



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105381824 B

(45)授权公告日 2019.04.23

(21)申请号 201510530641.2

(22)申请日 2015.08.26

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105381824 A

(43)申请公布日 2016.03.09

(30)优先权数据

62/042,079 2014.08.26 US

(73)专利权人 中央研究院

地址 中国台湾台北市

(72)发明人 张瑛芝 赖志铭 吴仁家

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

代理人 郑霞

(51)Int.Cl.

B01L 3/00(2006.01)

(56)对比文件

US 2013/0121895 A1, 2013.05.16,

US 3784015 A, 1974.01.08,

CN 103261436 A, 2013.08.21,

CN 103998932 A, 2014.08.20,

WO 2008/157257 A1, 2008.12.24,

CN 101765762 A, 2010.06.30,

Park等. Continuous focusing of microparticles using inertial lift force and vorticity via multi-orifice microfluidic channels.《Lab on Chip》.2008, (第9期), 第939-948页.

审查员 武立民

权利要求书2页 说明书34页

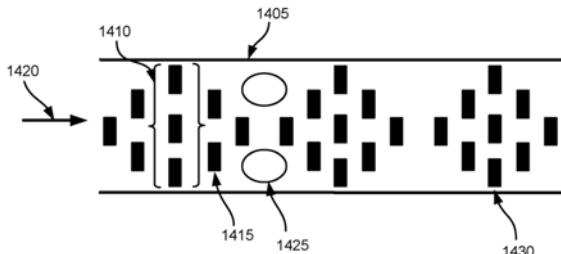
序列表4页 附图25页

(54)发明名称

收集器架构布局设计

(57)摘要

本公开内容提供了用于使用散布式微结构设计来收集罕见细胞的组合物和方法。



1. 一种微流体通道,包括:

所述通道内的多个微结构;以及

多个旋涡区域,在该旋涡区域处响应于流体流动而生成一个或多个旋涡,其中每个旋涡区域基本上不含所述多个微结构并且包含至少一个圆柱形容积,该圆柱形容积具有(1)所述通道的高度和(2)具有至少为所述通道的宽度的20%的直径的基部,

其中沿着所述通道的长度,所述多个旋涡区域的每一个与另一个分隔至少一个微结构,

其中所述微流体通道和所述多个微结构涂有不结垢层和一组结合部分,该组结合部分被配置用于选择性地结合感兴趣的颗粒,并且

其中所述多个微结构在所述通道内的深度不同。

2. 如权利要求1所述的通道,其中每个旋涡区域包含至少一个矩形容积,该矩形容积具有(1)所述通道的高度,(2)等于所述直径的宽度,以及(3)至少为所述通道的宽度的30%的长度。

3. 如权利要求1所述的通道,其中所述多个旋涡区域沿着所述通道的长度定位成回文图案。

4. 如权利要求1所述的通道,其中所述多个旋涡区域沿着所述通道的长度定位成重复图案。

5. 如权利要求1所述的通道,其中所述多个微结构布置成彼此基本平行的多个列,其中所述多个列中的每个列包括一列长度,所述列长度等于从该列中的第一微结构的最外边缘到最后一个微结构的最外边缘的距离,并且其中所述多个列中的每一个包括垂直于流体流动的所述微结构的线性布置。

6. 如权利要求5所述的通道,其中所述多个列包括具有第一长度的多个列和具有大于所述第一长度的第二长度的多个列,并且其中所述第一长度等于或小于所述第二长度的50%。

7. 如权利要求5所述的通道,其中所述多个列包括具有第一长度的列和具有大于所述第一长度的第二长度的列,并且其中每个具有所述第一长度的列与至少另一具有所述第一长度的列相邻。

8. 如权利要求1所述的通道,其中所述通道包括沿着平行于通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最小距离以及沿着平行于所述通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最大距离,并且其中所述最小距离等于或小于所述最大距离的60%。

9. 如权利要求7所述的通道,其中所述多个列以具有3,2,1,1,2,3,2,1,1,2,3个微结构的列的图案排列。

10. 一种微流体通道,其具有通道宽度、通道高度以及从所述通道的入口延伸到出口的通道长度,其中所述微流体通道包括安置于其中的多个微结构,所述通道包括:

第一区,其包括所述通道高度、所述通道长度、等于或小于所述通道宽度的40%的宽度,其中所述第一区包括所述多个微结构中的60%或更多;以及

第二区,其位于所述第一区之外,该第二区包括多个旋涡区域,在该旋涡区域处响应于流体流动而生成一个或多个旋涡,其中每个旋涡区域不含所述多个微结构,并且其中沿着所述通道长度,所述多个旋涡区域的每一个与另一个分隔至少一个微结构,

其中所述多个微结构在所述通道内的深度不同。

11. 如权利要求10所述的通道,其中所述第二区包括所述多个微结构中的20%或更多。

12. 如权利要求10所述的通道,其中所述第二区基本上不含所述多个微结构。

13. 如权利要求10所述的通道,其中沿着所述通道长度以规则间隔生成一个或多个旋涡。

14. 如权利要求10所述的通道,其中所述第一区与所述通道的壁是等距的。

15. 如权利要求10所述的通道,其中所述多个微结构沿着所述通道长度布置成重复图案。

16. 如权利要求10所述的通道,其中所述多个微结构布置成彼此基本平行的多个列,并且其中所述多个列中的每个列包括一列长度,所述列长度等于从所述列中的第一微结构的最外边缘到最后一个微结构的最外边缘的距离。

17. 如权利要求16所述的通道,其中所述多个列包括具有第一长度的列和具有大于所述第一长度的第二长度的列,并且其中所述第一长度等于或小于所述第二长度的60%。

18. 如权利要求16所述的通道,其中所述多个列包括具有第一长度的列和具有大于所述第一长度的第二长度的列,并且其中每个具有所述第一长度的列与至少另一具有所述第一长度的列相邻。

19. 如权利要求10所述的通道,其中所述多个微结构位于所述第一区中的百分比由
$$\frac{\text{第一区内的微结构的数目}}{\text{通道内的微结构的总数}}$$
 定义。

20. 如权利要求10所述的通道,其中所述多个微结构位于所述第一区中的百分比由
$$\frac{\text{第一区内的微结构的体积}}{\text{通道内的微结构的总体积}}$$
 定义。

收集器架构布局设计

背景技术

[0001] 罕见细胞,诸如循环肿瘤细胞等,可能由于其在血液样品中相对较低的丰度而难以捕捉。循环肿瘤细胞的分离和分析对于确定肿瘤的起源或理解肿瘤转移的过程可能十分重要。罕见细胞,如循环肿瘤细胞等,是脆弱的。本公开内容提供了用于这样的罕见细胞的分离的新方法。

发明内容

[0002] 在一个方面,本公开内容提供了一种微流体通道。该通道包括:所述通道内的多个微结构;以及多个旋涡(vortex)区域,在该旋涡区域处响应于流体流动而生成一个或多个旋涡,其中每个旋涡区域基本上不含所述多个微结构并且包含至少一个圆柱形容积,该圆柱形容积具有(1)所述通道的高度和(2)具有至少为所述通道的宽度的10%的直径的基部,其中所述微流体通道涂有不结垢层和一组结合部分,该组结合部分被配置用于选择性地结合感兴趣的颗粒。

[0003] 在一些实施方式中,所述基部具有至少为所述通道的宽度的20%的直径。在一些实施方式中,所述多个旋涡区域沿着所述通道的长度定位成回文图案。在一些实施方式中,所述多个旋涡区域沿着所述通道的长度定位成重复图案。在一些实施方式中,所述多个微结构布置成彼此基本平行的多个列,并且其中所述多个列中的每个列包括列长度,所述列长度等于从该列中的第一微结构的最外边缘到最后一个微结构的最外边缘的距离。在一些实施方式中,所述多个列包括具有第一长度的列和具有大于所述第一长度的第二长度的列,并且其中所述第一长度等于或小于所述第二长度的80%。在一些实施方式中,所述多个列包括具有第一长度的列和具有大于所述第一长度的第二长度的列,并且其中每个具有所述第一长度的列与至少另一具有所述第一长度的列相邻。在一些实施方式中,所述通道包括沿着平行于通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最小距离以及沿着平行于所述通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最大距离,并且其中所述最小距离等于或小于所述最大距离的50%。

[0004] 在另一方面,提供了一种微流体通道,其具有通道宽度、通道高度以及从所述通道的入口延伸到出口的通道长度,其中所述微流体通道包括安置于其中的多个微结构。所述通道包括:第一区,其包括所述通道高度、所述通道长度、等于或小于所述通道宽度的40%的宽度,其中所述第一区包括所述多个微结构中的60%或更多;以及第二区,其位于所述第一区之外。

[0005] 在一些实施方式中,所述第二区包括所述多个微结构中的10%或更多。在一些实施方式中,所述第二区基本上不含所述多个微结构。在一些实施方式中,所述第二区包括所有微结构体积的少于10%。在一些实施方式中,沿着所述通道长度以规则间隔生成一个或多个旋涡。在一些实施方式中,所述第一区与所述通道的壁是等距的。在一些实施方式中,所述多个微结构沿着所述通道长度布置成重复图案。在一些实施方式中,所述多个微结构布置成彼此基本平行的多个列,并且其中所述多个列中的每个列包括列长度,所述列长度

等于从所述列中的第一微结构的最外边缘到最后一个微结构的最外边缘的距离。在一些实施方式中,所述多个列包括具有第一长度的列和具有大于所述第一长度的第二长度的列,并且其中所述第一长度等于或小于所述第二长度的80%。在一些实施方式中,所述多个列包括具有第一长度的列和具有大于所述第一长度的第二长度的列,并且其中每个具有所述第一长度的列与至少另一具有所述第一长度的列相邻。在一些实施方式中,所述第二区是不连续的。在一些实施方式中,所述多个微结构位于所述第一区中的百分比取决于第一区内的微结构的数目
通道内的微结构的总数。在一些实施方式中,其中所述多个微结构位于所述第一区中的百分比取决于第一区内的微结构的体积
通道内的微结构的总体积。

[0006] 在另一方面,本公开内容提供了一种微流体通道,其包括多个微结构,所述多个微结构布置于所述通道的上表面上从而形成沿着所述通道的侧面的无微结构的区域,其中所述上表面具有至少25%无微结构的表面积;并且所述通道的表面包括不结垢组合物。在一些实施方式中,所述无微结构区域沿着所述通道的壁对称布置。在一些实施方式中,所述通道包括至少100个微结构。在一些实施方式中,所述微结构布置在所述通道的中央区域中。在一些实施方式中,所述微结构在所述通道内布置成对称图案。在一些实施方式中,第一无微结构区域与处于上游或下游的第二无微结构区域由至少一列微结构分隔开。在一些实施方式中,所述第一无微结构区域和所述通道内的与所述第一无微结构区域对称的第二无微结构区域由单一微结构分隔开。在一些实施方式中,所述通道包括布置成列的微结构,在每列具有1至20个微结构。在一些实施方式中,所述无微结构区域是三角形的。在一些实施方式中,所述无微结构区域是矩形的。在一些实施方式中,所述无微结构区域的长度在具有最大数目的微结构的列中的微结构的最外边缘之间延伸。在一些实施方式中,所述无微结构区域的中点位于具有最小数目的微结构的列处。在一些实施方式中,所述无微结构区域在所述通道内布置成对称图案。在一些实施方式中,所述不结垢组合物覆盖所述微结构和与所述微结构相对的通道壁。在一些实施方式中,所述不结垢组合物包括脂质层。在一些实施方式中,所述脂质层包括单层、双层、脂质体或其任何组合。在一些实施方式中,所述不结垢组合物包括结合部分。

[0007] 在一个方面,本公开内容提供了一种微流体通道,其包括:多个微结构,所述多个微结构在所述通道内布置成多个列,其中:每个c列中的微结构的数目不同于c-1列中的微结构的数目和c+1列中的微结构的数目,其中一列中的微结构的最小数目为m,而一列中的微结构的最大数目为n,其中n-m大于或等于2,并且其中每c-1列至c+n列中的微结构的数目反复地从m增大到n并继而减小回m,并且其中m等于1或者n大于或等于3。在一些实施方式中,所述微结构的至少一个子集邻接所述通道的第一侧以及所述通道的上表面。在一些实施方式中,列的数目大于10。在一些实施方式中,列的数目大于30。在一些实施方式中,一列在该列的最外侧微结构的末端之间跨越所述通道的至少75%。在一些实施方式中,所述通道具有至少1mm的宽度。在一些实施方式中,所述通道具有至少3mm的宽度。在一些实施方式中,所述微结构是椭圆形的。在一些实施方式中,一列中的微结构彼此分隔开至少200微米的距离。在一些实施方式中,增大和减小的图案重复至少10次。在一些实施方式中,所述微结构不穿越整个通道。在一些实施方式中,所述微结构布置于所述通道的顶棚中。在一些实

施方式中,所述通道沿着所述列具有均匀的宽度。在一些实施方式中,所述微流体通道具有大于1000微米但小于10000微米的宽度。在一些实施方式中,所述微结构具有不均匀的形状。在一些实施方式中,m为2。在一些实施方式中,n为3。在一些实施方式中,n为4。在一些实施方式中,微结构的数目随着每个相继的列而逐渐变小或变大。在一些实施方式中,微结构的数目每隔两列逐渐变小或变大。在一些实施方式中,所述微结构具有圆润边角。在一些实施方式中,所述微结构具有锐利边角。在一些实施方式中,所述微结构为椭圆形,并且定向成较长尺寸垂直于穿过所述通道的流动方向。在一些实施方式中,所述列分隔开至少250或350微米。在一些实施方式中,所述列内的所述微结构分隔开至少100或150微米。在一些实施方式中,所述微结构的宽度为至少100或140微米。在一些实施方式中,所述微结构的长度为至少500或900微米。在一些实施方式中,所述微结构具有至少10或20微米的深度。在一些实施方式中,所述通道比所述微结构深至少20微米。在一些实施方式中,所述微结构向所述通道中延伸不超过所述通道的深度的一半。在一些实施方式中,所述通道包括不结垢组合物。在一些实施方式中,所述不结垢组合物覆盖所述微结构和与所述微结构相对的通道壁。在一些实施方式中,所述不结垢组合物包括脂质层。在一些实施方式中,所述脂质层包括单层、双层、脂质体或其任何组合。在一些实施方式中,所述不结垢组合物包括结合部分。在一些实施方式中,所述微结构中之一包含结合的细胞。在一些实施方式中,所述结合的细胞由结合部分结合至所述通道。在一些实施方式中,所述细胞是罕见细胞。在一些实施方式中,所述细胞是循环肿瘤细胞。

[0008] 在一个方面,本公开内容提供了一种微流体通道,其包括:多个微结构,所述多个微结构在所述通道内布置成多个列,其中:c列中的微结构的最小数目为m,而c'列中的微结构的最大数目为n;微结构的数目在m与n之间逐渐变大,并继而在n与m之间逐渐变小;至少两个或更多个相邻的列具有相同数目的微结构;并且n-m大于2。在一些实施方式中,所述微结构的至少一个子集邻接所述通道的第一侧以及所述通道的上表面。在一些实施方式中,列的数目大于10。在一些实施方式中,列的数目大于30。在一些实施方式中,一列在该列的最外侧微结构的末端之间跨越所述通道的至少75%。在一些实施方式中,所述通道具有至少1mm的宽度。在一些实施方式中,所述通道具有至少3mm的宽度。在一些实施方式中,所述微结构是椭圆形的。在一些实施方式中,一列中的微结构彼此分隔开至少200微米的距离。在一些实施方式中,增大和减小的图案重复至少10次。在一些实施方式中,所述微结构不穿越整个通道。在一些实施方式中,所述微结构布置于所述通道的顶棚中。在一些实施方式中,所述通道沿着所述列具有均匀的宽度。在一些实施方式中,所述微流体通道具有大于1000微米但小于10000微米的宽度。在一些实施方式中,所述微结构具有不均匀的形状。在一些实施方式中,所述具有相同数目的微结构的两个或更多个相邻的列各自具有数目为m的微结构。在一些实施方式中,所述具有相同数目的微结构的两个或更多个相邻的列具有数目不为m的微结构。在一些实施方式中,m为2。在一些实施方式中,n为3。在一些实施方式中,n为4。在一些实施方式中,微结构的数目随着每个相继的列而逐渐变小或变大。在一些实施方式中,微结构的数目每隔两列逐渐变小或变大。在一些实施方式中,所述微结构具有圆润边角。在一些实施方式中,所述微结构具有锐利边角。在一些实施方式中,所述微结构为椭圆形,并且定向成较长尺寸垂直于穿过所述通道的流动方向。在一些实施方式中,所述列分隔开至少250或350微米。在一些实施方式中,所述列内的所述微结构分隔开至少100或

150微米。在一些实施方式中，所述微结构的宽度为至少100或140微米。在一些实施方式中，所述微结构的长度为至少500或900微米。在一些实施方式中，所述微结构具有至少10或20微米的深度。在一些实施方式中，所述通道比所述微结构深至少20微米。在一些实施方式中，所述微结构向所述通道中延伸不超过所述通道的深度的一半。在一些实施方式中，所述通道包括不结垢组合物。在一些实施方式中，所述不结垢组合物覆盖所述微结构和与所述微结构相对的通道壁。在一些实施方式中，所述不结垢组合物包括脂质层。在一些实施方式中，所述脂质层包括单层、双层、脂质体或其任何组合。在一些实施方式中，所述不结垢组合物包括结合部分。在一些实施方式中，所述微结构中之一包含结合的细胞。在一些实施方式中，所述结合的细胞由结合部分结合至所述通道。在一些实施方式中，所述细胞是罕见细胞。在一些实施方式中，所述细胞是循环肿瘤细胞。

[0009] 在一个方面，本公开内容提供了一种微流体通道，其包括所述通道内的微结构的回文微结构图案，其中所述回文微结构图案包括安置于多个列内的多个微结构，其中m为一列中的微结构的最小数目，其中x为一列中的微结构的最大数目，其中所述回文微结构图案在所述通道中重复其自身，其中x-m等于或大于2。

[0010] 在一个方面，本公开内容提供了一种微流体通道，其包括：多个微结构，所述多个微结构布置于所述通道内的上表面上，其中：所述微结构包括第一大小的微结构和第二大小的微结构，其中所述第一大小的微结构具有比所述第二大小的微结构的任何尺寸更大的尺寸；其中所述多个微结构布置成列，每个列被指定为c-1到c+n；其中所述列中的第一大小的微结构的数目在m与n之间交替，其中n-m大于或等于1；并且其中具有少于n个第一大小的微结构的列进一步包括靠近所述微流体通道的壁的一个或多个第二大小的微结构。在一些实施方式中，所述列包括一系列的10个或更多个列。在一些实施方式中，所述微结构的至少一个子集邻接所述通道的第一侧以及所述通道的上表面。在一些实施方式中，列的数目大于10。在一些实施方式中，列的数目大于30。在一些实施方式中，一列在该列的最外侧微结构的末端之间跨越所述通道的至少75%。在一些实施方式中，所述通道具有至少1mm的宽度。在一些实施方式中，所述通道具有至少3mm的宽度。在一些实施方式中，所述微结构是椭圆形的。在一些实施方式中，一列中的微结构彼此分隔开至少200微米的距离。在一些实施方式中，所述图案重复至少10次。在一些实施方式中，所述微结构不穿越整个通道。在一些实施方式中，所述微结构布置于所述通道的顶棚中。在一些实施方式中，所述通道沿着所述列具有均匀的宽度。在一些实施方式中，所述微流体通道具有大于1000微米但小于10000微米的宽度。在一些实施方式中，所述微结构具有不均匀的形状。在一些实施方式中，m为2并且n为3。在一些实施方式中，m为3并且n为4。在一些实施方式中，具有数目为m的微结构的列的数目至少重复两次，而随后是具有数目为n的微结构的相同数目的列。在一些实施方式中，所述微结构具有圆润边角。在一些实施方式中，所述微结构具有锐利边角。在一些实施方式中，所述微结构为椭圆形，并且定向成较长尺寸垂直于穿过所述通道的流动方向。在一些实施方式中，所述列分隔开至少250或350微米。在一些实施方式中，所述列内的所述微结构分隔开至少100或150微米。在一些实施方式中，所述微结构的宽度为至少100或140微米。在一些实施方式中，所述微结构的长度为至少500或900微米。在一些实施方式中，所述微结构具有至少10或20微米的深度。在一些实施方式中，所述通道比所述微结构深至少20微米。在一些实施方式中，所述微结构向所述通道中延伸不超过所述通道的深度的一半。在一些

实施方式中，所述通道包括不结垢组合物。在一些实施方式中，所述不结垢组合物覆盖所述微结构和与所述微结构相对的通道壁。在一些实施方式中，所述不结垢组合物包括脂质层。在一些实施方式中，所述脂质层包括单层、双层、脂质体或其任何组合。在一些实施方式中，所述不结垢组合物包括结合部分。在一些实施方式中，所述微结构中之一包含结合的细胞。在一些实施方式中，所述结合的细胞由结合部分结合至所述通道。在一些实施方式中，所述细胞是罕见细胞。在一些实施方式中，所述细胞是循环肿瘤细胞。

[0011] 在一个方面，本公开内容提供了一种微流体系统，其包括多个微通道，所述多个微通道彼此平行地流体耦合起来，其中所述微流体通道选自本公开内容的任何微流体通道。

[0012] 在一个方面，本公开内容提供了一种用于结合细胞的方法，其包括：使包含感兴趣的颗粒的生物样品流动穿过本公开内容的微流体通道；以及将所述感兴趣的颗粒结合至所述微结构。在一些实施方式中，所述流动包括至少2.5mm/s的线速度。在一些实施方式中，所述流动包括至多4mm/s的线速度。在一些实施方式中，所述方法进一步包括从所述微结构释放所述感兴趣的颗粒。在一些实施方式中，所述释放包括使气泡穿过所述通道，从而生成释放的感兴趣的颗粒。在一些实施方式中，所述释放的感兴趣的颗粒是活的。在一些实施方式中，所述方法进一步包括收集所述释放的感兴趣的颗粒。在一些实施方式中，所述释放移除大于70%的结合的感兴趣的颗粒。在一些实施方式中，所述流动包括在包含最小数目的微结构的列的末端之间创造出旋涡。在一些实施方式中，所述旋涡增大所述感兴趣的颗粒与所述微结构的结合。在一些实施方式中，与不具有微结构结构的微流体通道相比，所述旋涡使细胞与微结构的接触增大至少30%。在一些实施方式中，与不具有微结构的微流体通道相比，所述旋涡使细胞与微结构的接触增大至少70%。在一些实施方式中，所述旋涡是逆时针旋涡。在一些实施方式中，所述旋涡是顺时针旋涡。在一些实施方式中，所述旋涡水平于样品穿过所述通道的流动方向。在一些实施方式中，所述旋涡垂直于样品穿过所述通道的流动方向。在一些实施方式中，所述旋涡包括两个维度上的流体矢量。在一些实施方式中，所述旋涡包括三个维度上的流体矢量。在一些实施方式中，所述旋涡包括两个旋涡。在一些实施方式中，所述两个旋涡彼此垂直。在一些实施方式中，所述旋涡包括旋涡的两个部分，其中旋涡的一个部分顺时针流动，并且旋涡的一个部分逆时针流动，并且其中所述两个部分共享公共流动路径。

[0013] 在一个方面，本公开内容提供了一种用于在微流体通道中创造流体动力学的方法，其包括：通过使包含感兴趣的颗粒的生物样品流动穿过本公开内容的微流体通道而生成旋涡。在一些实施方式中，所述流动包括至少2.5mm/s的线速度。在一些实施方式中，所述流动包括至多4mm/s的线速度。在一些实施方式中，所述方法进一步包括将感兴趣的颗粒结合至所述微流体通道。在一些实施方式中，所述方法进一步包括从所述微结构释放所述感兴趣的颗粒。在一些实施方式中，所述旋涡位于包括最少数目的微结构的列的末端之间。在一些实施方式中，所述旋涡增大所述感兴趣的颗粒与所述微结构的结合。在一些实施方式中，与不具有微结构结构的微流体通道相比，所述旋涡使细胞与微结构的接触增大至少30%。在一些实施方式中，所述旋涡增大细胞移动，从而导致与不具有微结构的微流体通道相比，细胞与微结构的接触增大至少70%。在一些实施方式中，所述旋涡是逆时针旋涡。在一些实施方式中，所述旋涡是顺时针旋涡。在一些实施方式中，所述旋涡水平于样品穿过所述通道的流动方向。在一些实施方式中，所述旋涡垂直于样品穿过所述通道的流动方向。在

一些实施方式中，所述旋涡包括两个维度上的流体矢量。在一些实施方式中，所述旋涡包括三个维度上的流体矢量。在一些实施方式中，所述旋涡包括两个旋涡。在一些实施方式中，所述两个旋涡彼此垂直。在一些实施方式中，所述旋涡包括旋涡的两个部分，其中旋涡的一个部分顺时针流动，并且旋涡的一个部分逆时针流动，并且其中所述两个部分共享公共流动路径。在一些实施方式中，所述旋涡与另一旋涡相互作用。

[0014] 在一个方面，本公开内容提供了一种微流体通道，其包括：多个微结构，所述多个微结构在所述通道内布置成多个列，其中：每个c列中的微结构的深度不同于c-1列中的微结构的深度和c+1列中的微结构的深度，其中一列中的微结构的最小深度为x，并且一列中的微结构的最大深度为y，其中每个c-1列至c+n列中的微结构的数目反复地从m增大到n，并继而减小回m，并且其中m等于1或者n大于或等于3。在一个方面，本公开内容提供了一种微流体通道，其包括：多个微结构，所述多个微结构在所述通道中布置成多个列，其中：c列中的微结构的最小深度为x，并且c'列中的微结构的最大深度为y；微结构的深度在x与y之间逐渐变大，并继而在y与x之间逐渐变小；并且至少两个或更多个相邻的列具有相同的微结构深度。在一个方面，本公开内容提供了一种微流体通道，其包括：多个微结构，所述多个微结构布置于所述通道内的上表面上，其中：所述微结构包括第一大小的微结构和第二大小的微结构，其中所述第一大小的微结构具有比所述第二大小的微结构的任何尺寸更大的尺寸；其中所述多个微结构布置成列，所述列各自被指定为c-1至c+n；其中所述列中的第一大小的微结构的深度在x与y之间交替；并且其中具有少于n个第一大小的微结构的列进一步包括靠近所述微流体通道的壁的一个或多个第二大小的微结构。在一些实施方式中，所述最小深度x至少为10微米。在一些实施方式中，所述最大深度y至少为40微米。在一些实施方式中，深度x与y之间的差异至少为10微米。在一些实施方式中，深度x与y之间的差异至多为30微米。在一些实施方式中，所述最小深度x至多为所述通道的深度的50%。在一些实施方式中，所述最大深度y至少为所述通道的深度的50%。在一些实施方式中，所述微结构的深度在列内改变。在一些实施方式中，所述微结构到所述通道中的深度的尺寸在列的末端处最长。在一些实施方式中，所述微结构到所述通道中的深度在列的中部最短。在一些实施方式中，所述微结构的深度在列的中部最长。在一些实施方式中，增大和减小的图案重复至少10次。在一些实施方式中，所述微结构不穿越整个通道。在一些实施方式中，所述微结构布置于所述通道的顶棚中。在一些实施方式中，所述通道沿着所述列具有均匀的宽度。在一些实施方式中，微结构的数目随着每个相继的列而逐渐变小或变大。在一些实施方式中，微结构的数目每隔两列逐渐变小或变大。在一些实施方式中，所述通道包括不结垢组合物。在一些实施方式中，所述不结垢组合物包括脂质层。在一些实施方式中，所述脂质层包括单层、双层、脂质体或其任何组合。在一些实施方式中，所述不结垢组合物包括结合部分。在一些实施方式中，所述微结构中之一包含结合的细胞。在一些实施方式中，所述结合的细胞由结合部分结合至所述通道。在一些实施方式中，所述细胞是罕见细胞。在一些实施方式中，所述细胞是循环肿瘤细胞。

