



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0027889  
(43) 공개일자 2022년03월08일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 8/06 (2006.01) A61K 8/31 (2006.01)  
A61K 8/64 (2006.01) A61K 8/67 (2006.01)  
A61K 8/89 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
A61K 8/06 (2013.01)  
A61K 8/31 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2021-7043393
- (22) 출원일자(국제) 2020년06월03일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2021년12월30일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2020/070116
- (87) 국제공개번호 WO 2020/247976  
국제공개일자 2020년12월10일
- (30) 우선권주장  
62/856,660 2019년06월03일 미국(US)

- (71) 출원인  
드롭웍스 인코포레이티드  
미국 콜로라도주 80301 볼더 스위트 100 2560 55  
번 스트리트
- (72) 발명자  
던 매튜 라이언  
미국 콜로라도주 80027 루이즈빌 1096 팔콘 코트  
라센 앤드류 칼  
미국 콜로라도주 80027 수퍼리어 1205 임페리얼  
웨이  
퍼킨스 크리스토퍼 마이클  
미국 콜로라도주 80303 볼더 5420 센테니얼 트레  
일
- (74) 대리인  
특허법인아주

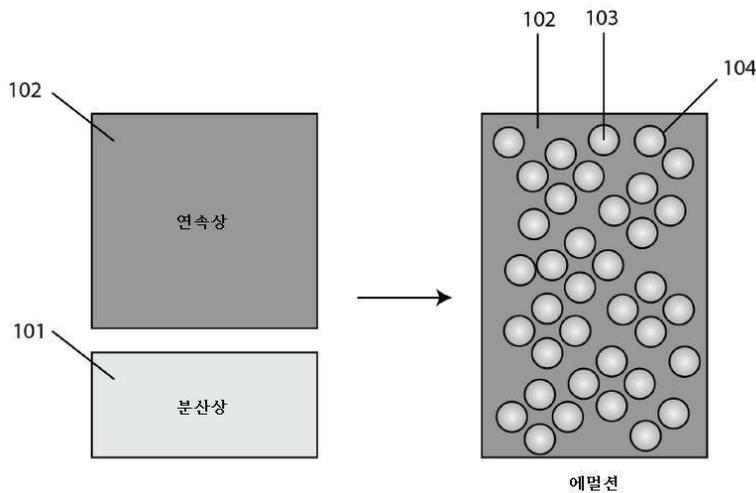
전체 청구항 수 : 총 170 항

(54) 발명의 명칭 **에멀션을 안정시키기 위한 시스템 및 방법**

(57) 요약

본 명세서에서는 에멀션 내 분산상 구획부와 연속상 사이의 계면에서 계면활성제 분자들 사이에 가교결합부를 형성하는 것과 관련된 방법 및 조성물, 그리고 이러한 가교결합된 에멀션의 용도가 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

- A61K 8/64* (2013.01)
  - A61K 8/673* (2013.01)
  - A61K 8/89* (2013.01)
  - A61Q 19/00* (2013.01)
  - A61K 2800/52* (2013.01)
-

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

테일부 및 헤드부를 포함하는 복수의 제1 계면활성제 분자를 포함하는 조성물로서,

상기 제1 계면활성제 분자는 계면활성제 분자당 평균 2 내지 10개의 제1 연결 모이어티를 포함하고, 상기 제1 연결 모이어티는,

(i) 적합한 조건 하에 서로 연결되도록,

(ii) 적합한 조건 하에 제2 연결 모이어티와 연결되도록, 또는

(iii) 적합한 조건 하에 중간 연결 모이어티와 연결되도록 또는 이들의 조합이 되도록

구성되되, 상기 제2 연결 모이어티는 테일부 및 헤드부를 포함하는 제2 계면활성제 분자에 부착되고, 상기 제2 연결 모이어티는 상기 제1 연결 모이어티와는 상이한, 조성물.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 제1 연결 모이어티는 상기 제1 계면활성제 분자의 테일부에 부착되는, 조성물.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 제1 연결 모이어티는 상기 제1 계면활성제 분자의 헤드부에 부착되는, 조성물.

#### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 연결 모이어티는 상기 제2 계면활성제 분자의 헤드부에 부착되는, 조성물.

#### 청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 연결 모이어티는 상기 제2 계면활성제 분자의 테일부에 부착되는, 조성물.

#### 청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 연결 모이어티는 적합한 조건 하에 1개 이상의 공유 결합을 형성하도록 구성되는, 조성물.

#### 청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 연결 모이어티는 적합한 조건 하에 1개 이상의 비공유 결합을 형성하도록 구성되는, 조성물.

#### 청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 복수의 상기 제2 계면활성제 분자를 더 포함하되, 상기 제2 계면활성제 분자는 계면활성제 분자당 평균 2 내지 10개의 상기 제2 연결 모이어티를 포함하는, 조성물.

#### 청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 연결 모이어티는 반대로 하전된, 조성물.

#### 청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 계면활성제 분자를 함유하는 연속상을 더 포함하는, 조성

물.

**청구항 11**

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 계면활성제 분자를 함유하는 연속상을 더 포함하는, 조성물.

**청구항 12**

제10항 또는 제11항에 있어서, 분산상을 더 포함하는, 조성물.

**청구항 13**

제12항에 있어서, 상기 분산상은 상기 제1 계면활성제 분자를 함유하지 않는, 조성물.

**청구항 14**

제12항 또는 제13항에 있어서, 상기 분산상은 상기 제2 계면활성제 분자를 함유하지 않는, 조성물.

**청구항 15**

제12항에 있어서, 상기 분산상은 상기 중간 연결 모이어티를 함유하지 않는, 조성물.

**청구항 16**

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 계면활성제 분자를 함유하는 분산상을 더 포함하는, 조성물.

**청구항 17**

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 계면활성제 분자를 함유하는 분산상을 더 포함하는, 조성물.

**청구항 18**

제16항 또는 제17항에 있어서, 연속상을 더 포함하는, 조성물.

**청구항 19**

제18항에 있어서, 상기 연속상은 상기 제1 계면활성제 분자를 함유하지 않는, 조성물.

**청구항 20**

제18항에 있어서, 상기 연속상은 상기 제2 계면활성제 분자를 함유하지 않는, 조성물.

**청구항 21**

제18항에 있어서, 상기 연속상은 상기 중간 연결 모이어티를 함유하는, 조성물.

**청구항 22**

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 모이어티는 바이오틴을 포함하는 상기 제1 연결 모이어티 및 하나 이상의 바이오틴-결합 모이어티를 포함하는 상기 중간 연결 모이어티를 포함하는, 조성물.

**청구항 23**

제22항에 있어서, 상기 바이오틴-결합 모이어티는 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 유도체를 포함하는, 조성물.

**청구항 24**

제6항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자는 상기 연속상에 마이셀을 형성하는, 조성물.

**청구항 25**

제6항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 연속상은 오일을 포함하는, 조성물.

**청구항 26**

제25항에 있어서, 상기 오일은 탄화수소 또는 실리콘 오일을 포함하는, 조성물.

**청구항 27**

제25항에 있어서, 상기 오일은 플루오린화 오일을 포함하는, 조성물.

**청구항 28**

제1항에 있어서, 상기 계면활성제는 플루오로계면활성제인, 조성물.

**청구항 29**

연속상 내에 분산상의 구획부(partition)들을 포함하는 에멀션을 포함하는 조성물로서,

상기 분산상의 구획부들은 계면활성제 분자의 층을 형성하도록 상기 연속상과 상기 구획부의 계면에 위치되는 테일부 및 헤드부를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하고, 상기 복수의 계면활성제 분자는 서로 가교결합되어 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성하는, 조성물.

**청구항 30**

제29항에 있어서, 상기 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크의 가교결합도는 20 내지 100%인, 조성물.

**청구항 31**

제29항 또는 제30항에 있어서, 상기 가교결합은 상기 계면활성제의 테일부의 길이의 5 내지 500%의 평균 길이를 갖는 가교결합부를 통해서 이루어지는, 조성물.

**청구항 32**

제29항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자는 상기 계면활성제 분자의 테일부에서 서로 가교결합되는, 조성물.

**청구항 33**

제29항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자는 상기 계면활성제 분자의 헤드부에서 서로 가교결합되는, 조성물.

**청구항 34**

제29항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자의 제1 부분은 상기 가교결합부의 부분을 형성하는 제1 연결 모이어티를 포함하고, 계면활성제 분자당 제1 연결 모이어티의 평균 개수는 2 내지 10인, 조성물.

**청구항 35**

제29항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자의 제2 부분은 상기 제1 연결 모이어티와는 상이한, 상기 가교결합부의 부분을 형성하는 제2 연결 모이어티를 포함하고, 계면활성제 분자당 제2 연결 모이어티의 평균 개수는 2 내지 10인, 조성물.

**청구항 36**

제29항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자는 가교결합부를 통해서 가교결합되고, 상기 가교결합부의 평균 길이는 1 내지 100nm인, 조성물.

**청구항 37**

제29항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 분산상은 수성 상을 포함하고 상기 연속상은 오일을 포함하는, 조성물.

**청구항 38**

제37항에 있어서, 상기 오일은 플루오린화 오일을 포함하는, 조성물.

**청구항 39**

제29항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제는 플루오로계면활성제를 포함하는, 조성물.

**청구항 40**

제29항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자는 비공유 결합에 의해 가교결합되는, 조성물.

**청구항 41**

제29항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자는 공유 결합에 의해 가교결합되는, 조성물.

**청구항 42**

제29항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자는 바이오틴-결합 모이어티에 의해 가교결합되는 바이오틴 모이어티를 포함하는, 조성물.

**청구항 43**

제42항에 있어서, 상기 바이오틴-결합 모이어티는 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 유도체를 포함하는, 조성물.

**청구항 44**

제43항에 있어서, 상기 계면활성제 분자는 계면활성제 분자당 평균 2 내지 10개의 바이오틴 모이어티를 포함하는, 조성물.

**청구항 45**

제29항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 염료 확산 시험에서 적어도 20%의 염료 확산의 감소에 의해 측정된 바와 같이, 상기 에멀션 내 상기 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 증가시키는, 조성물.

**청구항 46**

제29항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, PCR 시험에 의해 측정된 바와 같이, 상기 에멀션 내 상기 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 적어도 20%만큼 증가시키는, 조성물.

**청구항 47**

제29항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 유착 검정에 의해 측정된 바와 같이, 상기 에멀션 내 상기 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 적어도 20%만큼 증가시키는, 조성물.

**청구항 48**

연속상 내 분산상의 구획부들의 에멀션에서 공정을 수행하는 방법으로서,

(i) 연속상 내 분산상의 구획부들의 에멀션을 제공하는 단계로서, 상기 분산상의 구획부들은 계면활성제 분자의 층을 형성하도록 상기 연속상과 상기 구획부의 계면에 위치되는 테일부 및 헤드부를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하고, 상기 복수의 계면활성제 분자는 서로 가교결합되어 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성하는, 상기 에멀션을 제공하는 단계; 및

(ii) 상기 구획부에 대해 상기 공정을 수행하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 49**

제48항에 있어서, 계면활성제 분자의 상기 가교결합된 네트워크의 가교결합도는 20 내지 100%인, 방법.

**청구항 50**

제48항 또는 제49항에 있어서, 상기 가교결합은 상기 계면활성제의 테일부의 길이의 5 내지 500%의 평균 길이를 갖는 가교결합부를 통해서 이루어지는, 방법.

**청구항 51**

제48항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자는 상기 계면활성제 분자의 테일부에서 서로 가교결합되는, 방법.

**청구항 52**

제48항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자는 상기 계면활성제 분자의 헤드부에서 서로 가교결합되는, 방법.

**청구항 53**

제48항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자의 제1 부분은 상기 가교결합부의 부분을 형성하는 제1 연결 모이어티를 포함하고, 계면활성제 분자당 제1 연결 모이어티의 평균 개수는 2 내지 10인, 방법.

**청구항 54**

제48항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자의 제2 부분은, 상기 제1 연결 모이어티와는 상이한, 상기 가교결합부의 부분을 형성하는 제2 연결 모이어티를 포함하고, 계면활성제 분자당 제2 연결 모이어티의 평균 개수는 2 내지 10인, 방법.

**청구항 55**

제48항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자는 가교결합부를 통해서 가교결합되고, 상기 가교결합부의 평균 길이는 1 내지 100nm인, 방법.

**청구항 56**

제48항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 분산상은 수성 상이고, 상기 연속상은 오일인, 방법.

**청구항 57**

제56항에 있어서, 상기 오일은 플루오린화 오일인, 방법.

