본 발명은 선행기술에 비하여 이점을 제공하며 종래 선행 유세포분석기의 단점은 본 발명에서 미세가공기술 및 랩온어칩 (lab-on-a-chip) 기술을 적용하여 해결된다. 본 발명은 미세유체 랩온어칩 장치인 소형화 이동식 세포 분석시스템이다. 본 발명의 이러한 양태는 선행기술 대비 다양한 장점들을 제공하며, 샘플이 소량으로 가능하고, 신속하고 빠른 분석이 가능하고, 용적 효율적인 광학 및 전기 부품들을 통합시킬 수 있고, 휴대용 및 저가의 장비 제공이 가능하다.
- [0056] 본 발명은 완전한 기능화 휴대용 미세유체 기반의 세포분석기를 제공한다. 본 발명 시스템의 감도는 최소한 10^4 MESF이고 광범위한 형광체와 작용하여 관련 임상 분석이 구현된다. 또한 본 발명 시스템 및 장치에 의한 정확한 분석 및 결과를 보장하기 위하여 본 발명 장치 처리량을 극대화시켜 분석 대기시간을 줄이고 정확한 유체 제어 를 달성한다. 또한 본 발명 기계 시스템은 다중-칼라 형광 검출 분석을 설정할 수 있도록 작동된다.
- [0057] 일 실시태양에서 본 발명은 휴대용 세포분석기, 예컨대 핸드헬드 세포분석기를 형성하는 세포 검출 및 분석용 광학 플랫폼이다. 대면적 동적 영상 기술을 이용하여, 본 발명은 종래 선행기술 다중-칼라 형광 검출 시스템에서 사용되는 모든 이동 부품들을 생략할 수 있다. 배열화 필터는 본 발명의 광학 검출기 전단에 배치되어 임의의 기계적 부품들 없이도 다중-칼라 형광 검출이 가능하다.
- [0058] 일 실시태양에서, 본 발명 시스템은 저전력의, 규격품 부품들로 구성된다 (즉 부품들은 일반 공급 부품들에서 입수될 수 있고 본 발명을 위해 특히 주문으로 제공되는 것이 아닌 부품). 본 발명의 플랫폼은 모세관 미세유체 장치, 광학시스템, 및 영상 획득 및 분석프로그램을 포함한다. 영상 획득 및 분석프로그램은 하나 이상의 알고리즘 및 기타 계산을 포함한다. 영상 획득 및 분석프로그램은 본 발명의 사용자에게 진단 목적을 포함한 용도의 세포 분석 결과 및 보고를 제공한다.
- [0059] 본 발명의 일 실시태양은 최소한 감도 한계가 2000 MESF을 보이는 일조의 교정 비드를 포함한다.
- [0060] 본 발명의 일 실시태양은 CD4 분석 및 계수를 달성하기 위한 시스템, 장치 및 방법이다. 본 발명의 기타 실시태양들은 다른 유형의 분석 및 계수, 예를들면, 예컨대 임의의 CD3, CD8, CD64, CD4 및 CD45 세포 분석 및 계수를 달성한다. 또한 본 발명의 실시태양들은 단일-칼라 또는 다중-칼라 기능성, 예를들면, 예컨대 2-칼라 (다중화 기능성)을 달성할 수 있는 시스템을 포함한다. 또한 본 발명은 직경이 약 1 미크론 내지 약 100 미크론인 미세 입자 검출, 추적 및 계수를 위한 시스템, 장치 및 방법을 포함한다.
- [0061] 본 발명 실시태양의 4-칼라 기능성 예시는 도 21에 도시된다. 본 실시예에서, 다중-칼라 형광 검출이 도시된다. 특히 4종의 필터 (160, 162, 164, 166)를 포함한 4 칼라 검출이 도 21에 도시된다. 각각의 필터는 상이한 칼라일 수 있고 각각의 필터에 따른 관심 세포 식별에 적용될 수 있다. 본 발명 실시태양들은 추가 필터를 포함할 수 있고 4종 이상의 다중-칼라 형광을 제공할 수 있다는 것을 이해하여야 한다.
- [0062] 본 발명의 시스템은 최소한 다음 부품들을 핵심으로 포함한다: 광원; 유체칩; 및 검출모듈.
- [0063] 본 발명은 전원, 예컨대 전력원에 직접 연결되어 전력이 공급될 수 있거나, 충전지일 수 있는 내부 또는 외부 배터리와 일체화된다. 본 발명의 일부 실시태양들에서 배터리는 태양전지 또는 풍력전지일 수 있다.
- [0064] 본 발명의 일 실시태양은 도 17에 도시된 시스템 (118)일 수 있고, 분석장치 (120) 및 카트리지를 (122)를 포함한다. 핵심시스템 (124)은 분석장치 및 카트리지를 연결한다. 본 연결은 유선 또는 무선 연결로 이루어질 수 있다. 핵심 시스템의 요소는 도 17에 도시된 바와 같이 분석장치 또는 카트리지에 포함될 수 있다.
- [0065] 분석장치는 휴대용 장치이고, 핸드헬드 장치일 수 있다. 분석장치는 여러 요소들, 예를들면, 예컨대 디스플레이

(126), 입력/출력 수단 (128), CPU (130), 저장 또는 메모리 수단 (132), 전력제어기 (134) 및, 통신수단 (136)을 포함한다. 분석장치에 포함될 수 있는 핵심시스템 요소는 광학 영상시스템의 요소, 예컨대 광원 또는 기타 광원일 수 있는 광원 (138), 렌즈 (140), 및 CCD 검출기 또는 기타 검출기일 수 있는 검출기 (142)를 포함한다. 핵심 시스템 일부인 영상 분석프로그램 또는 시스템 (144)은 분석장치에 포함된다. 카트리지는 핵심 시스템 요소, 예를들면, 예컨대 미세유체칩 또는 기타 미세유체 장치일 수 있는 미세유체 장치 (146), 및 서행-건조 (slow-dried) 화학 시약 또는 기타 시약일 수 있는 시약 (148)을 포함한다.

[0066] 본 발명 시스템은 하기되는 바와 같이 분석장치, 카트리지 및 핵심시스템 부품들이 단일 하우징, 또는 다수의 하우징들에 포함되는 기타 구성들로 이루어질 수 있다는 것을 이해하여야 한다.

[0067] 본 발명의 부품들은 다양한 유형일 수 있다. 본 발명의 일 실시태양에서 광원은 광조사원일 수 있다. 본 발명 일부 실시태양들에서 자유공간 또는 광/섬유 가이드가 광원과 결합 또는 달리 연결될 수 있다. 또한 광원은 자유공간 광학 필터 및/또는 광/섬유 가이드와 일체화된 브래그 격자 필터를 포함한다. 광원은 광학 검출기를 포함할 수 있다.

[0068] 본 발명의 일 실시태양에서 유체칩은 유체 장치, 미세유체장치, 유체 카트리지, 미세유체 카트리지, 미세유체칩, CCD 칩, 또는 일부 기타 적용 가능한 요소일 수 있다. 유체칩은 하나 이상의 영역, 예컨대 샘플 로딩 구역, 혼합 챔버 및 분석 챔버를 포함한다. 예를들면, 도 20에 도시된 바와 같이, 본 발명의 일 실시태양에서 유체칩은 샘플 도입 입구 (150), 샘플 준비 챔버, 입자 분석 챔버 및 폐기저장소를 포함한다. 샘플은 미세유체 채널 (152)을 따라 흐른다. 세포 샘플 온 칩 (on-chip), 및 특히 검출기 창 구역 (154)을 통과하는 유체 이동은, 완전히 모세관 힘에 의해 구동된다. 이에 따라 임의의 복잡한 유체 구동 부품들, 예컨대 진공펌프 등이 생략될 수 있다. 유체칩은 검출창 구역을 포함한다.

[0069] 본 발명은 도 20에 도시된 바와 같이 저장소 (156) 및 출구 (158)를 포함한다.

[0070] 본 발명의 실시태양들에서 유체칩은 일회용이다. 일회용 유체칩을 이용하는 본 발명 분야의 예시로는, 본 발명은 혈액 분석 장비로 적용될 수 있다. 이러한 본 발명 실시태양은 2종의 부품들을 포함한다: 입자 및 검출 분석 시스템을 포함하는 하드웨어; 및 유체칩. 예를들면 혈액 채취를 위하여 사람 피부에서 핀을 이용하여 혈액 샘플을 채취한다. 예를들면, 모세관 힘으로 혈액을 유체칩에 도입한다. 본 발명은 하기되는 바와 같이 작동되어, 혈액 샘플에 기초한 분석 및/또는 검출 프로세스를 진행한다. 분석 및/또는 검출 프로세스가 완료되면 유체칩은 처분된다. 이는 잠재적 본 발명 사용의 일 실시예이고, 특히 일회용 유체칩을 포함한 본 발명 실시태양 사용의 일 예라는 것을 이해하여야 한다. 일회용 유체칩 유무에서 본 발명의 다른 사용도 가능하다는 것을 이해하여야 한다.

[0071] 본 발명 유체칩은 다양한 재료, 예를들면, 예컨대 유리 또는 중합체 기질로 제작될 수 있다. 검출기 창 구역을 통과하는 유동을 포함하여 세포 샘플의 온 칩 (on-chip) 유체 유동을 조절하는 유체 유동 조절수단이, 유체칩, 또는 일반적으로 본 발명에 포함된다. 이러한 유체 유동 조절 수단은, 예를들면, 하나 이상의 기하적 정지밸브, 상이한 유체 저항을 가지는 가변 미세 채널 기하, 및/또는 하나 이상의 펌프들을 포함한다.

[0072] 본 발명의 일 실시태양에서 검출모듈은 광학 검출기를 포함하는 영상 획득 및 분석모듈일 수 있다. 광학 검출기는 다양한 유형일 수 있고, 예를들면, 예컨대 전자결합소자 (CCD) 영상 센서, 또는 상보성 금속산화막 반도체 (CMOS) 영상 센서일 수 있다. 본 발명 일부 실시태양들에서 자유공간은 광학 검출기와 일체화될 수 있다. 본 발명의 일 실시태양에서, 영상 획득 및 분석모듈은 예를들면, 3mm x 0.5mm 직사각형 CCD 센서, 능동 검출 영역이 대략 10.2mmX8.3mm인 CCD 센서, 또는 기타 적용 가능한 센서를 포함할 수 있다. 또한 실시태양은 센서와 관련된 구동전하회로를 포함한다. 입자 및 세포 검출 및 계수를 위하여 영상 분석프로그램이 본 발명에 포함되어 획득된 광학 영상을 분석하고 처리한다. 당업자는 잠재적인 영상 획득 및 분석모듈에 대한 다양한 실시태양들 및 일반적으로 가능한 본 발명의 다양한 실시태양들을 인지할 수 있다.

[0073] 검출모듈은 자유공간 광학 필터를 포함한다. 하나 이상의 일체화 검출기들이 검출모듈에 포함된다. 하나 이상의 일체화 검출기는 센서 측면 예를들면, 하나 이상의 필터로 코팅된 광학 능동 센서 표면을 포함하고 코팅은 직접 코팅 또는 유체칩 창 구역 전단에 배치되는 하나 이상의 필터로 코팅되는 독립 광학 요소일 수 있다. 코팅은 제작 과정 또는 이후 시점에서 진행될 수 있다. 일체화 검출기는 검출기 창 구역과 또는 내에 결합될 수 있다. 검출모듈 센서 능동 영역은 더 작은 부-구역으로 세분되고, 각각의 부-구역은 더욱 상세하게 하기되는 바와 같이 광학 필터로 코팅될 수 있다.

[0074] 본 발명의 일 실시태양에서 다음 방법이 적용되어 시스템이 활용된다. 예를들면, 본 발명 실시태양에서, 광원은

레이저 다이오드 또는 발광다이오드(LED) 장치일 수 있는 광원을 포함한다. 광원은 여기(excitation)원으로 기능하고 미세유체칩 내부 세포 유동에 영향을 미친다.

[0075] 본 발명 일부 실시태양들에서 세포 샘플은 기타 성분들, 예를들면, 예컨대 형광 표지 항체와 혼합된다. 혼합은 샘플 준비 단계에서 수행된다. 혼합은 수작업으로, 바이알에서 또는, 본 발명에서 일체화되고 미세유체 칩 또는 장치에 포함되는 혼합 챔버를 통해 수행된다. 세포 샘플 혼합물을 준비하는 다양한 방법이 적용될 수 있다.

[0076] 예를들면, 광원을 조사하면, 형광표지 관심세포는 상이한 파장에서 방출된다. 형광표지 관심세포의 파장이 검출기 모듈에 의해 포착된다.

[0077] 본 발명의 일 실시태양에서 영상시스템은 배율 렌즈, 예를들면, 예컨대 3종의 맞춤 현미경 7x 또는 10x 광학 렌즈, 또는 기타 렌즈를 포함한다. 배율 렌즈는 표적화 형광표지 관심세포를 확대하여 이들 세포를 광학 검출기에 투사시킨다.

[0078] 피-실험 세포 샘플은 또는 유체칩 예를들면, 예컨대 일회용 플라스틱 미세유체칩, 또는 기타 유체칩에 로딩된다. 유체칩은 핫엠보싱 또는 사출성형으로 제조되어 특정 광학 측정장치를 형성한다.

[0079] 샘플 세포를 유체칩에 도입한 후 샘플은 유체칩 표면에 코팅된 시약, 예를들면, 예컨대 서행 건조 또는 동결-건조 화학 시약과 혼합된다. 수동 유체 혼합기를 이용하여 그 다음 광학 분석을 위한 샘플을 준비한다. 예를들면 혼합기를 이용하여 관심세포에 형광표지 항체를 붙여 샘플을 준비한다. 수동 혼합법은 더욱 크고 무거운 능동소자들을 생략할 수 있고, 따라서 전체 시스템 복잡성을 줄일 수 있다.

