

(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2014-524881

(P2014-524881A)

(43) 公表日 平成26年9月25日(2014.9.25)

(51) Int.Cl.

**C30B 29/60**

(2006.01)

C12N 1/00

(2006.01)

F 1

C30B 29/60

C12N 1/00

テーマコード(参考)

4 B 0 6 5

4 G 0 7 7

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 72 頁)

(21) 出願番号 特願2014-520359 (P2014-520359)  
 (86) (22) 出願日 平成24年7月13日 (2012.7.13)  
 (85) 翻訳文提出日 平成26年3月14日 (2014.3.14)  
 (86) 國際出願番号 PCT/US2012/046636  
 (87) 國際公開番号 WO2013/010066  
 (87) 國際公開日 平成25年1月17日 (2013.1.17)  
 (31) 優先権主張番号 61/507,944  
 (32) 優先日 平成23年7月14日 (2011.7.14)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(71) 出願人 513000724  
 コバリス、インコーポレイテッド  
 アメリカ合衆国、マサチューセッツ州 O  
 1801-1721, ウォバーン、ギル  
 ストリート 14, ユニット エイチ  
 (74) 代理人 100079108  
 弁理士 稲葉 良幸  
 (74) 代理人 100109346  
 弁理士 大貫 敏史  
 (72) 発明者 ベケット、カール  
 アメリカ合衆国、マサチューセッツ州 O  
 1451, ハーバード、ジェイコブ ゲー  
 ツ 27

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】集束音響を使用してナノ結晶組成物を調製するためのシステムおよび方法

## (57) 【要約】

【課題】適切なナノ結晶組成物を生成する。

【解決手段】結晶成長を引き起こすおよび/または高めるために集束音響加工を使用してナノ結晶組成物を調製するための方法およびシステム。フロースルーシステムは、少なくとも0.1mL/分の速度で加工チャンバを通過する間に、30mLよりも多いまたは少ない体積を有する試料材料を集束音響エネルギーに曝すために用いることができる。試料材料は、周期的に、および/または結晶化度などの試料の監視される特性に基づく加工パラメータの調整により、適切な集束音響場によって加工することができる。試料中のナノ結晶粒子は、平均粒径が10nm~1ミクロンである、密な粒度分布を有することができる。安定したナノ結晶組成物は、制御可能な形態および寸法を有するために集束音響を使用して制限可能に調製することができる。

【選択図】図6

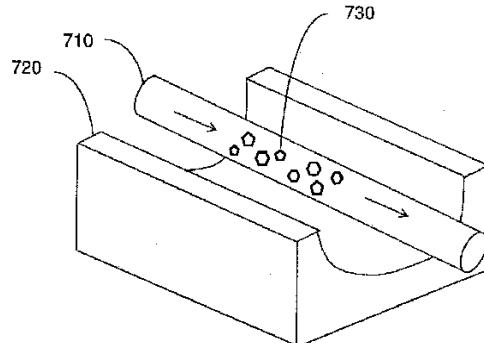


Fig. 6

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

ナノ結晶組成物を調製する方法であつて、  
容器内で 30 mL 超の体積を構成する試料の少なくとも一部分を提供する工程と、  
少なくとも 0.1 mL / 分の速度で前記容器を通る前記試料の前記少なくとも一部分の  
流れを引き起こす工程と、

前記試料の前記少なくとも一部分が前記焦点ゾーン内に配置されるように、約 100 キ  
ロヘルツ～約 100 メガヘルツの周波数と約 2 センチメートルよりも小さい大きさ寸法を  
有する焦点ゾーンとを有する集束音響エネルギーを前記容器の壁を通して送る工程と、

前記試料を少なくとも部分的に前記焦点ゾーンに曝すことによって、約 10 nm～約 1  
ミクロンの平均的な大きさを有する前記試料中で、結晶成長によって、複数の結晶粒子を  
形成する工程と

を含む方法。

**【請求項 2】**

前記複数の結晶粒子の平均的な大きさが、前記焦点ゾーンに前記試料を曝した後に 1 時  
間よりも短い持続時間にわたって 20 % より多く変化しない、  
請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 3】**

前記焦点ゾーンに前記試料を曝した後の前記複数の結晶粒子の最終的な平均的な大きさ  
が、前記焦点ゾーンに前記試料を曝す前の前記複数の結晶粒子の初期の平均的な大きさよりも、  
前記初期の平均的な大きさの少なくとも 100 % 大きい、  
請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 4】**

前記焦点ゾーンに前記試料を曝す間の前記試料中の前記複数の結晶粒子の平均的な大き  
さが 100 % よりも多く変化しない、  
請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 5】**

前記試料の体積が 100 mL より多い、  
請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 6】**

前記試料の体積が 1 L より多い、  
請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 7】**

前記試料が 1 時間未満にわたって前記焦点ゾーンに曝される、  
請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 8】**

前記試料中の前記複数の結晶粒子が約 100 nm～約 700 nm の平均的な大きさを有  
する、

請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 9】**

前記試料中の前記複数の結晶粒子が、1.0 よりも小さい多分散指数を有する、  
請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 10】**

前記試料中の前記複数の結晶粒子が前記試料中の全粒子の 90 % 超を構成する、  
請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 11】**

前記試料が前記少なくとも 1 つの加工チャンバ内に配置されている間に前記焦点ゾーン  
に曝されるように、前記容器の少なくとも 1 つの加工チャンバを通る前記試料の一部分の  
流れを引き起こす工程をさらに含む、

請求項 1 に記載の方法。

10

20

30

40

50

**【請求項 1 2】**

前記少なくとも 1 つの加工チャンバが入口と出口とを含む、  
請求項 1 1 に記載の方法。

**【請求項 1 3】**

前記少なくとも 1 つの加工チャンバを通る前記試料の一部分の流れを引き起こす工程が、前記少なくとも 1 つの加工チャンバの前記入口および前記出口を通る前記試料の前記一部分の流れを引き起こす工程と、前記試料を前記焦点ゾーンに複数回曝す工程とを含む、請求項 1 2 に記載の方法。

**【請求項 1 4】**

前記少なくとも 1 つの加工チャンバが少なくとも 1 つのリザーバと流体連通する、  
請求項 1 2 に記載の方法。 10

**【請求項 1 5】**

前記少なくとも 1 つの加工チャンバの前記入口が供給リザーバと直接流体連通し、前記少なくとも 1 つの加工チャンバの前記出口が出口リザーバと直接流体連通する、  
請求項 1 4 に記載の方法。

**【請求項 1 6】**

前記少なくとも 1 つの加工チャンバが、第 2 の加工チャンバの入口と直接流体連通する  
出口を有する第 1 の加工チャンバを備える、

請求項 1 1 に記載の方法。

**【請求項 1 7】**

前記少なくとも 1 つの加工チャンバの容積が前記容器の容積よりも小さい、請求項 1 1  
に記載の方法。 20

**【請求項 1 8】**

前記試料の前記体積が前記少なくとも 1 つの加工チャンバの前記容積よりも小さい、  
請求項 1 7 に記載の方法。

**【請求項 1 9】**

前記少なくとも 1 つの加工チャンバが、5 よりも大きい縦横比を有する形状を備える、  
請求項 1 1 に記載の方法。

**【請求項 2 0】**

前記焦点ゾーンが 5 よりも大きい縦横比を有する、  
請求項 1 に記載の方法。 30

**【請求項 2 1】**

前記少なくとも 1 つの加工チャンバがドーム形または円筒状の形状を備える、  
請求項 1 1 に記載の方法。

**【請求項 2 2】**

前記少なくとも 1 つの加工チャンバが使い捨てである、  
請求項 1 1 に記載の方法。

**【請求項 2 3】**

前記容器内の前記試料の一部分の流れを引き起こす工程が、約 0 . 5 m L / 分 ~ 約 1 0  
0 m L / 分の速度で前記容器を通る前記試料の前記一部分の流れを引き起こす工程を含む  
、

請求項 1 に記載の方法。 40

**【請求項 2 4】**

前記試料が前記焦点ゾーン内に少なくとも部分的に配置されるように集束音響エネルギーを送る工程が、バーストあたり 1 0 0 よりも多いサイクルで前記集束音響エネルギーを送る工程を含む、  
請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 2 5】**

前記送られた集束音響エネルギーが、バーストあたり 1 0 0 0 サイクル ~ バーストあたり 6 0 0 0 サイクルを備える、  
50

請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記試料が生物活性剤を含む、

請求項 1 に記載の方法。

【請求項 27】

前記試料が co-former 材料をさらに含む、

請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

前記集束音響エネルギーへの前記試料の曝露が間欠的な期間で起こる、

請求項 1 に記載の方法。

【請求項 29】

ナノ結晶組成物を調製する方法であって、

容器内の試料を用意する工程と、

前記試料の前記少なくとも一部分が前記焦点ゾーン内に配置されるように、約 100 キロヘルツ～約 100 メガヘルツの周波数と約 2 センチメートルよりも小さい大きさ寸法を有する焦点ゾーンとを有する、バーストあたり 1000 サイクル～バーストあたり 6000 サイクルの集束音響エネルギーを前記容器の壁を通して送る工程と、

前記試料を少なくとも部分的に前記焦点ゾーンに曝すことによって、約 10 nm～約 1 ミクロンの平均的な大きさを有する前記試料中で、結晶成長によって、複数の結晶粒子を形成する工程と

を含む方法。

【請求項 30】

前記容器内の前記試料が 30 mL 超の体積を構成する、

請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

少なくとも 0.1 mL / 分の速度で前記容器を通る前記試料の少なくとも一部分の流れを引き起こす工程をさらに含む、

請求項 29 に記載の方法。

【請求項 32】

ナノ結晶組成物を調製するためのシステムであって、

容器と、

前記容器内に配置された 1 mL 超の体積を構成する試料であって、前記容器が、少なくとも 0.1 mL / 分の速度で前記容器内の前記試料の一部分の流れを引き起こすように構築および配置された、試料と、

前記容器と間隔を空けて、前記容器の外に配置された音響エネルギー源であって、前記試料が少なくとも部分的に焦点ゾーン領域内に配置されるように、約 100 kHz～約 100 MHz の周波数と約 2 cm 未満の大きさを有する前記焦点ゾーンとを有する集束音響エネルギーを前記容器の壁を通して放出するように適合され、所定の期間にわたって前記試料を前記焦点ゾーンに曝すと、前記試料が、結晶成長によって形成されて約 10 nm～約 1 ミクロンの平均的な大きさを有する複数の結晶粒子を備える、音響エネルギー源とを備えるシステム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本明細書において説明する態様は、ナノ結晶組成物を調製するための集束音響エネルギーの使用に関する。場合によっては、本明細書において説明するナノ結晶組成物ならびに関連するシステムおよび方法は、生物活性剤の送達に関連する分野における用途を有することができる。

【背景技術】

【0002】

10

20

30

40

50

音響処理システムは、試料を音響場に曝すために使用されることが可能である。音響処理を行い得る試料としては、遺伝物質（たとえば、DNA、RNA）、組織物質（たとえば、骨、結合組織、血管組織）、植物物質（たとえば、葉、種子）、細胞、および他の物質がある。音響処理システムは、生物学的品目および／または非生物学的品目を処理するために使用されてよい。いくつかの配置では、音響エネルギーが比較的強く、試料材料を断片化、溶解、または他の形で破壊することが可能である。たとえば、細胞膜および他の成分が破壊または分解され、その結果DNAまたは他の遺伝物質が液体中に放出されるように、複数の細胞を含有する試料を音響処理にかけることができる。その後、遺伝物質は、収集され、種々のタイプの分析に使用されてよい。音響処理システムは、音響変換器を使用して、これらのプロセスに適した音響場を生成する。この音響場は、試料材料上で所望の効果を引き起こすように、集束され、または他の形で配置されてよい。このようなシステムの例が、米国特許第6,948,843号明細書、第6,719,449号明細書、第7,521,023号明細書、および第7,687,026号明細書に記載されている。

10

#### 【発明の概要】

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0003】

本明細書に記載される態様は、集束超音波音響加工を使用してナノ結晶組成物を調製するためのシステムおよび方法に関する。具体的には、集束超音波音響エネルギーは、試料中の結晶成長を誘発してサブミクロンの特徴を有する複数の安定したナノ結晶粒子をもたらす方法で、概ね大きな体積（たとえば、一般的に試験管内に保持される試料の体積よりも多い、すなわち30mLよりも多い）を有する試料に印加することができる。いくつかの実施形態では、ナノ結晶粒子は、液体溶液中の粒子の懸濁液として形成され得る。場合によっては、必須ではないが、ナノ結晶粒子は、医薬品および／または他の治療用化合物などの、生物活性剤のための送達システム内の薬剤として提供され得る。

20

#### 【0004】

大量のナノ結晶組成物の調製は本開示の要件ではない。したがって、いくつかの実施形態では、集束音響を使用するシステムおよび方法は、適切なナノ結晶組成物をもたらすように、少量（たとえば、試験管またはマイクロウェルプレート内で加工できる試料の体積すなわち30mLよりも少ない体積）を加工するために用いることができる。たとえば、バーストあたりのサイクル数、デューティサイクル、集束音響処理の継続時間、集束音響場の電力レベルなどの特定のプロセスパラメータの制御に関する態様は、本明細書において説明する適切なナノ結晶組成物を生成する際に有効であることがわかっている。

30

#### 【0005】

ナノ結晶組成物を調製する際、たとえば概ね大量を有する試料は、加工領域またはチャンバを有する容器内に配置および／または導入され、試料の少なくとも一部分を、2センチメートルよりも小さい大きさ寸法を有する音響エネルギーの焦点ゾーンに曝すことができる。音響場の焦点ゾーンに混合物を十分に曝したときに、約10nm～約1ミクロンの平均的な大きさを有する複数の粒子を有する安定したナノ結晶組成物が得られるよう、集束音響場は、適切な条件下で適切な電力レベルで特定の期間（複数可）にわたって動作させられる音響エネルギー源から生成することができる。たとえば、音響エネルギー源は、パルス化されたやり方で集束音響場を生成することができ、バーストあたりで多数のサイクル（たとえば、バーストあたり最大5000サイクル）を生成することができる。

40

#### 【0006】

場合によっては、集束音響場は、試料中の部位の核となる働きをし、核生成部位においてナノ粒子の結晶成長を起こすことができる。集束音響場はまた、ナノ粒子の結晶成長を増大させ、試料がそれ以上集束音響場にかけられない場合、ナノ粒子の結晶成長の速度よりも速い速度で結晶を試料中で成長させることができる。いくつかの実施形態では、集束音響場は、その後で結晶成長が起こり得る試料中の部位の核生成を引き起こす際に機能することができるだけでなく、集束音響場はまた、試料中で成長した結晶性材料の一部分を折る（break off）ことができる。適切な集束音響場は、試料中内の特定の場所で結晶性

50

材料の片を折ることがあるが、いくつかの例では、破断が発生した結晶の領域で、亜結晶が成長することができる。場合によっては、亜結晶は残っている結晶の部分から成長することができ、または場合によっては、亜結晶は、主結晶の折られた結晶の部分から成長することができる。

#### 【0007】

50 mLより多い、100 mLより多い、1 Lよりも大きい、またははるかに多い試料などの大量の試料を、結晶成長によってナノ結晶粒子を形成するために集束音響によって加工することができる。いくつかの実施形態では、フロースルーシステムは、大きな体積を有する試料を音響的に処理するために使用することができる。たとえば、試料は、試料が加工チャンバ内に配置される間に集束音響場の焦点ゾーンに曝されるように、容器の加工チャンバを通過することができる。種々の実施形態では、本明細書において説明するナノ結晶組成物の適切な調整は、フロースルーシステムを必要としない。たとえば、試料は、試験管、ピペット、またはマルチウェルプレートなどの入口または出口を有さない加工チャンバ内でナノ結晶組成物を形成するために、集束音響を使用して加工することができる。

10

#### 【0008】

場合によっては、加工チャンバは、試料の全量よりも小さい容積を有することができる。たとえば、試料の一部分は、加工チャンバを通過して、集束音響処理にかけることができる。集束音響処理にかけられた試料の部分は、次に、システム内または外部の別の場所に移動することができる。

20

#### 【0009】

試料の種々の一部分は、1回または複数回、音響的に処理することができる。たとえば、試料は、加工チャンバとリザーバの間を循環的に流れることができる。または、試料は、複数の加工チャンバを有するシステムを通過し、加工チャンバのそれぞれの中で音響的に加工することができる。いくつかの実施形態では、加工チャンバは細長い管路であってよく、集束音響場の焦点ゾーンも、試料が加工チャンバを通過するときに試料を音響的に処理するように細長くてよい。容器を通る（たとえば、加工チャンバを通る）試料の少なくとも一部分の流量は、少なくとも0.1 mL / 分であってもよいし、約0.5 mL / 分～約100 mL / 分であってもよい。フロースルー配置を使用するので、音響的に加工できる試料材料の量に関する制限はない。

30

#### 【0010】

バーストあたりのサイクル数などの集束音響場の特定のパラメータは、ナノ結晶組成物を適切に生成する際に影響を及ぼし得る。場合によっては、集束音響場のバーストあたりのサイクル数を適切に調整すると、結晶成長のための部位の核生成および／または結晶成長自体を強化することができる。いくつかの実施形態では、集束音響場は、バーストあたり100サイクル～バーストあたり6000サイクルの範囲内で動作することができる。たとえば、ナノ結晶組成物を調製するために使用される集束音響場は、100よりも大きいバーストあたりのサイクル数、1000よりも大きいバーストあたりのサイクル数、2000よりも大きいバーストあたりのサイクル数、3000よりも大きいバーストあたりのサイクル数、4000よりも大きいバーストあたりのサイクル数、5000よりも大きいバーストあたりのサイクル数、または6000よりも大きいバーストあたりのサイクル数で動作することができる。いくつかの状況では、試料が、適切な量のバーストあたりのサイクル数（たとえば、バーストあたり5000サイクル）を有する集束音響場にかけるとき、密な粒度分布を備えた安定したナノ結晶組成物を得ることができる。

40

#### 【0011】

例示的な一実施形態では、ナノ結晶組成物を調製する方法が提供される。この方法は、容器内に30 mL超の量を構成する試料の少なくとも一部分を提供する工程と、少なくとも0.1 mL / 分の速度で容器を通る試料の少なくとも一部分の流れを引き起こす工程と、試料が少なくとも部分的に焦点ゾーン内に配置されるように、約100キロヘルツ～約100メガヘルツの周波数を有し約2センチメートル未満の大きさ寸法を有する集束領域

50

を有する集束音響エネルギーを容器の壁を通して送る工程と、試料が少なくとも部分的に焦点ゾーンに曝されることによって、約10nm～約1ミクロンの平均的な大きさを有する試料中で、結晶成長によって、複数の結晶粒子を形成する工程とを含む。

#### 【0012】

さらなる例示的な実施形態では、ナノ結晶組成物を調製する方法が提供される。この方法は、容器内の試料を用意する工程と、この試料の少なくとも一部分が焦点ゾーン内に配置されるように、約100キロヘルツ～約100メガヘルツの周波数と約2センチメートルよりも小さい大きさ寸法を有する焦点ゾーンとを有する、バーストあたり1000サイクル～バーストあたり6000サイクルの集束音響エネルギーを容器の壁を通して送る工程と、試料が少なくとも部分的に焦点ゾーンに曝されることによって、約10nm～約1ミクロンの平均的な大きさを有する試料中で、結晶成長によって、複数の結晶粒子を形成する工程とを含む。

10

#### 【0013】

別の例示的な実施形態では、ナノ結晶組成物を調製するためのシステムが提供される。このシステムは、容器と、この容器内に配置された1mL超の体積を構成する試料であって、この容器が、少なくとも0.1mL/分の速度で容器内の試料の一部の流れを引き起こすように構築および配置された、試料と、容器と間隔を空けて、容器の外に配置された音響エネルギー源であって、試料が少なくとも部分的に焦点ゾーン領域内に配置されるように、約100kHz～約100MHzの周波数と約2cm未満の大きさを有する焦点ゾーンとを有する集束音響エネルギーを容器の壁を通して放出するように適合され、所定の期間にわたって試料を焦点ゾーンに曝すと、試料が、結晶成長によって形成されて約10nm～約1ミクロンの平均的な大きさを有する複数の結晶粒子を備える、音響エネルギー源とを備える。

20

#### 【0014】

本発明の種々の実施形態は、いくつかの利点を提供する。本発明のすべての実施形態が同じ利点を共有するわけではなく、同じ利点を共有する実施形態が、すべての状況下で同じ利点を共有するわけではない。

30

#### 【0015】

本発明のさらなる特徴および利点ならびに本発明の種々の実施形態の構造を、添付の図面を参照して以下で詳細に説明する。

#### 【0016】

本発明の非限定的な実施形態は添付の図を参照して例として説明され、これらの図は概略的なものであり、縮尺どおりに描かれることを意図されていない。図中、図示された同一のまたはほぼ同一の構成要素の各々が、通常は1つの数字によって表される。当業者に本発明を理解させるために例示が必要でない場合、明確にするために、すべての構成要素がすべての図に表示されているわけでもなく、本発明の各実施形態のすべての構成要素が示されているわけでもない。図中の説明は以下のとおりである。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0017】

- 【図1】例示的な実施形態による音響処理システムの概略図である。
- 【図2】例示的な実施形態による別の音響処理システムの概略図である。
- 【図3】例示的な実施形態によるさらなる音響処理システムの概略図である。
- 【図4】例示的な実施形態による異なる音響処理システムの概略図である。
- 【図5】例示的な実施形態によるさらに別の音響処理システムの概略図である。
- 【図6】例示的な実施形態による音響処理システムの加工チャンバの概略図である。
- 【図7】一例による試料の粒度分布のグラフである。
- 【図8】別の例による試料の粒度分布のグラフである。
- 【図9】ある期間の後の、図8の試料の粒度分布のグラフである。
- 【図10】異なる例による試料の粒度分布のグラフである。
- 【図11】ある期間の後の、図10の試料の粒度分布のグラフである。

40

50

【図12】さらに別の例による試料の粒度分布のグラフである。

【図13】ある期間の後の、図12の試料の粒度分布のグラフである。

【図14】別の例による試料の粒度分布のグラフである。

【図15】ある期間の後の、図14の試料の粒度分布のグラフである。

【図16】容器の中に受け入れられたチャンバを含む、一実施形態における音響処理システムの拡大斜視図である。

【図17】組み立て状態における図16の実施形態の断面図である。

【図18】ジャケット付き熱交換システムを有する音響処理チャンバの断面図である。

【図19】例示的な一実施形態における、挿入要素を有する音響処理チャンバの断面図である。

【図20】例示的な一実施形態における、吊り下げられたロッドと球形要素とを含む挿入要素を有する音響処理チャンバの断面図である。

【図21】攪拌器(agitator)を備えたリザーバを含む音響処理システムの例示的な一実施形態を示す図である。

【図22】材料の流れを振動させるために配置された音響処理システムの例示的な一実施形態を示す図である。

【図23】複数の処理チャンバを使用する材料の逐次処理のために配置された音響処理システムの例示的な一実施形態を示す図である。

【図24】一実施形態における音響処理システムの概略図である。

【図25】別の例示的な実施形態における音響処理チャンバの断面図である。

【図26】図24の音響処理チャンバの斜視図である。

【図27】円錐形状を備えるドームを有する音響処理チャンバの断面図である。

【図28】円筒形状を備えるドームを有する音響処理チャンバの断面図である。

【図29】円錐形部分と円筒形部分とを備えるドームを有する音響処理チャンバの断面図である。

#### 【発明を実施するための形態】

##### 【0018】

本開示は、大量のナノ結晶組成物を迅速かつ効率的に調製するために集束音響を使用するシステムおよび方法に関する。本明細書において説明されるプロセスは、繰り返し可能で、制御可能であり、迅速に結果をもたらし、試料材料の相互汚染を回避することができる。ナノ結晶組成物および簡単で簡便な方法で大量または少量のナノ結晶組成物を作製する能力は、治療送達の既存の方法を発展させ、ならびに治療送達のためのシステムを準備するために有用なことがある。いくつかの実施形態では、試料が、試料中に結晶成長を引き起こすように集束音響場に曝され、ナノ結晶組成物を形成することができる。たとえば、約30mLよりも多い(たとえば、一般的に試験管またはマルチウェルプレートの中で見られる試料の量よりも多い)量などの大量の試料は、試料の中での結晶成長を生じさせるように、集束音響で処理することができる。約30mLよりも少ない体積すなわち試験管またはマルチウェルプレートの中に保持され得る試料の体積など、より少ない試料体積も、集束音響を使用して適切に加工され、ナノ結晶組成物を生じさせることができる。ナノ結晶粒子は、一般に、10nm~1ミクロンの平均粒径と、狭い粒度分布(たとえば、0.1未満などの低い多分散指数)とを有する。

##### 【0019】

いくつかの実施形態では、試料の少なくとも一部分は、集束音響加工中に少なくとも0.1mL/minの速度で容器を通って(たとえば、加工チャンバを通って)流れることができる。フロースルーシステムを含まない他の配置は、試料を集束音響場により処理するために使用することができる。いくつかの実施形態では、入口または出口、たとえば、試験管、ピペット、マルチウェルプレート、または他の適切な配置(たとえば、密閉チャンバ、混合容器など)を有さない加工チャンバにおいてナノ結晶組成物を形成する際に、試料を加工するために集束音響場を生成することができる。

10

20

30

40

50

## 【0020】

本明細書で使用される「音波エネルギー」は、音響エネルギー、音響波、音響パルス、超音波エネルギー、超音波 (ultrasonic wave)、超音波 (ultrasound)、衝撃波、音エネルギー、音波、音パルス (sonic pulse)、パルス、波、またはこれらの用語の他の任意の文法形式などの用語、ならびに音波エネルギーに類似した特性を有する他の任意のタイプのエネルギーを包含することが意図されている。本明細書で使用される「焦点ゾーン」または「焦点」は、音波エネルギーが標的に収束および / または衝突する区域を意味するが、この収束の区域は、必ずしも単一の焦点ではなく、さまざまな大きさおよび形状の空間 (volume) を含むことがある。本明細書で使用されるように、本明細書で用いられる「加工チャンバ」または「加工用ゾーン」という用語は、音波エネルギーが収束して処理のために試料材料が存在する容器または領域を意味する。本明細書で用いられるように、「非線形音響」は、入力と出力の比例関係の欠如を意味することができる。たとえば、音響変換器に印加される振幅が増加するにつれて、正弦波出力は比例関係を失い、したがって最終的には、ピーク正圧はピーク負圧よりも高い割合で増加する。また、水は、より高い音響エネルギー強度で非線形になり、収束音響場では、波は焦点に向かうにつれて強度が増加するので、より妨害される。組織の非線形的な音響的性質は、診断用途および治療用途において有用であることがある。本明細書で使用されるように、「音響ストリーミング (acoustic streaming)」は、音響波による流体流れの生成を意味することができる。その影響は、非線形である可能性がある。音場の方向における液体のバルク流体流れは、音響場から吸収される運動量の結果として生成され得る。本明細書で使用されるように、「音響マイクロストリーミング (acoustic micro-streaming)」は、供給源または障害物たとえば音場において音響的に駆動される泡、の周囲の流体の小さい領域にのみ発生する、時間から独立した (time-independent) 循環を意味することができる。本明細書で使用されるように、「吸音」は、音響エネルギーを熱エネルギーに変換する材料の能力に関する材料の特性を指すことができる。本明細書で使用されるように、「音響インピーダンス」は、ある面上の音圧とその面を通過する音束の比を意味することができ、その比はリアクタンス成分と抵抗成分とを有する。本明細書で使用されるように、「音響窓」は、音波エネルギーが加工用チャンバまたは加工用ゾーン内の試料にまで通過することを可能にするためのシステムまたはデバイスを意味することができる。本明細書で使用されるように、「音響レンズ」は、音波を拡散、収束、または他の形で方向づけるためのシステムまたはデバイスを意味することができる。本明細書で使用されるように、「音響散乱」は、その寸法が波長と比較して小さい複数の反射面によって、または波が伝播される媒体内にいくつかの不連続性によって生成された、音波の不規則かつ多方向の反射および回折を意味することができる。

## 【0021】

超音波は、さまざまな診断目的、治療目的、および研究目的のために利用されているが、生物物理学的効果、化学的効果、および機械的効果は、一般に、経験的に理解されるに過ぎない。材料加工における音波エネルギーまたは音響エネルギーのいくつかの使用には、「超音波処理」が含まれ、「超音波処理」とは、処理される材料の流体懸濁液に低いキロヘルツ (kHz) 範囲 (たとえば、15 kHz) 内のエネルギーを放出する非集束超音波源の直接的な浸漬を含む機械的破壊の洗練されていないプロセスである。したがって、音波エネルギーは、音響波の非集束性および不規則性によって一貫性のない結果を生じ、エネルギーが分散、吸収、および / または標的と適切に位置合わせされないので、試料の過熱を誘発しやすい。

## 【0022】

音波エネルギーのいくつかの従来の使用とは対照的に、ナノ結晶組成物の調製における、本明細書において説明する「集束音響」の使用は、以下で挙げられる利点を含む大きな利点を有する。集束音響は、所望の粒度分布を有する (たとえば、狭い分布を備えた適切な粒径範囲を有する) ナノ結晶組成物の安定した再現可能な調製を可能にするので、明確な利点を提供する。集束音響は、音響加工中に試料の有害な加熱をほとんどまたは全く伴

10

20

30

40

50

わない（たとえば、試料を等温で音響的に処理する能力を提供する）、ナノ結晶組成物の加工および調製も提供する。組成物は、被収容（contained）環境すなわち閉鎖系において加工されてよく、汚染のリスクのない無菌の非接触操作を可能にする。集束音響処理は、試験管、ピペット先端、またはマルチウェルプレートなどの単回使用用の器の中に保持される一般的な試料体積の大きさよりも大きい体積を有する試料の大きさに対して、非常に拡張性がある。さらに、本明細書において説明する集束音響方法は、従来の超音波処理または音響エネルギーを試料材料に印加する方法に必要とされる労力と操作者のスキルセットよりも少ない量の労力と全般的に低い操作者のスキルセットとを必要とする簡単な加工操作を含んでよい。集束音響は、Covaris, Inc., Woburn, MA によって提供される適合型集束音響（AFA）方法に従って使用することができる。

10

## 【0023】

集束音響場は、ナノ粒子の結晶成長が核生成部位で生じることが可能となる場合、試料内部で核生成部位を作製するために用いられてよい。場合によっては、核生成は、結晶化の影響および結晶の析出の影響が、組成物を結晶化させて溶液内で再溶解させる傾向を超える試料内での飽和のレベルをほんの少し超えるレベルで生じる。核生成部位が形成されると、集束音響エネルギーにさらに曝されても曝されなくても、結晶成長が生じことがある。しかし、集束音響エネルギーにさらに曝すことによって、ナノ粒子の結晶成長の速度が向上することがある。にもかかわらず、場合によっては、結晶成長の速度は、初期核生成を過ぎて集束音響場にさらに曝されても影響を受けないままであることがある。集束音響処理の種々の条件によっては、核生成と結晶成長が同時に生じることがあるが、核生成または結晶成長のうち一方は、再現可能な方法で他方に勝り、さまざまな形状および大きさを有するナノ結晶材料を制御可能に产生するように調整され得る。

20

## 【0024】

ナノ結晶粒子において結晶成長および凝集が生じるとき、集束音響場は、ナノ結晶粒子および／または凝集の一部分が2つ以上の片に分かれるように粒子の凝集を破壊することができる。いくつかの実施形態では、次に、ナノ結晶粒子の破断の領域が、試料の中の亜結晶のさらなる結晶成長が起こるための核生成部位として働くことがある。したがって、集束音響は、結晶が試料の中で成長しつつあるが、結晶が破壊／破断もされ、核生成部位を生じ、その核生成部位でさらなる結晶成長が起こるという動的プロセスを促進（*instigate*）および伝播することができる。試料の中での結晶成長および微粒子化のこのようなプロセスの結果、サブミクロンの平均粒径を備えた安定した密な粒度分布を有する配合物を生成することができる。

