



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114641450 A

(43) 申请公布日 2022.06.17

(21) 申请号 202080077794.5

(22) 申请日 2020.09.09

(30) 优先权数据

62/897,437 2019.09.09 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.05.09

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/049953 2020.09.09

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/050553 EN 2021.03.18

(71) 申请人 路玛赛特有限责任公司

地址 美国弗吉尼亚州夏洛茨维尔河路1145号

(72) 发明人 肖恩·哈特 科林·赫伯特

(74) 专利代理机构 北京市安伦律师事务所

11339

专利代理师 杨永波

(51) Int.Cl.

B81B 1/00 (2006.01)

G01N 15/14 (2006.01)

G12Q 1/6809 (2006.01)

G01N 35/08 (2006.01)

G01N 35/00 (2006.01)

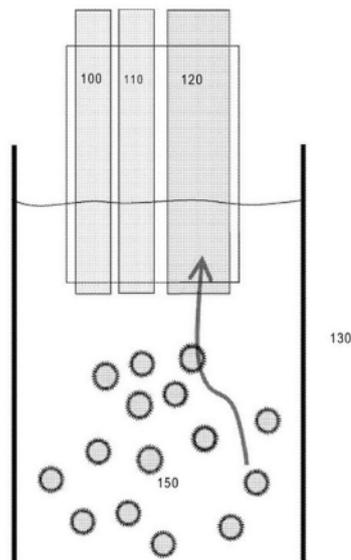
权利要求书4页 说明书12页 附图20页

(54) 发明名称

使用光力和拉曼光谱取样和分析细胞的微流体装置和方法

(57) 摘要

本文提供了用于在单孔或多孔板或器皿中自动分析一个或多个样本的装置和方法,其中,自动分析过程包括用于分析和分选样本的流动和流体动力、电动力和光力,其中,样本包括微流体通道中的液体或粒子,并且其中,装置包括能够加工所述样本的部件组件,用于基于流体和/或粒子的仪器的分析评估。描述了微流体结构(通道、“T”型、“Y”型、分支的“Y”型、孔和堰)用于促进样本相互作用和观察、样本分析、分选或分隔。检测可以使用光谱方法完成,包括但不限于单个细胞和大批细胞样本(细胞集合;几个个体到数百或数千个细胞)的拉曼光谱。



1. 一种微流体装置,包括一个或多个光纤探头和一个或多个流体管,其中,所述一个或多个光纤探头被设计为能够进行光谱测量,

并且其中,所述一个或多个流体管包括允许将含有粒子的样本引入仪器中的取样管,并且其中,所述取样管能够使粒子相对于所述光纤探头移动。

2. 根据权利要求1所述的装置,其中,所述探头包括用于传送激发光和收集拉曼信号的光纤。

3. 根据权利要求1所述的装置,其中,所述流体管能够将细胞或粒子引入取样区。

4. 根据权利要求1所述的装置,进一步包括能够使粒子与表面增强拉曼(SERS)或其他拉曼活性表面相互作用的壳。

5. 根据权利要求1所述的装置,进一步包括集成取样尖端。

6. 根据权利要求5所述的装置,其中,所述集成取样尖端具有定制尺寸,以能够使用较小的孔访问更高密度的孔板。

7. 根据权利要求5所述的装置,其中,所述集成取样尖端由3D打印制成。

8. 根据权利要求1所述的装置,其中,所述探头由聚合物、塑料、玻璃、金属或复合材料制成。

9. 根据权利要求1所述的装置,进一步包括可移动/可拆卸的尖端。

10. 根据权利要求9所述的装置,其中,所述可移动/可拆卸的尖端是可再用的。

11. 根据权利要求9所述的装置,其中,可移动/可拆卸的所述尖端可用带或夹子密封件夹在探头外壳上。

12. 根据权利要求11所述的装置,其中,可移动/可拆卸的所述尖端可用带或夹子密封件夹在拉曼探头外壳上。

13. 根据权利要求11或12所述的装置,其中,激光传感器被用于检查探头的完整性。

14. 根据权利要求1所述的装置,其中,所述光纤探头包括塑料、玻璃、或熔融石英、或液芯波导。

15. 根据权利要求1所述的装置,其中,用于样本装载的所述管是毛细管,并可充当液芯波导,在整个容量内分布激发光并在整个相同容量内收集发射或拉曼信号,以增强灵敏度。

16. 一种用于自动分析一个或多个样本的装置,

其中,所述自动分析过程包括自动流动,

其中,所述样本包括样本器皿中的液体或粒子,

其中,所述装置包括能够加工样本的部件组件,用于基于流体和/或粒子的仪器分析评估;

其中,所述微流体装置的一个或多个路径可被设计为通过在所述微流体通道网络中具有一个或多个通道来分割细胞、粒子、碎片或分子。

17. 根据权利要求16所述的装置,进一步包括一个或多个光纤探头和一个或多个流体管,其中,所述一个或多个光纤探头被设计为能够进行光谱测量,并且其中,所述一个或多个流体管包括允许将含有粒子的样本引入仪器中的取样管,并且其中,所述取样管能够使粒子相对于所述光纤探头移动。

18. 根据权利要求16所述的装置,其中,通过基于流体和/或粒子的仪器进行的所述分析评估包括使用拉曼光谱、光力、流体动力和/或电力。

19. 根据权利要求16所述的装置,进一步包括一个或多个特征,其能够在所述微流体通道网络中的所述一个或多个通道之间改变流速或压力。

20. 根据权利要求20所述的装置,其中,所述微流体通道网络中所述一个或多个通道之间的所述流速或压力由光力、电动力或声力调整。

21. 根据权利要求20所述的装置,其中,光力包括光镊、双激光束或激光力细胞学。

22. 根据权利要求19所述的装置,其中,所述微流体通道网络中的所述一个或多个通道包括专用于分析的通道和用于废物的通道。

23. 根据权利要求22所述的装置,其中,所述专用于分析和专用于废弃的通道之间的距离可被调整。

24. 根据权利要求19所述的装置,其中,所述微流体通道网络中的所述通道的直径可被调整。

25. 根据权利要求19所述的装置,进一步包括用于引入材料的一个或多个附加通道,其中,所述一个或多个附加通道包括带有单个输入的单个分析通道,或带有单个或多个输入的多个分析通道。

26. 根据权利要求25所述的装置,其中,所述材料包括分子、外来体、细胞、生化物质、细菌或病毒。

27. 根据权利要求19所述的装置,进一步包括在分析之前促进样本的混合的一个或多个区域。

28. 根据权利要求27所述的装置,其中,所述微流体通道网络中的所述一个或多个通道包括T或Y结点。

29. 根据权利要求19所述的装置,其中,所述微流体通道网络中的所述一个或多个通道的长度可被调整以控制流速以能够精确分析。

30. 根据权利要求20所述的装置,其中,所述微流体通道网络中的所述一个或多个通道的直径可被调整以控制流速以能够精确分析。

31. 根据权利要求21所述的装置,其中,所述微流体通道网络中的所述一个或多个通道的形状可被调整以控制流速以能够精确分析。

32. 根据权利要求19所述的装置,进一步包括所述微流体通道网络内的收集孔或分析区域,用于分选和聚积细胞以进行拉曼或其他光谱分析。

33. 根据权利要求32所述的装置,进一步包括用于拆分样本的附加废弃或释放通道。

34. 根据权利要求32所述的装置,包括微流体通道内的一个或多个收集孔或区域,用于聚积用于拉曼分析的细胞,还可包括一个或多个废弃或释放通道,用于拆分样本流,以使拉曼收集孔(和通道)中能够有流动或没有流动。

35. 根据权利要求19所述的装置,进一步包括微流体通道内的一个或多个收集孔或堰,用于基于激光的拉曼或其他光谱分析。

36. 根据权利要求35所述的装置,其中所述孔的深度和宽度可以进行调整,以精调其行为。

37. 根据权利要求35所述的装置,其中,所述孔或堰的底部包括电极或表面增强拉曼(SERS)材料,以促进拉曼或其他光谱分析。

38. 根据权利要求35所述的装置,其中,靠壁或其他结构收集所述样本的细胞、粒子、碎

片或分子以进行分析。

39. 根据权利要求35所述的装置, 其中, 流体力、光力、磁力、电动力或声力被用于协助收集或释放滞留在所述收集孔或堰中的细胞。

40. 一种用于对包括细胞、粒子、碎片或分子的样本进行微流体分析的方法, 包括使用一种用于自动分析一个或多个样本的装置,

其中, 所述自动分析的过程包括自动流动, 其中, 所述样本包括样本器皿中的液体或粒子, 其中, 所述装置包括能够处理样本的部件组件, 用于基于流体和/或粒子的仪器分析评估, 其中, 所述微流体装置的一个或多个路径可被设计为通过在所述微流体通道网络中具有一个或多个通道来分割细胞、粒子、碎片或分子;

其中, 所述微流体通道网络的所述一个或多个通道在一个或多个结点处连接,

其中, 所述装置进一步包括微流体通道内的一个或多个收集孔或堰, 用于基于激光的拉曼或其他光谱分析,

其中, 样本被装载到所述装置中, 所述样本的流速和流向通过结合光力和电动力来控制,

并且其中, 所述样本的细胞、粒子、碎片或分子聚积在可以测量拉曼信号的所述一个或多个收集孔或堰中。

41. 根据权利要求16所述的装置, 进一步包括一个或多个光纤探头和一个或多个流体管, 其中, 所述一个或多个光纤探头被设计为能够进行光谱测量, 并且其中, 所述一个或多个流体管包括允许将含有粒子的样本引入仪器中的取样管, 并且其中, 所述取样管能够使粒子相对于所述光纤探头移动。

42. 根据权利要求41所述的装置, 进一步包括, 通过使用任选地位于每个结点的多个激光或扫描到穿过所述结点的单个激光的激光力进行的进一步分析。

43. 根据权利要求40所述的装置, 其中, 电动力驱动所述样本的细胞、粒子、碎片或分子朝向阳极, 并且其中, 激光束驱动粒子通过所述微流体通道网络。

44. 一种用于对包括细胞、粒子、碎片或分子的样本进行微流体分析的方法, 包括使用一种用于自动分析一个或多个样本的装置,

其中, 所述自动分析的过程包括自动流动, 其中, 所述样本包括样本器皿中的液体或粒子, 其中, 所述装置包括能够处理样本的部件组件, 用于基于流体和/或粒子的仪器分析评估, 其中, 所述微流体装置的一个或多个路径可被设计为通过在所述微流体通道网络中具有一个或多个通道来分割细胞、粒子、碎片或分子;

其中, 所述微流体通道网络的所述一个或多个通道在一个或多个结点处连接,

其中, 所述装置进一步包括微流体通道内的一个或多个收集孔或堰, 用于基于激光的拉曼或其他光谱分析,

其中, 所述装置进一步包括一个或多个光纤探头和一个或多个流体管, 其中, 所述一个或多个光纤探头被设计为能够进行光谱测量, 并且其中, 所述一个或多个流体管包括允许将含有粒子的样本引入仪器中的取样管, 并且其中, 所述取样管能够使粒子相对于所述光纤探头移动;

其中, 样本被装载到所述装置中, 所述样本的流速和流向通过结合光力和电动力来控制,

其中,所述样本的细胞、粒子、碎片或分子聚积在可以测量拉曼信号的所述一个或多个收集孔或堰中;

其中,电动力驱动所述样本的细胞、粒子、碎片或分子朝向阳极,其中,在一个或多个结点处引入流动的拆分,并且激光束通过光压将所述样本的细胞、粒子、碎片或分子驱动到孔中,

并且其中,电泳力和光力之间的竞争提供了根据其不同组成分离粒子的能力。

使用光力和拉曼光谱取样和分析细胞的微流体装置和方法

技术领域

[0001] 本公开的具体实施方式涉及能够从一个或多个容器中进行自动纳米/微米/毫米流体取样的装置和使用该装置的方法。该容器可包括范围从一个孔或小瓶到多个多孔板的器皿。本文提供的装置进一步能够混合单个孔的内容物,使用用于光谱研究的光照亮在孔中或从孔中取样的细胞群,使用流体动力、光力、声力、磁力或电动力微流体地混合或分离颗粒或细胞样本用于分析,并使用光力或拉曼光谱监测基于粒子的过程。本文描述的装置和方法进一步包括使用拉曼光谱以及和电动力结合的光力和流体动力用于分析和分选细胞。

背景技术

[0002] 用于样本储存、处理和分析的自动化系统越来越多的使用,引起了自动化领域的广泛研究。当前的取样系统包括能够将样本从储存区移动到装载区进行取样的机械臂、能够保持样本悬浮的磁性或机械构件搅拌构件,以及能够调节样本储存或分析温度的加热或冷却区。

[0003] 现有技术装置包括涵盖分析研究的各种领域的自动取样设备(例如,与液相色谱法一起使用的美国专利第4713974号),但由于缺乏准确和一致的纳升流速控制、充分的样本混合和样本处理可靠的温度控制,其并不适合使用激光力细胞学(LFC)、拉曼光谱或其他光力和/或流体动力和/或电动力测量进行的生物细胞分析,例如包括捕获和分选的细胞操控。

[0004] Wilhelm等人的美国专利第4816730号描述了一种用于处理和移动多个物体的装置的使用,该装置包括能够垂直、水平和旋转移动的机械臂,并带有由电控步进电机驱动用于夹住样本的夹持机构。While Schmidt等人的美国专利第6872362号进一步描述了具有小瓶杯的动力自动取样器的使用,其适于包括由改变小瓶杯周围磁场的各种不同方式驱动的磁性搅拌棒。尽管此类现有技术描述了移动和混合样本的多种方法,但这些方法对于使用LFC仪器的生物细胞分析来说并不适当。我们需要的是改进的设备,其能够在范围从单个孔到多个多孔板的器皿进行储存、混合和取样,同时,通过使用基于气动的非接触式混合和温度控制下的单孔板块或多孔板块进行充分的混合和温度维持,从而维持生物细胞完整性。

[0005] 具有机械机构的自动孔板堆叠或取回系统可用于实现垂直或水平地按顺序堆叠或取回(CN204136215U、US20040206419A1),利用盒进行装载和卸载(美国专利第9744535号),或描述了将整批板同时堆叠或取回到库或塔架(美国专利第6086319号)。此外,之前的设计能够使孔板以随机(非顺序)的方式从储存塔中装载或移除,而不考虑它们堆叠的顺序如何(美国专利第7670555号)。我们需要的是能够以非顺序的方式,利用磁性接口,实现特定和自动的检测、选择、堆叠或取回所需的孔板至储存塔中,或从储存塔中堆叠或取回所需的孔板,并能够实现可与用于自动取样此类孔板的多重分析方法共同使用的孔板培养。

