



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107110765 B

(45)授权公告日 2020.10.02

(21)申请号 201580071263.4

(22)申请日 2015.11.03

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107110765 A

(43)申请公布日 2017.08.29

(30)优先权数据
62/074,213 2014.11.03 US
62/074,315 2014.11.03 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2017.06.27

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2015/058841 2015.11.03

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2016/073486 EN 2016.05.12

(73)专利权人 通用医疗公司
地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 R·卡普尔 K·C·史密斯
M·托纳

(74)专利代理机构 北京派特恩知识产权代理有限公司 11270
代理人 胡春光 张颖玲

(51)Int.Cl.
G01N 15/14(2006.01)

(56)对比文件
CN 102791616 A,2012.11.21
CN 102791616 A,2012.11.21
CN 101765762 A,2010.06.30
US 2003175944 A1,2003.09.18
WO 2005086703 A2,2005.09.22
WO 2004037374 A2,2004.05.06

审查员 曾超敏

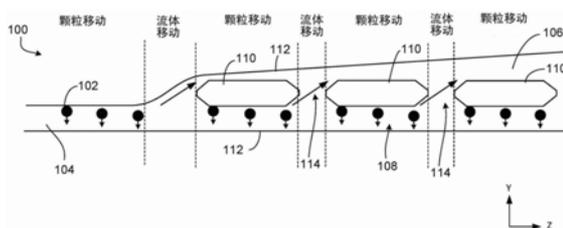
权利要求书3页 说明书34页 附图17页

(54)发明名称

在微流体装置中浓缩颗粒

(57)摘要

一种微流体装置包括：第一微流体通道；沿着所述第一微流体通道延伸的第二微流体通道；以及将所述第一微流体通道与所述第二微流体通道分离的岛的第一阵列，其中每个岛通过将所述第一微流体通道流体地联接到所述第二微流体通道的开口与所述阵列中的相邻岛分离，其中所述第一微流体通道、所述第二微流体通道和所述岛布置成使得所述第一微流体通道的流体阻力相对于所述第二微流体通道的流体阻力沿着所述第一微流体通道的纵向方向增加，使得在所述微流体装置的使用期间，流动通过所述第一微流体通道的流体样品的一部分通过相邻岛之间的所述开口中的一个或多个传到所述第二微流体通道中。



1. 一种微流体装置,其包括:

第一微流体通道;

沿着所述第一微流体通道延伸的第二微流体通道;以及

将所述第一微流体通道与所述第二微流体通道分离的岛的第一阵列,

其中,每个岛通过将所述第一微流体通道流体地联接到所述第二微流体通道的开口与所述阵列中的相邻岛分离,

其中,所述第二微流体通道的横截面面积沿着所述第一微流体通道的纵向方向逐渐增加,其中,所述第一微流体通道、所述第二微流体通道和所述岛包括并行的聚集单元和虹吸单元的重复阵列,其中,每个虹吸单元的宽度沿着所述第一微流体通道的纵向方向增加,其中,每个聚集单元包括其中第一微流体通道的壁具有相对高的曲率的与阵列中的岛相邻的区域,其中,每个虹吸单元包括具有相对较小的曲率且为流体行进提供较宽的路径的与阵列中的相同岛相邻但与所述聚集单元的所述区域相对的区域,从而导致较低的液压阻力,并且

其中,所述第一微流体通道具有波状通道壁和所述第一微流体通道的宽度沿着所述第一微流体通道的纵向方向在狭窄区域和扩大区域之间反复地交替。

2. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中,所述第一微流体通道、所述第二微流体通道和所述岛的第一阵列还布置成在所述微流体装置的使用期间,基本上防止流体样品中的多个第一类型的颗粒与流体一起通过相邻岛之间的所述开口中的一个或多个传播到所述第二微流体通道中。

3. 根据权利要求2所述的微流体装置,其中,所述第一微流体通道、所述第二微流体通道和所述岛的第一阵列布置成在所述微流体装置的使用期间,对所述多个第一类型的颗粒施加惯性升力以防止所述多个第一类型的颗粒与流体一起通过相邻岛之间的所述开口中的一个或多个传播到所述第二微流体通道中。

4. 根据权利要求2所述的微流体装置,其中,流体通过其从所述第一微流体通道传到所述第二微流体通道中的每个开口的横截面面积大于所述第一类型的颗粒。

5. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中,所述岛的第一阵列包括多个开口,并且所述开口的尺寸沿着所述第一微流体通道的纵向方向增加。

6. 根据权利要求5所述的微流体装置,其中,所述阵列中的每个开口的尺寸大于所述阵列中的在前开口的尺寸。

7. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中,所述扩大区域中的至少一个与所述岛之间的相应开口对准。

8. 根据权利要求7所述的微流体装置,其中,所述第一微流体通道具有近似正弦形状。

9. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中,对于每个岛,所述岛的第一侧的弯曲的轮廓基本上匹配面向所述岛的第一侧的所述第一微流体通道的壁的弯曲的轮廓。

10. 根据权利要求1所述的微流体装置,其还包括:

第一入口通道;以及

第二入口通道,

其中,所述第一入口通道和所述第二入口通道中的每一个流体地联接到所述第一微流体通道和所述第二微流体通道。

11. 根据权利要求1所述的微流体装置,其还包括建立横跨所述第一微流体通道和/或第二微流体通道的磁场梯度的一个或多个磁体。

12. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中,所述第一微流体通道和所述第二微流体通道以螺旋配置布置。

13. 根据权利要求1所述的微流体装置,其中,所述第一阵列包括至少三个岛。

14. 一种改变流体样品内的颗粒的浓度的方法,所述方法包括:

使包含多个第一类型的颗粒的流体样品流动到微流体装置中,

其中,所述微流体装置包括第一微流体通道、沿着所述第一微流体通道延伸的第二微流体通道以及将所述第一微流体通道与所述第二微流体通道分离的岛的第一阵列,

其中,所述第一微流体通道的流体阻力相对于所述第二微流体通道的流体阻力沿着所述第一微流体通道的纵向方向增加,流动通过所述第一微流体通道的流体样品的一部分通过相邻岛之间的一个或多个开口传到所述第二微流体通道中而没有所述第一类型的颗粒,

其中,所述第一微流体通道的宽度沿着所述第一微流体通道的纵向方向在狭窄区域和扩大区域之间反复地交替,其中惯性力使多个第一类型的颗粒横穿流线并且远离相邻岛之间的开口移动,并且其中,惯性聚集导致所述多个第一类型的颗粒聚集到所述第一微流体通道内的流体样品的一个或多个流线。

15. 根据权利要求14所述的方法,其中,所述第一类型的颗粒的浓度在保留在所述第一微流体通道内的流体样品内增加。

16. 根据权利要求14所述的方法,其中,所述微流体装置包括沿着所述第二微流体通道延伸的第三微流体通道以及将所述第二微流体通道与所述第三微流体通道分离的岛的第二阵列,

其中,所述第三微流体通道的流体阻力相对于所述第二微流体通道的流体阻力沿着所述第三微流体通道的纵向方向增加,使得流动通过所述第三微流体通道的流体样品的一部分通过所述第二阵列中的岛之间的开口传到所述第二微流体通道中而没有所述第一类型的颗粒,

并且其中,所述第三微流体通道的宽度沿着所述第三微流体通道的纵向方向在狭窄区域和扩大区域之间反复地交替,使得惯性聚集导致所述多个第一类型的颗粒聚集到所述第三微流体通道内的流体样品的一个或多个流线。

17. 根据权利要求16所述的方法,其中,所述第一类型的颗粒的浓度在保留在所述第三微流体通道内的流体样品内增加。

18. 根据权利要求14所述的方法,其中,所述第一类型的颗粒中的至少一个结合到磁珠,并且所述方法还包括将所述流体样品暴露于磁场梯度,其中,所述磁场梯度将结合到磁珠的所述至少一个颗粒引导远离所述第一阵列中的相邻岛之间的所述开口中的一个或多个。

19. 根据权利要求14所述的方法,其中,所述流体样品包含多个第二类型的颗粒,并且其中,所述第二类型的颗粒结合到磁珠,

所述方法还包括将所述流体样品暴露于磁场中的梯度,其中,所述磁场中的梯度将结合到磁珠的所述第二类型的颗粒偏转远离所述第一类型的颗粒,使得所述第二类型的颗粒与流体部分一起传播通过所述第一阵列中的所述开口中的一个或多个。

20. 根据权利要求14所述的方法,其中,所述流体样品具有随着剪切率变化的动态粘度,所述方法还包括以导致在所述第一微流体通道的中心处或中心附近形成局部流线的体积流速驱动所述流体样品通过所述第一微流体通道,其中,所述多个第一类型的颗粒聚集到所述局部流线中。

21. 根据权利要求20所述的方法,其中,所述流体样品包括加入到牛顿流体中的减阻聚合物。

22. 根据权利要求21所述的方法,其中,所述减阻聚合物包括透明质酸(HA)。

23. 根据权利要求14所述的方法,其中,在所述第一微流体通道的输出处的颗粒对流体浓度大于在进入所述第一微流体通道之前的颗粒对流体浓度的10倍且小于5000倍。

24. 根据权利要求14所述的方法,其还包括在所述第一微流体通道的输出处收集所述多个第一类型的颗粒。

25. 根据权利要求14所述的方法,其中,所述第一类型的颗粒具有 $1\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$ 之间的平均直径。

26. 根据权利要求25所述的方法,其中,所述岛之间的每个开口的尺寸大于所述第一类型的颗粒的平均直径。

在微流体装置中浓缩颗粒

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2014年11月3日提交的美国临时申请No.62/074,213和2014年11月3日提交的美国临时申请No.62/074,315的权益,上述每一个申请通过引用完整地并入本文。

技术领域

[0003] 本公开涉及在微流体装置中浓缩颗粒。

背景技术

[0004] 颗粒分离和过滤已被广泛应用于各个行业和领域。这些应用的示例包括化学过程和发酵过滤、水净化/废水处理、分选和过滤血液成分、浓缩胶体溶液以及净化和浓缩环境样品。已经开发用于这些应用的各种宏观技术,包括诸如离心和基于过滤器的技术的方法。典型地,这样的技术需要大型、庞大且昂贵并且具有复杂移动部件的系统。

[0005] 在某些情况下,微观技术提供优于宏观技术的优势在于按比例缩小允许使用独特的流体动力学效应进行颗粒分选和过滤,并且因此消除对具有复杂移动部件的大型系统的需要。而且,微观技术提供了能够以比较大的宏观系统低得多的成本执行分选和过滤的便携式装置的可能性。然而,典型的微观分选和过滤装置可能在它们在指定时间段内可以处理的流体量上受到限制(即,低产量),潜在地使这样的装置相对于其宏观对应物处于不利地位。

发明内容

[0006] 本公开至少部分地基于以下发现:如果仔细地控制微流体装置的几何形状和尺寸,则不仅可以操纵悬浮在流体样品内的颗粒的位置,而且可以操纵流体本身的部分以能够显著增加大量流体样品的颗粒浓度或过滤不期望颗粒的流体样品。例如,在某些实施方式中,微流体装置的几何形状和尺寸的仔细控制可以用于通过穿越流体流线移动颗粒来改变流体样品内颗粒的浓度。

[0007] 特别地,通过流体提取和惯性升力的组合,可以操纵颗粒和承载它们的流体两者以改变流体内的一种或多种类型的颗粒的浓度。例如,包含颗粒的流体可以被引入到微流体通道中,所述微流体通道具有将通道与相邻的微流体通道分离的刚性岛结构的阵列。当流体通过岛结构之间的间隙从第一微流体通道提取到第二微流体通道中时,颗粒更靠近岛结构被牵引。当颗粒到达更靠近岛结构时,颗粒经历离开流体提取方向的惯性升力,使得颗粒横穿流体流线并且保留在第一微流体通道中,同时第一微流体通道中的流体量减少(即,导致颗粒浓度的增加)。

[0008] 流体提取和惯性升力的组合能够实现操纵流体和颗粒的多种方式。例如,颗粒可以从一种流体移动到另一种流体。在另一示例中,组合的流体提取和惯性升力可以用于将颗粒聚集到微流体通道内的期望位置。这些和其它应用可以通过大量的微流体通道进行扩展,以便以低的装置制造成本实现颗粒浓度的高产量增加。

[0009] 一般而言,在一方面,本公开的主题可以体现在微流体装置中,所述微流体装置具有第一微流体通道,沿着所述第一微流体通道延伸的第二微流体通道,以及将所述第一微流体通道与所述第二微流体通道分离的岛的第一阵列,其中每个岛通过将所述第一微流体通道流体地联接到所述第二微流体通道的开口与所述阵列中的相邻岛分离,其中所述第一微流体通道、所述第二微流体通道和所述岛布置成,使得所述第一微流体通道的流体阻力相对于所述第二微流体通道的流体阻力沿着所述第一微流体通道或所述第二微流体通道的纵向截面变化,使得在所述微流体装置的使用期间,在所述第一微流体通道或所述第二微流体通道中流动的流体样品的一部分通过相邻岛之间的所述开口中的一个或多个被虹吸。

[0010] 一般而言,在另一方面,本公开的主题可以体现在微流体装置中,所述微流体装置包括:第一微流体通道;沿着所述第一微流体通道延伸的第二微流体通道;以及将所述第一微流体通道与所述第二微流体通道分离的岛的第一阵列,其中每个岛通过将所述第一微流体通道流体地联接到所述第二微流体通道的开口与所述阵列中的相邻岛分离,其中所述第一微流体通道、所述第二微流体通道和所述岛布置成,使得所述第一微流体通道的流体阻力相对于所述第二微流体通道的流体阻力沿着所述第一微流体通道的纵向方向增加,使得在所述微流体装置的使用期间,流动通过所述第一微流体通道的流体样品的一部分通过相邻岛之间的所述开口中的一个或多个传到所述第二微流体通道中,并且其中所述第一微流体通道的宽度沿着所述第一微流体的纵向方向在狭窄区域和扩大区域之间重复地交替。

[0011] 装置的实现方式可以具有以下特征中的一个或多个。例如,在一些实现方式中,所述第一微流体通道、所述第二微流体通道和所述岛的第一阵列还布置成在所述微流体装置的使用期间基本上防止流体样品中的多个第一类型的颗粒与流体一起通过相邻岛之间的所述开口中的一个或多个传播到所述第二微流体通道中。所述第一微流体通道、所述第二微流体通道和所述岛的第一阵列可以布置成在所述微流体装置的使用期间对所述多个第一类型的颗粒施加惯性升力以防止所述多个第一类型的颗粒与流体一起通过相邻岛之间的所述开口中的一个或多个传播到所述第二微流体通道中。所述第一微流体通道、所述第二微流体通道和所述岛的第一阵列可以布置成在所述微流体装置的使用期间对所述多个第一类型的颗粒施加碰撞力以防止所述多个第一类型的颗粒与流体一起通过相邻岛之间的所述开口中的一个或多个传播到所述第二微流体通道中。流体通过其从所述第一微流体通道传到所述第二微流体通道中的每个开口的横截面面积可以大于所述第一类型的颗粒。

[0012] 在一些实现方式中,所述第一通道的流体阻力相对于所述第二通道的流体阻力的增加包括所述第一微流体通道或所述第二微流体通道的横截面面积沿着所述第一微流体通道的纵向方向的变化。所述第二微流体通道的横截面面积的变化可以包括所述第二微流体通道的横截面面积相对于所述第一微流体通道的横截面面积沿着纵向方向的增加。所述第一微流体通道的横截面面积的变化可以包括所述第一微流体通道的横截面面积相对于所述第二微流体通道的横截面面积沿着纵向方向的减小。

[0013] 在一些实现方式中,所述岛的阵列包括多个开口,并且所述开口的尺寸沿着所述第一微流体通道的纵向方向增加。所述阵列中的每个开口的尺寸可以大于所述阵列中的在前开口的尺寸。

[0014] 在一些实现方式中,所述扩大区域中的至少一个与所述岛之间的相应开口对准。

所述第一微流体通道可以具有近似正弦形状。

[0015] 在一些实现方式中,对于每个岛,所述岛的第一侧的轮廓基本上匹配面向所述岛的第一侧的所述第一通道的壁的轮廓。

[0016] 在一些实现方式中,所述微流体装置还包括:沿着所述第一微流体通道延伸的第三微流体通道;以及岛的第二阵列,其将所述第一微流体通道与所述第三微流体通道分离,使得所述第一微流体通道在所述第二微流体通道和第三微流体通道之间,其中所述第二阵列中的每个岛通过将所述第一微流体通道流体地联接到所述第三微流体通道的开口与所述第二阵列中的相邻岛分离,并且其中所述第三微流体通道、所述第一微流体通道和所述岛的第二阵列布置成使得所述第一微流体通道的流体阻力相对于所述第三微流体通道的流体阻力沿着所述第一微流体通道的纵向方向增加,使得在所述微流体装置的使用期间,流动通过所述第一微流体通道的流体样品的一部分通过所述岛的第二阵列中的相邻岛之间的所述开口中的一个或多个传到所述第三微流体通道中。所述第一通道的流体阻力相对于所述第三通道的流体阻力的增加可以包括所述第一微流体通道或所述第三微流体通道的横截面面积沿着所述第一微流体通道的纵向方向的变化。

[0017] 在一些实现方式中,所述微流体装置还包括:沿着所述第二微流体通道延伸的第三微流体通道;以及岛的第二阵列,其将所述第二微流体通道与所述第三微流体通道分离,使得所述第二微流体通道在所述第一微流体通道和第三微流体通道之间,其中所述第二阵列中的每个岛通过将所述第二微流体通道流体地联接到所述第三微流体通道的开口与所述第二阵列中的相邻岛分离,并且其中所述第三微流体通道、所述第二微流体通道和所述岛的第二阵列布置成使得所述第三微流体通道的流体阻力相对于所述第二微流体通道的流体阻力沿着所述第三微流体通道的纵向方向增加,使得在所述微流体装置的使用期间,流动通过所述第三微流体通道的流体样品的一部分通过所述岛的第二阵列中的相邻岛之间的所述开口中的一个或多个传到所述第二微流体通道中。

[0018] 在一些实现方式中,所述微流体装置还包括:第一入口通道;以及第二入口通道,其中所述第一入口通道和所述第二入口通道中的每一个流体地联接到所述第一微流体通道和所述第二微流体通道。在一些实施方式中,所述微流体装置还包括:第一入口通道;以及第二入口通道,其中所述第一入口通道和所述第二入口通道中的每一个流体地联接到所述第一微流体通道、所述第二微流体通道和所述第三微流体通道。

[0019] 在一些实现方式中,所述第一微流体通道、所述第二微流体通道和所述岛的第一阵列对应于组合的惯性聚集和流体虹吸区域,其中所述微流体装置包括并联布置的多个组合的惯性聚集和流体虹吸区域。

[0020] 在一些实现方式中,所述微流体装置还包括建立穿越所述第一微流体通道和/或第二微流体通道的磁场梯度的一个或多个磁体。

[0021] 在一些实施方式中,所述第一微流体通道和所述第二微流体通道以螺旋配置布置。

[0022] 在一些实现方式中,所述第一阵列包括至少三个岛。

[0023] 一般而言,在另一方面,本公开的主题可以体现在微流体装置中,所述微流体装置包括:第一微流体通道;沿着所述第一微流体通道延伸的第二微流体通道;以及将所述第一微流体通道与所述第二微流体通道分离的岛的第一阵列,其中每个岛通过将所述第一微流

体通道流体地联接到所述第二微流体通道的开口与所述阵列中的相邻岛分离,其中所述第一微流体通道、所述第二微流体通道和所述岛布置成使得所述第一微流体通道的流体阻力相对于所述第二微流体通道的流体阻力沿着所述第一微流体通道的纵向方向增加,使得在所述微流体装置的使用期间,流动通过所述第一微流体通道的流体样品的一部分通过相邻岛之间的所述开口中的一个或多个传到所述第二微流体通道中。

[0024] 一般而言,在另一方面,本公开的主题可以体现在改变流体样品内的颗粒的浓度的方法中,所述方法包括:将包含多个第一类型的颗粒的流体样品流动到微流体装置中,其中所述微流体装置包括第一微流体通道、沿着所述第一微流体通道延伸的第二微流体通道以及将所述第一微流体通道与所述第二微流体通道分离的岛的第一阵列,其中所述第一微流体通道、所述第二微流体通道和所述岛布置成使得所述第一微流体通道的流体阻力相对于所述第二微流体通道的流体阻力沿着所述第一微流体通道的纵向方向增加,使得流动通过所述第一微流体通道的流体样品的一部分通过相邻岛之间的所述开口中的一个或多个传到所述第二微流体通道中而没有所述第一类型的颗粒,并且其中所述第一微流体通道的宽度沿着所述第一微流体通道的纵向方向在狭窄区域和扩大区域之间重复地交替,使得惯性聚集导致所述多个第一类型的颗粒聚集到所述第一通道内的流体样品的一个或多个流线。

[0025] 方法的实现方式可以具有以下一个或多个特征。例如,在一些实现方式中,所述第一类型的颗粒的浓度在保留在所述第一微流体通道内的流体样品内增加。

[0026] 在一些实现方式中,所述微流体装置包括沿着所述第二微流体通道延伸的第三微流体通道以及将所述第二微流体通道与所述第三微流体通道分离的岛的第二阵列,其中所述第三微流体通道的流体阻力相对于所述第二微流体通道的流体阻力沿着所述第三微流体通道的纵向方向增加,使得流动通过所述第三微流体通道的流体样品的一部分通过所述第二阵列中的岛之间的开口传到所述第二微流体通道中而没有所述第一类型的颗粒,并且其中所述第三微流体通道的宽度沿着所述第三微流体通道的纵向方向在狭窄区域和扩大区域之间重复地交替,使得惯性聚集导致所述多个第一类型的颗粒聚集到所述第三通道内的流体样品的一个或多个流线。所述第一类型的颗粒的浓度可以在保留在所述第三微流体通道内的流体样品内增加。

[0027] 在一些实现方式中,所述微流体装置包括沿着所述第一微流体通道延伸的第三微流体通道以及将所述第一微流体通道与所述第三微流体通道分离的岛的第二阵列,其中所述第一微流体通道的流体阻力相对于所述第三微流体通道的流体阻力沿着所述第三微流体通道的纵向方向增加,使得流动通过所述第一微流体通道的流体样品的一部分通过所述第二阵列中的岛之间的开口传到所述第三微流体通道中而没有所述第一类型的颗粒。

[0028] 在一些实现方式中,所述第一类型的颗粒中的至少一个结合到磁珠,并且所述方法还包括将所述流体样品暴露于磁场梯度,其中所述磁场梯度将结合到所述磁珠的所述至少一个颗粒引导远离所述第一阵列中的相邻岛之间的所述开口中的一个或多个。

[0029] 在一些实现方式中,所述流体样品包含多个第二类型的颗粒,其中所述第二类型的颗粒结合到磁珠,并且所述方法还包括将所述流体样品暴露于磁场中的梯度,其中所述磁场中的梯度将结合到磁珠的所述第二类型的颗粒偏转远离所述第一类型的颗粒,使得所述第二类型的颗粒与流体部分一起传播通过所述第一阵列中的所述开口中的一个或多个。

