

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 585 581**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)

F16K 99/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.09.2014** E 14187215 (0)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.07.2016** EP 2857100

54 Título: **Sistema de manipulación de partículas con canal fuera de plano**

30 Prioridad:

01.10.2013 US 201313998095

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

06.10.2016

73 Titular/es:

**OWL BIOMEDICAL, INC. (100.0%)
75 Robin Hill Road
Goleta, CA 93117, US**

72 Inventor/es:

**MILTENYI, STEFAN;
MARTINEZ, NICHOLAS;
QALANDAR, KAMALA;
SHIELDS, KEVIN;
TURNER, KIMBERLY y
FOSTER, JOHN**

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 585 581 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Sistema de manipulación de partículas con canal fuera de plano

5 Antecedentes

Esta invención se relaciona con un sistema y método para manipular partículas pequeñas en un canal de fluido microfabricado.

10 Los sistemas microelectromecánicos (MEMS) son estructuras frecuentemente móviles muy pequeñas hechas sobre un sustrato que utiliza técnicas de proceso litográfico a granel o de superficie, tales como aquellas utilizadas para la fabricación de dispositivos semiconductores. Los dispositivos MEMS pueden ser accionadores móviles, sensores, válvulas, pistones, o interruptores, por ejemplo, con dimensiones características de unas pocas micras a cientos de micras. Un conmutador de MEMS móvil, por ejemplo, puede ser utilizado para conectar uno o más terminales de entrada a uno o más terminales de salida, todos microfabricados sobre un sustrato. Los medios de accionamiento para el interruptor móvil pueden ser térmicos, piezoeléctricos, electrostáticos, o magnéticos, por ejemplo, dispositivos MEMS se pueden fabricar sobre un sustrato semiconductor que puede manipular partículas que pasan por el dispositivo MEMS en una corriente de fluido.

20 En otro ejemplo, un dispositivo MEMS puede ser una válvula móvil, que se utiliza como un mecanismo de clasificación para clasificar diversas partículas de una corriente de fluido, tales como células sanguíneas. Las partículas se pueden transportar al dispositivo de clasificación dentro de la corriente de fluido encerrada en un microcanal, que fluye bajo presión. Luego de alcanzar el dispositivo de clasificación MEMS, este dirige las partículas de interés tal como una célula madre sanguínea, a un receptáculo separado, y dirige el resto de la corriente de fluido a un recipiente de residuos.

25 Los sistemas de clasificación de células con base en MEMS pueden tener ventajas sustanciales sobre los sistemas de clasificación de células activadas con fluorescencia existentes (FACS) conocidos como citómetros de flujo. Los citómetros de flujo en general son sistemas grandes y costosos que clasifican las células con base en una señal de fluorescencia desde una etiqueta fijada a la célula de interés. Las células se diluyen y se suspenden en un fluido envolvente, y luego se separan en gotitas individuales a través de descompresión rápida a través de una boquilla. Después de expulsión desde una boquilla, las gotitas se separan en diferentes contenedores electrostáticamente, con base en la señal de fluorescencia de la etiqueta. Entre los problemas con estos sistemas están el daño celular o pérdida de funcionalidad debido a la descompresión, procedimientos de esterilización difíciles y costosos, entre la muestra, imposibilidad de volver a clasificar las subpoblaciones a lo largo de diferentes parámetros, y formación sustancial necesaria para poseer, operar y mantener estas piezas de equipo grandes, costosas. Por al menos estas razones, se ha restringido el uso de citómetros de flujo a grandes hospitales y laboratorios y no ha sido accesible la tecnología a entidades más pequeñas.

40 Se ha otorgado una serie de patentes que se dirigen a dichos dispositivos de clasificación. Por ejemplo, la Patente Estadounidense No. 6,838,056 (la patente '056) se dirige a un dispositivo de clasificación de células con base en MEMS, la Patente Estadounidense No. 7,264,972 B1 (la patente '972) se dirige a un accionador micromecánico para un dispositivo de clasificación de células con base en MEMS. La Patente Estadounidense No. 7,220,594 (la "patente 594) se dirige a estructuras ópticas fabricadas con un aparato de clasificación de células de MEMS, y la Patente Estadounidense No. 7,229,838 (la patente '838) se dirige a un mecanismo de accionamiento para operar un sistema de clasificación de partículas con base en MEMS. Adicionalmente, las Solicitudes de Patentes Estadounidenses Nos. 13/374,899 (la solicitud '899) y 13/374,898 (la solicitud '898) proporcionan detalles adicionales de otros diseños MEMS. El documento WO2006/076567A2 divulga un dispositivo de clasificación celular con base en MEMS que tiene una válvula magnética operable.

50 Resumen

Una de las características del sistema de clasificación de partículas microfabricado con base en MEMS es que se puede confinar el fluido a pequeños canales, microfabricados formados en un sustrato semiconductor durante todo el proceso de clasificación. El dispositivo MEMS puede ser una válvula que separa una o más partículas objetivo de otros componentes de una corriente de muestra. El dispositivo MEMS puede redirigir el flujo de partículas desde un canal en otro canal, cuando una señal indica que está presente una partícula objetivo. Esta señal puede ser fotones de una etiqueta fluorescente que se fija a las partículas objetivo y se excita mediante iluminación láser en una región de interrogación después del dispositivo MEMS. Por lo tanto, el dispositivo MEMS puede ser un clasificador de partículas o células que opera en una muestra de fluido confinada a un canal para fluidos microfabricado, pero que utiliza medios de detección similares a un citómetro de flujo FACS. En particular, la solicitud '898 divulga una válvula para fluidos microfabricada en donde el canal de entrada, canal de clasificación y canal de residuos todos fluyen en un plano paralelo al plano de fabricación de la válvula para fluidos microfabricada.

65 Se puede realizar una mejora sustancial sobre los dispositivos de la técnica anterior al tener por lo menos una de las rutas de canales para fluidos microfabricados que guían el flujo fuera del plano de fabricación de la válvula de microfabricada. Una válvula con dicha arquitectura tiene la ventaja de que se minimiza la presión que resiste el

movimiento de la válvula cuando la válvula se abre o se cierra, porque no se requiere que el elemento móvil mueva una columna de fluido fuera del camino. En lugar de ello, el fluido que contiene las partículas no objetivo se puede mover sobre y debajo del elemento móvil para alcanzar el canal de residuos. Adicionalmente, se puede disponer el aparato de generación de fuerza más cerca de la válvula móvil, lo que resulta en mayores fuerzas y velocidades de accionamiento más rápidas. Como resultado, el tiempo requerido para abrir o cerrar la válvula puede ser mucho más corto que en la válvula de la técnica anterior, mejorando la velocidad y precisión de la clasificación. Los sistemas y métodos divulgados aquí pueden describir dicho dispositivo de clasificación de partículas microfabricado con por lo menos un canal fuera de plano.

Los sistemas y métodos divulgados aquí se dirigen a un dispositivo de manipulación de partículas micromecánico de acuerdo con la reivindicación 1.

En una realización, el dispositivo de manipulación de partículas micromecánico de la reivindicación 1, en donde la primera superficie de desvío tiene una forma suavemente curvada que es sustancialmente tangente a la dirección de flujo en el canal de entrada en un punto sobre la forma y sustancialmente tangente a la dirección de flujo de un primer canal de salida en un segundo punto sobre la forma, en donde la primera superficie de desvío desvía el flujo desde el canal de entrada en el primer canal de salida cuando el elemento móvil está en la primera posición, y permite el flujo en un segundo canal de salida en la segunda posición.

Por último, los sistemas y métodos descritos aquí, ya que incluyen canales microfabricados, así como el diseño de válvula novedoso, pueden permitir que se implementen características útiles adicionales. Por ejemplo, las técnicas pueden formar un sistema de manipulación de partículas con capacidad de citometría, como se describe en la Solicitud de Patente Estadounidense Copendiente No. de Serie 13/507,830 (Owl-Cytometer) presentada el 01 de agosto de 2012 y cedida al mismo cesionario como la presente solicitud. Esta solicitud de patente se incorpora como referencia en su totalidad. El dispositivo MEMS descrito aquí se puede utilizar para manipular las partículas en la corriente de fluido encerrada en el canal microfabricado, mientras que una pluralidad de regiones de interrogación que también existen puede proporcionar retroalimentación sobre la manipulación. Por ejemplo, en el caso de la clasificación de células, una región de interrogación de láser puede existir antes del dispositivo MEMS, y por lo menos una región de interrogación láser adicional puede existir después del dispositivo MEMS, para confirmar los resultados de manipulación de partículas, que ha clasificado las células correctas.

Los sistemas y métodos descritos aquí también permiten la construcción de un dispositivo de clasificación de una sola entrada/doble salida, en donde el flujo desde un único canal de entrada se puede desviar en cualquiera de los dos canales de salida de clasificación, o se permite que fluya a través del canal de residuos.

En otra realización, la arquitectura de la válvula novedosa puede hacer uso de técnicas que se enfocan en la partícula hidrodinámica, como se enseña, por ejemplo, en "Single-layer planar on-chip flow cytometer using microfluidic drifting based three-dimensional (3D) hydrodynamic focusing," por Xiaole Mao, et al. (en adelante "Mao," Journal of Royal Society of Chemistry, Lab Chip, 2009, 9, 1583-1589). La arquitectura microfabricada de los sistemas y métodos descritos aquí los hace especialmente adecuados para las técnicas descritas en Mao, como se describe más adelante.

Estas y otras características y ventajas se describen en, o son evidentes a partir de la siguiente descripción detallada.

Breve descripción de los dibujos

Se describen diversos detalles de ejemplo con referencia a las siguientes figuras, en donde:

La Figura 1 es una vista de plano simplificada de un sistema de clasificación microfabricado en la posición inactiva (sin clasificar);

La Figura 2 es una vista de plano simplificada de un sistema de clasificación microfabricado en la posición accionada (clasificada);

La Figura 3a es una vista de plano simplificada de un sistema de clasificación de partículas microfabricado que muestra el campo de vista del detector, con la válvula micro para fluidos en la posición inactiva (sin clasificar);

La Figura 3b es una ilustración simplificada de un sistema de clasificación de partículas microfabricado que muestra el campo de vista del detector, con la válvula micro para fluidos en la posición accionada (clasificada);

La Figura 4a es una vista en sección transversal simplificada de un sistema de clasificación de partículas microfabricado en la posición accionada (clasificada), que muestra el flujo de la corriente de muestra en el canal de clasificación que está en el mismo plano que el canal de entrada;

La Figura 4b es una vista en sección transversal simplificada de un sistema de clasificación de partículas microfabricado en la posición inactiva (sin clasificar), que muestra el flujo de la corriente de muestra en el canal de residuos que no está en el mismo plano que el canal de entrada;

5 La Figura 4c es una vista en sección transversal simplificada de un sistema de clasificación de partículas microfabricado en la posición inactiva (sin clasificar), que muestra el flujo de la corriente de muestra en el canal de residuos que no está en el mismo plano que el canal de entrada, en donde la corriente de muestra fluye alrededor de la parte superior y parte inferior del desviador;

La Figura 5 es una vista de plano simplificada de un sistema de clasificación de partículas microfabricado en la posición inactiva (sin clasificar), que muestra la característica magnéticamente permeable estacionaria;

10 La Figura 6 es una vista de plano del mecanismo de accionamiento para el sistema de clasificación de partículas microfabricado, que muestra el funcionamiento del campo magnético externo en combinación con la característica magnéticamente permeable estacionaria;

15 La Figura 7 es una vista de plano del mecanismo de accionamiento para el sistema de clasificación de partículas microfabricado, que muestra el funcionamiento del campo magnético externo en combinación con la característica magnéticamente permeable estacionaria, en la posición accionada (clasificada);

20 La Figura 8 es una vista simplificada del sistema de clasificación de partículas microfabricado, en donde se disponen múltiples clasificadores de partículas microfabricados para proporcionar una capacidad de clasificación en serie;

La Figura 9 es una vista de plano de un sistema de clasificación de partículas microfabricado de dos vías, en donde el sistema tiene más de una salida de clasificación;

25 La Figura 10 es una vista de plano del sistema de clasificación de partículas microfabricado de dos vías, con más de una salida de clasificación, con el dispositivo de clasificación microfabricado de dos vías en la posición accionada;

La Figura 11 es una vista de plano del sistema de clasificación de partículas microfabricado en combinación con un colector de enfoque hidrodinámico;

30 La Figura 12 es una ilustración de nivel de sistema de un sistema de clasificación de partículas microfabricado de acuerdo con la presente invención, que muestra la colocación de los diversos componentes de detección y control; y

35 La Figura 13 es una representación de una forma de onda de señal desde el sistema de control hasta el dispositivo de clasificación de partículas microfabricado, que muestra los diferentes impulsos utilizados para controlar el movimiento del dispositivo.

Descripción detallada

40 El sistema descrito aquí es un sistema de clasificación de partículas que puede hacer uso de la arquitectura de microcanal de un sistema de manipulación de partículas MEMS. Más en general, los sistemas y métodos describen un sistema de manipulación de partículas con un canal de entrada y una pluralidad de canales de salida, en donde por lo menos una de la pluralidad de canales de salida se dispone en un plano diferente que el canal de entrada. Esta arquitectura tiene algunas ventajas significativas en relación con la técnica anterior.

45 En las figuras discutidas a continuación, los números de referencia similares están destinados para referirse a estructuras similares, y las estructuras se ilustran en diversos niveles de detalle para dar una visión clara de las características importantes de este dispositivo novedoso. Se debe entender que estos dibujos no representan necesariamente las estructuras a escala, y que las designaciones direccionales tales como "arriba", "abajo", "superior", "inferior", "izquierda" y "derecha" son arbitrarias, ya que se puede construir y operar en cualquier orientación particular el dispositivo. En particular, se debe entender que las designaciones "clasificación" y "residuos" son intercambiables, ya que sólo se refieren a diferentes poblaciones de partículas, y que llamar la población "objetivo" o "clasificación" es arbitrario.

55 La Figura 1 es una ilustración de vista de plano del dispositivo 10 para fluidos microfabricado novedoso en la posición inactiva (no accionada). El dispositivo 10 puede incluir una válvula para fluidos microfabricada o elemento 110 móvil (área rayada) y una serie de canales 120, 122 y 140 para fluidos microfabricados. El canal 140 para fluidos microfabricado (mostrado como el área 140 rayada en la Figura 1 y la Figura 2) sirve como canal de salida y se puede ubicar directamente por debajo de por lo menos una porción del elemento 110 microfabricado y no es paralelo al plano de los canales 120, 122 para fluidos microfabricados o el elemento 110 microfabricado. El elemento 110 microfabricado se fabrica y mueve en una ruta paralela o dentro de este plano. Preferiblemente, el canal 140 para fluidos microfabricado es ortogonal al plano de los canales 120, 122 para fluidos microfabricados y la ruta de movimiento del elemento 110 microfabricado. La abertura del canal 140 para fluidos microfabricado puede cubrir preferiblemente superponer por lo menos una porción de la ruta de movimiento del elemento 110 microfabricado, es decir el área rayada superpone el elemento 110 microfabricado sobre por lo menos una porción de su movimiento, como se muestra en la
60
65
Figura 1 y la Figura 2. Esta superposición puede permitir que exista una ruta de fluido entre el canal 120 de entrada y el canal 140 de salida cuando el elemento microfabricado está en la posición "residuos" o no accionada (Figura 1), y esta

ruta se cierra y las partículas se redirigen en la posición “clasificación” o accionada (Figura 2). Como se describió previamente, esta arquitectura puede reducir la resistencia del fluido, aumentando de esta manera la velocidad del elemento 110 microfabricado.