**청구항 58**

제48항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제는 플루오로계면활성제를 포함하는, 방법.

**청구항 59**

제48항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자는 비공유 결합에 의해 가교결합되는, 방법.

**청구항 60**

제48항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자는 공유 결합에 의해 가교결합되는, 방법.

**청구항 61**

제59항에 있어서, 상기 계면활성제 분자는 바이오틴-바이오틴 결합 모이어티 상호작용에 의해 가교결합되는, 방

법.

**청구항 62**

제61항에 있어서, 상기 바이오틴-결합 모이어티는 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 유도체를 포함하는, 방법.

**청구항 63**

제61항에 있어서, 상기 계면활성제 분자는 계면활성제 분자당 평균 2 내지 10개의 바이오틴 모이어티를 포함하는, 방법.

**청구항 64**

제48항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 구획부 내에 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성하는 단계를 더 포함하는, 방법.

**청구항 65**

제48항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 상기 분산상이 상기 연속상 내에 복수의 구획부를 형성하는 조건 하에, 적어도 하나의 연결 모이어티를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하는 연속상을 분산상과 접촉시킴으로써 형성되고, 상기 방법은, 상기 구획부의 형성 동안 그리고/또는 후에, 연결 모이어티를 포함하는 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 조건을 제공하고, 상기 연결 모이어티는 하나의 계면활성제 분자에서부터 적어도 하나의 다른 계면활성제 분자까지 가교결합부를 형성하여, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성하는, 방법.

**청구항 66**

제65항에 있어서, 분산상은 연결 모이어티와 접촉될 경우 상기 연결 모이어티를 포함하는 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 하나 이상의 성분을 포함하는, 방법.

**청구항 67**

제65항에 있어서, 상기 구획부는 연결 모이어티를 포함하는 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 외부 자극에 노출되는, 방법.

**청구항 68**

제48항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 공정은 화학 분석; 단백질 또는 균주 조작; 핵산, 단백질, 또는 세포-기반 검정; 분류; 분리; 또는 화학적 및/또는 생화학적 합성; 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.

**청구항 69**

제68항에 있어서, 상기 공정은 핵산 검정을 포함하는, 방법.

**청구항 70**

제69항에 있어서, 상기 공정은 중합효소 연쇄 반응(PCR)을 포함하는, 방법.

**청구항 71**

제48항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 염료 확산 시험에서 적어도 20%의 염료 확산의 감소에 의해 측정된 바와 같이, 상기 에멀션 내 상기 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 증가시키는, 방법.

**청구항 72**

제48항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, PCR 시험에 의해 측정된 바와 같이, 상기 에멀션 내 상기 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 적어도 20% 증가시키는, 방법.

**청구항 73**

연속상 내 분산상의 구획부들의 에멀션을 제조하는 방법으로서,

상기 분산상의 구획부들은 계면활성제 분자의 층을 형성하도록 상기 연속상과 상기 구획부의 계면에 위치되는 테일부 및 헤드부를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하고, 상기 방법은,

(i) 연속상을 분산상과 접촉시키는 단계로서, 상기 분산상이 상기 연속상 내에 복수의 구획부를 형성하는 조건 하에,

(a) 상기 연속상은 적어도 1개의 연결 모이어티를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하거나, 또는

(b) 상기 분산상은 적어도 1개의 연결 모이어티를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하거나, 또는

(c) (a) 및 (b) 둘 다인, 상기 접촉시키는 단계; 및

(ii) 상기 구획부의 형성 동안 그리고/또는 후에, 연결 모이어티를 포함하는 계면활성제 분자들 사이에 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 조건을 제공하여, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성하는 단계

를 포함하는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 74**

제73항에 있어서, 상기 연속상은 연결 모이어티를 포함하는 계면활성제 분자를 포함하고, 상기 분산상은 포함하지 않는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 75**

제73항 또는 제74항에 있어서, 상기 가교결합부의 상기 연결 모이어티와 다른 성분은, 존재할 경우, 상기 계면활성제의 테일부의 길이의 5 내지 500%인 길이를 갖는 가교결합부를 형성하는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 76**

제73항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자는 계면활성제 분자당 평균 2 내지 10개의 연결 모이어티를 포함하는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 77**

제73항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 연결 모이어티의 조건 및/또는 수는, 상기 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크의 완성도가 20 내지 100%가 되도록 하는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 78**

제73항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 연결 모이어티는 상기 계면활성제 분자의 테일부에 부착되고, 상기 가교결합부는 상기 계면활성제 분자의 테일부 사이에 형성되는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 79**

제73항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 연결 모이어티는 상기 계면활성제 분자의 헤드부에 부착되고, 상기 가교결합부는 상기 계면활성제 분자의 헤드부 사이에 형성되는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 80**

제73항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 분산상은 연결 모이어티와 접촉될 경우 상기 연결 모이어티를 포함하는 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 하나 이상의 성분을 포함하는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 81**

제60항에 있어서, 상기 하나 이상의 성분은 계면활성제 연결 모이어티와 하나 이상의 결합을 형성하는 하나 이상의 중간 연결 모이어티를 포함하는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 82**

제81항에 있어서, 상기 계면활성제 연결 모이어티는 바이오틴을 포함하고, 상기 중간 연결 모이어티는 바이오틴-결합 모이어티를 포함하는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 83**

제82항에 있어서, 상기 바이오틴-결합 모이어티는 스트렙타비딘 및/또는 스트렙타비딘 유도체를 포함하는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 84**

제73항 내지 제83항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 구획부는 연결 모이어티를 포함하는 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 외부 자극에 노출되는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 85**

제84항에 있어서, 상기 외부 자극은 광을 포함하는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 86**

제73항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 연속상은 오일을 포함하고 상기 분산상은 수성 상을 포함하는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 87**

제86항에 있어서, 상기 오일은 플루오린화 오일을 포함하는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 88**

제73항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제는 플루오로계면활성제를 포함하는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 89**

제73항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 염료 확산 시험에서 적어도 20%의 염료 확산의 감소에 의해 측정된 바와 같이, 상기 에멀션 내 상기 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 증가시키는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 90**

제73항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, PCR 시험에 의해 측정된 바와 같이, 상기 에멀션 내 상기 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 적어도 20% 증가시키는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 91**

오일 연속상 내에 분산된 수성 상의 복수의 구획부를 포함하는 에멀션을 제조하는 방법으로서,

상기 구획부는 상기 구획부의 표면에 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 더 포함하고,

상기 방법은 분산될 수성 상을 준비하는 단계, 개질된(modified) 계면활성제를 포함하는 오일상을 준비하는 단계로서, 상기 개질된 계면활성제는 테일부 및 헤드부를 포함하고, 연결 모이어티를 더 포함하는, 상기 오일상을 준비하는 단계; 및 수성 상과 오일상을 혼합하여, 오일 내에 상기 수성 상의 복수의 구획부의 에멀션을 형성하는 단계로서, 상기 개질된 계면활성제 분자는 서로 가교결합부를 형성하여 상기 연속상과 상기 구획부의 계면에 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성하는, 상기 에멀션을 형성하는 단계를 포함하는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 92**

제91항에 있어서, 상기 혼합은 보텍싱(vortexing), 피펫팅, 시린징(syringing), 진탕에 의해 대량으로

행해지는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 93**

제91항에 있어서, 상기 혼합은 마이크로유체 액적 형성 디바이스에 의해 행해지는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 94**

제93항에 있어서, 상기 혼합은 마이크로유체 T-합류(microfluidic T-junction), 유동 집중 합류(flow focusing junction), 역-y 합류(reverse-y junction), 밀리피드 합류(millipede junction) 또는 이들의 조합에 의해 행해지는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 95**

제91항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 에멀션을 생성하기 위한 시스템이 보다 큰 기기 내에 내장되는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 96**

제95항에 있어서, 상기 기기는 샘플 전달 모듈, 액적 생성기 모듈, 열사이클러 모듈, 검출 모듈, 폐기물 관리 모듈, 또는 이들의 조합을 수용하는 기기인, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 97**

제95항에 있어서, 상기 보다 큰 기기는 내장된 마이크로유체 디바이스, 튜빙, 용기 또는 배트(vat)를 갖는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 98**

제95항에 있어서, 상기 기기는 전체로서 상기 기기의 성능을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 기기를 제어하는 관련된 소프트웨어 또는 상기 마이크로유체 디바이스를 포함하는, 에멀션을 제조하는 방법.

**청구항 99**

연속상 내 분산상의 구획부들을 포함하는 에멀션에서 구획부들의 유착을 방지하는 방법으로서,

상기 구획부와 상기 연속상 사이의 계면에서 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성하는 단계를 포함하는, 에멀션에서 구획부들의 유착을 방지하는 방법.

**청구항 100**

제99항에 있어서, 상기 구획부는 직경으로 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 또는 80um 초과, 예컨대, 10um 초과인 평균 직경을 갖는, 에멀션에서 구획부들의 유착을 방지하는 방법.

**청구항 101**

제98항 또는 제99항에 있어서, 상기 에멀션은 30, 40, 45, 50, 55, 60, 70, 80 또는 90°C 초과, 예컨대, 70°C 초과인 온도에 있는, 에멀션에서 구획부들의 유착을 방지하는 방법.

**청구항 102**

마이크로유체 디바이스(microfluidic device)에서 연속상 내 분산상의 구획부들을 포함하는 에멀션을 수송, 열사이클링(thermal cycling), 인큐베이션, 분류 또는 분석하는 방법으로서,

액적은 상기 구획부와 상기 연속상의 계면에서 가교결합된 계면활성제 분자의 네트워크를 포함하는, 에멀션을 수송, 열사이클링, 인큐베이션, 분류 또는 분석하는 방법.

**청구항 103**

연속상 내 수성 상의 구획부들을 포함하는 에멀션의 상기 구획부들에서 PCR을 수행하는 방법으로서,

상기 구획부는 가교결합제(cross-linker), 중합효소, 뉴클레오타이드, 주형 DNA, 프라이머, 및 프로브/또는 DNA

결합 염료를 포함하고, 상기 연속상은 하나 이상의 연결 모이어티를 포함하는 계면활성제 분자를 포함하는, PCR을 수행하는 방법.

**청구항 104**

방법으로서,

(i) 연속상에서, 분산상을 포함하는 복수의 구획부를 포함하는 에멀션을 형성하는 단계로서, 상기 구획부는 상기 연속상과의 계면에서 복수의 계면활성제 분자를 포함하는 계면활성제 층을 포함하는, 상기 에멀션을 형성하는 단계;

(ii) 상기 계면에서 계면활성제 분자들을 가교결합하여 가교결합된 계면활성제 네트워크를 형성하는 단계;

(iii) 상기 구획부에 대해서 공정을 수행하는 단계; 및

(iv) 상기 가교결합된 계면활성제 네트워크를 처리하여 가교결합도를 감소시키는 단계

를 포함하는, 방법.

**청구항 105**

제104항에 있어서, 복수의 구획부를 파괴시켜 개방하여 상기 구획부 내 분산상을 방출시키는 단계를 더 포함하는, 방법.

**청구항 106**

제104항 또는 제105항에 있어서, 상기 계면활성제는 플루오로계면활성제를 포함하고, 상기 연속상은 플루오린화 오일을 포함하는, 방법.

**청구항 107**

제104항 내지 제106항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 공정은 중합효소 연쇄 반응을 포함하는, 방법.

**청구항 108**

연속상을 포함하는 조성물로서,

상기 연속상은 계면활성제 분자에 부착된 연결 모이어티를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하고, 상기 모이어티는 적합한 조건 하에 서로 가교결합부를 형성하는, 조성물.

**청구항 109**

제108항에 있어서, 상기 연속상은 에멀션의 제조에 사용되는 것인, 조성물.

**청구항 110**

제108항 또는 제109항에 있어서, 상기 모이어티는 상기 연속상에서 가교결합되도록 실질적으로 상호작용하지 않는, 조성물.

**청구항 111**

제108항 내지 제110항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 모이어티는 적합한 조건 하에 비공유 가교결합부를 형성하는, 조성물.

**청구항 112**

제108항 내지 제111항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 모이어티는 적합한 조건 하에 공유 가교결합부를 형성하는, 조성물.

**청구항 113**

제108항 내지 제112항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 연속상은 오일을 포함하는, 조성물.

**청구항 114**

제113항에 있어서, 상기 오일은 플루오린화 오일인, 조성물.

