

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-502482
(P2005-502482A)

(43) 公表日 平成17年1月27日(2005.1.27)

(51) Int. Cl.⁷

B82B 3/00
G02B 21/32

F I

B82B 3/00
G02B 21/32

テーマコード(参考)

2H052

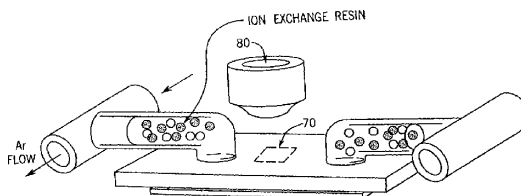
審査請求有 予備審査請求有 (全37頁)

(21) 出願番号	特願2003-528072(P2003-528072)	(71) 出願人	503449775 ユニヴァーシティ・オヴ・シカゴ アメリカ合衆国イリノイ州60637, シ カゴ, サウス・エリス・アヴェニュー 5 640, スウィート 405
(86) (22) 出願日	平成14年9月11日(2002.9.11)	(74) 代理人	100099623 弁理士 奥山 尚一
(85) 翻訳文提出日	平成16年3月15日(2004.3.15)	(74) 代理人	100096769 弁理士 有原 幸一
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/028819	(74) 代理人	100107319 弁理士 松島 鉄男
(87) 国際公開番号	W02003/024163	(72) 発明者	グライア, デイヴィッド・ジー アメリカ合衆国イリノイ州60614, シ カゴ, ノース・リンカーン・パーク・ウェ スト 1960
(87) 国際公開日	平成15年3月20日(2003.3.20)		最終頁に続く
(31) 優先権主張番号	09/951, 117		
(32) 優先日	平成13年9月13日(2001.9.13)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

(54) 【発明の名称】 光ピンセットの静止したアレイにより粒子を横方向に偏向及び分離するための装置及び方法

(57) 【要約】

光ピンセットの静止したアレイを用いて、粒子の流れを横方向に偏向及び/又は分離する方法及び装置を提供する。格子定数が対象とする粒子の寸法よりも大きい光ピンセットのアレイでは、外力によりアレイを通して駆動される粒子はアレイのトラップと別の相互作用を受ける。外力に対してトラップのアレイの角度を変更することによって、粒子のアレイ内でのトラップからトラップへ移動は外力の方向から離れるようにバイアスを加えることができ、これにより、粒子の選択的な偏向及び/又は分離を行うことができる。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

粒子を制御して偏向する装置であって、
複数の粒子のソースと、
前記複数の粒子に加えられる力のソースからの外部の力と、
前記ソースからの力の方向に関連した傾斜角に向けられた光ピンセットのアレイと、
を備えることを特徴とする装置。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の装置であって、前記傾斜角が粒子の流速を最適にするように選択されることを特徴とする装置。

10

【請求項 3】

請求項 1 に記載の装置であって、前記光ピンセットのアレイが、それぞれが電位の深さを有し、前記外部の力に対して選択された不整合を確立するためのパターンで配列される複数の光学的電位井戸を含むことを特徴とする装置。

【請求項 4】

請求項 3 に記載の装置であって、前記光ピンセットのアレイが、前記複数の光ピンセットのために少なくとも 2 つの異なる電位井戸の深さを含むことを特徴とする装置。

【請求項 5】

請求項 1 に記載の装置であって、前記傾斜角が粒子の偏向方向を選択するために調整可能であることを特徴とする装置。

20

【請求項 6】

請求項 5 に記載の装置であって、前記偏向角度が粒子の寸法、粒子が処理された媒体の屈折率、粒子の形状、粒子の濃度及び粒子の界面化学の少なくとも 1 つにより変化することを特徴とする装置。

【請求項 7】

請求項 1 に記載の装置であって、前記外部の力が、前記外部の力の方向から粒子の偏向角度を修正するように調整されることを特徴とする装置。

【請求項 8】

請求項 1 に記載の装置であって、粒子の運動の制御が前記光ピンセットのためにレーザー光の輝度を変化させるレーザービームの光源によって得られることを特徴とする装置。

30

【請求項 9】

請求項 8 に記載の装置であって、適当なレーザー光の輝度を選択することによって、大きな粒子を小さい粒子から選択的に分離することができることを特徴とする装置。

【請求項 10】

請求項 1 に記載の装置が、前記粒子をさらに偏向するために前記光ピンセットの別の段階をさらに含むことを特徴とする装置。

【請求項 11】

請求項 1 に記載の装置であって、前記粒子がコロイド粒子、高分子、生物学的細胞、生物学的小器官、染色体、及びその混合体から成るグループから選択されることを特徴とする装置。

40

【請求項 12】

粒子の動きを制御する方法であって、
粒子に流れを与えるステップと、
前記粒子に外部の力を加えるステップと、
前記外部の力の方向に関連した角度で傾斜した光ピンセットのアレイを作るステップと、
を含むことを特徴とする方法。

【請求項 13】

請求項 12 に記載の方法が、前記光ピンセットのアレイを作るために使用されるレーザービームの輝度を変化させるステップをさらに含み、これにより、前記粒子の流れを制御することを特徴とする方法。

50

【請求項 14】

請求項 12 に記載の方法が、前記外部の力の強度を変更するステップをさらに含み、これにより、前記粒子の流れを制御することを特徴とする方法。

【請求項 15】

請求項 12 に記載の方法であって、前記粒子が寸法、形状、濃度、電荷、磁化率、磁化能率、誘電率、及び前記外部の力、レーザービームの輝度及び光ピンセットのアレイの少なくとも 1 つに対応して変化できる非線形の光学特性の少なくとも 1 つに対して範囲を有し、これにより、前記粒子に対する偏向角度の範囲を作ること特徴とする方法。

【請求項 16】

請求項 12 に記載の方法であって、前記角度が前記粒子の流速を変化するように調整されることを特徴とする方法。 10

【請求項 17】

請求項 12 に記載の方法であって、偏向が連続的に発生することを特徴とする方法。

【請求項 18】

請求項 12 に記載の方法であって、レーザー光が前記光ピンセットのアレイを形成するために提供され、前記レーザー光の波長が粒子の動きを制御するように調整されることを特徴とする方法。

【請求項 19】

請求項 12 に記載の方法であって、前記光ピンセットのアレイ、前記外部の力及び傾斜角の少なくとも 1 つが粒子が流れるときに動的に変更されることを特徴とする方法。 20

【請求項 20】

請求項 12 に記載の方法であって、前記粒子がコロイド粒子、高分子、生物学的細胞、生物学的小器官、染色体、及びその混合体から成るグループから選択されることを特徴とする方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、国立科学財団によって与えられた交付番号 D M R - 9 7 3 0 1 8 9 のもとで、また交付番号 D M R - 9 8 8 0 5 9 5 のもとで国立科学財団の M R S E C プログラムを通して、米国政府の支援によりなされたものである。米国政府も本発明に対して一定の権利を有している。 30

【0002】

[発明の分野]

本発明は、全体的に、粒子の分別を実現するシステム及び方法に関する。より詳細には、本発明は光トラップの静止したアレイを使用して粒子の横方向の分別及び/又は分離を実現するシステム及び方法に関する。

【背景技術】

【0003】

限定された環境の中で粒子を分別することができる多数の技術が、従来から知られている。例えば、そのような技術の 1 つには、DNA を分離するための二次元格子の障害物又は障壁から成る微細加工されたふるいを使用することが含まれる。障害物又は障壁を非対称的に配置することにより、ふるいを通過する DNA 分子のブラウン運動が修正され、その結果として粒子は存在する DNA のそれぞれの拡散係数に依存する経路を流れるようにされる。この技術は適度に効率的ではあるが、多数の制約がある。例えば、格子が微細加工されているため、全体的な構造は分別される粒子の種類及び寸法を調整することができない。さらに、そのような格子は詰まる傾向があるため、システムを水で洗い流して再始動させる必要がある。 40

【0004】

さらに、粒子を分別するための多くの従来の技術は、印加された力の方向に沿って様々な断片を物理的に分離してしまう。このため、それらの技術はサンプルを不連続に一括処理 50

することになり、連続的に動作しない。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

従って、本発明の目的は、調整可能で連続的な流れている粒子を横方向に偏向するための改良されたシステム及び方法を提供することである。

【0006】

本発明の別の目的は、粒子が容易に詰まることがない、横方向に偏向する粒子に対する改良されたシステム及び方法を提供することである。

【0007】

本発明のさらに別の目的は、粒子を精製及び分離するために使用できる改良されたシステム及び方法を提供することである。

【0008】

本発明のさらに別の目的は、蛋白質を精製及び分離するために使用できる、粒子を横方向に偏向するための改良されたシステムを提供することである。

【0009】

本発明の別の目的は、寸法、形状、誘電率、面電荷密度、磁化率、非線形の光学的特性、及び屈折率によって、小さい粒子を物理的に分離できる改良されたシステムを提供することである。

【0010】

本発明のさらに別の目的は、流れている粒子を横方向に偏向するための、可動部品の数を最小にした改良されたシステム及び方法を提供することである。

【0011】

本発明のさらに別の目的は、染色体を分離するために使用できる、粒子を横方向に偏向するための改良されたシステム及び方法を提供することである。

【0012】

本発明のさらに別の目的は、DNAを大きさで分類するために使用できる、粒子を横方向に偏向するための改良されたシステム及び方法を提供することである。

【0013】

本発明の別の目的は、高分子及び/又はナノクラスター(nanocluster)又は多のナノサイズの材料を精製及び/又は分離するために使用することもできる、粒子を横方向に偏向するための改良されたシステム及び方法を提供することである。

