



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109416314 A

(43)申请公布日 2019.03.01

(21)申请号 201780041425.9

(22)申请日 2017.06.30

(30)优先权数据

62/357,440 2016.07.01 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.01.02

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2017/040322 2017.06.30

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/005984 EN 2018.01.04

(71)申请人 生命技术公司

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 M·沃德 S·塞尔伯格

J·马尔金 K·利夫顿

(74)专利代理机构 北京世峰知识产权代理有限公司 11713

代理人 卓霖 张春媛

(51)Int.Cl.

G01N 15/14(2006.01)

G01N 15/10(2006.01)

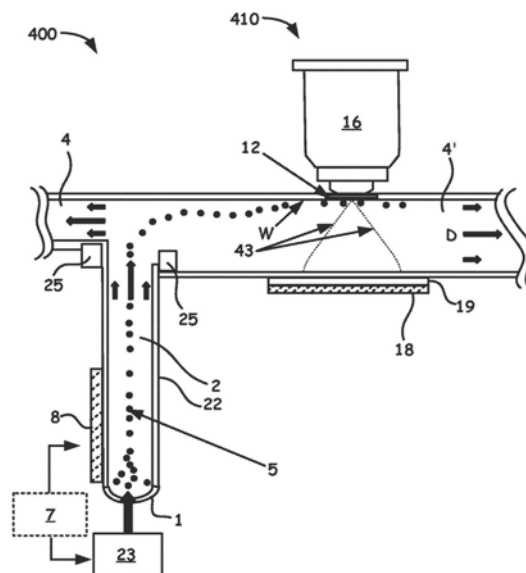
权利要求书5页 说明书14页 附图8页

(54)发明名称

用于浓缩颗粒的方法、系统和装置

(57)摘要

本公开提供了用于在施加场并翻转颗粒的方向之后浓缩所述颗粒的装置、系统和方法。施加到所述颗粒的所述场可以是声场。所述颗粒可以从较高速度的第一流动流翻转成较低速度的第二流动流,以帮助浓缩所述颗粒,包含在分析区域内浓缩。



1. 一种用于浓缩颗粒的装置,其包括:  
流动通道,其适于接收在流动流内沿第一方向移动的流体样本;  
场发生器,其被配置成以第一流速将所述流体样本内的颗粒聚焦成聚焦流;  
一个或多个附加流动通道;  
分支,其中,所述分支被配置成与所述流动通道和所述一个或多个附加流动通道流体连通,其中,所述分支和所述一个或多个附加流动通道被配置成将所述流体样本引导到所述一个或多个附加流动通道中并且以第二流速将所述聚焦流中的所述颗粒翻转到第二方向,并且其中,所述第一流速大于所述第二流速;以及  
分析区域,其中,所述分析区域定位在所述一个或多个附加流动通道内以允许分析翻转到所述第二方向的所述颗粒,并且其中,所述分支和所述一个或多个附加流动通道被配置成在所述分析区域中浓缩所述颗粒。
2. 根据权利要求1所述的装置,进一步包括被配置成与所述流动通道流体连通的流体源。
3. 根据权利要求2所述的装置,其中,所述流体源包括一个或多个泵。
4. 根据权利要求2所述的装置,进一步包括被配置成控制所述流体源的控制器。
5. 根据权利要求1所述的装置,其中,所述场发生器是被配置成在所述流动通道内提供声波的声场发生器。
6. 根据权利要求5所述的装置,其中,所述声场发生器被配置成在所述流动通道内生成压力节点,使得所述颗粒在所述压力节点中累积。
7. 根据权利要求6所述的装置,其中,产生所述压力节点,使得所述颗粒沿着所述流动通道的中心线聚焦。
8. 根据权利要求6所述的装置,其中,所述声场发生器被配置成在所述流动通道内生成多个压力节点。
9. 根据权利要求6所述的装置,其中,所述声场发生器被配置成生成波腹,使得第一多个颗粒被驱动到所述压力节点并且第二多个颗粒被驱动到所述波腹。
10. 根据权利要求9所述的装置,其中,所述第一多个颗粒的颗粒具有比所述第二多个颗粒的颗粒高的密度。
11. 根据权利要求9所述的装置,其中,所述第一多个颗粒的所述颗粒具有比所述第二多个颗粒的所述颗粒大的尺寸。
12. 根据权利要求9所述的装置,其中,所述第一多个颗粒的所述颗粒具有比所述第二多个颗粒的所述颗粒低的可压缩性。
13. 根据权利要求9所述的装置,其中,所述声场发生器被配置成生成多个波腹。
14. 根据权利要求1所述的装置,其中,所述一个或多个附加流动通道具有与所述流动通道不同的横截面积。
15. 根据权利要求1所述的装置,其中,所述一个或多个附加流动通道包括第一附加流动通道和第二附加流动通道。
16. 根据权利要求15所述的装置,其中,所述分支、所述第一附加流动通道和所述第二附加流动通道被配置成:(i)在所述第一附加流动通道中以所述第二流速将第一多个所述颗粒翻转到所述第二方向,以及(ii)在所述第二附加流动通道中以第三流速将第二多个所

述颗粒翻转到第三方向。

17. 根据权利要求15所述的装置,其中,所述流动通道、所述第一附加流动通道和所述第二附加流动通道具有不同的横截面积。

18. 根据权利要求15所述的装置,其中,所述第一附加流动通道和所述第二附加流动通道具有相同的横截面积。

19. 根据权利要求1所述的装置,其中,所述分支和所述一个或多个附加流动通道被配置成在所述分析区域内的通道壁上累积翻转到所述第二方向的所述颗粒。

20. 根据权利要求15所述的装置,其中,所述分析区域定位在所述第一附加流动通道内,并且其中,所述第一附加流动通道具有比所述第二附加流动通道大的横截面积。

21. 根据权利要求1所述的装置,进一步包括检测器,其中,所述检测器被配置成询问所述分析区域内的所述颗粒。

22. 根据权利要求1所述的装置,进一步包括第二场发生器,其中,所述第二场发生器被定位和配置成影响所述一个或多个附加流动通道中的颗粒。

23. 根据权利要求22所述的装置,其中,所述第二场发生器是声场发生器。

24. 根据权利要求22所述的装置,其中,所述第二场发生器被配置成产生第二场,并且其中,所述第二场被配置成在所述分析区域内的通道壁上累积翻转到所述第二方向的所述颗粒。

25. 根据权利要求1所述的装置,进一步包括捕集器,其中,所述捕集器被配置成约束所述分析区域内的颗粒。

26. 根据权利要求25所述的装置,其中,所述捕集器是重力捕集器。

27. 根据权利要求25所述的装置,其中,所述捕集器是磁捕集器。

28. 根据权利要求27所述的装置,其中,所述磁捕集器包括磁体和磁敏感材料。

29. 根据权利要求28所述的装置,其中,所述磁体和所述磁敏感材料被配置成生成能够影响与所述颗粒关联的磁性颗粒或磁性材料的磁场。

30. 根据权利要求1所述的装置,进一步包括一个或多个选择过滤器。

31. 根据权利要求30所述的装置,其中,所述一个或多个选择过滤器定位在所述一个或多个附加流动通道内。

32. 根据权利要求31所述的装置,其中,所述一个或多个选择过滤器被配置成捕获第一多个颗粒。

33. 根据权利要求32所述的装置,其中,所述一个或多个选择过滤器被配置成基于所述颗粒的尺寸和所述一个或多个选择过滤器的孔径来捕获所述第一多个颗粒。

34. 根据权利要求32所述的装置,其中,所述一个或多个选择过滤器被配置成基于所述颗粒的刚性和可变形性来捕获所述第一多个颗粒。

35. 根据权利要求32所述的装置,其中,所述一个或多个选择过滤器被配置成基于与所述颗粒关联的磁性材料来捕获所述第一多个颗粒。

36. 根据权利要求32所述的装置,其中,所述颗粒是细胞,并且其中,所述一个或多个选择过滤器被配置成基于所述细胞的表面蛋白或表面结构来捕获所述第一多个颗粒。

37. 根据权利要求1所述的装置,进一步包括初始级,其中,所述初始级定位在所述流动通道的上游,其中,所述初始级包括初始流动通道和初始场发生器,其中,所述初始流动通

道适于接收所述流体样本,并且其中,所述初始场发生器被配置成聚焦所述流体样本内的所述颗粒。

38. 根据权利要求37所述的装置,进一步包括流体源,所述流体源被配置成与所述初始流动通道流体连通。

39. 根据权利要求38所述的装置,其中,所述流体源包括一个或多个泵。

40. 根据权利要求37所述的装置,其中,所述初始场发生器是声场发生器。

41. 根据权利要求37所述的装置,其中,所述初始场发生器被配置成沿着所述初始流动通道的中心线聚焦第一多个颗粒,而第二多个颗粒不沿所述初始流动通道的中心线聚焦。

42. 根据权利要求41所述的装置,其中,所述初始级被配置成使所述第一多个颗粒从所述初始流动通道流入所述流动通道。

43. 根据权利要求41所述的装置,其中,所述初始级被配置成使所述第二多个颗粒从所述初始流动通道流入一个或多个废物出口。

44. 一种用于浓缩颗粒的方法,其包括:

在流动流内使流动通道中的流体样本沿第一方向流动,其中,所述流体样本包括颗粒;施加场以便以第一流速将所述流体样本中的所述颗粒聚焦成聚焦流;

以第二流速将所述聚焦流中的所述颗粒翻转所述第二方向,其中,所述第一流速大于所述第二流速;以及

在分析区域中浓缩翻转所述第二方向的颗粒。

45. 根据权利要求44所述的方法,其中,翻转所述颗粒包括使所述颗粒通过分支流入一个或多个附加流动通道。

46. 根据权利要求44所述的方法,其中,所述场是声场并在所述流动通道内提供声波。

47. 根据权利要求46所述的方法,其中,所述声场在所述流动通道内生成压力节点,并且其中,所述颗粒在所述压力节点中累积。

48. 根据权利要求47所述的方法,其中,所述颗粒沿着所述流动通道的中心线聚焦。

49. 根据权利要求46所述的方法,其中,所述声场在所述流动通道内生成多个压力节点。

50. 根据权利要求46所述的方法,其中,所述声场生成波腹,其中,第一多个颗粒被驱动到所述压力节点,并且其中,第二多个颗粒被驱动到所述波腹。

51. 根据权利要求50所述的方法,其中,所述第一多个颗粒的颗粒具有比所述第二多个颗粒的颗粒高的密度。

52. 根据权利要求50所述的方法,其中,所述第一多个颗粒的所述颗粒具有比所述第二多个颗粒的所述颗粒大的尺寸。

53. 根据权利要求50所述的方法,其中,所述第一多个颗粒的所述颗粒具有比所述第二多个颗粒的所述颗粒低的可压缩性。

54. 根据权利要求46所述的方法,其中,所述声场发生器被配置成生成多个波腹。

55. 根据权利要求45所述的方法,其中,所述一个或多个附加流动通道具有与所述流动通道不同的横截面积。

56. 根据权利要求45所述的方法,其中,所述一个或多个附加流动通道包括第一附加流动通道和第二附加流动通道。

57. 根据权利要求45所述的方法,其中,在第一附加流动通道中以所述第二流速将第一多个所述颗粒翻转 to 所述第二方向,并且其中,在第二附加流动通道中以第三流速将第二多个所述颗粒翻转 to 第三方向。

