



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103959069 A

(43) 申请公布日 2014. 07. 30

(21) 申请号 201280059414. 0

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2012. 09. 27

G01N 35/08 (2006. 01)

(30) 优先权数据

G01N 15/02 (2006. 01)

61/541, 934 2011. 09. 30 US

C12Q 1/02 (2006. 01)

61/606, 287 2012. 03. 02 US

B01D 43/00 (2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 05. 30

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2012/057631 2012. 09. 27

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/089883 EN 2013. 06. 20

(71) 申请人 加利福尼亚大学董事会

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 迪诺·迪卡洛 马赫多赫特·马赛利

埃洛迭·索利耶

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限

责任公司 11240

代理人 余刚 张英

权利要求书2页 说明书11页 附图12页

(54) 发明名称

基于形状的粒子分离的装置和方法

(57) 摘要

一种粒子分选系统,包括入口,和设置在基板上并且在远端具有下游扩张区的惯性聚集微通道,其中,所述入口连接到所述微通道的上游端。不同形状的粒子的源连接到所述入口,其中,所述不同形状的粒子的源配置为用于连续引入至所述入口。多个出口在所述下游扩张区连接到所述微通道。流阻器位于各自的出口。不同阻力可以用于所述出口以捕获具有特定粒子形状的粒子的富集组分。



1. 一种粒子分选系统,包括:  
入口;  
惯性聚集微通道,设置在基板上并且在远端具有下游扩张区,其中,所述入口连接到所述微通道的上游端;  
不同形状的粒子的源,连接到所述入口,其中,所述不同形状的粒子的源配置为用于连续引入至所述入口;  
多个出口,在所述下游扩张区连接到所述微通道;以及  
多个流阻器,每个阻止器连接到各自的出口。
2. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述粒子包括细胞。
3. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述多个流阻器包括限流器。
4. 根据权利要求3所述的系统,其中,所述限流器包括蛇形通道。
5. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述多个流阻器包括施加到或在所述多个出口中产生的一个或多个压力。
6. 根据权利要求1所述的系统,其中,多个流阻器包括不同的流阻。
7. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述多个流阻器的流阻是可调节的。
8. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述不同形状的粒子的源的流速是可调节的。
9. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述下游扩张区包括相对壁,所述相对壁在流体流动方向上逐渐向外成角。
10. 根据权利要求9所述的系统,其中,所述相对壁在流体流动方向上以 $2^\circ$ 的角度每移动 $100\ \mu\text{m}$ 逐渐向外成角。
11. 一种分选悬浮在样品流体中的不同形状的粒子的方法,包括:  
使包含悬浮在其中的不同形状的粒子的所述样品流体流动通过粒子分选系统,所述粒子分选系统包括:  
设置在基板上并且在远端具有下游扩张区的惯性聚集微通道,  
连接到所述下游扩张区的多个出口,和  
多个流阻器,每个阻止器连接到各自的出口;以及  
在所述多个出口的每个中收集流体,其中,至少一个所述出口包括与所述样品流体相比富含至少一种形状的粒子的流体。
12. 根据权利要求11所述的方法,其中,所述粒子包括细胞。
13. 根据权利要求11所述的方法,其中,所述样品流体的流速是可变的。
14. 根据权利要求11所述的方法,其中,所述多个流阻器的流阻是可调节的。
15. 根据权利要求14所述的方法,其中,所述流阻是通过压力可调节的。
16. 根据权利要求11所述的方法,其中,至少一些所述流阻器具有不同的流阻。
17. 根据权利要求11所述的方法,其中,至少一些经分选的所述不同形状的粒子具有基本上相同的体积。
18. 根据权利要求11所述的方法,其中,至少一些经分选的所述不同形状的粒子在一个维度中具有类似的截面轮廓,而在另一个维度中具有不同的截面轮廓。
19. 根据权利要求11所述的方法,包括在第一雷诺数下,使包含悬浮在其中的不同形状的粒子的所述样品流体流动通过粒子分选系统,随后在不同于所述第一雷诺数的第二雷

诺数下,使包含悬浮在其中的不同形状的粒子的所收集的样品流体流动通过粒子分选系统。

20. 根据权利要求 11 所述的方法,其中,所述多个出口包括位于或邻近于所述惯性聚集微通道的中心线的至少一个出口和位于侧向偏离所述惯性聚集微通道的所述中心线的至少一个出口,以及其中,相比于在所述位于侧向偏离所述惯性聚集微通道的所述中心线的至少一个出口中收集的具有较小旋转直径的粒子的另一个亚组,所述位于或邻近于所述惯性聚集微通道的中心线的至少一个出口捕获具有较大旋转直径的粒子的亚组。

## 基于形状的粒子分离的装置和方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于 2011 年 9 月 30 日提交的美国临时专利申请号 US61/541,934 的优先权,和于 2012 年 3 月 2 日提交的美国临时申请号 US61/606,287 的优先权,在此引入其全部内容以供参考。要求优先权符合美国法典 35 § 119。

[0003] 关于联邦政府资助的研究或开发的声明

[0004] 本发明是由政府支持批准号 0930501,荣获美国国家科学基金会。政府对本发明具有一定权力。

### 技术领域

[0005] 本发明的领域总体涉及用于分离和分选应用的微流体装置。更具体地,本发明的领域涉及基于其各自形状用于分离和分选粒子(颗粒,particle)的微流体装置。

### 背景技术

[0006] 已进行了各种尝试,利用微流体用于细胞或微粒的连续分离。一些方法使微流体与外部施加的力场相结合。例如,已经尝试基于电、磁、光、和声的力来分离粒子。还有其它方法基于微通道里产生的被动流体力学(passive hydrodynamics)。例如,已经提出了基于尺寸排阻原理操作的各种过滤器(如,堰式、横流式)和膜。例如,Takagi 等人,已开发出使用具有不对称设置的多个分支通道的微通道的连续粒子分离技术。参见 Takagi 等, Continuous particle separation in a microchannel having asymmetrically arranged multiple branches, Lab Chip, Jul ;5(7)778-84(2005)。该方法提高微通道内使用层流的捏流分选(pinched flow fractionation, PFF)的分离方案。

[0007] Yamada 等已经提出了一种利用流体力学过滤(HDF)用于粒子连续浓缩和分类的微流体装置。该方法使用各种侧通道以沿微流体通道壁对齐粒子。附加的下游选择通道用于从主通道选择性地提取不同粒子。参见 Yamada 等人, Hydrodynamic filtration for on-chip particle concentration and classification utilizing microfluidics, Lab Chip, Nov ;5(11):1233-39(2005)。Choi 等已开发了一种使用水电泳用于微粒子的微流体分离和定量技术,悬浮粒子在微结构诱发的压力场影响下的运动。通过利用在微通道中倾斜的障碍物,可以产生侧向压力梯度,使得微粒可以沿由梯度诱发的侧流偏转和排列。参见 Choi 等人, Continuous hydrophoretic separation and sizing of microparticles using slanted obstacles in a microchannel, Lab Chip, Jul ;7(7):890-97(2007)。

[0008] Huang 等人已提出了通过确定性侧向位移(deterministic lateral displacement, DLD)的连续粒子分离方法。参见 Huang 等人, Continuous Particle Separation Through Deterministic Lateral Displacement, Science, Vol. 304No. 5673 第 987-990 页(2004 年 5 月)。这项技术利用了障碍物周围的层流的非对称分叉。粒子在其尺寸的基础上确定性地选择其路径。其它方法基于离心分离。例如, Ookawara 等人报道了使用具有 2mm 半圆半径的  $200\ \mu\text{m} \times 170\ \mu\text{m}$  微通道进行离心分离,其中浆液粒子被

定向到分叉通道的一个臂。参见 Ookawara 等人, K. Feasibility Study on Concentrator of Slurry and Classification of Contained Particles by Micro-Channel, Chem. Eng. J., v. 101, 171-178 (2004)。最近, Di Carlo 等人已开发出一种惯性聚集、排列、和分离技术, 以受控的方式在微流体通道内使粒子排列。参见 Di Carlo 等, Continuous inertial focusing, ordering, and separation of particles in microchannels. PNAS, 104, 48, 18892-18897 (2007)。

[0009] 然而, 在大多数这些集成分离技术中很少考虑形状, 一般使用粒子大小、可变形性、密度、电或磁特性或甚至其表面分子来分离粒子, 同时假设细胞和粒子是球形的。离心分离, 是用于微粒子分离的宏观尺度常规技术, 近来已考虑用于球和棒的形状分离。参见 Sharma 等人, Shape separation of gold nanorods using centrifugation. PNAS, 106, 13, 4981-4985 (2009)。仅在最近, 在微系统中, 流体动力学过滤 (HDF)、确定性侧向位移 (DLD) 和介电泳 (DEP) 已经开始考虑形状作为分离的标准。Beech 等人首先介绍了利用 DLD 技术的基于形状的分选, 显示了非球形粒子可以在 DLD 装置中通过控制导致不同有效尺寸的装置深度, 被定向到柱形网格。参见 Beech 等人, Shape-based particle sorting - A new paradigm in microfluidics, Proc. Micro Total Analysis Systems, Jeju, Korea, 800-802 (2009)。最近, Sugaya 等人研究了用于基于形状的分选的 HDF 的适用性, 并论证了在分叉点球形和非球形粒子的不同分离行为, 并且利用该项技术用于从酵母细胞混合物中分选出芽 / 单体细胞。参见 Sugaya 等人, Observation of nonspherical particle behaviors for continuous shape-based separation using hydrodynamic filtration, Biomicrofluidics, 5, 024103 (2011)。类似地, Valero 等, 通过在多个频率下平衡相反 DEP 力验证了酵母基于形状的分选。参见 Valero 等人, Tracking and synchronization of the yeast cell cycle using dielectrophoretic opacity, Lab Chip, 11, 1754-1760 (2011)。

[0010] HDF 和 DLD 是连续且高效的技术, 但两者都需要低流速 (分别地, 2-3  $\mu$  L/min 和 60 nL/min) 和高稀释因子, 从而提供低通量。这些技术还需要精确限定的制造工艺和复杂的设计, 因为必须精确设计 ( $<1 \mu$  m- 分辨率) 为了确保分离所必需的特性 (用于 DLD 的柱形网格, 用于 HDF 的高并联通道)。另一方面, DEP 需要在各次实验之间集成主动元件 (active element) 以及精确和可重复控制缓冲电导率, 在整个集成微系统中, 这还使集成复杂化。基于 DEP 的方案需要在运行之间主动元件以及精确且可重复控制的缓冲电导率的另外的集成, 这使得基于 DEP 的装置复杂且昂贵。

## 发明内容

[0011] 在本发明的一个方面中, 粒子分选系统包括入口, 和设置在基板上并且在远端具有下游扩张区的惯性聚集微通道, 其中入口连接到微通道的上游端。不同形状粒子的源连接到入口, 其中所述不同形状粒子的源配置为用于连续引入到入口。多个出口在下游扩张区连接到微通道。流阻器 (fluidic resistor) 位于各自的出口处。不同阻力可以用于出口处以捕获具有特定粒子形状的粒子的富集组分。