5 La válvula 110 para fluidos y los canales 120, 122 y 140 para fluidos microfabricados se pueden formar en un sustrato adecuado, tal como un sustrato de silicio, utilizando técnicas de fabricación litográfica MEMS como se describe en mayor detalle adelante. El sustrato de fabricación puede tener un plano de fabricación en el que se forma el dispositivo y en el que se mueve el elemento 110 móvil.

10 Se puede introducir una corriente de muestra a la válvula 110 para fluidos microfabricada mediante un canal 120 de entrada de muestra. La corriente de muestra puede contener una mezcla de partículas, que incluyen por lo menos una partícula objetivo, deseada y una serie de otras partículas no objetivo, no deseadas. Las partículas se pueden suspender en un fluido. Por ejemplo, la partícula objetivo puede ser un material biológico tal como una célula madre, una célula de cáncer, un cigoto, una proteína, una célula T, una bacteria, un componente de sangre, un fragmento de
 15 ADN, por ejemplo, suspendido en un fluido regulador tal como solución salina. El canal 120 de entrada se puede formar en el mismo plano de fabricación que la válvula 110, de tal manera que el flujo del fluido está sustancialmente en ese plano. El movimiento de la válvula 110 también está dentro de este plano de fabricación. La decisión de clasificar/guardar o rechazar/desechar una partícula dada se puede basar en cualquier serie de señales distintivas. En una realización de ejemplo, la decisión se basa en una señal de fluorescencia emitida por la partícula, basada en una
 20 etiqueta fluorescente fijada a la partícula y excitada por un láser de iluminación. Los detalles en cuanto a este mecanismo de detección son bien conocidos en la bibliografía, y se discuten adicionalmente adelante con respecto a la Figura 12. Sin embargo, se pueden anticipar otras clasificaciones de señales distintivas, que incluyen luz dispersa o luz dispersa lateral que se pueden basar en la morfología de una partícula, o cualquier serie de efectos mecánicos, químicos, eléctricos o magnéticos que pueden identificar una partícula por ser una partícula objetivo, y por lo tanto
 25 clasificar o guardar, o una partícula no objetivo y por lo tanto de otra forma rechazar o desechar.

Con la válvula 110 en la posición mostrada, la corriente de entrada pasa sin obstáculos a un orificio de salida y el canal 140 que está fuera del plano del canal 120 de entrada, y de esta manera sale del plano de fabricación del dispositivo 10. Es decir, el flujo es desde el canal 120 de entrada hasta el orificio 140 de salida, desde el cual fluye sustancialmente
 30 verticalmente, y de esta manera ortogonalmente hasta el canal 120 de entrada. Este orificio 140 de salida conduce a un canal fuera de plano que puede ser perpendicular al plano del papel que muestra la Figura 1, y representado en las vistas de sección transversal de las Figuras 4a-4c. Más en general, el canal 140 de salida no es paralelo al plano del canal 120 de entrada o canal 122 de clasificación, o el plano de fabricación del elemento 110 móvil.

35 El orificio 140 de salida puede ser un agujero formado en el sustrato de fabricación, o en un sustrato de cobertura que se une al sustrato de fabricación. Un área aliviada por encima y por debajo de la válvula de clasificación o elemento 110 móvil permite que el fluido fluya por encima y por debajo del elemento 110 móvil hasta el orificio 140 de salida, y se muestra en más detalle en las Figuras 4a-4c. Adicionalmente, la válvula 110 puede tener una superficie 112 de desvío curvada que puede redirigir el flujo de la corriente de entrada en una corriente de salida de clasificación, como se describe luego con respecto a la Figura 2. El contorno del orificio 140 puede ser tal que se superpone algo, pero no
 40 todo, el canal 120 de entrada y canal 122 de clasificación. Al tener el contorno 140 superpuesto en el canal de entrada, y con las áreas aliviadas descritas anteriormente, existe una ruta para la corriente de entrada que fluye directamente en el orificio 140 de residuos cuando el elemento móvil o válvula 110 está en la posición de residuos no accionada.

45 La Figura 1 es una ilustración de vista de plano del dispositivo 10 para fluidos microfabricado novedoso en la posición inactiva (no accionada). El dispositivo 10 puede incluir una válvula para fluidos microfabricada o elemento 110 móvil (área rayada) y una serie de canales 120, 122 y 140 para fluidos microfabricados. El canal 140 para fluidos microfabricado sirve como canal de salida y se localiza directamente por debajo o por encima por lo menos una porción del elemento 110 microfabricado y no es paralelo al plano de los canales 120, 122 para fluidos microfabricados o el
 50 elemento 110 microfabricado. Preferiblemente, los canales 120 para fluidos microfabricados son ortogonales al plano de los canales 120, 122 para fluidos microfabricados o el elemento 110 microfabricado. El canal 140 para fluidos microfabricado puede cubrir por lo menos una porción de la ruta de movimiento del elemento 110 microfabricado es decir el área dentro de las líneas/forma discontinua.

55 La Figura 2 es una vista de plano del dispositivo 10 microfabricado en la posición accionada. En esta posición, el elemento móvil o válvula 110 (área rayada) se desvía hacia arriba en la posición mostrada en la Figura 2. La superficie 112 de desvío es un contorno de clasificación que redirige el flujo del canal 120 de entrada en el canal 122 de salida de clasificación. El canal 122 de salida se puede encontrar en sustancialmente el mismo plano que el canal 120 de entrada, de tal manera que el flujo dentro del canal 122 de clasificación también está en sustancialmente el mismo plano que el
 60 flujo dentro del canal 120 de entrada. Puede haber un ángulo α entre el canal 120 de entrada y el canal 122 de clasificación, este ángulo puede ser de cualquier valor hasta aproximadamente 90 grados. El accionamiento del elemento 110 móvil puede surgir de una fuerza del aparato 400 que genera fuerza, mostrado de forma genérica en la Figura 2. En algunas realizaciones, el aparato que genera fuerza puede ser un electroimán, sin embargo, se debe entender que el aparato que genera fuerza puede también ser electrostático, piezoeléctrico, o algún otro medio para
 65 ejercer una fuerza sobre el elemento 110 móvil, provocando que se mueva desde una primera posición (Figura 1) hasta una segunda posición (Figura 2).

Más en general, el dispositivo de manipulación de partículas micromecánico mostrado por ejemplo en las Figuras 1 y 2 se puede formar sobre una superficie de un sustrato de fabricación, en donde el dispositivo de manipulación de partículas micromecánico puede incluir un elemento 110 móvil, microfabricado que tiene una primera superficie 112 de desvío, en donde el elemento 110 móvil se mueve desde una posición hasta una segunda posición en respuesta a una fuerza aplicada al elemento móvil, en donde el movimiento está sustancialmente en un plano paralelo a la superficie, un canal 120 de entrada de muestra formado en el sustrato y a través del cual fluye un fluido, el elemento microfabricado que incluye una o más partículas objetivo y material no objetivo, en donde el flujo en el canal de entrada de muestra es sustancialmente paralelo a la superficie, y una pluralidad de canales 122, 140 de salida en los que el elemento microfabricado desvía el fluido, y en donde el flujo en por lo menos uno de los canales 140 de salida no es paralelo al plano, y en donde por lo menos un canal 140 de salida se ubica directamente por debajo de por lo menos una porción del elemento 110 móvil sobre por lo menos una porción de su movimiento.

En una realización, la superficie 112 de desvío puede ser cercanamente tangente a la dirección de flujo de entrada así como también la dirección de flujo de salida de clasificación, y la pendiente puede variar suavemente entre estas líneas tangentes. En esta realización, la masa de movimiento de la corriente tiene un momento que se desplaza suavemente desde la dirección de entrada hasta la dirección de salida, y de esta manera si las partículas objetivo son células biológicas, se suministra un mínimo de fuerza a las partículas. Como se muestra en las Figuras 1 y 2, el dispositivo 10 de manipulación de partículas micromecánico tiene una primera superficie 112 de desvío con una forma suavemente curvada, en donde la superficie que es sustancialmente tangente a la dirección de flujo en el canal de entrada de muestra en un punto sobre la forma y sustancialmente tangente a la dirección de flujo de un primer canal de salida en un segundo punto sobre la forma, en donde la primera superficie de desvío desvía el flujo desde el canal de entrada de muestra en el primer canal de salida cuando el elemento 110 móvil está en la primera posición, y permite el flujo en un segundo canal de salida en la segunda posición.

En otras realizaciones, se proporciona la manipulación de partículas micromecánica con una primera superficie de desvío que tiene por lo menos una de una forma triangular, trapezoidal, parabólica, circular y en v, en donde la superficie de desvío desvía el flujo desde el canal de entrada en el primer canal de salida cuando el elemento móvil está en la primera posición, y permite el flujo en un segundo canal de salida en la segunda posición. El desviador sirve en todos los casos para dirigir el flujo desde el canal de entrada hasta otro canal.

Se debe entender que aunque se mencione el canal 122 como el "canal de clasificación" y se mencione el orificio 140 como el "orificio de residuos", estos términos se pueden intercambiar de tal manera que la corriente de clasificación se dirige en el orificio 140 de residuos y la corriente de residuos se dirige en el canal 122, sin ninguna pérdida de generalidad. De modo similar, se pueden invertir el "canal 120 de entrada" y "canal 122 de clasificación". Los términos utilizados para designar a los tres canales son arbitrarios, pero la corriente de entrada se puede desviar por la válvula 110 en cualquiera de las dos direcciones separadas, por lo menos una de las cuales no se encuentran en el mismo plano que las otras dos. El término "sustancialmente" cuando se utiliza en referencia a una dirección angular, es decir, sustancialmente tangente o sustancialmente vertical, se debe entender que significa dentro del rango de 15 grados de la dirección de referencia. Por ejemplo, "sustancialmente ortogonal" a una línea se debe entender que significa desde aproximadamente 75 grados hasta aproximadamente 105 grados desde la línea.

Las Figuras 3a y 3b ilustran una realización en donde el ángulo α entre el canal 120 de entrada y el canal 122 de clasificación es aproximadamente cero grados. De acuerdo con lo anterior, el canal 122 de clasificación es esencialmente antiparalelo al canal 120 de entrada, de tal manera que el flujo es de derecha a izquierda en el canal 120 de entrada. Con la válvula 110 en la posición inactiva, no accionada mostrada en la Figura 3a, la corriente de entrada fluye directamente al orificio 140 de residuos y verticalmente fuera del dispositivo 10.

En la Figura 3b, la válvula 110 está en la posición de clasificación, accionada. En esta posición, el flujo gira alrededor de la superficie 112 de desvío de la válvula 110 y en el canal 122 de clasificación antiparalelo. Esta configuración puede tener una ventaja en que el campo de vista del detector 150 cubre tanto el canal 120 de entrada como el canal 122 de clasificación. De esa manera se puede utilizar un grupo de ópticas de detección para detectar el pasaje de una partícula objetivo a través de los respectivos canales. También puede ser ventajoso minimizar la distancia entre la región de detección y la válvula 110, con el fin de minimizar la incertidumbre de temporización en la apertura y cierre de la válvula.

El elemento móvil o válvula 110 se puede adherir al sustrato con un resorte 114 flexible. El resorte puede ser una franja angosta de material de sustrato. En el ejemplo establecido anteriormente, el material de sustrato puede ser de silicio de cristal único, que se conoce por sus excelentes propiedades mecánicas, tales como su resistencia, baja tensión residual y resistencia a la fluencia. Con el dopaje adecuado, también se puede hacer que el material sea lo suficientemente conductor para evitar la acumulación de carga sobre cualquier parte del dispositivo, que de otro modo podría interferir con su movimiento. El resorte puede tener una forma de serpentina, como se muestra, que tiene un ancho de aproximadamente 1 micra a aproximadamente 10 micras y una constante elástica de entre aproximadamente 10 N/m y 100 N/m, y preferiblemente de aproximadamente 40 N/m.

Las Figuras 4a, 4b, 4c son vistas en sección transversal que ilustran la operación del canal 140 de residuos fuera de plano. La Figura 4c se amplía ligeramente en relación con las Figuras 4a y 4b, con el fin de mostrar detalle del flujo

alrededor del elemento 110 móvil y en el canal 142 de residuos a través del orificio 140 de residuos. Las flechas indican la ruta de movimiento del elemento 110 móvil en el plano de los canales 120 y 122. En esta realización, el canal 142 de residuos es vertical, sustancialmente ortogonal a la corriente 120 de entrada y corriente 122 de clasificación. Los canales 120 y 120 de entrada son ortogonales al canal 142 de residuos donde la dirección de canal de entrada 122 está fuera del plano de papel. Se debe entender que son posibles otras realizaciones diferentes a aquellas ortogonales, pero en cualquier evento, el flujo en el canal 142 de residuos está fuera del plano del flujo en el canal 120 de entrada y/o canal 122 de clasificación. Como se muestra en la Figura 4a, con la válvula 110 en la posición de clasificación, accionada, la corriente de entrada y partícula objetivo puede fluir en la corriente 122 de clasificación, que en la Figura 4a está fuera del papel, y el orificio 140 de residuos es grande está en gran medida, aunque no completamente, bloqueado por el elemento 110 móvil. El área 144 (no se dimensiona el tamaño en la Figura 4c) sobre la parte superior de la válvula o elemento 110 móvil se puede aliviar para proporcionar espacio para este flujo.

Cuando la válvula o elemento 110 móvil no se acciona como en la Figura 4b, el flujo del canal 120 de entrada puede fluir directamente en el canal 142 de residuos al pasar por encima, alrededor o por el elemento móvil o válvula 110. El área 144 sobre la parte superior de la válvula o elemento 110 móvil se puede aliviar para proporcionar espacio para este flujo. El área 144 aliviada se muestra en mayor detalle en la Figura 4c ampliada. Por lo tanto cuando no se acciona el elemento móvil, el flujo se enviará directamente al canal de residuos. Cuando se acciona el elemento móvil, la mayoría del fluido se dirigirá al canal de clasificación, aunque el líquido pueda aún fluir sobre y debajo del elemento móvil.

Por lo tanto, el propósito de proporcionar flujo tanto por abajo como por encima del elemento 110 móvil es reducir la presión del fluido producida por el movimiento del accionador en la región detrás de la válvula o elemento 110 móvil. En otras palabras, el propósito es proporcionar una ruta lo más corta posible entre la región de alta presión en la parte delantera de la válvula 110 y la región de baja presión detrás de la válvula. Esto permite que la válvula funcione con poca presión que resiste su movimiento. Como resultado, la válvula 110 móvil mostrada en las Figuras 1-4c puede ser sustancialmente más rápida que las válvulas que tienen todos los canales dispuestos en el mismo plano.