[0080] 광학 검출기, 예를들면, 예컨대 CMOS 검출기 또는 CCD 검출기 크기에 의해 형성되는 질의 라인 또는 영역을 이용하여, 여기 형광세포 또는 임의의 형광신호를 검사하고 측정한다. 본 발명에서 세포 계수 일부는 동적으로 완료되므로, 양호한 거동의, 정연한 세포 유동 패턴은 시스템 최적화에 이상적이다. 이러한 유형의 세포 유동패턴을 생성하기 위하여, 본 발명의 일 실시태양에서 유체 채널이 유체칩에 형성된다. 유체 채널은 협소한 질의 구역을 포함하고 세포의 층류(laminar flow)가 형성되도록 설계된다. 예를들면, 질의 구역은 대략 15 - 50 미크론 깊이 및 500 미크론 이하의 폭을 가지는 채널일 수 있다. 층류, 또는 엄격한 연속적인 유동은 획득 영상 품질을 개선시키고 동적 세포 검출 정확성을 높인다.

[0081] 도 1은 본 발명 실시태양의 검출 및 분석모듈에 포함된 광학 영상시스템을 도시한 것이다. 본 실시태양에서 영상시스템은 광섬유 광 전달체 및 채취 부품들을 활용한다. 이러한 광섬유 광전달체(10) 및 채취 부품들을 사용하면 장비 복잡성을 감소시킨다. 따라서 이러한 광전달체 및 채취 부품들을 적용하여 본 발명의 견고성 및 성능을 개선시킨다. 본 실시태양에서 하나 이상의 광학검출기(12)는 방출 필터로 코팅된다. 광전달체(10)는 여기 필터로 코팅된다. 광학검출기 제작 과정 또는 이후 시점에 본 발명 요소에 대한 임의의 코팅이 부가될 수 있다. 방출 필터로 하나 이상의 광학 검출기를 코팅하면 다중칼라 또는 다중화 분석에서 선행기술의 형광 검출에 요구되는 이동 부품들을 추가할 필요가 없다.

[0082] 도 1에 도시된 바와 같이, 본 발명은 렌즈(14) 및 일회용 카트리지(16) 요소를 포함한다.

[0084] *도 2는 본 발명 실시태양 검출 및 분석모듈에 포함되는 광학 영상시스템의 다른 가능한 구성을 도시한 것이다. 도 2에 도시된 본 발명 실시태양은 광/섬유 가이드(19)가 연속된 광원(18)을 포함한다. 광/섬유 및/또는 광원은 여기 필터로 코팅될 수 있다. 또한 실시태양은 일회용 카트리지(20), 렌즈(22), 및 검출기(24)를 포함한다. 검출기는 방출 필터로 코팅될 수 있다. 본 발명의 이러한 실시태양은 선행기술 대비 특별한 이점을 제공한다. 예를들면, 본 발명의 이러한 실시태양은 검출기가 형광 표지 샘플인 샘플 바로 아래에 배치되므로 신호 획득에 더욱 효과적이다. 검출기는 영상 렌즈를 포함한다. 샘플의 유동 및 채취, 및 영상은 주로 영상 렌즈의 광 획득 효율에 의존된다. 본 발명은 다양한 방식으로 구성되어 원하는 결과를 달성할 수 있고 도 1 및 2는 단지 본 발명 가능한 구성의 예시라는 것을 이해하여야 한다.

[0085] 유체칩 분석 챔버로 세포 샘플이 유입되면 광학 검출기, 예컨대 CMOS 검출기 또는 CCD 검출기를 촉발시켜, 영상을 포착한다. 광학 검출기는 세포가 유체칩 검출창 구역을 통과하거나 지날 때 분석 챔버를 통과하여 유입하는 세포 영상을 포착한다. 창 및 광학 검출기 위치는, 유체칩 형태에 따라 달라질 수 있다.

[0086] 유체 세포 샘플이 분석 챔버로 유입하여 충전될수록, 광학 검출기는 시간 경과에 따라 계속하여 광학 영상을 포착한다. 도 4a 및 4b에 도시된 바와 같이, 세포(28)가 분석 챔버로 유입될수록 분석 챔버는 충전된다. 도 4a는 분석 챔버로 유입되어 충전되기 전, T=0으로 표기될 때의 세포(28) 예시이다. 도 4b는 일정 시간 후(예를들면, T=5) 분석 챔버가 샘플 세포(28)로 충전된 후를 보인다. 화살표(30)는 분석 챔버가 충전되는 분석 챔버 내부

로의 세포 유동을 표기하고, 본 실시예에서 세포는 좌측에서 우측으로 수평으로 흐른다. 세포는 특히 유체칩 크기, 형태 및 구성에 따라 다양한 방향으로 흐를 수 있다는 것을 이해하여야 한다.

- [0087] 모든 세포 샘플이 분석 챔버로 유입되면, 또는 세포 샘플 전체가 분석 챔버로 유입되기 전에 분석 챔버는 충전된다. 분석 챔버가 충전되는 시점 및 세포 샘플 함량은 분석 챔버 크기 및 형태, 세포 샘플 중 세포 유형, 수집된 세포 샘플 함량, 및 사용자에 의해 수행되는 하나 이상의 특정 테스트에 따라 분석되는 샘플 최소량에 따라 달라진다.
- [0088] 분석 챔버가 완전히 충전되면 광학 검출기에 의한 영상 포착 프로세스는 중지된다. 광학 검출기가 광학 영상 포착을 중지하면 모든 포착 영상들은 조합되어 분석된다. 본 발명 실시태양들은 영상 발생이 중지될 때 기타 시점 또는 이벤트를 포함할 수 있고 영상 발생이 중지되는 다양한 시점 또는 이벤트는 본 발명 구성, 세포 샘플 성질, 등에 따라 본 발명에 적용될 수 있다.
- [0089] 영상 분석은 유체칩 검출창 구역을 통과하여 흐르는 예를들면 관심 세포, 예컨대 형광 세포 개수 계산을 포함한다. 본 발명은 세포 총 카운트를 발생시킨다. 본 발명의 일 실시태양에서 유체 세포 샘플의 서행 이동이 유체칩 내부에 유지될 수 있다. 본 발명 기타 실시태양들에서 대량의 세포 샘플이 분석에 필요할 수 있다. 본 발명의 이러한 실시태양들에서 상당수의 영상이 생성, 기록 처리될 필요가 있다.
- [0090] 본 발명의 일 실시태양에서, 예컨대 핸드헬드 휴대용 시스템에서, 포착 영상은 시스템에 포함되고 핸드헬드 휴대용 시스템에 내장되는 메모리 유닛에 저장된다. 또한 그래픽 처리 시스템이 휴대용 시스템에 내장되거나, 휴대용 시스템에 외장되고 휴대용 시스템에 연결될 수 있다. 그래픽 처리 시스템은 포착 영상을 처리 및/또는 분석하기 위하여 사용된다.
- [0091] 도 3a-3f에 도시된 바와 같이, 본 발명에 따라 시간 주기 내에 하나 이상의 영상이 포착되거나 달리 생성된다. 시간 주기는 본 발명의 활성도에 상응하고, 예를들면, 예컨대 분석 챔버가 세포로 충전되는 시간, 또는 본 발명이 영상을 획득하는 임의의 기타 시간 주기이다. 도 3a-3f에 도시된 바와 같이 본 발명에 의해 일련의 영상들이 포착 또는 달리 생성된다. 이들 영상은 연속 시점에서 생성되고, 시점은 규칙적 간격 또는 불규칙한 간격일 수 있다. 예를들면, 도 3a-3f에 도시된 영상들은 서로 다른 시간에 본 발명에 의해 포착된 영상들 예시이다. T=0은 영상 포착 획득 프로세스 개시, 따라서 제1 영상이 생성되는 시점을 표기한다.
- [0092] 도 5는 본 발명의 광학 검출기에 의해 포착된 영상들이 본 발명의 분석모듈에 의해 조합된 것을 보인다. 예시로써, 포착 영상들 (32, 34, 36, 38, 40)는 조합되어 한 세트의 영상을 생성한다. 영상 세트는 분석되어 다양한 유형의 정보를 제공한다. 영상 세트는 유체칩 검출창 구역을 통과하는 모든 세포 (33)를 보인다. 검출창 구역을 통과하는 세포의 총 개수를 계산하기 위하여 영상 세트가 활용되어 각각의 영상에 있는 세포를 계수한다. 본 발명의 일부 실시태양들에서 (도 5에 도시된 바와 같이) 여분의 영상이 포착된다. 본 발명의 실시태양들에서 포착 여분의 영상, 또는 영상 내의 여분은 세포 검출 정확성을 개선시킨다. 본 발명의 실시태양들은 여분이 없도록 영상을 포착하도록 구성될 수 있다.
- [0093] 유체칩 분석 챔버가 세포 샘플로 충전되면 검출기는 분석 챔버 내의 샘플에 대한 정적 광학 산란 영상을 취한다.
- [0094] 이러한 샘플의 정적 광학 산란 영상은 노출 연구로 분석되어 개별 세포 및 포괄적 세포 샘플에 대한 더욱 상세한 사항을 식별할 수 있다. 이러한 더욱 상세한 식별에 의해 본 발명 사용자에게 유용한 추가 정보, 예를들면, 예컨대 세포 형태, 운반 용액의 광학 밀도 등이 제공된다. 이러한 정보는 단독 또는 본 발명에 의해 세포 샘플에서 생성된 기타 분석 결과와 조합하여, 질병 진단 및 감시와 분석, 예를들면, 말라리아 진단, 결핵 진단, 등에 있어서 중요하다.
- [0095] 본 발명은 샘플 세포가 검출창 구역을 통과하여 유동할 때 광학 측정이 수행되는 방법을 제공한다. 샘플 세포는 동시에 유체칩 내부로 전파된다. 광학 측정은 형광 측정 및 산란 측정을 포함한다.
- [0096] 형광 측정을 달성하기 위하여, 다중-갈라 형광 검출 단계가 본 발명의 방법에 포함된다. 특히, 검출모듈을 적용하여 세포 샘플 중 세포가 검출창 구역을 통과할 때 다중-갈라 형광 염료 영상을 포착하거나, 또는 달리 이러한 다중-갈라 형광 염료를 검출한다.
- [0097] 광학 검출기에 의해 획득된 영상 및 임의의 기타 데이터를 처리하기 위하여 알고리즘이 적용된다. 예를들면, 세포 샘플의 유동 세포에 운동(motion) 분석이 적용되어 특정 데이터 결과를 얻을 수 있다. 기타 예시로써, 포괄적 세포 샘플에 적용되는 검출모듈 분석 및 검출창 구역을 통과할 때 포착된 영상으로부터 세포 샘플 집단에 대

한 통계 데이터가 생성된다.

- [0098] 본 발명의 일 실시태양에서, 세포 분석은 세포가 검출 구역을 통과하여 유동될 때마다 진행된다. 본 실시태양에서 분석 단계 개시 전 영상 세트를 수집할 필요는 없다. 영상 분석은 영상이 생성되면 가능한 즉시 진행된다.
- [0099] 본 발명의 기타 실시태양에서, 두-단계 분석 프로세스가 수행될 수 있다. 제1 단계에서 하나 이상의 영상은 영상 생성 시에 분석되고, 이에 따라 각각의 영상은 그때마다 분석된다. 제2 단계는 본 발명에 따라 특정 시간 주기 (예를들면, 예컨대 분석 챔버가 테스트 샘플 세포로 충전되는데 소요되는 시간)에 생성된 영상 세트를 모아 그룹으로 분석하고, 이하 논의된다.
- [0100] 본 발명의 일 실시태양은 다중화 분석이 가능하도록 설계된다. 이러한 실시태양에서 다중-칼라 형광 영상이 얻어진다. 예를들면, 하나 이상의 선형 검출기는 검출기 창 구역 내부에 배치된다. 각각의 선형 검출기는 별개의 검출 필터로 코팅된다. 각각의 선형 검출기는 세포의 형광색소의 특정 칼라를 검출 또는 달리 표시한다. 검출 또는 표시되는 세포의 형광색소의 특정 칼라는 선택된 특정 필터에 의해 결정된다. 검출모듈은 각각의 선형 검출기 영상을 생성한다. 둘 이상의 독립적인 형광 영상들을 중첩시키면, 다중-칼라 형광 세포분석 시스템이 설정된다. 별개의 검출 광학 필터로 코팅된 더 많은 선형 검출기를 부가하면, 본 시스템은 분석 및 검정 범위가 넓은 다중-칼라 휴대용 및/또는 핸드헬드 세포분석기 시스템으로 확장될 수 있다.
- [0101] 예를들면, 검출창 구역은 하나 이상의 칼라 패널 구역들 또는 기타 필터, 예컨대 적색 패널, 녹색 패널 및 투명 구역으로 코팅된다. 칼라를 검출창 구역으로 도입함으로써 여러 결과를 동시에 테스트할 수 있다. 예컨대 직접 부착에 의해 코팅물은 유체칩에 포함되는 창 구역 최상 표면에 부착되거나, 코팅물은 창 구역 앞에 배치되는 투명 광학 요소에 제공된다.
- [0102] 본 발명의 실시태양들에서 검출창 구역은 동일한 칼라를 2회 이상 포함한다. 예를들면, 검출창 구역은 서로 이격된 2종의 적색 패널을 포함할 수 있다. 세포 샘플이 지나는 처음 칼라 패널 및 세포가 계속하여 지나는 동일한 칼라 패널에서 얻어진 결과의 평균이 본 발명에 의해 생성된다.
- [0103] 본 발명 구성 및 세포 샘플 특성, 다중 칼라 사용 또는 하나 이상의 칼라의 수회 사용에 따라 본 발명의 정확도가 달라지고 따라서 일부 유형의 분석에 대한 본 발명 정확도 보증이 높아진다. 검출창 구역에 하나 이상의 칼라를 포함하고, 검출창 구역에 하나 이상의 칼라를 2회 포함하는 이러한 검출모듈은, 다양한 분석 용도로 활용될 수 있다는 것을 이해하여야 한다.
- [0104] 본 발명은 도 2에 도시된 바와 같이 형광 여기 및 검출 플랫폼을 포함하는 입자 검출 및 분석시스템이다. 본 발명의 플랫폼은 광원 (18), 예를들면, 예컨대 여기용 레이저 다이오드 또는 LED, 신호 수집을 위한 방출 필터 및 광학 검출기 (24), 예를들면, 예컨대 검출용 CMOS 또는 CCD 카메라를 포함한다. 광원은 여기 필터가 코팅된 광학 광/섬유 가이드 (19)와 연결될 수 있다. 조명을 비추면, 형광표지 관심 입자는 다른 파장에서 방출하고 이는 광학 검출기에서 포착된다. 영상시스템은 표적 세포를 확대하고 광학 검출기에 투사하도록 작동되는 대물 렌즈 (22), 예를들면, 예컨대 규격품인 현미경 대물 렌즈를 포함한다. 실험 대상 샘플을 일회용 카트리지 (20), 예를들면, 일회용 플라스틱 미세유체칩에 로딩한다. 적용 가능한 광학 측정에 따라 미세유체 칩은 핫엠보싱 또는 사출성형 기술로 형성된다. 영상 획득 및 분석모듈은 직사각형 CCD 또는 CMOS 센서 및 관련 구동 전자회로를 포함한다.
- [0105] 도 13 및 14에 도시된 바와 같이 본 발명의 광학 영상시스템은 다양한 위치에 있는 광원을 포함한 부품들로 구성된다. 도 13에 도시된 바와 같이, 본 발명의 실시태양에서 방출 필터 (78)를 가지는 검출기는 영상 렌즈 (76)에 결합된다. 결합된 검출기 및 렌즈는 일회용 카트리지 (74) 상부에 배치된다. 광원 (72)은 일회용 카트리지 상부에 유각 배치되어 빛을 영상 렌즈 아래의 일회용 카트리지 상부 표면으로 제공한다.
- [0106] 도 14에 도시된 바와 같이, 본 발명의 다른 구성에서, 방출 필터 (80)를 가지는 검출기는 영상 렌즈 (82)와 결합된다. 결합된 검출기 및 렌즈는 일회용 카트리지 (84) 상부에 배치된다. 광원 (86)은 일회용 카트리지 아래에 배치되고 렌즈 아래의 일회용 카트리지 하측에 빛을 제공하도록 유각 배치된다. 본 발명의 실시태양들에서 본 발명 요소들의 기타 구성들도 가능하다는 것을 이해하여야 한다.
- [0107] 입자 및 세포 검출과 계수를 위하여 영상 분석프로그램을 사용하여 획득된 광학 영상을 분석하고 처리한다.
- [0108] 본 발명은 가용 규격품 요소를 포함한 여러 요소들로 구성된다. 규격품 요소를 통합시킴으로써 본 발명 장치 및 시스템 가격을 낮출 수 있다. 예를들면, 다양한 유형의 비드, 예컨대 6 μm 직경의 피코에리트린 (PE) (여기/방출 532 nm/585 nm) 및 PE-Cy5 (여기/방출 532 nm/700 nm) 표지 비드를 본 발명에 포함시킬 수 있다. 다른 예시

