

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-537414
(P2018-537414A)

(43) 公表日 平成30年12月20日(2018.12.20)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
A61K 9/50 (2006.01)	A 61 K 9/50	4 C 076
A61K 47/59 (2017.01)	A 61 K 47/59	4 C 084
A61K 47/58 (2017.01)	A 61 K 47/58	4 C 086
A61K 47/32 (2006.01)	A 61 K 47/32	
A61K 47/34 (2017.01)	A 61 K 47/34	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 27 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2018-519002 (P2018-519002)	(71) 出願人	507044516 プレジデント アンド フェローズ オブ ハーバード カレッジ アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02 138, ケンブリッジ, クインシー ストリート 17
(86) (22) 出願日	平成28年10月12日 (2016.10.12)	(74) 代理人	100106518 弁理士 松谷 道子
(85) 翻訳文提出日	平成30年6月11日 (2018.6.11)	(74) 代理人	100145403 弁理士 山尾 憲人
(86) 國際出願番号	PCT/US2016/056509	(74) 代理人	100208140 弁理士 大釜 典子
(87) 國際公開番号	W02017/066231	(72) 発明者	デイビッド・エイ・ウェイツ アメリカ合衆国 01740マサチューセッ ツ州ボルトン、グリーン・ロード213番 最終頁に続く
(87) 國際公開日	平成29年4月20日 (2017.4.20)		
(31) 優先権主張番号	62/241,079		
(32) 優先日	平成27年10月13日 (2015.10.13)		
(33) 優先権主張國	米国(US)		

(54) 【発明の名称】ゲルマイクロスフェアの作製及び使用のためのシステム及び方法

(57) 【要約】

本発明は概して、マイクロ流体小滴、特に、多重エマルジョンのマイクロ流体小滴に関する。ある態様では、ゲル粒子などの粒子は、水性小滴から水性キャリア（又は非水性小滴からの非水性キャリア）の中に調製され得る。例えば、いくつかの実施形態では、キャリア流体中に含まれる第2の流体によって囲まれた、第1の流体のダブルエマルジョン小滴が調製されてもよく、そこで第1の流体はゲルを形成し、第2の流体は除去される。例えば、第2の流体はキャリア流体中に溶解されてもよく、又は第2の流体を硬化して、次に例えばpHの変化により除去されてもよい。本発明の他の実施形態は概して、そのようなマイクロ流体小滴を含むキット、そのようなマイクロ流体小滴を作製するためのマイクロ流体デバイス等を対象とする。

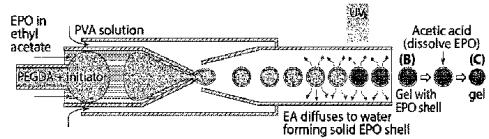


FIG. 1A

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

キャリア流体中に含まれる第2の流体によって囲まれた、ポリマーを含む第1の流体の小滴を供給する工程と、

前記第2の流体を固化させる工程と、

前記第1の流体中のポリマーでゲルを形成する工程と、

固化した第2の流体を除去する工程であって、それによって前記キャリア流体中に前記ゲルの懸濁液を形成する、除去する工程と、と含む方法。

【請求項 2】

前記ポリマーでゲルを形成する工程は、前記ポリマーを架橋させて前記ゲルを形成させるために紫外線を照射することを含む請求項1に記載の方法。 10

【請求項 3】

前記ポリマーでゲルを形成する工程は、前記キャリア流体にTEMEDを適用することを含み、それによって前記TEMEDは前記第1の流体中に拡散することができる、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項 4】

前記第2の流体は、溶媒と第2のポリマーとを含み、

前記第2の流体を固化させる工程は、前記第2のポリマーが固体を形成するように、前記溶媒を前記キャリア流体に入れることを含む請求項1～3のいずれか1つに記載の方法。 20

【請求項 5】

前記第2の流体を固化させる工程は、前記第2の流体の温度を変更することによって前記第2の流体を固化させることを含む請求項1～4のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 6】

前記固化した第2の流体はゲルである請求項1～5のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 7】

前記固化した第2の流体を除去する工程は、前記固化した第2の流体を前記キャリア流体中に溶解させるように前記キャリア流体のpHを低下させることを含む請求項1～6のいずれか1つに記載の方法。 30

【請求項 8】

前記キャリア流体のpHを変化させる工程は、前記キャリア流体の前記pHを、少なくとも約2pHの単位で低下させることを含む請求項7に記載の方法。

【請求項 9】

前記キャリア流体のpHを変化させる工程は、前記キャリア流体の前記pHを5以下まで低下させることを含む請求項7又は8に記載の方法。

【請求項 10】

前記キャリア流体のpHを変化させる工程は、前記キャリア流体に酸を添加することを含む請求項7～9のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 11】

前記固化した第2の流体を除去する工程は、前記固化した第2の流体を機械的に除去することを含む請求項1～10のいずれか1つに記載の方法。 40

【請求項 12】

前記第1の流体は開始剤をさらに含む請求項1～11のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 13】

前記開始剤はイルガキュア2559を含む請求項12に記載の方法。

【請求項 14】

前記ポリマーはポリ(エチレングリコール)ジアクリレートを含む請求項1～13のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 15】

前記第2の流体はアクリレート又はメタクリレートを含む請求項1～14のいずれか1

50

つに記載の方法。

【請求項 16】

前記第2の流体はジメチルアミノエチルメタクリレートを含む請求項1～15のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 17】

前記第2の流体はブチルメタクリレートを含む請求項1～16のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 18】

前記第2の流体はメチルメタクリレートを含む請求項1～17のいずれか1つに記載の方法。

10

【請求項 19】

前記小滴は約1mm以下の平均直径を有する請求項1～18のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 20】

前記小滴は、前記小滴の少なくとも90%が、前記小滴の前記平均直径の90%よりも大きく110%よりも小さい直径を有するような直径分布を有する請求項1～19のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 21】

前記キャリア流体は水性である請求項1～20のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 22】

前記キャリア流体と前記第2の流体は実質的に非混和である請求項1～21のいずれか1つに記載の方法。

20

【請求項 23】

前記第1の流体と前記第2の流体は実質的に非混和である請求項1～22のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 24】

種を前記ゲル中に取り込むために、前記種を前記ゲルにさらす工程をさらに含む請求項1～23のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 25】

前記種を前記ゲルに結合させる工程を含む請求項24に記載の方法。

30

【請求項 26】

前記種を前記ゲルに共有結合させる工程を含む請求項25に記載の方法。

【請求項 27】

前記種は核酸を含む請求項24～26のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 28】

前記種はDNAを含む請求項27に記載の方法。

【請求項 29】

EDCの結合反応を用いて前記DNAを前記ゲルに結合させる工程を含む請求項27又は28に記載の方法。

【請求項 30】

キャリア流体中に含まれる溶媒とポリマーとを含む小滴を供給する工程と、

前記ポリマーでゲルを形成する工程と、

前記ゲルからの前記溶媒を除去する工程であって、それによって前記キャリア流体中に前記ゲルの懸濁液を形成する、除去する工程と、を含む方法。

40

【請求項 31】

前記ポリマーでゲルを形成する工程は、前記ポリマーを架橋させて前記ゲルを形成させよう紫外線を照射する工程を含む請求項30に記載の方法。

【請求項 32】

前記ポリマーでゲルを形成する工程は、キャリア流体にTEMEDを適用することを含み、それによって前記TEMEDは前記第1の流体中に拡散することができる、請求項3

50

0又は30に記載の方法。

【請求項33】

前記小滴は開始剤をさらに含む請求項30～32のいずれか1つに記載の方法。

【請求項34】

前記開始剤はイルガキュア2559を含む請求項33に記載の方法。

【請求項35】

前記ポリマーはポリ(エチレングリコール)ジアクリレートを含む請求項30～34のいずれか1つに記載の方法。

【請求項36】

前記溶媒は、前記キャリア流体にさらされたとき、分離相を形成することができる、請求項30～35のいずれか1つに記載の方法。 10

【請求項37】

前記ゲルからの前記溶媒を除去する工程は、前記溶媒を前記キャリア流体に入れることを含む請求項30～36のいずれか1つに記載の方法。

【請求項38】

前記キャリア流体は水性の流体である請求項30～37のいずれか1つに記載の方法。

【請求項39】

前記キャリア流体は水である請求項30～38のいずれか1つに記載の方法。

【請求項40】

前記溶媒は約1g/m1未満の水溶解度を有する請求項30～39のいずれか1つに記載の方法。 20

【請求項41】

種を前記ゲル中に取り込むために、前記種を前記ゲルにさらす工程をさらに含む請求項30～40のいずれか1つに記載の方法。

【請求項42】

前記種を前記ゲルに結合させる工程を含む請求項41に記載の方法。

【請求項43】

前記種を前記ゲルに共有結合させる工程を含む請求項42に記載の方法。

【請求項44】

前記種は核酸を含む請求項30～43のいずれか1つに記載の方法。 30

【請求項45】

前記種はDNAを含む請求項44に記載の方法。

【請求項46】

EDCの結合反応を用いて前記DNAを前記ゲルに結合させる工程を含む、請求項44又は45に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願)

本出願は、Weitzらによる「ゲルマイクロスフェアの作製及び使用のためのシステム及び方法」と題する2015年10月13日に出願された米国仮特許出願第62/241,079号に基づく優先権を主張し、参照によりその全体を本明細書に組み込む。 40

【0002】

(政府資金)

本発明は、米国国立科学財団によって付与された許可番号NMR-1310266による政府の支援によりなされた。政府は、本発明において一定の権利を有する。

【0003】

(技術分野)

本発明は概して、マイクロ流体小滴(microfluidic droplets)、特に、多重(又は複数の:multiple)エマルジョンマイクロ流体小滴に関する。

50

【背景技術】**【0004】**

ダブルエマルジョン(又は二重乳化:Double emulsions)は、実質的に非混和の第2の流体からなる少なくとも1つより小さい液滴を含む液滴である。これらのコア・シェル構造の流体は、例えば、カプセルを生成するためのテンプレートとして使用することができる。すなわち、外部の液滴は、カプセルのシェルを最終的に形成する材料を含み、内部の液滴は、カプセル内部のコアを構成する。これらのカプセルは、食品、医薬品、化粧品などの多くの分野で有効成分を輸送するための媒体として使用することができる。しかし、これらのカプセルをうまく適用するには、それらの浸透性(又は透過性:permeability)及び機械的安定性、カプセルシェルの組成及び厚さで調整できるパラメータの良好な制御が必要とされ得る。これは、ダブルエマルジョンの寸法及び組成の制御を含み得る。これらの従来の手法は典型的に、しばしば複数の内部小滴を含んでいるサイズの異なるダブルエマルジョン液滴を生成するため、この制御は、機械的攪拌又は膜乳化によってダブルエマルジョン液滴を生成する場合には達成するのが困難であることが多い。