[0006] 我们还需要能够以为一系列应用提供有意义信息的方式来表示和分析粒子(例如

生物细胞)。例如,我们需要能够通过精确评估流体样本中的成分来分析流体样本。在某些具体实施方式中,需要能够监测和控制流体流动,以便流体中的粒子可以被分选,然后选择性地定位以进行评估。在某些具体实施方式中,能够分选流体样本中的粒子,以合适的配置定向粒子以表示其特性(即内部细胞器、表面蛋白质、受体、核变化或其他生物物理的或生物化学的标记等),将有助于体化医学的发展,例如基因或细胞疗法。在其他具体实施方式中,能够以表示和量化相互作用(结合亲和力、细胞杀伤能力或其他相互作用)为目的,使细胞或粒子彼此接触(在存在或不存在化学品/生物物(biochemical)的情况下)十分有益。此外,准确的粒子特性描述对于新型生物制剂或细胞或基因疗法产品的开发和设计也十分重要。具体地,对靶细胞(例如癌细胞——细胞系或原代细胞)和效应细胞(例如改造的T细胞——嵌合抗原受体T细胞(CAR-T)、T细胞受体(TCR)等)之间的相互作用的无标记测量,或任何其他破坏癌症的细胞疗法产品将是取代基于成像或染色(基于抗体或其他类型)的不充分共培养细胞杀伤测定的重要一步。因此,我们所需要的是一种能够改进粒子(例如细胞和其他化学和生物实体)的特性描述和资料收集的设备。

[0007] 在细胞疗法制造周期内,在多个阶段用拉曼光谱和/或电动力和/或光力测量内在特性可能很有价值。这种特性描述可与自体CAR T细胞的制造尤其相关。第一步通常是对患者进行单采,在此期间必须从红细胞和其他成分中提取白血细胞。由于每位患者的病史和个体性不同,对单采产品进行内在测量是很有价值的,因为这将是制造过程的起始材料。这种特性描述可以使用拉曼光谱和/或电动力和/或光力来完成,一旦聚积了足够量的数据,就可以用来指导制造过程或预测成功的机会。单采之后,通常使用慢病毒或逆转录病毒等病毒载体改造细胞,但也存在其他方法,例如转座子、锌指核酸酶或规律间隔成簇短回文重复序列(CRISPR)。患者细胞被基因改良的改造过程往往很难监测,因此其可能是拉曼光谱或光力的另一有价值的领域。在细胞被改造后,它们被扩大以提供给患者足够的剂量。这一过程也很难监测,需要新型分析工具以确定最佳过程情况。由于T细胞的不稳定性质,该过程可能因患者而异,并且并不总是能使用抗体标记来表示样本。因此,这是另一个可以使用拉曼光谱或光力来监测扩大步骤的领域,以优化并确保该过程的成功。最后,为了预测治疗的临床成功,必须对最终产品进行表示。目前,已存在一些方法,例如共培养杀伤测定或测量某些细胞因子,例如白介素-2(IL-2)。到目前为止,尚未确定能准确预测临床或生物制造成功的具体关键质量属性。因此,使用拉曼光谱和/或电动力和/或光力(单独或协同靶细胞)对产品细胞的测量提供了另一有价值的领域。产品还必须进行安全性测试,包括不存在支原体、细菌和病毒。在整个生产过程中或最终产品的拉曼光谱和/或电动力和/或光力的特性描述可用于以快速且无标记的方式测试这些外来剂中的每一个。拉曼光谱和/或电动力和/或光力也可用于通过收集血液或活检样本并分析细胞因细胞疗法而产生的表型变化,而测量患者对细胞疗法或基因疗法的反应。

[0008] 在基因疗法领域,其中患者的细胞为了治疗效果被改变,其通常使用腺病毒、腺伴随病毒(AAV)或慢病毒等病毒载体。对于慢病毒和AAV,尽管AAV也可以用辅助病毒如腺病毒、单纯疱疹病毒或杆状病毒制造,但其生产过程通常涉及转染步骤。一旦制造出来,病毒粒子就可以被感染或转导为靶细胞类型。转染、感染和转导的这些过程中的每一个都很难量化,而且,其可以成为应用使用拉曼光谱和/或电动力和/或光力进行测量的另一领域。与AAV相关的多个附加应用领域具体包括区分空衣壳与全衣壳、传染性衣壳与非传染性衣壳、

物理效价以及传染性效价。

[0009] 细胞疗法的另一方面中,内在测量的应用对干细胞产品的研究、开发、生产和分化将是有用的。由于包括介质补充和基因改良的各种方法可用于将细胞分化或去分化为不同的谱系,因此能够表示和监测这一过程非常重要。由于这些群体的异质性,每个细胞所遵循的分化路径的确切性质可能略有不同,这可能使得难以使用传统的基于抗体或荧光的方法来表示细胞群,因为尚不清楚可能存在哪些细胞类型。因此,采用一种无标记并可以测量内在特性的方法(例如拉曼光谱和/或电动力和/或光力)可以允许对这些群体和过程进行无偏的和灵活的特性描述和监测。另外,干细胞变形的程度是生物学上相关的,并可以通过应用光力来测量。

[0010] 包括使用拉曼光谱和/或电动力和/或光力测量粒子和细胞样本的至少一种内在(或外在)特性,可以为后续分析和利用此类粒子和细胞样本提供重要信息。有关此类特性的信息可用于一系列应用,包括但不限于:确定细胞样本的病毒传染性(特定细胞群中存在的功能上传染性病毒粒子的数量,类似于噬菌斑测定或终点稀释测定),用于病毒量化、过程开发和监测、样本释放测定、外来剂测试、临床诊断、生物标记物发现的目的;根据抗体或蛋白质确定细胞的生产力,用于过程开发和监测;确定基于细胞的疗法或基因疗法产生的细胞的功效、质量或激活状态,包括CAR T和其他肿瘤学应用以及干细胞;确定化学品、细菌、病毒、抗菌剂或抗病毒物质对特定细胞群的影响;以及确定研究或临床细胞样本的疾病状态或潜在性。

[0011] 因此,我们所需要的是装置、系统及其使用方法,其能够从容器(如小瓶、孔或多孔板)自动取样和光学的和/或水力的和/或电动的检测、分析和/或操控,并协调传送此类样本至分析区域以进行检测/特性描述和加工。

发明内容

[0012] 本公开的具体实施方式涉及能够对来自器皿的流体中的颗粒进行自动纳米/微米/毫米流体取样和分析的装置和使用该装置的方法,其中,器皿的范围从一个孔或小瓶到多个多孔板。颗粒样本(细胞、细菌、酵母等)的分析和分选是通过使用光力、电动力和流体动力和/或拉曼光谱来完成,以在微流体通道内移动细胞来完成分析,分选或分隔及光谱传感,以及通过使用拉曼光谱进行检测。更具体地,本文所述的新型装置和方法通过使用流体动力、电动力和光力来完成用于细胞分离和分析目的的流体操控。通过对微流体通道、孔、堰或聚积或浓缩细胞用于传感目的的其他结构内的细胞使用拉曼光谱测量,可以获得附加的生物化学数据和生物数据。在某些具体实施方式中,表面增强拉曼(SERS)信号的使用可通过用贵金属(金、银、铂等)涂层通道表面来实现,以增强信号收集。细胞可以成组或作为单个细胞进行传感,以收集大批或单个细胞数据。

附图说明

[0013] 图1提供了探头(如光纤探头)和用于取样的管的示意图。

[0014] 图2提供了光纤探头和微流体取样系统的示意图。

[0015] 图3提供了光纤探头和带有用于从小孔中取样的集成尖端的微流体取样系统的示意图。

[0016] 图4提供了光纤探头的示意图,其包含用于光纤探头和微流体取样系统的可移动/可拆卸的可再用系统尖端。

[0017] 图5(a)提供了示出微流体路径的具体实施方式的示意图,其用于分割细胞、粒子、碎片或分子。图5(b)提供了示出微流体路径的具体实施方式的示意图,其用于分割细胞、粒子、碎片或分子并连接至光纤探头取样系统。

[0018] 图6提供了示出微流体路径的具体实施方式的示意图,其用于分割细胞、粒子、碎片或分子并用于光力和细胞相互作用分析。

[0019] 图7提供了示出微流体路径的具体实施方式的示意图,其用于分割细胞、粒子、碎片或分子并用于光力或相互作用分析,且并入了大直径通道或通道区域。在本具体实施方式中,提供了一个分析区域的实施例,其中,拉曼光谱可用于获得有关样本中感兴趣粒子的相关测量和信息。

[0020] 图8提供了示出微流体路径的具体实施方式的示意图,其用于分割细胞、粒子、碎片或分子并用于光力或拉曼分析,以及后续引入生物物和/或其他细胞用于相互作用测量。

[0021] 图9(a)提供了示出微流体路径的具体实施方式的示意图,其中,一个或多个细胞群、粒子、碎片或分子在进入询问区域之前结合成单个群体。

[0022] 图9(a)提供了示出微流体路径的具体实施方式的示意图,其中,一个或多个细胞群、粒子、碎片或分子在进入询问区域之前进行结合。图9(b)提供了示出微流体路径的具体实施方式的示意图,其中,一个或多个细胞群、粒子、碎片或分子在进入询问区域之前使用T形结点进行结合。图9(c)提供了示出微流体路径的具体实施方式的示意图,其中,一个或多个细胞群、粒子、碎片或分子在进入询问区域之前进行结合,询问区域使用通道内的柱以控制流动状态和相互作用。

[0023] 图10提供了示出微流体架构的具体实施方式的示意图,示出了微流体通道内的拉曼收集孔,用于分选和聚积细胞以进行拉曼分析。

[0024] 图11提供了示出微流体架构的具体实施方式的示意图,示出了微流体通道内的拉曼收集孔,用于聚积细胞以进行拉曼分析,并有两个用于拆分的废弃或释放通道。

[0025] 图12提供了示出微流体架构的具体实施方式的示意图,示出了微流体通道内的拉曼收集孔,用于聚积细胞进行拉曼分析,并有用于拆分流动使得拉曼收集孔和通道内有或没有流动的三个废弃或释放通道。

[0026] 图13提供了示出微流体架构的具体实施方式的示意图,示出了微流体通道内的收集孔或堰,用于基于激光的拉曼分析或其他分析。

[0027] 图14提供了示出具体实施方式的示意图,该具体实施方式展示了捕获细胞或细胞群并使用流体力、光力或电动力进行分析的配置。

[0028] 图15提供了示意图,其示出了光力、拉曼检测与微流体SERS基底的集成,用于表面、孔和堰。

[0029] 图16提供了示意图,其示出了使用结合光力、电动力和拉曼光谱的装置对微米或纳米粒子进行微流体分析。

[0030] 图17提供了示意图,其示出了使用结合光力、电动力和拉曼光谱的装置对微米或纳米粒子进行微流体分析。

[0031] 图18提供了示意图,其示出了使用结合光力、电动力和拉曼光谱的装置对微米或

纳米粒子进行微流体分选。

具体实施方式

[0032] 参考具有各种特征的特定具体实施方式描述本发明。对于本领域技术人员显而易见的是,在不脱离本发明的范围或精神的情况下,可以在本发明的实践中进行各种改良和改变。本领域技术人员将认识到,这些特征可以基于给定应用或设计的要求和规范单独使用或以任何组合使用。本领域技术人员将认识到,本发明具体实施方式的系统和装置可以与本发明的任何方法一起使用,并且本发明的任何方法可以使用本发明的任何系统和装置来进行。包括各种特征的具体实施方式还可以包括或基本包括这些各种特征。从本发明的说明书和实践的考虑,本发明的其他具体实施方式对本领域技术人员来说是显而易见的。所提供的对本发明的描述本质上仅为示例性的,因此,不偏离本发明实质的变化意在本发明的范围内。

[0033] 在详细解释本发明的至少一个具体实施方式之前,应当理解的是,本发明不局限于其在下文说明中所列的或附图中所列举的具体构造和部件布置的应用。本发明能够具有其他具体实施方式,并能够通过各种方式来实施或实现。另外,应当理解的是,本文所用之措辞和术语系出于说明之目的,而非出于限定之目的。

[0034] 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技术和方法所涵盖的本领域普通技术人员通常理解或使用的含义。

[0035] 本文提及的文本和参考文献以其全文并入本文,包括2018年4月7日提交的美国临时专利申请序列第62/654335号和2019年4月8日提交的美国专利申请序列第16/378067号。

[0036] 本文提供了用于自动化样本分析的新型装置,其中,样本存在于小瓶、器皿、孔、多孔板等中;还提供了使用此类装置的方法。在本文中,这些装置可称为微流体装置,并且这些装置可用于分析颗粒样本,其中,样本包括各种粒子、细胞、生物和/或化学实体。微流体设备传送合适的介质/配置/器皿中的样本,以便通过基于流体的仪器或系统对液体、颗粒或细胞进行分析。用于分析的合适的基于流体的仪器可以利用激光力细胞学(LFC)或其他方法。在某些具体实施方式中,使用一系列将流体动力、光力和电动力与拉曼光谱相结合的新型方法来完成粒子/细胞的特征描述。应用的范围可细分为多个类别,包括但不限于:(1)使用探头在孔或管中进行离线拉曼光谱分析,(2)芯片上微流体拉曼检测或细胞分离以进行后续拉曼分析,(3)基于内在参数的细胞的电动分选和/或光学分选和/或拉曼光谱,无需使用标记,(4)使用孔或堰用光力、流体动力或电动力以及拉曼光谱分隔细胞,以测量细胞的生物化学特性,以及(5)使用金属涂层来增强拉曼信号,以及使用流体动力或光力的微流体装置中的堰、孔或通道。

[0037] 在一个具体实施方式中,本文所述的微流体装置可进一步包括双光纤探头。例如,如图1所示,用于从器皿(130)中对含有流体的粒子进行取样的双光纤探头和流体管(120)可被并入仪器中,以便在取样点进行光谱测量。在某些具体实施方式中,探头由光纤(100、110)制成,用于传送激发光和收集拉曼信号。探头也可以由适合其目的的其他材料制成。集成取样管(120)允许将细胞或粒子(150)引入仪器中。探头、孔板或两者均可在一个至三个尺寸中转换,以便于自动取样。在某些具体实施方式中,器皿的底座可以是SERS活性的,以增强或启用拉曼信号能力。

[0038] 在如图2所示的具体实施方式中,提供了双光纤探头和带有壳(240)的微流体取样管,以允许细胞或粒子(150)与SERS或其他拉曼活性表面的相互作用以增强拉曼信号(260)。这用于在每个样本基础上进行拉曼测量,并同时引入样本至另一装置中。根据需要,可以在拉曼或其他传感器纤维前面冲洗液体,以在样本之间进行清洗,防止样本交叉。

[0039] 图3示出了光纤探头和带有用于从小孔或管中取样的集成尖端(160)的微流体取样系统。根据需要,可以在拉曼或其他传感器纤维前面冲洗液体,以在样本之间进行清洗,防止样本交叉。可以任选地包括SERS或其他拉曼活性表面,以增强拉曼信号(260)。通过使用取样尖端,该装置使得能够用较小的孔访问更高密度的孔板。尖端可以由任何合适的材料制成,包括但不限于聚合物、塑料、玻璃、金属或复合材料。取样尖端的大小和尺寸可根据应用定制,并可通过本领域技术人员已知的方法生产,例如通过3D打印。

[0040] 图4提供了本发明的附加具体实施方式,其中,描绘了用于图3的光纤探头和微流体取样系统的可移动/可拆卸的可再用系统尖端(170)。玻璃(或其他材料)尖端附接至金属拉曼探头外壳(180),其可以是金属、塑料或其他材料,并带有在它们之间夹住密封件或垫片(300)的带或夹子(310),用于流体中的密封。在替代的具体实施方式中,尖端(170)经由磁铁或电磁铁附接到外壳(180)。探头尖端(175)可以更换,并且激光传感器可以选择性地用于检查探头的完整性。在替代的具体实施方式中,底部(190)是光学上不透明或暗的,以防止来自孔板底部的荧光。