30

## 【0025】

好みい特性を備えたナノ結晶組成物を形成する際に、たとえば、試料が音響的に加工される時間；試料が集束音響に曝されない時間；追加の材料（たとえば、co-former、種結晶／材料など）が音響処理の前、音響処理中、または音響処理の後に試料に追加されるかどうか；試料材料自体の性質（たとえば、結晶成長に関する材料の傾向）；試料の中で結晶化されるべき組成物の濃度；試料の温度（たとえば、処理が等温で行われるかそれとも温度が漸減して行われるか）；集束音響場作製時の音響変換器の電力出力；集束音響出力のパターン（たとえば、パルス化された音響（*pulsed acoustics*）、バーストあたりのサイクル数（cycles per burst）など）；加工チャンバを通過する試料の流量；試料が集束音響場を用いて処理される回数；または他の有力要因などのいくつかの要因が関与することがある。

40

## 【0026】

いくつかの実施形態では、集束音響場を試料に印加して核生成部位を作製することができ、次に、集束音響エネルギーの不在下で結晶が成長するように、音響変換器をオフにすることができる。このような配置は、場合によっては、集束音響エネルギーに引き続き曝露される、結果として生成される試料と比較して、破壊力の欠如により形成される、より大きな結晶を生じことがある。

## 【0027】

50

集束音響エネルギーは、任意の適切なプロトコルにより、試料に印加して、結晶化を誘発することができる。いくつかの例では、集束音響エネルギーは、圧縮力および膨張力を伴う周期的な効果を作り出し得るパルス化された方法で提供される。したがって、場合によつては、パルス化された集束音響は、結晶部位が核生成され、その後の結晶が空間を与えられ、エネルギーが予測どおりに成長する環境を作製することができる。いくつかの実施形態では、試料は、間欠的な期間で集束音響エネルギーに曝される。たとえば、試料は、第1の期間（たとえば、1分未満）の間、集束音響場によって加工されてもよく、次に、試料は、一定の期間（たとえば、1分未満）の間、集束音響場に曝されることなく状態を維持させてもよい。試料は、その後再び、所望の粒度分布および形態を有する安定したナノ結晶組成物を生じる方法で繰り返し加工されてもよい。したがって、集束音響処理のプロトコルに応じて、ナノ結晶粒子の粒度分布は適切に制御され得る。

10

#### 【0028】

集束音響加工の前に、試料が任意の適切な配合物を示すことができる。いくつかの実施形態では、集束音響場に曝される前に、試料は、その溶液の中に粒子を含まない溶液の形であつてよい。したがって、試料が集束音響エネルギーに曝されるとき、小さな粒子が溶液から沈殿して、粒子上で結晶成長が起こるための核生成部位として働く。いくつかの実施形態では、試料が集束音響場に曝される前に、試料は、小さな粒子または不溶性成分が既に試料の中に含まれる懸濁液または乳濁液の形であつてもよい。したがって、集束音響場は、懸濁液中の粒子上に核生成部位を作製するおよび／または試料の中での粒子の結晶成長を増大させるように作用することができる。

20

#### 【0029】

本発明者らは、現在市場に出ているいくつかの既存の薬物を含め、医薬品産業によって製造されるかなりの量の化学組成物が、親油性（難溶性）化合物であることを認識および理解している。このような難溶性の結果として、医薬品は、短い生物学的半減期、低いバイオアベイラビリティ、著しい副作用、および全体的に低下した安定性を示す傾向がある。そこで、前臨床段階でこのような組成物を評価することになり、組成物は、水性懸濁液として経口投与されることが多い。水性懸濁液の投与のマイナス面は、溶液配合物による投与と比較して低下したバイオアベイラビリティおよびより大きい被験者間の差異などの、生体内での有害な結果が生じ得ることである。バイオアベイラビリティは、身体の吸収および／または代謝を通して体循環に到達する薬物の投与用量のパーセンテージを指す。これに対し、溶液配合物は、賦形剤の毒性レベルおよび／またはかなりの資源を費やすことなしに従来の方法を用いて容易に達成可能でないため、多数の化合物の初期段階の評価が現実的でない。安定した状態を保つ比較的小さな平均粒径を備えたナノ結晶組成物を有する配合物（たとえば、懸濁液）の生成は、前述の問題のうちのいくつかを軽減する助けとなり得る。

30

#### 【0030】

ミリング（milling）などの機械的プロセスによって小さな粒子が生成されることがあるが、このようなプロセスがミリングされた粒子の材料の性質（たとえば、形態）を損ねたり有害に影響を与えることがある。医薬品の吸入または経口投与などのいくつかの治療用途では、粒子の形状が、粒子が身体によってどのように取り込まれるか影響を与えることがある。その結果、集束音響処理は、好ましい形態および粒度分布を有するナノ結晶組成物を再現可能に生成するために使用することができる。

40

#### 【0031】

本明細書において説明するナノ結晶組成物の粒度分布は、任意の適切な方法を使用して測定することができる。いくつかの実施形態では、粒度分布は、（たとえば、Malvern Zetasizer-S機器、Zetasizer Nano ZS-90機器、またはMastersizer 2000機器；Malvern Instruments Inc.;Southborough MAを使用した）光子相關分光法とも呼ばれる動的レーザ光散乱を使用して測定することができる。Malvern Zetasizer-S機器を使用し、633 nmの波長で動作する4 mWのHe-Neレーザおよびアバランシェフォトダイオード検出器（APD）を用いて平均粒径を推定した。ナノ結晶組成物中の平均粒径

50

は、平均的な流体力学的サイズとして推定することができる。粒度分布は、当技術分野において分布の緊密度の尺度として知られている多分散指数（PDI）に従って推定することができる。本明細書において説明するナノ結晶組成物の平均粒径およびPDIは、動的光散乱に関する国際標準であるISO13321に従って計算される。

#### 【0032】

ナノ結晶組成物の粒子は、直方体、平行六面体、六面体、多面体などの任意の3次元形状を有してよい。本明細書において使用される「粒径」という用語は、当技術分野で知られている方法によって評価される推定粒径を指すことはできることは理解されよう。説明するシステムおよび方法によって生成される結晶材料は、実際は全体的に小面があるが、粒径は、上記の光散乱測定法に従って略球状を取る粒子の推定直径を指すことができる。または、粒径は、直方体もしくは平行六面体などの多面体の推定された幅、長さ、または他の寸法を意味することがある。場合によっては、粒径は、電子顕微鏡（たとえば、SEM、TEMなど）または原子間力顕微鏡などの高分解能顕微鏡を使用して推定することができる。

10

#### 【0033】

本明細書において説明する集束音響システムおよび方法によって調製されるナノ結晶組成物の平均粒径は、用途および結晶化される材料に応じて適切に変化してよい。いくつかの実施形態では、集束音響処理によって加工されたナノ結晶組成物の平均粒径は、10 nm～1ミクロン、100 nm～900 nm、500 nm～900 nm、500 nm～700 nm、100 nm～500 nm、100 nm～300 nmである。

20

#### 【0034】

集束音響処理プロセスは、本明細書において提供されるシステムおよび方法により任意の適切な量の試料材料を音響的に処理するように機能拡張され（scaled up）てもよい。いくつかの実施形態では、処理容器は、容器もしくは容器の加工チャンバへの試料材料の流入および容器もしくは容器の加工チャンバからの試料材料の流出を可能にする1つまたは複数の適切な入口および／または出口を有することができる。試料材料は、容器または加工チャンバの中に適切に配置されてから、適切な一連の条件下で集束音響処理にかけることができる。十分な程度の集束音響処理の後、試料材料は、容器または加工チャンバから排出され、あらかじめ処理されなかったより多くの試料が集束音響処理にかけることが可能になり得る。本明細書において説明する種々の実施形態では、処理容器は加工チャンバに相当するとみなしてよい。

30

#### 【0035】

いくつかの実施形態では、音響処理システムはリザーバと加工チャンバとを含むことができ、それぞれは、互いに流体連通する入口と出口とを有する、すなわち、流体は、リザーバと加工チャンバの間で適切な管路を介して移動することができる。したがって、リザーバからの試料材料は、適切な条件下で集束音響処理のために加工チャンバに移動させることができ、その後、リザーバに戻すことができる。その結果、試料材料を、周期的に音響処理することができ、その場合、試料材料の一部分は集束音響処理を複数回受けてもよい。

40

#### 【0036】

いくつかの実施形態では、試料材料を、集束音響処理のために供給リザーバから加工チャンバに移動させることができる。その後、処理された試料材料を、加工チャンバから、供給リザーバと別個の異なる器に移動させることができる。したがって、試料材料は、音響処理を1回受けることができる。

#### 【0037】

いくつかの実施形態では、試料材料は、異なる条件の集束音響などのさまざまなレベルの加工のために供給リザーバから複数の加工チャンバを通して移動することができる。試料材料の追加／除去のために、追加の管路も設けることができ、これは、結晶化を高める働きをすることができ、または結晶成長の速度を増加／減少させることができる。一例では、追加の材料は、管路を通して試料に導入してもよく、試料材料と組み合わせると、結

50

晶核生成、析出、および／または成長を増大させることができる。

**【0038】**

いくつかの実施形態では、加工チャンバは、試料材料が貫流する管路である。したがって、試料は、複数の変換器から集束音響処理を受けることができ、および／または試料は、加工チャンバ管路のかなりの距離を横切るように形成された焦点ゾーンを生成する変換器から集束音響処理を受けることができる。

**【0039】**

図1は、米国特許第6,948,843号、第6,719,449号、および第7,521,023号に記載されたシステムによる集束音響加工用システム1010を示す。このシステムは、圧電変換器1020を利用して、加工容器1040によって画定される空間内に含まれる試料1042へと向けられる音響エネルギー波1022を生成する。加工容器40は、その中に位置する音響カップリング媒体1032（たとえば、水）を有するとともに加工容器の外面と接触している流体浴用器1030内に位置決めされる。音響エネルギー波1022は、変換器1020から媒体1032を通り、加工容器1040の壁を通して送られ、加工容器の壁内または壁の近くの焦点ゾーン1024に集まる。音響波の周波数は、約100キロヘルツ～約100メガヘルツ、または約500キロヘルツ～約10メガヘルツなどの任意の適切な範囲を有してよい。非接触の等温の機械的エネルギーが試料1042に加えられるように、焦点ゾーン1024は試料1042に近接している。焦点ゾーンは、2cmよりも小さい、1cmよりも小さい、または1mmよりも小さい大きさ寸法（たとえば、幅、直径）を有するなど、任意の適切な形状および大きさを有してよい。

10

20

30

**【0040】**

上記で説明したように、本発明者らは、集束音響システムを用いた試料材料の処理プロセスがより大量の材料を処理するために機能拡張すると有利であろうことを認識および理解している。図1のシステムは、変換器と加工容器との間の相対移動を可能にする機械的および／または電気的機構を組み込むことができるが、試料材料は、一般に、容器1040によって画定された空間内に含まれる。したがって、次の試料材料を処理するために、変換器および／または加工容器を互いに取り替える必要がある。一例として、試験管（すなわち、加工容器）の内部に含まれる試料材料が完全に処理されると、試験管は変換器から遠ざかり、したがって、異なる試料材料を含むその後の加工容器は、集束音響処理に適した位置に入ることができる。または、マイクロプレートの1つのウェルの中に含まれる試料材料が十分に処理されると、マイクロプレートは、異なる試料材料を含む隣接するウェルが加工に適した位置に置かれるように変換器に対して移動してよい。

40

**【0041】**

図2は、変換器1020または加工チャンバ1050（または加工容器）を移動せざる必要なく試料材料の流入および流出を可能にする音響加工用システム1010を示す。図2のシステムは、その中に試料材料1052が配置された加工チャンバ1050を含め、図1に示されるシステムと全体的に類似している。しかし、このシステムは、試料供給源1060と試料排出口1070も含む。加工チャンバ1050は、供給源1060から、矢印Aの方向に沿って管路1064を通って加工チャンバ1050への試料材料の流入を可能にするために管路1064と流体連通する入口1062を含む。加工チャンバは、排出口1070への試料材料の流体流を提供する矢印Bの方向に沿った、加工チャンバから、また管路1074への試料材料の流出を可能にする出口1072も含む。

50

**【0042】**

したがって、図2のシステムは、未処理の試料材料がシステム容器を通じて加工チャンバへと移動し、集束音響エネルギーによって処理され、その後で加工チャンバから出る機能を提供する。このようなシステムによって、互いに対する加工チャンバまたは変換器の移動を必要としないのと共に、大量の試料材料を集束音響により処理することができる。前述のように、試料材料が加工チャンバを連続的に流れ、したがって集束音響処理にかけることが可能なので、このようなシステムにおいて処理できる試料材料の量は無制限

50

である。供給源 1060 は、処理されるべき限られた量の試料材料を含む有限 (finite) リザーバであってもよく、あるいは、供給源は、常に補充されるリザーバなど、音響加工のための試料材料の継続的な供給から引き込んでもよい。同様に、排出口 1070 は、有限量の既に処理された試料材料を保持する器であってもよいし、または、たとえば、排出口は、適切な目的 / 用途のために連続的に引き込まれる処理された試料材料のより大きな本体またはリザーバに供給してもよい。

#### 【0043】

任意の考えられる量の試料材料は、本明細書において説明するシステムおよび方法を使用して加工することができる。いくつかの実施形態では、1 mL より多い、5 mL より多い、20 mL より多い、30 mL より多い、50 mL より多い、100 mL より多い、1 L より多い、またははるかに多い試料など、大量および / または少量の試料は、結晶成長を介してナノ結晶粒子を形成するように、集束音響によって処理することができる。30 mL 未満の適切な試料体積も、ナノ結晶組成物を形成するように処理することができる。10

#### 【0044】

図 3 は、集束音響により試料材料を処理するための機能拡張アプローチを可能にする集束音響加工用システム 100 の別の例示的な実施形態を示す。このシステムは、試料材料を複数回処理する機能を提供する。このシステムは、試料材料の供給を保持するためのリザーバ 120 と、試料材料が音響処理を受けるための空間を提供する加工チャンバ 110 とを含む。リザーバ 120 は、試料材料のリザーバへの流入およびリザーバからの流出を可能にするためのリザーバ出口 122 とリザーバ入口 124 を含む。同様に、加工チャンバ 110 は、試料材料の加工チャンバへの流入および加工チャンバからの流出を可能にするためのチャンバ入口 112 とチャンバ出口 114 を含む。リザーバ出口 122 は、試料材料が、矢印 C の方向に沿ってリザーバから管路 130 へと、さらにチャンバ入口 112 を介して処理チャンバへと移動することを可能にする。試料材料の十分な音響処理を施すと、適切な量の試料材料が、矢印 D の方向に沿ってリザーバ入口 124 を介してリザーバ 120 に戻るように、チャンバ出口 114 を介して加工チャンバから出て、管路 140 に入ることができる。20

#### 【0045】

したがって、加工チャンバの空間によって画定される体積よりも大量の試料材料を、総合的なシステム容器の中で音響的に処理することができる。どのくらいの量の試料材料をこのような容器により処理できるかに関する唯一の制約は、リザーバの大きさによって決まり、リザーバは任意の適切な容積であってよい。さらに、加工チャンバからリザーバ中に戻って輸送される既に処理された材料を、最終的に、さらなる音響処理のためにリザーバから加工チャンバへと戻って移動させることができるため、試料材料は、複数回音響的に処理することができる。30

#### 【0046】

本明細書において説明する入口および / または出口として、任意の適切な構造を設けてよい。たとえば、適切な入口および出口には、ノズル、穴、管、管路などが含まれ得る。場合によっては、入口および / または出口は、必要に応じて材料の流入および流出を制御するために開閉する弁付き構造を含んでよい。さらに、加工チャンバおよびリザーバは、入口 / 出口の数および位置に関して限定されない。たとえば、加工チャンバおよび / またはリザーバは、管路 130、140 以外の他の適した場所に、試料材料の流れのための追加の入口または出口を有してよい。40

#### 【0047】

リザーバと加工チャンバとの間で（たとえば、管路 130、140 およびそれぞれの入口 / 出口を通して）試料材料の移動を引き起こすために、任意の適切な原動力が提供されてよい。いくつかの実施形態では、リザーバから加工チャンバまで往復で試料材料を移動させる目的で試料物質に圧力を加えるために、ポンプ 150 が設けられる。任意の適切なポンプデバイスを利用することができる。場合によっては、ポンプは、管路 140 とポンプ 150 との間で、図 3 に示される継手などの管路に結合される。1つまたは複数の適切50

なポンプが、システムの任意の適切な場所に設けられてもよい。いくつかの実施形態では、ポンプデバイスを必要とすることなく、差圧勾配がシステムの種々の領域間に設けられる。たとえば、リザーバからリザーバ出口 122 を通り、チャンバ入口 122 を介して加工チャンバに入る試料材料の流れを引き起こすように、圧力勾配が管路 130 に沿って維持されてよい。同様に、圧力勾配が管路 140 に沿っても維持されてよく、それにより、加工チャンバからチャンバ出口 114 を通過し、管路 140 を通り、リザーバ入口 124 を介してリザーバに入る試料材料の流れを引き起こす。

#### 【0048】

図 4 は、試料材料の大規模な集束音響処理を可能にする集束音響加工用システム 200 の別の例示的な実施形態を示す。このシステムは、加工チャンバを通る試料材料の単一経路 (single pass) を提供する。このシステムは、処理されるべき試料材料の供給を保持するための第 1 のリザーバ 220 と、試料材料が音響処理を受けるための空間を提供する加工チャンバ 210 と、既に処理された試料材料を受け入れるための第 2 のリザーバ 230 とを含む。第 1 のリザーバ 220 は、リザーバから管路 240 へ、また矢印 E の方向に沿って試料材料の流出を可能にするためのリザーバ出口 222 を含む。加工チャンバ 210 は、加工チャンバへの試料材料の流入を可能にするチャンバ入口 212 を含む。処理中に、音響変換器 202 は、試料材料が曝される適切な焦点ゾーン 206 を形成するように音響波 204 を生成する。試料材料が十分に処理されると、適切な量の試料材料が、矢印 F の方向に沿ってリザーバ入口 232 を介して第 2 のリザーバ 230 へと移動するよう、加工チャンバからチャンバ出口 214 を通って出て、管路 250 に入ることができる。加工チャンバの容積によって単純に画定される試料材料の量よりも多い量の試料材料を、このシステムにおいて音響的に処理することができるが、試料材料の流れは、図 3 に提供されるように、循環性ではない。また、リザーバ 220、230 の容積の他に、加工チャンバ 210 を通る流れを介して処理できる試料材料の量に対する制限はない。上記で説明したように、リザーバ 220 は、処理されるべき試料材料の継続的な供給源として働くことができ、リザーバ 230 は、既に処理された試料材料の継続的な排出口として機能することができる。

#### 【0049】

図 3 について上記で説明したものと同様に、第 1 のリザーバ 220 から加工チャンバ 210 に、および加工チャンバから第 2 のリザーバ 230 に試料材料を移動させるために、任意の適切な原動力が提供されてよい。いくつかの実施形態では、集束音響加工用システムを通って試料材料を移動させるために、ポンプ 260 が設けられる。図 4 に示されるように、限定するものではないが、ポンプ 260 は、管路、たとえば限定するものではないが管路 250 に結合され、適切に操作することができる。

#### 【0050】

図 5 は、複数の加工用チャンバが用いられる、試料材料の大規模な集束音響処理を提供する集束音響加工用システム 300 の例示的な実施形態を示す。図示されるこのシステムは、試料材料を各加工用チャンバに通過させ、各加工用チャンバにおいて、試料材料を、同様のまたは異なる集束音響加工用条件に曝すことができる。さらに、必要に応じて、試料材料の一部分を加工用チャンバ間で追加または除去することができる。

#### 【0051】

リザーバ 330 は、第 1 の加工チャンバ 310 および第 2 の加工チャンバ 320 の中で処理されるべき試料物質の供給を保持し、第 1 の加工チャンバ 310 および第 2 の加工チャンバ 320 はそれぞれ、試料材料が集束音響処理を受けるための空間を提供する。リザーバ 330 は、リザーバから管路 340 へ、また矢印 G の方向に沿って試料材料の流出を可能にするためのリザーバ出口 332 を含む。加工チャンバ 310 は、加工チャンバへの試料材料の流入を可能にするチャンバ入口 312 を含む。音響処理中に、変換器 302 が、試料材料が曝される適切な焦点ゾーン 306 を形成するように音響波 304 を提供する。試料材料の十分な音響処理を行うと、適切な量の試料材料が、加工チャンバからチャンバ出口 314 を通って出て、管路 350 に入ることができる。試料材料は、矢印 I の方向

10

20

30

40

50

に沿って移動し、最終的には、チャンバ入口 322 を介して第 2 の加工チャンバ 320 に入ることができる。試料材料は、第 1 の加工チャンバ 310 の処理条件と同じまたは異なる処理条件下で、第 2 の加工チャンバ 320 によって選定される空間内でさらなる音響処理を受けることができる。変換器 303 は、試料材料の音響加工に有用である適切な焦点ゾーン 307 を形成する際に音響波 305 を生成する。適切な音響処理の後、試料材料は、第 2 の加工チャンバ 320 からチャンバ出口 324 を介して流出し、排出口 362 において収集するために矢印 K の方向に沿った移動（たとえば、制限された容積を有するリザーバ、処理された試料材料の連続的に排出される集まりなど）ための管路 360 に入ることができる。

## 【0052】

10

いくつかの実施形態では、また図 5 に示されるように、集束音響加工用システムを通る試料材料の移動を引き起こす原動力を与えるために、ポンプ 380 が設けられる。ポンプ 380 は、管路 340 に結合されるように示されているが、任意の適切なポンプが、任意の適切な場所で集束音響加工用システムに結合されてよいことが理解されよう。

## 【0053】

必要に応じて試料材料が追加および／または除去されるように、管路 370、372 がシステムの適切な場所に設けられてよい。たとえば、試料材料は、管路 340 に沿って第 1 の加工チャンバ 310 に向かって移動する場合、管路 370 は、試料材料とともに加工チャンバ 310 の中に音響的に処理されるべき追加の成分（たとえば、薬物、担体界面活性剤、co-former、可溶化剤、安定剤など）を提供することができる。同様に、管路 372 はまた、加工チャンバ 320 の中の試料材料とともに音響的に処理することが可能な追加の成分を除去および／または提供することができる。方向の矢印 H、J は、管路 370、372 が適切な方法で材料を追加または除去するために用いられてよいことを示すものである。任意の集束音響加工用システムが、適切な方法で、試料材料に追加の成分が補充され得る特定の場所または試料材料の一部分が加工用システムから除去され得る特定の場所を提供することができることが理解されよう。

20

## 【0054】

20

いくつかの実施形態では、本明細書において説明する集束音響加工用システムは、音響的試料処理の特性を検知し、検知された特性に基づいてシステムのパラメータを調整するための適切なフィードバック制御システムを組み込むことができる。たとえば、試料材料の特定の特徴、たとえば、試料材料中の結晶化度、試料材料の粒度分布、試料材料中の平均粒径、加工用システムに沿ったさまざまな場所における試料材料の体積、試料材料がシステムを通って移動する速度、および／または任意の他の適切な特性などを監視することができる。

30

## 【0055】

30

たとえば、2つの加工チャンバのうちの第 1 の加工チャンバによって音響処理を行った後、このシステムは、試料材料中の結晶化度がその時点において安定した生成物出力を生じるのに十分でないことを検知することができる。その結果、第 2 の加工チャンバにおける試料材料の音響処理を、それに応じて調整することができる（たとえば、処理が延長されることがあり、集束音響のバーストあたりのサイクル数が調整することができ、変換器からの電力出力が増加され得る、次の加工チャンバの温度が調整され得るなど）。別の例では、試料材料中の粒子の結晶成長の速度が特定の量を上回るべきであることが望まれることがあり、試料材料の粒子の結晶成長の速度が処理中のその時点で好ましい速度を下回ることが（たとえば、コンピュータによって、または試料中の結晶成長の速度を監視するユーザによって）決定される。したがって、それに応じて加工パラメータを、増加した電力／パルス出力または延長した処理期間に試料材料を曝すように調整することができ、その結果、試料材料中のナノ結晶粒子の結晶成長の速度が全般的に増加する。あるいは、好ましいナノ結晶組成物を適切に形成するために不十分な量の co-former または結晶種（crystal seed）材料が試料材料中に提供されることが決定されることがある。したがって、ナノ結晶が適切に形成され得るように、追加の co-former を（たとえば、

40

50

管路 370、372 を介して) 試料材料に注入してもよいし、他の前処理工程を含めてよい。試料材料の他の特性を同様に監視することができ、その結果、加工用パラメータの適切な調整が得られる。

#### 【0056】

いくつかの実施形態では、集束音響を使用してナノ結晶組成物を調製するために使用されるシステムおよび方法は、線状に形作られた焦点ゾーンを生成する変換器を含むことができる。図6は、試料が加工チャンバを通過するときに、この線状に形作られた焦点ゾーンに試料材料730を適切に曝すことができるよう位置決めされた細長い加工チャンバ710を有するシステムの一実施形態の概略図を示す。いくつかの実施形態では、加工チャンバ710は、試料がそれを通ってシステム容器のある領域から別の領域に流れることができる管路であってよい。たとえば、細長い加工チャンバは、2よりも大きい、5よりも大きい、または10よりも大きい縦横比を有することができる。

10

#### 【0057】

線状に形作られた焦点ゾーンは、大きい縦横比を有することができる。たとえば、線状に形作られた焦点ゾーンの最小の大きさ寸法に沿った、この焦点ゾーンの幅は、2cmよりも短くてもよいし、1cmよりも短くてもよいし、1mmよりも短くてもよい。にもかかわらず、線状に形作られた焦点ゾーンの最大の大きさ寸法に沿った、この焦点ゾーンの長さは、2cmよりもはるかに長い、たとえば、5cmよりも長い、10cmよりも長い、20cmよりも長いなどであってよい。いくつかの実施形態では、線状に形作られた焦点ゾーンは、2よりも大きい、5よりも大きい、または10よりも大きい縦横比を有する。本明細書において説明する線状に形作られた焦点ゾーンの例を生成するのに適した音響システムとしては、Covaris, Inc. によって製造されるLシリーズ(L8, LE220)音響システムがある。

20

#### 【0058】

したがって、試料材料730は、試料が細長い加工チャンバの一端から別の端に流れるときに変換器710から生成される集束音響場に曝される。いくつかの実施形態では、線状に形作られた焦点ゾーンを生成するのに適した細長い加工チャンバおよび音響変換器は、加工チャンバを通過する流量が大きい状況において好ましいことがある。したがって、試料は、細長い加工チャンバ管路を通過する急速な移動にもかかわらず、焦点ゾーンに一定に曝露することができる。細長い加工チャンバ、およびしたがって、線状に形作られた焦点ゾーンは、試料流れの好ましい方向に応じて、任意の適切な方向、たとえば垂直または水平に配置することができる。

30

#### 【0059】

試料は、任意の適切な流量でシステムを通過することができる。いくつかの実施形態では、1つまたは複数の加工チャンバを含むシステムの任意の部分を通過する試料の流量は、少なくとも0.1mL/分、約0.5mL/分～約100mL/分、または約1mL/分～約10mL/分とすることができる。

#### 【0060】

本明細書において説明する試料材料は、たとえばナノ結晶組成物の前駆体の形をした、いくつかの組成物を含んでもよいし、または試料材料は、ナノ結晶組成物そのものであってもよい。場合によっては、試料またはナノ結晶組成物中の材料のうちの1つまたは複数は、任意の適切な医薬品、栄養補助食品、薬用化粧品(cosmeceutical)、またはこれらの組み合わせであってよい。一実施形態では、試料材料の前処理は、可溶化非晶質薬物の形成を含むことができ、この可溶化非晶質薬物は、薬物の結晶化のためのシード材料などの薬物の共結晶形成剤(co-former)を含んでも含まなくてもよい。いくつかの実施形態では、より大きな化合物または配置を形成する際に共結晶形成剤が活性薬剤と共に含まれることがあり、適切な量の集束音響場に曝されると共結晶形成剤により薬物が結晶化する。

40

#### 【0061】

いくつかの実施形態では、製薬用途で使用するのに十分に純粋な結晶性材料は、結晶化

50

されるべき材料の飽和溶液を含む試料を形成すること、任意選択により溶液が過飽和になるように試料の温度を調整すること、および試料を適切な集束音響エネルギーに曝すことによって調製することができる。

#### 【0062】

医薬品は、試料中の生物活性組成物として使用することができ、選択的エストロゲン受容体モジュレーター（SERM）（たとえば、タモキシフェン）、アルキル化薬（たとえば、ダカルバジンなどの置換イミダゾール化合物）、タキサン化合物（たとえば、パクリタキセル）、ヌクレオシド類似体（たとえば、ゲムシタビン）、スタチン（たとえば、ロバスタチン、アトルバスタチン、シンバスタチンなど）、ピリミジン類似体（たとえば、5-フルオロウラシル）、核酸分子（たとえば、DNA、RNA、mRNA、siRNA、RNA干渉分子、プラスミドなど）、薬物／薬剤（たとえば、イブプロフェン、シンナリジン、インドメタシン、グリセオフルビン、フェロジピン、ケルセチン、コルチコステロイド、抗コリン薬、吸入可能ペプチド／化合物、インスリン、インターフェロン、カルシトニン、ホルモン、鎮痛薬、コデイン、フェンタニル、モルヒネ、抗アレルギー薬、抗生物質、抗ヒスタミン薬、抗炎症薬、気管支拡張薬、アドレナリンなど）などを含むことができるが、これらに限定されない。適切な場合、活性成分または活性薬物を含む薬剤は、薬剤の活性および／または安定性を最適化するために、塩（たとえば、アルカリ金属もしくはアミン塩として、または酸付加塩として）の形態で、またはエステル（たとえば、低級アルキルエステル）として、または溶媒化合物（たとえば、水和物）として使用されてよい。任意の適切な医薬品は、本明細書において説明するナノ結晶化合物に組み込むことができる。

10

20

30

40

50

#### 【0063】

試料は、生物活性成分以外の任意の適切な組成物を含むことができる。たとえば、試料は、適切な有機溶媒、または無機溶媒、安定剤などを含むことができる。試料中で結晶化されるべき生物活性成分の濃度は、適切に変化させてよい。いくつかの実施形態では、試料中で結晶化されるべき生物活性成分の濃度は、0.5% v o l . よりも大きい、または約1% v o l . ~ 約10% v o l . である。

#### 【0064】

いくつかの実施形態では、ナノ結晶化を誘発するために焦点ゾーンに試料を曝す工程は、等温環境において試料を加工する工程を含むことができる。試料に印加される集束音響エネルギーは、かなり不規則に分散されたエネルギー（すなわち、熱の形態をした）を有さず、そのため、試料材料の温度は、一般に、適切な変動度の範囲内に維持することができる。たとえば、試料の温度は、開始温度の約5℃以内、約2℃以内、または約1℃以内の温度に維持されてよい。

#### 【0065】

本明細書において説明する方法により調製されるナノ結晶組成物は、任意の適切な粒度分布を有してよい。必須ではないが、いくつかの実施形態では、ナノ結晶組成物を調製するための集束音響エネルギーの使用を含む、記載のシステムおよび方法を用いた結果、単峰型の粒度分布が得られる。たとえば、粒度分布は、ガウス分布に類似していることがある。しかし、他の場合には、適切なナノ結晶組成物の粒度分布は多峰型である。いくつかの実施形態では、音響的に処理されたナノ結晶組成物の粒度分布のPDIは、0.5よりも小さい、0.3よりも小さい、0.1よりも小さい、0.08よりも小さい、または0.06よりも小さい。たとえば、適切に音響的に処理されたナノ結晶組成物の粒度分布のPDIは、約0.03~約0.1、約0.05~約0.09、または約0.06~約0.08であってよい。いくつかの実施形態では、音響的に処理されたナノ結晶組成物の粒度分布の相対標準偏差は、ナノ結晶組成物の平均粒径の1%よりも小さい、0.5%よりも小さい、または0.1%~0.8%よりも小さくてもよい。