10

【発明の概要】**【0005】**

本発明は概して、マイクロ流体小滴(microfluidic droplets)、特に、多重(又は複数:multiple)エマルジョンマイクロ流体小滴に関する。本発明の主題は、いくつかのケースでは、相互に関係する製品、特定の問題に対する代替解決策、及び/又は1つ以上のシステム及び/又は物品の複数の異なる使用を含む。

20

【0006】

一態様では、本発明は概して方法に関する。一連の実施形態では、前記方法は、キャリア流体中に含まれる第2の流体によって囲まれた、ポリマーを含む第1の流体の小滴を供給する工程と、前記第2の流体を固化させる工程と、前記第1の流体中の前記ポリマーでゲルを形成する工程と、固化した第2の流体を除去する工程であって、それは前記キャリア流体中に前記ゲルの懸濁液を形成し得る、除去する工程と、を含む。

【0007】

別の一連の実施形態では、本方法は、キャリア流体中に含まれる溶媒とポリマーとを含む小滴を供給する工程と、前記ポリマーでゲルを形成する工程と、前記溶媒を前記ゲルから除去する工程であって、それは前記キャリア流体中に前記ゲルの懸濁液を形成し得る、除去する工程と、を含む。

30

【0008】

別の態様では、本発明は、本明細書に記載する1つ以上の実施形態、例えば、ゲルマイクロスフェアを作製する方法を包含する。さらに別の態様では、本発明は、本明細書に記載する1つ以上の実施形態、例えば、ゲルマイクロスフェアを使用する方法を包含する。

30

【0009】

本発明の他の利点及び新規な特徴は、添付の図面と併せて考慮すると、本発明の様々な非限定的な実施形態の、以下の詳細な説明から明らかになるであろう。本明細書及び参考文献として組み込む文書が、矛盾する及び/又は不一致の開示を含む場合、本明細書を優先するものとする。参照により組み込む2つ以上の文書に、互いに矛盾する及び/又は不一致の開示が含まれている場合、より後の有効日を有する文書を優先するものとする。

40

【0010】

本発明の非限定的な実施例は、例として、概略図であり、かつスケールを示す意図はない添付図を参照して記載されるだろう。図では、図示した各々同一又はほぼ同一の構成は、典型的に单一の数字によって表される。明瞭化のため、図で当業者が発明を理解できるようにする必要がない場合、全ての図における全ての構成にラベルを付けず、また本発明の各実施形態の全ての構成を示していない。

【図面の簡単な説明】**【0011】**

【図1A-1E】図1A-1Eは、本発明の一実施形態におけるゲル小滴の生成方法を示

50

す。

【図2A-2C】図2A-2Cは、本発明の別の実施形態によるゲル小滴の生成方法を示す。

【図3A-3C】図3A-3Cは、本発明の別の実施形態におけるゲル小滴の生成方法を示す。

【発明を実施するための形態】

【0012】

(詳細な説明)

本発明は概して、マイクロ流体小滴、特に、多重エマルジョンマイクロ流体小滴に関する。ある態様では、ゲル粒子などの粒子は、水性小滴から水性キャリア（又は非水性小滴から非水性キャリア）の中に調製することができる。例えば、いくつかの実施形態では、キャリア流体中に含まれる、第2の流体によって囲まれた第1の流体のダブルエマルジョン小滴が調製されてもよく、そこでは第1の流体がゲルを形成し、第2の流体が除去される。例えば、第2の流体をキャリア流体中に溶解させてもよく、又は、例えばpHの変化により第2の流体を硬化させてから除去してもよい。本発明の他の実施形態は概して、そのようなマイクロ流体小滴を含むキット、そのようなマイクロ流体小滴を作製するためのマイクロ流体デバイス等を対象とする。

【0013】

本発明のある態様は、概して、水性キャリア中のゲル粒子などの粒子を作製するためのシステム及び方法を対象とする。ゲル粒子は、例えば、実質的に非混和の油性キャリア中に含まれる水性小滴を重合又はゲル化して粒子を形成したエマルジョンから作製することができるが、そのようなゲル粒子は、典型的に、水性キャリア中で作製されていなかった。

【0014】

従って、本発明の一態様において、ゲル粒子などの粒子は、水性小滴から水性キャリア中に調製することができる。一連の実施形態では、ダブルエマルジョン小滴を調製してもよい。例えば、図1Cにおいて、ダブルエマルジョン液滴は、当業者に周知のように、ダブルエマルジョン小滴を生成するように同軸に配置され得る複数のマイクロ流体のチャネルを使用して調製される。しかし、図1Cは、ダブルエマルジョン小滴を生成する技術の単に1つの非限定的な実例であると理解すべきである。すなわち、ダブルエマルジョン液滴を生成するための様々な他の技術も使用することができる。例えば、米国特許第7,776,927号、又は米国特許第9,039,273号、国際公開第2006/096571号、国際公開第2008/121342号、国際公開第2010/104604号、国際公開第2011/028760号、国際公開第2011/028764号、又は国際公開第2012/162296号、米国特許出願公開第2009/0012187号、米国特許出願公開第2009/0131543号、米国特許出願公開第2012/0199226号、米国特許出願公開第2012/0211084号、又は米国特許出願公開第2013/0046030号、国際特許第15/25921号、又は米国特許第61/980,541号、又は米国特許第62/083,721を参照。その各々が参照により本明細書に組み込まれる。

【0015】

一連の実施形態では、キャリア（又は第3の）流体に含まれる、外部（又は第2の）流体に囲まれた内部（又は第1の）流体を含む、ダブルエマルジョン小滴を調製することができる。いくつかのケースでは、外部流体は、例えば、少なくともダブルエマルジョン小滴を形成する時間スケールにおいて、内部流体とキャリア流体は実質的に非混和であり得る。内部流体でゲルを形成することができ、さらに、第2の流体を硬化して、例えば内部流体の周りに形成することができる。これらは、任意の順序で、例えば同時に又は連続して行うことができる。ゲルが形成された後、硬化された第2の流体は、その後、何らかの方法で除去され、それによってキャリア流体中にゲルが残る。

【0016】

10

20

30

40

50

例えば、一連の実施形態では、ダブルエマルジョン小滴が調製された後、例えば紫外光又は温度変化を加えることによって、内部流体内のポリマーを重合又はゲル化させることができる。例えば、内部流体は、アガロースゲル（例えば、温度変化を伴って固化することができる）を含んでもよい。例えば、小滴は、高温（例えば、室温より上、約25℃）で形成され、次いで（例えば、室温又は室温より低い温度に）冷却されてもよい。又は室温で小滴を形成した後、室温より低い温度に冷却等して内部流体に重合又はゲル化を生じさせてもよい。

【0017】

別の例として、内部流体を化学的に重合又はゲル化させてもよい。例えば、化学反応又は架橋反応を内部流体に誘発し、重合又はゲル化を起こしてもよい。いくつかの実施形態では、重合は、フリーラジカル重合(free-radical polymerization)であり、例えばそれは、熱及び／又は紫外線(UV)光などの光に、及び／又は光照射でフリーラジカルを（例えば、分子開裂を介して）生成できる光開始剤などの開始剤に反応物を曝露することによって、開始することができる。例として、イルガキュア2559、2-ヒドロキシ-4-(3-トリエトキシリルプロポキシ)-ジフェニルケトン、又はテトラメチルエチレンジアミンを含むが、これらに限定されない。そのようなポリマーの例として、ポリアクリルアミド、ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)又はポリ(エチレングリコール)ジアクリレートを含むが、これらに限定されない。他の種も同様に存在してもよい。

10

【0018】

外部流体は、（例えば外部流体とキャリア流体の）化学反応を誘発すること、（例えば、外部流体中の溶媒が、その後周囲のキャリア流体に入って固化するポリマーを残す場合に）沈殿を起こさせること、温度変化等によって、硬化させることができる。例えば、一連の実施形態では、流体小滴内の第1の反応物を、流体小滴を囲む液体内の第2の反応物と反応させて固体を生成することができ、いくつかのケースでは、それによって固体の「シェル」内の流体小滴を被覆することができる。固化反応の非限定的な例は、塩化ジアシル及びジアミンからのナイロン（例えば、ポリアミド）の生成を含む重合反応である。他の例としては、ポリスチレン、ポリカプロラクトン、ポリイソブレン、ポリ乳酸、ポリスチレン(PS)、ポリカプロラクトン(PLC)、ポリイソブレン(PIP)、ポリ乳酸、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリアクリロニトリル、ポリイミド、ポリアミド及び／又はこれらの及び／又は他のポリマーの混合物及び又はコポリマーを含む。

20

【0019】

別の例として、外部流体は、酢酸エチル中に含まれるメタクリレート（重合形態、すなわちポリメタクリレートであってもよい）を含んでもよく、その酢酸エチルは、（例えばキャリア流体及び／又は内部流体中）水に可溶であり、固化することができるメタクリレート（又はポリメタクリレート）を残して除去可能である。メタクリレートの非限定的な例として、ジメチルアミノエチルメタクリレート、ブチルメタクリレート、エチルメタクリレート、メチルメタクリレート、ヒドロキシエチルメタクリレート、トリメチロールプロパントリアクリレートなど（これらのポリマー形態を含む）を含む。さらに別の例として、外部流体はアガロースゲルを含んでもよく、アガロースゲルを固化させて内部小滴の周囲に「シェル」を形成させるように（例えば上述のように）温度を下げてもよい。

30

【0020】

これらは任意の順序で起こり得ることを理解すべきである。例えば、内部流体は、外部流体がシェルを形成する前又は後にゲル化されてもよく、又は両方が同時に起きてもよい。

40

【0021】

外部流体がシェルに硬化し、内部流体がゲルを形成した後、外部シェル(outer shell)は例えば機械的に、適切な溶媒への暴露、又は他の条件変化（例えば、pHの変化）により除去されてもよい。例えば、外部シェルがポリマーを含む場合、ポリマーは、加水分解で、酵素で、光分解で、機械的に、等で分解可能であり得る。

For example, if the outer shell comprises a polymer, the polymer may be degradab

50

le hydrolytically, enzymatically, photolytically, mechanically, etc.