[0015] 援引并入

[0016] 本说明书中所提及的所有出版物、专利和专利申请均通过引用而并入于此，程度如同具体地和个别地指出要通过引用而并入每一个单个出版物、专利或专利申请。

附图说明

- [0017] 在所附权利要求书中具体阐述本发明的新颖特征。通过参考对说明性实施方式加以阐述的以下详细描述和附图,将会对本发明的特征和优点获得更好的理解,其中在所述说明性实施方式中利用到本发明的原理;在附图中:
- [0018] 图1A-图1D描绘了示例性微流体芯片。
- [0019] 图2描绘了计算域的示例性二维配置。
- [0020] 图3A-图3C示出了凹槽高度对微通道中的流体速度的影响。
- [0021] 图4A-图4C示出了凹槽宽度对微通道中的流体速度的影响。
- [0022] 图5示出了流场的速度矢量的示例性计算模拟。
- [0023] 图6描绘了微流体芯片的结构区附近的示例性流动流线。
- [0024] 图7示出了由预染色的细胞的荧光图像所描绘的、微通道内的流动剖面。
- [0025] 图8示出了12321的示例性微结构图案。
- [0026] 图9示出了3434的示例性微结构图案。
- [0027] 图10示出了微结构的阻挡效应(例如,通过微腔减慢流动)。实线箭头是指高速度矢量,而虚线箭头是指低速度矢量。
- [0028] 图11A-图11E示出了12321微结构图案的示例性实施方式。
- [0029] 图11F-图11G示出了微流体芯片的入口架构的示例性实施方式。
- [0030] 图11H示出了在通道中具有12321微结构架构的微流体芯片的入口架构的示例性实施方式。
- [0031] 图12A-图12B描绘了由通道中的微结构架构生成的旋涡。
- [0032] 图13A-图13B描绘了微流体通道中的微结构的尺寸的示例性实施方式。
- [0033] 图14描绘了通道中的微结构图案的示例性实施方式。
- [0034] 图15描绘了通道中的列中的微结构的深度。
- [0035] 图16图示了根据实施方式的、包含多个旋涡区域的微流体通道。
- [0036] 图17图示了根据实施方式的、包含第一区和第二区的微流体通道。

具体实施方式

- [0037] 定义
- [0038] 本文所使用的“微结构”可以指微流体通道内部的结构的集合。微结构是具有至少一个小于1cm或更优选地小于1000微米或小于500微米的尺寸的结构。这样的尺寸优选地还大于1纳米、1微米或大于50微米。微结构与“障碍物”、“微沟槽”和“柱”可互换使用。
- [0039] 本文所使用的“旋涡”或“涡流”可以指旋转的水流或气流。旋涡可以将诸如分子或细胞等物项拉入流中。旋涡可以将物项向下拉入流中。旋涡可以将诸如分子或细胞等物项推出流。
- [0040] 本文提到整数时所使用的术语“约”应当指该整数的+/-10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%。
- [0041] 当提到微结构或柱或障碍物的列时的术语“列”是指这样的微结构或柱或障碍物的大致垂直于流体流动通路的线性布置。微结构的列的示例可参见图8、图9、图11和图14,并且由数字1410所图示。

[0042] 总体概述

[0043] 本公开内容的方法提供了用于从生物样品捕捉感兴趣的颗粒的微结构图案。图14图示了本公开内容的组合物(composition)和方法的示例性实施方式。微流体通道可以包括两个壁1405。在该通道内部可以有一系列的列1410，其包括若干个微结构1415。包含感兴趣的颗粒(例如，罕见细胞)的生物样品(例如，诸如尿液、血液或血浆等体液)可以穿过所述壁1405之间的通道而流动1420。感兴趣的颗粒可以结合到列1410中的微结构1415，以及潜在地结合到通道的顶棚和底板1405。在一些实施方式中，所述通道本身可以是非平面的，因为所述壁、上表面或下表面可以呈现出近似于所述微结构1415的形状。在一些实施方式中，根据所述通道的横截面，可以存在多于两个壁。在一些情况下，微结构1430触及通道的壁1405。在一些情况下，微结构1415不触及通道的壁1405。在一些情况下，微结构1415的列1410的图案可以创造出无微结构区1425。无微结构区1425可以包括旋涡。旋涡可以造成局部流体移动，其增大了感兴趣的颗粒靠近通道的一个或多个表面的混合，并从而增大了感兴趣的颗粒结合到微结构1415的可能性。

[0044] 表面

[0045] 本公开内容提供了使感兴趣的颗粒在一个或多个表面上(例如，穿过微流体芯片中的通道)流动。所述表面可以是平坦的、弯曲的以及/或者包括拓扑特征(例如，微结构)。所述表面可以是相同的。所述表面可以是不同的(例如，上表面可以包括微结构，而下表面可以是平坦的)。

[0046] 示例性表面可以包括但不限于：生物微机电表面(bioMEM)表面、微孔、载片、培养皿、细胞培养板、毛细管、管道、移液器尖端和管。表面可以是固态的、液态的和/或半固态的。表面可以具有任何几何形状(例如，表面可以是平面的、倾斜的、锯齿状的、具有拓扑结构的)。

[0047] 表面可以包括微流体表面。表面可以包括微流体通道。表面可以是载片的表面、孔板或任何其他腔体的内表面。

[0048] 所述表面可以由固体材料制成。示例性表面材料可以包括硅、玻璃、羟基化的聚(甲基丙烯酸甲酯)(PMMA)、氧化铝、塑料、金属和氧化钛(TiO₂)或者其任何组合。

[0049] 表面可以包括第一固体基板(例如，PMMA)和第二固体基板(例如，玻璃)。所述第一和第二固体基板可以粘合在一起。可以通过任何粘附工具诸如胶水、胶带、水泥、焊接和软焊来进行粘合。可以通过粘合剂的厚度来确定由所述两个固体基板形成的空间(例如，通道)的高度。在一些情况下，所述粘合剂为约[包括对“约”的定义]1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、40、60、80、100微米厚。

[0050] 表面可以包括通道。所述通道可以包括被配置用于捕捉感兴趣的颗粒(例如，细胞)的表面。所述通道可以形成于被配置用于从全血样品捕捉感兴趣的颗粒的微流体装置内。所述捕捉可以通过感兴趣的颗粒(例如，细胞)与通道表面上的结合部分的相互作用来调节。例如，所述通道可以包括涂有结合部分的微结构。可以布置微结构以在所述通道内从全血样品中分离感兴趣的颗粒。这样的通道可以用于允许选择性结合(释放或不释放)来自患者的血液样品的感兴趣的颗粒，并且可以有助于癌症生物学研究和临床癌症管理，包括对癌症的检测、诊断和监控以及预后。

[0051] 通道可以包括三个尺寸。可以将通道的横截面限定为所述通道的容积的两个尺寸

(例如,高度和宽度)。第三尺寸可以称为所述通道的长度。通道的长度和/或宽度可以是均匀的。通道的长度和/或宽度可以是不均匀的。

[0052] 表面(例如,微流体通道的表面)可以包围一容积。通道的容积可为至少1、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、200或更多微升。通道的容积可为至多1、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、200或更多微升。

[0053] 由于在平坦表面的中心内形成滞止区,样品内感兴趣的颗粒向所述表面的粘附可以沿着每一微结构的平坦表面而得到增大,从而提供滞止流动条件,以增加停留时间以及/或者提高与结合表面的化学或物理(诸如氢键键合、范德华力、静电力等)相互作用的效率。在一些实施方式中,所述表面可以是通道内的微结构的外表面或定向成基本上垂直于生物样品在所述微流体通道内的流体流动方向的表面的一部分。所述微结构可以完全地或部分地跨越所述微流体通道而延伸。

[0054] 微流体装置可以包括在入口与出口之间提供流体连通的流体流动通道。所述通道可以包括至少一个被配置用于结合感兴趣的颗粒的表面(例如,用结合剂功能化的表面)。所述表面可以形成于所述通道内被配置用于捕捉样品中的感兴趣的颗粒的一个或多个微结构上。所述表面可以形成于所述通道的顶部或底部上。可以与其他组件相结合地包括所述通道,以提供用于从样品分离分析物(例如,细胞)的系统。可以根据所采用的样品的体积来选择所述通道或具有结合剂的区域的容积。通道的容积可以大于样品的大小。

[0055] 一个或多个表面(例如,微流体通道的表面)可被配置用于引导流体流动和/或穿过所述微流体通道的流体内的感兴趣的颗粒。例如,通道的表面可以是粗糙的或光滑的。所述通道可以包括粗糙化的表面。所述通道可以包括具有可比于期望分析物(例如,细胞)的大小的周期性振幅和/或频率。在一些情况下,所述通道可以由与所述微流体通道内的一个或多个微结构的基部相对定位的、具有波状或“锯齿”形表面的壁所限定。所述锯齿形表面可以具有约1-100微米数量级的高度和频率。锯齿形表面可以与仅部分地跨越所述表面而延伸的一个或多个微结构直接相对地定位。可以选择通道尺寸以提供感兴趣的颗粒与所述微流体通道表面的结合的期望速率。

[0056] 所述表面(例如,微流体通道的表面)可被配置成在允许流体流过所述通道的期望速率的同时,使感兴趣的颗粒与所述通道内的一个或多个表面的结合最大化。增大微结构的表面积可以增大用于感兴趣的颗粒结合的面积,同时增大对从入口到出口流过所述通道的样品流体的阻力。

[0057] **微结构**

[0058] 表面(例如,微流体通道的表面)可以包括微结构。微结构可以指源自通道的表面之一(例如,下表面或者上表面或者一个或多个侧面)的结构。可以定位和塑形所述结构以使得在微结构之间形成的凹槽可以是矩形或三角形(见图2和图3)。凹槽可以指源自表面的微结构之间的空间。微结构可以布置成Z字型图案或交错图案。微结构可以布置成回文图案(palindromic pattern)。例如,一系列相邻列中的每一列内的微结构的数目(例如,图14)可以增加至一列中的微结构的最大数目,并继而依次减小至一列中的微结构的最小数目。微结构可以用于改变穿过通道的生物样品的流场的流线。微结构可以布置成从中改变流场的流线的图案。

[0059] 微结构可以是任何形状的。微结构可以是矩形的。微结构可以是正方形的。微结构

可以是三角形(例如,角锥形)的。微结构可以是椭圆形、卵形或圆形的。微结构可以具有圆润边角。微结构可以具有尖锐边角。微结构可以是三维矩形导管。

[0060] 一列中的微结构的数目可为至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或者更多个。一列中的微结构的数目可为至多1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或者更多个。在一些实施方式中,一列中的微结构的数目为1。在一些实施方式中,一列中的微结构的数目为2。在一些实施方式中,一列中的微结构的数目为3。在一些实施方式中,一列中的微结构的数目为4。

[0061] 相邻列中的微结构的数目可以是相同的。具有相同数目的微结构的相邻列的数目可为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或者更多个列。在一些情况下,相邻列中的微结构的数目相差至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或者更多个微结构。在一些情况下,相邻列中的微结构的数目相差至多1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或者更多个微结构。每一列的微结构的基部可以位于同一表面上或者可以位于不同表面上。

[0062] 列的长度可以指从一列中的第一微结构的最外边缘到最后一个微结构的最外边缘的距离。列的长度可以指从一列中的第一微结构的最外边缘之外和/或最后一个微结构的最外边缘之外的距离。列的长度可为所述通道的宽度的至少5、10、15、17、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95或100%。列的长度可为所述通道的宽度的至多5、10、15、17、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95或100%。在一些情况下,列的长度为所述通道的宽度的约17%。

[0063] 微结构图案可以是这样的图案——其中相邻列中的微结构的数目增大直到微结构图案中包含最大数目的微结构的列,在此之后每一相邻列中的微结构的数目减小直到微结构图案中包含最小数目的微结构的列。以这种方式,微结构图案可以是回文的。例如,微结构图案可以是 $x, x+1, x+2 \dots x+n \dots x+2, x+1, x$,其中 x 是任何整数而 $x+n$ 是一列中的微结构的最大数目,并且其中用逗号分隔开的每一变量表示相邻列,例如,1232123212321(即,其中每个数字是指一列中的微结构的数目,其中每个数字表示一列)。

[0064] 相邻列中的微结构的数目能够以任何整数增大或减小,而不必只是增大一个或减小一个。相邻列中的微结构的数目可以增大或减小2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个。

[0065] 任何变量(例如,由逗号分隔开的变量)可以在移到下一变量之前重复任何次数。例如,微结构图案可以是 $x, x+1, x+1, x+2, x+1, x+1, x$ 。

[0066] 在一些情况下,微结构图案可以是这样的图案——其中相邻列中的微结构的数目增大直到微结构图案中包含最大数目的微结构的列,在此之后重复列的全集,其中每一相邻列中的微结构的数目减小直到微结构图案中包含最小数目的微结构的列。例如,微结构图案可以是 $x, x+1, x+2 \dots x+n, x+n \dots x+2, x+1, x$ 。在另一示例中,微结构图案可以是 $x, x, x+1, x+2 \dots x+n \dots x+2, x+1, x, x$ (例如,1233212332123321)。在一些情况下,具有最大数目和最小数目的微结构的列可以彼此紧接着重复。例如,图案可以是123211232112321或123321123321123321。

[0067] 在一些情况下,微结构图案中的列内的微结构的数目在列之间交替。在一些情况下,一个或多个相邻列包含相同数目的微结构,随后是包含不同数目的微结构的一个或多个列。例如,微结构图案可以是121212、112112112或11221122(即,其中1和2是每一列中的微结构的数目)。

[0068] 在一些情况下,相邻连续的列中的微结构的数目布置成12321图案(见图8)。12321

图案是指具有在通道中定向成垂直于流动方向的1个微结构的一列,随后连续地是具有在通道中定向成垂直于流动方向的两个微结构的一列,随后是具有在通道中定向成垂直于流动方向的三个微结构的一列等。图8中所示的微结构的图案(1232123212321……)与图案(123211232112321……)对微通道的流场具有相似的影响。

[0069] 在一些实施方式中,微结构定向成交替图案,其中交替的列包括数目为m或n的微结构,其中m-n为1。m或n可为至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10或更大。在一些情况下,具有m个微结构的列的数目可以重复至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10次或者更多次,随后是包括n个微结构的1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或者更多个列。在一些实施方式中,列的交替图案包括两个或更多个不同大小的微结构。例如,列可以在m与n个数目的第一大小的列之间交替。当列具有最小数目的微结构时,其还可以在微结构列的末端处(例如,在最靠近通道的壁的末端处)包括第二大小的微结构。

[0070] 第二大小的微结构可以具有至少一个比第一大小的微结构的任何尺寸小至少10、20、30、40、50、60、70、80、90或100%的尺寸。第二大小的微结构可以具有至多一个比第一大小的微结构的任何尺寸小至少10、20、30、40、50、60、70、80、90或100%的尺寸。第二大小的微结构可以小于第一大小的微结构。第二大小的微结构可以定向成使得其占据微结构与列之间的任何剩余空间,以使得所有列在通道的壁与最靠近的微结构之间具有均匀的距离。

[0071] 在一些实施方式中,微结构被定向成3434图案(见图9)。该图案设计可以用于阻挡流体颗粒的预定路径。3434图案是指跨越通道的一个列的微结构数目(即,通道中垂直于流动方向的微结构数目)。例如,3434图案是指具有在通道中定向成垂直于流动方向的3个微结构的一列,随后是具有在通道中定向成垂直于流动方向的4个微结构的一列等。在一些情况下,具有3个微结构的列的数目可以重复至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10次或者更多次,随后是包括4个微结构的1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或者更多个列。

[0072] 微结构图案可以贯穿一些或整个通道长度而重复。微结构图案可以在通道长度的至少10、20、30、40、50、60、70、80、90或100%上重复。微结构图案可以在通道长度的至多10、20、30、40、50、60、70、80、90或100%上重复。

[0073] 一列内的微结构可以间隔开至少10、25、50、75、100、250、500或750微米或者更多微米。一列内的微结构可以间隔开至多10、25、50、75、100、250、500或750微米或者更多微米。微结构的列可以间隔开至少约10、25、50、75、100、250、500或750微米或者更多微米。微结构的列可以间隔开至多约10、25、50、75、100、250、500或750微米或者更多微米。

[0074] 微结构可以具有从250微米的宽度到1000微米的长度,并具有可变的高度(例如,50、80和100微米)。微结构的高度、宽度或长度可为至少5、10、25、50、75、100、250、500微米或更多。微结构的高度、宽度或长度可为至多1000、500、250、100、75、50、25或10微米或者更少微米。一列中的所有微结构的大小可以不相同。例如,所述微结构的至少5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95或100%可以是相同大小。所述微结构的至多5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95或100%可以是相同大小。在一些情况下,所述微结构都不是相同大小。在一些情况下,所述微结构的至少5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95或100%具有至少一个相同的尺寸。在一些情况下,所述微结构的至多5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95或100%具有至少一个相同的尺寸。

[0075] 微结构可以在流体通过微结构周围时创造(例如,引起)该流体的旋涡(即,扰流)。所述旋涡可以导致由通道捕捉的颗粒的量增加。由每一微结构创造的旋涡的数目可为至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或者更多个旋涡。由每一微结构创造的旋涡的数目可为至多1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或者更多个旋涡。在一些情况下,由微结构图案创造出2个旋涡。在一些情况下,微通道包括一个旋涡,在该微通道内的不同位置处具有子旋涡。

[0076] 旋涡可以是水平流体矢量(例如,旋涡中的流体流动可以平行于穿过通道的流动方向)。旋涡可以是逆时针旋涡。旋涡可以是顺时针旋涡。旋涡可以具有垂直流体矢量(例如,旋涡中的流体流动可以垂直于穿过通道的流动方向)。

[0077] 在一些情况下,旋涡可以包括生物样品(例如,流体)穿过通道的二维移动。所述样品的二维移动可以穿过微结构列中的空隙而发生。所述样品的二维移动可以包括水平于和垂直于穿过通道的流体流动的流体矢量(见图10)。在一些情况下,流体流动是三维的。三维流体流动可以包括水平的、垂直的以及向空间中的流体矢量。当流体在微结构周围移动时,三维流体流动可以在该微结构附近发生。

[0078] 旋涡可以包括两个或更多个旋涡。在一些情况下,旋涡包括两个旋涡。如由其各自的涡度所测量,两个旋涡可以是彼此垂直的。在一些情况下,通过包括两个部分来影响旋涡。受影响的旋涡的两个部分中的一个部分可以具有平行于X轴的涡度。所述旋涡的两个部分中的一个部分可以具有平行于Y轴的涡度。所述旋涡的两个部分中的一些部分可以包括相同的涡度。两个旋涡可以彼此垂直。在一些情况下,旋涡包括两个部分。所述旋涡的两个部分中的一个部分能够以顺时针方向流动。所述旋涡的两个部分中的一个部分能够以逆时针方向流动。所述旋涡的两个部分中的一些部分可以包括相同的流动路径(见图12B,侧视图)。

[0079] 旋涡可以导致感兴趣的颗粒(例如,细胞)与微结构和/或表面的结合增大。旋涡可以导致感兴趣的颗粒与微结构和/或表面的结合增大至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10倍或更多倍。旋涡可以导致感兴趣的颗粒与微结构和/或表面的结合增大至多1、2、3、4、5、6、7、8、9或10倍或更多倍。旋涡可以导致感兴趣的颗粒的结合增大至少10、20、30、40、50、60、70、80、90或100%。旋涡可以导致感兴趣的颗粒的结合增大至多10、20、30、40、50、60、70、80、90或100%。

[0080] 在一些情况下,旋涡可以不聚集、引导和/或分类穿过微通道的感兴趣的颗粒。旋涡可以随机移动样品内的颗粒,其中所述颗粒中之一可以在所述颗粒的随机移动期间的任何时间与微结构和/或通道的壁相接触,或者可以不与之接触。旋涡可以在没有对特定类型的细胞有所偏好的情况下增大感兴趣的颗粒与微结构和/或通道的壁的结合。旋涡可以在对特定类型的细胞有所偏好的情况下增大感兴趣的颗粒与微结构和/或通道的壁的结合。旋涡可以与通道内的另一旋涡相互作用。旋涡可以与1、2、3、4、5、6、7个或更多个旋涡相互作用。旋涡可以与具有水平和/或垂直方向上的流体矢量的另一旋涡(即,一旋涡可以与另一旋涡相交,一旋涡可以在一旋涡之上或之下)相互作用。旋涡可以增加颗粒在流体内的移动,其中所述流体在通道内。增加的颗粒移动可以增大颗粒至微结构和/或通道壁的接近度。

[0081] 旋涡的强度可以受到穿过通道的流体的流动速率的影响。旋涡的强度能够以该旋涡中的流体的速度来测量。当穿过通道的流体的流动速率增大时,旋涡中的流体速度可能

增大。当穿过通道的流体的流动速率减小时,旋涡中的流体速度可能减小。

[0082] 可以通过任何方法制成微结构。在一些情况下,通过将微结构附接至微流体通道的表面而制成微结构(例如,微结构图案)。可以通过移除所述表面的一些部分(例如,上表面)而制成微结构,其中所述移除切掉结构以展现微结构形状。切割方法例如可以包括刻蚀、激光切割或塑模(例如,注塑成型)。在一些情况下,通过生长(例如,半导体制造工艺,即,使用光致抗蚀剂)制成微结构(例如,微结构图案中的微结构)。用于制作微流体通道中的微结构的示例性方法可以包括光刻术(例如,立体光刻术或X射线光刻术)、塑模、压印、硅微机械加工、湿法或干法化学刻蚀、研磨、金刚石切割、光刻电铸和注塑(Lithographie Galvanoformung and Abformung)(LIGA)以及电镀。例如,对于玻璃,可以采用传统的硅光刻制造技术,随后用湿法(KOH)或干法刻蚀(用氟或其他活性气体的反应性离子刻蚀)。诸如激光微机械加工等技术可适于具有高光子吸收效率的塑料材料。由于该工艺的串行性质,该技术可以适合于较低生产量制造。对于大规模生产的塑料装置,可以使用热塑注塑成型和压缩成型。还可以使用用于大规模制造光盘(保持亚微米特征的保真度)的传统热塑注塑成型来制造所述装置。例如,可以通过传统光刻术在玻璃母版上复制装置特征。可以电铸玻璃母版以生产出坚韧、抗热冲击、导热的硬质模具。该模具可以充当用于将所述特征注塑成型或压缩成型至塑料装置中的主模板。根据用于制造所述装置的塑料材料和对光学质量的要求和成品的生产量,可以选择压缩成型或注塑成型作为制造方法。压缩成型(亦称为热压印或浮雕压刻)可以与高分子量聚合物相兼容,其对于小结构表现卓越,但可能难以用于复制高深宽比的结构并且具有较长的循环时间。注塑成型对于高深宽比结构或低分子量聚合物效果良好。可以制造一个或多个零件并继而进行组装以制成装置。

[0083] 微结构高度的改变

[0084] 微结构深度能够以重复图案变化。在一些情况下,微结构深度与上文所述的任何微结构图案相关。位于微结构的列的末端处的微结构可以具有最长的深度尺寸(例如,到通道中的深度)。例如,图15示出了具有源自通道的上壁的微结构1510/1515/1520的通道1505的壁。在一些实施方式中,具有最大数目的微结构(例如,3个)的列的微结构1510是最长的,或者具有到通道中的最长的深度。具有介于最小与最大数目的微结构之间的微结构数目的列中的微结构1515可以具有到通道中的中等深度。在一些情况下,具有最小数目的微结构(例如,1个)的列的微结构1520具有到通道中的最短的深度。

[0085] 位于具有最靠近通道壁的微结构的列中的微结构可以具有最短的深度尺寸(例如,到通道中的深度)。位于最远离通道壁的列中的微结构可以具有最长的深度尺寸。位于最远离通道壁的列中的微结构可以具有最短的深度尺寸。位于具有最大数目的微结构的列中的微结构可以具有最长的深度尺寸(例如,深度)。位于具有最大数目的微结构的列中的微结构可以具有最短的深度尺寸(例如,深度)。位于具有最小数目的微结构的列中的微结构可以具有最长的深度。位于具有最小数目的微结构的列中的微结构可以具有最短的深度。

[0086] 微结构的深度可为至少1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95或100微米或者更多微米。微结构的深度可为至多1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95或100微米或者更多微米。最长微结构与最短微结构的深度之间的差异可为至少1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、

90、95或100微米或者更多微米。最长微结构与最短微结构的深度之间的差异可为至多1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95或100微米或者更多微米。微结构的深度可为通道的深度的至少10、20、30、40、50、60、70、80、90或100%。微结构的深度可为通道的深度的至多10、20、30、40、50、60、70、80、90或100%。

[0087] 一列内的微结构可以具有不同深度。一列内的微结构的深度可以改变至少10、20、30、40、50、60、70、80、90或100%或者更多。一列内的微结构的深度可以改变至多10、20、30、40、50、60、70、80、90或100%或者更多。同一列内的微结构的深度中有一些可以是相同的。同一列内的微结构的深度中有一些可以是不同的。