**청구항 115**

제114항에 있어서, 상기 플루오린화 오일은 (3-에톡시-1,1,1,2,3,4,4,5,5,6,6,6-도데카플루오로-2-트라이플루오로메틸-헥산), 메틸 노나플루오로부틸 에터, 메틸 노나플루오로아이소부틸 에터, 에틸 노나플루오로아이소부틸 에터, 에틸 노나플루오로부틸 에터, (펜탄, 1,1,1,2,2,3,4,5,5,5-데카플루오로-3-메톡시-4-(트라이플루오로메틸-)), 아이소프로필 알코올, (1,2-트랜스-다이클로로에틸렌), (부탄,1,1,1,2,2,3,3,4,4-노나플루오로-4-메톡시-), (1,1,1,2,2,4,5,5,5-노나플루오로-4-(트라이플루오로메틸)-3-펜타논), (퓨란,2,3,3,4,4-펜타플루오로테트라하이드로-5-메톡시-2,5-비스[1,2,2,2-테트라플루오로-1-(트라이플루오로메틸)에틸]-), 5 내지 18개의 탄소 원자를 포함하는 퍼플루오로 화합물, 폴리클로로트라이플루오로에틸렌, (2,2,2-트라이플루오로에탄올), Novec 8200™, Novec 71DE™, Novec 7100™, Novec 7200DL™, Novec 7300DL™, Novec 71IPA™, Novec 72FL™, Novec 7500™, Novec 71DA™, Novec 7100DL™, Novec 7000™, Novec 7200™, Novec 7300™, Novec 72DA™, Novec 72DE™, Novec 649™, Novec 73DE™, Novec 7700™, Novec 612™, FC-40™, FC-43™, FC-70™, FC-72™, FC-770™, FC-3283™, FC-3284™, PF-5056™, PF-5058™, Halocarbon 0.8™, Halocarbon 1.8™, Halocarbon 4.2™, Halocarbon 6.3™, Halocarbon 27™, Halocarbon 56™, Halocarbon 95™, Halocarbon 200™, Halocarbon 400™, Halocarbon 700™, Halocarbon 1000N™, Uniflor 4622R™, Uniflor 8172™, Uniflor 8472CP™, Uniflor 8512S™, Uniflor 8731™, Uniflor 8917™, Uniflor 8951™, TRIFLUNOX 3005™, TRIFLUNOX 3007™, TRIFLUNOX 3015™, TRIFLUNOX 3032™, TRIFLUNOX 3068™, TRIFLUNOX 3150™, TRIFLUNOX 3220™ 또는 TRIFLUNOX 3460™, 또는 이들의 조합물인, 조성물.

**청구항 116**

제114항에 있어서, 상기 플루오린화 오일은 (3-에톡시-1,1,1,2,3,4,4,5,5,6,6,6-도데카플루오로-2-트라이플루오로메틸-헥산); (퓨란,2,3,3,4,4-펜타플루오로테트라하이드로-5-메톡시-2,5-비스[1,2,2,2-테트라플루오로-1-(트라이플루오로메틸)에틸]-); 5 내지 18개의 탄소 원자를 포함하는 퍼플루오로 화합물; 또는 이들의 조합물을 포함하는, 조성물.

**청구항 117**

제108항 내지 제116항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제는 플루오로계면활성제를 포함하는, 조성물.

**청구항 118**

제117항에 있어서, 상기 플루오로계면활성제는 에터, 아마이드, 또는 카브아마이드 결합에 의해 연결된 헤드 및 테일 모이어티를 갖는 플루오로계면활성제; 카브아마이드, 에터 또는 아마이드 결합을 통해서 플루오로카본 모이어티에 연결된 폴리에틸렌 모이어티를 갖는 플루오로계면활성제, 또는 이들의 조합물을 포함하는, 조성물.

**청구항 119**

제117항에 있어서, 상기 플루오로계면활성제는 카브아마이드, 아마이드, 또는 에터 결합에 의해 플루오로카본 모이어티에 연결된 폴리에틸렌 모이어티를 포함하는, 조성물.

**청구항 120**

제108항 내지 제119항 중 어느 한 항에 있어서, 적합한 조건 하에 형성된 상기 가교결합은 직접 가교결합을 포함하는, 조성물.

**청구항 121**

제108항 내지 제119항 중 어느 한 항에 있어서, 적합한 조건 하에 형성된 상기 가교결합부는 간접 가교결합을 포함하는, 조성물.

**청구항 122**

제121항에 있어서, 상기 연결 모이어티는 바이오틴을 포함하는, 조성물.

**청구항 123**

제108항 내지 제122항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 계면활성제 분자는 평균 적어도 2개의 연결 모이어티를 포함하는, 조성물.

**청구항 124**

제108항 내지 제122항 중 어느 한 항에 있어서, 각각 계면활성제 분자는 평균 적어도 4 연결 모이어티를 포함하는, 조성물.

**청구항 125**

제108항 내지 제124항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 계면활성제 분자의 연결 모이어티는, 적합한 조건 하에 반응할 경우, 계면활성제 분자 간의 얻어지는 가교결합부가 1 내지 100nm가 되게 되는, 조성물.

**청구항 126**

제108항 내지 제125항 중 어느 한 항에 있어서, 적합한 조건 하에 연결 모이어티 간에 형성되는 상기 가교결합부는 20 내지 200 kJ/몰의 결합 강도를 갖는, 조성물.

**청구항 127**

제108항 내지 제126항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 연속상 내의 계면활성제 분자의 농도는 0.5% 내지 2% w/v 인, 조성물.

**청구항 128**

연속상 내 분산상의 구획부들의 에멀션의 형성에 사용하기 위한 분산상을 포함하는 조성물로서, 상기 에멀션 내 상기 연속상과의 구획부 계면은 가교결합 모이어티를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하고, 상기 분산상은 적합한 조건 하에 가교결합 모이어티들 간에 가교결합 공정을 개시 및/또는 촉진시키는 하나 이상의 성분을 포함하는, 조성물.

**청구항 129**

제128항에 있어서, 상기 분산상은 연속상과 접촉하지 않는, 조성물.

**청구항 130**

제128항 또는 제129항에 있어서, 상기 분산상은 수성 상을 포함하는, 조성물.

**청구항 131**

제128항 내지 제130항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 분산상은 적합한 조건 하에 비-가교결합 공정을 개시 및/또는 촉진시키는 하나 이상의 추가의 성분을 더 포함하는, 조성물.

**청구항 132**

제131항에 있어서, 상기 비-가교결합 공정은 화학 반응을 포함하는, 조성물.

**청구항 133**

제132항에 있어서, 상기 성분은 핵산, 및 중합효소 연쇄 반응을 수행하기 위한 성분을 포함하는, 조성물.

**청구항 134**

제128항 내지 제133항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가교결합 공정은 공유 상호작용을 포함하는, 조성물.

**청구항 135**

제128항 내지 제134항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가교결합 공정은 비-공유 공정을 포함하는, 조성물.

**청구항 136**

제128항 내지 제135항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 가교결합 공정은 하나 이상의 중간 링커 모이어티를 통해서 상기 계면활성제 분자의 연결 모이어티를 연결하는 것을 포함하고, 상기 분산상은 복수의 중간 링커 모이어티를 더 포함하는, 조성물.

**청구항 137**

제136항에 있어서, 상기 중간 링커 모이어티는 바이오틴-결합 모이어티를 포함하는, 조성물.

**청구항 138**

제137항에 있어서, 상기 바이오틴-결합 모이어티는 아비딘, 스트렙타비딘, 스트렙타비딘 유도체, 또는 이들의 조합물을 포함하는, 조성물.

**청구항 139**

제128항 내지 제138항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 성분의 농도는 각 성분에 대해서 10 나노몰 내지 10 밀리몰인, 조성물.

**청구항 140**

연속상에서 분산상의 복수의 구획부를 포함하는 에멀션 조성물로서,

- (i) 분산상 구획부와 연속상 간의 계면이 복수의 계면활성제 분자를 포함하고;
- (ii) 상기 계면의 상기 계면활성제 분자는 계면활성제 분자들 사이에 하나 이상의 연결 모이어티에 의해 가교결합되고;
- (iii) 상기 구획부의 적어도 일부는, 적합한 조건 하에, 제2 성분을 생산하는 공정을 겪는 제1 성분을 함유하고; 그리고
- (iv) 상기 연속상은 상기 제2 성분의 존재 및/또는 부존재를 나타내는 신호를 생성하기 위하여 상기 제2 성분과 상호작용하는 리포터 모이어티를 포함하는, 에멀션 조성물.

**청구항 141**

제140항에 있어서, 상기 제1 및 제2 성분은 동일한 또는 거의 동일한, 에멀션 조성물.

**청구항 142**

제140항 또는 제141항에 있어서, 상기 제1 성분은 관심 핵산이고, 상기 제2 성분은 상기 핵산의 증폭 산물인, 에멀션 조성물.

**청구항 143**

제140항 내지 제142항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 연결 모이어티는 상기 구획부 내로 상기 리포터 분자의 유입을 촉진시키는 하나 이상의 특성을 갖는, 에멀션 조성물.

**청구항 144**

에멀션 유동 공정을 수행하는 방법으로서,

- (i) 연속상을 제공하는 단계로서, 상기 연속상은,
  - (a) 연속상, 및
  - (b) 연결 모이어티를 갖는 계면활성제 분자를 포함하는, 상기 연속상을 제공하는 단계;
- (ii) 상기 연속상과는 별도의 분산상을 제공하는 단계로서, 상기 분산상은 연결 모이어티를 갖는 계면활성제 분자를 포함하지 않고, 계면활성제 분자들 사이에 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 하나 이상의 성

분을 포함하고, 상기 가교결합부는 상기 연결 모이어티를 포함하는, 상기 분산상을 제공하는 단계;

(iii) 연속상 내에 상기 분산상을 포함하는 복수의 구획부의 에멀션을 생성하는 구획부 생성기 내로 상기 연속상과 상기 분산상을 유동시키는 단계, 및

(iv) 구획부 형성 동안 그리고/또는 후에, 상기 연결 모이어티를 포함하는 계면활성제 분자들 사이에 가교결합부를 형성하여 상기 구획부와 연속상과의 계면에 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성하는 단계; 및

(iii) 상기 에멀션의 상기 구획부에 대해서 하나 이상의 작동을 수행하는 공정 시스템을 통해서 에멀션을 유동시키는 단계

를 포함하는, 에멀션 유동 공정을 수행하는 방법.

#### 청구항 145

테일부 및 헤드부를 포함하는 복수의 제1 계면활성제 분자를 포함하는 조성물로서,

상기 제1 계면활성제 분자는 상기 제1 계면활성제 분자에 부착된 제1 연결 모이어티를 포함하고, 상기 제1 연결 모이어티는 적합한 조건 하에 상기 제1 계면활성제 분자와 제2 연결 모이어티를 포함하는 제2 계면활성제 간에 가교결합부의 형성에 관여하도록 구성되는, 조성물.

#### 청구항 146

제145항에 있어서, 상기 제1 및 제2 연결 모이어티는 동일한 구조를 갖는, 조성물.

#### 청구항 147

제145항 또는 제146항에 있어서, 상기 제1 계면활성제 분자는 복수의 연결 모이어티를 포함하는, 조성물.

#### 청구항 148

제147항에 있어서, 상기 제1 계면활성제 분자는 평균 2 내지 10개의 연결 모이어티에 부착되는, 조성물.

#### 청구항 149

제145항 내지 제148항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 연결 모이어티는 상기 계면활성제 분자의 테일부에 부착되는, 조성물.

#### 청구항 150

제145항 내지 제148항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 연결 모이어티는 상기 계면활성제 분자의 헤드부에 부착되는, 조성물.

#### 청구항 151

제145항 내지 제150항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 연결 모이어티의 길이는 상기 계면활성제 분자의 헤드부의 길이의 5 내지 500%인, 조성물.

#### 청구항 152

제145항 내지 제151항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 계면활성제 분자는 비이온성, 음이온성, 양이온성, 또는 양쪽성 이온 계면활성제인, 조성물.

#### 청구항 153

제145항 내지 제151항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 계면활성제 분자는 플루오로계면활성제인, 조성물.

#### 청구항 154

제145항 내지 제153항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 연결 모이어티는 상기 계면활성제 분자에 공유 부착되는, 조성물.

**청구항 155**

제145항 내지 제154항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 연결 모이어티는 적합한 조건 하에 또 다른 연결 모이어티가 아니라 중간 모이어티에 결합되도록 구성되는, 조성물.

**청구항 156**

제155항에 있어서, 상기 연결 모이어티는 바이오틴을 포함하는, 조성물.

**청구항 157**

제155항에 있어서, 상기 중간 모이어티는 바이오틴-결합 모이어티를 포함하는, 조성물.