別の例として、ポリマーは、その融点を超える温度でポリマーを加熱することによって液化され得る。例えば、外部シェルはアガロースゲルを含んでもよい。さらに別の例では、メタクリレートは、例えば酸性条件（例えば、pHが7未満、6未満、5未満、4未満、3未満など）までのpH変化で除去することができ、それによってキャリア流体中に含まれるゲルを残す。pHは、例えば適切な酸又は塩基を加えることによって変えることができる。pHは、例えば、少なくとも約2、3、4又はそれ以上のpH単位で変化されてもよい。適切な酸の非限定的な例として、任意の適切な希釈又は濃度で、酢酸、HCl、H₂SO₄、HNO₃などを含む。適切な塩基の非限定的な例として、NaOH又はKOHを含む。

10

【0022】

従って、固化した第2の流体を除去することによって、キャリア流体中に含まれるゲル粒子の懸濁液を得ることができる。上記のように、一連の実施形態では、ゲル粒子を形成する内部流体は水性であり得るが、キャリア流体は、非水性（例えば、油）の代わりに水性であってもよい（さらに、別の一連の実施形態では、キャリア流体及び内部流体の両方が、各々非水性であってもよく、一方で、外部流体は代わりに水性であってもよい）。

【0023】

しかし、本発明はダブルエマルジョン小滴だけに限定されないことを理解すべきである。別の一連の実施形態では、キャリア流体内に含まれる単一のエマルジョン小滴から粒子を作ることができ、粒子を形成する流体及びキャリア流体の両方が水性である（又は代わりに、その両方が非水性であってもよい）。例えば、一態様では、第1の相（例えば、油相）の単一エマルジョン小滴をキャリア相（例えば、水性の相又は水の相）の中で生成することができ、その第1の相は、ポリマー又はキャリア相内のゲルを形成させる。いくつかのケースにおいて、第1の相は、周囲のキャリア流体に入ることができる溶媒を含んでもよく、及び／又は溶媒は、その後除去することができ、例えば、その結果としてキャリア流体内に含まれるポリマー粒子又はゲル粒子をもたらす。

20

【0024】

第1の流体は、粒子を生成するように固化してもよい。例えば、第1の流体は、例えば上述のように、化学的に重合された又はゲル化された流体でもよい。例えば、重合又はゲル化を引き起こすように、第1の流体中に温度変化、化学反応、又は架橋反応が誘発されてもよい。第1の流体は、例えば、アガロース、ポリアクリルアミド、ポリ（N-イソブロピルアクリルアミド）、又はポリ（エチレングリコールジアクリレート）、イルガキュア2559などの開始剤、2-ヒドロキシ-4-（3-トリエトキシシリルプロポキシ）-ジフェニルケトン、又はテトラメチルエチレンジアミン等、本明細書で検討される材料のいずれかを含んでもよい。

30

【0025】

いくつかのケースでは、第1の流体は、例えば周囲の流体に曝されたときに除去することができる溶媒を含んでもよい。溶媒は、例えば、粒子の形成に続いて又は同時に除去することができる。いくつかのケースでは、溶媒の除去により、第1の流体中でゲル化又は重合を引き起こして粒子を形成することができる。ある実施形態では、周囲の流体が水性流体である場合、溶媒は、当所分離相（例えば、第1の流体）を形成するように、水中で比較的低い溶解度を有し得るが、その後溶媒は徐々に周囲の流体に溶解する。そのような溶媒の例には、ジクロロメタン、1,2-ジクロロエタン、1-ブタノール、ジエチルエーテル、酢酸エチル、メチルt-ブチルエーテル（MTBE）などが含まれるが、これらに限定されない。

40

【0026】

いくつかのケースでは、溶媒は、約1g/m³未満、約0.5g/m³未満、約0.4g/m³未満、約0.3g/m³未満、約0.2g/m³未満、約0.1g/m³未満、約0.05g/m³未満、約0.04g/m³未満、約0.03g/m³未満、約0.02g/m³未満、約0.01g/m³未満、又は約0.005g/m³未満の水溶解度(w

50

ater solubility)を有してもよい。さらに、いくつかの実施形態では、例えば抽出、溶解又は他の技術を介して、溶媒を少なくとも部分的に除去することができる周囲の流体に、固化した粒子を曝すことによって、溶媒を除去することができる。例えば、周囲のキャリア流体から粒子を回収することができ、固化した粒子から溶媒を少なくとも部分的に除去するように、(例えば、同じ又は異なる組成の)別の流体でそれを置き換えることができる。

【0027】

ある態様によれば、本明細書に記載のシステム及び方法は、複数の用途で使用することができる。例えば、本明細書に記載の粒子及び複数のエマルジョンが有用であり得る分野には、食品、飲料、健康及び美容補助剤、塗料及びコーティング、化学的分離、農業用途、及び薬及びドラッグデリバリーが含まれるが、これらに限定されない。例えば、特定の条件下でその内容物を放出するように設計された小滴又は粒子の中に、正確な量の流体、薬、医薬品、又は他の種を含むことができる。いくつかの例では、小滴内又は粒子内に細胞を含むことができ、その細胞を、例えば対象内の、例えば標的の媒体に保存する、及びノ又は運ぶことができる。小滴内又は粒子内に含むことができ、標的の媒体に運ぶことができる他の種には、例えば、SiRNA、RNai、RNA、及びDNAなどの核酸、タンパク質、ペプチド、又は酵素などの生化学種を含む。小滴内又は粒子内に含むことができさらなる種には、コロイド粒子、磁性粒子、ナノ粒子、量子ドット、香料、タンパク質、指示薬、色素、蛍光種、化学物質などが含まれるが、これらに限定されない。標的の媒体は、例えば、水、生理食塩水、水性媒体、疎水性媒体など、どの適した媒体でも良い。

10

20

30

40

50

【0028】

例えば、一連の実施形態では、粒子の表面内及びノ又は表面上に種を含むことができる。いくつかのケースでは、例えば、種は、粒子に結合(例えば、共有結合)されてもよく、及びノ又は粒子内に(例えば、物理的に)含まれてもよい。種は、例えば、DNA又は上記の他の種のいずれかでもよい。いくつかのケースでは、種は(例えば、粒子の形成の前に)小滴内に存在してもよく、又は粒子の形成中又は形成後に添加されてもよい。例えば、一連の態様では、EDC/NHSカップリング(1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド/N-ヒドロキシスクシンイミド)又は他の適切なカップリング反応を使用して、DNAを粒子に付着させることができる。しかし、他のケースでは、DNA(又は他の種)は、粒子内に物理的に含まれていてもよい。

【0029】

一態様では、本発明は概して、二重(又はそれ以上)の多重エマルジョンを対象とする。一般的には、ダブルエマルジョンにおいて、第1の流体を含む第1の(又は内部の)流体小滴は、連続流体、キャリア流体又は第3の流体内に含まれる第2流体を含む第2の(又は中間の)流体小滴によって囲まれる。典型的には、流体は隣接する流体と実質的に非混和であるが、隣接しない流体は非混和である必要はなく、いくつかのケースでは混和性(又は、さらに同一)でもよい。従って、例えば、第1の流体は、第2の流体とは非混和であり得るが、第3の流体とは混和性又は非混和性でもよい。同様に、第2の流体は、第3の流体と非混和でもよい。しかし、すべての実施形態において、非混和性は必ずしも必要ではないことを理解すべきである。すなわち、いくつかのケースでは、2つの隣接する流体は非混和性ではないが、他の方法で、例えば動力学的に又は短い曝露時間(exposure times)を通じて、分離を保持し得る。

【0030】

従って、非限定的な例として、ダブルエマルジョン小滴において、第1の流体(最も内部の流体)は水性又は親水性流体(「水」相)でもよく、第2の流体(中間の流体)は、水性液体と実質的に非混和の親油性又は疎水性又は「油」相でもよく、及び第3の(又はキャリアの)流体は、第2の流体と実質的に非混和の水性流体(「水」流体)でもよい。これは、(水/油/水に対して)W/O/Wダブルエマルジョン小滴と一般的に呼ばれることがあるが、これは主に便宜上のためであることを理解すべきである。すなわち、例え

ば、第1の流体は、任意の適切な水性流体とすることができます、純粋な水である必要はない。例えば、水性流体は、水、生理食塩水、水溶液、エタノールなど、又は水中で混和性の他の任意の流体でもよい。対照的に、油は、少なくとも周囲条件(ambient conditions)下で静置されるとき、水中で非混和性であり得る。同様に、O/W/Oダブルエマルジョン小滴も同様に規定され得る。さらに、これらの原理は、高次の多重エマルジョン小滴に及び得る。さらに、他の配列も可能であることを理解すべきである。例えば、1つの実施形態では、第1の流体、第2の流体、及び第3の流体は、すべて相互に非混和性でもよい。

【0031】

本明細書中で使用されるように、2つの流体は、エマルジョンが生成される温度及び条件下で、一方が他方の中で少なくとも10wt%のレベルまで不溶であるとき、互いに非混和である、又は混和性ではない。例えば、2つの流体は、流体小滴の形成の時間枠内で非混和であるように選択されてもよい。いくつかの実施形態では、2つの流体（例えば、多重エマルジョンのキャリア流体及び内部小滴流体は相溶性又は混和性であるが、外部小滴流体はキャリア流体及び内部液滴流体の一方又は両方と非相溶性又は非混和性である。しかし、他の実施形態では、3つ（又はそれ以上）の流体は全て相互に非混和でもよく、あるケースでは、流体の全ては、必ずしも全て水溶性である必要はない。さらなる他の実施形態では、述べたように、追加の第4、第5、第6等の流体が加えて小滴内のますます複雑な小滴を生成してもよく、例えば、キャリア流体は、第1の流体を囲んでもよく、次にそれは第2の流体を囲んでもよく、次にそれは第3の流体を囲んでもよく、次にそれは第4の流体を囲んでもよい、等である。さらに、流体小滴の各入れ子の(nesting)層の物理的特性は、例えば、各入れ子のレベルの組成にわたる制御によって各々独立して制御されてもよい。

10

20

30

【0032】

小滴は、いくつかの例では、マイクロ流体の小滴でもよい。例えば、外部小滴は、約1mm未満、約500マイクロメートル未満、約200マイクロメートル未満、約100マイクロメートル未満、約75マイクロメートル未満、約50マイクロメートル未満、約25マイクロメートル未満、約10マイクロメートル未満、又は約5マイクロメートル未満、又はいくつかのケースでは、約50マイクロメートル～約1mm、約10マイクロメートル～約500マイクロメートル、又は約50マイクロメートル～約100マイクロメートルの直径を有してもよい。しかし、いくつかのケースでは、小滴はより大きくてよい。例えば、三重又は他の多重エマルジョン小滴の内部液滴（又は中間小滴）は、約1mm未満、約500マイクロメートル未満、約200マイクロメートル未満、約100マイクロメートル未満、約75マイクロメートル未満、約50マイクロメートル未満、約25マイクロメートル未満、約10マイクロメートル未満、又は約5マイクロメートル未満、又はいくつかのケースでは、約50マイクロメートル～約1mm、約10マイクロメートル～約500マイクロメートル、又は約50マイクロメートル～約100マイクロメートルの直径を有してもよい。