#### 【0066】

本明細書において説明する集束音響を用いたシステムおよび方法により調製されるナノ結晶組成物は、試料の劣化を伴うことなく（すなわち、機能を維持して）長い貯蔵寿命を示すことができる。いくつかの実施形態では、加工された材料は、ほとんど完全に結晶（

すなわち、非晶質粒子がほとんど、または全くない）であってよい。ナノ結晶組成物の結晶性を指し示すものとして、一定期間後（たとえば、1時間後）に、ナノ結晶組成物の粒度分布は概ね安定したものであってよい。すなわち、ナノ結晶組成物の小さい結晶粒子が時間の経過とともに合体してより大きい粒子を形成する傾向が最小限である。対照的に、非晶質粒子は、互いに結合して大型の粒子を形成する傾向をより大きく示すことができる。

#### 【0067】

いくつかの実施形態では、好ましいナノ結晶組成物を、12時間、24時間、2日、5日、1週間、1月、1年、またはより長期にわたって静置させると、ナノ配合物の実施形態の平均粒径および／または多分散指数は、2%以下、5%以下、または10%よりも小さく変動する。いくつかの実施形態では、ナノ結晶組成物中で形成される所望の粒度分布（たとえば、100nm、1ミクロン、10ミクロン、50ミクロン、低いPDIを有するなど）は、たとえば、1日～24か月、2週間～12か月、または2か月～5か月などの長期間にわたって維持することができる。

10

#### 【0068】

集束音響は、効率を高め、大きな便益をナノ結晶組成物の調製に付与するために使用することができる。いくつかの実施形態では、適切なナノ結晶組成物を得られることになる、試料が集束音響場に曝される時間は短い。たとえば、試料は、5時間よりも短い、1時間よりも短い、30分よりも短い、10分よりも短い、または5分よりも短い期間にわたって集束音響場に曝され、適切なナノ結晶組成物を形成することができる。

20

#### 【0069】

示されている様によりナノ結晶形成を促進するために集束音響を使用するシステムおよび方法は、集束音響場のバーストあたりのサイクル数、または各バーストに含まれる音響振動の数を適切に変化させる工程を含むことができる。いくつかの実施形態では、バーストあたりのサイクル数は、バーストあたり100サイクル～6000サイクルの間で変化することができる。たとえば、場合によっては、試料の核生成および結晶成長の速度は、バーストあたりのサイクル数を増加させるにつれて、増加してよい。一実施形態では、バーストあたりの200サイクルにおける試料結晶化のための加工時間は、約50分とすることができる；にもかかわらず、バーストあたりのサイクル数を5000に増加させると、加工時間は5分に短縮された。種々の実施形態では、音響変換器は、1000よりも大きいバーストあたりのサイクル数、2000よりも大きいバーストあたりのサイクル数、3000よりも大きいバーストあたりのサイクル数、4000よりも大きいバーストあたりのサイクル数、5000よりも大きいバーストあたりのサイクル数、または6000よりも大きいバーストあたりのサイクル数を有する集束音響場を生成するように動作される。場合によっては、より多量のバーストあたりのサイクル数を有して生成される集束音響場は、密な粒度分布を備えた安定したナノ結晶組成物の生成を提供することができる。いくつかの実施形態では、バーストあたりのサイクル数の変動は、試料を安定的に結晶化するための全体的な加工時間に大きな影響を及ぼさないことがある。

30

#### 【0070】

集束音響システムは、好ましい特性を有するナノ結晶組成物を調製するために任意の適切な動力で動作することができる。いくつかの実施形態では、集束音響場を、50ワット～300ワット、100ワット～250ワット、50ワット～150ワット、または200ワット～300ワットの電力で動作させる。

40

#### 【実施例】

#### 【0071】

以下の実施例は、本発明のいくつかの実施形態を例示することが意図されているが、限定として解釈されるべきではなく、本発明の全範囲を例示するものではない。

#### 【0072】

#### (実施例1)

DMA1部とPVP/SDS安定剤99部とフェロジピンとを最初に含む試料2mLを

50

使用して、結晶性ナノ粒子を形成した。Covaris S220機械を使用し、18の水浴温度、50%のデューティサイクル、75ワットのピーク放射電力(PIP)、100サイクル/バースト、および20分間の合計処理時間用いて、試料を処理した。

#### 【0073】

この加工の結果、結晶性ナノ粒子の形成(成長)がもたらされ、粒子の100%が、平均的な大きさが約154.6nm、最頻値が153.2nmを有する単峰型分布の一部であった。狭い粒径範囲が生成され、測定されたPDIは0.136であった。図7は、ナノ結晶組成物の粒度分布400を示す。

#### 【0074】

##### (実施例2)

DMA1部とPVP/SDS安定剤99部とフェロジピンとを含む結晶性ナノ粒子の試料18mLを最初に調製した。Covaris S220機械を使用し、15の水浴温度と5分間の合計処理時間用いて、試料を処理した。集束音響システムは、バーストあたり5000サイクルで動作させた。集束音響システムをバーストあたり200サイクルで動作させた比較実施例では、完全結晶形成のための合計処理時間は50分であった；対照的に、現在の実施例では、5分の加工時間でバーストあたり5000サイクルにて完全結晶形成が行われた。

#### 【0075】

この実施例の結果、加工の直後に主ピークと257.3の平均粒径とを備えた二峰型分布を有する結晶性ナノ粒子の結晶成長形成が得られた。図8は、244.4nmの最頻値を有する粒子の94.4%と、1,083nmの最頻値を有する粒子の5.6%とを含む、加工直後の粒度分布410を示す。PDIは、0.138と測定された。

#### 【0076】

次に、加工された試料を4時間静置させることができた。図9は、この期間後の粒度分布412を示す。結果として得られた平均粒径は246.3nmであり、粒子の100%の最頻値は257.1nmであった。PDIは、0.090と測定された。

#### 【0077】

##### (実施例3)

実施例1および2の試料混合物に類似した試料混合物を使用して、結晶性ナノ粒子の試料100mLを調製した。しかし、大量の試料を周期的に10分間加工するように、図3に示されるシステムと類似したマルチパスシステムを実施した。流量は10mL/分であった。

#### 【0078】

上記の加工の結果、加工の直後に主ピークと306.0の平均粒径とを備えた二峰型分布を有する結晶性ナノ粒子の結晶成長形成が得られた。図10は、327.7nmの最頻値を有する粒子の97.1%と、125.1nmの最頻値を有する粒子の2.9%とを含む、加工直後の粒度分布420を示す。PDIは、0.087と測定された。

#### 【0079】

次に、加工された試料を4時間静置させることができた。図11は、この期間後の粒度分布422を示す。得られた平均粒径は301.5nmであった。粒子の95.3%の最頻値は257.1nmであり、粒子の4.7%の最頻値は115.2であった。PDIは、0.129と測定された。

#### 【0080】

##### (実施例4)

上記の実施例3の試料混合物およびマルチパスシステムに類似した試料混合物およびマルチパスシステムを用いて、結晶性ナノ粒子の試料100mLを調製した。このマルチパスシステムは、大量の試料を周期的に20分間処理することを可能にした。流量は5mL/分であった。

#### 【0081】

上記の加工の結果、加工の2時間後に441.0の平均粒径を有する単峰型分布を有す

10

20

30

40

50

る結晶性ナノ粒子の結晶成長形成が得られた。図12は、439.7 nmの最頻値を有する粒子の100.0%を示す粒度分布430を示す。PDIは、0.048と測定された。

#### 【0082】

加工された試料を静置させ、72時間の貯蔵時間を提供することが可能であった。図13は、加工の72時間後の粒度分布432を示す。得られた平均粒径は433.2 nmであった。粒子の100.0%の最頻値は432.9 nmであった。PDIは、0.097と測定された。

#### 【0083】

(実施例5)

10

上記の実施例の試料混合物に類似した試料混合物を使用して、結晶性ナノ粒子の試料100mLを調製した。大量の試料を10分間加工することを可能にする、図4に示されるシステムと類似したシングルパスシステムを用いた。流量は5mL/分であった。

#### 【0084】

この加工の結果、加工の直後に592.3の平均粒径を有する単峰型分布を有する結晶性ナノ粒子の結晶成長形成が得られた。図14は、577.0 nmの最頻値を有する粒子の100.0%を示す粒度分布440を示す。PDIは、0.123と測定された。

#### 【0085】

加工された試料を2時間静置させることができた。図15は、加工の2時間後の粒度分布442を示す。得られた平均粒径は546.4 nmであった。粒子の100.0%の最頻値は510.8 nmであった。PDIは、0.158と測定された。

20

#### 【0086】

さらなる実施形態

以下で説明する他の実施形態は、加工用ゾーンを過ぎてまたはこれを通って流れる材料を処理するための集束音響の使用法に関し、本明細書において示す結晶成長による大量のナノ結晶粒子の再現可能な形成を含む態様と適切に組み合わせて用いてよい。

#### 【0087】

システムおよび方法は、より大きな試料体積に対して音響処理の所望の結果を達成することができるよう、より大量のバッチおよび連続的なプロセスフローに対して集束音響エネルギーを利用するプロセスを拡張(scale)することに関する。超音波列の使用によって達成または改善され得る音響処理の所望の結果は、試料中の結晶成長を引き起こすこと(すなわち、核生成部位を作製することおよび/または結晶成長を増大すること)、試料を加熱すること、試料を冷却すること、試料を流動化すること、試料を微粒子化すること、試料を混合すること、試料を攪拌すること、試料を破壊すること、試料の成分を透過処理すること、ナノ乳濁液またはナノ配合物を形成すること、試料中の反応を促進すること、試料を可溶性にすること、試料を殺菌すること、試料の少なくとも一部分を溶解すること、試料の少なくとも一部分を抽出すること、試料の少なくとも一部分を粉末化すること、試料の少なくとも一部分に触媒作用を及ぼすこと、および試料の少なくとも一部分を選択的に分解することとすることができますが、これらに限定されない。音波はまた、濾過、管路中の流体流れ、および懸濁液の流動化を向上させることができる。本開示のプロセスは、攪拌などの他のプロセスを合成したものであってもよいし、これらを分析したものであってもよいし、これらを単に促進するものであってもよい。

30

#### 【0088】

たとえば、制御された方法で材料の透過性または接近性(accessibility)を変えることによって、材料の生存性および/または生物活性を保ちながら材料の操作を可能にすることができる。別の例では、再現可能で均一かつ自動化された方法で、材料を混合することまたは材料へのまたは材料からの成分の輸送を調整することが、有益となり得る。システムの一実施形態によれば、試料加工制御は、音響処理の所望の結果を達成するように超音波の音波エネルギー場所、パルスパターン、パルス強度、持続時間、および吸収線量のうちの少なくとも1つを調節するためのフィードバックループを含む。一実施形態では、

40

50

超音波エネルギーは、一般的にキロヘルツ(kHz)周波数範囲内の超音波エネルギーを用いる古典的な音加工とは対照的に、メガヘルツ(MHz)周波数範囲にある。

#### 【0089】

従来のシステムでは、非集束で制御されない超音波エネルギーが複雑な生物系または化学系と相互作用すると、音響場は歪められ、反射され、集束されなくなることが多い。正味の影響は、入力と比較してエネルギー分布が不均一および/または集束されなくなるということである。不均一な反応条件は、試料内の温度勾配が重要でないバルク流体処理などの重大でないプロセスに反応用途を限定する可能性がある。しかし、不均一な態様のいくつかは、試料の完全性を損なう極端な温度勾配など、試料に非常に有害である。たとえば、いくつかの例では、高温が生じると、標的タンパク質が不可逆的に変性する。別の例としては、組織から細胞内成分を抽出するなどのために、不適切に制御された超音波がバルク生体試料溶液に加えられると、処理は、処理線量の過程において変化する副事象の複雑で異種の混合を引き起こす。たとえば、エネルギーは、標的の一部を空間的に変位させて、標的を最適なエネルギーゾーンからシフトさせることができる。追加または代替として、エネルギーは、音響エネルギーを反射する干渉を生じさせることができる。たとえば、音響エネルギーの波面が、次の波面が到着するまで存続するキャビテーション気泡を生じると、「気泡遮蔽」が発生し、その結果、第2の波面のエネルギーは気泡によって少なくとも部分的に遮断および/または反射される。またさらに、試料中のより大きな粒子が低エネルギー節に移動し、これにより、長い滞留時間を有する試料中の小さな粒子が高エネルギー節内に残される。さらに、試料粘度、温度、および均一性が超音波プロセス中に変化し、それによって、加工中にこれらのパラメータの勾配が生じことがある。したがって、現行処理は通常、特に膜透過化処理などの試験管内の用途に適用された場合はランダムかつ不均一であり、試料間の処理標準化が必要な高スループット用途における超音波の利用を妨げる。結果として、超音波の多くの可能な用途、特に生物学的用途は、複合系における超音波の潜在的に望ましくなく制御不能な態様のために、碎石術および画像診断などの特定の高度で専門的な用途に限られる。

10

20

30

40

50

#### 【0090】

集束音響エネルギーの使用により、米国特許第7,521,023号明細書（その全体が参照により本明細書に組み入れられる）などに記載されるように、これらの制約を克服することができる。当該明細書には、密閉容器内の試料の音響処理の方法が開示されている。単一容器の容積よりも大きな試料材料体積の加工は、集束音響「加工ゾーン」または「反応チャンバ」内へのおよびこれらの材料の移動により実現することができる。材料は、所望の結果が達成されるまで（单一パス）加工用ゾーン内に存在し、次に下流プロセス工程に移動させられるかまたは最終製品として獲得され得る。

#### 【0091】

本発明の態様は、バッチスケール加工だけでなく連続加工も含めて、より大量の材料を処理するために集束超音波エネルギーの印加を拡張する問題に対処し、エネルギーの集束ビームを使用することにより超音波エネルギーによって試料を非接触処理するための装置および方法を提供する。ビームの周波数は、可変であってよく、約100KHz～100MHz、より好ましくは500KHz～10MHzの範囲内であってよく、また約10mm～20mm（そして可能性として、エネルギーの増加に伴う、より大きな大きさ）の加工用ゾーンに集束させることができ、試料材料は、所望の効果を達成するためにこのゾーンを通る。たとえば、本発明のいくつかの実施形態は、コンピュータ生成複合波列の利用により、試料の温度を制御しながら超音波エネルギーにより試料を処理することができ、センサからのフィードバックの使用によりさらに制御され得る。音響出力信号または波列は、周波数、強度、デューティサイクル、バーストパターン、パルス波形のうちの任意のものまたはすべてにおいて変化することができる。さらに、この処理は、コンピュータ制御下で自動的に行われることが可能であり、バルクまたは出力ストリームからの計測および測定フィードバックに関連付けることができる。別の例では、本発明のいくつかの実施形態は、加工用ゾーン内の完全で一貫した混合を保証するために2次元もしくは3次元の

任意の次元またはすべての次元において試料とビームの焦点との間の相対的移動により、超音波エネルギーによって試料を処理することができる。

#### 【0092】

いくつかの実施形態では、材料は、密閉されたチャンバを通じたバルク流体材料の効果的な移動のためのチャンバへの1つまたは複数の入口および出口を有するチャンバ内で処理することができる。このチャンバは、試料材料または環境の汚染を防ぐために処理中に密閉させることができる。いくつかの実施形態では、製造プロセスストリームなどにおいて非常に大きな試料体積群が必要な場合、複数の試料ストリームを並列に加工するためにチャンバの配列を使用することができる。いくつかの実施形態では、処理される材料に接触するチャンバおよび／または他の構成要素は、たとえば材料の加工に1回使用された後に廃棄されるために、使い捨ての形態で作製されてよい。

10

#### 【0093】

試料用の器は、1つまたは複数のピースを含むチャンバとすることができる、音波エネルギーが通過する音響「窓」を含んでよい。この窓は、所望の効果を最適化するためにさまざまな材料から作製することができ、ガラス、ポリイミドなどの薄膜ポリマー、他の成形可能なポリマー、石英、サファイア、および他の物質を含むことができる。チャンバは、チャンバへのまたはチャンバからの材料の移動のための1つまたは複数の入口と1つまたは複数の出口とを有してよい。材料がチャンバを通って移動する速度は、蠕動ポンプ、歯車ポンプ、もしくは他のポンプなどの圧送システムを介して能動的に、または、高さ変更、もしくはその軸を中心とした振動によりチャンバを傾斜させることなどの重力供給法を介して受動的に、制御することができる。装置はまた、音波エネルギー源とホルダとの間に配置された音響的に透過性の材料を含むことができる。音波エネルギー源は、任意選択により直列の波列の形式で、2つ以上の異なる周波数において音波エネルギーを発生させることができる。この波列は、第1の波成分と、異なる第2の波成分とを含むことができる。代替または追加として、波列は、約500mVの振幅にて約10%のデューティサイクルで、バーストあたり約1000サイクルを含むことができる。

20

#### 【0094】

例示的な一実施形態では、音響エネルギーによって材料を処理するためのシステムは、内部容積を画定してこの内部容積内への開口を有するチャンバを含む。入口は、内部容積内に材料を流入させるように配置され、出口は、内部容積から流出した材料を排出するように配置される。いくつかの配置では、入口および／または出口は、逆止弁を有してよく、または場合によっては内部容積内の流れに影響を与える助けとなるように、たとえば、潜在的に断続的であるが入口から出口の方向に流れが維持されることを保証する助けとなるように配置されてもよい。チャンバの開口内の窓は、開口を密封的に閉じるように、および内部容積内の材料の処理のためにチャンバの中へ集束音響エネルギーを送るよう配置することができる。この窓は通常、約100KHz～100MHzの周波数を有する音響エネルギーを透過させることができる。このようにして、窓は、内部容積内への音響エネルギー伝搬を妨げるのを最小限に抑え得る。いくつかの配置では、窓は音響エネルギーを方向づける助けとなり得る。たとえば、窓は、音響エネルギーに対して集束効果またはレンズ効果を有する凸面または他の配置を有することができる。1つまたは複数の圧電換器などの音響エネルギー源は、窓から離間され、内部容積内に音響エネルギーの焦点ゾーンを生成するように約100KHz～100MHzの周波数を有する音響エネルギーを放射するように配置され得る。システムは、チャンバ内の材料の長期間、たとえば過剰な発熱または他の問題を経験することなく比較的高い強度で、たとえば200ワット以上の音響変換器の出力で、1時間以上の連続的音響処理に対処するように配置され得る（連続的音響処理では、材料は、チャンバ内に連続的な方法で流されてもよいし、断続的な方法で流れてもよい。また、音響エネルギー源は、変化する電力レベルで動作することができるが、時間平均ベースでは比較的大きな電力出力レベルたとえば200ワット以上で動作することができる）。これは、過剰発熱、音響源の故障、試料材料に対する損傷などのさまざまな理由のために1時間以上の連続的音響処理を実現することができなかつた従来の

30

40

50

音響処理配置とは対照的である。

【0095】

いくつかの配置では、内部容積は、内部容積内の材料を音響エネルギーに曝す助けとなるように適切な大きさにされるかまたは他の形で配置することができる。たとえば、内部容積は、処理中に焦点ゾーン内またはその近くに材料が維持されることを保証する助けとなるように内部チャンバ内の音響焦点ゾーンの境界の近くに位置する壁を含んでよい。他の配置では、内部容積は、キャビテーションまたは他の音響的に引き起こされる影響のための核生成点を提供する要素を含むことができる。結合媒体は、液体または固体であってよく、音響エネルギー源から窓へ音響エネルギーを送るように配置することができる。たとえば、水浴を音響エネルギー源とチャンバの窓との間に位置決めしてよい。いくつかの配置では、チャンバは、水などの液体結合媒体中に部分的または完全に浸漬され得る。

10

【0096】

例示的な一実施形態では、チャンバおよび窓は、内部容積内に加圧環境を維持するように配置することができる。内部容積内に好適な圧力を供給することによって、反応速度を高める助けとなり得、キャビテーションを低下させる助けとなり得、または、音響処理中の他の望ましい影響を与え得る。チャンバは、たとえば窓の反対側のチャンバの上面に、チャンバ内の目視検査を可能にする第2の窓を含むことができる。たとえば、ビデオカメラまたは他の光センサなどのセンサが、処理中にチャンバ内の画像を捕捉することができる。画像データは、所望の結果を達成するために材料流速度、音響エネルギーの性質などのシステムの動作を制御するために使用することができる。たとえば、キャビテーション気泡の存在もしくは大きさ、材料流速度、混合比などの処理特徴および/または音響源もしくはシステムの他の態様を制御するために使用される粒径、均質化、流動化などの材料特性を検出するために、画像解析技術が画像データに対し使用されてよい。

20

【0097】

一実施形態では、チャンバは、外面に、結合媒体と熱を交換するように配置された熱交換器を含むことができる。たとえば、この熱交換器は、チャンバの内部容積に対して熱を伝達する助けとなる複数の放射状フィン、棒、凹部、空洞、または他の特徴を含むことができる。いくつかの配置では、熱は内部容積内に伝達され得るが、他の配置では、熱は熱交換器によって少なくとも部分的に内部容積から伝達され得る。結合媒体は、音響結合媒体か他の熱的結合媒体にかかわらず、その温度が所望の熱伝達に影響を与えるように制御され得る。電気抵抗ヒータまたは他の発熱体が、必要に応じて、追加の熱源を設けるためにチャンバに設けられてよい。別の実施形態では、熱交換器は、チャンバの壁へ加熱/冷却流体を送達するためにチャンバの少なくとも一部分に関連付けられた加熱ジャケットまたは冷却ジャケットを含むことができる。このジャケットは、熱的結合媒体がチャンバに接触できるようにする一方で、また、熱的結合媒体を音響結合媒体から離した状態に保つことができる。この配置は、たとえば特定のタイプの材料(水など)が音響結合に最もよく使用される一方で、異なる物質(不凍液など)が熱的結合に最も良好に使用される場合に役に立ち得る。

30

【0098】

例示的な一実施形態では、チャンバは樽形状を有し、入口および出口はそれぞれ、この樽形状の長手方向軸に沿ってチャンバから離れて延伸する管路を含むことができる。したがって、チャンバは、ある意味では、入口および出口に従属し得る、または場合によっては、入口および出口の導管の下に位置決めされ得る。チャンバは、内部容積と開口とを有する容器と共に使用することができ、この開口は、容器内に位置決めするようにチャンバを通ってもよい。音響エネルギー源もまた、結合媒体と共に容器内に位置し得る。容器の開口を閉じるように、たとえば容器内のチャンバを囲うように、キャップを配置することができる。入口および出口はそれぞれ、そうでなければ容器が外部環境から完全に密閉され得るとしても材料がチャンバ内に導入できるように、チャンバから離れるように延伸してキャップを貫通する管路を含むことができる。

40

【0099】

50

別の例示的な実施形態では、チャンバは、内部容積の形状および大きさを少なくとも部分的に画定する挿入要素を含むことができる。チャンバ内には、キャビテーションのための複数の核生成部位を提供する、反応を高めるために触媒または他の部位を提供する、特定の形状、大きさ、または他の構成を有するように内部容積を画定する、熱を内部容積内へ/内部容積から伝達する助けとなるなどのいくつかの機能のうちの任意の1つを果たすために、2つ以上の別個のパートまたは単一の構成要素を含み得る挿入要素を設けることができる。たとえば、挿入要素は、チャンバ内の音響エネルギーの焦点ゾーンに厳密に一致するまたは場合によってはそれと相互作用する大きさおよび形状を有するように内部容積を画定することができる。挿入要素は、セラミック材料などの任意の適切な材料で作製され、複数の棒部材など、任意の適切な大きさまたは形状の構成要素を含んでもよいし、所望の特徴を有してもよい。

10

#### 【0100】

本発明の別の態様では、材料を音響的に処理するためのシステムは、内部容積を画定し、かつ、この内部容積内に材料を流入させるための入口と、内部容積から流出する材料を排出するための出口とを有するチャンバを含む。音響エネルギー源は、チャンバから離間されてよく、たとえば内部容積内で材料を処理するために内部容積内に音響エネルギーの焦点ゾーンを生成するように約100kHz～100MHzの周波数を有する音響エネルギーを放射するように配置されてよい。結合媒体は、液体または固体であってよく、音響エネルギー源からチャンバへ音響エネルギーを送るように配置され得る。リザーバは、チャンバ内の音響エネルギーにより処理される材料を含んでよく、攪拌器は、このリザーバ内の材料を混合するまたは他の形で移動するように配置されてよい。リザーバとチャンバの入口との間に流体接続された供給管路は、材料をリザーバからチャンバに送達することができ、リザーバとチャンバの出口との間に流体接続された戻り管路はリザーバに材料を戻すことができる。いくつかの実施形態では、材料を供給管路および戻り管路に通過させるようにポンプが配置されてよく、材料を戻り管路から任意選択により受け入れる第2のリザーバが設けることができる。たとえば、戻り管路は、材料を第1のリザーバに戻すのではなく第2のリザーバに向けるようにすることができる三方弁または他の配置を含むことができる。

20

#### 【0101】

本発明の別の態様では、材料を音響的に処理するためのシステムは、内部容積を画定し、かつ、この内部容積内に材料を流入させる入口と、内部容積から流出する材料を排出する出口とを有するチャンバを含む。音響エネルギー源は、チャンバから離間されてよく、たとえばチャンバ内で材料を処理するために、内部容積内に音響エネルギーの焦点ゾーンを生成するように約100kHz～100MHzの周波数を有する音響エネルギーを放射するように配置されてよい。結合媒体は、音響エネルギー源からチャンバへ音響エネルギーを送るように配置され得る。導管内の材料が、第1の管路から内部容積を通じて第2の管路内へ第1の方向に流れ、その後第2の管路から内部容積を通じて第1の管路内へ第2の方向に流れないように、第1の管路はチャンバの入口に流体接続されてよく、第2の管路はチャンバの出口に流体接続されてよい。材料の流れは、ポンプ、重力、または他の原動力により引き起こされてよく、第1の管路および/または第2の管路は、必要に応じて材料を保持する働きをするそれぞれのリザーバに接続されてよい。

30

#### 【0102】

本発明の別の態様では、材料を音響的に処理するためのシステムは、直列に配置された第1の音響処理アセンブリと第2の音響処理アセンブリとを含むことができる。すなわち、材料は、第1のチャンバ内で処理され、次に後処理のために第2のチャンバ内に送られ得る。処理アセンブリのそれぞれは、内部容積を画定し、かつ、この内部容積内への材料の流入を受け入れる入口と、内部容積からの材料の流出を排出する出口とを有するチャンバと、このチャンバから離間され、かつ内部容積内に音響エネルギーの焦点ゾーンを生成するように約100kHz～100MHzの周波数を有する音響エネルギーを放射するように配置される音響エネルギー源と、この音響エネルギー源からチャンバに音響エネルギー

40

50

ーを送るように配置された結合媒体とを含む。リザーバは、第1の音響処理アセンブリおよび第2の音響処理アセンブリのチャンバ内の音響エネルギーによって処理されるべき材料を含むように配置されてよく、供給管路は、このリザーバと第1の処理アセンブリの入口との間に流体接続されてよい。たとえば第1のチャンバから第2のチャンバに材料を移動するために、輸送管路が第1の処理アセンブリの出口と第2の処理アセンブリの入口との間に流体接続されてよい。

#### 【0103】

##### 超音波処理のための装置および方法

図16および図17は、音響エネルギー源2によって生成された集束音響エネルギーが、チャンバの音響窓11を通過し、チャンバ10の、試料材料が配される内部容積12内に入る加工用チャンバ10の一実施形態を示す。以下にさらに詳細に説明するように、音響処理システム1は、(たとえば、1つまたは複数のセンサ、ユーザ入力デバイスなどからの)制御情報を受信し、それに応答して音響エネルギー源2および/または他のシステム構成要素の動作を制御するコントローラ20(たとえば、適切にプログラムされた汎用コンピュータまたは他のデータ加工用デバイスを含む)を含むことができる。試料材料は、入口13を介して内部容積12内に供給され、出口14を介して容積12から除去される。入口および出口はさまざまな方法で配置されてよく、この実施形態では、入口13および出口14はそれぞれ、チャンバ10に接続された管路を含む。いくつかの実施形態では、入口および/または出口は、たとえば材料の流れが断続的であり得る場合であっても流れが常に入口から出口であるように、逆止弁、一方向弁、電子制御弁、または流れが所望の方法で発生することを保証する助けとなる他の配置を含むことができる。内部容積12は、処理されるべき材料に対して適切な大きさおよび形状にされてよく、たとえば、いくつかの音響処理用途(殺菌など)は、比較的小さな量の材料が比較的小さな容積内で処理される場合はより効果的に機能することができるが、他の用途(混合など)は、内部容積12に大きな容積を使用することによって、より良い結果をもたらす。内部容積12は、さまざまな形状または他の構成特徴を有することができ、たとえば、内部容積12は、垂直壁によって画定されてよく、円錐形状を有することができ、湾曲形状を有することができる、などである。また、チャンバ10は、処理されるべき材料を含む内部容積を共に画定する、上側の部材、下側の音響的に透明な部材、本体などの多数の構成要素から形成され得る。あるいは、チャンバ10は、単一の一体型ピースとして、または他の手段によって形成され得る。

#### 【0104】

チャンバ10の1つまたは複数の壁は、内部容積512内で発生したいかなる熱も放散するために、および/または内部容積12内に伝達されるチャンバ10の外部からの熱を受け取るために、熱伝達機構または熱交換器として機能することができ、または他の場合はそれと関連することができる。図16でわかるように、チャンバ10は、複数の放射状フィンの形態をした熱交換器515を含むことができる。当然のことながら、熱交換器515は、ある場所から別の場所に熱を伝達するために電力を使用するペルチェデバイス、電気抵抗ヒータ、熱伝導棒、管、または他の構造、ある場所から別の場所に熱を伝達するために使用される相変化材料などを含む他の方法で形成され得る。熱交換器515は、空気もしくは他のガス、水もしくは他の液体、または固体材料などの、任意の適切な熱的結合媒体と共に動作するように配置することができる。たとえば、図17に示されるように、チャンバ10は、熱交換器515に対して熱を送る働きをする液体中に完全にまたは部分的に浸漬され得る。水または他の外部の熱的結合媒体と内部容積12との密接な熱的結合は、音響加工中の内部容積12内の物質の温度の制御を助けることができる。結合媒体4の温度の制御により、内部容積12内の温度を制御する助けとなり得る。たとえば、結合媒体4は、冷却器、ヒータ、または結合媒体4の温度を調整するための他の手段を介して再循環させることができる。したがって、チャンバ10の内部の試料材料は、チャンバ10の設計の綿密な考慮によって結合媒体4の温度に熱的に結び付けることができる。チャンバ10の内壁と試料材料との間の熱的結合は、高い混合、乱流、および活動性により

10

20

30

40

50

/または内壁の表面において、強固に結び付けられ、したがって大きな対流熱伝達を生じ得る。熱は、結合媒体4のバルク温度に結び付けられる前に、(たとえば、窓11および16における)チャンバ10の1つもしくは複数の端または容器の側壁のどちらかを通過することができる。熱は、結合媒体と試料材料との温度の相対差と、所望の効果を実現するために試料を目標温度に維持する所望の目標と、に応じて、いずれの方向にも流れることができることに留意されたい。チャンバ10の内壁と結合媒体との間の伝達は、壁を介して外面への単純な伝導によって実現することができ、または、外面区域は、フィンの利用、もしくはポンプ圧送された流体を有するジャケット付き容器などの他の高い熱伝達効果の利用により強化することができる。たとえば、図18は、ジャケット19がチャンバ10の少なくとも一部の周囲に位置決めされ、熱伝達媒体50がジャケット19とチャンバ10の外壁との間の空間内で循環する例示的な配置を示す。さらに、入口および/または出口の管路もまた、チャンバ10の入口または出口における強化熱表面の使用によって、結合媒体の温度および/または熱伝達媒体に結合させることができる。たとえば、図18には示されないが、入口13および/または出口14は、熱伝達媒体50に対して熱を伝達するようにジャケット19とチャンバ10との間の空間を貫通し得る。あるいは、入口および/または出口の媒体管路は、音響結合媒体4に対して熱を伝達することを可能にする熱交換器特徴を含むことができる。