[0088] 可以在具有不同深度的微结构列之间创造旋涡。微结构图案中的微结构的不同深度可以影响通道中的旋涡的特征,诸如旋涡的强度和旋涡的流动矢量的方向。

[0089] 在一些实施方式中,微结构的深度在微结构的列之间交替,其中微结构图案中交替的微结构的列包括数目为m或n的微结构,其中m-n为1。所述m或n可为至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10或者更大。在一些情况下,具有m个微结构的列的数目可以重复至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10次或者更多次,随后是包括n个微结构的1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或者更多个列。具有m个微结构的列中的微结构的深度可为具有n个微结构的列中的微结构的深度的至少10、20、30、40、50、60、70、80、90或100%。具有m个微结构的列与具有n个微结构的列中的微结构之间的深度差异可为至少10、20、30、40、50、60、70、80、90或100微米或者更多微米。具有m个微结构的列与具有n个微结构的列中的微结构之间的深度差异可为至多10、20、30、40、50、60、70、80、90或100微米或者更多微米。

[0090] 在一些实施方式中,列的交替图案包括两个或更多个不同大小的微结构。例如,列可以在m与n个数目的第一大小的列之间交替。当列具有最小数目的微结构时,其还可以包括位于微结构列的末端处(例如,在最靠近通道的壁的末端处)的第二大小的微结构。第二大小的微结构的微结构深度可为第一大小的微结构的深度的至少10、20、30、40、50、60、70、80、90或100%。第二大小的微结构的微结构深度可为第一大小的微结构的深度的至多10、20、30、40、50、60、70、80、90或100%。在一些情况下,第二大小的微结构的深度与第一大小的微结构相同。

[0091] 在一些实施方式中,当相邻列中的微结构的深度增大直到微结构图案中包含最大数目的微结构的列时,在此之后每一相邻列中的微结构的深度减小直到微结构图案中包含最小数目的微结构的列(见图12B)。

[0092] 例如,微结构图案可以是x,x+1,x+2...x+n...x+2,x+1,x,其中x是任何整数而x+n是一列中的微结构的最大数目,并且其中用逗号分隔开的每一变量表示相邻列,(例如,1232123212321(即,其中每一数字是指一列中的微结构的数目,其中每一数字表示一列),并且其中x中的微结构深度小于x+1中的微结构深度,而x+1中的微结构深度小于x+2中的微结构深度,而x+2中的微结构深度小于x+n中的微结构深度。在一些情况下,x中的微结构深度大于x+1中的微结构深度,而x+1中的微结构深度大于x+2中的微结构深度,而x+2中的微结构深度大于x+n中的微结构深度。

[0093] 在一些情况下,微结构图案可以是这样的图案——其中相邻列中的微结构的深度增大直到微结构图案中包含最大数目的微结构的列,在此之后重复列的全集,其中每一相

邻列中的微结构的深度减小直到微结构图案中包含最小数目的微结构的列。例如，微结构图案可以是x,x,x+1,x+2...x+n...x+2,x+1,x,x(例如,1233212332123321),其中x,x+1,x+2...x+n的深度不同(例如,深度增大,或者深度减小)。在一些情况下,具有最大数目和最小数目的微结构的列可以彼此紧接着重复。例如,图案可以是123211232112321或123321123321123321。

[0094] 无微结构区

[0095] 在一些情况下,微结构图案创造出无微结构区。无微结构区可以位于通道的壁与列中的微结构之间。无微结构区可以位于与微结构所源自的表面相同的表面上。无微结构区可以位于与微结构所源自的表面不同的表面上。在一些情况下,无微结构区可以包括可包含通道的上表面与下表面之间的空间的体积。

[0096] 无微结构区可以诱发旋涡。无微结构可以是任何形状。无微结构区可以是矩形、正方形、卵形或三角形的。在一些情况下,无微结构区是三角形的。三角形无微结构区可被认为具有三个“边”,其中一个边是通道的壁,并且其中其他两个“边”处于沿着一系列的列中的微结构的最外边缘。可以针对微结构图案的两次重复而创造两个无微结构区。在一些情况下,所述两个无微结构区由包括至少一个微结构的列分隔开。无微结构区(例如,它们中的至少10、20、30、40或50个)位于通道的同一表面(例如,上表面)上。它们创造出彼此对称的区域。对称区域由一个或多个微结构分隔开。无微结构区可为至少700微米宽(从通道的侧面到两个对称区之间的第一微结构的距离)。无微结构区可为至少400微米长(沿着包围该区的流体流动路径的两个微结构之间)。这在图13中示出。

[0097] 无微结构区可为通道的宽度的至少20、30、40、50、60、70、80、90或100%。无微结构区可为通道的宽度的至多20、30、40、50、60、70、80、90或100%。无微结构区的长度可以是具有最大数目的微结构的列的最外侧微结构之间的距离。在一些情况下,具有最大数目的微结构的列之间的距离为至少0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9或2.0毫米或者更多毫米。在一些情况下,具有最大数目的微结构的列之间的距离为至多0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9或2.0毫米或者更多毫米。

[0098] 功能化的表面

[0099] 表面(例如,微流体通道)可以涂有不结垢组合物。不结垢组合物可以是防止结垢(例如,防止非特异性颗粒的结合,同时保持结合感兴趣的颗粒的能力)的组合物。不结垢组合物可以充当润滑表面,使得仅低流动剪应力或低流速可以在本公开内容的方法中使用。

[0100] 不结垢组合物可以包含脂质层。脂质层可以包含脂质单层、脂质双层、脂质多层、脂质体、多肽、聚电解质多层(PEM)、聚乙烯醇、聚乙二醇(PEG)、水凝胶聚合物、细胞外基质蛋白质、碳水化合物、聚合物刷、两性离子材料、聚(磺基甜菜碱)(pSB)和有机小化合物,或其任意组合。可以用于不结垢的示例性脂质可以包括但不限于,1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺-N-(帽生物素基)(钠盐)(b-PE)、1-棕榈酰基-2-油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(POPC)、二酰基甘油、磷脂、糖脂、甾醇、磷脂酰胆碱(PtdCho)、磷脂酰乙醇胺(PtdEtn)、磷脂酰肌醇(PtdIns)、磷酸酰丝氨酸(PtdSer)和鞘磷脂。

[0101] 不结垢组合物可以包含聚乙二醇(PEG)。PEG可以具有至少约50、100、200、500、700、1000、5000、10000、15000、50000、75000、100000、150000、200000或250000道尔顿或更

高的分子量。PEG可以具有至多约50、100、200、500、700、1000、5000、10000、15000、50000、75000、100000、150000、200000或250000道尔顿或更高的分子量。PEG可以具有100至100,000道尔顿的分子量。

[0102] 不结垢组合物可以包含聚电解质多层(PEM)。PEM可以指包含电解质的聚合物。示例性PEM可以包括但不限于聚-L-赖氨酸/聚-L-谷氨酸(PLL/PLGA)、聚-L-赖氨酸/聚-L-天冬氨酸、聚(苯乙烯磺酸钠)(PSS)、聚丙烯酸(PAA)、聚(乙基丙烯酸)(PEA)或其任意组合。

[0103] 不结垢组合物可以包含聚合物刷。聚合物刷可以指可以在一端与表面结合的聚合物。示例性聚合物刷可包括([2-(丙烯酰氧基)乙基]三甲基氯化铵,TMA) / (2-羧基乙基丙烯酸酯,CAA)共聚物。

[0104] 不结垢组合物可以包含脂质、PEG、聚电解质多层或聚合物刷或其任意组合。

[0105] 不结垢组合物可以具有厚度。不结垢组合物的厚度可以是至少约0.5、1、10、25、50、75、100、200、300、400、500、600、700、800或900纳米或更高。不结垢组合物的厚度可以是至多约0.5、1、10、25、50、75、100、200、300、400、500、600、700、800或900纳米或更高。

[0106] 不结垢组合物可以包含官能团。官能团可以能够共价和/或非共价连接。示例性官能团可以包括但不限于羟基、氨基、羧酸或酯基团、硫酯基团、醛基、环氧基或环氧乙烷基团、肼基和硫醇基团、生物素、抗生素蛋白、链霉抗生素蛋白、DNA、RNA、配体、受体、抗原、抗体和正-负电荷。官能团可以连接至不结垢组合物的脂质。

[0107] 不结垢组合物可以共价连接至表面。不结垢组合物可以非共价连接至表面。不结垢组合物可以通过氢键键合、范德华相互作用、离子相互作用等与表面相互作用。

[0108] 不结垢组合物可以结合感兴趣的颗粒,同时减少其他非特异性颗粒的结合。不结垢组合物可以结合少于1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%或更多的非特异性颗粒。

[0109] 表面可以包含结垢组合物。结垢组合物可以包含诱导感兴趣的非特异性颗粒的聚集和/或沉淀的组合物。

[0110] 表面可以是功能化的表面。表面可以用例如染料、有机光受体、抗原、抗体、聚合物、聚-D-赖氨酸、选自HfO₂、TiO₂、Ta₂O₅、ZrO₂及其混合物的氧化物、有机化合物和功能化的纳米层功能化。表面可以用非特异性结合剂如细胞外基质和薄膜涂层功能化。表面可以通过例如软光刻术(soft-lithography)、UV辐射、自组装单层(SAM)和喷墨打印功能化。

[0111] 结合部分

[0112] 表面可以涂有为了结合感兴趣的颗粒而选择的结合部分。结合部分可以偶联至表面。偶联的类型可以包括共价结合、非共价结合、静电结合和/或范德华结合。结合部分可以偶联至不结垢组合物(例如,在不结垢组合物中的脂质)。

[0113] 结合部分可以包含能特异性结合感兴趣的颗粒的部分。示例性结合部分可以包括合成聚合物、分子印迹聚合物、细胞外基质蛋白质、结合受体、抗体、DNA、RNA、抗原、适体或显示对生物物质的高亲和性的任何其他表面标记。

[0114] 结合部分可以通过例如分子识别、化学亲和性和/或几何/形状识别与感兴趣的颗粒结合。

[0115] 结合部分可以包含抗体。该抗体可以是抗-EpCAM膜蛋白抗体。该抗-EpCAM膜蛋白抗体可以是EpAb4-1抗体,其包含在表1中所示的SEQ ID No:1的重链序列和SEQ ID No:2的

轻链序列。

[0116] 表1.EpAb4-1抗体的VH和VL域的氨基酸序列。显示了VH和VL域的互补决定区1-3(CDR1-3)、构架区1-4(FW1-4)。

[0117]

	FW1	CDR1	FW2	CDR2
SEQ ID NO: 1 (VH)	QIQLVQSGPELKKPGETV KISCKAS	GYTFTNYG MN	WVKQAPGKGLK WMGW	INTYTGEP
SEQ ID NO: 2 (VL)	DIVMTQAAFSNPVTLGTS ASIC	RSSKSLLH SNGITYLY	WYLNQKPGQSPQ LLIY	HMSNLAS
	FW3	CDR3	FW4	家族
SEQ ID NO: 1 (VH)	TYGDDFKGRFAFSLETSA STAYLQINNLKNEDTATY FCAR	FGRSVDF	WGQGTSVTVSS	VH9
SEQ ID NO: 2 (VL)	GVPDRFSSSGSGTDFTLRI SRVEAEDVGIYYC	AQNLENP R T	FGGGTKLEIK	VK24/25

[0118] 结合部分可以包含官能团。官能团可以用于将结合部分连接至不结垢组合物和/或表面。官能团可以用于结合部分的共价或非共价连接。示例性官能团可以包括但不限于：羟基、氨基、羧酸或酯基团、硫酯基团、醛基、环氧基或环氧乙烷基团、肼基、硫醇基团、生物素、抗生物素蛋白、链霉抗生物素蛋白、DNA、RNA、配体、受体、抗原-抗体和正-负电荷。

[0119] 在一些实施方式中，官能团包含生物素和链霉抗生物素蛋白或其衍生物。在一些实施方式中，官能团包含1-乙基-3-[3-二甲基氨基丙基]碳二亚胺盐酸盐(EDC)和N-羟基磺基琥珀酰亚胺(Sulfo-NHS)。在一些实施方式中，官能团包含磺基琥珀酰亚胺基-4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-羧酸酯(sulfo-SMCC)。

[0120] 在一些实施方式中，微流体表面包含含有与表面非共价结合的脂质的不结垢组合物，并且该不结垢组合物通过连接体连接至结合部分。

[0121] 连接体

[0122] 连接体可以将不结垢组合物与结合部分连接。连接体可以将结合部分连接至表面。连接体可以将不结垢组合物连接至表面。连接体可以共价或非共价连接不结垢组合物

与结合部分。示例性连接体可以包括但不限于：羟基、胺基、羧酸或酯基团、硫酯基团、醛基、环氧基或环氧乙烷基团、肼基、硫醇基团、生物素、抗生物素蛋白、链霉抗生物素蛋白、DNA、RNA、配体、受体、抗原、抗体和正-负电荷或其任意组合。

[0123] 连接体可以包含可裂解的连接体。示例性的可裂解连接体可以包括但不限于：可通过紫外线辐射而裂解的光敏官能团、可通过电脉冲机制而裂解的电敏官能团、可通过磁力的缺乏而裂解的磁性材料、可通过破坏静电相互作用而裂解的聚电解质材料、可通过杂交而裂解的DNA等。

[0124] 感兴趣的颗粒、样品和受试者

[0125] 本公开内容提供了捕获感兴趣的颗粒。感兴趣的颗粒可以是细胞。细胞可以指真核细胞。真核细胞可以来源于大鼠、牛、猪、狗、猫、小鼠、人、灵长类动物、豚鼠或仓鼠（例如，CHO细胞、BHK细胞、NS0细胞、SP2/0细胞、HEK细胞）。细胞可以是来自组织的细胞（例如，血细胞或血液中的循环上皮或内皮细胞）、杂交瘤细胞、酵母细胞、病毒（例如，流感、冠状病毒）和/或昆虫细胞。细胞可以是来源于转基因动物或培养的组织的细胞。细胞可以是原核细胞。原核细胞可以是细菌、真菌、后生动物或古细菌（archaea）。细胞可以指多个细胞。

[0126] 感兴趣的颗粒可以指细胞的一部分。例如，细胞可以指细胞器（例如，高尔基复合体、内质网、细胞核）、细胞碎片（例如，细胞壁、肽聚糖层）和/或细胞的内含物（例如，核酸内含物、细胞质内含物）。

[0127] 感兴趣的颗粒可以是罕见细胞。示例性细胞可以包括但不限于：罕见癌细胞、循环肿瘤细胞、循环肿瘤微栓子、血细胞、内皮细胞、内胚层-衍生细胞、外胚层-衍生细胞和中胚层衍生细胞或其任意组合。

[0128] 感兴趣的颗粒可以是样品的一部分。样品可以包含多个颗粒，其中仅有一些是感兴趣的颗粒。颗粒可以指细胞、核酸、蛋白质、细胞结构、组织、器官、细胞分解产物等。颗粒可以是结垢颗粒。颗粒可以不与不结垢组合物结合。样品可以包含至少约0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或10%或更多的感兴趣的颗粒。样品可以包含至多约0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%或10%或更多的感兴趣的颗粒。

[0129] 样品可以从受试者获得。受试者可以是人。受试者可以是非人的。受试者可以是，例如，哺乳动物（例如，狗、猫、牛、马、灵长类动物、小鼠、大鼠、绵羊）。受试者可以是脊椎动物或无脊椎动物。受试者可以具有癌症疾病。受试者可以具有罕见细胞疾病。受试者可以具有罕见细胞疾病或癌症，而没有显示该疾病的症状。受试者可能不知道其具有癌症或罕见细胞疾病。

[0130] 样品可以包含体液。示例性的体液可以包括但不限于血液、血清、血浆、鼻拭子或鼻咽洗液、唾液、尿液、胃液、脊髓液、泪、粪便、粘液、汗、耳垢、油、腺体分泌物、脑脊髓液、组织、精液、阴道液、组织液（包括得自肿瘤组织的组织液）、眼部液体、脊髓液、咽拭子、呼出气、毛发、指甲、皮肤、活检组织、胎盘液、羊水、脐带血、重点流体（emphatic fluid）、腔液、痰、脓、微生物丛（micropiota）、胎粪、母乳和/或其他分泌物。

[0131] 方法

[0132] 本公开内容提供了捕获感兴趣的颗粒（例如，循环肿瘤细胞、罕见细胞）的方法。感兴

趣的颗粒可以在表面上被捕获。该表面可以涂有不结垢组合物。不结垢组合物可以包含与感兴趣的颗粒特异性结合的结合部分。

[0133] 捕获

[0134] 为捕获感兴趣的颗粒,包含感兴趣的颗粒的样品可以流过表面。流速可以包括至少0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5或7mm/s或更高的线速度。流速可以包括至多0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5或7mm/s或更高的线速度。流速可以包括0.5至4mm/s的线速度。流速可以包括2.5至4mm/s的线速度。流速可以是其中至少50%、60%、70%、80%、90%或100%的感兴趣的颗粒与结合部分结合的速率。流速可以是其中至多50%、60%、70%、80%、90%或100%的感兴趣的颗粒与结合部分结合的速率。流速可以是不损坏感兴趣的颗粒的速率。

[0135] 表面可以从样品中捕获至少50%、60%、70%、80%、90%或100%的感兴趣的颗粒。表面可以从样品中捕获至多50%、60%、70%、80%、90%或100%的感兴趣的颗粒。表面可以捕获每毫升样品至少5、10、25、50、100、200、300、400、500、1000、1500、2000或2500个感兴趣的颗粒。表面可以捕获每毫升样品至多5、10、25、50、100、200、300、400、500、1000、1500、2000或2500个感兴趣的颗粒。

[0136] 可以选择流体流动的速率和压力以提供与表面结合的所需速率。还可以选择流体流速以提供对与表面结合的感兴趣的颗粒的所需剪应力。可以操纵至少两个变量以控制施加至通道的剪应力:腔室的横截面积和施加至腔室的流体压力。可以操纵其他因素以控制允许所需感兴趣的颗粒的结合并防止不需要的颗粒的结合所需的剪应力的量(例如,所用的结合部分和结合部分在通道中的密度)。产生合适的流速(且因此,剪切力)的泵与微流体通道相组合可以产生单向的剪应力(即,可以基本上没有流动方向的反转,和/或基本恒定的剪应力)。单向的或基本恒定的剪应力可以在样品通过通道的时间过程中保持。

[0137] 通过洗涤的纯化

[0138] 表面可以通过移除非特异性的感兴趣的颗粒和/或样品的其他组分而进一步纯化。纯化可以通过使洗涤缓冲液流过表面来进行。洗涤缓冲液的流速可以包括至少0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5或9mm/s或更高的线速度。洗涤缓冲液的流速可以包括至多0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5或9mm/s或更高的线速度。洗涤缓冲液的流速可以包括0.5至4mm/s或更高的线速度。洗涤缓冲液的流速可以包括2.5至4mm/s或更高的线速度。洗涤缓冲液的流速可以是其中至少50%、60%、70%、80%、90%或100%的感兴趣的颗粒保持与结合部分结合的速率。洗涤缓冲液的流速可以是其中至多50%、60%、70%、80%、90%或100%的感兴趣的颗粒保持与结合部分结合的速率。洗涤缓冲液的流速可以是不损坏感兴趣的颗粒的速率。损坏可以指感兴趣的颗粒的形态变化、感兴趣的颗粒的降解、感兴趣的颗粒的生存力的变化、感兴趣的颗粒的裂解和/或感兴趣的颗粒的基因表达(例如,代谢)的变化。

[0139] 洗涤缓冲液的流动(即,漂洗)可以移除至少40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%的非特异性的感兴趣的颗粒。洗涤缓冲液的流动(即,漂洗)可以移除至多40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%的非特异性的感兴趣的颗粒。洗涤缓冲液的流动可以从表面的不结垢组合物吸附(leech)至少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%或15%或

更多的感兴趣的颗粒。洗涤缓冲液的流动可以从表面的不结垢组合物吸附至多1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%或15%或更多的感兴趣的颗粒。

[0140] 释放

[0141] 本公开内容的方法提供了用于收集感兴趣的颗粒的释放方法,其中所释放的感兴趣的颗粒是活的。感兴趣的颗粒的释放可以通过使包含气泡的泡沫组合物流过表面(例如,包含不结垢层、连接体和/或结合部分的表面)来进行。在一些情况下,泡沫组合物包含4毫升在PBS中的5%BSA、2mL空气,其中当以0.5-4mm/s的流速流过表面以释放感兴趣的颗粒时,泡沫组合物的至少50%的气泡具有约10至100微米的直径。

[0142] 使用泡沫组合物(例如,泡沫组合物的气泡)释放细胞可以导致不结垢组合物和/或结合部分从表面上移除。释放细胞的方法可以导致至少50%、60%、70%、80%、90%或100%的不结垢组合物和/或结合部分从表面上移除。释放细胞的方法可以导致至多50%、60%、70%、80%、90%或100%的不结垢组合物和/或结合部分从表面上移除。在一些情况下,释放方法(例如,泡沫组合物)移除了至少70%的不结垢组合物和/或结合部分。在一些情况下,包含4毫升在PBS中的5%BSA、2mL空气的泡沫组合物(其中当以0.5-4mm/s或更高的流速流过表面时,泡沫组合物的至少50%的气泡具有约10至100微米的直径)可导致从表面上移除至少50%的不结垢组合物、结合部分、连接体和/或感兴趣的颗粒。

[0143] 通过本公开内容的泡沫组合物释放的感兴趣的颗粒可以是活的。通过本公开内容的泡沫组合物释放的感兴趣的颗粒可以是非活的。至少50%、60%、70%、80%、90%或100%的释放的感兴趣的颗粒可以是活的。至多50%、60%、70%、80%、90%或100%的释放的感兴趣的颗粒可以是非活的。生存力可以通过形态学(例如,裂解)、基因表达(例如,胱天蛋白酶活性)、基因活性(某些细胞途径的关闭)和细胞功能(例如,活动性的缺乏)的变化来确定。在一些情况下,释放的细胞可以用于下游的过程,例如ELISA、免疫测定、培养、基因表达和核酸测序。如果释放的细胞不能在下游的试验中很好地进行,则细胞可以被称为非活的。在一些情况下,泡沫组合物包含4毫升在PBS中的5%BSA、2mL空气,其中当以0.5-4mm/s或更高的流速流过表面(例如,包含不结垢组合物和结合部分)以释放与该表面结合的细胞时,泡沫组合物的至少50%的气泡具有约10至100微米的直径,其中至少50%的所释放的细胞是活的。

[0144] 所释放的感兴趣的颗粒可以是至少50%、60%、70%、80%、90%或100%不含非特异性的感兴趣的颗粒。所释放的感兴趣的颗粒可以是至多50%、60%、70%、80%、90%或100%不含非特异性的感兴趣的颗粒。非特异性的感兴趣的颗粒可以是任何不是感兴趣的颗粒的细胞颗粒。例如,非特异性的感兴趣的颗粒可以包括白细胞、红细胞、血清蛋白、血清核酸和循环上皮细胞。非特异性的感兴趣的颗粒可以指不能与在本公开内容的微流体芯片中使用的结合部分特异性结合的颗粒。换言之,非特异性的感兴趣的颗粒可以指不表达对结合部分为特异性的抗原/受体的细胞。在一些情况下,包含4毫升在PBS中的5%BSA、2mL空气的泡沫组合物(其中当以0.5-4mm/s或更高的流速流过表面时,泡沫组合物的至少50%的气泡具有约10至100微米的直径)可以导致从表面上移除至少50%的不结垢组合物,和/或导致所释放的感兴趣的颗粒至少50%不含非特异性的感兴趣的颗粒。

[0145] 在一些情况下,细胞群体可以从表面(例如,微流体通道的表面,例如不结垢组合物的表面)上释放。细胞群体可以包含至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、100、1000、10000、

100000或1000000个或更多的细胞。细胞群体可以包含至多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、100、1000、10000、100000或1000000个或更多的细胞。细胞群体可以以至少50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%的效率从表面上释放。细胞群体可以以至多50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%的效率从表面上释放。换言之,可以释放细胞群体中的至少50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%的细胞。可以释放细胞群体中的至多50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%的细胞(例如,通过泡沫或气泡组合物)。

[0146] 细胞群体的细胞可以是活的。细胞群体中的至少50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%的细胞可以是活的。细胞群体中的至多50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%的细胞可以是活的。

[0147] 细胞群体可以包含多个感兴趣的颗粒。细胞群体可以包含至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%的感兴趣的颗粒。细胞群体可以包含至多20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%的感兴趣的颗粒。细胞群体可以包含多个非感兴趣的颗粒。细胞群体可以包含至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%的非感兴趣的颗粒。细胞群体可以包含至多20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%的非感兴趣的颗粒。

[0148] 本公开内容的泡沫组合物的气泡可以通过与不结垢组合物相互作用而移除不结垢组合物。气泡的气-液相互作用可以是疏水性的。其可以与不结垢组合物的疏水部分相互作用。当不结垢组合物的疏水部分包含脂质双层的疏水尾时,气泡可以与脂质双层的疏水尾相互作用并破坏该双层,由此从表面上移去不结垢组合物。

[0149] 在一些情况下,当气泡与脂质双层相互作用时,可以产生固-液-气接触线(例如,在气体、液体和细胞间的接触)。气泡在细胞上的接触角和气泡的液-气界面的表面张力的组合可以是将细胞推离表面的驱动力。如果气泡的气-液界面对细胞的张力过强,它会破坏细胞。如果表面张力过弱,细胞可能不会从表面上移除。

[0150] 泡沫组合物与表面(例如,细胞)的相互作用可以导致表面和/或不结垢组合物的重组(例如,分子变化)。例如,包含含有脂质双层的不结垢组合物的表面可以在通过与泡沫组合物的气泡相互作用后破裂成单层和/或单独的脂质分子。

[0151] 分析

[0152] 所收集的细胞可以通过任何方法如光学(例如,目视检查)、通过软件的自动计数、基于显微镜术的检测、FACS和电检测(例如,Coulter计数器)来计数。对使用本公开内容的方法分离的细胞或其他感兴趣的颗粒的计数可以用于诊断疾病、监测疾病的进展和监测或确定治疗的功效。细胞或其他感兴趣的颗粒的计数可以用于非医疗应用,例如,诸如用于确定在环境样品(例如,水、空气和土壤)、药物、食物、畜牧业或化妆品中的污染物的量、存在或类型。

[0153] 可以测量通过本公开内容的方法收集的细胞和/或感兴趣的颗粒或其部分的一种或多种性质。可以测量的生物性质的实例可以包括mRNA表达、蛋白质表达、核酸改变和量化。可以对通过本公开内容的方法分离的感兴趣的颗粒进行测序。测序可以用于确定某些序列特性(例如,多态性和染色体异常)。

[0154] 当利用裂解来分析感兴趣的颗粒(例如,细胞)时,裂解可以在颗粒仍与不结垢组合物结合时发生。可以在非特异性保持的细胞的存在下分析细胞。

[0155] 可以从被不结垢组合物的结合部分捕获的感兴趣的颗粒(例如,细胞)获得遗传信息。这样的遗传信息可以包括特定基因组DNA、cDNA或mRNA序列的身份或列举(enumeration)。也可以获得其他有价值的信息,例如细胞表面标记的身份或列举;和指示特定肿瘤的类型或存在的蛋白质或其他细胞内内含物的身份或列举。可以分析细胞以确定来源组织、疾病的阶段或严重性或对特定治疗的敏感性或其功效。