**청구항 158**

제145항 내지 제157항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 복수의 제1 계면활성제 분자는 연속상 내에 함유되는, 조성물.

**청구항 159**

테일부 및 헤드부를 포함하는 제1 계면활성제 분자를 개질시키는 방법으로서,

복수의 제1 연결 모이어티를 제1 계면활성제 분자에 부착시키는 단계를 포함하되, 상기 제1 연결 모이어티는 적합한 조건 하에 상기 제1 계면활성제 분자와 제2 연결 모이어티를 포함하는 제2 계면활성제 분자 간에 가교결합부의 형성에 관여하도록 구성되는, 제1 계면활성제 분자를 개질시키는 방법.

**청구항 160**

제159항에 있어서, 평균 2 내지 10개의 상기 제1 연결 모이어티를 상기 제1 계면활성제 분자에 부착시키는 단계를 포함하는, 제1 계면활성제 분자를 개질시키는 방법.

**청구항 161**

제159항 또는 제160항에 있어서, 상기 복수의 제1 연결 모이어티를 상기 계면활성제 분자의 테일부에 부착시키는 단계를 포함하는, 제1 계면활성제 분자를 개질시키는 방법.

**청구항 162**

제159항 또는 제160항에 있어서, 상기 복수의 제1 연결 모이어티를 상기 계면활성제 분자의 헤드부에 부착시키는 단계를 포함하는, 제1 계면활성제 분자를 개질시키는 방법.

**청구항 163**

제159항 내지 제162항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 연결 모이어티의 길이는 상기 계면활성제 분자의 헤드부의 길이의 5 내지 500%인, 제1 계면활성제 분자를 개질시키는 방법.

**청구항 164**

제159항 내지 제163항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 계면활성제 분자는 비이온성, 음이온성, 양이온성, 또는 양쪽성 이온 계면활성제인, 제1 계면활성제 분자를 개질시키는 방법.

**청구항 165**

제159항 내지 제163항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 계면활성제 분자는 플루오로계면활성제인, 제1 계면활성제 분자를 개질시키는 방법.

**청구항 166**

제159항 내지 제165항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 연결 모이어티를 상기 제1 계면활성제 분자에 공유 부착시키는 단계를 포함하는, 제1 계면활성제 분자를 개질시키는 방법.

**청구항 167**

제159항 내지 제166항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 연결 모이어티는 적합한 조건 하에 또 다른 연결 모이어티가 아니라 중간 모이어티에 결합하도록 구성되는, 제1 계면활성제 분자를 개질시키는 방법.

**청구항 168**

제167항에 있어서, 상기 연결 모이어티는 바이오틴을 포함하는, 제1 계면활성제 분자를 개질시키는 방법.

**청구항 169**

제168항에 있어서, 상기 중간 모이어티는 바이오틴-결합 모이어티를 포함하는, 제1 계면활성제 분자를 개질시키는 방법.

**청구항 170**

키트로서,

(i) 에멀션을 형성하는데 사용하기 위한 복수의 계면활성제 분자를 포함하는 용기로서, 상기 계면활성제 분자는 다른 계면활성제 분자에 가교결합하기 위한 복수의 연결 모이어티를 포함하는, 상기 용기;

(ii) (i)의 상기 용기를 수용하는 패키지

를 포함하는, 키트.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] **관련 출원에 대한 참조**

[0002] 본 출원은 2019년 6월 3일자로 출원된 미국 가출원 제62/856,660호의 우선일의 이익을 주장하며, 이의 내용은 이들의 전문이 본 명세서에 원용된다.

**배경 기술**

[0003] 연속상 내 분산상의 구획부(partition)들로 구성된 에멀션 시스템은 다수의 응용분야에서 유용하다. 에멀션 시스템의 잠재적인 결점은 구획부 상으로부터 또 다른 구획부의 분자의 이동, 유착(coalescence) 등을 포함한다.

**발명의 내용**

[0004] 일 양상에서, 본 명세서에서는 조성물이 제공된다.

[0005] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 테일부 및 헤드부를 포함하는 복수의 제1 계면활성제 분자를 포함하는 조성물이 제공되되, 여기서 제1 계면활성제 분자는 계면활성제 분자당 평균 2 내지 10개의 제1 연결 모이어티를 포함하고, 제1 연결 모이어티는 (i) 적합한 조건 하에 서로 연결되도록, (ii) 적합한 조건 하에 제2 연결 모이어티와 연결되도록(여기서, 제2 연결 모이어티는 테일부 및 헤드부를 포함하는 제2 계면활성제 분자에 부착되고, 상기 제2 연결 모이어티는 상기 제1 연결 모이어티와는 상이함), 또는 (iii) 적합한 조건 하에 중간 연결 모이어티와 연결되도록 또는 이들의 조합이 되도록 구성된다. 제1 연결 모이어티는 제1 계면활성제 분자의 테일부에 부착될 수 있다. 대안적으로, 제1 연결 모이어티는 제1 계면활성제 분자의 헤드부에 부착될 수 있다. 제2 연결 모이어티는 제2 계면활성제 분자의 헤드부에 부착될 수 있다. 대안적으로, 제2 연결 모이어티는 제2 계면활성제 분자의 테일부에 부착될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어티는 적합한 조건 하에 1개 이상의 공유 결합을 형성하도록 구성된다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어티는 적합한 조건 하에 1개 이상의 비공유 결합을 형성하도록 구성된다. 소정의 실시형태에서, 조성물은 복수의 제2 계면활성제 분자를 더 포함하되, 제2 계면활성제 분자는 계면활성제 분자당 평균 2 내지 10개의 제2 연결 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 제1 및 제2 연결 모이어티는 반대로 하전된다. 소정의 실시형태에서, 조성물은 제1 계면활성제 분자를 함유하는 연속상을 더 포함한다. 소정의 실시형태에서, 조성물은 제2 계면활성제 분자를 함유하는 연속상을 더 포함한다. 소정의 실시형태에서, 조성물은 분산상을 더 포함하고; 이들 실시형태 중 몇몇에 있어서, 분산상

은 제1 계면활성제 분자를 함유하지 않고; 이들 실시형태 중 몇몇에 있어서, 분산상은 제2 계면활성제 분자를 함유하지 않는다. 중간 연결 모이어티가 사용되는 소정의 실시형태에서, 분산상은 중간 연결 모이어티를 함유한다. 소정의 실시형태에서, 조성물은 제1 계면활성제 분자를 함유하는 분산상을 더 포함한다. 이들 실시형태 중 소정의 것에 있어서, 조성물은 연속상을 더 포함한다. 소정의 실시형태에서, 조성물은 제2 계면활성제 분자를 함유하는 분산상을 더 포함한다. 이들 실시형태 중 소정의 것에 있어서, 조성물은 연속상, 예를 들어, 제1 계면활성제 분자를 함유하지 않는 연속상 및/또는 제2 계면활성제 분자를 함유하지 않는 연속상을 더 포함한다. 소정의 실시형태에서, 연속상은 중간 연결 모이어티를 함유한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 모이어티는 바이오틴을 포함하는 제1 연결 모이어티 및 하나 이상의 바이오틴-결합 모이어티, 예컨대, 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 유도체를 포함하는 중간 연결 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 연속상, 예컨대, 오일을 포함하는 연속상에 마이셀을 형성한다. 소정의 실시형태에서, 오일은 탄화수소 또는 실리콘 오일이다. 소정의 실시형태에서, 오일은 플루오린화 오일을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제는 플루오로계면활성제이다.

[0006]

소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 연속상 내에 분산상의 구획부들을 포함하는 에멀션을 포함하는 조성물이 제공되되, 여기서 분산상의 구획부들은 계면활성제 분자의 층을 형성하도록 연속상과 구획부의 계면에 위치되는 테일부 및 헤드부를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하고, 복수의 계면활성제 분자는 서로 가교결합되어 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크의 가교결합도는 20 내지 100%이다. 소정의 실시형태에서, 가교결합은 계면활성제의 테일부의 길이의 5 내지 500%의 평균 길이를 갖는 가교결합부를 통해서 이루어진다. 소정의 실시형태에서, 가교결합은 계면활성제의 헤드부의 길이의 5 내지 500%의 평균 길이를 갖는 가교결합부를 통해서 이루어진다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 계면활성제 분자의 테일부에서 서로 가교결합된다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 계면활성제 분자의 헤드부에서 서로 가교결합된다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 제1 부분은 가교결합부의 부분을 형성하는 제1 연결 모이어티를 포함하고, 계면활성제 분자당 제1 연결 모이어티의 평균 개수는 2 내지 10이다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 제2 부분은, 제1 연결 모이어티와는 상이한, 가교결합부의 부분을 형성하는 제2 연결 모이어티를 포함하고, 계면활성제 분자당 제2 연결 모이어티의 평균 개수는 2 내지 10이다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 가교결합부를 통해서 가교결합되고, 가교결합부의 평균 길이는 1 내지 100nm이다. 소정의 실시형태에서, 분산상은 수성 상을 포함하고 연속상은 오일을 포함하고, 소정의 경우에 오일은 플루오린화 오일을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제는 플루오로계면활성제를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 비공유 결합에 의해 가교결합된다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 공유 결합에 의해 가교결합된다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 바이오틴-결합 모이어티에 의해 가교결합된 바이오틴 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서 바이오틴-결합 모이어티는 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 유도체를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 계면활성제 분자당 평균 2 내지 10개의 바이오틴 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 본 명세서에 기재된 염료 확산 검정 중 하나, 예컨대, 로다민 CG의 확산, 또는 레소루핀(resorufin)의 확산, 또는 플루오레세인의 확산을 포함하는 염료 확산 시험에서 적어도 20%의 염료 확산의 감소에 의해 측정된 바와 같이, 에멀션 내 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 증가시킨다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 본 명세서에 기재된 바와 같은 PCR 시험과 같은 PCR 시험에 의해 측정된 바와 같이, 에멀션 내 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 적어도 20% 증가시킨다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 본 명세서에 기재된 바와 같은 유착 검정들 중 하나와 같은 유착 검정에 의해 측정된 바와 같이, 에멀션 내 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 적어도 20% 증가시킨다.

[0007]

소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 연속상을 포함하는 조성물이 제공되되, 여기서 연속상은 계면활성제 분자에 부착된 연결 모이어티를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하고, 상기 모이어티는 적합한 조건 하에 서로 가교결합부를 형성한다. 소정의 실시형태에서, 연속상은 에멀션의 제조에 사용되는 것이다. 소정의 실시형태에서, 모이어티는 연속상에서 가교결합되도록 실질적으로 상호작용하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 모이어티는 적합한 조건 하에 비공유 가교결합부를 형성한다. 소정의 실시형태에서, 모이어티는 적합한 조건 하에 공유 가교결합부를 형성한다. 소정의 실시형태에서, 연속상은 오일을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 오일은 플루오린화 오일이다. 소정의 실시형태에서, 플루오린화 오일은 (3-에톡시-1,1,1,2,3,4,4,5,5,6,6,6-도데카플루오로-2-트라이플루오로메틸-헥산), 메틸 노나플루오로부틸 에터, 메틸 노나플루오로아이소부틸 에터, 에틸 노나플루오로아이소부틸 에터, 에틸 노나플루오로부틸 에터, (펜탄, 1,1,1,2,2,3,4,5,5,5-데카플루오로-3-메톡시-4-