10

#### 【0105】

いくつかの実施形態では、音響エネルギー源2は、集束超音波ビームまたは波面をチャンバ10の窓11に向けて発射する超音波変換器を含むことができる。窓11は、チャンバ10内の開口を密閉して閉じることができ、チャンバ10内の材料に作用する内部容積12内の焦点ゾーンを形成するために超音波ビームが窓11を貫通するように、適切に音響エネルギーを透過してよく、または他の場合は音響エネルギーを送ってもよい。窓11は、チャンバ10内の材料に最大量の超音波エネルギーを送り、チャンバ10の壁内の超音波エネルギーの吸収を最小化し、および/または内部容積12とたとえば外部水槽もしくは他の結合媒体との間の熱伝達を最大化するように構成され得る。いくつかの実施形態では、窓11は、ガラス、サファイア、石英、または薄膜ポリマーなどのポリマーである。窓は、任意の適切な形状または他の構成を有してよく、たとえば平坦であってもよいし(または他の場合は、衝突音響エネルギーに対して比較的平坦な面を呈してもよい)、半球形状または他の凸形状を有するように湾曲されてもよい。いくつかの実施形態では、窓11は、窓11の物理的形状に起因する「レンズ」効果(凹形状または凸形状に起因する効果など)により、音響エネルギーを集束または非集束化することなど、内部容積12に対して好ましい方法で音響エネルギーを誘起するような形状にされる。いくつかの実施形態では、窓11は、水の音響インピーダンスに類似した音響インピーダンスと、比較的低い吸音とを有する。1つの好ましい材料は低密度ポリエチレンであるが、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリ(エチレンテレフタレート)(「PET」)、ポリイミド、ならびに他の剛性ポリマーおよび可撓性ポリマーなどの他のポリマーを使用してもよい。窓11が薄膜材料から形成される場合、膜は、チャンバ10への熱接着を容易にするために積層板であってよい。たとえば、窓11は、熱融着を使用することによってチャンバ10に密閉して取り付けられ得る。より厚く、より剛性の材料も、窓11に用いられ得る。

20

30

40

#### 【0106】

チャンバ10の上側部分は検査窓16を含むことができ、検査窓16は、平坦またはドーム状とすることでき、または他の場合は内部容積12の可視光検査を可能にしながら内部容積12を囲うように配置することができる。このような検査は、人間によって、またはビデオカメラ、光検出器、IR検出器などの適切に配置されたセンサ21によって行うことができる。センサ21によって検出される内部容積12内の材料の特性は、システム1の音響エネルギー源2または他の構成要素を制御するためにコントローラ20によって使用され得る。たとえば、過剰キャビテーションを回避しなければならない場合、コントローラ20は、センサ21が一定の大きさおよび/または一定の数のキャビテーション気泡の存在を検出した場合に音響エネルギーを焦点ゾーンに調整することができる。音響

50

処理が、試料材料内の粒子の大きさを細かくすることを目的とする場合、チャンバ10内の粒子の大きさ、密度、または他の特性などの他の特徴がセンサ21により検出され得る。したがって、センサ21は、たとえばチャンバ10内への追加試料材料の導入をトリガするために、音響処理が所望どおりに進行しているかどうかと加工が完了したかどうかとを検知することができる。窓11のように、検査窓16は、ガラス、サファイア、石英、および／またはポリマー物質など任意の適切な物質で形成されてよい。

#### 【0107】

チャンバ10の本体は、環境シールとして働くように、および／または熱伝達機構を提供するように、処理中に内部容積12内に材料を含むのに適した任意の材料または材料の組み合わせで形成することができる。いくつかの実施形態では、チャンバ10は、熱伝導性の金属またはポリマーなどの剛性材料もしくは可撓性材料、またはこのような材料の組み合わせで形成することができる。好ましくは、チャンバ10に使用される材料は、低吸音性質と、所望の用途に対して許容可能な熱伝達性質とを有する。いくつかの実施形態では、チャンバ10の上側部分（たとえば検査窓16を含む）は、音響エネルギーを反射して内部容積12内に戻して追加の加工効率を与えるように配置することができる。チャンバ10が上側部材および下側部材などの多くのパーソから形成される場合、部材同士は、熱接着、接着剤接着、外部からのクランピング、部材間にシールを形成するためのOリングまたは他のガスケットを有する機械的締め具（図16に示されるボルトなど）、溶接などによって、互いに結合することができる。接着を熱接着により実現可能な場合、上側部材および下側部材は、熱接着可能な外側層と熱耐性中間層とを有するフィルム積層板で形成されてもよいし、それらを含んでもよい。

10

20

30

40

#### 【0108】

図17でわかるように、音響処理システム1は、音響エネルギー源2とチャンバ10と結合媒体4とを含む容器503を含むことができる。容器503は、任意の適切な大きさ、形状、または他の構成を取ってよく、任意の適切な材料または材料（金属、プラスチック、複合物など）の組み合わせから形成されてよい。この例示的な実施形態では、容器503は、容器503の内部容積へのアクセスを可能にするように配置された開口31を有する半開きまたは缶状の構成を有する。音響エネルギー源2および結合媒体4（水もしくは他の液体など、または任意選択により固体材料）は、容器503内に、たとえば容器503の底部近傍の音響エネルギー源2と共に、位置決めされ得る。（接触材料4が固体である場合、容器503と結合媒体4は本質的に互いに一体化することができる。結合媒体4は、音響源2とチャンバ10との物理的結合部としてだけでなく、音響結合部としても本質的に機能する。）開口31は、チャンバ10が容器503内に下降されるように、たとえばチャンバ10が結合媒体4中に部分的にまたは完全に浸漬されるように配置することができる。結合媒体4は、たとえば音響エネルギーを音響エネルギー源2から窓11に送るための音響結合媒体と、たとえばチャンバ10から熱エネルギーを受け入れるための熱的結合媒体との両方として、機能することができる。他の実施形態では、熱的結合媒体および音響的結合媒体は、たとえばチャンバ10が図18の冷却ジャケットのような冷却ジャケット19を備えている場合には、別々であってもよい。

50

#### 【0109】

この例示的な実施形態では、開口31は、この実施形態では樽形状を有するチャンバ10を受け入れるような大きさおよび形状にされ、入口13および出口14は、チャンバ10の樽形状の長手方向軸に概ね沿って延伸する。キャップ517は、入口13および出口14の管路に係合され、チャンバ10が結合媒体4の中に吊り下げられて入口および出口の管路とキャップ517とによって支持されるように配置される。チャンバ10は、音響エネルギー源2によって生成される音響エネルギーの焦点ゾーンがチャンバ10の内部容積12内に適切に位置するように、容器503内に位置決めされ得る。したがって、音響エネルギー源2に対するチャンバ10の適切な位置決めが、キャップ517を容器503の開口31に係合するだけで実現され得るので、システム1の組み立ては容易にすることができます。チャンバがキャップ517に対して好適に位置決めされ、キャップ517が容

器 503 に適切に係合される限り、容器 503 内のチャンバ 10 の位置のいかなる調整も必要とされない。キャップ 517 は、キャップ 517 / チャンバ 10 が容器 503 によって支持されるようにだけでなく、また容器開口 31 が、たとえば結合媒体 4 の汚染を防ぐ助けとなるように密閉されるまたは他の形でキャップ 517 により閉じられるように、容器 503 の開口 31 に係合し得る。入口および出口の管路は、たとえばチャンバ 10 内の処理されるべき材料を運ぶ供給ラインおよび / または戻りラインまたは他の管路への流体接続のために、キャップ 517 を貫通し得る。

#### 【 0110 】

チャンバ 10 は、任意の適切な方法で、さまざまな用途のために配置され得ることを理解されたい。たとえば、図 17 に示される実施形態では、入口 13 および出口 14 は容積 12 の両側で、かつ同じ垂直レベルで、内部容積 12 と連通する。しかし、入口 13 および出口 14 は内部容積 12 に他の方法で連通することができる。たとえば、入口 13 は、出口が内部容積に流体結合される場所より上または下の場所で内部容積 12 に流体結合することができる。入口と出口を異なる高さにおいて結合させることによって、特定の用途に応じた利点を提供することができる。たとえば、いくつかの用途では、入口を出口より上に配置することで、内部容積 12 内の材料の温度を制御する助けとなり得る。たとえば、入口に流入する冷却流体は、内部容積 12 の上部近くの比較的暖かい流体と混合することができる。他の用途では、出口より下に入口を有することで、所望の大きさまたは密度を有する材料が出口から出るように促進されることを保証する助けとなり得る。たとえば、より大きなより密度の高い粒子は、音響処理により所望の大きさ / 濃度範囲内に細かくされるまで、出口より下の内部容積 12 内に残ることがある。水ジャケット付きチャンバの場合、チャンバの両端に入口および出口を位置決めすることによって、逆流熱交換器の動作と改善された熱伝達および試料の温度制御とを可能にすることがある。

10

20

30

40

#### 【 0111 】

本発明の別の態様によれば、チャンバ 10 は、少なくとも部分的に内部容積の形状および大きさを画定するために内部容積 12 内に設けられ得る 1 つまたは複数の挿入要素を含むことができる。たとえば、図 19 に示されるように、音響処理が行われる内部容積 12 の大きさおよび形状を画定するために、外側の円筒形状と内側の円錐形状または切頭円錐形状とを有するスリーブ配置を有する挿入要素 518 が、内部容積 12 内に設けられ得る。この実施形態では、挿入要素 518 によって画定される内部空間は、材料が音響的に処理される内部容積 12 として機能する。挿入要素 518 は、用途または他の所望の機能に応じて、さまざまな形状、大きさ、材料で形成されてよい。たとえば、挿入要素 518 は、キャビテーションの開始部位として働く、たとえば挿入要素 518 のセラミック材料表面によって設けられる、複数の核生成部位を含むことができる。内部容積 12 内に位置決めされて核生成部位を提供するように、チャンバ 10 内の熱を伝達するまたは他の形で熱を分布させる助けとなるように、反応部位を設ける、または別の形で容積 12 内の化学反応もしくは他の反応において触媒作用するもしくは反応を助けるように機能する、セラミック棒、ビーズ、または他の材料で作製された要素と他の機能とを含む他の配置が可能である。棒、ビーズ、または他の構造は、たとえば図 20 に示されるように物理的支持体によって、および / または音響エネルギーもしくは他の材料流により生じる内部容積内の混合もしくは他の流体移動によって、内部容積 12 内に吊り下げられ得る。

#### 【 0112 】

本発明の一態様によれば、図 16 および図 17 に示されるようなシステム 1 、ならびに、たとえば以下に説明する他の実施形態は、過剰な発熱または他の問題を経験することなく、長期間にわたって、たとえば 1 時間以上にわたって、比較的高強度で、たとえば 200 ワット以上の音響変換器の出力で、チャンバ 10 または複数のチャンバ 10 内の材料の連続的な音響処理に対処するように配置することができる。一実施形態では、音響エネルギー源 2 の一部において機能する圧電変換器は、平衡状態、すなわち、材料が過剰発熱、変換器の燃え尽きもしくは故障、または音響処理の停止を要するであろう他の状態なしにチャンバ 10 内で音響的に処理される状態において、約 286 ワット相当の強度レベルで

50

数時間にわたって動作し得る。これは、過剰発熱、音響源の故障（たとえば、変換器の過熱およびその後の燃え尽きによる）、試料材料の損傷などのさまざまな理由のために1時間以上の連続的音響処理を実現することができなかつた従来の音響処理配置とは対照的である。

#### 【0113】

##### 変換器

いくつかの実施形態では、音響エネルギー源2は、たとえば超音波変換器または「超音波」周波数範囲内の音響波を生成する他の変換器を含むことができる。超音波は、可聴周波数を超えた周波数、通常は約20,000Hzすなわち20kHzで始まり、メガヘルツ(MHz)波の領域へと続く。水中の音速は毎秒約1000メートルであり、したがって水中の1000Hzの波の波長は約1メートルである。これは通常、非集束場状況では使用可能であるが、直径1センチメートル未満の個々の区域上への特定の集束にとつては長すぎる。20kHzでは、波長は約5cmであり、これは比較的小さな処理容器内では有効である。試料と容器の容積によっては、好みい周波数はより高くてよく、たとえば、それぞれ約1.0、0.1、0.01cmの波長を有する約100kHz、約1MHz、または約10MHzであつてよい。対照的に、音波溶接を含む従来の超音波処理に関しては、周波数は通常約数十kHzであり、撮像に関しては、周波数は通常約1MHz～最大約20MHzである。碎石術では、パルスの繰り返し率はかなり遅く、ヘルツ範囲内で測定されるが、生成されるパルスの鋭さによって、実効パルス波長、すなわち、この場合は最大約100～300MHzすなわち0.1～0.3ギガヘルツ(GHz)の周波数成分を有するパルス立ち上がり時間が与えられる。

10

20

30

#### 【0114】

本発明のいくつかの実施形態で使用される周波数はまた、特定の周波数の場合、試料またはチャンバ10のエネルギー吸収特性により影響を受けることになる。特定の周波数が試料材料によってより良く吸収されるまたは優先的に吸収される限りでは、これが好みい場合がある。エネルギーは、短いパルスの形式で、または規定された時間の長さの間、連続場として送達することができる。パルス群は、束ねられる(bundle)こともできるし、規則正しく離間されることもできる。

#### 【0115】

略垂直方向に配向された集束超音波ビームは、音響エネルギー源2によっていくつかの方法で生成され得る。たとえば、1.1MHzの集束単素子変換器であつてよい、Sonics Concepts、Woodinville、Washingtonにより供給されるものなどの単素子型圧電変換器は、焦点軸が垂直となるように配向された球状伝搬面または他の湾曲した伝搬面を有することができる。別の実施形態では、ビームを集束するために平坦非集束変換器(flat unfocused transducer)および音響レンズ(たとえば、窓11または他の要素)を使用する。さらに別の実施形態では、集束ビームを生成するために集束用電子回路と併せて環状配列などの多素子変換器を使用する。環状配列は、潜在的に、変換器の周囲において、電子アポダイジング(electronic apodizing)によって、すなわち、音響エネルギー強度を電子的または機械的のどちらかで低減することによって、焦点近傍の音響サイドロープを低減することができる。この結果は、変換器の縁周囲の音を部分的に遮断することによって、または多素子変換器の外側素子に対する電力を低減することによって、機械的に達成することができる。これは、エネルギー焦点近傍のサイドロープを低減するので、チャンバ10の加熱を低減するのに役立つ可能性がある。あるいは、小さな変換器の配列を同期させて収束ビームを生成することができる。さらに別の実施形態では、集束ビームを生成するために非集束変換器と集束用音響ミラーとを組み合わせる。この実施形態は、波長が変換器の大きさに比べて大きい場合に、下側周波数において有利となる可能性がある。この実施形態の変換器の軸は水平とすることができる、成形音響ミラーは、音響エネルギーを垂直方向に反射し、このエネルギーを集めさせて収束ビームにするために使用される。

40

40

#### 【0116】

50

いくつかの実施形態では、焦点ゾーンは、処理チャンバ10の加熱を回避するために処理チャンバ10の寸法に比べて小さくすることができる。一実施形態では、焦点ゾーンの幅は約1mmである。処理チャンバ10の加熱は、焦点ゾーン近傍の音響サイドロープを最小化することによって低減することができる。サイドロープとは、連続波面の強め合う干渉(constructive interference)により形成される焦点周辺の高い音響強度の領域である。サイドロープは、多素子変換器の外側素子をより低い電力で動作させることによって電子的に、または単素子変換器周辺の音響波を部分的に遮断することによって機械的に、のどちらかにより、変換器をアポダイジングすることによって低減することができる。サイドロープはまた、処理プロトコルにおいて、たとえば約3～約5サイクルの範囲内の短いバーストを使用することによって低減され得る。

10

#### 【0117】

変換器は、圧電セラミックなどの圧電材料で形成することができる。セラミックは、エネルギーを集束しやすい「ドーム」として製造され得る。このような物質の1つの用途は音響再生においてであるが、本明細書で使用されるように、周波数は一般的に、はるかに高く、圧電材料は通常、パルスを鋭くするために過剰駆動される、すなわち、電圧変化に対する機械的応答の線形領域を超えた電圧によって駆動される。通常、これらのドームは、碎石的システムにおける焦点距離よりも長い焦点距離を有し、たとえば約20cm対約10cmの焦点距離である。セラミックドームは、リングングを防ぐために減衰させることができる。応答は、過剰駆動されない場合、線形である。これらのドームのうちの1つの高エネルギー焦点ゾーンは、通常、葉巻形状である。1MHzでは、20cmドームの場合、焦点ゾーンは約6cm長、約2cm幅、または10cmドームの場合は約15mm長、約3mm幅である。このようなシステムから得られるピーク正圧は、駆動電圧に応じて、約1MPa(メガパスカル)～約10MPa圧すなわち約1500PSI(ポンド毎平方インチ)～約15000PSIである。ピーク音響強度の約6dBの範囲内の音響強度を有するように画定された焦点ゾーンは、幾何学的焦点の周囲に形成される。

20

#### 【0118】

波長、すなわち固有立ち上がり時間に衝撃波の音速を乗算したものは、生体細胞と同じ一般的な大きさの範囲内であり、たとえば約10～約40ミクロンである。この実効波長は、パルス時間と振幅との選択によって、エネルギー源と処理されるべき材料との界面を介して維持される集束の程度によって、などによって変更することができる。

30

#### 【0119】

集束音圧波の別の源は、碎石術において使用されるような電磁変換器および放物集光器である。このような装置の励起は、同様のまたはより大きな集束領域を有する、より大きなエネルギーとなる傾向がある。約-16MPaの強い焦点ピーク負圧が観察された。この大きさのピーク負圧は、水中のキャビテーション気泡の源を提供する。これは、抽出処理において望ましいことがある。

#### 【0120】

##### 駆動電子回路および波形制御

チャンバ10内で音響エネルギーによって材料を処理するための1つの処理プロトコルは、所望の効果を達成するために試料の挙動および位置決めと組み合わされた可変音響波形を含むことができる。変換器の音響波形は、たとえばキャビテーション気泡の崩壊により誘起される流れである、キャビテーションによる細胞内および細胞近傍の音響マイクロストリーミング；流体浴の非線形特性による衝撃波；キャビテーション気泡による衝撃波；試料の加熱、試料容器の加熱、および/または音響ストリーミングによる対流熱伝達に至る熱効果；剪断および音圧による焦点ゾーンからの試料材料の偏向と、音圧により誘起される流れである音響ストリーミングによる混合とを引き起こす流動効果；化学作用を含む、多くの効果を有し得る。集束音波の波形は、単一衝撃波パルス、一系列の個々の衝撃波パルス、それぞれがいくつかのサイクルを有する一系列の衝撃波バースト、または連続波形である可能性がある。入射波形は、集束セラミック圧電超音波変換器(focused ceramic piezoelectric ultrasonic transducer)などの単一素子によって、またはそれらの

40

50

経路が焦点に収束する素子の配列によって、のいずれかによって、直接集束させることができる。あるいは、複数の処理ゾーン、容器、またはウェルに対して超音波処理を施すために、多数の焦点を生成することができる。さらに、処理チャンバ10へのまたは処理チャンバ10からの試料材料の流れは音響効果と相互作用することができ、音響ストリーミングは、望ましい方法でこの試料流れを強化するように修正することができる。

#### 【0121】

処理プロトコルは、熱的効果および流動効果を最小化しながらエネルギー移動を最大化するように最適化することができる。処理プロトコルはまた、液体中に懸濁された粒状試料の場合、処理チャンバ10の中身を効果的に混合することができる。試料中へのエネルギー伝達は、周波数、振幅、バーストあたりのサイクル数などの音響波のパラメータを調整することによって制御することができる。試料の温度上昇は、処理のデューティサイクルを制限することによって、および処理チャンバ10と結合媒体4との間の熱伝達を最適化することによって、制御することができる。熱伝達は、比較的高い熱伝導性材料の薄壁で処理チャンバ10を形成することによって、および／または、処理チャンバ10内のおよび処理チャンバ10近傍の流体浴内の音響ストリーミングによって強制対流を促進することによって、強化することができる。さらに、チャンバ10は、フィンなどの面積増加、能動的圧送水ジャケット(actively pumped water jacket)、および／または高伝導性容器材料などの表面処理強化を行うことによって試料と外部環境との間の熱的結合を強化するように修正することができる。温度の監視および制御について、以下にさらに詳細に説明する。

10

20

30

40

#### 【0122】

たとえば、細胞破壊および抽出処理に関しては、効果的エネルギー波形の一例は、約1.1MHzの周波数における、約1000サイクルの高振幅正弦波と、それに続く、約10%のデューティサイクルである約9000サイクルの不感時間である。変換器への正弦波の電気的入力は通常、変換器からの正弦波音響出力を生じる。集束正弦波は、焦点に収束するので、結合媒体4の中の水または他の流体の非線形音響的性質による一系列の衝撃波となり得る。このプロトコルは、「オン」時間の間、焦点ゾーン内の材料を効果的に処理する。材料が処理されると、その材料は焦点ゾーンから追い出され、新しい材料が焦点ゾーン内で循環する。音響的「オン」時間および「オフ」時間は、処理容器内に最小の温度上昇を引き起こしながら、たとえば碎かれたまたは粒状の葉組織の細胞内含有物を抽出するのに効果的となるように反復することができる。

#### 【0123】

破壊および他の処理のさらなる利点は、低電力「混合」間隔と交互に発生する大電力「処理」間隔を作ることによって得られる可能性がある。より具体的には、この例では、「処理」間隔は、処理周波数とバーストあたり処理サイクルカウントと処理最高最低振幅とを有する正弦波を利用する。「混合」間隔は、混合周波数と、バーストあたり混合サイクルカウントと、より低い混合最高最低振幅とを有する。上記間隔のそれぞれに続くのは不感時間である。当然のことながら、これらの関係は、1つの間隔が大電力であり1つの間隔が低電力であると考えられる場合の多くの例の一例に過ぎず、これらの変数などは、より活発なまたは余り活発でない状況を生成するために変更することができる。さらに、処理機能または間隔と混合機能または間隔は、任意選択により異なる周波数で発して、同じ装置内の異なるまたは複数の変換器から発することができる。

50

#### 【0124】

高電力間隔／低電力間隔の処理により、試料内の細胞などの構成成分の浸透性を変更し、続いて試料を混合するなどの複数の動作が実行可能になる。処理間隔はキャビテーションと生体効果とを最大化することができ、混合間隔は処理容器内の混合を最大化するおよび／または最小限の熱を生成することができる。チャンバ10の周辺で捕捉された粒子を時々かき混ぜるためにより長い高電力「超混合(super-mix)」間隔を加えることで、さらなる利点を得ることができる。この「超混合」間隔は、さらなる熱を生成し、そのため、加工中にまれに、たとえば数秒ごとに、処理するようにプログラムされる。さらに、音

50

響エネルギー源から実質的にエネルギーが放射されない間の時間である、混合間隔と処理間隔との間の不感時間によって、新たな材料が標的のエネルギー焦点ゾーン内に循環することができるようになる。

#### 【0125】

音波の波形は通常、特定の処理される材料に対して選択される。たとえば、キャビテーションを強化するために、ピーク正圧に続くピーク負圧を増加させることが望ましいことがある。他の用途では、キャビテーションを低減するがピーク正圧を維持することが望ましいことがある。この結果は、大気圧をやや超えた圧力の与圧チャンバ10内において加工を実行することによって達成することができる。たとえば、生成波形が約-5 MPaのピーク負圧を有する場合、チャンバ全体は、加工中にキャビテーションが発生しないように約10 MPaに加圧され得る。処理されるべき材料を、チャンバ10の内部容積12内でバッチまたは連続的に加圧することができる。すなわち、一定量の材料が内部容積12内に送達され、材料流が停止されている間に音響的に処理され、次に、この最初の量の処理が完了すると新たな量の材料が内部容積12内に送達され得る。

10

#### 【0126】

通常、衝撃波は、約15 MPaの範囲内の正ピーク圧と約-5 MPaの範囲内の負ピーク圧とを有する急速な衝撃波面により特徴付けられる。この波形は、約5マイクロ秒などの約数マイクロ秒の持続時間とを有する。負ピークが約1 MPaより大きい場合、キャビテーション気泡が形成され得る。キャビテーション気泡の形成はまた、周囲の媒体にも依存する。たとえば、グリセロールはキャビテーション抑止媒体であり、液体水はキャビテーション促進媒体である。キャビテーション気泡の崩壊は、周囲の材料に衝突する「マイクロジェット」と乱流とを形成する。

20

#### 【0127】

音響エネルギー源2の制御は、精度、再現性、加工の速度、温度の制御、音パルスへの曝露の均一性の提供、加工の完了の程度の検知、キャビテーションの監視、ビーム性質(強度、周波数、集束の程度、波列パターン、および位置を含む)の制御のいずれかが処理システム1の性能を強化することができるよう、フィードバック制御機構を使用することによって、コントローラ20により実行され得る。さまざまなセンサまたは感知された性質が、フィードバック制御のための入力を提供するコントローラ20によって使用され得る。これらの性質としては、試料材料の温度と、音響ビーム強度と、圧力と、温度、塩分、および極性を含む結合媒体特性と、試料材料位置と、導電率、インピーダンス、インダクタンス、および/またはこれらの性質の磁気等価物、ならびに試料材料の光学的性質もしくは視覚的性質の検知とを含めることができる。これらの光学的性質は、通常は可視範囲、IR範囲、UV範囲内でセンサ21によって検出することができ、見かけの色、放射、吸収、蛍光、燐光、散乱、粒径、レーザ/ドップラー流体および粒子速度、ならびに実効粘度を含み得る。試料の完全性または粉碎は、センサ21からの光信号のパターン解析により感知することができる。粒子の粒径、溶解レベル、物理的均一性、および形態はすべて、流体を完全独立サンプリング(fully stand alone sampling)しフィードバック信号を提供する計測器または光学窓などの測定インターフェース点を介して集束音響系に直接一体化された計測器のいずれかを使用することによって、測定することができる。任意の感知された性質またはその組み合わせもまた、制御システムへの入力として働くことができる。フィードバックは、システムの任意の出力、たとえば、ビームの性質、チャンバ10内の試料の位置または流れ、処理持続時間、境界におけるエネルギーの損失、ならびに反射、分散、回折、吸収、脱位相、および離調を介した輸送中のエネルギーの損失を制御するために使用することができる。

30

#### 【0128】

本発明のいくつかの実施形態によれば、処理システム1のいくつかの態様は、再現性、均一性、および精密制御が望ましい試験管内用途において超音波エネルギーを使用する特定の処理の再現性および/または有効性を強化することができる。これらの態様は、フィードバックの使用、超音波エネルギーの精密集束、音響波形の監視および調節(周波数、

40

50

振幅、デューティサイクル、バーストあたりのサイクル数を含む)、試料材料が一様に処理されるように超音波エネルギーに対してチャンバ10を位置決めすること、加工工程中に超音波エネルギーの焦点に対する試料の動きまたは流れを制御すること、および/または超音波エネルギーパラメータによって、もしくは水槽等の温度コントローラの利用によってのいずれかにより、処理中の試料の温度を制御することを含む。処理プロトコルは、望ましくない熱影響を最小限にしながら、たとえば剪断、抽出、透過処理、粉碎、攪拌、または他の加工工程を最大化するために、上記変数の1つまたはそれらの組み合わせを使用することによって最適化することができる。

#### 【0129】

本発明の一実施形態では、高強度超音波エネルギーがチャンバ10上に集束され、1つまたは複数の加工変数に関係する「リアルタイム」フィードバックが、処理を制御するために使用される。別の実施形態では、プロセスは自動化され、任意選択によりセグメント化される、処理されるべき材料の連続的な流れストリームなどの高スループットシステムにおいて使用される。10

#### 【0130】

いくつかの実施形態では、処理システムは、電気エネルギーまたは光エネルギーの入力によって駆動されると音響エネルギーを生成する高強度変換器と、任意の波形発生器、RF増幅器、超音波エネルギーの時間、強度、およびデューティサイクルなどのパラメータを制御するための整合ネットワークなどの、変換器の励起を制御するためのデバイスまたはシステムと、自動化と監視からのフィードバックの実施とを可能にするために、処理ゾーン内へおよび処理ゾーンから材料を能動的または受動的のどちらかで移動するためのシステムまたは方法と、温度センサと、温度を制御するためのデバイスと、1つまたは複数の反応チャンバ10と、たとえば光学的特性(signature)、放射特性、および/または音響学的特性を検知するためのセンサとを含む。粒径、溶解度、および形状因子などのフィードバック信号はまた、外部型測定法または一体型測定法のどちらかによって提供される信号から生じることができる。20

#### 【0131】

本発明の追加の態様は、材料を音響的に処理するための材料流れ回路配置に関する。たとえば、いくつかの実施形態では、試料材料は、直接圧送法または受動的重力駆動法の使用により受動的手段または能動的手段によって処理チャンバに/処理チャンバから移動させることができる。30

#### 【0132】

図22に概略的に示された例示的な一実施形態では、音響処理システム1は、処理チャンバ10内で処理されるべき材料を保持するリザーバ30に流体結合された1つまたは複数の処理チャンバ10を含むことができる。この例示的な実施形態では、チャンバ10の入口13は供給管路31に流体結合され、チャンバ10の出口14は戻り管路32に流体結合される。したがって、リザーバ30内の材料は、材料がチャンバ10内の音響エネルギーによって適切に処理されるように、任意の適切な流量、圧力、時間、または他のパラメータでチャンバ10を介して循環させてよい。材料の流れは、重力によって、音響ストリーミング(たとえばチャンバ10内の)によって、ポンプ33(シリンジポンプ、蠕動ポンプ、歯車ポンプなど)、または他の原動力によって引き起こされ得る。いくつかの実施形態では、圧力は、所望の位置に所望の圧力を生成するために、加圧ガス、ポンプ、または他の構成要素を適用することにより、チャンバ10内(および/またはリザーバ30内)に維持され得る。上記で説明したように、チャンバ10内および/または他のどこかにある材料を加圧することは、キャビテーションを低減する、反応速度を向上させる、および/または他の所望の影響を及ぼす助けとなり得る。40

#### 【0133】

本発明の一態様では、リザーバ30は、混合羽根、攪拌機(stirrer)、ホモジナイザ、または機械的に混合する、剪断する、もしくは他の形でリザーバ30内の材料の動きを引き起こすように機能する他のデバイスなどの攪拌器34を含むことができる。材料の動50