[0156] 可以针对指示癌症干细胞的标记的存在来分析通过本公开内容的方法收集的感兴趣的颗粒。这类标记的实例可以包括CD133、CD44、CD24、上皮特异性抗原(ESA)、Nanog和BMI1。

[0157] 组合物

[0158] 本公开内容的组合物(composition)可以包含释放的感兴趣的颗粒(例如,释放的罕见细胞)。释放的感兴趣的颗粒可以指通过本公开内容的方法(例如,泡沫和气泡流过包含不结垢层的表面)释放的细胞。在一些情况下,在释放步骤期间,不结垢组合物、结合部分、连接体和感兴趣的颗粒或其任意组合一起释放。在一些情况下,在释放步骤期间,不结垢组合物和感兴趣的颗粒一起释放。

[0159] 本公开内容的组合物可以包含释放的细胞、不结垢层和来自泡沫组合物的气泡。该气泡可以包含释放的细胞和不结垢层。换言之,该气泡可以部分地包封不结垢层的脂质。

[0160] 尽管已经在本文中显示和描述了本发明的优选实施方式,但对本领域技术人员显而易见的是,这些实施方式仅作为实例提供。在不偏离本发明的情况下,本领域技术人员现在可以想到许多变化、改变和替代。应理解,本文描述的本发明实施方式的多种替代方案可以用于实施本发明。下面的权利要求旨在限定本发明的范围,由此涵盖这些权利要求的范围内的方法和结构及其等同物。

[0161] 实施例

[0162] 实施例1:凹槽图案的鉴别

[0163] 为了找出图案凹槽的适当设计,使用用于针对流体动力学建模的多学科建模软件进行计算模拟。为了简化问题,如在图2中所示,使用二维模型。x-轴表示流体流动方向,z-轴表示从通道底板到通道顶棚的方向。改变的参数包括凹槽宽度:100和250微米,凹槽高度:50和100微米,以及凹槽几何形状:矩形和三角形。

[0164] 以血液作为工作流体,确定质量密度和粘度为 1060kg m^{-3} 和 $0.004\text{kg m}^{-1}\text{s}^{-1}$ 。假定位于固体壁处的边界符合条件而没有滑动或穿透。入口边界设定为 0.5ml/h 的恒定流速,而针对出口边界,压力条件设定为1巴。所有模拟在稳态下进行。

[0165] 图3示出了凹槽高度对微通道中的流体速度的影响。当流体流过图案凹槽时,如图3A中所示,其x速度分量减小。尽管有不同的分布,但如图3A中所示,x速度分量的最大值和最小值对于不同的凹槽高度和形状是相同的。z速度分量可以是微通道中的无序混合水平的指示。z速度分量的最大值与最小值之间的差异越大,混合效果的规模就越大。图3B示出了矩形凹槽的流体混合效果比三角形凹槽更好。此外,具有100微米高度的凹槽具有比具有50微米高度的凹槽更好的混合。图3C中的流体速度的矢量场显示出三角形凹槽具有更平滑的流线。

[0166] 图4示出了凹槽宽度对微通道中的流体速度的影响。如图4A中所示,x速度分量的最大值和最小值在所有情况中都是相同的。图4B示出了矩形凹槽的流体混合效果比三角形

凹槽好。当固定成矩形形状时,具有250微米宽度的凹槽看来比具有100微米宽度的凹槽具有更好的混合。在三角形中,具有100微米宽度的凹槽具有更好的混合。

[0167] 实施例2:微结构中的速度矢量的分析

[0168] 凹式微结构可以诱导微通道的流场的波动。所述波动可以使流中的细胞向下移动以碰撞表面的底部,由此增大结合至表面的机会。图3示出了计算模拟,该计算模拟示出微通道中的微结构附近的流场的速度矢量。流体颗粒在进入微结构时具有向上的速度分量而在离开微结构时具有向下的速度分量。此外,在所述结构下和在通道底部附近形成旋涡。在图6中示出了流动流线的示意图。流线指示出细胞可在微通道中移动的路径。在非结构区的流线上的细胞平行移动,而在结构区的流线上的细胞由于惯性力而继续切换到相邻的流线。人字形结构所拥有的特征之一是诱导螺旋式的流线。

[0169] 如图2中所示,在各个通道高度(h)下进行了细胞结合效率实验,所述通道高度为: $h=40、60、100$ 微米。当 $h=60$ 微米时,获得了更高的细胞结合效率。进行了计算模拟以优化几何参数。模拟结果显示,如在图6中所示,当 c/b 等于0.4(100/250 μm)并且 h 固定为 $h=60$ 微米时,所创造出的波动的规模较大。图7示出了微通道的荧光图像:在图7的左侧示出了在数百万个被细胞示踪绿色染料预染色的细胞流入微流体芯片中之后捕捉的微通道的图像。图7(右侧)中的黑线描述了微通道和微结构的几何形状。根据图3,相当大数目的细胞结合至非结构区的场,并且细胞结合的密度在前面高于在后面。在微通道的入口中,细胞遵循分层的流线进入结构区中。此外,在图7中没有发现旋涡的征兆。

[0170] 实施例3:使用 $x, x+1, x+2, x+1, x, x+1, x+2, x+1, x$ 微结构图案的循环细胞的捕捉

[0171] 使包含循环肿瘤细胞的样品与包含微结构图案的通道接触,其中微结构图案是1232123212321。包括微结构图案的通道包含不结垢组合物。所述不结垢组合物包含脂质双层和结合部分。不结垢组合物的脂质非共价连接至微流体通道的表面(例如,通过范德华相互作用)。脂质的末端包含生物素部分。结合部分包含链霉抗生物素蛋白部分。生物素部分和链霉抗生物素蛋白部分结合在一起,由此将脂质连接至结合部分。结合部分是抗-EpCam抗体。样品以0.5至4mm/s的流速流过表面。循环肿瘤细胞通过在微结构周围和之间移动而冲挤通过微结构图案。循环肿瘤细胞进入位于无微结构区中的旋涡。该旋涡增大在通道中的颗粒移动。增大的颗粒移动增大了其在容积内的移动,从而增大了颗粒与结合部分紧密接触的前景,由此使得多达90%的更大数目的循环肿瘤细胞能够结合至微结构上的结合部分。通过使包含磷酸缓冲盐水的洗涤缓冲液流过不结垢组合物来纯化不结垢组合物的表面。洗涤缓冲液移除非特异性结合的细胞,但不破坏循环肿瘤细胞的结合。通过使气泡流过不结垢组合物而从结合部分和不结垢组合物释放循环肿瘤细胞。气泡与不结垢组合物的脂质相互作用以从表面上移除脂质。通过来自气泡与不结垢组合物之间的气-液界面的剪切力移除脂质。所述剪切力使脂质双层翻转,由此松开脂质以使得其轻易地脱离。附着至不结垢组合物的结合部分的循环肿瘤细胞也连同脂质被移除。剪切力强至足以移除循环肿瘤细胞,但不损伤细胞。释放的细胞是活的。以这种方式,使用通过泡沫组合物释放的方法收集循环肿瘤细胞。

[0172] 实施例4:使用 $x, x+1, x+2, x+1, x, x, x+1, x+2, x+1, x, x$ 微结构图案的循环细胞的捕捉

[0173] 使包含循环肿瘤细胞的样品与包含微结构图案的通道接触,其中微结构图案是

123211232112321。包括微结构图案的通道包含不结垢组合物。所述不结垢组合物包含脂质双层和结合部分。不结垢组合物的脂质非共价连接至微流体通道的表面(例如,通过范德华相互作用)。脂质的末端包含生物素部分。结合部分包含链霉抗生物素蛋白部分。生物素部分和链霉抗生物素蛋白部分结合在一起,由此将脂质连接至结合部分。结合部分是抗-EpCam抗体。样品以0.5至4mm/s的流速流过表面。循环肿瘤细胞通过在微结构周围和之间移动而冲挤通过微结构图案。循环肿瘤细胞进入位于无微结构区中的旋涡。该旋涡增大在通道中的颗粒移动。增大的颗粒移动增大了其在容积内的移动,从而增大了颗粒与结合部分紧密接触的前景,由此使得多达90%的更大数目的循环肿瘤细胞能够结合至微结构上的结合部分。通过使包含磷酸缓冲盐水的洗涤缓冲液流过不结垢组合物来纯化不结垢组合物的表面。洗涤缓冲液移除非特异性结合的细胞,但不破坏循环肿瘤细胞的结合。通过使气泡流过不结垢组合物而从结合部分和不结垢组合物释放循环肿瘤细胞。气泡与不结垢组合物的脂质相互作用以从表面移除脂质。通过来自气泡与不结垢组合物之间的气-液界面的剪切力移除脂质。所述剪切力使脂质双层翻转,由此松开脂质以使得其轻易地脱离。附着至不结垢组合物的结合部分的循环肿瘤细胞也连同脂质被移除。剪切力强至足以移除循环肿瘤细胞,但不损伤细胞。释放的细胞是活的。以这种方式,使用通过泡沫组合物释放的方法收集循环肿瘤细胞。

[0174] 实施例5:使用m,n,m,n,m,n微结构图案的循环细胞的捕捉

[0175] 使包含循环肿瘤细胞的样品与包含微结构图案的通道接触,其中微结构图案是34343434。包括微结构图案的通道包含不结垢组合物。所述不结垢组合物包括脂质双层和结合部分。不结垢组合物的脂质非共价连接至微流体通道的表面(例如,通过范德华相互作用)。脂质的末端包含生物素部分。结合部分包含链霉抗生物素蛋白部分。生物素部分和链霉抗生物素蛋白部分结合在一起,由此将脂质连接至结合部分。结合部分是抗-EpCam抗体。样品以0.5至4mm/s的流速流过表面。循环肿瘤细胞通过在微结构周围和之间移动而冲挤通过微结构图案。循环肿瘤细胞进入位于无微结构区中的旋涡。该旋涡增大在通道中的颗粒移动。增大的颗粒移动增大了其在容积内的移动,从而增大了颗粒与结合部分紧密接触的前景,由此使得多达90%的更大数目的循环肿瘤细胞能够结合至微结构上的结合部分。通过使包含磷酸缓冲盐水的洗涤缓冲液流过不结垢组合物来纯化不结垢组合物的表面。洗涤缓冲液移除非特异性结合的细胞,但不破坏循环肿瘤细胞的结合。通过使气泡流过不结垢组合物而从结合部分和不结垢组合物释放循环肿瘤细胞。气泡与不结垢组合物的脂质相互作用以从表面移除脂质。通过来自气泡与不结垢组合物之间的气-液界面的剪切力移除脂质。所述剪切力使脂质双层翻转,由此松开脂质以使得其轻易地脱离。附着至不结垢组合物的结合部分的循环肿瘤细胞也连同脂质被移除。剪切力强至足以移除脂质并因此移除循环肿瘤细胞,但不损伤细胞。释放的细胞是活的。以这种方式,使用通过泡沫组合物释放的方法收集循环肿瘤细胞。

[0176] 图16图示了根据实施方式的、包含多个旋涡区域的微流体通道。壁1602和1604可以表示微流体通道的侧壁,并且该通道可以具有通道宽度1605。多个旋涡区域中的每一个可以基本不含多个微结构1601。在一些情况下,多个旋涡区域中的每一个可以包含圆柱形容积。所述圆柱形容积可以包括微流体通道的高度和基部(例如,如旋涡区域1606所示)。基部可以包括等于或大于通道的宽度1605的约20%的直径。在一些情况下,基部可以包括等

于或大于通道的宽度的约25%、30%、35%、40%、45%或50%的直径。在一些情况下,每个旋涡区域还可以包含矩形容积(例如,如旋涡区域1608、1610所示)。所述矩形容积可以包括通道的高度、等于所述直径的宽度以及至少为通道的宽度1605的30%的长度。在一些情况下,长度可以等于或大于通道的宽度的约35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%。微结构和/或旋涡区域可以沿着通道的长度定位成非随机图案。在一些情况下,所述非随机图案可以是重复图案或回文图案。例如,区域1612示出了在重复和回文图案中的微结构和旋涡区域。

[0177] 图17图示了根据实施方式的、包含第一区1706和第二区1708、1709的微流体通道。所述微流体通道可以包括通道宽度1702和通道高度。通道宽度可以从微流体通道的一个侧壁延伸到另一侧壁。通道高度可以从通道的底板延伸到通道的顶棚。微流体通道可以包括长度1712。在一些情况下,长度可以是指从通道的入口延伸至出口的通道的端到端长度(例如,通道长度)。或者,长度可以是指通道长度的一部分。例如,长度可以等于或大于通道长度的约5%、10%、15%、20%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。通道可以包括多个微结构1701。所述多个微结构可以沿着通道长度非随机地布置,例如布置成重复图案或回文图案。在一些情况下,第一区可以包括通道高度、长度以及等于或小于通道宽度的约90%、80%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%或10%的宽度。在一些情况下,第一区可以包括通道的(例如,在所述长度内)的所述多个微结构的约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多。微流体通道还可以包括位于第一区之外的第二区。第二区可以包括通道的(例如,在所述长度内)的所述多个微结构的约或大于5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%。在一些情况下,第一区可以是与通道的壁1710和1712等距的。

[0178] 各个实施方式

[0179] 在许多方面,提供了一种微流体通道。该微流体通道可以包括本文先前描述的多个微结构。例如,所述多个微结构中的每个微结构可以彼此相同。所述微流体通道可以包括多个旋涡区域。本文所使用的旋涡区域可以指在其中响应于流体流动而生成一个或多个旋涡的区域。所述旋涡可以是如先前所描述的(例如,二维的或三维的)。在一些情况下,旋涡区域可以指无微结构区,如本文先前所描述。

[0180] 例如,与不具有微结构的微流体通道相比,多个旋涡区域和/或微结构可以增大感兴趣的颗粒与微流体通道的结合。例如,与具有遍及通道均匀分布的微结构的微流体通道相比,(例如,如本文先前所描述的遍及通道非均匀地分布的)多个微结构和/或因该微结构的分布而产生的多个旋涡区域可以增大感兴趣的颗粒与微流体通道的结合。在一些情况下,旋涡区域的大小和/或旋涡区域遍及通道的分布可能是上述的增大感兴趣的颗粒与通道的结合的重要贡献因素。例如,在各处分布的相当大的旋涡区域(例如,各自具有至少为通道宽度的5%的尺寸的旋涡区域)可以有助于感兴趣的颗粒的结合的增大。结合的增大(例如,由于多个微结构或旋涡区域的原因)可以等于约或至少为10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或者更多。

[0181] 在一些情况下,多个旋涡区域中的每个旋涡区域可以包括一容积。例如,每个旋涡区域可以包括立方体容积、矩形容积、圆柱形容积等。在一些情况下,每个旋涡区域可以包

括具有通道高度的高度的容积。在一些情况下,每个旋涡区域可以包括至少为通道的宽度的5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的至少一个尺寸。在一些情况下,每个旋涡区域可以包括至多为通道的宽度的5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的至少一个尺寸。在一些情况下,每个旋涡区域可以包括圆柱形容积和基部,所述圆柱形容积具有通道的高度(例如,通道高度),而所述基部具有至少为通道的宽度的5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的直径。在一些情况下,每个旋涡区域可以包括圆柱形容积和基部,所述圆柱形容积具有通道的高度(例如,通道高度),而所述基部具有至多为通道的宽度的5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的直径。

[0182] 在一些情况下,所述多个旋涡区域可以共同包括不超过通道的容积的5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的容积。在一些情况下,所述多个旋涡区域包括通道的容积的至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%。

[0183] 在一些情况下,多个旋涡区域中的每个旋涡区域可以包括通道的表面积。例如,多个旋涡区域中的每个旋涡区域可以包括通道顶棚、通道底板或通道壁的表面积。在一些情况下,多个旋涡区域中的每个旋涡区域可以包括包含多个微结构的通道表面(例如,通道顶棚)的表面积。在一些情况下,每个旋涡区域可以包括正方形表面积、矩形表面积和圆形表面积等。在一些情况下,每个旋涡区域可以包括至少为通道的宽度的5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的至少一个尺寸。在一些情况下,每个旋涡区域可以包括至多为通道的宽度的5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的至少一个尺寸。在一些情况下,每个旋涡区域可以包括至少为通道的宽度的5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的直径。在一些情况下,每个旋涡区域可以包括至多为通道的宽度的5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的直径。

[0184] 在一些情况下,所述多个旋涡区域可以共同包括不超过通道顶棚、底板或壁的10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的表面积。在一些情况下,所述多个旋涡区域可以共同包括通道顶棚、底板或壁的表面积的至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的表面积。

[0185] 多个旋涡区域中的每个旋涡区域可以不含所述多个微结构。在一些情况下,多个旋涡区域中的每个旋涡区域可以基本上不含所述多个微结构。基本上不含所述多个微结构的旋涡区域可以具有小于或等于每个旋涡区域内的所述多个微结构的约1%、2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%或90%。在一些情况下,基本上不含所述多个微结构的旋涡区域可以具有小于或等于包含微结构的旋涡区域的表面积的约1%、2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%或90%。在一些情况下,多个旋涡区域可以共同地基本上不含所述多个微结构。共同地基本上不含所述多个微结构的多个旋涡区域可以具有小于或等于多个旋涡区域内的所述

多个微结构的约1%、2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、80%或90%。

[0186] 所述多个旋涡区域可以在通道内布置成有序图案或非随机图案。有序图案可以包括对称图案。对称图案可以关于通道的任何轴。例如,对称图案可以关于通道的纵轴(例如,穿越通道顶棚、通道底板、通道侧壁等)。在一些情况下,有序图案可以包括循环图案、重复图案或回文图案。循环图案、重复图案或回文图案可以是相对于通道长度的。

[0187] 在一些情况下,多个旋涡区域可以沿着通道的一个或多个侧面来布置或定位。通道的侧面可以指关于通道宽度测量的通道的中部5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%或60%之外的区域。

[0188] 因而,在一个方面,提供了一种微流体通道。该微流体通道包括:在所述通道内沿着所述通道的长度布置成非随机图案的多个微结构,所述非随机图案被配置用于响应于流体流动穿过所述通道而在多个旋涡区域中生成二维旋涡。

[0189] 在一些实施方式中,所述多个旋涡区域沿着所述通道的一个或多个侧面来定位。在一些实施方式中,所述多个旋涡区域遍及所述通道布置成有序图案。在一些实施方式中,所述有序图案是对称图案。在一些实施方式中,其中所述多个旋涡区域基本上不含所述多个微结构。在一些实施方式中,所述多个旋涡区域不含所述多个微结构。在一些实施方式中,所述多个旋涡区域包括所述通道的容积的至少10%。在一些实施方式中,所述多个旋涡区域中的每一个包括至少为所述通道的宽度的10%的至少一个尺寸。在一些实施方式中,所述非随机图案是重复图案。在一些实施方式中,所述非随机图案是回文图案。在一些实施方式中,所述二维旋涡区域中的每一个沿着所述通道长度分隔开至少0.5mm。在一些实施方式中,所述二维旋涡区域中的每一个沿着所述通道长度分隔开至少0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.2、1.5或2mm。在一些实施方式中,所述二维旋涡区域中的每一个包括具有所述通道的高度的圆柱体和具有所述通道的宽度的至少10%的直径的基部。在一些实施方式中,与不具有所述多个微结构的通道相比,所述多个微结构足以导致感兴趣的颗粒与所述通道的结合增大至少50%。在一些实施方式中,与不具有所述多个微结构的通道相比,所述多个微结构足以导致感兴趣的颗粒与所述通道的结合增大至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。在一些实施方式中,所述多个微结构布置成彼此基本平行的多个列,并且其中所述多个列中的每个列包括列长度,所述列长度等于所述列中从第一微结构的最外边缘到最后一个微结构的最外边缘的距离。在一些实施方式中,所述多个列包括具有第一长度的列和具有比所述第一长度更大的第二长度的列,并且其中所述第一长度等于或小于所述第二长度的50%。在一些实施方式中,所述多个列包括具有第一长度的列和具有比所述第一长度更大的第二长度的列,并且其中所述第一长度等于或小于所述第二长度的10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。在一些实施方式中,所述多个列包括具有第一长度的列和具有比所述第一长度更大的第二长度的列,并且其中每个具有所述第一长度的列与至少另一具有所述第一长度的列相邻。在一些实施方式中,所述第一长度是所述多个列的最小长度。在一些实施方式中,所述多个列包括至少三个不同长度的列。在一些实施方式中,所述多个列包括至少两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或更多个不同长度的列。在一些实施方式中,所述旋涡区域不含所述多个微结构。在一些实施方式中,沿着所述通道的长度所述旋涡区域中的每一个为至少400微

米。在一些实施方式中,所述旋涡区域不含所述多个微结构。在一些实施方式中,所述旋涡区域中的每一个在长度上沿着所述通道的长度为至少100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000或更多微米。在一些实施方式中,所述通道包括沿着平行于通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最小距离和沿着平行于所述通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最大距离,并且其中所述最小距离等于或小于所述最大距离的50%。

[0190] 在另一方面,提供了一种微流体通道。所述通道包括:安置在所述通道内的多个微结构,其中所述微流体通道涂有不结垢层和一组结合部分,该组结合部分被配置用于选择性地结合感兴趣的颗粒,并且其中所述多个微结构被布置成这样的图案——与涂有不结垢层和所述一组结合部分但不具有所述微结构的通道相比,该图案导致感兴趣的颗粒与所述微流体通道的结合增大至少10%。

[0191] 在一些情况下,所述多个微结构被布置成这样的图案——与涂有不结垢层和所述一组结合部分但不具有所述微结构的通道相比,该图案导致感兴趣的颗粒与所述微流体通道的结合增大至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多。

[0192] 在一些实施方式中,所述多个微结构沿着所述通道的长度布置成非随机图案。在一些实施方式中,所述非随机图案是重复图案。在一些实施方式中,所述非随机图案是回文图案。在一些实施方式中,所述多个微结构布置成彼此基本平行的多个列,并且其中所述多个列中的每个列包括列长度,所述列长度等于从所述列中的第一微结构的最外边缘到最后一个微结构的最外边缘的距离。在一些实施方式中,所述多个列包括具有第一长度的列和具有比所述第一长度更大的第二长度的列,并且其中所述第一长度等于或小于所述第二长度的50%。在一些实施方式中,所述多个列包括具有第一长度的列和具有比所述第一长度更大的第二长度的列,并且其中所述第一长度等于或小于所述第二长度的约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。在一些实施方式中,所述多个列包括具有第一长度的列和具有比所述第一长度更大的第二长度的列,并且其中每个具有所述第一长度的列与至少另一具有所述第一长度的列相邻。在一些实施方式中,所述第一长度是所述多个列的最小长度。在一些实施方式中,所述多个列包括至少三个不同长度的列。在一些实施方式中,所述多个列包括至少两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或更多个不同长度的列。在一些实施方式中,所述通道包括不含微结构的多个旋涡区域。在一些实施方式中,所述多个旋涡区域沿着所述通道的长度以重复间隔定位。在一些实施方式中,沿着所述通道的长度所述旋涡区域中的每一个为至少400微米。在一些实施方式中,所述旋涡区域中的每一个在长度上沿着所述通道的长度为至少100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000或更多微米。在一些实施方式中,所述通道包括沿着平行于通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最小距离和沿着平行于所述通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最大距离,并且其中所述最小距离等于或小于所述最大距离的50%。在一些实施方式中,所述通道包括沿着平行于通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最小距离和沿着平行于所述通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最大距离,并且其中所述最小距离等于或小于所述最大距离的约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。

[0193] 在另一方面,提供了一种微流体通道。所述通道包括:安置在所述通道内的多个微结构,其中所述微流体通道涂有不结垢层和一组结合部分,该组结合部分被配置用于选择性地结合感兴趣的颗粒,并且其中所述多个微结构遍及所述通道布置成这样的不均匀图

案——与涂有所述不结垢层和所述一组结合部分并具有遍及通道安置的均匀布置的微结构的通道相比,该不均匀图案导致感兴趣的颗粒与所述微流体通道的结合增大至少10%。

[0194] 在一些情况下,所述多个微结构布置成这样的图案——与涂有所述不结垢层和所述一组结合部分并具有遍及通道安置的均匀布置的微结构的通道相比,该图案导致感兴趣的颗粒与所述微流体通道的结合增大至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更多。

[0195] 在一些实施方式中,对于沿着所述通道长度的任何给定长度,沿着最外侧微结构之间的通道宽度测量的距离是在沿着最外侧微结构之间的通道宽度(在沿着针对遍及所述通道安置的均匀布置的微结构的通道长度的不同长度处)测量的任何其他距离的5%、10%、20%、30%、40%或50%之内。在一些实施方式中,所述多个微结构沿着所述通道长度布置成非随机图案。在一些实施方式中,所述非随机图案是重复图案。在一些实施方式中,所述非随机图案是回文图案。在一些实施方式中,所述多个微结构布置成彼此基本平行的多个列,并且其中所述多个列中的每个列包括列长度,所述列长度等于从所述列中的第一微结构的最外边缘到最后一个微结构的最外边缘的距离。在一些实施方式中,所述多个列包括具有第一长度的列和具有比所述第一长度更大的第二长度的列,并且其中所述第一长度等于或小于所述第二长度的约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。在一些实施方式中,所述多个列包括具有第一长度的列和具有比所述第一长度更大的第二长度的列,并且其中每个具有所述第一长度的列与至少另一具有所述第一长度的列相邻。在一些实施方式中,所述第一长度是所述多个列的最小长度。在一些实施方式中,所述多个列包括至少两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或更多个不同长度的列。在一些实施方式中,所述通道包括不含微结构的多个旋涡区域。在一些实施方式中,所述多个旋涡区域沿着所述通道的长度以重复间隔定位。在一些实施方式中,旋涡区域中的每一个在长度上沿着所述通道的长度为至少100微米、200微米、300微米、400微米、500微米、600微米、700微米、800微米、900微米、1000微米或更多微米。在一些实施方式中,所述通道包括沿着平行于通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最小距离和沿着平行于所述通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最大距离,并且其中所述最小距离等于或小于所述最大距离的约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。

[0196] 在另一方面,提供了一种微流体通道。所述通道包括:所述通道内的多个微结构;以及多个旋涡区域,在所述旋涡区域处响应于流体流动而生成一个或多个旋涡,其中每个旋涡区域基本上不含所述多个微结构并且包括至少一个圆柱形容积,所述圆柱形容积具有(1)所述通道的高度和(2)具有至少为所述通道的宽度的5%的直径的基部。