Otra ventaja del canal 142 de residuos verticales es que al colocarlo directamente debajo de una característica 130 permeable estacionaria y característica 116 permeable móvil, el hueco magnético entre las características 116 y 130 permeables puede ser más estrecho que si el canal para fluidos estuviera entre ellas. El hueco estrecho permite fuerzas más altas y por lo tanto accionamiento más rápido en comparación con los diseños de la técnica anterior. Una descripción de los componentes magnéticos y el mecanismo de accionamiento magnético se darán a continuación, y serán evidentes las ventajas de la arquitectura de canal fuera de plano.

La Figura 5 es una vista de plano de otra realización de ejemplo del dispositivo 100 del dispositivo 10, que muestra la disposición de una característica 130 permeable estacionaria y más detallada del elemento 110 móvil. En esta realización, el elemento 110 móvil puede incluir la superficie 112 de desvío, la bisagra flexible o resorte 114, y un área 116 separada circunscrita pero dentro de la línea que corresponde al elemento 110 móvil. Esta área 116 se puede incrustar con un material magnético permeable tal como aleación Permalloy de hierro níquel, y puede funcionar como se describe adicionalmente adelante.

En una realización adicional, el dispositivo de manipulación de partículas micromecánico comprende adicionalmente una primera incrustación de material magnético permeable en el elemento móvil; una primera característica magnética permeable estacionaria dispuesta sobre el sustrato; y una primera fuente de flujo magnético externo al elemento móvil y sustrato sobre el cual se forma el elemento móvil.

Preferiblemente, el elemento móvil del dispositivo de manipulación de partículas micromecánico se mueve desde la primera posición hasta la segunda posición cuando se activa la fuente de flujo magnético.

Se debe entender que un material magnéticamente permeable significa cualquier material que es capaz de soportar la formación de un campo magnético dentro de sí mismo. En otras palabras, la permeabilidad de un material es el grado de magnetización de que el material obtiene en respuesta a un campo magnético aplicado.

Los términos "material permeable" o "material con alta permeabilidad magnética" como se utilizan aquí se deben entender como un material con una permeabilidad que es grande en comparación con la permeabilidad de aire o de vacío. Es decir, un material permeable o material con alta permeabilidad magnética es un material con una permeabilidad relativa (en comparación con el aire o de vacío) de por lo menos aproximadamente 100, es decir, 100 veces la permeabilidad de aire o de vacío, que es de aproximadamente $1.26 \times 10^{-6} \text{ H} \cdot \text{m}^{-1}$. Existen muchos ejemplos de materiales permeables, que incluyen aleaciones de cromo (Cr), cobalto (Co), níquel (Ni) y hierro (Fe). Un material permeable popular se conoce como Permalloy, que tiene una composición de entre aproximadamente 60% y aproximadamente 90% de Ni y 40% y 10% de hierro. La composición más común es 80% de Ni y 20% de Fe, que tiene una permeabilidad relativa de aproximadamente 8000.

Es bien sabido de la magnetoestática que se extraen materiales permeables en áreas en donde se concentran las líneas de flujo magnético, con el fin de reducir la reluctancia de la ruta proporcionada por el material permeable al flujo. De acuerdo con lo anterior, un gradiente en el campo magnético insta al movimiento del elemento 110 móvil debido a la presencia de incrustaciones de material 116 permeable, hacia áreas que tienen una alta concentración de flujo

magnético. Es decir, el elemento 110 móvil con incrustaciones de material 116 será permeable extraído en la dirección del gradiente positivo en el flujo magnético.

Se puede proporcionar una fuente externa de líneas de campo magnéticas de flujo fuera del dispositivo 100, como se muestra en la Figura 6. Esta fuente puede ser un electroimán 500. El electroimán 500 puede incluir un núcleo 512 permeable alrededor del cual se enrolla un conductor 514. El conductor o de una bobina 514 enrollada y el núcleo 512 generan un campo magnético que sale del polo del imán, diverge, y vuelve al polo opuesto, como es bien conocido en electromagnetismo. De acuerdo con lo anterior, el elemento 110 móvil en general es atraído hacia el polo del electroimán 500, como se muestra en la Figura 7.

Sin embargo, se puede mejorar el rendimiento del dispositivo 100 por el uso de una característica 130 permeable estacionaria. Se debe entender que el término "característica estacionaria" debe entenderse con el significado de una característica que se fija al sustrato y no se mueve con relación al mismo, a diferencia de elemento móvil o válvula 110. Una característica 130 permeable estacionaria se puede configurar para recoger estas líneas divergentes de flujo y reorientarlas en una zona directamente adyacente al elemento 110 móvil con incrustaciones de material permeable. La característica permeable estacionaria puede tener una región 132 expansiva con una franja 134 más estrecha. Las líneas de flujo se recogen en la región 132 expansiva y se centran en y fuera del área 134 de franja estrecha. De acuerdo con lo anterior, la densidad de líneas de flujo en el área 134 de franja es sustancialmente mayor de lo que sería en la ausencia de la característica 130 permeable estacionaria. Por lo tanto, el uso de la característica 130 permeable estacionaria, aunque opcional, permite una fuerza superior, accionamiento más rápido, y reduce la necesidad de que el electroimán 500 esté en estrecha proximidad al dispositivo 100. A partir del área 134 de franja estrecha, las líneas de campo salen del material permeable y vuelven al polo magnético opuesto de la fuente 500 externa. Pero debido a la alta concentración de líneas de campo en el área 134 de franja, el material 116 permeable incrustado en el elemento 110 móvil puede ser atraído a la característica 130 permeable estacionaria, con el resto del elemento móvil con él.

Cuando el electroimán está inactivo, y no se suministra corriente a la bobina 514, la fuerza de restauración del resorte 114 provoca que el elemento 110 móvil esté en la posición "cerrada" o "de residuo". En esta posición, la corriente de entrada pasa sin obstáculos a través del dispositivo 100 hasta el canal 140 de residuos. Esta posición se muestra en la Figura 5. Cuando se activa el electroimán 500, y se aplica corriente a través de la bobina 514, surge un campo magnético en el núcleo 512 y ale el polo del núcleo 512. Estas líneas de flujo se recolectan y enfocan por la característica 130 permeable estacionaria y se enfocan en la región directamente adyacente a la franja 134. Como se mencionó previamente, la porción 116 permeable del elemento 110 móvil se extrae hacia la franja 134, moviendo de esta manera el elemento 110 móvil y la superficie 112 de desvío de tal manera que se redirige la corriente de entrada en el canal 120 de entrada hasta la salida o canal 122 de clasificación. Esta posición se muestra en la Figura 7.

Se puede utilizar Permalloy para crear las características 116 y 130 permeables, aunque se debe entender que también se pueden utilizar otros materiales permeables. El Permalloy es un material bien conocido que se añade a las técnicas de fabricación MEMS litográficas. Un método para hacer las características 116 y 130 permeables se describe más adelante.

Como se mencionó anteriormente, el tener el canal 140 y 142 de residuos directamente debajo del elemento móvil o la válvula 110 permite que la característica 116 permeable móvil esté dispuesta más cerca de la característica 130 permeable estacionaria. Si por el contrario el canal de residuos está en el mismo plano, este hueco tendría que ser por lo menos lo suficiente grande para acomodar el canal de residuos, junto con las tolerancias asociadas. Como resultado, las fuerzas de accionamiento son más altas y la apertura y cierre de la válvula son mucho más cortos. Esto a su vez corresponde a ya sea a una clasificación más rápida o a una mayor precisión de clasificación, o ambos.

Con el uso de la técnica de accionamiento electromagnético descrita anteriormente, se pueden realizar los tiempos de accionamiento del orden de 10 microsegundos. De acuerdo con lo anterior, el dispositivo de clasificación de partículas es capaz de clasificar las partículas a velocidades de más de 50 kHz o superior, suponiendo que 10 microsegundos requieren halar el accionador en, y 10 microsegundos requeridos para devolverlo a la posición tal como se fabrica.

Para cualquier mecanismo de ordenación de partículas, sin embargo, existe una disyuntiva inherente entre la pureza y clasificación por velocidad. Sólo se puede aumentar la velocidad de fluido a un cierto punto, después de lo cual se cae en limitaciones físicas del clasificador, por ejemplo, cuando la velocidad de la válvula es tal que no hay tiempo suficiente para abrir la válvula o aleta cuando se detecta una célula. Más allá de esta limitación, la forma más obvia de lograr más eventos por segundo es aumentar la densidad celular. Pero, con el aumento de la densidad celular, también aumenta la incidencia de conflictos de clasificación, en donde se recolectan una célula deseada y no deseada.

Con el fin de superar esta limitación, una muestra de células puede teóricamente ser procesada diversas veces en una estrategia de clasificación secuencial -inicialmente una clasificación muy rápida, burda seguida por una clasificación más lenta, de alta precisión. Esto generalmente no es una opción práctica con un sistema de FACS tradicional como resultado de la dilución de células masiva (del fluido envolvente), las velocidades de procesamiento lentas y daño celular inaceptable resultante de múltiples pasos a través de mecanismo de clasificación electrostática de alta presión. Un paso único a través de un citómetro de flujo es excepcionalmente violento, con velocidades de 10 m/seg, la descompresión explosiva de 60 psi a 0 psi. Las células tienen pocas probabilidades de sobrevivir dicho tratamiento

sobre diversos pasos sin pérdida significativa de viabilidad. Incluso si uno está dispuesto a aceptar la dilución, el procesamiento manual y la muerte celular, las pérdidas de rendimiento en un FACS serían abrumadoras. También, la constante de tiempo por ciclo para procesamiento, limpieza, a esterilización y certificación es insostenible y la esterilidad de la muestra se compromete completamente. Como resultado, esta clasificación secuencial no es un método práctico para la clasificación de células clínicas con base en FACS.

En contraste, para el sistema de clasificación de partículas microfabricado descrito anteriormente de clasificación, utilizando la arquitectura de canal micro para fluidos, una clasificación "secuencial" multietapa se puede realizar de una manera directa como se describe a continuación. Una pluralidad de operaciones de manipulación de las partículas puede tener lugar utilizando una pluralidad de dispositivos 10 o 100 de clasificación de MEMS. Los dispositivos de clasificación puede estar en chips de MEMS separados y encerrados en un cartucho desechable, o múltiples válvulas se pueden formar en un único sustrato utilizando técnicas de fabricación MEMS. En una realización, la pluralidad de chips de clasificación MEMS se separa por cierta medida, de tal manera que al desplazar lateralmente el dispositivo, los chips de MEMS adicionales pueden llegar a ser funcionales. Esta realización se describe más adelante, y se ilustra en la Figura 8. En términos más generales, el sistema de dispositivo de clasificación puede incluir un dispositivo de manipulación secundario o etapa 200 de clasificación después del primer dispositivo de manipulación o etapa 100 de clasificación. La etapa 100 de clasificación connota una etapa utilizando cualquiera del dispositivo 10 o dispositivo 100, por ejemplo, como se ilustra en la Figura 1 y 5, respectivamente.

La primera etapa 100 de clasificación y la segunda etapa 200 de clasificación están precedidas por una región 170 y 270 de interrogación por láser, respectivamente. En esta región, se utiliza un láser para irradiar las partículas en la corriente de muestra. Esas partículas que llevan una etiqueta fluorescente pueden dar fluorescencia como resultado de la irradiación con láser. Esta señal de fluorescencia se detecta y es indicadora de la presencia de una partícula objetivo en la corriente de muestra. Luego de la detección de la partícula objetivo, se envía una señal al controlador que controla el electroimán 500, que energiza el electroimán y que abre de este modo el elemento móvil o la válvula 110. La partícula objetivo se dirige de esta manera en el canal 122 de clasificación. Esta funcionalidad se describe con más detalle a continuación con respecto al sistema de clasificación de partículas completo mostrado en la Figura 12. Las etapas 100 y 200 de clasificación también pueden estar acompañadas de una tercera región 280 de interrogación de láser después de la última etapa 200 de clasificación. Esta interrogación se puede realizar para evaluar la exactitud de la clasificación, o con el fin de ajustar varios parámetros de clasificación. Aunque sólo dos operaciones de clasificación dispuestas secuencialmente se muestran en la Figura 12, se debe entender que este concepto básico se puede extender a cualquier número de etapas de clasificación adicionales, y que las etapas se pueden disponer en una configuración en paralelo, en lugar de, o además de, la configuración en serie.

De acuerdo con lo anterior, una primera clasificación se podrá realizar rápidamente a través de una primera etapa 100 de clasificación, para enriquecer las células objetivo con las pérdidas de rendimiento insignificantes. La salida de la primera etapa 100 de clasificación puede fluir en ya sea un canal 140 de residuos o un canal 122 de residuos, con base en la salida de un discriminador o detector ubicado en la región 170. Si la corriente fluye al canal 122 de clasificación, que entonces fluye a una segunda etapa 200 de clasificación, que puede tener su propia área 270 de detección asociado. De manera similar a la etapa 100 de clasificación, el flujo se dirige a un canal 240 de residuos o un canal 222 de clasificación. Utilizando este método, la muestra permanece estéril y es manejada suavemente a través de todo el proceso de selección secuencial. Se debe entender que, aunque difícil de representar en un dibujo de dos dimensiones, el canal 140 y 240 de residuos pueden estar en un plano diferente con respecto al canal 120 de entrada, y canales 122 y 222 de clasificación. En la Figura 8 los canales 140 y 240 de residuos se representan fluyendo en el papel.

En otra realización, utilizando la arquitectura mostrada en las Figuras 1, 3, o 5, también se puede prever un dispositivo de manipulación de partícula de posición dual, salida dual. En esta realización, el dispositivo de manipulación de partículas micromecánico puede comprender adicionalmente una segunda superficie de desvío que desvía un flujo desde el canal de entrada en un tercer canal de salida cuando el elemento móvil está en una tercera posición.

Para un mejor y más rápido control del elemento móvil durante apertura y cierre de la válvula, el dispositivo de manipulación de partículas micromecánico de esta realización se puede proporcionar con una segunda incrustación de material magnético permeable en el elemento móvil; una segunda característica magnética permeable estacionaria dispuesta sobre el sustrato; y una segunda fuente de flujo magnético externo al elemento móvil.