58. 根据权利要求56所述的方法,其中,所述流动通道、所述第一附加流动通道和所述第二附加流动通道具有不同的横截面积。

59. 根据权利要求56所述的方法,其中,所述第一附加流动通道和所述第二附加流动通道具有相同的横截面积。

60. 根据权利要求56所述的方法,其中,所述分析区域定位在所述第一附加流动通道内,并且其中,所述第一附加流动通道具有比所述第二附加流动通道大的横截面积。

61. 根据权利要求44所述的方法,进一步包括:

用检测器询问所述分析区域内的所述颗粒。

62. 根据权利要求44所述的方法,进一步包括:

在翻转所述颗粒后向所述颗粒施加第二场。

63. 根据权利要求62所述的方法,其中,所述第二场是声场。

64. 根据权利要求62所述的方法,其中,所述第二场使所述颗粒累积在所述分析区域内。

65. 根据权利要求44所述的方法,进一步包括:

用捕集器约束所述分析区域内的颗粒。

66. 根据权利要求65所述的方法,其中,所述捕集器是重力捕集器。

67. 根据权利要求65所述的方法,其中,所述捕集器是磁捕集器,其中,所述颗粒与磁性颗粒或磁性材料关联,并且其中,所述磁捕集器生成影响所述磁性颗粒或所述磁性材料的磁场。

68. 根据权利要求45所述的方法,进一步包括:

过滤所述一个或多个附加流动通道中的第一多个颗粒。

69. 根据权利要求68所述的方法,其中,用一个或多个选择过滤器进行所述过滤。

70. 根据权利要求69所述的方法,其中,所述一个或多个选择过滤器基于所述颗粒的尺寸和所述一个或多个选择过滤器的孔径来捕获所述第一多个颗粒。

71. 根据权利要求69所述的方法,其中,所述一个或多个选择过滤器基于所述颗粒的刚性和可变形性来捕获所述第一多个颗粒。

72. 根据权利要求69所述的方法,其中,所述一个或多个选择过滤器基于与所述颗粒关联的磁性材料来捕获所述第一多个颗粒。

73. 根据权利要求69所述的方法,其中,所述颗粒是细胞,并且其中,所述一个或多个选择过滤器基于所述细胞的表面蛋白或表面结构来捕获所述第一多个颗粒。

74. 根据权利要求44所述的方法,进一步包括:

在所述流体样本流入所述流动通道之前在初始流动通道中浓缩所述颗粒,其中,所述初始流动通道在所述流动通道的上游。

75. 根据权利要求75所述的方法,其中,向所述初始流动通道中的颗粒施加初始场。

76. 根据权利要求75所述的方法,其中,所述初始场是声场。

77. 根据权利要求75所述的方法,其中,所述初始场沿着所述初始流动通道的中心线聚

焦第一多个颗粒,而第二多个颗粒不沿所述初始流动通道的中心线聚焦。

78.根据权利要求77所述的方法,其中,来自所述初始流动通道的所述第一多个颗粒流入所述流动通道。

79.根据权利要求77所述的方法,其中,来自所述初始流动通道的所述第二多个颗粒流入一个或多个废物出口。

## 用于浓缩颗粒的方法、系统和装置

### [0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于2016年7月1日提交的美国专利申请号62/357,440“Methods and Devices for Rapid Concentration of Cells or Particles into Small Volumes(用于将细胞或颗粒快速浓缩成小体积的方法和装置)”的优先权和权益,其全部内容通过引用以其全文并入本文用于任何和所有目的。

### 技术领域

[0003] 本发明涉及用于浓缩流体样本内的颗粒或细胞的方法、系统和装置。

### 背景技术

[0004] 浓缩细胞或颗粒是样本制备方案中最常用的步骤之一。将靶细胞或颗粒分离成相对于起始样本尺寸而言较小的体积传达了许多益处。较小的体积增加了洗涤或介质交换的有效性,减少了所需的试剂量,提高了测定灵敏度,缩短了方案时间,缩小了仪器的尺寸并且增加了仪器便携性。在某些情况下,分离成非常小的体积是成功操纵稀释样本或稀有细胞群所必需的。

[0005] 将细胞浓缩成相对于样本尺寸而言非常小的体积的这个需要的极端实例是液体活组织检查,其中靶细胞在1毫升患者血液中可以少至1个细胞。对于液体活组织检查和其它稀有细胞类型,由于需要将这些细胞与起始群体中丰富得多的细胞分离,因此问题变得复杂。

[0006] 例如,细胞的分离被认为对表达特别分化的功能的那些细胞例如肿瘤细胞尤为重要,并且具体来说,将循环肿瘤细胞(CTC)与针对数百万本底细胞(例如,外周血单核细胞(PBMC))的本底估计的高水平的一种肿瘤细胞分离。虽然这些PBMC可以与样本中的CTC共享某些特征,但是PBMC对于所讨论的研究如对转移性癌症的诊断通常没什么兴趣。转移是癌症通过一系列连续步骤从原发部位扩散到非相邻的第二部位,这可以包含癌细胞通过循环系统转运。循环系统中转运的肿瘤细胞在本领域中被称作血流中的CTC。因此,CTC可以预测治疗后的疾病复发、肿瘤转移、治疗反应和患者存活率。实质上,CTC因此可以用作用于评估复发风险、进行基因分型、指导治疗过程和治疗监测癌症患者的独立标志物。然而,CTC是难以基于其在外周血中的极低浓度(例如,即便是在患有转移性癌症的患者中,范围为1个CTC/mL到100个CTC/mL血液且更常见的是范围的较低部分,例如1个CTC/mL到10个CTC/mL血液)进行研究的靶标,并且由于此类低浓度,此类细胞需要有效的离析和分离方法。

[0007] 因此,为了实现所期望颗粒和/或细胞(包含但不限于CTC)的分离,期望利用感兴趣的靶向颗粒或细胞与更丰富的本底颗粒或细胞之间的差异。迄今为止的努力包含与血液中的细胞不同的特异性肿瘤细胞表面标志物。具体实例包含使用表面标志物将免疫标记的颗粒与CTC结合,使得颗粒捕获细胞复合物可以特异性地靶向捕获。如本领域已知的,此类颗粒方法常包含使用磁珠和其它类型的颗粒。

[0008] 这种类型的分离已经在许多商业产品中实施并且可以有效地将细胞或颗粒浓缩

成非常小的体积,但是其仅能够以足够的数量靶向表达靶配体的细胞以确保免疫标记的颗粒的结合。

[0009] 免疫标记的颗粒还用于通过在称为阴性选择的过程中靶向不想要的群体来纯化靶细胞或颗粒群。这个技术具有不需要靶细胞表达特异性配体的益处并且具有使这些细胞不受分离过程影响的附加益处。此类方案具有针对靶细胞需要单独的浓缩设备的不期望方面。另外,一些阴性选择方案通过需要更大浓度的稀释过程产生了更高的纯度和效率。

[0010] 在浓缩方法中,离心或选择性过滤细胞或颗粒是样本制备方案中采用的最常用的步骤。其通常用于洗涤、介质交换和/或样本浓度调整以用于下游过程。

[0011] 虽然此类方法简单有效,但其具有在进行样本制备方案时必须考虑的缺点。例如,着两种方法都产生了样本损失并且可能影响脆弱细胞的活力。离心难以自动化,通常需要手动操纵样本,这取决于操作者的可变性。为了避免堵塞,过滤常常需要大表面积过滤器,这使恢复成小体积具有挑战。

[0012] 已经采用了以旋转光盘形式使用的微流体离心来允许与其它切屑过程一起自动化,但是此类技术只能处理有限的体积。声学附聚是用于在生物过程反应器中自动化无过滤器浓缩的方法。还展示了用于在微流体亚毫米级上浓缩靶群体的声学装置。Ward等人,于2010年11月23日公布的题为“ACOUSTIC CONCENTRATION OF PARTICLES IN FLUID FLOW (流体流动中颗粒的声学浓缩)”的美国专利号7,837,040中描述并要求保护此类声学实例系统和方法,包含以下:“一种用于在流体流动中对颗粒进行声学浓缩的设备包含在其间限定流体流动路径的基本上声学透明的膜和振动发生器。所述流体流动路径与流体源和流体出口成流体连通,并且所述振动发生器与所述流体流动路径相邻安置并能够在所述流体流动路径中产生声场。所述声场在所述流体流动路径内的预定位置处产生所述流体流动路径的至少一个压力最小值并迫使所述流体流动路径中的预定颗粒达到所述至少一个压力最小值。”然而,如上述专利申请所示的装置等装置具有相对低的体积通量并且不太适于以高分辨率/非常小的体积捕获大的起始体积。在某些情况下,可以通过平行多路复用通道或通过使用聚焦颗粒流来提高通量。然而,虽然此类平行方法增加了通量,但是方法在设计和使用中引入了不希望的复杂性。此外,将细胞或颗粒浓缩成单个小体积以获得更高分辨率的方法成为问题。

[0013] 因此,工业上需要提供用于进行高通量分选和将靶细胞或颗粒分离成相对于起始样本尺寸而言较小的体积的方法、系统和装置。本公开以及本文所描述的各个实施例通过应用各种技术解决了这一需要,所述技术包含基于场的颗粒浓缩(包含但不限于非接触声学浓缩方法)、层流翻转流几何形状和/或用于离析、浓缩和/或捕获颗粒(包含细胞)以用于询问和/或进一步分析的颗粒捕集器。

## 发明内容

[0014] 本公开提供了涉及用于浓缩颗粒的装置、系统和方法的实施例,所述装置包括:流动通道,其适于接收在流动流内沿第一方向移动的流体样本;场发生器,其被配置成以第一流速将所述流体样本内的颗粒聚焦成聚焦流;一个或多个附加流动通道;分支,其中所述分支被配置成与所述流动通道和所述一个或多个附加流动通道成流体连通,其中所述分支和所述一个或多个附加流动通道被配置成将所述流体样本引导到所述一个或多个附加流动

通道中流动通道并且以第二流速将所述聚焦流中的所述颗粒翻转所述第二方向,并且其中所述第一流速大于所述第二流速;以及分析区域,其中所述分析区域定位在所述一个或多个附加流动通道内以允许分析翻转到所述第二方向的所述颗粒,并且其中所述分支和所述一个或多个附加流动通道被配置成在所述分析区域中浓缩所述颗粒。

[0015] 本文所描述的装置、系统和方法的某些实施例具有附加方面,包含被配置成与所述流动通道成流体连通的流体源、包括一个或多个泵的流体源和/或配置成控制所述流体源的控制器。另外,所述场发生器可以是声场发生器,所述声场发生器被配置成在所述流动通道内提供声波以在所述流动通道内生成压力节点,使得所述颗粒在所述压力节点中累积,包含生成所述压力节点使得所述颗粒沿着所述流动通道的中心线聚焦的情况。所述声场发生器可以被配置成在所述流动通道内生成多个压力节点和/或生成波腹,使得第一多个颗粒被驱动到所述压力节点并且第二多个颗粒被驱动到所述波腹。所述第一多个颗粒的颗粒可以具有比所述第二多个颗粒的颗粒高的密度,比所述第二多个颗粒的所述颗粒大的尺寸和/或比所述第二多个颗粒的所述颗粒低的可压缩性。同样,所述声场发生器可以被配置成生成多个波腹。

[0016] 本文所描述的装置、系统和方法的某些实施例具有附加方面,包含具有与所述流动通道不同的横截面积的一个或多个附加流动通道。此外,所述一个或多个附加流动通道可以包括第一附加流动通道和第二附加流动通道。在某些实施例中,所述分支、所述第一附加流动通道和所述第二附加流动通道被配置成在所述第一附加流动通道中以所述第二流速将第一多个所述颗粒翻转所述第二方向,并且还在所述第二附加流动通道中以第三流速将第二多个所述颗粒翻转到第三方向。在某些实施例中,所述流动通道、所述第一附加流动通道和所述第二附加流动通道具有不同的横截面积,而在其它实施例中,所述第一附加流动通道和所述第二附加流动通道具有相同的横截面积。