【0014】

本発明のさらなる利点及び特徴は、下記の明細書、特許請求の範囲及び本発明の好ましい実施形態を示している図面から明らかになるであろう。

【課題を解決するための手段】

【0015】

本発明の実施形態を明らかにするために、本発明の1つの実施形態の方法論及び機能が説明される。この実施形態を説明する方法は、当業者に本発明の動作を説明する1つの厳密な方法であるが、別の説明を使用して本発明の実施形態を特徴付ける同じ結果を説明することもできる。従って、本発明は下記の明細書及び図面によるその動作の説明に限定されるものではない。

【0016】

本発明を包括的に理解するために、図1Aに示すようなホログラフィック光ピンセットシステム10及び結果として生ずる個々の光ピンセット112の正方形のレイ110を考えることが役に立つ。システム10はレーザービーム20を含む。このレーザービーム20は、回折光学素子30を通過し、次にリレーレンズ40により処理され、ダイクロイックミラー50で反射される。次にレーザービーム20は対物レンズ60によって光トラップの中に集束される。この光トラップ(図示せず)はサンプルチャンバ70の中に形成され、トラップされた粒子のレイ(図示せず)は、コンデンサレンズ80、対物レンズ60、ピ

10

20

30

40

50

デオアイピース (video eyepiece) 85 及び電荷結合素子のカメラ 90 を含む従来の光顕微鏡システムによって観察される。

【0017】

このようにして光ピンセットシステム 10 は、図 1 B に示すように、個別の光ピンセット 112 の正方形のアレイ 110 を生成する。これらの光ピンセット 112 は、これに限定されるわけではないが、光ピンセット 112 間の距離が対象とする粒子 113 の大きさよりも一般にいくらか大きな格子定数を示す。バイアス源 117 からの外力によってアレイ 110 を通過するように駆動された粒子 113 は、アレイ 110 の個々のトラップ 112 との別の相互作用を受ける。トラッピング力が外部の駆動力よりもかなり大きい場合は、粒子 113 は拘束されることになる。他方、外力の方が大きい場合は、粒子 113 はほとんど攪乱されることなく粒子の軌跡に沿ってアレイ 110 を通って流れる。好ましい実施形態は、外力がサンプル内の全ての粒子 113 に対してトラッピング力を超えるが、サンプルの異なる断片に対しては程度が異なるような、中間の方式で動作する。

10

【0018】

これらの条件のもとで、外力により粒子 113 はトラップ 112 の一つから別のトラップに移動され、特定の粒子 113 の特性の場合には、光トラップ 112 と外力との相対的な強弱度によって、時折ある期間停止する。外力がトラッピングアレイ 110 の主軸と整列する場合、結果として生ずる移動の軌跡はこの外力と整列される。他方、トラップの軸が外力の方向に対して回転される場合は、粒子の移動を外力の方向から離れるようにバイアスすることができる。そのような偏向は、タイプ II 形の超伝導体を通して流れる磁束量子についてのコンピュータシミュレーションの中で示されており、周期的なジョセフソン接合のアレイにおいて横方向の電圧の勾配が現れることから間接的に推論されてきた。2 つの理由、すなわち、(1) 正及び負の変位は等しい確率で起こり得ること又は (2) 粒子はアレイを通して斜めにジャンプし、[11] 方向に固定されること、の1つのために、アレイが 45° まで回転すると、正味の偏向はゼロに戻る。

20

【0019】

図 3 及び図 4 は、外部のバイアス力の方向 116 に対して傾斜角 θ を有する (図 1 C も参照のこと) トラップ 112 のアレイ 110 を通って移動する個々の粒子を図示又は説明する全般的な図面である。図 3 及び図 4 から分かるように、アレイ 110 の相対的な傾斜角 θ に基づいて、個々の粒子 113 を正及び負の両方の横方向に偏向することができる。

30

【0020】

図 2 A は、光トラップすなわち光ピンセット 112 の各々の間隔が約 2.4 μm の、光ピンセット 112 の 10 x 10 のアレイ 110 を通過する、直径が 1.5 μm の球形のシリカ粒子 113 の軌跡 115 を有するシステム 10 を使用する場合の実施例を示す。「y」軸は約 53 μm 、「x」軸は約 78 μm を表示する。この図面では、圧力勾配により、粒子 113 が左から右に約 30 $\mu\text{m}/\text{秒}$ の速度で駆動されている。アレイ 110 の傾斜角がほぼゼロ度の場合は、粒子 113 はほとんど横方向に移動せずに軌跡 (左から右) の中に固定される。図 2 A ~ 図 2 D に示す測定された粒子の軌跡も、左から右に方向付けられた印加された流れの方向に向けられている。

【0021】

このため、図 2 A は、流れが [10] の格子方向に沿って整列した約 1000 個の球体 (粒子 113) の軌跡を示す。粒子 113 はアレイの境界を約 3 μm 超えて伸びる領域からピンセット 112 の行の中に引かれて、その後 [10] の行に最後まで従う。横方向の変動はトラッピング電位によって大いに抑制され、一方粒子の長手方向の動きは、個々の光電位井戸の中での短い不規則な休止によってのみ中断される。粒子 113 が横方向のジャンプを行うために必要な時間は、粒子 113 が [10] の行をほとんど離れない縦方向のジャンプの間隔よりもはるかに大きい。この粒子の軌跡に対する個別のトラッピング電位の影響により、運動的に固定された状態が構成される。粒子 113 がピンセット 112 の配列を通して移動すると、それらは大きな流れに戻り、それらの軌跡は最終的には拡散を通して互いの中に不明確になってしまう。

40

50

【0022】

回折光学素子30を角度 θ 回転させると、トラップの特性を変えることなく、流れの方向に対してピンセット112のパターンも回転する。図2Bは、流れに対して $\theta = 5^\circ$ に向けられた光ピンセット112を使用した同じサンプルを示す。図2Aと同様に、粒子の軌跡は、アレイの[10]の行に接近して固定されたままである。しかしながら、図2Aの実施例とは異なり、この場合、軌跡は流れの方向から離れるように整然と偏向される。この偏向はアレイの下流側にはっきりした影を残す。このアレイでは、横にそれる粒子113はわずかである。

【0023】

さらに回転すると、アレイの影響が著しく変化する。図2Cは、他の条件は変えずに、 $\theta = 37^\circ$ まで回転させたアレイを示す。正の偏向に対する下記の[10]格子の行ではなく、粒子113はここでは[11]格子の方向に固定されて、後退する偏向を受ける。この[10]から[11]への固定された状態の交差は、異なる局所的な電位エネルギーのランドスケープ(potential energy landscape)を反映し、粒子113は異なる方向に沿うような強制を受ける。 22.5° の幾何学的に決定された交差点を超える或るしきい値の角度では、[11]移動に対するジャンプ比率は、粒子113が斜めの軌跡に固定されるような十分大きなマージンによって[10]移動の比率を超える。図2Dに示すように、なおさらに $\theta = 45^\circ$ まで回転させると偏向の程度が減少し、一方[11]格子方向に対する軌跡の整列が向上される。

【0024】

運動学的に固定された状態は、回転が大きくなると移動特性に対する影響が長手方向の移動におけるプラトーのデビルの階段(Devil's staircase)を形成すると予想されるような階層を形成すると信じられている。[10]及び[11]方向に固定された状態に対する発明者らの観察は、これらの階層の主要なプラトーに対応する。

【0025】

発明者らは、回転角度 θ を単調に増加することにより変化する横方向の偏向のサインも観察する。このことは、磁界が増加すると周期的に変調される二次元の電子ガスのホール係数(Hall coefficient)に対するサインの変化が予測されないような他のシステムとは異なっている。実際にそのようなサインの逆転が電子システムの簡単なパターンニングによって得られるならば、その効果は有利なものであり、磁気データの検索の中で広範にわたるアプリケーションを持つことができるであろう。

【0026】

図5のデータ点及び接続する実線は、システム10の中で粒子113が受ける加えられたトラッピング力が比較的強い場合に粒子113が得た相対的な横方向の速度を示している。他方、点線は、加えられた力117がトラッピング力よりも強い場合に、同じ粒子113に対して期待される横方向の偏向がない場合を示す。図5は、所定のレーザーパワー及び外部の駆動力117に対して回転角度 θ を変えることによって、横方向の偏向の量及び方向を最適化することができることも示している。レーザーパワーを減少させると、得ることができる最大の偏向を減らすことになり、レーザー20をオフにすると(図1Aを参照のこと)偏向は起きなくなる。図5からも分かるように、傾斜角 α が約 0° 又は約 22.5° の場合には横方向の偏向は事実上ほとんどなく、また α が約 45° の場合も偏向はない。しかしながら、傾斜角が約 22.5° の場合には横方向の偏向がないことにも注意されたい。実験に基づいたデータは、所定の粒子の寸法及びパワーの大きさに対して、最大量の横方向の偏向は傾斜角が約 17° に近付いたときに発生することを示している。傾斜角が約 22.5° を通過すると、粒子113の横方向の偏向方向は完全に変えられる。実験に基づいたデータは、この反対方向の最大の偏向は傾斜角が 30° に近付くときに発生することを示しているが、この最大の偏向は 17° で発生する最大の偏向よりもかなり小さい。向きに対して横方向の偏向が非単調的に依存することは明らかに消されている。中間及びより小さな角度における他の可能な固定の向きは、現在の寸法のシステムでは消散させることは難しい。基本的には、光ピンセット112のより大きなアレイを通過して移動するこ