[0041] 图5(a)提供了一个具体实施方式,其中,微流体装置(例如自动取样器)的一个或多个路径可被设计为通过在微流体通道网络中具有分叉来分割细胞、粒子、碎片或分子。这种网络可以流体地放置在图1~4中描述的任何探头系统的下游,或者可以是独立式装置。通过改变两个通道之间的流速或压力,或使用一些其他方式,例如光力、电动力或声力,可以通过将粒子或细胞(150)引导至废弃通道(510)或分析通道(520)来获得对其方向的控制。根据特性或类型,细胞可被引导至分析区域。例如,图5(a)示出了群体中优先被引导至分析区域的第二细胞类型(155)。图5(b)示出了光纤探头取样系统(如图1~4所述)与分叉通道的系统(如图5(a)所示)之间的连接的一个具体实施方式。在本具体实施方式中,样本由细胞(150)和(155)的混合群体制成。取决于其特性,每个群体中有一些可能会被引导至分析区域。

[0042] 图6示出了如何通过将细胞引导入微流体装置中的专用分析通道(520)与废弃通道(510),来实现对某些细胞或粒子(150)或(155)的选择性分析。在一个具体实施方式中,当细胞进入通道结构时,通过由基于细胞光学成像的反馈回路控制的流体压力,流动被改变以将细胞移位至分析通道中。其他具体实施方式可使用诸如光力、磁力、电动力或声力等其他力将细胞引导至分析通道或将其捕获在分析通道中以进行询问。基于光力的方法可包括使用光镊夹住细胞、双激光束或被捕获在流动和轻度聚焦激光束(激光力细胞学)之间的细胞。在一个具体实施方式中,示出了被聚焦到分析通道(520)中的准直光源(630)。基于分析的需要,分叉(610)的入口和分析通道(520)之间可能存在较大的距离或偏移(620)。这是为了防止激光或其他细胞上的光源影响未进入分析通道的细胞。

[0043] 图7描绘了在并入了较大直径通道或通道区域的具体实施方式中,用于分割细胞、粒子、碎片或分子以进行光力或相互作用分析的微流体路径。该较大区域(710)降低了流体速率,以便于捕获和增加停留时间用于分析。该分析可包括,例如拉曼光谱、荧光或其他测

量。

[0044] 通过具有用于导入的单独通道(810),可以实现分子、病毒、外来体、细胞或其他材料的添加(图8)。这可以是带有单个输入的单个分析通道,或用于引入其他材料的带有单个或多个输入的多个分析通道。光力和流体动力捕获的细胞可以以一种可控的方式经历注入化学物、生化物、细菌、病毒、外来体、细胞或其他材料(820)。

[0045] 创建和测量细胞的相互作用的另一种方法是在分析之前混合样本(图9a~9c)。在一个具体实施方式中,从器皿1(910)流动的样本和从器皿2(920)流动的样本可以结合。在分析之前,样本将行进通过相互作用区域(930)。样本可能会也可能不会在化学上或生物上相互作用或结合。混合的群体在分析前行进的行程可以被定制,以实现精确的分析时间。这也可以通过在固定距离上调整流速来实现。此外,在分析前细胞或粒子相互作用的停留时间可由流体力、光力、电动力或磁力控制。通道结构可以被定向为水平、垂直或相对于重力成一定角度。通过在分析区域之前并入T或Y结点,相互作用可被控制。图9(b)示出了描绘T结点的一个具体实施方式。也可以采用形状或其他特征,以促进或改善两个不同样本或群体之间的相互作用。图9(c)示出了一个具体实施方式,其中,通道内存在柱阵列(930),以控制被引入通道内的任何细胞或粒子之间的相互作用。

[0046] 图10提供了在微流体通道内具有收集孔或分析区域(1030)的微流体架构的具体实施方式,用于分选和聚积细胞或粒子(150)以进行拉曼或其他光谱分析。细胞可被引导至废弃通道(1010)或使用流体力、光力、磁力、电动力或声力(1015)在分析区域(1030)内被收集。在分析之后,细胞或粒子可经由通道(1040)被引导以离开装置。

[0047] 图11提供了图10中的微流体架构,示出了微流体通道内的收集孔或区域(1030),用于聚积细胞以进行拉曼或其他分析,并有在分析前用于拆分的附加的废弃或释放通道(1020)。

[0048] 图12提供了图11所示的微流体架构,示出了微流体通道内的收集孔或区域,用于聚积细胞进行拉曼分析,并有附加的两个废弃或释放通道,用于拆分流动使得拉曼收集孔和通道内有或没有流动。

[0049] 图13中示出了微流体架构,示出了微流体通道内的样本收集孔或堰,用于基于激光的拉曼或其他光谱分析。图13(a)示出了孔的一个具体实施方式的俯视图,不过其形状可以是圆形(如图所示)、矩形、椭圆形或多边形。示出了几个具体实施方式。在图13(b)中,孔用于捕捉一个或多个细胞。孔的深度(1310)和宽度(1315)可以进行调整,以精调其行为,包括收集的细胞(150)的数量和类型。孔的底部可包括电极或SERS材料(1320),以促进拉曼或其他光谱分析。图13(c)示出了堰,其中细胞靠壁或其他结构被收集以进行分析。堰(1330)的高度可以进行调整,堰区也可包含类似于孔的电极或SERS材料(1320)。图13(d)示出了带有多个孔的具体实施方式。这些孔可以以各种配置隔开,并可以与一个或多个堰结构结合。也可以单独使用多个堰结构,以创建多个收集或分析区域。在每个具体实施方式中,流体力、光力、磁力、电动力或声力可用于协助收集或释放滞留在结构中的细胞。

[0050] 图14提供了具体实施方式,用于使用流体力、光力、磁力、电动力或声力在(1030)中捕获粒子、细胞或细胞群以进行拉曼或其他光谱分析。图14(a)示出了一个具体实施方式,其中,准直光源(630)用于施加光力以在拉曼分析孔(1030)内捕获细胞或粒子(150)。图14(b)示出了另一个具体实施方式,其使用电动力在拉曼分析孔(1030)内捕获细胞或粒子。

[0051] 图15提供了示意图,其展示了光力、拉曼检测与微流体SERS基底的集成,用于图13和图14的表面、孔和堰。光力可以用于将细胞或粒子捕获到SERS涂层或基底上,以便于分析。图15(a)示出一个具体实施方式,其中激光或准直光源(630)提供可将细胞或粒子(150)捕获到SERS涂层或基底(1500)上的光力(1510),然后使用拉曼光谱对其进行分析。流体从通道或通道网络的入口(1530)流向(例如,如图13和14所述)出口(1520)。图15(b)示出了具有孔(1550)的具体实施方式,其在细胞(150)被光力(1510)作用后实质捕捉并分隔细胞(150)。

[0052] 图16示出了使用结合光力、电动力和/或拉曼光谱的装置对细胞、微米或纳米粒子进行微流体分析。电动力从阴极(1600)向阳极(1610)驱动纳米粒子,并且它们聚积在可以测量拉曼信号的势阱(1410)中。随后,使用位于每个结点的多个激光(1400)或扫描到穿过结点的单个激光的激光力进行活性分析。装置可以包含一个或多个结点。这些激光会施加光力以驱动粒子逆于流体流动,以测量纳米粒子的特性。在一个具体实施方式中,具有不同特性(1620、1622、1624)的细胞或粒子根据其电特性聚积在每个结点。在替代的具体实施方式中,粒子根据其电动力移动并遇到激光束,并通过由其各自的生物化学和生物物理特性生成的光力自动推进不同的距离。

[0053] 图17示出了使用结合光力、电动力和/或拉曼光谱的装置对细胞、微米或纳米粒子进行微流体分析。电动力驱动纳米粒子朝向阳极(1610),并且在每个结点处1505、1515、1525,激光束(1550)驱动粒子通过通道。装置可以包含一个或多个结点。电泳力/流与激光光力对粒子的驱动程度将决定其轨迹。与折射率较低的粒子相比,折射率较高的粒子(1626)将更多地沿着激光束被驱动,同样,电泳力较大的粒子将被驱动远离激光束,并朝向其他分析区域的级联。电泳力和光力之间的竞争提供了分析不同组成的颗粒的能力。其他具体实施方式可包括磁力、声力、电动力或光力的各种组合,以及拉曼光谱和/或基于压力的泵送。例如,一种结合光力和拉曼光谱的装置,其中流体由基于压力的流动驱动。

[0054] 图18示出了使用结合光力、电动力和/或拉曼光谱的装置对微米或纳米粒子进行微流体分选。电动力驱动纳米粒子朝向阳极(1610),并且在每个结点处1505、1515、1525,流动中的拆分被引入,并且激光束通过光压将粒子分别驱动至孔或出口1510、1520和1530。装置可以包含一个或多个结点。电泳力/流与激光光力对粒子的驱动程度将决定其分离路线。与折射率较低的粒子相比,折射率较高的粒子(1626)将更多地被驱动至分离通道/孔中,同样,电泳力较大的粒子将被驱动远离分离通道或孔,并朝向其他分离区域的级联。电泳力和光力之间的竞争提供了分离不同组成的颗粒的能力。

[0055] 在一个具体实施方式中,本文提供了用于自动分析一个或多个样本的装置,其中,自动分析的过程包括自动流动,其中,样本包括样本器皿中的液体或粒子,并且其中,装置包括能够加工样本(或多个样本)的部件组件,用于基于流体和/或粒子的仪器的分析评估。装置可包括用于分析含有粒子/细胞的样本的微流体部件。在一些具体实施方式中,微流体部件可包括自动取样器。在一些具体实施方式中,该装置可包括Radiance®(美国弗吉尼亚州,LumaCyte)。还提供了使用此类装置的方法。在某些具体实施方式中,本发明的装置包括使用一系列将流体动力、光力和电动力与拉曼光谱相结合的新型方法对细胞进行粒子分析和特性描述的附加功能。

[0056] 在一个具体实施方式中,细胞和粒子分析在离线拉曼布置中进行。例如,分析可发

生在孔中(即,和自动取样器一样)。在该具体实施方式中,分选的或未分选的细胞可以被引导到能够使用光纤探头测量拉曼的储存器中。此类分析可在多种孔板中进行,包括但不限于6、12、24、48、96、192、288、384或1536孔板,并且此外,分析可在可变或固定容量的孔或储存器中进行。可以使用具有腔和混合能力以防止孔板对拉曼测量产生背景噪声的探头,例如光纤探头。在取样步骤期间,当流体被抽出时(使用来自注射泵的流体动力流或流体驱动流动上的空气压力,或电渗流),它会充满腔,进行典型测量。在某些具体实施方式中,可将适当尺寸的取样管附接到探头的腔部分,以将流体吸入自动取样器,同时进行拉曼测量。这种类型的配置允许大型光纤探头被设计带有过滤器,并且仍然可以访问小样本。在某些具体实施方式中,分析可在带有SERS活性底部的孔板中进行,其中细胞聚积;这种孔板可以是玻璃底部,并且拉曼测量可以从下面或上面进行。

[0057] 在替代的具体实施方式中,本发明的装置和方法可包括发生在专用于拉曼分析的自动取样器的单独区域中的芯片上的粒子或细胞分析。取决于任务的目的和功能,该装置的各种配置可能是合适的。例如,在一些具体实施方式中,微流体通道可以被拆分,即通道的双分叉或三分叉(或更多拆分),以将部分细胞引导至用于拉曼测量的区域;可使用特定几何形状的激光束、DEP或激光DEP组合夹住粒子;光力可以夹住细胞靠在带有SERS活性表面的壁上。在某些配置中,样本之间可能存在清洁周期中被冲洗掉的单个区域(包括带有电子压力控制器的释放通道,以处理装载样本后的流动。分析可以切换回主废弃通道,以将装载在拉曼室中的细胞留在芯片上。)在某些具体实施方式中,可使用具有用于收集和测量96个样本的区域的一次性芯片。在某些其他的具体实施方式中,可使用用户可更换结点,其中,使用芯片支架和管道连接或集成连接至管道(优选)。其他特征包括样本相互作用通道,其中,使用激光/水动力或激光/电动力夹住靶细胞,然后引入生物或其他细胞或材料;之字形或锯齿形区域的电动力,用于捕获和测量拉曼信号;激光分离来自电动捕获区的纳米粒子;以及使用LFC激光(激光的组合,以导入光力并同时生成拉曼信号)进行芯片上的实时拉曼测量。

[0058] 在一个具体实施方式中,由本文所述的微流体装置分析的样本可包括但不限于聚合物、金属、玻璃或基于合金的粒子、生物细胞、植物细胞(藻类细胞或其他)、原核细胞(细菌)、真核细胞、酵母、真菌、霉菌细胞、红细胞、神经元、卵细胞(卵子)、精子、白细胞、嗜碱性粒细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、单核细胞、淋巴细胞、巨噬细胞、血小板、囊泡、外来体、基质细胞、多细胞结构(如球状体)、间充质干细胞、和诱导多能干细胞(iPSCs)、肿瘤细胞、原发癌细胞、T细胞、B细胞、单核细胞、巨噬细胞、其他白细胞、红细胞、基因改造T细胞或任何其他改造细胞或基因疗法改良产品,以及亚细胞成分,包括细胞核、线粒体或叶绿体。样本可以是合成制造的,或从天然来源获得。样本可从体液或身体物质中获得,包括但不限于眼泪、唾液、痰、血液、血浆、淋巴、尿液、汗液、脓液、鼻涕或精液。

[0059] 在一个具体实施方式中,通过基于流体和/或粒子的仪器进行的分析评估包括但不限于测量光力、激光力细胞学、拉曼光谱、自动显微镜、毛细管电泳、单细胞液滴微流体、单细胞基因组学、测序装置、质谱分析、以及核酸或蛋白质分析、扩增、或者改良。

[0060] 在某些具体实施方式中,装置中用于流体处理的部件包括装在样本器皿内的外管,装在外管直径内的一个或多个离散的内管,并有用于光谱传感(包括但不限于拉曼光谱)的光纤,以及与流体连接至取样器皿的一个或多个目的器皿的连接,一个或多个单独的

系统用于以可控的方式将流体移入或移出取样器皿。在一些具体实施方式中,阀可用于优先驱动流体进入一个或多个内管,或防止流体进入一个或多个内管,并且用于移动流体的系统可包括真空系统、基于压力的系统或泵(例如蠕动泵、隔膜泵、注射器或其他)。在某些具体实施方式中,流体处理装置位于对取样器皿或其隔室创建气密密封的歧管内。外管可由金属、塑料、陶瓷、复合材料、玻璃/毛细管或其他材料制成;管可以由金属、塑料、陶瓷、复合材料、玻璃/毛细管或其他材料制成。在一些具体实施方式中,内管使用连接器(例如配件、护套、套圈或其他外壳)以可逆方式连接到外管,或以永久方式使用胶水、环氧树脂、胶粘剂或其他粘合剂连接到外管。在一些具体实施方式中,通过使用增材制造技术,外管和内管被制为一种或多种材料类型的单件,该增材制造技术包括3D打印,例如立体光刻、数字光处理、熔融沉积成型、选择性激光烧结、选择性激光熔化、电子束熔化、分层实体制造、喷胶成型、材料喷涂成型或其他技术。此外,外管和内管可以使用激光制图和氢氟酸(HF)或氢氧化钾(KOH)蚀刻和粘结法由玻璃制造。在其他具体实施方式中,该装置的内管被连接至可被传送至取样器皿或系统内其他器皿的一个或多个流体储存器。液体可被传送以分离样本装置中生长的贴壁细胞。样本器皿可包括小瓶或孔板,该孔板包括6、12、24、48、96、192、288、384、1536或任意定制数量的孔。