[0030] 在一些实现方式中,所述流体样品具有随着剪切率变化的动态粘度,并且所述方法还包括以导致在所述第一微流体通道的中心处或附近形成局部流线的体积流速驱动所述流体样品通过所述第一微流体通道,其中所述多个第一类型的颗粒聚集到所述局部流线中。所述流体样品可以包括加入到牛顿流体中的减阻聚合物。所述减阻聚合物可以包括透明质酸(HA)。

[0031] 在一些实现方式中,在所述第一微流体通道的输出处的颗粒对流体浓度大于在进入所述第一微流体通道之前的颗粒对流体浓度的10倍且小于5000倍。

[0032] 在一些实施方式中,所述方法还包括在所述第一微流体通道的输出处收集所述多个第一类型的颗粒。

[0033] 在一些实现方式中,所述第一类型的颗粒具有约1 μm 至约100 μm 之间的平均直径。

[0034] 在一些实现方式中,所述岛之间的每个开口的尺寸大于所述第一类型的颗粒的平均直径。

[0035] 本文中所述的主题的实现方式提供了若干优点。例如,在一些实现方式中,本文中所述的主题可以用于隔离连续流动流体内的颗粒,聚集连续流动流体内的颗粒,增加连续流动流体内的颗粒的浓度而不需要离心,和/或获得具有低颗粒浓度的纯化流体样品。在一些实现方式中,本文中所述的主题可以用于将颗粒从一种流体移动到另一种流体。本文中所述的连续流动微流体技术可以用可以实现到各种定点护理装置中的便宜且简单的器械提供高体积容量和产量、相当大的和可调节的流体体积减小以及高颗粒产率。特别地,当前描述的技术可以提供优于现有离心技术的显著优点,尤其是在离心的尺寸和费用被禁止的应用中。在一些实现方式中,当前描述的技术也可以提供简化的处理和与其它微流体模块的简单整合。对于临床应用,本文中所述的系统可以配置为独立的和用后可弃的。相比之下,对于生物处理/工业应用,这些装置可以配置用于连续流动/处理。

[0036] 为了本公开的目的,通道是指其中流体可以流动的结构。

[0037] 为了本公开的目的,微流体是指大体上具有在约10nm至约10mm的范围内的至少一个横截面尺寸的流体系统、装置、通道或室。

[0038] 为了本公开的目的,术语间隙或开口是指其中流体或颗粒可以流动的区域。例如,间隙或开口可以是两个障碍物之间的流体在其中流动的空间。

[0039] 为了本公开的目的,刚性岛结构是指颗粒大体上不能穿透通过的物理结构。

[0040] 为了本公开的目的,体积减小表示处理细胞/颗粒的悬浮液,使得处理的产物具有比输入细胞/颗粒的更高的浓度(和因此更小的体积)。

[0041] 为了本公开的目的,无颗粒层被理解为在基本上没有一种或多种不同类型的颗粒的微流体装置内的连续流动流体样品的长形区域。

[0042] 为了本公开的目的,绝对颗粒产率被理解为表示产物中的颗粒的总数量除以输入中的颗粒的总数量。

[0043] 为了本公开的目的,相对产率被理解为表示产品中的颗粒的总数量除以输出中的颗粒的总数量(即,产品加上废物)。

[0044] 为了本公开的目的,长度分数被理解为表示由颗粒占据的流的分数(与颗粒之间的空间相反)。

[0045] 为了本公开的目的,流体阻力是指穿越通道(例如,微流体通道)的压降与通过通

道的流体的流速的比率。

[0046] 样品内的颗粒可以具有允许它们在微流体通道内输送的任何尺寸。例如,颗粒可以具有在 $1\mu\text{m}$ 至 $100\mu\text{m}$ 之间的平均流体动力学尺寸。颗粒尺寸仅仅由通道几何形状限制;因此,可以使用大于和小于上述颗粒的颗粒。可以使用本领域中公知的标准技术确定颗粒(例如细胞,卵,细菌,真菌,病毒,藻类,任何原核或真核细胞,细胞器,外来体,液滴,气泡,污染物,沉淀物,有机和无机颗粒,磁珠,和/或磁标记分析物)的尺寸,例如平均流体动力学颗粒尺寸或平均直径。

[0047] 除非另有定义,本文中使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。尽管在本发明的实践或测试中可以使用与本文中所述类似或等同的方法、材料和装置,但是下面描述合适的方法、材料和装置。本文中提及的所有出版物、专利申请、专利和其它参考文献通过引用完整地并入本文。在冲突的情况下,包括定义的本说明书将占主导。另外,材料、方法和示例仅仅是示例性的而不是旨在限制。

[0048] 一个或多个实施例的细节在附图和下面的描述中阐述。其它特征、目的将从描述、附图和权利要求显而易见。

附图说明

[0049] 图1是示意图,示出了能够在流体流线内并穿越流体流线移动颗粒的位置的微流体装置的示例的俯视图。

[0050] 图2是示意图,示出用于颗粒和流体移动的装置的示例的俯视图,其中颗粒移动区域包括用于提取流体的两个不同的微流体通道。

[0051] 图3是示意图,示出了其中颗粒移动沿着两个不同的微流体通道从一个流浓缩颗粒的装置的示例的俯视图。

[0052] 图4是示意图,示出了能够将颗粒从一种载体流体移动到另一种载体流体的装置的示例的俯视图。

[0053] 图5是示意图,示出了依赖于惯性聚集和流体提取的微流体装置的颗粒移动区域的示例的俯视图。

[0054] 图6A是示意图,描绘了流体流线在将惯性聚集与重复流体提取组合的微流体装置内可以如何表现。

[0055] 图6B包括图6A中所示的装置的不同横截面的模拟流体流动的绘图。

[0056] 图7是描绘作为图6B中所示的装置结构的虹吸聚集单元对的数量函数的无细胞流动分数的绘图。

[0057] 图8是示意图,示出了包括颗粒移动区域的微流体系统的示例。

[0058] 图9A-9C是示意图,示出了微流体系统的示例,其中颗粒移动区域流体地联接到磁泳区域。

[0059] 图9D-9F是示意图,示出了微流体系统的示例,其中颗粒移动区域和磁泳区域组合。

[0060] 图10是通过微流体装置的无细胞分数对样品流速的绘图。

[0061] 图11A-11D是流动通过微流体装置的聚集虹吸单元的荧光标记颗粒的不同虹吸百分比的照片。

[0062] 图12是相对白细胞产率对流速的绘图。

- [0063] 图13是微流体装置中的相对颗粒产率对流速的绘图。
- [0064] 图14是示出不同输入浓度的微流体装置内的白血细胞的相对产率的绘图。
- [0065] 图15是示意图,示出了微流体系统的设计的俯视图。
- [0066] 图16是示意图,示出了微流体装置的示例性颗粒和流体移动区域的俯视图。

具体实施方式

[0067] 流体内的颗粒(例如,细胞,例如通常是血细胞以及母体血液中的胎儿血细胞,骨髓细胞,和循环肿瘤细胞(CTC),精子,卵,细菌,真菌,病毒,藻类,任何原核或真核细胞,细胞簇,细胞器,外来体,液滴,气泡,污染物,沉淀物,有机和无机颗粒,珠,珠标记分析物,磁珠,和/或磁标记分析物)、颗粒可以在其中行进的流体(例如,血液,水溶液,油,或气体)和刚性结构之间的相互作用可以被控制以对颗粒和流体执行各种微流控操作。特别地,这样的相互作用可能需要通过流体或颗粒本身的位移使颗粒穿越流体流线移动。可以通过控制这些相互作用执行的微流体操作的示例包括但不限于增加载体流体中的颗粒的浓度,减小流体样品的体积,减小流体内的颗粒的浓度,将颗粒从一种载体流体移动到另一种流体,基于颗粒尺寸(例如,平均直径)分离流体内的颗粒,将载体流体内的颗粒聚集到单流线(或多个不同的流线),在微通道内的任何位置处精确定位颗粒,以及混合(解聚)颗粒。而且,可以与其它技术(例如,磁分选)同时执行以上任何操作以增强操作的有效性。

[0068] 可以使用几种不同的机制产生能够穿越流体流线移动颗粒的力。任何以下技术可以单独或组合使用以诱导流体内的颗粒移动。第一种类型的力称为“碰撞”(也称为确定性横向位移(DLD))。碰撞是由于颗粒相对于壁的尺寸而产生的、结构的刚性壁和颗粒之间的直接相互作用。由于具有半径 r_p 的颗粒的中心不能比 r_p 更接近相邻的结构,因此如果颗粒中心位于离结构小于 r_p 的流线上,则颗粒将由结构碰撞到至少为 r_p 的距离。该碰撞可以穿越流体流线移动颗粒。

[0069] 另一种类型的力称为惯性升力(也称为壁力或壁诱导惯性)。惯性升力是当颗粒和流体靠近壁流动时产生的作用于颗粒的流体力。尽管不太清楚,但是惯性升力是当颗粒靠近壁时由于颗粒生成的流动扰动而产生的排斥力。与碰撞相反,惯性升力是作用于颗粒的流体力,而不是由于与刚性结构的接触引起的力。靠近微通道壁流动的颗粒承受正交于壁的惯性升力。在高流速下,惯性升力非常强并且可以穿越流线移动颗粒。

[0070] 另一种类型的力是来自Dean流动的压力拖拽的结果。具有曲率的微流体通道可以产生作用于颗粒的附加拖拽力。当将曲率引入矩形通道时,由于流体的不均匀惯性,二次流动(即,Dean流动)可以垂直于流动流的方向产生。结果,在弯曲通道的中心内的更快移动流体元素可以产生比通道边缘附近的元素更大的惯性。在高Dean流动的情况下,作用于流体内的悬浮颗粒的拖拽会变得显著。

[0071] 另一种类型的颗粒移动在高斯托克斯数流动的情况下发生。斯托克斯数(Stk)描述了颗粒轨迹如何响应于流体轨迹的变化而快速变化。对于 Stk 大于1,流体轨迹的变化和颗粒轨迹的变化之间存在滞后。在高斯托克斯流动条件(例如,斯托克斯数大于约0.01)下,改变流体流动方向可以用于迫使颗粒穿越流线。关于Dean流动和高斯托克斯数的更多细节可以在例如美国专利No. 8,186,913中找到,其通过引用完整地并入本文。在高斯托克斯流动应用和Dean流动应用中,流体位移导致颗粒横穿流体流线。

[0072] 用于移动颗粒的其它技术包括粘弹性和惯性弹性聚集。关于那些方法的细节可以在以下文献中找到：“Sheathless elasto-inertial particle focusing and continuous separation in a straight rectangular microchannel”, Yang等人, Lab Chip (11), 266-273, 2011; “Single line particle focusing induced by viscoelasticity of the suspending liquid: theory, experiments and simulations to design a micropipe flow-focuser”, D’Avino等人, Lab Chip (12), 1638-1645, 2012; 以及 “Inertio-elastic focusing of bioparticles in microchannels at high throughput”, Lim等人, Nature Communications, 5 (5120), 1-9, 2014, 其中的每一个通过引用完整地并入本文。

[0073] 用于移动颗粒的前述技术是“内部的”，原因是它们使用微流体通道本身的流体流动和/或结构生成穿越流线移动颗粒所需的力。在一些情况下，其它外部机制也可以与内力中的一个或多个结合使用以改变颗粒在流体内行进的过程。例如，在一些情况下，可以使用外部施加的磁力、重力/离心力、电力或声力以导致穿越流体流线的颗粒位置的移动。关于如何施加这样的力的更多信息可以在例如以下文献中找到：名称为“Sorting particles using high gradient magnetic fields”的W0 2004/004577；名称为“Acoustic focusing”的美国专利No. 7,837,040；名称为“Dielectrophoretic focusing”的W0 2004/074814；以及“Microfluidic, Standard-Free Enrichment of Prostate Cancer Cells in Blood Based on Acoustophoresis”，Augustsson等人, Anal. Chem., 84 (18), 2012年9月18日。

[0074] 本公开主要涉及将惯性升力与周期性流体提取组合以穿越流体流线移动颗粒，从而改变流体中的颗粒的浓度和/或过滤颗粒，但是应当理解惯性升力可以用其它力（例如上述的那些）代替或与其它力结合使用。作为组合惯性的示例，包含颗粒的流体可以被引入到微流体通道中，所述微流体通道具有将通道与相邻的微流体通道分离的刚性岛结构的阵列。当流体通过岛结构之间的间隙从第一微流体通道提取到第二微流体通道中时，颗粒被牵引更靠近岛结构。当颗粒到达更靠近岛结构时，颗粒经历远离流体提取方向的排斥力（例如，惯性升力），使得颗粒横穿流体流线。流体提取和排斥力的组合可以用于执行颗粒的定位，增加流体内的颗粒的浓度，减小流体内的颗粒的浓度、颗粒混合、流体混合、和/或穿越颗粒流移动流体，以及其它操作。

[0075] 用于移动颗粒的机制可以是基于尺寸的，并且因此可以用于执行基于尺寸的颗粒操作（例如，基于颗粒的平均直径）。通过使用任何上述技术重复移动颗粒和/或移位流体，可以执行各种不同的微流体操作，例如将颗粒聚集到一个或多个流体流线，增加流体内颗粒的浓度，执行流体的体积减小，从流体过滤颗粒，和/或混合来自不同流体流的不同颗粒。一般而言，“聚集”颗粒是指穿越通道的横向范围并且在小于通道宽度的宽度内重新定位颗粒。例如，本文中公开的技术可以将悬浮在流体中的颗粒定位在具有颗粒的平均直径的1.05, 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90或100倍的宽度的一段长度的通道内。在一些实现方式中，颗粒被聚集到流体的流线。在一些实现方式中，流线限定的宽度基本上等于或稍大于颗粒的液压直径。颗粒可以具有各种尺寸，包括但不限于约1 μm 至约100 μm 之间的平均直径。

[0076] 使用惯性升力改变颗粒浓度

[0077] 图1是示意图，示出了当流体传播通过微流体装置100时能够穿越流体流线移动颗

粒102的位置的微流体装置100的示例的俯视图。如将解释的,穿越流体流线移动的颗粒依赖于当从微流体通道周期性地提取流体时由颗粒经历的惯性升力,但是其它排斥力可以代替惯性升力或与惯性升力结合使用。作为参考,示出了笛卡尔坐标系,其中x方向延伸进出页面。

[0078] 在装置100的操作期间,承载颗粒102的流体通过入口微流体通道104被引入。在颗粒移动装置的这个和其它实现方式中,可以通过使用泵或其它流体致动机构引入流体。入口通道104分成由刚性岛结构110的一维阵列分离的两个不同的流体流动通道(第二微流体通道106和基本上平行于第二微流体通道106的第一微流体通道108)。岛结构110的一维阵列基本上在与通过第二和第一微流体通道的流体的流动相同的方向上延伸。阵列中的每个岛结构110通过流体可以流动通过的开口或间隙114与相邻岛110分离。图1的示例中的每个间隙114具有相邻岛110之间的相同距离。在其它实现方式中,不同的间隙可以具有相邻岛110之间的不同距离。例如,在一些实现方式中,每个后续开口的长度(例如,沿着流体传播方向—图1中的z方向测量)大于阵列中在前的开口的尺寸。此外,尽管图1中示出了一维阵列,但是岛110可以以不同的配置布置,包括例如岛的二维阵列。微流体通道内的流体流动区域的边界由装置壁112和岛110的壁限定。

[0079] 当流体基本上沿着z方向(即纵向方向)从入口通道104传播到通道(106、108)时,颗粒102经历使颗粒102穿越流体流线移动并且沿着第一微流体通道108行进的力(在该示例中,惯性升力)。这些惯性升力在负y方向上(参见与图1中的每个颗粒102相邻的短箭头)。

[0080] 例如,当颗粒102位于入口通道104中并且接近顶壁112时,颗粒经历惯性升力,其朝着第一微流体通道108向下推动颗粒。一旦在第一微流体通道108中,颗粒102可以接近第一岛110的壁,使得它再次经历向下推动颗粒102的惯性升力,将颗粒保持在第一微流体通道108内。将惯性升力重复地施加到图1中所示的“颗粒移动”区域的每一个中的颗粒102因此用于从传播通过第二微流体通道106的流体分离/过滤颗粒。

[0081] 同时,在第一微流体通道108中行进的流体的部分在装置100中的一个或多个“流体移动”区域(参见图1)处被提取(例如,虹吸)/传到第二微流体通道中。在图1的示例中,每个流体移动区域对应于在第一微流体通道108和第二微流体通道106之间延伸的开口或间隙。每个“流体移动”区域主要允许流体从第一微流体通道108提取到第二微流体通道106中。流体移动到间隙中也倾向于朝着间隙牵拉颗粒102,原因是颗粒遵循流体流线。然而,当颗粒移动到更靠近间隙114时,它们接近岛结构112,其施加使入射颗粒在远离间隙114的方向上横穿流体流线的惯性升力。也就是说,颗粒102从传到第二微流体通道106中的流体流线移动到继续在第一微流体通道108中流动的流体流线。结果,颗粒102继续在第一微流体通道108中传播,并且不会与流体一起移动到第二微流体通道106中。如果没有流体从第一微流体通道108移动到第二微流体通道106,则颗粒将由于朝着平衡聚集位置的惯性聚集而迁移,在所述平衡聚焦位置处惯性升力和剪切梯度力平衡。然而,通过穿越通道移动流体,颗粒102倾向于朝着惯性升力比剪切梯度力强得多的区域跟随流体,因此使颗粒以非常高效和受控的方式穿越流线移动。

[0082] 在本示例中,流体由于沿着流体移动区域的纵向截面的流体阻力的减小而通过流体移动区域被提取。也就是说,对于恒定粘度的流体,相邻岛110之间的间隙114增加流体可以流动通过的通道面积,导致减小的流体阻力。当流体传播通过装置100并且到达间隙114

时,流体的一部分将流动到间隙114中并且随后进入第二微流体通道106(即,流体部分被提取到通道106中)。流体阻力的减小也会由于第二微流体通道106中的增加通道宽度而发生。特别地,第二微流体通道壁112远离岛成角度倾斜,使得第二微流体通道106的宽度沿着通道的纵向方向(即,在流体传播方向或正z方向上)增加,因此导致流体阻力的减小。沿着第一微流体通道的纵向方向的通道106的横截面面积的任何增加(不仅仅是宽度的增加)也可以用于减小流体阻力。替代地或附加地,流体可以经历通道108中的流体阻力相对于通道106的流体阻力的增加(例如,通过沿着纵向方向的通道108的横截面面积的减小)。因此,可以说流体响应于第二和第一微流体通道之间的相对流体阻力的变化被提取。相对流体阻力的变化可能发生在整个颗粒分选区域上或小于整个颗粒分选区域的分选区域的一部分上。相对流体阻力的变化可以沿着通过颗粒分选区域的流体流动的方向(例如,沿着如图1中所示的颗粒分选区域的纵向方向)发生。

[0083] 随着间隙114处和/或通道106中的逐渐减小的流体阻力,更大量的流体流动到第二微流体通道106中。此外,流体重复移动到第二通道106中减少第一通道108中的流体的量。该恒定流体提取因此增加第一通道108中的颗粒对流体浓度,同时减小第二微流体通道106中的颗粒的浓度,使得第二微流体通道106中的流体被“过滤”或“纯化”。在一些实现方式中,本文中公开的颗粒移动技术可能能够将来自初始流体样品的颗粒浓度增加高达初始颗粒对流体浓度的10,25,50,75,100,200,300,400,或500倍。这样的浓度增加可以导致高达90%,高达95%,高达99%,或甚至100%的来自流体样品的颗粒产率。

[0084] 在一些实现方式中,可以使用配置成采用本文中公开的颗粒移动技术的多个微流体装置实现颗粒浓度的增加。例如,配置成将进入流体样品的颗粒浓度增加10倍的第一微流体装置的输出可以联接到配置成将进入流体样品的颗粒浓度增加50倍的第二微流体装置的输入,来自初始流体样品的颗粒浓度的总体增加500倍。

[0085] 除了增加颗粒浓度之外,重复颗粒移动也可以用于沿着传播通过下通道108的流体内的一个或多个期望位置/流线聚集颗粒。例如,如在前所述,可以将流体的部分从初始微流体通道提取到一个或多个平行微流体通道中。在一些情况下,包含提取的流体的平行微流体通道可以与下游的初始微流体通道重新组合,使得颗粒被限制到单个通道中的指定流线。将流体移动与惯性升力组合的该技术的优点是通过控制从初始通道的每一侧去除多少流体,颗粒可以被聚集到下游通道内的期望位置(例如,靠近通道壁,在通道的中间,或在通道壁和通道的中间之间的中途,以及其它位置),为微流体装置的设计和使用提供增加的灵活性。相比之下,对于主要基于惯性聚集的微流体系统,不能选择通道内的聚集流的位置。

[0086] 所得到的浓缩和聚集颗粒流线可以联接到微流体装置100的独立处理区域或从装置100去除以用于附加处理和/或分析。类似地,第二通道106中的“被过滤”流体可以联接到微流体装置100的独立区域或从装置100去除以用于附加处理和/或分析。在一些实现方式中,进入装置100的颗粒102被“预聚集”到与第一微流体通道108对准的期望流体流线位置。通过将颗粒102预聚集到期望位置,颗粒无意中进入第二微流体通道106的可能性可以减小。

[0087] 与图1中所示的实现方式不同的其它微流体装置配置也可以被使用以基于重复颗粒和流体移动浓缩颗粒。例如,图2是示意图,示出了用于颗粒和流体移动的装置200的示

例,其中颗粒移动区域包括用于提取流体的两个不同的微流体通道,而不是一个微流体通道。装置200包括流体地联接到具有三个不同流体流动区域(第二微流体通道206,第一微流体通道208,和第三微流体通道210)的颗粒移动区域的入口微流体通道204。第二微流体通道206通过岛216的第一阵列212与第一微流体通道208分离。第三微流体通道210通过岛216的第二阵列214与第一微流体通道208分离。第一阵列212中的每个相邻岛和第二阵列214中的每个相邻岛由用于流体移动的间隙分离。微流体通道的边界由装置壁218和岛的壁限定。微流体通道壁218远离岛成角度倾斜,使得第二和第三微流体通道(206、210)的宽度沿着流体传播方向(即,正z方向)增加,因此导致每个通道中的流体阻力的减小。

[0088] 装置200以与装置100类似的方式操作。特别地,当流体基本上沿着z方向从入口通道204传播到通道(206、208、210)时,流体内的颗粒202在接近入口通道204的壁和岛结构216的壁时在“颗粒移动”区域中经历惯性升力。入口通道204中的惯性升力朝着流体流动的中心推动颗粒202(即,惯性升力朝着中心流体流线“聚集”颗粒),使得它们主要流动到第一微流体通道208中。一旦颗粒202进入第一微流体通道208,它们经历来自岛结构216的惯性升力,其继续沿着延伸通过通道208的一个或多个中心流线聚集颗粒202。同时,流体由于减小的流体阻力被提取到“流体移动”区域中的第二和第三微流体通道(206、210)中。流体移动区域和颗粒移动区域的组合用于将来自进入流体的颗粒聚集到第一通道208中,同时增加颗粒的浓度。所得到的流体流中的任何一个(来自第二、第一或第三通道)可以联接到微流体装置200的独立区域或从装置200去除以用于附加的处理或分析。在一些实现方式中,可以设置第二和第三通道的尺寸/流体阻力的变化,从而确保等量的流体在每个单元处从第三通道流入并流出第二通道。