Dicho dispositivo se muestra en la Figura 9. La Figura 9 muestra un dispositivo 800 de salida dual en donde un único canal 820 de entrada se puede cargar ya sea de dos canales 822 y 824 de salida de clasificación separados, dependiendo de la posición del elemento 810 móvil. El dispositivo 800 de salida dual puede tener dos áreas 816 y 818 permeables, que se pueden arrastrar hacia cualquiera de dos características 830 y 850 permeables estacionarias, respectivamente. Por ejemplo, si se posiciona una fuente de flujo magnético externo tal como electroimán 500 (mostrada en líneas discontinuas/rayadas) cerca de la característica 830 permeable estacionaria, el flujo emitido del electroimán 500 se concentra por característica 830 permeable estacionaria y característica 816 permeable móvil se extrae hacia este. La situación es como se representa en la Figura 10. Cuando la característica móvil gira en sentido horario, abre el canal 822 de clasificación al flujo desde el canal 820 de entrada por la superficie 842 de desvío. Cuando se energiza otro imán externo (no mostrado) por encima del dispositivo 800 y la característica 850 permeable estacionaria superior, el elemento 810 móvil gira en sentido antihorario, que dirige el flujo en el canal 820 de entrada en

el canal 824 de clasificación superior mediante la superficie 812 de desvío de clasificación. El orificio 840 de canal de residuos se puede ampliar en comparación con 140, de tal manera que se dispone directamente bajo por lo menos una porción del elemento 810 móvil, pero no interfiere con el movimiento de las superficies 812 o 842 de desvío de clasificación. El elemento 810 móvil se fija por paredes 810 paralelas en el sustrato. Las paredes 810 paralelas que incluyen el punto 814 de articulación sirve como el resorte flexible similar a 114 de la Figura 3a/b.

Aunque las realizaciones mostradas en las Figuras 1-11 se describen con respecto a un mecanismo de accionamiento electromagnético, se debe entender que se pueden utilizar en su lugar otras fuerzas de accionamiento. Por ejemplo, si las características 116 y 130 permeables están hechos de un conductor de electricidad en lugar de material magnético permeable, un potencial de voltaje se puede colocar a través de los elementos 116 y 130, que producen una fuerza electrostática para mover el elemento 110 móvil. También se puede utilizar fuerzas piezoeléctricas.

Debido a la arquitectura del dispositivo 10 y 100 de manipulación de partículas microfabricado, se agrega en si mismo a las técnicas que pueden hacer uso de este tipo de arquitectura cerrada, bien definida. Una de dicha técnicas se ilustra en la Figura 11, en donde el dispositivo de manipulación de partículas microfabricado puede tener por lo menos un canal adicional que proporciona un fluido envolvente a la corriente de muestra y también un elemento de enfoque junto al canal de entrada. El fluido envolvente se puede utilizar para ajustar la concentración o el posicionamiento de las partículas objetivo dentro del canal de entrada. El elemento de enfoque se puede configurar para instar a las partículas objetivo en una porción particular del canal de entrada de muestra, como se describe más adelante. El elemento de enfoque se puede disponer sustancialmente en el mismo plano que el elemento 110 móvil, y se puede formar en la misma superficie del sustrato como el elemento 110 móvil y el canal 120 de entrada.

La Figura 11 muestra un colector 300 para fluidos microfabricado que se puede utilizar para enfocar las partículas en un área determinada dentro de la corriente de fluido. Las técnicas para diseñar dicho colector se pueden encontrar en, por ejemplo, "Single-layer planar on-chip flow cytometer using microfluidic drifting based three-dimensional (3D) hydrodynamic focusing," por Xiaole Mao et al, Journal of Royal Society of Chemistry, Lab Chip, 2009, 9, 1583-1589. El colector puede incluir una entrada 310 de muestra y el canal 320 de fluido envolvente. Como el nombre sugiere, el canal envolvente agrega un fluido envolvente a la corriente de muestra, que es un fluido de regulación, que tiende a diluir el flujo de partículas en la corriente y localizarlos en una parte determinada de la corriente. El fluido combinado luego fluye alrededor de un elemento de enfoque junto al canal 120 de entrada, aquí un canal 330 de enfoque z, que tiende a guardar las partículas en un plano particular dentro del flujo. Este plano está sustancialmente en el plano del papel de la Figura 11. El fluido combinado luego pasa a otro punto de intersección, un "punto 350 de intersección y", que introduce fluido envolvente adicional por encima y por debajo del plano de las partículas. En el punto 350 de intersección y, se pueden unir dos flujos al canal 330 de enfoque z de direcciones sustancialmente antiparalelas, y ortogonales al canal 330 de enfoque z. Esta intersección puede comprimir el plano de las partículas en un solo punto, sustancialmente en el centro de la corriente. De acuerdo con lo anterior, en el punto 350 de intersección y, las partículas objetivo se pueden comprimir de un plano a una línea de corriente cerca del centro del canal 330 de enfoque z y el canal 120 de entrada de muestra. Enfocar las partículas en un cierto volumen tiende a disminuir la incertidumbre en su ubicación, y por lo tanto la incertidumbre en la temporización de la apertura y el cierre del elemento móvil o válvula 110. Por lo tanto dicho enfoque hidrodinámico puede mejorar la velocidad y/o exactitud de la operación de clasificación.

En una realización de ejemplo del dispositivo 10 o 100 de manipulación de partículas microfabricado con enfoque hidrodinámico ilustrado en la Figura 11, el barrido angular de la curva 330 z es un arco curvado de aproximadamente 180 grados. Es decir, el barrido angular aproximada entre la unión de la entrada envolvente con la entrada de la celda y el punto 350 de intersección y, puede ser de aproximadamente 180 grados. Generalmente, el radio de curvatura de la curva 330 z puede ser por lo menos aproximadamente 100 micras y menos de aproximadamente 500 micras, y la dimensión característica, que es el ancho, de los canales es normalmente de aproximadamente 50 micras para proporcionar el efecto de enfoque. En una realización, el radio de curvatura del canal puede ser de aproximadamente 250 micras, y los anchos de canal, o dimensiones características, para el canal 120 de entrada de muestra y el canal de curva z están en el orden de aproximadamente 50 micras. Estas dimensiones características pueden proporcionar una curvatura suficiente para enfocar las partículas, de manera que tienden a ser confinadas al plano del papel a la salida del canal 330 de enfoque z en el punto 350 de intersección y. Este plano luego se comprime a un punto en el canal en el punto 350 de intersección y.

Se puede utilizar el dispositivo 10 o 100 de manipulación de partículas microfabricado en un sistema 1000 de clasificación de partículas encerrado en un alojamiento que contiene los componentes mostrados en la Figura 12. Los dispositivos 10, 100 o 800 de manipulación de partículas MEMS se pueden encerrar en un cartucho plástico, desechable que se inserta en el sistema 1000. El área de inserción puede ser una etapa móvil con los mecanismos disponibles para la colocación precisa del dispositivo 10, 100 o 800 de manipulación de partículas y los canales microfluidos asociados contra uno o más datos, que se orientan y posicionan la región de detección y el dispositivo 10, 100 o 800 de manipulación de partículas con respecto a las ópticas 1100 de recolección. Si se requiere posicionamiento más fino, la etapa de entrada también pueden ser una etapa de traducción, que ajusta el posicionamiento basado en la observación de la ubicación del elemento 110 móvil con respecto a un punto de referencia.

Se debe entender que aunque la Figura 12 muestra un sistema 1000 de clasificación de partículas que utiliza una pluralidad de fuentes 1400 y 1410 de láser, sólo un único láser puede ser necesario dependiendo de la aplicación. Para

la pluralidad de láseres mostrada en la Figura 12, una de las fuentes 1410 de láser se puede utilizar con un grupo asociado de la óptica paralela (no se muestra en la Figura 12) para iluminar por lo menos una región 170 y/o 270 de interrogación láser adicional. Esta configuración puede ser algo más complicada y costosa para disponer un sistema de láser único, pero puede tener ventajas en que las rutas ópticas y de detección se pueden separar para las diferentes regiones de interrogación de láser. Para esta realización, puede que no sea necesario alterar el contenido espectral de trayectoria, tiempo o duración del láser 1410 de luz. Aunque no se muestra explícitamente en la Figura 12, se debe entender que la ruta de detección para láser 1410 adicional también se puede separar de la ruta de detección para el láser 1400. De acuerdo con lo anterior, algunas realizaciones del sistema de clasificación de partículas puede incluir una pluralidad de fuentes de láser y una pluralidad de rutas de detección de óptica, mientras que otras realizaciones sólo pueden utilizar una sola fuente 1400 láser y la óptica 1100 de recolección. En la realización descrita aquí, una pluralidad de láseres de excitación utiliza una ruta óptica común, y las señales ópticas se separan electrónicamente por el sistema mostrado en la Figura 12.

La realización mostrada en la Figura 12 se basa en un mecanismo de detección de tipo FACS, en donde uno o más láseres 1400, 1410 excita una o más etiquetas fluorescentes fijadas a las partículas objetivo. La excitación láser puede tener lugar en varias regiones de interrogatorio, tales como las regiones 170, 270 y 280. Se detectó la fluorescencia emitida como resultado y la señal se carga a un ordenador 1900. Entonces, el ordenador genera una señal de control que controla el electroimán 500 o múltiples electroimanes si se utilizan diversos clasificadores por ejemplo en la Figura 8. Se debe entender que se pueden utilizar otros mecanismos de detección en su lugar, que incluye efectos eléctricos, mecánicos, químicos, u otros efectos que pueden distinguir partículas objetivo de partículas no objetivo.

De acuerdo con lo anterior, el sistema 1000 de clasificación de partículas MEMS mostrado en la Figura 12 puede incluir una serie de elementos que pueden ser útiles en implementar las regiones 170 y 270 de interrogación adicionales, o más. En primer lugar, un medio 1600 de manipulación óptica puede alterar la trayectoria, contenido espectral, tiempo o duración de la radiación láser del láser 1400 para el segundo o tercer puntos de interrogación. Ejemplos de artículos que se pueden incluir en el medio 1600 de manipulación óptica son un cristal birrefringente, prisma de giro, espejo, absorbente saturable, modulador acústico-óptico, cristal armónico, interruptor Q, por ejemplo. Más en general, la manipulación de medios 1600 ópticos puede incluir uno o más artículos que alteran la frecuencia, la amplitud, tiempo o trayectoria del láser a lo largo de una ramificación de la ruta óptica en una región de interrogación adicional.

Por ejemplo, el medio 1600 de manipulación óptica puede incluir un divisor de haz y/o modulador óptico-acústico. El divisor de haz puede separar una parte del haz de láser entrante en una rama o brazo secundario, donde esta rama secundaria o brazo pasa a través del modulador que modula la amplitud del haz secundario a una frecuencia alta. La frecuencia de modulación puede ser, por ejemplo, de aproximadamente 2 MHz o superior. La luz que incide sobre la primera región 101 de interrogación de láser puede, por el contrario, ser de onda continua (no modulada). La rama o brazo secundario luego se dirige a la región 170 o 270 de interrogación de láser adicional. Esta excitación luego producirá un patrón de fluorescencia correspondiente de una célula etiquetada de manera apropiada.

Este patrón de fluorescencia modulada luego se puede recoger mediante las ópticas 1600 de detección, que pueden recombinar la fluorescencia detectada desde la región 170 y/o 270 de interrogación con láser de fluorescencia de la región 170 de interrogación. La radiación combinada luego puede afectar uno o más detectores 1300.

Un componente 1700 óptico adicional también puede alterar la frecuencia, la amplitud, tiempo o trayectoria de la segunda ruta de haz, sin embargo, puede realizar esta operación antes (en el lado detector) de la óptica 1100 de captación en lugar de después (en el lado de la muestra) de la misma, al igual que el componente 1600 óptico.

Los detectores 1300 de salida se pueden analizar para separar el contenido correspondiente a la región 280 de interrogación láser del contenido que corresponde a la región 170 o 270 de interrogación láser. Esto se puede lograr al aplicar algunos medios electrónicos distintivos a las señales de los detectores 1300. Los detalles del medio 1800 distintivo electrónico puede depender de la elección para medio 1600 de manipulación óptica. Por ejemplo, el medio 1800 distintivo puede incluir una etapa de paso alto y una etapa de paso bajo que es consistente con un modulador fotoacústico que se incluyó en medio 1600 de manipulación óptica. O el medio 1800 distintivo electrónico puede incluir un filtro (paso alto y/o paso bajo) y/o un detector envolvente, por ejemplo.

Por lo tanto, dependiendo de la elección del medio 1600 de manipulación óptica, la salida de señal sin filtrar de los detectores 1300 puede incluir una onda continua, porción de baja frecuencia y una porción modulada en alta frecuencia. Después de filtrar a través de la etapa de filtro de paso alto, la señal puede tener sustancialmente sólo la porción de alta frecuencia, y después de la etapa de paso bajo, sólo la porción de baja frecuencia. Estas señales luego fácilmente se pueden separar en los circuitos lógicos del ordenador 1900. Alternativamente, el filtro de paso alto puede ser un detector envolvente, lo que pone a cabo una señal correspondiente a la envoltura de las amplitudes de los impulsos de alta frecuencia.

Otras clasificaciones de componentes se pueden incluir en medio 1800 distintivo electrónico para separar las señales. Estos componentes pueden incluir, por ejemplo, un filtro de señal, mezclador, bucle de enganche de fase, multiplexor, activador, o cualquier otro dispositivo similar que se puede separar o distinguir las señales. El componente 1800 también puede incluir el filtro electrónico de paso alto y/o de paso bajo o el detector envolvente descrito anteriormente.

Los dos grupos de señales del medio 1800 distintivo electrónico se puede manejar de manera diferente mediante los circuitos 1900 lógicos con el fin de separar las señales.

Por lo tanto, se puede utilizar un sistema de manipulación de partículas MEMS en conjunto con una o más regiones de interrogatorio láser inferior, en donde las regiones adicionales de interrogatorio láser se utilizan para confirmar la efectividad o exactitud de una etapa de manipulación en la manipulación de una corriente de partículas. La evaluación posterior de la región 280 de interrogación láser más allá de la etapa 100 y 200 de clasificación puede permitir al operador medir un número de evento (por ejemplo, la tasa de eventos capturados después de clasificación) dividido por otro número de eventos (por ejemplo, la tasa de eventos inicial de clasificación previa) para tipos de partículas individuales, y a la retroalimentación para ajustar parámetros iniciales de interrogación (por ejemplo, tal como posición x, y, z y también la longitud "ventana abierta" en el tiempo) con base en esta relación. Este método se puede utilizar para optimizar el rendimiento o la precisión del sistema de 1000. Alternativamente, el operador podría medir la tasa de eventos posterior a la clasificación de células objetivo, dividida por la tasa de eventos de retroalimentación de clasificación posterior para ajustar los parámetros de interrogación láser iniciales como posición x, y, z y también la longitud de "ventana abierta" en el tiempo, con el fin de optimizar la pureza del sistema 1000 de clasificación. Estos parámetros de clasificación se pueden ajustar al cambiar las señal 2000 de control que se envía por el ordenador 1900 al electroimán 500, o al cambiar los parámetros de detección ópticos o al cambiar las señales de control de láser, como se muestra en la Figura 12.

El sistema de manipulación de partículas de acuerdo con la invención puede comprender adicionalmente un electroimán; y un circuito que proporciona una forma de onda de control para el electroimán. Un ejemplo de cómo el sistema representado en la Figura 12 se pueden utilizar para ajustar los parámetros de clasificación, es a través de la forma 2000 de onda de señal de control suministrada al electroimán 500. Esta forma de onda 2000 se puede afinar para ajustar el rendimiento de clasificación de la válvula o elemento 110 o 810 móvil, y se puede producir mediante los circuitos 1900 lógicos.