로써, 본 발명은 식염수, 예를들면, 예컨대 1x 인산염-완충 식염수 (PBS) (제품 번호 BP 2438-4)를 포함할 수 있다. 또 다른 예시로서, 임뮤노트롤 (immunotrol), 하이 및 로우 카운트 콘트롤 (count control) 규격품이 본 발명에 포함된다. 현미경 대물 렌즈, 예를들면, 예컨대 10x, NA 0.30이 본 발명에 포함된다. CCD 카메라, 예를들면, 예컨대 Pixelfly USB가 본 발명에 포함된다. 또한 본 발명은 형광 방출 수광을 위한 광학 필터, 예를들면, 예컨대 585/40 및 708/75 필터를 포함한다. 또 다른 규격품 예시로서 광학 렌즈 튜브 조립체가 본 발명에 포함된다. 규격품은 아니지만, 특히 본 발명에 포함되도록 제조된 기타 부품들, 또는 규격품 및 특히 본 발명을 위해 제조된 부품들의 조합 역시, 본 발명에 적용될 수 있다는 것을 이해하여야 한다.

[0109] 본 발명의 설계 레이아웃 및 본 발명에 포함되는 제작된 중합체 미세칩 (42)이 도 6a 및 6b에 도시된다. 미세유체 요소는 샘플 도입 입구, 샘플 준비 챔버, 입자 분석 챔버 및 폐기저장소로 구성된다. 예컨대 본 발명에 포함되는 자체 미세유체시스템에서, 온칩 (on-chip) 유체 이동은 순전히 모세관 힘에 의해 달성된다. 이에 따라 본 발명에서 복잡한 유체 취급 및 구동 부품들 예컨대 진공펌프, 튜브 및 실링이 생략된다. 검출기 크기에 의해 형성되는 질의 영역은, 여기 형광 신호를 검사하고 측정한다. 세포 계수 프로세스는 동적으로 완료되므로, 양호한 거동 세포 유동 패턴이 구현되면 장치 및 시스템 성능이 개선된다. 본 발명은 이러한 양호한 거동의 세포 유동 패턴을 달성하고, 이하 논의된다.

[0110] 본 발명에서 좁은 질의 구역의 미세유체 채널 (44)이 설계되고 이러한 방식으로 흐름은 엄격한 층류를 형성한다. 예를들면, 좁은 질의 구역 (46)은 본 발명이 최적 기능을 달성하기에 필요한 유동을 달성할 수 있는 적당한 크기로 설계된다. 본 발명의 일 실시태양의 채널은 약 15 미크론 깊이 및 약 800 미크론 폭으로 형성된다. 당업자는 이러한 크기는 본 발명에 포함되는 좁은 질의 구역의 예이고 기타 크기의 질의 구역이 본 발명에 포함될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다.

[0111] 특정 흐름을 달성할 수 있는 좁은 질의 구역을 설계함으로써 획득 영상 품질 개선 및 더욱 정확한 동적 세포 검출이 가능하다. 포인트를 지나, 채널은 확대되어 (48) 유체 저항이 감소되고 유속이 높아진다. 이러한 특유 설계로 인하여 본 발명에서 유체 유동은 분석 시간 내내 균일한 유속을 유지한다. 챔버가 충전되면 공기 용량의 샘플이 분석된다. 예를들면, 이것은 CD4 T 세포 계수 분석에 있어서 중요한 분석 기준일 수 있다.

[0112] 도 6b의 확대 도면에 도시된 바와 같이 미세유체 채널은 하나 이상의 포스트 (50)를 포함한다. 포스트는 다양한 크기, 예를들면 예컨대 약 100 미크론의 폭을 가질 수 있다. 포스트는 채널 내에서 규칙적이고 균일한 간격으로, 또는 불규칙적으로 떨어져 배치될 수 있다. 포스트는 세포 흐름에 영향을 미치도록 배치되고, 유동 방향 또는 유속에 영향을 미치도록 배치된다. 또한 포스트는 세포 응집을 억제하도록 작용한다. 본원에서 논의되는 세포 응집은 세포 분석 결과에 부정적이고, 따라서 포스트는 세포가 응집되는 것을 방지하여 본 발명 분석 결과 정확도 개선에 기여한다.

[0113] 포스트는 칩의 층들 분리 높이, 따라서 층들 간 간격이 가변되는 높이를 가질 수 있다. 이러한 방식으로 포스트는 특정 세포 크기에 따라 특정 세포의 흐름을 지연 또는 촉진시킨다. 예를들면, 특정 지점에서 칩의 층들 간 간격은 각각의 층을 서로 간의 거리로 지지하는 포스트 높이로 결정된다. 세포가 칩의 특정 영역에서 칩의 층들 사이 간격보다 큰 경우 칩의 이러한 영역에서 세포 유동은 지연되고 칩의 층들 사이 간격이 세포 크기보다 더 방향으로 세포는 유동된다.

[0114] 본 발명에서 적용되는 미세유체칩, 즉 카트리지는, 예를들면, 예컨대 일회용 카트리는, 포토리소그래피 기술로 제작된다. 칩 웨이퍼는 적층 프레스 (laminar press) 프로세스를 이용하여 패키징 된다. 칩의 베이스 층은 다양한 재료, 예를들면, 예컨대 아크릴 플라스틱으로 제조된다. 베이스 층, 또는 하층은, 유체 구조체, 예컨대 SU-8 네가티브 포토레지스트로 형성되는 구조체를 포함한다. 미세유체 채널은 포토리소그래피 기술로 패턴화되어, 하층이 처음 적층되고, 예를들면, 적층 단계는 스핀 코팅 및 건조 기술을 포함한다. 하층은 완전히 경화된다.

[0115] 다음, 제2 층이 적층되고, 예를들면, 하층 적층에 적용된 동일한 단계로 적층된다. 제2 층은, 예컨대 포토마스크를 통한 노출로 더욱 패턴화된다. 노출 샘플은 베이킹 및 현상하여 본 발명 기능에 필요한 원하는 형상을 형성한다.

[0116] 칩의 뚜껑 층, 또는 피복층은 다양한 재료, 예를들면 예컨대 아크릴 플라스틱으로 제조된다. 뚜껑 층은 부분적으로 경화된 SU-8 포토레지스트 층이고, 기계적으로 홀이 천공되어 입구 및 출구를 형성한다.

[0117] 베이스 층 및 피복층은 결합 조그에서 조립되고 적층 프레스에서 기계적 하중으로 가열된다. 베이스 층 및 피복층은 일정 시간 유지되고 결합이 형성된다.

- [0118] 일회용 카트리지가 대량 생산되는 경우, 일회용 카트리는 사출성형 또는 핫엠보싱 프로세스에 의해 제조된다.
- [0119] 시약, 액체 또는 고체 분말 형태의 형광 염료로 결합되는 항체는 제작 과정에서 일회용 카트리지 내부에 내장 또는 사전-로딩될 수 있다.
- [0120] 본 발명은 측정 단계를 포함한다. 도 2에 도시된 바와 같이, 본 발명은 방출 필터 또는 임의의 색선택거울을 포함하지 않는다는 점에서 본 발명의 세포/입자 검출 및 분석 플랫폼의 광학 영상시스템은 표준, 선행기술의 형광 영상과는 차이가 있다. 다중-칼라 검출을 위하여는, 맞춤 설계 방출 필터가 본 발명의 광학 검출시스템에 포함될 수 있다.
- [0121] 본 발명에서 사용되는 필터 투과 스펙트럼으로서 필터 세트 결과들 (52, 54)이 도 7a 및 7b에 도시된다. 이들 스펙트럼은 본 발명의 광학 특성을 보인다. 도 7a에 도시된 스펙트럼 (52)은 본 발명의 일 실시태양의 예시적 측정 ASCII 데이터의 필터 세트 결과이다. 도 7b에 도시된 스펙트럼 (54)은 본 발명의 일 실시태양의 평균 ASCII 데이터의 필터 세트 결과이다. 도 7a 및 7b와 관련된 본 발명의 실시태양에 대하여 필터 세트의 수평축은 nm 단위 및 cm^{-4} 로 재설정되는 범위의 수평축이고, 수직축은 %T 단위 및 OD로 재설정되는 범위를 가진다.
- [0122] 본 발명의 필터 세트는 단일 셀에서 2종의 반달 형상의 형광 필터를 포함한다. 본 필터 세트로 동시에 2-칼라 형광 검출이 가능하다.
- [0123] 본 발명의 영상시스템은 대면적 동적 영상 방법을 활용한다. 이러한 영상시스템으로 인하여 본 발명에서 임의의 이동 부품들을 생략할 수 있다. 예를들면, 본 발명은 임의의 이동 부품들, 예컨대 필터 휠 및 회전 스테이지를 포함하지 않는다. 선행기술 시스템은 다중-칼라 (또는 다중화) 분석에서 형광 검출을 달성하기 위하여 이러한 이동 부품들, 예컨대 필터 휠 및 회전 스테이지가 필요하다. 본 발명은 다중-칼라 (또는 다중화) 분석에 있어서 이러한 이동 부품들 없이 형광 검출이 달성된다. 이는 또 다른 선행기술 대비 본 발명의 이점이다.
- [0124] 본 발명에 의한 분석 과정에서, 미세유체장치 내부의 시간 경과에 따른 입자 이동이 포착된다. 본 발명의 입자 검출시스템은 도 3a-3f에 도시된다. 6종의 도면들, 도 3a-3f는 분석 단계에서 다른 시점에서의 본 발명 영상 획득시스템의 스냅사진을 보인다. 본 실시예에서, T=0은 영상 획득 개시를 의미한다. 분석 단계에서, 세포 (25)가 미세유체 칩 (27) 영역 내부에 위치한 검출창 (26) 영역으로 유입되어 이동할 때, CMOS 검출기 또는 CCD 검출기 일 수 있는 검출기는 연속하여, 영상을 취한다.
- [0125] 분석 단계에서 여러 시점에서의 검출창 관련하여 분석 단계에서 세포 이동 예시로써, 도 3a는 T=0에서 검출기에 의해 포착된 영상이고, 도 3b는 T=1초에서 검출기에 의해 포착된 영상이고, 도 3c는 T=2초에서 검출기에 의해 포착된 영상이고, 도 3d는 T=3초에서 검출기에 의해 포착된 영상이고, 도 3e는 T=4초에서 검출기에 의해 포착된 영상이고, 도 3f는 T=5초에서 검출기에 의해 포착된 영상이다.
- [0126] 도 3a-3f에 도시된 영상은 본 발명 분석 단계에서 검출창에서의 세포 이동에 대한 가능한 영상의 예시일 뿐이고, 기타 영상 또는 세포 이동이 본 발명에 의한 기타 실시태양들 및 다양한 분석들로 생성될 수 있다는 것을 이해하여야 한다. 또한, 검출기, 예컨대 CMOS 검출기 또는 CCD 검출기 또는 기타 유형의 검출기가 영상을 포착할 때의 시간 간격은 임의의 규칙적 또는 불규칙한 간격일 수 있다는 것을 이해하여야 한다. 도 3a-3f는 1초 간격으로 포착된 영상을 보이지만, 검출기는 분석 단계에서 임의의 간격으로 영상을 포착할 수 있다.
- [0127] 본 발명이 적용될 때, 샘플, 예를들면, 예컨대 혈액 샘플이 분석 챔버로 유입되면 검출기, 예를들면, 예컨대 CMOS 검출기 또는 CCD 검출기를 촉발시켜 데이터 획득 단계 또는 프로세스가 개시된다. 본 발명에 의해 수행되는 데이터 획득은, 하기되는 바와 같이 영상 획득을 포함한다. 획득 영상 분석에는 입자 또는 세포, 예를들면, 예컨대 검출창을 통과하여 흐르는 관심 형광 입자 개수 계산이 포함된다. 이러한 계산은 본 발명에 의해 최종 세포 카운트 생성에 적용된다.
- [0128] 본 발명의 일부 실시태양들에서, 미세유체 칩 내부에서 느린 유체 이동 및 상당량의 샘플이 분석되어야 하므로, 상당량의 영상이 기록 및 처리되어야 한다.
- [0129] 본 발명은 샘플 세포가 장치에 도입되는 유입 입구, 샘플 세포가 분석되도록 준비되는 준비 챔버, 세포가 본원에 기재된 바와 같이 분석되는 세포 분석 챔버, 및 세포가 회수되는 폐기저장소로 구성되는 미세유체장치를 포함한다. 본 발명의 미세유체장치의 입구 및 챔버는 연결되어 유입 입구는 준비 챔버와 연결되고, 장치로 도입된 세포는 유입 입구로 흘러, 유입 입구를 통해 준비 챔버로 흘러 들어간다. 준비 챔버는 분석 챔버와 연결되어, 세포는 준비 챔버로부터 분석 챔버로 이동한다. 폐기저장소는 분석 챔버와 연결되고, 본 발명 일부 실시태양들