10

20

30

40

50

とは、他のシステムに対して予想されたデビルの階段に恐らく似通った、より広い範囲の固定された状態の階層を示すであろう。

【0027】

後で提供される実施例の中でより詳細に説明するが、本発明による受動的で光学的に誘導された横方向の偏向が、デモナイズドウォーター (demonized water) の中に分散された直径が $1.5 \mu\text{m}$ のコロイド状のシリカの球体の懸濁液の中で観察された。光ピンセット 112 の 10×10 のアレイが、標準的なホログラフィック光ピンセット (HOT) の光学縦列 (optical train) の中で、波長が 532 nm で 73 mW のレーザー光によって照射された固定したコンピュータで作った回折グレーティングを用いて作成された。粒子 113 は、密閉されたサンプルチャンバ 70 の中の平行なガラスの壁の間に收容された。流れは、サンプルチャンバ 70 を横切る圧力差を用いて作られた。 $78 \times 53 \mu\text{m}^2$ の視野全体の粒子の軌跡はデジタル化される前にビデオテープに記録され、従来から知られている画像分析技術を用いて分析された。

10

【0028】

横方向に偏向された粒子 113 は、本発明に基づいて様々な方法で収集することができる。これらの方法には、マイクロ流体チャネル (microfluidics channel) を使用する方法が含まれる。アレイによって偏向されない粒子 113 は、恐らく光トラップと強く相互に作用しないため又は外力とより強く相互作用し合うために偏向されず、このため収集されない。この区別する動作により、大きさ、対称性、長さ、及び光トラップのアレイの強度を含む制御パラメータを用いる、粒子の物理的な特性の非常に一般的な考えに基づいて、粒子 113 を分別することができる。図 2A ~ 図 2D に示した実施例では、外力が流体力学の抵抗によって与えられた。さらに、粒子の分離は、駆動力、レーザービームの強度、及び光の傾斜状態に対する感度に基づいて達成することができる。この場合、粒子の感度変数 (particle sensitive variable) は粒子の寸法、粒子の形状、誘電率、表面上の変化密度、磁化率、非線形光学特性、及び屈折率である。

20

【0029】

レーザーの輝度を減らすこと又は外部の駆動力を増加することのいずれかによってトラップの抗力を低下することにより、何らかの方法で固定された粒子 113 は、ある行のピンセット 112 から次の行のピンセットへ一層容易に渡ることができる。これにより、所定の角度、従って、最大偏向の角度及び最大偏向それ自体に対して固定するモードの程度が、最後に何も残らなくなるまで減少される。このしきい値は、アレイの範囲とは無関係でなければならない。

30

【0030】

デピンニング (depinning) 時の偏向の損失は、極めて一般的で連続的な分別技術に対する基礎を提供する。ピンセット 112 のアレイによってより強く影響された粒子 113 は、外力によってより強く駆動された粒子 113 よりも大きな角度で偏向することができた。例えば、半径 a だけが異なるコロイド状の球体の粒子 113 を検討する。波長以下の寸法の球体に加えられる光の傾斜力 (optical gradient force) は、約 a^3 として変化する。他方、周知のストークスの抗力 (Stokes drag) は、「 a 」として変化する。このため、粒子 113 を具体化するより大きな球体は、光ピンセット 112 によって不相応に影響されるが、より小さい粒子 113 は小さい偏向で通過することができる。従って、光ピンセット 112 のアレイ 112 をほぼ最適な偏向角度に向けて、移動状態の中に最大の粒子 113 を配置するように輝度を調整することにより、その最大の断片は何らかの方法で混合された流れから外れた横方向に偏向される。偏向された断片は、例えば、分離された断片を別個のマイクロ流体チャネルに流し込むことによって連続的に収集することができる。偏向されない断片は、第 1 の段階の後に設けた別の光ピンセット 112 の段階によって、さらに分別することができる。これらの別の段階は、段階的に変化する特性を有する 1 つのホログラフィック光ピンセットのアレイの中に一体化することさえもできる。

40

【0031】

印加した力の線に沿ってサンプルの断片を分離し、これにより、一度に別個の量の材料に

50

のみ動作することができる連続的な分別により、ゲルの電気泳動法などの従来の方法に対して明白な利点が得られる。

【0032】

背景の中で説明したように、心合わせがずれた力の間競合は、微細加工されたポストのアレイを通る電気泳動及び非対称の絡み合った電極から作られた二重電気泳動式ブラウンラチェット (dielectrophoretic Brownian ratchet) を通過する流れを含む、他の連続的な分別方式に適用されている。光学的な分別には、幾つかの利点がある。光ピンセット 112 のアレイは、レーザの輝度及びアレイの向きを変えることによって動的に再構成することができる。格子の定数及び対称性を調整して、当面の分離の問題に適合させることもできる。全ての粒子 113 に対して一定の障壁を示すポストとは異なり、光ピンセット 112 は様々な材料に対して著しく異なった影響を与えることができる。このため、波長を選択することにより、連続的な光学的分別に対する別の可能性が開かれる。さらに、これらの性能を決定する特性の全ては、動作中に連続的に変更することができる。目詰まりのような共通の故障モードは、同様に、トラップのアレイを機能停止することによって修復することができる。また、微細加工されたサンプルのチャンバによるシステムとは異なり、光学的分別はサンプルの取扱いが極めて簡単である、すなわち全ての分類は物質を分配するのではなく、光のパターンによって行われる。光の勾配によって媒介された分子の移動に対する最近の観察により、光ピンセット 112 のアレイ 110 を通る移動に基づいた分別は高分子の大きさに至るまで適用できると結論付けることができる。本願で説明された受動的で光学的にもたらされた横方向の偏向を実現する場合の力を率直に検討すると、その力は高い選択的な分別の能力を示している。

【0033】

前述した原理は、粒子 113 を 2 つの異なる流れのストリームの中に分離する方法として使用することができる。図 6 は、第 1 のサブチャンネル 122 及び第 2 のサブチャンネル 124 に分岐するマイクロ流体チャンネル 120 の実施例を示す。このマイクロ流体チャンネル 120 が第 1 及び第 2 のサブチャンネル 122 及び 124 に分かれる前に、光ピンセット 128 のアレイ 126 が外力からの流れ u に対して角度をずらして配置される。大きな粒子 130 及び小さい粒子 132 の両方がアレイ 126 を通過する場合、大きい粒子 130 は粒子の半径が大きいので、小さい粒子 132 よりも大きな横方向の偏向を受ける。この作用の結果、小さい粒子 132 は第 2 のサブチャンネル 124 の中にほぼ直線的に移動し、一方大きな粒子 130 は部分的にずれた第 1 のサブチャンネル 122 の中に移動する。

【0034】

このように、本発明の方法は各種の用途に使用することができる。これらの用途には、染色体の分離、粒子の種類や蛋白質の精製、及び DNA のサイジング処理が含まれるが、これらに限定されることはない。さらに、高分子及びナノクラスターを同様の方法で扱うことができる。その上、多数の角度をずらしたピンセット 112 のアレイを互いに直列に組み込むこともできる。そのような配列では、粒子 113 をさらに分離することができる。

【0035】

以下の実施例は全体的に本発明の幾つかの主要な内容を示すが、本発明はこれに限定されるものではない。

【発明を実施するための最良の形態】

【0036】

[実施例]

図 1 に概略的に示された 1 つの好ましいシステムには、脱イオン化した水中に分散され、平行なガラス面の間の厚さ $15 \mu\text{m}$ の水平な層に閉じ込められた直径が $1.5 \mu\text{m}$ のシリカの球体 (Bangs Labs) が含まれる。これらの球体の濃度は水よりもかなり高く、サンプル用コンテナの下側の壁の上の約 $2 \mu\text{m}$ の単一層内に容易に沈殿する。サンプルの容器の端部は密閉されて、流路を形成する。上側のガラスの壁を通る穴に接続された 2 つのガラスのチューブは、サンプルの体積へのアクセスを行うと共に、コロイド、水及び清浄な混合ベッド (clean mixed-bed) のイオン交換樹脂に対するリザーバとしての働きをする。

チューブの端部は、加湿されたアルゴンガスの連続した流れに接続される。流れの一方を閉鎖することにより圧力の不均衡が発生し、これによりコロイドはサンプルチャンバを通過し、Olympus社のIMT-2形の顕微鏡のベース上に設置された $100 \times \text{NA} 1.4$ のオイルに浸漬された対物レンズの $75 \times 58 \mu\text{m}^2$ の視野を通過するように駆動される。アルゴンの流れを制御することにより、1時間以上にわたって最大 $100 \mu\text{m}/\text{秒}$ の速度でコロイドを移動させることができる。

【0037】

個々の球体の面内の動きは、精密なデジタルビデオ顕微鏡技術を用いて、間隔が $1/60$ 秒で 10nm の分解能で追跡される。その結果として生じる軌跡データにより、光を用いて作られた電位エネルギーのランドスケープを通して球体の進行をモニタすることができる。