Se puede utilizar la forma de onda de control para afinar el proceso de abertura y cierre de la válvula, aumentando de esta manera la velocidad del proceso de clasificación. En una realización adicional, la forma de onda de control del sistema de manipulación de partículas incluye una fase de aceleración de amplitud más alta que establece el elemento móvil en movimiento, una fase de amplitud constante que abre el elemento móvil, y una fase de frenado que ralentiza el elemento móvil en el cierre.

La Figura 13 representa una forma 2000 de onda de señal de control con las características adicionales que se pueden utilizar para controlar el movimiento del elemento 110 o 810 móvil. Esta forma 2000 de onda de señal de control se puede generar por ordenador 1900, y por lo tanto se puede hacer esencialmente arbitrariamente complejo. La forma 2000 de onda de señal de control puede ser una forma de onda de tensión o de una forma de onda actual. La forma 2000 de onda de señal de control se puede aplicar a la bobina 510 del electroimán 500, por ejemplo, para conducir corriente a través de la bobina para producir el campo magnético de accionamiento. La señal 2000 de control puede incluir una fase 2110 de aceleración inicial que tiene una magnitud sustancialmente mayor que el resto de la forma 2000 de onda de señal de control, y tiene una duración de decenas de microsegundos.

Se puede utilizar la magnitud mayor de la corriente en la fase de aceleración para superar la fuerza contraelectromotriz producida en las bobinas de los imanes en movimiento. También puede producir una fuerza superior, que puede ser necesaria para romper el elemento 110, 810 móvil desde su posición de reposo y superar cualquier fuerza de adherencia estática que puede estar obstaculizando el movimiento. Después de esta fase de aceleración inicial, la señal de control puede tener una fase 2120 de mantenimiento durante el cual la corriente es esencialmente constante y tiene una duración de decenas de microsegundos. Durante este período, el elemento 110 o 810 móvil se desplaza desde su posición cerrada en las Figuras 1, 5 o 9 a las posiciones de accionamiento mostradas en las Figuras 2, 7 o 10. Aunque la corriente puede ser constante durante este período, la fuerza sobre el elemento móvil puede ser variable, en función de la distancia de cierre entre la característica 116, 816 y 840 móvil permeable y las respectivas características 130, 840 y 850 permeables estacionarias. La inversión de la polaridad de la señal de control como se muestra en 2130 invierte la dirección del campo magnético, y desmagnetiza las porciones permeables. La fase 2130 permite el cierre de la válvula. Después del periodo 2130 de inversión, un período 2140 de reposo que dura varios microsegundos puede seguir, durante el cual no hay ningún campo magnético producido, y la fuerza elástica del elemento 114 o 814 de resorte en el elemento móvil 110 o 810 puede devolver el elemento móvil a su estado no accionado. Este puede estar en los residuos o posición de rechazo. Después de un período cuando el accionador se está cerrando y a punto de alcanzar la posición fabricada un impulso 2150 de "frenado" corto puede ralentizar la velocidad del elemento móvil. Esto puede evitar un rebote indeseable de parada brusca, que puede permitir de otra forma que una partícula no objetivo entre en el canal 122 de clasificación. O si no hay una parada brusca, esto puede permitir el retorno más rápido a la posición no accionada.

Utilizando la confirmación corriente abajo de los contenidos del canal de clasificación como se describió anteriormente con respecto a la Figura 12, cualquiera de los parámetros ajustables del perfil de corriente se muestra en la Figura 13, tales como amplitud y duración de la fase de aceleración, amplitud y duración de la fase de apertura, duración de la fase inactiva, o amplitud y duración de la fase de frenado, se puede ajustar para mejorar el rendimiento de clasificación de sistema.

La descripción ahora se centra en la fabricación de los dispositivos mostrados en las Figuras 1-11. La fabricación puede comenzar con las características 116 y 130 permeables incrustadas formadas en un primer sustrato. El sustrato puede ser un sustrato de silicio de cristal único, por ejemplo. Para formar estas estructuras, las depresiones se pueden formar en estas áreas de la superficie del sustrato mediante grabado. En primer lugar, la fotorresistencia se puede depositar sobre la superficie del sustrato y se retira a través de las áreas correspondientes a 116 y 130. Luego, las trincheras se pueden formar mediante, por ejemplo, el grabado del sustrato con hidróxido de potasio (KOH) para formar una depresión adecuada. Una capa de siembra puede ser depositada concordantemente sobre la primera superficie del sustrato y se modela para proporcionar la capa de semillas para el recubrimiento de NiFe en las trincheras. La capa de semilla puede ser, por ejemplo, Ti/W o Cr/Au luego se puede depositar por bombardeo iónico, depósito de CVD o plasma. Esta capa puede estar cubierta con resina fotosensible y se modela de acuerdo con la forma deseada de las áreas 116 y 130. Las áreas no deseadas de fotorresistencia y la capa de semilla luego se pueden retirar por ataque químico. Las características permeables luego se pueden depositar sobre la capa de semilla modelada por pulverización catódica, depósito de plasma o recubrimiento electroquímico. Se sabe que el Permalloy (80% de Ni y 20% de Fe), por ejemplo, fácilmente se puede depositar por galvanoplastia.

Alternativamente, se puede utilizar un método de despegue para depositar una lámina de material permeable, la mayoría de las cuales se eleva a continuación, fuera de las áreas que no sean 116 y 130. Los detalles adicionales en la formación de incrustaciones litográficas, se pueden encontrar materiales magnéticamente permeables en, por ejemplo, la Patente Estadounidense No. 7,229,838. La patente Estadounidense No. 7,229,838 se incorpora aquí como referencia en su totalidad. El sustrato luego se puede aplanar por pulido mecánico químico (CMP), dejando una superficie plana para la última unión posterior de una placa de cubierta.

Después de haber hecho las características 116 y 130 permeables, se puede formar el elemento móvil o válvulas 110 y 810. La superficie puede de nuevo ser cubierta con resina fotorresistencia y se modela para proteger las características 116 y 130 permeables incrustadas. El canal 120 de entrada y canales 122 de salida y área 144 aliviada se pueden formar simultáneamente con el elemento móvil 110 y 810. Con el elemento 110, 810 móvil y otras áreas cuya topografía ha de preservarse cubierta de fotorresistencia, las características 110, 810, 120, 122 y 144 se puede formar por un grabado por iones reactivo profundo (DRIE), por ejemplo.

Para formar los canales para fluidos, una placa de cubierta se puede unir a la superficie del sustrato que se aplanan previamente para este propósito. La placa de cubierta puede ser ópticamente transparente para permitir que la luz láser se aplique a las partículas en la corriente de fluido que fluye en el canal 120 de entrada, y para la fluorescencia emitida por las etiquetas fluorescentes fijadas a las partículas que se van a detectar por el sistema de detección óptico descrito anteriormente. Un orificio formado en este material transparente puede formar el canal 142 de residuos. Como alternativa, se puede formar un canal 142 de residuos en un segundo sustrato, tal como un segundo sustrato de silicio, y unido a la superficie del primer sustrato. Alternativamente, se puede formar el canal 142 de salida en la superficie opuesta del primer sustrato utilizando un sustrato de silicio sobre aislante (SOI), con el canal 142 de residuos y el orificio 140 formado en la capa de mango y la capa dieléctrica del sustrato SOI, y la característica móvil formada en la capa de dispositivo.

Los detalles adicionales para llevar a cabo este proceso descrito anteriormente son bien conocidos por aquellos expertos en la técnica, o fácilmente encontrados en numerosas referencias de proceso litográfico.

45 Ejemplo

Se diluye sangre entera con regulador y se tiñe con anticuerpo anti-CD4 humano conjugado con un fluoróforo. La muestra se clasifica en un dispositivo de manipulación de partículas micromecánico como se muestra en la Figura 5, incorporado en un sistema de clasificación de partículas de acuerdo con la Figura 12 utilizando el fluoróforo como la etiqueta de clasificación.

La muestra se clasificó con una velocidad de alrededor de 1.3 millones de células por segundo en 5 series para mostrar que el proceso de clasificación es reproducible. Los números de pureza y el rendimiento se calculan con respecto a solo los glóbulos blancos de la sangre (WBC), ya que la mayoría de las células clasificadas son glóbulos rojos de la sangre. La Tabla 1 muestra que el rendimiento de agotamiento y pureza de clasificación son sustancialmente constantes a pesar de la alta velocidad de clasificación.

Tabla 1

Serie	Rendimiento de agotamiento [%]	Pureza de clasificación [%]
1	82.44	92.91
2	89.86	91.76

3	87.96	92.70
4	81.54	89.85
5	83.89	89.88
Promedio	85.34	90.89

La viabilidad de las células se probó con Anexina V y PI. La Tabla 2 muestra que la viabilidad de las células sustancialmente mantiene inalterada por el proceso de clasificación.

5 Tabla 2

	Viable	Apoptótico	Muerte
Entrada	96.70%	2.15%	0.82%
Residuos	95.14%	2.75%	0.34%
Desperdicios	94.18%	5.17%	0.49%

10

Aunque se han descrito diversos detalles en relación con las implementaciones de ejemplo descritas anteriormente, diversas alternativas, modificaciones, variaciones, mejoras y/o equivalentes sustanciales, ya sean conocidos o que son o pueden ser actualmente imprevistos, pueden llegar a ser evidentes después de la revisión de la descripción anterior. De acuerdo con lo anterior, las implementaciones de ejemplo expuestas anteriormente, están destinadas a ser ilustrativas, no limitativas.

Reivindicaciones

- 5 1. Un dispositivo (10) de manipulación de partículas micromecánico, formado sobre una superficie de un sustrato de fabricación, que comprende;
- 10 - un elemento (110) móvil, microfabricado formado sobre el sustrato, y que tiene una primera superficie (112) de desvío, en donde el elemento (110) móvil se mueve desde una primera posición hasta una segunda posición en respuesta a una fuerza aplicada al elemento (110) móvil, en donde el movimiento sustancialmente está en un plano paralelo a la superficie del sustrato;
- 15 - un canal (120) de entrada de muestra formado en el sustrato y a través del cual fluye un fluido, incluyendo el fluido por lo menos una partícula objetivo y material no objetivo, en donde el flujo en el canal (120) de entrada de muestra es sustancialmente paralelo a la superficie;
- 20 - una pluralidad de canales de salida en los que el elemento microfabricado desvía el fluido, y en donde el flujo en por lo menos uno de los canales de salida no es paralelo al plano, y en donde por lo menos un canal de salida se localiza directamente por debajo o por encima por lo menos una porción del elemento microfabricado sobre por lo menos una porción de su movimiento, en donde la pluralidad de canales de salida comprende un canal (122) de clasificación y un canal (140) de residuos, en donde el flujo en el canal (122) de clasificación es sustancialmente antiparalelo al flujo en el canal (120) de entrada de muestra y en donde el flujo en el canal (140) de residuos es sustancialmente ortogonal al flujo en el canal (120) de entrada de muestra y el canal (122) de clasificación.
- 25 2. El dispositivo de manipulación de partículas micromecánico de la reivindicación 1, en donde la primera superficie (112) de desvío tiene una forma suavemente curvada que es sustancialmente tangente a la dirección de flujo en el canal (120) de entrada en un punto sobre la forma y sustancialmente tangente a la dirección de flujo de un primer canal (140) de salida en un segundo punto sobre la forma, en donde la primera superficie (112) de desvío desvía el flujo desde el canal (120) de entrada en el primer canal (140) de salida cuando el elemento (110) móvil está en la primera posición, y permite el flujo en un segundo canal de salida en la segunda posición.
- 30 3. El dispositivo de manipulación de partículas micromecánico de la reivindicación 2, en donde la primera superficie (112) de desvío tiene por lo menos una de una forma triangular, trapezoidal, parabólica, circular y en v, y en donde la superficie de desvío desvía el flujo desde el canal (120) de entrada en el primer canal (140) de salida cuando el elemento (110) móvil está en la primera posición, y permite el flujo en un segundo canal de salida en la segunda posición.
- 35 4. El dispositivo de manipulación de partículas micromecánico de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente: una primera incrustación (116) de material magnético permeable en el elemento (110) móvil; una primera característica magnética permeable estacionaria dispuesta sobre el sustrato; y una primera fuente de flujo magnético externa al elemento (110) móvil y sustrato sobre el cual se forma el elemento (110) móvil.
- 40 5. El dispositivo de manipulación de partículas micromecánico de la reivindicación 4, en donde el elemento (110) móvil se mueve desde la primera posición hasta la segunda posición cuando se activa la fuente de flujo magnético.
- 45 6. El dispositivo de manipulación de partículas micromecánico de la reivindicación 1, en donde la fuerza es por lo menos una de fuerza magnética, electrostática, y piezoeléctrica.
- 50 7. El dispositivo de manipulación de partículas micromecánico de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente una segunda superficie de desvío que desvía un flujo desde el canal (120) de entrada en un tercer canal (822, 824) de salida cuando el elemento (110) móvil está en una tercera posición.
- 55 8. El dispositivo de manipulación de partículas micromecánico de la reivindicación 7, que comprende adicionalmente: una segunda incrustación (116) de material magnético permeable en el elemento (110) móvil; una segunda característica magnética permeable estacionaria dispuesta sobre el sustrato; y una segunda fuente de flujo magnético externa al elemento (110) móvil.
- 60 9. El dispositivo de manipulación de partículas micromecánico de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente: un área aliviada en la superficie adyacente el elemento (110) móvil, que permite que el fluido fluya sobre y bajo el elemento (110) móvil a por lo menos un canal (140) de salida que no es paralelo al plano.
- 65 10. El dispositivo de manipulación de partículas micromecánico de la reivindicación 1, en donde la partícula objetivo comprende por lo menos una de una célula madre, una célula de cáncer, una célula T, un cigoto, un componente de sangre, una proteína, un fragmento de ADN, y una bacteria.

- 5 11. Un sistema de manipulación de partículas, que comprende; el dispositivo de clasificación de partículas micromecánico de la reivindicación 1; por lo menos un láser (1410) dirigido a una región (170, 270) de interrogación de láser dispuesta en el canal (120) de entrada; y por lo menos un grupo de ópticas (1600) de detección que detectan una señal fluorescente desde una etiqueta fluorescente fija a la partícula objetivo en el fluido.
12. El sistema de manipulación de partículas de la reivindicación 11, que comprende adicionalmente: un electroimán; y un circuito que proporciona una forma de onda de control al electroimán.
- 10 13. El sistema de manipulación de partículas de la reivindicación 11, en donde la forma de onda de control incluye una fase de aceleración de amplitud mayor que establece el elemento (110) móvil en movimiento, una fase de amplitud constante que abre el elemento (110) móvil, y una fase de frenado que ralentiza el elemento (110) móvil en el cierre.
- 15 14. El sistema de manipulación de partículas de la reivindicación 11, que comprende adicionalmente: por lo menos un láser adicional dirigido a una región en por lo menos uno del canal (140) de salida para configurar o confirmar los resultados de una manipulación de partículas.