[0061] 在一个具体实施方式中,本文提供了微流体装置、系统及其使用方法,包括一个或多个光纤探头和一个或多个流体管,其中,一个或多个光纤探头被设计为能够进行光谱测量,并且其中,一个或多个流体管包括允许将含有粒子的样本引入仪器中的取样管,并且其中,所述取样管能够使粒子相对于光纤探头移动。探头可包括用于传送激发光和收集拉曼信号的光纤,流体管能够将细胞或粒子引入取样区,并且装置可进一步包括能够使粒子与SERS或其他拉曼活性表面相互作用的壳。探头可以由聚合物、塑料、玻璃、熔融石英、液芯波导、金属、复合材料或任何其他合适的材料构成。

[0062] 在一些具体实施方式中,本公开的装置可包括集成取样尖端;其中,集成取样尖端具有定制尺寸,以能够使用较小的孔访问更高密度的孔板。集成取样尖端可以通过3D打印或本领域技术人员已知的任何其他方法生产。在某些具体实施方式中,取样尖端可以是可移动或可拆卸的,也可以是可再用的。可移动或可拆卸尖端可用带或夹子密封件夹在探头外壳上,其中,探头外壳可进一步包括拉曼特征。为了确保探头的完整性,可以采用激光传感器。

[0063] 在某些具体实施方式中,用于样本装载的管可包括毛细管,并可充当液芯波导,在整个容量内分布激发光并在整个相同容量内收集发射或拉曼信号,用于增强灵敏度。

[0064] 本文提供了用于自动分析一个或多个样本的装置和方法,其中,自动分析的过程包括自动流动,其中,样本包括样本器皿中的液体或粒子,并且其中,装置包括能够加工样本的部件组件,用于基于流体和/或粒子的仪器的分析评估。在某些具体实施方式中,微流体装置的一个或多个路径可被设计为通过在微流体通道网络中具有一个或多个通道来分割细胞、粒子、碎片或分子。该装置可进一步包括一个或多个光纤探头和一个或多个流体管,其中,一个或多个光纤探头被设计为能够进行光谱测量,并且其中,一个或多个流体管包括允许将含有粒子的样本引入仪器中的取样管,并且其中,所述取样管能够使粒子相对于光纤探头移动。

[0065] 通过基于流体和/或粒子的仪器进行的分析评估包括使用拉曼光谱、光力、流体动

力和/或电力。

[0066] 在某些具体实施方式中,本公开的装置进一步包括一个或多个特征,其能够在微流体通道网络中的一个或多个通道之间改变流速或压力。微流体通道网络中一个或多个通道之间的流速或压力由光力、电力或声力调整。如本文所设想的,光力可包括光镊、双激光束或激光力细胞学及其同等物。

[0067] 该装置可进一步包括附加特征,例如其中,微流体通道网络中的一个或多个通道包括专用于分析的通道和用于废弃的通道。可以调整专用分析和废弃通道,可以调整微流体通道网络中通道的直径,并且装置可进一步包括用于引入材料的一个或多个附加通道,其中,一个或多个附加通道包括带有单个输入的单个分析通道,或带有单个或多个输入的多个分析通道。附加的材料包括但不限于分子、外来体、细胞、生物物、细菌或病毒。

[0068] 在某些具体实施方式中,本公开的装置可进一步包括在分析之前促进样本的混合的一个或多个区域。微流体通道网络的通道可针对任何所需配置进行定制,包括并入T或Y结点,调整通道的长度、直径、形状或其他尺寸,以调整流速并实现精确分析。通道网络可进一步包括微流体通道网络内的一个或多个收集孔或分析区域,用于分选和聚积细胞以进行拉曼或其他光谱分析。某些具体实施方式可包括用于拆分样本的附加废弃或释放通道。某些具体实施方式可包括微流体通道内的一个或多个收集孔或区域,用于收集用于拉曼分析的细胞,还可包括一个或多个废弃或释放通道,用于拆分样本流,以使拉曼收集孔(和通道)中能够有流动或没有流动。在某些具体实施方式中,本文中的装置可进一步包括微流体通道内的一个或多个收集孔或堰,用于基于激光的拉曼或其他光谱分析,并且可调整孔的深度和宽度以精调行为。任选地,孔或堰的底部可包括电极或SERS材料,以促进拉曼或其他光谱分析。在某些具体实施方式中,靠壁或其他结构收集样本的细胞、粒子、碎片或分子以进行分析,并且使用流体力、光力、磁力、电力或声力来协助收集或释放滞留在收集孔或堰中的细胞。

[0069] 在本公开的一个具体实施方式中,用于对包含细胞、粒子、碎片或分子的样本进行微流体分析的方法,包括使用用于对一个或多个样本进行自动分析的装置,其中,自动分析过程包括自动流动,其中,样本包括样本器皿中的液体或粒子,其中,该装置包括能够通过基于流体和/或粒子的仪器加工用于分析评估的样本的部件组件,其中,该微流体装置的一个或多个路径可设计为通过在该微流体通道网络中具有一个或多个通道来分割细胞、粒子、碎片或分子,其中,微流体通道网络中的一个或多个通道在一个或多个结点处连接,其中,该装置进一步包括微流体通道内的一个或多个收集孔或堰,用于基于激光的拉曼或其他光谱分析,其中,样本被装载到该装置中,通过结合光力和电力控制样本的流速和流向,其中,样本的细胞、粒子、碎片或分子聚积在可以测量拉曼信号的一个或多个收集孔或堰中。在某些具体实施方式中,该装置进一步包括一个或多个光纤探头和一个或多个流体管,其中,一个或多个光纤探头被设计为能够进行光谱测量,并且其中,一个或多个流体管包括允许将含有粒子的样本引入仪器中的取样管,并且其中,所述取样管能够使粒子相对于光纤探头移动。在某些具体实施方式中,通过使用任选地位于每个结点的多个激光或扫描到穿过结点的单个激光的激光力进行进一步分析。电力可驱动样本的细胞、粒子、碎片或分子朝向阳极,并且可采用激光束以驱动粒子穿过微流体通道网络。

[0070] 在一个具体实施方式中,本公开包括用于对包含细胞、粒子、碎片或分子的样本进

行微流体分析的方法,包括使用用于对一个或多个样本进行自动分析的装置,其中,自动分析过程包括自动流动,其中,样本包括样本器皿中的液体或粒子,其中,该装置包括能够通过基于流体和/或粒子的仪器加工用于分析评估的样本的部件组件,其中,该微流体装置的一个或多个路径可设计为通过在该微流体通道网络中具有一个或多个通道来分割细胞、粒子、碎片或分子,其中,微流体通道网络中的一个或多个通道在一个或多个结点处连接,其中,该装置进一步包括微流体通道内的一个或多个收集孔或堰,用于基于激光的拉曼或其他光谱分析,其中,该装置进一步包括一个或多个光纤探头和一个或多个流体管,其中,一个或多个光纤探头被设计为能够进行光谱测量,并且其中,一个或多个流体管包括取样管,允许将含有样本的粒子引入仪器,并且其中,取样管允许粒子相对于光纤探头移动,其中,样本被装载到装置中,样本的流速和流向通过结合光力和电动力来控制,其中,样本的细胞、粒子、碎片或分子聚积在一个或多个可测量拉曼信号的收集孔或堰中,其中,电动力驱动样本的细胞、粒子、碎片或分子朝向阳极,其中,在一个或多个结点处引入流动的拆分,并且激光束通过光压将样本的细胞、粒子、碎片或分子驱动到孔中,并且其中,电泳力和光力之间的竞争提供了根据不同组成分离粒子的能力。