10

【0038】

光学的な位置ランドスケープは、ホログラフィック光ピンセット技術に基づいている。この技術では、1つの光ビームがコンピュータで作成した回折ビームスプリッタを用いて、光トラップの任意の構成の中に形成される。この回折光学素子(DOE)によって作られた各ビームは、対物レンズによってシリカの球体の1つを安定してトラップすることができる回折限界のスポットの中に集束される。ホログラフィック光ピンセットは三次元の中に任意に配置することができるが、発明者らは格子定数が $2.4 \mu\text{m}$ の平面の 10×10 の正方形のアレイを選択して、類似の物理的なシステムの理論的及び数値の処理の中で概ね説明された自由エネルギーの変調を作る。トラップは単一層の面の中に集束されて、球

20

【0039】

流れる流体によるストークスの効力が光ピンセットの最大トラッピング力を大きく超える場合、コロイド粒子は軌跡が乱されずにアレイのそばを流れる。逆に、トラッピング力の方が大きい場合は、粒子は遭遇する第1のトラップに逆らえずに落ちる。発明者らの観察は、トラッピング力及び粘性力がほぼ一致する中間の条件のもとで行われた。これらの条件のもとでは、粒子の軌跡に対するトラッピングアレイの影響は、流れに対するその向きに依存する。トラッピング力が粘性の抗力よりも大きい対称性が制約された方向(symmetry-hindered direction)では、流れは粒子を個々のトラップの端部に向かって十分遠くに、次の井戸に向かって熱的に支援された移動を行うことができるように押すことができる。対称性が有利に働く方向(symmetry-favored direction)の低い電位の障壁は、通過する粒子の速度を変調するだけである。これらの環境のもとで井戸から井戸へ移動する粒子は、幾何学的に近いこととエネルギー的に都合が良いこととの間のトレードオフに基づいて、電位エネルギーのランドスケープを通る経路を選択する。これらのトレードオフにより、トラッピング電位に対する駆動力の関係が変化するとき、関心のある動的な変化が発生する。

30

【0040】

シリカの球体は、流速が $30 \pm 3 \mu\text{m}/\text{秒}$ 及びレーザーの輝度が $100 \pm 10 \mu\text{W}$ /トラップの場合に移動状態になる。マインレイヤー(minelayer)における球体の真の濃度は、たかだか5%のトラップしか同時に占有されないくらい十分に低い。移動する粒子の間で衝突が起こるときもあるが、そのようなことは比較的まれである。図2A~図2Dに示したデータは、この方法で得られた。

40

【0041】

本発明の好ましい実施形態を図示し説明してきたが、様々な変更及び修正を、その広い態様の中で本発明から逸脱せずに行うことができることは当業者には明白であろう。

【図面の簡単な説明】**【0042】**

【図1A】光ピンセットのアレイを流れているコロイド状粒子の懸濁液上に投影するホログラフィック光ピンセットシステムの概略図である。

【図1B】図1AのCCDカメラの概略図である。

50

【図1C】本発明に基づいて流れている粒を横方向に偏向するための、10×10の光ピンセットのアレイの斜視図である。

【図2A】整列した10×10の光ピンセットのアレイによる粒子のチャネリングを示すプロットである。

【図2B】流れの方向に対して5°の傾斜角に向けられた10×10の光ピンセットのアレイの軸に沿って流れる粒子の軌跡を示すプロットである。

【図2C】流れの方向に対して37°の傾斜角に向けられたトラップのアレイによって横方向に偏向された粒子の軌跡を示すプロットである。

【図2D】流れの方向に対して45°の傾斜角に向けられたトラップのアレイを通して流れる粒子のほとんど偏向されない軌跡を示すプロットである。

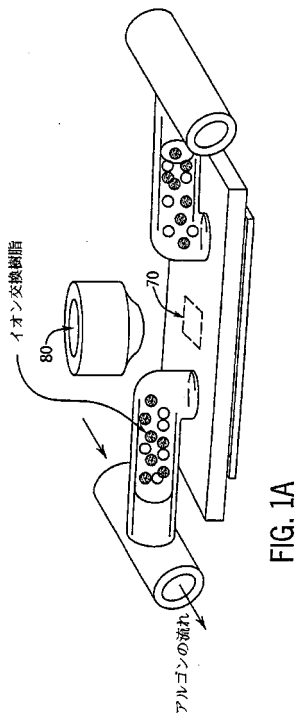
【図3】傾斜角θで外力の方向からオフセットされた光トラップのアレイを通る個々の粒子の動きの第1の表示である。

【図4】外力の方向からオフセットされた光トラップのアレイを通る個々の粒子の動きの第2の表示である。

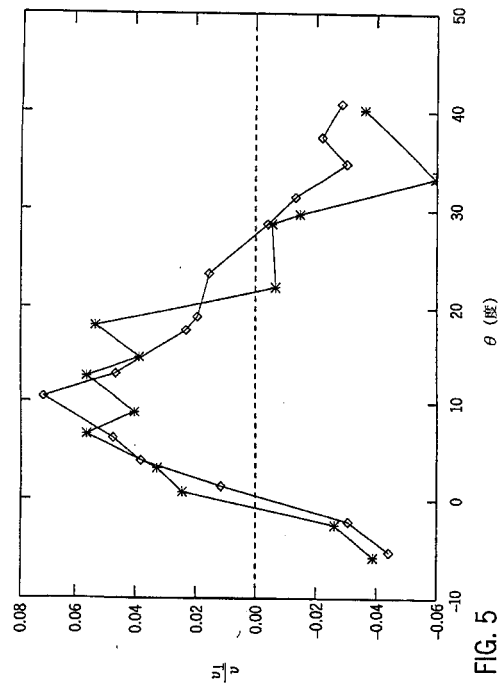
【図5】比較可能な条件のもとで、2つの異なる実験的な走行に対するトラップアレイの角度方向に関連する前方向の速度に対する横方向の速度の比率を示すプロットである。

【図6】粒子を分離するためにマイクロフルーイディクスチャネル(microfluidics channel)と共に使用される光ピンセットの静止したアレイを示す図である。

【図1A】



【図5】



【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

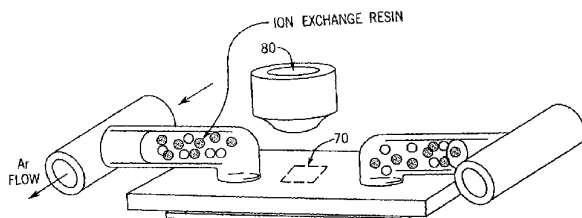
(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
20 March 2003 (20.03.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/024163 A1

- (51) International Patent Classification: H05H 3/04, G01N 30/00
- (21) International Application Number: PCT/US02/28819
- (22) International Filing Date: 11 September 2002 (11.09.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 09/951,117 13 September 2001 (13.09.2001) US
- (71) Applicant: UNIVERSITY OF CHICAGO [US/US]; 5640 South Lillis Avenue, Chicago, IL 60637 (US).
- (72) Inventors: GRIER, David, G.; 1960 North Lincoln Park West, Chicago, IL 60614 (US); KORDA, Pamela, T.; 1649 East 50th Street, Chicago, IL 60615 (US).
- (74) Agent: RECHTIN, Michael, D.; Foley & Lardner, 330 North Wabash Avenue, Suite 3300, Chicago, IL 60611 (US).
- (81) Designated States (national): AF, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GI, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published: — with international search report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: APPARATUS AND PROCESS FOR THE LATERAL DEFLECTION AND SEPARATION OF FLOWING PARTICLES BY A STATIC ARRAY OF OPTICAL TWEEZERS



(57) Abstract: A method and apparatus for laterally deflecting and/or separating a flow of particles using a static array of optical tweezers. In an array of optical tweezers with a lattice constant larger than the size of a particle of interest, particles driven past the array by an external force experience an additional interaction with the array of traps. By altering the angle of the array of traps relative to the external force, the particles' movement from trap to trap inside the array can be biased away from the direction of the external force, thereby enabling selective deflection and/or separation of particles.

WO 03/024163 A1

WO 03/024163

1

PCT/US02/28819

APPARATUS AND PROCESS FOR THE LATERAL DEFLECTIONS AND
SEPARATION OF FLOWING PARTICLES BY A STATIC ARRAY OF OPTICAL
TWEEZERS

This invention was made with U.S. Government support under Grant No. DMR-9730189 awarded by the National Science Foundation and through the MRSEC Program of the National Science Foundation under Grant Number DMR-9880595. The Government has certain rights in this invention.

FIELD OF THE INVENTION

The present invention relates generally to a system and method for achieving a fractionation of particles. More particularly, the present invention relates to a system and method for achieving a lateral fractionation and/or separation of particles through the use of a static array of optical traps

BACKGROUND OF THE INVENTION

A number of techniques are conventionally known that are capable of fractionating particles in limited circumstances. For example, one such technique involves the use of a microfabricated sieve consisting of a two-dimensional lattice of obstacles or barriers for DNA separation. The asymmetric disposition of obstacles or barriers rectifies the Brownian motion of DNA molecules that pass through the sieve, causing the particles to follow paths that depend on the respective diffusion coefficients of the DNA present. Although moderately effective, this technique includes a number of limitations. For example, because the lattice is microfabricated, the overall structure is capable of neither tuning nor adjusting the types and sizes of particles that are fractionated. Furthermore, such lattices tend to suffer from clogging, requiring flushing of the system and restarting.