[0089] 在一些情况下,可以使用颗粒和流体移动以产生多个不同的聚集/浓缩颗粒流。例如,图3是装置300的示意图,其中颗粒移动沿着两个不同的微流体通道从一个流浓缩颗粒。装置300包括流体地联接到两个不同流体流动区域(第二微流体通道306和第三微流体通道310)的入口微流体通道304。位于入口通道304与第二和第三通道(306、310)之间的联接点处的单个岛结构312将从入口通道304传播的流体分成两个流:一个沿着第二通道306传播并且一个沿着第三通道310传播。在第一岛结构312的下游,第二微流体通道306通过岛318的第一阵列314和岛318的第二阵列316与第三微流体通道310分离。第一阵列中的每个相邻岛314和第二阵列316中的每个相邻岛由用于流体移动的间隙分离。

[0090] 在装置300的操作期间,包含颗粒302的流体从入口通道304进入。流体由岛312分离,导致流体和流体内的颗粒流动到第二微流体通道306或第三微流体通道310中。一旦颗粒302已进入第二和第三通道(306、310),颗粒由于当颗粒302接近岛318时发生的重复颗粒移动(例如,由于惯性升力)在那些通道内保持浓缩。第一微流体通道308用于从第二和第三通道(306、310)重复地提取流体。特别地,第一通道308在宽度上逐渐增加,导致较低的流体阻力。流体在岛318之间的间隙处从第二和第三通道306、310被提取并且遵循该较低阻力的路径。装置300因此接收包含随机分布的颗粒的流体,并且将这些颗粒聚集/浓缩到第二和第三微流体通道306、310中的两个独立流线中。所得到的颗粒流线可以被联接到独立输出以用于附加的处理或分析。

[0091] 本文中所述的颗粒和移动技术也可以用于将颗粒从第一流体移动到第二不同流体,其中第二流体中的颗粒的浓度可以增加。图4是示出能够将颗粒从一个载体流体移动到

另一个载体流体的装置400的示例的示意图。装置400包括联接到用于合并流体的单个微流体通道405的两个入口微流体通道(404、406)。合并通道405又联接到包括两个不同流动区域(第二微流体通道408和第一微流体通道410)的颗粒移动区域。第二微流体通道408通过岛结构412的阵列与第一微流体通道410分离,其中每个岛412通过用于流体移动的间隙414与相邻岛412分离。另外,第二微流体通道408的顶壁416远离岛412成角度倾斜以便沿着下游流体方向减小第二和第一微流体通道之间的流体阻力。

[0092] 在装置400的操作期间,包含颗粒402的第一流体(“流体1”)被引入第一入口通道404中,并且没有颗粒的第二流体(“流体2”)被引入第二入口通道406中。假设流体以对应于低雷诺数(和因此层流)的流速被引入,在合并区域405中在两种不同流体之间几乎没有混合,即两种流体基本上作为彼此相邻的层继续流动。合并区域405内的流体路径与第一微流体通道410的流体路径对准,使得合并流体主要流动到第一通道410中。当两种流体进入第一微流体通道410时,第一流体内的颗粒402经历来自岛结构412的惯性升力,其横向于流动方向并且将颗粒402保持在第一微流体通道内。

[0093] 同时,第二微流体通道408的增加宽度(由于倾斜通道壁416)减小通道之间的开口414中的流体阻力,使得第一流体的部分在岛412之间的每个间隙处提取到第二通道408中。由于第一流体作为第二流体上方的层流动,因此主要是第一流体从第一通道410提取到第二通道408中。在经过岛412传播足够的距离之后,第一流体的大部分被提取到第二通道408中,而颗粒402和第二流体的大部分保留在第一通道410中。因此,图4中所示的微流体装置配置有用于将颗粒从一种流体转移到另一种不同的流体。在一些实现方式中,传播距离足够长,使得第二流体也被提取到第二微流体通道408中。在该情况下,可以增加第一微流体通道410中的颗粒402的浓度。尽管图4中所示的实现方式包括两个入口通道,但是附加的入口通道可以联接到用于改变颗粒浓度的微流体通道。

[0094] 图1-4中所示的微流体装置使用来自微流体通道壁和来自岛结构的周期性阵列的惯性升力来实现穿越流体流线的颗粒移动。除了惯性升力之外的技术可以用于穿越流体流线移动颗粒。例如,由于碰撞岛结构、高Dean流动和/或高斯托克斯流动(例如惯性聚集)而产生的内部排斥力可以用于穿越流体流线移动颗粒。替代地或附加地,可以使用诸如磁力、声力、重力/离心力和/或电力的外力穿越流体流线移动颗粒。

[0095] 另外,分离不同流动区域的刚性岛结构的形状不限于图1-4中所示的形状。例如,刚性岛结构可以具有类似于柱、立方体或其它多面体的形状,其中顶面和底面是或可以是全等多边形。在一些情况下,例如在高流速下,有利的是使用具有流线型、锥形端部的岛(例如图1-4中的岛结构的形状),原因是锥形有助于最小化以不可预测和非期望的方式破坏流动的流动再循环(涡流)的形成。刚性岛结构的其它形状也是可能的。刚性岛结构的长轴可以相对于流体的平均流动方向、颗粒的平均流动方向或用于改变颗粒浓度的区域的长轴成角度定向。通道段的形状不限于图1-4中所示的近似矩形形状。通道段可以包括曲线或宽度的实质变化。在横截面中,图1-4中所述的通道可以为正方形、矩形、梯形或圆形。通道横截面的其它形状也是可能的。通道深度可以在用于改变颗粒浓度的区域上均匀,或者通道深度可以横向地或纵向地变化。另外,尽管图1-4示出了作为近似直线路径的微流体通道,但是通道可以以其它不同的布置配置。例如,在一些实现方式中,微流体通道可以形成为具有螺旋配置。例如,第一微流体通道和第二微流体通道可以以螺旋配置布置,其中第一和第二

微流体通道仍然由岛结构的阵列分离,但是其中通过通道的流体流动的纵向方向将遵循大致螺旋路径。

[0096] 在一些实现方式中,微流体装置可以被设计成包含冗余,从而防止无意中与流体一起通过岛结构的第一阵列中的开口的颗粒最终与被过滤流体一起被收集。例如,在一些情况下,装置可被设计成包括并行操作的两个或更多个“限制通道”,即两个或更多个通道,例如图1中的通道108,其被设计成施加排斥力以基本上防止颗粒通过岛阵列中的开口。由于颗粒将需要克服与每个附加通道关联的排斥力,因此颗粒与通过岛之间的开口的流体一起逸出的可能性减小,原因是更多的限制通道被加入。

[0097] 在一些实现方式中,本文中所述的装置可以与用于操纵流体和/或颗粒的其它微流体模块结合使用,包括例如用于过滤某些尺寸的颗粒的亚群的过滤器。另外,本文中所述的装置可以在微流体系统内串联和/或并联使用。

[0098] 使用惯性聚集和流体移动改变颗粒浓度/减少流体体积

[0099] 改变微流体样品内的颗粒的浓度并不限于依赖于流体移动与惯性升力和/或碰撞力组合以引导颗粒穿越流体流线的技术。其它内部力(例如惯性聚集或粘弹性聚集)也可以与流体移动组合使用。

[0100] 关于惯性聚集,固有的优点在于流体力取决于较高速度流动而不是低雷诺数操作,因此导致较高的产量,否则这是微流体装置的常见限制。

[0101] 惯性聚集使用惯性力来实现颗粒在微流体通道内的精确横向定位,例如沿着共同的流线。惯性聚集是基于通过微流体通道的流体的层流可以导致悬浮在流体内的颗粒从随机分布状态的连续且准确地自排序的想法。一般而言,惯性聚集系统中的颗粒的分选、排序和聚集尤其取决于微流体通道的几何形状,颗粒尺寸与通道的流体动力学横截面尺寸的比率,以及流体流动的速度。各种通道几何形状可能需要待聚集的颗粒的预定颗粒对体积比率以实现期望的颗粒间间隔,并且由此保持那些颗粒的排序和聚集。

[0102] 一般而言,指定颗粒尺寸和单独用于惯性聚集的通道几何形状的最大颗粒对体积比率可以使用以下公式确定:

$$[0103] \quad \text{MaxVolumeFraction} = \frac{2N\pi a^2}{3hw}$$

[0104] 其中N是通道中的聚集位置的数量,a是平均聚集颗粒直径,h是微流体通道高度,并且w是通道宽度。当附加力施加到颗粒时可以获得更高的比率。

[0105] 可以使用不同的微流体通道几何以实现颗粒的惯性聚集。例如,微流体通道可以是对称弯曲通道,例如S形、正弦形或乙状。通道可以具有各种横截面,例如矩形、椭圆形或圆形横截面。替代地,通道可以是不对称弯曲通道,其具有特定应用所需的各种形状、横截面和配置(例如,通道中的每个曲线可以是不同的尺寸,或者例如通道中的奇数曲线可以是第一尺寸和形状,并且偶数曲线可以是第二尺寸和形状,或反之亦然)。例如,通道可以大体上具有大转弯和小转弯的波的形状,其中在波的每个拐点之后曲率半径可以变化。可以根据特定几何形状的需要调节最大颗粒对体积比率。

[0106] 通道可以配置成在通道内的一个或多个平衡位置处将流体样品内的颗粒聚集到一个或多个离散流线中。一般而言,分离、排序和聚集主要由颗粒尺寸与通道尺寸的比率和系统的流动特性控制,但是与颗粒密度无关。例如,分析物可以具有在约1000微米至约0.01

微米范围内的流体动力学尺寸。更特别地,分析物可以具有在约500微米至约0.1微米范围内,例如在约100微米至约1微米范围内的流体动力学尺寸。一般而言,分析物尺寸由通道几何形状限制。大于和小于上述范围的分析物可以排序并聚集在具有层流条件的惯性聚集区域内。

[0107] 剪切流动中的颗粒的横向迁移由惯性升力的存在引起,主要归因于沿剪切梯度向下朝着壁导向的剪切梯度诱导惯性(无界抛物线的升力),以及推动颗粒远离壁的壁诱导惯性。悬浮在流体中的颗粒受到独立于系统的流体动力学参数调节的拖拽力和升力。可以定义两个无量纲雷诺数来描述闭合通道系统中的颗粒的流动:描述无扰通道流动的通道雷诺数(R_c)以及颗粒雷诺数(R_p),颗粒雷诺数(R_p)包括描述颗粒和颗粒通过其平移的通道两者的参数:

$$[0108] \quad R_c = \frac{U_m D_h}{\nu}$$

[0109] 以及

$$[0110] \quad R_p = R_c \frac{a^2}{D_h^2} = \frac{U_m a^2}{\nu D_h}$$

[0111] 两个无量纲组取决于最大通道速度, U_m ,流体的运动粘度,和 $\nu = \mu/\rho$ (μ 和 ρ 分别为流体的动态粘度和密度),以及 D_h ,液压直径,其被定义为 $2wh/(w+h)$ (对于具有矩形或正方形横截面的通道, w 和 h 分别是通道的宽度和高度)。颗粒雷诺数对颗粒直径 a 有额外的依赖性。基于平均通道速度的雷诺数的定义可以通过 $R_e = 2/3R_c$ 与 R_c 相关。当颗粒雷诺数 R_p 约为1时,惯性升力主导颗粒行为。典型地,微观通道中的颗粒流动由粘性相互作用主导,其中 $R_p < 1$ 。在这些系统中,由于在颗粒表面上的流体的粘性拖拽力,颗粒被加速到局部流体速度。没有观察到中性浮动颗粒的稀释悬浮液穿越流线迁移,导致沿着长度在入口处和在通道的出口处看到相同的分布。当 R_p 增加时,穿越流线的迁移发生在宏观系统中。允许来自血液样品的细胞流量在矩形或方形通道内的定位的 R_p 的示例约为2.9,但是这可以在约0.02至2.9或更高的范围内。再次,可以使用不同的微流体通道几何形状来实现颗粒的惯性聚集,导致适合于那些通道几何形状的相应的雷诺数。惯性聚集的示例和进一步讨论可以在例如美国专利No.8,186,913中找到,其通过引用完整地并入本文。

[0112] 一般而言,惯性聚集用于将颗粒聚集到一个或多个平衡位置,并且然后将不同聚集的颗粒流流动到不同的输出,然后在所述输出处收集颗粒。然而,通过加入从聚集流重复去除的流体,可以大大提高惯性聚集以显著增加流体内的颗粒浓度(和/或减小流体样品中的颗粒的浓度)的能力。特别地,该技术依赖于能够显著和快速地减小流体体积的两种不同行为:1)近壁区域的快速消耗,以及2)颗粒到其平衡位置的减小的剪切梯度升力驱动迁移。

[0113] 图5是示意图,示出了微流体装置的颗粒移动区域500的示例的俯视图,其中颗粒移动区域500依赖于惯性聚集与重复流体提取的组合以增强从颗粒富集流体样品的体积减少。流体样品可以使用例如泵以类似于关于本文中公开的其它实施例所述的方式提供给颗粒移动区域500。颗粒移动区域500包括将长形的第二流体流动区域506与长形的第一流体流动区域508分离的岛结构504的阵列。第一流体流动区域508也可以被称为“聚集通道”,并且第二流体流动区域506可以被称为“无颗粒通道”。在本示例中,包含流体样品的颗粒被引

入到流动区域508中,而可以是与在区域508中传播的流体相同或不同的流体的无颗粒流体样品被引入到流动区域506中。

[0114] 每个岛504通过允许流体在第二和第一流动区域之间横穿的相应间隙510与阵列中的相邻岛504分离。与图1-4中所示的装置相反,第一流动区域508具有波状通道壁512(例如,近似正弦形状),其中通道宽度(沿着图5中的y方向)在沿着纵向方向(沿着图5中的z方向)变窄和扩大之间交替。另外,每个岛结构504具有遵循通道壁512中的峰和谷的部分的曲率的弯曲轮廓。也就是说,每个岛的一侧和第二通道的相对侧具有基本匹配的轮廓。在本示例中,这导致流动区域508具有波状纵向路径,承载颗粒的流体样品通过所述纵向路径传播。

[0115] 更具体地,第一转弯流动区域508是狭窄的,并且壁512和岛504的匹配轮廓具有小的曲率半径,而第二相邻转弯流动区域508更宽并且壁512和岛的匹配轮廓具有更大的曲率半径。在流动区域508的长度上重复由相对较大的曲率半径跟随的相对较小的曲率半径的模式。因此,微流体通道不对称地弯曲以产生靠近壁512比远离壁512更高的流体速度。取决于承载颗粒的流体的流速,第一流动区域508的流体路径曲率可以生成沿着第一流动区域508内的一个或多个流体流线聚集和保持颗粒502的惯性力。

[0116] 另外,在岛504之间的间隙510附近的流体阻力减小,使得流体的一部分倾向于遵循低阻力路径并且移动/流动到第二流动区域506中。该流体流动也倾向于牵拉在间隙510的方向上与流体一起行进的颗粒502。然而,在某些实现方式中,由该区域的波状流体路径生成的惯性力足够大以使颗粒502穿越流体流线并远离间隙510移动,使得颗粒502保持悬浮在行进通过第一流动区域508的流体的部分中。第二流体流动区域506可以配置成具有逐渐增加的宽度,从而该区域中的流体阻力在通道长度上减小。结果,更大量的无颗粒流体将沿着通道移动到更下游的第二流体流动区域中,并且导致第一流体流动区域508中的颗粒浓度的增加。

[0117] 图6A是示意图,描绘了流体流线在将惯性聚集与重复流体提取组合的微流体装置600内可以如何表现。图6A中所示的装置的结构类似于装置500并且包括输入区域601,其中引入包含稀释浓度的颗粒(例如细胞)的流体悬浮液。因为稀释的颗粒样品进入装置,所以当微流体通道朝着第一窄颈部区域603收敛时,流体样品被加速。由于细胞通过Dean流动移动离开壁,在流体样品通过颈部区域603之后形成无颗粒层(在图6中标记为“无细胞层”)605。该无颗粒层605的一部分然后在第一岛结构612处朝着第二流体流动区域606通过/虹吸,而颗粒保留在第一流体流动区域608中。传到第二流体流动区域606中的流体样品的量取决于开口和第二流体流动区域606的液压阻力相对于第一流体流动区域608的液压阻力。加速颗粒富集流体以产生无颗粒层并且将无颗粒层传到第二流体流动区域606中的过程在每个岛612处重复多次直到装置的端部,其中可以捕获独立流动以进一步处理或从装置去除。例如,装置600可以被理解为具有并联布置的聚集单元和虹吸单元的重复阵列(即,“聚集-虹吸单元对”)。在图6A中描绘了与单个聚集单元607和单个虹吸单元609对应的区域的示例。聚集单元607包括与岛结构612相邻的区域,其中微流体通道的壁具有相对较高的曲率以引起惯性聚集。虹吸单元609包括与相同岛结构相邻但与聚集单元607相对的区域,其具有相对较小的曲率并且为流体行进提供较宽的路径,导致较低的液压阻力。在图6中所示的示例中,每个虹吸单元609的宽度(沿着横向于流体流动的方向确定)沿着流体流动的方向

向增加,导致较低的流体阻力,并且因此导致来自第一流体流动区域608的流体的量的增加。

[0118] 图6B包括图6A中所示的装置600的不同横截面的模拟流体流动的绘图。图6B中的绘图描绘了导致形成无细胞层的Dean流动矢量和速度分布。从这些绘图可以看出,当流体传到第二流体流动区域606中时,流体样品的总体流动速度以及因此的惯性力沿着微流体通道的长度减小。换句话说,为了获得指定水平的体积减小,流速必须减小到固定程度,与使用的单元的数量无关。

[0119] 将惯性聚集与重复流体提取组合的装置的重要设计考虑是在每个虹吸单元处虹吸的流体的百分比。理想地,在每个虹吸单元处去除的无颗粒流体的量越大,则能够在微粒富集流体中获得期望颗粒浓度将越快。然而,同样的情况是,虹吸的流体的百分比越高,如果惯性力不将细胞从更大的虹吸流体分数移出,则颗粒将与虹吸流体一起被带走的的风险越大。

[0120] 图7是描绘基于图6B中所示的装置结构计算的结果的绘图。执行计算以确定作为虹吸聚集单元对的数量和在装置的岛结构之间的每个开口处传到无颗粒层中的流体的百分比的函数的无细胞流动分数。“无细胞流动分数”是指已被虹吸出的所有流体的分数。例如,如果虹吸百分比为10%,则在一个单元之后无细胞流动分数为10%。其它90%保留在聚集单元中。然后,在第二单元中去除剩余的90%的10%(即整个流体的9%)。因此,在两个单元之后无细胞流动分数为19%。这继续。该绘图也包括两条水平虚线,顶部线表示颗粒富集流体的流体体积减少50倍的因数,并且底部虚线表示颗粒富集流体的流体体积减少10倍的因数。图7中的四个不同曲线表示四个不同百分比的虹吸,最小虹吸百分比对应于底部曲线,并且最高虹吸百分比对应于绘图中的顶部曲线。如图7中所示,较高的虹吸百分比(即,在每个虹吸单元处虹吸的流体的百分比)减小单元的总数量,该单元的总数量需要达到在10x和50x虚线的交点处看到的等效体积减小因数。

[0121] 组合的惯性聚集和虹吸的微流体装置不限于图5中所示的配置。例如,在一些实现方式中,组合的惯性聚集和虹吸装置可以类似于图2中所示的装置具有包括第二流体流动通道、第一(中心)流体流动通道和第三流体流动通道的配置,区别在于装置将被构造成在中心通道中引起惯性聚集。例如,中心通道可以配置成具有波状路径/形状,其中通道宽度(横向于流体流动的方向确定)在狭窄和扩大之间交替。这可以通过将岛结构的第一和第二阵列的每一个构造成具有在高和低曲率的区域之间交替的匹配轮廓来实现。与图2的示例中一样,流体在岛结构之间的开口/间隙处传到第二和第三通道中。替代地,在一些实现方式中,装置可以构造成在第二和第三流体流动通道中引起惯性聚集。例如,第二和第三流体流动通道中的每一个可以配置成具有波状路径/形状,其中它们的宽度在狭窄和扩大之间交替。这可以通过将岛结构的相对阵列和第二通道的壁构造成具有在高和低曲率的区域之间交替的匹配轮廓来实现,而岛结构的相对阵列和第三通道的壁也可以具有在高和低曲率区域之间交替的匹配轮廓。在每个阵列中的岛结构之间的间隙/开口处,流体可以从第二通道传到中心通道中,并且从第三通道传到中心通道中。

[0122] 在一些实现方式中,组合的惯性聚集和虹吸装置可以具有两个流体输入,类似于图4中所示的装置400,使得装置用作流体交换器,其中颗粒从第一流体转移到第二流体。也就是说,第一流体样品可以通过输入406被引入,而包含颗粒402的第二不同流体样品可以

被引入到输入404中。最初,包含颗粒402的第二流体样品的一部分和第一流体样品并排传播通过通道410。第一通道410和岛结构412的壁可以配置成使得第一通道410具有波状路径/形状,其中通道的宽度在狭窄和扩大之间交替(类似于图5中所示的配置)。波状通道410导致颗粒沿着通道410中的第一流体样品内的流线聚集。同时,在岛412之间的间隙414处将没有颗粒402的第二流体样品的部分从通道410提取到第二通道408中。在重复提取第二流体样品之后,颗粒402最终完全转移到通道410内的第一流体样品,并且第二流体样品是无颗粒的。

[0123] 在一些实现方式中,微流体装置包括具有多个通道的颗粒移动区域,多个通道依赖于惯性聚集与重复流体提取的组合。在一些实施方式中,使用多个通道允许微流体装置的产量的显著增加。例如,图5中所示的颗粒移动区域500的多个复制可以并联布置。包含颗粒的每个通道的输出可以被传送到公共存储库。类似地,包含无颗粒流体的每个通道的输出也可以被传送到不同的公共存储库。

[0124] 与常规离心相比,使用组合的惯性聚集和虹吸技术的装置的优点是颗粒比在离心期间(例如,几分钟)暴露于提高力持续更短的时间(例如,分数秒)。另外,在微流体体积减小过程中不会发生颗粒的压实。已知在离心过程中可能发生的细胞压实机械损伤某些细胞以及改变基因表达(参见例如Peterson,B.W.,Sharma,P.K.,Van Der Mei,H.C.&Busscher,H.J.,“Bacterial Cell Surface Damage Due to Centrifugal Compaction”,*Applied and Environmental Microbiology* 78,120-125(2012),其通过引用完整地并入本文)。另外,在组合的虹吸和惯性聚集装置中细胞可能暴露于提高力的短持续时间几乎不导致细胞内部的重组。相比之下,离心技术容易导致细胞器的脱位。而且,与从离心机转移样品时不同,组合的虹吸和惯性聚集装置中的步骤之间不需要无菌中断。因此,与离心相比,组合的虹吸和惯性聚集装置提供用于执行常规生物学任务的更有效的闭合系统。

[0125] 使用粘弹性聚集增加颗粒浓度/减小流体体积

[0126] 如上所述,粘弹性聚集也可以与流体移动组合使用以改变流体样品内的颗粒的浓度。在一些实现方式中,粘弹性聚集包括将指定浓度(例如,微摩尔浓度或其它浓度)的一种或多种减阻聚合物(例如,透明质酸(HA))加入到流体,其导致可以用于控制不同雷诺数(Re)下移动流体内颗粒的聚焦位置的流体粘弹性。