[0012] 分选悬浮在样品流体内的不同形状的粒子的方法包括使包含悬浮在其中的不同形状粒子的样品流体流过粒子分选系统的操作。系统包括设置在基板上并且在远端具有下游扩张区的惯性聚集微通道, 以及连接到下游扩张区的多个出口。多个流阻器位于各自的

出口处。在该方法中,在多个出口的每一个中收集流体,其中与样品流体相比,至少一个出口包含富含至少一种形状的粒子的流体。

#### 附图说明

[0013] 图 1 示出了根据一个实施方式的粒子分选系统或装置。

[0014] 图 2A 示出了终止于三个单独出口的下游扩张区的放大图。两个出口具有相同的流阻器,而中央流阻器具有更小的阻力。

[0015] 图 2B 示出了粒子分选装置的可替换的实施方式,使用压力控制器以调节多个出口的流阻(流体阻力, fluidic resistance)。

[0016] 图 3 示出了连接到粒子分选系统的入口的粒子的源。

[0017] 图 4A 示出了矩形形状的通道,如具有高的高宽比( $H>W$ )的惯性聚集微通道,其中随机粒子分布被引入到入口。

[0018] 图 4B 示出了表示在图 1 的区域 A 的惯性聚集微通道 14 的截面。

[0019] 图 4C 示出了表示在图 1 的区域 B 的惯性聚集微通道 14 的截面。

[0020] 图 4D 示出了流过粒子分选系统的具有不同大小和形状的各种粒子的高宽比和尺寸。在 a 和 b 方向上显示尺寸,该方向一般彼此正交。

[0021] 图 4E 示出了在入口处捕获的粒子的显微照片。比例尺是  $10\ \mu\text{m}$ 。

[0022] 图 4F 示出了在出口处捕获的粒子的显微照片。比例尺是  $10\ \mu\text{m}$ 。

[0023] 图 5A 示出了绘制的柱状图以示出在不同雷诺数(插入)下和以不同通道几何形状(面板图 A、D 和 G 所示)获得的各种形状的粒子(球形、具有 3:1 高宽比的棒,和具有 5:1 高宽比的棒)的分布变化。

[0024] 图 5B 示出了为所有三种通道几何形状和测试的流动条件绘制的平均  $X_{\text{eq}}$ 。

[0025] 图 6A 示出了面板图 A 中代表球形和 1:5 棒状粒子的归一化粒子计数的高斯拟合(%)作为  $X_{\text{eq}}$  的函数。面板图 B 显示了 1 的可分因子。面板图 C 显示了 2 的可分因子。

[0026] 图 6B 示出了  $25\ \mu\text{m}$  宽通道(图 D)、 $30\ \mu\text{m}$  宽通道(图 E)和  $35\ \mu\text{m}$  宽通道(图 F)在不同流速下获得的可分因子。

[0027] 图 7A-7C 示出了测试的粒子分选系统的三种不同配置。

[0028] 图 7D 示出了出口 1 和 2 之间区域的显微图像。

[0029] 图 7E 示出了出口 4 和 5 之间区域的显微图像。

[0030] 图 7F 示出了围绕出口 5 区域的显微图像。

[0031] 图 7G 示出了各种粒子在图 7A 装置的每个出口处的 EY 和 ER。

[0032] 图 7H 示出了各种粒子在图 7B 装置的每个出口处的 EY 和 ER。

[0033] 图 7I 示出了各种粒子在图 7C 装置的每个出口处的 EY 和 ER。

[0034] 图 7J 示出了各种粒子在图 7A 装置的每个出口处的 EP。

[0035] 图 7K 示出了各种粒子在图 7B 装置的每个出口处的 EP。

[0036] 图 7L 示出了各种粒子在图 7C 装置的每个出口处的 EP。

[0037] 图 8A 示出了根据另一个实施方式的粒子分选系统。

[0038] 图 8B 示出了图 8A 装置的五个出口的每个的 EY 曲线图。

[0039] 图 8C 示出了图 8A 装置的五个出口的每个的 EP 曲线图。

[0040] 图 8D 示出了图 8A 装置的五个出口的每个的 ER 曲线图。

[0041] 图 9A 示出了在粒子分选系统的入口处的细胞的显微图像。细胞归类为五组：小单体（顶部插图）、大单体（从顶部插图数第二个）、出芽（从顶部插图数第三个）、双重体（从顶部插图数第四个）和团聚体（最后插图）。

[0042] 图 9B 示出了出口 2 和出口 3 的各自的图像。单体在出口 2 中具有高提取率，而在出口 3 中出芽细胞的纯度增加。

[0043] 图 9C 示出了六个出口的每个的 EY 和 ER 曲线图。

[0044] 图 9D 示出了六个出口的每个的 EP 曲线图。

## 具体实施方式

[0045] 图 1 示出了根据一个实施方式的粒子分选系统 10。所述粒子分选系统 10 可以以适合于微流体应用的任意数量的材料形成。例如，所述粒子分选系统 10 的构件 (feature) 可以以聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 形成，然后连接到平面基板，如使用常用的 PDMS 复制成型工艺的玻璃或塑料。简单地说，标准光刻技术用来从主旋涂有 (master spin-coated) SU-8 光致抗蚀剂的硅生产模具。使用 Sylgard184 弹性体试剂盒 (Dow Corning Corporation) 和 1:10 的交联剂与聚合物比例，从这种模具生产 PDMS 芯片。在连接在一起之前，为包封通道，通过空气等离子（等离子清洗机，Harrick 等离子，500 毫托，30 秒）激活 PDMS 和玻璃两者。

[0046] 可替换地，粒子分选系统 10 的构件可以直接形成在基板上，如硅或甚至聚合物如塑料，利用光刻或其它类似已知技术来生产微流体装置。粒子分选系统 10 的优点在于，它可以用标准微流体制造技术制造，这降低了制造时间和成本。此外，无需任何外部设置来诱导粒子分离，这与主动法 (active method) 相反。分离依赖于装置几何形状和流体作为驱动力的存在。与基于 DLD 和 HDF 的装置需要低流速不同，本文描述的粒子分选系统 10 可以以相对高的流速使用，这意味着该装置可以实现高通量 (throughout)。

[0047] 如本文所使用的，“粒子”是指微米或更小尺寸的小物体。粒子可以包括活的和非生命物体。粒子的实例包括细胞、细菌、病毒等。粒子可包括细胞器或更大生物成分的子组份。粒子还可以包括无生命物体如珠粒等。粒子可以与其他物质结合或缀合。粒子包括单一或单独粒子以及其他更小物体的聚集体（团块，agglomeration）。

[0048] 粒子分选系统包括连接到惯性聚集微通道 14 的上游端的入口 12。如图 1 所示，存在可选过滤器 16 用于捕获碎片或其它关注的大粒子。可选过滤器 16 可以形成在一个或多个突起、柱等上，防止较大的或整块粒子通过进入惯性聚集微通道 14。惯性聚集微通道 14 可以具有几厘米长（例如，4cm）和矩形截面。例如，惯性聚集微通道 14 可以具有约  $50\ \mu\text{m}$  的高度和约  $25\text{--}35\ \mu\text{m}$  范围内的宽度，但是考虑了在此范围之外的其它尺寸。

[0049] 惯性聚集微通道 14 在下游端终止于下游扩张区 18。下游扩张区 18 优选随着物体沿流动方向（图 2A 中箭头 A 的方向）移动而逐渐侧向延伸。在这方面，限定下游扩张区 18 的通道 19 的边缘轮廓，如图 2A 所示，是弯曲的或抛物线形的，与直角膨胀室相反。一般地，优选从惯性聚集微通道 14 到下游扩张区 18 的平滑形转变。例如，限定下游扩张区 18 的壁可以随着物体在流体流动方向下游移动而以渐进角向外扩展。例如，限定下游扩张区的壁可以沿流体流动方向每移动  $100\ \mu\text{m}$  逐渐增加角度  $2^\circ$ 。如下面所解释的，下游扩张区 18 保持聚集的粒子在聚集流线 (streamline) 上，同时增加其侧向间距 ( $X_{\text{eq}}$ )。

[0050] 仍然参照图 1, 多个出口 20 连接到下游扩张区 18 上。每个出口 20 可以是在一端打开扩张区域 18 的出口通道。示出了五个 (5) 这种出口, 虽然可以使用更多或更少。显示了包括流阻器 22 的每个出口 20, 以示意图示于图 1。可以由限制出口 20 中的流体的一个结构或多个结构形成流阻器 22。作为一个实例, 限流器 (flow restrictor) 是具有多个转弯的蛇形通道 24, 如图 2A 所示。例如, 对于总长度几厘米的流阻器 22 可具有 20 个这样的转弯。转弯数可以用来调节或调整流阻器 22 的阻力。例如, 如图 2A 所示, 中间流阻器 22b 具有外部流阻器 22a、22c 阻力的 1/2。作为另一个实例, 该限流器可以是具有减小的直径的通道或甚至包含一个或多个配置为减少从中流动的结构通道。在另一个实施方式中, 流阻器 22 在出口 20 内的任何形式的结构, 而是在出口 20 处施加或产生的压力。

[0051] 例如, 图 2B 示出了粒子分选系统 10 的一个实施方式, 该实施方式使用连接至每个出口 20 的压力控制器 23。压力控制器 23 包括连接至每个出口 20 的单独流体管线 25。配置所述压力控制器 23 使得其可以选择性地对各个出口 20 施加不同压力。在这方面, 所述压力控制器 23 可以调节出口 20 的相对流阻。在该实施方式中, 蛇形通道没有必要产生流阻。这个功能被转移到压力控制器 23。此外, 可以通过压力控制器 23 动态调整或调节各种流阻。因此, 可以重新配置粒子分选系统 10, 无需对粒子分选系统 10 进行任何物理变化。

[0052] 每个流阻器 22 可具有相同或不同的流阻, 取决于在粒子分选系统 10 分选的粒子的性质。可以专门设计或“调节”每个出口 20 内的流阻器 22, 以捕获具有特定粒子形状的粒子的富集组分。在压力用作流阻器 22 的情况下, 可以通过将相应出口 20 的压力单独设置为定义量, 控制相对流过不同出口 20。图 1 示出了五个 (5) 流阻器 22 ( $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ ), 但是可以使用更多或更少。另外, 在一些实施方式中, 可以有一个或多个出口 20, 在其中没有任何流阻器 22 或施加于其上 (在压力是流阻器 22 的情况下)。如图 1 和 2 所示, 在每个流阻器 22 之后, 有相应出口 26 (在图 1 表示为 1、2、3、4, 和 5)。

[0053] 图 3 示出了粒子分选系统 10 的部分的侧视图。粒子分选系统 10 通过入口 12 连接到不同形状粒子的源 (来源, source) 30 上, 将其配置为连续引入到入口 12。图 3 示出了以细胞 32 形式的粒子。在该图中源 30 包括具有圆形、棒状、和不规则形状 of 细胞 32, 但是考虑了其它粒子类型和形状。图 3 示出了作为不同形状粒子的源 30 的注射器, 可以用于将细胞 32 连续注射到粒子分选系统 10。如本文所用, 连续引入意味着在延长的一段时间内注射粒子, 与单一批次流动过程相反。注射器 (或多个注射器) 可以连接到常用的注射器泵上以泵送含细胞 32 的流体通过粒子分选系统 10。通过载送流体 (通常是液体) 运载粒子, 该载送流体也被注入到入口 12。粒子分选系统 10 可以在很宽的流速范围内工作。如下面所解释的, 在  $20 \mu\text{L}/\text{min}$  到  $110 \mu\text{L}/\text{min}$  范围内的流速下观察聚集位置的基于形状的差异, 然而, 上限通过装置的结合强度 (bonding strength) 而不是流体现象本身而限制。因此, 预期在该特定范围之外的流速也正常工作。