【0033】

本明細書に記載される粒子（例えば、ゲル粒子）又は小滴は、任意の適切な平均断面直径を有してもよい。当業者は、例えば、レーザー光散乱、顕微鏡検査、又は他の既知の技術を用いて、単一及び／又は複数の粒子又は小滴の平均断面直径を決定することができるであろう。非球状粒子又は小滴中の単一粒子又は小滴の平均断面直径は、非球状粒子又は小滴と同じ体積を有する完全球体の直径である。粒子又は小滴（及び／又は複数の又は一連の粒子又は小滴）の平均断面直径は、例えば、約1mm未満、約500マイクロメートル未満、約200マイクロメートル未満、約100マイクロメートル未満、約75マイクロメートル未満、約50マイクロメートル未満、約25マイクロメートル未満、約10マイクロメートル未満、又は約5マイクロメートル未満、又はいくつかのケースでは、約50マイクロメートル～約1mm、約10マイクロメートル～約500マイクロメートル、又は約50マイクロメートル～約100マイクロメートル、又は約50マイクロメートル～約100マイクロメートルでもよい。また、平均断面直径は、あるケースでは、少なくとも約1マイクロメートル、少なくとも約2マイクロメート

40

50

ル、少なくとも約3マイクロメートル、少なくとも約5マイクロメートル、少なくとも約10マイクロメートル、少なくとも約15マイクロメートル、又は少なくとも約20マイクロメートルでもよい。いくつかの実施形態では、複数の粒子又は小滴内の粒子又は小滴の少なくとも約50%、少なくとも約75%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、又は少なくとも約99%は、本段落で概説した範囲のいずれか以内の平均断面直径を有する。

【0034】

ある実施形態では、複数の粒子（例えば、ゲル粒子）又は小滴は、比較的均一な断面直径を有してもよい。比較的均一な断面直径を有する粒子又は小滴の使用により、それが粒子及び／又は小滴からの流体及び／又は種の粘度、標的に運ばれる種の量、運搬の他のパラメータを制御することが可能になり得る。いくつかの実施形態では、粒子又は粒子の小滴は単分散であるか、または、複数の粒子又は小滴は、全体平均直径を有し、及び粒子又は小滴の約5%以下、約2%以下、又は約1%以下が、複数の粒子又は小滴の全体平均直径の約90%未満（又は約95%未満、又は約99%未満）及び／又は約110%超（又は約105%超、又は約101%超）の直径を有するような直径分布を有する。

10

【0035】

いくつかの実施形態では、複数の粒子又は小滴は、全体平均直径を有し、粒子又は小滴の断面直径の変動係数が約10%未満、約5%未満、約2%未満、約1%～約10%、約1%～約5%、又は約1%～約2%であるような直径分布を有する。変動係数は、当業者によって決定することができ、以下のように規定することができる。

20

【0036】

【数1】

$$c_v = \frac{\sigma}{|\mu|}$$

は標準偏差であり、 μ は平均値である。

【0037】

本発明のある態様では、検討したように、例えば図1Cに示すように、流体を1つ以上のチャネルに流すことによって多重エマルジョンが形成される。システムは、マイクロ流体システムでもよい。本明細書で使用される「マイクロ流体」は、約1ミリメートル(m)未満の断面寸法を有する少なくとも1つの流体のチャネルを含むデバイス、装置、又はシステムを指し、いくつかのケースでは、長さ対最大断面寸法の比が少なくとも3:1である。システムの1つ以上のチャネルは、キャピラリーチューブでもよい。いくつかのケースでは、複数のチャネルが提供され、いくつかの実施形態では、本明細書で記載されるように、少なくともいくつかが入れ子式にされる（又はネストされる:nested）。チャネルは、マイクロ流体のサイズの範囲内にあってもよく、例えば、約1ミリメートル未満、約300マイクロメートル未満、約100マイクロメートル未満、約30マイクロメートル未満、約10マイクロメートル未満、約3マイクロメートル未満、又は約1マイクロメートル未満の平均内径又は内径を有する部分を有してもよく、それにより同等の平均直径を有する小滴を与える。1つ以上のチャネルは、断面において、同じ点における幅と実質的に同じ高さを有してもよい（ただし、必ずしもそうである必要はない）。断面において、チャネルは、矩形、又は円形又は橢円形などの実質的に非矩形でもよい。

30

【0038】

本明細書で使用されるように、「流体」という用語は、一般的に、流動し、その容器の輪郭に適合する傾向がある物質、すなわち液体、気体、粘弹性流体などを指す。1つの実施形態では、流体は液体である。典型的には、流体は静的せん断応力(static shear stress)に耐えられない材料であり、せん断応力が加えられるとき、流体は継続的且つ永久的な歪みを受ける。流体は、流動を可能にする任意の適切な粘度を有してもよい。2つ以上の流体が存在する場合、各流体は、流体間の関係を考慮することによって、当業者によつ

40

50

て本質的に任意の流体（液体、気体など）の中から独立して選択され得る。

【0039】

本発明のある態様に係る様々な材料及び方法を使用して、本明細書に記載されるような物品又は構成、例えばマイクロ流体のチャネル、チャンバーなどのチャネルを形成することができる。例えば、様々な物品又は構成を固体材料から形成することができ、そのうちチャネルは、微細加工、スピンドルコート及び化学蒸着などの膜堆積処理、レーザー加工、フォトリソグラフィ技術、湿式化学処理又はプラズマ処理を含むエッチング方法、3Dプリンターなどを介して形成することができる。例えば、Scientific American, 248: 44-55, 1983 (Angel11ら) を参照。

【0040】

一連の実施形態では、本明細書に記載される物品の様々な構造又は構成は、ガラス又はポリマー、例えばポリジメチルシロキサン（「PDMS」）、ポリテトラフルオロエチレン（「PTFE」又はテフロン（登録商標））、エポキシ、ノーランド光学接着剤などのエラストマー・ポリマーから形成され得る。例えば、一実施形態によれば、マイクロ流体のチャネルは、ガラス管又はキャピラリーから形成されてもよい。さらに、いくつかのケースでは、マイクロ流体のチャネルは、PDMS又は他のソフトリソグラフィ技術を使用して別個に流体システムを加工することによって実施されてもよい（この実施形態に適したソフトリソグラフィ技術の詳細は、Younan Xia及びGeorge M. Whitesides著、Annual Review of Material Science、1998年、28巻、153-184頁で公開された「ソフトリソグラフィ」、及びGeorge M. Whitesides、Emanuele Ostuni、Shuichi Takayama、Xingyu Jiang及びDonald E. Ingber著、Annual Review of Biomedical Engineering、2001年、3巻、335-373頁で公開された「生物学及び生化学におけるソフトリソグラフィ」の参考文献で検討されており、これらの参考文献の各々は、参照により本明細書に組み込まれる）。さらに、いくつかの実施形態では、本明細書に記載の物品の様々な構造又は構成は、金属、例えばステンレス鋼から形成することができる。

【0041】

潜在的に適切なポリマーの他の例には、ポリエチレンテレフタレート（PET）、ポリアクリレート、ポリメタクリレート、ポリカーボネート、ポリスチレン、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ塩化ビニル、環状オレフィンコポリマー（COC）、ポリテトラフルオロエチレン、フッ素化ポリマー、ポリジメチルシロキサンなどのシリコーン、ポリビニリデンクロライド、ビスベンゾシクロブテン（「BCB」）、ポリイミド、ポリイミドのフッ素化誘導体などを含むが、これらに限定されない。また、上記のものを含むポリマーを含む組み合わせ、コポリマー又は混合物も想定される。またデバイスは、複合材料、例えば、ポリマーと半導体材料との複合物から形成されてもよい。

【0042】

いくつかの実施形態では、物品の様々な構造又は構成は、ポリマーの及び／又はフレキシブルの及び／又はエラストマーの材料から加工され、成形（例えば、レプリカ成形、射出成形、キャスト成形など）を介した加工を容易にする、硬化性流体から便宜的に形成することができる。硬化性流体は、固化が誘発されて、又は自発的に凝固して流体ネットワークの中で及び流体ネットワークと共に使用することが企図される流体を含有する及び／又は輸送することができる固体になり得る、本質的に任意の流体であり得る。一実施形態では、硬化性流体は、ポリマー液体又は液体ポリマー前駆体（すなわち、「プレポリマー」）を含む。適切なポリマー液体には、例えば、それらの融点以上に加熱した熱可塑性ポリマー、熱硬化性ポリマー、ワックス、又はそれらの混合物又は複合物が含まれ得る。別の例として、適切なポリマー液体には、適切な溶媒中の1つ以上のポリマーの溶液を含んでもよく、その溶液は、溶媒の除去時に、例えば蒸発によって固体ポリマー材料を形成する。そのようなポリマー材料は、例えば溶融状態から又は溶媒蒸発によって固化すること

10

20

20

30

40

50

ができ、当業者には周知である。型又は元型(mold masters)の一方又は両方がエラストマー材料で構成されている実施形態では、その多くがエラストマーである様々なポリマー材料が適しており、型又は元型を形成するのにも適している。そのようなポリマーの例の非限定的なリストには、シリコーンポリマー、エポキシポリマー及びアクリレートポリマーの一般的なクラスのポリマーが含まれる。エポキシポリマーは、一般にエポキシ基、1,2-エポキシド又はオキシランと呼ばれる3員環状エーテル基の存在を特徴とする。例えば、芳香族アミン、トリアジン及び脂環式骨格に基づく化合物に加えて、ビスフェノールAジグリシジルエーテルを使用することができる。別の例は、周知のノボラックポリマーを含む。本発明に係る使用に適したシリコーンエラストマーの非限定的な例には、メチルクロロシラン、エチルクロロシラン、フェニルクロロシラン、ドデシルトリクロロシランなどのクロロシランを含む前駆体から形成されるものが含まれる。

10

【0043】

ある実施形態では、シリコーンポリマー、例えばシリコーンエラストマーのポリジメチルシロキサンが使用される。P D M S ポリマーの非限定的な例には、ミシガン州ミッドランドのダウ・ケミカル社により商標 Sy l g a r d で販売されているもの、特に Sy l g a r d 182、Sy l g a r d 184、及び Sy l g a r d 186 が含まれる。P D M S を含むシリコーンポリマーは、本発明の様々な構造の加工を単純化する様々な有益な特性を有する。例えば、そのような材料は安価であり、容易に入手可能であり、熱硬化を介してプレポリマー液体から固化することができる。例えば、P D M S は、例えば約1時間、約3時間、約12時間などの暴露時間の間、例えば約65～約75の温度にプレポリマー液体を暴露することによって典型的に硬化可能である。又、P D M S などのシリコーンポリマーは、エラストマーでもよく、したがって、本発明のある実施形態において必要な、比較的高いアスペクト比を有する非常に小さい特徴を形成するのに有用であり得る。この点に関して、フレキシブルな(例えばエラストマーの)型又は元型が有利であり得る。