きは、音響処理に先立って材料を前処理すること、リザーバ内の容積全体にわたり材料成分の所望の分布を維持することなどの所望の影響を有し得る。図21の配置のような配置は、処理が完了したときに材料が所望の性質を有するようにシステム1が材料を音響処理に繰り返し曝すことができるようになることができる。チャンバ10内の音響処理条件はプロセスを通して一定またはほぼ一定のままであってよく、また、条件は時間と共に変化してよい。たとえば、材料は、より小さな粒子に分解されて最終的に担体液中で可溶性にされる物質の比較的大きな粒子を当初含み得る。初期の音響処理条件（攪拌器34の動作だけでなく）は、大きな粒子をより小さな粒子に分解するのに有利であり得る。いくつかの初期処理の後、大きな粒子は分解されてよく、音響処理条件（および攪拌器34の動作）は、小さな粒子の構成成分を溶解する速度および有効性を向上するように調整され得る。処理条件に対する調整は、感知された材料の性質（粒径、密度など）、経過時間、ユーザ入力などの任意の適切な判定基準に基づいて、行われ得る。システム1は任意選択により、材料の加工が完了したと判定される（再び、この判定は、検出された材料の性質、経過時間などに基づいて行うことができる）と材料を受け入れる第2のリザーバ35を含むことができる。この実施形態では、戻り管路32は、コントローラ20が材料を要望どおり第2のリザーバ35へ向けるようにする三方弁36（または他の好適な配置）を含む。当然のことながら、他の流れ制御配置が使用されてよく、第2のリザーバ35の材料流の制御は、経過加工時間、検出された粒径もしくは密度、材料の色もしくは他の光学的性質、または試料材料の他の特性などの感知されたパラメータに基づき得る。

10

20

30

40

50

## 【0134】

図22は、供給管路31を介してチャンバ10に流体結合された第1のリザーバ30と戻り管路32を介してチャンバ10に流体結合された第2のリザーバ35とを含む音響処理システム1の別の例示的な実施形態を示す。この実施形態では、第1のリザーバ30内の材料は、音響処理のためにチャンバ10を通過し、その後で第2のリザーバ35内に堆積することができる。その後の音響処理が望まれる場合、材料は反対方向にもかかわらず再びチャンバ10を通過させられ、第2の処理の後で第1のリザーバ30へと流れることができる。材料の流れは、ポンプ33によって、チャンバ10内の音響ストリーミングによって、重力（たとえば、1つのリザーバ内の材料のレベルを他のリザーバよりも高く設定して、サイホンを生成させて流す）によってなどの任意の適切な方法で引き起こすことができる。チャンバ10および／または管路31、32は、1つまたは複数の窓、センサ、または試料材料の性質を検出するのに適した他の構成要素を含んでよい。これらの検出された特徴は、流量、圧力、音響処理特性などのシステム1の種々のパラメータを制御するために使用することができる。

## 【0135】

別の例示的な実施形態では、音響処理システム1は、直列に配置された2つ以上の処理チャンバ10を含むことができる。たとえば、図23は、2つのチャンバ10が互いと、およびリザーバ30と流体連通する実施形態を示す。第1のチャンバ10aは試料材料に「前処理」または他の第1の処理を施すために使用されてよく、第2のチャンバ10bは材料に「仕上げ」または他の第2の処理を施す。音響エネルギーおよび他の処理パラメータは、全体の加工目標を最適化するように各チャンバ10において独立に設定および制御することができる。たとえば、所望の材料を抽出し、材料内の成分を可溶性にするなどによって材料の最終的な性質を微調整する追加の音響処理のための次の段階（たとえば「仕上げ」段階）に試料材料が移る前に、試料材料は、試料材料内の大きな塊／凝集を細かくするために第1のチャンバ10a内の「粗処理（roughing）」段階（たとえば、処理条件によって、試料の概ね高レベルの混合および均質化が得られる）を最初に通過することができる。所望の出力を実現するために、図23のシステムのようなシステム1において必要なだけ多くの段階（すなわちチャンバ10）を使用することができる。

## 【0136】

本発明の態様はまた、上記で説明した種々のシステム1を使用することによって材料を音響的に処理するための方法に関する。たとえば、本発明による1つの方法は、図21の

システムのようなシステムを使用することによって材料を処理する工程を含み、材料はリザーバ内で攪拌器によって攪拌され、材料はリザーバからチャンバ10内に流され、材料はチャンバ10の内部容積内で集束音響エネルギーに曝され（焦点ゾーンにおける音響エネルギーは本明細書に記載の性質を有する）、材料は流されてリザーバに戻される。任意選択により、材料の加工状態は、たとえば材料がチャンバ10または戻り管路内にある間に検出することができる。材料が適切に処理される場合、材料は別のリザーバへ流すことができる。1ガロン、10ガロン、100ガロン、1000ガロン、またはそれ以上の材料などの比較的大量の材料がリザーバ内に保持され、連続的なやり方で1つまたは複数のチャンバ10を通って循環的に流されることができる。したがって、処理方法は、200ワット以上に相当する電力出力で連続的に動作する音響エネルギー源によって1時間以上にわたって連続的に行うことができる。10

### 【0137】

本発明による別 の方法は、図22のシステムのようなシステムまたは同様なシステムを使用して材料を処理する工程に関する。たとえば、材料はチャンバ10内において第1方向に流せることができる。材料は、チャンバ10の内部容積内の集束音響エネルギーに曝され（焦点ゾーンにおける音響エネルギーは本明細書において説明する性質を有する）、チャンバ10から流出させられる。その後、材料は、チャンバ10内において第1方向の反対の第2方向に流せることができる。材料は、再び音響的に処理され、チャンバ10から第2方向に流れる。流れは、1つまたは複数のポンプ、音響ストリーミング、重力、および／または別の原動力によって引き起こすことができる。また、音響処理は、200ワット以上の電力出力で、音響エネルギー源2の動作によって長時間（1時間以上）にわたって連続的な方法で行うことができる。本発明による別 の方法と同様に、音響窓を含むチャンバ、熱交換器特徴を含むチャンバなど種々の態様を組み合わせてよい。20

### 【0138】

本発明による別 の方法は、図23のシステムのようなシステムまたは同様なシステムを使用して材料を処理する工程に関する。たとえば、材料は第1のチャンバ10へと流せることができる。材料は第1のチャンバ10の内部容積内の集束音響エネルギーに曝され（焦点ゾーンでの音響エネルギーは、本明細書において説明する性質を有する）、材料は第1のチャンバ10から流出させられて第2のチャンバ10へと流入させられる。材料は再び音響的に処理される。材料の逐次処理は、3つ以上のチャンバによって繰り返され得る。処理条件は、異なるチャンバ10内において同じであっても異なってもよい。音響処理は、200ワット以上の電力出力で、音響エネルギー源2の動作による連続的な方法で長時間（1時間以上）行うことができる。本発明による別 の方法と同様に、音響窓を含むチャンバ、熱交換器特徴を含むチャンバなど種々の態様を組み合わせてよい。30

### 【0139】

温度、キャビテーション、粒径、溶解度、ならびに圧力の管理および制御  
試料の視覚的監視

試料の処理を最適化するために光学的または映像的な検出および解析を採用することができる。たとえば、生体組織の懸濁液中では、混合物の粘度は、処理による、および／または溶液中への巨大分子の遊離による、粒子の減少によって、処理中に増加し得る。処理中の試料の映像解析により、処理プロトコルによって引き起こされる混合の自動評価が可能になる。プロトコルは、この評価の結果として、より大きな混合を促進するように処理中に変更されてよい。映像データは、処理プロセスを制御しているコンピュータ制御システム（すなわちコントローラ20の一部）によって取得および解析され得る。スペクトル励起、吸収、蛍光、放射、およびスペクトル解析などの他の光学測定も、チャンバ10内であり、流路内であり、またはチャンバ10の上流もしくは下流の流路内であり、試料の処理を監視するために使用することができる。レーザビームは、たとえば、位置合わせのために、および現在の試料位置を示すために使用することができる。いくつかの実施形態では、視覚的検知または光学的な検知は、反応チャンバ内の窓を通して実行することができる。この窓は、チャンバ10の上側または下側の窓、容器側面自体に一体化された可視窓40

50

であってもよいし、輸送チューブまたは試料リザーバに一体化された窓であってもよい。

#### 【0140】

##### 温度制御

いくつかの用途では、加工中の試料の温度が加工中に管理および制御されることを必要とする。たとえば、多くの生体試料は、処理中に4<sup>0</sup>Cを超えて加熱されるべきではない。他の用途は、処理中に試料が一定の高温に維持されることを必要とする。超音波処理プロトコルは、試料が音響エネルギーを吸収して熱に変換する；試料処理チャンバが、音響エネルギーを吸収して熱に変換し、この熱によって、試料を加熱することができる；音響ストリーミングが、試料処理チャンバおよび結合媒体内で成長し、試料処理チャンバと結合媒体との間の対流熱伝達を起こさせる、といういくつかの方法で試料の温度に影響を及ぼす。

10

#### 【0141】

音響波またはパルスは、処理チャンバ内の溶液の温度を調節するために使用することができる。低電力では、音響エネルギーは、著しい加熱がなしにゆっくりとした攪拌を生じさせる。エネルギーは吸収されて攪拌を誘発するが、熱は、処理チャンバの側面を通って急速に失われ、試料内の平衡温度の無視することができる増加をもたらすことがある。より高いエネルギーでは、より多くのエネルギーが吸収され、温度が上昇する。単位エネルギー入力あたりの上昇の程度は、試料または処理チャンバによる熱吸収の程度と処理チャンバからその周囲（たとえば、結合媒体）への伝熱速度とを含むいくつかの特性によって影響を受けるおよび／または制御することができる。さらに、処理プロトコルでは、所望の効果が得られる高出力処理間隔と、著しい発熱がなくても音響ストリーミングと対流が実現される低出力混合間隔を交互に行うことができる。この対流は、効率的な熱交換または冷却を促進するために使用することができる。

20

#### 【0142】

試料温度は、処理手順中に、所定の温度範囲内に留まる必要があり得る。温度は、たとえば赤外線センサによって、遠隔的に監視することができる。熱電対などの温度プローブは、音波ビームが熱電対と相互作用してプローブの近傍で人工的に高い温度を生じさせてるので、すべての用途に対して特に好適ではない可能性がある。温度は、音響波形を制御する同じコンピュータによって監視することができる。この制御は、試料の測定された実際の温度と試料の目標温度との差である誤差信号に応答する。制御アルゴリズムは、台所用レンジ内のものなどの、ヒステリシス bang-bang controller) とすることができます。ここでは、制御システムの出力として、音響エネルギーは、実際の温度が第1の目標温度を超えるとオフにされ、実際の温度が、第1の目標温度より低い第2の目標温度を下回ると、オンにされる。より複雑なコントローラを実装することができる。たとえば、単純に音響信号をオンオフするのではなく、音響信号は、より細かな温度調節を与えるために、たとえば振幅またはデューティサイクルを変えることによって、誤差信号に比例して連続的に変調することができるであろう。

30

#### 【0143】

多試料形態用 bang-bang 制御アルゴリズムの用途では、いったん最高温度値を超えて、音波エネルギーが特定の試料に対してオフにされると、試料が選択温度未満まで冷却されるのを待ってから音波エネルギーを再びオンにすることの代替案は、次の試料に移動すること、または処理チャンバ内への新しい試料材料の流量を増加することである。別の代替案は、特定の試料に著しい熱を加えることなく対流を促進する所定の「冷却」波形に切り替え、このサイクルとチャンバへの新しい試料材料の導入とを同期させることである。

40

#### 【0144】

##### より多くの実施形態

結晶成長による大量のナノ結晶粒子の再現可能な形成に関する本開示の態様は、試料材料がチャンバの加工用ゾーン内に含まれるまたはこれを通過するシステムを含めて、音響エネルギーにより材料を処理することに関する以下のさらなる説明と組み合わせて使用することができる。

50

## 【0145】

いくつかの実施形態では、本明細書において説明するフロースルー加工は、非フロースルー技法では可能でない、いくつかのタイプの音響処理および／または処理効率を可能にすることができる。いくつかの実施形態では、試料材料を音響的に処理する方法は、処理チャンバ内で1つまたは複数の副焦点ゾーンを作製する工程と、これらの副焦点ゾーンを使用してチャンバ内の材料を音響的に処理する助けとなる工程とを含む。たとえば、音響エネルギー源は、試料材料を含む処理チャンバ内のある場所に、音響変換器により放射されるエネルギーを集束することによって、音響エネルギーの焦点ゾーンを生成することができる。この焦点ゾーンから散乱されるまたは他の形で発する音響エネルギーは、副焦点ゾーンまたは処理チャンバへと戻る反射を生成し、それによって混合を助ける非接触式圧力降下環境を確立するように、（たとえば、チャンバの壁によって画定される外形によって）反映されるまたは他の形で操作することができる。これらの副焦点ゾーンは、混合の誘発、分子結合の破壊、所望の方向への試料材料の流れなどによって、音響処理を補助することができる。したがって、音響処理は、より効率的に行うことができる。それは、たとえば、一部には、他の場合には処理チャンバから放射されるであろう音波エネルギーを、チャンバ内の音響処理に使用することができるからである。

10

## 【0146】

いくつかの実施形態では、これらの反射されたエネルギーは内部に向かって、加工「ゾーン」を生成し、ここでは、エネルギーは加工領域に向けられる。チャンバ外形の形状は、この加工ゾーン内部の圧力の範囲に対応するように修正することができる。これは、生体試料などのいくつかの材料にとって望ましいことがあり、そこで、より大量の一体化された材料全体のエネルギー密度が特定の閾値を上回るので、より大きくより均一な加工ゾーンが全体的により効率的な加工を作製する。

20

## 【0147】

一実施形態では、音響処理方法は、音響的に処理されるべき試料を、内側面を備えた壁を有するチャンバの内部容積へと提供する工程を含む。試料は、液体、固体、混合物、懸濁液、または液体と固体の他の組み合わせなどの任意の適切な材料を含んでよい。チャンバは、任意の適切な大きさ、形状、または他の配置を有してよく、たとえば、ある空間を通る材料の流れを可能にする単一の分離された容器または配置であってよい。チャンバから離隔された音響エネルギー源から、約100kHz～100MHzの周波数を有する音響エネルギーを送ることができる。たとえば、1つまたは複数の圧電素子を含む音響変換器は、少なくとも部分的にチャンバ内で焦点ゾーンを形成するのに適した配置を有する音響波を放射するために使用することができる。音響エネルギーは、液体および／または固体などの結合媒体を通して内部容積に送ることができる。他の場合はチャンバから出ることができるであろう音響エネルギーは反射されて、チャンバ内で副焦点ゾーンを形成することができる。たとえば、チャンバは壁を含むことができ、この壁は薄く、音響放射を実質的に透過し、気体／チャンバ壁界面を提供するように空気または他の気体によって取り囲まれる。この実施形態では、気体／チャンバ壁界面は、試料材料に対する音響インピーダンスまたは他の音響的性質の適切な差を提供することができ、したがって、音響エネルギーが気体／チャンバ壁界面で反射されてチャンバの内部容積へと戻る。この反射されたエネルギーは、チャンバ内で1つまたは複数の副焦点ゾーンを形成するように集束するまたは他の形で方向づけることができる。一代替実施形態では、チャンバ壁材料自体が高インピーダンス材料から作製され、したがって、加工用ゾーンへと戻る直接反射を引き起こすことができる。

30

## 【0148】

別の例示的な実施形態では、音響エネルギーによって材料を処理するためのシステムはチャンバを含み、このチャンバは、内部容積を画定する内側面を備えた壁を有し、チャンバ内の音響エネルギーの反射を引き起こしてチャンバ内で副焦点ゾーンを形成するように配置される。音響エネルギー源は、このチャンバから離間され、内部容積内に音響エネルギーの焦点ゾーンを生成するために約100kHz～100MHzの周波数を有する音

40

50

響エネルギーを放射するように配置されてよい。たとえば、液体および／または固体を含む結合媒体は、音響エネルギー源から内部容積に音響エネルギーを送るよう配置することができる。チャンバは、(たとえば、チャンバの底部における)内部容積への開口と、内部容積への材料の流入を受け入れるための入口と、内部容積からの材料の流出を排出するための出口とを有することができる。一実施形態では、チャンバ壁は、約100kHz～100MHzの周波数を有する音響エネルギーを実質的に透過することができる。窓が、チャンバの開口の中に設けられ、開口を密封的に閉じるように、および内部容積内の材料の処理のためにチャンバの中へ集束音響エネルギーを送るように配置することができる。この窓は、チャンバ壁と一体的に、全体的に、または他の形で形成されてよく、約100kHz～100MHzの周波数を有する音響エネルギーを全体的に透過することができる。窓がハウジングの下端で露出し、チャンバがハウジングの内部空間内に位置するように、ハウジングをチャンバおよび窓に取り付けることができる。この配置によって、ハウジングが、窓より下の、たとえばハウジングの下端および窓が液体結合媒体中に浸漬される領域において気体とのチャンバ壁の外側面の接触を維持することを可能にすことができる。チャンバ壁と気体の界面は、内部容積内の音響エネルギーの1つまたは複数の副焦点ゾーンを生成するために、内部容積内の音響エネルギーに対する集束効果を有することができる。たとえば、音響エネルギー源によって生成される焦点ゾーンから散乱されることは他の形で放射される音響エネルギーは、副焦点ゾーン(複数可)を生成するために界面によって反射されて内部容積へと戻ることができる。チャンバはドーム形を有してよく、ドーム形は、たとえば、半球状部分、円筒状部分、円錐形部分、または音波エネルギーを集束する助けとなるもしくは他の形で方向づけるための他の適切な形状を含む。一実施形態では、内部容積からの材料の流出を排出するための出口は、たとえば音響処理中に遊離される気体を内部容積から除去する助けとなるように、チャンバの最上部部分に位置することができる。これは、音響エネルギーへのチャンバ内の気体の干渉を防止する助けとなり得る。さらに、これによって、より大きい／重い粒子が浮力を有するようになり送出(outgoing)試料と共に移動するのに十分なほど小さくなるまで加工ゾーンの中に残留することを保証することができる。

10

20

30

40

50

#### 【0149】

一実施形態では、チャンバへの入口は、チャンバの上部から交差することができるが、チャンバの内部で底部領域へと延びる送り込み管を有し、したがって、材料が出口への途中で加工用ゾーンを通過しなければならないことを保証する。この配置は、低い流量および／または低い音響エネルギー加工条件においてより重要となり得る。

#### 【0150】

本発明の別の態様では、音響エネルギーによって材料を処理するためのシステムは、壁を有するチャンバを含むことができ、この壁は、内部容積を画定する内側面と、この内側面と反対側の、気体によって実質的に取り囲まれる外側面とを備える。気体とチャンバ壁の外側面との界面は、チャンバを出ることからの、および／または1つまたは複数の副焦点ゾーンを生成するための、音響エネルギーを反射するまたは他の形で方向づける助けとなり得る。反射された音響エネルギーから形成されるこの副焦点ゾーンは、たとえば試料材料の音響処理を助けるために、音響エネルギー源によって生成される焦点ゾーンを補うことができる。例示的な一実施形態では、チャンバは、たとえばチャンバの上部に配置され音響エネルギー源から最も遠いドームの上側部分を備えた、ドーム形状を有することができる。チャンバのドーム形状は、副焦点ゾーンを形成するために音響エネルギーを集束するまたは他の形で方向づけるように配置することができる。チャンバは、内部容積への開口と、内部容積への材料の流入を受け入れるための入口と、内部容積からの材料の流出を排出するための出口とを有することができる。一実施形態では、チャンバ壁は、約100kHz～100MHzの周波数を有する音響エネルギーを実質的に透過し、約0.010インチの厚さを有することができ、ポリエチレン、P E T、テフロン(登録商標)／FEPベースの材料、T P X(ポリメチルペンテン)、または他の適切に音響的に透過な材料から作製されてよい。窓がチャンバの開口の中に配され、開口を密封的に閉じるように

、および内部容積内の材料の処理のためにチャンバの中へ集束音響エネルギーを送るように配置することができる。窓は通常、たとえば音響エネルギーの損失、窓の加熱などを防止する助けとなるように約100KHz～100MHzの周波数を有する音響エネルギーを透過させることができる。音響エネルギー源は、窓およびチャンバから離間され、内部容積内に音響エネルギーの焦点ゾーンを生成するために約100kHz～100MHzの周波数を有する音響エネルギーを放射するように配置されてよい。たとえば液体および／または固体を含む結合媒体は、音響エネルギー源から窓に音響エネルギーを送るよう配置することができる。一実施形態では、窓は結合媒体と接触することができ、たとえば、窓およびチャンバの他の下側部分を水浴中に浸漬することができる。窓がハウジングの下端で露出し、チャンバがハウジングの内部空間内に位置するように、ハウジングをチャンバおよび窓に取り付けることができる。この配置によって、ハウジングの一部を液体結合媒体中に浸漬させ、この結合媒体と接触するように窓を置くことができる。しかし、チャンバ壁の一部が結合媒体の上部レベルよりも下に配されても、ハウジングは気体をチャンバ壁と接触させて維持することができる。チャンバおよび窓は、たとえば、キャビテーションを低下させる助けとなるように、または真空を抜いて内部容積内の気体含量を低下するために、内部容積内の加圧環境を維持するように配置することができる。

#### 【0151】

いくつかの実施形態では、チャンバは密閉され、チャンバを通したバルク流体材料の効果的な移動のためのチャンバへの1つまたは複数の入口および出口を有することができる。チャンバは、試料材料または環境の汚染を防止するために処理中に密閉することができる。いくつかの実施形態では、製造プロセスストリームなどにおいて非常に大きな試料体積群が必要な場合、複数の試料ストリームを並列に処理するためにチャンバの配列を使用することができる。いくつかの実施形態では、加工される材料に接触するチャンバおよび／または他の構成要素は、たとえば材料の加工に1回使用された後に廃棄されるために、使い捨ての形態で形成されてよい。入口および出口はチャンバの上部の近くに位置することができ、したがって、チャンバの内部容積は、ある意味では、入口および出口によって左右されることもあり、場合によっては少なくとも出口より下に位置決めされることもある。入口および出口はそれぞれ、そうでなければチャンバが外部環境から完全に密閉され得るとしても材料がチャンバ内に導入されるように、チャンバから離れるように延びる管路を含むことができる。材料の流れは、ポンプ、重力、または他の原動力により引き起こされてよく、第1の管路および／または第2の管路は、必要に応じて材料を保持する働きをするそれぞれのリザーバに接続されてよい。

#### 【0152】

##### 超音波処理のための装置および方法

図24は、音響エネルギー源2によって生成される集束音響エネルギーが結合媒体4（固体および／または水などの液体を含むことができる）を通過してチャンバ10の音響窓11に至り、試料材料が配されるチャンバ10の内部容積12へと入る、音響処理システム1の一実施形態を示す。音響処理システム1は、（たとえば、1つまたは複数のセンサ、ユーザ入力デバイスなどからの）制御情報を受信し、それに応答して音響エネルギー源2および／または他のシステム構成要素の動作を制御するコントローラ20（たとえば、適切にプログラムされた汎用コンピュータまたは他のデータ加工デバイスを含む）を含むことができる。試料材料は、入口13を介して内部容積12内に供給され、内部容積12内で音響的に処理され、出口14を介して容積12から除去される。

#### 【0153】

音響エネルギー源2は、集束超音波ビームまたは波面をチャンバ10の窓11に向けて発射する超音波変換器を含むことができる。窓11は、チャンバ10内の開口を密閉して閉じることができ、チャンバ10内の試料材料に作用する内部容積12内の焦点ゾーン617を形成するために超音波ビームが窓11を貫通するように、適切に音響エネルギーを透過してよく、または他の場合は音響エネルギーを送ってもよい。窓11は、チャンバ10内の材料に最大量の超音波エネルギーを送り、および／または内部容積12とたとえば

10

20

30

40

50

外部水槽もしくは他の結合媒体4との間の熱伝達を制御するように構成され得る。いくつかの実施形態では、窓11は、ガラス、サファイア、石英、またはポリイミドもしくはポリメチルペンテンなどのポリマーである。窓は、任意の適切な形状または他の構成を有してよく、たとえば平坦であってもよいし（または他の場合は、衝突音響エネルギーに対して比較的平坦な面を呈してもよい）、半球形状または他の凸形状を有するように湾曲されてもよく、それによって、音響エネルギーが収束音響場から約90度の角度で通過することが可能になる。いくつかの実施形態では、窓11は、窓11の物理的形状に起因する「レンズ」効果（凹形状または凸形状または他のレンズ構成に起因する効果など）により、音響エネルギーを集束または非集束化することなど、内部容積12に対して好ましい方法で音波エネルギーを誘起するような形状にされる。いくつかの実施形態では、窓11は、水（または他の結合媒体4）の音響インピーダンスに類似した音響インピーダンスと、比較的低い吸音とを有する。1つの好ましい材料は低密度ポリメチルペンテンであるが、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリ（エチレンテレフタレート）（「PET」）、ポリイミド、ならびに他の剛性ポリマーおよび可撓性ポリマーなどの他のポリマーを使用してもよい。窓11が薄膜材料から形成される場合、膜は、チャンバ10への熱接着を容易にするために積層板であってよく、および／または約0.25mmの厚さを有してよい。たとえば、窓11は、熱融着、接着剤、機械的クランプ、または他の止め具、または他の配置を使用することによってチャンバ10に密閉して取り付けられてもよいし、一般的なガスケットまたはOリングの概念を使用して密閉されてもよい。より厚く、より剛性の材料も、窓11に用いられ得る。

10

20

30

40

#### 【0154】

チャンバ10は、内部容積12を画定する内表面を備えた壁を含むことができる。本発明の一態様では、この壁は、チャンバ壁および／または試料材料の音響インピーダンスと著しく異なる音響インピーダンスを有する気体（空気など）または別の材料によって実質的に取り囲まれた外表面を有することができる。チャンバ壁は、比較的薄く、たとえば約0.010インチの厚さを有するように作製されてよく、実質的に音響的に透過的とすることができます。したがって、チャンバ壁の外表面の周囲の気体（または他の材料）とチャンバ壁自体との界面は、音響エネルギーを反射して内部容積12へと戻す働きをすることができる。一実施形態では、内部容積12内の音響エネルギーは、音響エネルギーの副焦点ゾーン618を生成するようにチャンバ壁／気体界面によって反射させることができる。この副焦点ゾーン618は、焦点ゾーン617と一致してもよいし、焦点ゾーン617から離れて配されてもよい。さらに、副焦点ゾーン618は、焦点ゾーン617よりも小さくてもよいし、これよりも大きくてもよいし、これと同じ大きさであってもよく、チャンバ壁は、2つ以上の副焦点ゾーン618を生成するように配置されてもよい。あるいは、副焦点ゾーンは、より大量の材料に作用するような形状にされてもよく、したがって、材料のその領域の全体にわたってより高い一貫した（integrated）圧力を生成することができる。集束された場合、副焦点ゾーン618は、焦点ゾーン617における音響エネルギー強度に対して、より高い（または、より低い）音響エネルギー強度を有することができる。たとえば、焦点ゾーン617におけるピーク正圧が約1MPa（メガパスカル）～約10MPaの圧力すなわち約150PSI（ポンド毎平方インチ）～約1,500PSIの場合、副焦点ゾーン618におけるピーク正圧は、これより20%高いことがある（焦点ゾーンとは、音響エネルギー強度が約6dBのピーク音響強度の範囲に含まれる区域である）。この例示的な実施形態では、チャンバ壁は、チャンバ10の上部の近くに位置するドーム状形状、たとえば音響エネルギー源2から離れた最も遠い部分を含む。この配置は、音響エネルギーを適切に反射および集束して、焦点ゾーン617よりも上に位置する単一の副焦点ゾーン618を形成することがわかっており、試料材料が、たとえばチャンバ10内の混合を誘発することによって、または他の影響によって、音響エネルギーに適切に曝されることを保証する助けとなり得る。

40

#### 【0155】

チャンバ10を音響エネルギー源2と音響的に結合する助けとなるように、結合媒体4

50

が液体であっても固体であっても、窓 11 を結合媒体 4 と接触させて位置することができる。結合媒体 4 が液体の場合、調節を行い、結合媒体 4 が窓 11 より上のチャンバ 10 の一部分と接触するのを防止することによって、気体 / チャンバ壁界面を維持する助けとすることができる。この例示的な実施形態では、チャンバ 10 は、円筒状スリーブなどのハウジング 615 の中に受け入れられ、したがって、窓 11 がハウジング 615 の下端で露出されるが、チャンバ 10 の他の部分はハウジング 615 の内部空間内に位置する。たとえば、窓 11 は、液体結合媒体 4 がチャンバ壁とハウジング 615 の間空間に流入するのを防止する液密接合を形成するように、ハウジング 615 に接着されるまたは他の形で取り付けることができる。これは、窓 11 および / またはハウジング 615 の一部分が結合媒体 4 の上部レベルより下に浸漬されても、チャンバ壁の周囲の空気または他の気体を維持する助けとなる。すなわち、チャンバ 10 全体などのチャンバ壁の少なくともいくつかの部分は、気体 / チャンバ壁界面が維持される間、液体結合媒体 4 の上表面より下に位置することができる。図 24 では、チャンバ 10 の下側部分は結合媒体 4 の上表面より下に位置決めされているが、結合媒体 4 の上部レベルがチャンバ 10 に対して任意の適切な方法で位置決めされてよいことを理解されたい。

10

#### 【0156】

当然のことながら、図 24 の配置は例示的な一実施形態に過ぎず、チャンバ 10 およびハウジング 615 の他の構成が可能である。たとえば、図 25 は、チャンバ 10 が図 24 のチャンバのように構成される配置を示す（チャンバはドーム状形状を備えた壁を有する）。しかし、この実施形態におけるハウジング 615 は、チャンバ 10 とハウジング 615 の間の空気または他の気体のギャップを実質的に維持しながら、チャンバ 10 の形状に全体的に適合する形状を有する。空気ギャップは特に大きい必要はなく、ギャップは厚さが変化することができるが、いくつかの実施形態では、約 1 mm くらいの薄さであってよい。ハウジング 615 およびチャンバ 10 は、チャンバ壁が空気または他の気体によって実質的に取り囲まれる状態を依然として維持しながら、たとえば入口 13 および出口 14 近くの区域で、互いに接触するまたは効果的に取り付けることにより留意されたい。

20

#### 【0157】

入口 13 および出口 14 はさまざまな方法で配置されてよく、この実施形態では、入口 13 および出口 14 はそれぞれ、チャンバ 10 に接続された管路（フレキシブルチューブなど）を含む。入口 13 および / または出口 14 は、取り付け具（迅速に接続できる取り付け具、ルアータイプの取り付け具など）または試料材料供給もしくはレシーバへの液密接続を形成するのに適した他の配置を備えることができる。試料材料供給としては、たとえば、試料材料のリザーバ、管路、ポンプ、フィルタ、および / または他の任意の適切な構成要素が含まれ得る。たとえば、一実施形態では、入口 13 および / または出口 14 は、試料材料にチャンバ 10 を通過させる蠕動ポンプと相互作用可能なフレキシブルチューブを含むことができる。いくつかの実施形態では、入口および / または出口は、たとえば流れが断続的であり得るにもかかわらず材料の流れが常に入口から出口であるように、逆止弁、一方向弁、電子制御弁、または流れが所望の方法で発生することを保証する助ける他の配置を含むことができる。場合によっては、試料材料の音響加工は、音響加工を妨害し得る試料材料からの気体の放出を引き起こすことができる。この実施形態では、出口 14 はチャンバ 10 の最上部部分に配され、したがって、内部容積 12 から出口 14 への試料材料の流れによって内部容積 12 内の気体を除去することができる。しかし、気体トラップ、通気孔、気体スカベンジャー、または内部容積 12 内の気体の存在を減少させるための他の構成などの他の配置が可能である。入口 13 および / または出口 14（ならびに、チャンバ 10、窓 11、およびハウジング 615 を含む他の構成要素）は、（たとえば、エチレンオキサイド、ガンマ線放射、高圧蒸気殺菌法、化学処理などによって）殺菌可能にされてよく、したがって、試料材料が汚染されないことをユーザに保証することができる。また、このような構成要素を作製し、単回使用を意図し、その後で廃棄または修繕することができる。