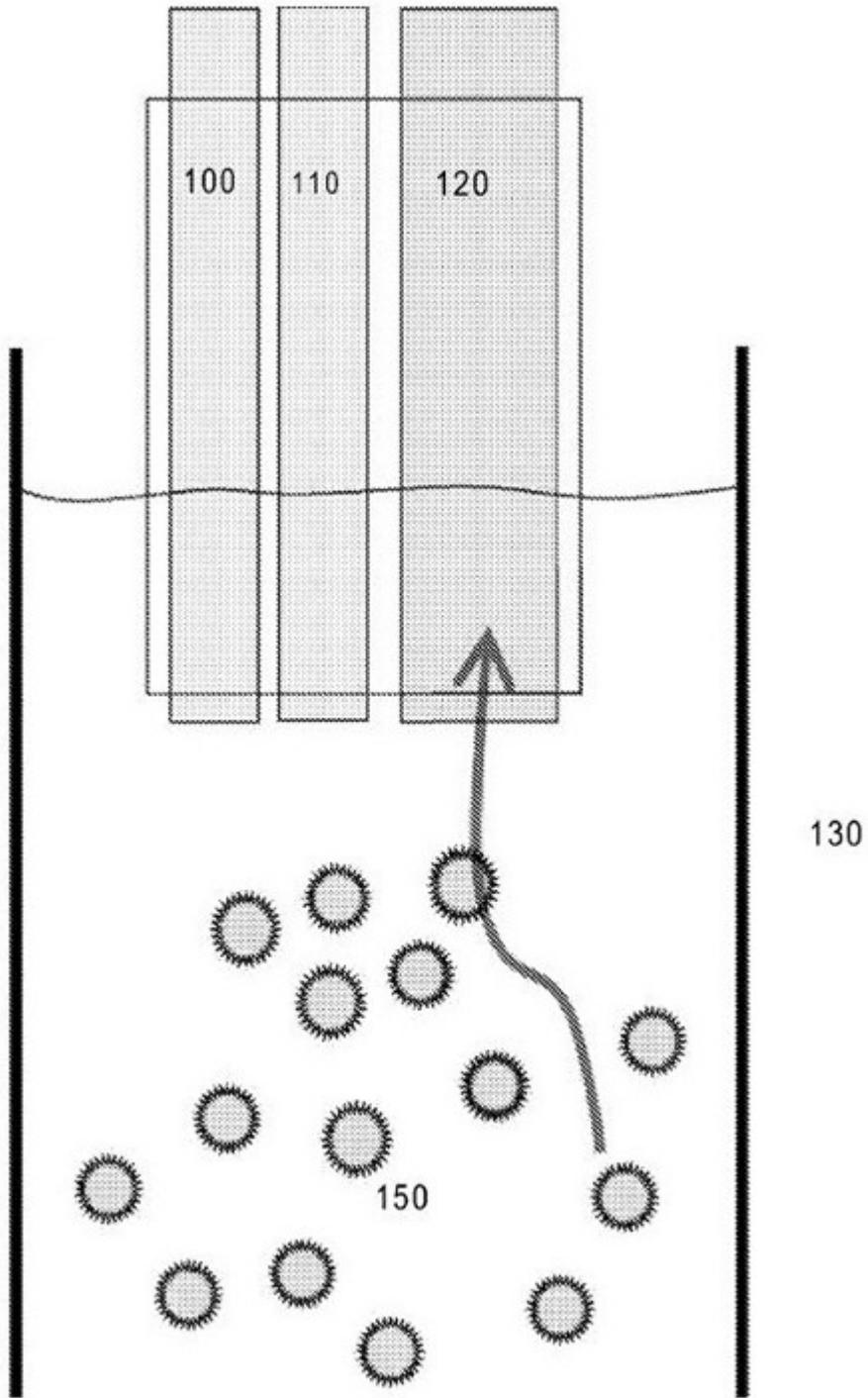


图1

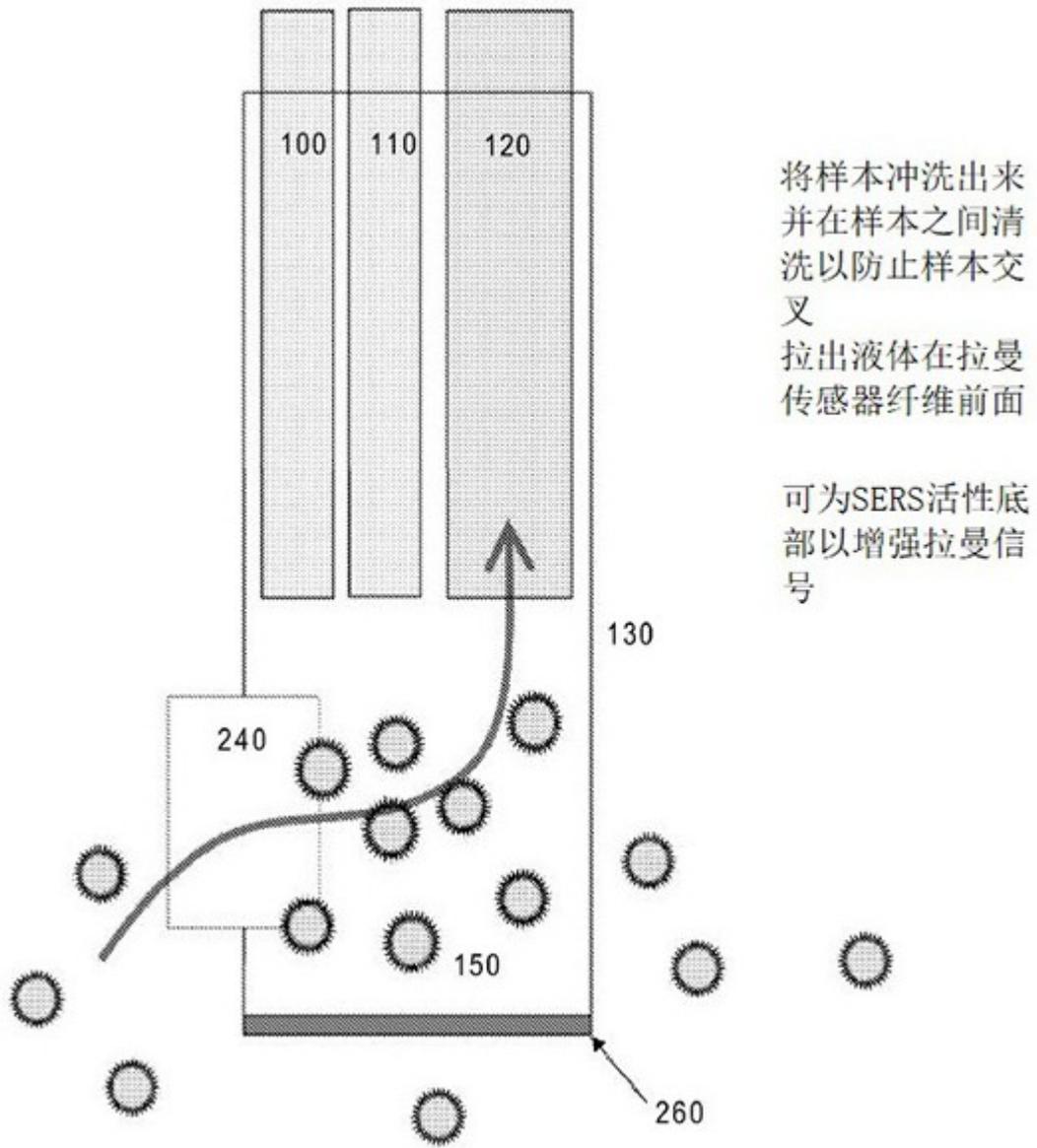


图2

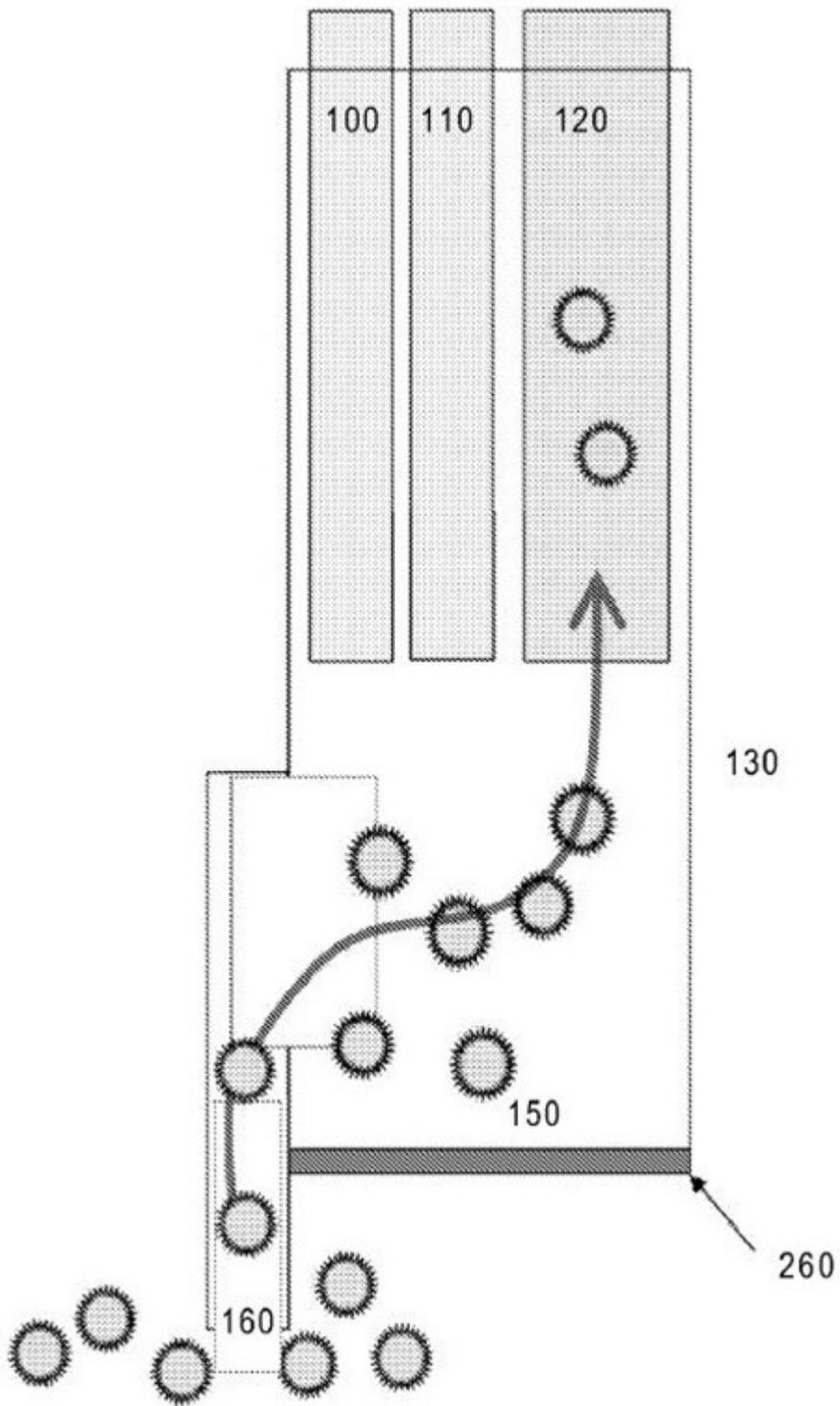


图3

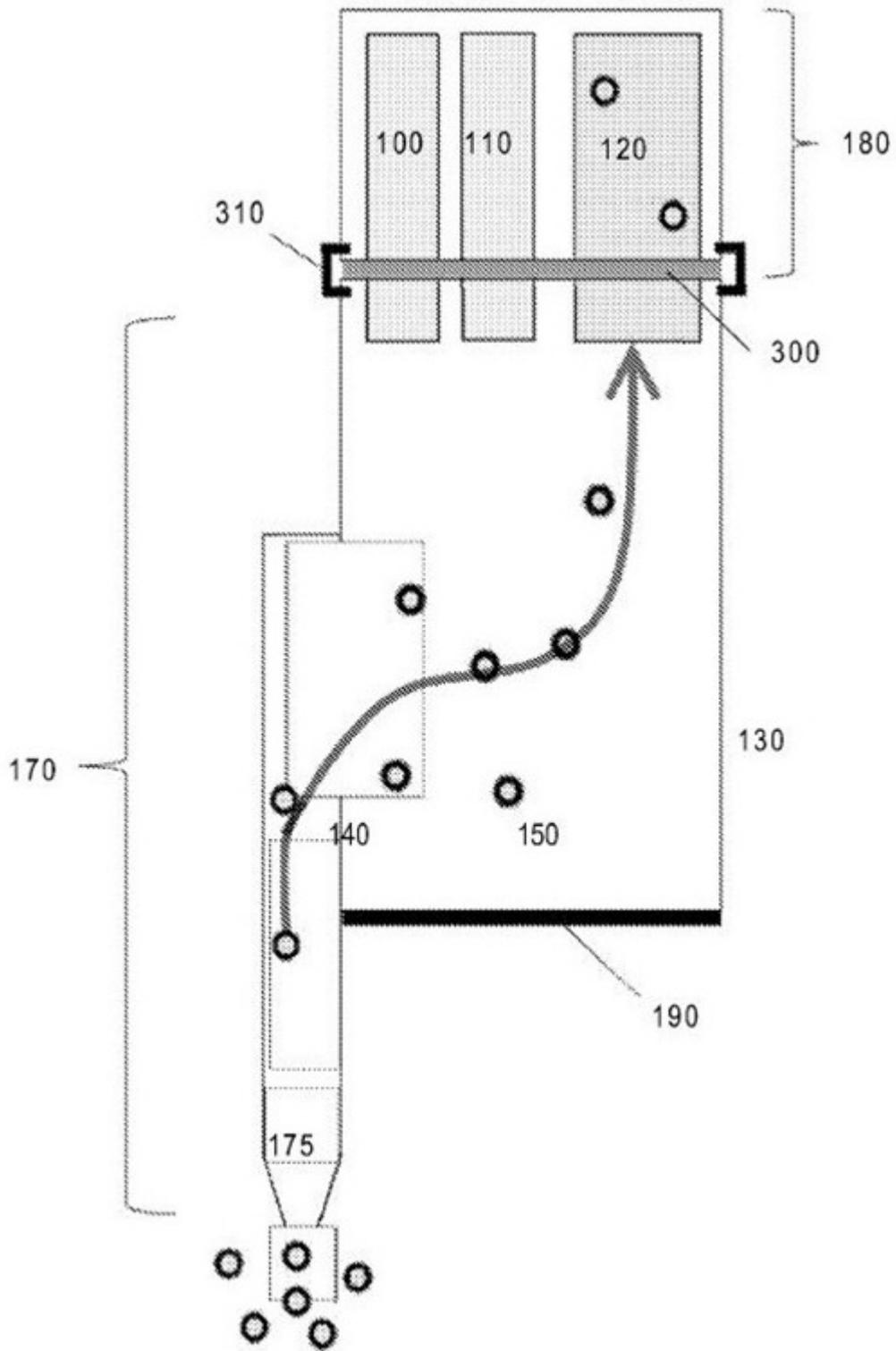


图4

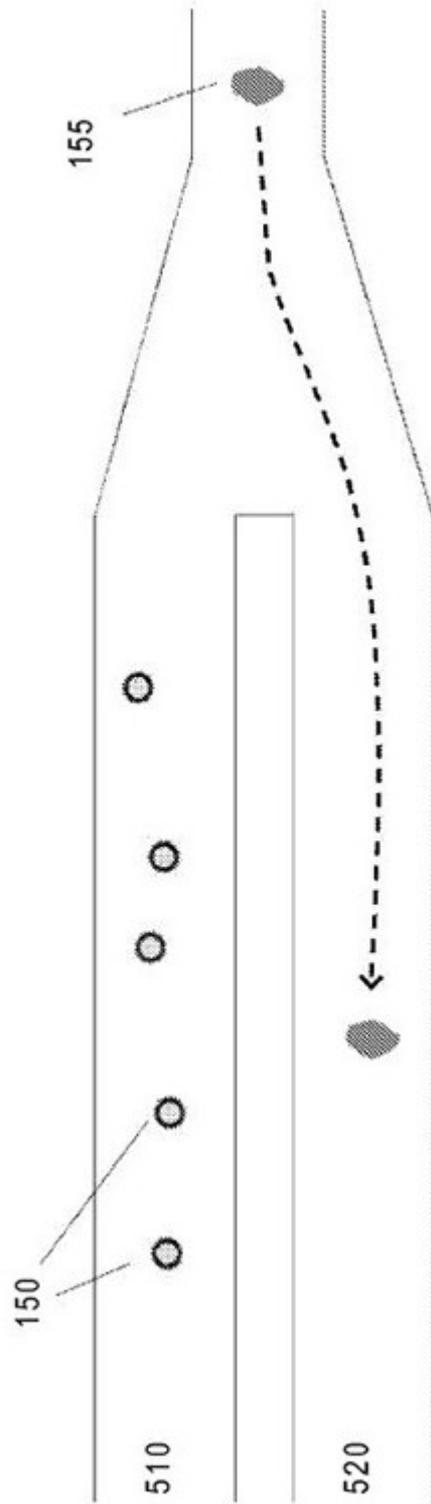


图5(A)

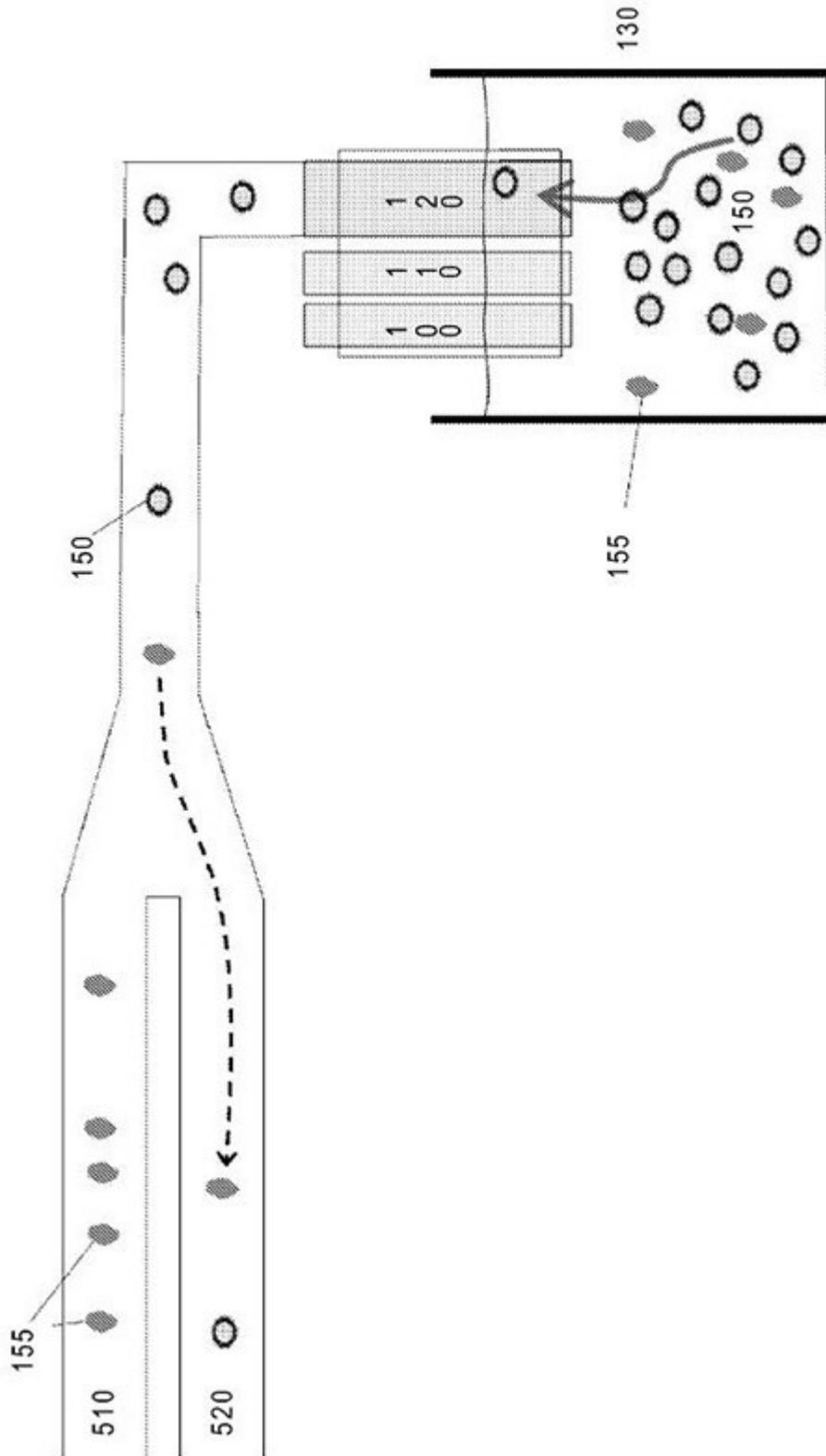


图5 (B)