Further, many conventional techniques for fractionating particles achieve physical separation of the various fractions along the direction of an applied force. For this reason, they operate on discrete batches of samples, and do not operate continuously.

SUMMARY OF THE INVENTION

It is therefore an object of the invention to provide an improved system and method for the lateral deflection of flowing particles that is both tunable and continuous.

WO 03/024163

2

PCT/US02/28819

It is another object of the invention to provide an improved system and method for laterally deflecting particles that does not become readily clogged with particles.

It is still another object of the invention to provide an improved system and method usable for particle purification and separation.

It is yet another object of the invention to provide an improved system for laterally deflecting particles that can be used for the purification and separation of proteins.

It is another object of the invention to provide an improved system that is capable of physically separating small particles by size, shape, dielectric constant, surface charge density, magnetic susceptibility, nonlinear optical properties, and index of refraction.

It is yet another object of the invention to provide an improved system and method employing a minimal number of moving components for laterally deflecting flowing particles.

It is still another object of the invention to provide an improved system and method for laterally deflecting particles that is usable for the separating of chromosomes.

It is yet another object of the invention to provide for an improved system and method for laterally deflecting particles that can be used for DNA sizing.

It is another object of the invention to provide an improved system and method for laterally deflecting particles that can also be used to purify and/or separate macromolecules and/or nanoclusters or other nanosized material.

Further advantages and features of the present invention will be apparent from the following specification, claims and drawings illustrating the preferred embodiments of the present invention.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

FIGURE 1A is a schematic of a holographic optical tweezer system projecting an optical tweezer array onto a flowing colloidal particle suspension; FIG. 1B is a schematic view from the CCD camera of FIG. 1A; and FIG. 1C is a perspective representation of a 10x10 optical tweezer array for laterally deflecting flowing particles in accordance with the present invention;

FIGURE 2A is a plot showing the channeling of particles through an aligned, 10x10 array of optical tweezers; FIG. 2B is a plot showing the trajectories of particles flowing along the axes of a 10x10 array of optical traps oriented at a tilt angle of five degrees relative to the

WO 03/024163

3

PCT/US02/28819

flow direction; FIG. 2C is a plot showing the trajectories of particles that are laterally deflected by a trap array oriented at a tilt angle of thirty seven degrees with respect to the direction of flow; and FIG. 2D is a plot showing the substantially undeflected trajectories of particles flowing past an array of traps oriented at a tilt angle of forty-five degrees with respect to the direction of flow;

FIGURE 3 is a first representation of the movement of individual particles through an array of optical traps offset from the direction of an external force by a tilt angle θ ;

FIGURE 4 is a second representation of the movement of individual particles through an array of optical traps offset from the direction of an external force;

FIGURE 5 is a plot showing the ratio of transverse velocity to forward velocity of a particle relative to the angular orientation of the trap array for two different experimental runs under comparable conditions; and

FIGURE 6 is a representation of a static array of optical tweezers used in conjunction with a microfluidics channel for particle separation.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

In order to illustrate embodiments of the invention, an explanation is provided to describe the methodology and function of one embodiment of the present invention.

Although the manner in which the phenomenon is described is one rigorous approach which explains the operation of the invention for those skilled in the art, other explanations also can be used to describe similar results which characterize embodiments of the invention. The invention is therefore not limited to the description of its operation by the following specification and drawings.

For a comprehensive understanding of the present invention, it is helpful to consider a holographic optical tweezer system 10 as shown in FIG. 1A and a resulting square array 110 of individual optical tweezers 112. The system 10 includes a laser beam 20 which is passed through a diffractive optical element 30, then processed by relay lens 40, reflected by dichroic mirror 50, and then laser beam 20 is focussed into optical traps by objective lens 60. The optical traps (not shown) are formed in sample chamber 70 and the trapped particle array (not shown) is viewed by a conventional light microscopy system including condenser lens 80, the objective lens 60, a video eyepiece 85 and charge coupled device camera 90.

The resulting optical tweezer system 10 generates a square array 110 of individual optical tweezers 112 as shown in FIG. 1B. The optical tweezers 112 exhibit a lattice constant which typically, although not exclusively, has a somewhat larger distance between the optical

tweezers 112 than the size of a particle 113 of interest. The particles 113 driven past the array 110 by an external force from a bias source 117 experience an additional interaction with the array 110 of individual traps 112. If the trapping force is considerably greater than the external driving force, the particles 113 will become bound. If, on the other hand, the external force dominates, the particles 113 will flow past the array 110 with their trajectories essentially unperturbed. The preferred embodiment operates in the intermediate regime in which the external force exceeds the trapping force for all of the particles 113 in the sample, but to a differing degree for different fractions of the sample.

Under these conditions, the external force causes the particles 113 to hop from one of the traps 112 to another, occasionally pausing for periods depending on the relative strengths of the optical traps 112 and external force, given the properties of the particular particle 113. If the external force is aligned with the principal axes of the trapping array 110, the resulting hopping trajectories will be aligned with the external force. If, on the other hand, the traps' axes are rotated with respect to the direction of the external force, then the particles' hopping can be biased away from the direction of the external force. Such deflection has been shown in computer simulations of magnetic flux quanta flowing through type-II superconductors and has been inferred indirectly from the appearance of transverse voltage gradients in periodic Josephson junction arrays. The net deflection returns to zero once the array is rotated to 45° for one of two reasons (1) positive and negative displacements can occur with equal probability or (2) the particles jump diagonally through the array, having become locked into the [11] direction.

FIGS. 3 and 4 are diagrammatic or illustrative general representations of individual particles moving through the array 110 of the traps 112 that has a tilt angle θ relative to the direction of an external bias force 116 (see FIG. 1C also). As can be seen in FIGS. 3 and 4, depending upon the relative tilt angle θ of the array 110, it is possible for the individual particles 113 to be laterally deflected in both positive and negative directions.

FIG. 2A shows an example of utilization of the system 10 with trajectories 115 of 1.5 μm diameter silica, spherically shaped particles 113 passing through the 10x10 array 110 of the optical traps or tweezers 112, with about 2.4 μm of space between each of the tweezers 112. The "y" axis represents about 53 μm , and the "x" axis about 78 μm . In this representation, a pressure gradient is driving the particles 113 from left to right at a speed of about 30 $\mu\text{m}/\text{sec}$. With a substantially zero degree tilt angle for the array 110, the particles 113 are locked into a trajectory (from left to right) with minimal lateral deflection. The

measured particle trajectories shown in FIGS. 2A-2D are also oriented with the applied flow directed from left to right.

FIG. 2A therefore shows trajectories of roughly 1000 spheres (the particles 113) with the flow aligned along the [10] lattice direction. The particles 113 are drawn into the rows of the tweezers 112 from an area extending to about $3\mu\text{m}$ beyond the array's boundaries, and thereafter follow the [10] rows to their ends. Transverse fluctuations are greatly suppressed by the trapping potential while the particles' longitudinal motion is punctuated only by brief irregular pauses in individual optical potential wells. The time required for the particle 113 to make a transverse jump is so much greater than the longitudinal jump interval that the particles 113 essentially never leave the [10] rows. This influence of the discrete trapping potential on the particles' trajectories constitutes a kinetically locked-in state. Once the particles 113 have hopped through the ranks of the tweezers 112, they return to the bulk flow, their trajectories eventually blurring into each other through diffusion.

Rotating the diffractive optical element 30 through an angle θ also rotates the pattern of the tweezers 112 with respect to the flow direction without otherwise altering the traps' characteristics. FIG. 2B shows the same sample with the optical tweezers 112 oriented at $\theta = 5^\circ$ with respect to the flow. As in FIG. 2A, the particles' tracks remain closely locked in to the array's [10] rows. Unlike the example in FIG. 2A, however, the trajectories now are systematically deflected away from the flow's direction. This deflection leaves a distinct shadow on the downstream side of the array into which comparatively few of the particles 113 wander.

Further rotation changes the array's influence markedly. FIG. 2C shows the array rotated to $\theta = 37^\circ$, with other conditions unchanged. Rather than following the [10] lattice rows to positive deflection, the particles 113 have now locked in to the [11] lattice direction and experience a retrograde deflection. This crossover from [10] to [11] locked-in states reflects the different local potential energy landscape the particle 113 experiences as it is forced along different directions. At some threshold angle beyond the geometrically determined crossover point at 22.5° , the jump rate for [11] hops exceeds that for [10] hops by a large enough margin that the particles 113 become locked in to diagonal trajectories. Rotating still further to $\theta = 45^\circ$ as in FIG. 2D reduces the degree of deflection while enhancing the trajectories' alignment with the [11] lattice direction.

It is believed that the kinetically locked-in states should form a hierarchy whose influence on transport properties is expected to take the form of a Devil's staircase of

WO 03/024163

6

PCT/US02/28819

plateaus in the longitudinal transport with increasing rotation. Our observation of states locked into the [10] and [11] directions correspond to the principal plateaus of these hierarchies.

We also observe the sign of the transverse deflection to change with monotonically increasing rotation angle θ . This differs from other systems in that no change of sign is predicted for the Hall coefficient of a periodically modulated two-dimensional electron gas with increasing magnetic field. If indeed such sign reversal could be obtained through simple patterning of an electronic system, the effect would be advantageous and could have widespread applications in magnetic data retrieval.