[0197] 在一些实施方式中,所述基部具有至少为所述通道的宽度的10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%的直径。在一些实施方式中,所述多个旋涡区域沿着所述通道的长度定位成非随机图案。在一些实施方式中,所述非随机图案是重复图案。在一些实施方式中,所述非随机图案是回文图案。在一些实施方式中,所述多个微结构沿着所述通道的长度布置成非随机图案。在一些实施方式中,所述非随机图案是重复图案。在一些实施方式中,所述非随机图案是回文图案。在一些实施方式中,所述多个微结构布置成彼此基本平行的多个列,并且其中所述多个列中的每个列包括列长度,所述列长度等于从所述列中的第一微结构的最外边缘到最后一个微结构的最外边缘的距离。在一些实施方式中,所述

多个列包括具有第一长度的列和具有比所述第一长度更大的第二长度的列，并且其中所述第一长度等于或小于所述第二长度的约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。在一些实施方式中，所述多个列包括具有第一长度的列和具有比所述第一长度更大的第二长度的列，并且其中每个具有所述第一长度的列与至少另一具有所述第一长度的列相邻。在一些实施方式中，所述第一长度是所述多个列的最小长度。在一些实施方式中，所述多个列包括至少两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或更多个不同长度的列。在一些实施方式中，旋涡区域中的每一个在长度上沿着所述通道的长度为至少100微米、200微米、300微米、400微米、500微米、600微米、700微米、800微米、900微米、1000微米或更多微米。在一些实施方式中，所述通道包括沿着平行于通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最小距离和沿着平行于所述通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最大距离，并且其中所述最小距离等于或小于所述最大距离的约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。

[0198] 在另一方面，提供了一种微流体通道，其包括通道宽度、通道高度和通道长度，其中所述微流体通道包括安置于其中的多个微结构。所述通道包括：第一区，其包括所述通道高度、等于或小于所述通道宽度的40%的宽度以及等于或多于所述通道长度的10%的长度，其中所述第一区在所述长度内包括所述通道的所述多个微结构的60%或更多；以及位于所述第一区之外的第二区。

[0199] 在一些情况下，所述第一区包括等于或小于所述通道宽度的约70%、60%、50%、40%、30%、20%或10%的宽度。在一些情况下，所述第一区包括等于或大于所述通道长度的10%、15%、20%、25%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%的长度。在一些情况下，所述第一区包括所述多个微结构的约30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%或者更多。在一些情况下，所述第一区包括等于或小于所述通道宽度的约40%的宽度以及所述多个微结构的60%或更多。在一些情况下，上文提及的所述多个微结构在所述第一区中的百分比是指或者取决于

$\frac{\text{第一区内的微结构的数目}}{\text{通道内的微结构的总数}}$ 。

在一些情况下，上文提及的所述多个微结构在所述第一区中的百分比是指或者取决于

$\frac{\text{第一区内的微结构的体积}}{\text{通道内的微结构的总体积}}$ 。

在一些情况下，上文提及的所述多个微结构在所述第一区中的百分比是指或者取决于

$\frac{\text{第一区内的微结构的表面积}}{\text{通道内的微结构的总表面积}}$ 。

在一些情况下，上文提及的所述多个微结构在所述第一区中的百分比是指或者取决于

$\frac{\text{与在第一区内的微结构相接触的通道表面积}}{\text{与通道内的微结构相接触的通道表面积}}$ 。

在一些实施方式中，所述第二区包括等于或多于所述多个微结构的约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%或40%。在一些实施方式中，所述第二区包括等于或小于所述多个微结构的约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%或40%。在一些实施方式中，所述第二区基本不含所述多个微结构。在一些实施方式中，所述第二区不含所述多个微结构。在一些实施方式中，所述第二区包括小于所有微结构体积的约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%或40%。在一些实施方式中，所述第二区包括大于所有微结构体积的约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%或40%。在一些实施方式中，所述第二区被配置用于生成多个

二维旋涡。在一些实施方式中，所述第二区包括多个旋涡区域，所述多个旋涡区域被配置用于生成多个二维旋涡。在一些实施方式中，所述第一区包括等于或小于所述通道宽度的30%的宽度。在一些实施方式中，所述第一区包括所述多个微结构的70%或更多。在一些实施方式中，沿着所述通道长度以规则间隔生成一个或多个旋涡。在一些实施方式中，在所述第二区中生成所述一个或多个旋涡。在一些实施方式中，所述第一区与所述通道的壁是等距的。在一些实施方式中，所述多个微结构布置在所述通道的上表面上。在一些实施方式中，所述多个微结构沿着所述通道的长度布置成非随机图案。在一些实施方式中，所述非随机图案是重复图案。在一些实施方式中，其中所述非随机图案是回文图案。在一些实施方式中，所述多个微结构布置成彼此基本平行的多个列，并且其中所述多个列中的每个列包括列长度，所述列长度等于从所述列中的第一微结构的最外边缘到最后一个微结构的最外边缘的距离。在一些实施方式中，所述多个列包括具有第一长度的列和具有比所述第一长度更大的第二长度的列，并且其中所述第一长度等于或小于所述第二长度的约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。在一些实施方式中，所述多个列包括具有第一长度的列和具有比所述第一长度更大的第二长度的列，并且其中每个具有所述第一长度的列与至少另一具有所述第一长度的列相邻。在一些实施方式中，所述第一长度是所述多个列的最小长度。在一些实施方式中，所述多个列包括至少三个不同长度的列。在一些实施方式中，所述第二区包括旋涡区域。在一些实施方式中，所述旋涡区域在长度上沿着所述通道的长度为至少100微米、200微米、300微米、400微米、500微米、600微米、700微米、800微米、900微米、1000微米或更多微米。在一些实施方式中，所述旋涡区域以非随机图案定位于所述第二区内。在一些实施方式中，所述非随机图案是沿着所述通道长度的重复图案。在一些实施方式中，所述非随机图案是沿着所述通道长度的回文图案。在一些实施方式中，所述通道包括沿着平行于通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最小距离和沿着平行于所述通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最大距离，并且其中所述最小距离等于或小于所述最大距离的约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。在一些实施方式中，所述第一区是连续的。在一些实施方式中，所述第二区是不连续的。

[0200] 在另一方面，提供了一种微流体通道，其具有通道宽度、通道高度和从所述通道的入口延伸到出口的通道长度，其中所述微流体通道包括安置于其中的多个微结构。所述通道包括：第一区，其包括所述通道高度、所述通道长度、等于或小于所述通道宽度的约80%的宽度，其中所述第一区包括所述多个微结构的约20%或更多；以及位于所述第一区之外的第二区。

[0201] 在一些情况下，所述第一区包括等于或小于所述通道宽度的约70%、60%、50%、40%、30%、20%或10%的宽度。在一些情况下，所述第一区包括所述多个微结构的约30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%或者更多。在一些情况下，所述第一区包括等于或小于所述通道宽度的约40%的宽度以及所述多个微结构的60%或更多。在一些情况下，上文提及的所述多个微结构在所述第一区中的百分比是指或者取决于

$$\frac{\text{第一区内的微结构的数目}}{\text{通道内的微结构的总数}}。$$

在一些情况下，上文提及的所述多个微结构在所述第一区中的百分比是指或者取决于

$$\frac{\text{第一区内的微结构的体积}}{\text{通道内的微结构的总体积}}。$$
 在一些情况下，上文提及的所述多个微结构在所述第一区中的百

分比是指或者取决于 $\frac{\text{第一区内的微结构的表面积}}{\text{通道内的微结构的总表面积}}$ 。在一些情况下,上文提及的所述多个微结构在所述第一区中的百分比是指或者取决于 $\frac{\text{与在第一区内的微结构相接触的通道表面积}}{\text{与通道内的微结构相接触的通道表面积}}$ 。

一些实施方式中,所述第二区包括等于或多于所述多个微结构的约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%或40%。在一些实施方式中,所述第二区包括等于或小于所述多个微结构的约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%或40%。在一些实施方式中,所述第二区基本不含所述多个微结构。在一些实施方式中,所述第二区不含所述多个微结构。在一些实施方式中,所述第二区包括小于所有微结构体积的约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%或40%。在一些实施方式中,所述第二区包括大于所有微结构体积的约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%或40%。在一些实施方式中,所述第二区被配置用于生成多个二维旋涡。在一些实施方式中,所述第二区包括多个旋涡区域,所述多个旋涡区域被配置用于生成多个二维旋涡。在一些实施方式中,所述第一区包括等于或小于所述通道宽度的30%的宽度。在一些实施方式中,所述第一区包括所述多个微结构的70%或更多。在一些实施方式中,沿着所述通道长度以规则间隔生成一个或多个旋涡。在一些实施方式中,在所述第二区中生成所述一个或多个旋涡。在一些实施方式中,所述第一区与所述通道的壁是等距的。在一些实施方式中,所述多个微结构布置在所述通道的上表面上。在一些实施方式中,所述多个微结构沿着所述通道的长度布置成非随机图案。在一些实施方式中,所述非随机图案是重复图案。在一些实施方式中,其中所述非随机图案是回文图案。在一些实施方式中,所述多个微结构布置成彼此基本平行的多个列,并且其中所述多个列中的每个列包括列长度,所述列长度等于从所述列中的第一微结构的最外边缘到最后一个微结构的最外边缘的距离。在一些实施方式中,所述多个列包括具有第一长度的列和具有比所述第一长度更大的第二长度的列,并且其中所述第一长度等于或小于所述第二长度的约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。在一些实施方式中,所述多个列包括具有第一长度的列和具有比所述第一长度更大的第二长度的列,并且其中每个具有所述第一长度的列与至少另一具有所述第一长度的列相邻。在一些实施方式中,所述第一长度是所述多个列的最小长度。在一些实施方式中,所述多个列包括至少三个不同长度的列。在一些实施方式中,所述第二区包括旋涡区域。在一些实施方式中,所述旋涡区域在长度上沿着所述通道的长度为至少100微米、200微米、300微米、400微米、500微米、600微米、700微米、800微米、900微米、1000微米或更多微米。在一些实施方式中,所述旋涡区域以非随机图案位于所述第二区内。在一些实施方式中,所述非随机图案是沿着所述通道长度的重复图案。在一些实施方式中,所述非随机图案是沿着所述通道长度的回文图案。在一些实施方式中,所述通道包括沿着平行于通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最小距离和沿着平行于所述通道宽度的轴测量的微结构的末端之间的最大距离,并且其中所述最小距离等于或小于所述最大距离的约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。在一些实施方式中,所述第一区是连续的。在一些实施方式中,所述第二区是不连续的。

[0202] 在另一方面,提供了一种微流体通道。所述通道包括:彼此基本平行的多个列,所述多个列包括具有第一长度的列和具有第二长度的列,其中所述第二长度大于所述第一长度约10%或更多,并且其中所述多个列包括沿着所述通道长度的非随机图案。

[0203] 在一些实施方式中,所述第二长度大于所述第一长度约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%或更多。

[0204] 在一些实施方式中,所述非随机图案是重复图案。在一些实施方式中,所述非随机图案是回文图案。在一些实施方式中,所述多个列中的每个列的长度是沿着所述通道的宽度测量的。在一些实施方式中,所述非随机图案在所述通道内重复约5、10、15、20、25、30次或更多次。在一些实施方式中,所述多个列中的每个列包括一个或多个微结构。在一些实施方式中,所述多个列中的每个列的长度对应于该列所包括的微结构的数目。在一些实施方式中,所述多个列中的每个列包括一个或多个相同形状和/或相同大小的微结构。在一些实施方式中,所述多个列布置在所述通道的上表面上。在一些实施方式中,所述多个列中的每个列的纵轴彼此平行。在一些实施方式中,所述多个列包括至少两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或更多个不同长度的列。在一些实施方式中,所述多个列包括具有所述最小长度的第一类型(c1)的列,具有介于所述最小长度与所述最大长度之间的中间长度的第二类型(c2)的列,以及具有所述最大长度的第三类型(c3)的列,并且其中所述回文图案由沿着流体流动方向的具有以下类型的相继的列所形成,所述类型为:c1c2c3c2c1。在一些实施方式中,所述多个列中的每个列的所述列长度的中心在所述通道内对准。在一些实施方式中,所述多个列沿着通道宽度彼此基本平行。在一些实施方式中,所述多个列关于所述通道的宽度彼此基本平行。

[0205] 在另一方面,提供了一种微流体通道。所述通道包括:彼此基本平行的多个列,所述多个列包括具有第一长度的列和具有第二长度的列,其中所述第二长度大于所述第一长度,其中每个具有所述第一长度的列与至少另一具有所述第一长度的列相邻,并且其中所述多个列包括沿着所述通道长度的非随机图案。

[0206] 在一些实施方式中,所述非随机图案是重复图案。在一些实施方式中,所述非随机图案是回文图案。在一些实施方式中,所述多个列中的每个列的长度是沿着所述通道的宽度测量的。在一些实施方式中,所述非随机图案在所述通道内重复约5、10、15、20、25、30次或更多次。在一些实施方式中,所述多个列中的每个列包括一个或多个微结构。在一些实施方式中,所述多个列中的每个列的长度对应于该列所包括的微结构的数目。在一些实施方式中,每个微结构是相同的。在一些实施方式中,所述多个列布置在所述通道的上表面上。在一些实施方式中,所述多个列中的每个列的纵轴彼此平行。在一些实施方式中,所述多个列包括至少两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或更多个不同长度的列。在一些实施方式中,所述多个列包括具有所述最小长度的第一类型(c1)的列,具有介于所述最小长度与所述最大长度之间的中间长度的第二类型(c2)的列,以及具有所述最大长度的第三类型(c3)的列,并且其中所述回文图案由沿着流体流动方向的具有以下类型的相继的列所形成,所述类型为:c1c2c3c2c1。在一些实施方式中,所述多个列中的每个列的所述列长度的中心在所述通道内对准。在一些实施方式中,所述多个列沿着通道宽度彼此基本平行。在一些实施方式中,所述多个列关于所述通道的宽度彼此基本平行。

[0207] 在另一方面,提供了一种用于结合感兴趣的颗粒的方法。所述方法包括:使包含感兴趣的颗粒的样品流动穿过任何上述微流体通道;以及使所述感兴趣的颗粒结合至所述列或所述微结构。

[0208] 在一些实施方式中,所述流动包括至少2.5mm/s的线速度。在一些实施方式中,所

述流动包括至多4mm/s的线速度。在一些实施方式中，流动包括沿着所述通道的长度以重复间隔创造旋涡。在一些实施方式中，所述旋涡将所述感兴趣的颗粒引导至所述通道的表面。在一些实施方式中，所述方法进一步包括从所述微结构释放所述感兴趣的颗粒。

[0209] 在另一方面，提供了一种用于从流体样品中捕捉感兴趣的颗粒的方法。所述方法包括：使包含所述感兴趣的颗粒的样品流动穿过微流体通道，所述微流体通道具有涂有不结垢层以及一个或多个结合部分的一个或多个微结构，所述结合部分选择性地结合所述感兴趣的颗粒，从而在所述微流体通道内生成多个二维旋涡，其中所述二维旋涡中的每一个包括水平流体矢量和垂直流体矢量并且将所述感兴趣的颗粒结合到所述通道的表面。

[0210] 在一些实施方式中，所述二维旋涡包括至少为所述通道的宽度的10%的直径。在一些实施方式中，所述通道的表面包括微结构。在一些实施方式中，所述流动包括至少2.5mm/s的线速度。在一些实施方式中，所述流动包括至多4mm/s的线速度。在一些实施方式中，沿着所述通道的长度以非随机图案生成所述二维旋涡。在一些实施方式中，沿着所述通道的长度以重复间隔生成所述二维旋涡。在一些实施方式中，所述二维旋涡将所述感兴趣的颗粒引导至所述通道的表面。在一些实施方式中，所述方法进一步包括从所述微结构释放所述感兴趣的颗粒。

[0211] 虽然本文已经示出和描述了本发明的优选实施方式，但是对于本领域技术人员而言显然的是这样的实施方式仅通过举例说明来提供。现在对于本领域技术人员而言在不偏离本发明的情况下可以想到众多的改变、变化和替代。应当理解，在实践本发明时可以采用本文所描述的本发明的实施方式的各种替代。所附权利要求旨在限定本发明的范围，并因此覆盖这些权利要求及其等同项的范围内的方法和结构。

〈110〉 中央研究院

〈120〉 收集器架构布局设计

〈130〉 N401878EP

〈150〉 US 61/502, 844

〈151〉 2011-06-29

〈150〉 US 61/606, 220

〈151〉 2012-03-02

〈160〉 2

〈170〉 PatentIn version 3.5

〈210〉 1

〈211〉 116

〈212〉 PRT

〈213〉 人工序列

〈220〉

〈223〉 合成抗上皮细胞粘附分子(EpCAM)膜蛋白抗体 EpAb4-1 重链 V-H9 域

[0001]

〈220〉

〈221〉 PEPTIDE

〈222〉 (1)..(25)

〈223〉 构架区 1 (FW1)

〈220〉

〈221〉 PEPTIDE

〈222〉 (26)..(35)

〈223〉 互补决定区 1 (CDR1)

〈220〉

〈221〉 PEPTIDE

〈222〉 (36)..(50)

〈223〉 构架区 2 (FW2)

〈220〉

〈221〉 PEPTIDE

〈222〉 (51)..(58)

〈223〉 互补决定区 2 (CDR2)

〈220〉

〈221〉 PEPTIDE

〈222〉 (59)..(98)

<223> 构架区 3 (FW3)

<220>

<221> PEPTIDE

<222> (99)..(105)

<223> 互补决定区 3 (CDR3)

<220>

<221> PEPTIDE

<222> (106)..(116)

<223> 构架区 4 (FW4)

<400> 1

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

[0002]

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Gly Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Phe Gly Arg Ser Val Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 2

<211> 112

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成抗上皮细胞粘附分子(EpCAM)膜蛋白抗体 EpAb4-1 轻链 V-kappa24/25 域

<220>

<221> PEPTIDE

<222> (1)..(23)

<223> 构架区 1 (FW1)

<220>

<221> PEPTIDE

<222> (24)..(39)

<223> 互补决定区 1 (CDR1)

<220>

<221> PEPTIDE

<222> (40)..(54)

<223> 构架区 2 (FW2)

<220>

<221> PEPTIDE

<222> (55)..(61)

<223> 互补决定区 2 (CDR2)

<220>

[0003] <221> PEPTIDE
<222> (62)..(93)
<223> 构架区 3 (FW3)

<220>

<221> PEPTIDE

<222> (94)..(102)

<223> 互补决定区 3 (CDR3)

<220>

<221> PEPTIDE

<222> (103)..(112)

<223> 构架区 4 (FW4)

<400> 2

Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Phe Ser Asn Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15

Thr Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr His Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Ser Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile
65 70 75 80

[0004]

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Ile Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
85 90 95

Leu Glu Asn Pro Arg Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

顶视图

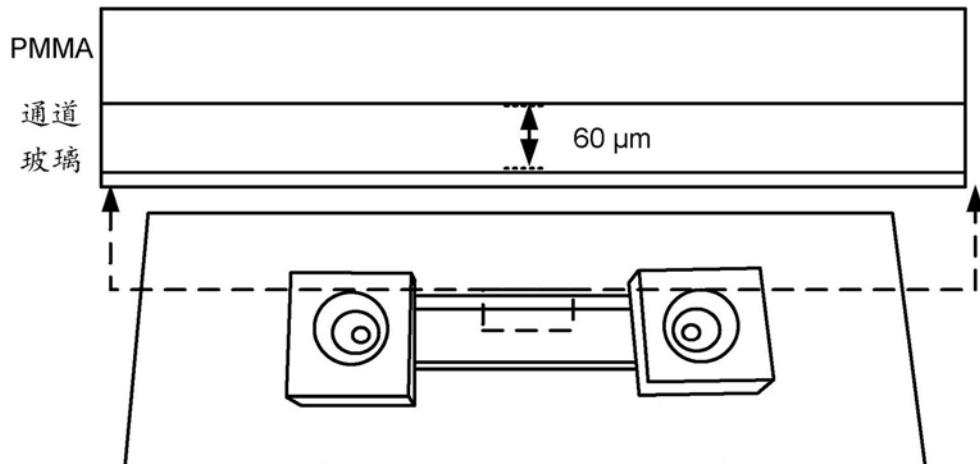
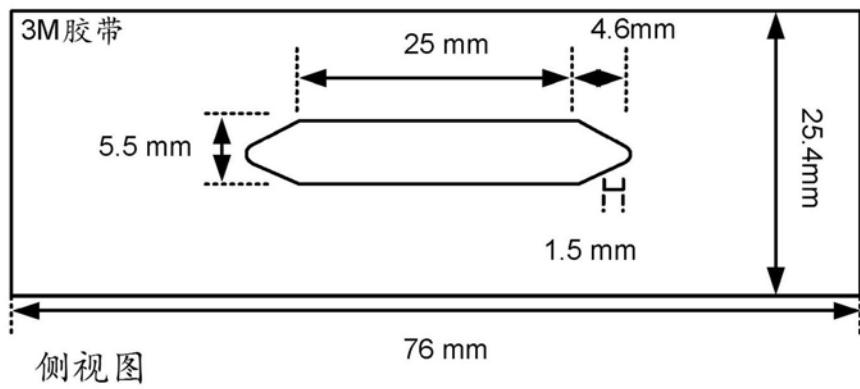
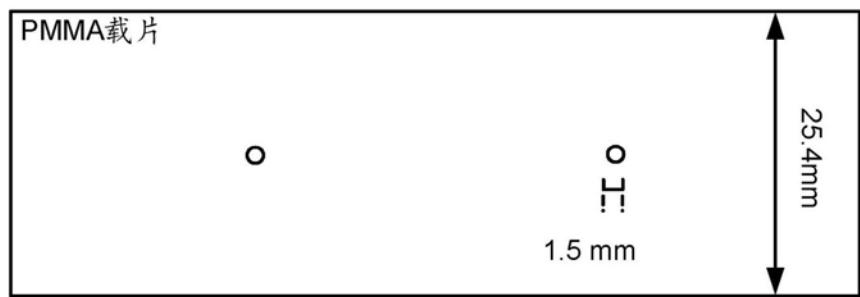


图1A

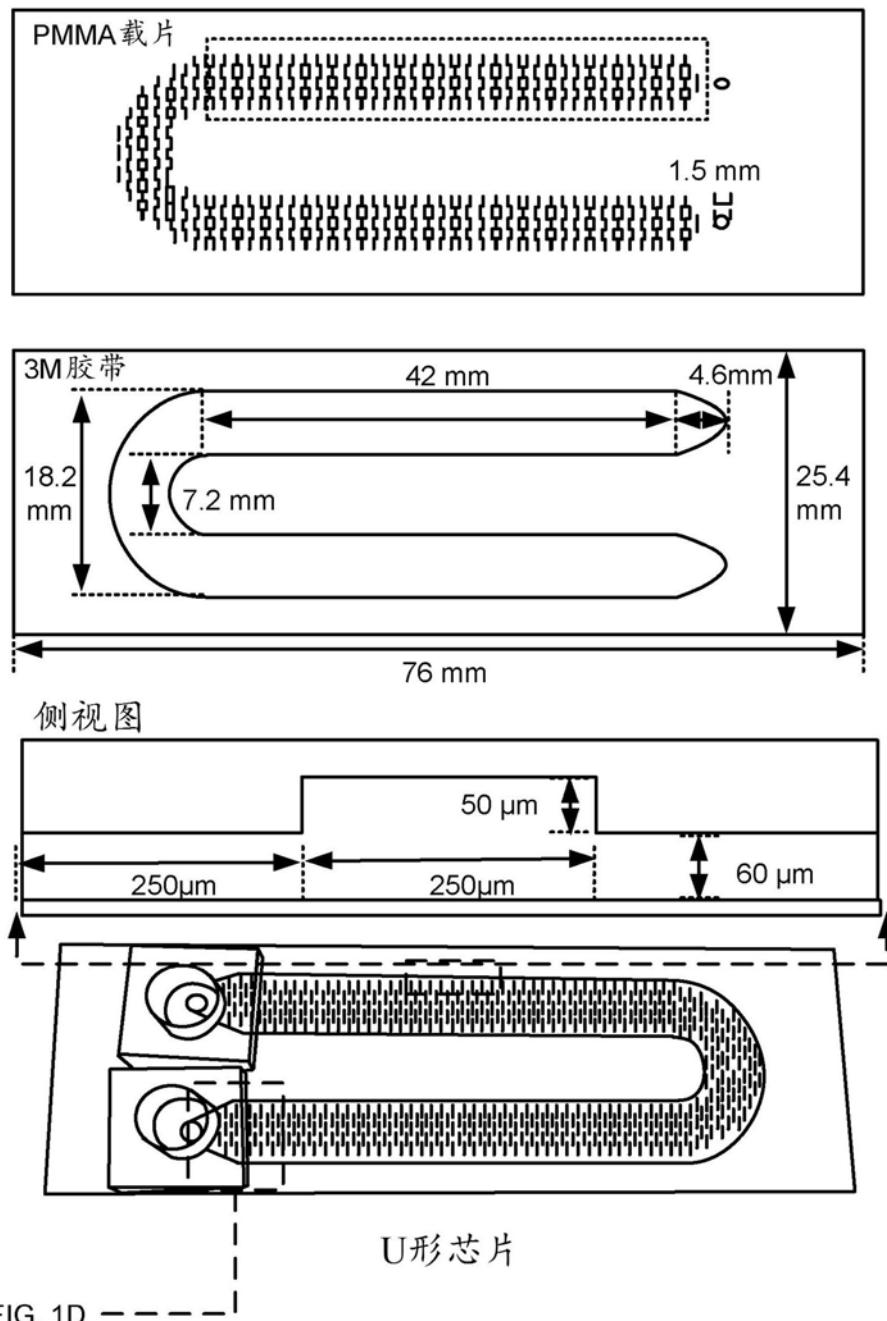
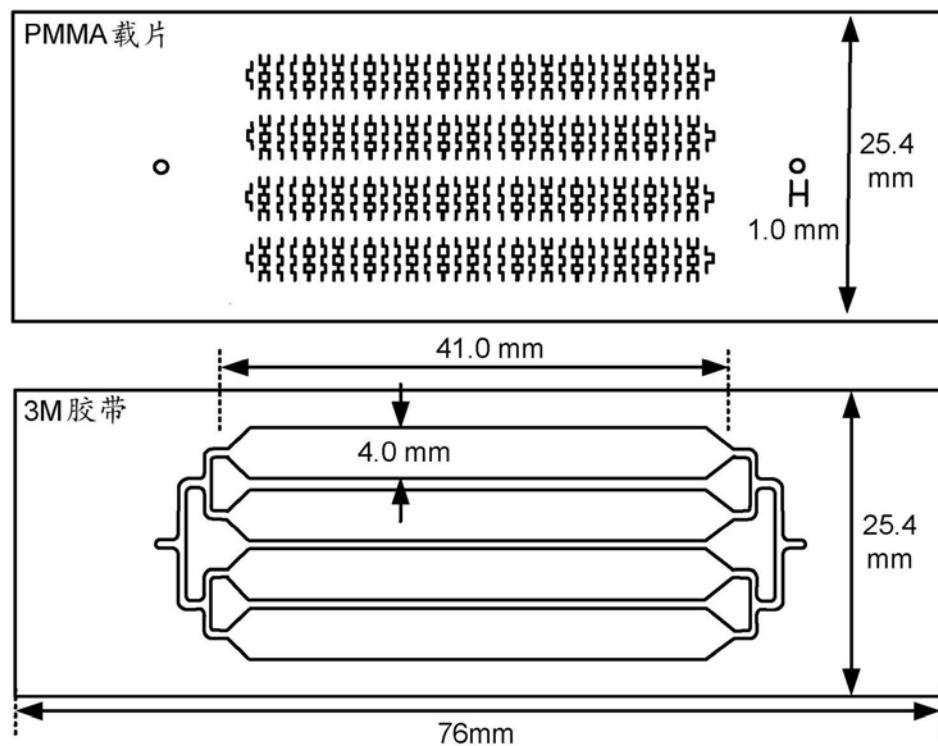