[0054] 图 3 示出了注射器用作泵送源 30 的不同形状的粒子通过粒子分选系统 10, 其它用于连接微流体装置的压力或基于流体的递送装置可以用于使粒子连续流动通过粒子分选系统 10。在一方面, 含不同大小或形状的粒子的流体被连续泵送通过粒子分选系统 10。可以调整通过粒子分选系统 10 的粒子流速以实现不同形状粒子的不同富集和收集。流体流经系统的流速可以随通道几何形状和不同流阻比率而变化。更广义地说, 可以改变条件以改变雷诺数。



[0055] 为了使用粒子分选系统 10, 利用如本文所讨论的压力或流式技术, 将不同形状的粒子的源 30 连续引入到入口 12。粒子形状可以包括任何数量的不同形状, 包括圆形、棒状、长方形、椭圆形、不规则形状粒子。参考图 1, 在粒子分选系统 10 的位置 A, 不同形状的粒子随机分布在整個惯性聚集微通道 14。在沿惯性聚集微通道 14 的大部分流过之后 (如在位置 B 约 4cm), 不同形状粒子在不同位置变得集中或在惯性聚集微通道 14 内流动。

[0056] 每个流具有特定富集量的特定形状的粒子。然后, 这些流通过下游扩张区 18 给出另外的侧向间隔, 在该区域它们被收集在出口 20 内。流阻器 22 内的不同阻力可以用来收集不同富集组分的粒子。此外, 可以调整惯性聚集微通道 14 的尺寸以及通过粒子分选系统 10 的粒子的流速或者雷诺数以改变装置内产生的单独流的数量和位置。

[0057] 图 4A 示意性地示出了矩形形状通道, 如具有高的高宽比 ( $H>W$ ) 的惯性聚集微通道 14, 其中随机粒子分布被引入入口, 如图所示。已知在中等粒子雷诺数 ( $R_p$ ) (例如, 在约 0.3 到约 4 范围内的那些) 下随机分布的粒子聚集在位于通道中心面的两个平衡区域。图 4B 示出了表示在图 1 的区域 A 的惯性聚集微通道 14 的截面。如图 4B 所示, 各种形状的粒子随机分布在流体内。由于  $F_{L/W}$  (壁效应) 和  $F_{L/S}$  (剪切梯度) 的组合效应, 粒子惯性聚集。图 4C 示出了表示在图 1 的区域 B 的惯性聚集微通道 14 的截面。如图 4C 所示, 不同形状的粒子到达沿惯性聚集微通道 14 的宽度的各个平衡位置  $X_{eq}$ 。如图 4C 所示, 圆形粒子排列在接近惯性聚集微通道 14 的壁, 而长形或棒状粒子定位在位于靠近惯性聚集微通道 14 的中心线的流线上。棒状粒子迁移到相比于具有相同体积的球形粒子更接近通道中心线的稳定位置, 并对齐使得它们周期性地“滚动”绕着 Jeffery 轨道短轴旋转, 并从通道壁推出。类似于上面提到的观测结果, 具有较大旋转直径 ( $D_{max}$ ) 的粒子将趋向于收集在位于靠近通道中心线的流线上 (参照所述惯性聚集微通道 14), 而具有更小旋转直径的粒子将趋向于收集在位于侧向远离通道中心线的流线。因此, 相对于惯性聚集微通道 14, 可以选择性地侧向定位出口, 以选择性地捕获具有不同旋转直径的粒子亚群 (sub-population)。

[0058] 图 4D 示出了流经粒子分选系统的具有不同大小和形状的各种粒子的高宽比和尺寸。图 4E 示出了在入口处捕获的粒子的显微照片。图 4F 示出了在出口处捕获的粒子的显微照片。图 4E 和 4F 的比例尺是  $10 \mu m$ 。由珠粒形成各种球形或棒状粒子。将 3 和  $6 \mu m$  球形珠粒 (Polyscience) 拉伸成具有不同高宽比 ( $R = 1:3$  和  $1:5$ ) 的棒, 根据 Champion 等人之前公开的方案。参见 Champion 等, Role of target geometry in phagocytosis, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103 (13): 4930-4934 (2006)。使珠粒悬浮于  $75^\circ C$  水-热水可溶性聚 (乙烯醇) (PVA), 直到最终浓度为  $10\% \text{ wt/vol}$ ,  $5\% \text{ wt/vol}$  甘油, 和  $0.08\% \text{ wt/vol}$  球形聚苯乙烯粒子。在  $19 \times 27 \text{ cm}$  平整表面扩散该溶液并过夜干燥。然后, 在  $120^\circ C$  下以及在矿物油中拉伸膜并在室温下干燥 20 分钟。为回收棒状粒子, 用异丙醇清洗所述膜并在  $75^\circ C$  下溶解在  $30\%$  异丙醇 / 水中。最后清洗粒子八次, 每次减小异丙醇的量, 以便从粒子表面去除所有 PVA。在  $1 \times 10^6$  个珠 / mL 的最大浓度下, 使用注射泵 (Harvard Apparatus PHD2000) 和玻璃注射器 (Hamilton), 在 20 到  $110 \mu L/\text{min}$  范围内的流速  $Q$  下, 将粒子悬浮液注入到测试装置中。

[0059] 不同形状的粒子, 在不同平衡位置  $X_{eq}$  排列后, 然后进入下游扩张区 18, 该区域增加粒子之间的  $X_{eq}$  差异, 同时仍保持粒子在各自聚集的流线上。然后在各个出口通道 20 捕获粒子。如上面所解释的, 可以调整流阻器 22 的阻力以调节将从每个出口 20 收集的粒子

的组分。通过调整出口 20 的流阻的比率进行。可以用  $\alpha$  表示,  $\alpha$  代表从特定出口通道的出口流速 ( $Q$ ) 的比率 ( $\alpha_{1:2} = Q_{\text{出口号}1}/Q_{\text{出口号}2}$ ), 这直接关系到出口流阻的比率 ( $\alpha_{1:2} = R_1/R_2$ )。

[0060] 在本发明的一个实施方式中, 已经流过粒子分选系统 10 并已在出口 26 收集的粒子可以流过粒子分选系统 10 另外的一次或多次, 以进一步浓缩或富集所需粒子组分的粒子。例如, 粒子可以首先以第一流速 (即雷诺数) 流过粒子分选系统, 接着以不同流速 (即不同雷诺数) 一次或多次流过相同装置。在其它实施方式中, 粒子可以流过粒子分选系统 10 仅一次。

[0061] 形状表示特异性识别粒子的最重要的因素之一。在其它特性中, 形状可以是细胞周期状态的标志。例如, 真核细胞表现出细胞周期依赖性的形状的物理变化, 如酵母细胞从一个球演变成双球对 (bispherical twin) 或更大团聚体 (aggregate), 取决于其细胞周期阶段。形状也是细胞状态的指示, 并且可以成为用于临床诊断的指示。例如, 由于许多临床条件、疾病和药物, 血细胞形状可以变化, 如源于寄生虫感染的红细胞形态变化 (如, 镰状细胞疾病、贫血、疟疾)。因此, 在微流体粒子分离中形状可以用作特异性标志物, 并且可以作为无标记粒子组分的基础。可替代地, 不同大小的粒子, 如寄生虫或其它病原体, 可以从体液中去掉或提取。连续聚集并分离基于其形状的粒子的能力在不同工业、临床和研究应用中具有广泛效用。甚至可以分选具有不同形状但类似体积的粒子。

[0062] 粒子分选系统 10 的另一个应用是从含有球形物体的复合样品如污水、血液等中, 提取非球形目标的基于形状的过程。例如, 水泥强度和稳定性决定性地与粒子形状和大小相关联。将水泥微粒分离成纯组分被不规则形状的粒子阻碍, 这导致传统过滤器的堵塞。过滤尺寸高度限定的粒子而不容易堵塞过滤器的方法, 将有助于优化水泥配方的发展 - 为各种建筑应用节省材料成本。

[0063] 粒子分选系统 10 也可以用于分选具有不同伸长率的粒子。也已经确定细胞形状的伸长为细胞周期的指示, 因为真核和原核细胞显示物理周期依赖性变化。了解细胞周期是许多研究调查的主题, 这在很大程度上使用酵母细胞完成, 由于其众所周知的遗传特征和在增殖过程中其特征形状变化, 例如出芽酵母细胞从球演变成双球对或更大的团聚体。另一个实例是杆状细菌 (如杆菌), 变得更长同时保持相同短尺寸取决于细胞周期的阶段。细胞在一定生命周期阶段的富集可以避免细胞周期依赖性噪音 (noise), 并有助于微生物学家同步化种群以更好地了解种群动态, 环境影响导致去同步化, 和单细胞行为随机性。通常通过以下各项进行在给定周期阶段的这种同步: (i) 通过侵入方法, 使用干扰细胞生理的化学物质 (代谢剂) 或使用温度升高, 或者 (ii) 通过基于大小的淘析 (elutriation), 来分离小细胞。侵入方法干扰细胞代谢并扰乱自然周期, 而淘析仅提供了尚未活跃分裂的初期细胞。粒子分选系统 10 提供了非侵入的、无标记和无药物的连续方法用于基于形状的酵母细胞分选和同步化。

[0064] 更一般地, 非球形粒子的惯性聚集在各种研究领域备受关注。有许多任意形状的粒子广泛地在生物学和工业加工中研究, 这对集中用于计数和分析将是重要的。最近已经证实球形对称的偏差演变的这些粒子导致阻抗不确定性相当大的增加, 这在形状的电测量的解释中需要加以考虑。类似地, 在基于大小的粒子的光学测量如散射测量中, 形状可以是难以确定的。成形粒子通过惯性聚集的精密排列, 特别是其定向的可预测性, 将有助于解决

这种不确定性,并产生更可靠的测量。

[0065] 粒子分选系统 10 的另一个应用是条形码粒子 (bar-coded particle) 的流体对齐。使用停流光刻制造条形码粒子并用于复合和高通量生物测定。这些粒子仍然局限于一些研究应用,因为它们通过鞘流 (sheath flow) 或活动导轨 (active guiding rail) 对齐的要求,使其在微系统中的集成复杂化。惯性效应能够精确控制对齐和聚集条形码粒子用于其图案的光学读取。通过省去鞘流的需求,结合高流速工作的可能性,这样可以大大增加基于粒子的生物测定的通量,通过聚集系统的高平行化结合宽视场光学检测。

[0066] 另一个潜在的应用是血细胞计数前分选微藻,用于更有效地识别水中海洋微生物。浮游生物具有形状和大小的较大多样性;非球形物体以振荡模式在通道内旋转和垂直移动,并且取决于它们的初始角度,具有相同长度的细胞可以以不同角度通过询问区域 (interrogation region),从而导致不同散射信号。粒子分选系统 10 也可以用作微粒制造质量控制的原始和被动程序,例如根据它们的高宽比,从合成的粒子中选择性消除团聚体。