[0017] 本文所描述的装置、系统和方法的某些实施例可以被配置成使得所述分支和所述一个或多个附加流动通道被配置成在所述分析区域内的通道壁上累积翻转所述第二方向的所述颗粒。所述分析区域可以定位在所述第一附加流动通道内,并且其中所述第一附加流动通道具有比所述第二附加流动通道大的横截面积。此外,实施例可以进一步包括使用检测器,其中所述检测器被配置成询问所述分析区域内的所述颗粒。

[0018] 本文所描述的装置、系统和方法的某些实施例利用第二场发生器,其中所述第二场发生器被定位和配置成影响所述一个或多个附加流动通道中的颗粒。所述第二场发生器可以是声场发生器。所述第二场发生器还可以被配置成在所述分析区域内的通道壁上累积翻转所述第二方向的所述颗粒。

[0019] 本文所描述的装置、系统和方法的某些实施例利用捕集器来约束所述分析区域内的颗粒。所述捕集器可以是重力捕集器、包括磁体和磁敏感材料的磁捕集器,以生成能够影响与所述颗粒缔合的磁性颗粒或磁性材料的磁场。

[0020] 本文所描述的装置、系统和方法的某些实施例利用一个或多个选择过滤器。所述一个或多个选择过滤器可以定位在所述一个或多个附加流动通道内。所述一个或多个选择过滤器可以被配置成基于所述颗粒的尺寸和所述一个或多个选择过滤器的孔径、所述颗粒的刚度和可变形性、与所述颗粒缔合的磁性材料和/或当所述颗粒是细胞时细胞的表面蛋白或表面结构来捕获第一多个颗粒。

[0021] 本文所描述的装置、系统和方法的某些实施例利用用于浓缩所述流体样本中的颗粒的初始级,之后,所述颗粒进入所述流动通道。所述初始级定位在所述流动通道的上游,其中所述初始级包括初始流动通道和初始场发生器。在此类实施例中,所述初始流动通道适于先接收所述流体样本,并且所述初始场发生器被配置成聚焦所述流体样本内的所述颗粒。在此类实施例中,流体源被配置成与所述初始流动通道成流体连通,并且所述流体源可以包括一个或多个泵。另外,所述初始场发生器可以是声场发生器,并且更一般地被配置成沿着所述初始流动通道的中心线聚焦第一多个颗粒,而第二多个颗粒不沿所述初始流动通道的中心线聚焦。在聚焦之后,此类实施例可以被配置成使所述第一多个颗粒从所述初始流动通道流入所述流动通道并使所述第二多个颗粒从所述初始流动通道流入一个或多个废物出口。

### 附图说明

[0022] 图1A示出了本文所公开的高通量流动层流翻转装置和方法的实施例的示意图。

[0023] 图1B示出了使用图1A所描绘的实施例进行成像所得的2.6 $\mu$ m荧光颗粒。

[0024] 图2示出了采用重量测定式捕集器方法(gravimetric trap approach)的高通量流动层流翻转装置和方法的实施例的示意图。

[0025] 图3A示出了采用孔重量测定式捕集器方法的高通量流动层流翻转装置和方法的实施例的示意图。

[0026] 图3B示出了在图3A所示实施例的第一分析区域中成像的聚焦荧光染色白细胞。

[0027] 图3C示出了在图3A所示实施例的壁的边缘附近的第二分析区域中成像的累积聚焦细胞。

[0028] 图4A示出了采用声学捕集器方法的高通量流动层流翻转装置和方法的实施例的示意图。

[0029] 图4B是图4所示实施例的声学捕集器部分的剖视图,还包含被捕获细胞的图像。

[0030] 图5示出了采用磁捕集器方法的高通量流动层流翻转装置和方法的实施例的示意图。

[0031] 图6示出了进一步包含用于颗粒和/或细胞尺寸选择的过滤器的、采用孔重量测定式捕集器方法的高通量流动层流翻转装置和方法的实施例的示意图。

[0032] 图7示出了采用重力捕集器的、具有两级减速声学浓缩法的高通量流动层流翻转装置和方法的实施例的示意图。

[0033] 图8示出了采用孔重量测定式捕集器方法的、具有靶细胞的两级减速声学浓缩的高通量流动层流翻转装置和方法的实施例的示意图。

### 具体实施方式

[0034] 本文中,在本发明描述中,应理解,除非另外隐含地或明确地理解或陈述,否则以单数形式呈现的词语涵盖其复数对应物并且以复数形式呈现的词语涵盖其单数对应物。此外,应理解,对于本文所描述的任何给定部件或实施例,除非另外隐含地或明确地理解或陈述,否则针对所述部件列出的任何可能的候选物或替代方案通常可以单独地使用或与彼此组合地使用。而且,应了解,如本文所示的附图不一定按比例绘制,其中为了本发明的清楚

起见可以仅绘制一些元件。同样,参考标号可以在各个附图中重复以示出相应的或相似的元件。另外,应理解,除非另外隐含地或明确地理解或陈述,否则此类候选或替代方案的任何列表仅是说明性的,而不是限制性的。另外,除非另外指明,否则本说明书和权利要求书中使用的表示成分、组分、反应条件等的量的数字应理解为由术语“约”修饰。

[0035] 因此,除非相反地指明,否则本说明书和随附权利要求书中阐述的数值参数是可以根据寻求通过本文所提出的主题获得的期望性质而变化的近似值。至少但并不试图将等同原则的应用限制到权利要求书的范围,每一个数值参数都应当至少根据所报告的有效数字的数目并且通过应用一般四舍五入技术来解释。尽管阐述本文所提出的主题的广泛范围的数值范围和参数是近似值,但具体实例中阐述的数值是尽可能精确地报告的。然而,任何数值固有地含有由其对应测试测量中发现的标准差必然造成的某些误差。

[0036] 颗粒离析(包含细胞离析)在许多生物学和医学应用中是非常值得关注的。如上文中的背景部分所述,对于某些细胞类型,常常是稀有细胞类型,需要将细胞与更丰富的细胞分离。例如,许多实验室测试期望分馏的血液组分,例如红细胞(也称为erythrocyte(红细胞))、白细胞和血小板。本发明的实施例解决了此类需要。还如上所述,检测稀有细胞如但不限于诸如循环肿瘤细胞(CTC)等细胞对于各种临床、实用和研究应用是重要的。关于癌症和CTC,CTC的分离除了其它方面之外可以极大地有助于理解转移并且有助于指导正在进行的患者治疗。虽然CTC的数目很少,但是本文中的实施例可以用于从全血中分离CTC,因为CTC常常比血液组分大。在下文中公开的实例性实施例使得能够通过包含单级或两级配置的各种配置的新型流动几何形状来离析和分离期望的靶颗粒和/或细胞。

[0037] 图1A示出了具有装置100的实例性层流翻转浓缩实施例,所述装置包含使来自总体上示出的流体源23的流体样本能够被引入流动通道例如图1A中的流动通道2中的基部1。具体来说,流动通道2与流体源23成流体连通以提供主体流体(例如,水、血液等)从而被引导至与用作装置100内的次级流动通道的一个或多个附加流动通道成流体连接的分支3。这些一个或多个次级流动通道在图1A中被描绘为次级流动通道4和次级流动通道4'。流体样本包含随后可以定位在流动通道2内的至少一个流动路径6(被示出为三个方向性箭头以表示三个实例流动流)内的颗粒5。应理解,如本文所利用(并且也可以称为导管)的流动通道通常是通过允许流体如液体(例如,水、血液)移动的材料或介质形成的通路。应进一步理解,对于本文所公开的几个实施例,颗粒可以包含但不限于细胞、合成微粒如珠和微球,包含磁性的、与配体偶联、具有带功能化合物的活化表面、具有缀合或以其它方式附着的抗体、蛋白质和/或核酸的磁珠和微粒以及能够在本文所描述的微流体系统的流动通道内使用的其它感兴趣颗粒。所公开实施例的微流体系统中的流动通道可以具有横截面尺寸以提供100 $\mu$ l/分钟或更大的体积流速,包含但不限于500 $\mu$ l/分钟的体积流速。

[0038] 通过通道壁22提供和形成的流动通道2、流动通道4和流动通道4'(并且如适用于本文所公开的任何实施例的任何流动通道,例如如图1A所示的流动通道2、4和4'和图7所示的流动通道2、2'、4和4')可以由可以实现在其中施加期望的场(例如,声场、位移场)的、本领域已知的任何适合的材料构成。例如,虽然优选的材料是用于通道壁22的钢,但是通道壁22还可以由聚氨酯、聚酰亚胺、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)、硅树脂、玻璃、此类材料的组合或通过其可以提供期望的场(例如,声波场)的本领域技术人员已知的任何其它材料构成。

[0039] 如还适用于本文中的其它实施例的流动通道2、流动通道4和流动通道4'可以具有

任何期望的长度或构成的形状。例如,本文中的流动通道(例如,图1A中的流动通道2、流动通道4和流动通道4')可以具有椭圆形横截面以及球形、正方形、矩形横截面或本文中可以实现流体流动和期望的模式化声场的任何其它横截面形状。然而,应注意,优选的流动通道内径(例如,对于圆形毛细管横截面)为约350 $\mu\text{m}$ 并且对于含水流体具有约2.5MHz的共振。作为流体源23的一部分,可以以电泵、机械泵、化学泵、重力驱动机构或可以提供期望的流体流速和梯度的任何其它机构的形式利用用于流体流速和因此压力梯度的联接机构。

[0040] 应了解,在本文中作为配置的一部分,流体源23可以与一个或多个机构如一个或多个泵或泵系统联接。可以采用这些附加机构例如以在单个流动通道中产生多个平行流动流(例如,所述至少一个流动路径6),所述多个平行流动流在必要时也可以在单个流动通道中具有不同的速度。此外且可替代地,可以利用流体动力学聚焦的同时流线,这实现了以大于每秒250,000个细胞的速率进行分析和分选。以任何方式,在基部1处提供的流体内的悬浮颗粒经由例如流体源23所使能的压力被引向分支3并且如控制器7所引导的那样。

[0041] 如图1A所示的装置100还示出有场发生器8,所述场发生器可以是例如声场发生器。装置100可以包含与场发生器8结合以帮助提供用于颗粒聚焦的声波的频率匹配间隔物(未示出)。根据实施例和期望的场类型,装置100还可以包含多个场发生器8。本文所公开的场发生器8可以是配置的压电换能器的形式例如铌酸锂( $\text{LiNbO}_3$ )换能器,但也可以是线驱动元件、位移发生器或能够在给定的流动通道内产生期望的场(例如,声场、位移场)的任何其它类型的振动发生器。虽然使用一个或多个声场发生器可以用于颗粒聚焦,但是还应理解,在必要时也可以利用本领域已知的用于克隆聚焦的替代方法如例如惯性颗粒聚焦和介电电泳颗粒聚焦作为本文所公开的不同实施例的特征。

[0042] 如本文中在采用声场发生器的实施例中利用的场发生器8被设计成将关于波形、频率和功率的可控电输入转换成机械振动以期望的通道(例如,流动通道2)内实现位移场和因此压力节点。应注意,虽然本文中的实施例总体上示出了配置在流动通道壁22的一侧上的一个场发生器,但是替代布置可以通过在相对侧上的第二场发生器(例如,压电部件)提供以拾取反馈信号或者甚至是可以由如本领域中已知的定位在相对侧的声波反射器提供以在给定的流动通道例如流动通道2中实现更稳健的驻波。