(트라이플루오로메틸-), 아이소프로필 알코올, (1,2-트랜스-다이클로로에틸렌), (부탄,1,1,1,2,2,3,3,4,4-노나플루오로-4-메톡시-), (1,1,1,2,2,4,5,5,5-노나플루오로-4-(트라이플루오로메틸)-3-펜타논), (퓨란,2,3,3,4,4-펜타플루오로테트라하이드로-5-메톡시-2,5-비스[1,2,2,2-테트라플루오로-1-(트라이플루오로메틸)에틸]-), 5 내지 18개의 탄소 원자를 포함하는 퍼플루오로 화합물, 폴리클로로트라이플루오로에틸렌, (2,2,2-트라이플루오로에탄올), Novec 8200™, Novec 71DE™, Novec 7100™, Novec 7200DL™, Novec 7300DL™, Novec 71IPA™, Novec 72FL™, Novec 7500™, Novec 71DA™, Novec 7100DL™, Novec 7000™, Novec 7200™, Novec 7300™, Novec 72DA™, Novec 72DE™, Novec 649™, Novec 73DE™, Novec 7700™, Novec 612™, FC-40™, FC-43™, FC-70™, FC-72™, FC-770™, FC-3283™, FC-3284™, PF-5056™, PF-5058™, Halocarbon 0.8™, Halocarbon 1.8™, Halocarbon 4.2™, Halocarbon 6.3™, Halocarbon 27™, Halocarbon 56™, Halocarbon 95™, Halocarbon 200™, Halocarbon 400™, Halocarbon 700™, Halocarbon 1000™, Uniflor 4622R™, Uniflor 8172™, Uniflor 8472CP™, Uniflor 8512S™, Uniflor 8731™, Uniflor 8917™, Uniflor 8951™, TRIFLUNOX 3005™, TRIFLUNOX 3007™, TRIFLUNOX 3015™, TRIFLUNOX 3032™, TRIFLUNOX 3068™, TRIFLUNOX 3150™, TRIFLUNOX 3220™ 또는 TRIFLUNOX 3460™, 또는 이들의 조합물이다. 소정의 실시형태에서, 플루오린화 오일은 (3-에톡시-1,1,1,2,3,4,4,5,5,6,6,6-도데카플루오로-2-트라이플루오로메틸-헥산); (퓨란,2,3,3,4,4-펜타플루오로테트라하이드로-5-메톡시-2,5-비스[1,2,2,2-테트라플루오로-1-(트라이플루오로메틸)에틸]-); 5 내지 18개의 탄소 원자를 포함하는 퍼플루오로 화합물; 또는 이들의 조합물이다. 소정의 실시형태에서 계면활성제는 플루오로계면활성제를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 플루오로계면활성제는 에터, 아마이드 또는 카브아마이드 결합에 의해 연결된 헤드 및 테일 모이어티를 갖는 플루오로계면활성제; 카브아마이드, 에터 또는 아마이드 결합을 통해서 플루오로카본 모이어티에 연결된 폴리에틸렌 모이어티를 갖는 플루오로계면활성제, 또는 이들의 조합물을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 플루오로계면활성제는 카브아마이드, 아마이드 또는 에터 결합에 의해 플루오로카본 모이어티에 연결된 폴리에틸렌 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 적합한 조건 하에 형성된 가교결합부는 직접 가교결합부를 포함한다. 소정의 실시형태에서 적합한 조건 하에 형성된 가교결합부는 간접 가교결합부를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어티는 바이오틴을 포함한다. 소정의 실시형태에서 각각의 계면활성제 분자는 평균 적어도 2개의 연결 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 각각의 계면활성제 분자는 평균 적어도 4개의 연결 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 연결 모이어티는, 적합한 조건 하에 반응할 경우, 계면활성제 분자 간의 얻어지는 가교결합부는 1 내지 100nm이 되게 된다. 소정의 실시형태에서, 적합한 조건 하에 연결 모이어티 간에 형성되는 가교결합부는 20 내지 200 kJ/몰의 결합 강도를 갖는다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 농도는 0.5% 내지 2% w/v이다.

[0008] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 연속상에서 분산상의 구획부들의 에멀션의 형성에 사용하기 위한 분산상을 포함하는 조성물이 제공되되, 에멀션 내 연속상과의 구획부 계면은 가교결합 모이어티를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하되, 분산상은 적합한 조건 하에 가교결합 모이어티들 간에 가교결합 공정을 개시 및/또는 촉진시키는 하나 이상의 성분을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 분산상은 연속상과 접촉하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 분산상은 수성 상을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 분산상은 적합한 조건 하에 비-가교결합 공정을 개시 및/또는 촉진시키는 하나 이상의 추가의 성분을 더 포함한다. 소정의 실시형태에서, 비-가교결합 공정은 화학 반응을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 성분은 헥산 및 중합효소 연쇄 반응을 수행하기 위한 성분을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 가교결합 공정은 공유 상호작용을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 가교결합 공정은 비-공유 공정을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 가교결합 공정은 하나 이상의 중간 링커 모이어티 (혹은 중간 연결 모이어티)를 통해서 계면활성제 분자의 연결 모이어티를 연결하는 것을 포함하고, 분산상은 복수의 중간 링커 모이어티를 더 포함한다. 소정의 실시형태에서, 중간 링커 모이어티는 바이오틴-결합 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 바이오틴-결합 모이어티는 아비딘, 스트렙타비딘, 스트렙타비딘 유도체, 또는 이들의 조합물을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 하나 이상의 성분의 농도는 10 나노몰 내지 10 밀리몰이다.

[0009] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 연속상 내 분산상의 복수의 구획부를 포함하는 에멀션 조성물이 제공되되, 여기서 (i) 분산상 구획부와 연속상 간의 계면이 복수의 계면활성제 분자를 포함하고; (ii) 계면의 계면활성제 분자는 계면활성제 분자들 사이에 하나 이상의 연결 모이어티에 의해 가교결합되고; (iii) 구획부의 적어도 일부는, 적합한 조건 하에, 제2 성분을 생산하는 공정을 겪는 제1 성분을 함유하고; 그리고 (iv) 연속상은 상기 제2 성분의 존재 및/또는 부존재를 나타내는 신호를 생성하기 위하여 상기 제2 성분과 상호작용하는 리포터 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 제1 및 제2 성분은 동일하거나 또는 거의 동일하다. 소정의 실시형태에서, 제1 성분은 관심 헥산이고, 제2 성분은 헥산의 증폭 산물이다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어티는 구획부 내로 상기 리포터 분자의 유입을 촉진시키는 하나 이상의 특성을 갖는다.

[0010] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 테일부 및 헤드부를 포함하는 복수의 제1 계면활성제 분자를 포함하는 조성물이 제공되며, 제1 계면활성제 분자는 제1 계면활성제 분자에 부착된 제1 연결 모이어티를 포함하고, 제1 연결 모이어티는 적합한 조건 하에 제1 계면활성제 분자와 제2 연결 모이어티를 포함하는 제2 계면활성제 간에 가교결합부의 형성에 관여하도록 구성된다. 소정의 실시형태에서 제1 및 제2 연결 모이어티는 동일한 구조를 갖는다. 소정의 실시형태에서 제1 계면활성제 분자는 복수의 연결 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 제1 계면활성제 분자는 평균 2 내지 10개의 연결 모이어티에 부착된다. 소정의 실시형태에서, 제1 연결 모이어티는 계면활성제 분자의 테일부에 부착된다. 소정의 실시형태에서, 제1 연결 모이어티는 계면활성제 분자의 헤드부에 부착된다. 소정의 실시형태에서, 제1 연결 모이어티의 길이는 계면활성제 분자의 헤드부의 길이의 5 내지 500%이다. 소정의 실시형태에서, 제1 계면활성제 분자는 비이온성, 음이온성, 양이온성, 또는 양쪽성 이온 계면활성제이다. 소정의 실시형태에서, 제1 계면활성제 분자는 플루오로계면활성제이다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어티는 계면활성제 분자에 공유 부착된다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어티는 적합한 조건 하에 또 다른 연결 모이어티가 아니라 중간 모이어티에 결합되도록 구성된다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어티는 바이오틴을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 중간 모이어티는 바이오틴-결합 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 복수의 제1 계면활성제 분자는 연속상에 함유된다.

[0011] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 키트가 제공되며, 해당 키트는 (i) 에멀션을 형성하는데 사용하기 위한 복수의 계면활성제 분자를 포함하는 용기로서, 계면활성제 분자는 다른 계면활성제 분자에 가교결합하기 위한 복수의 연결 모이어티를 포함하는, 상기 용기; (ii) (i)의 상기 용기를 수용하는 패키지를 포함한다.

[0012] 일 양상에서, 본 명세서에서는 방법들이 제공된다.

[0013] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 연속상 내 분산상의 구획부들의 에멀션에서 공정을 수행하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 (i) 연속상 내 분산상의 구획부들의 에멀션을 제공하는 단계로서, 분산상의 구획부들은 계면활성제 분자의 층을 형성하도록 연속상과 구획부의 계면에 위치되는 테일부 및 헤드부를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하고, 복수의 계면활성제 분자는 서로 가교결합되어 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성하는, 상기 에멀션을 제공하는 단계; 및 (ii) 구획부에 대해 상기 공정을 수행하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크의 가교결합도는 20 내지 100%이다. 소정의 실시형태에서, 가교결합은 계면활성제의 테일부 또는 계면활성제의 헤드부의 길이의 5 내지 500%의 평균 길이를 갖는 가교결합부를 통해서 이루어진다. 소정의 실시형태에서, 가교결합은 계면활성제의 헤드부 또는 계면활성제의 헤드부의 길이의 5 내지 500%의 평균 길이를 갖는 가교결합부를 통해서 이루어진다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 계면활성제 분자의 테일부에서 서로 가교결합된다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 계면활성제 분자의 헤드부에서 서로 가교결합된다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 제1 부분은 가교결합부의 부분을 형성하는 제1 연결 모이어티를 포함하고, 계면활성제 분자당 제1 연결 모이어티의 평균 개수는 2 내지 10이다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 제2 부분은, 제1 연결 모이어티와는 상이한, 가교결합부의 부분을 형성하는 제2 연결 모이어티를 포함하고, 계면활성제 분자당 제2 연결 모이어티의 평균 개수는 2 내지 10이다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 가교결합부를 통해서 가교결합되고, 가교결합부의 평균 길이는 1 내지 100nm이다. 소정의 실시형태에서, 분산상은 수성 상이고 연속상은 오일이다. 소정의 실시형태에서, 오일은 플루오린화 오일이다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제는 플루오로계면활성제를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 비공유 결합에 의해 가교결합된다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 공유 결합에 의해 가교결합된다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 바이오틴-바이오틴 결합 모이어티 상호작용에 의해 가교결합된다. 소정의 실시형태에서, 바이오틴-결합 모이어티는 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 유도체를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 계면활성제 분자당 평균 15, 1 내지 10, 2 내지 10개의 바이오틴 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 방법은 구획부 내에 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성하는 단계를 더 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 분산상이 연속상 내에 복수의 구획부를 형성하는 조건 하에, 적어도 하나의 연결 모이어티를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하는 연속상을 분산상과 접촉시킴으로써 형성되고, 상기 방법은, 상기 구획부의 형성 동안 그리고/또는 후에, 연결 모이어티를 포함하는 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 조건을 제공하고, 상기 연결 모이어티는 하나의 계면활성제 분자에서부터 적어도 하나의 다른 계면활성제 분자까지 가교결합부를 형성하여, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성한다. 소정의 실시형태에서, 분산상은 연결 모이어티와 접촉될 경우 연결 모이어티를 포함하는 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 하나 이상의 성분을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 구획부는 연결 모이어티를 포함하는 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 외부 자극에 노출된다. 소정의 실시형태에서, 상기 공정은 화학 분석; 단백질 또는 균주 조작; 핵산, 단백질

질, 또는 세포-기반 검정; 분류; 분리; 또는 화학적 및/또는 생화학적 합성; 또는 이들의 조합을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 공정은 핵산 검정을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 공정은 중합효소 연쇄 반응(PCR)을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 본 명세서에 기재된 염료 확산 검정 중 하나, 예컨대, 로다민 CG의 확산, 또는 레소루핀의 확산, 또는 플루오레세인의 확산을 포함하는 염료 확산 시험에서 적어도 20%의 염료 확산의 감소에 의해 측정된 바와 같이, 에멀션 내 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 증가시킨다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 본 명세서에 기재된 바와 같은 PCR 시험과 같은 PCR 시험에 의해 측정된 바와 같이, 에멀션 내 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 적어도 20% 증가시킨다.