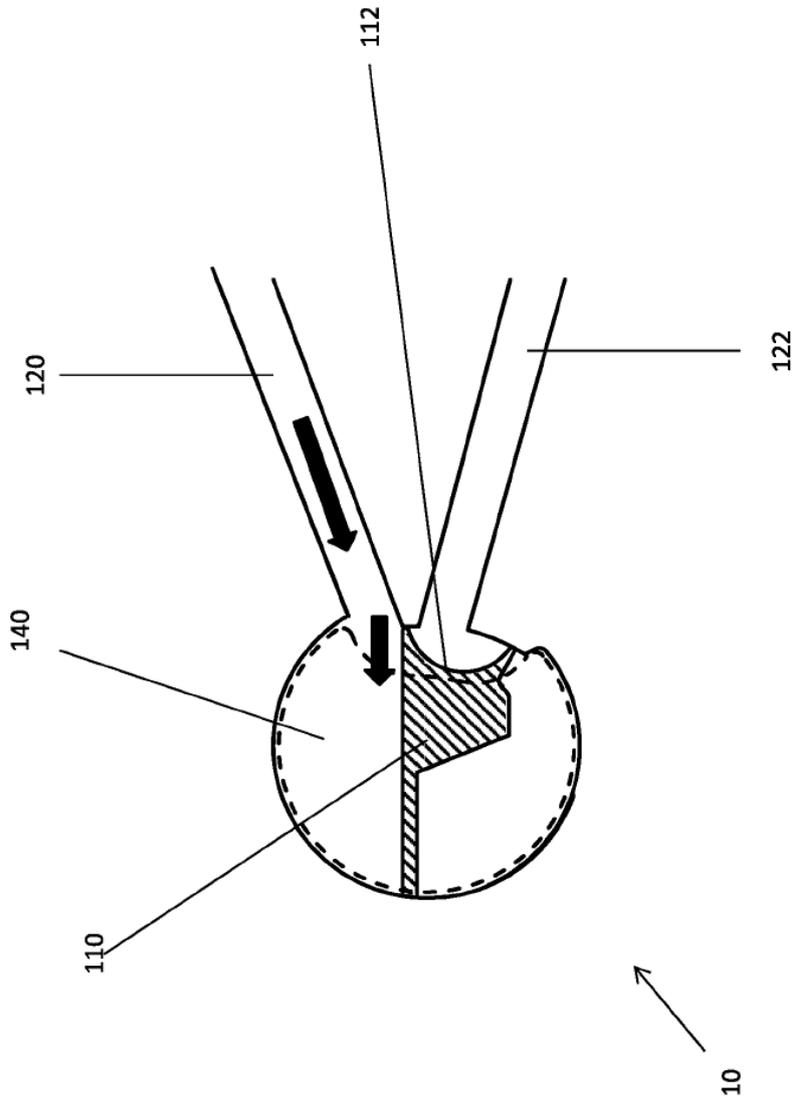


Fig. 1

32

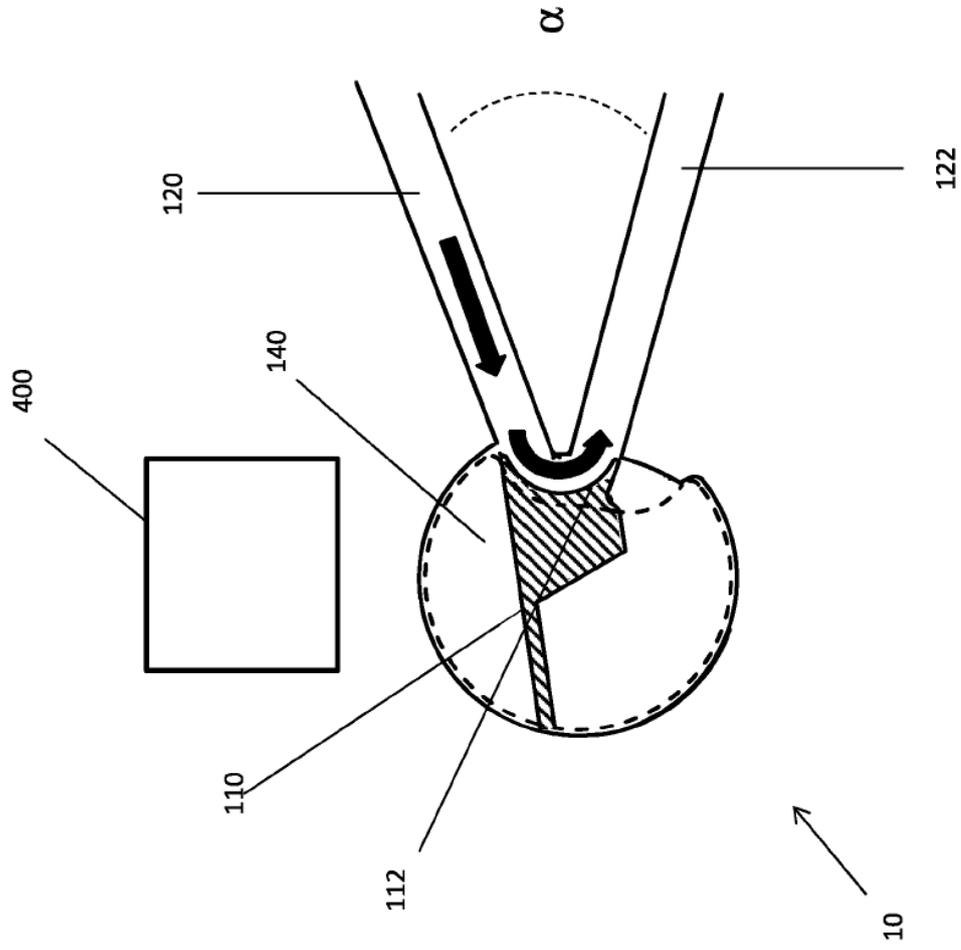


Fig. 2

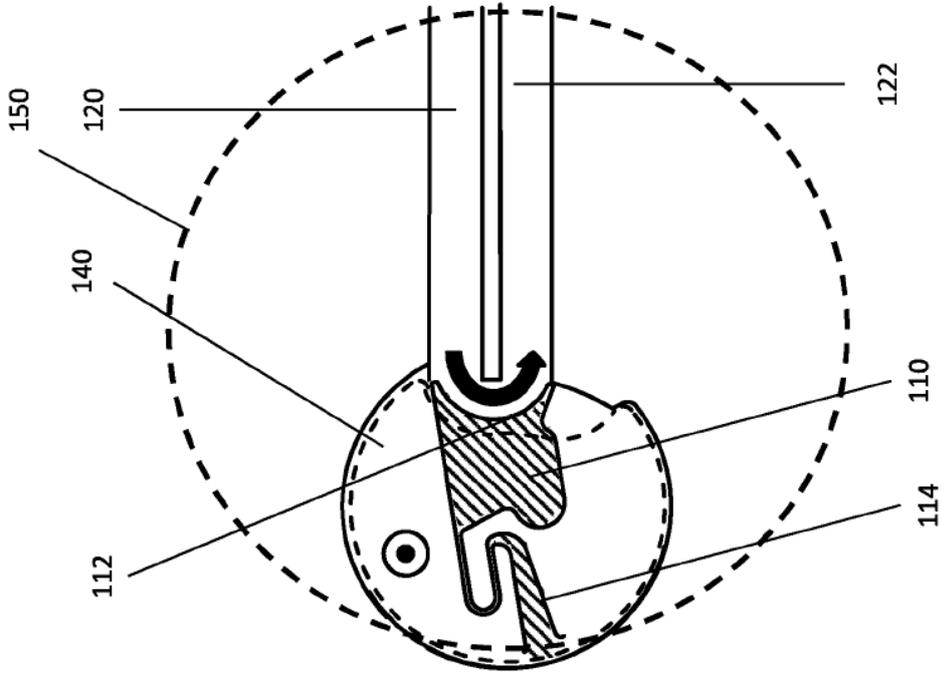


Fig. 3b

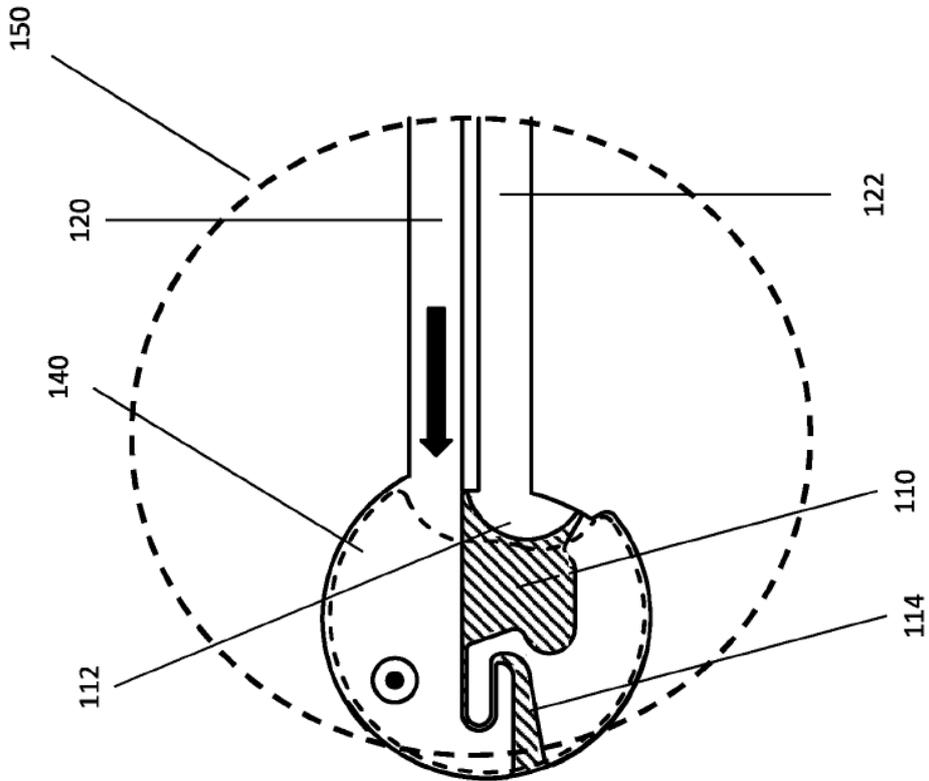


Fig. 3a

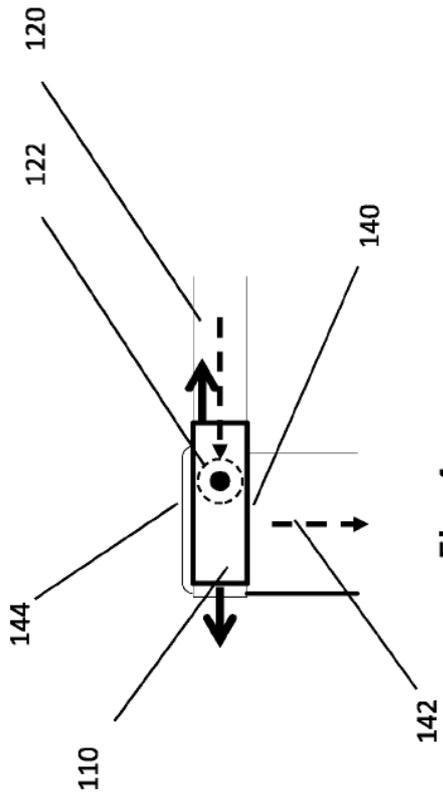


Fig. 4a