#### [0067] 实验

[0068] 为了研究在惯性聚集位置的形状差异的影响,使用具有不同通道宽度 (25、30 和 35  $\mu\text{m}$ ) 和长度为 4cm 的惯性聚集通道的粒子分选系统进行系统研究。测试大范围的流速 (20 到 110  $\mu\text{L}/\text{min}$ ) 并评估这些条件中的每一个的  $X_{\text{eq}}$ 。  $X_{\text{eq}}$  是粒子平均平衡位置,通过测量粒子中心和通道壁之间的距离 (0% 或 50% 分别表示,粒子中心位于通道壁 (0%) 或通道中心 (50%)) 评估,每个条件有超过 100 个数据点。图 5A 示出了绘制的柱状图来说明在不同通道几何形状及不同雷诺数 (插入) 下获得的各种形状的粒子 (球、高宽比为 3:1 的棒和高宽比为 5:1 的棒) 的分布变化。由具有 35  $\mu\text{m}$  宽度的通道和 20  $\mu\text{L}/\text{min}$  流速制得图 5A 的柱状图 A。由具有 35  $\mu\text{m}$  宽度的通道和 110  $\mu\text{L}/\text{min}$  流速制得图 5A 的柱状图 B。由具有 30  $\mu\text{m}$  宽度的通道和 30  $\mu\text{L}/\text{min}$  流速制得图 5A 的柱状图 D。由具有 30  $\mu\text{m}$  宽度的通道和 40  $\mu\text{L}/\text{min}$  流速制得图 5A 的柱状图 E。由具有 25  $\mu\text{m}$  宽度的通道和 20  $\mu\text{L}/\text{min}$  流速制得图 5A 的柱状图 G。由具有 25  $\mu\text{m}$  宽度的通道和 50  $\mu\text{L}/\text{min}$  流速制得图 5A 的柱状图 H。

[0069] 图 5B 示出了所有三种通道几何形状和测试的流动条件绘制的平均  $X_{\text{eq}}$ 。由具有 35  $\mu\text{m}$  通道宽度的装置制得图 5B 的曲线 C。由具有 30  $\mu\text{m}$  通道宽度的装置制得图 5B 的曲线 F。由具有 25  $\mu\text{m}$  通道宽度的装置制得图 5B 的曲线 I。误差条表示从至少 100 次测量获得的标准偏差。流速和通道宽度大大影响了成形粒子的平衡位置。

[0070] 在 35  $\mu\text{m}$  宽度通道内 (通道高宽比接近 1), 雷诺数高于 10 ( $\text{Re} = 13$  或 20  $\mu\text{L}/\text{min}$ ), 惯性效应开始集中球形和棒状粒子。具有各种形状的最初随机分布的粒子移向通道中心线, 最重要的是, 不同形状的粒子显示粒子位置的完全不同的频谱。球体开始精确聚集并占据四个聚集位置, 同时棒沿通道宽度更大分布。随着流体惯性进一步增加 ( $\text{Re} = 72$  或 110  $\mu\text{L}/\text{min}$ ), 不同粒子类型更明显地相互迁移。球形粒子最靠近壁, 而对于更高的粒子高宽比, 相距任一壁的距离增加。

[0071] 通道宽度从 35 减小到 30  $\mu\text{m}$  改变了通道截面的高宽比, 从而导致仅迁移至两个 (2) 不同平衡位置。在 30  $\mu\text{L}/\text{min}$  ( $\text{Re} = 21$ ) 下, 1:5 的棒最初从球体和 1:3 的棒中分离。为了表征分离的可能性, 定义了可分因子 (separability factor) ( $\text{SF}_{1\text{型}-2\text{型}}$ ), 计算作为在平均聚集位置两种粒子之间的差异, 通过其标准偏差的平均值归一化显示为方程式 (1) 如下:

$$[0072] \quad SF_{a/b} = \frac{|X_a - X_b|}{\text{mean}(SD_a, SD_b)} \quad (1)$$

[0073] 图 6A 示出了面板图 A 代表对于球形和 1:5 的棒状粒子, 归一化的粒子数的高斯拟合 (%) 作为  $X_{eq}$  的函数。图 6A 的图 B 示出了 1 的可分因子的两个绘图区的高斯拟合。图 6A 的图像 C 示出了 2 的可分因子的两个绘图区的高斯拟合。当通道宽度减小到  $30 \mu\text{m}$  且流速为  $30 \mu\text{L}/\text{min}$  ( $Re = 21$ ) 时, 测量了以下可分因子:  $S_{\text{球}/\text{棒}1:3} = 0.24$ ,  $S_{\text{棒}1:3/\text{棒}1:5} = 2.26$ 。

[0074] 当  $Q$  增加到  $40 \mu\text{L}/\text{min}$  ( $Re = 28$ ) 时, 棒状家族 (family of rod) 迁移进一步远离球体和彼此远离, 使得基于形状的分选成为可能;  $S_{\text{球}/\text{棒}1:3} = 0.85$ ,  $S_{\text{棒}1:3/\text{棒}1:5} = 1.46$ 。当  $Re$  进一步增加 ( $Re = 49$  或  $70 \mu\text{L}/\text{min}$ ) 时, 棒趋于更靠近球体定位的壁, 减少了聚集位置之间的间隙;  $S_{\text{球}/\text{棒}1:3} = 1.05$ ,  $S_{\text{棒}1:3/\text{棒}1:5} = 0.61$ 。进一步降低通道宽度至  $25 \mu\text{m}$ , 使得难以聚集所有粒子。事实上, 即使在  $Re = 37$  ( $50 \mu\text{L}/\text{min}$ ), 1:5 的棒仍然不集中到唯一流线。这一结果也是部分由于尤其是对于较大棒 (5:1 高宽比) 经常堵塞狭窄通道的事实。这些结果清楚地表明最优条件存在使得最大化粒子位置之间的距离, 并允许最有效的粒子分离。图 6B 示出了对于  $25 \mu\text{m}$  宽通道 (图 D)、 $30 \mu\text{m}$  宽通道 (图 E), 和  $35 \mu\text{m}$  宽通道 (图 F), 在不同流速获得的可分因子。

[0075] 利用粒子分选系统还进行了基于形状的分选实验。对于不同出口设计, 在不同流速注入球和棒的混合物。分析了从每个出口收集的粒子组分, 分离特征在于使用三个 (3) 参数, 定义为粒子类型  $a$  和出口  $i$ ;

[0076]

$$EY = \frac{N_a(\text{出口 } i)}{N_a(\text{入口})}, \quad EP = \frac{N_a(\text{出口 } i)}{N_{\text{tot}}(\text{出口 } i)}, \quad ER = \frac{N_a(\text{出口 } i)/N_{\text{tot}}(\text{出口 } i)}{N_a(\text{入口})/N_{\text{tot}}(\text{入口})} \quad (2)$$

[0077] 提取率 (EY) 示出了给定粒子类型的出口重新分配, 提取纯度 (EP) 示出了给定出口的粒子组成, 和富集比 (ER) 定义为粒子  $a$  与在入口的比例相比在出口  $i$  的比例。图 7A-7C 示出了测试的粒子分选系统的三个不同配置。图 7A 中所示的装置采用  $25 \mu\text{m}$  宽、具有 0.53 通道高宽比 (ARc) 的惯性聚集微通道, 每个出口具有五个相同流阻。所用流速为  $40 \mu\text{L}/\text{min}$ 。图 7B 中所示的装置采用具有通道高宽比 (ARc = 0.64) 的惯性聚集微通道和  $80 \mu\text{L}/\text{min}$  流速。五个出口包括以下阻力:  $\alpha_{1:2} = 3/4$  和  $\alpha_{1:3} = 1/2$ 。图 7C 所示装置采用具有通道高宽比 (ARc = 0.64) 的惯性聚集微通道和  $70 \mu\text{L}/\text{min}$  流速。所用的七个出口包括以下阻力:  $\alpha_{1:2} = 3/4$ 、 $\alpha_{1:3} = 1/2$ 、 $\alpha_{1:4} = 1/4$ 。在图 7A 中所示装置中的不同出口设计 (具有不同阻力) 在不同出口处提供各种相对捕获流体比例的变化。通过调整这些装置参数, 论证了球体、1:3 棒、和 1:5 棒之间可能分离的范围。

[0078] 图 7D 示出了出口 1 和 2 之间区域的显微快照, 显示了大多数球和 1:3 棒从出口 1 离开, 而 1:5 棒大多数从出口 2 捕获。在图 7A 装置的每个出口的不同粒子的 ER、EY 和 EP 示于下面图 7G 和 7J。图 7E 示出了出口 4 和 5 之间区域的显微快照。在图 7B 装置的每个出口的不同粒子的 ER、EY 和 EP 示于下面图 7H 和 7K。图 7F 示出了围绕出口 5 的区域的显微快照。在图 7C 装置的每个出口处的不同粒子的 ER、EY 和 EP 示于下面图 7I 和 7L。

[0079] 对于这些流动条件 ( $SF_{\text{棒}1:3/\text{棒}1:5} = 1.9$ ,  $SF_{\text{球}/\text{棒}1:5} = 2.4$  而  $SF_{\text{球}/\text{棒}1:3} = 0.5$ ) 与 SF 测量一致, 在图 7A 装置中, 相比于主要在出口 1 和 5 一起收集的 1:3 棒和球 (注入所有球的 83% 和所有 1:3 棒的 70%), 发现 1:5 棒在出口 2 和 4 具有高提取率 (1:5 棒为 86%)

具有至多达 90% 纯度。为实现另一个分离方案并且具有更高流速,在图 7B 的装置中,调整实验条件为 0.64 通道宽度高宽比,和 80  $\mu\text{L}/\text{min}$  流速,并且改变不同出口之间的流阻的比值 ( $\alpha_{1:2} = 3/4$ ,  $\alpha_{1:3} = 1/2$ )。与之前相反,实现了球体粒子的极好的提取率(所有球的 85% 在出口 1 和 5),而两种类型的棒保持在一起(在出口 2 和 4 处提取了所有棒的 90%),得到球 96% 的提取纯度(图 7H 和 7K)。这些结果仍然与 SF 值一致,因为  $SF_{\text{球}/\text{棒}1:3}$  从 0.5 增加到 1,同时对于这些条件  $SF_{\text{棒}1:3/\text{棒}1:5}$  最初在 1.9 下降到 0.6。在 30  $\mu\text{m}$  ( $\text{Arc} = 0.64$ ) 通道利用图 7C 示出的装置,降低流速至 60  $\mu\text{L}/\text{min}$ ,允许分离所有三种类型的粒子,而略微减小球的纯度,如通过 SF 测量预测的 ( $SF_{\text{球}/\text{棒}1:3}$  保持在 1,但  $SF_{\text{棒}1:3/\text{棒}1:5}$  从 0.6 增加到 1.3)。在这个装置中七个 (7) 出口的存在,在流线之间提供了更精确的分离 ( $\alpha_{1:2} = 3/4$ 、 $\alpha_{1:3} = 1/2$ 、 $\alpha_{1:4} = 1/4$ )。事实上,88% 的球在出口 2 和 6 处分离,具有 87% 的纯度,49% 的 1:5 棒在出口 4 处分离,具有 78% 的纯度,更有趣的是 77% 的 1:3 棒具有至多达 80% 的纯度(图 7I 和 7L)。