图1B

顶视图



侧视图

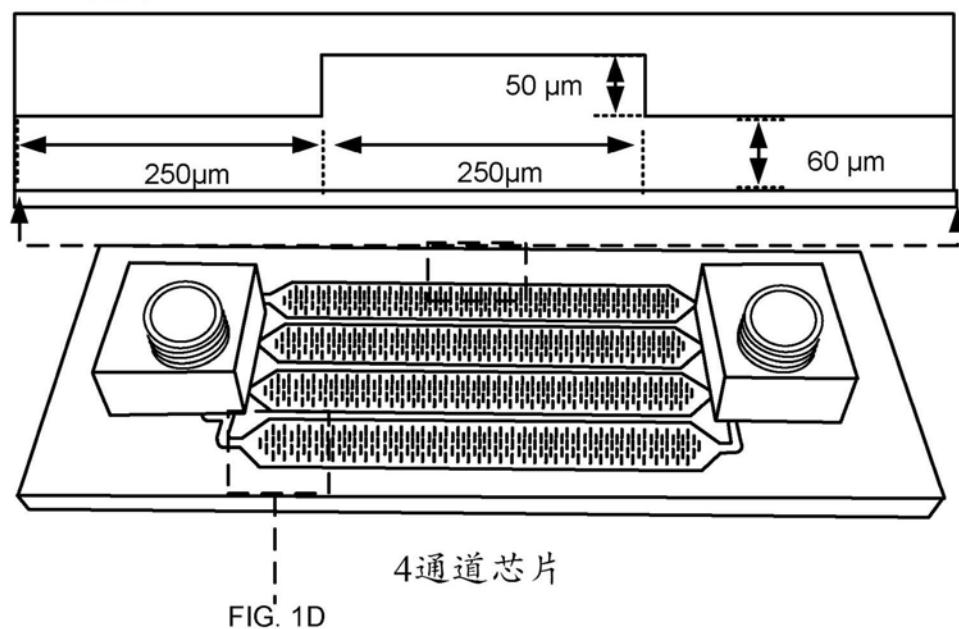


图1C

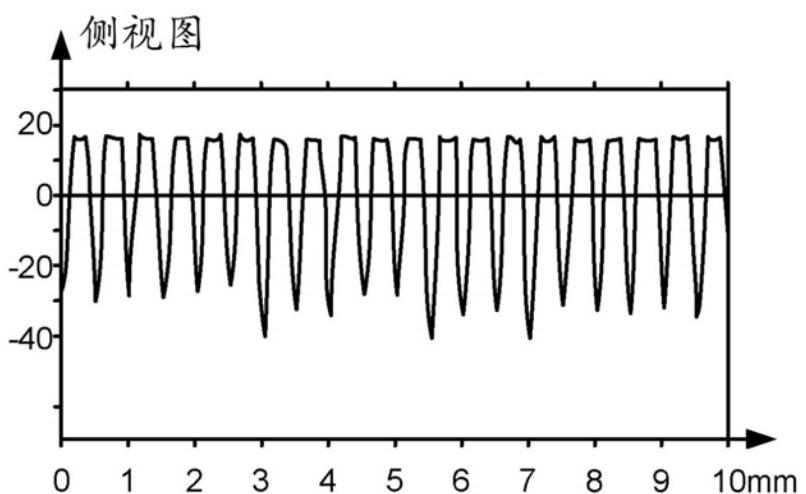
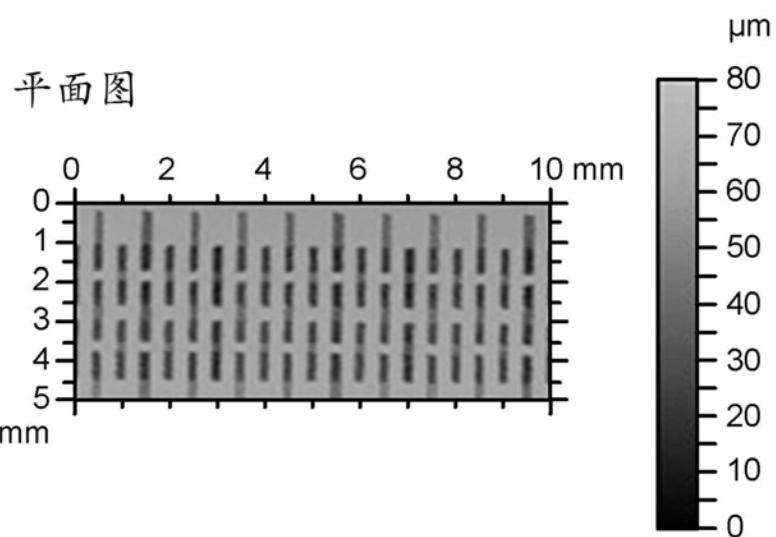
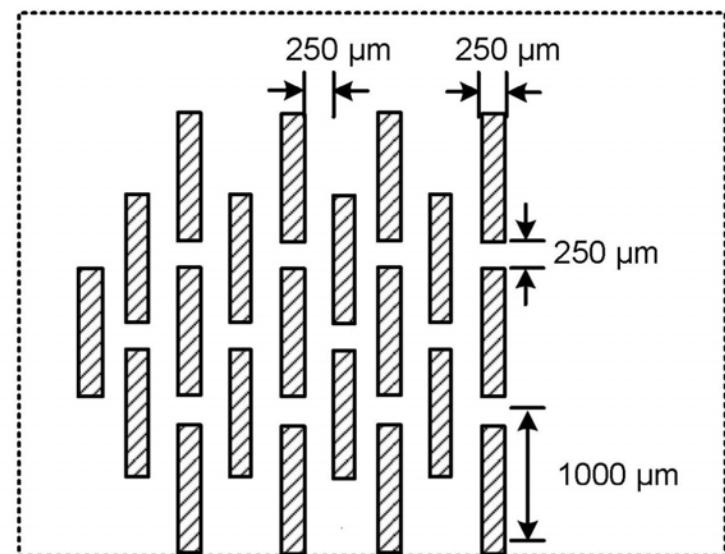