에서는 준비 챔버와 연결되어, 세포는 폐기저장소로 흘러 폐기저장소에서 회수된다.

- [0130] 폐기저장소에서 회수된 세포는, 예를들면 폐기저장소를 장치로부터 분리하여 처분하고 내부에 회수된 세포를 처분한다. 본 발명의 이러한 실시태양에서, 폐기저장소는 본 발명에 다시 부착될 수 있다. 본 발명의 일부 실시태양들에서 폐기저장소 또는 폐기저장소 수용 용기는 일회용이므로, 각각의 분석 또는 분석 중간에 신품인, 멸균 폐기저장소 또는 용기가 사용될 수 있다. 폐기저장소에 회수된 세포를 처분하는 다른 방법 예컨대 폐기저장소로부터 세포 제거 수단, 폐기저장소에 포함되어 세포를 회수하고 회수 용기를 폐기저장소로부터 제거할 때 처분하는 착탈식 회수 용기, 폐기저장소에 적용되는 세척수단, 또는 폐기저장소에서 회수된 세포의 임의의 기타 제거 수단이 본 발명의 시스템, 장치 및 방법에 포함될 수 있다는 것을 이해하여야 한다.
- [0131] 예컨대 도 2에 도시된 본 발명의 광학 영상시스템은, 분석 챔버에 포함되어, 하기되는 바와 같이 광학 영상시스템 및 광학 영상시스템 이용 방법은, 세포가 분석 챔버를 통과하여 흐를 때 적용될 수 있다. 도 3a-3f에 도시된 바와 같은 검출창이 분석 챔버에 포함되어, 세포가 분석 챔버를 통과하여 유동할 때 세포는 검출창을 지나거나 통과하여 흐른다.
- [0132] 본 발명에서 세포의 유체 이동, 이에 따라 세포가 광학 영상시스템의 일회용 카트리지가, 예를들면, 예컨대 미세 유체칩을 통과하는 것은, 전적으로 모세관 힘에 의해 진행된다. 하기되는 바와 같이, 세포 유동 모세관 힘을 적용함으로써 복잡한 유체 구동 부품들 예컨대 진공펌프는 본 발명에 포함되지 않는다. 따라서, 본 발명은 임의의 복잡한 유체 구동 부품들, 예컨대 진공펌프를 포함하지 않는다.
- [0133] 세포 샘플은 일회용 카트리지가, 예컨대 미세유체칩을 통과하여 흐른다. 샘플은 시약, 예를들면, 예컨대 서행-건조 화학 시약과 혼합된다. 시약은 미세유체칩 표면에 코팅될 수 있다.
- [0134] 본 발명의 일 실시태양에서 패시브 미세유체 혼합기가 적용되어 차후 광학 분석용 샘플을 준비한다. 패시브 미세유체 혼합기는 준비 챔버 또는 분석 챔버에 배치된다. 예시으로써, 패시브 미세유체 혼합기는 샘플 준비 단계를 수행하여 형광표지 항체를 관심 세포에 표지화한다. 패시브 혼합방법은 더욱 크고 무거운 능동소자가 본 발명에 포함될 필요성을 없앤다. 본 발명은 따라서 공지 선행 시스템과 비교하여 전체적으로 장비 복잡성이 줄어든 시스템 및 장치를 제공한다.
- [0135] 질의 라인 또는 영역이 본 발명에 포함되어 여기 신호, 예를들면, 예컨대 여기 형광 신호를 검사하고 측정한다. 여기 신호는 세포 샘플이 광학 영상시스템을 통과할 때 작용하는 광학 영상시스템의 광학 광/섬유 가이드에 의해 발생된다. 가이드는 여기 필터로 코팅된다.
- [0136] 질의 라인 또는 영역은 검출기, 예컨대 CMOS 검출기 또는 CCD 검출기 크기에 의해 형성된다. 본 발명에서 세포 계수는 동적으로 완성되므로, 양호한 거동의 세포 유동 패턴을 달성하는 것이 본 발명에서 바람직하다. 양호한 거동의 세포 유동 패턴을 달성하기 위하여, 유동은 엄격한 층류가 되도록 좁은 질의 구역의 미세유체 채널이 설계된다. 예시으로써, 채널은 특정 치수, 예컨대 깊이가 약 15 미크론 및 폭이 약 500 미크론 이하인 치수로 설계된다. 채널의 특정 치수는 획득 영상 품질 개선 및 동적 세포 검출 정확도 증가가 달성되도록 선택될 수 있다.
- [0137] 본 발명의 세포/입자 검출 및 분석 플랫폼의 가능한 광학 영상시스템 구성은 도 1 및 2에 도시된다. 광학 영상시스템은 광학 검출기 앞에 배치되는 단일 광학 필터 또는 필터 배열을 포함한다. 이러한 요소 구성으로 다중-칼라 또는 다중화 분석에서 형광 검출 달성을 위한, 세포 분석을 위한 선행 시스템, 장치 및 방법에서와 같은, 임의의 추가 부품들을 생략할 수 있다 따라서, 본 발명은 다중-칼라 또는 다중화 분석에서 형광 검출을 위한 임의의 추가 이동 부품들을 포함할 필요가 없다.
- [0138] 세포 샘플, 예를들면, 예컨대 혈액 샘플이, 분석 챔버로 유입되면 본 발명의 광학 영상시스템의 검출기가 촉발되어 영상 포착을 개시한다. 검출기는 도 3a-3f에 도시된 바와 같이 검출창인 분석 챔버 일부의 영상을 포착한다. 검출창은 일회용 카트리지가 일부, 또는 카트리지가 전체에 형성될 수 있다. 분석 챔버 내부 검출창 구성 및 위치에 따라 샘플은 검출창 하부 또는 하부에 흐를 수 있다.
- [0139] 유체 샘플이 분석 챔버로 이동하여 충전될 때, 검출기는 시간 경과에 따라 규칙적 또는 불규칙 간격으로 광학 영상을 연속하여 포착한다. 분석 챔버가 완전히 충전되면, 영상 포착 프로세스는 중지된다.
- [0140] 본 발명은 샘플 분석 및 분석 결과 생성을 위한 영상 분석방법을 적용한다. 분석방법의 일부로서 검출기에 의해 포착된 모든 영상은 조합된다. 분석방법은 획득 사진의 영상 분석을 포함하여 검출창을 통과한 관심 형광 입자 개수가 계산된다. 계산에 따라 최종 세포 카운트가 발생된다.
- [0141] 본 발명은 광학 영상시스템의 카트리지가 내부에서의 세포 샘플의 유체 서행 이동 및 대량의 분석 샘플을 포함한

다. 따라서, 본 발명의 분석방법의 일부로써 잠재적인 상당히 대량의 영상들이 기록되고 처리되어야 한다. 영상은 본 발명 장치의 내장 또는 외장의 저장수단에 저장된다. 저장수단은 유선 또는 무선으로 본 발명에 연결 또는 달리 접속된다. 예를들면, 본 발명의 일 실시태양은 휴대용 장치, 예컨대 핸드헬드 장치로 구성되고, 이는 본 발명의 플랫폼을 포함한다. 본 발명의 이러한 실시태양에서 광학 영상시스템 검출기에 의해 포착되는 검출창 아래 또는 위를 지나 흐르는 세포 샘플의 영상은 장치에 내장되는 메모리 유닛에 저장된다. 본 발명의 기타 실시태양에서, 영상은 장치에 외부의 메모리 유닛에 저장된다. 외장 메모리 유닛은 유선 또는 무선으로 장치와 연결된다.

[0142] 본 발명의 분석방법은 본 발명 광학 영상시스템 검출기에 의해 포착된 하나 이상의 영상을 처리하고 분석하는 그래픽 처리 유닛을 더욱 포함한다. 본 발명의 일 실시태양에서, 분석 챔버가 세포 샘플로 충전되면, 광학 영상시스템 검출기, 예컨대 CMOS 검출기 또는 CCD 검출기는, 분석 챔버 내부 샘플의 하나 이상의 정적 광학 산란 영상을 포착한다. 검출기는 본원에 기재된 방법에 따른 세포 계수를 위해 본 발명 분석방법에 필요한 모든 영상을 포착한 후 산란 영상을 포착하거나 또는 검출기는 세포 카운트를 위해 본 발명 분석방법에 필요한 포착 영상 사이에 간헐적으로 산란 영상을 포착한다. 검출기에 의해 포착되는 산란 영상은 본 발명에 의해 세포 샘플, 예를들면, 예컨대 혈액 샘플의 더욱 상세 사항들을 연구하기 위하여 활용되는 정적 노출을 제공한다. 더욱 상세 사항들을 연구하면 샘플 또는 샘플 중 특정 세포 관련 추가 정보, 예를들면, 예컨대 세포/입자 형태, 운반용액의 광학 밀도 등이 제공된다. 이러한 정보는 샘플 제공자와 관련된 질병 진단 및/또는 감시 및 검정에 활용한다. 예를들면, 정보를 활용하여 말라리아 및 결핵 진단을 수행한다.

[0143] 본 발명은 소프트웨어 또는 기타 컴퓨터 프로그램 요소를 포함한다. 본 발명의 일 실시태양은 영상 분석프로그램을 포함하여 획득 사진 영상 분석을 수행하여 하기되는 바와 같이 검출창 아래를 흐르는 관심 형광 입자 개수를 계산 및/또는 최종 세포 카운트를 얻는다. 영상 분석프로그램은 광학 영상시스템 검출기에 의해 포착된 영상을 이용한다. 영상, 예컨대 형광 영상은, 검출기에 의해 직접 영상 분석프로그램으로 전송되거나, 검출기로부터 유닛의 저장수단으로 전송되고, 영상 분석프로그램에 의해 저장 유닛으로부터 접근된다. 영상 분석프로그램은 저장 유닛에 저장된 영상을 무선 또는 유선으로 접근할 수 있다.

[0144] 영상 분석프로그램은 알고리즘, 예컨대 검출기에 의해 포착된 영상에 보여진 관심 세포를 추적할 수 있는 맞춤 설계 알고리즘을 포함한다. 예를들면, 포착 영상은 검출창 유입 구역을 보이고, 모든 포착 영상 프레임에서 검출창 유입 구역이 스캐닝 된다. 포착되는 순서대로 포착 영상을 분석하여, 영상 분석프로그램은 샘플이 검출창 아래를 통과하여 흐를 때 입자/세포 샘플에서의 새로운 이벤트를 추적할 수 있다.

[0145] 영상 분석프로그램은 샘플에서 강도 수준을 검출할 수 있다. 예를들면, 형광 세포 샘플의 영상이 분석되어 소정의 강도 수준 예를들면, 예컨대 영상 분석프로그램에 설정된 소정의 임계치를 초과하는 강도 수준을 보이는 영상의 일군의 픽셀을 검출한다. 예시로써, 미세채널 내에서 세포 샘플의 엄격한 층류를 달성하는 본 발명의 실시태양에서, 영상 분석프로그램은 연속 프레임들에서 형광 입자가 예상되는 작은 구역들을 식별한다. 각각의 영상 전체에서 작은 부분만이 이러한 분석방법에서 영상 분석프로그램에 의해 처리되므로 처리 속도가 빨라지고 계산 능력 요건은 낮아진다. 이러한 결과는 특히 프레임 속도가 초당 약 15 프레임 이상일 때 그러하다.

[0146] 각각의 영상 프레임에서 형광표지 개체 위치를 추적하는 영상 분석프로그램에 있어서, 가상 경계박스 (virtual bounding box)는 각각의 세포에 놓일 수 있고, 이로 인해 각각의 세포에 대한 최대 및 최소 x 및 y 좌표가 식별되고 영상 분석프로그램에 의해 기록된다. 각각의 경계박스 중심 위치가 계산되고 세포 현재 위치로 표기된다. 이러한 프로세스는 포착된 각각의 영상 프레임에 대하여 반복되고 분석되어 최종 계수 결과를 생성한다.