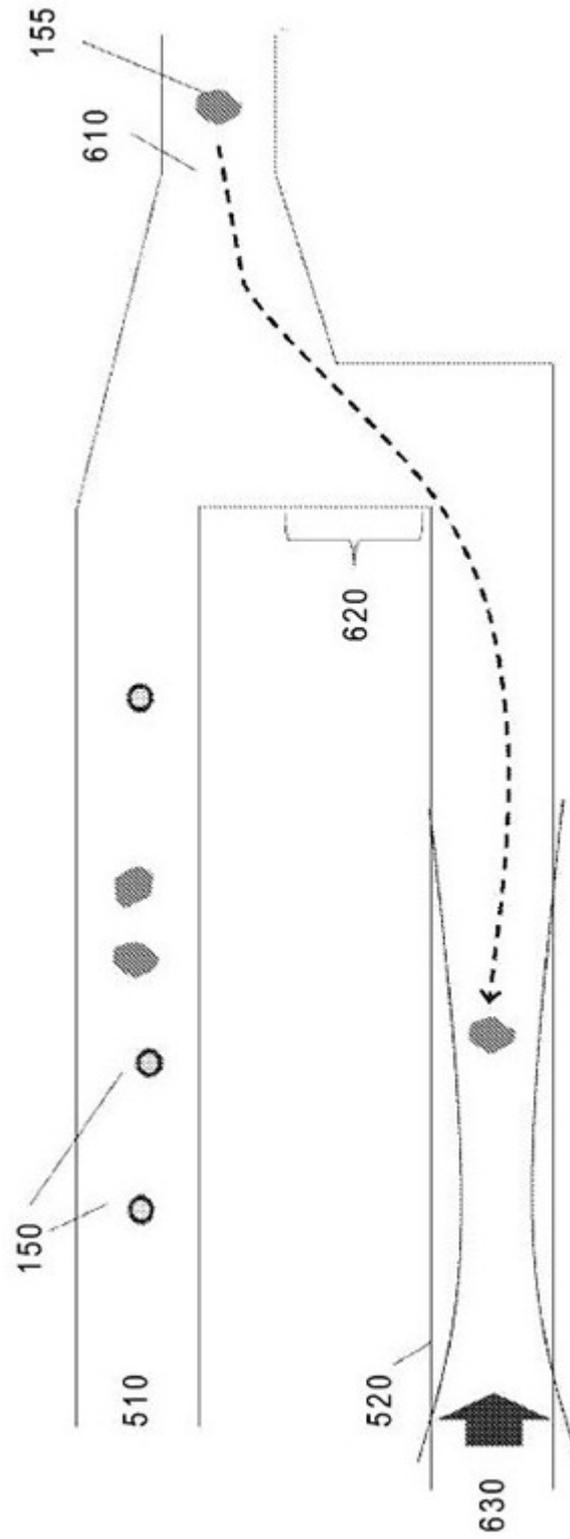


图6

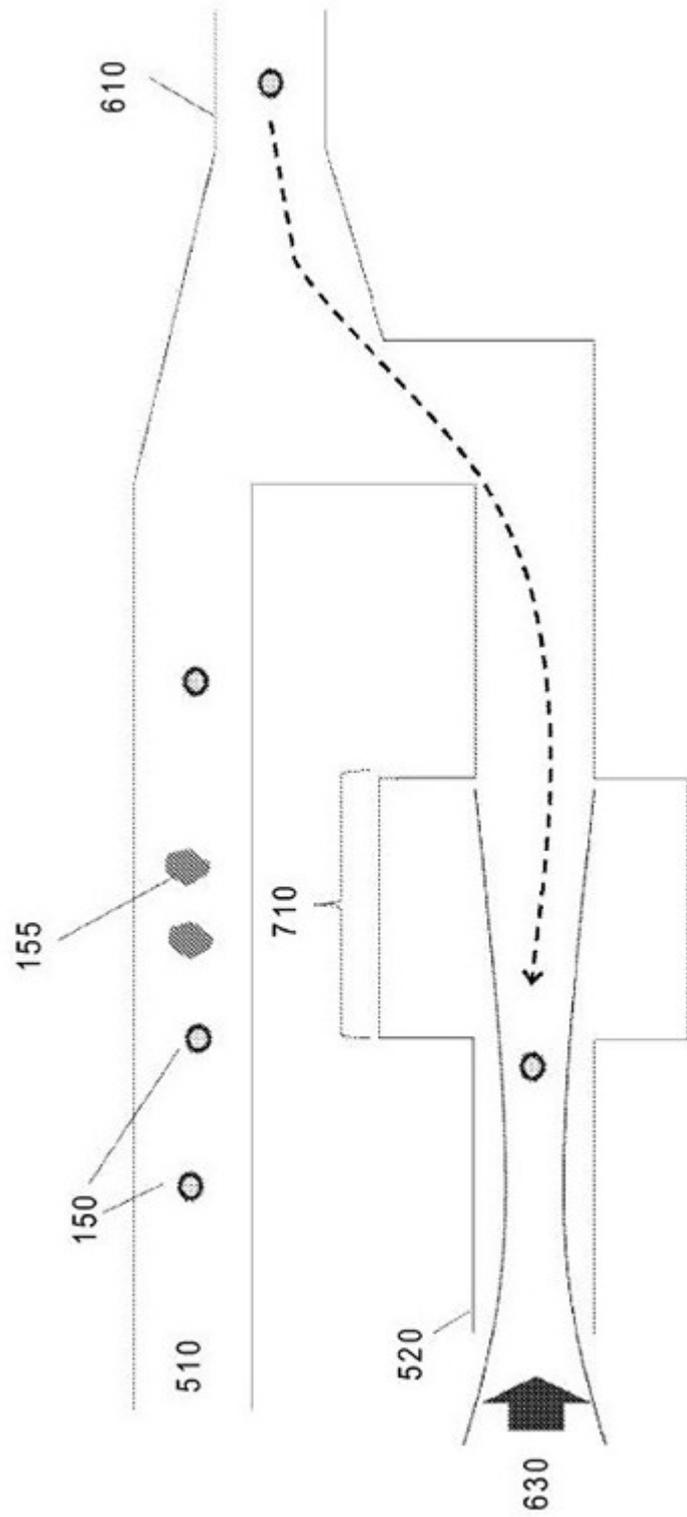


图7

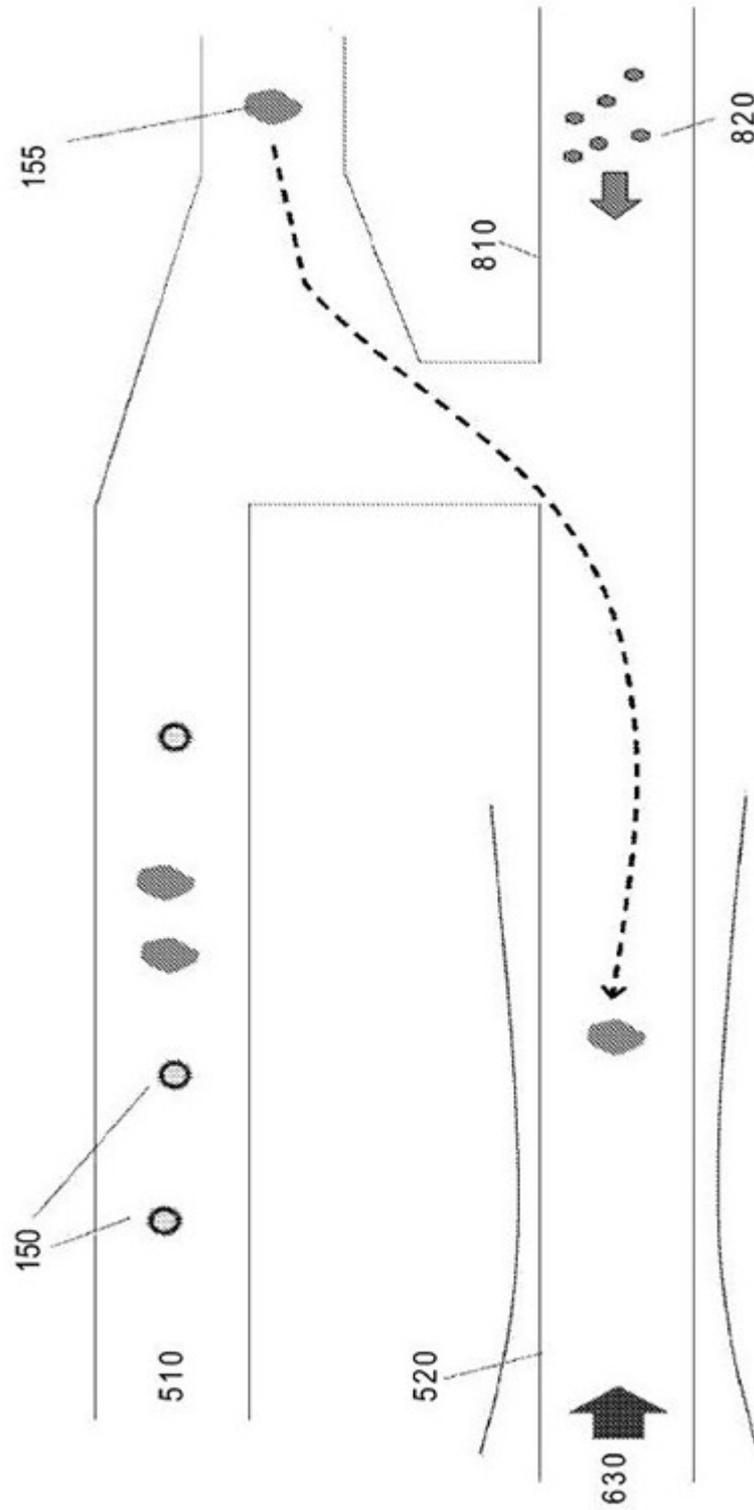


图8

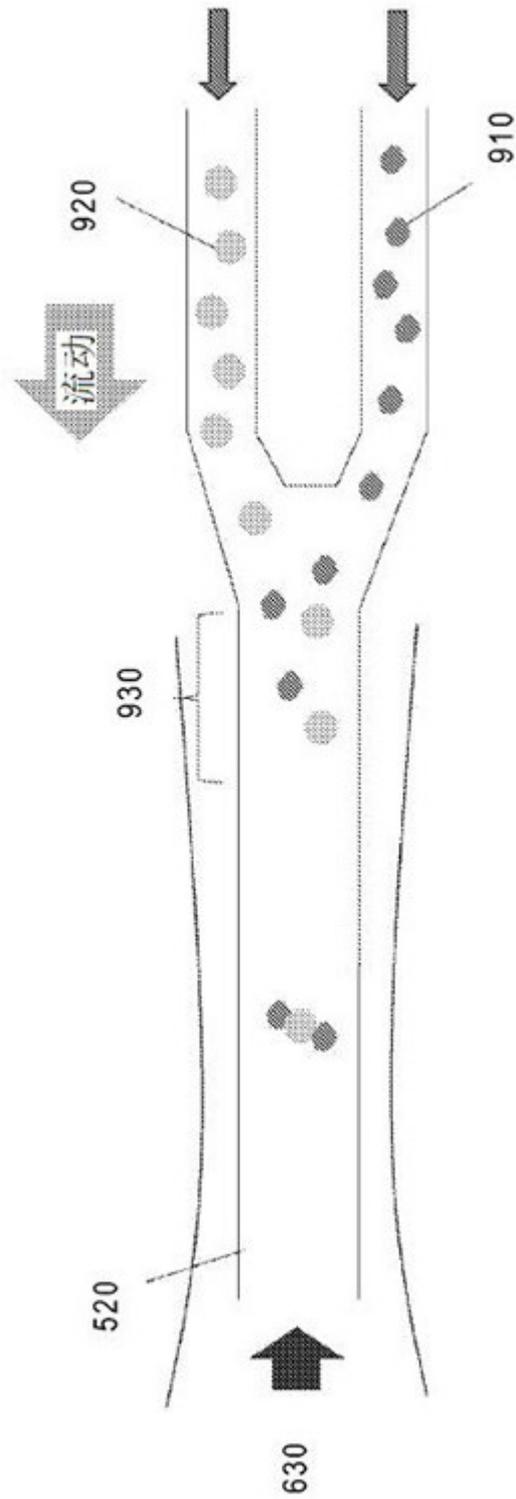


图9(A)

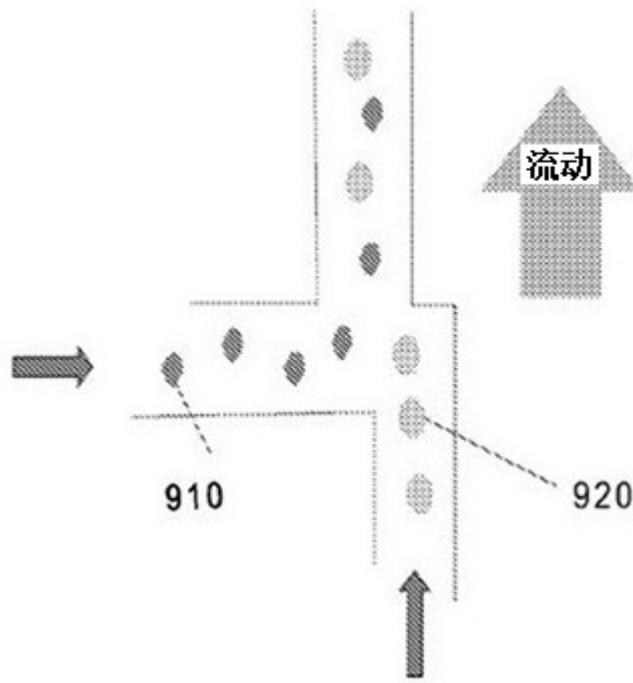


图9(B)

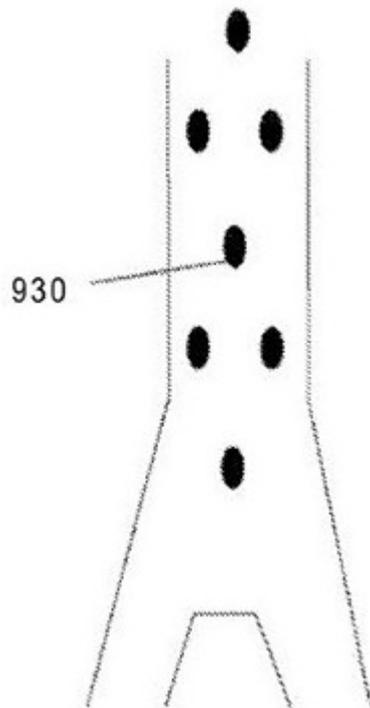


图9(C)