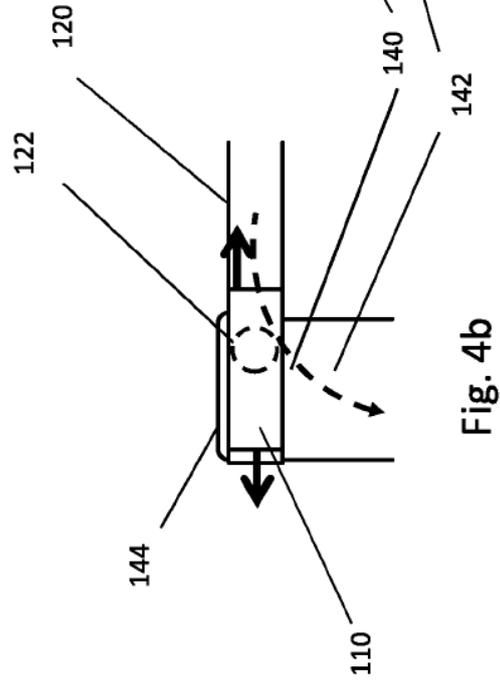


Fig. 4b

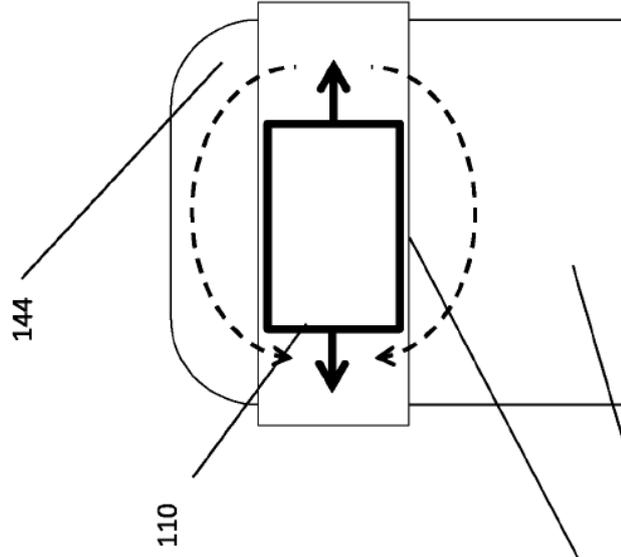


Fig. 4c

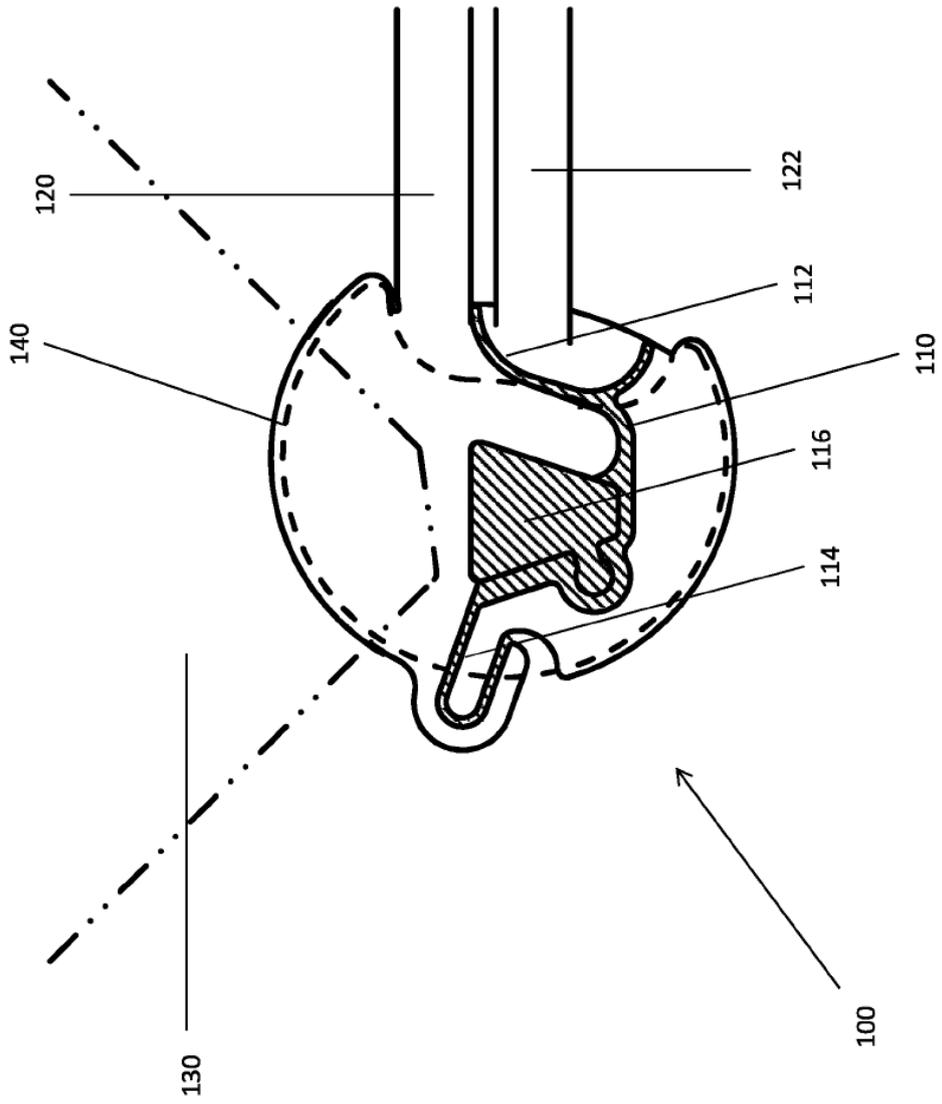


Fig. 5

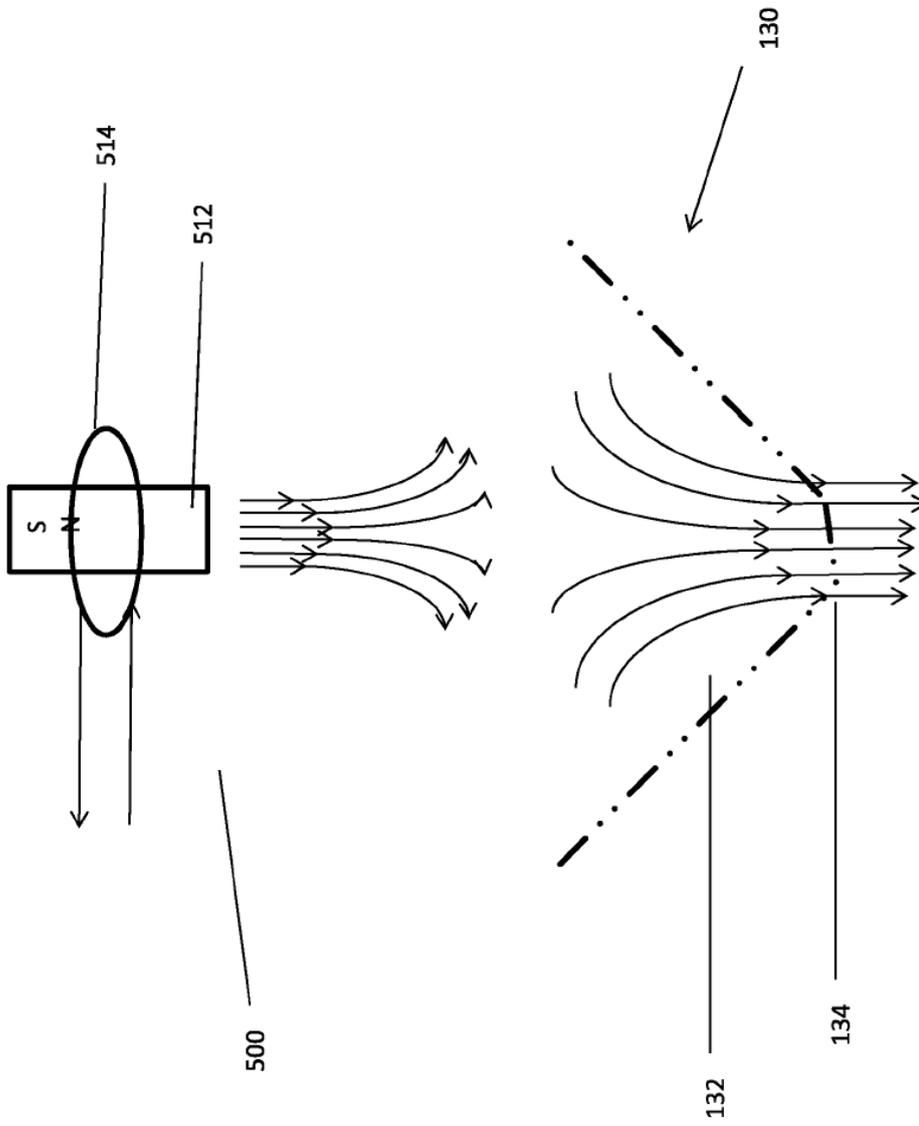


Fig. 6

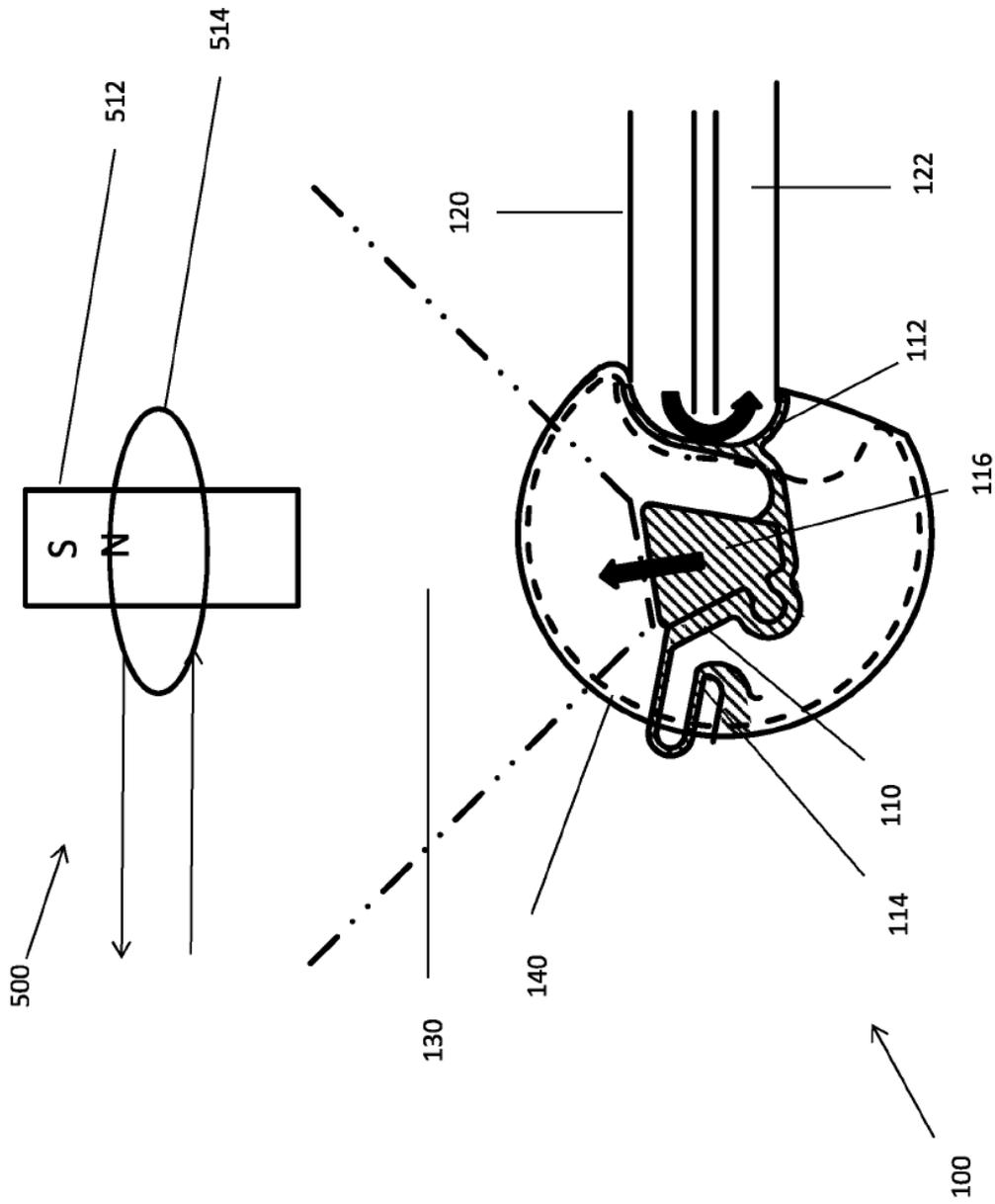


Fig. 7

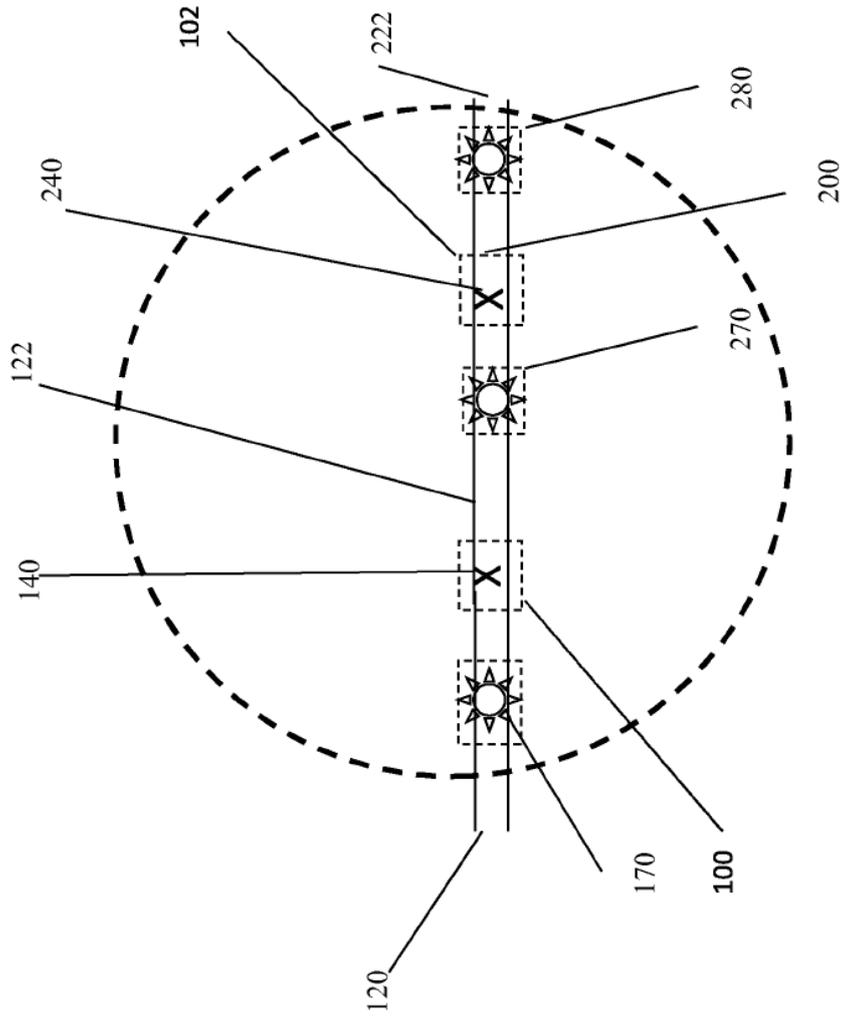