[0014] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 연속상 내 분산상의 구획부들의 에멀션을 제조하는 방법이 제공되며, 여기서 분산상의 구획부들은 계면활성제 분자의 층을 형성하도록 연속상과 구획부의 계면에 위치되는 테일부 및 헤드부를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하고, 상기 방법은 (i) 연속상을 분산상과 접촉시키는 단계로서, 분산상이 연속상 내에 복수의 구획부를 형성하는 조건 하에, (a) 연속상은 적어도 1개의 연결 모이어터를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하거나, 또는 (b) 분산상은 적어도 1개의 연결 모이어터를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하거나, 또는 (c) (a) 및 (b) 둘 다인, 상기 접촉시키는 단계; 및 (ii) 구획부의 형성 동안 그리고/또는 후에, 연결 모이어터를 포함하는 계면활성제 분자들 사이에 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 조건을 제공하여, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 연속상은 연결 모이어터를 포함하는 계면활성제 분자를 포함하고, 상기 분산상은 그러지 않는다. 소정의 실시형태에서, 가교결합부의 연결 모이어터와 다른 성분은, 존재할 경우, 계면활성제의 테일부의 길이의 5 내지 500% 또는 계면활성제의 헤드부의 길이의 5 내지 500%인 길이를 갖는 가교결합부를 형성한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 계면활성제 분자당 평균 2 내지 10개의 연결 모이어터를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어터의 조건 및/또는 수는, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크의 완성도가 20 내지 100%가 되도록 한다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어터는 계면활성제 분자의 테일부에 부착되고, 가교결합부는 계면활성제 분자의 테일부 사이에 형성된다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어터는 계면활성제 분자의 헤드부에 부착되고, 가교결합부는 계면활성제 분자의 헤드부 사이에 형성된다. 소정의 실시형태에서, 분산상은 연결 모이어터와 접촉될 경우 연결 모이어터를 포함하는 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 하나 이상의 성분을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 하나 이상의 성분은 계면활성제 연결 모이어터와 하나 이상의 결합을 형성하는 하나 이상의 중간 연결 모이어터를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 연결 모이어터는 바이오틴을 포함하고, 중간 연결 모이어터는 바이오틴-결합 모이어터를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 바이오틴-결합 모이어터는 스트렙타비딘 및/또는 스트렙타비딘 유도체를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 구획부는 연결 모이어터를 포함하는 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 외부 자극에 노출된다. 소정의 실시형태에서, 외부 자극은 광을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 연속상은 오일을 포함하고, 분산상은 수성 상을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 오일은 플루오린화 오일을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제는 플루오로계면활성제를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 본 명세서에 기재된 염료 확산 검정 중 하나, 예컨대, 로다민 CG의 확산, 또는 레소루핀의 확산, 또는 플루오레세인의 확산을 포함하는 염료 확산 시험에서 적어도 20%의 염료 확산의 감소에 의해 측정된 바와 같이, 에멀션 내 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 증가시킨다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 본 명세서에 기재된 바와 같은 PCR 시험과 같은 PCR 시험에 의해 측정된 바와 같이, 에멀션 내 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 적어도 20% 증가시킨다.

[0015] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 오일 연속상 내에 분산된 수성 상의 복수의 구획부를 포함하는 에멀션을 제조하는 방법이 제공되며, 여기서 구획부는 구획부의 표면에 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 더 포함하고, 상기 방법은 분산된 수성 상을 준비하는 단계, 개질된(modified) 계면활성제를 포함하는 오일상을 준비하는 단계로서, 개질된 계면활성제는 테일부 및 헤드부를 포함하고, 연결 모이어터를 더 포함하는, 상기 오일상을 준비하는 단계; 및 수성 상과 오일상을 혼합하여, 오일 내에 수성 상의 복수의 구획부의 에멀션을 형성하는 단계로서, 개질된 계면활성제 분자는 서로 가교결합부를 형성하여 상기 연속상과 상기 구획부의 계면에 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성하는, 상기 에멀션을 형성하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 혼합은 보텍싱(vortexing), 피펫팅, 시린징(syringing), 진탕에 의해 대량으로 행해진다. 소정의 실시형태에서, 혼합은 마이크로유체 액적 형성 디바이스에 의해 행해진다. 소정의 실시형태에서, 혼합은 마이크로유체 T-합류(microfluidic T-junction), 유동 집중 합류(flow focusing junction), 역-y 합류(reverse-y junction), 밀리

피드 합류(millipede junction) 또는 이들의 조합에 의해 행해진다. 소정의 실시형태에서, 에멀션을 생성하기 위한 시스템이 보다 큰 기기 내에 내장된다. 소정의 실시형태에서, 기기는 샘플 전달 모듈, 액적 생성기 모듈, 열사이클러 모듈, 검출 모듈, 폐기물 관리 모듈, 또는 이들의 조합을 수용하는 기기이다. 소정의 실시형태에서, 보다 큰 기기에는 마이크로유체 디바이스(microfluidic device), 튜빙(tubing), 용기 또는 배트(vat)가 내장된다. 소정의 실시형태에서, 기기는 전체로서 기기의 성능을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 기기를 제어하는 관련된 소프트웨어 또는 상기 마이크로유체 디바이스를 포함한다.

[0016] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 연속상 내 분산상의 구획부들을 포함하는 에멀션에서 구획부들의 유착을 방지하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 구획부와 연속상 사이의 계면에서 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 구획부는 1 $\mu$ m 초과 직경의 평균 직경을 갖는다. 소정의 실시형태에서, 에멀션은 60 $^{\circ}$ C 초과 온도에 있다.

[0017] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 마이크로유체 디바이스(microfluidic device)에서 연속상 내 분산상의 구획부들을 포함하는 에멀션을 수송, 열사이클링(thermal cycling), 인큐베이션, 분류 또는 분석하는 방법이 제공되며, 여기서 액적은 구획부와 연속상의 계면에서 가교결합된 계면활성제 분자의 네트워크를 포함한다.

[0018] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 연속상 내 수성 상의 구획부들을 포함하는 에멀션의 구획부들에서 PCR을 수행하는 방법이 제공되며, 여기서 구획부는 가교결합제(cross-linker), 중합효소, 뉴클레오타이드, 주형 DNA, 프라이머, 및 프로브/또는 DNA 결합 염료를 포함하고, 연속상은 하나 이상의 연결 모이어티를 포함하는 계면활성제 분자를 포함한다.

[0019] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 하기 단계들을 포함하는 방법이 제공된다: (i) 연속상에서, 분산상을 포함하는 복수의 구획부를 포함하는 에멀션을 형성하는 단계로서, 구획부는 연속상과의 계면에서 복수의 계면활성제 분자를 포함하는 계면활성제 층을 포함하는, 상기 에멀션을 형성하는 단계; (ii) 계면에서 계면활성제 분자들을 가교결합하여 가교결합된 계면활성제 네트워크를 형성하는 단계; (iii) 구획부에 대해서 공정을 수행하는 단계; 및 (iv) 가교결합된 계면활성제 네트워크를 처리하여 가교결합도를 감소시키는 단계. 소정의 실시형태에서, 방법은 복수의 구획부를 파괴시켜 개방하여 구획부 내 분산상을 방출시키는 단계를 더 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제는 플루오로계면활성제를 포함하고, 연속상은 플루오린화 오일을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 고정온 중합효소 연쇄 반응을 포함한다.

[0020] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 에멀션 유동 공정을 수행하는 방법이 제공되며, 해당 방법은 (i) (a) 연속상, 및 (b) 연결 모이어티를 갖는 계면활성제 분자를 포함하는, 연속상을 제공하는 단계; (ii) 연속상과는 별도의 분산상을 제공하는 단계로서, 분산상은 연결 모이어티를 갖는 계면활성제 분자를 포함하지 않고, 계면활성제 분자들 사이에 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 하나 이상의 성분을 포함하고, 가교결합부는 연결 모이어티를 포함하는, 상기 분산상을 제공하는 단계; (iii) 연속상 내에 분산상을 포함하는 복수의 구획부의 에멀션을 생성하는 구획부 생성기 내로 연속상과 분산상을 유동시키는 단계, 및 (iv) 구획부 형성 동안 그리고/또는 후에, 연결 모이어티를 포함하는 계면활성제 분자들 사이에 가교결합부를 형성하여 구획부와 연속상과의 계면에 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성하는 단계; 및 (v) 에멀션의 구획부에 대해서 하나 이상의 작동을 수행하는 공정 시스템을 통해서 에멀션을 유동시키는 단계를 포함한다.

[0021] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 테일부 및 헤드부를 포함하는 제1 계면활성제 분자를 개질시키는 방법이 제공되며, 해당 방법은 복수의 제1 연결 모이어티를 제1 계면활성제 분자에 부착시키는 단계를 포함하고, 제1 연결 모이어티는 적합한 조건 하에 제1 계면활성제 분자와 제2 연결 모이어티를 포함하는 제2 계면활성제 간에 가교결합부의 형성에 관여하도록 구성된다. 소정의 실시형태에서, 방법은 평균 2 내지 10개의 제1 연결 모이어티를 제1 계면활성제 분자에 부착시키는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 방법은 복수의 제1 연결 모이어티를 계면활성제 분자의 테일부에 부착시키는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 방법은 복수의 제1 연결 모이어티를 계면활성제 분자의 헤드부에 부착시키는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 제1 연결 모이어티의 길이는 계면활성제 분자의 테일부의 길이의 5 내지 500%이고; 소정의 실시형태에서, 제1 연결 모이어티의 길이는 계면활성제 분자의 테일부의 길이의 5 내지 500%이다. 소정의 실시형태에서, 제1 계면활성제 분자는 비이온성, 음이온성, 양이온성, 또는 양쪽성 이온 계면활성제이다. 소정의 실시형태에서, 제1 계면활성제 분자는 플루오로계면활성제이다. 소정의 실시형태에서, 방법은 연결 모이어티를 제1 계면활성제 분자에 공유 부착시키는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어티는 적합한 조건 하에 또 다른 연결 모이어티가 아니라 중간 모이어티에 결합되도록 구성된다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어티는 바이오틴을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 중간 모이어티는 바이오틴-결합 모이어티를 포함한다.

[0022] 참조에 의한 원용

[0023] 본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특허 및 특허 출원은 마치 각각의 개별 간행물, 특허 또는 특허 출원이 참조에 의해 원용되는 것으로 구체적이고 개별적으로 표시된 것처럼 동일한 정도로 참조에 의해 본 명세서에 원용된다.

**도면의 간단한 설명**

[0024] 본 발명의 신규한 특징은 첨부된 청구범위에 구체적으로 설명되어 있다. 본 발명의 특징 및 이점에 대한 더 나은 이해는 본 발명의 원리가 활용되는 예시적인 실시형태를 설명하는 다음의 상세한 설명 및 첨부 도면을 참조하여 얻어질 것이다:

- 도 1은 에멀션을 형성하기 위해 연속상으로 분할된 분산상을 나타낸다.
- 도 2는 둘 이상의 구획부의 유착의 개략도를 나타낸다.
- 도 3은 구획부 계면을 가로지르는 두 가지 분자 이동 모드의 개략도를 나타낸다.
- 도 4는 에멀션에서 분리된 구획부 사이의 분자 이동의 개략도를 나타낸다.
- 도 5는 계면활성제 가교결합의 실시형태를 나타낸다.
- 도 6은 상이한 가교결합도를 나타내며; 좌측은 완전 가교결합; 우측은 부분 가교결합을 나타낸다.
- 도 7은 구획부 계면에 매립된 계면활성제가 물리적 기하형태에 있어서 달라질 수 있음을 나타낸다.
- 도 8은 구획부 계면의 화학적 특성의 개질을 통한 분자 이동 제어의 실시형태를 나타낸다.
- 도 9는 역마이셀 형성의 저해에 의한 분자 이동 저감의 실시형태를 나타낸다.
- 도 10은 계면활성제 네트워크 다공성의 크기-기반 제어를 통한 제어된 분자 이동의 실시형태를 나타낸다.
- 도 11은 다양한 링커 크기의 효과를 나타낸다.
- 도 12는 가교결합 정도에 대한 가교결합제(cross-linking agent) 수의 영향을 나타낸다.
- 도 13은 계면활성제 모이어티의 헤드-투-헤드(head-to-head) 가교결합 및 테일-투-테일(tail-to-tail) 가교결합을 나타낸다.
- 도 14는 두 상이한 계면활성제 분자에 대한 연결 모이어티 간의 직접 가교결합을 나타낸다.
- 도 15는 이온 결합에 의한 두 계면활성제 모이어티의 가교결합을 나타낸다.
- 도 16은 하나 이상의 중간 연결 모이어티를 통한 두 계면활성제 모이어티 간의 간접 가교결합을 나타낸다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0025] 본 명세서에서는, 본 명세서에서 가교결합으로 지칭되는, 구획부 계면에서의 계면활성제-계면활성제 상호작용을 촉진시킴으로써 에멀션의 안정화와 관련된 조성물 및 방법이 개시되어 있다. 계면활성제 가교결합은 구획부 계면에서 분자 네트워크, 즉, 계면활성제 네트워크를 형성함으로써 에멀션에 증가된 안정성을 부여한다. 이러한 네트워크는 계면활성제 분자를 회합 상태로 유지하고/하거나 계면활성제 분자의 움직임을 감소시키는 경향이 있는 방식으로 상호작용하는 계면활성제 분자를 포함하고; 몇몇 경우에, 회합(association)은 계면활성제 분자를 가교결합하기 위해 직접 또는 중간 모이어티를 통해 상호 작용하는 계면활성제 분자에 부착된 연결 모이어티를 사용하여 촉진되며, 여기서 상호 작용은 일부 경우에는 공유이고 다른 경우에는 비공유이며, 상호작용은 가교결합된 계면활성제 분자를 회합 상태로 유지시킨다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 호환 가능하게 사용되는 "계면활성제 분자" 및 "계면활성제 모이어티"는 단일 계면활성제 독립체(entity)를 지칭하며; 이러한 독립체는 단일 분자이거나 하나 이상의 분자가 다중 분자 복합체로 결합된 집합체일 수 있다. 계면활성제는 일반적으로 친수성 헤드부와 소수성 테일부를 가지고 있고; 계면활성제 분자들 간의 가교는 헤드기 사이, 테일기 사이, 헤드-투-테일 또는 이들의 조합일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 연속상은 오일, 에멀전, 플루오린화 오일을 포함하고, 분산상은 수성 상을 포함하고, 계면활성제는 플루오로계면활성제를 포함한다. 분자(계면활성제) 네트워크는 액적 내로 또는 액적 밖으로 분자의 이동을 촉진 또는 제한하는 것을 돕기 위하여 액적의 경계 특성을 변경하는 능력을 갖는다. 본 명세서에는 에멀션을 제조하는 방법, 계면활성제를 제조하는 방법뿐만 아니라, 가교

결합된 계면활성제를 보유하는 결과적인 에멀션 및 기타 결과적인 조성물이 개시되어 있다. 부가적으로, 본 명세서에는 기재된 계면활성제 및 가교결합된 계면활성제를 보유하는 에멀션을 사용하는 방법 및 이의 용도가 개시되어 있다. 부가적으로 구획부 취급 시스템에서 계면활성제 및 계면활성제의 에멀션의 유용성이 개시되어 있다.