图1D

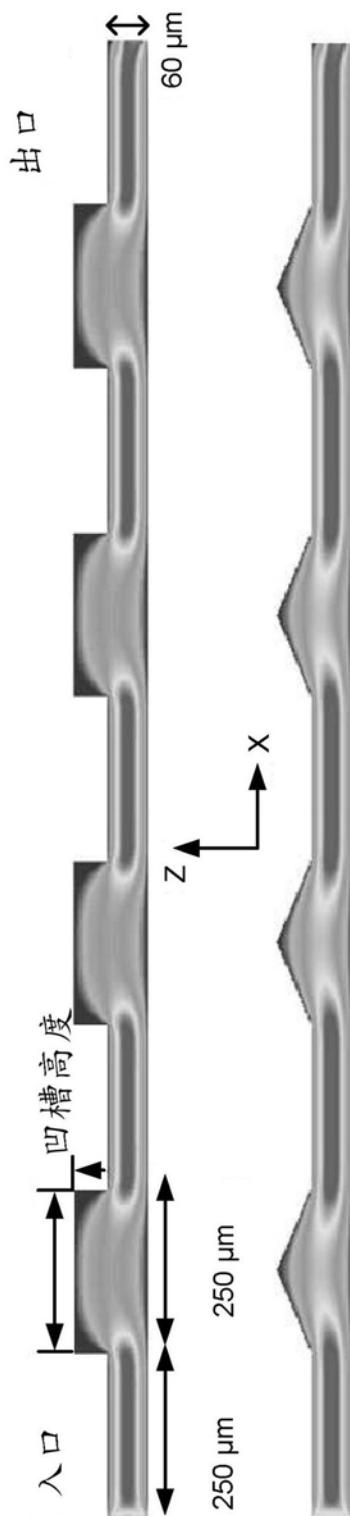


图2

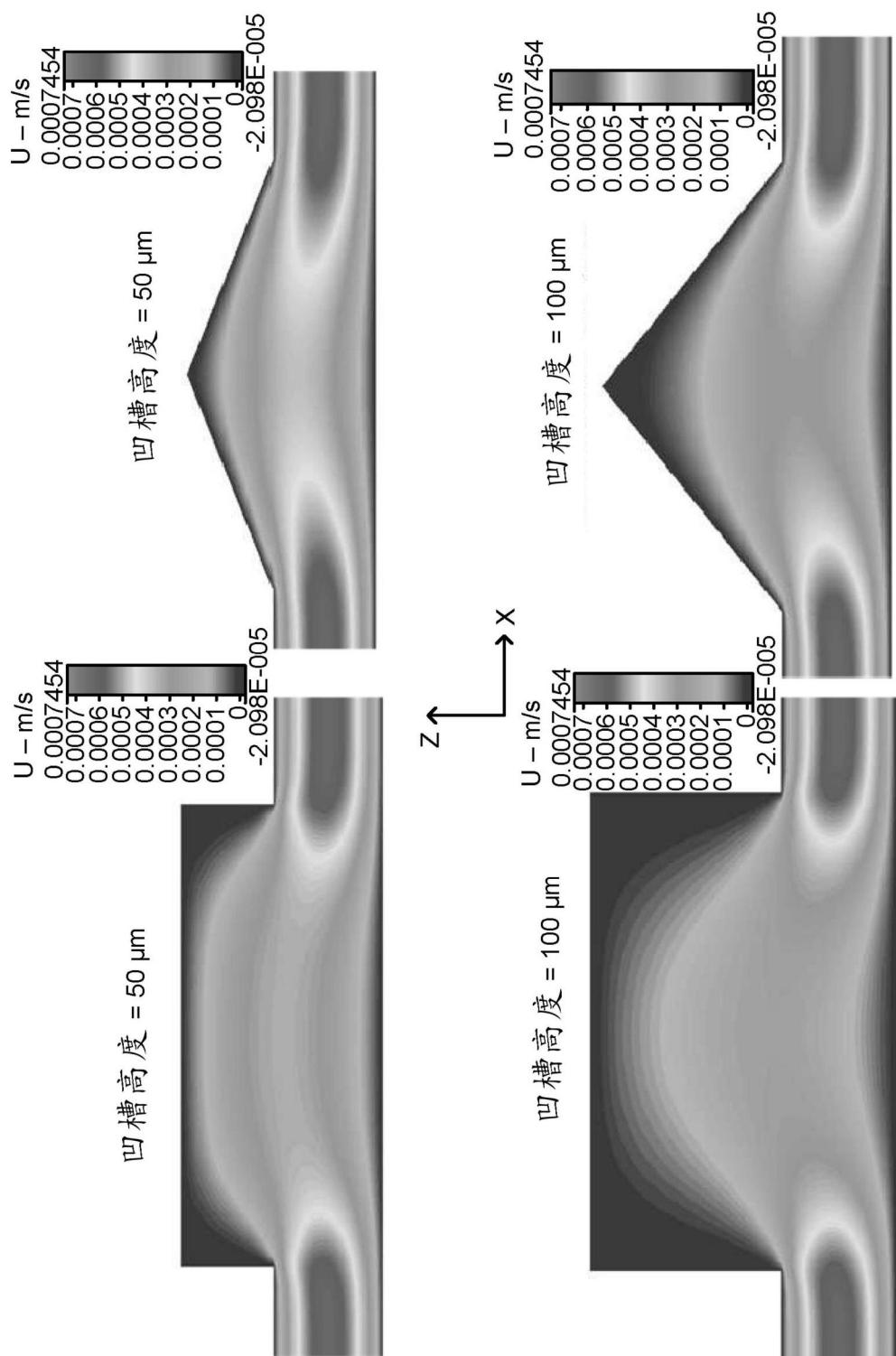


图3A

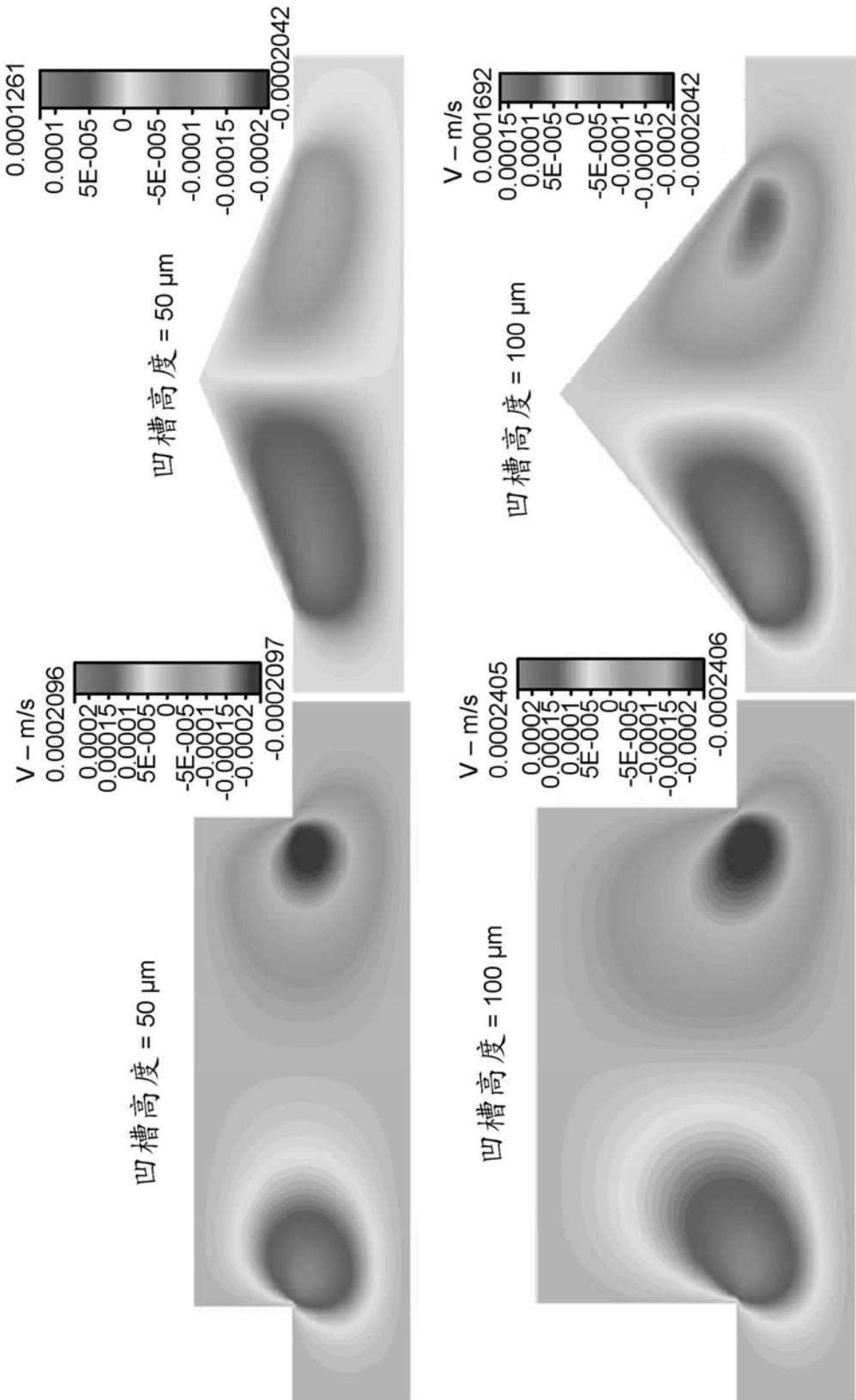


图3B

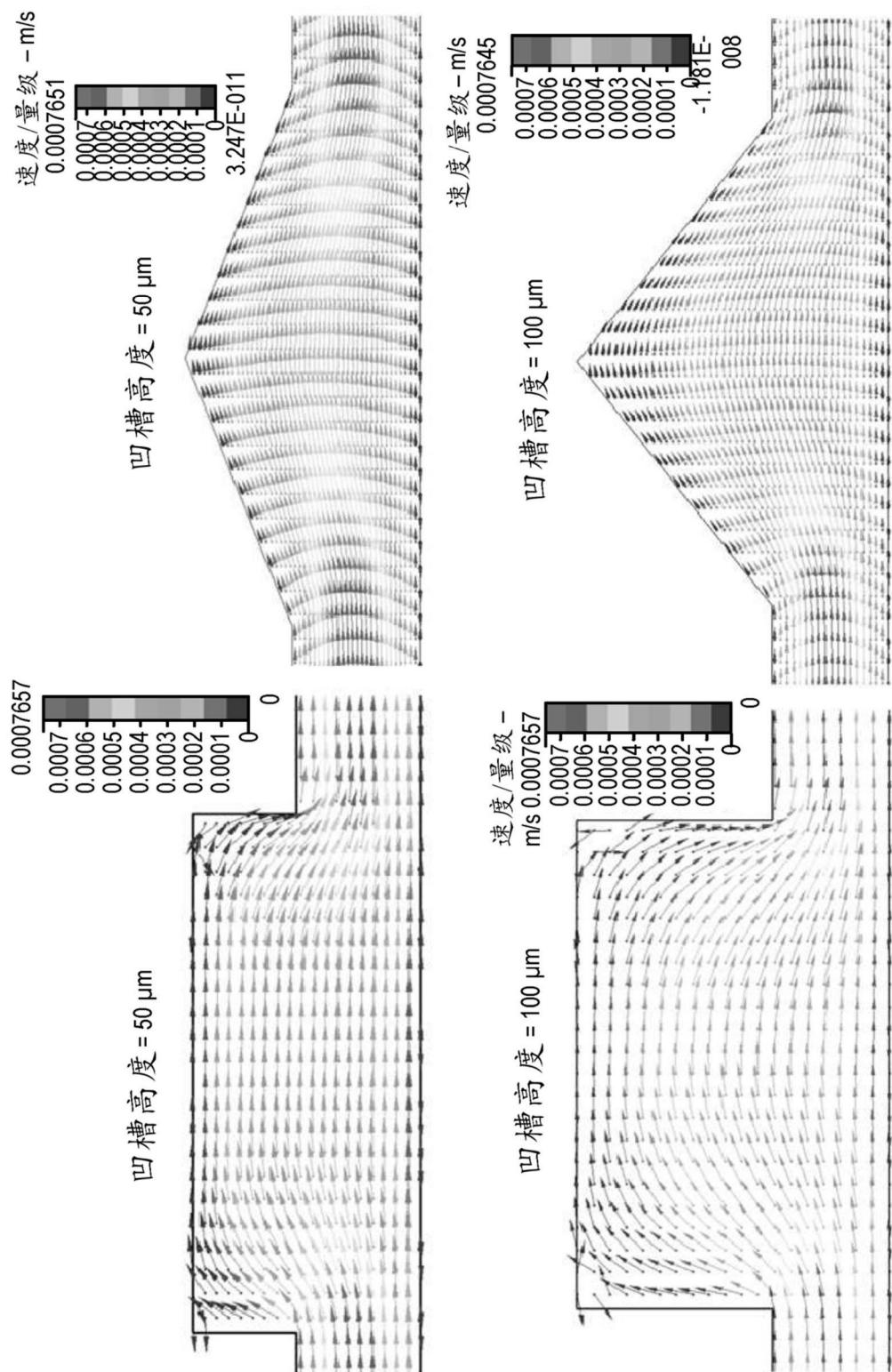


图3C

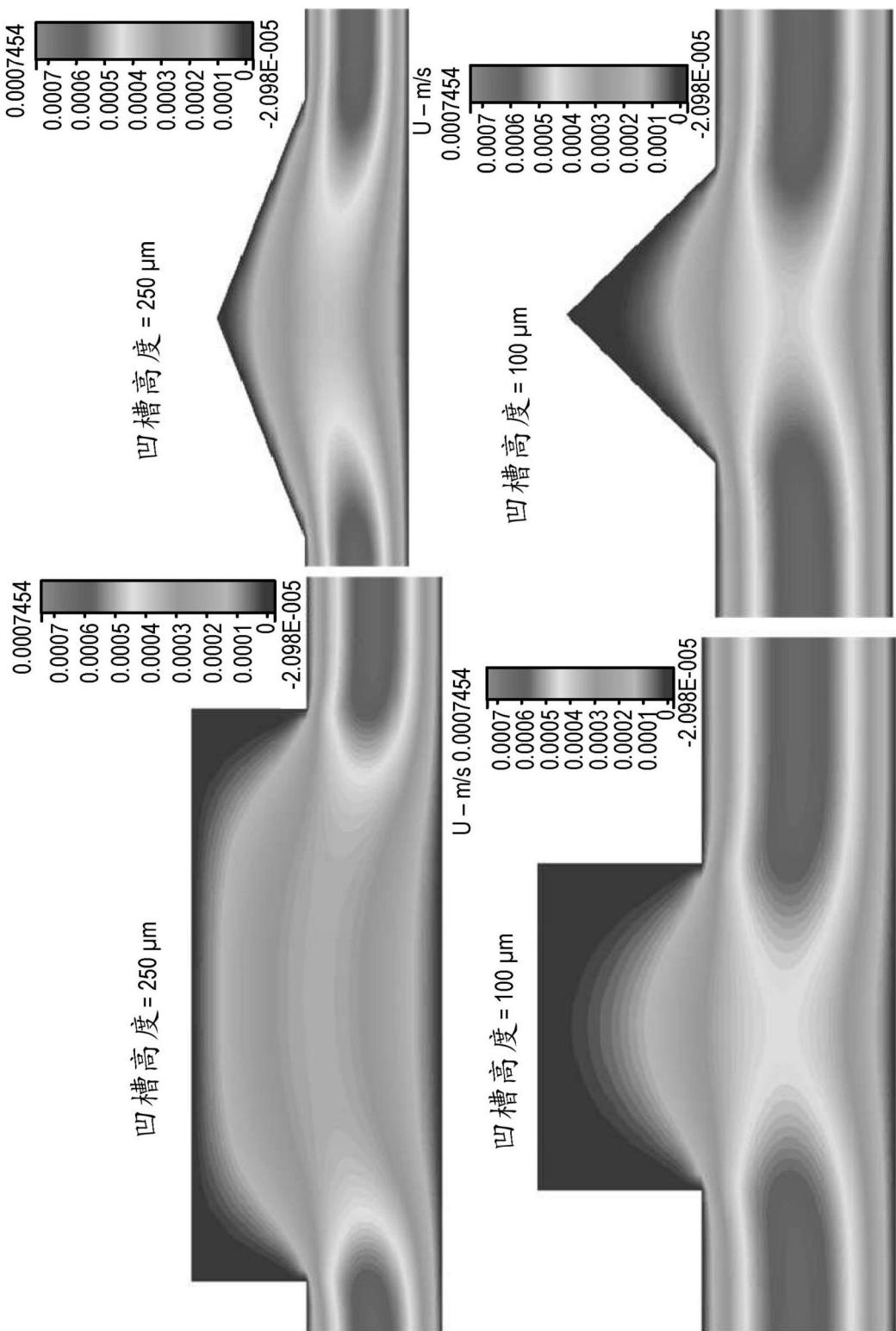


图4A

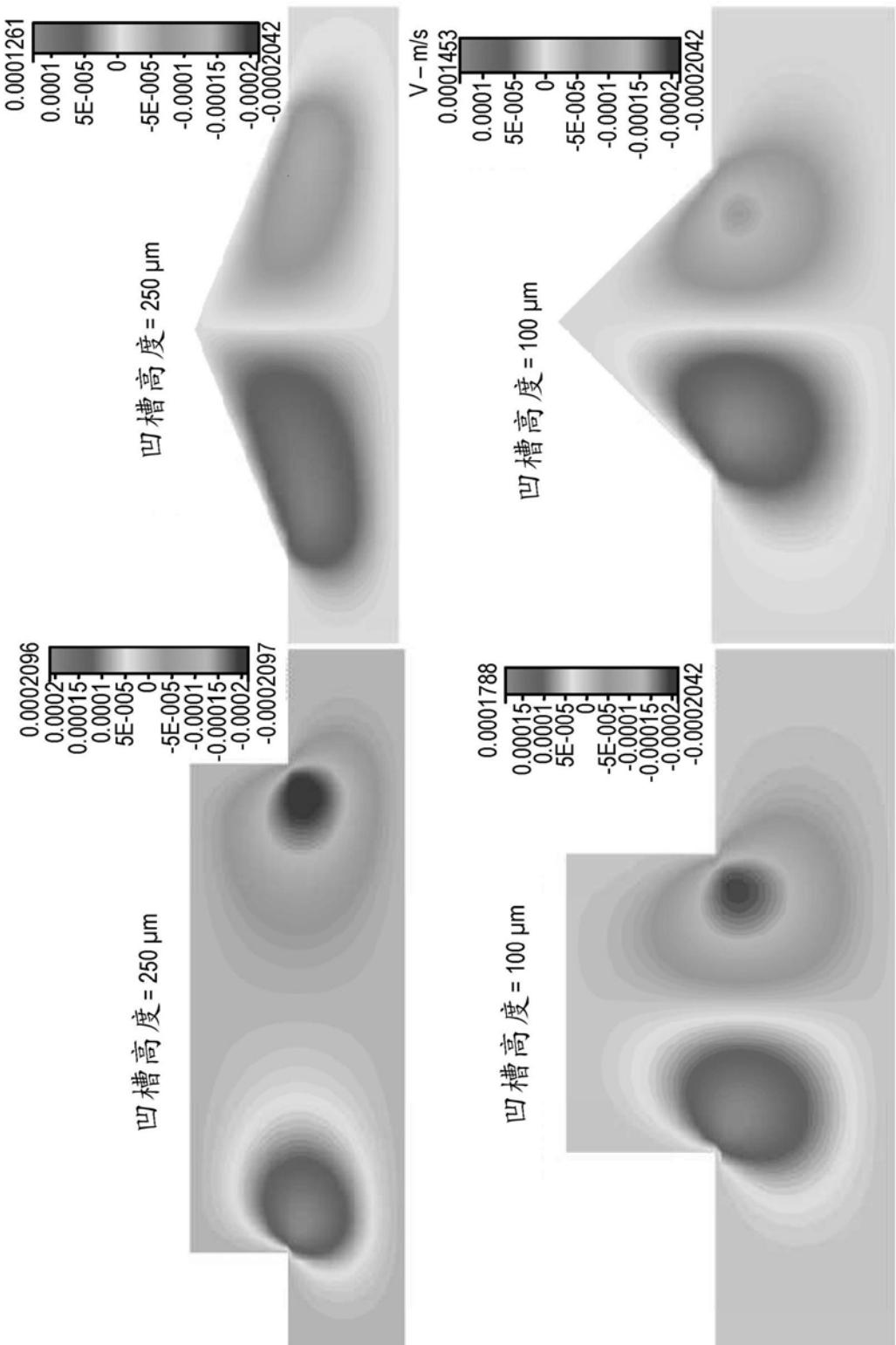


图4B

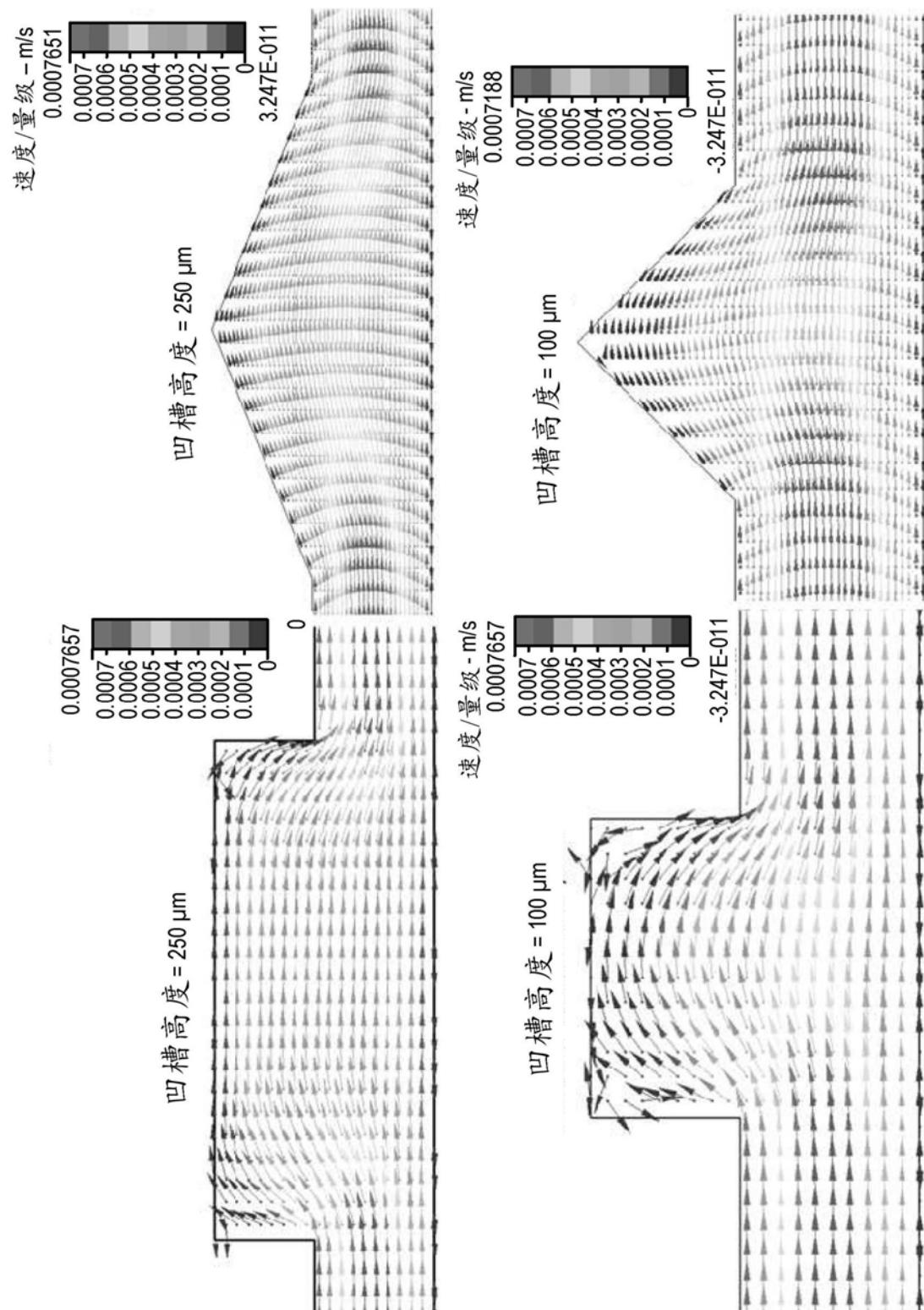


图4C

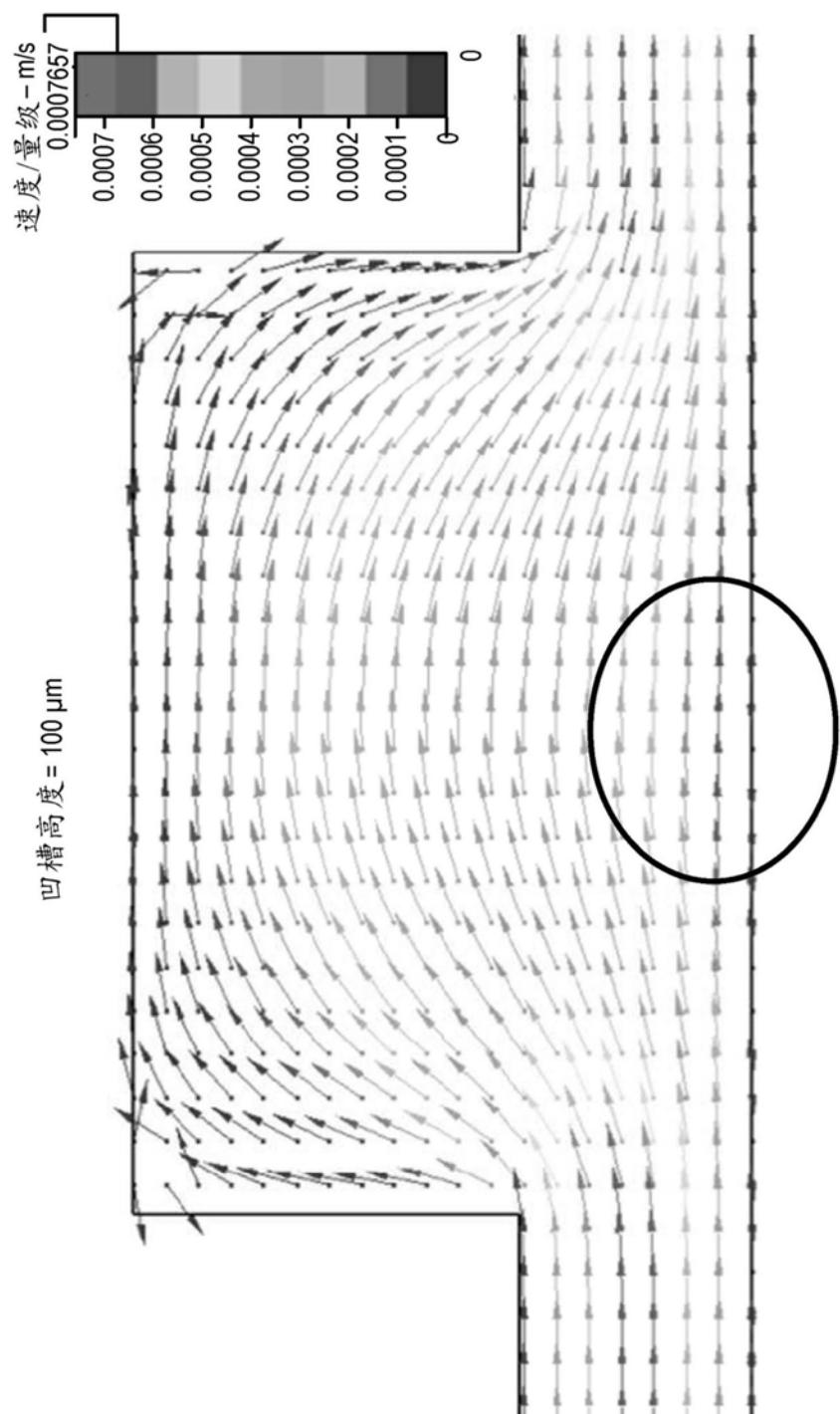


图5

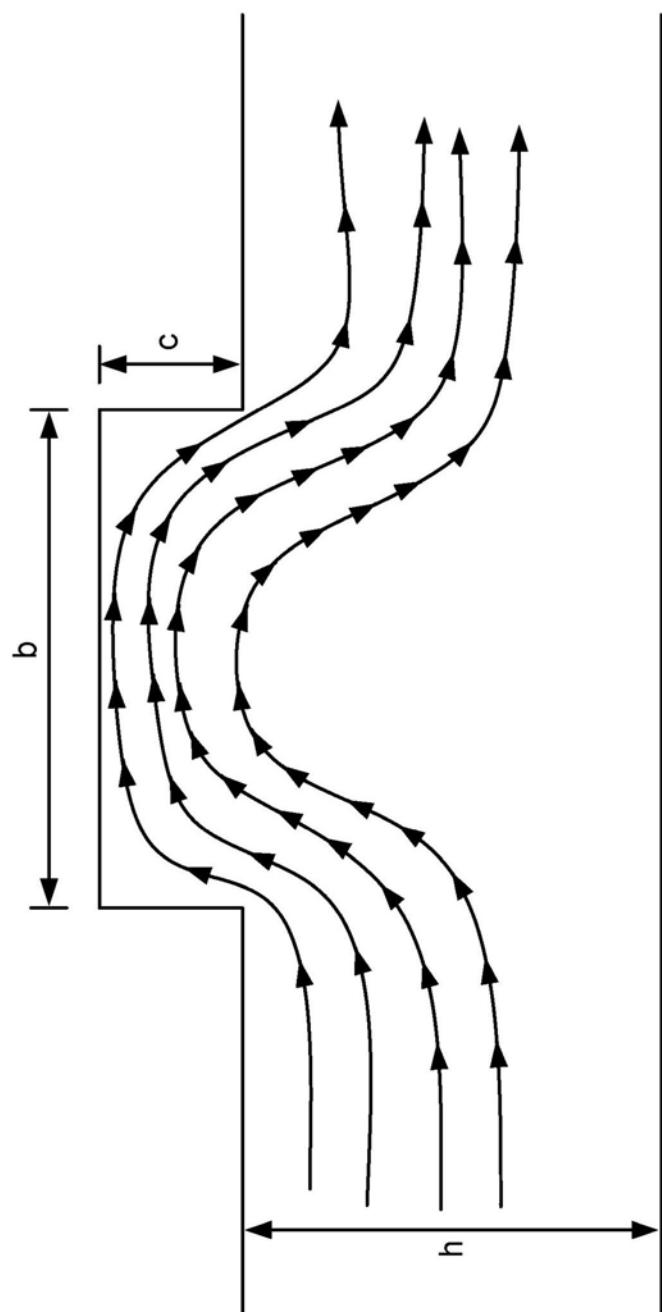


图6

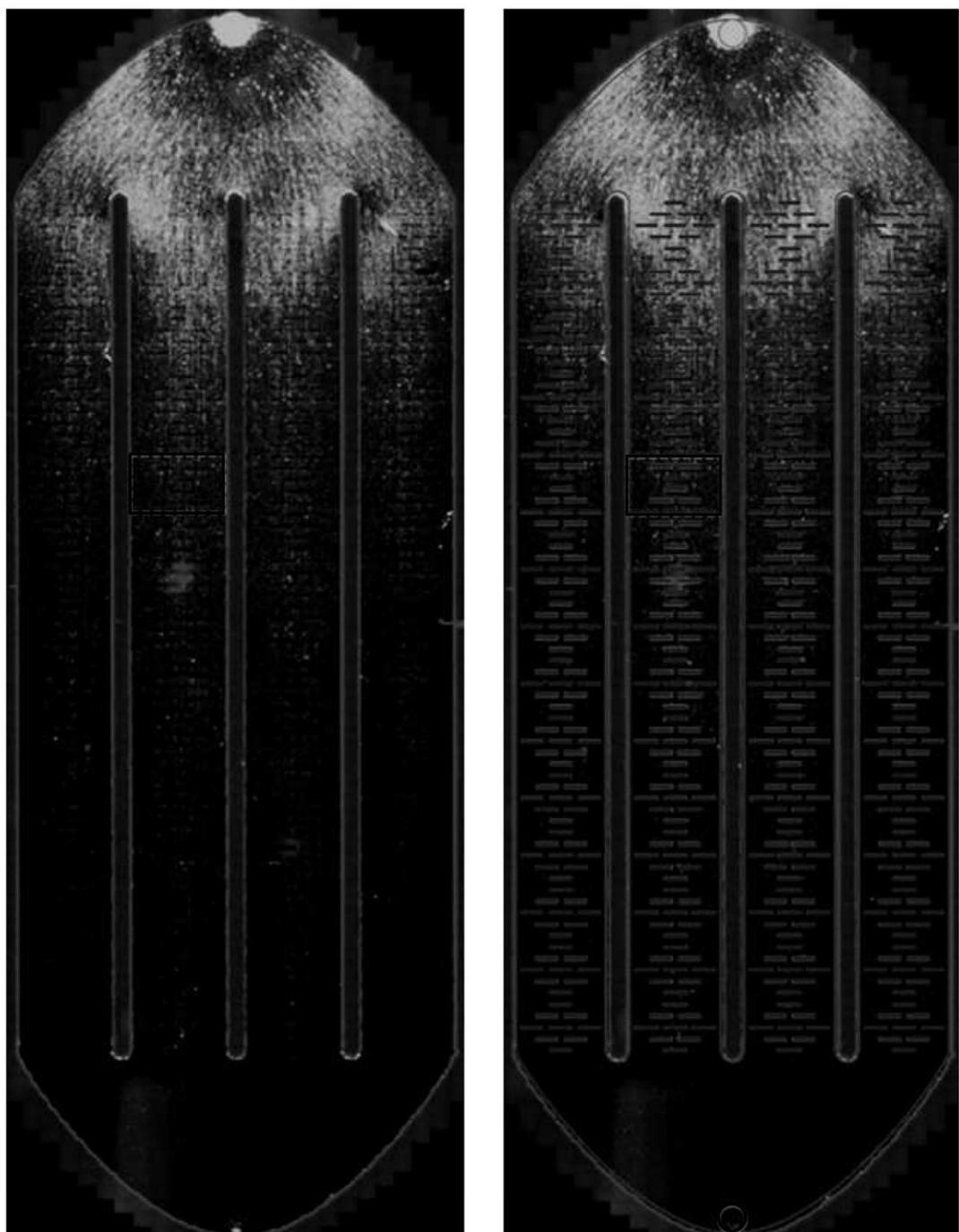


图7

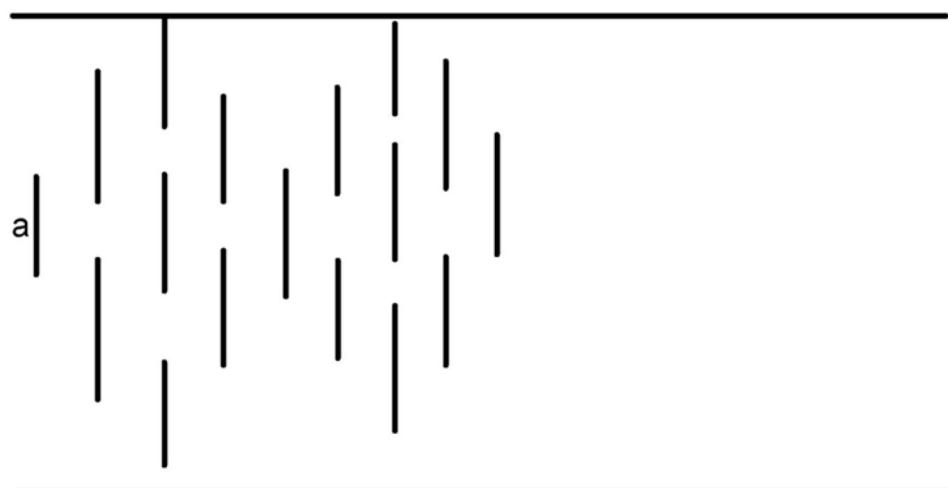


图8

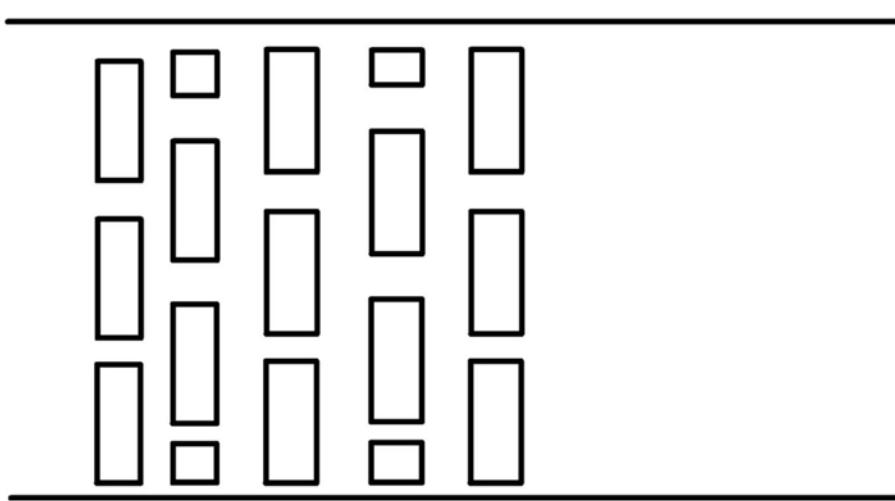


图9

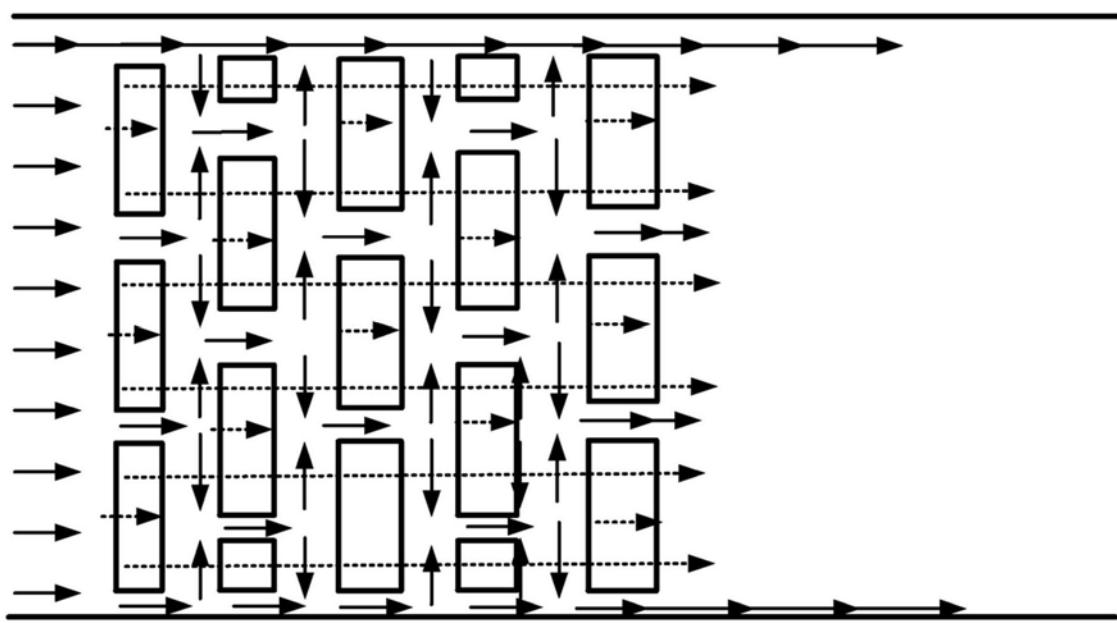


图10

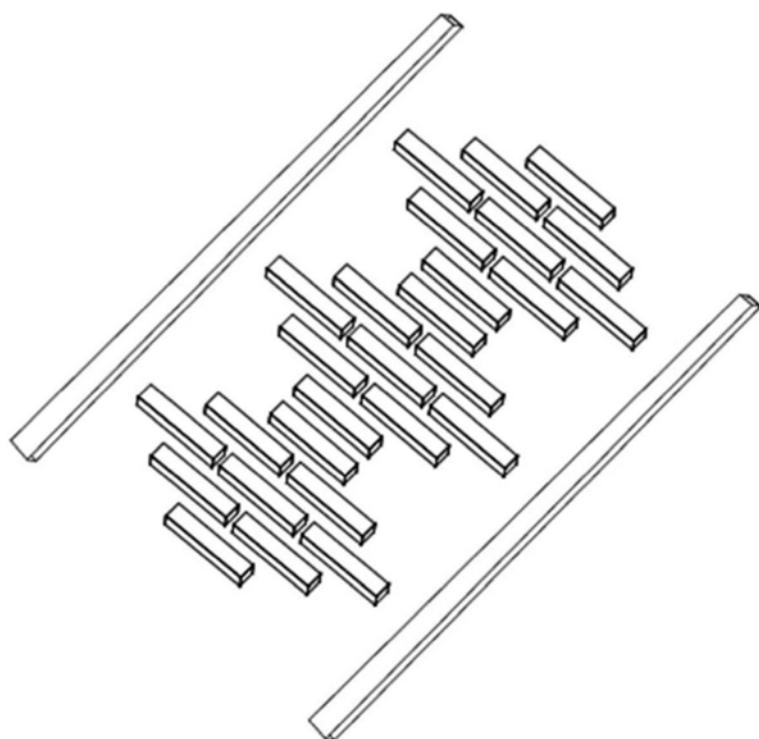


图11A

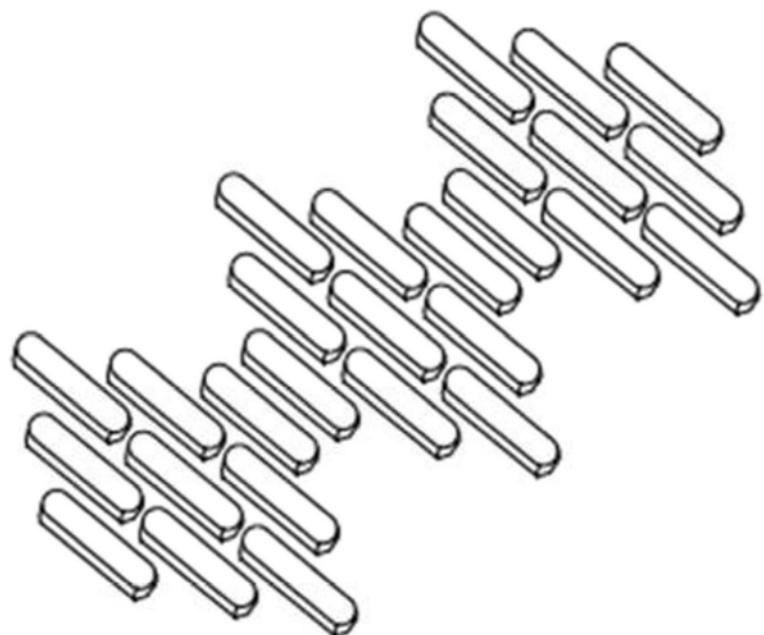


图11B

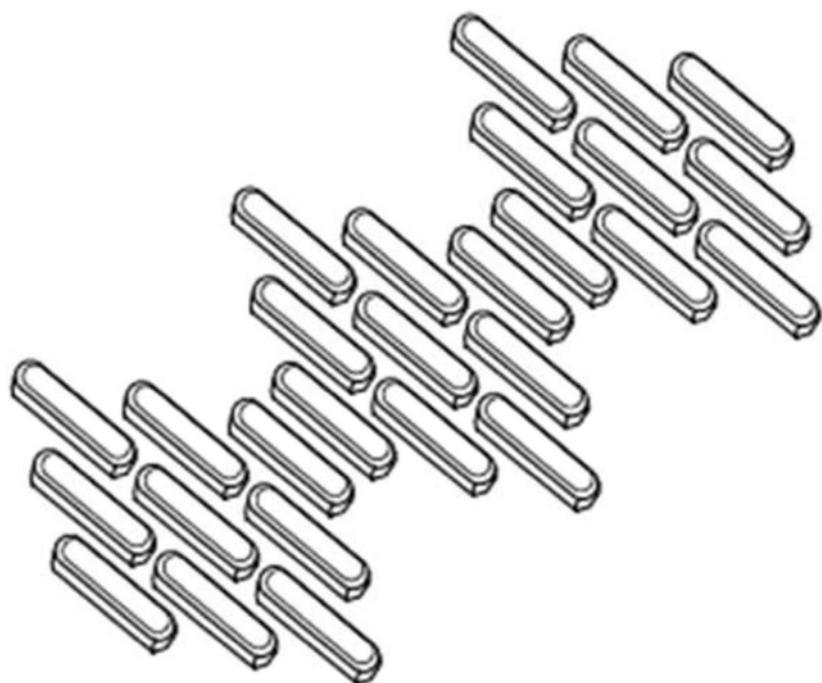