Fig. 8

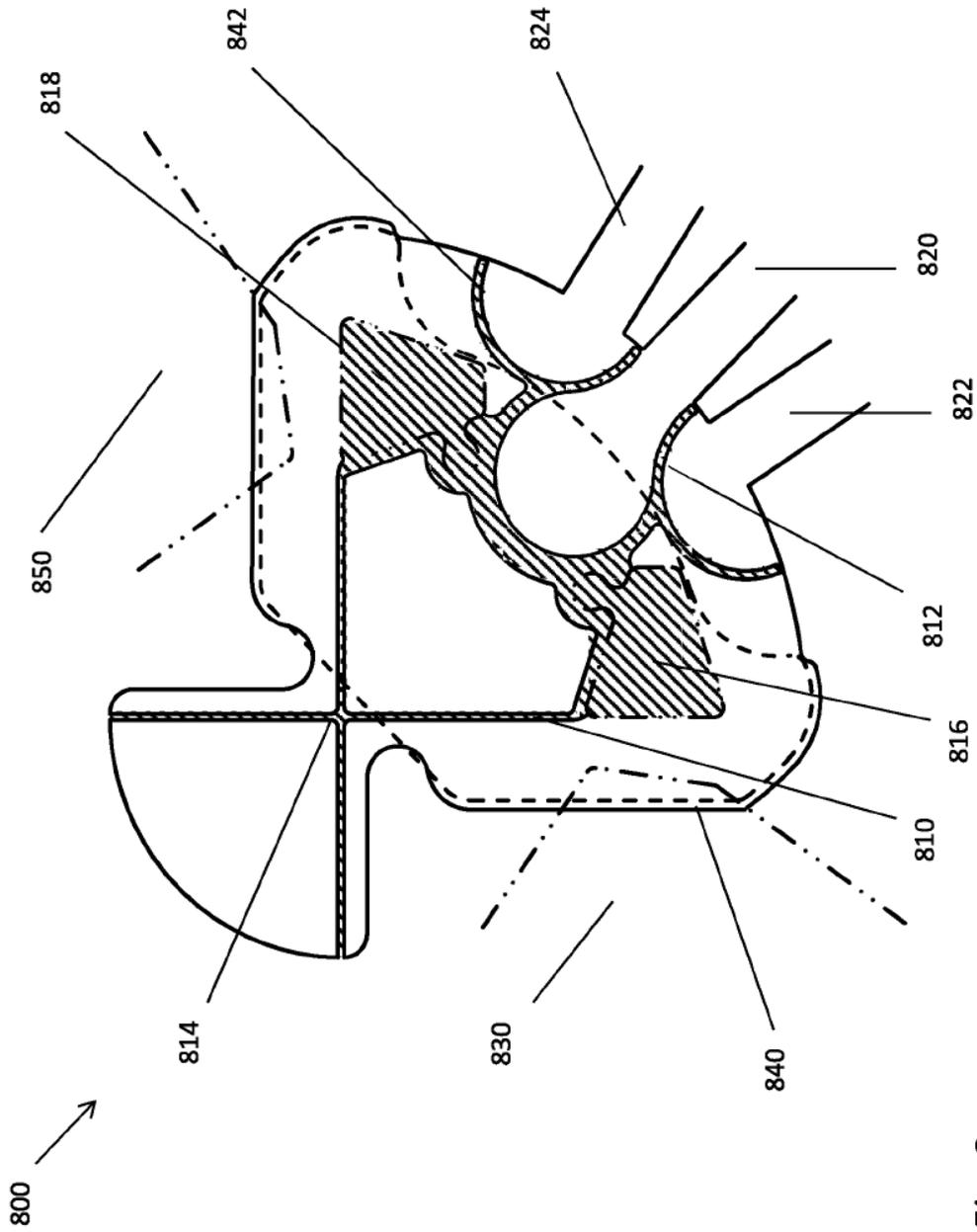


Fig. 9

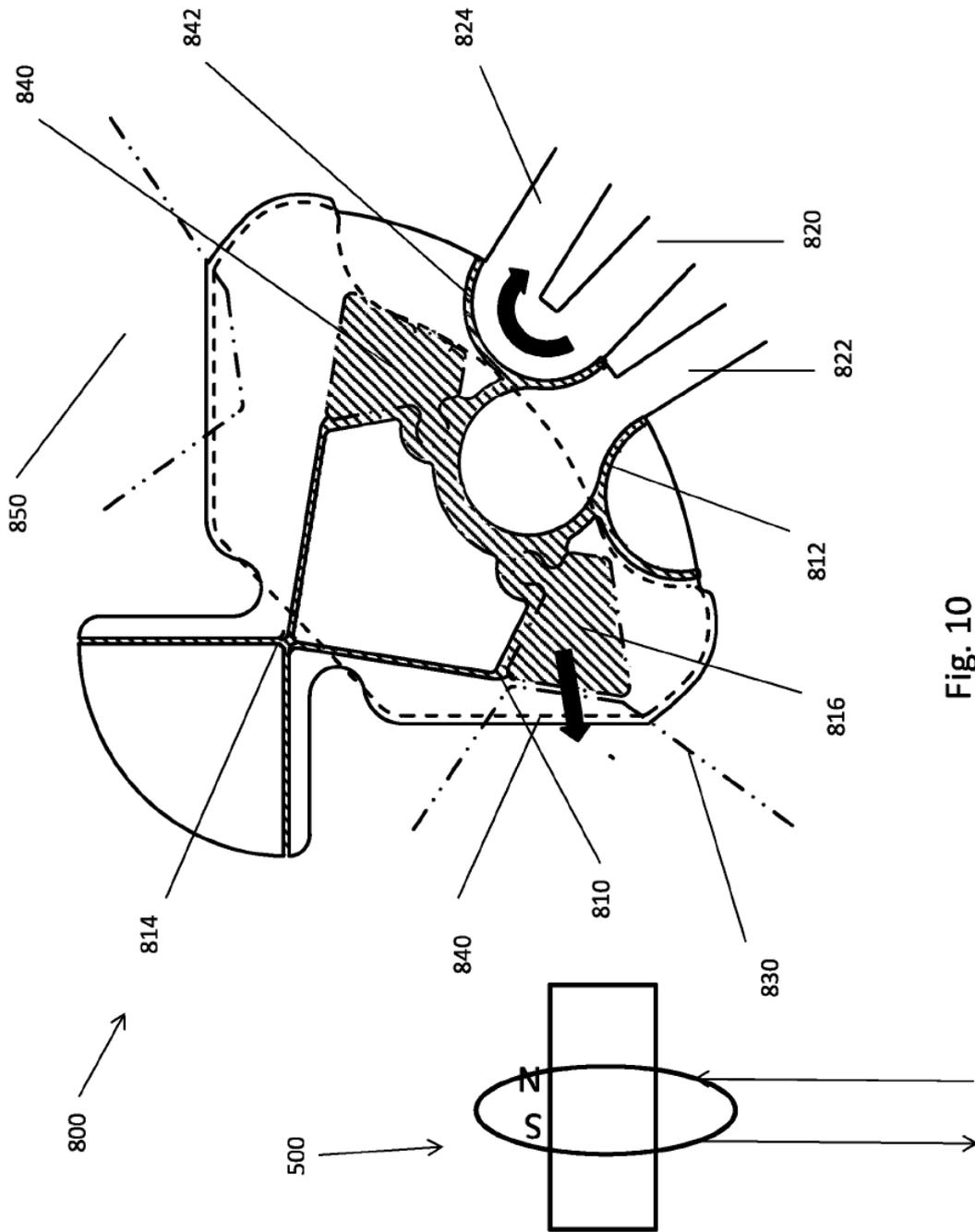


Fig. 10

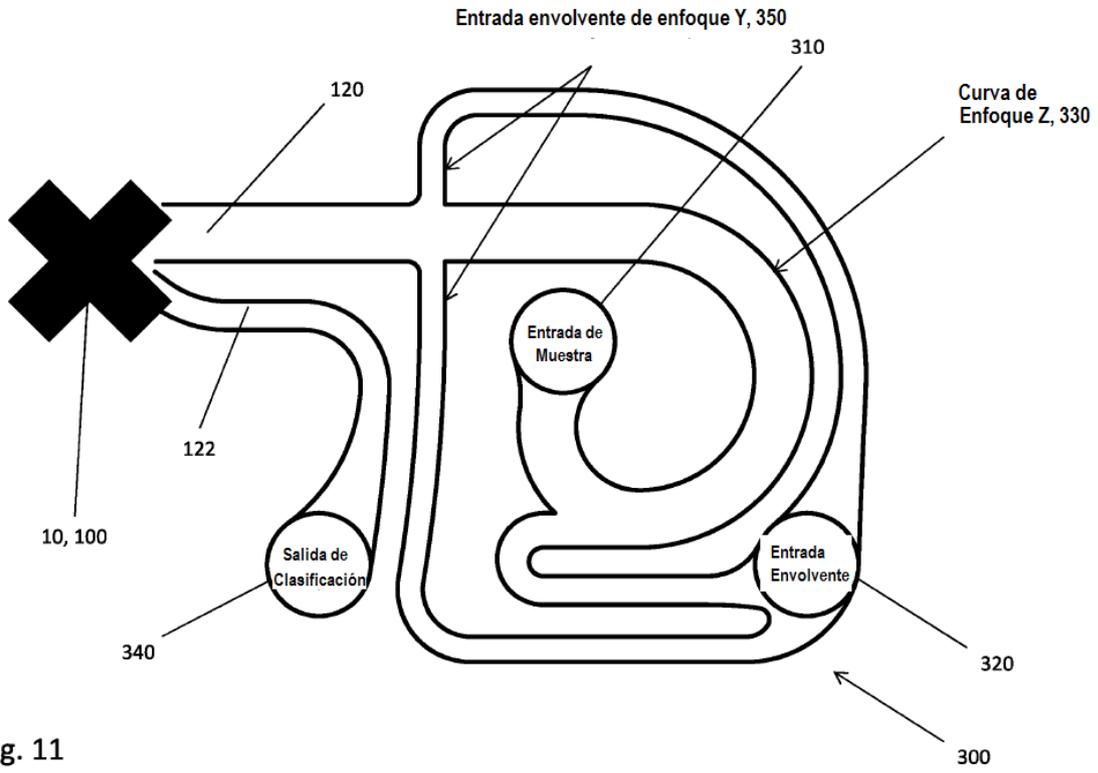


Fig. 11

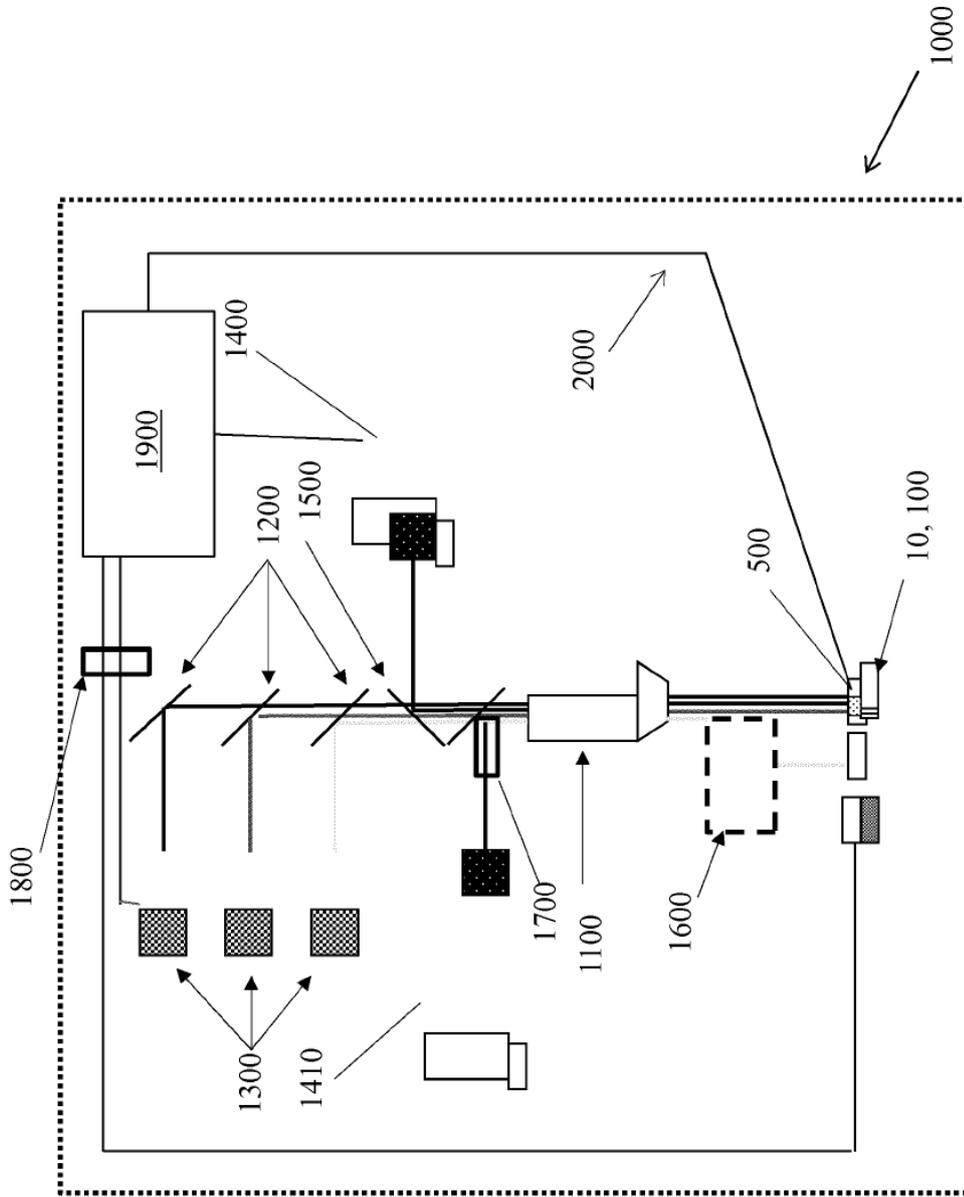


Fig. 12

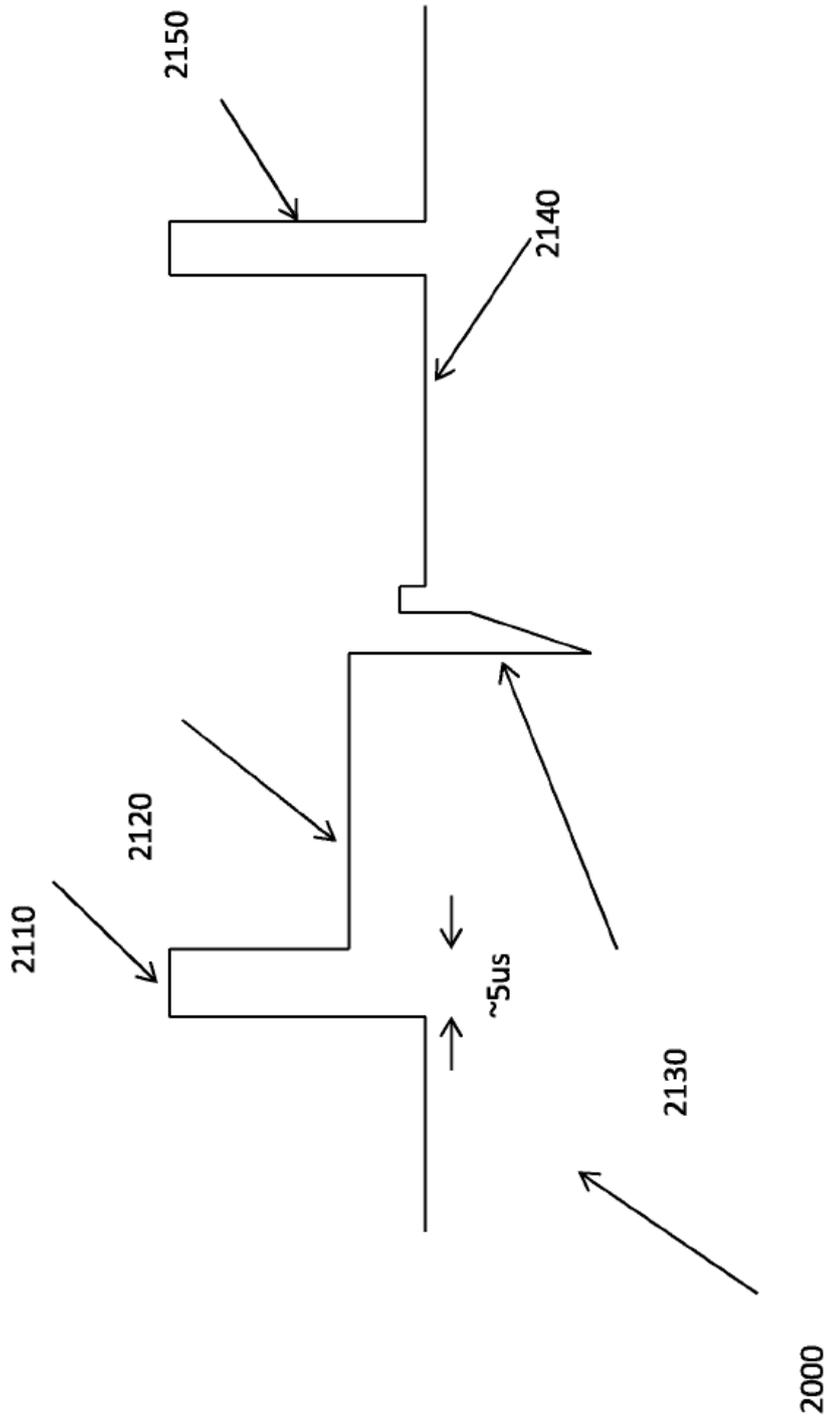


Fig. 13