[0147] 영상 분석프로그램에 의한 표적 집단 유입 스캐닝 외에도, 세포가 검출창 영역을 유출할 때에도 관심 세포는 검출되고 계수된다. 영상 분석프로그램은 이러한 유형의 유출 세포 분석을 수행하여 검출창 영역 유입 세포 계수의 정확도를 보장한다. 이러한 유출 세포 분석은 따라서 검출창 영역 유입 세포 카운트에 대한 보증을 제공한다. 따라서, 본 발명 분석방법에서 영상 분석프로그램에 의해 수행되는 유출 세포 분석을 포함하면 검출창 내부 미세채널 표면에 부착하여 잔류하는 세포에 의한 오류를 줄이거나 거의 없애거나 없앨 수 있다. 이는 다시 본 발명 결과 정확도를 높인다.

[0148] 미세유체 장치 또는 칩 설계를 위해 유속 특징 측면이 활용될 수 있다. 예를들면, 본 발명의 일 실시태양에서 미세유체칩은 획득된 수치 시뮬레이션 결과에 기초하여 설계되었다. 이러한 수집 데이터, 예컨대 도 9a-9d에 도시된 영상에서 얻어진 데이터에 의해 유속이 예측되고, 도 8a 및 8b에서 도시된 바와 같이 도표화된다. 실험 결과는 이론 예측과 일치한다. 도표는 도 8a에 도시된 바와 같이 유체 유동 속도를 나타내는 유속 (56)을 보이고, 또한 도 8b에서 도시된 바와 같이 채널 충전시간을 나타내는 각각의 랩 타임 (58)을 보인다. 도 8a 및 8b에 도

시된 도표는 도 6a 및 6b에 도시된 사형 (serpentine) 미세유체 칩에 해당된다. 따라서, 미세유체 칩 설계 전에 수치 모델이 생성된다. 본 실시예에서 모델은 두 저장소들을 연결하는 선형 채널을 가지는 단순 모세관 미세유체 시스템에서의 유체 이동을 모사한 것이다.

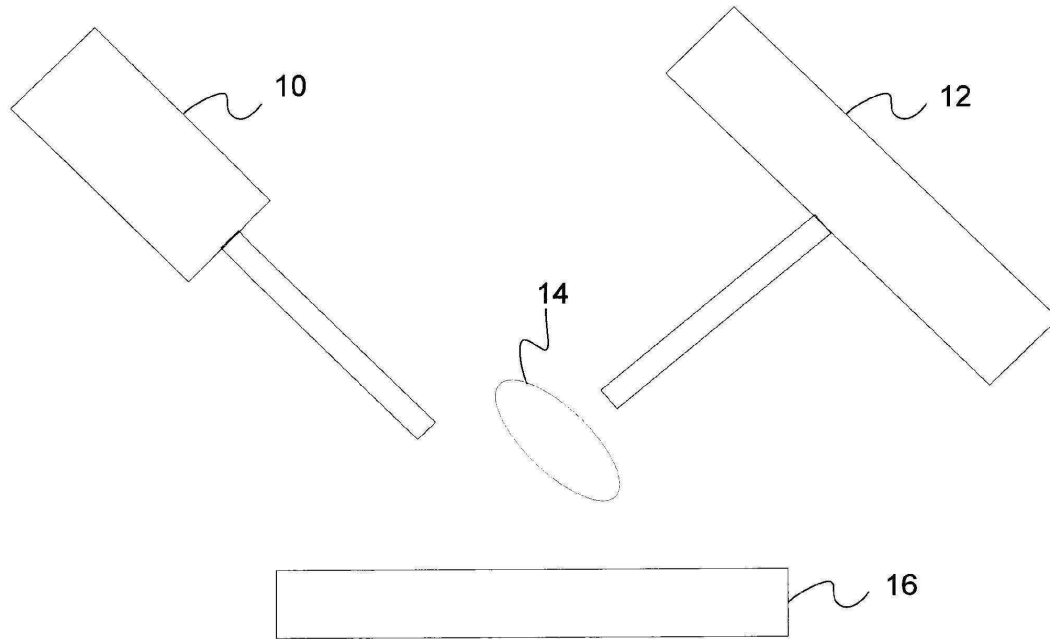
- [0149] 본 발명은 본 발명에 적용되는 인자 최적화 수단을 포함한다. 세포/입자 통계를 결정하기 위하여 동적 계수를 수행하는 본 발명의 실시태양에서, 광학 검출기 노출 시간은 계수 정확도를 최적화하기 위한 가장 중요한 인자이다. 신호 대 배경 잡음 비율이 증가할 때 본 발명 성능은 극대화된다. 이러한 극대화를 달성할 수 있는 성능은 광학 영상시스템의 검출기에 의해 포착되는 영상 노출시간에 의해 영향을 받는다. 검출기 노출시간이 너무 짧으면, 검출기에 의해 포착되는 형광 신호는 너무 낮게 신호 대 배경 잡음을 구성한다. 한편, 노출시간이 너무 길면, 샘플 세포는 너무 신속하게 이동하여 검출기가 이러한 세포의 영상을 포착할 수 없다. 세포가 지날 때 검출기에 의해 영상으로 포착되지 않으면, 따라서 등록 (registered)되지 않으면, 계수 오류 및 분석 결과 오류로 이어진다. 본 발명의 최적 노출시간은 샘플 중 형광 표지 세포가 배경 잡음에 비하여 충분한 신호를 발생하는 것이다. 검출기 구동 전자회로 역시 적당한 샘플링 속도로 모든 관심 세포/입자를 포착하기에 충분히 신속하여야 한다.
- [0150] 검출기 노출 시간 영향은 도 9a-9d에 도시된다. 도 9a는 50 ms 노출, S/B: 3/2에서 광학 영상시스템 검출기에 의해 포착된 영상을 보인다. 도 9b는 25 ms 노출, S/B: 1300/900 에서 광학 영상시스템 검출기에 의해 포착된 영상을 보인다. 도 9c는 15 ms 노출, S/B: 750/550 에서 광학 영상시스템 검출기에 의해 포착된 영상을 보인다. 도 9d는 10 ms 노출, S/B: 695/500에서 광학 영상시스템 검출기에 의해 포착된 영상을 보인다. 도 9a-9d를 비교하면 세포 형태 (60) (영상의 어두운 배경에서 밝은 형태)는 더욱 짧은 노출에서 신호 대 배경 잡음이 낮아지므로 더욱 짧은 노출에서 더욱 원형으로 나타난다.
- [0151] 선행기술 대비 본 발명의 이점을 보일 목적으로 본 발명의 실시태양을 표준 (gold standard) 유세포분석기와 비교하였다. 이러한 방법으로, 인산염 완충 식염수 (PBS) 용액에서 피코에리트린 (PE) 염료와 결합된 6-um 중합체 미세구체에 대하여 계수 측정하였다. 초기 실험은 Olympus BX50 수직 형광 현미경에서 수행하였다. 형광 여기 및 방출 측정에 대역필터 세트를 사용하였다. 평균 카운트 1007 입자/uL를 얻었고, 동일한 샘플을 사용한 유세포분석기는 970 입자/uL 카운트를 보였다.
- [0152] 비교에 활용된 본 발명의 실시태양은 규격품 광학 및 기계적 부품들로 구성되었다. 전혈 샘플에서 CD4 T 세포 농도 측정을 비교하였다. 유세포분석기 시스템, 교정에 사용하는 혈액 샘플 안정화를 위한 임류노트를 고농도 및 저농도에서 사용하여 미세유체칩을 테스트하였다. 안정화 혈액 샘플 테스트에 동일한 형광 염료를 사용하였다. 테스트 결과는, 마이크로 리터 당 평균 카운트는 620 세포들이고, 유세포분석기는 마이크로 리터 당 670 세포들로 측정되었다.
- [0153] 표준 유세포분석기 (선행, 62) 및 ChipCare 프로토타입 (64)으로 기재된 본 발명과의 테스트 결과 비교는 도 10에 정리되고, 여기에서 대면적 동적 계수 시스템 및 유세포분석기 테스트 결과가 보여진다.
- [0154] 선형 테스트를 수행하여 선행 유세포분석기 및 본 발명 간 차이를 도시하였다. 테스트 결과는 도 11에서 그래프 (66)에 도시된다. 도 11에 도시된 바와 같이 관심 세포 집단 uL 당 150 내지 720 범위에서 CD4 계수 분석을 본 발명 플랫폼으로 테스트하였다. 측정은 종래, 선행 임상 유세포분석기와 직접 비교하였고, 임상 연관 세포 집단 범위에서 수행되었다. 비교 결과 두 측정 간에 98.6% 일치를 보였다. (도 11의 표 (66)에 도시된 각각의 데이터 포인트는 해당 범위에 대하여 얻어진 계수 결과의 평균이다)
- [0155] 본 발명은 단일 칼라 또는 다중 칼라 영상을 수행할 수 있다. 도 12에 도시된 바와 같이, 본 발명 실시태양은 2종의 칼라 영상을 수행하도록 작동된다. 다중 칼라 영상을 통하여 본 발명은 다중화 성능을 보이고, 따라서 개별 세포군 집단의 통계 및 다중 세포들의 자동적 통계를 생성한다. 필터 세트는 본 발명 광학 영상시스템에 포함되고 2종의 반달 형상의 광학 필터가 조합되어 광학 검출기 전단에 놓인다. 2종의 반달 형상 광학 필터는 본 발명 실시태양에서 나란히 놓인다. 2종의 반달 형상의 광학 필터는 본 발명 실시태양들을 위하여 맞춤 설계될 수 있다.
- [0156] 특정 형광색소로 표지화된 입자는 광학 검출기의 상응 패널/구역에 존재할 수 있다. 도 12에 도시된 바와 같이 본 발명 실시태양의 2중 칼라 영상의 예시로서, 사용된 2종의 형광 염료는 PE 및 PE-Cy5이었다. 각각의 염료는 특정 세포에 결합되어, CD4 세포는 PE 염료로 표지화되고 CD45 세포는 PE-Cy5 분자로 표지화 되었다. 검출 구역의 좌측 절반 (68)은 제1 형광 표지 (PE)의 방출 파장에서 샘플 영상을 포착한 것이고, 녹색 칼라로 나타나며, 검출 구역의 우측 패널 (70)은 제2 형광 표지 (PE-Cy5)의 방출 파장에서 샘플 영상을 기록한 것이고, 적색 칼라

로 나타난다. 2종의 세포 집단은 이러한 방법으로 측정되어, CD4 및 CD45를 보였다. 본 발명에 의한 이들 두 세트의 영상들을 조합 및 비교를 통해 표지 세포들이 측정된다.

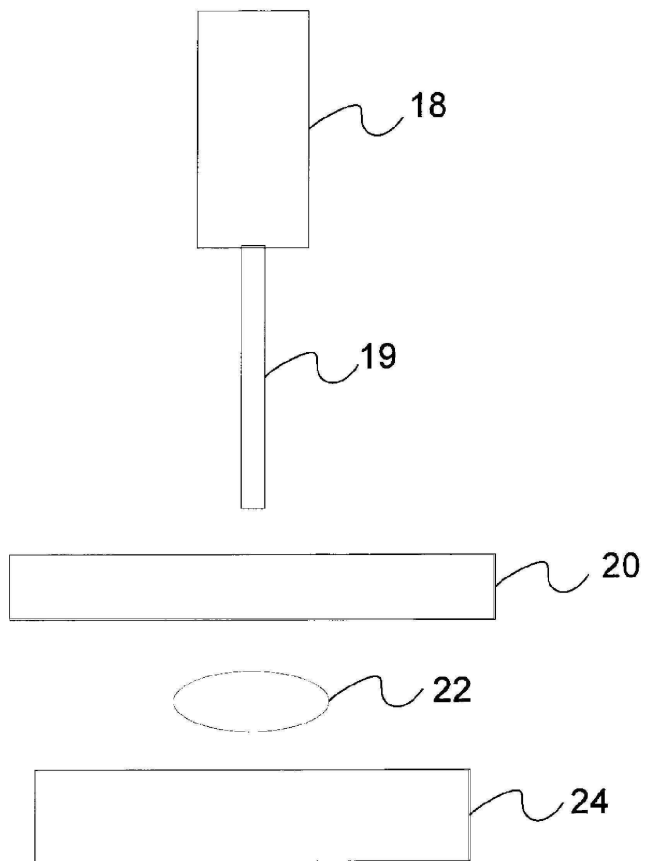
[0157] 본원에 기재된 실시태양의 다른 변형들이 본 발명의 범위를 벗어나지 않고 구현될 수 있다는 것은 당업자에게 명백하다. 따라서 기타 변형들이 가능하다.