FIG. 5, the data points and connecting solid lines represent the relative transverse velocity attained by the particles 113 when the applied and trapping forces they experience in the system 10 are comparably strong. The dashed line, on the other hand, represents the absence of transverse deflection expected for the same particle 113 if the applied force 117 were to dominate the trapping force. FIG. 5 also shows that the amount and direction of lateral deflection can be optimized by changing the rotation angle θ for a given laser power and the external driving force 117. Reducing the laser power would reduce the maximum deflection attainable, with no deflection occurring when the laser 20 is extinguished (See FIG. 1A). As can also be seen in FIG. 5, there is virtually no lateral deflection at all when the tilt angle is θ either 0° or about 22.5° , nor should there be a deflection for θ of about 45° . It should also be noted, however, that there is also no lateral deflection when the tilt angle is about 22.5° . Empirical data has suggested that, for a given particle size and power level, the maximum amount of lateral deflection occurs when as the tilt angle approaches about 17° . When the tilt angle passes about 22.5° , the lateral deflection of the particle 113 changes direction entirely. Empirical data has suggested that the maximum deflection in this opposite direction occurs as the tilt angle approaches 30° , although this maximum deflection is substantially smaller than the maximum deflection which occurs at about 17° . The nonmonotonic dependence of lateral deflection on orientation is clearly resolved. Other possible lock-in orientations at intermediate and smaller angles may be difficult to resolve in a system of the present size. In principle, transport through larger arrays of the optical tweezers 112 would reveal a more extensive hierarchy of locked-in states, possibly resembling the Devil's staircases predicted for other systems.

As explained in more detail in the Example provided hereinafter, passive optically-induced lateral deflection in accordance with the present invention has been observed in a

WO 03/024163

7

PCT/US02/28819

suspension of colloidal silica spheres 1.5 μm in diameter dispersed in deionized water. A 10 x 10 array of the optical tweezers 112 was created with a static computer-generated diffraction grating illuminated by 73 mW of laser light at a wavelength of 532 nm in a standard holographic optical tweezer (HOT) optical train. The particles 113 were contained between parallel glass walls in a sealed sample chamber 70. Flow was induced with a pressure differential across the sample chamber 70. The particles' trajectories across the 78 x 53 μm^2 field of view were recorded on video tape before being digitized and analyzed using conventionally-known image analysis techniques.

The laterally deflected particles 113 can be collected by a variety of methods according to the present invention. These methods include the use of microfluidics channels. The particles 113 not deflected by the array, presumably because they interact less strongly with the optical traps or more strongly with the external force, will not be deflected and so will not be collected. This distinction makes possible fractionation of the particles 113 based on quite general considerations of their physical properties, with control parameters including scale, symmetry, extent, and intensity of the optical trapping arrays, and the nature and strength of the external force. In the example shown in FIGS. 2A-2D, the external force was provided by hydrodynamic drag. Further, separation of particles can be effectuated on the basis of sensitivity to driving force, laser beam intensity, and optical gradient conditions wherein particle sensitive variables are particle size, particle shape, dielectric constant, surface charge density, magnetic susceptibility, nonlinear optical properties and index of refraction.

Reducing the traps' efficacy either by reducing the laser intensity or else by increasing the external driving force allows otherwise locked-in ones of the particles 113 to cross more easily from one row of the tweezers 112 to the next. This reduces the degree of mode locking for a given angle, and thus also the angle of maximum deflection and also the maximum deflection itself, until finally none remains. This threshold should be independent of the array's extent.

Loss of deflection upon depinning also provides the basis for a very general continuous fractionation technique. The particles 113 more strongly influenced by the array of the tweezers 112 could be deflected to greater angles than the particles 113 driven more strongly by the external force. Consider, for example, colloidal spheres for the particles 113 which differ only in their radii, a . The optical gradient force exerted on sub-wavelength sized spheres varies roughly as a^3 . The well known Stokes drag, on the other hand, varies as " a ".

Larger spheres embodying the particles 113, therefore, are disproportionately influenced by the optical tweezers 112, while the smaller particles 113 can pass through with smaller deflection. Orienting the array 112 of the optical tweezers 112 near the angle of optimal deflection and adjusting the intensity to place the largest particles 113 in the hopping condition therefore deflects that largest fraction laterally out of the otherwise mixed flow. The deflected fraction can be collected continuously, for instance by flowing the separated fractions into separate microfluidic channels. The undeflected fraction can be further fractionated by additional stages of the optical tweezers 112 downstream of the first. These additional stages can even be integrated into a single holographic optical tweezer array with graded characteristics.

Continuous fractionation offers obvious benefits over traditional methods such as gel electrophoresis which separate a sample's fractions along the line of the applied force and thus can only operate on a discrete amount of material at a time.

As described in the background, competition between misaligned forces has been applied to other continuous fractionation schemes, including electrophoresis through arrays of microfabricated posts and flow past dielectrophoretic Brownian ratchets created from asymmetric interdigitated electrodes. Optical fractionation offers several advantages. The array of the optical tweezers 112 can be reconfigured dynamically by varying the laser intensity and array orientation. Even the lattice constant and symmetry can be adjusted to suit the separation problem at hand. Unlike posts which present a fixed barrier to all the particles 113, the optical tweezers 112 can have markedly different influences on different materials. Choice of wavelength therefore opens up additional possibilities for continuous optical fractionation. All of these performance-determining properties, furthermore, can be varied continuously during operation. Common failure modes such as clogging similarly can be remedied by extinguishing the trap array. Also unlike systems based on microfabricated sample chambers, optical fractionation requires quite simple sample handling, all of the sorting being accomplished by patterns of light rather than by distributions of matter. Recent observations of molecular drift mediated by optical gradients allow one to conclude that fractionation based on transport through the arrays 110 of the optical tweezers 112 can apply even down to the scale of macromolecules. Straightforward consideration of the forces in the implementation of passive optically-induced lateral deflection described herein demonstrate the ability of highly selective fractionation.

The above described principles can be used as a method for separating the particles 113 into two different flow streams. FIG. 6 shows an example of a microfluidics channel 120

WO 03/024163

9

PCT/US02/28819

that branches into a first subchannel 122 and a second subchannel 124. Before the division of the microfluidics channel 120 into the first and second subchannels 122 and 124, an array 126 of optical tweezers 128 is angularly offset relative to the flow u from an external force. In the case where a larger particle 130 and a smaller particle 132 both pass through the array 126, the larger particle 130 incurs more lateral deflection than the smaller particle 132 due to the particle's larger radius. As a result of this action, the smaller particle 132 will travel in a substantially straight line into the second subchannel 124, while the larger particle 130 will travel into the partially offset first subchannel 122.

The method of the invention can thus be used in a variety of applications. These applications include, without limitation, the separation of chromosomes, the purification of particle types and proteins, and DNA sizing. Additionally, macromolecules and nanoclusters can be manipulated in a similar manner. Furthermore, it is also possible to incorporate a number of angularly offset arrays of the tweezers 112 in series with each other. Such an arrangement allows for the further separation of the particles 113.

The following non-limiting example illustrates generally certain principals of the invention.

Example

One preferred system, shown schematically in FIG. 1 includes 1.5 μm diameter silica spheres (Bangs Labs) dispersed in deionized water and confined to a horizontal layer 15 μm thick between parallel glass surfaces. These spheres are considerably denser than water and readily sediment into a monolayer about 2 μm above the lower wall of the sample container. The edges of the sample volume are sealed to form a flow channel. Two glass tubes bonded to holes through the upper glass wall provide access to the sample volume and serve as reservoirs for colloid, water and clean mixed-bed ion exchange resin. The ends of the tubes are connected to continuous flows of humidified Ar gas. Blocking one of the flows causes a pressure imbalance which drives colloid through the sample chamber and past the 75 x 58 μm^2 field of view of a 100 x NA 1.4 oil-immersion objective mounted on an Olympus IMT-2 microscope base. By controlling the flow of Ar, we can induce colloid to travel at up to 100 $\mu\text{m}/\text{sec}$ over periods of an hour or more.

The individual spheres' in-plane motions are tracked with a resolution of 10 nm at 1/60 sec intervals using precision digital video microscopy. The resulting trajectory data

WO 03/024163

10

PCT/US02/28819

allow us to monitor the spheres' progress through potential energy landscapes that we create with light.

Our optical potential landscapes are based on the holographic optical tweezer technique in which a single beam of light is formed into arbitrary configurations of optical traps using a computer-generated diffractive beam splitter. Each beam created by this diffractive optical element (DOE) is focused by the objective lens into a diffraction-limited spot capable of stably trapping one of the silica spheres. While holographic optical tweezers can be arranged arbitrarily in three dimensions, we chose a planar 10×10 square array with $2.4\mu\text{m}$ lattice constants to model the free energy modulations typically discussed in theoretical and numerical treatments of analogous physical systems. The traps are focused into the plane of the monolayer to avoid displacing spheres vertically as they flow past.

If the Stokes drag due to the flowing fluid greatly exceeds the optical tweezers' maximum trapping force, then colloidal particles flow past the array with their trajectories unperturbed. Conversely, if the trapping force dominates, then particles fall irreversibly into the first traps they encounter. Our observations are made under intermediate conditions for which trapping and viscous forces are nearly matched. Under these conditions, the trapping array's influence on a particle's trajectory depends on its orientation with respect to the flow. In symmetry-hindered directions for which the trapping force exceeds viscous drag, the flow still can push a particle far enough to the edge of an individual trap that it can make a thermally-assisted jump to the next well. Lower potential barriers in symmetry-favored directions may only modulate the speed of a passing particle. A particle hopping from well to well under these circumstances chooses a path through the potential energy landscape based on a tradeoff between geometric proximity and energetic expediency. These tradeoffs lead to interesting kinetic transitions as the driving force's relationship to the trapping potential changes.