20

【0044】

P D M S などのシリコーンポリマーからマイクロ流体の構造又はチャネルなどの構造体を形成する1つの利点は、例えばエアプラズマなどの酸素含有プラズマに曝すことによって、そのようなポリマーを酸化させる能力であり、その酸化された構造は、それらの表面に、他の酸化シリコーンポリマー表面又は様々な他のポリマー及び非ポリマー材料の酸化表面と架橋することができる化学基を含む。従って、別の接着剤又は他のシール手段を必要とすることなく、構造体を加工することができ、それから酸化することができ、他のシリコーンポリマー表面又は酸化シリコーンポリマー表面と反応する他の基板表面に、本質的に不可逆的にシールすることができる。ほとんどのケースでは、補助圧力を加えてシールを形成する必要なしに、酸化されたシリコーン表面を別の表面に単に接触させることにより、シールを完成することができる。すなわち、予め酸化されたシリコーン表面は、適切な接着面に対してコンタクト接着剤として機能する。具体的には、酸化されたP D M S などの酸化されたシリコーンは、それ自体以外の、(例えば、酸素含有プラズマへの曝露を介して) P D M S 表面と同様に酸化された、例えばガラス、シリコン、酸化ケイ素、石英、窒化ケイ素、ポリエチレン、ポリスチレン、ガラス状炭素及びエポキシポリマーを含む様々な酸化された材料と不可逆的にシールすることもできる。本発明の背景で有用な酸化及びシール方法、ならびに全体的な成形技術は、当技術分野、例えば、参照により本明細書に組み込まれている「マイクロ流体システム及びポリジメチルシロキサンのラピッドプロトタイピング」Anal. Chem., 70: 474-480, 1998 (Duff) と題する論文に記載されている。

30

【0045】

異なる構成部分は、異なる材料から加工され得る。例えば、底壁及び側壁を含むベース部分は、シリコン又はP D M S などの不透明な材料から加工することができ、上部は、流体プロセスの観察及び/又は制御のために、ガラス又は透明ポリマーなどの透明な又は少なくとも部分的に透明な材料から加工することができる。構成部分は、ベース支持材料が

40

50

正確な所望の機能性を有さない内部チャネル壁に接触する流体に所望の化学的機能性を曝すために、被覆され得る。構成部品は、例えば本明細書で検討されるように、別の材料で被覆された内部チャネル壁とともに、説明されるように加工することができる。本発明のシステム及びデバイスの様々な構成を加工するために使用される材料、例えば流体のチャネルの内壁を被覆するために使用される材料は、望ましくは、悪影響を及ぼさない又は流体システムを通して流れる流体により悪影響を及ぼされないだろうそれらの材料、例えば、デバイス内で使用される流体の存在下で化学的に不活性である材料の中から選択され得る。そのようなコーティングの非限定的な例を以下に開示し、追加の例は Weitzらにより2009年2月11日に出願され、2009年10月1日にWO2009/120254として公開された「制御された濡れ特性を有する、マイクロ流体のチャネルを含む表面」と題する国際特許出願PCT/US2009/000850号に開示されており、参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0046】

いくつかの実施形態では、本発明のあるマイクロ流体構造（又は内部の、流体接触表面）は、ある酸化シリコーンポリマーから形成され得る。そのような表面は、エラストマーポリマーの表面より親水性であってもよい。したがって、そのような親水性表面は、より容易に水溶液で満たされ湿潤され得る。

20

【0047】

いくつかの実施形態では、本発明のマイクロ流体デバイスの底部壁は、1つ以上の側壁又は上部壁又は他の構成部品と異なる材料で形成される。例えば、いくつかの実施形態では、底壁の内面は、シリコンウェハ又はマイクロチップ又は他の基板の、表面を含む。他の構成は、上述のように、そのような代替可能な基板にシールされてもよい。異なる材料の基材（底壁）にシリコーンポリマー（例えばPDMS）を含む組成物をシールすることが望ましい場合、基板は、酸化シリコーンポリマーが不可逆的にシールすることができる材料の群（例えば、ガラス、シリコン、酸化ケイ素、石英、窒化ケイ素、ポリエチレン、ポリスチレン、エポキシポリマー、及びガラス状炭素、の酸化された表面）から選択されてもよい。あるいは、当業者にとって明らかなように、以下に限定されないが、別の接着剤、結合、溶剤接着、超音波溶接の使用などを含む他のシール技術が使用されてもよい。

30

【0048】

従って、ある実施形態では、物品の設計及び／又は加工は、例えば、比較的周知のソフトリソグラフィ及び本明細書に記載されているものなどの他の技術を使用することによって、比較的単純であり得る。さらに、いくつかの実施形態では、物品の迅速な及び／又はカスタマイズされた設計は、例えば幾何学の観点で可能である。一連の実施形態では、例えば、物品が放射性、毒性(toxic)、有毒性(poisonous)、反応性、生体有害性などの物質と共に使用される実施形態、及び／又は物質のプロファイル（例えば、毒生物学的プロファイル、放射能プロファイルなど）が不明である実施形態において、物品は使い捨てであるように製造されてもよい。酸化シリコーンポリマーからチャネル又は他の構造（又は内部の、流体接触表面）を形成する別の利点は、（親水性の内部表面が望まれる）これらの表面が典型的なエラストマーポリマーの表面よりはるかに親水性であり得ることである。従って、そのような親水性のチャネル表面は、典型的な酸化されていないエラストマーポリマー又は他の疎水性材料からなる構造がされ得るよりも、より容易に水溶液で満たされ及び湿潤され得る。

40

【0049】

一連の実施形態では、デバイス内の1つ以上のチャネルは、例えは、固有に、及び／又はその表面又はチャネル壁の1つ以上を処理して、より疎水性又は親水性をそれらに付与することによって、比較的疎水性又は比較的親水性であり得る。一般的に、デバイス中に形成された小滴である流体は、少なくとも小滴を形成する時間スケールでは実質的に非混和性であり、流体は異なる程度の疎水性又は親水性を有することがあるだろう。従って、例えは、第1の流体は第2の流体と比較してより親水性（又はより疎水性）でもよく、第1及び第2の流体は実質的に非混和でもよい。従って、第1の流体は、例えは第1の流体

50

と第2の流体とが実質的に混合することなしに（それにもかかわらずある程度の混合はいくつかの条件下で生じ得るが）第2流体内の不連続な小滴を形成することができる。同様に、第2の流体は、第3の流体（第1の流体と同じ又は異なってもよい）に対してより親水性（又はより疎水性）でもよく、第2及び第3の流体は実質的に非混和でもよい。

【0050】

従って、いくつかのケースでは、チャネルの表面は、チャネル内に含まれる流体に依存して、比較的疎水性又は親水性でもよい。一連の実施形態では、チャネルの表面は、デバイス内の他の表面と比較して疎水性又は親水性である。さらに、いくつかの実施形態では、比較的疎水性の表面は約90°より大きい水接触角を示すことができ、及び／又は比較的親水性の表面は約90°より小さい水接触角を示すことができる。

10

【0051】

いくつかのケースでは、比較的疎水性及び／又は親水性の表面は、例えば、特定の順序におけるチャネル内の複数の流体の入れ子を維持するように、チャネル内の流体の流れを容易にするのに使用され得る。そのような被覆及び他のシステムの追加の詳細は、A b a t e らにより2008年3月28日に出願された「制御された濡れ特性を有するマイクロ流体のチャネルを含む表面」と題する米国仮特許出願第61/040,442号、A b a t e らにより2009年2月11日に出願された「制御された濡れ特性を有するマイクロ流体のチャネルを含む表面」と題する国際特許出願PCT/US2009/000850号を参照することができ、各々は参考により本明細書に組み込まれる。

20

【0052】

本発明のある態様は、概して、本明細書で検討されるものなどのデバイスをスケールアップ又は「ナンバリングアップ（又は数を増やす：numbering up）」するための技術を対象とする。例えば、いくつかのケースでは、比較的多数のデバイスが平行して使用されてもよく、例えば、少なくとも約10個のデバイス、少なくとも約30個のデバイス、少なくとも約50個のデバイス、少なくとも約75個のデバイス、少なくとも約100個のデバイス、少なくとも約200個のデバイス、少なくとも約300個のデバイス、少なくとも約500個のデバイス、少なくとも約750個のデバイス、又は少なくとも約1,000個又はそれ以上のデバイスを並行して操作されてもよい。いくつかのケースでは、そのようなデバイスのアレイは、デバイスを水平方向及び／又は垂直方向に積み重ねることによって形成されてもよい。デバイスは、共通に制御されてもよく、別々に制御されてもよく、用途に依存して、様々な流体の共通の又は別個の供給源を備えることができる。

30

【0053】

当業者であれば、本明細書で検討されるものなどのデバイス又は物品のスケールアップ又はナンバリングアップに有用な他の技術を知っているであろう。例えば、いくつかの実施形態では、流体分配器を使用して、流体を1つ以上の入力から複数の出力に、例えば1つ以上のデバイスに分配することができる。例えば、複数の物品を3次元に接続することができる。いくつかのケースでは、並列デバイス内の圧力変動を実質的に低減することを可能にするチャネル寸法が選択される。適切な技術の他の例には、これに限定されないが、R o m a n o w s k y らにより2010年3月12日に出願され、2010年11月16日にWO2010/104597として公開された「マイクロデバイスのスケールアップ」と題する国際特許出願第PCT/US2010/000753号に開示されているものが含まれ、その全体が参考により本明細書に組み込まれる。

40

【0054】

以下の文献は全ての目的のためにその全体を参照により本明細書に組み込む；2014年4月16日に出願された「比較的薄いシェルを有する小滴エマルジョンを生成するためのシステム及び方法」と題する米国仮特許出願第61/980,541号；L i n k らにより2004年4月9日に出願された「流体種の形成および制御」と題する国際公開公報WO2004/091763号；S t o n e らにより2003年6月3日に出願された「流体分散のための方法及び装置」と題する国際公開公報WO2004/002267号；W e i t z らにより2006年3月3日に出願された「多重エマルジョンを形成するため

50

の方法および装置」と題する国際公開公報WO 2006 / 096571号; Linkらにより2004年8月27日に出願された「流体種の電子制御」と題する国際公開公報WO 2005 / 021151号; Chuらにより2008年3月28日に出願された「形成のためのエマルジョン及び技術」と題する国際公開公報WO 2008 / 121342号; Weitzらにより2010年3月12日に出願された「多重エマルジョンを含むエマルジョンの制御された作製方法」と題する国際公開公報WO 2010 / 104604号; Weitzらにより2010年9月1日に出願された「接合を用いた多重エマルジョン」と題する国際公開公報WO 2011 / 028760号; Weitzらにより2010年9月1日に出願された「噴射及び他の技術を用いて作製された多重エマルジョン」と題する国際公開公報WO 2011 / 028764号; Shumらにより2009年6月4日に出願された「小滴に関連するポリマーソーム、リン脂質、及び他の種」と題する国際公開公報WO 2009 / 148598号; Shumらにより2011年3月16日に出願された「溶融乳化(Melt Emulsification)」と題する国際公開公報WO 2011 / 116154号; Shumらにより2009年6月4日に出願された「流体小滴と関連するポリマーソーム、コロイドソーム、リポソーム、及び他の種」と題する国際公開公報WO 2009 / 148598号; Rotemらにより2012年5月22日に出願された「多重エマルジョンを含むエマルジョンの制御」と題する国際公開公報WO 2012 / 162296号; Kimらにより2012年7月5日に出願された「多重エマルジョン及び多重エマルジョンの形成のための技術」と題する国際公開公報第WO 2013 / 006661号; 及びWeitzらにより2012年8月15日出願された「シェルカプセル化のためのシステム及び方法」と題する国際公開公報WO 2013 / 032709号。