[0043] 在本文中的实施例的操作中,但是参考图1A,出于非限制性说明的目的,基部1处的流体配置有悬浮在流体中的颗粒5。经由流体源23使能的压力将流体引向分支3。如本文所公开的,流体源23可以包含一个或多个泵。另外或可替代地,配置的泵和/或抽吸机构可以沿流动通道(例如,流动通道4和流动通道4')布置,还可用于帮助此类流动。在流动通道2中,通过流体源23的配置实现流速,所述流速可以通过从控制器7发送到流体源23的指令来提供。

[0044] 因此,基于例如流体特性以及流动通道2的给定通道宽度和长度,可以采用控制器7或由场发生器8提供的输入频率、功率和波形的其它预设指令/设置来将给定尺寸和密度的期望颗粒引导到给定平行(层流)流(例如,流动流6)中以进一步引向分支3。具体地,用户可以将场模式调谐为流体在流动通道2内的共振(例如,使用驻波长模式1/4、3/4、5/4等)以在期望流动通道例如流动通道2的通道壁22之间实现一个或多个固定驻波正交场模式(未示出)。结果,根据施加的声力、重力、阻力、浮力等,压力节点和波腹形成并且颗粒5在节点(聚焦)中累积,其中一定密度和尺寸的颗粒5离析成所得节点。

[0045] 具体地,可以将颗粒引导到节点或波腹位置,其中较密集、较大且不那么可压缩的颗粒5被驱动到压力节点,而不那么密集、较小且不那么可压缩的颗粒5被驱动到通道例如流动通道2中的压力波腹。然而,优选地,本文中的配置利用单节点模式,并且如流动通道2等通道中的流动在设计上是层流的以便基本上沿着流动通道2的中心线来引导颗粒5的声学聚焦流。具体来说,场发生器8可以被配置成基于流动通道2的宽度来生成半波长( $\lambda/2$ )声波以在流动通道2的中心处仅提供一个压力节点。在此类配置中,迫使期望颗粒5在通道的中心部分处聚集,如图1A中总体上示出的。

[0046] 图1A所示的装置100还示出了,流动通道4和4'具有与流动通道2的横截面积不同的横截面面积 $A_1$ 和 $A_2$ ,但是此类通道在必要时可以具有相同的直径。此外,应注意,相对于流动通道(例如,流动通道4和流动通道4')的尺寸,颗粒5相对较小并且因此基本上不影响整体大体积流体流动。

[0047] 图1A所示的此类配置在分支3提供的分流通道中实现了不同的流速,这取决于如横截面积之比(例如,流动通道2与流动通道4'的横截面积之比)、流动通道4和流动通道4'的长度、是否利用下游泵等因素。因此,图1A中的装置100的实例设计示出了横截面面积 $A_1$ 较大并且因此流速 $H$ 与流动通道4中的流速 $L$ 相比由于其较小的横截面面积 $A_2$ 而较高的流动通道4'。

[0048] 在操作上,由于沿着流动通道4和流动通道4'的分化流动的动量损失,流动通道2中的聚焦颗粒5将在与从流动通道2以分叉方式发出的分支3相交时停滞,其中大部分动量损失是由于颗粒和/或细胞5相对于分支3区域的壁(表示为 $W$ )的位置。如果将通道4和流动通道4'的流速适当地选择成使得其接近一致(例如,流速比在1到1.2之间),则基于压力梯度,基本上所有颗粒5将主要转向并移向具有较高流速的通道(例如,图1A中的流动通道4'),从而几乎没有颗粒行进到较慢的流速通道(例如,图1A中的流动通道4)中。

[0049] 流动通道4'路径的一个重要方面是,使用流动路径的几何形状,在流动通道2的流动最快部分移动的颗粒5现在翻转到在流动通道4'的壁 $W$ 附近的最慢流动流(在本文中由字母 $S$ 表示)。结果是,通过以此方式翻转流动路径,更容易捕获颗粒5或将其聚焦在指向高分辨率位置11例如分析区域12的缓慢移动流的平面中以实现例如通过检测器16进行询问。虽然图1A总体上示出了显微镜(例如,成像)配置,但是应当理解,检测方法是如此有限并且还可以包含本领域已知的其它方法,如光吸收、荧光(落射荧光)、折射率变化、拉曼光谱、电导测量、电流测量等。

[0050] 作为替代实例实施例,使用本领域已知的方法如例如通过使分析区域12的内壁 $W$ 功能化,可以将颗粒5吸附到收集区例如分析区域12的表面上。检测器16如使用高放大率高数值紧密工作孔径物镜(例如,40x/0.65)的光学显微镜可以如图1A总体上所示定位成与分析区域12相邻并且与计算机和/或其它图像处理组件联接以处理由显微镜或上述替代测量方法产生的图像或信息。此后,可以分析和/或另外处理颗粒5。附加处理可以包含例如按尺寸或重量进行分选或可替代地通过借助于手动或控制器7指令经由流体源23增加压力来释放颗粒5,以实现颗粒5的进一步下游处理(例如,如以下关于图4A中的装置400或图5中的装置500详述的)。图1B示出了使用检测器16在分析区域12内成像的实例所得2.6 $\mu\text{m}$ 荧光颗粒5'。

[0051] 应了解,虽然本文所公开的方法可以在不使用附加试剂且不考虑流体的pH或传导

性的情况下有利地实现,但是可替代地,可以洗涤颗粒5或以其它方式将所述颗粒暴露于其它试剂。这可以是期望的,如果例如分析区域12被修改为渗透膜的话,通过所述渗透膜,试剂可以扩散到捕获的靶颗粒5。此后,可以如通过允许试剂通过分析区12扩散到捕集的颗粒来洗涤颗粒5或将所述颗粒暴露于其它试剂,并且然后对所述颗粒进行光学询问和成像。

[0052] 还应注意,图1A所示的装置100的配置和本文中的所有实施例可以配置有使用本领域技术人员已知的方法的各种I/O通信设备。例如,装置100可以被配置成使用无线连接或物理联接来连接到其它装置。作为无线连接的非限制性实例,此类布置可以包含商用无线接口,诸如但不限于无线电波(WiFi)、红外(IrDA)或微波技术。

[0053] 关于物理联接连接,联接可以通过专用联接I/O设备如以太网电缆或经由USB端口,以便例如经由装置100(和本文所描述的其它实例实施例)中的嵌入式软件(例如,固件)或经由在一些操作中从联接的处理器接收的指令或经由前述无线连接来提供操作数据传递。

[0054] 应注意,本文所公开的分析装置实施例可以以C、C#、C++、Java和/或其它合适的编程语言编写为源代码的计算机程序、过程或进程的形式合并单独的软件模块、组件和例程。计算机程序、过程或进程可以被编译成中间、目标或机器代码并且被呈现以由上文所讨论的任何实例适合的计算装置执行。源、中间和/或目标代码和关联数据的各种实施方式可以存储在包含只读存储器、随机存取存储器、磁盘存储媒体、光学存储媒体、闪存装置和/或其它适合的媒体的一个或多个计算机可读存储媒体中。

[0055] 根据本发明的各方面,计算机可读媒体是指本领域普通技术人员已知和理解的媒体,其具有以可以由机器/计算机/处理器读取(例如,扫描/感测)并由机器/计算机/处理器的硬件和/或软件解译的形式提供的编码信息。还应了解,如本文所使用的,术语“计算机可读存储媒体”本身不包含传播的信号。

[0056] 应了解,某些组件可以合并到装置100中或者可以作为在装置100操作时与装置100交互的单独组件存在。非限制性实例包含流体源23、控制器7、场发生器8和/或检测器16。在此类实施例中,系统将会包含装置100和在系统操作时一起接口连接并起作用的附加组件。装置和系统配置中的这一相同的灵活性还适用于本文所描述的其它实施例。

[0057] 图2示出了包含装置200的替代层流翻转实施例。在下文中,对于所有实施例,适当时可以使用相同的标号来标识关于图1A的实施例的类似方面。具体地转到图2的讨论,所示的装置200是属于对图1A所示的装置100的修改的声学浓缩装置实例的总体剖视图。图2中的装置200利用如在下文更详细地讨论的层流翻转重力捕集器配置和方法。

[0058] 装置200再次示出了场发生器8和定位在流动通道例如由图2中的通道壁22提供的流动通道2内的颗粒5。优选地,配置利用单节点模式,并且流动通道2中的流动在设计上是层流的,以便沿着流动通道2基本上中心地引导颗粒聚焦流。如前所述,场发生器8可以是声场发生器,并且颗粒5可以包含细胞。流动通道2与流体源(在这个实例中未示出)和分支3成流体连通,所述分支与用作装置200内的次级流动通道例如流动通道4和流动通道4'的一个或多个附加流动通道成流体连通。如前所述,聚焦在流动通道2中的颗粒5在与从流动通道2发出的流动分叉的分支3区域相交时停滞。如上所述,大部分动量损失是由于颗粒5与分支3区域并且尤其是分支3区域的壁W相遇。然而,这里,所述流速在沿着流动通道4和流动通道4'的两个方向上是基本上相等的,因为流动通道的设计是使得流动通道具有大致相等的

横截面面积、长度、下游泵送速率等。

[0059] 在操作中并且如前所述,使用流动路径的几何形状,在流动通道2的流动最快部分(用大箭头示出)中移动的颗粒5现在翻转到壁W附近的较慢流动流。在这个实施例中,颗粒5现在是沿着壁W的两个方向,如沿流动通道4和流动通道4'引导的那样,因为这些通道中的流速基本上相等。作为这一配置的附加有益方面,对于密度大于主体流体的颗粒,颗粒5也响应于重力加速度而向下沉降,以便为颗粒5提供重力捕集器。因此,通过使用声学浓缩设计和流动通道配置并且通过利用重力加速来进一步帮助流出流动通道2的颗粒5在分析区域12附近沉降和收集,人们可以例如使用例如具有近工作距离物镜的检测器16(例如,在检测器16包含显微镜时)来询问与上文中针对图1A的装置100描述的颗粒或细胞类似的此类颗粒或细胞。

[0060] 还应注意,对于具有与主体流体的声学对比度类似的声学对比度但未被捕获的其它颗粒,通过出口(未详细描述)的移除可以被引导(在图2中表示为废物)朝向流动通道4和流动通道4'的出口(未示出)以用于任意的回收。除了移除具有低对比度的颗粒之外,还可以使用联接到流动通道4和流动通道4'的下游泵(未示出)来帮助这一过程。

[0061] 图3A总体上示出了具有与图2所示装置200相比以改进的方式操作的装置300的替代孔重力捕集器实施例。具体地,图3A所示装置300是利用孔27从流动通道2接收引导的主体流体和颗粒5并捕获颗粒5的浓缩装置实例的剖视图。这相比于使用附加流动通道,如上文中针对图1A和图2所示的实施例讨论的次级流动通道。应注意,如图3A所示的此类配置是单级装置,但是在其它实施例中可以与第二同轴中心聚焦级(second in-line center focusing stage)组合操作,如下文中针对图7中的装置700所讨论的。

[0062] 在这个配置中,类似于上文中针对图1A和图2所示的装置所描述的,使用场发生器8,颗粒5再次聚焦在通道壁22内并沿着流动通道2居中。如前所述,场发生器8可以是声场发生器,并且颗粒5可以包含细胞。然而,在这个配置中,流动通道2与和流动通道的任一侧具有相等流动的孔27相交。颗粒5类似地从流动通道2的流动最快部分(大箭头)移动,并使用流动路径的几何形状翻转到在孔27的壁W附近的最慢流动流。然而,在这个配置中,当此类颗粒5流出流动通道2(并且如下所述由重力辅助)时,所述颗粒沿着分析区域12的壁W在两个方向上滚动,但是由孔27结构容纳。