Our silica spheres enter the hopping state for flow speeds of $30 \pm 3\mu\text{m}/\text{sec}$ and laser intensities of $100 \pm 10 \mu\text{W}/\text{trap}$. The real density of spheres in the monolayer is low enough that no more than 5% of the traps are occupied at any time. While collisions sometimes occur between hopping particles, they are comparatively rare. The data shown in FIGS. 2A-2D were obtained in this manner.

While preferred embodiments of the invention have been shown and described, it will be clear to those skilled in the art that various changes and modifications can be made without departing from the invention in its broader aspects.

What Is Claimed Is:

1. An apparatus for controlled deflection of particles, comprising:
a source for a plurality of particles;
an external force from a source applied to the plurality of particles; and
an optical tweezer array oriented at a tilt angle relative to a direction of a force from the source.
2. The apparatus as defined in Claim 1 wherein the tilt angle is selected to optimize flow velocity of the particles.
3. The apparatus as defined in Claim 1 wherein the optical tweezer array comprises a plurality of optical potential wells, each having a potential depth and arranged in a pattern for establishing a selected misalignment relative to the external force.
4. The apparatus as defined in Claim 3 wherein the optical tweezer array comprises at least two different potential well depths for the plurality of optical tweezers.
5. The apparatus as defined in Claim 1 wherein the tilt angle is adjustable to select direction of deflection of the particles.
6. The apparatus as defined in Claim 5 wherein the angle of deflection varies with at least one of size of the particles, index of refraction of a media in which the particles are disposed, shape of the particles, density of the particles and surface chemistry of the particles.
7. The apparatus as defined in Claim 1 wherein the external force is adjusted to modify a deflection angle of the particles from the direction of the external force.
8. The apparatus as defined in Claim 1 wherein control of particle motion is obtained by a laser beam source having varying laser light intensity for the optical tweezers.
9. The apparatus as defined in Claim 8 wherein larger ones of the particles can be preferentially separated from smaller ones of the particles by selecting an appropriate laser light intensity.
10. The apparatus as defined in Claim 1 further including additional stages of the optical tweezer array to further deflect the particles.
11. The apparatus as defined in Claim 1 wherein the particles are selected from the group consisting of colloidal particles, macromolecules, biological cells, biological organelles, chromosomes, and mixtures thereof.
12. A method of controlling particle motion, comprising the steps of:
providing a flow of particles;

WO 03/024163

PCT/US02/28819

applying an external force to the particles; and
creating an optical tweezer array tilted at an angle relative to a direction of the external force.

13. The method as defined in Claim 12 further including the steps of changing laser beam intensity used to create the optical tweezer array, thereby controlling flow of the particles.

14. The method as defined in Claim 12 further including the steps of changing strength of the external force, thereby controlling flow of the particles.

15. The method as defined in Claim 12 wherein the particles have a range of at least one of size, shape, density, electronic charge, magnetic susceptibility, magnetic moment, dielectric constant, and nonlinear optical properties which have variable response to at least one of the external force, laser beam intensity and optical tweezer array, thereby creating a range of deflection angles for the particles.

16. The method as defined in Claim 12 wherein the angle is adjusted to change flow velocity of the particles.

17. The method as defined in Claim 12 wherein deflection occurs continuously.

18. The method as defined in Claim 12 wherein laser light is provided to form the optical tweezer array and wavelength of the laser light is adjusted to control particle motion.

19. The method as defined in Claim 12 wherein at least one of the optical tweezer array, the external force and angle of tilt are changed dynamically as the particles flow.

20. The method as defined in Claim 12 wherein the particles are selected from the group consisting of colloidal particles, macromolecules, biological cells, biological organelles, chromosomes, and mixtures thereof.

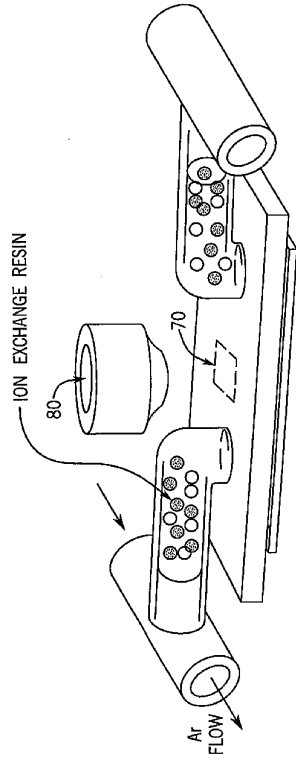


FIG. 1A

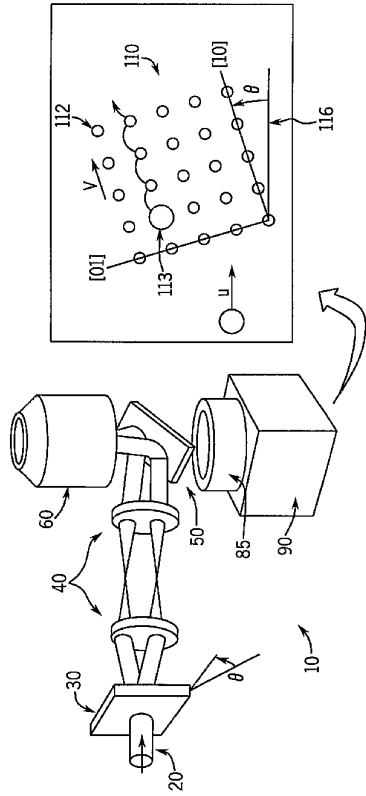
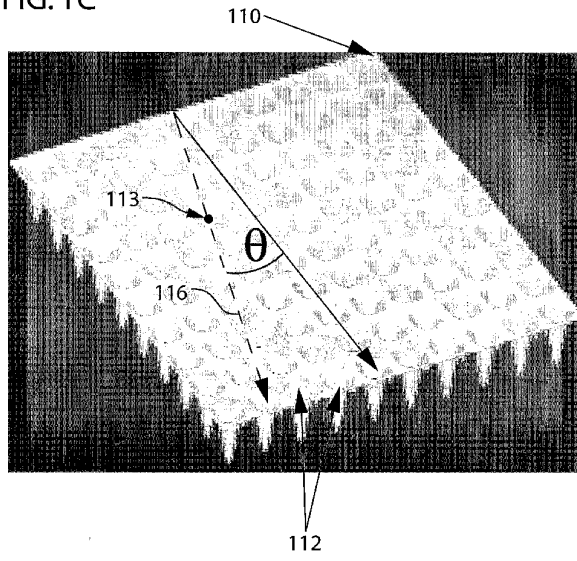