10

20

30

40

50

【0055】

さらに、Weitzらにより2015年10月13日に出願された「ゲルマイクロスフェアの作製及び使用のためのシステム及び方法」と題する米国仮特許出願第62 / 241,079号は、その全体を参照により本明細書に組み込む。

【0056】

以下の実施例は、本発明のある実施形態を示すことを意図しているが、本発明の全範囲を例示するものではない。

【実施例1】

【0057】

本実施例は、ダブルエマルジョンをテンプレートとして使用して単分散ハイドロゲルマイクロスフェアを作製するためのマイクロ流体の手法を示す。重合可能な前駆体を、内相に加え、ダブルエマルジョン液滴の生成後に架橋する。使用する前駆体に依存して、外部相から内部相を一時的に分離するのに、異なる種類の中間相を使用してもよい。一例では、中間相は有機溶媒中のポリマー溶液である。ダブルエマルジョン液滴の形成後、溶媒を沈殿させて薄いポリマーシェルを形成するポリマーを有する水中に速やかに拡散させ、次いでポリマーシェルを、溶液のpHを調整することによって形成する。別の例では、油シェルを有するダブルエマルジョン液滴を調製し、次いで油を遠心分離によって除去する。これらのことにより、マイクロゲルを簡便に且つ効率的に得ることができる。実施例は、ポリ(エチレングリコール)ジアクリレート(P E G D A)及びポリアクリルアミド(P A M)マイクロゲルの製造で続く。

【0058】

ダブルエマルジョンからのポリ(エチレングリコール)ジアクリレート(P E G D A)マイクロゲルはカプセルをテンプレートとした。単分散P E G D Aマイクロゲルを製造するために、図1Aに示すようなガラスキャピラリーベースのマイクロ流体デバイスを使用して、非常に薄い油層で水中-油中-水(W / O / W)のダブルエマルジョン液滴を生成する。デバイスは、四角のキャピラリー中に同軸に組み立てられた2つの先細(tapered)円形のキャピラリーを有する。別の細いキャピラリーを、内部相の入口として小オリフィスの先細キャピラリーに入れる(図1A)。中間相は、小オリフィスの先細キャピラリーと細いキャピラリーとの間の隙間から注入される。外部相は、小オリフィスの先細キャ

ピラリーと四角のキャピラリーとの間の隙間から注入される。内部相は細いキャピラリーの先端でまず液体スラグに分かれる。次に、各液体スラグは、先細のキャピラリーの接合部で中間相シェルとともに多くの単分散液滴に分かれる。内部相は、20 wt %のPEGDA (Mw約700、シグマアルドリッヂ社)の水溶液、2 wt %のPVA (ポリビニルアルコール、Mw約13,000~23,000、87~89%ケン化(hydrolyzed)、シグマアルドリッヂ社)、光開始剤として0.2 wt %のIrgacure 2959、可視化を容易にするために、少量のFITC - デキストラン (Mw約10k、シグマアルドリッヂ社)を有するものとした。中間相は、酢酸エチルに溶解した10 wt %のEudragit (登録商標) EPOとした。Eudragit (登録商標) EPOは、pH5までの酸性溶液に可溶なカチオン性コポリマーである。外部相は、10 wt %のPVA溶液とした。pH11のBDH (登録商標) 緩衝液を添加することにより、内部相及び外部相のpHを7~7.3に調整した。

10

【0059】

図1Aは、薄いシェルのマイクロゲルカプセルのマイクロ流体生成のためのスキームを示す。図1Bは、pH応答性のポリマーシェルを有するマイクロゲルの共焦点顕微鏡画像を示す。図1Cは、酸を添加することによってポリマーシェルを除去した後の清浄なマイクロゲルの共焦点顕微鏡画像を示す。図1Dは、押しつぶされた後にマイクロゲルが小片に粉碎され得ることを示す。

20

【0060】

ダブルエマルジョン液滴を生成した後、酢酸エチルを速やかに水中に拡散させ、EPOを沈殿させて固体シェルを形成した。その間、コア中のPEGDAを重合させるようにUV光をチップ上に照射した。得られたコア - シェルカプセルをpH7~7.3の2 wt % PVA溶液中に収集した。EPOシェルは、図1Bに示すように、重合中のPEGDAの体積収縮によるしわを示すようであった。シェルの厚さ及びカプセルのサイズに依存して、シェルは、図1Eに示すように、いくつかの条件下で割れる可能性もある。

20

【0061】

EPOシェルを除去するために、追加のpH4の希釈酢酸をゲル懸濁液に加えた。図1Cに示すように、次にEPOを酸性溶液により溶解し、結果としてPEGDAマイクロゲルを得た。マイクロゲルは2枚のガラススライドの間で押しつぶされたとき、ゲルは蛍光色素を失うことなく多くの小片に粉碎され、PEGDAが完全に重合したこと示した(図1D)。

30

【実施例2】

【0062】

本実施例は、標準のダブルエマルジョンからポリアクリルアミドマイクロゲルを製造するための手法を示す。単分散のダブルエマルジョンを、図2Aのようなガラスキャピラリーベースのマイクロ流体デバイスを用いて生成した。内部相は、20 wt %のアクリルアミド、0.2 wt %のN,N'-メチレンビスアクリルアミド、及び蛍光マイクロスフェア(0.1マイクロメートル、緑色)を有する0.2 wt %のIrgacure 2959の水溶液とした。中間相は、1 wt %のクライトックス - PEO界面活性剤を有するHF E7500オイルとした。外部相は10 wt %のPVA溶液とした。バイアル中にそれらを収集する前に、チップ上のダブルエマルジョン液滴にUV光を照射した。図2Bに示すように、ダブルエマルジョン液滴及び単一エマルジョンHF E液滴を、いくつかのケースでは、マイクロ流体のチャネル内に交互に生成し、ダブルエマルジョン液滴及び単一エマルジョン液滴の混合物を生じた。

40

【0063】

マイクロゲルからHF Eオイルを除去するために、サンプルを1000 rpmの速度で遠心分離した。遠心分離後、HF Eオイル液滴が底に沈降した。ポリアクリルアミドマイクロゲルはHF E液滴の上に留まり、上層は連続水相であった。マイクロゲルをピペットを用いて分離した。得られたマイクロゲルを図2Cに示す。ガラススライドを用いてマイクロゲルを押しつぶしたとき、ゲルは蛍光を全く失うことなしに、いくつかの小片に粉碎

50

され、アクリルアミドの完全な重合を示した。

【0064】

図2Aは、ゲル-オイルダブルエマルジョンのマイクロ流体生成のスキームを示す。図2Bは、オイルシェルを有するポリアクリルアミドマイクロゲルの共焦点顕微鏡画像である。図2Cは、オイルシェルを除去した後の清浄なポリアクリルアミドマイクロゲルの共焦点顕微鏡画像である。

【実施例3】

【0065】

本実施例は、単一エマルジョンから調製されたPEGDAハイドロゲルマイクロスフェアを示す。マイクロハイドロゲルを製造するために、ガラスキャピラリー装置を使用した。1:1の体積比を有するジクロロメタン(DCM)中の異なる分子量(250、575及び700)を有するポリ(エチレンギリコール)ジアクリレート(PEGDA)を内部相の液体として選択し、10%PVA水溶液を外部相の液体として選択した。内部相及び外部相の流量を、それぞれ1000マイクロリットル/h及び3500マイクロリットル/hとした。図3Aに示すように、水中-油型単一エマルジョン液滴が着実に生成され、次に安定な单分散球形液滴を得るために、コア中のPEGDAを架橋させるのにUV光を用いた。

【0066】

液滴を、エタノール/水(v/v:1/1)で3回洗浄して内部のDCMを除去し、次に純水に浸漬した。上澄を新鮮な純水で3回交換した。最後に、下図に示すように、PEGマイクロハイドロゲル液滴を純粋な脱イオン水中に懸濁し、共焦点顕微鏡を用いて特徴付けた。図3Bは初期状態を示し、図3Cは乾燥状態の光学像を示す。

【実施例4】

【0067】

本実施例は、O/W単一エマルジョンからのDNA含有ポリ(エチレンギリコール)マイクロハイドロゲルの調製を示す。

【0068】

ガラスキャピラリーのマイクロ流体デバイスの製造について。本実施例で使用する全てのマイクロハイドロゲルビーズを、ガラスキャピラリーのマイクロ流体装置を用いて調製した。デバイスを、四角のガラス管と2つの円筒形ガラス管とを用いて、ガラススライド上に組み上げた。簡単に述べると、2つの円筒状キャピラリーを、先細の先端を得るようにFlaming/Brown型マイクロピペットラー(Model P-97、サッター社、米国)で引っ張り、次にそれらの先端を、それぞれ20及び140マイクロメートルの最終直径になるように研磨した。小さな先端を有する先細キャピラリーを、次に第2の四角のキャピラリーに挿入し、注入キャピラリーとして使用した。大きい先端を有する別の先細キャピラリーを、注入先端近くの流れを制限するように反対側の四角のキャピラリーに挿入し、収集キャピラリーとして使用した。DNA含有PEGマイクロハイドロゲルの調製の概略図を示す図4に示しているように、両方のキャピラリーを四角のキャピラリー内で同軸に整列した。

【0069】

PEGマイクロハイドロゲルビーズの調製について。PEGマイクロハイドロゲルビーズを、マイクロ流体デバイスを使用してO/W単一エマルジョン小滴から生成し、続いてUV照射によりPEGアクリレートモノマーを重合させた。油相は、分子量480を有するポリ(エチレンギリコール)メチルエーテルアクリレート20%、架橋剤として分子量575を有するポリ(エチレンギリコール)ジアクリレート5%、及びハイドロゲルビーズ中にカルボキシル基を導入するためのアクリル酸2.5%、とした。溶媒はジクロロメタン(DCM)とした。2,2-ジエトキシアセトフェノンを、4%の濃度で光開始剤として油相に添加した。水相は、ポリビニルアルコール(PVA)10%水溶液とした。油相及び水相の両方を、ハーバードポンプ(ハーバード・アパラタス社、ホリストン、米国)を用いてシリンジでガラスキャピラリーのデバイスにポンプで注入した。油相を、