[0127] 在粘弹性聚集的情况下,驱动颗粒载体流体的体积流速导致在通道的中心处或附近的流体中形成局部流线。局部流线限制了基本上等于或稍大于流体内的颗粒的液压直径的宽度。通过将减阻聚合物加入到牛顿流体(例如水或生理盐水溶液),流体中的颗粒被聚集到局部流线中,在通道的边缘产生无颗粒的区域(例如,最靠近通道边界或壁的区域)。

[0128] 因此,类似于惯性聚集,粘弹性聚集能够沿着共同的流线将颗粒精确地定位在流体中。与惯性聚集相比,粘弹性聚集在通道横截面的中心处具有平衡位置,即沿着在流体流动方向上延伸并且在通道的壁之间居中的纵向路径。粘弹性聚集也适用于大范围的流速和雷诺数。因此粘弹性聚集的技术可以与本文中所述的流体提取(例如,从聚集流重复去除/虹吸流体)相结合以显著地改变流体内的颗粒浓度。

[0129] 本文中所述的任何装置可以与粘弹性聚集一起使用以将颗粒聚集到流体内的流线并且改变流体内的颗粒的浓度。例如,粘弹性聚集可以与图2中所示的装置200一起使用。连接到通道206和210的入口的泵(未示出)可以被操作以驱动承载悬浮颗粒202的流体。在

一些实现方式中,泵被操作,以导致在中心通道208的中心处或附近的流体中形成局部流线(例如由轴线220限定)的体积流速驱动流体通过通道。局部流线220限定基本上等于或大于颗粒202的液压直径的宽度。流体中的颗粒被聚集到局部流线220中。局部流线220表示悬浮颗粒202聚集到其中的流体的一部分。也就是说,悬浮的颗粒被聚集到由通道208的中心处或附近的流体流形成的流线中。同时,可以在将第二和第三通道206、210与中心通道208分离的岛212、214之间的间隙/开口处提取流体。由于颗粒被聚集到中心流线,因此颗粒202被定位成更远离岛之间的间隙,并且不太可能与正被提取到第二和第三通道206、210中的流体样品的部分一起被带到中心通道208之外。也就是说,在每个间隙处,无颗粒流体的一部分从中心通道208提取到通道206或通道210中,导致中心通道208内的颗粒的浓度的增加。在间隙处的流体的重复虹吸之后,颗粒的浓度可以增加,例如从10到100倍或以上。

[0130] 颗粒202悬浮在其中并且流动通过通道206、208、210的流体可以包括牛顿流体,例如水或其它牛顿流体,或与牛顿流体混合的减阻聚合物。一般而言,例如通过以本文中所述的体积流速对颗粒施加粘弹性法向应力来减小颗粒上的拖拽力的任何聚合物(或材料)可以作为HA的替代或附加被实现。换句话说,当与牛顿流体混合时相对于悬浮在没有材料的牛顿流体中的颗粒上的拖拽力改变悬浮在流体-材料混合物中的颗粒上的拖拽力的任何材料(例如聚合物或其它材料)可以作为HA的替代或附加被实现。仅举几个示例,这样的材料可以包括例如聚环氧乙烷(PEO)、聚丙烯酰胺、明胶。颗粒可以包括刚性颗粒(例如珠)或可变形颗粒。在一些实现方式中,颗粒可以包括生物颗粒,例如细胞。减阻聚合物可以包括透明质酸(HA)。HA的分子量可以在350kDa到1650kDa之间。流体流动的雷诺数可以在0.001到4500之间,例如在0.01到20之间,在0.01到15之间,在0.01到10之间,在0.01到1之间,在0.1到1000之间,在0.1到100之间,在0.1到20之间,在0.1到10之间,在0.1到1之间,在1到1000之间,在1到100之间,或在1到20之间。减阻聚合物的浓度可以在约0.001-1%g/mL(0.00001-0.01g/mL)之间,例如在约0.01-0.1%g/mL(0.0001-0.001g/mL)之间。粘弹性聚集的进一步讨论可以在例如W02015/116990中找到,其通过引用完整地并入本文。

[0131] 微流体装置设计参数

[0132] 现在将描述各种设计参数对微流体装置的操作的影响。作为参考,图16是示意图,示出了包含一排岛结构1610的流体移动区域1600和示例性颗粒的俯视图。该排岛结构1610将“提取”微流体通道1605与“颗粒”微流体通道1607分离。流体流动的主要方向由箭头1601指示。提取通道1605的宽度(沿着y方向限定)沿着通道的长度扩张,而颗粒通道1607的宽度(沿着y方向限定)沿着通道的长度保持基本上恒定。在装置的操作期间,通过岛1610之间的开口将流体提取到提取通道1605中,而在颗粒通道1607内行进的颗粒通过排斥力(例如惯性升力)保持在颗粒通道1607中。为了以下讨论,通道和岛可被理解为布置成独立“单元”(参见图16中的单元1,单元2和单元3)。具体地,图16示出了阵列的三个单元,每个单元包括外部微流体通道1605的一部分、岛1610和颗粒通道1607的一部分。

[0133] 颗粒和流体移动区域1600的相关设计参数包括每个单元的长度、每个通道的宽度以及每个单元的流体移动。流体移动 f_s 是在每个单元(即,岛结构之间的开口处)的通道之间的流体流动 q 的分数。这些参数一起确定装置的每个单元中的通道的流体传导。因此,每个单元具有颗粒通道,其具有长度 l_i 、颗粒通道宽度 $w_{p,i}$ 和颗粒通道流体传导 $g_{p,i}$,其中 i 是指单元数量。每个单元也具有提取流体通道,其具有长度 l_i 、提取通道宽度 $w_{e,i}$ 和提取通道

流体传导 $g_{e,i}$,其中 i 是指单元数量。在这里描述的示例中,所有通道在形状上为矩形,并且每个单元的流体移动是相同的。这里给出的基本方法可以容易地修改用于非矩形(例如,弯曲)通道和变化的移动。

[0134] 在每个单元处,总流动在颗粒和提取流体通道之间与它们的相对流体传导成比例地分割。因此,流动通过第 i 个单元中的颗粒通道1607的总流动的分数为

$$[0135] \quad f_{p,i} = \frac{q_{p,i}}{q_{p,i} + q_{e,i}} = \frac{g_{p,i}}{g_{p,i} + g_{e,i}}$$

[0136] 其中 $q_{p,i}$ 和 $q_{e,i}$ 分别是颗粒和提取流体通道的流速。类似地,流动通过第 i 个单元中的提取流体通道1605的总流动的分数是

$$[0137] \quad f_{e,i} = \frac{q_{e,i}}{q_{p,i} + q_{e,i}} = \frac{g_{e,i}}{g_{p,i} + g_{e,i}}$$

[0138] 颗粒通道1607的尺寸被选择成穿越流线最佳地移动颗粒(例如,远离提取流体通道1605)。由于流速 $q_{p,i}$ 沿着装置的长度变化,因此可以改变颗粒通道尺寸以保持最佳的颗粒移动。例如,当 $q_{p,i}$ 减小时,可以增加单元长度 l_i 以补偿作用于颗粒的弱化惯性升力。

[0139] 提取流体通道1605的尺寸被选择成提供传导 $g_{e,i}$,使得颗粒通道1607中的流体的精确分数在每个单元处移动到提取流体通道。该分数称为流体移动 f_s 。该移动的结果是颗粒通道中的流动的分数的每个单元处减小固定因数:

$$[0140] \quad f_{p,i} = (1-f_s) f_{p,i-1}$$

[0141] 例如,如果 $f_s=0.1$,则颗粒通道中的流动的分数的分数将为在前单元的颗粒通道中的流动的分数的90%。更一般地,由于 $f_{p,0}=1$,

$$[0142] \quad f_{p,i} = (1-f_s)^i$$

[0143] 因此,对于颗粒和流体移动区域被分成三个单元的图16中所示的示例情况, $f_s=0.1$, $f_{p,1}=0.9$, $f_{p,2}=0.81$,并且 $f_{p,3}=0.729$ 。

[0144] 回想到颗粒通道中的流动的分数的分数也由下式描述

$$[0145] \quad f_{p,i} = \frac{g_{p,i}}{g_{p,i} + g_{e,i}}$$

[0146] 代入 $f_{p,i}$ 并且求解 $g_{e,i}$:

$$[0147] \quad g_{e,i} = ((1-f_s)^{-i} - 1) g_{p,i}$$

[0148] 因此,对于每个单元,提取流体通道的传导可以根据颗粒通道的传导和流体移动而被写入。每个通道的流体传导 g 是其尺寸和流体粘度的函数。在这里描述的装置中,每个通道为矩形并且因此具有可以表示为下式的传导

$$[0149] \quad g \approx \left(\frac{h^4}{12\eta l \alpha} \right) (1 - 0.63\alpha)$$

[0150] 这里, η 是流体粘度, l 是通道长度, w 是通道宽度, h 是通道高度,并且 $\alpha=h/w$ 。更精确的基于无限级数的公式也是可用的(Tanyeri等人,“Amicrofluidic-based hydrodynamic trap:Design and implementation (Supplemental Material)”,Lab on a Chip(2011))。计算建模或经验方法可以用于确定更复杂的通道几何形状的传导。(应当注意,在本说明书中关注流体传导 g 而不是流体阻力 R 更为简单。两个量通过 $g=1/R$ 简单地相

关。)

[0151] 使用以上公式,用于增加流体样品内的颗粒浓度的微流体装置可以如下实现:

[0152] 1.为装置中的每个单元选择颗粒通道的尺寸。如上所述,尺寸被选择成远离提取流体通道最佳地移动颗粒。

[0153] 2.使用这些尺寸和流体粘度,使用矩形通道传导公式(或等效方法)为每个单元确定颗粒通道传导 $g_{p,i}$ 。

[0154] 3.然后使用在前确定的 $g_{p,i}$ 和 f_s 对每个单元评估提取流体通道传导 $g_{e,i}$ 。然后选择提取流体通道的宽度 $w_{e,i}$ 以给予每个单元的期望 $g_{e,i}$ 。在实践中,可以通过评估宽范围的通道宽度上的流体传导(使用以上公式)然后内插以找到给出期望的通道传导的通道宽度来确定宽度。

[0155] 对于具有依赖于惯性升力穿越流线移动颗粒的直通道的浓缩器,以下是装置设计和操作指南:

[0156] 第一,如“*Inertial Microfluidics*”,Di Carlo,Lab Chip(9),3038-3046,2009(其通过引用完整地并入本文)中所述,横向(穿越通道)颗粒速度 U_y 与纵向(在流体流动的方向上)速度 U_z 的比率与颗粒雷诺数 R_p 成比例:

$$[0157] \quad \frac{U_y}{U_z} \propto R_p = \frac{U_m a^2}{\nu D_h}$$

[0158] 这里 U_m 是最大通道速度, a 是颗粒直径, ν 是流体的运动粘度,并且 D_h 是通道的液压直径。(对于具有宽度 w 和高度 h 的矩形横截面的通道, $D_h = (2wh)/(w+h)$ 。)由于这里描述的颗粒浓缩器装置的目的是使用惯性升力有效地穿越流线移动颗粒(例如,最大化 U_y/U_z),因此建议将通道尺寸和流动条件选择成将颗粒通道中的颗粒雷诺数 R_p 最大化到其它实际限制(例如操作压力)允许的程度。在整个装置中,颗粒通道中的颗粒雷诺数 R_p 理想地应当大于约0.01,但是它可以远大于此,可能大于100。

[0159] 对于给定的颗粒直径 a 和运动粘度 ν ,目标颗粒雷诺数 R_p 可以通过通道尺寸和通道速度的许多不同组合获得。增加 R_p 的一个策略将是选择很小的(相对于 a)液压直径 D_h 。然而,通道阻力对 D_h 有四分之一的依赖,并且选择不必要小的 D_h 是以高度增加的操作压力为代价的。相反,操作压力随着通道速度 U_m 线性地缩放,所以良好的替代策略是设计具有适度液压直径 D_h 的装置,并且然后在操作时根据需要增加通道速度 U_m (并因此增加 R_p)以获得颗粒的高产率。对于具有正方形横截面的通道,使得 $D_h = w = h$,约为颗粒直径 a 的五倍的 D_h 的值是合理的选择: $D_h = 5a$ 。

[0160] 第二,岛之间的开口的长度(在纵向方向上)应当大于约 a 并且小于或等于约 w 。如果开口的长度小于 a ,则开口可能被颗粒堵塞,由此破坏通过开口的流动。长度大约等于 w 的开口不太可能被颗粒堵塞,并且为流体在岛之间横穿到相邻通道提供足够的空间。长度大于 w 的开口将会起作用,但不会带来任何特别的好处,而且是以浪费空间为代价。

[0161] 第三,岛的长度 l 应当大于或等于岛之间的开口的长度。如上所述,颗粒浓缩器装置的目的是使用惯性升力有效地穿越流线移动颗粒。由于颗粒仅仅当它们在岛旁边行进时才经历惯性升力,因此颗粒应当在岛旁边行进它们的纵向距离的大部分,而不是穿越岛之间的开口。换句话说,如果岛的长度和岛之间的开口的长度相等,则颗粒仅仅沿着它们行进的距离的50%经历惯性升力。在另一方面,如果岛的长度是开口的长度的四倍,则颗粒沿着

它们行进的距离的80%经历惯性升力。

[0162] 岛的长度 l 的宽松上限是颗粒迁移到平衡聚集位置所需的长度。超过颗粒达到平衡所需的任何附加通道长度不会有助于穿越流线移动颗粒。“Inertial Microfluidics”, Di Carlo, Lab Chip (9), 3038-3046, 2009中给出了颗粒达到平衡所需的通道长度 L_f 的公式:

$$[0163] \quad L_f = \frac{\pi\mu w^2}{\rho U_m a^2 f_L}$$

[0164] 这里 μ 是动态粘度, w 是通道宽度, ρ 是流体密度, U_m 是最大通道速度, a 是颗粒直径,并且 f_L 是对于具有约2至0.5的纵横比(h/w)的通道,在约0.02至0.05的范围内的无量纲常数。当 L_f 提供上限时,它是宽松上限并且超过岛的最佳长度 l 。这是由于在通道壁附近颗粒上的升力非常强(与 a^6 成比例),但是随着离壁的距离而急剧下降(在通道的中心附近与 a^3 成比例)。因此,如果颗粒通过使用明显小于 L_f 的岛长度 l 而保持在通道壁附近,则浓缩器装置将更有效地穿越流线移动颗粒。

[0165] 已知这些考虑,岛长度的合理中间值约为 $l = 4w$ 。这是近似值并且必然取决于为其它参数选择的值,如流体移动 f_s 。同样重要的是,应当注意岛的长度 l 不需要沿着装置的长度是恒定的。相反,当颗粒通道中的最大通道速度 U_m 和颗粒雷诺数 R_p 减小时,岛的长度可以增加以进行补偿。例如, R_p 的减小的二的因数可以通过岛长度 l 的增加的二的因数来补偿。在一定程度上,每个单元的颗粒的横向偏转距离预期与岛长度 l 大致成比例。

[0166] 第四,流体移动 f_s 应当大于0.2%并且理想地大于1.0%。如果流体移动小,例如0.1%,则实现显著体积减小(例如10x)所需的移动(单元)的总数量非常大,并且因此装置本身必须非常长。如果最大通道速度 U_m 足够高以将颗粒雷诺数 R_p 置于规定范围内,则不需要非常小的移动,例如0.1%。取决于最大通道速度 U_m ,在约1%至5%的范围内的流体移动 f_s 对于如这里概述设计和操作的装置应当表现良好。

[0167] 重要的是,应当注意流体移动 f_s 不需要沿着装置的长度是恒定的,类似于岛的长度 l 。相反,当颗粒通道中的最大通道速度 U_m 和颗粒雷诺数 R_p 减小时,流体移动 f_s 可以减小以进行补偿。例如, R_p 的减小的二的因数可以通过流体移动 f_s 的减小的二的因数来补偿。可以实现这些补偿策略中的任一个或两个以优化装置效率和性能。

[0168] 对于任何给定的装置设计和颗粒尺寸 a ,最后参数选择是装置操作流速,其直接确定颗粒通道中的最大通道速度 U_m 和颗粒雷诺数 R_p 。对于如概述设计的装置,将有良好性能所需的最小流速。在该阈值流速之下,惯性升力将不足以将颗粒从岛壁移动足够远以避免当流体被提取(虹吸)时发生移动,因此导致颗粒的低产率。尽管这里提供的公式能够对阈值流速进行粗略的估计,但是确定阈值流速的最精确和相关的的方法是经验的。

[0169] 其它设计和优化策略也可能导致有效、高性能浓缩器装置。

[0170] 在一些实现方式中,配置成移动给定尺寸的颗粒的微流体装置可以被缩放以有效地移动不同尺寸的颗粒。例如,对于采用惯性升力穿越流体流线移动颗粒的装置,可以随着颗粒尺寸缩放颗粒移动区域的尺寸并且改变流动条件,只要颗粒雷诺数 R_p 的值被保留。颗粒雷诺数可以表达为:

$$[0171] \quad R_p = \frac{U_m a^2}{\nu D_h}$$

[0172] 其中 U_m 是最大通道速度, a 是颗粒直径, ν 是流体的运动粘度,并且 D_h 是通道的液压直径。(对于具有宽度 w 和高度 h 的矩形横截面的通道, $D_h = (2wh) / (w+h)$ 。)例如,考虑有效地移动尺寸 a 的颗粒的移位区域1。设计有效地移动尺寸 $2a$ 的颗粒的移动区域2的一种方法是将移位区域1的所有尺寸缩放2的因数(即,所有特征的长度、宽度和高度加倍)。为了保持移位区域2中的相同 R_p ,最大通道速度 U_m 必须减小2的因数。

[0173] 随着颗粒尺寸缩放颗粒移动区域的尺寸和流动条件的其它方法也是可能的。

[0174] 微流体装置制造的容易性在很大程度上由装置结构的纵横比(高度除以宽度)确定,较小纵横比的装置更容易以低成本和高制造产率制造。我们可以以两种方式定义纵横比。最小纵横比是结构高度 h 除以最小结构宽度 w_{min} 。总纵横比是结构高度 h 除以与结构相同面积的圆的直径 D 。这里, $D = \sqrt{(4A/\pi)}$,其中 A 是结构的面积。

[0175] 作为示例,对于具有基本上直的通道的微流体装置,岛结构可以具有约50-1000 μm 的长度、约50 μm 的宽度和约52 μm 的高度。使用这些尺寸,岛的最小纵横比为1.04,总纵横比在0.92-0.21的范围内。通过增加岛的宽度可以进一步减小纵横比。在另一示例中,对于具有弯曲通道的微流体装置,岛结构可以具有不规则形状,其中 w_{min} 在约42-80 μm 的范围内, A 在约18,000-61,000 μm^2 的范围内,并且高度为52 μm 。使用这些尺寸,岛的最小纵横比在1.24-0.65的范围内,并且总纵横比在0.34-0.19的范围内。

[0176] 在这两种情况下,结构的低纵横比能够直接制造模制PDMS和环氧树脂装置,以及注射模制塑料装置。这是这类装置的主要优点:它们不仅从功能角度看非常有用,而且它们从商业角度看也是根本上可扩展的和经济的。

[0177] 微流体装置尺寸

[0178] 对于正通过具有至少两个由岛结构的阵列分离的至少两个通道的微流体装置输送的大体为球形的颗粒,其中在相邻岛之间具有间隙(参见例如图1),每个微流体通道的深度(例如,沿着图1中的 x 方向测量)和宽度(例如,沿着图1中的 y 方向测量)优选地在单个颗粒的直径的约2倍至约50倍的范围内。关于形成流体被提取所通过的间隙的刚性结构,结构的宽度可以高达单个微流体通道的宽度的约10倍,而结构的长度可以在通道宽度的约0.25倍至通道宽度的约50倍之间。

[0179] 作为示例,对于具有约8微米的直径的大体球形的颗粒,类似于图1中所示的配置的具有由刚性结构的阵列分离的两个微流体通道的微流体装置可以具有以下参数:每个微流体通道可以具有约52 μm 的深度,每个微流体通道可以具有在约10 μm 至约5000 μm 之间的宽度范围,每个岛结构可以具有约50 μm 的宽度,每个岛结构可以具有约200 μm 的长度。

[0180] 尺寸的其它示例如下所述。

[0181] 例如,包含不同流体流动区域的区域的外壁之间的距离(即,横向于流体流动方向测量)可以配置成在约1 μm 至约100 μm 之间(例如,约10 μm ,约50 μm ,约100 μm ,约500 μm ,约1 mm ,约5 mm ,约10 mm ,或约50 mm)。其它尺寸也是可能的。横向于流体流动方向测量的每个流体流动区域/通道的宽度(例如,图1中的第二和第一微流体通道106和108的宽度)可以配置成在约1 μm 至约10 mm 之间(例如,约50 μm ,约100 μm ,约250 μm ,约500 μm ,约750 μm ,约1 mm ,或约5 mm)。其它距离也是可能的。

[0182] 沿着流体流动方向(例如,沿着图1中的z方向)测量的岛结构之间的间隙/开口的长度可以配置成在约500nm至约1000 μm 之间(例如,约1 μm ,约2 μm ,约5 μm ,约10 μm ,约50 μm ,约100 μm ,约200 μm ,约500 μm ,或约750 μm)。在一些实现方式中,每个连续开口的长度大于或小于最后开口的长度。例如,在配置成具有沿着流体路径的减小流体阻力的通道中,每个连续的开口可以更大,使得通过开口提取更大量的流体。分离不同流体流动区域的岛结构可以配置成具有约10nm至约10 μm 之间的最大长度,以及约10nm至约10 μm 之间的最大宽度。间隙和岛结构的其它尺寸也是可能的。

[0183] 颗粒移动区域内的流体流动区域和岛结构的高度(例如,沿着图1中的x方向测量)在约100nm至约10mm的范围内。例如,通道的高度可以为约500nm,约1 μm ,约5 μm ,约10 μm ,约50 μm ,约100 μm ,约500 μm ,约750 μm ,约1mm,或约5mm。其它高度也是可能的。微流体流动区域可以具有例如落在约1 μm^2 至约100 mm^2 的范围内的横截面面积。

[0184] 微流体系统

[0185] 在一些实现方式中,本文中所述的微流体装置的颗粒移动区域是具有微流体通道网络的较大的、可选的微流体系统的一部分。这样的微流体系统可以用于便于控制、操纵(例如分离、离析、混合、聚集、浓缩)和将液体和/或颗粒从复杂母体样品隔离。在隔离过程期间,微流体元件提供重要功能,例如,处理生物流体或将颗粒与样品可再现混合。