30

40

50

## 【0158】

チャンバ10の上側部分などのチャンバ10の一部分は、内部容積12の可視光検査を可能にする検査窓または他の配置を含むことができる。このような検査は、人間によって、またはビデオカメラ、光検出器、IR検出器などの適切に配置されたセンサ21によって行われ得る(図24参照)。センサ21によって検出される内部容積12内の材料の特性は、システム1の音響エネルギー源2または他の構成要素を制御するためにコントローラ20によって使用することができる。たとえば、過剰キャビテーションを回避するべきである場合、コントローラ20は、センサ21が一定の大きさおよび/または数のキャビテーション気泡の存在を検出した場合に音響エネルギーを焦点ゾーン617に調整してよい。音響処理が、試料材料中の粒子の大きさを細かくすることを目的とする場合、チャンバ10内の粒子の大きさ、密度、または他の特性などの他の特徴がセンサ21により検出され得る。したがって、センサ21は、たとえばチャンバ10内への追加試料材料の導入をトリガするために、音響処理が所望どおりに進行しているかどうかと加工が完了したかどうかとを検知することができる。窓11のように、検査窓は、ガラス、サファイア、石英、および/またはポリマー材料などの任意の適切な材料で形成されてもよいし、および/またはチャンバ壁の一部であってもよい。また、センサ21は、ハウジング615およびチャンバ10が使用可能状態に置かれているとき、センサ21がセンサ21の調整または他の構成を必要とすることなく内部容積12内の状態を検出するように適切に配置することができるように、ハウジング615の一部とする(たとえば、ハウジング615の壁に取り付けられる)ことができる。センサ21のコントローラ20との連通および/または電力接続は、無線で、またはハウジング615がホルダに取り付けられているときに対応するコネクタと接触するハウジング615上の電気コネクタなどによって有線で、確立することができる。すなわち、音響エネルギー源2と、結合媒体4のための容器3と、コントローラ20などを含む音響処理機(たとえば、Woburn, MAのCovaris, Inc.によって提供されるモデルS2音響処理機またはモデルS220音響処理機のような)はまた、ハウジング615と物理的に係合し結合媒体4および/または音響エネルギー源2に対して適切な位置にチャンバ10を保持するためのホルダまたは他の取り付け用構成を含むことができる。一実施形態では、このホルダは、ハウジング615の円筒状部分を受け入れハウジング615を所望の場所に支持する円筒状開口を含むことができる。このホルダおよびハウジング615は、クランプ、止めねじ、摩擦嵌め、または他の適切な構成を使用して、互いに対して固定することができる。

10

20

30

40

## 【0159】

チャンバ10の本体は、環境シールとして働くように、および/または音響反射機能を提供するように、処理中に内部容積12内に試料を含むのに適した任意の材料または材料の組み合わせで形成することができる。いくつかの実施形態では、チャンバ10は、熱伝導性の金属またはポリマーなどの剛性材料もしくは可撓性材料、またはこのような材料の組み合わせで形成することができる。好ましくは、チャンバ10に使用される材料は、吸音性が低い。いくつかの実施形態では、チャンバ10の上側部分(たとえば検査窓を含む)は、音響エネルギーを反射して内部容積12(たとえば、気体界面によって機能する)内に戻して追加の加工効率を与えるように配置することができる。チャンバ10が上側部材および下側部材などの多くのパーツから形成される場合、部材同士は、熱接着、接着剤接着、外部からのクランピング、部材間にシールを形成するためのOリングまたは他のガスケットを有する機械的締め具、溶接などによって、互いに結合することができる。接着を熱接着により実現可能な場合、上側部材および下側部材は、熱接着可能な外側層と熱耐性中間層とを有するフィルム積層板で形成されてもよいし、それらを含んでもよい。

## 【0160】

内部容積12は、処理されるべき試料材料に対して適切な大きさおよび形状にされてよく、たとえば、いくつかの音響処理用途(殺菌など)は、比較的小さな量の試料材料が比較的小さな容積内で処理される場合はより効果的に機能することができるが、他の用途(混合など)は、内部容積12に大きな容積を使用することによって、より良い結果をもた

50

らすことができる。内部容積 12 は、さまざまな形状または他の構成特徴を有することができ、たとえば、内部容積 12 は、垂直壁によって画定されてよく、円錐形状を有することができ、湾曲形状を有することができる、などである。また、チャンバ 10 は、処理されるべき材料を含む内部容積を共に画定する、上側の部材、下側の音響的に透明な部材(たとえば、窓 11)、本体などの多数の構成要素から形成され得る。あるいは、チャンバ 10 と窓 11 は、単一の一体型ピースとして、または他の手段によって形成され得る。

#### 【0161】

図 26 は、図 24 の実施形態のドーム形状のチャンバ 10 の斜視図を示す。副焦点ゾーンを生成するうえで、半球状の上側部を備えた湾曲したドーム形状が有用であることがわかっているが、他のドーム形状も可能である。たとえば、図 27 は、略円錐形状を有するチャンバ 10 の断面図を示す。このような配置は、たとえば、チャンバ 10 の上部の近くで音響エネルギーを集めるために有用であり得る。図 28 は、チャンバ 10 がほぼ円筒状の形状を有する別の例示的な実施形態を示す。この配置は、たとえば、チャンバ 10 の上側部分の周囲の近くで複数の副焦点ゾーンを生成するために有用であり得る。図 29 は、チャンバが円錐形状を備えた下側部分と円筒状形状を備えた上側部分とを有する別の例示的な実施形態を示す。この配置は、チャンバ 10 の上部の近くの比較的限定された区域内に副焦点ゾーンを生成する助けとなり得る。当然のことながら、図 27 ~ 29 のドーム形状は、たとえば四面体形状、卵形容形状、ジオデシックドーム形状、ならびに他の規則的配置および不規則的配置を含む他の方法で変更されてよい。これらの実施形態は、窓 11 または他の類似の配置なしで示されているが、たとえばチャンバ 10 の下端で窓 11 をフランジに付着させることによって、窓 11 をチャンバ 10 の下側開口に設けてもよい。

10

20

30

#### 【0162】

上記で説明し図 24 に示されるように、音響処理システム 1 は、音響エネルギー源 2 とチャンバ 10 と結合媒体 4 および / または他の構成要素とを含む容器 603 を含むことができる。容器 603 は、任意の適切な大きさ、形状、または他の構成を取ってよく、任意の適切な材料または材料(金属、プラスチック、複合物など)の組み合わせから形成されてよい。この例示的な実施形態では、容器 603 は、容器 603 へのアクセスを可能にするための開放上部を備えた缶状の構成を有するが、容器 603 は、蓋または他の閉鎖具(closure)を有するように配置されてよい。たとえば、チャンバ 10、ハウジング 615 などは、容器 603 を閉鎖する蓋の穴の中に受け入れることができ、したがって、チャンバ 10 は、容器 603 の内部で少なくとも部分的に適切に位置決めされる。結合媒体 4 が固体である場合、容器 603 と結合媒体 4 は本質的に互いに一体化することができる。結合媒体 4 は、音響源 2 とチャンバ 10 またはチャンバ 10 用のホルダとの物理的結合部としてだけでなく、音響結合部としても本質的に機能する。

#### 【0163】

##### キャビテーション制御

いくつかの用途では、キャビテーションを生じることなくできるだけ多くのエネルギーで試料を処理することが好ましい場合がある。この結果は、キャビテーションを抑制することにより達成することができる。キャビテーションは、「超過気圧」と呼ばれることが多い、いかなる負圧も音響波の希薄化段階中に成長しない点まで大気圧を超えて、処理チャンバを加圧することによって、抑制することができる。キャビテーションのこの抑制は、生細胞を維持しながら細胞膜を開くことが所望の効果である細胞形質転換などの用途では有益である。他の用途では、キャビテーションを強化することが望ましい場合がある。これらの用途では、「負の」超過気圧または真空を焦点ゾーンの領域に適用することができる。

40

#### 【0164】

試料内のキャビテーションの制御もまた、音響処理プロセス中に重要である可能性がある。いくつかのシナリオでは、少量のキャビテーションの存在が生化学的プロセスを強化するのに望ましいかもしれないが、多数のキャビテーション気泡が存在すると、音がターゲットに到達する前に、これらの気泡が音を散乱して試料を効果的に遮蔽する可能性があ

50

る。

#### 【 0 1 6 5 】

キャビテーションは、音響的方法および光学的方法を含むさまざまな方法によって検出することができる。音響検出の一例は、キャビテーション気泡からのアコースティックエミッショニンを検出する外部の変換器を含む受動的キャビテーション検出器 ( PCD:passive cavitation detector ) である。( すなわち、PCD はチャンバ 10 の外にあってもよく、たとえば、PCD は結合媒体 4 の中に配されてもよい。 ) P C D からの信号は、たとえばピーク検出器に続いて低域通過フィルタを使用することによって濾過され、次に、キャビテーション活動の測度として制御コンピュータ ( コントローラ 20 の一部 ) に入力することができる。音響信号は、キャビテーション活動を所望のレベルに維持するために、温度制御例で説明したものと同様のやり方で調整され得る。

#### 【 0 1 6 6 】

超過気圧 : チャンバ 10 内の圧力増加は、キャビテーションを制御するための 1 つの技術である。超過気圧は、キャビテーション核を除去する傾向があり、キャビテーションを生成するために必要なエネルギーレベルを増加させる。流体中の微塵は超過気圧により強く影響を受け、そのため、自由流体中のキャビテーションは、1 大気圧の超過気圧の追加によってすら劇的に低減されることが多い。チャンバ 10 の壁上の核生成部位は、超過気圧に対して耐性である傾向があるが、キャビテーションはこれらの部位に制限される傾向があり、自由流体中に自由に浮かんでくるいかなる気泡も直ちに分解される。システムの周囲圧力を増加させることによって、気泡核生成および崩壊に必要な圧力も増加し、これによりキャビテーション気泡の崩壊により与えられる力も増加する。この関係はほぼ線形である。すなわち、システムの周囲圧力を 2 倍にすると、気泡崩壊の結果得られる力も 2 倍になる。より高い全体圧力に対処するための注意深いシステム設計によって、これを何倍も増加できるようにすることができる。超過気圧は、処理チャンバに、処理チャンバの配列に、処理結合媒体および容器に、またはシステム全体に適用され、焦点ゾーンの領域内に大気圧よりも高い気圧を実現することができる。

#### 【 0 1 6 7 】

脱気 : 材料流体のガス含有量の低減は、再びキャビテーション核を低減してキャビテーションの開始をより困難にすることによって、キャビテーションを低減する傾向がある。キャビテーションまたはキャビテーションの影響を制御する別の方法は、試料流体中に溶解される気体を制御することである。たとえば、キャビテーションは、アルゴンガスで飽和させた流体中よりもヘリウムガスで飽和させた流体中で、機械的損傷がより少ない。

#### 【 0 1 6 8 】

##### キャビテーションの監視

キャビテーションを検出するためのさまざまな方法を用いることができる。たとえば、アコースティックエミッショニン、光学散乱、高速度写真、機械的損傷、および音響化学を使用することができる。温度の監視について上記で説明したように、キャビテーション検出からの情報は、情報に応じて試料の音波エネルギーへの曝露を選択的に制御する出力を生成するためにシステムにより使用することができる。キャビテーションを監視するためのこれらの方法のそれぞれについて、以下でより詳細に説明する。

#### 【 0 1 6 9 】

アコースティックエミッショニン : 気泡は、超音波の実質的散乱体である。気泡の脈動モードは、実質的音響源である単極源と呼ばれる。小さくて略線形の振動では、気泡が入射音響パルスを単純に散乱する。しかし、応答がより非線形になるにつれて、気泡もまた、より高調波で信号を放射し始める。より激しく駆動されると、気泡は低調波も生成し始める。最終的には、応答が周期的またはカオス的になるにつれて、散乱場は白色雑音に向かう傾向がある。慣性的崩壊が発生するシナリオでは、短い音圧パルスが放射される。音響変換器は、これらの放射を検出するように構成することができる。放射の開始と細胞破壊との間には、検知可能な相関がある。

#### 【 0 1 7 0 】

10

20

30

40

50

光学散乱：気泡はまた、光を散乱する。気泡が存在すると、光が散乱される。光は通常、光ファイバ光源を使用することによりシステム内に導入することができるので、キャビテーションをリアルタイムで検出することができ、したがって電子システムおよびコンピュータシステムによって制御することができる。

#### 【0171】

高速度写真：気泡を撮影することができる。この方法は通常、気泡が音響の時間フレーム上で応答するので、高速度カメラおよび高強度照明を必要とする。この方法はまた、調査中の試料に対する良好な光学的アクセスを必要とする。この方法は、詳細かつ正確なデータを与えることができ、本発明によるシステムを設計する際に考慮され得る。はるかに低頻度で撮像するストロボシステムはしばしば、高速度写真より安くかつより容易に同様な定性的性能を与えることができる。

10

#### 【0172】

機械的損傷：キャビテーションは、機械系に対して損傷を生じることが知られている。金属箔の穴あけは、特に一般的な作用であり、検出方法である。箔に穴を開けるために必要とされるキャビテーションと細胞を分裂させるために必要とされるキャビテーションとの間には相関がある。

#### 【0173】

音響化学：多くの化学物質がキャビテーションに応じて生成されることが知られている。これらの化学物質の収率を、キャビテーション活動の測度として使用することができる。一般的な技術は、キャビテーションに曝されると光を生成するルミノールなどの化学物質からの光の生成を監視することである。音響化学収率の判断は通常、細胞実験中になすことができないが、同一条件下で独立になすことができ、これにより校正標準が得られる。

20

#### 【0174】

##### 処理用材料

###### A. 生体材料

多くの生体材料を本発明に従って処理することができる。たとえば、このような処理用材料としては、根端などの成長植物組織、分裂組織、カルス、骨、酵母および強靭な細胞壁を有する他の微生物、寒天板上または増殖培地内の細菌細胞および／または培養物、幹細胞または血液細胞、不死化細胞株からのハイブリドーマおよび他の細胞、ならびに胚があるが、これらに限定されない。さらに、血清製剤およびタンパク質製剤などの他の生体材料は、殺菌を含む本発明のプロセスによって処理することができる。

30

#### 【0175】

###### B. 結合材料

多くの結合反応は、本発明による処理によって強化することができる。結合反応は、混成(hybridization)または他の非共有結合によって、2つ以上の分子たとえば2つの核酸分子を結合することに関与する。結合反応は、たとえば、特定の染色反応などの結合を検出するアッセイにおいて、1つのヌクレオチド分子がプライマーであり他方が複製すべき基質分子であるポリメラーゼ連鎖反応などの反応において、または免疫学的検定などの、抗体と抗体が結合する分子とに関与する結合相互作用において、見られる。反応はまた、基質と配位子との結合に関与することができる。たとえば、抗体または受容体などの基質は、エピトープ、配位子、および他の分子の精製技術または分離技術に使用される支持体表面上で固定化することができる。

40

#### 【0176】

###### C. 化学材料と鉱物材料

有機材料および無機材料は、本発明の方法に従って制御音響パルスにより処理することができる。音パルスは、特にフィードバック制御形態下で、または複数試料の配列において、固体材料を変化させるために使用され得る。生体試料と同様に、配列内の個々の有機試料および無機試料は、実験室環境とほぼ隔絶した状態で処理することができる。材料は、その物理的完全性を変えることに加えて、液体および気体などの溶媒流体中に溶解され

50

るか、または溶媒により抽出することができる。たとえば、溶媒中のポリマーの溶解は、攪拌なしでは非常に遅くなる可能性があるが、複数の試料を現行手法により攪拌することは困難であり、試料間の相互汚染の可能性を高める。しかし、試料間の相互汚染を引き起こさずに複数の試料を攪拌することは、本発明の装置および方法によって達成することができる。

### 【0177】

#### 処理用途

##### A. 細胞接近性を変えること

超音波処理器は、おおよそ20KHzの周波数を使用することにより細胞を破壊することができる。一般には、超音波が細胞に影響を与えることができる2つの方法、すなわち、加熱と、音波と試料中の小さな気泡との相互作用であるキャビテーションがあると考えられている。加熱は、主として、媒体によって、または容器による音響エネルギーの吸収によって発生する。希薄水溶液系に関しては、それは、加熱の主供給源である容器による吸収である。加熱は、本明細書に記載されるように、いくつかの処理用途では望ましくない。音波の圧縮に伴う加熱と希薄化に伴う冷却は、強い音に対しても比較的小さい。

### 【0178】

本発明によれば、媒体中の制御音響パルスは、生体材料を含む試料を処理するために使用される。パルスは、植物細胞壁などの生体材料中の支持マトリックスまたは骨もしくはコラーゲンなどの細胞外マトリックスと優先的に相互作用するように特に適合することができ、これによって、このようなマトリックスのバリア機能を低下または除去し、細胞内への細胞外成分の挿入を容易にする。この用途では、細胞は最小限度に変えられ、細胞生存率は保たれる。これらのパルスは、衝撃波によって、または音波によって、生じさせることができる。波は、適用される機械的デバイスを介して、試料外で、または試料内で直接に、生成することができる。熱効果が無視できる実験では、キャビテーションが存在しない限り通常、溶解はない。音波エネルギーの他のモードは、マトリックスを破壊することとは異なる効果を有することができ、前処理と共に、音波エネルギーを妨害することと共に、または単独で、使用することができる。たとえば、マトリックスを破壊するための条件は、細胞膜を透過性にするためのものとは異なる可能性がある。

### 【0179】

キャビテーションが細胞に影響を与える多くの可能な機構があり、どの機構が、あるとしても支配的かに関して意見の一一致はない。原理機構は、剪断、マイクロジェット、衝撃波、音響化学、および他の機構を含むと考えられる。

### 【0180】

##### B. 抽出

上記で説明した細胞の接近性を変える方法の一変形形態では、媒体中の制御パルスは、生体材料を含む試料を処理して生体材料の一部または一部群を抽出するために使用することができる。パルスは、植物細胞壁などの支持マトリックス、または骨もしくはコラーゲンなどの細胞外マトリックス、または生体材料中の剛性または浸透性が異なる材料と優先的に相互作用するように特に適合され、これによって、このようなマトリックスまたは材料のバリア機能を低下または除去する。これらのパルスは、衝撃波によって、または音波によって、生じさせることができる。波は、適用される機械的手段を介して、試料外で、または試料内で直接に、生成することができる。

### 【0181】

生体試料の支持マトリックスは、マトリックス内に含まれる細胞の1つまたは複数の選択された内部構造を破壊することなく破壊することができる。このような試料の代表的な例は、i) 剛性マトリックスが当該の生細胞を含む骨と、ii) 弾性結合組織のマトリックスと「糖衣」または細胞間マトリックス中に埋め込まれた生細胞を含む哺乳動物組織試料と、iii) セルロースのマトリックス中に細胞を含み、他の物質としばしば架橋結合される、葉などの中程度の剛性の植物組織である。事実上すべての生細胞は、テクスチャ(texture)がゼラチン状であり、破裂または内部損傷を伴うことなくある程度変形させ

10

20

30

40

50

ことができる。対照的に、マトリックスは、他の生物学的機能を実現するだけでなく、細胞を支持および保護するように設計される。上記の3つの例では、骨と葉のマトリックスは構造に剛性を与えるように設計され、ほとんどのコラーゲンマトリックスの担体は強い弾性特性を有する。したがって、異なるプロトコル、たとえば、振幅、持続時間、パルス数、および試料の温度が、細胞材料を損傷することなく機械的手段によって異なるマトリックスを破壊するために使用することができる。

#### 【0182】

抽出のために最適化すべき3つの区域は、処理波形、混合波形、および位置決めまたはディザリングである。抽出目的のための標的試料の適切な処理パラメータおよび位置決めパラメータを決定するための1つの方法について以下で説明する。

10

#### 【0183】

最初に、固体試料を、処理チャンバ内において約1:1比(重み/容積)で一定量の液体中に置く。たとえば、メタノール0.25mLを、処理チャンバ0.5mL内において葉組織0.25g mLに加える。単一の試料を音響装置の焦点ゾーン内に置く。処理プロトコルを使用することなく、最小振幅、最少サイクル/バースト、および最低デューティサイクルで試料の「攪拌」をもたらすように、混合波形を調整する。混合波形プロトコルを規定した後、破壊処理波形を、混合がなくかつディザリングなどの試料移動がないように焦点ゾーン内のターゲット試料を固定化することによって調整する。圧電変換器などの音波エネルギー源を使用することにより、試料を、バーストあたり最小数たとえば3のサイクルにかける。抽出目的のために、振幅は当初、定格500mV設定で使用される。試料の一部は、膜破壊の兆候を求めて顕微鏡下で処理および検査する。このような検査は、細胞内オルガネラを染色する染料と共に行うことができる。このとき、サイクル数/バーストは、特定の所望の組織破壊レベルが組織の固定化された一部において達成されるまで、増加される。新たな試料を用いて、組織対液体の1:1の比では、この試料の温度は、試料容器を覆う薄いポリエチレンフィルムの上部に向けられた赤外線センサにより、百万サイクルの全処理の間、監視される。デューティサイクルは、4+/-2内などの所定範囲内に温度を維持するように調整される。上記で説明したように、(図23のように)直列に配置されたさまざまな処理チャンバによって、または同じ処理チャンバ(たとえば、材料が振動するようにチャンバ10中を流れる)によって、さまざまな段階の抽出を行うことができる。さまざまなチャンバ(または処理条件)は、プロセス中の段階ごとに所望の結果を達成するように調整されてよい。

20

#### 【0184】

##### C. 細胞中への分子の導入または細胞からの分子の除去

マトリックスを有する試料が、十分であるが、マトリックス中に含まれる相当な数の細胞が殺されるまたは溶解される程度ではなく、弱められるかまたは減衰されると、曝露された標的細胞または細胞群は、形質移入または形質転換などの技術によって外来分子の挿入を受け入れるようになる。いくつかのマトリックスでは、マトリックスから細胞を分離させて次に細胞を形質移入させることは便利かもしれない。他の場合では、既知の技術を修正した溶液および条件を使用して被処理組織試料に形質移入を直接実行することは、特に自動システムにおいて好ましい。あるいは、処理されるべき細胞がマトリックス内に位置しない状況では、その細胞は、マトリックスを前処理する必要なく、以下の処理に従って直接処理することができる。以下の処理は主に形質移入に関して説明されるが、本発明による方法および装置は、透過性細胞膜中に外来物質を導入する形質転換プロセスまたは他のプロセスに同様に適用可能である。

30

#### 【0185】

細胞の浸透性を変えるために使用される波形は、特定の用途に応じて微調整される。通常、衝撃波は、正ピーク圧たとえば約100MPaと負ピーク圧たとえば約-10MPaとを有する急速な衝撃波面により特徴付けられる。この波形は、数マイクロ秒の持続時間、たとえば約5マイクロ秒程度のものである。負ピークが約1MPaより大きい場合、キャビテーション気泡が形成され得る。キャビテーション気泡の形成はまた、周囲の媒体に

40

50

も依存する。たとえば、グリセロールはキャビテーション抑止媒体であり、液体水はキャビテーション促進媒体である。キャビテーション気泡の崩壊は、周囲の材料に衝突する「マイクロジェット」と乱流とを形成する。

#### 【0186】

音波、すなわち衝撃閾値未満の強度の音響波は、マトリックスを破壊して細胞の原形質膜へのアクセスを可能にして形質転換を可能にする代替手段を提供する。このような音波は、任意の既知のプロセスによって生成することができる。生体材料は氷点下温度たとえば約 -5 に曝されるので、水のすべてではないがほとんどが固相状態にある。しかし、いくつかの生体組織内には、液体水のマイクロドメインが、自然「不凍」分子またはより高い塩濃度の領域などのいくつかの理由で、依然として残っている。したがって、試料温度が音波または衝撃波によって処理中に変えられるので、液体水のマイクロドメインは衝撃波を形成してキャビテーション気泡の形成および崩壊を誘発することができ、その結果、周囲の組織に影響を及ぼす剪断応力を生じる。実際、試料温度の緩やかな変化によって、周囲の材料に影響を及ぼす液体水の集束領域が生じるので、試料温度の緩やかな変化が望ましいであろう。波は、圧電パルスとして直接に、または介在媒体を介して、のいずれかによって試料に適用することができる。この媒体は、水、緩衝液、分離すべき標的材料の安定化媒体、または標的の抽出媒体であり得る。介在媒体はまた、本質的に固体である材料または凍結溶液で形成された固体である可能性がある。

10

#### 【0187】

この時点では、または任意選択により、既に、細胞中に組み込まれるべき材料を含む溶液または懸濁液を試料に加える。一実施形態では、外来物質を、露出した原形質膜を有する細胞に関する当技術分野で知られているように、従来のやり方で細胞に組み込む。別の実施形態では、音響エネルギーは、細胞内への外来物質の導入を容易にする目的で原形質膜を一時的に透過性にするために使用される。外来物質は、音響エネルギーによるマトリックスの弱化中に、試料中に存在し得る。色素排除または他の生存度測定によって判定されるように細胞が無傷のままである場合でも、音響エネルギーによって細胞基質を弱めるプロセスは原形質膜を一時的に不安定にし、外来巨大分子および構造の取り込みを強化する。組み込み速度のさらなる増加が必要な場合、音響エネルギーの強度または適用時間は、細胞膜が一時的に透過性となるまで、わずかに増加される。たとえば、緩やかなパルスまたは波が所定の振幅で混合物に印加される。この振幅は、マトリックスを破壊する適切な処理を決定する上記で説明した工程と同様の経験的な方法で、細胞型の原形質膜を一時的に多孔性にするために、同じタイプの試料上の別々の実験において容易に決定することができる。一時的な多孔質状態の間に、外来物質は細胞中に拡散し、音パルスまたは衝撃パルスが除去されると、その材料はそこで捕捉される。

20

30

#### 【0188】

形質移入または生細胞中への外来物質の他の組み込みのためのこれらの方法の主要な利点は、これらの方法が、拡大化と、自動化と、試料の大きさと試薬容積の著しい低減とし、容易に適用可能であるということである。したがって、これらの方法は、マトリックスからの細胞の分離を必要としないので、大規模な自動化に大部分適応可能である。さらに、これらの方法は、本明細書に説明したプロセスなどの連続的流れプロセスに適用可能である。たとえば、音響エネルギー処理は、透過化処理用と殺菌用とでは異なる可能性があるが、処理されるべき試料は、図 21 において説明した装置と同様な装置を通過することができる。

40

#### 【0189】

媒体 1 m l 当たりの細胞数はまた、音響を効果的に使用する細胞用途の重要な要素である。細胞の濃度は、低過ぎてはならず（生成され利用されるエネルギーは細胞の濃度に依存するので）、または高（粘度が高）過ぎてはならない。さらに、透過化プロセスを用いて、混合プロフィールによって、遺伝子移入の他の技術を強化することができる。例として、リン酸カルシウム共沈、電気穿孔、受容体依存処理がある。

#### 【0190】

50

#### D . 殺菌

「殺菌する」、「消毒する」、「保存する」、「浄化する」、「不活性化」、「消毒する」、および「殺す」という用語は、文脈上必要でない限り、本明細書では交換可能に使用される。「殺菌」すなわちすべての生物の死滅は、特定の操作において、たとえば、汚染物質がタンパク質またはプリオントなどの非生物である場合、「汚染除去」と同意語ではないことがある。これらの用語は通常、特定の生物および／または粒子の任意の活動の実質的排除またはそれとの干渉を意味する。

##### 【 0 1 9 1 】

上記で説明した透過化および抽出のための方法は、試料を殺菌するように修正することができる。殺菌のための装置および方法は、特定の容積および容器の中の特定の材料の効率的な殺菌に対して最適化することができる。殺菌すべき特定の材料に対して、条件の初期セットが選択される。このような条件は、適切な場合には音パルス発生器のタイプ、音波エネルギーの強度、音波エネルギーの周波数、および／または同様の変数の選択を含むことができる。条件はまた、容積、輸送のモード、および／または殺菌されるべき材料の露出を含むことができる。次に、初期条件および近い変形を試料に適用し、死滅した細胞またはウイルスの割合を標準的アッセイ条件によって判断する。さらなる変数を選択して変更する。それに応じて、供試生物の最大死滅のゾーンがわかる。最後に、流量および／または長さおよび／または音響露出の強度などの他の変数を、技術的解決策と特定の材料を殺菌する問題に対する商業的に有用な解決策との両方を提供するように最適化する。これらの経験的に決定した値のうちのいずれも、殺菌を能動的に制御するために、殺菌に使用される装置の制御システム内にプログラムすることができ、または、装置は、ユーザが所定の殺菌モードと装置を選択するだけでよいように、既に決定されたこれらの値を有することができる。

10

20

30

40

50

##### 【 0 1 9 2 】

多くの液体に関し、適切な殺菌は、細菌、菌類、および他の生細胞の細胞壁を壊すことにより実現される。この結果は、細胞が溶解されるまで溶液を最小限度に加熱しながら細胞の膜を優先的に励起する音の周波数および波長を使用することによって達成される。ほとんどの細胞性生物では、膜を開くことと中身が細胞外液と混合できるようにすることによって、細胞性生物を殺すことになる。

##### 【 0 1 9 3 】

同様な処理によって、ウイルスを溶液に開くことができる。ウイルスの場合、ウイルスの内部核酸の溶液への曝露は、裸のDNAまたはRNAもまた伝染性である可能性があるので、ウイルスを完全に不活性化するには適切ではないことがある。ウイルスの不活性化を完了するために、ヨウ素または核酸消化酵素などの補助剤を溶液中に供給することができる。

##### 【 0 1 9 4 】

#### E . 混合、攪拌、および加熱

粉末および粒状の媒体およびガスを含む流体試料では、試料混合は、渦攪拌(vortexing)もしくは攪拌、または空隙を含む試料の反転、振動などの他の方法によって従来どおりに行われる。渦攪拌は本質的に、攪拌が被駆動装置と流体との機械的接触に関する間の容器全体の機械的運動により実現される。攪拌は、さまざまなもの、たとえばプロペラ、インペラ、パドル、および磁気攪拌棒によって実現される。これらの方法に関する1つの問題は、数十または数百の試料容器を一度に扱うためにこれらの規模を増加させるのが難しいということである。これらの方法に関する別の問題は、各試料をほぼ汚染のない状態に保ちながら多くの試料を混合することの難しさである。以下でさらに詳細に説明するように、本発明による方法では、汚染に関する問題を回避しながら試料を混合するために音波エネルギーを使用することができる。音波エネルギーの集束、ならびに他の形での音波エネルギーの音響波形の制御などの要素は、たとえば、音響ストリーミングおよび／またはオン起用マイクロストリーミングによって、試料を選択的に混合するために使用することができる。

## 【0195】

流体試料は、本明細書において説明するシステムを使用することによって、制御可能に混合することができる。混合されるべき材料と音波エネルギー源との直接接触は必要ではない。混合されるべき材料が処理チャンバ内に存在するとき、処理チャンバ自体は必ずしも音波エネルギー源によって接触されず、通常は結合媒体によって音波エネルギー源に結合される。

## 【0196】

## F. 反応および分離の強化

いくつかの実施形態では、温度、混合、またはこの両者は、化学反応を強化するために超音波エネルギーによって制御することができる。たとえば、処理されるべき試料中に存在する配位子と外因的に供給される結合パートナ（exogenously supplied binding partner）との間の会合速度を加速することができる。別の例では、アッセイは、温度が維持されかつ混合が周囲条件に比べて2つ以上の分子の会合を改良するために増大された状態で、実行される。混合物中の内因性結合パートナから混合物中の配位子または検体を分離するために混合物を熱と混合に最初にかけることによって、本明細書において説明するプロセスの種々の態様を組み合わせることが可能である。温度、混合、またはこの両者は、周囲温度および混合における配位子／内因性結合パートナ錯体形成と比較して、外因的に供給される結合パートナによって配位子錯体形成を強化するために、初期条件から変更される。通常、第2の温度および／または混合条件は、周囲条件と上記の第1の分離工程において使用される条件との中間にある。第2の温度および混合条件において、分離配位子を、外因的に供給される結合パートナと反応させる。