10

20

30

40

50

120マイクロリットル/hの流量で注入キャピラリーに注入し、水相を四角のキャピラリーの端部を通して注入し、3000マイクロリットル/hの流量で連続相として使用した。O/W単一エマルジョン液滴を収集キャピラリー中に形成した。形成済の液滴を、3%PVA溶液を有するガラス瓶に収集し、続いてUV照射により架橋PEGハイドロゲルネットワークを生成した。調製済のマイクロハイドロゲルビーズを、水及びエタノールで数回洗浄して、マイクロハイドロゲル中のDCMを除去した。最後に、マイクロハイドロゲルビーズをさらなる使用のために1%Tween 20を有するMES緩衝液中に懸濁した。

【0070】

PEGマイクロハイドロゲルにDNAを結合させるように、EDCカップリング法を用いた。2mMのEDC(1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド)及び5mMのNHS(N-ヒドロキシスクシンイミド)を1mLのマイクロヒドロゲルビーズ懸濁液に添加した。10分間ボルテックスにかけた(placed on vortex)後、50マイクロリットルの1mM NH₂-DNAを懸濁液に添加した。室温で一晩反応後、マイクロハイドロゲルビーズを、1%Tween 20溶液で3回、毎回約30分かけて洗浄した。最後に、マイクロハイドロゲルビーズをさらなる試験のために緩衝液に懸濁した。

【0071】

マイクロハイドロゲルへのDNAの取り込みの成功を確認するために、FAM蛍光体溶液を有する相補的DNAをマイクロハイドロゲルビーズ懸濁液に添加した。45分後、上澄溶液を除去し、マイクロヒドロゲルビーズを、1%Tween 20溶液で3回洗浄した。次に、DNAでPEGマイクロハイドロゲルを特徴付けるために共焦点蛍光顕微鏡を使用した。対照として、同じプロセスで処理されるように、DNA機能化なしの調製済PEGマイクロハイドロゲルを選択した。図5A～5Bは、DNAで機能化されたPEGマイクロハイドロゲルからの強い蛍光シグナルを示すが、図5C～5Dは、DNAなしの対照サンプルでは検出可能な蛍光シグナルを示さない。これらの結果は、高い担持効率を有するDNAの取り込みの成功を示す。

【0072】

また、図5A及び5Bは、FAMを有する相補的DNAで処理された後の、DNAを有するPEGマイクロハイドロゲルの共焦点画像を示す。図5C及び5Dは、FAMを有する相補的DNAで処理された後の、対照としてDNAなしのPEGマイクロハイドロゲルの共焦点画像を示す。図5A及び図5Cは、重なり合う透過画像及び蛍光画像である。図5B及び5Dは蛍光画像である。

【0073】

本発明の様々な実施形態は本明細書で記載され、示されてきたが、当業者はその機能を実行するために、及び/又はその結果を得るために、及び/又は本明細書で記載した1つ以上の利点のために、様々な他の方法及び/又は構造体をすぐに想像するであろう。より一般的には、当業者は、本明細書で検討された全てのパラメータ、寸法、材料、及び形態は、代表的なものであり、実際のパラメータ、寸法、材料、及び/又は形態は、特定の用途又は本発明の技術が使用される用途に依存すると、すぐに認識するであろう。そして、そのようなバリエーション及び/又は変更の各々は本発明の範囲内であるとみなされる。当業者は、本明細書で検討された本発明の特定の実施形態と同等の多くのものを通常範囲内の実験で用いて認識する、又は確認することができるであろう。従って、前述の実施形態は例のためだけに示され、添付した請求項及びそれと同等の範囲内で、本発明は特に検討された及び請求された通り以外に実施され得ると理解すべきである。本発明は、本明細書で記載する各個別の特徴、システム、物品、材料、キット、及び/又は方法を対象とする。さらに、もしそのような特徴、システム、物品、材料、キット、及び/又は方法が互いに食い違うことがなければ、2つ以上のその特性、システム、物品、材料、キット、及び/又は方法のいずれの組み合わせを本発明の範囲内に含まれる。

【0074】

10

20

30

40

50

本明細書で規定される、及び用いられる全ての定義は、辞書の定義、参照により組み込まれる文献中の定義、及び／又はその定義された用語の通常の意味よりも優先されると理解すべきである。

【0075】

明細書中及び請求項中において、本明細書で使用される不定冠詞の“a”及び“an”は、明確に反対の指示がなければ、“少なくとも1つの”を意味すると理解すべきである。

【0076】

明細書中及び請求項中において、本明細書で使用される“及び／又は(and/or)”という句は、要素の“一方又は両方(either or both)”、が結合されるように、すなわちいくつかのケースでは結合して存在し、他のケースでは分離して存在する要素を意味すると理解すべきである。“及び／又は(and/or)”で表された多くの要素は同様に、すなわち“1つ以上の(one or more)”の要素が結合されるように解釈すべきである。他の要素は、特に識別されたそれらの要素に関係するか否かに関わらず、“及び／又は(and/or)”の節によって特に識別される要素以外は任意に存在する。従って、非限定的な例として、“含む(comprising)”などの非限定の語を接続して使用されるときの“A及び／又はB(A and/or B)”への言及は、ある実施形態ではAのみに(任意にB以外の要素を含む)、別の実施形態ではBのみに(任意にA以外の要素を含む)、さらに別の実施形態では、AにもBにも(任意に他の要素を含む)等を指し得る。

10

【0077】

明細書中及び請求項中において、本明細書で使用される“又は(or)”は上述に規定されるような“及び／又は(and/or)”と同様の意味を有すると理解すべきである。例えば、リスト中の項目を分離するとき、“又は(or)”又は“及び／又は(and/or)”は包括的、すなわち、多くの要素の内の、又は要素のリストの内の、及び任意に追加のリストにない項目の内の1つ以上も含むが少なくとも1つを含むと解釈されるものとする。反対に“1つだけの(only one of)”又は“丁度1つの(exactly one of)”などの明確に指示された用語のみ又は請求項で“～からなる(consisting of)”が使用されるときは、多くの要素の内の、又は要素のリストの内の丁度1つの要素を含むことを指すだろう。一般的に、本明細書で使用される“又は(or)”という用語は、“一方(either)”、“1つの(one of)”、“1つだけの(only one of)”又は“丁度1つの(exactly one of)”などの排他的な用語が先行されないとき、排他的な二者択一(すなわち“1つの又は他方の、しかし両方ではない(one or the other but not both)”)を指示するとしてのみ解釈され、特許法の分野でその通常の意味を有するものとする。

20

30

【0078】

明細書中及び請求項中において、本明細書で使用されるように、1つ以上の要素のリストに関連する“少なくとも1つの(at least one)”という句は、要素のリスト内で特に示された各々及び全ての要素の少なくとも1つを必ずしも含まず、及び要素のリスト中の要素のいずれの組み合わせを除かないが、要素のリスト中の要素のいずれの1つ以上から選択される少なくとも1つの要素を意味すると理解すべきである。また、この定義により“少なくとも1つの(at least one)”という句が指す要素のリスト内で特に識別される要素以外は、特に識別されるそれらの要素に関連するか否かに関わらず、要素が任意に存在し得ることが可能となる。従って、非限定的な例として、“A及びBのうち少なくとも1つの(at least one of A and B)”(又は同等に“少なくとも1つのA又はB(at least one of A or B)”又は同等に“A及び／又はBの少なくとも1つの(at least one of A and/or B)”)は、1つの実施形態では、少なくとも1つの、任意に1つ以上のものを含む、Aであって、Bは存在しない(及び任意のB以外の要素を含む)、別の実施形態では、少なくとも1つの、任意に1つ以上を含むBであって、Aは存在しない(及び任意にA以外の要素を含む)、さらに別の実施形態では、少なくとも1つの、任意に1つ以上を含むA、及び少なくとも1つの、任意に1つ以上を含むB(及び任意に他の要素を含む)等を指し得る。

40

50

【0079】

“約(about)”という単語は数に関連して本明細書で使用されるとき、本発明のさらなる他の実施形態は、“約”という単語の存在によって変更されない数を含むと理解すべきである。

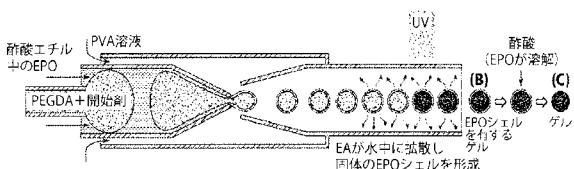
【0080】

明確に反対の指示がなければ、1つ以上の段階又は反応を含む、本明細書で請求されるいずれの方法において、その方法の段階又は反応の順は、必ずしも記載された方法の段階又は反応の順に限定されないと理解すべきである。

【0081】

請求項、並びに上述の明細書中では、“含む(comprising)”、“含む(including)”、“担持する(carrying)”、“有する(having)”、“含む(containing)”、“含む(involved)”、“保持する(holding)”、“～を含む(composed of)”等の全ての移行句は非限定である、すなわち含むことを意味するが限定されないことを理解すべきである。“～からなる(consist of)”及び“本質的に～からなる(consisting essentially of)”という移行句のみ、米国特許序審査手順書第2111.03節に記載のように、それぞれ限定又は半限定の移行句である。 10