[0080] 惯性基于形状的分离对大范围的粒子尺寸是可能的。通过应用相同构思,实验性地证实了 3  $\mu\text{m}$  球体和 3  $\mu\text{m}$  衍生的椭圆体的分离,如在分离具有稍微修改的参数的 6  $\mu\text{m}$  珠粒中所用的。使用图 8A 的粒子分选系统,如图 8B 所示,在出口 1 和 5 收集的球具有 90% 的收率 (EY) 以及如图 8C 所示至多达 90% 的纯度 (EP)。相对于 3:1 棒,如图 8B 所示,达到了在出口 2、3 和 4 具有 81% 的收率 (EY) 和如图 8C 所示达到了 5:1 棒在出口 2、3 和 4 有 97% 收率,具有至多达 88% 的纯度 (EP)。图 8D 示出了三种形状的富集比 (ER)。对于小于 2  $\mu\text{m}$  粒子的惯性聚集需要更高流速和压力,需要材料具有更高结合强度,如热固性聚酯 (TPE)。分离 3  $\mu\text{m}$  珠粒的可能性在细菌分离中开拓了新范围的应用,即在细胞生长的不同阶段同步种群,其中,例如,杆状细菌可至多达两倍长度。

[0081] 利用惯性效应的基于形状的分离也可以用于酵母细胞分选和细胞周期同步。理解细胞周期是当前研究的主题,经常使用酵母细胞(酿酒酵母 (*S. cerevisiae*)) 探索,由于众所周知的遗传特征和特性形状变化;出芽酵母细胞从球伸长到双球对或更大团聚体。利用图 7C 的粒子分选系统 ( $\text{Arc} = 0.64$ , 七个出口具有  $\alpha_{1:2} = 3/4$ 、 $\alpha_{1:3} = 1/2$ 、 $\alpha_{1:4} = 1/4$ ),在 60  $\mu\text{L}/\text{min}$  的流速下进行酵母分选。在分离实验之前,在胰化蛋白大豆培养基 (TSB) 培养瓶 (37 $^{\circ}\text{C}$ ) 中培养酵母一天。在  $1.5 \times 10^6$  个细胞 /mL 的非限制浓度下,在 PBS 中稀释经培养的悬浮液,然后类似于珠粒,在不同流速下使用 Harvard Apparatus 注射泵和 Hamilton 玻璃注射器注入。通过高速影像捕获分离行为,通过用血球仪立即计数 (Quick-Read) 来分析每个出口的含量。观察并分类酵母细胞的形态,根据它们的周期状态,分为 (i) 小非分裂单体, (ii) 大单体, (iii) 出芽酵母, (iv) 双重体 (doublet), 和 (v) 由三个细胞或更多组成的团聚体。

[0082] 图 9A 示出了在装置入口的细胞的显微图像。细胞被分为五组:小单体(顶部插图)、大单体(从顶部插图数第二个)、出芽(从顶部插图数第三个)、双重体(从顶部插图数第四个)和团聚体(最后一个插图)。图 9B 示出了出口 2 和出口 3 的相应图像。单体在出口 2 处具有高提取率,而在出口 3 处,出芽细胞的纯度增加。

[0083] 发现非分隔单体 (non-dividing single) 在出口 2 和 6 中具有高提取率(如图 9C 所示,在这些出口中回收了 90% 的小单体和 91% 的大单体),具有至多达 94% 的纯度(图 9D),而出芽酵母细胞主要收集在出口 3 和 5 中(54% 的出芽酵母,具有至多达 31% 的纯度,

相比于在入口 6.6% 的纯度)。通过聚集通道的并联 (parallelization), 可以进一步提高粒子分选系统的较高通量 ( $60 \mu\text{L}/\text{min}$ , 即, 1500 个细胞 / 秒相比于 100 个细胞 / 秒), 而用一系列若干串联装置提高这种同步化应用尤其需要的纯度和富集。

[0084] 在实验中发现, 在  $Q = 40 \mu\text{L}/\text{min}$  下具有  $\text{ARc} = 0.53$  ( $W = 25 \mu\text{m}$ ,  $H = 47 \mu\text{m}$ ) 并且具有五个 (5) 相等阻力的出口的粒子分选系统是从球和短棒 (1:3) 中分离  $6 \mu\text{m}$  长棒 (1:5) 的最佳装置, 而最好使用在  $Q = 80 \mu\text{L}/\text{min}$  下  $\text{ARc} = 0.64$  ( $W = 30 \mu\text{m}$ ,  $H = 47 \mu\text{m}$ ) 并且具有五个 (5)  $\alpha_{1:2} = 3/4$  和  $\alpha_{1:3} = 1/2$  的出口的粒子分选系统从两种棒中分离  $6 \mu\text{m}$  球。用于分离所有三种类型  $6 \mu\text{m}$  粒子的最好装置在  $Q = 70 \mu\text{L}/\text{min}$  下  $\text{ARc} = 0.64$  ( $W = 30 \mu\text{m}$ ,  $H = 47 \mu\text{m}$ ) 并且具有七个 (7)  $\alpha_{1:2} = 3/4$ 、 $\alpha_{1:3} = 1/2$ 、 $\alpha_{1:4} = 1/4$  的出口。使用在  $Q = 80 \mu\text{L}/\text{min}$  下,  $\text{ARc} = 0.53$  ( $W = 25 \mu\text{m}$ ,  $H = 47 \mu\text{m}$ ) 装置并且具有五个 (5)  $\alpha_{1:2} = 3/4$  和  $\alpha_{1:3} = 1/2$  出口, 可以最好地从两种棒中分离  $3 \mu\text{m}$  粒子球。使用具有  $\text{ARc} = 0.64$  ( $W = 30 \mu\text{m}$ ,  $H = 47 \mu\text{m}$ ) 并且具有七个 (7)  $\alpha_{1:2} = 3/4$ 、 $\alpha_{1:3} = 1/2$ 、 $\alpha_{1:4} = 1/4$  的出口的装置, 成功地从总细胞群富集出芽酵母。对于其它所需的分离模式如单体的富集等, 可以优化条件。