10

20

30

## 【0197】

## ポリメラーゼ連鎖反応（「PCR」）温度サイクル

PCR技術のボトルネックの1つは冷却時間である。加熱サイクルは急速であるが、冷却は対流によって制限される。DNAまたは別の標的分子がマイクロデバイス上の配列内に固定化されるバイオチップ形態においてすら、「能動的」冷却プロセスはない。しかしながら、このボトルネックを克服するために、本発明のいくつかの実施形態を利用することができる。

## 【0198】

いくつかの実施形態では、処理プロセスは、増幅すべきプライマーおよび標的がアニールするベースライン温度からのオーバーシュートがほとんどなく試料を急速に加熱および冷却するために使用することができる。このプロセスは、以下のように要約することができる。試料が音波エネルギーを吸収して加熱されるように、試料を比較的大きな電力音波エネルギーによって処理する。次に、冷水浴と連動して実現され得る対流によって試料を冷却するために、試料を低電力で混合する。加熱工程および冷却工程は、同じチャンバ10内で、またはその代わりに別々のチャンバ10で、たとえば図23のシステムのようなシステムにおいて、実行することができる。材料は、材料を放出して新しい材料を持ち込む前に「チャンバ内の」離散的加工時間を可能にするために、ポンプなどの輸送機構のタイミングによって制御することができる。これによって、新しい未加工試料をチャンバに導入する前に完全に成長するための加工、混合、冷却、およびその他などの加工工程のための時間を提供することができる。

40

40

## 【0199】

## G. 精製、分離、および反応制御

分離を強化するために、集束音場を使用することができる。他の箇所で述べたように、音響集束は、ガスクロマトグラフィ、サイズ排除クロマトグラフィ、イオン交換クロマトグラフィを含むクロマトグラフィ、およびフィールドフローフラクション（field-flow fractionation）を含む他の既知の形態などの多くの分離プロセスの重要な要素である流体流れにおける壁効果を縮小するまたはなくすために使用することができる。流れのストリームの速度と濃度勾配を遠隔的に変調および／または低減もしくはなくす能力は、多種多様な状況において適用可能である。

50

## 【0200】

音場はまた、粒子分類、微粒子およびコロイドの濾過、限外濾過、逆浸透、および類似のプロセスを含む膜処理における濃度分極を最小限にするために使用することができる。濃度分極は、濾過材料がフィルタ上の層内に高濃度で存在する傾向の結果である。この層は低流体濃度を有し、したがって、濾過された溶液がより濃縮されるにつれて、または層が厚くなるにつれて、濾過速度を低下させる。この層を、低～中強度の集束音波エネルギーによって遠隔的に攪拌することができる。したがって、流量を、エネルギーまたは膜寿命の大きな代価を払わずに強化することができる。

## 【0201】

H. 音波エネルギーによって遠隔的に作動および制御される溶液混合のさらなる利用

10

音波エネルギー放射の制御、音波エネルギー特性および／または音波エネルギーに対する標的の場所は、特に毛細管内の液体の流量を圧送および制御するため、二次反応速度を高めるなど化学反応を向上させるため、流体流れにおける実効レイノルズ数を増加するため、および半固体物質の分注を制御するため使用することができる。

## 【0202】

音波エネルギーを集束させてそれをチャンバの壁の近くに位置決めするまたは流体通路内に別の不連続性を配置することによって、特に反応系および流れ系内の試料中の材料の分布および／または空間的に導出された反応障壁の多くの局所的差異は、微視的な拡散に必要な最少遅延まで低減することができる。別の言い方をすると、不完全な混合が通常である状況において、強化された混合を得ることができる。

20

## 【0203】

コントローラ20は、所望の制御機能、通信機能、および／または上記で説明した他の機能を実行するために任意の好適な構成要素を含んでよい。たとえば、コントローラ装置20は、1つまたは複数の汎用コンピュータ、コンピュータのネットワーク、データ加工機能を実行するための1つまたは複数のマイクロプロセッサなど、データを格納するおよび／または命令を操作するための1つまたは複数のメモリ（たとえば、光ディスクおよびディスクドライブ、半導体メモリ、磁気テープ、またはディスクメモリなど揮発性メモリおよび／または不揮発性メモリを含む）、通信バスまたは有線もしくは無線通信のための他の通信デバイス（たとえば、種々の電線、スイッチ、コネクタ、イーサネット（登録商標）通信デバイス、WLAN通信デバイスなどを含む）、ソフトウェアまたは他のコンピュータ実行可能命令（たとえば、上記で説明したような音響エネルギー源2、ポンプ33などと他の構成要素とを制御することに関係する機能を行うための命令を含む）、電源または他の電力源（電気コンセントと嵌合するプラグ、電池、変圧器など）、リレーおよび／または他のスイッチングデバイス、機械的リンク機構、1つまたは複数のセンサまたはデータ入力デバイス（チャンバ10内の材料の温度および／または存在を検出するためのセンサ、チャンバ10または他の構成要素に関する画像情報を捕捉および解析するためのビデオカメラまたは他の撮像デバイス、音響変換器2および／または容器10の位置を示すための位置センサなど）、ユーザデータ入力デバイス（ボタン、ダイヤル、ノブ、キーボード、タッチスクリーンなど）、情報表示デバイス（LCDディスプレイ、表示灯、プリンタなど）、および／または所望の入出力機能および制御機能を提供するための他の構成要素を含むことができる。

30

## 【0204】

本発明は、その用途において、以下の説明に記載されるかまたは図面に示される構成要素の構造および配置の詳細に限定されないことを理解されたい。本発明を実行する他の実施形態および態様が可能である。本明細書において使用される表現および用語は、説明のためのものであり、限定としてみなされるべきではない。「含む（including）」、「備える、含む（comprising）」、または「有する（having）」およびそれらの活用形の使用は、その後に列挙される品目およびその均等物ならびに追加の品目を包含することを意味する。種々の例示的な実施形態およびその態様をこのように説明してきたので、変更および改変は当業者に明らかであろう。このような変更および改変は、本開示に含まれること

40

50

が意図されており、本開示は、例示を目的としたものに過ぎず、限定することを意図したものではない。本発明の範囲は、添付の特許請求の範囲およびその均等物の適切な解釈から決定されるべきである。

【図 1】

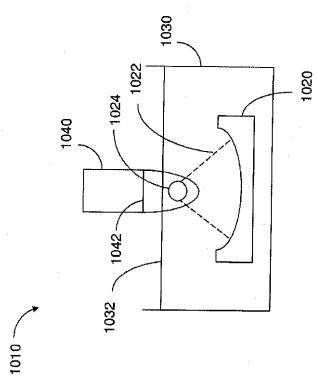


Fig. 1

【図 2】

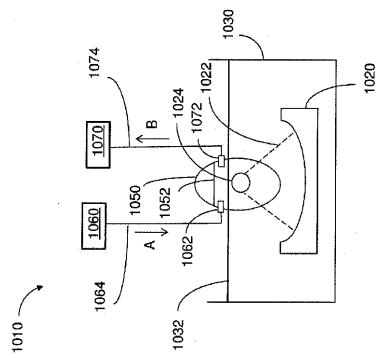


Fig. 2

【図 3】

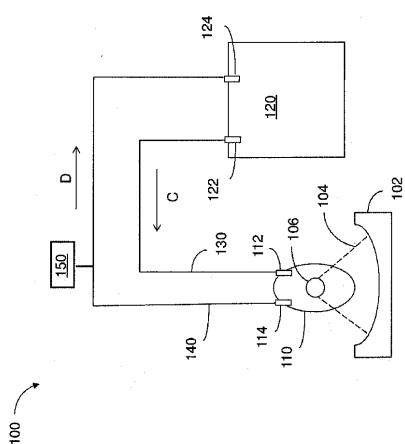


Fig. 3

【図 4】

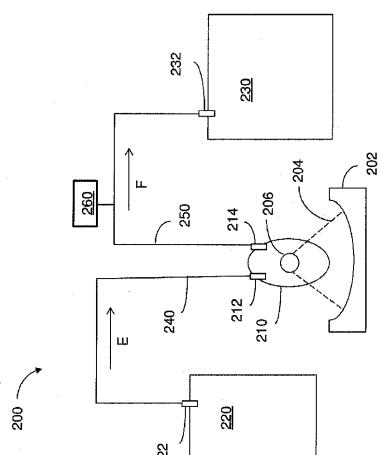


Fig. 4

【図 5】

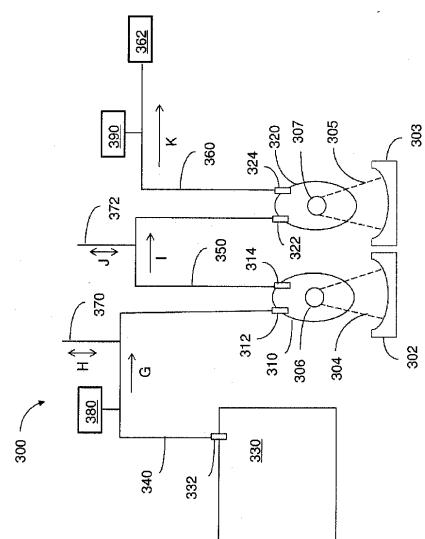


Fig. 5

【図 6】

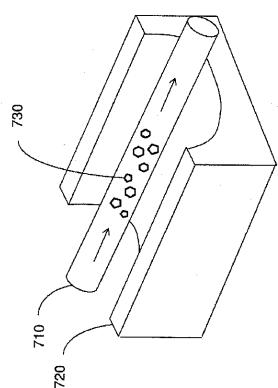


Fig. 6

【図 16】

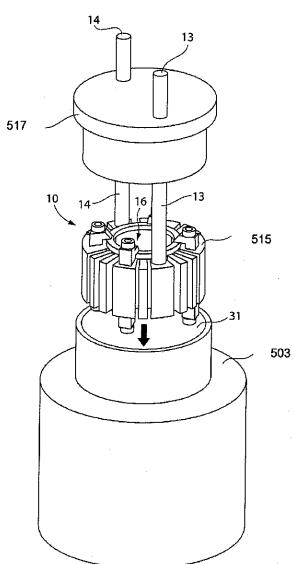


Fig. 16

【図 19】

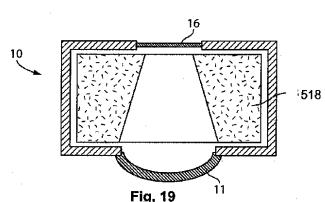


Fig. 19

【図 20】

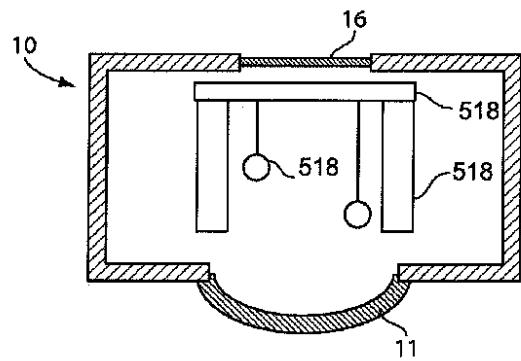


Fig. 20

【図 25】

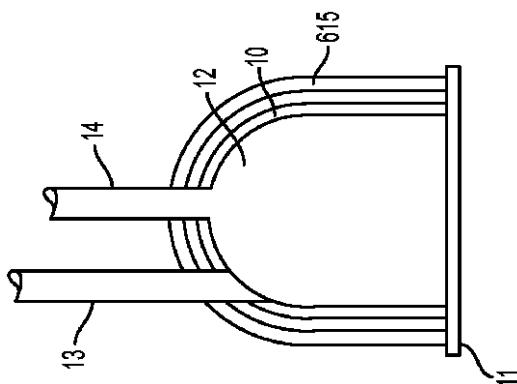


FIG. 25

【図 26】

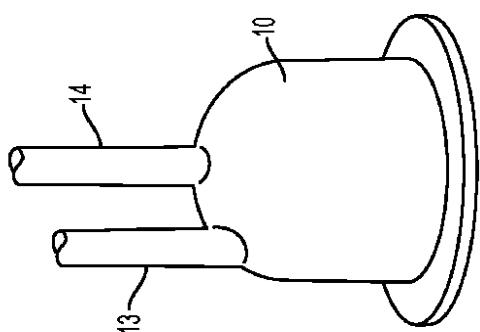


FIG. 26

【図 27】

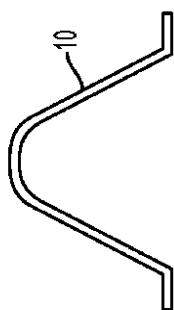


FIG. 27

【図 29】

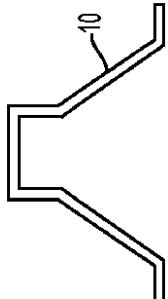


FIG. 29

【図 28】

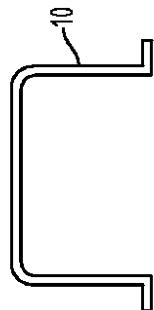
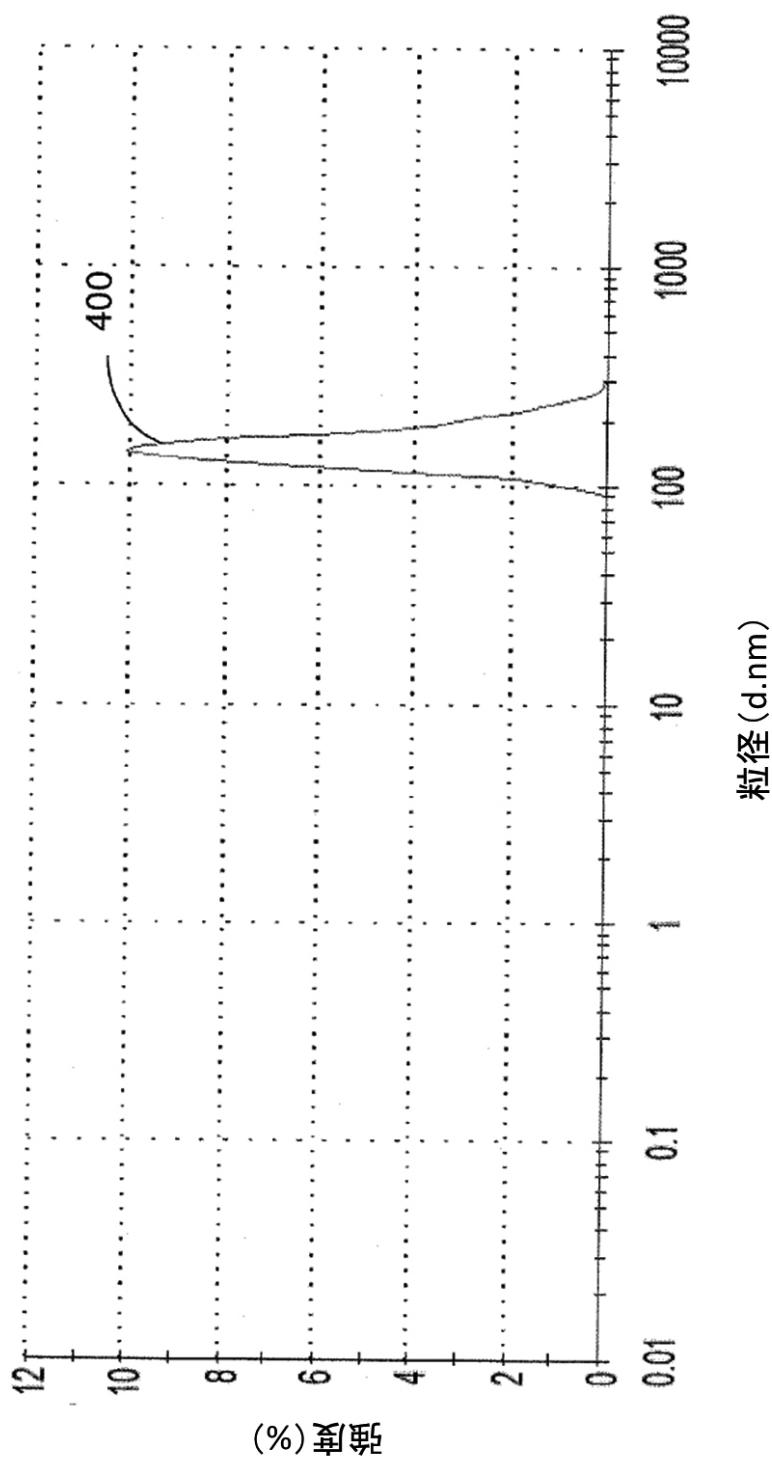