도면

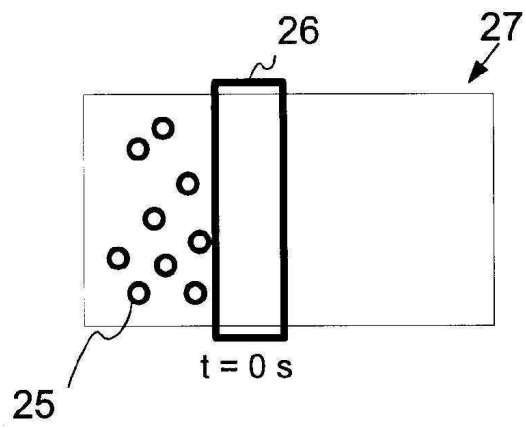
도면1



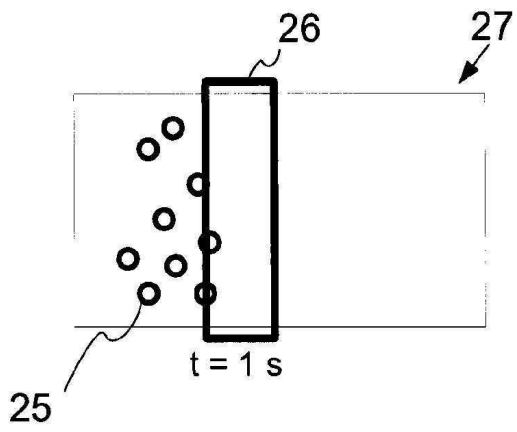
도면2



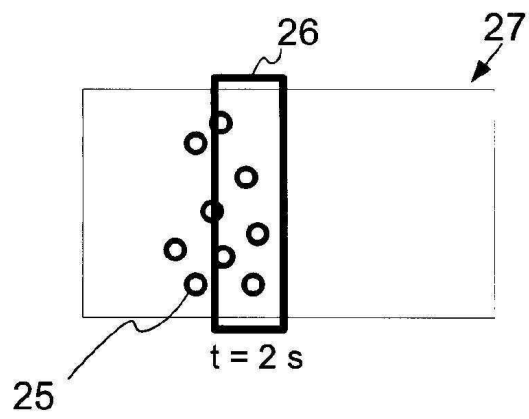
도면3a



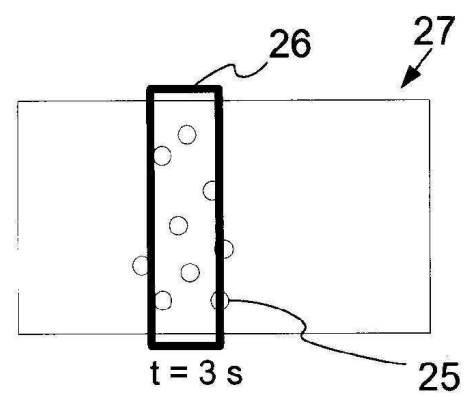
도면3b



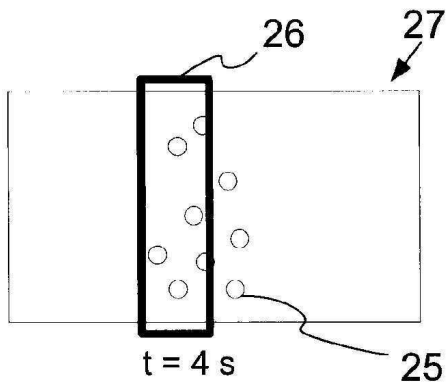
도면3c



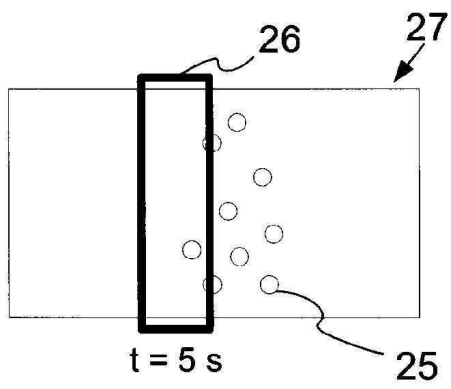
도면3d



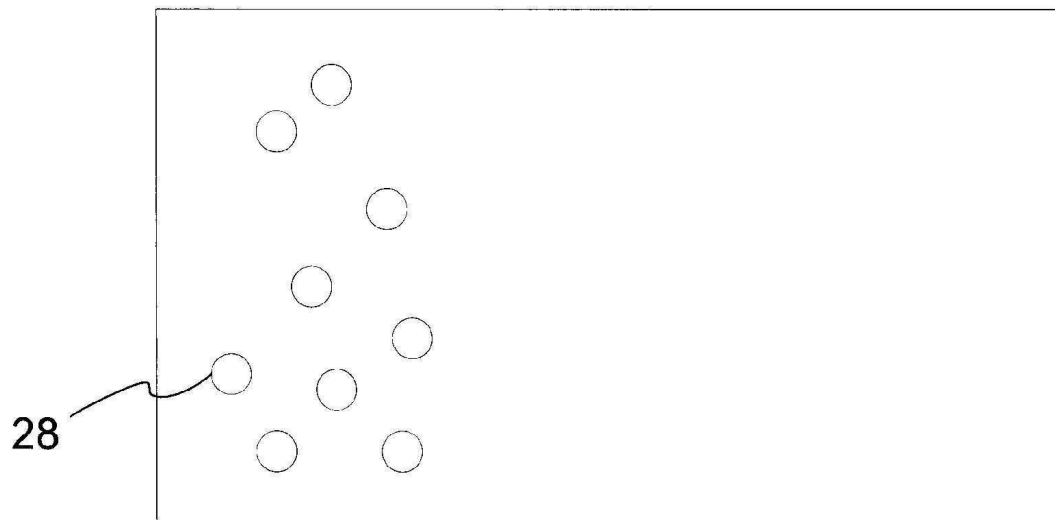
도면3e



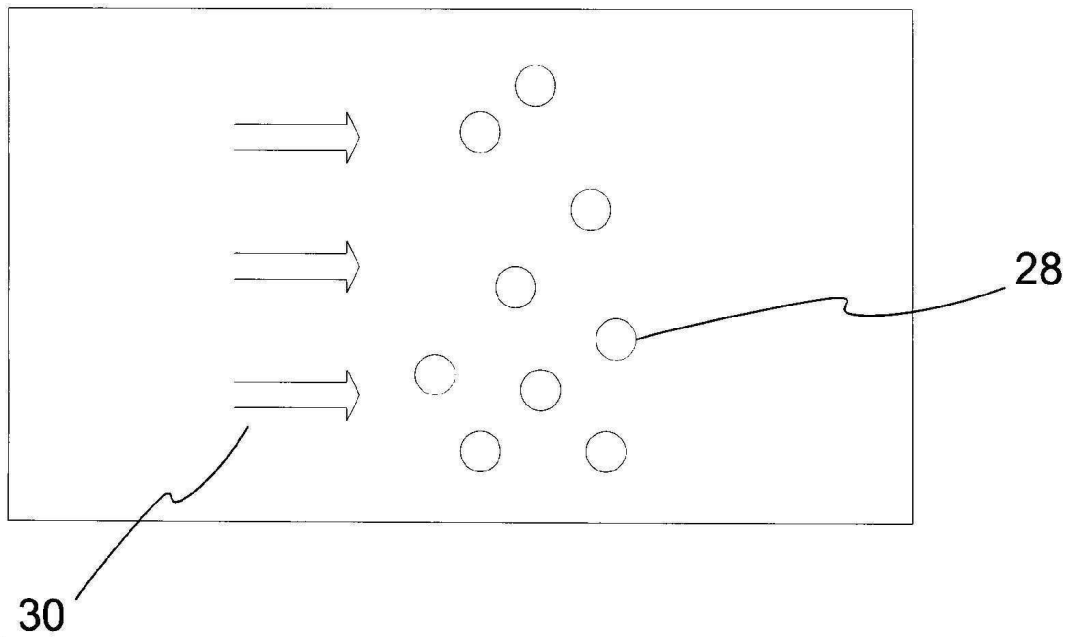
도면3f



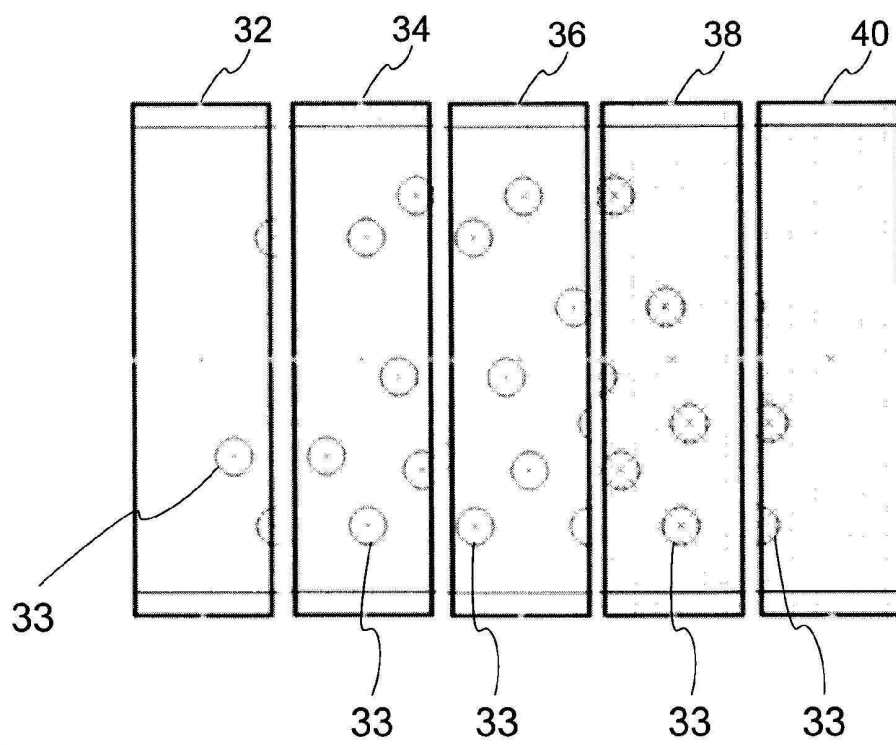
도면4a



도면4b



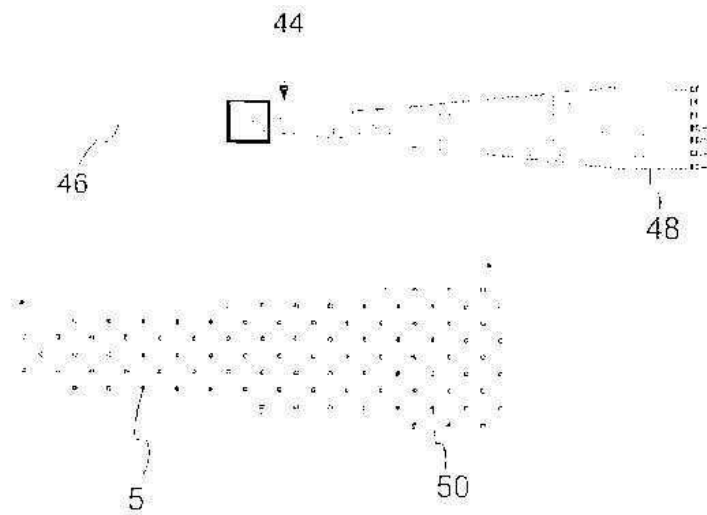
도면5



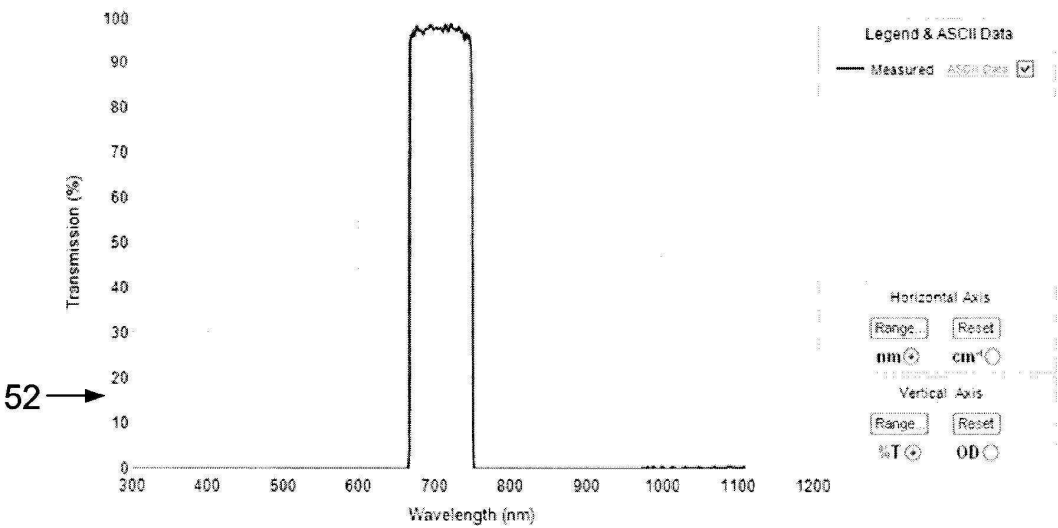
도면6a