[0186] 例如,微流体系统可以包括用于使用与惯性升力不同的其它技术根据尺寸和/或形状分离颗粒的附加区域。这些其它技术包括例如确定性横向位移。这些附加区域可以采用间隙网络的阵列,其中通过间隙的流体不相等地分割到后续的间隙中。阵列包括间隙的网络,其布置成使得通过间隙的流体不相等地被分割,即使间隙在尺寸上可以相同。与本文中所述的用于基于惯性升力和流体提取的组合分离颗粒的技术相反,确定性横向位移依赖于当颗粒与形成间隙的柱直接接触时发生的碰撞。流体的流动相对于阵列的视线成小角度(流动角)对准。具有大于临界尺寸的流体动力学尺寸的流体内的颗粒沿着阵列中的视线迁移,而具有小于临界尺寸的流体动力学尺寸的颗粒遵循不同方向上的流动。装置中的流动通常在层流条件下发生。在装置中,不同形状的颗粒可能表现得好像它们具有不同的尺寸。例如,淋巴细胞是 $\sim 5\mu\text{m}$ 直径的球体,并且红细胞是 $\sim 7\mu\text{m}$ 直径和 $\sim 1.5\mu\text{m}$ 厚的双凹圆盘。红细胞的长轴(直径)大于淋巴细胞的长轴,但短轴(厚度)较小。如果红细胞在通过流动驱动通过柱的阵列时将其长轴与流动对准,则它们的流体动力学尺寸实际上是它们的厚度($\sim 1.5\mu\text{m}$),其小于淋巴细胞。当红细胞通过流体动力学流动驱动通过柱的阵列时,它倾向于将其长轴与流动对准,并且表现得像 $\sim 1.5\mu\text{m}$ 宽的颗粒,实际上比淋巴细胞“更小”。因此确定性横向位移的区域可以根据其形状分离细胞,尽管细胞的体积可以相同。另外,具有不同变形能力的颗粒表现得好像它们具有不同的尺寸。例如,具有未变形形状的两个颗粒可以通过确定性横向位移分离,原因是具有较大变形能力的颗粒在其与阵列中的障碍物接触并改变形状时可能变形。因此,可以基于影响包括颗粒的物理尺寸,形状和可变形性的流体动力学尺寸的任何参数来实现装置中的分离。

[0187] 关于微流体通道网络及其制造的附加信息可以在例如美国专利申请公报No.2011/0091987、美国专利No.8,021,614和8,186,913中找到,其每一个通过引用完整地并入本文。

[0188] 在一些实现方式中,微流体系统包括用于在将流体引入颗粒移动区域中之前制备

承载颗粒的流体样品的部件。例如,图8是示出微流体系统800的示例的示意图,所述微流体系统800包括颗粒聚集区域801(标记为“浓缩单元”),类似于图5中所示的颗粒聚集区域,其依赖于惯性聚集和虹吸/流体提取以增加颗粒对流体浓度和/或用于获得低颗粒浓度的流体。系统800另外包括在颗粒移动区域801的上游的过滤器部分803(标记为“过滤器”)和颗粒聚集部分805(标记为“聚集单元”)。过滤器部分803包括多个不同尺寸的柱结构的布置。

[0189] 基于结构的布置,过滤器部分803配置成根据颗粒尺寸(例如,平均直径)过滤包含在进入流体中的颗粒,使得只有预定尺寸或更小的颗粒能够传到系统800的下一级。例如,对于诸如骨髓穿刺的复杂基质,过滤器部分803可以配置成去除骨屑和纤维蛋白凝块以提高增强下游浓度的效率。在示例性布置中,过滤器部分803可以包括具有设计成偏转高于某一尺寸的颗粒的柱尺寸和阵列偏移的柱的阵列,由此将它们与主悬浮液分离。典型地,尺寸限制基于可以通过系统800的后级的最大颗粒尺寸被确定。例如,过滤器803可以配置成过滤/阻止具有大于颗粒移动区域801中的通道的最小宽度的50%、大于60%、大于70%、大于80%或大于90%的平均直径的颗粒的通过。

[0190] 过滤器部分803流体地联接到颗粒聚集部分805。在颗粒被提供到颗粒移动区域801之前,颗粒聚集部分805配置成将离开过滤器部分803的颗粒预聚集到期望的流体流线位置。预聚集颗粒的优点在于它将穿越通道宽度的颗粒的分布减小到狭窄横向范围。然后可以重新定位聚集颗粒线,使得颗粒无意中进入错误通道(例如,用于在颗粒移动区域801中获得“被过滤”流体的通道)的可能性减小。使用惯性聚集技术可以实现预聚集。上面在标题为“使用惯性聚集的颗粒移动”的部分中描述了惯性聚集的更多细节。

[0191] 一旦颗粒对流体浓度在颗粒移动区域801中已增加,“被过滤”流体和/或颗粒可以联接到微流体系统800的独立处理区域或从系统800去除以用于附加的处理和/或分析。例如,颗粒移动区域801的第二通道联接到第一出口807,而颗粒移动区域801的第一通道联接到第二出口809。

[0192] 外力

[0193] 可以将其它功能性加入到微流体系统以增强颗粒的聚集、浓缩、分离和/或混合。例如,在一些实现方式中,可以引入额外的力,其导致颗粒流的目标特定修改。额外的力可以包括例如磁力、声力、重力/离心力、电力和/或惯性力。

[0194] 图9A-9C是示意图,示出了依赖于与本文中所述的颗粒移动技术一起使用以沿着微流体装置内的不同对应流线聚集不同类型的颗粒的磁泳的微流体装置三个不同示例。一般而言,磁泳采用高磁场梯度来分选在装置的微流体通道内流动的磁标记颗粒。通过将一或多个磁体放置在微流体通道附近来产生磁场梯度,其中磁体的配置产生穿越微流体通道延伸的磁通梯度分布。随后使磁标记颗粒由梯度“牵拉”。取决于梯度分布的定位,磁标记颗粒可以聚集到微流体通道内的一个或多个期望位置。关于将磁泳应用到微流体装置的更多细节可以在例如W0 2014/004577中找到,其通过引用完整地并入本文。

[0195] 在图9A所示的第一示例中,微流体装置900a包括流体地联接到磁泳区域703的颗粒移动区域901。以与图1中所示的装置100类似的方式构造颗粒移动区域(在图9A中标记为“聚集”)901。简而言之,聚集区域901包括两个独立的流体流动区域:由岛结构的1D阵列分离的第二流体流动区域和第一流体流动区域,每个岛结构通过间隙与相邻的岛结构分离。当流体传播通过第一流动区域时,流体的一部分被提取到第二流动区域中,同时对颗粒施

加惯性升力,其保持颗粒在第一流动区域内行进。当然,可以附加地或作为替代使用其它力(例如惯性聚集)以将颗粒保持在第一流体流动区域内。颗粒移动区域的第二和第一流体流动区域两者流体地联接到磁泳区域903中,其没有岛结构。

[0196] 磁泳区域903配置成包括穿越微流体通道延伸的磁场梯度。例如,微流体装置900a可以包括与磁泳区域903相邻的一个或多个磁体907,其中磁体907创建磁场梯度。为了易于图示,磁体907在页面的底部被示出以指示其沿着流体流动的纵向方向相对于微流体装置(900a、900b和900c)的位置。然而,应当理解,在操作中,磁体907更可能定位在装置900a、900b和900c中的每一个的磁泳区域903中的流体通道上方和/或下方(即,沿着图9A-9C中的x轴)。

[0197] 再次参考图9A,两种不同类型的颗粒包括在引入到聚集区域901中的流体中。第一类型的颗粒可以包括结合到磁标记(例如磁珠)的期望分析物(例如,细胞,血小板,或细菌)。第二类型的颗粒可以包括实质上没有磁性成分的第二分析物。当两种不同类型的颗粒通过聚集区域901时,颗粒浓缩在第一流体流动区域中并且沿着流体流线聚集。聚集的颗粒然后传到磁泳区域903中,其中磁场梯度对结合到磁珠的颗粒施加力。通过场梯度与磁珠的相互作用生成的力使磁标记颗粒偏离原始流体流线的传播方向。特别地,磁标记颗粒遵循磁梯度并且形成新的颗粒流。磁梯度的方向和因此磁标记颗粒所遵循的路径可以取决于磁泳区域903附近的磁体907的取向和布置。两个不同的颗粒流(即包含磁标记颗粒的流和非磁标记颗粒流)然后可以在磁泳区域903的输出处独立地被收集(在图9A中称为“标记颗粒”和“未标记颗粒”)。

[0198] 在图9B中所示的第二例中,颗粒移动区域以与图2中的装置200类似的方式被构造。再次,将包含结合到磁标记的第一类型的颗粒和实质上不具有磁性成分的第二类型的颗粒的流体引入聚集区域901中。流体移动和惯性升力(或例如,惯性聚集力)将两种类型的颗粒聚集在岛结构的两个阵列之间的第一流体流动区域内。聚集颗粒然后离开颗粒移动区域并且流体地联接到磁泳区域903的微流体通道中。一旦颗粒进入磁泳区域903,由磁体907生成的磁场梯度对磁标记颗粒施加力,使它们从原始聚集流的传播方向转向。在图9B的示例中,从聚集区域901流动的颗粒流包括磁标记颗粒的第一集合、磁标记颗粒的第二集合和未标记颗粒的第三集合。如图9B中所示,梯度布置成使得磁标记颗粒被偏转到通道的顶部或底部,而未标记颗粒继续遵循它们的原始聚集轨迹通过磁泳区域703。再次,一旦分离,标记和未标记颗粒可以在磁泳区域903的输出处被收集以用于提取或进一步分析。

[0199] 图9C中所示的第三示例以与图9B相反的方式揭示颗粒的分选。图9C中的聚集区域901以与图3中所示的装置300类似的方式被构造。特别地,聚集区域901包括初始岛结构,其配置成将包含磁标记和未标记颗粒的进入流体分离到两个独立通道(即,第二流体通道(图9C中的上部通道)和第三流体通道(图9C中的下部通道)中,其中颗粒聚集到流线中。一旦聚集的颗粒流传到磁泳区域903的微流体通道中,由磁体907生成的磁场梯度使磁标记颗粒朝着第一通道(图9C中的中心通道)的中心转向并形成第三聚集流。在由磁梯度偏转之后,留下具有未标记颗粒的第二和第三流。再次,一旦分离,未标记和标记颗粒两者可以在磁泳区域903的输出处被收集以用于提取或进一步分析。

[0200] 尽管图9A-9C中所示的示例在独立阶段中执行颗粒的聚集和磁分离,但是这样的功能可以在单个阶段中被执行。图9D-9F是示意图,示出了微流体装置(900d、900e、900f)的

三个不同示例,其依赖于与本文中所述的颗粒移动技术一起使用磁泳以在单个阶段中沿着不同的相应流线聚集不同类型的颗粒。再次,微流体装置900包括一个或多个磁体907以产生磁场梯度。图9D-9F中的磁体907在页面的底部被示出以指示它们沿着流体流动的纵向方向相对于微流体装置(900d、900e和900f)的位置。然而,应当理解,在操作中,磁体907更可能定位在装置900d、900e和900f中的每一个的磁泳区域903中的流体通道上方和/或下方(即,沿着图9D-9F中的x轴)。

[0201] 参考图9D,聚集区域以与图1中所示的装置100类似的方式被构造。也就是说,聚集区域包括通过岛结构的阵列与第一微流体通道分离的第二微流体通道。与图9A-9C相比,来自磁体907的磁场梯度穿越聚集区域的第二和第一流体流动区域延伸。当包含磁标记颗粒和未标记颗粒两者的流体被引入颗粒移动区域中时,颗粒最初由于惯性升力被限制在第一微流体通道内。然而,磁标记颗粒可以经历克服惯性升力的来自磁场的力(取决于磁场梯度的布置)。在某些实现方式中,磁生成的力可以使标记颗粒从未标记颗粒流转向并且通过岛结构之间的开口。

[0202] 图9E-9F是示意图,示出了将颗粒移动区域与磁泳组合的微流体装置的替代配置。类似于图9D的示例,图9E-9F中所示的示例示出了磁场梯度如何可以使磁标记颗粒从最初聚集的颗粒流转向并且形成新聚集的颗粒流。在图9E中,磁标记颗粒通过岛结构之间的开口偏转到第二(图9E中的上部通道)和第三(图9E中的下部通道)微流体通道,而聚集的未标记颗粒流保留在位于岛结构的两个阵列之间的第一(图9E中的中心通道)微流体通道中。在图9F中,靠近岛结构的惯性升力将未标记颗粒沿着聚集流保持在第二(图9F中的上部通道)和第三(图9F中的下部通道)微流体通道中。相比之下,由磁体907生成的磁场梯度使磁标记颗粒通过岛结构中的开口传到位于第二和第三微流体通道之间的中心微流体通道中。

[0203] 用于标记颗粒的磁标记可以包括具有一个或多个内部磁芯和外部涂层(例如封端聚合物)的球珠状材料。磁芯可以是单金属(例如Fe、Ni、Co)、双金属(例如FePt、SmCo、FePd和FeAu)或者可以由铁氧化物(例如 Fe_2O_3 、 Fe_3O_4 、 MnFe_2O_4 、 NiFe_2O_4 、 CoFe_2O_4)制成。磁标记的尺寸可以是纳米或微米,并且可以是抗磁性、铁磁性、顺磁性或超顺磁性,其中尺寸对应于平均直径或平均长度。例如,磁标记可以具有约 $1\mu\text{m}$ 、约 600nm 、约 500nm 、约 300nm 、约 280nm 、约 160nm 或约 100nm 的尺寸。其它标记尺寸也是可以的。标记的外涂层可以增加其水溶性和稳定性,并且也可以提供用结合配基进一步进行表面处理的位点。磁标记均具有在约 1kA/m 至约 100kA/m 的范围内的磁矩。例如,在一些实现方式中,磁标记具有约 35kA/m 的磁矩

[0204] 一般而言,磁标记可以使用结合配基结合到流体中的目标分析物。结合配基是合成的或天然的分子,其特异性结合或以其它方式交联(例如共价或非共价结合或杂交)到靶分子或与另一个结合配基(或在某些实现方式中,与聚集诱导分子)。例如,结合配基可以是与特异性互补核酸靶杂交的合成寡核苷酸。结合配基也可以是针对抗原或任何蛋白质-蛋白质相互作用的抗体。而且,结合配基可以是与相应靶标结合的多糖。在某些实现方式中,可以设计或选择结合配基,从而在与另一结合配基结合时用作靶分子(例如溶液中的酶)的底物。结合配基包括例如寡核苷酸、多肽、抗体和多糖。作为示例,链霉亲和素每个分子具有将被生物素识别的四个位点(结合配基)。对于任何给定的分析物,例如具有特异性表面标记的特定类型的细胞,典型地有相关领域的技术人员已知的许多结合配基。

[0205] 例如,在以下文献中详细讨论了某些标记方法和结合配基技术:1999年5月21日提

交的、名称为“Microfabricated Cell Sorter for Chemical and Biological Materials”的美国专利No.6,540,896;1997年2月26日提交的、名称为“Method for Magnetically Separating Cells into Fractionated Flow Streams”的美国专利No.5,968,820;以及2001年6月5日提交的、名称为“Integrated Active Flux Microfluidic Devices and Methods”的美国专利No.6,767,706。

[0206] 可以处理磁标记的表面以呈现官能团(例如, $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{HS}$, $-\text{C}_n\text{H}_{2n-2}$),其可以用作交联剂以随后将磁标记附接到目标分析物(例如,抗体、药物)。在一些情况下,表面处理使得磁标记基本上是亲水的或疏水的。表面处理可包括使用聚合物,包括但不限于合成聚合物(如聚乙二醇或硅烷)、天然聚合物、合成或天然聚合物的衍生物、及其组合。

[0207] 在一些实现方式中,表面处理不会导致磁标记周围的连续膜,而是导致附接到磁标记并且包围磁标记的延伸聚合物链的“网”或“云”。示例性聚合物包括但不限于多糖和衍生物(例如葡聚糖、拉那南、羧基葡聚糖、羧甲基葡聚糖和/或还原的羧甲基葡聚糖)、PMMA聚合物和聚乙烯醇聚合物。在一些实现方式中,这些聚合物涂层提供了靶标配基和/或结合基团可以比标记更容易结合的表面。例如,在一些实现方式中,用10kDa葡聚糖层覆盖磁标记(例如,氧化铁纳米颗粒)并且然后与表氯醇交联以稳定涂层并形成交联的磁标记。

[0208] 关于磁标记的制造、修改和使用的附加信息可以在例如PCT公报No.WO/2000/061191,美国专利申请公报No.20030124194,美国专利申请公报No.20030092029和美国专利申请公报No.20060269965中找到,其每一个通过引用完整地并入本文。

[0209] 微流体装置的制造

[0210] 根据本公开的制造微流体装置的方法如下所述。首先提供衬底层。衬底层可以包括例如玻璃、塑料或硅晶片。可以使用例如热或电子束沉积在衬底层的表面上形成可选的薄膜层(例如 SiO_2)。衬底和可选的薄膜层提供了可以在其上形成微流体区域的基部。衬底的厚度可以落在约 $500\mu\text{m}$ 至约 10mm 的范围内。例如,衬底210的厚度可以为 $600\mu\text{m}$, $750\mu\text{m}$, $900\mu\text{m}$, 1mm , 2mm , 3mm , 4mm , 5mm , 6mm , 7mm , 8mm ,或 9mm 。其它厚度也是可能的。

[0211] 在提供衬底层之后,在衬底层上方形成微流体通道。微流体通道包括颗粒移动区域的不同流体流动路径以及系统的其它微流体部件,其包括任何过滤部分、惯性聚集部分和磁泳部分。也可以使用用于微流体装置的其它处理和分析部件的微流体通道。通过在限定流体通道区域的模具中沉积聚合物(例如聚二甲基硅氧烷(PDMS)、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)、聚碳酸酯(PC)或环烯烃聚合物(COP))形成微流体通道和盖。一旦固化,聚合物然后被转移并结合到衬底层的表面。例如,PDMS可以首先倒入限定通道的微流体网络的模具(例如,用两步光刻(MicroChem)制造的SU-8模具)中。然后将PDMS固化(例如,在 65°C 下加热约3小时)。在将固体PDMS结构转移到装置之前, O_2 等离子体处理衬底层的表面以增强结合。替代地,微流体通道和盖可以用其它材料制成,例如玻璃或硅。

[0212] 应用

[0213] 本文中所述的新型微流体技术和装置可以用于各种不同的应用中。

[0214] 离心替代

[0215] 本文中公开的颗粒移动技术和装置可以用作离心的替代。一般而言,离心被理解为包括通过向流体施加离心力浓缩流体内的亚组分。典型地,该过程需要具有易于磨损和破损的移动部件的装置。而且,移动部件需要复杂且昂贵的制造过程。离心的另一问题在于

它是典型地在闭合系统中应用的过程,即,离心需要将样品手动转移进出离心机。

[0216] 相比之下,当前公开的技术能够使用相对简单的微结构显著地增加流体组分的浓度而不需要移动部件。这些技术可以作为单个开放式微流体系统的一部分实现,使得流体样品可以在没有手动干扰的情况下被转移进出颗粒移动区域。另外,颗粒移动可以扩展到需要大产量(即可以处理的流体的体积速率)的装置。例如,本文中公开的装置可以配置成能够获得高达10,25,50,75,100,250,500,1000,5000,或10000 $\mu\text{l}/\text{min}$ 的流体流动。其它流速也是可能的。例如,使用图1中的装置100作为示例,如果第二和第一微流体通道106、108具有约50 μm 的深度和约50 μm 的宽度,则装置100可以能够获得高达约5 mL/min 的组合样品流速。改变通道尺寸可以改变装置能够达到的最大体积流速。此外,复用多个通道可以能够获得更加高的流速。因此,在某些实施方式中,与传统的离心过程相比,颗粒移动技术可提供显著的成本和节省时间的优点。离心机装置的微流体替代可能有用的应用的示例包括骨髓和尿液分析。

[0217] 检测传染源

[0218] 另外,本文中公开的颗粒移动技术可以用作研究平台的一部分以研究感兴趣的分析物(例如蛋白质、细胞、细菌、病原体和DNA),或者用作用于诊断患者中的潜在疾病状态或感染源的诊断测定的一部分。通过分离和聚集流体样品内的颗粒,本文中所述的微流体装置可以用于测量许多不同的生物靶,包括小分子、蛋白质、核酸、病原体和癌细胞。下面描述另外的示例。

[0219] 罕见细胞检测

[0220] 本文中所述的微流体装置和方法可用于检测罕见细胞,例如血液样品中的循环肿瘤细胞(CTC)或怀孕女性的血液样品中的胎儿细胞。例如,可以在血液样品中增强原发肿瘤细胞或CTC的浓度以用于快速和全面地分析癌症。通过将本文中所述的颗粒偏转技术与磁泳组合(参见图7),可以检测不同类型的细胞(例如,用于心脏病的循环内皮细胞)。因此,微流体装置可以用作强大的诊断和预后工具。靶向和检测细胞可以是癌细胞、干细胞、免疫细胞、白细胞或其它细胞,包括例如循环内皮细胞(使用上皮细胞表面标记物的抗体,例如上皮细胞粘附分子(EpCAM)),或循环肿瘤细胞(使用癌细胞表面标记物的抗体,例如黑素瘤细胞粘附分子(CD146))。系统和方法也可以用于检测小分子、蛋白质、核酸或病原体。

[0221] 流体交换

[0222] 本文中所述的微流体装置和方法可以用于将细胞从一种载体流体移动到另一种载体流体。例如,所公开的颗粒移动技术可用于将细胞移动进入或离开包含试剂的流体流,例如药物、抗体、细胞染色剂、磁珠、冷冻保护剂、裂解试剂和/或其它分析物。

[0223] 单个颗粒移动区域可以包含移动细胞将通过其中的许多平行的流体流(来自许多入口)。例如,白血细胞可以从血液流移动到包含染色试剂的流中并且然后进入缓冲液流。

[0224] 在生物处理和相关领域中,所描述的装置和技术可以用于使细胞能够从旧培养基(包含废产物)无菌、连续转移到新培养基。类似地,细胞外液和细胞产物(例如抗体、蛋白质、糖、脂质、生物药物、醇和各种化学物质)可以以无菌、连续方式从生物反应器中提取,同时细胞保持在生物反应器内。

[0225] 流体灭菌和清洁

[0226] 本文中所述的微流体装置和方法可以用于从流体去除病原体、污染剂和其它特定

污染物。通过穿越流体流线移动污染物,污染物可以从流体样品被去除并作为独立的废物流被收集。

[0227] 收获用于生物燃料的藻类

[0228] 从生长介质收获藻类是生物燃料的生产的主要费用,原因是藻类在非常稀的悬浮液中以近中性浮力生长,使藻类物质的高效提取和浓缩变得困难。本文中所述的微流体装置和方法可以提供收获藻类的高效手段,其不取决于密度或过滤。所描述的装置和技术使生长箱中的藻类能够从培养基被提取并且浓缩至高体积密度。这可以作为单个步骤或连续过程的一部分完成。另外,由于本文中所述的装置可以以尺寸依赖的方式对细胞进行分选,因此它们可以被设计成仅对已达到成熟的较大的藻类进行分选和浓缩,将较小的、未成熟的藻类返回到生长箱。

[0229] 示例

[0230] 在以下示例中进一步描述本发明,所述示例不限制在权利要求中描述的本发明的范围。

[0231] 装置制造

[0232] 进行各种实验以分析具有不对称弯曲通道的微流体装置的行为(例如参见以上标题为“增加颗粒浓度/减小流体体积”的部分和图5中所示的装置),其将惯性聚集与流体提取组合以实现微粒富集流体样品的体积减少。也就是说,装置包括其中使用惯性聚集技术聚集颗粒的聚集通道(例如参见图5中的通道508)和流体从聚集通道提取到其中的无颗粒通道/第二流体流动通道(例如参见图5中的通道50)。在下面的示例1至5中描述实验。那些示例中使用的装置如下设计和制造。