图11C

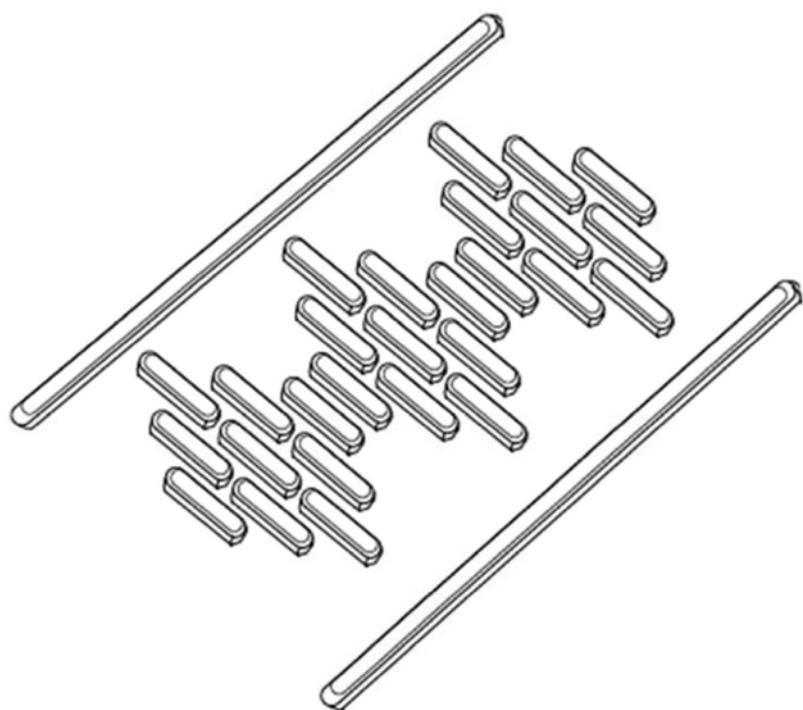


图11D

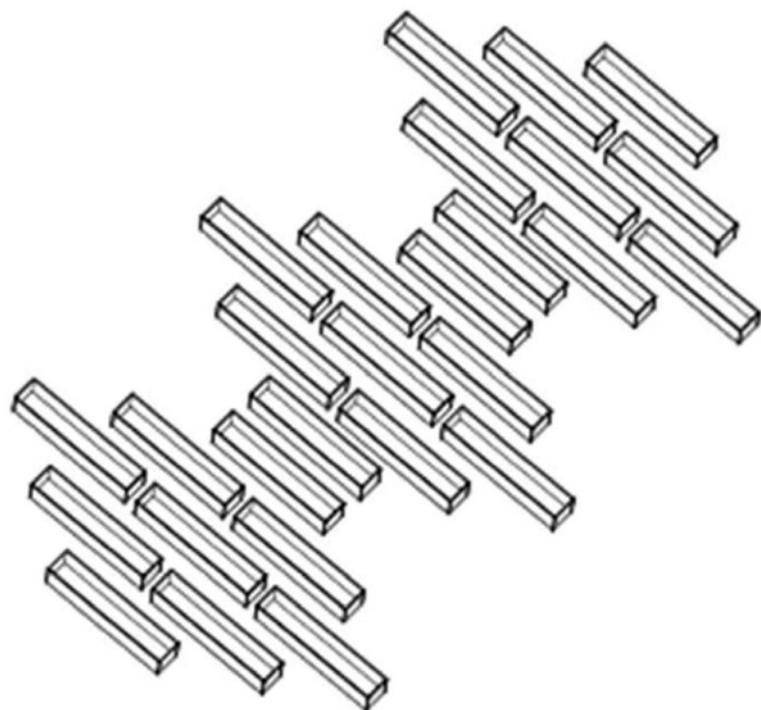


图11E

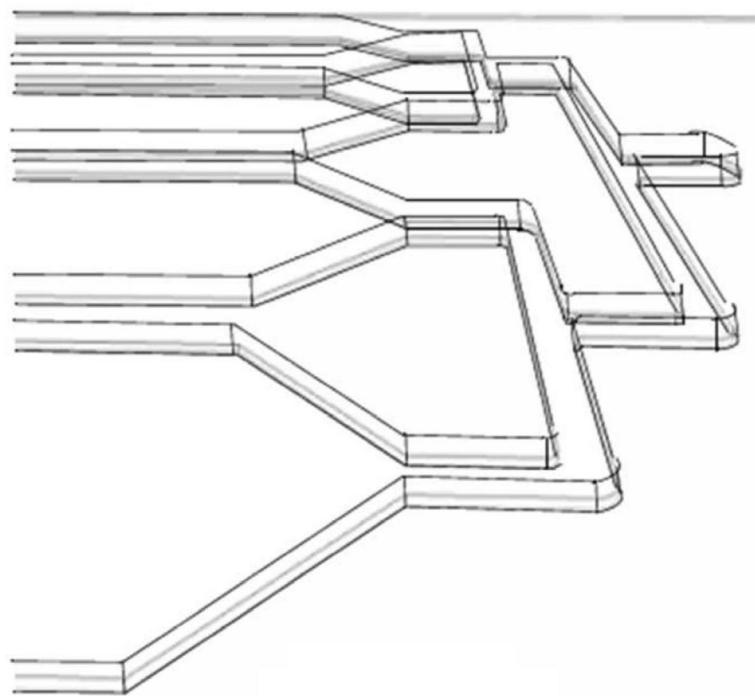


图11F

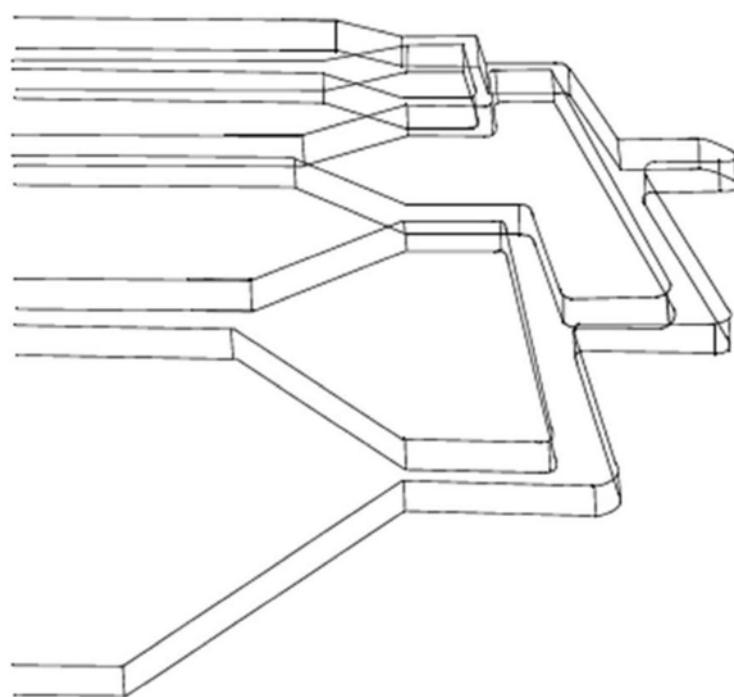


图11G

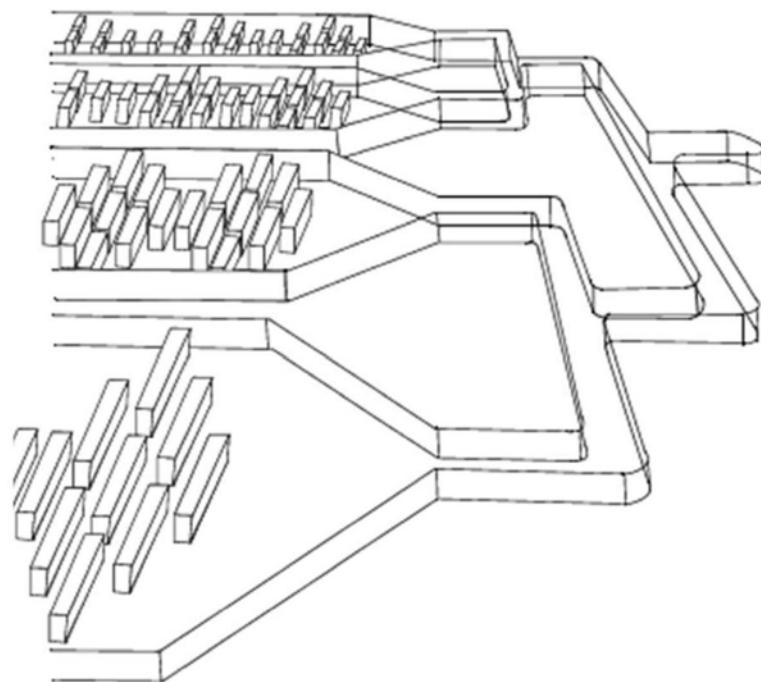


图11H

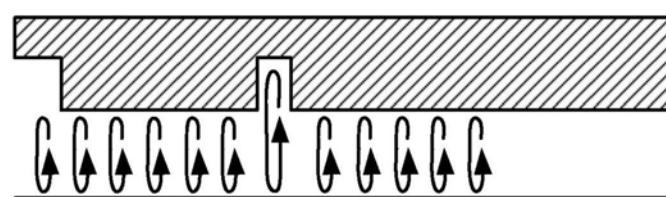
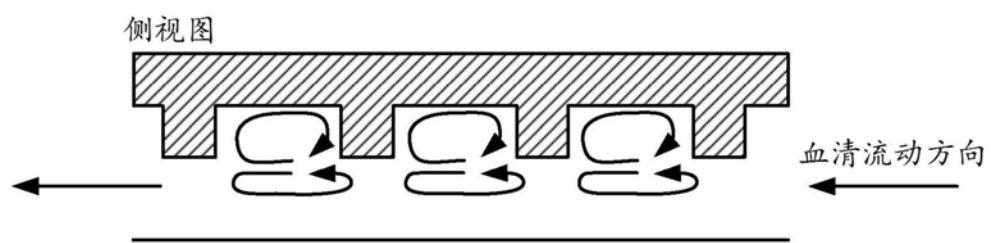
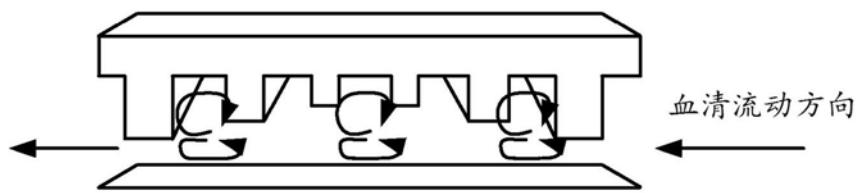


图12A

侧视图



顶视图

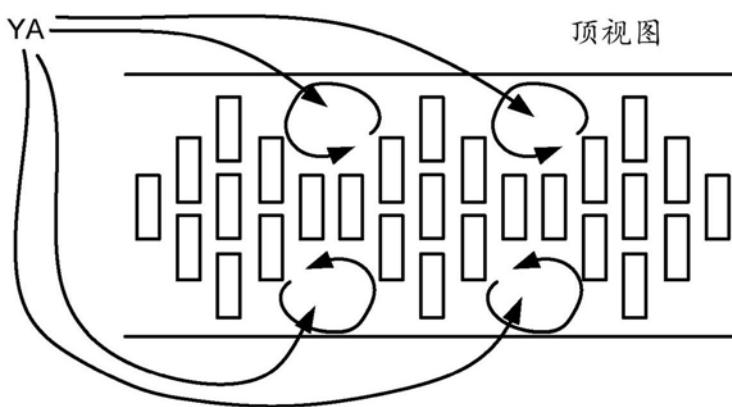


图12B

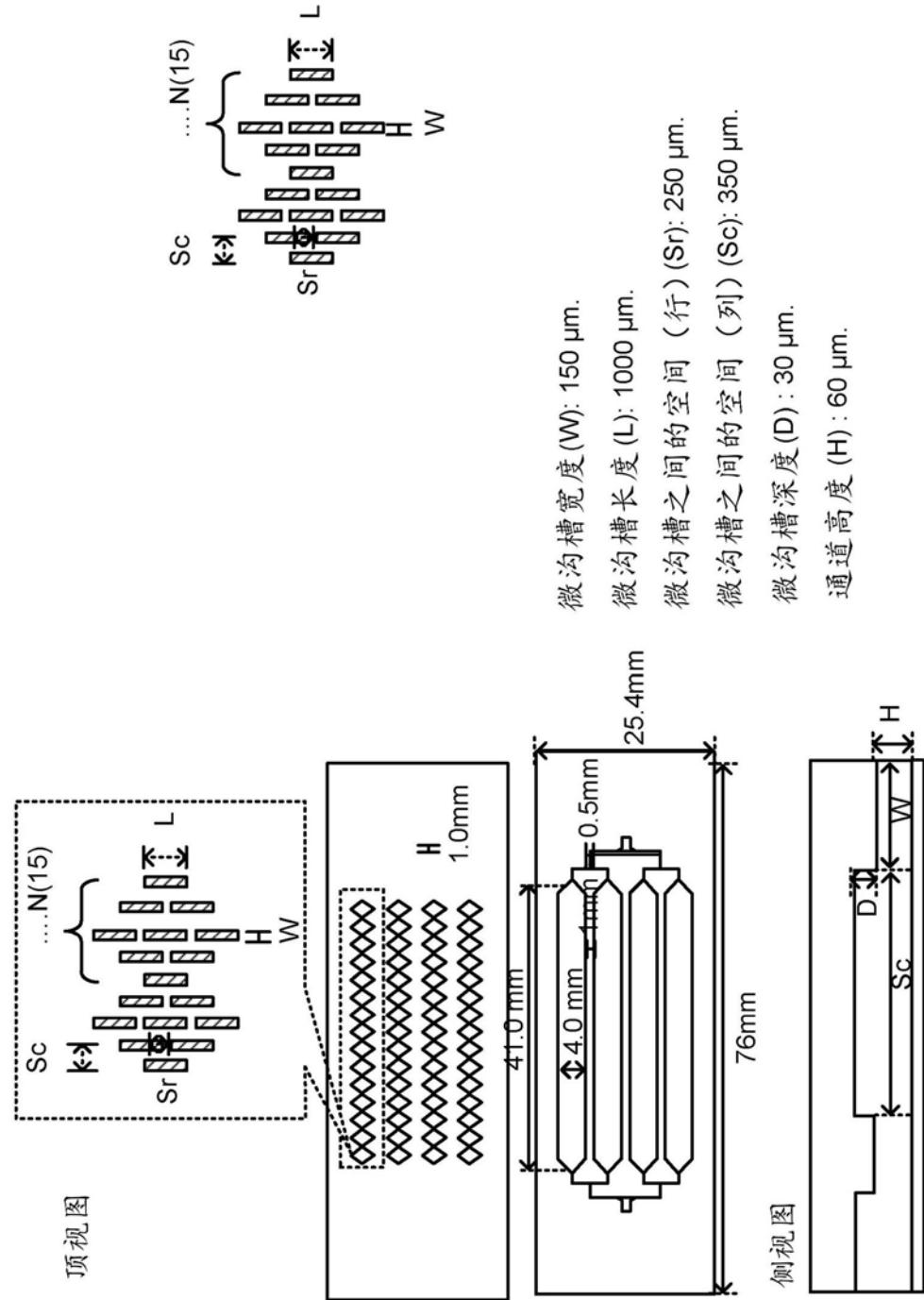


图13A

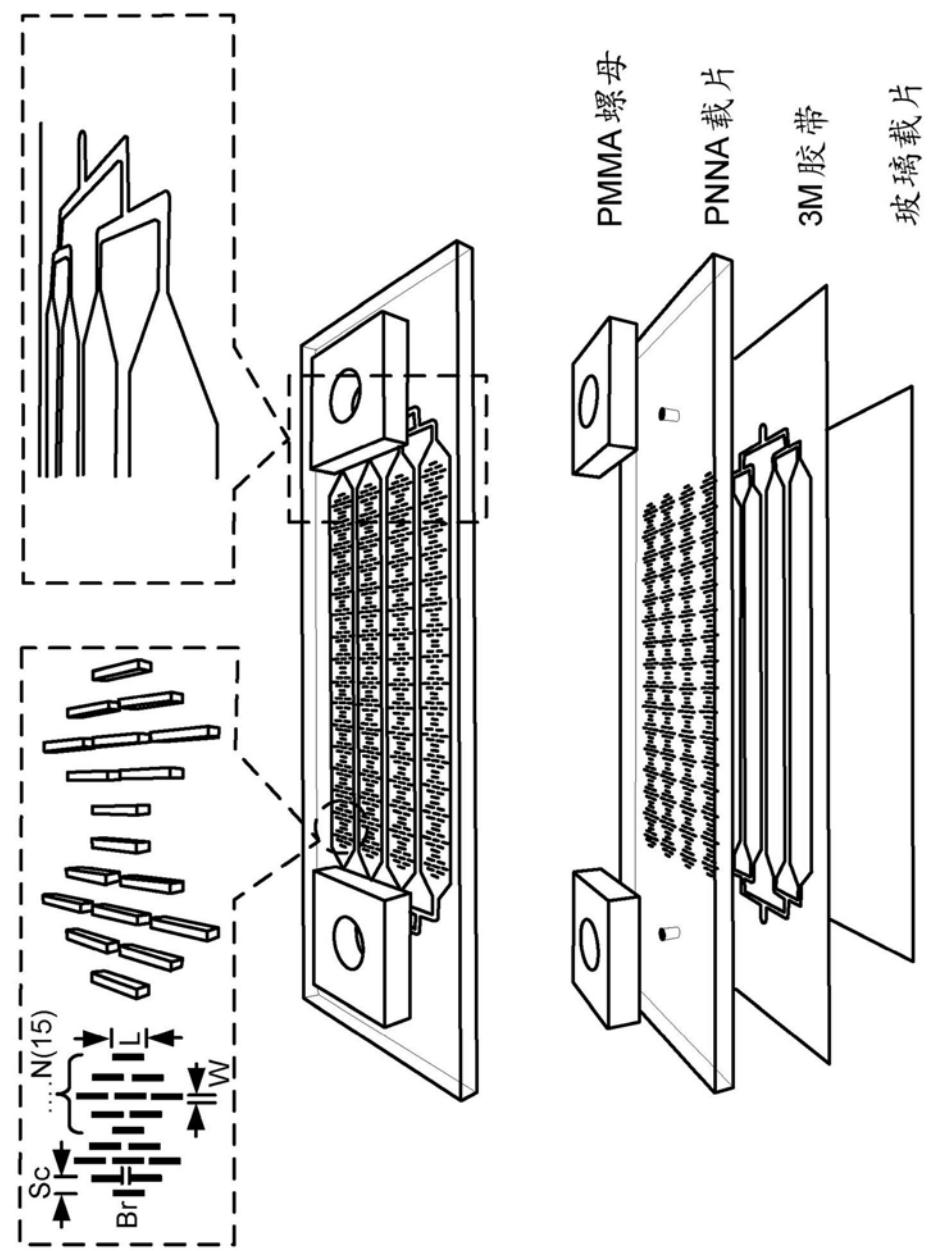


图13B

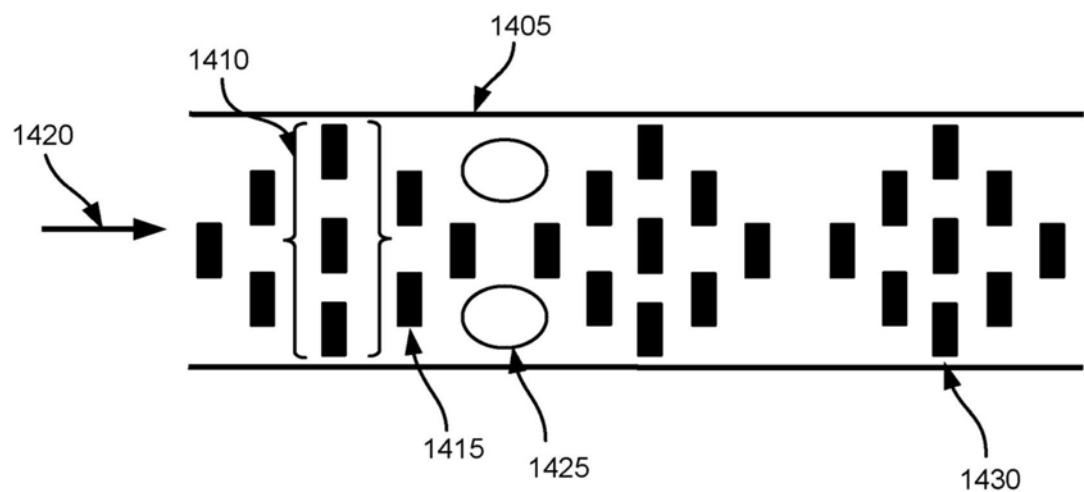


图14

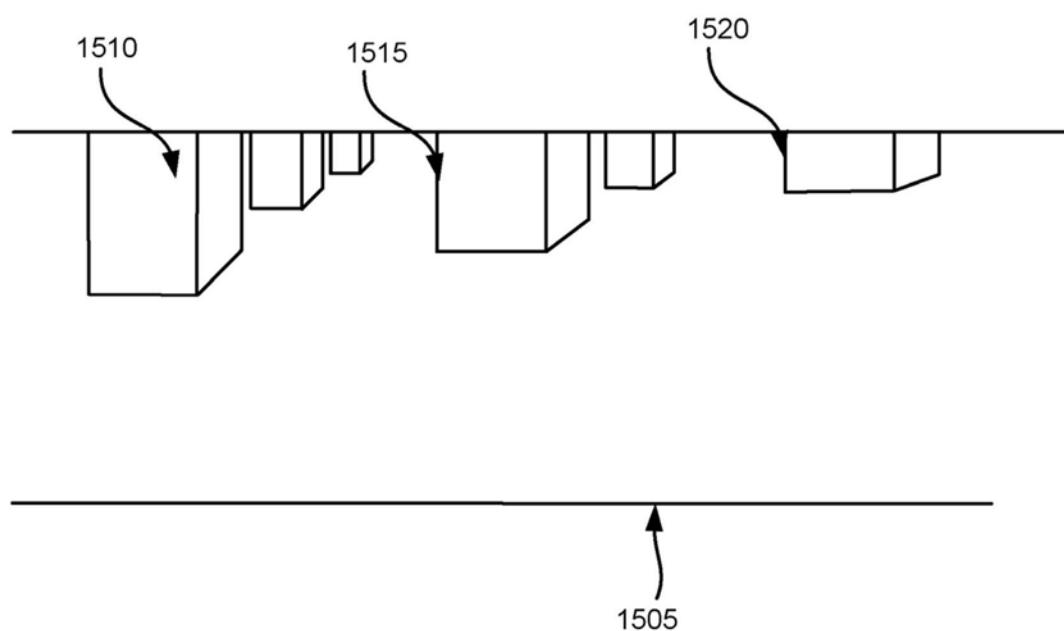


图15

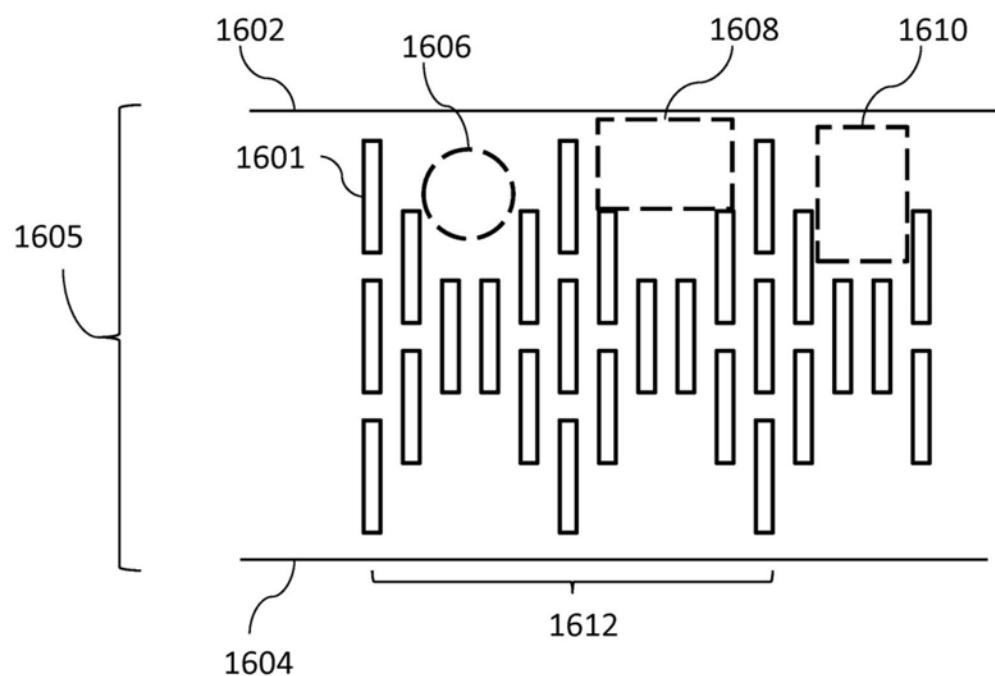


图16

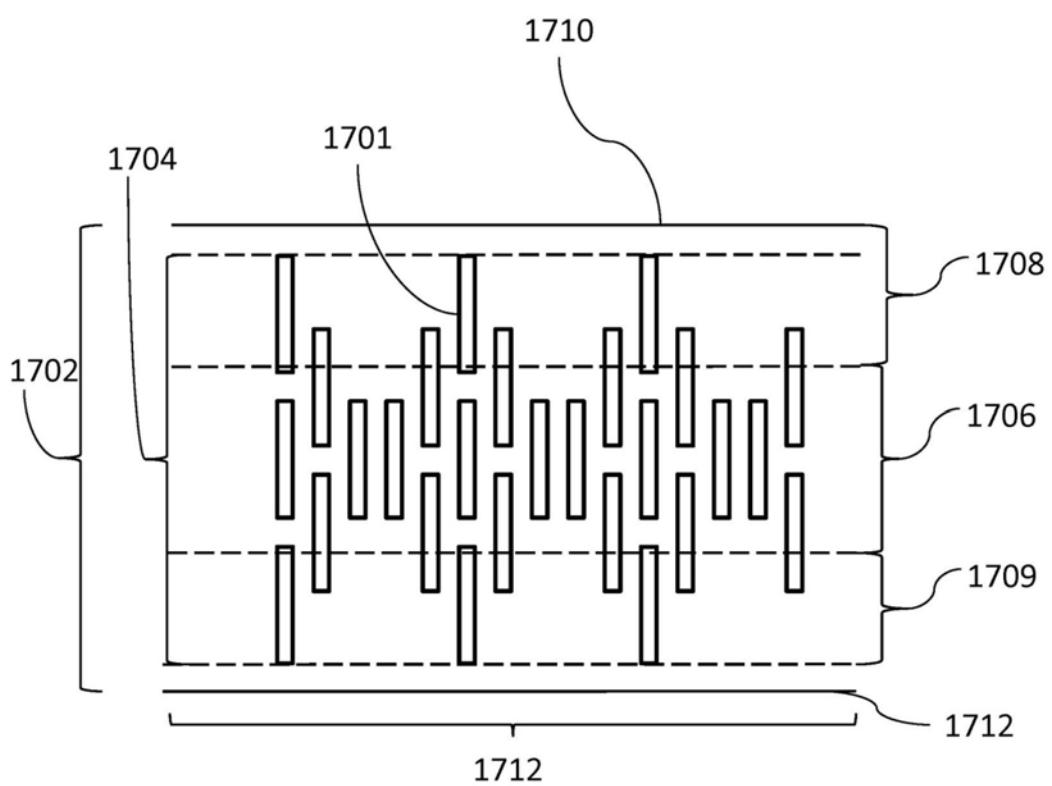


图17