[0063] 如上所述,图3A所示的装置300有利地利用重力捕集器,其中具有比主体流体大的密度的颗粒5部分地响应于重力加速度而向下沉降到壁W。类似于图2中的信息200的配置,基于流动压力,通过出口(未示出)移除(用废物和箭头方向表示)具有与主体流体的密度基本上类似的密度的颗粒5以用于收集和可能回收。除了帮助移除具有低密度的颗粒5之外,还可以使用联接到孔27的下游泵(未示出)来帮助这一过程。图3B是当流出流动通道2时使用检测器16(例如,包含显微镜的检测器)在分析区域12中成像的聚焦荧光染色白细胞的图像。图3C是在壁W的边缘附近的分析区域12中使用检测器16成像的累积聚焦荧光染色白细胞的图像。

[0064] 图4A描绘了具有装置400的替代实施例,其部分地利用了上述图1A所示的装置100配置,但现在在至少一个附加流动通道如装置400中的次级流动通道(例如,流动通道4')中结合使用第二场发生器18(所述第二场发生器也可以是声场发生器)以提供捕集器机构410(如果第二场发生器18是声场发生器,则所述捕集器机构可以是声学捕集器),并且如下文

进一步描述的。如前所述,装置400如控制器7所引导的那样经由流体源23(所述流体源可以包含一个或多个泵)引入在基部1处且朝向分支3提供的流体。如前所述,在颗粒5被引导到装置400的分支3时,此类颗粒5还被引导成经由场发生器8使用期望的节点模式常常是单节点模式基本上沿着通道壁22内的流动通道2的中心区域进行约束。同样如上所述,次级流动通道(流动通道4和流动通道4')具有与流动通道2的横截面积不同的横截面积 $A_1$ 和 $A_2$ 。此外,基于期望的长度和泵送速率(如果利用如气动泵等下游泵的话),可以在流动通道4和流动通道4'中采用不同流速。

[0065] 因此,流动通道2中的聚焦颗粒或细胞5在与从流动通道2以分叉方式发出的分支3区域相交时由于动量损失而停滞,类似地如上所述。在流动通道4和流动通道4'之间适当选择的流速使期望的颗粒5能够以更高的流速转向并移向通道(例如,图4A的实施例中的流动通道4')。如前所述,使用流动路径的几何形状,在流动通道2的流动最快部分移动的颗粒5现在翻转到在流动通道4'的壁W附近的最慢流动流。

[0066] 在这个实施例中,第二场发生器18作为捕集器机构410的一部分与流动通道4'相邻安置。图4A和图4B中的配置示出了场发生器18,所述场发生器提供例如 $1/4$ 波长的场43以在分析区域12处提供单个压力最小值用于捕获目的。然而,在必要时也可以使能其它压力节点,并且所述压力节点使用替代场频率例如 $3/4$ 或 $5/4$ 波长来实现本领域已知的一个或多个压力最小值。此类配置可以包含与第二场发生器18结合以匹配流动通道4'内的流体的流体阻抗的匹配层19(例如, $1/4$ 波长层)。在图4A和图4B的配置中,可以将分析区域12构造为被配置成对第二场发生器18产生的波(例如,声波)基本上声学透明(例如,通过足够薄的膜24(如图4B所示))。

[0067] 因此,膜24可以用作反射系数接近 $-1$ 的压力释放表面。使用此类配置,反射波与入射波异相 $180$ 度,并且压力波与位移波异相 $90$ 度。这在膜24表面处产生了压力节点或最小值。因此,可以利用所示配置来离析和浓缩(例如,捕获)期望的颗粒5。关于此类构造和方法的详细信息可见于美国专利号7,837,040,所述美国专利的说明通过引用以其全文并入。

[0068] 在与本文中的其它实施例类似的操作中,当流动移动到流动通道4'的壁W附近的最慢流线时,此类颗粒5可以在其靠近分析区域12和膜24时充分减速或甚至停下(例如,没有来自流体源23的流动)。此后,还示出在图4B的剖视图中的捕集器机构410帮助将具有正声学对比度的颗粒5推向与第二场发生器18相对的通道壁W以帮助捕获。

[0069] 如上所述,此后可以通过替换通向流动通道4'的流动通道2中的样本流体来洗涤颗粒5或将所述颗粒暴露于其它试剂。可替代地,如果膜24是可渗透的或可以制成可渗透的,则可以向膜24的相对侧添加试剂,从而允许试剂扩散(或被主动推动)到捕获的颗粒5。如果期望对颗粒5进行另外的下游处理,则可以任选地进行从流动通道4'进一步向下释放颗粒5(用字母D表示)。颗粒5的释放可以通过本领域已知的任何适合的方式进行,如通过消除生成的场和/或通过手动或控制器7指令下经由流体源23增加压力来释放。可替代地,也可以采用下游泵、气动系统等来引入附加力用于从分析区域12和膜24释放颗粒5。

[0070] 另外,可以将用于释放目的的缓冲溶液引入流动通道2中并且此后引入流动通道4'。在将颗粒5洗涤期望时间段之后,可以在流动仍在进行的同时释放生成的场以允许随后捕获下游的颗粒5。可替代地,分析区域12内的膜24可以是可容易移除部件(例如,至少部分地包括盖玻片),或者装置400可以被配置成容易拆卸,以便移除捕获的组分以供进一步使

用(例如,进一步询问)。同样如上所述,分析区域12允许用具有检测器16的任何数量的检测设备来检测(例如,观察)捕获或移动的平面聚焦颗粒5如但不限于配置的近工作距离物镜以实现光学成像和分析。同样如上文所讨论的,检测方法还可以包含但不限于光吸收、荧光(落射荧光)、折射率变化、拉曼光谱、电导测量、电流测量等。图4B包含通过使用高数值成像物镜和落射荧光在透明的膜24上捕获的颗粒5(具体地,在暗化区域中例证的3 $\mu\text{m}$ 颗粒)的实例所得图像,并且进一步地,施加来自场发生器19的声场,随后移除场。

[0071] 图5描绘了包含装置500并利用图1A所示的装置100配置的修改方法的另一个实施例,其中修改是在至少一个附加流动通道如次级流动通道中(例如,如图5所示,在流动通道4'中)添加磁捕集器510(包含磁体32和磁敏感材料34)。为了解释的简单,像引入颗粒5的方面一样,对于本文所描述的各个实例实施例使用相似的标号,为了将颗粒5引导到例如流动通道4',聚焦颗粒5和翻转流动线的方法等如上所述。图5所示的磁捕集器510需要磁性材料,其可以例如通过使用磁性颗粒5、通过使用将磁性颗粒或其它磁性材料联接到颗粒5(所述颗粒可以再次包含细胞)。采用这一方法的关联实施例对于磁力随距离快速下降的高梯度磁离析特别有益。

[0072] 基于场的定位(例如,基于声场的定位)和高分辨率磁捕获特征的组合允许分离成极小的体积或检测面积。对于大得足以在磁场中絮凝的磁性颗粒标记物,移除未结合的标记物是有益的,特别是在上游需要大量磁性标记物来对颗粒5靶群进行染色时。对于小于感兴趣的颗粒5的磁性标记物,这可以使用如下文中针对图6所讨论的尺寸选择性过滤器或通过本领域已知的其它尺寸选择性样本制备方法来实现。

[0073] 还应了解,利用本文所公开的任何捕集器,还可以更改表面以使用配体或其它化学处理来特异性地保留一个或多个颗粒5群。此外,本文所公开的每种捕集器的给定通量下的效率由已经翻转的颗粒5的流速以及捕集器和周围流体所施加的力来控制。有源捕集器通常施加较强的力并且因此允许比例如重量测定式捕集器高的效率或通量,如图2或图3所示。

[0074] 因此,图5所示的实施例示出了装置500的侧视图,所述装置具有磁捕集器510以便与上文所描述的具有磁体32和磁敏感材料34的新型流动翻转配置组合,所述磁敏感材料常常成形并由具有高磁敏感性的材料构成以帮助聚焦并因此增强磁体32所产生的通线。具体来说,磁敏感材料34可以包括本领域中已知的铁磁材料以帮助外部施加的磁场梯度如图5中的磁体32所提供的磁场梯度成形(例如,聚焦)。磁敏感材料34可以是任何形状例如棒状、锥形结构等以提供磁通线的期望成形。磁体32本身可以是一个或多个永磁体、一个或多个电磁体或其组合,并且可以在相对于分析区域12朝向并沿着流动通道4'的通道壁22移动方面可调整,以在必要时帮助改变磁通线。作为一般原理,期望施加的磁场力高于通道4'中的流速力(以克服阻力)以有效地捕获期望的靶向颗粒5。

[0075] 由于这一布置,流动通道4'的壁W的底部上形成了与分析区域12相邻的捕获区。如前所述,分析区域12可以是透明的半渗透薄膜。如图5所示,与磁捕集器510的配置区域相邻地捕获靶向颗粒35(也表示为透明圆圈)。未捕获的颗粒5在流动通道4'内沿下游方向(用字母D表示)移动以进行进一步处理或仅作为废物收集。

[0076] 在装置500的实例操作中,如图5所示,期望含有靶颗粒35的流体样本用例如抗体进行标记,所述抗体对靶颗粒35的表面标志物具有特异性并且包含磁性材料(例如,抗体具

有附着的磁性标记物)。这可以在将具有靶颗粒35的流体样本引入装置500之前或之后发生。应了解,如本领域普通技术人员已知的,可以采用正向或负向捕获方案。

[0077] 经由基部1将流体样本引入装置500中,并且如上所述,沿着流动通道2的中心部分来约束此类靶向颗粒35(已经被标记)和颗粒5(尚未被标记)并将其引向例如如图5所示的流动通道4'。激励磁捕集器510以在控制器7的控制下或用户的手动操作下施加磁场。在含有靶向颗粒35的样本溶液流过分析区域12(和磁捕集器510)之后,可以移除或减少磁场并且可以增加流动通道(例如,流动通道2和流动通道4')中的流体流速以对待下游(D)进行处理。可替代地,可以引入被制造成释放先前捕获的靶颗粒35从而对待下游(D)进行收集和处理的缓冲溶液。同样类似于上文中针对图4A的装置400所讨论的,被配置为观察区域12的一部分的薄膜可以是可容易移除部件(例如,部分地包括盖玻片),或者装置500可以容易地拆卸,以允许移除和进一步询问捕获的组分。

[0078] 图6描绘了具有结合一个或多个选择过滤器42部分地利用图2所示的装置200配置来防止期望的靶颗粒和/或细胞37逸出的装置600的实施例。所述一个或多个选择过滤器42可以包含一个或多个期望尺寸的孔径,在某些实施例中,所述一个或多个孔径对于特定选择过滤器也是均匀的。所述一个或多个选择过滤器42还可以通过其它机制来过滤颗粒5,包括但不限于细胞刚性和可变形性、捕获对颗粒5的磁性添加、捕获特异性细胞表面蛋白或结构等。如图6所示的实施例可以合并上文中针对图2所讨论的装置200的一些或所有方面,但是至少进一步添加一个或多个选择过滤器42,如图6所示。