[0233] 对于每个微流体装置,使用标准SU8光刻和软刻技术来分别制造主模具和PDMS微通道。简言之,负光致抗蚀剂SU8-50 (Microchem Corp, 马萨诸塞州)以2850RPM旋转至约50 μ m的厚度,通过限定通道的微流体网络的聚酯乳液印刷光掩模 (Fineline Imaging, 科罗拉多州) 暴露于紫外光,并且在BTS-220SU8显影剂 (JT Baker, 新泽西州) 中显影以形成凸模具。然后将Sylgard 184弹性体基料和固化剂 (Dow Corning, 密歇根州) 的10:1比率混合物倒在凸模具上,使其在烘箱中在65 $^{\circ}$ C下固化8小时,并且然后从SU8主模具中取出以形成具有图案化通道的微流体装置盖。使用定制的尖锐针尖对通道的入口孔和出口孔冲孔。然后使用低残留胶带和结合到预清洁的1mm厚玻璃显微镜载玻片的氧等离子体清洁装置以去除微粒。

[0234] 对于PDMS的高压变形是关注点的实验,改为使用环氧树脂装置。使用通过用十三氟-1,1,2,2-四氢辛基-三氯硅烷 (Gelest) 处理PDMS通道并且然后将PDMS倒在硅烷化通道上产生的PDMS模具构造环氧树脂装置。在65 $^{\circ}$ C下固化24小时之后,将模具与硅烷化通道仔细地分离。使用0.75mm直径的Harris Uni-Core活检冲孔器在入口和出口处在PDMS模具中冲孔。将特氟龙涂层线 (0.028英寸直径, McMaster-Carr) 轻轻地插入这些孔中以使PDMS模具的表面不变形。然后将Tygon管 (.02" I.D., .06" O.D.) 引导到特氟龙涂层线上并从模具表面悬浮 \sim 1mm。将Epoxacast 690 (Smooth-On) 混合并脱气30分钟,然后倒入模具中。在填充模具的同时,通过在平坦的PDMS表面的顶部的一滴环氧树脂上铺设玻璃载玻片将环氧树脂涂覆在载玻片上。约28小时之后,将装置暂时冷却至-22 $^{\circ}$ C以防变形,除去特氟龙线并且将装置从模具取出。然后将玻璃载片从PDMS板取出并加热至55 $^{\circ}$ C,并且将装置压在载玻片上

以确保结合。

[0235] 颗粒和细胞悬浮液

[0236] 使用荧光聚苯乙烯珠和白血细胞作为示例性颗粒,在宽范围的流动条件下测试下述示例中使用的装置。使用4.4 μm 直径的蓝色荧光珠 (Polysciences)、9.9 μm 直径的绿色荧光珠 (ThermoFisher Scientific) 和15 μm 直径的红色荧光珠 (Invitrogen) 产生聚苯乙烯颗粒悬浮液。每一种在1x PBS,0.1%吐温20和碘克沙醇的当量密度溶液 (1.05g/mL) 中悬浮至0.1的最后长度分数。使用具有缓冲溶液的共流的确定性横向位移分离白血细胞(血沉棕黄层)。

[0237] 荧光计数和细胞计数

[0238] 使用自动化Nikon TiE倒置显微镜用Retiga 2000R单色相机以及VisionResearch Phantom v4.2高速单色相机实现流体样品的荧光和高分辨率成像。

[0239] 使用血细胞计数器和Nageotte室在白血细胞产率实验中以取决于输出细胞浓度的稀释度测量颗粒浓度。

[0240] 示例1:无细胞层生长和虹吸百分比

[0241] 组合的虹吸和惯性聚集设计具有快速作用的惯性力的优点,其在微流体通道的壁附近生成无颗粒层。然后可控地将该无颗粒流体层虹吸掉,再次留下颗粒更靠近惯性力最强的壁。可以重复聚集和虹吸的过程,直到获得期望的体积减小。当使用微流体装置来增强流体内的颗粒的浓度或提取无颗粒流体时,重要的设计考虑可以包括控制相对于无颗粒层的形成的动力学被虹吸的流体的百分比。在惯性聚集系统中,聚集行为是包括通道几何形状以及流速的许多参数的累积结果(参见例如,Di Carlo,D. “Inertialmicrofluidics”, Lab Chip 9,3038 (2009),以及Martel,J.&Toner,M. “InertialFocusing in Microfluidics”,Annual Review of Biomedical Engineering 16,371-396 (2014),其通过引用完整地并入本文)。例如,弯曲结构在实现给定通道长度上的聚集方面通常比平面结构更有效,而在一些实施方式中,对于流速的变化也更为敏感。

[0242] 使用类似于关于图5-6所述的结构的不对称弯曲结构,我们针对聚集通道宽度的范围(在50 μm 至200 μm 之间)和在取决于通道宽度的流速的范围上(10 $\mu\text{L}/\text{min}$ 至3000 $\mu\text{L}/\text{min}$)表征无颗粒层的形成。测试的每个装置包括一系列五个聚集虹吸单元对(参见例如图6),接着扩展成500 μm 宽的直线部分。在基于穿越通道宽度的10%相对强度阈值完全扩张通道之后在聚集单元的下游测量所得到的输出流体的无颗粒层宽度(即,强度归一化为0%至100%之间,其后识别强度达到10%的位置,参见例如Martel,J.M.&Toner,M. “Particle Focusing in Curved Microfluidic Channels”,Sci.Rep 3,1-8 (2013),其通过引用完整地并入本文)。

[0243] 将每个通道宽度的最佳流速下的无颗粒层的宽度彼此进行比较,如图10中所示。具体地,图10示出了“无细胞分数”对流速,其中每个数据点表示每个不同尺寸的通道的没有颗粒的流体的最大分数(穿越通道宽度测量)。绘图之下的图例表示通道宽度。从图10中所示的图形可以看出,较窄的通道比较宽的通道获得明显更高的最大无颗粒层宽度(50 μm 宽-38%、75 μm -46%、100 μm -42%、125 μm -30%、150 μm -15%、200 μm -13%)。对于较宽的通道,最佳流速(获得最大无颗粒层宽度的流速)的+/-50%的范围上的无颗粒层宽度的变化较小(50 μm 宽-12%、75 μm -23%、100 μm -16%、125 μm -15%、150 μm -4.6%、200 μm -5.5%)。

[0244] 使用参考数据,我们确定最佳流速 Q_{optimal} (即,导致无颗粒自由层形成的最大宽度的流速)与聚集单元宽度之间存在近似线性关系, $w_{\text{focus}} = 1.0911e^{-07} * Q_{\text{optimal}} (\mu\text{L}/\text{min}) + 4.4789e^{-05}\text{m}$ 。基于前述关系,可以产生保持高水平的无颗粒层形成效率的装置,原因是流体从聚集通道被虹吸并且通过聚集通道的流速减小。

[0245] 也研究了无颗粒层的形成和最大虹吸百分比之间的关系。虹吸百分比是在岛之间的下一个开口处虹吸出的聚集通道中的流动的百分比。虹吸量由聚集和虹吸通道的相对流体阻力确定。特别地,使用一定范围的虹吸百分比(7%、10%、12%和15%)以500微升/分钟的固定输入流量设计一组装置。500微升/分钟的流速被选择以在更窄的更高效的聚集单元宽度的最佳流速范围内。这些装置的聚集性能的比较表明,取决于期望的体积减小因数,虹吸百分比对于10的因数的体积减小必须低于10%,并且对于50的因数的体积减小必须低于7%。体积减小因数相当于浓度因数,并且可以表示为一除以聚集通道中的流动的分数的分数。例如,如果总流动的5%在聚集通道中,则体积减小因数为20。图11包括流动通过微流体装置的聚集-虹吸单元的荧光标记的白血细胞的图像,其中每个图像对应于10的因数的体积减小的不同虹吸百分比。从图像可以看出,在15%虹吸百分比装置中,从聚集通道到第二流体流动通道中的颗粒的损失是很明显的。

[0246] 如前述结果揭示的,组合的虹吸和惯性聚集技术能够以良好调节的方式控制体积减小因数。在一些实现方式中,可以获得特定体积减小因数,由此与输入样品体积无关地为下游分子测定定制特定样品体积。

[0247] 对于下面所述的实验,我们选择了两种具体的设计来进行详细的表征。两种选择的设计是10的因数(“10x”)浓缩器(该装置包括26个聚集-虹吸单元对并且具有10%虹吸百分比)和50的因数(“50x”)浓缩器(该装置包括152个聚集-虹吸单元对并且具有7%虹吸百分比)。

[0248] 示例2:流速依赖性

[0249] 可以在用于执行体积减小和/或增加流体内的颗粒浓度的微流体系统中考虑的另一因素是通过微流体装置的流体样品的流速。因此,也研究了对流速的敏感性。使用隔离的白血细胞(血沉棕黄层),在100微升/分钟至1000微升/分钟的输入流速之间分析10x和50x装置两者的产率。产量在聚集通道中流动的流中的细胞的数量和第二流体流动区域中的细胞的数量之间的相对基础上被计算,或者替代地,作为在聚集通道中流动的流中的细胞的总数量除以聚集通道第二流体流动通道组合中的总细胞。装置的大于95%的高产率在400至600微升/分钟之间被保持,但是超过该范围产率开始显著下降。例如,包含白血细胞的多个独立流开始在1000微升/分钟形成。

[0250] 图12是10x和50x装置两者的相对白血细胞产率对流速的绘图。一般而言,将细胞的输入数量与从聚集通道和第二流动通道组合出来的总细胞进行比较的系统损失(例如,由于在各种容器之间、管道等中的转移中的细胞损失)典型地较低,约10%。对于低于400微升/分钟的流速,产率的下降与聚集的总体缺乏是一致的。例如,在可忽略的惯性效应的情况下,可以预期相当于分流的产率,例如对于10x和50x装置分别为10%和2%。通过将流速从100增加到400微升/分钟的产率的增加指示聚集随着雷诺数改善,原因是惯性效应增加。600微升/分钟之后的产率的减小可能是较高驱动压力下PDMS变形的结果,导致显著不同的聚集模式。

[0251] 输入和输出流速的确切范围取决于使用的颗粒尺寸和通道尺寸。为了有效地获得给定设计的更高产量,可能需要复用通道。

[0252] 示例3:尺寸依赖性

[0253] 惯性力很大程度上取决于正被聚集的颗粒的尺寸。因此,评估组合的惯性聚集和虹吸装置的性能以了解对颗粒尺寸的敏感性。特别地,通过10x和50x装置同时运行各种聚苯乙烯颗粒尺寸(4 μm -10 μm)以便确定从聚集通道偏转到期望“无颗粒”层的第二流体流动区域的颗粒的尺寸范围。图13是前述实验的绘图并且表明较小的颗粒尺寸与较大的颗粒尺寸相比具有较低的相对产率(即,(产物中的总细胞)/(产物中的总细胞+废物中的总细胞))的趋势,即,颗粒越小,颗粒将通过岛结构之间的间隙逸出聚集通道的可能性越大。如果期望高于90%的相对产率,则该阈值的截止颗粒尺寸可以对于10x装置内插为约8.5 μm 并且对于50x装置可以内插为约8 μm 。该微小的差异可能归因于聚集变得对颗粒尺寸更敏感的50x浓缩器的端部的明显更低的速度。

[0254] 显示组合的虹吸和惯性聚集装置对颗粒尺寸的敏感性的前述结果可能导致若干可能有利的应用。例如,尺寸依赖性可以有益于清除生物样品(例如去除细菌),原因是小于截止尺寸的颗粒将从聚集通道虹吸到第二流体流动通道中,因此提高最终样品纯度或减小不期望的生物样品污染。

[0255] 示例4:体积分数依赖性

[0256] 分析的另一因素是颗粒间相互作用对聚集行为的影响。一般而言,常规的惯性聚集装置严格要求输入流体样品浓度低以便获得高质量聚集(参见例如Lee,W.,Amini,H.,Stone,H.A.&Di Carlo,D.“Dynamic self-assembly and control of microfluidic particle crystals”,Proceedings of the National Academy of Sciences 107,22413 (2010),其通过引用完整地并入本文)。理论浓度限制由沿着整个通道长度或长度分数1的平衡位置处的相邻接触颗粒的连续线的极限给出(参见例如Di Carlo,D.“Inertial microfluidics”,Lab Chip 9,3038 (2009),其通过引用完整地并入本文)。我们通过改变以500 $\mu\text{L}/\text{min}$ 处理的白血细胞的输入浓度来研究10x和50x装置的颗粒浓度的操作截止。

[0257] 图14是示出对于不同输入浓度在该流速下的白血细胞的相对产率的绘图。如绘图所示,在每毫升约100万个细胞的输入浓度下存在明显的最大极限。颗粒相互作用将开始影响装置阈值性能的颗粒浓度在装置中达到大约每毫升约80M个细胞。该高颗粒浓度可归因于以下事实:装置的操作成功或产率不要求所有颗粒落在单一流线上。相反,靠近壁面无细胞层形成导致产率减小的高得多的浓度(即,不是要求将所有颗粒包装到单个窄流的有限空间中,我们只需要将颗粒包装到未被虹吸的流体的区域中,其可以容纳远远更多的颗粒)。前述实验结果表明,无颗粒层的形成不如在前所理解的单流或高质量惯性聚集对颗粒体积分数那么敏感(参见例如DiCarlo,D.“Inertial microfluidics”,Lab Chip 9,3038 (2009),其通过引用完整地并入本文)。

[0258] 示例5:获得大于50x体积减小

[0259] 我们也分析了微流体积减小装置获得明显高产量和体积减小的能力。例如,在一些情况下,图1-5中所示的大量装置可以并行操作以增加总体系统产量(即,处理的流体的总体积)。例如,在一种可能的设计中,多个体积减少装置(例如,装置100)可以均具有独立的流体输入以接收流体样品,其中每个装置的输出联接到共同的输出通道以用于收集浓缩

颗粒或过滤流体样品。

[0260] 替代地或附加地,可以串联构造两个或更多个装置,使得在整个系统的每个级(即,装置)处修改颗粒浓度/体积减小。为了揭示串联体积减小的应用,我们构建了包含串联集成装置的微流体系统:特别地,我们使用十个并联的10x装置,其进给到单个50x装置中以获得500x的理论总体积减小。图15是示意图,示出了用于研究体积减小的系统1500的设计的俯视图,所述系统包括十个并联的10x浓缩器装置1502和单个50x浓缩器装置1504。系统1500的操作如下进行:(i) 稀释颗粒进入系统1500并且在独立的10x浓缩器1502中聚集到十个平行聚集的流中;(ii) 然后通过一系列会聚通道1506发送十个平行的聚集流;(iii) 会聚流然后在它们进入50x装置1504时被重新聚集;以及(iv) 最后,所有的颗粒通过50x装置的底部产品出口离开。

[0261] 由于压力要求和PDMS变形,用于实验的系统是用刚性环氧树脂代替PDMS制造的[Eugene J.Lim等人,“Inertio-elastic focusing of bioparticles in microchannels at high throughput”,*Nature Communications*.2014](参见例如Martel,J.M.&Toner,M.“Particle Focusing in Curved Microfluidic Channels”,*Sci.Rep.*3,38(2013),其通过引用完整地并入本文)。为了测试产率,将输入浓度为每毫升100,000的白血细胞引入系统中。集成系统的产率一直在95%以上并且具有~411的体积减少因数。因此,对于包含每毫升100,000个白血细胞的30mL输入样品,样品将通过微流体系统减小到 $73\mu\text{L} \pm 1.2\mu\text{L}$ ($n=5$),具有大于95%的原始细胞($95.7\% \pm 3.6\%$, $n=5$)。411体积减小因数和500设计体积减小因数之间的差异是仅仅几微升的产品的差异,其作为4mL/min的输入流速(泵驱动力限制)和<10微升/分钟的产品流速难以控制。也就是说,当装置设计成执行500x体积减小时,它实际上执行400x的体积减小。据信产品和废物通道的相对阻力略微偏离,使得产品比期望的略微更多。此外,微小的产品体积可能引起一些测量误差。微流体系统中的微小制造缺陷也可以改变该平衡。

[0262] 用于洗涤细胞、交换培养基和/或浓缩样品以便随后测定的离心是生物医学科学中最广泛使用的过程之一。系统1500和上述实验结果表明,微流体虹吸和惯性聚集装置能够以连续流动和无菌方式实现典型地用离心执行的前述常规生物医学任务,产量高达4毫升/分钟(240毫升/小时)并且体积减小因数为20倍或以上。此外,使用组合的虹吸和惯性聚集技术也减轻了微流体装置的产量的典型限制。尽管我们提出了以50x的体积减小因数获得500微升/分钟的产量的非集成的单个装置,但是装置可以进一步并联布置成获得大于40个通道的组(20毫升/分钟或1200毫升/小时),减小较大体积样品的运行时间。

[0263] 尽管提出的大部分改进是关于改善实验方法,但也有关于惯性聚集的性质的关键发现。无颗粒层的形成不如在前预测的单流或高质量惯性聚集对于颗粒体积分数那么敏感的实现可能是直观的,而且也揭示了比较惯性聚集装置性能的新手段。典型地在惯性聚集中使用五种不同的几何形状,并且典型地通过获得最小条纹宽度所需的长度比较每一个。通过将最佳聚集的定义从最小化条纹宽度改变为无颗粒层的动态形成,可以研究并直接比较对不同微流体结构的聚集动力学的新见解。这种新的比较手段可以标准化如何测量这类微流体装置的有效性。