[0085] 虽然已经示出并描述了本发明的实施方式, 可进行各种修改, 而不背离本发明的范围。因此, 不应该限制本发明, 除了所附权利要求和它们的等同物。

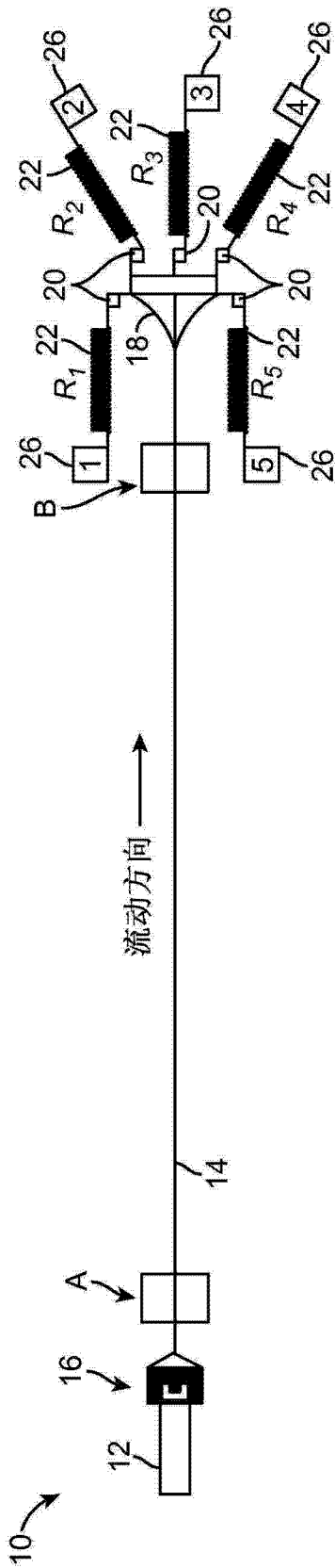


图 1

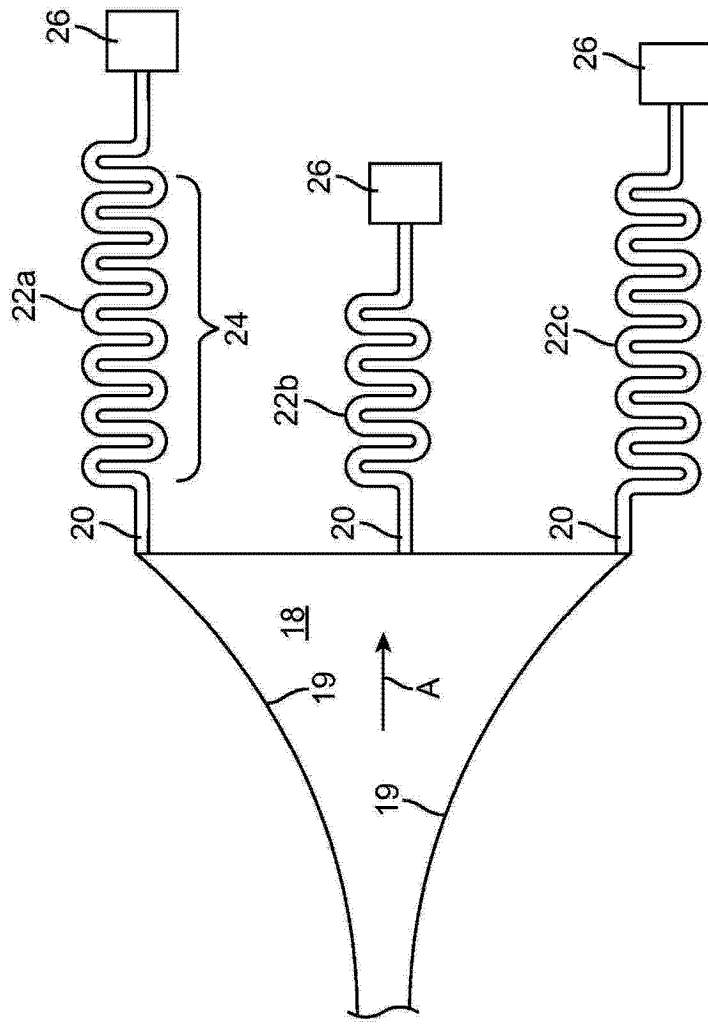


图 2A

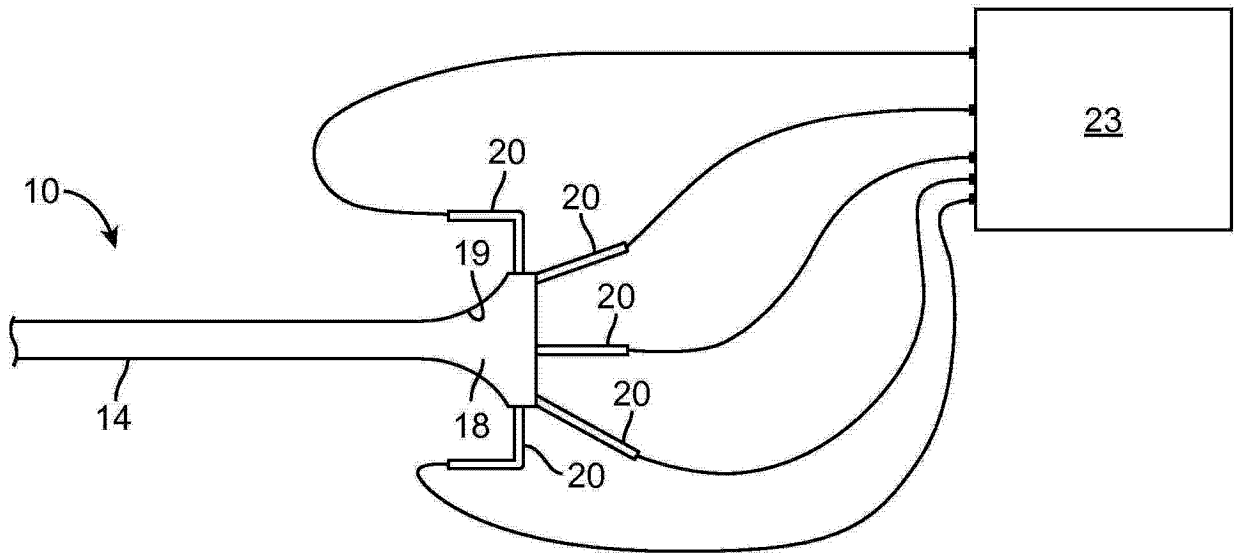


图 2B



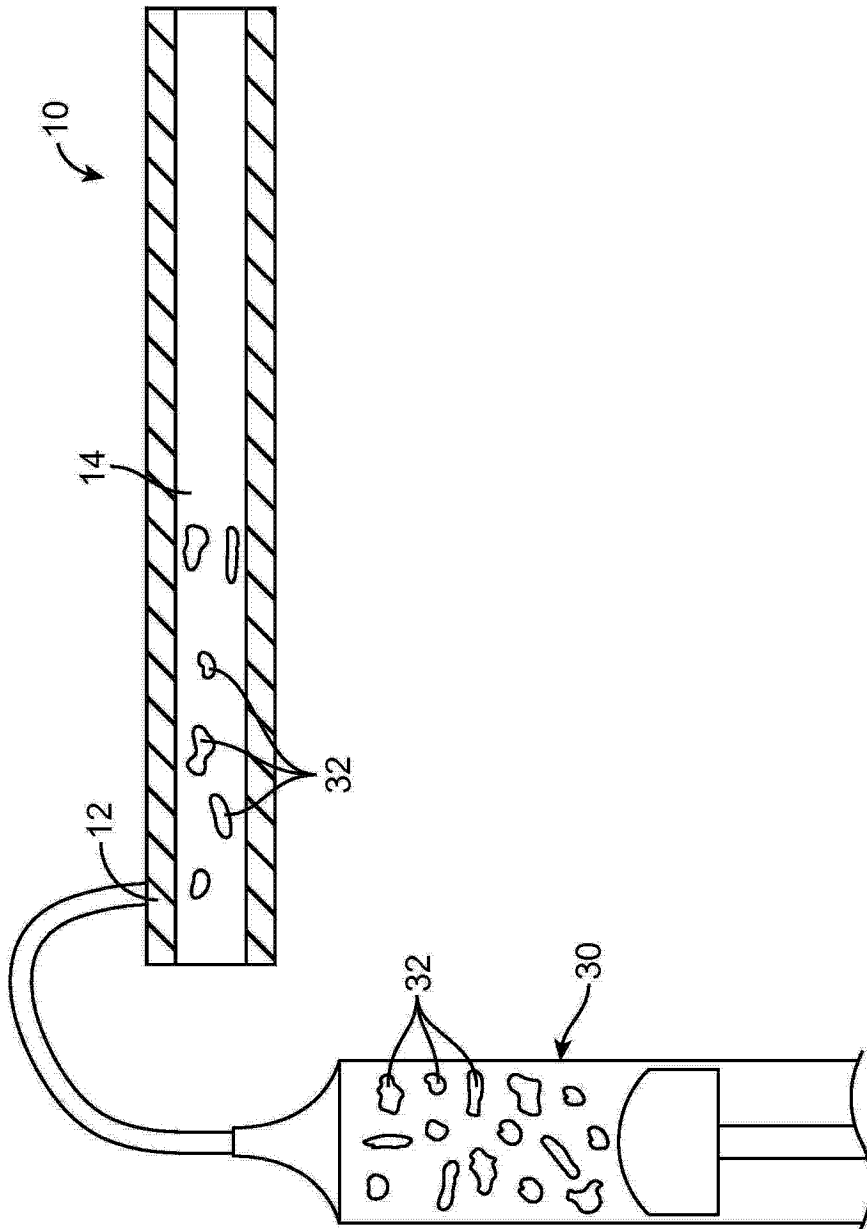


图 3

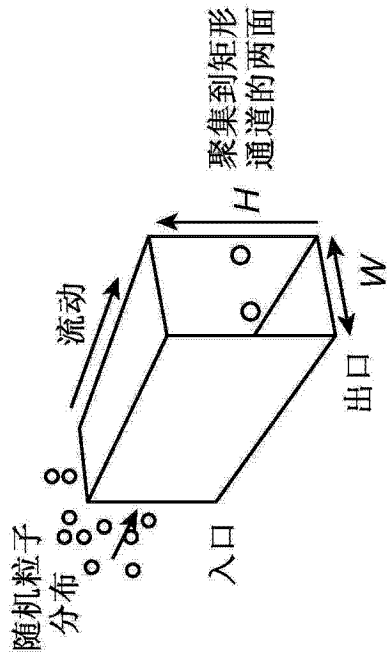


图 4A

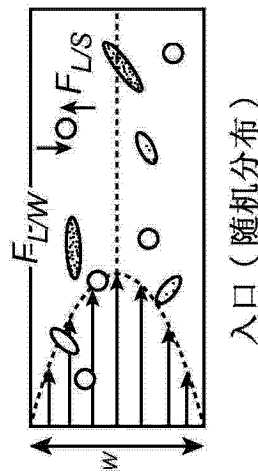


图 4B

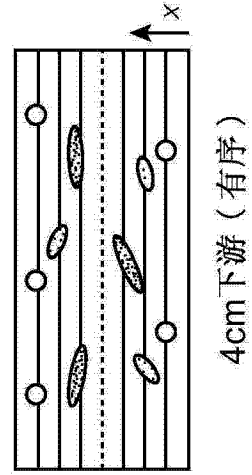


图 4C

	1:1	3	3
1:1	3	3	
1:3	6.24	2.08	
1:5	8.77	1.75	
1:1	6	6	
1:3	12.48	4.16	
1:5	17.54	3.51	