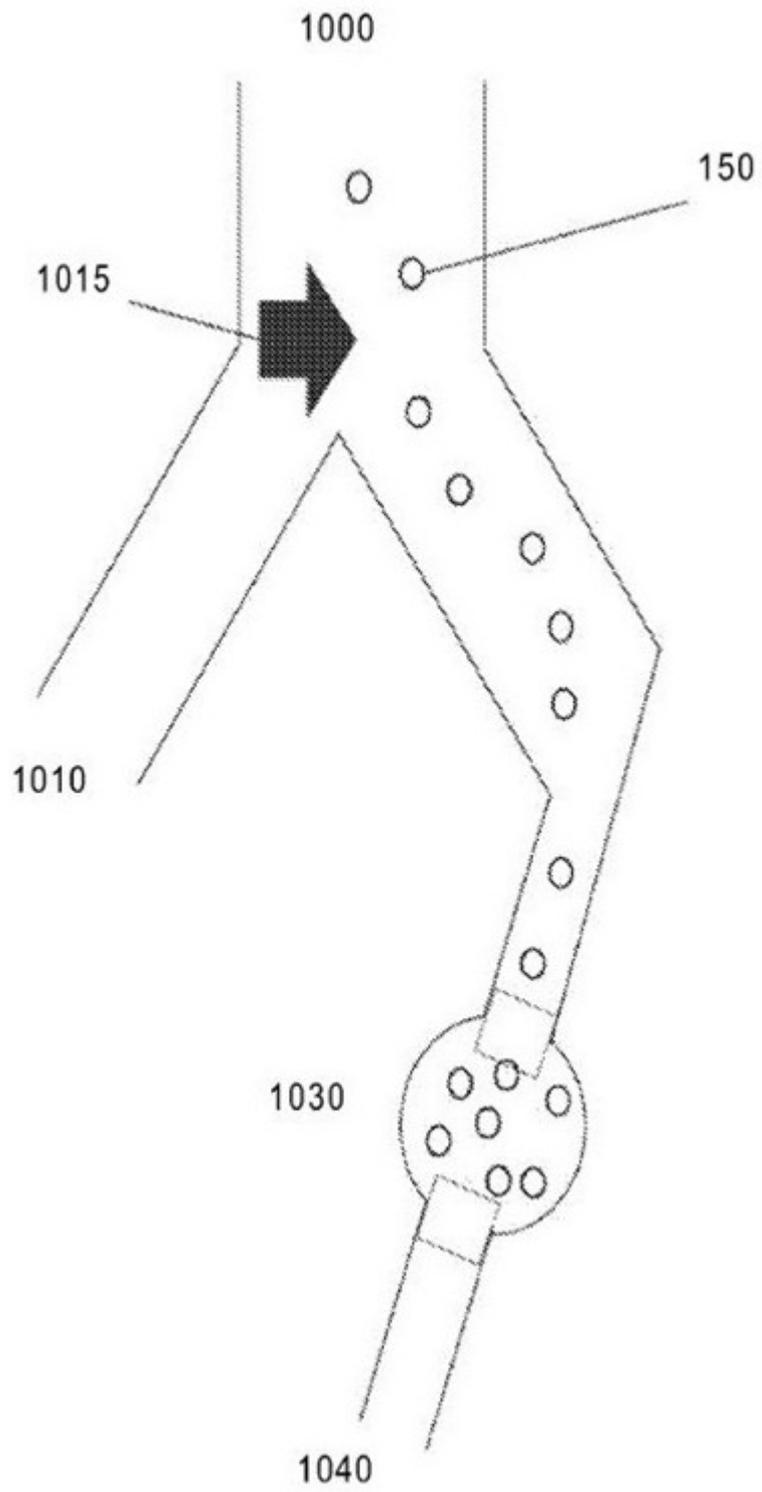


图10

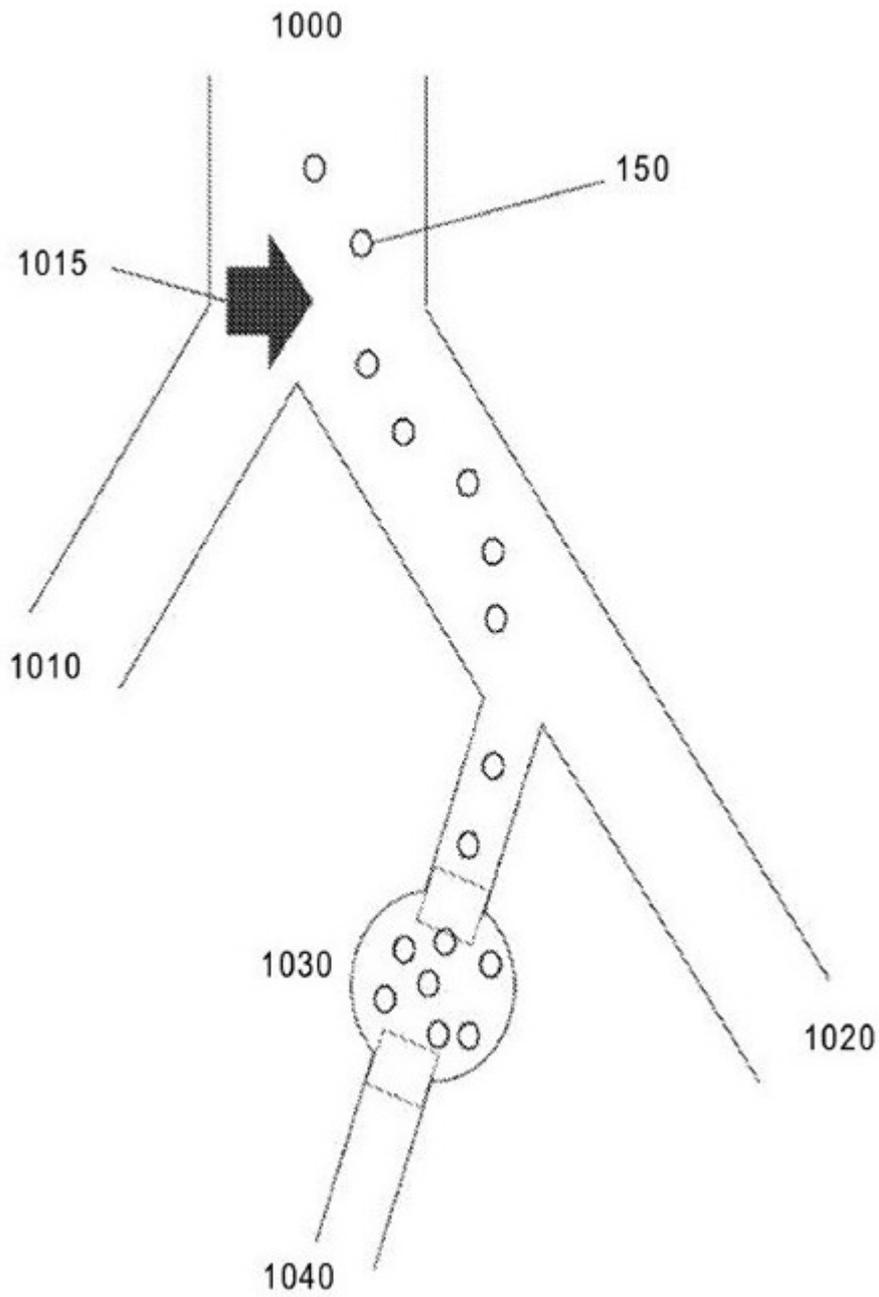


图11

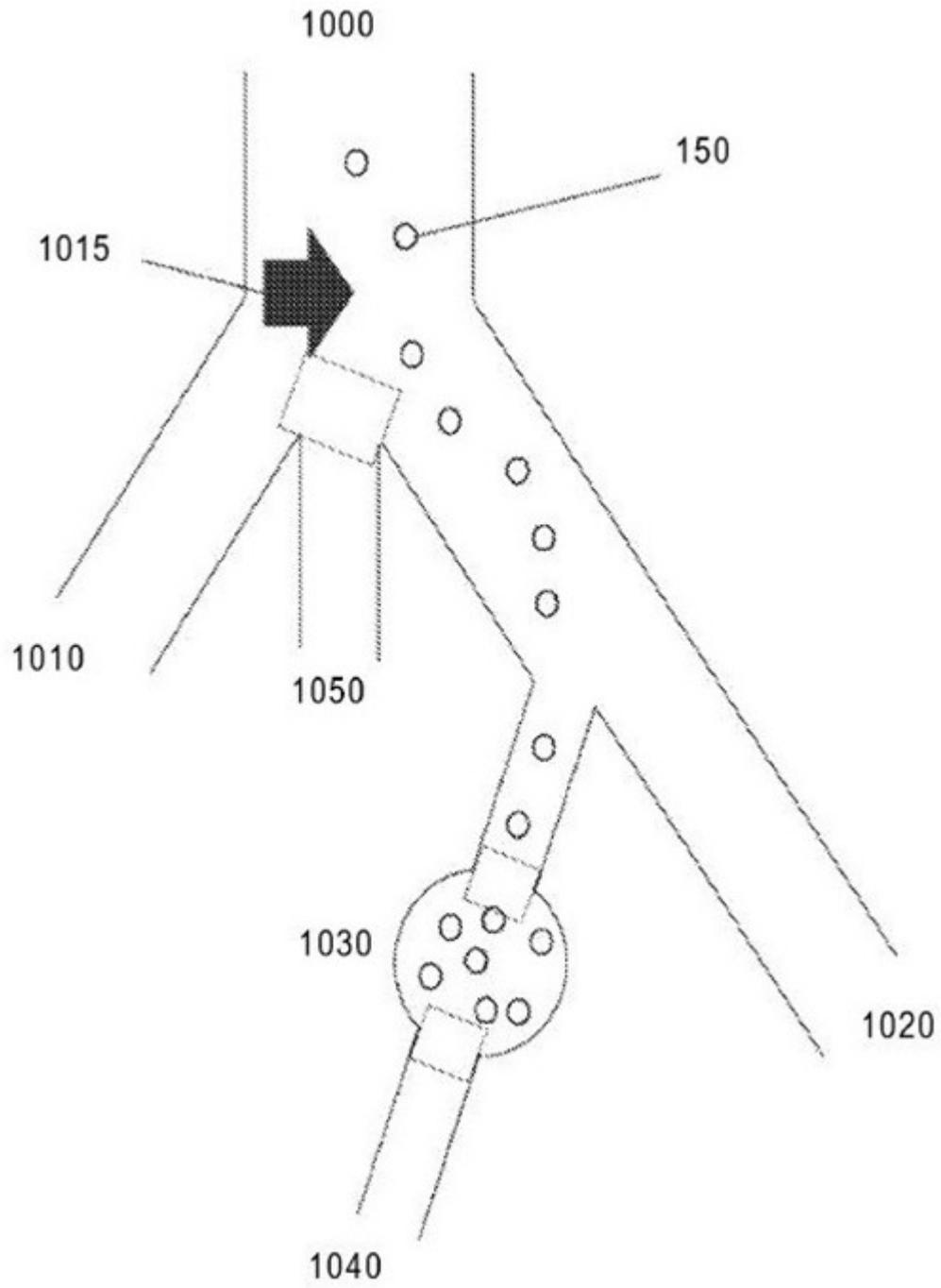


图12

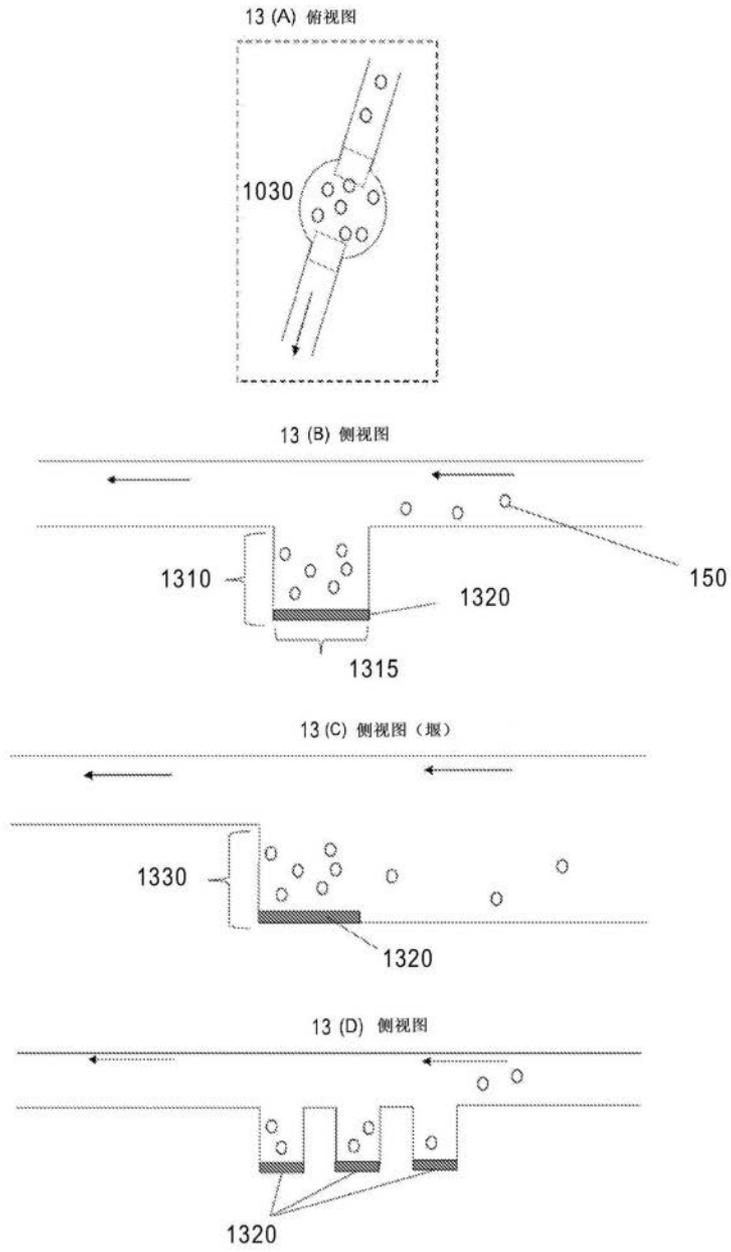


图13

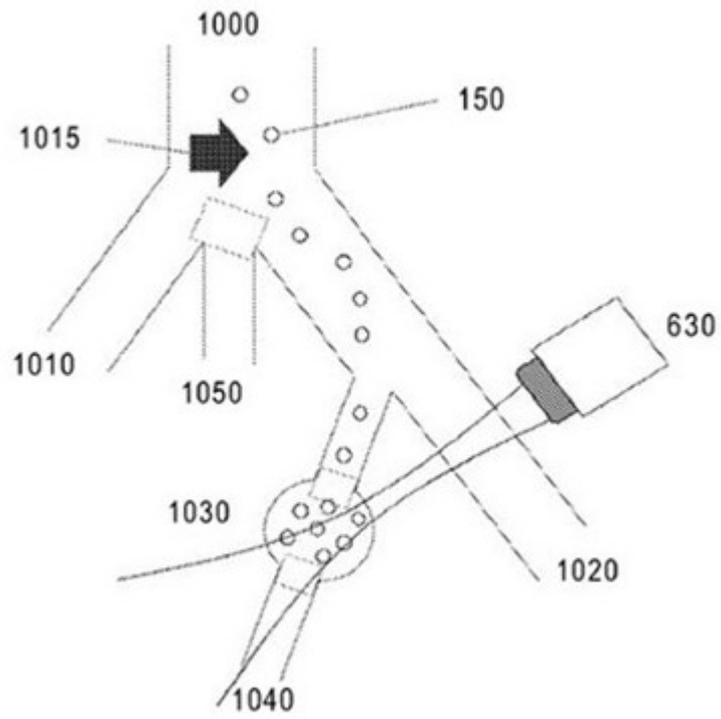


图14(A)

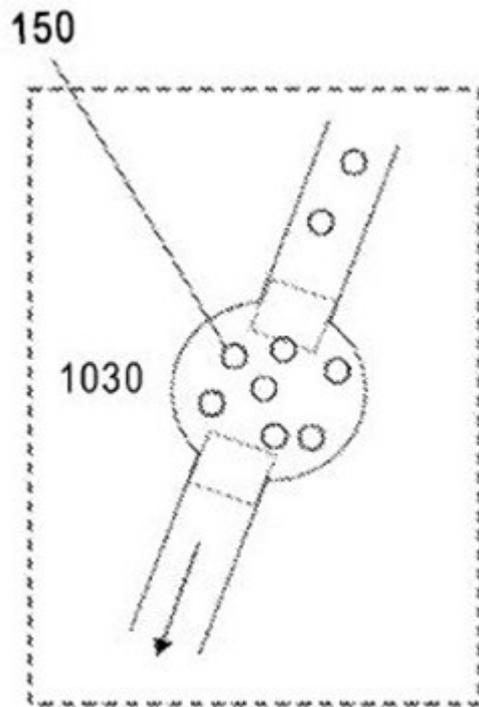


图14(B)