[0264] 其它实施例

[0265] 应当理解,尽管已经结合其详细描述对本发明进行描述,但是前述描述旨在说明

而不是限制由附带的权利要求的范围限定的本发明的范围。

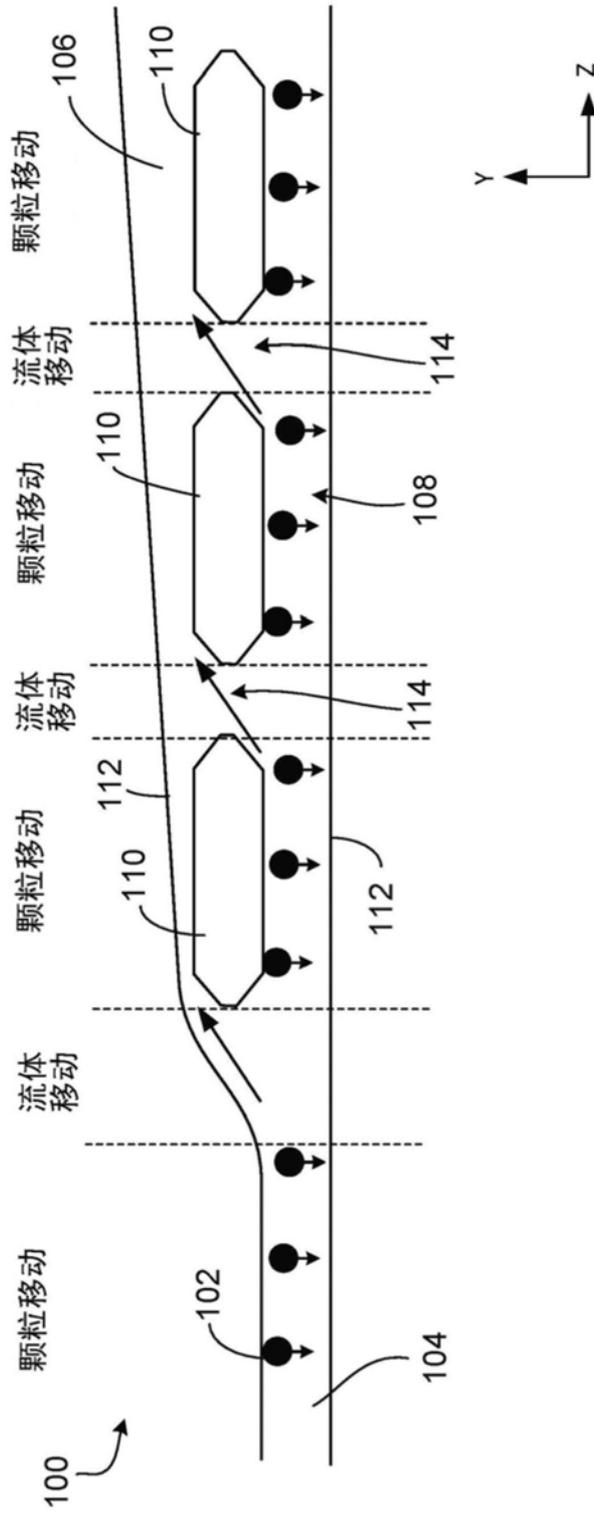


图1

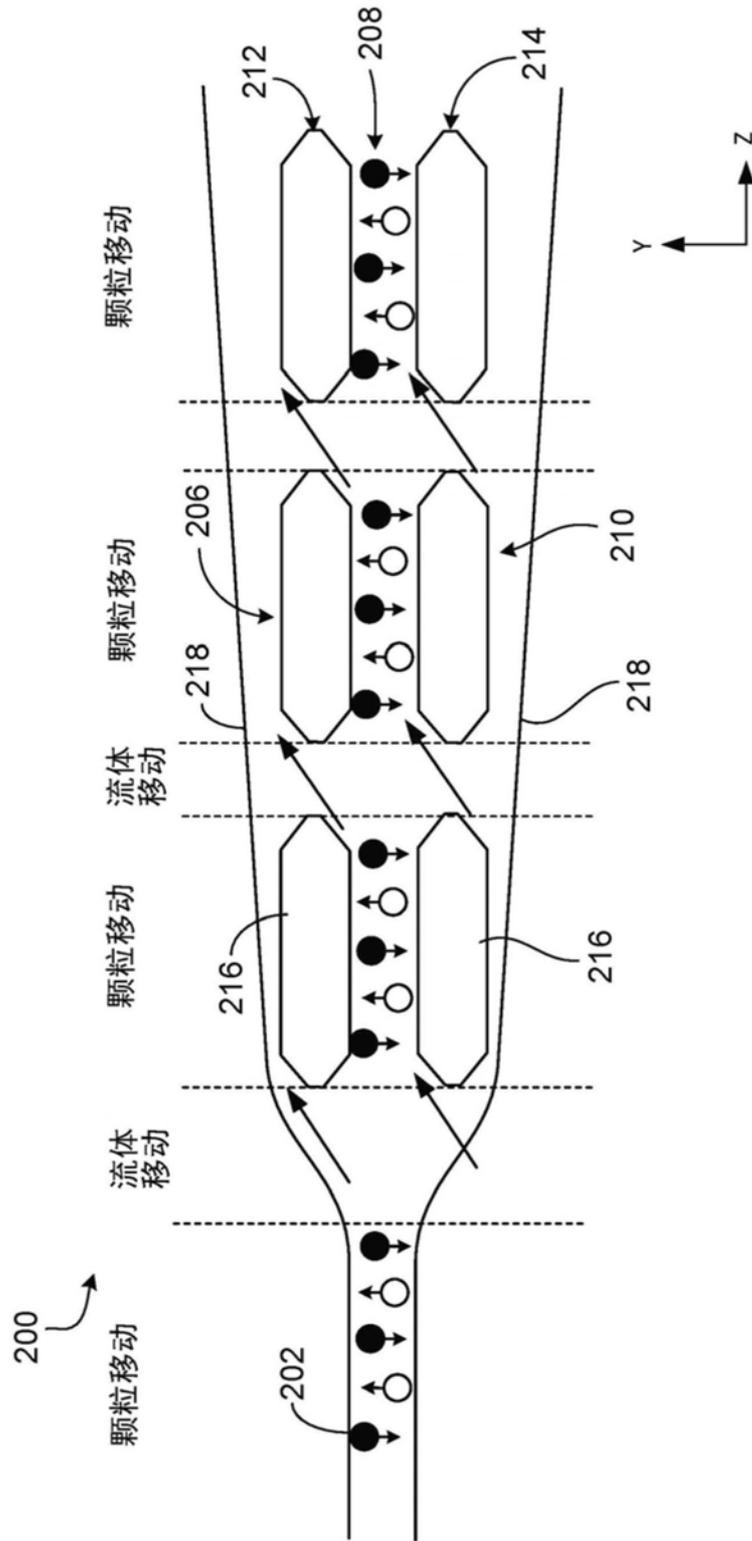


图2

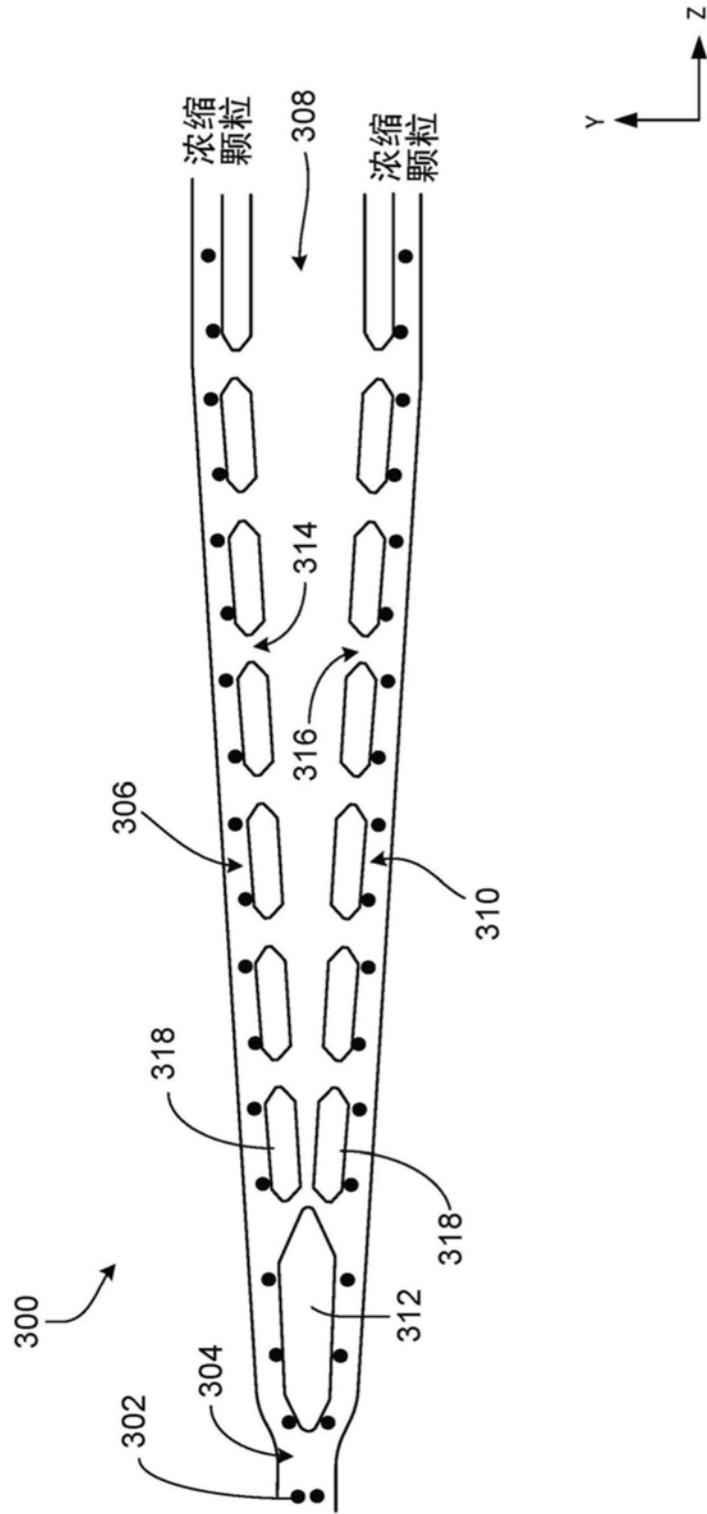


图3

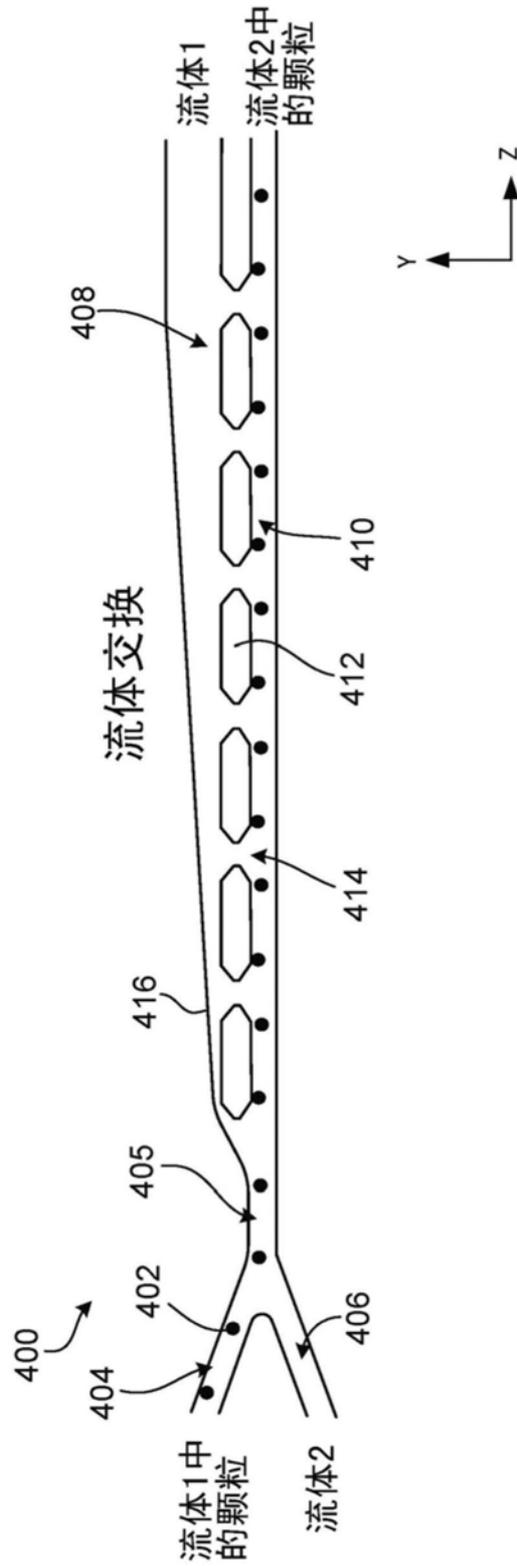


图4

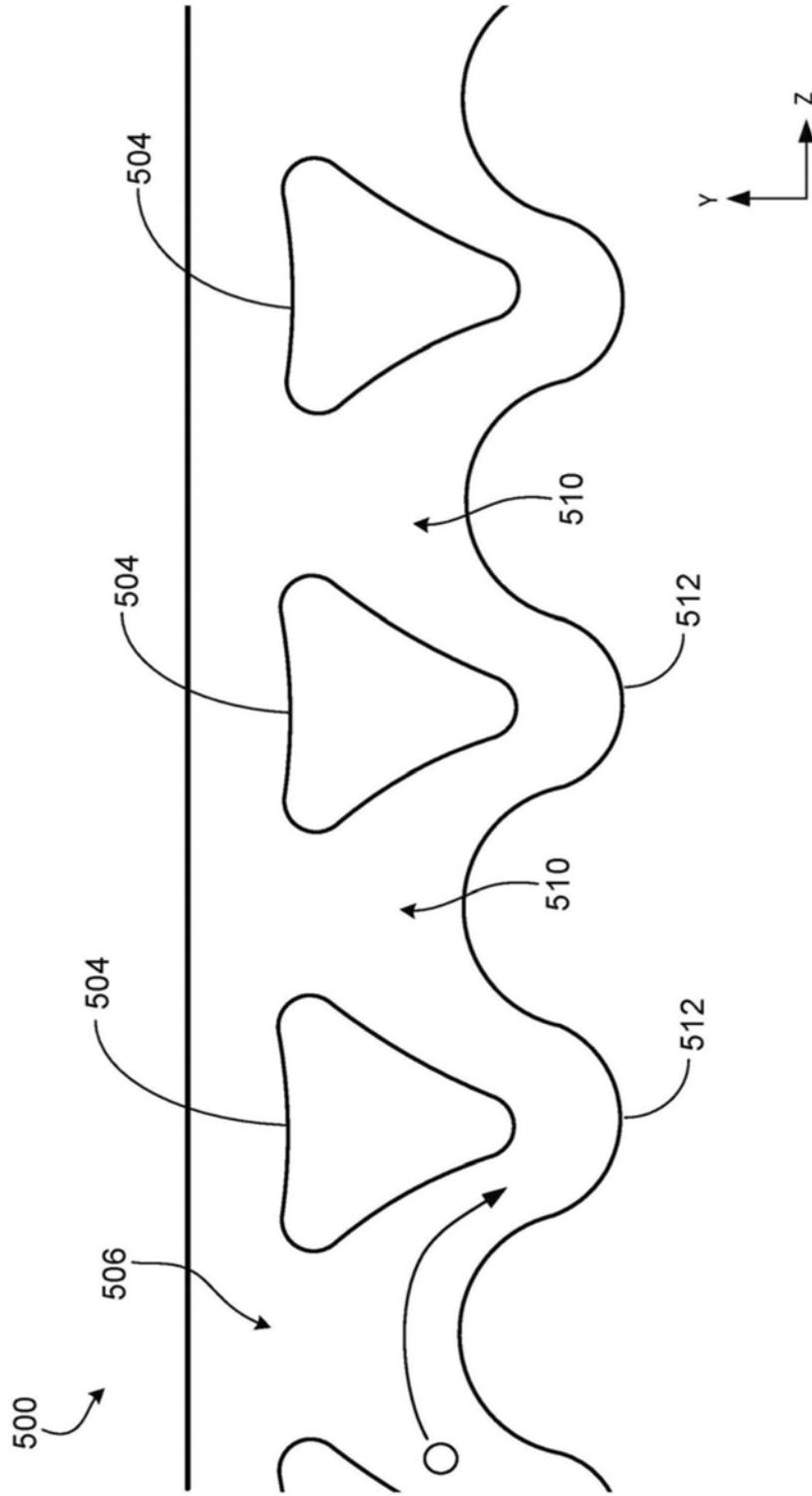
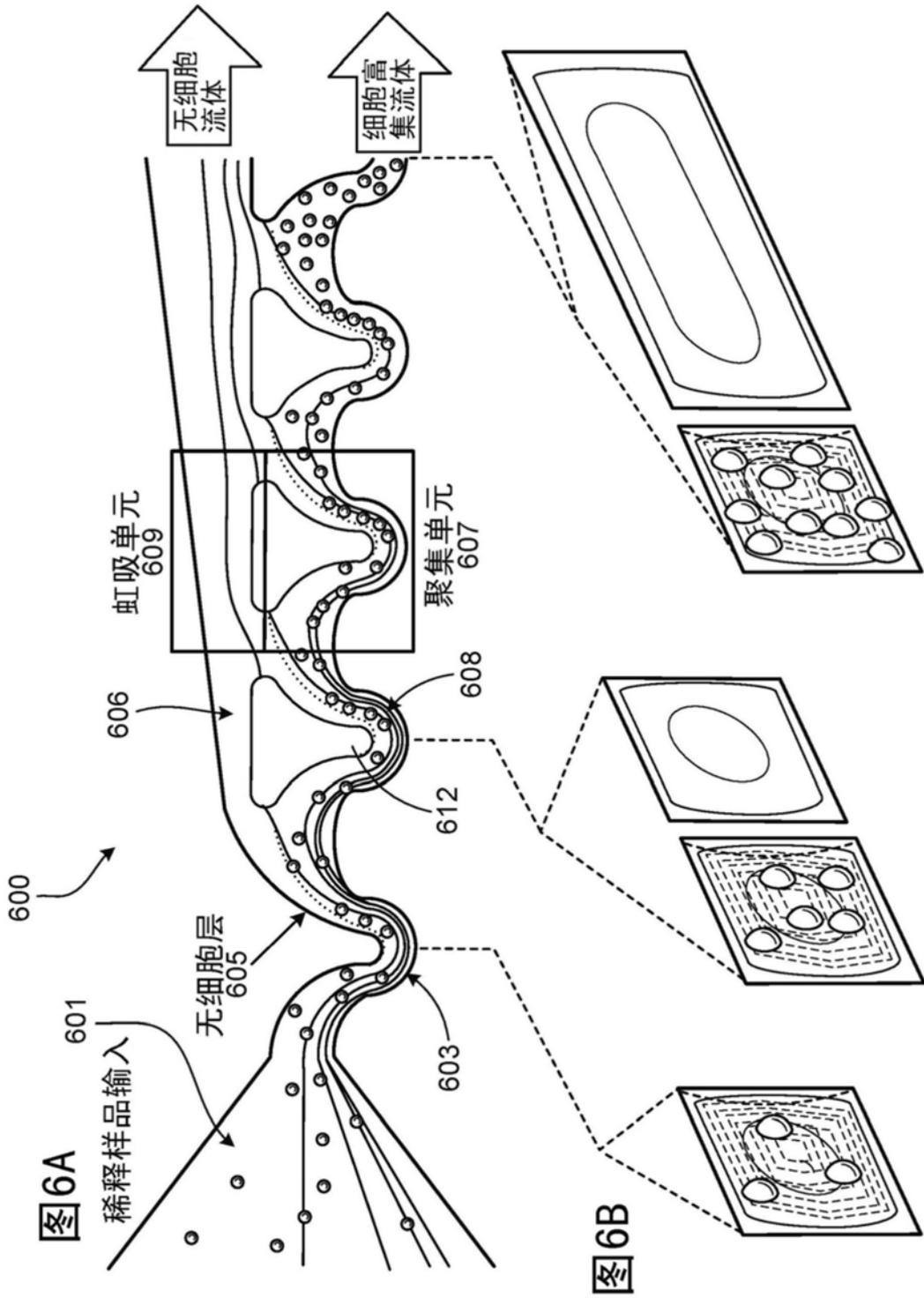


图5



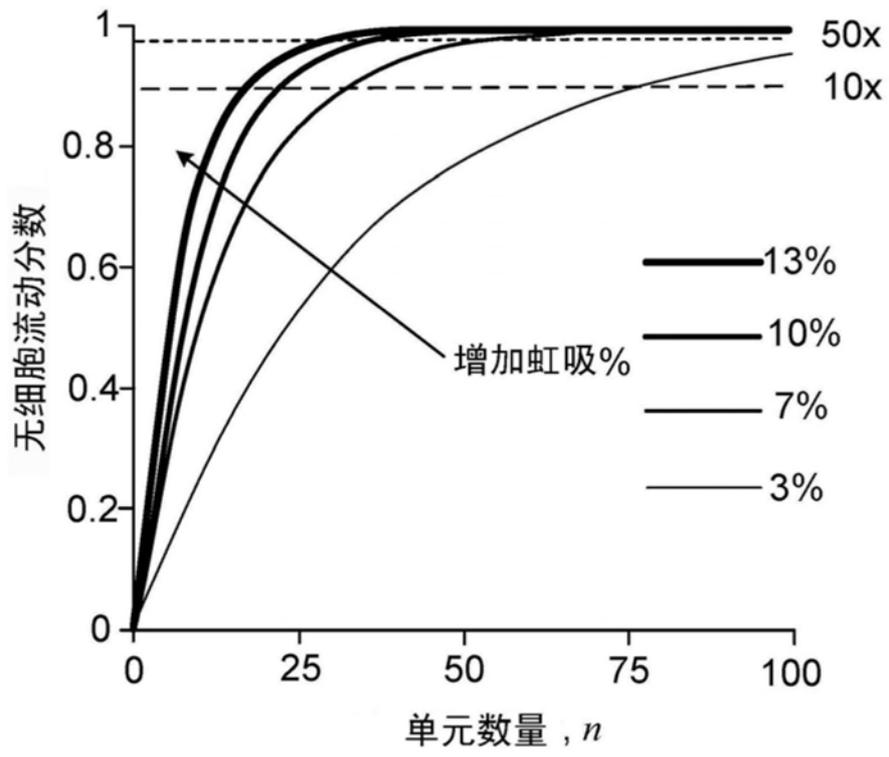


图7

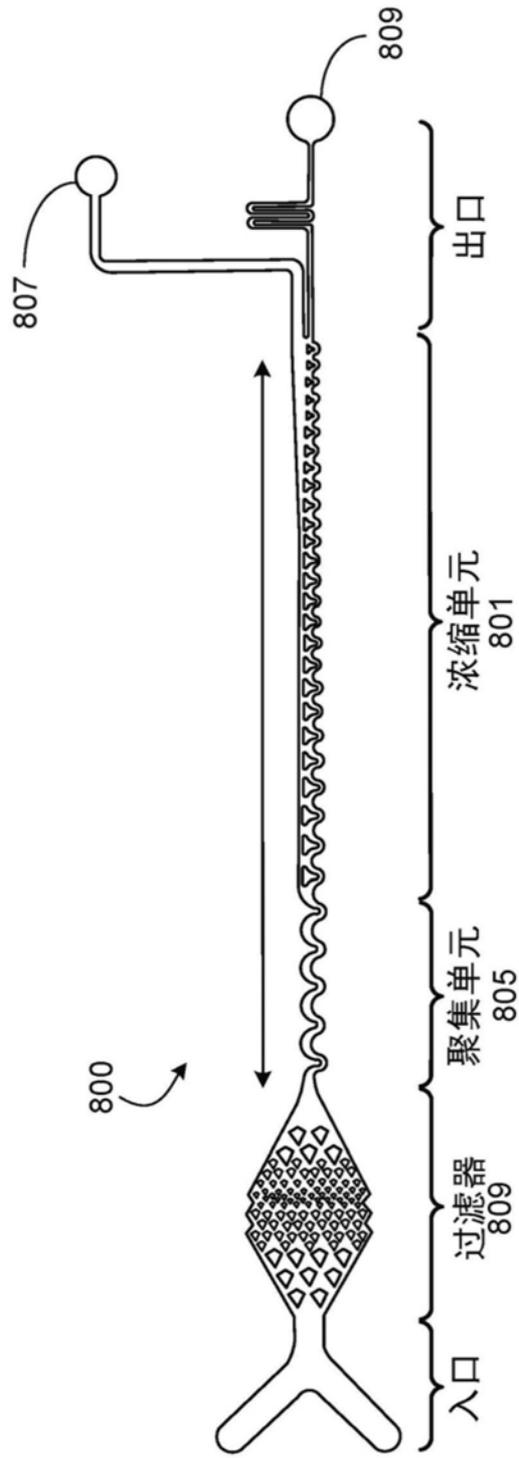
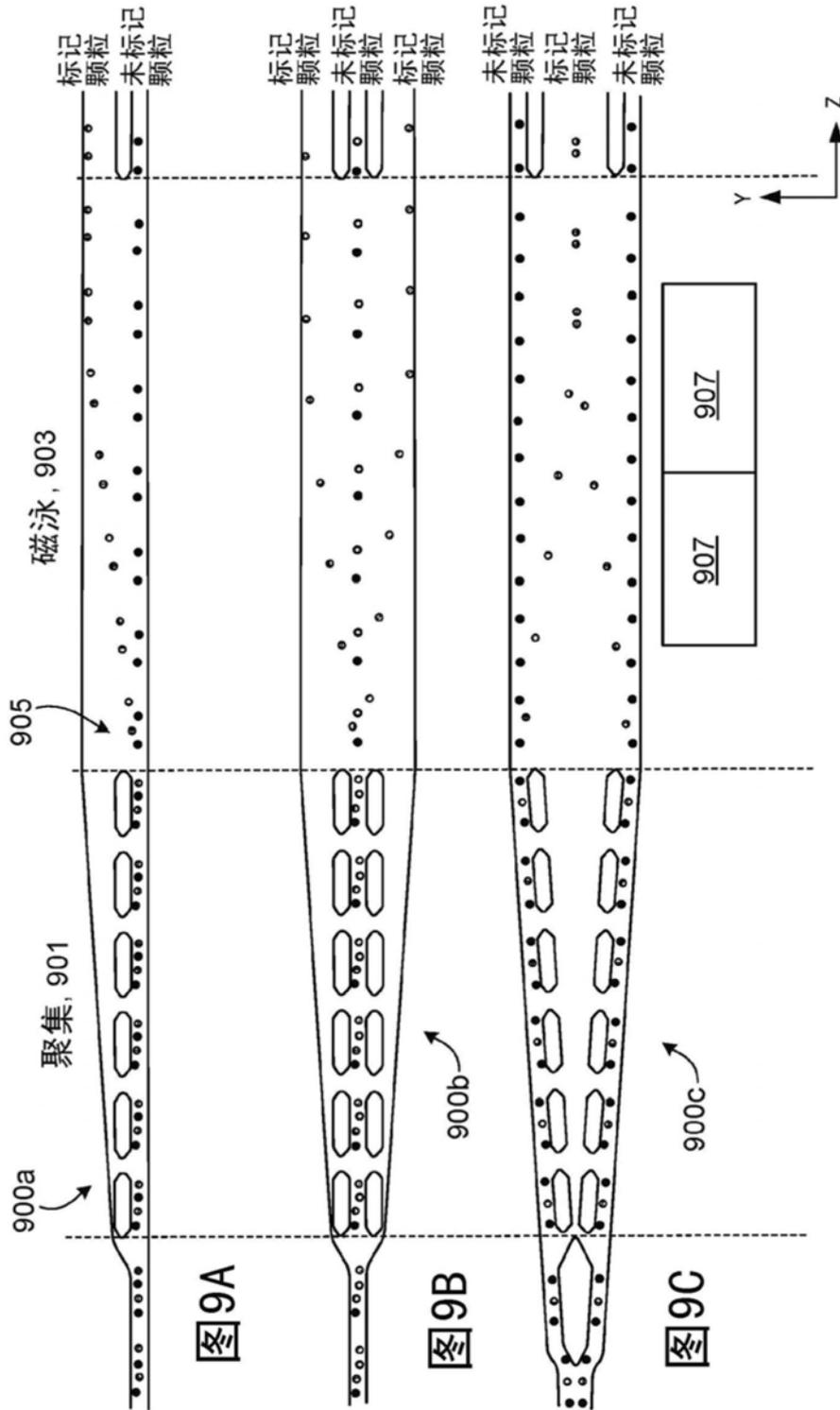
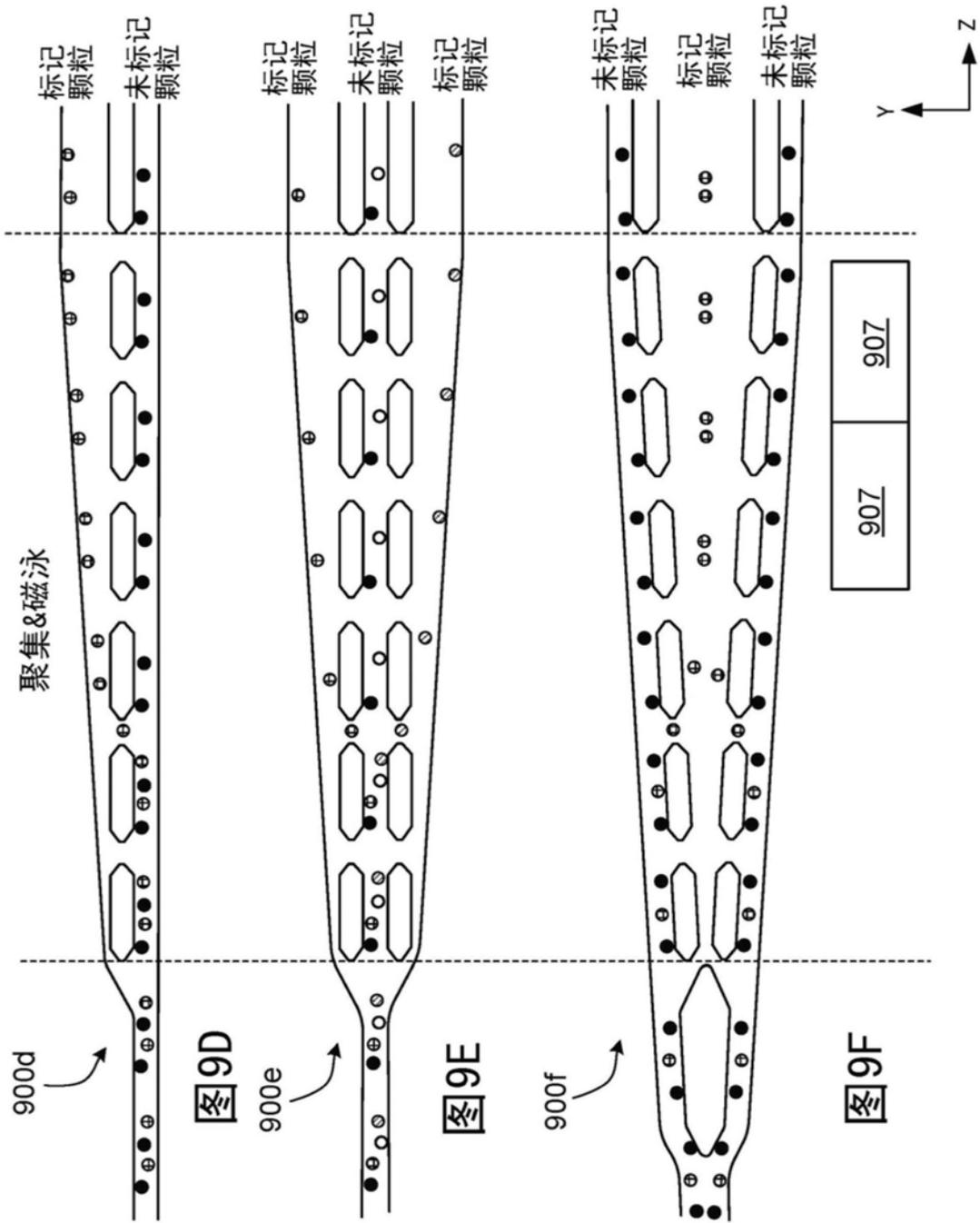