图 4D

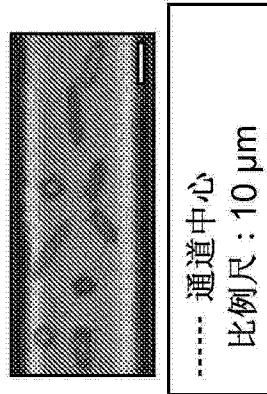


图 4E

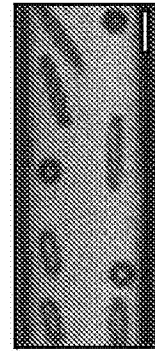


图 4F

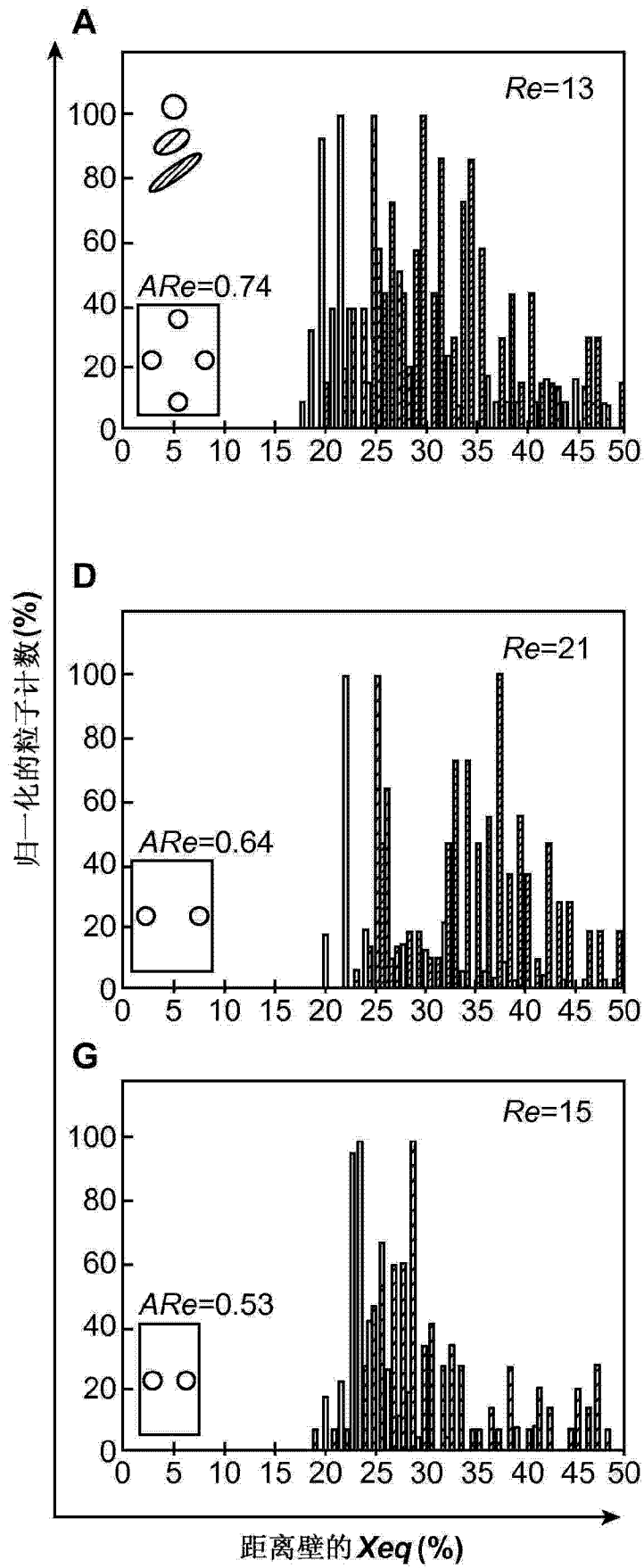


图 5A

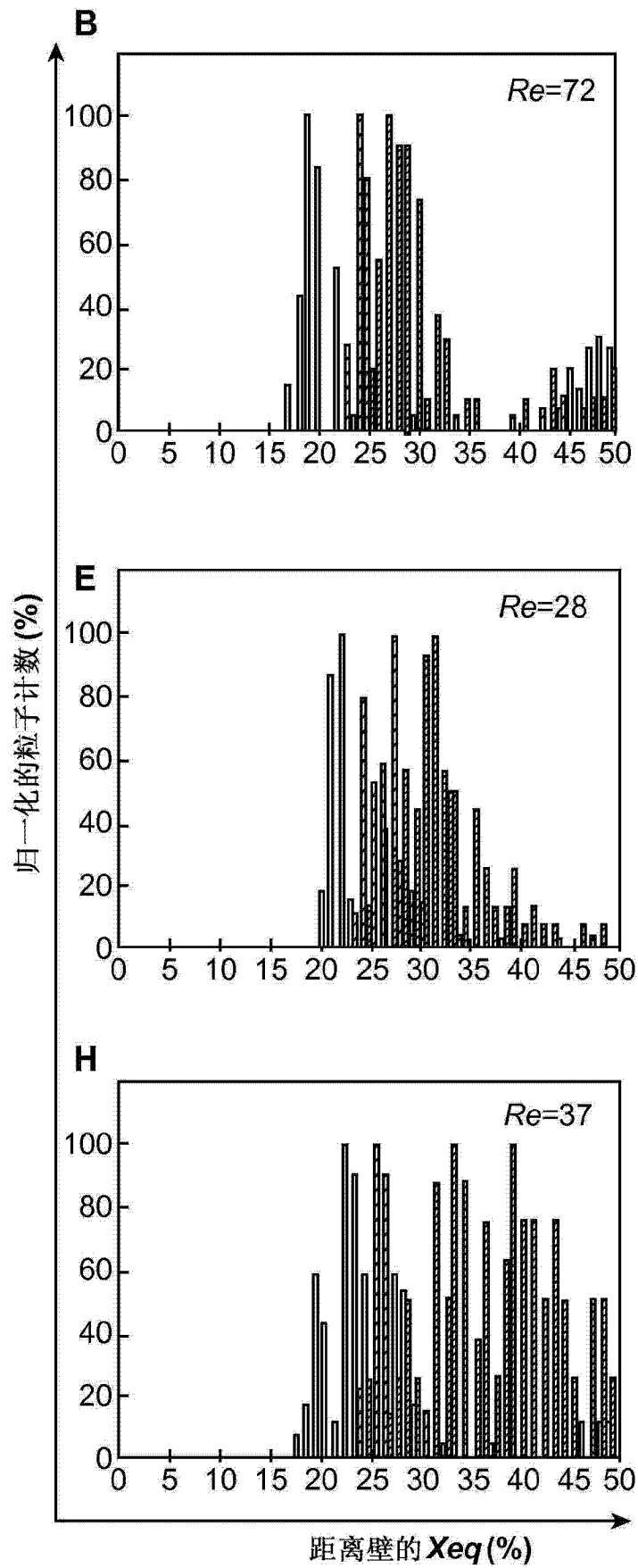


图 5A(续)