[0079] 因此,应了解,可以通过添加一个或多个选择过滤器42来补充根据本文所描述的几个实施例的给定装置的捕获效率,以防止期望的靶向颗粒或细胞逸出。此外,尽管设计了特定装置的其他方面,但是大部分靶标可以在捕集器(例如,磁捕集器510)中捕获或以其它方式固持在感兴趣区域(例如,分析区域12)中,并且因此,相应的选择过滤器42由于要过滤的颗粒5的比例较少而因此不那么易于堵塞。这允许所述一个或多个选择过滤器42具有比微流体系统小的尺寸和/或比所述微流体系统低的孔隙率,所述微流体系统至少不采用本文所描述的实施例的层流翻转方面和任选地装置内的捕集器来补充对颗粒5的捕获。

[0080] 在操作中,选择过滤器42基于如上所述的一种或多种机制(例如,基于颗粒5的尺寸和所述一个或多个选择过滤器42上的孔)来保留某些颗粒5。因此,如次级流动通道即流动通道4和流动通道4'等附加流动通道中的流体与某些颗粒(例如,较小的颗粒)一起流到出口39。在利用尺寸选择的实施例中,通过选择过滤器42的设计阻挡了在壁W处不受约束的颗粒(例如,由于湍流)和尺寸大于图6所示的两个选择过滤器42的孔径的颗粒37。当流动通道4和流动通道4'内的流体样本被引导到出口39时,可以收集和保留这些颗粒37。在必要时,此后可以例如使用倒冲法来收集保留的颗粒,在所述倒冲法中,选择过滤器42保留的颗粒37被引入图6的装置的出口39中的流体流动冲掉。

[0081] 图7描绘了具有结合具有重力捕集器的层流翻转法利用两级减速浓缩法的装置700的实施例,而上文中关于图2的装置200讨论了后两个方面。应注意,对于本文所公开的实施例,由于捕获效率受到颗粒速度、流体体积通量和所采用的任何捕集器的相对强度的限制,因此预先浓缩样本输入以获得更高的通量可以是有益的。

[0082] 因此,代替可以例如如针对上述实施例所讨论的那样利用的单个有益聚焦级,图7所示的装置700现在利用两级法,在所述两级法中,第一级70被配置在上游区域中以离析和

聚焦颗粒5从而输入到第二级71中。因此,此类配置实现了聚焦由流体源23插入在基部1处的颗粒5以及初始聚焦和浓缩在输入到第二级71之前属于感兴趣颗粒5的整个群体内的颗粒。此后,如上所述聚焦此类颗粒5,并且然后如上述实施例所示的使用层流翻转法和颗粒5的捕获配置。这里,仅出于非限制性说明的目的,图7所示的实施例利用重力捕集器实施例,类似于针对图2的装置200的讨论。

[0083] 使用此类配置和方法以大于90%的效率容易实现颗粒的10倍或更多倍浓缩(例如,以实现整体上1000X到5000X的总浓度),这允许至少10X大的通量。例如,第一级70的体积流速可以是1000 $\mu$ l/分钟并且第二级71的体积流速可以是100 $\mu$ l/分钟。因此,对于细胞,预期最多约2mL/分钟用于如PBMC(或更大的细胞)等颗粒的高效回收。如上所述,还可以如上文所讨论的通过使用第一级71的废物出口处的选择性尺寸过滤器42来提高级71处的回收。

[0084] 在操作中,装置700使用第一级70将颗粒5聚焦在流动通道2'中以便离心出本底颗粒(例如,红细胞)。因此,在配置有悬浮颗粒5(所述悬浮颗粒是感兴趣颗粒)和本底颗粒55的基部1处引入流体(例如,约50mL样本溶液),并沿着流动通道2'进一步引导(例如,通过来自一个或多个泵的由流体源23使能的压力)所述流体。然后,利用第一场产生器8'将场模式调谐到流动通道2'内的流体的共振。虽然在某些情况下可以利用不同的场模式,但是优选地,在图7实施例所示的配置利用单节点模式并且流动通道2'中的流动在设计上是层流的,如上文所讨论的,以便基本上沿着流动通道2'的中心线来引导颗粒5的聚焦(例如,声学聚焦)流,而较小、较不密集且较丰富的本底颗粒55被引导到波的位置,例如,所述本底颗粒径向分布在这个中心线聚焦区域外面且朝向通道壁22。

[0085] 具体来说,第一场发生器8'可以被配置成基于流动通道2'的宽度来生成半波长( $\lambda/2$ )声波以便在流动通道2'的中心处仅提供一个压力节点。结果,本底颗粒55(例如,较小的细胞)可以经由尺寸选择过滤器42进行过滤(移除)并且以高达约450 $\mu$ l/分钟的速率按废物(表示为W)引导以便如可能期望的用于收集或进一步处理。此外,可以使用尺寸选择过滤器42来收集未沿流动通道2'的集中区域聚焦但是感兴趣的任何颗粒5,并且经由反冲、由流体源23到流动通道2'的重新插入或本领域已知的其它技术来对所述颗粒进行再处理。然而,装置700的级71的主要设计使期望颗粒5能够以例如高达100 $\mu$ L/分钟的速率聚焦并被引导到第二级71的输入端中。此后,第二级71结合本文所公开的捕集器中的一种利用层流翻转法,例如重力捕集器,如图7中示出的并在上文中针对图2详细讨论的捕集器。因此,虽然图7的配置是有益的,应当注意,在有保证时也可以利用上文所讨论的其它层流翻转和捕获构造,如下文所讨论的图8中的示例性实施例所示(所述示例性实施例采用本文中关于图3A描述的另一个实施例)。

[0086] 图8描绘了具有装置800的实施例并且结合孔层流翻转重力捕集器配置和方法示出了替代的两级减速浓缩装置,如上文针对图3A的装置300所讨论的。

[0087] 在操作中,类似于图7中的装置700,第一级70将颗粒聚焦在流动通道2'通道中以离析出本底颗粒55(例如,如血小板等较小的本底细胞)。因此,使用本文所描述的方法和本领域中的其它方法在基部1处引入流体样本45(例如,约50ml样本溶液)。在同样适用于如图7所示的装置700等实施例的图8的实施例中,为了增加通量,流体样本可以是研究和分析测定中用于靶向的感兴趣颗粒5的富集来源。一种此类富集技术包含基于细胞密度的富集,其

中在离心期间基于浮力密度将细胞离析成不同的层并且此后抽吸淋巴细胞。其它技术包含亲和离析法,如进一步利用磁珠或使用经由直接上皮肿瘤细胞捕获进行的正向选择或通过造血细胞耗竭进行的负向选择的其它固相离析技术的抗体方法。基于尺寸的过滤是在以下情况下可以采用的另一种方法:肿瘤细胞总体上大于其它细胞并且因此在允许正常血细胞通过的同时常常可以在具有特定孔径的筛分膜上被捕获。对于任何公开的实施例,在必要时还可以利用此类过滤技术的组合。

[0088] 在任何情况下,沿着流动通道2'进一步引导此类耗竭的流体样本45,所述流体样本配置有属于感兴趣靶颗粒的悬浮颗粒5并且还含有至少一些本底颗粒55。然后,再次利用第一场发生器8'将场模式调谐到流动通道2'内的流体的共振。虽然在某些情况下可以利用不同的场模式,但是优选地,图8所示的配置还利用了单节点模式并且流动通道2'中的流动在设计上是层流的,如上文所讨论的,以基本上沿着流动通道2'的中心线来引导颗粒5的声学聚焦流,而较小且较不密集的本底颗粒55径向分布在这个中心线聚焦区域外面。结果,可以过滤并按废物(表示为废物)移除本底颗粒55,并且可以使用本文所公开的技术(例如,反冲)以及本领域已知的其它技术对经由选择过滤器(例如,如之前针对其它实施例描述的选择过滤器42)捕获的感兴趣颗粒5进行再处理。然后,将沿中心线约束的颗粒5引导并聚焦到第二级72的输入端。此后,第二级72示出了实例层流翻转和孔27配置,如上文中针对图3A所讨论的。

[0089] 还应注意,对于图7和图8中通过实例示出的任何实施例,经由例如上述正向或负向亲和方法或如法压壶、声膜捕集器等其它耗竭方法,可以利用任选的次级耗竭方法。

[0090] 本申请所包含的讨论旨在用作基本描述。尽管已经根据所示出和描述的各个实施例描述了本发明,但是本领域普通技术人员应当容易认识到,实施例可以有变化并且这些变化应在本发明的精神和范围内。读者应意识到,具体的讨论可能没有明确地描述所有可能实施例,许多替代方案是隐含的。此类修改和类似物被视为完全在本领域普通技术人员的能力范围内并且在本发明的范围和精神内的简单修改。因此,可以在不脱离本发明的精神、范围和本质的情况下由本领域普通技术人员做出许多此类修改。由于本发明由权利要求书限定,因此说明书、附图和术语均不旨在限制本发明的范围。