[0026] 본 명세서에 기재된 조성물 및 방법은 계면활성제를 활용하는 임의의 적합한 에멀션 시스템과 함께 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 에멀션 시스템은 유중수 에멀션 시스템이며, 여기서 수성 분산상은 오일 연속상에 구획되어 있고, 계면활성제는, 본 명세서에 기재된 바와 같이, 구획부 계면 및 부분적으로 또는 완전히 가교결합된 계면활성제 분자를 안정화시키는데 사용된다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는, 계면활성제 분자들 사이에 함께 직접, 예컨대, 하나의 계면활성제에 대한 연결 모이어티와 또 다른 계면활성제에 대한 연결 모이어티 간에 공유 또는 비-공유 연결로 연결될 수 있거나, 또는 하나 이상의 연결 분자, 즉, 중간 연결 모이어티를 통해 간접적으로 연결되되, 여기서 중간 연결(링키지) 모이어티, 예컨대, 분자가 하나의 계면활성제 분자 상의 연결 모이어티와, 예컨대, 공유 또는 비-공유 결합으로 연결되고 적어도 하나의 다른 계면활성제 분자 상의 연결 모이어티와, 예컨대, 공유 또는 비-공유 결합으로 연결되는, 본 명세서에서 링커 모이어티로도 지칭되는 하나 이상의 연결 모이어티를 포함한다. 계면활성제 분자에 적합한 연결 모이어티를 도입하는 임의의 적합한 방법이 사용될 수 있으며; 소정의 경우에, 계면활성제 분자는 이미 개질 없는 이러한 모이어티를 함유하고, 다른 경우에 계면활성제 분자는, 예컨대, 연결 모이어티를 공유 또는 비공유적으로 부착시킴으로써 하나 이상의 연결 모이어티를 포함하도록 개질된다. 방법은 하나 이상의 연결 모이어티를 포함하게끔 수성 분산상에 사용될 계면활성제 분자를 개질시키는 단계, 및 예컨대, 계면활성제가 구획부와 연속상 간의 계면에 형성 중이거나 또는 형성된 경우, 가교결합을 위한 조건을 제공하는 단계를 포함한다.

[0027] 계면활성제 분자를 가교결합시키기 위하여 임의의 적합한 방법이 사용될 수 있다. 에멀션의 형성 전에, 가교결합되도록 구성된 계면활성제 분자는 연속상에, 분산상에, 또는 이들의 조합으로 존재할 수 있다. 소정의 경우에, 연결 모이어티를 포함하는 계면활성제 분자는 예컨대, 연속상에 존재하고, 개질된 계면활성제 분자는 연속상에 존재하고, 계면활성제 분자 상의 연결 모이어티 사이의 연결 공정을 활성화, 촉진 또는 용이하게 하는 하나 이상의 성분, 예컨대, 계면활성제 상의 링커 모이어티 사이의 연결 공정을 촉진시키는 하나 이상의 활성화 성분, 또는 예컨대, 링커 분자, 즉, 중간 링커 모이어티가 분산상, 예컨대, 수성 상에 존재하고; 이들 상이 합쳐져서, 연속상에서, 예를 들어, 구획부 생성부에서 분산상, 예컨대, 수성 상의 구획부의 에멀션을 형성한다. 계면활성제는 계면활성제 연결 모이어티들 사이에 직접적으로 또는 계면활성제 분자와 링커 분자 상의 링커 모이어티 간에 가교결합을 형성하는 하나 이상의 중간 링커 모이어티, 즉, 중간 링커 모이어티를 통해서 간접적으로 결합 형성에 의해 가교결합된다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 1개 이상, 예를 들어, 평균 1 내지 20, 1 내지 15, 1 내지 10, 2 내지 20, 2 내지 15, 2 내지 10, 2 내지 8, 2 내지 6, 3 내지 20, 3 내지 15, 3 내지 10, 3 내지 8, 3 내지 5, 4 내지 20, 4 내지 15, 4 내지 10, 4 내지 8, 5 내지 20, 5 내지 15, 5 내지 10, 5 내지 9, 6 내지 20, 6 내지 15, 또는 6 내지 10개의 연결 모이어티를 포함하도록 개질된다. 계면활성제당 연결 모이어티의 최적 개수는 가교결합 반응 유형 및, 몇몇 경우에, 링커 분자, 즉, 중간 링커 모이어티의 용도에 좌우될 수 있다. 계면활성제와 연결 모이어티 간의 부착은 임의의 적합한 부착 유형, 예컨대, 공유 결합 또는 비공유 결합일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 2개의 상이한 연결 모이어티를 포함하도록 개질되고; 일반적으로, 제1 세트의 개질된 계면활성제 분자는 부착된 제1 연결 모이어티로 제조되고, 제2 세트의 개질된 계면활성제 분자는 부착된 제2 연결 모이어티로 제조된다. 제1 및 제2 세트의 계면활성제 분자를 합쳐서 복수의 제1 및 제2 개질된 계면활성제 둘 다를 함유하는 조성물을 제조할 수 있다. 이러한 개질된 계면활성제 분자는, 예컨대, 제1 연결 모이어티의 부분이 제2 연결 모이어티의 부분과 반응하여 직접 가교결합을 생성하거나 또는 중간 연결 모이어티와 반응하여 간접 가교결합을 생성하는 반응에 사용될 수 있다.

[0028] 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 1개 이상, 예를 들어 평균 1 내지 20, 1 내지 15, 1 내지 10, 2 내지 20, 2 내지 15, 2 내지 10, 2 내지 8, 2 내지 6, 3 내지 20, 3 내지 15, 3 내지 10, 3 내지 8, 3 내지 5, 4 내지 20, 4 내지 15, 4 내지 10, 4 내지 8, 5 내지 20, 5 내지 15, 5 내지 10, 5 내지 9, 6 내지 20, 6 내지 15, 또는 6 내지 10, 예를 들어, 평균 약 6개의 바이오틴 모이어티를 포함하도록 개질되고, 바이오틴 모이어티에 결합되는, 바이오틴-결합 모이어티, 예컨대, 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 유도체의 첨가에 의해 가교결합되므로, 중간 연결 모이어티로서 작용한다. 중간 연결 모이어티, 예컨대, 스트렙타비딘은 가교결합 전에 임의의 적합한 양으로 존재할 수 있고; 예를 들어, 평균 구획부의 표면의 전체를 피복하는데 필요한 가교결합체의 양은 계산될 수 있고, 그 양의 일부 백분율, 예컨대, 1, 5, 10, 20, 50, 70, 100, 120, 150, 200, 300, 400 또는 500%, 또는 이들 사이의 임의의 범위가 몇몇 경우에 가능한 수의 구획부를 조절하기 위하여 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제는 플루오로계면활성제이다. 소정의 실시형태에서, 연속상은 오일, 예를 들어,

플루오린화 오일을 포함한다.

[0029] 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법은, 화학 분석, 단백질 및 균주 조작, 핵산, 단백질, 및 세포-기반 검정, 분류 또는 분리, 또는 화학적 및/또는 생화학적 합성, 예를 들어, 조합 약물 합성에서 구획부 간의 소분자 이동의 감소 또는 제거, 고속대량 약물 스크리닝, 개별 세포에 의해 분비되는 산물의 분석, 목적하는 효소의 유도 진화, 합성 세포의 구축, 또는 에멀션 시스템의 임의의 기타 적합한 용도, 특히 구획부 간의 독립체의 이동이 바람직하지 않은 용도를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 임의의 적합한 에멀션-기반 세팅에서 유익한 응용분야를 발견할 수 있다. 편의상, 조성물 및 방법은 중합효소 연쇄 반응 디지털 PCR과 관련하여 기재될 수 있지만, 당업자라면 동일한 또는 유사한 조성물 및 방법이 임의의 적합한 에멀션 시스템에서 사용될 수 있음을 인식할 것이다.

[0030] 액적이 개별 구획으로서 작용하는 액적 마이크로유체학은, 디지털 PCR, 고속대량 스크리닝, 균주 및 단백질 조작, 및 세포, 단백질, 및 화학 분석을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 광범위한 응용분야를 가능하게 하였다. 몇몇 예는 DNA/RNA 증폭(Mazutis et al., A.D. Lab Chip, 2009, 9, 2665-2672; Mazutis et al., Anal. Chem., 2009, 81(12), 4813-4821), 시험관내 전사/번역(Courtois et al., Chembiochem., 2008, 9(3), 439-446), 효소 촉매작용(Baret et al., Lab Chip, 2009, 9(13), 1850-1858), 및 세포-기반 검정(Clausell-Tormos et al., Chem. Biol., 2008, 15(8), 427-437; Brouzes et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2009, 106(34), 14195-14200)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 부피가 1피코리터에서부터 1밀리리터까지에 이르는 미세액적의 작은 크기와, 이들의 상대적인 직교성 및 각각의 모집단의 다른 액적으로부터의 단리는 극히 고속대량(초당 10<sup>4</sup> 개 초과)의 샘플) 및 방대하게 저감된 시약 소비로 스크리닝 및 기타 공정을 용이하게 한다.

[0031] 에멀션은 제1 액체상과 실질적으로 비혼화성인 제2 액체상(때로는 "연속상"으로 지칭됨) 내 제1 액체상(때때로 "분산상"으로 지칭됨)의 현탁액이다. 몇몇 실시형태에서, 에멀션은 분산상을 하나 이상의 연속상으로 구획함으로써 생성된다. 다른 상의 분자보다 해당 상의 다른 분자에 대한 각각의 상의 분자의 더 높은 친화도로 인해, 안정제가 없는 상태에서 하나 초과 분산상 구획부를 보다 큰 조합된 구획부로 병합 또는 유착시키는 것이 일반적으로 열역학적으로 선호된다. 계면활성제는 통상 유착을 방지하기 위해 2종의 실질적으로 비혼화성 유체 사이의 에멀션 생산에서 안정제로서 사용되고; 몇몇 실시형태에서, 이들 2종의 실질적으로 비혼화성 유체는 수성상과 오일이다. 마이크로유체 기술과 조합하여, 다양한 응용분야가 에멀션-기반 응용분야를 확장하거나 향상시키기 위한 목적으로 안정적이고 균일한 크기의 유중수(WO) 및 수중유중수(WOW)뿐만 아니라 수중유(OW) 및 유중수중유(OWO) 구획부(때때로 "액적"으로 알려짐)를 생성, 조절, 변경 및 이송하기 위하여 개발되었다. 많은 경우에, 본 명세서에 제공된 방법 및 조성물은 WO 에멀션의 관점에서 설명될 것이지만, 동일한 원리 및 기술이 적절하게 WOW, OW 및 WO 에멀션에 적용될 수 있음이 이해될 것이다.