FIG. 1B

FIG. 1C



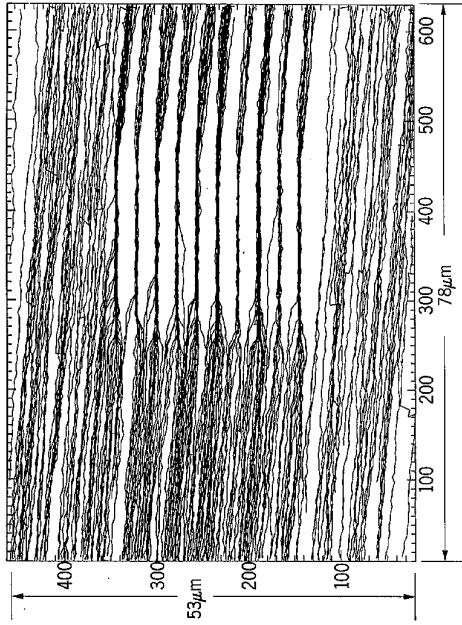


FIG. 2A

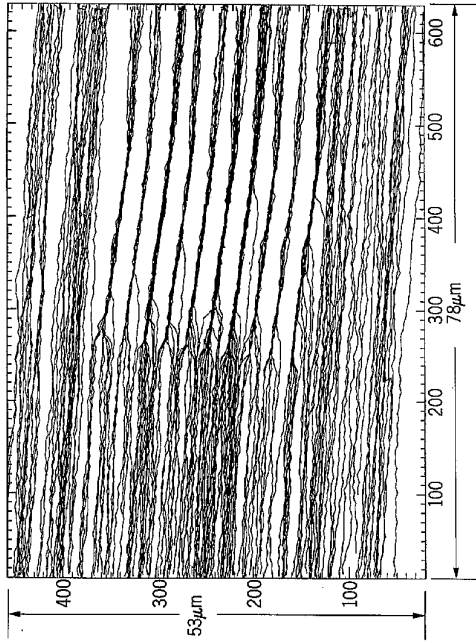


FIG. 2B

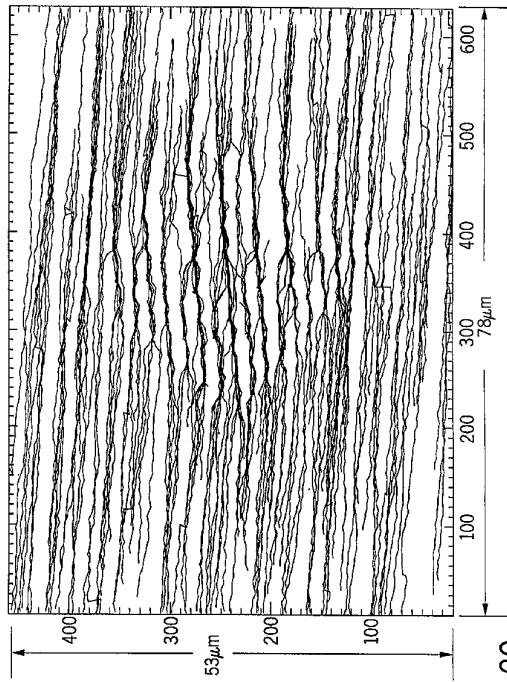


FIG. 2C

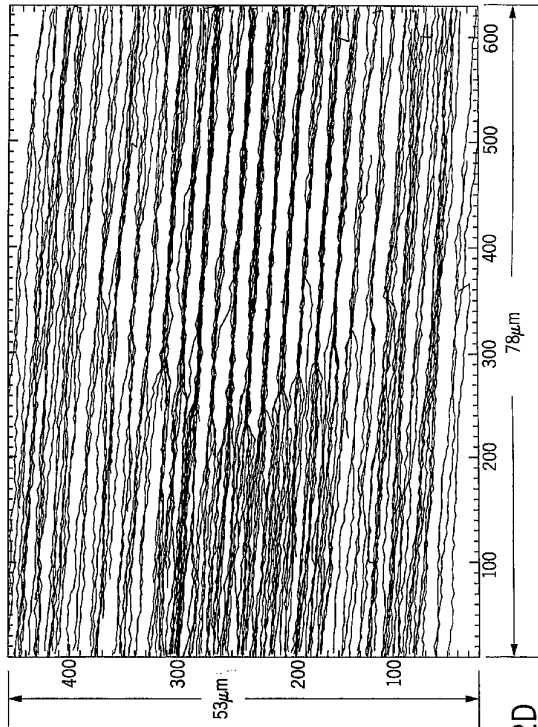
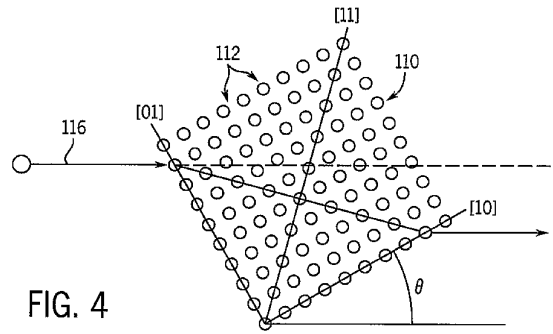
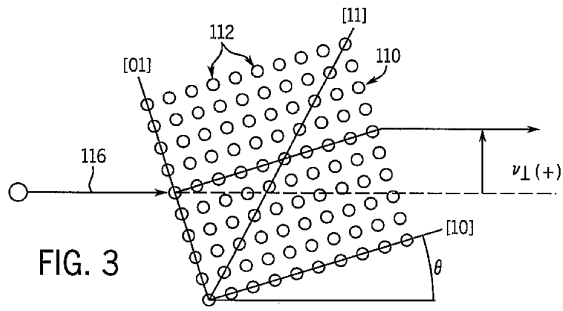


FIG. 2D



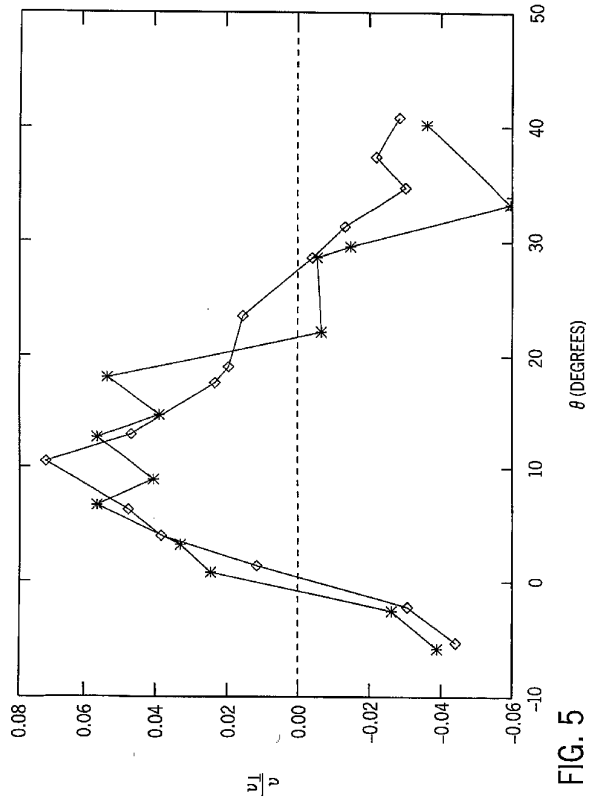
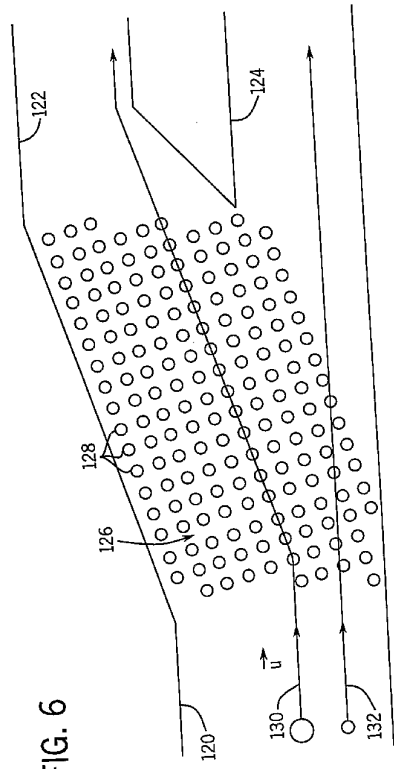


FIG. 5

FIG. 6



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/US 02/28819
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 H05H3/04 601N30/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 H05H 601N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
PAJ, EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Character of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	WO 02 39104 A (GENOPTIX INC) 16 May 2002 (2002-05-16) abstract; figures 14-21 ---	1, 12
A	DE 199 52 322 A (EVOTEC BIOSYSTEMS AG) 17 May 2001 (2001-05-17) column 3, line 32-51 column 4, line 1-17 column 7, line 2-25 column 8, line 8-52 column 9, line 36-46 ---	1, 12
A	US 5 495 105 A (TAKAYAMA HIDEHITO ET AL) 27 February 1996 (1996-02-27) column 5, line 50 -column 6, line 56; figure 5 column 8, line 42 -column 9, line 5; figure 9 ---	1, 12
-/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention **X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone **Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *S* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
18 November 2002	27/11/2002	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 940-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 940-3016	Authorized officer Zinggreb, U	

Form PCT/ISA210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US 02/28819

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 3 710 279 A (ASHKIN A) 9 January 1973 (1973-01-09) abstract; figure 11	1, 12

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT				International Application No.				
Information on patent family members				PCT/US 02/28819				
Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date					
WO 0239104	A	16-05-2002	AU 3069602 A	21-05-2002				
			WO 0239104 A1	16-05-2002				
			US 2002160470 A1	31-10-2002				
			US 2002115163 A1	22-08-2002				
			US 2002132315 A1	19-09-2002				
			US 2002123112 A1	05-09-2002				
			US 2002132316 A1	19-09-2002				
			US 2002115164 A1	22-08-2002				
			US 2002121443 A1	05-09-2002				
			US 2002113204 A1	22-08-2002				
			US 2002108859 A1	15-08-2002				
			DE 19952322	A	17-05-2001	DE 19952322 A1	17-05-2001	
						WO 0131315 A1	03-05-2001	
EP 1226419 A1	31-07-2002							
US 5495105	A	27-02-1996	JP 2714305 B2	16-02-1998				
			JP 5232398 A	10-09-1993				
			AT 172791 T	15-11-1998				
			DE 69321748 D1	03-12-1998				
			DE 69321748 T2	17-06-1999				
			EP 0556748 A2	25-08-1993				
			JP 2756397 B2	25-05-1998				
			JP 5296914 A	12-11-1993				
			US 3710279	A	09-01-1973	BE 755399 A1	01-02-1971	
						CA 929133 A1	26-06-1973	
CH 558201 A	31-01-1975							
CH 541213 A	31-08-1973							
DE 2060503 A1	24-06-1971							
DE 2065253 A1	01-02-1973							
FR 2073579 A5	01-10-1971							
GB 1341683 A	25-12-1973							
GB 1339733 A	05-12-1973							
JP 48011911 B	17-04-1973							
NL 7017967 A	17-06-1971							
SE 380382 B	03-11-1975							
SE 356839 B	04-06-1973							
SU 668630 A3	15-06-1979							
SU 657734 A3	15-04-1979							
US 3808550 A	30-04-1974							
US 3778612 A	11-12-1973							

フロントページの続き

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, N O, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 コーダ, パメラ・ティー

アメリカ合衆国イリノイ州 6 0 6 1 5 , シカゴ, イースト・フィフティース・ストリート 1 6 4
9

Fターム(参考) 2H052 AC34 AF14 AF19