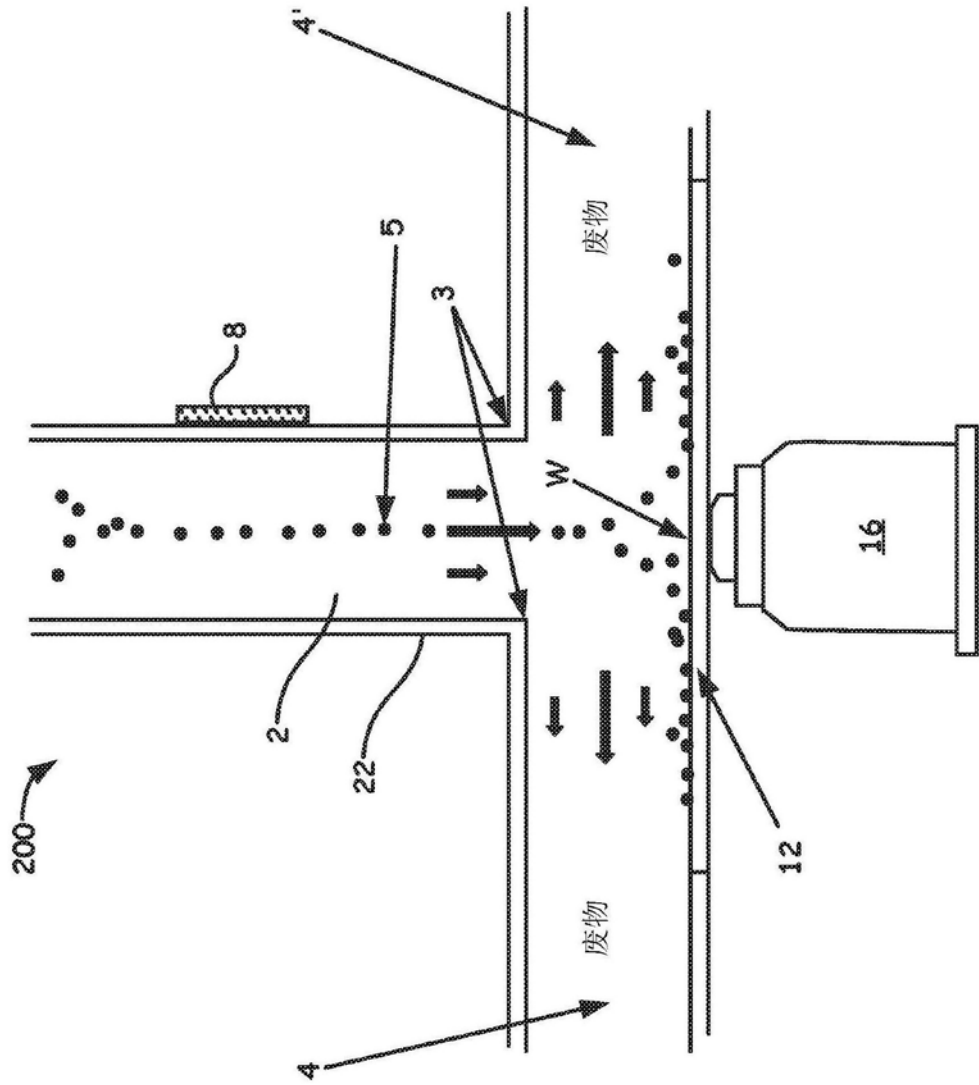
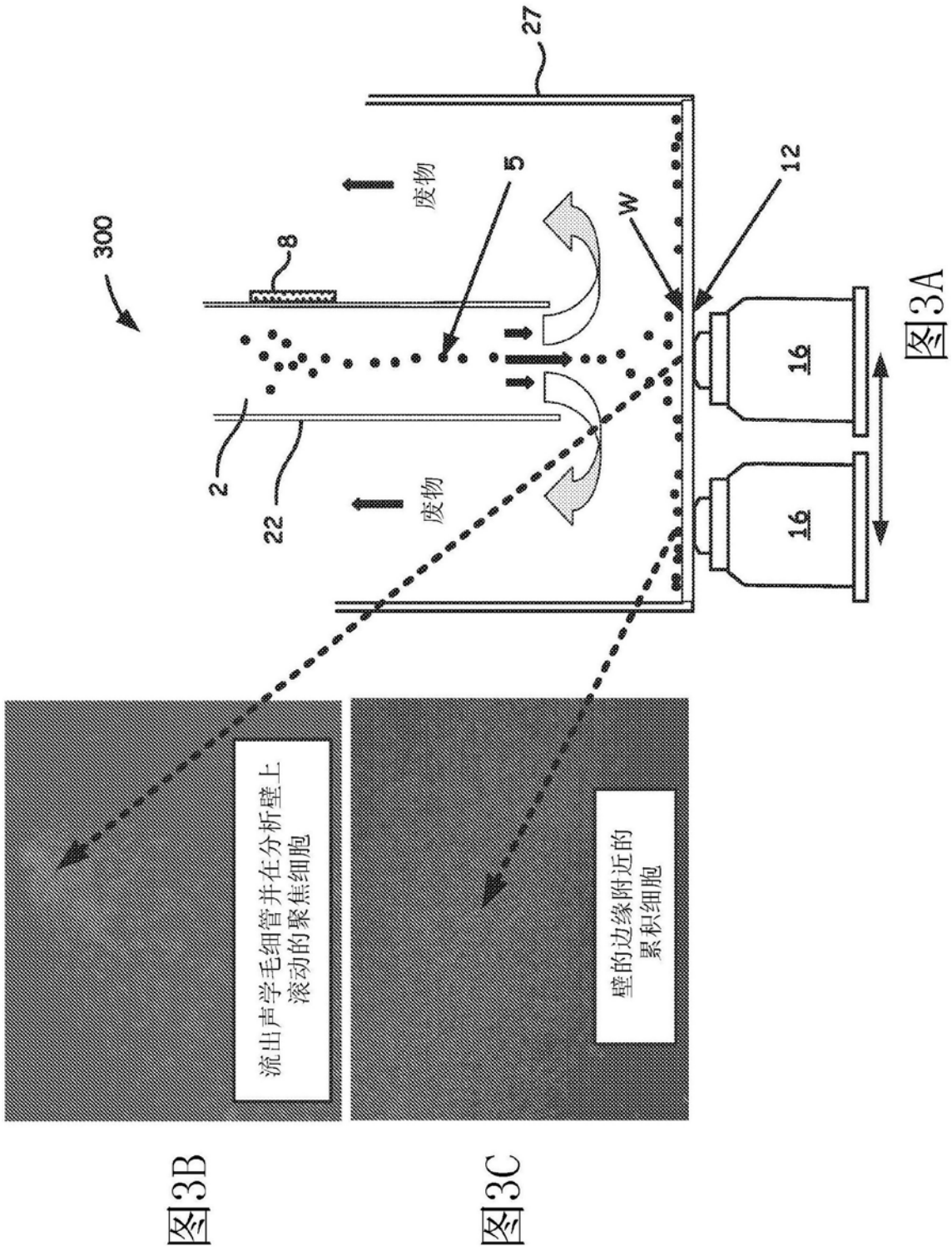