【図1A】



【図1B】

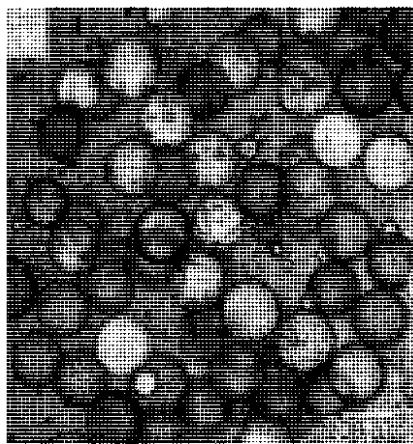


FIG.1B

【図1C】

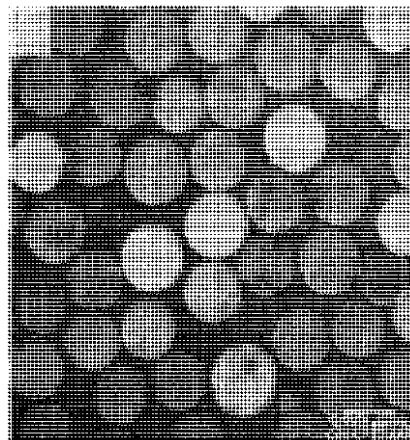


FIG.1C

【図1D】

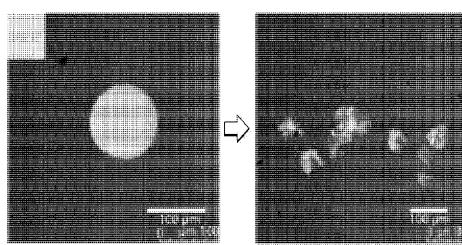


FIG.1D

【図 1 E】

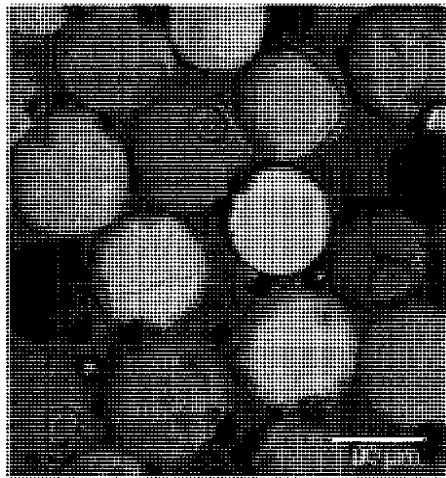


FIG. 1E

【図 2 B】

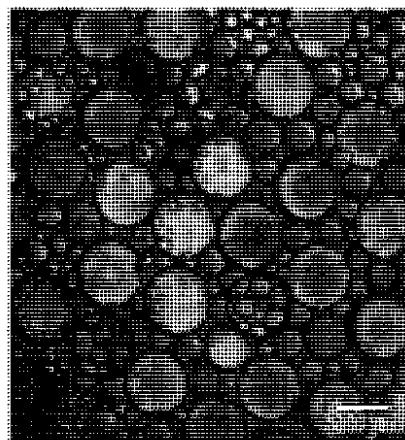
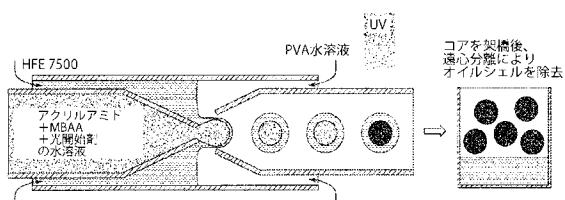


FIG. 2B

【図 2 A】



【図 2 C】

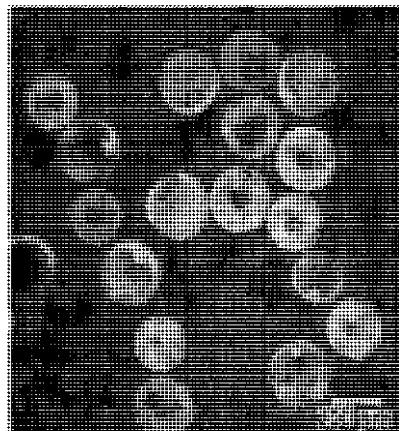


FIG. 2C

【図 3 B】

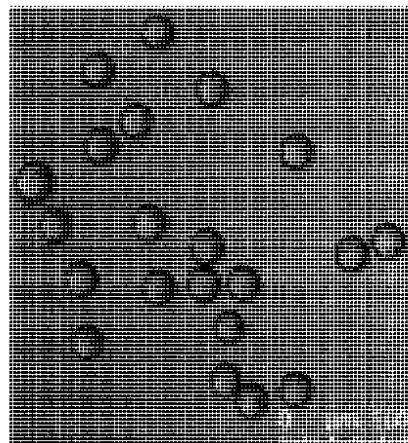
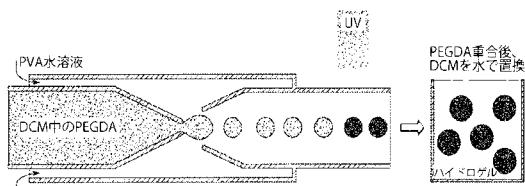


FIG. 3B

【図 3 A】



【図 3C】

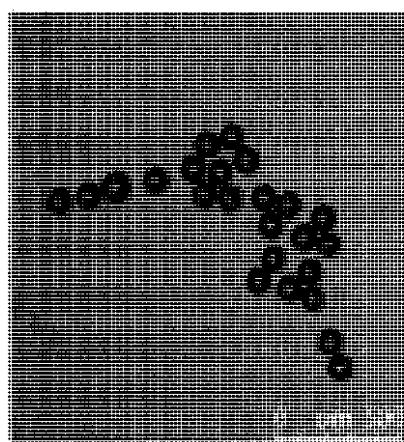
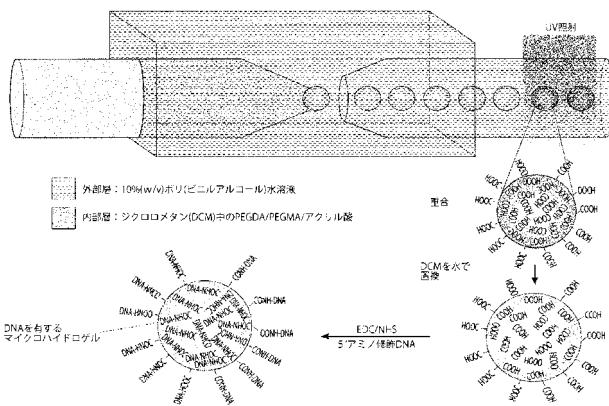


FIG. 3C

【図 4】



【図 5A】

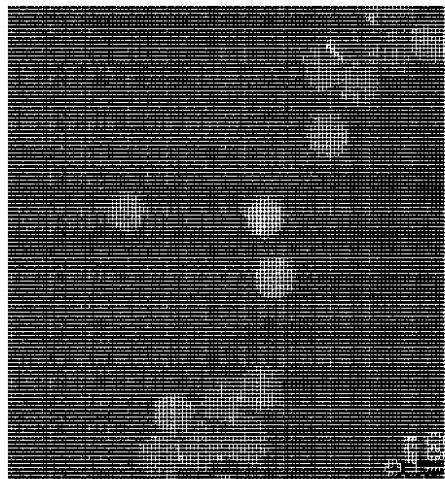


FIG. 5A

【図 5B】

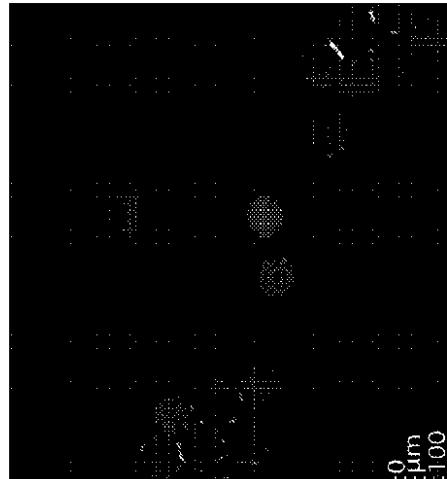


FIG. 5B

【図 5 C】

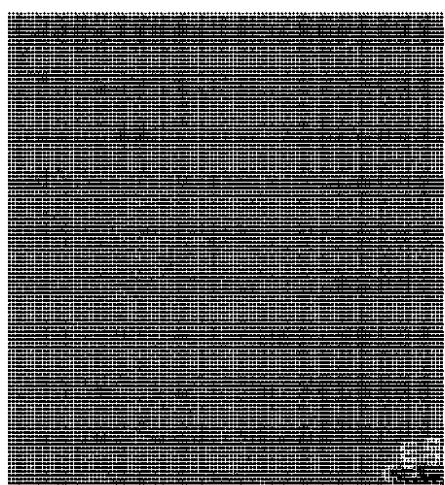


FIG. 5C

【図 5 D】

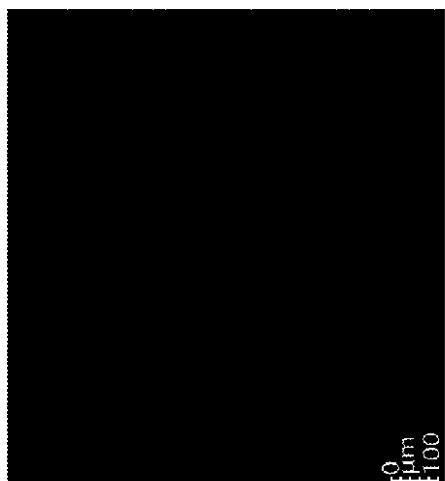


FIG. 5D

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 16/56509
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 8/04; A61K 9/13 (2016.01) CPC - A61K 8/04; A61K 9/13; B01F 2003/0838; B01J 13/0052 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8); A61K 8/04; A61K 9/13 (2016.01) CPC: A61K 8/04; A61K 9/13; B01F 2003/0838; B01J 13/0052		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC: 516/54; 516/502		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Google Scholar, Google Patents, PatBase Keywords used: double, multiple, emulsion, droplet, inner, outer, carrier, fluid, liquid, solidify, cure, gel, remove, evaporate, solvent, suspension		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2014/0199731 A1 (Agresti et al.) 17 July 2014 (17.07.2014); para [0011], para [0058], para [0061], para [0062], para [0118], para [0128], para [0129], para [0133], fig. 1a to 1d	1-3, 30-32
A	US 2009/0131543 A1 (Weitz et al.) 21 May 2009 (21.05.2009); entire document	1-3, 30-32
A	US 2012/0211084 A1 (Weitz et al.) 23 August 2012 (23.08.2012); entire document	1-3, 30-32
A	US 2009/0012187 A1 (Chu et al.) 08 January 2009 (08.01.2009); entire document	1-3, 30-32
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 05 December 2016	Date of mailing of the international search report 10 JAN 2017	
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer: Lee W. Young <small>PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774</small>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 18/56509						
Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)								
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:								
1.	<input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:							
2.	<input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:							
3.	<input checked="" type="checkbox"/> Claims Nos.: 4-29 and 33-46 because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).							
Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)								
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:								
1.	<input type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.							
2.	<input type="checkbox"/> As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.							
3.	<input type="checkbox"/> As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:							
4.	<input type="checkbox"/> No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:							
Remark on Protest <table> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td>The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td>The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/></td> <td>No protest accompanied the payment of additional search fees.</td> </tr> </table>			<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.	<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.	<input type="checkbox"/>	No protest accompanied the payment of additional search fees.
<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.							
<input type="checkbox"/>	The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.							
<input type="checkbox"/>	No protest accompanied the payment of additional search fees.							

フロントページの続き

(51) Int.CI.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	A 6 1 K 31/7088	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,R0,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA

(特許序注：以下のものは登録商標)

1 . T W E E N

(72)発明者 アリレザ・アップスホールド
アメリカ合衆国 1 4 8 5 0 ニューヨーク州イサカ、ウエスト・クリントン・ストリート 5 2 7 番
 (72)発明者 ジン・ファン
アメリカ合衆国 0 2 1 4 0 マサチューセッツ州ケンブリッジ、1 / 2 オックスフォード・ストリート 1 3 2 番、アパートメント 1
 (72)発明者 ウェイシア・ジャン
アメリカ合衆国 0 2 1 3 8 マサチューセッツ州ケンブリッジ、カーカランド・ストリート 8 1 番
 F ターム(参考) 4C076 AA09 AA61 AA95 EE10 EE12 EE23 EE59
 4C084 AA13 MA05 MA38 NA13
 4C086 AA01 AA02 EA16 MA03 MA05 MA38 NA13