图8





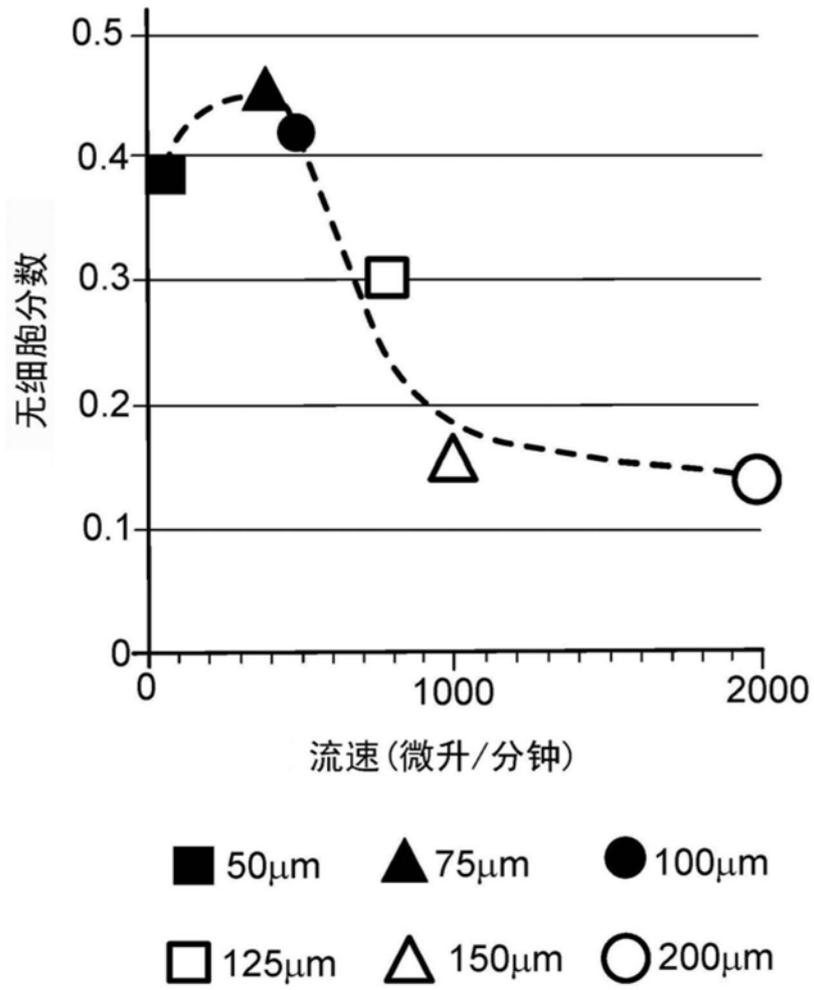


图10

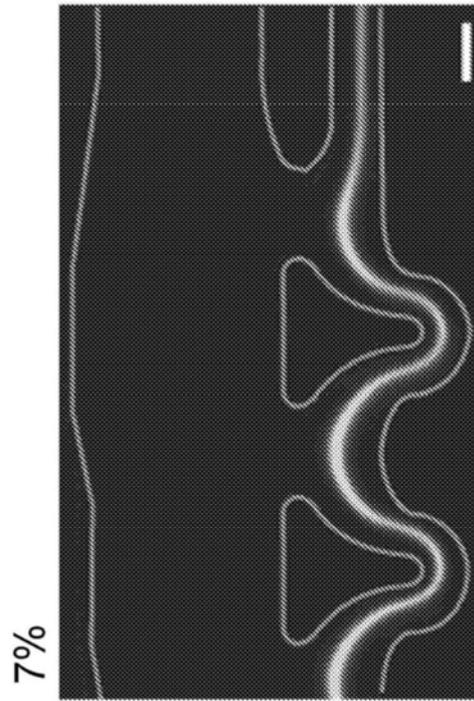


图11A

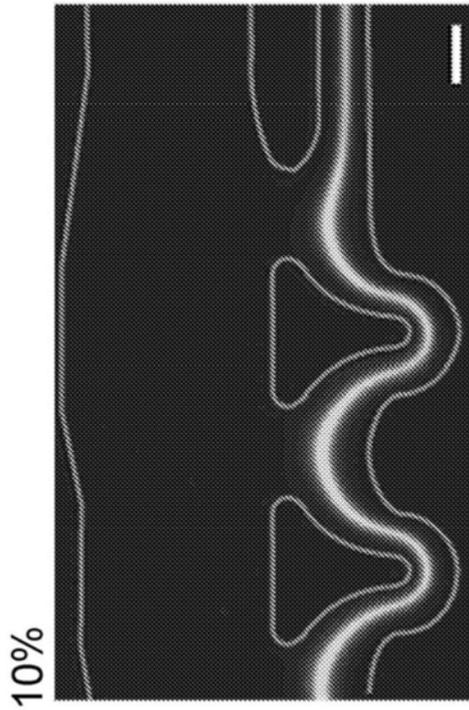


图11B

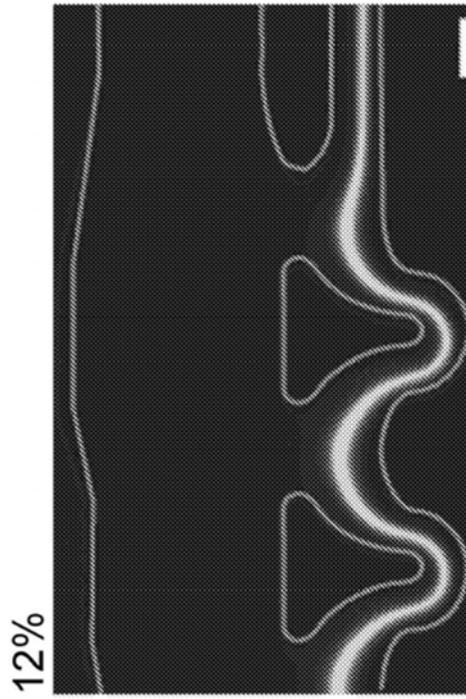


图11C

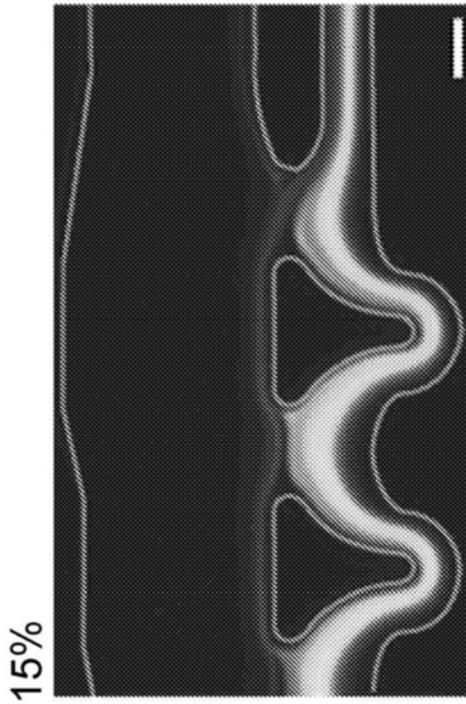


图11D

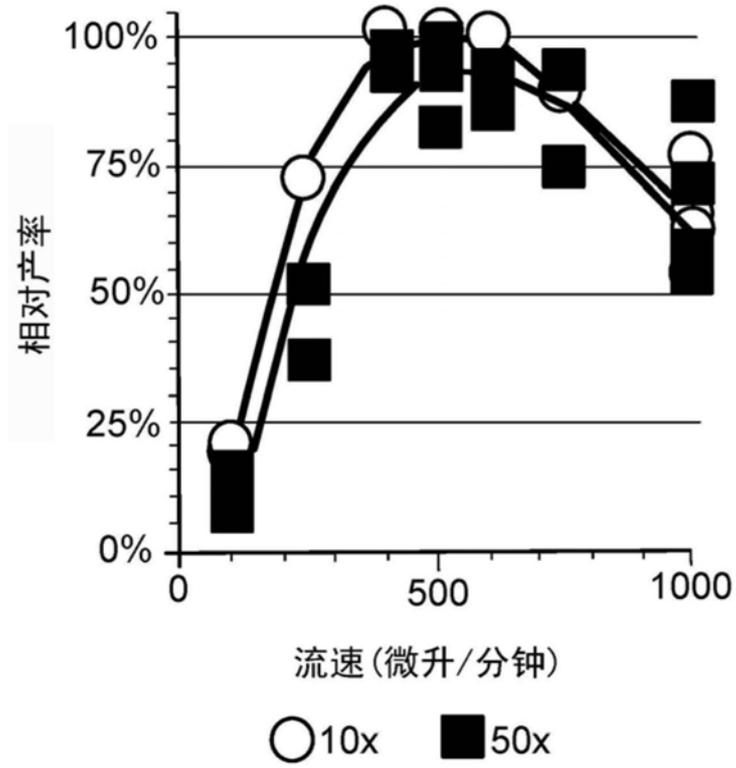


图12

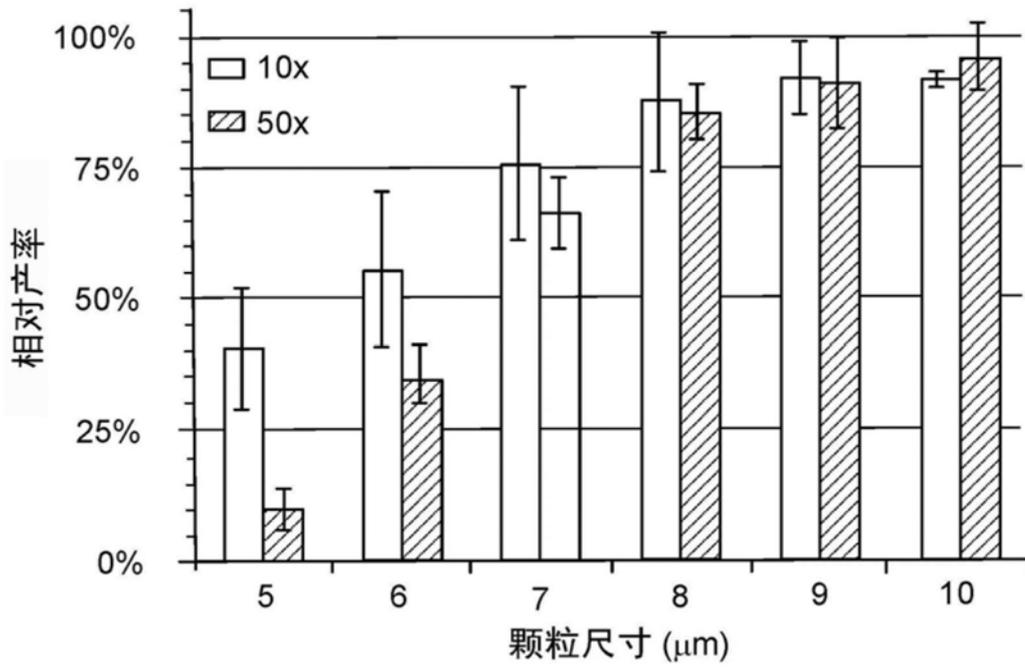


图13

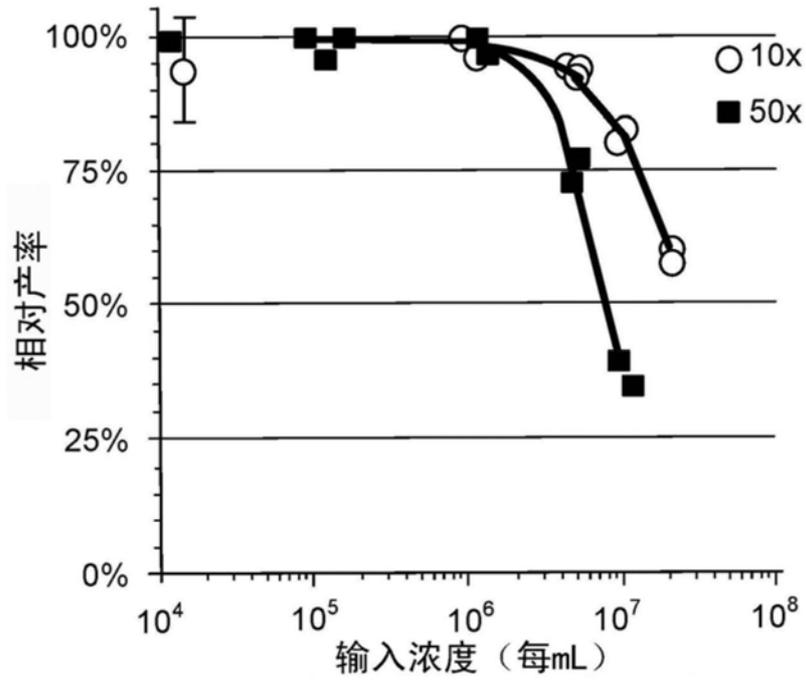


图14

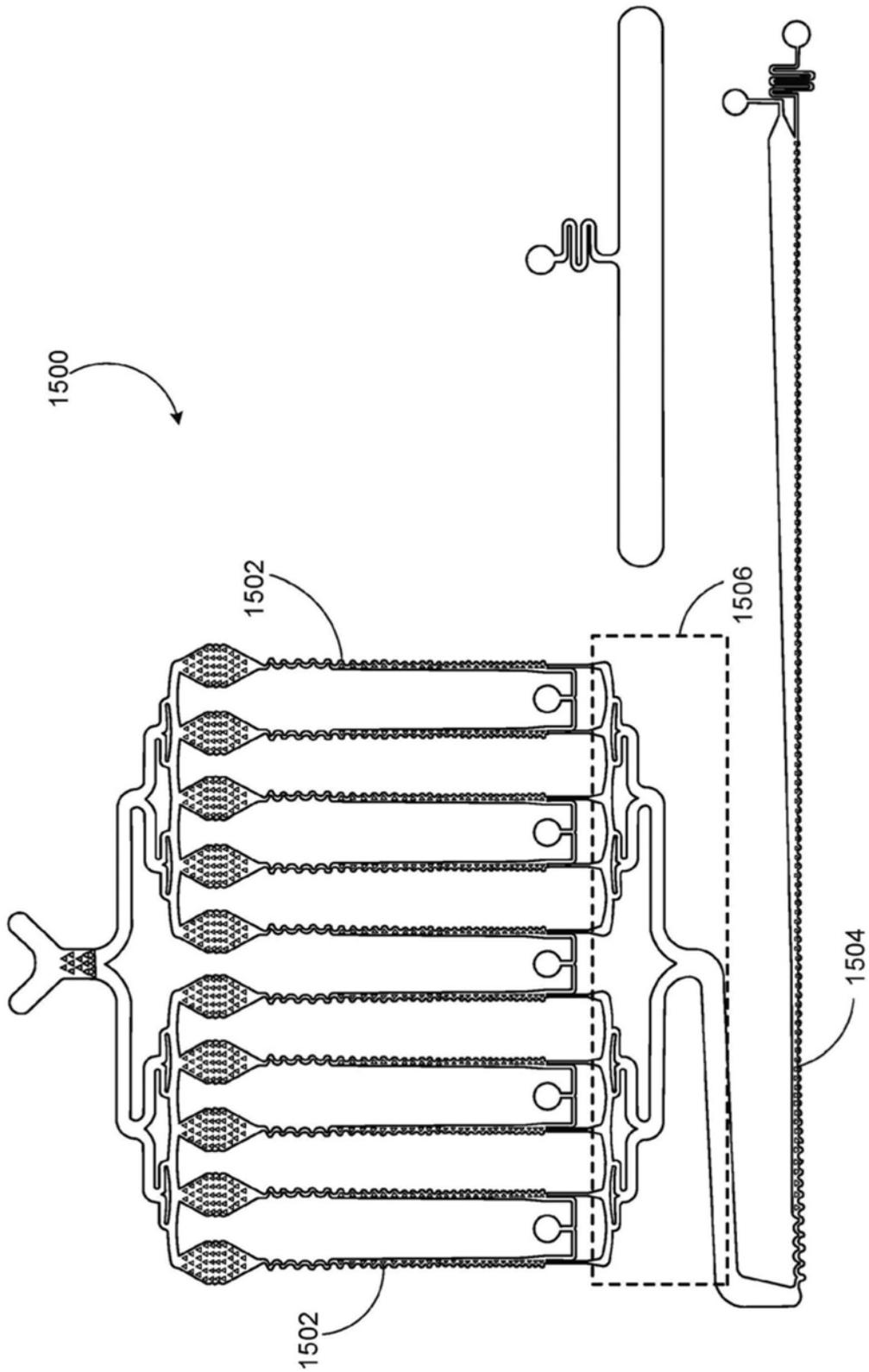


图15

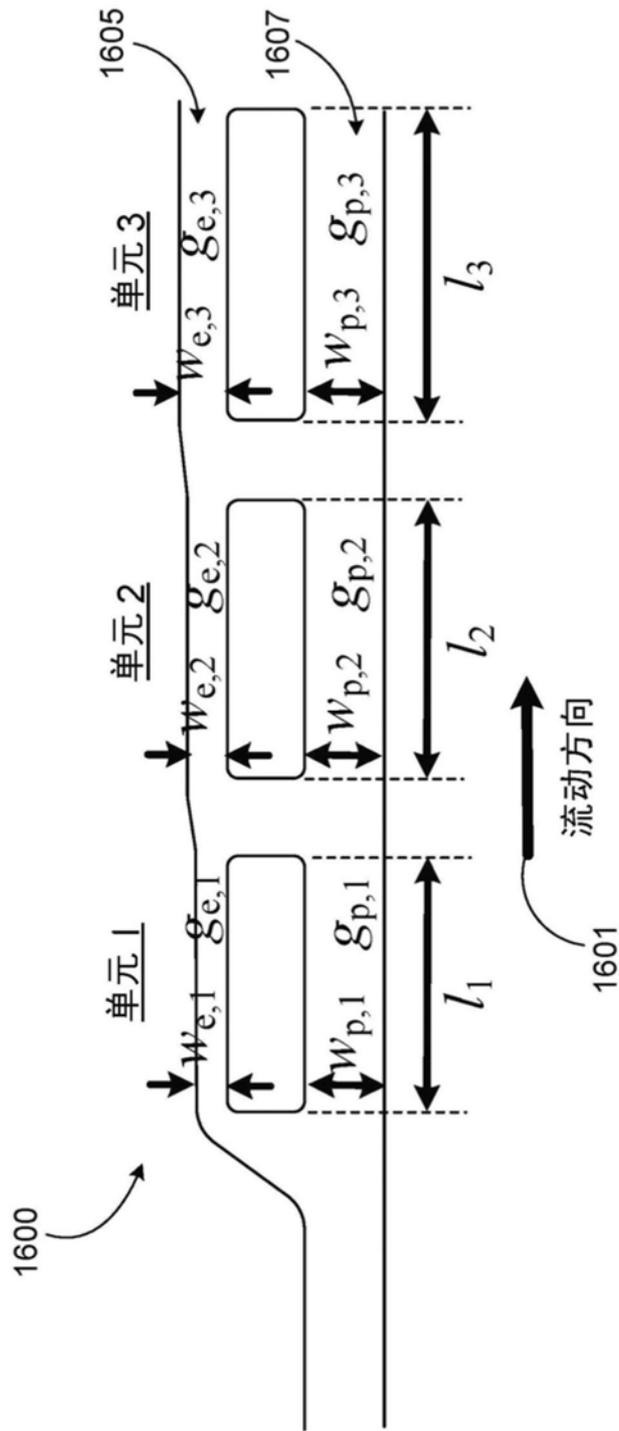


图16