图2



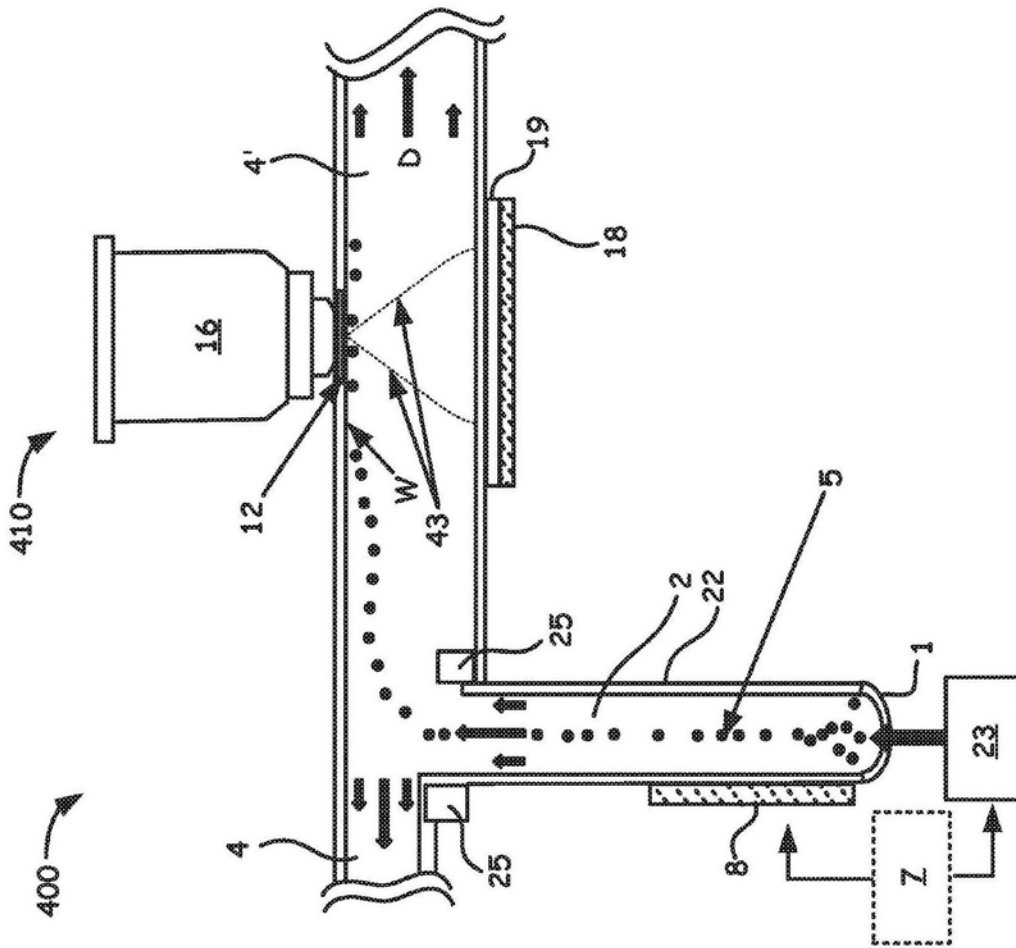


图4A

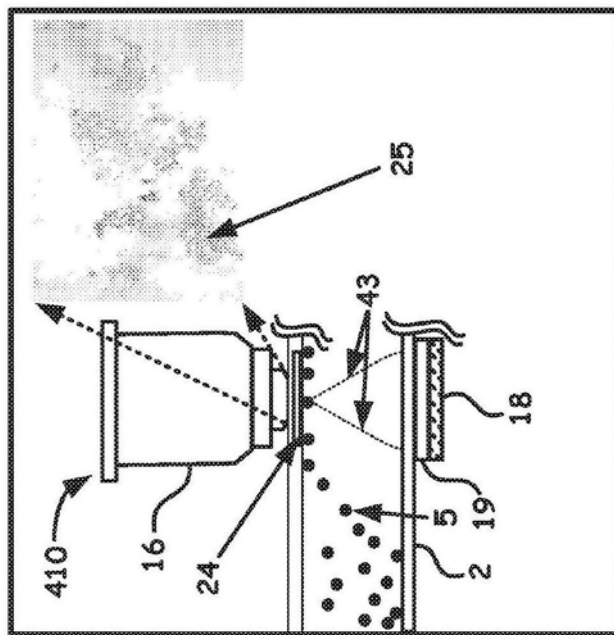


图4B

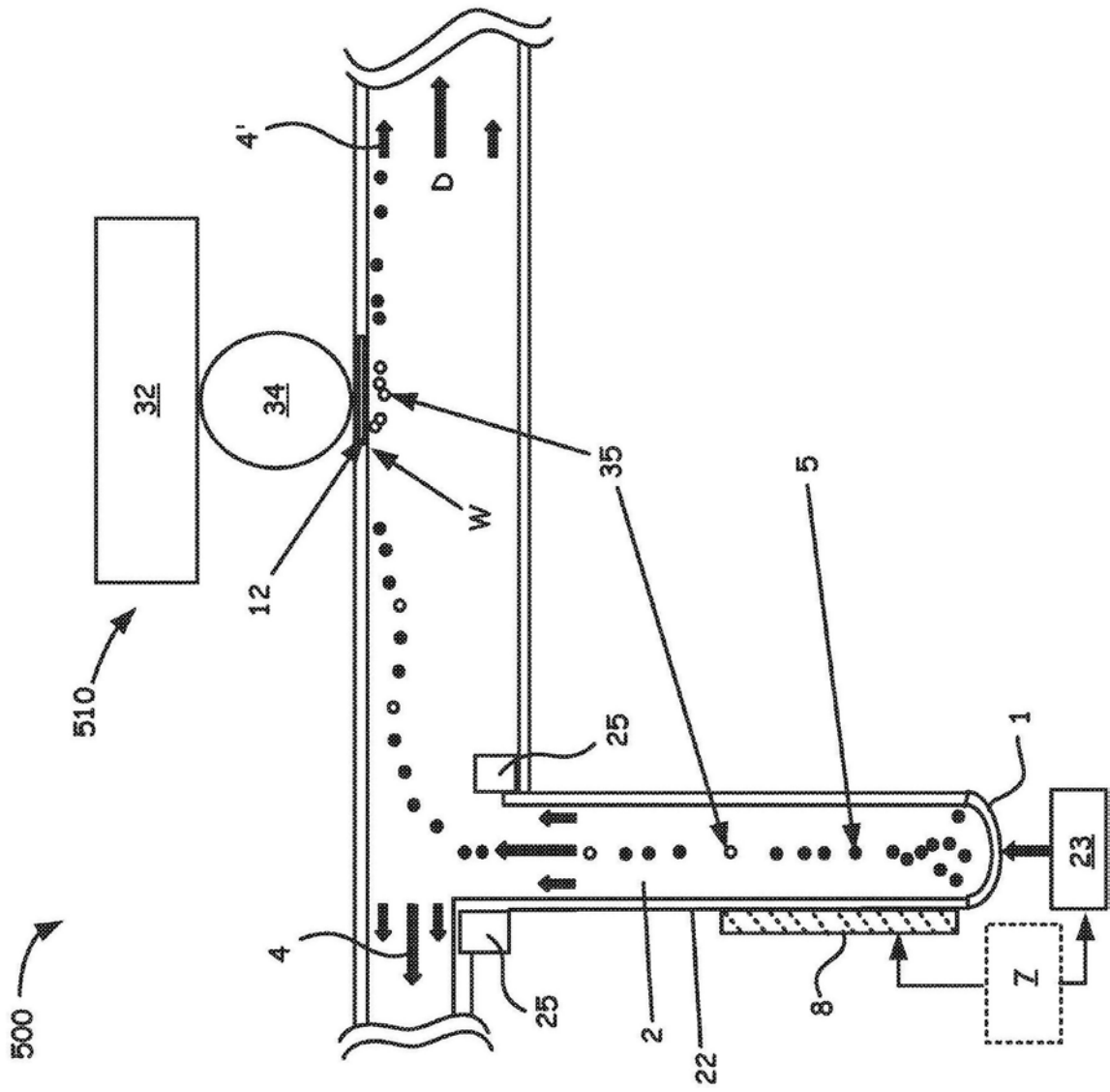


图5

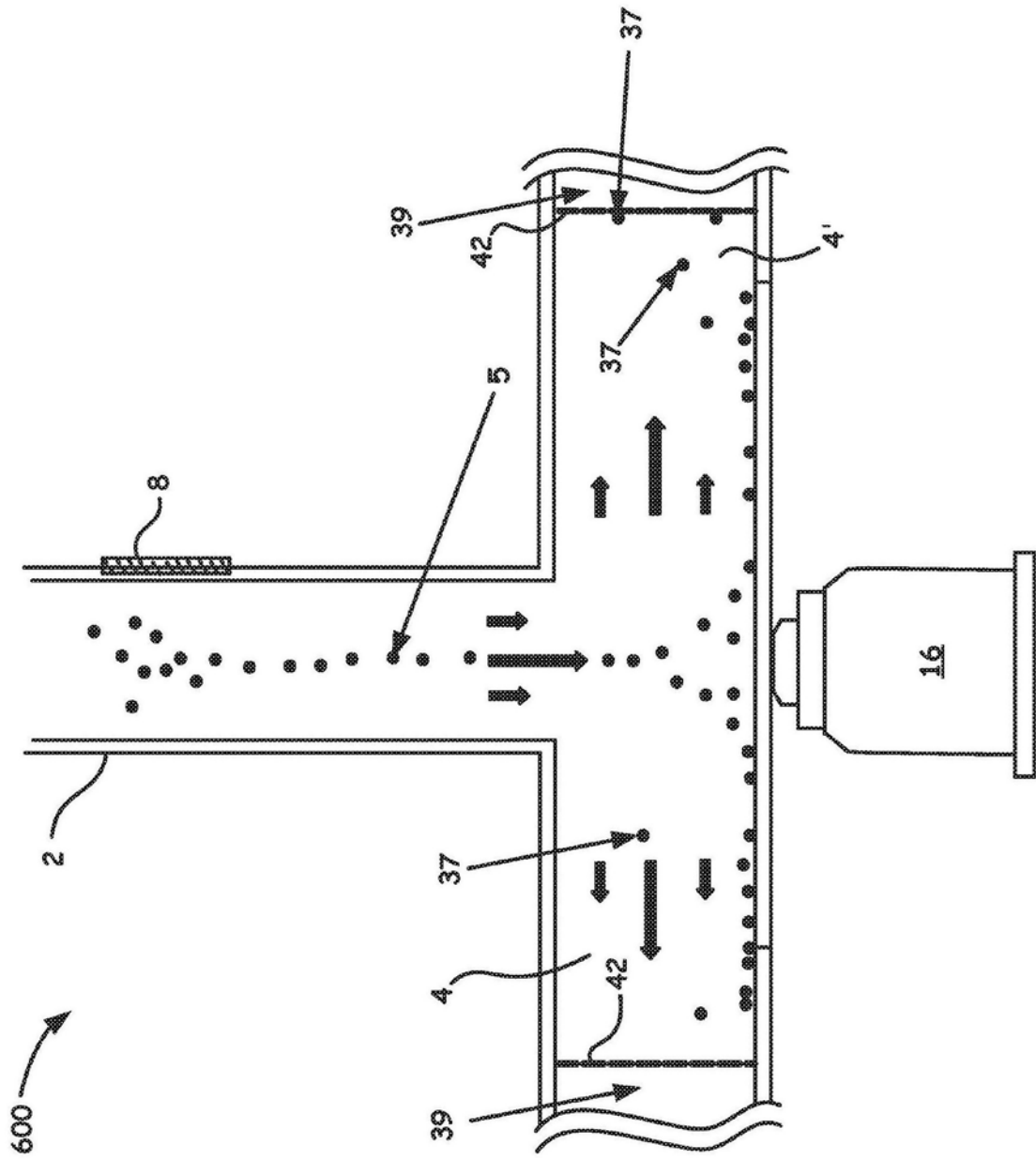


图6

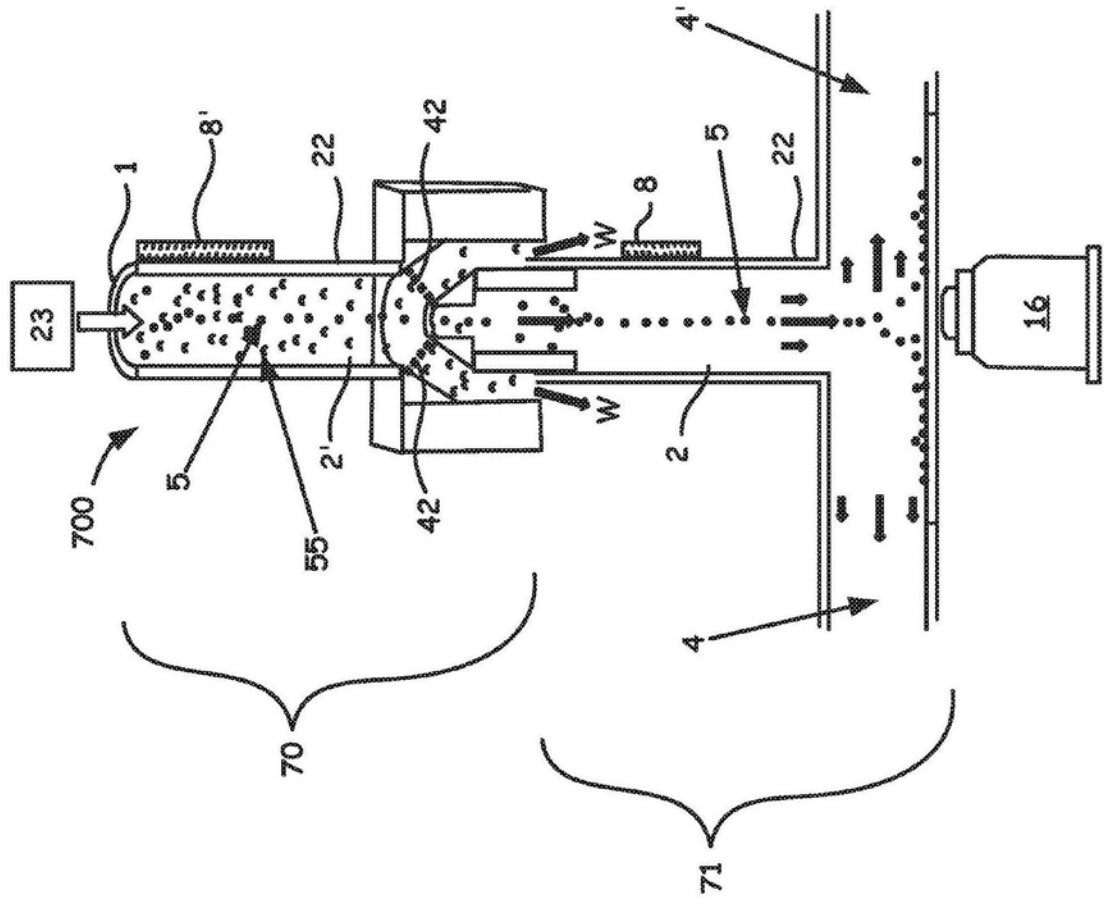


图7

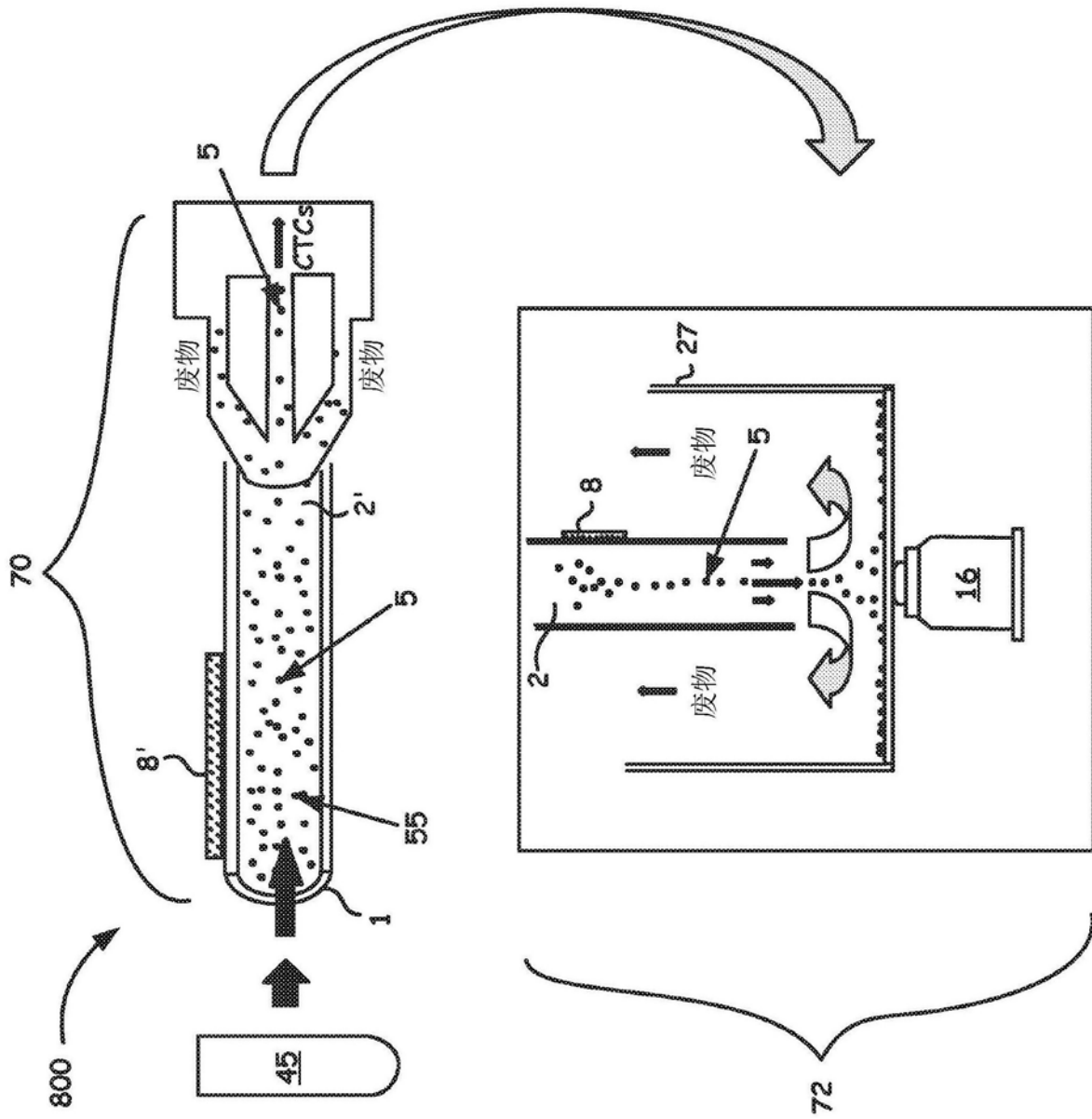


图8