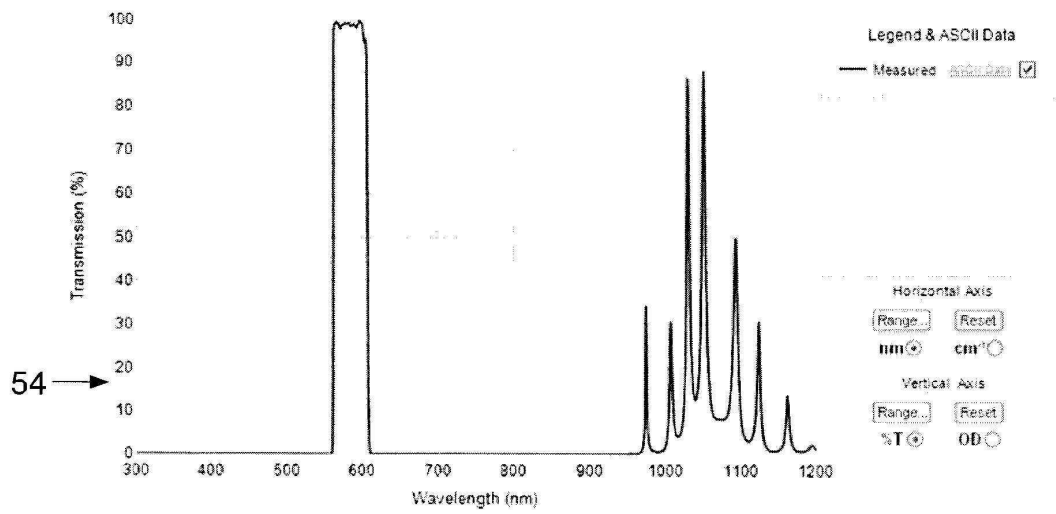
도면6b



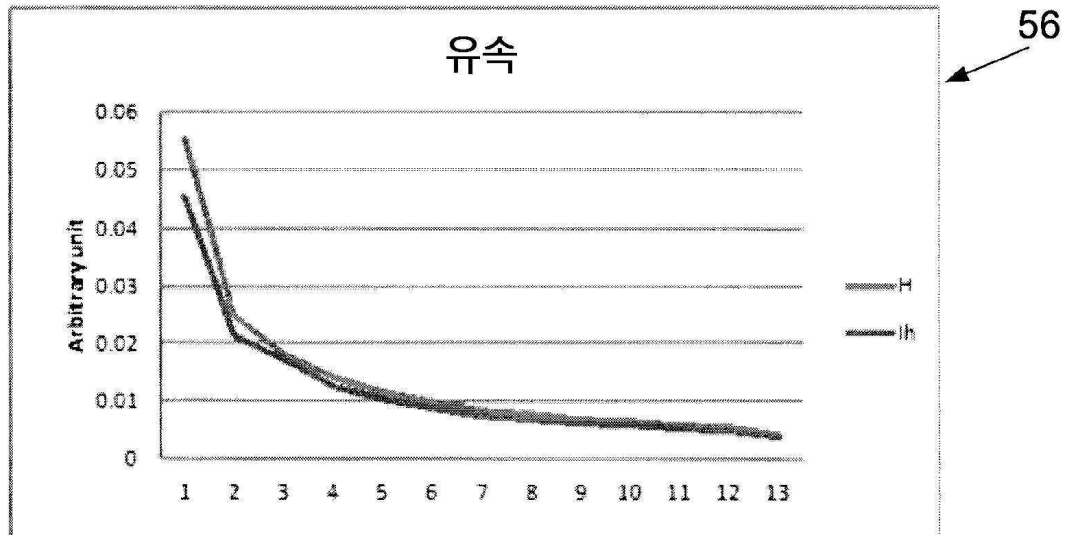
도면7a



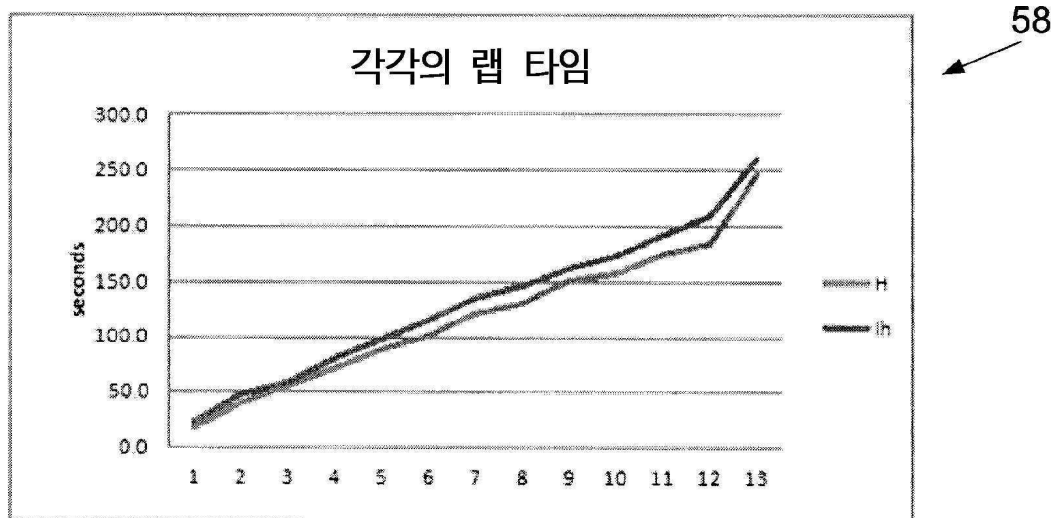
도면7b



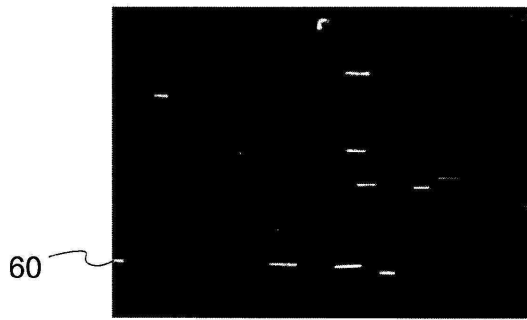
도면8a



도면8b



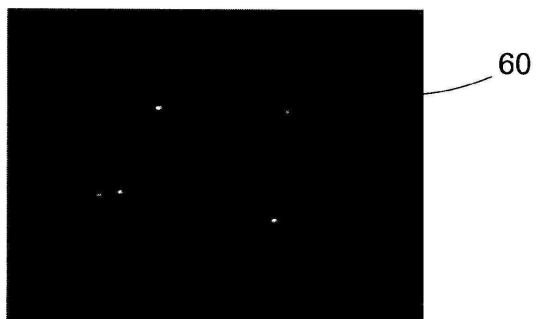
도면9a



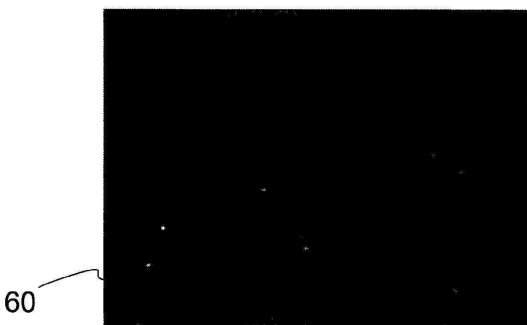
도면9b



도면9c



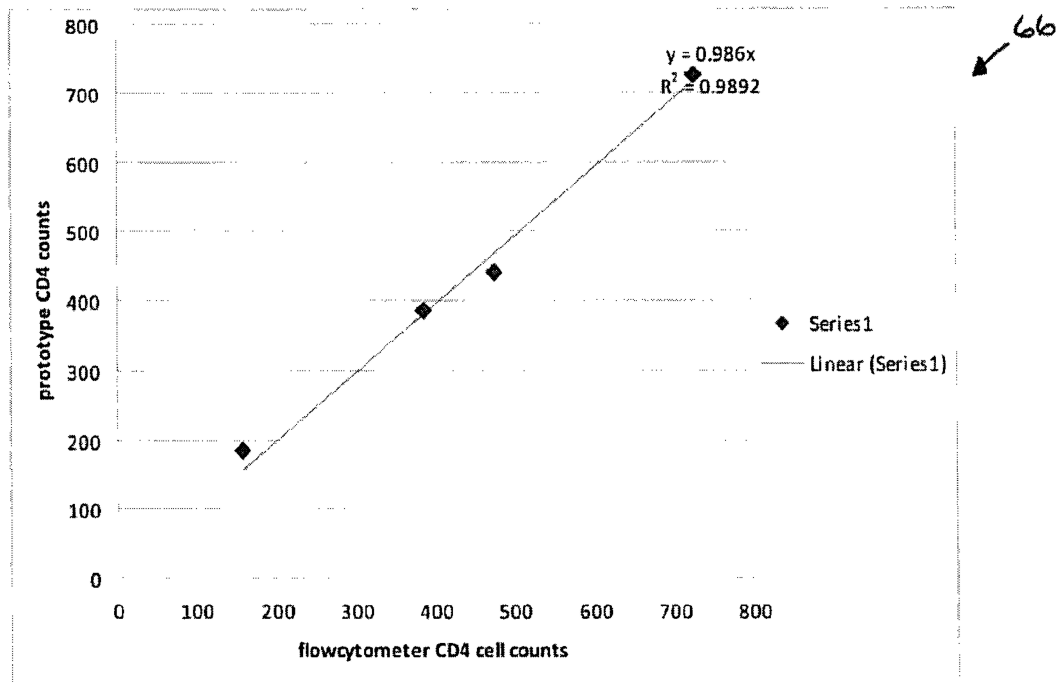
도면9d



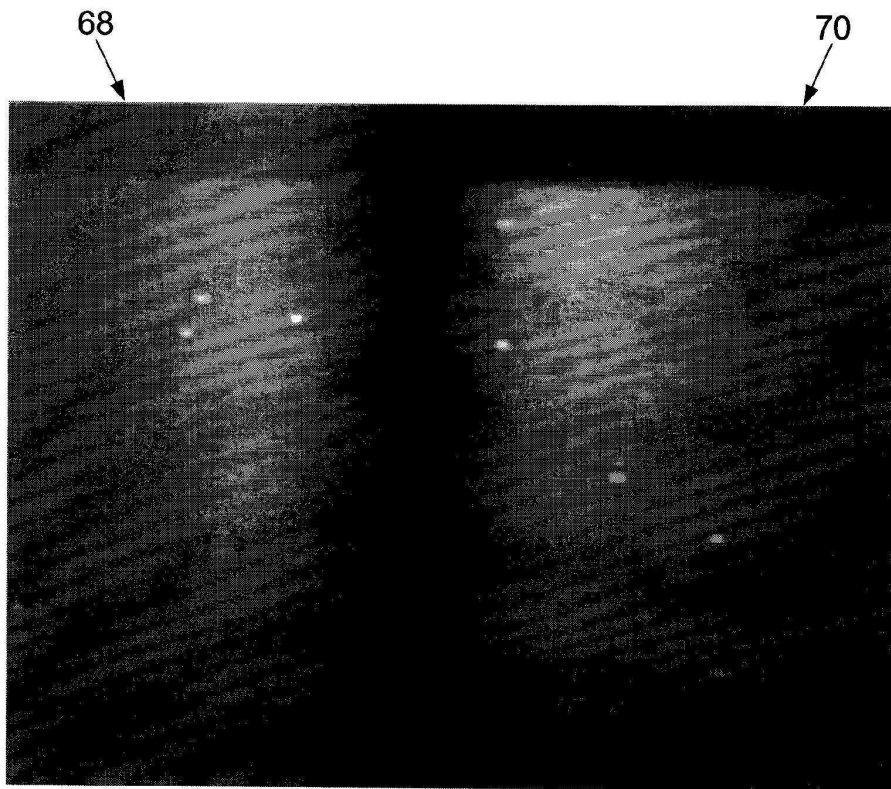
도면10

		FlowCount Fluorospheres (입자들#/μL)	Immunotrol High (세포들#/μL)	Immunotrol Low (세포들#/μL)
62→	유세포분석기	1007 ± 100	670 ± 70	158 ± 28
64→	ChipCare 프로토타입	970 ± 70	620 ± 15	184 ± 17