FIG. 28

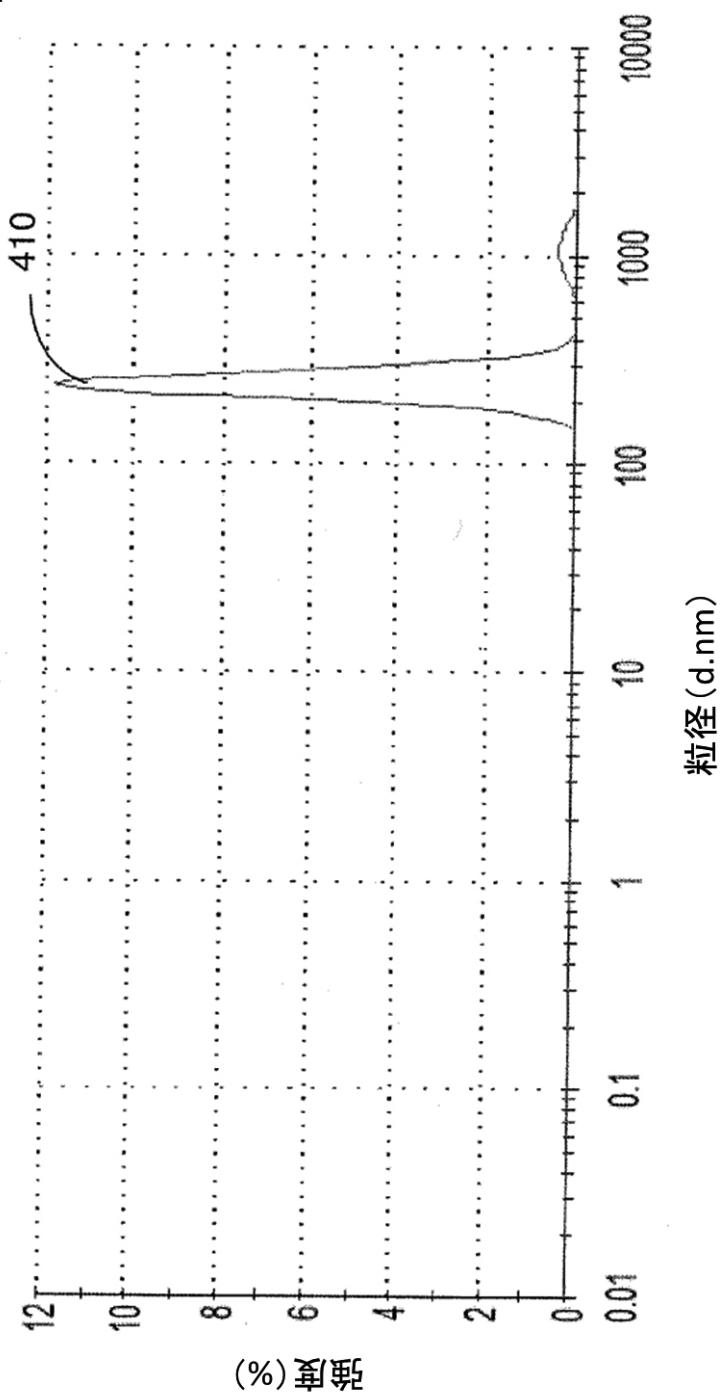
【図7】

強度別の粒度分布



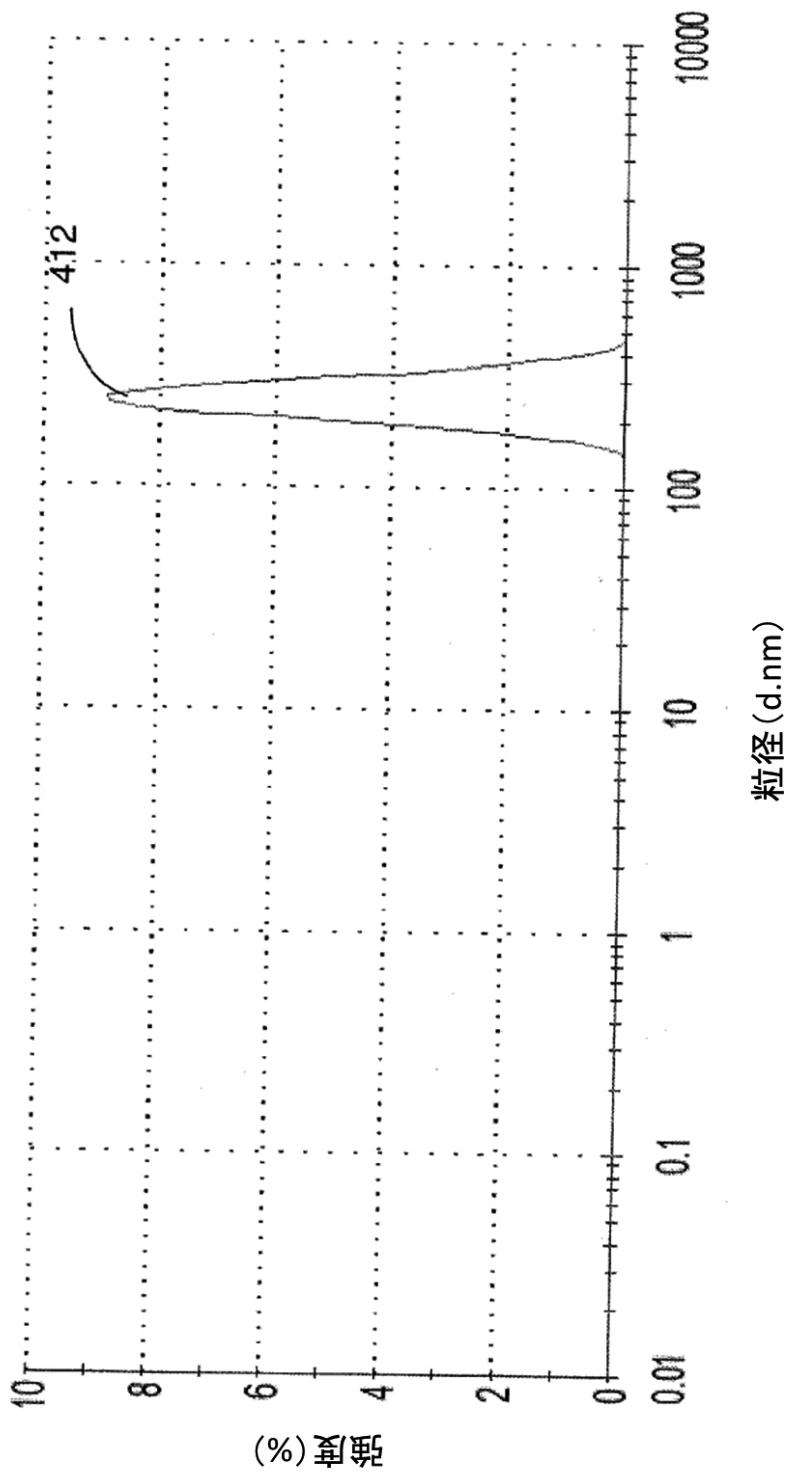
【図 8】

強度別の粒度分布



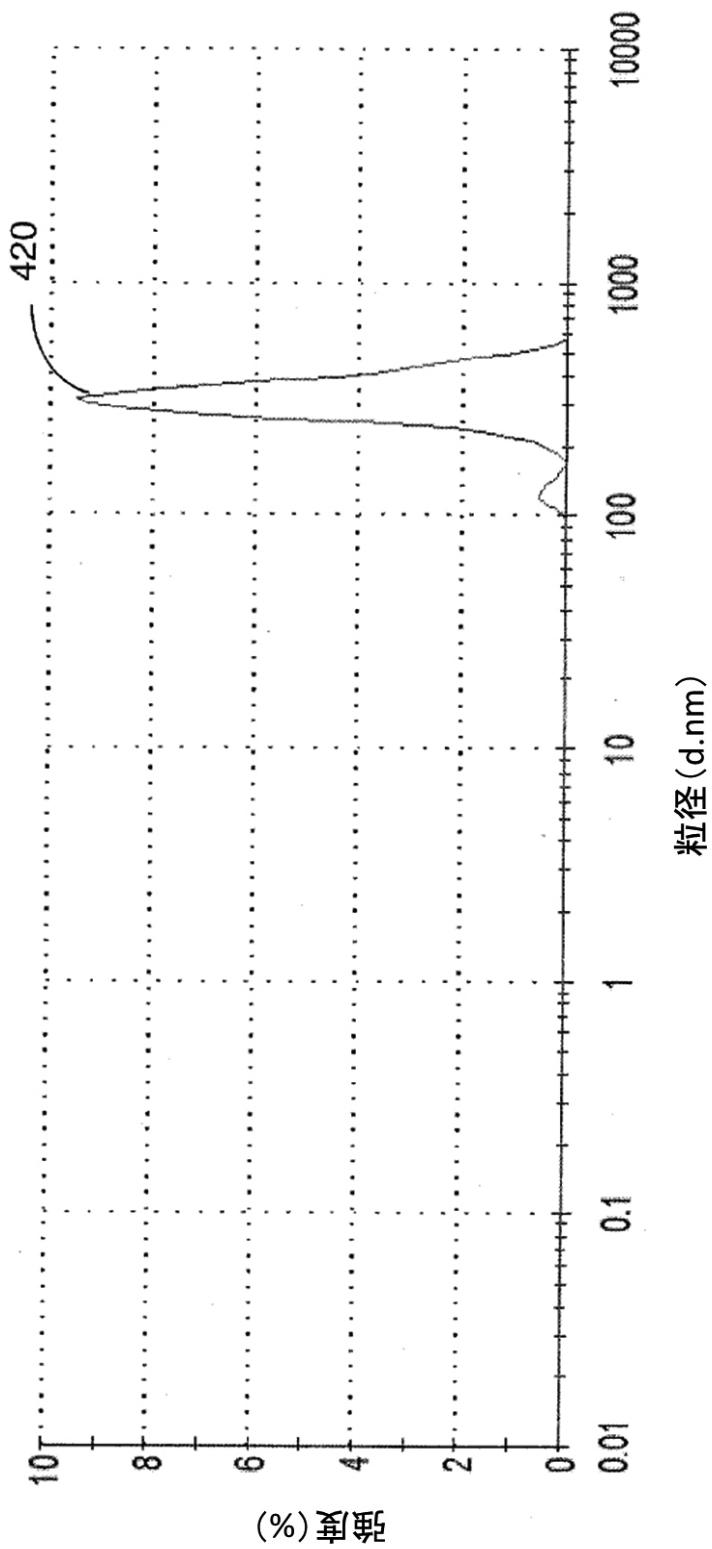
【図9】

強度別の粒度分布



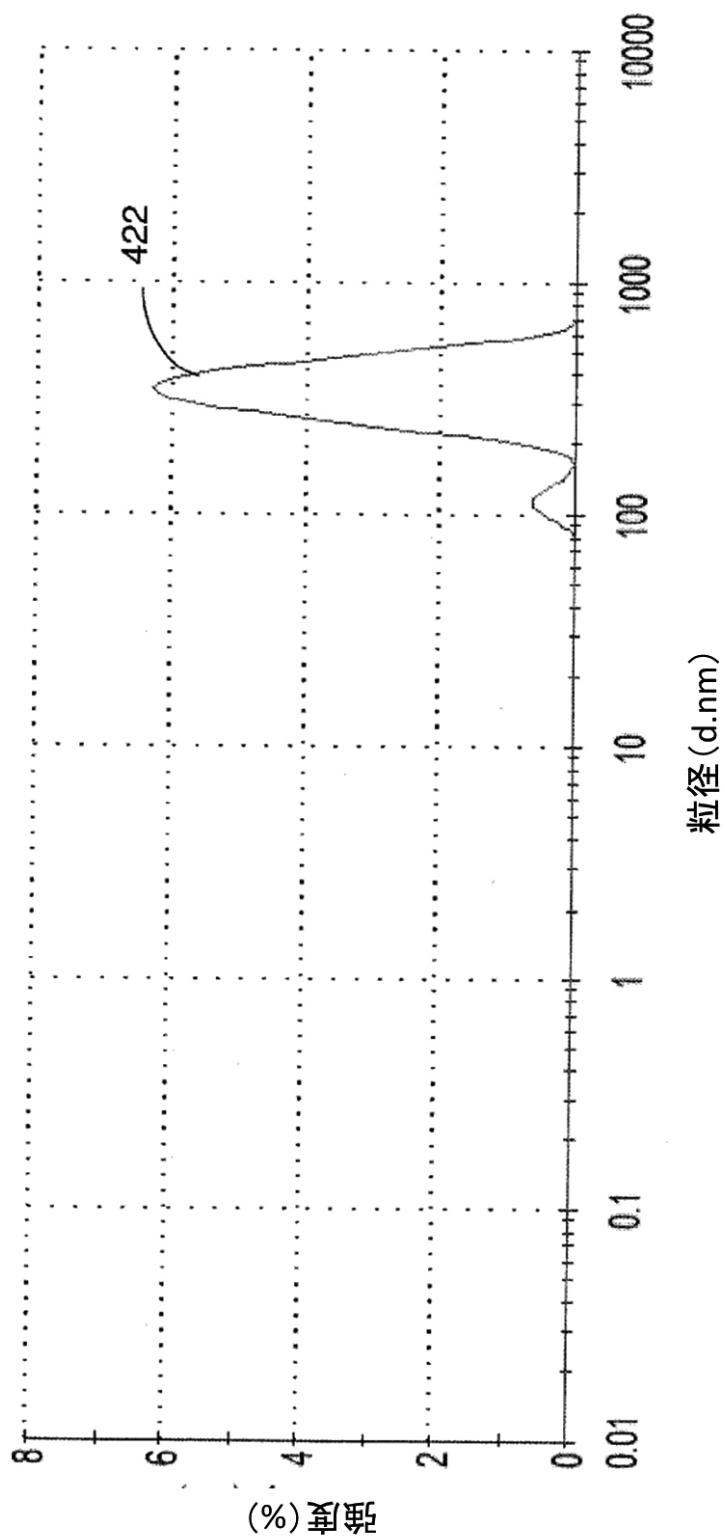
【図 10】

## 強度別の粒度分布



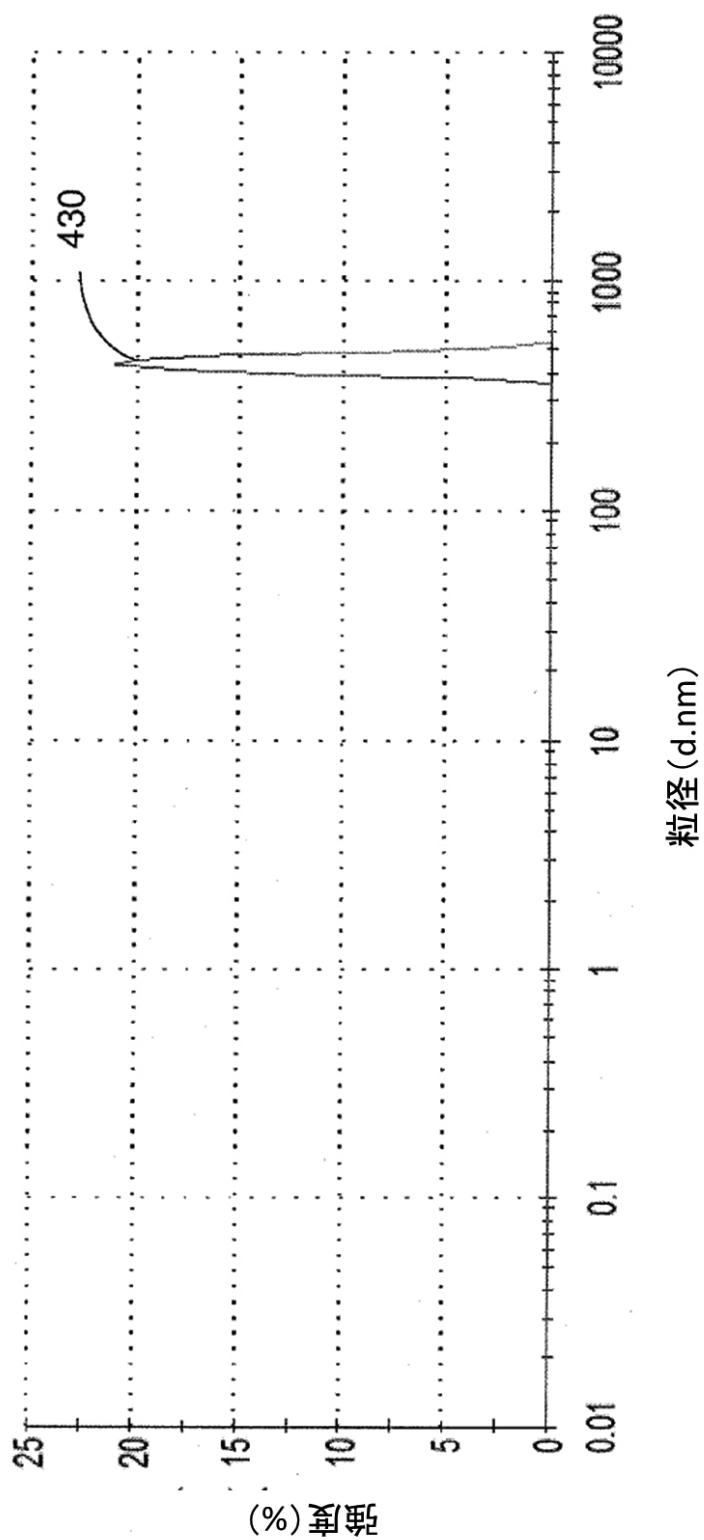
【図 11】

強度別の粒度分布



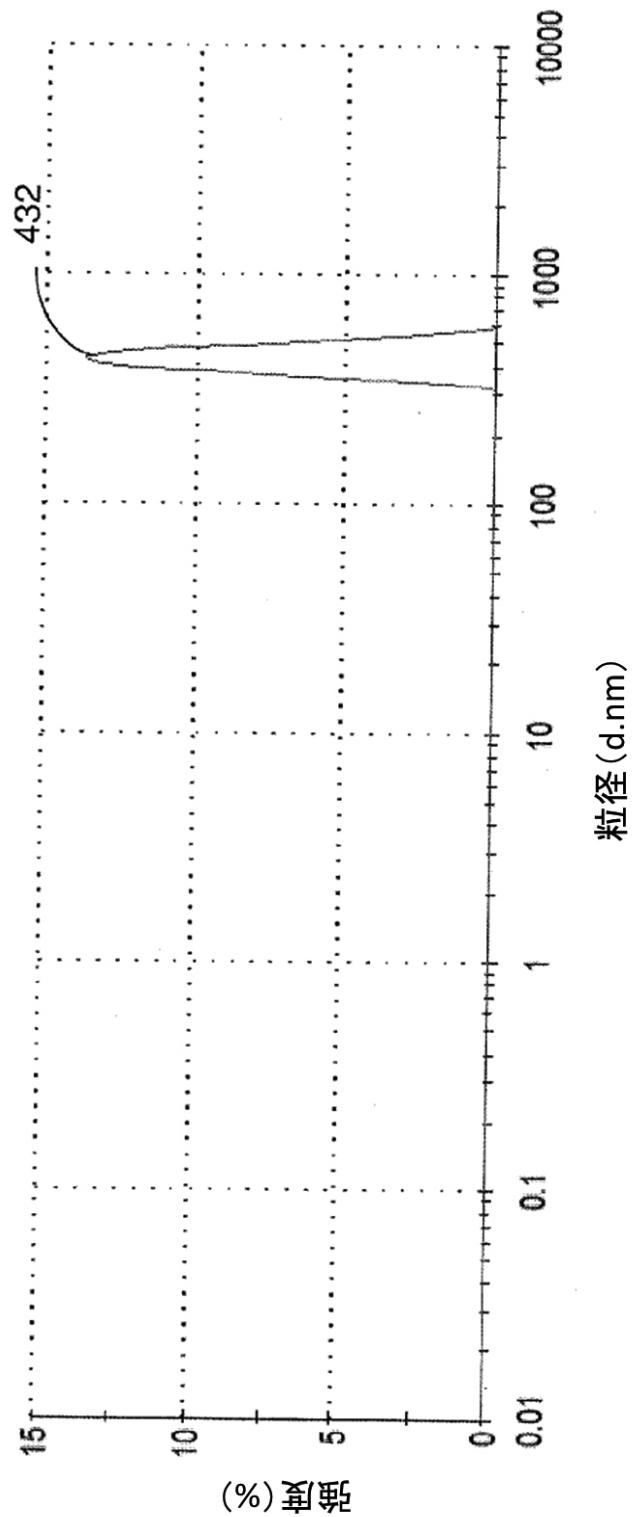
【図 12】

## 強度別の粒度分布



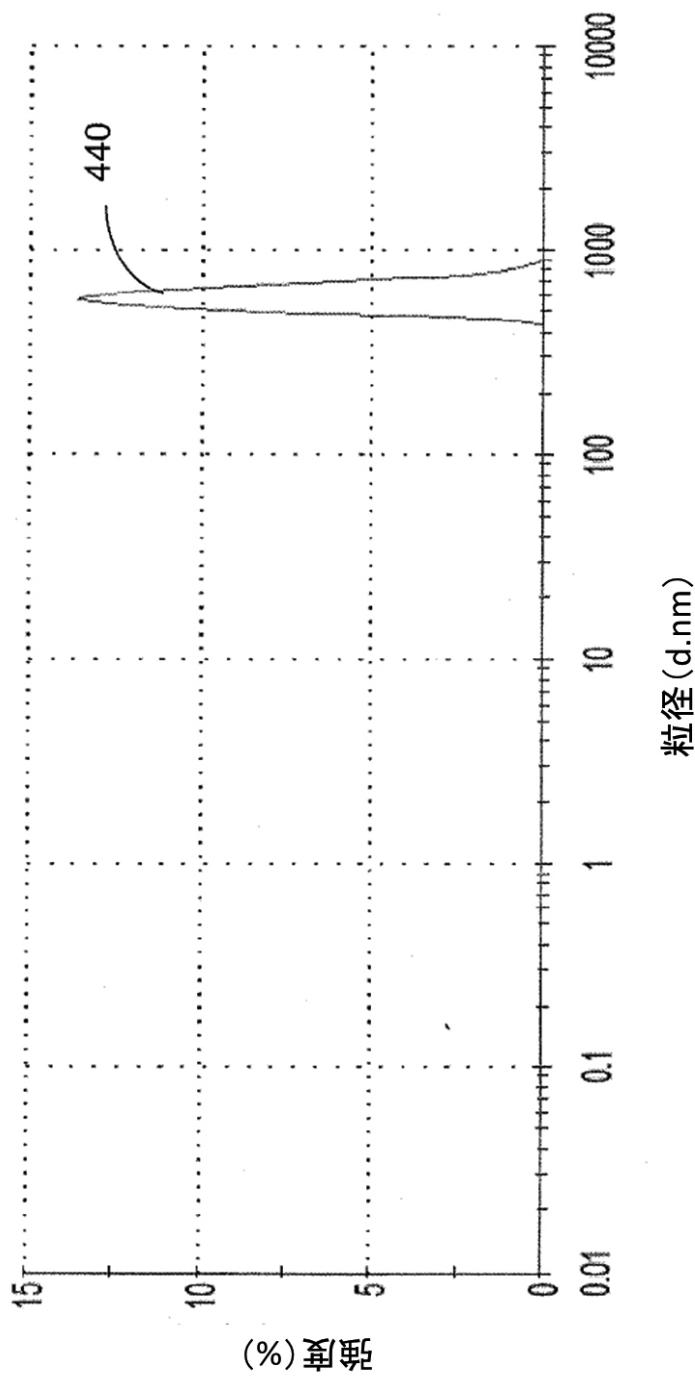
【図 13】

強度別の粒度分布



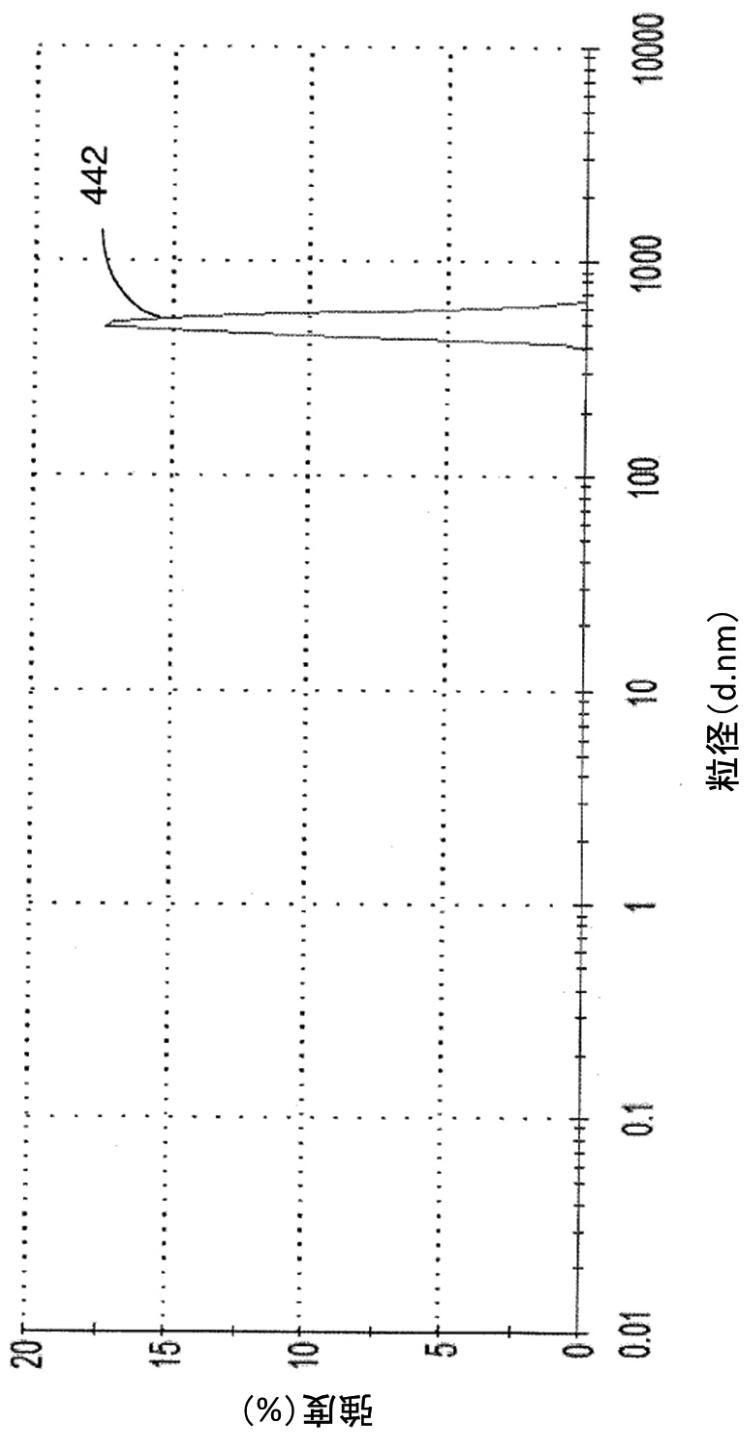
【図 14】

## 強度別の粒度分布

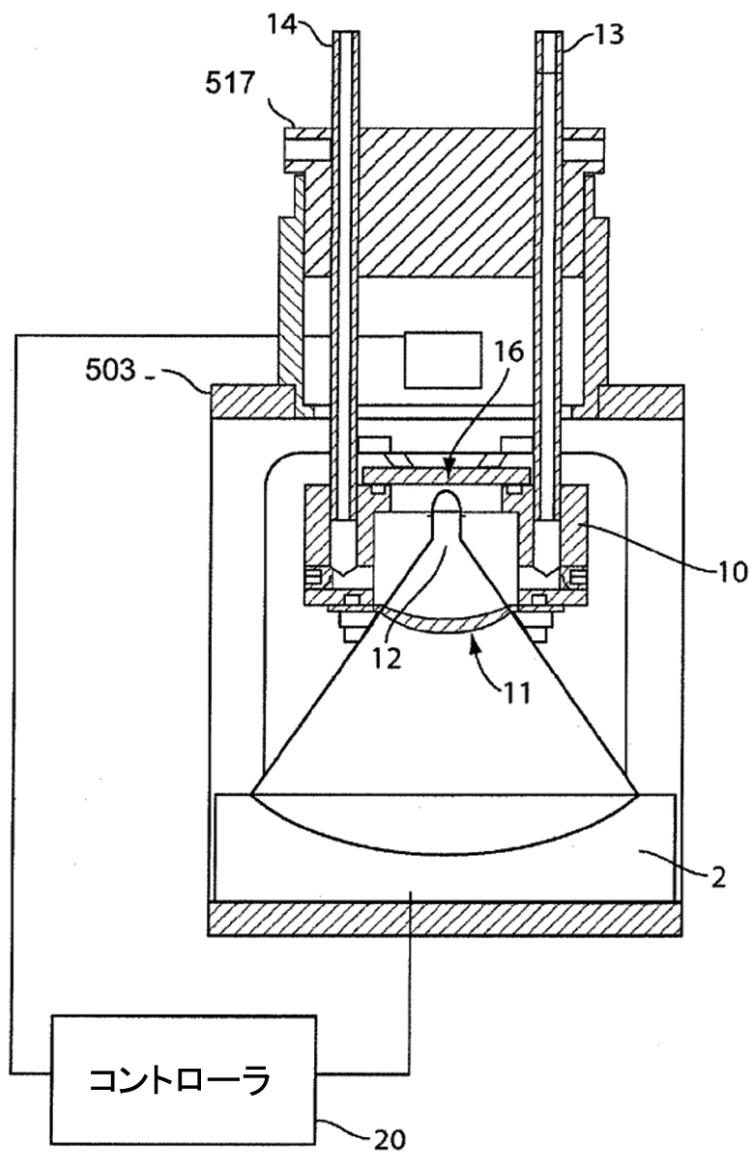


【図 15】

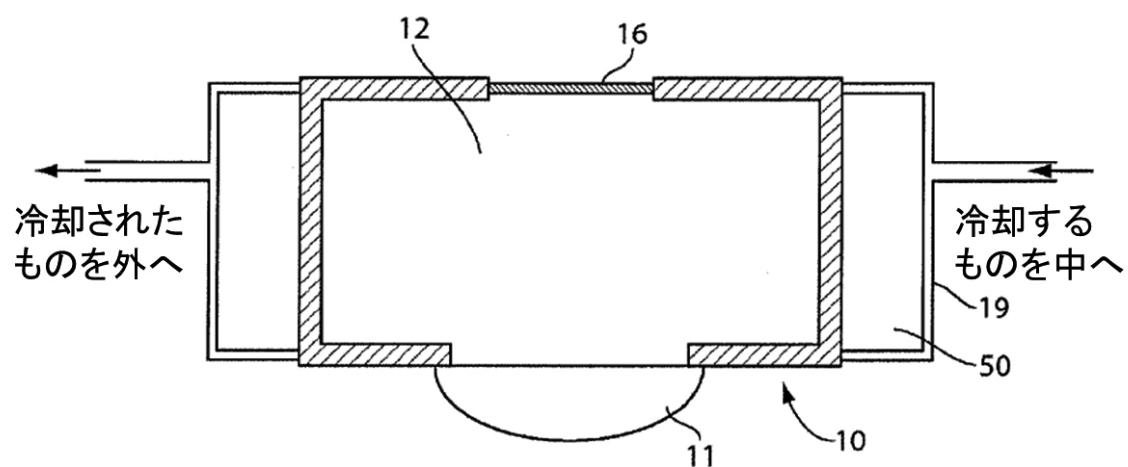
強度別の粒度分布



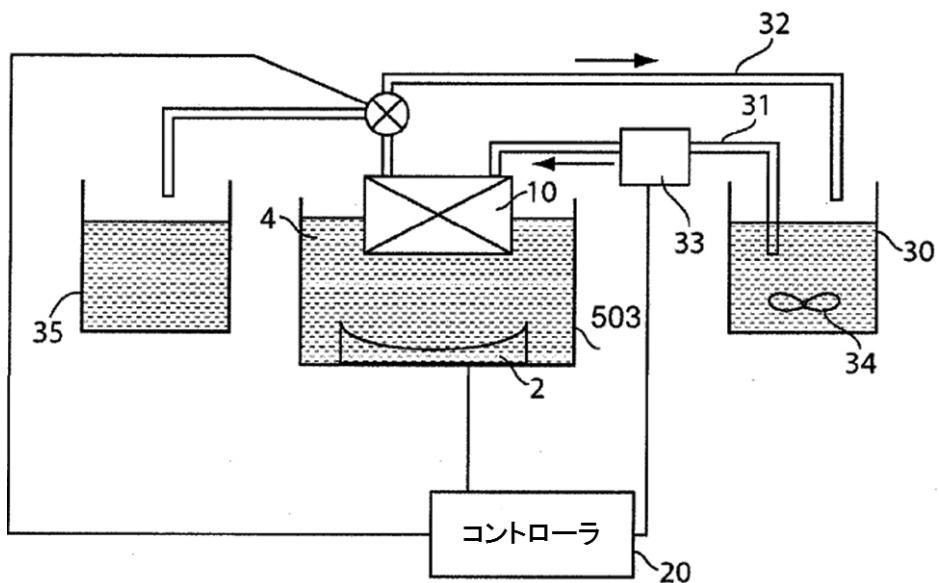
【図17】



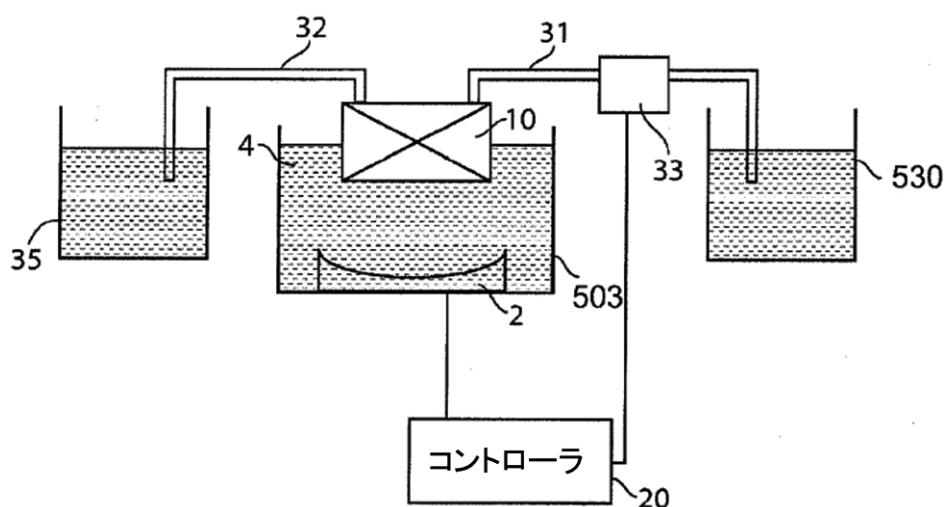
【図18】



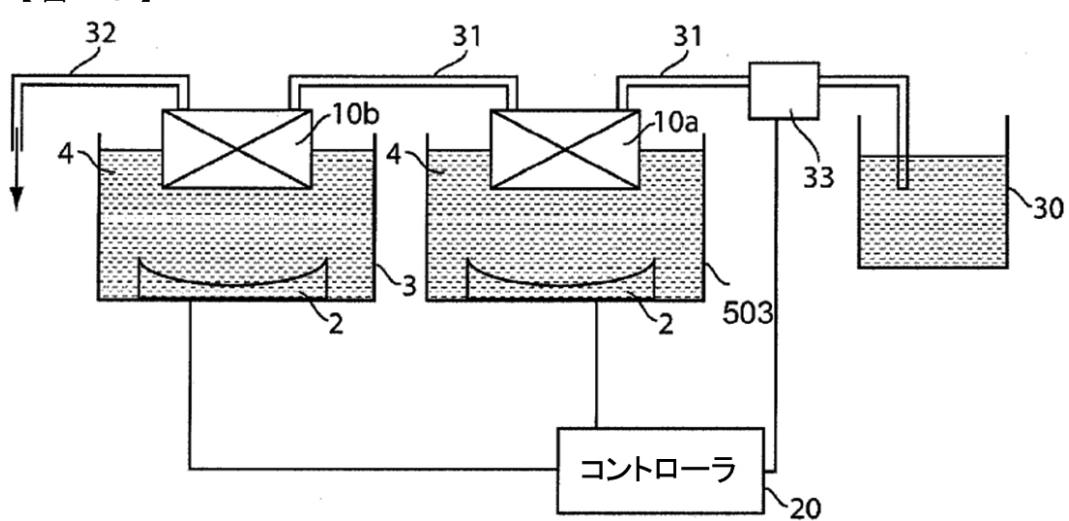
【図 2 1】



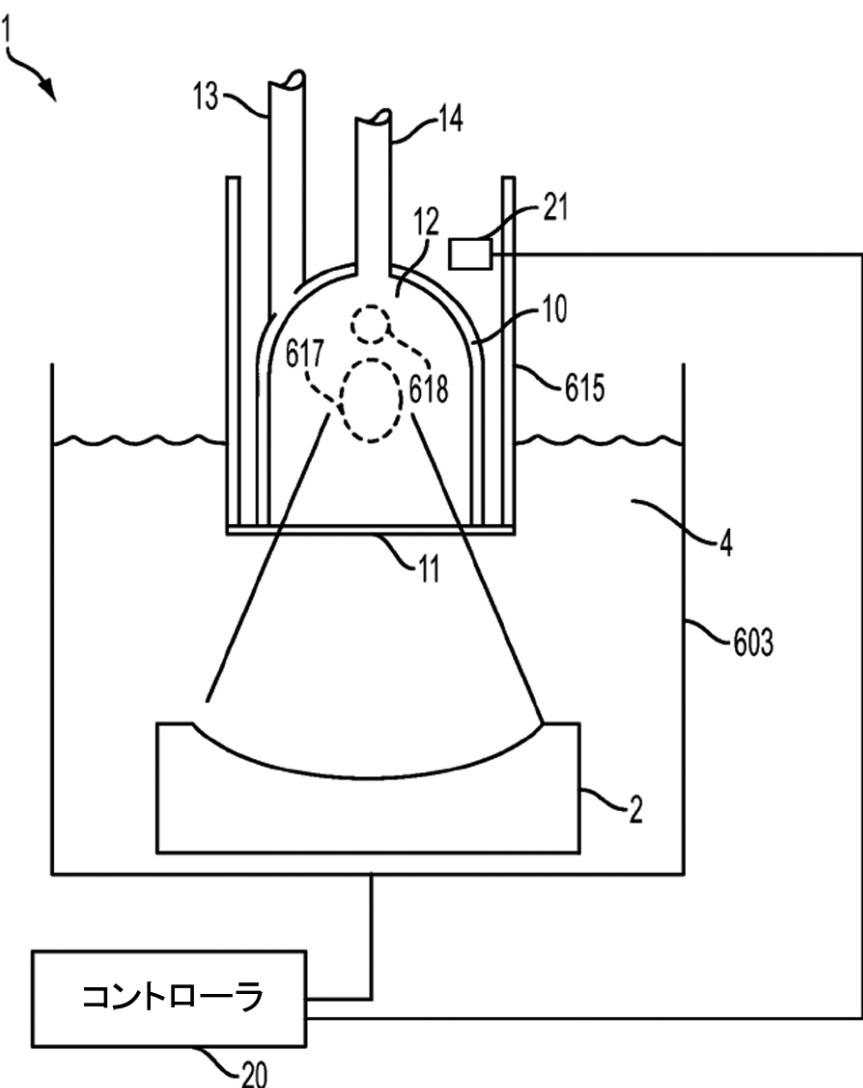
【図 2 2】



【図 2 3】



【図 2 4】



## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2012/046636

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
INV. C30B7/00 C30B29/60 B01F11/02  
ADD.

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)  
C30B B01F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	WO 2012/003003 A2 (COVARIS INC [US]; BECKETT CARL [US]; LAUGHARN JAMES A JR [US]; KAKUMAN) 5 January 2012 (2012-01-05) pages 10-13; figures 1-5 ----- X,P WO 2012/061237 A1 (COVARIS INC [US]; LAUGHARN JAMES A [US]; BECKETT CARL [US]) 10 May 2012 (2012-05-10) page 24 - page 27; claims 1-33; figures 6-8 ----- X EP 1 925 359 A1 (COVARIS INC [US]) 28 May 2008 (2008-05-28) paragraph [0040]; claims 1-4,21,22 ----- -/-	1,32  32  1-32

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier 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

Date of mailing of the international search report

23 August 2012

30/08/2012

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Cook, Steven

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2012/046636
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/016691 A2 (COVARIS INC [US]; LAUGHARN JAMES A [US]; GARRISON BREVARD S [US]; YATE) 7 February 2008 (2008-02-07) pages 14,28,29 -----	1-32
A	US 2006/158956 A1 (LAUGHARN JAMES A JR [US] ET AL LAUGHARN JR JAMES A [US] ET AL) 20 July 2006 (2006-07-20) claims 1,13,31 -----	1-32
A	WO 02/089942 A1 (ACCENTUS PLC [GB]; BOWE MICHAEL JOSEPH [GB]; MCCausland LINDA JANE [GB] 14 November 2002 (2002-11-14) page 5, line 35 - page 8, line 16; figures 4,5 -----	1,32
A	WO 03/061816 A1 (GLAXO GROUP LTD [GB]; SINGH HARDEV [GB]) 31 July 2003 (2003-07-31) the whole document -----	1,32
A	US 2 589 310 A (MARCEL TOURNIER) 18 March 1952 (1952-03-18) the whole document -----	1,32
A	US 7 128 784 B2 (RAULS MATTHIAS [DE] ET AL) 31 October 2006 (2006-10-31) column 2, line 43 - line 60; claim 1 -----	1-32
A	WO 2010/079843 A1 (NAT INST OF ADVANCED IND SCIEN [JP]; MURATA MANUFACTURING CO [JP]; TDK) 15 July 2010 (2010-07-15) abstract -----	1-32
A	US 6 948 843 B2 (LAUGHARN JAMES A [US] ET AL LAUGHARN JR JAMES A [US] ET AL) 27 September 2005 (2005-09-27) cited in the application the whole document -----	32
A	US 6 719 449 B1 (LAUGHARN JR JAMES A [US] ET AL) 13 April 2004 (2004-04-13) cited in the application the whole document -----	32
A	US 7 521 023 B2 (LAUGHARN JAMES A [US] ET AL LAUGHARN JR JAMES A [US] ET AL) 21 April 2009 (2009-04-21) cited in the application the whole document -----	32
A	US 7 687 026 B2 (LAUGHARN JAMES A JR [US] ET AL LAUGHARN JR JAMES A [US] ET AL) 30 March 2010 (2010-03-30) cited in the application the whole document -----	32

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No  
PCT/US2012/046636

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 2012003003	A2	05-01-2012	NONE			
WO 2012061237	A1	10-05-2012	US 2012103098 A1 WO 2012061237 A1		03-05-2012 10-05-2012	
EP 1925359	A1	28-05-2008	EP 1925359 A1 US 2012144905 A1		28-05-2008 14-06-2012	
WO 2008016691	A2	07-02-2008	US 2008031094 A1 WO 2008016691 A2		07-02-2008 07-02-2008	
US 2006158956	A1	20-07-2006	US 2006158956 A1 US 2008056960 A1 US 2010011845 A1		20-07-2006 06-03-2008 21-01-2010	
WO 02089942	A1	14-11-2002	AT 322936 T BR 0209433 A CA 2445146 A1 CN 1507365 A CZ 20032996 A3 DE 60210622 T2 DK 1409101 T3 EP 1409101 A1 ES 2261730 T3 JP 2004530545 A NO 20034848 A NZ 529258 A PL 364626 A1 PT 1409101 E US 2004139908 A1 WO 02089942 A1		15-04-2006 03-08-2004 14-11-2002 23-06-2004 14-04-2004 05-04-2007 31-07-2006 21-04-2004 16-11-2006 07-10-2004 05-01-2004 30-07-2004 13-12-2004 31-07-2006 22-07-2004 14-11-2002	
WO 03061816	A1	31-07-2003	AR 038200 A1 AT 312661 T BR 0306738 A CA 2473059 A1 CN 1620333 A CO 5611178 A2 DE 60302765 T2 EP 1469938 A1 ES 2253656 T3 IS 7335 A JP 4408700 B2 JP 2005525216 A MX PA04007073 A US 2006096522 A1 WO 03061816 A1 ZA 200405143 A		05-01-2005 15-12-2005 28-12-2004 31-07-2003 25-05-2005 28-02-2006 06-07-2006 27-10-2004 01-06-2006 28-06-2004 03-02-2010 25-08-2005 29-10-2004 11-05-2006 31-07-2003 28-09-2003	
US 2589310	A	18-03-1952	NONE			
US 7128784	B2	31-10-2006	AT 303858 T CN 1400046 A DE 10137017 A1 DE 50204155 D1 EP 1281420 A2 JP 4060658 B2 JP 2003135903 A		15-09-2005 05-03-2003 20-02-2003 13-10-2005 05-02-2003 12-03-2008 13-05-2003	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No  
PCT/US2012/046636

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
			US	2003051659 A1		20-03-2003
WO 2010079843	A1	15-07-2010	JP	2010159177 A		22-07-2010
			WO	2010079843 A1		15-07-2010
US 6948843	B2	27-09-2005	US	2002009015 A1		24-01-2002
			US	2006029525 A1		09-02-2006
US 6719449	B1	13-04-2004	AT	381016 T		15-12-2007
			AU	1600000 A		15-05-2000
			DE	69937747 T2		04-12-2008
			EP	1125121 A1		22-08-2001
			EP	1875960 A2		09-01-2008
			US	6719449 B1		13-04-2004
			US	2004264293 A1		30-12-2004
			US	2005150830 A1		14-07-2005
			US	2008050289 A1		28-02-2008
			WO	0025125 A1		04-05-2000
US 7521023	B2	21-04-2009	AT	381016 T		15-12-2007
			AU	1600000 A		15-05-2000
			DE	69937747 T2		04-12-2008
			EP	1125121 A1		22-08-2001
			EP	1875960 A2		09-01-2008
			US	6719449 B1		13-04-2004
			US	2004264293 A1		30-12-2004
			US	2005150830 A1		14-07-2005
			US	2008050289 A1		28-02-2008
			WO	0025125 A1		04-05-2000
US 7687026	B2	30-03-2010	AT	381016 T		15-12-2007
			AU	1600000 A		15-05-2000
			DE	69937747 T2		04-12-2008
			EP	1125121 A1		22-08-2001
			EP	1875960 A2		09-01-2008
			US	6719449 B1		13-04-2004
			US	2004264293 A1		30-12-2004
			US	2005150830 A1		14-07-2005
			US	2008050289 A1		28-02-2008
			WO	0025125 A1		04-05-2000

---

フロントページの続き

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

(72)発明者 ローハーン , ジェームズ , エー . , ジュニア

アメリカ合衆国 , マサチューセッツ州 01890 , ウィンチェスター , ロビンソン パーク 1  
6

(72)発明者 カクマヌ , スリカンス

アメリカ合衆国 , マサチューセッツ州 01862 , ノース ビレリカ , パールモント パーク  
アパートメンツ 153

F ターム(参考) 4B065 BD01 BD04 CA44

4G077 AA01 AA10 BF05 CB02 EJ05 KA11 KA15