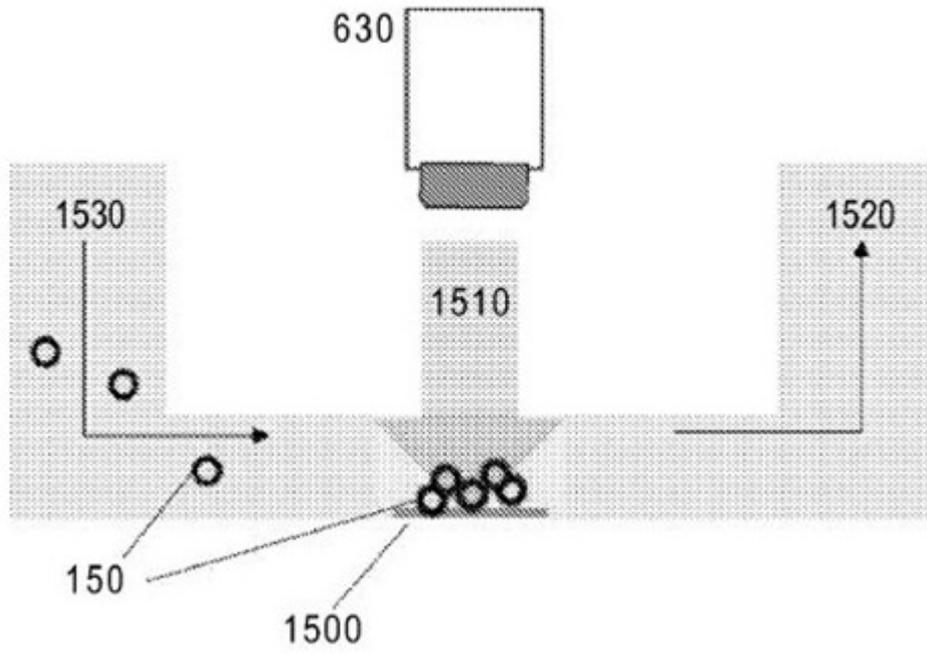


图15(A)

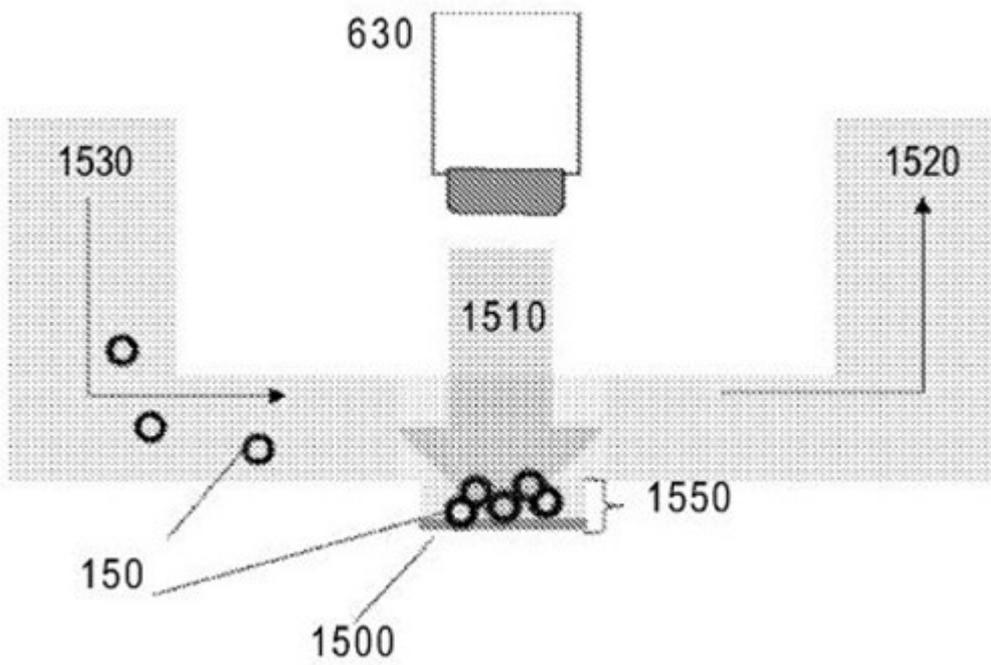


图15(B)

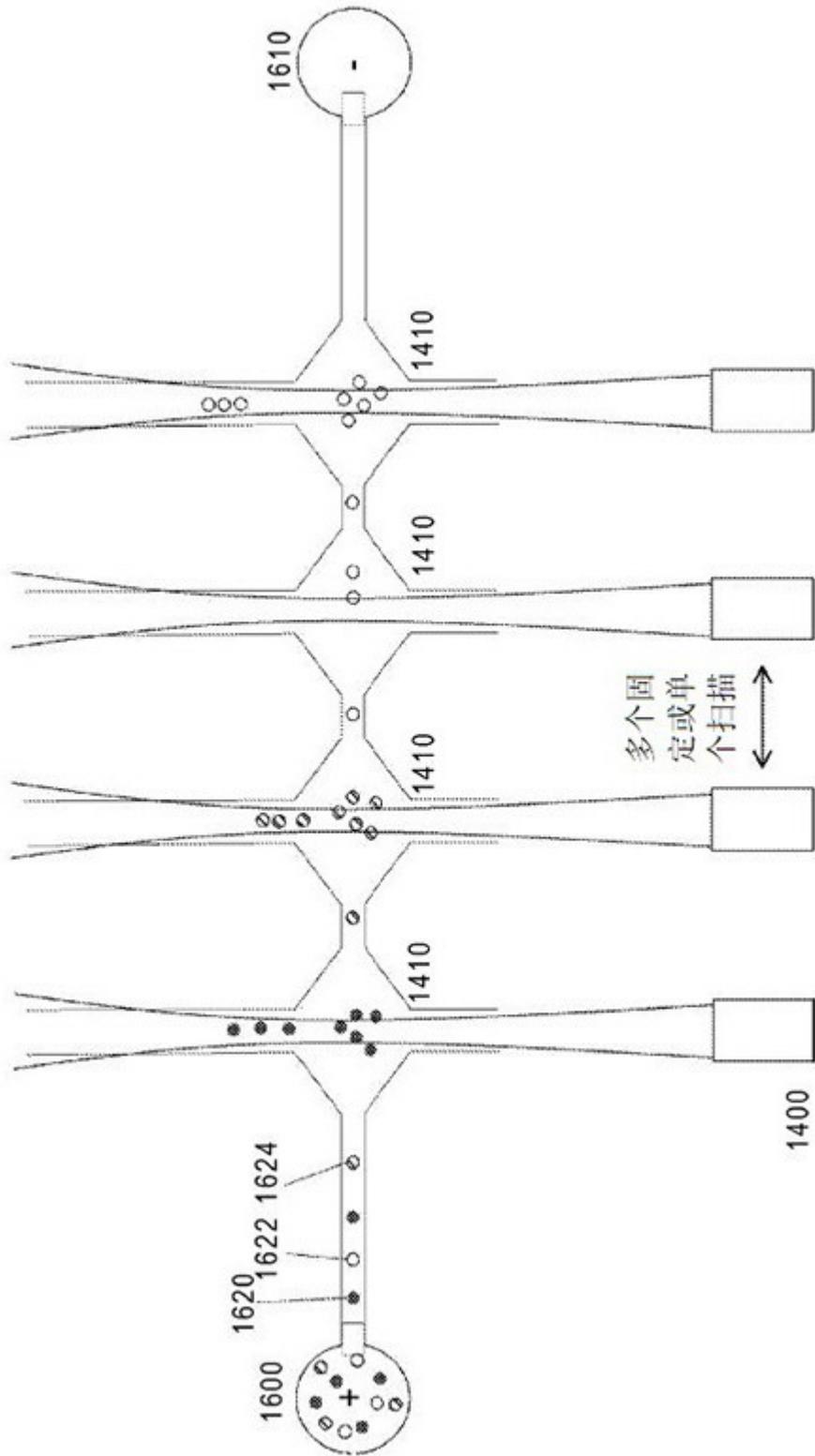


图16

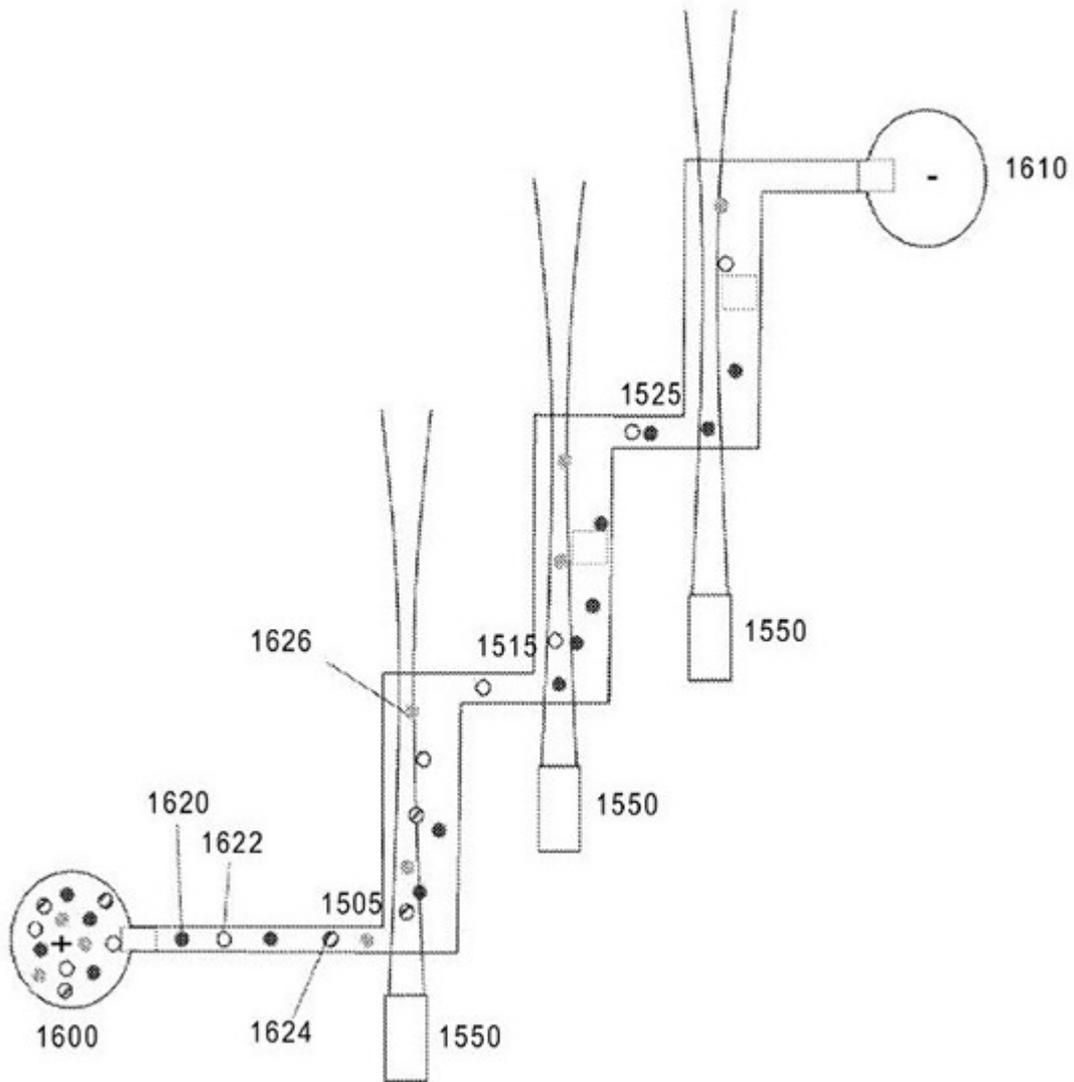


图17

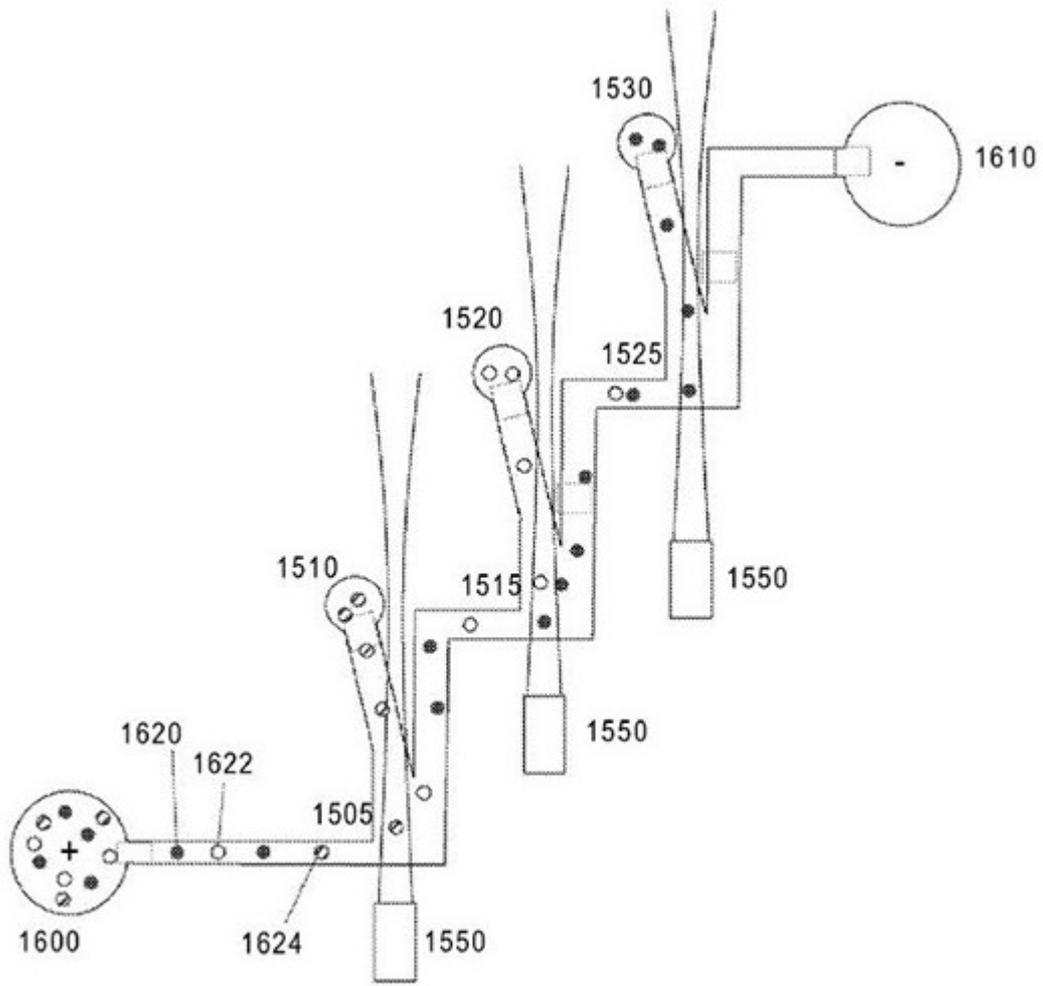


图18