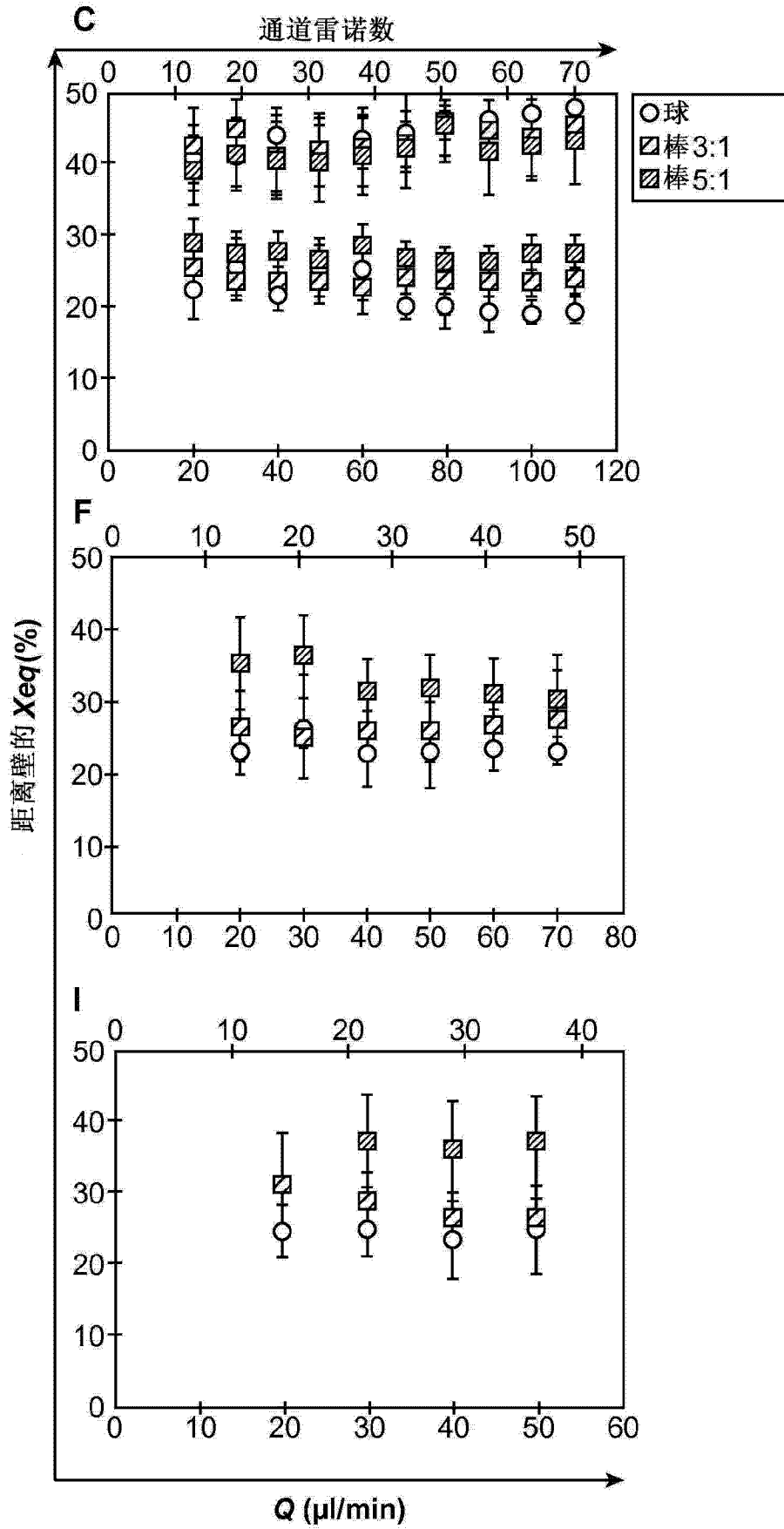


图 5B

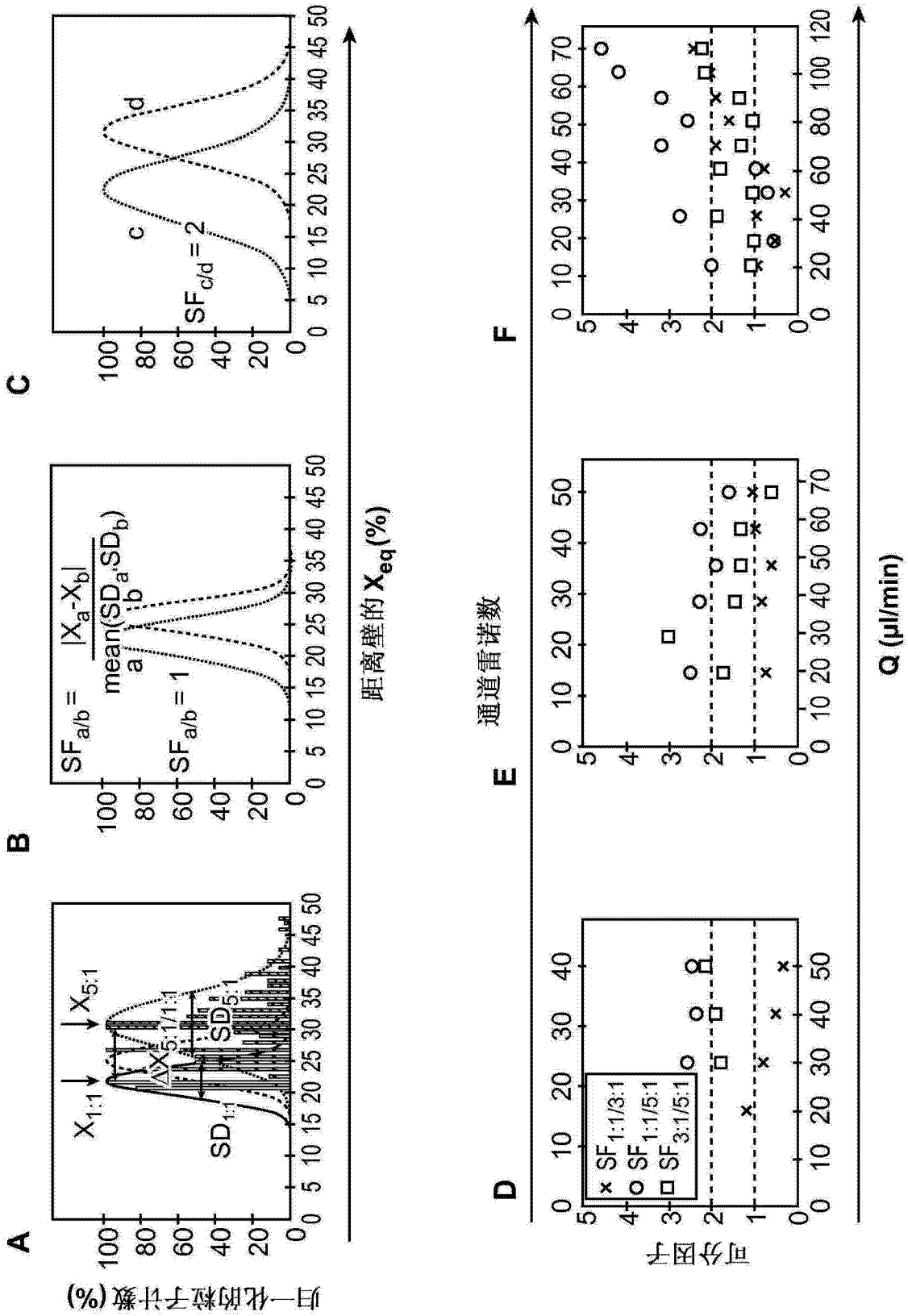


图 6A

图 6B

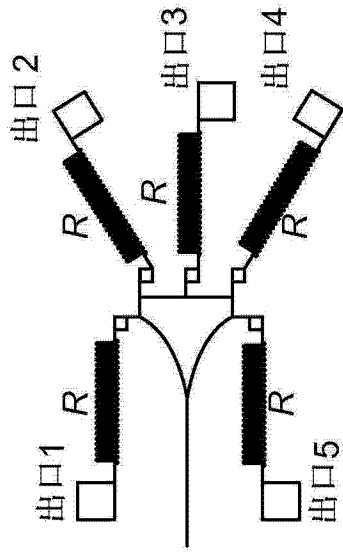


图 7A

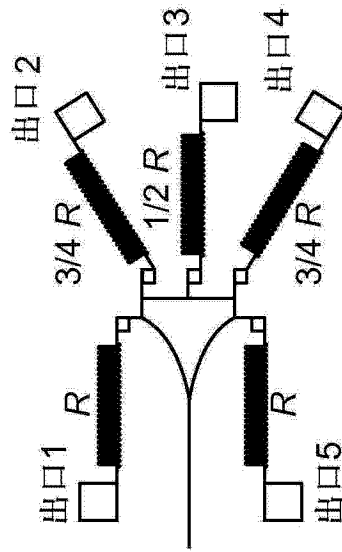


图 7B

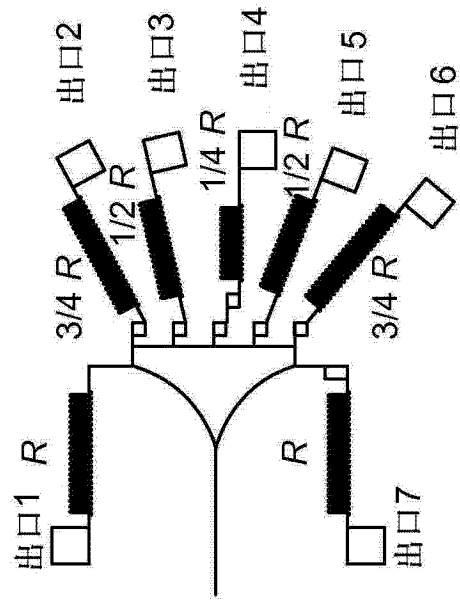


图 7C

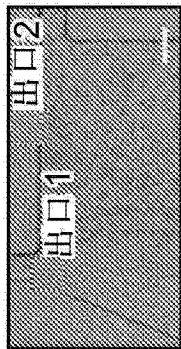


图 7D

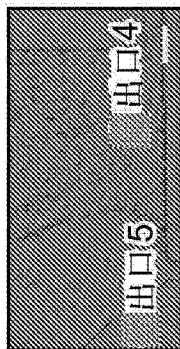


图 7E

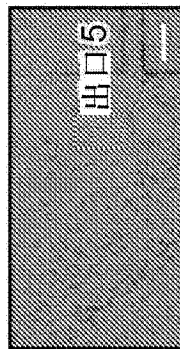


图 7F

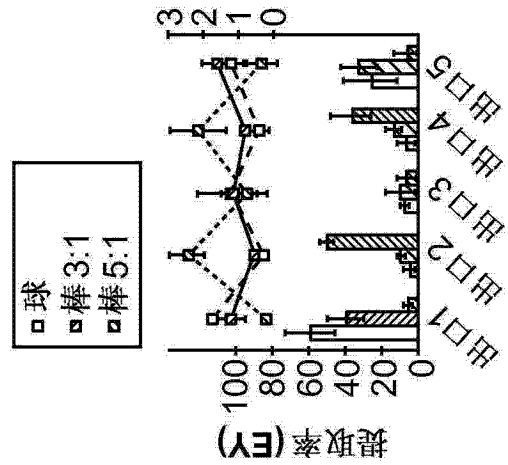


图 7G

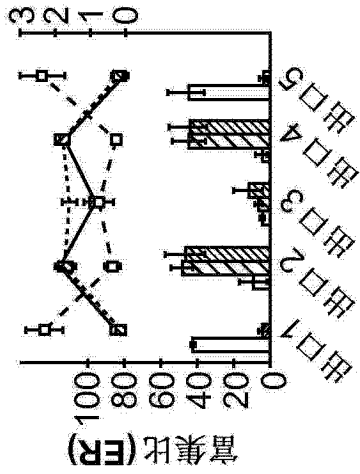


图 7H

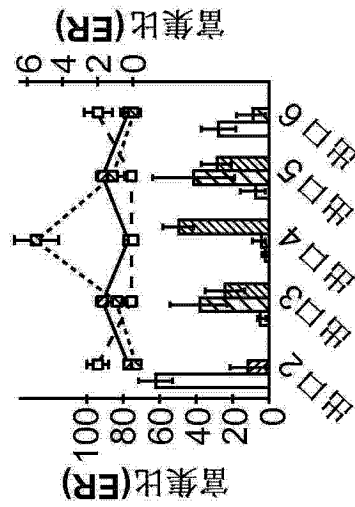


图 7I

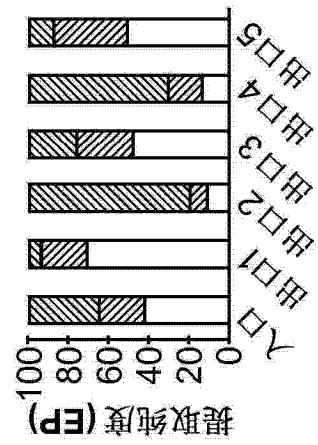


图 7J

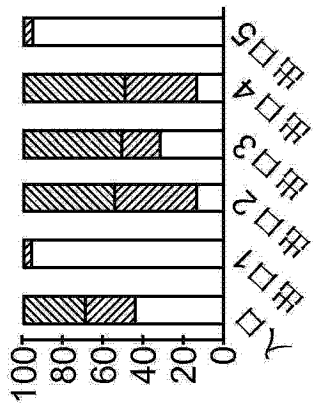


图 7K

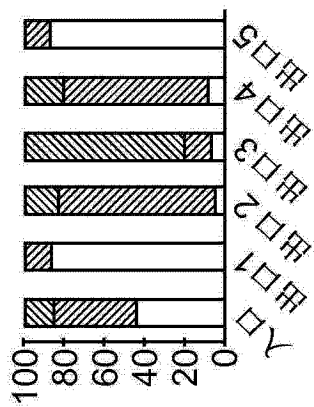


图 7L

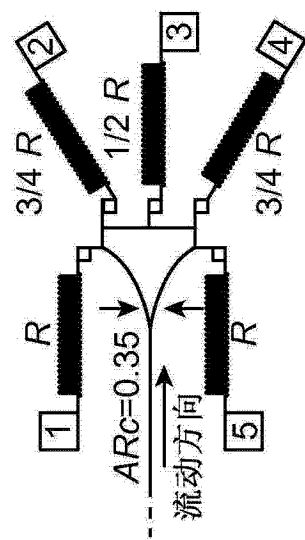


图 8A



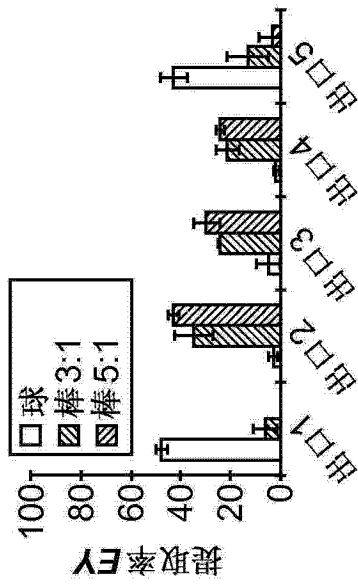


图 8B

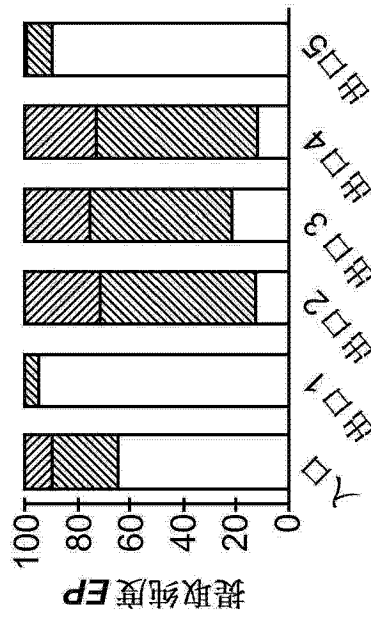


图 8C

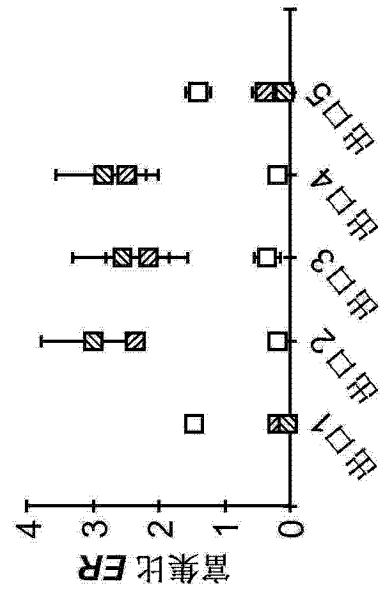


图 8D

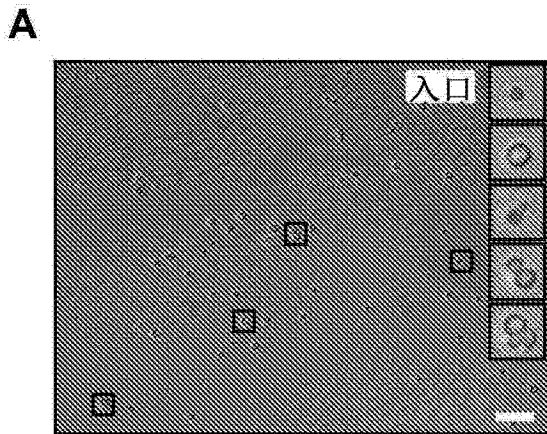


图 9A

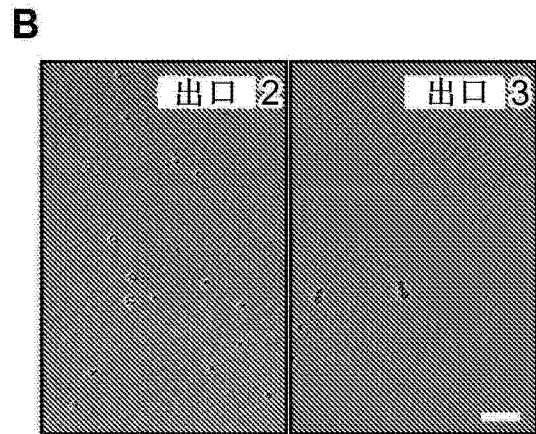


图 9B

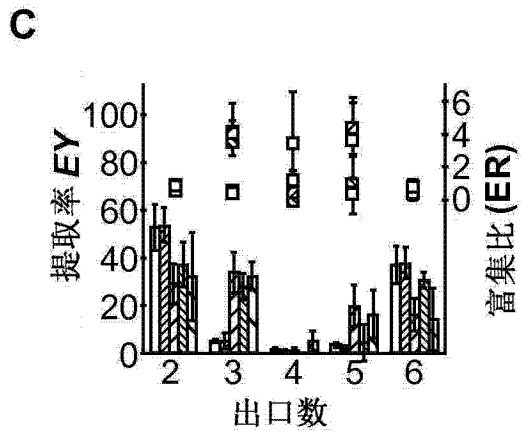


图 9C

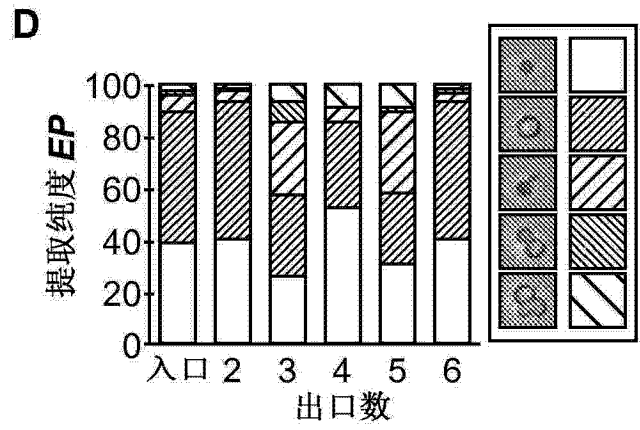


图 9D