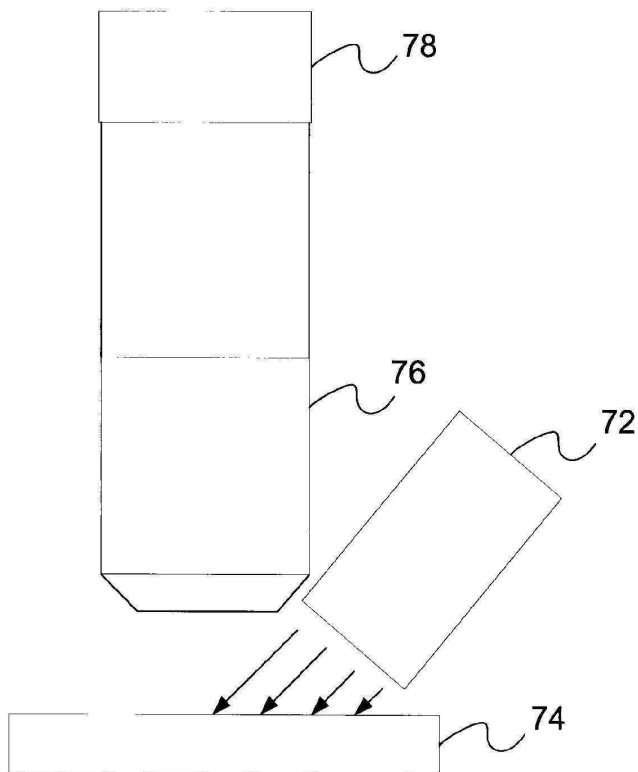
도면11



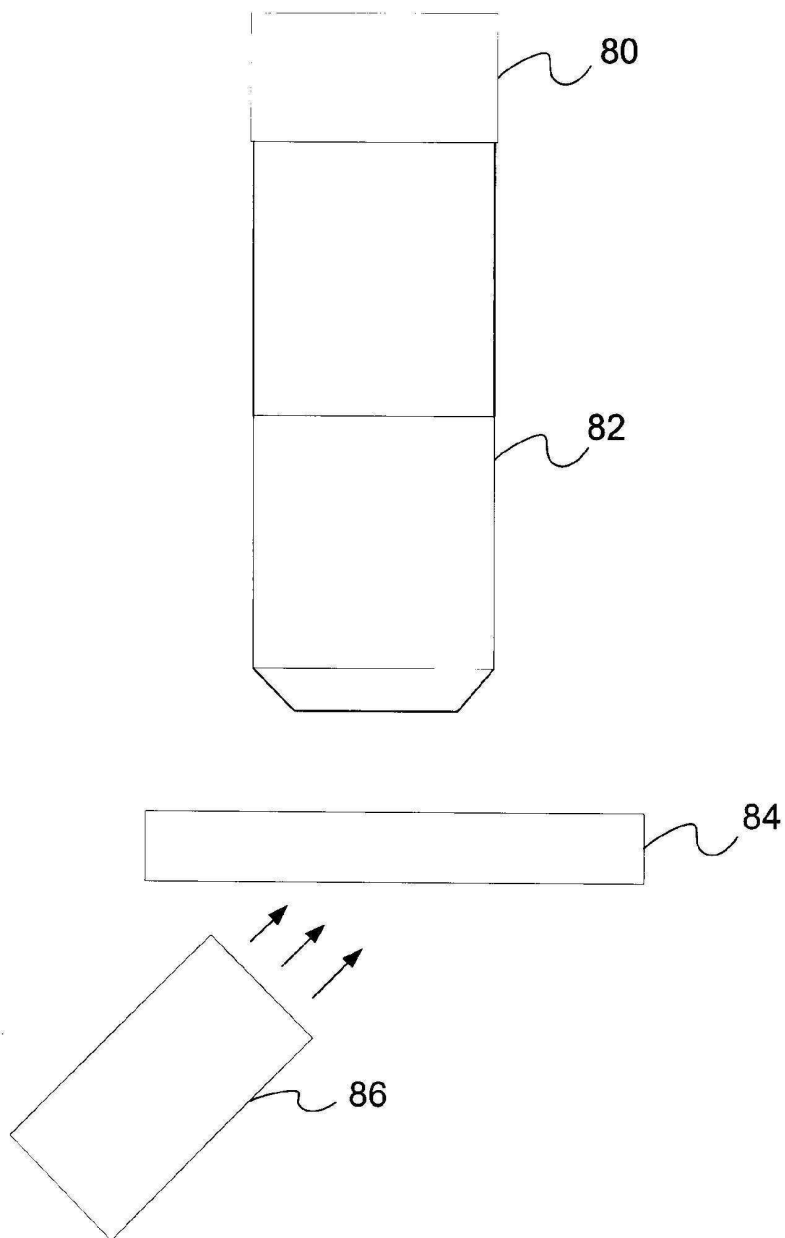
도면12



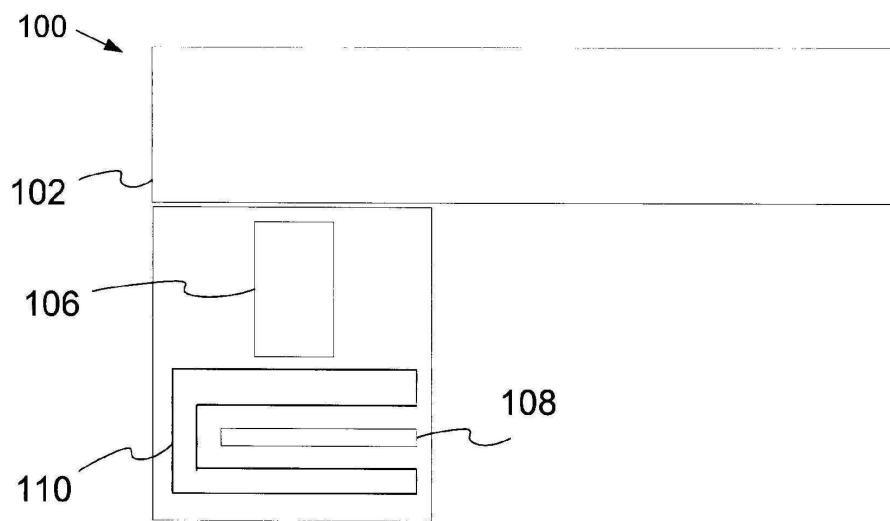
도면13



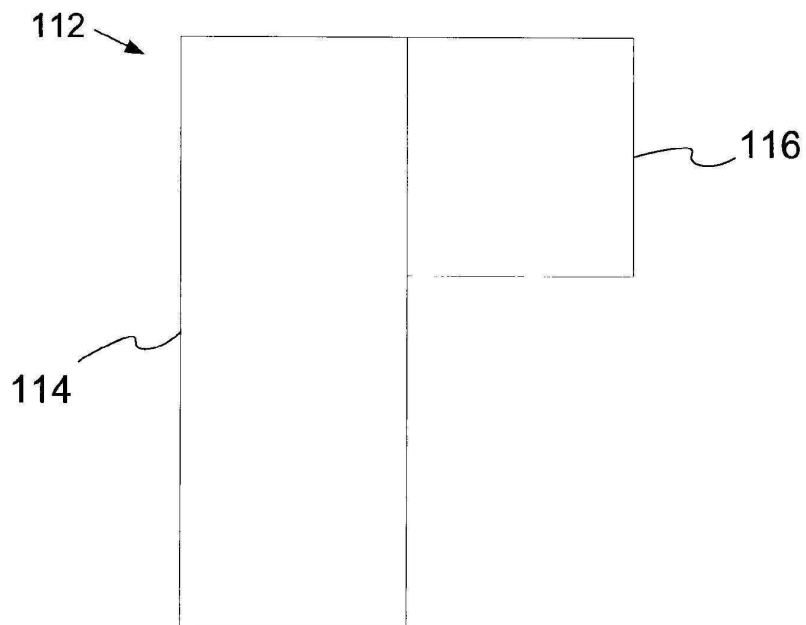
도면14



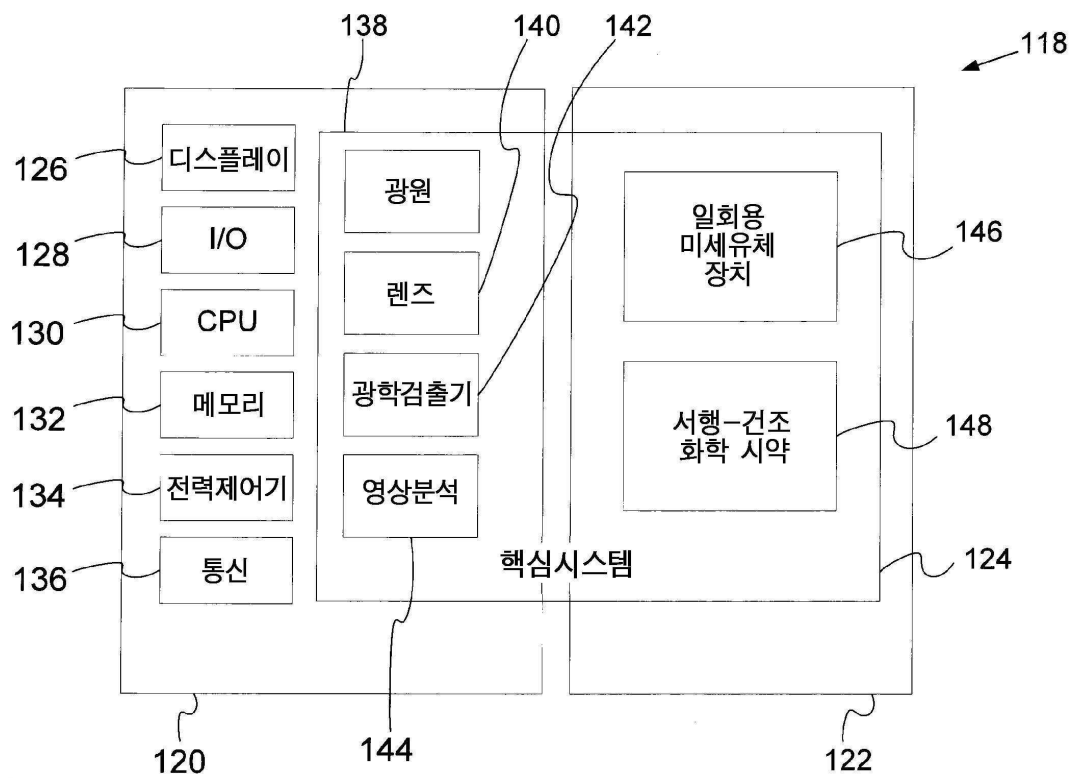
도면15



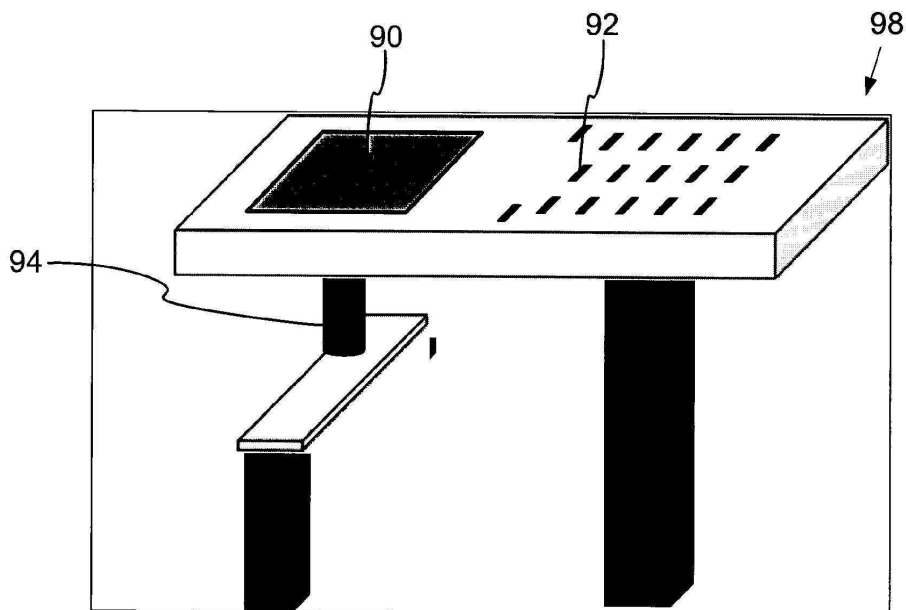
도면16



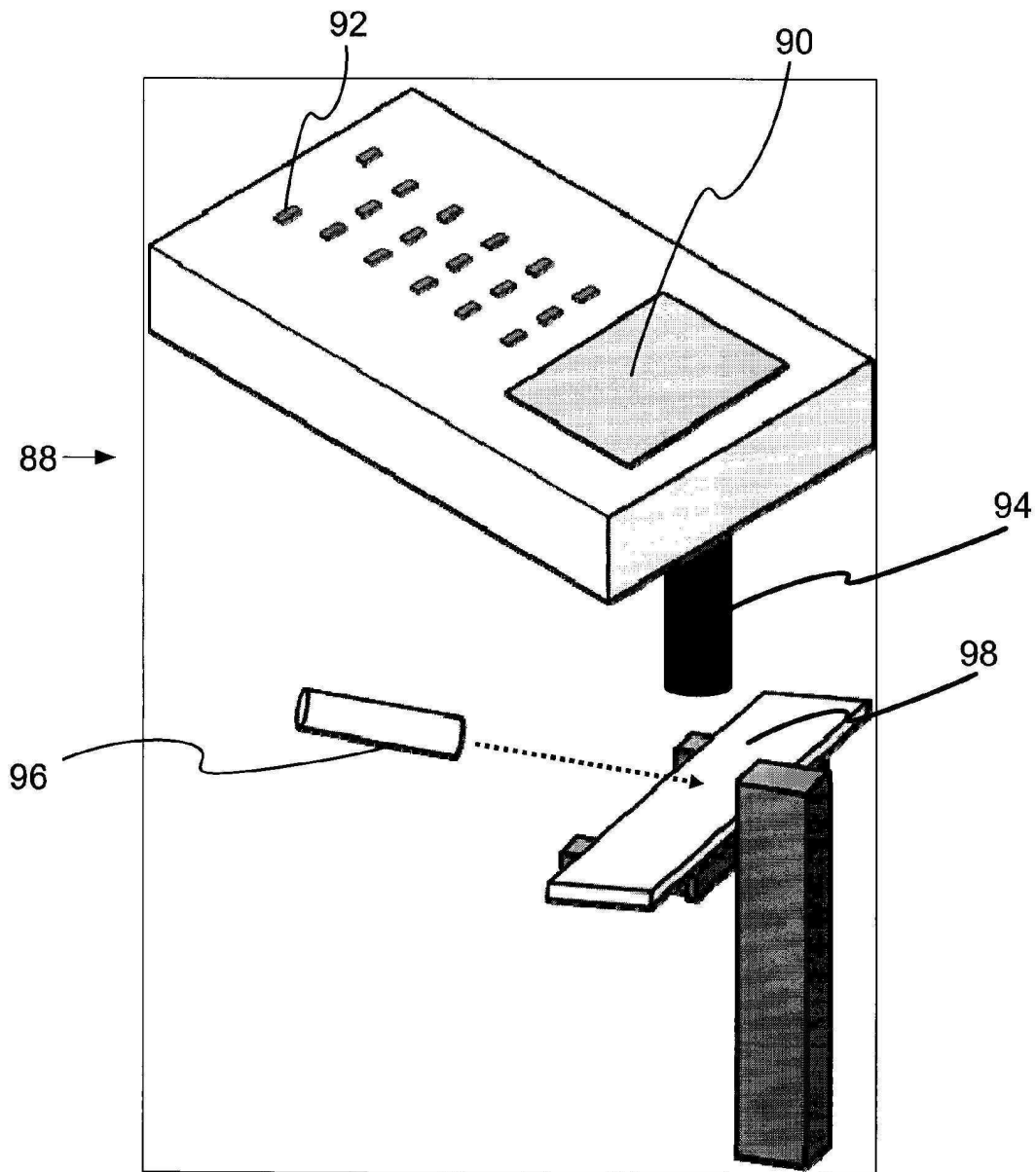
도면17



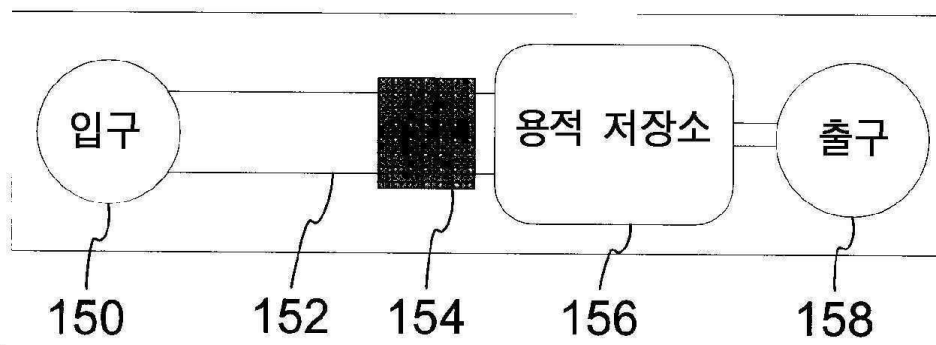
도면18



도면19



도면20



도면21