[0032] 연속상 또는 분산상이 오일을 포함하는 실시형태에서, 임의의 적합한 오일, 예컨대, 탄화수소 오일, 실리콘 오일 등이 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 플루오린화 오일이, 예컨대, 연속상으로서 그리고/또는 본 명세서에서 추가로 기재된 바와 같은 다른 유체 성분을 위하여 사용된다. 플루오린화 오일은 (3-에톡시-1,1,1,2,3,4,4,5,5,6,6,6-도데카플루오로-2-트라이플루오로메틸-헥산), 메틸 노나플루오로부틸 에터, 메틸 노나플루오로아이소부틸 에터, 에틸 노나플루오로아이소부틸 에터, 에틸 노나플루오로부틸 에터, (펜탄, 1,1,1,2,2,3,4,5,5,5-데카플루오로-3-메톡시-4-(트라이플루오로메틸-)), 아이소프로필 알코올, (1,2-트랜스-다이클로로에틸렌), (부탄, 1,1,1,2,2,3,3,4,4-노나플루오로-4-메톡시-), (1,1,1,2,2,4,5,5,5-노나플루오로-4-(트라이플루오로메틸)-3-펜탄논), (퓨란, 2,3,3,4,4-펜타플루오로테트라하이드로-5-메톡시-2,5-비스[1,2,2,2-테트라플루오로-1-(트라이플루오로메틸)에틸]-), 5 내지 18개의 탄소 원자를 포함하는 퍼플루오로 화합물, 폴리클로로 트라이플루오로에틸렌, (2,2,2-트라이플루오로에탄올), Novec 8200™, Novec 71DE™, Novec 7100™, Novec 7200DL™, Novec 7300DL™, Novec 71IPA™, Novec 72FL™, Novec 7500™, Novec 71DA™, Novec 7100DL™, Novec 7000™, Novec 7200™, Novec 7300™, Novec 72DA™, Novec 72DE™, Novec 649™, Novec 73DE™, Novec 7700™, Novec 612™, FC-40™, FC-43™, FC-70™, FC-72™, FC-770™, FC-3283™, FC-3284™, PF-5056™, PF-5058™, Halocarbon 0.8™, Halocarbon 1.8™, Halocarbon 4.2™, Halocarbon 6.3™, Halocarbon 27™, Halocarbon 56™, Halocarbon 95™, Halocarbon 200™, Halocarbon 400™, Halocarbon 700™, Halocarbon 1000™, Uniflor 4622R™, Uniflor 8172™, Uniflor 8472CP™, Uniflor 8512S™, Uniflor 8731™, Uniflor 8917™, Uniflor 8951™, TRIFLUNOX 3005™, TRIFLUNOX 3007™, TRIFLUNOX 3015™, TRIFLUNOX 3032™, TRIFLUNOX 3068™, TRIFLUNOX 3150™, TRIFLUNOX 3220™ 또는 TRIFLUNOX 3460™을 포함할 수 있다. 소정의 실시형태에서,  
 플루오린화 오일은  
 (3-에톡시-1,1,1,2,3,4,4,5,5,6,6,6-도데카플루오로-2-트라이플루오로메틸-헥산), (퓨란, 2,3,3,4,4-펜타플루오

로테트라하이드로-5-메톡시-2,5-비스[1,2,2,2-테트라플루오로-1-(트라이플루오로메틸)에틸]-, 및/또는 5 내지 18개의 탄소 원자를 포함하는 퍼플루오로 화합물을 포함하고, 플루오로계면활성제는 카브아마이드, 아마이드 또는 에터 결합에 의해 플루오로카본 모이어티에 연결된 폴리에틸렌 모이어티를 포함한다.

[0033] 각각의 오일에 적절한 계면활성제는 통상 안정적인 에멀션 형성에 필요하다. 전통적인 계면활성제는 일반적으로 플루오린화 오일에서 계면활성제의 비극성 말단의 낮은 용해도로 인해 플루오린화 오일에서 수성 상의 에멀션을 안정화시키는 데 적합하지 않다. 또한, 이들은 종종 생물학적 분자 및 세포에 유독하여 표준 시스템과 비교하여 구획부에서 활성의 손실 또는 변경을 초래한다.

[0034] 에멀션을 안정화시키는 데 적합한 플루오린화 계면활성제가 개발되어 독성 문제를 줄였다. 그러나, 플루오로계면활성제 화학의 발전으로 구획부 안정성의 극적인 증가가 달성되었지만, WO 및 WOW 에멀션의 안정성에 대한 추가의 개선이 새로운 응용 분야의 개발을 가능하게 할 수 있는 많은 응용 분야가 있다. 몇 가지 예는 보다 큰 구획부(예컨대, >5um, >10um, >20um, >30um, >40um, >50um, >60um, >80um, >70um, >100um, >200um, >500um인 등가의 구체 직경)로 고전단력 환경에서, 고온에서, 전계, 예컨대, 정적 또는 다른 전위의 존재 하에, 그리고/또는 구획부 계면을 통상적으로 불안정하게 하는 특정 수성 제형으로 작용하는 능력을 포함한다. 또한, 두 상 사이에서 또는 계면에서 분자의 확산 및/또는 흡착을 추가로 수정할 필요가 있다.

[0035] 따라서, 소정의 실시형태에서, 계면활성제는 플루오린화 계면활성제이다. 소정의 실시형태에서, 플루오로계면활성제는 올리고에틸렌 글리콜, TRIS 또는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 플루오로계면활성제는 플루오로카본 및/또는 클로로플루오로카본 모이어티를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 플루오로계면활성제는 에터, 아마이드, 또는 카브아마이드 결합에 의해 연결되는 헤드 및 테일 모이어티를 갖는다. 소정의 실시형태에서, 플루오로계면활성제는 카브아마이드, 에터 또는 아마이드 결합을 통해서 플루오로카본 모이어티에 연결된 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 갖는다. 플루오린화 계면활성제는 Picosurf-1, Ran FS-008, FC-4430, FC-4432, FC-4434를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 소정의 경우에, 플루오로계면활성제는 카브아마이드, 아마이드 또는 에터 결합에 의해 플루오로카본 모이어티에 연결된 폴리에틸렌 모이어티를 포함할 수 있다. 바이오틴이 연결 모이어티로서 사용되는 소정의 실시형태에서, 바이오틴을 포함하는 예시적인 플루오로계면활성제는 Ran Biotechnologies사로부터의 FS-바이오틴이다. 예컨대, 미국 특허 출원 공개 제20180112036호 참조. 플루오로계면활성제는 플루오린화 오일 중 0.01% w/v 내지 5% w/v의 농도를 가질 수 있다. 소정의 실시형태에서, 플루오로계면활성제 농도는 0.5% 내지 2% w/v, 예컨대, 0.5 내지 1.5%의 범위이다. 본 명세서에서 일반적으로, 계면활성제 농도는 연속상 중의 계면활성제의 백분율, 예컨대, 분산상의 구획을 생성하기 위해 분배기로 유동될 때 연속상 중의 계면활성제의 백분율로 표현된다.

[0036] 플루오린화 오일 및/또는 플루오로계면활성제가 사용되는 실시형태에서, 예컨대, 표면에서 구획부의 잠재적인 정체를 저감시키기 위하여, 처리하는 동안 플루오린화된 에멀션을 처리하는 데 사용되는 시스템의 표면, 예컨대, 에멀션과 접촉하는 표면의 80, 90, 95 또는 99%를 갖는 것이 유리하다. 따라서, 소정의 실시형태에서, 시스템 내 통로, 예컨대, 도관의 표면은 플루오로중합체를 포함하고, 적어도 하나의 연속상은 플루오린화 오일을 포함하고, 분산상은 플루오린화 오일보다 플루오로중합체 표면에 대해 더 낮은 친화도를 갖는다. 여기서 그리고 본 명세서의 다른 곳에서, 플루오로중합체는 임의의 적합한 플루오로중합체, 예컨대, 폴리테트라플루오로메틸렌(PTFE), 클로로트라이플루오로에틸렌(CTFE), 폴리비닐리덴 다이플루오라이드(PVDF), 퍼플루오로알콕시 중합체(PFA), 플루오린화 에틸렌-프로필렌(FEP), 또는 이들의 조합물일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 도관의 표면은 친수성 재료를 포함하고, 적어도 하나의 연속상은 친수성이고, 분산상에서 소수성이다. 추가의 실시형태에서, 분산상은 오일이다.

[0037] 소정의 실시형태에서, 플루오린화 오일은 (3-에톡시-1,1,1,2,3,4,4,5,5,6,6-도데카플루오로-2-트라이플루오로메틸-헥산), (퓨란,2,3,3,4,4-펜타플루오로테트라하이드로-5-메톡시-2,5-비스[1,2,2,2-테트라플루오로-1-(트라이플루오로메틸)에틸]-), 및/또는 5 내지 18개의 탄소 원자를 포함하는 퍼플루오로 화합물을 포함하고, 플루오로계면활성제는 카브아마이드, 아마이드 또는 에터 결합에 의해 플루오로카본 모이어티에 연결된 폴리에틸렌 모이어티를 포함한다.

[0038] 일례에서, 디지털 검정은 분산상의 구획부의 양상불을 고려하여 수행된다. 이러한 검정에서, 관심 분석물은 생성 시 구획부들 간에 분포되고, 각 구획부의 특성을 측정하면 해당 구획부가 최소량의 관심 분석물을 포함하는지의 여부를 결정할 수 있다. 몇몇 실시형태/예에서, 특정 양의 관심 분석물을 함유 및/또는 함유하지 않고/하거나 함유하는 것으로 측정된 구획부의 수를 구획부 간의 분석물의 기본 통계적 분포와 상관시킴으로써, 원래 분석물의 특성을 확인할 수 있다. 일 실시예에서, 특성은 몰 농도 또는 부피 농도와 같은 농도, 또는 농도의 임

의의 다른 적절한 표현이다.

- [0039] 중합효소 연쇄 반응(PCR)은 시험관내에서 목적하는 핵산을 증폭시키는데 사용되는 방법이다. 증폭 속도를 주의 깊게 측정함으로써, 표준 참조를 사용하여 핵산의 초기 농도를 정량화할 수 있다. 그러나, 많은 인자는 (1) 불량한 PCR 효율, (2) 낮은 농도의 시작 주형, (3) 반응 종결 및 (4) 부산물 형성을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 초기 양의 공제를 복잡하게 한다. 또한, 참조 재료와 표적 핵산 간의 증폭 효율의 차이는 실제 농도의 유도를 왜곡시킬 수 있다.
- [0040] 예를 들어, 마이크로유체적으로 생성된 구획부를 사용해서 수행된 디지털 PCR('dPCR')은 샘플을 많은 더 작은 반응으로 분할함으로써 DNA 주형을 정량화하는 현재 PCR 관행을 개선시킨다. 분산상은 밀리리터에서부터 퀵토리터까지에 이르는 부피 범위가 매우 균일한 크기의 구획부의 집단을 생성하는 미세 유체 장치를 사용하여 구획된다. 주형이 없는 적어도 하나의 구획부가 있을 정도로 충분한 구획부로 샘플을 구획화하고, 구획화된 증폭을 병렬로 수행한 다음, 주형이 포함된 구획부와 포함하지 않은 구획부의 수를 계수함으로써, 푸아송 통계를 사용해서 표적 DNA의 농도를 계산할 수 있다. 정량화를 위한 참조가 필요하지 않기 때문에, dPCR은 핵산 정량화에서 현저한 오류 원인을 제거한다. dPCR은 주어진 구획부 내에서 주형의 초기 부피 농도를 증가시킴으로써 희귀 표적 검출에 대한 정밀도를 더욱 향상시킬 수 있다. 예를 들어, 용액 중 1개의 주형은 반응이 20,000개의 균등한 크기의 구획부로 구획화될 경우 농도의 20,000배 증가를 볼 수 있다. 주형 농도의 이러한 증가는 희귀한 DNA 조각에 대한 화학 반응 역학 및 증폭 효율의 증가를 초래할 수 있다. 희귀 표적 검출은 또한 동일한 이유로 복잡한 배경에 대한 희귀 표적의 비율을 변경함으로써 이점을 얻을 수 있다. 주형 농도가 증가함에 따라, 반응에 영향을 줄 수 있는 저해 분자의 농도가 상대적으로 감소하여, 저해 분자의 영향에 대한 추가의 저항을 제공한다.
- [0041] 디지털 검정의 정확도는, 무엇보다도, 시스템이 생성할 수 있는 구획부의 수, 유화된 샘플의 백분율, 취급, 배양 및 분석할 때 생성된 구획부의 안정성 및 관심 구획부에서 수성 연속 및 리포터 분자의 보유에 따라 좌우된다. 몇몇 경우에, 리포터 분자의 유입은 유익하다[Prodanovic et. al, 2011, Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening]. 예를 들어, 오일 상으로부터 수성 상으로 DNA 검출 분자(예컨대, 삽입제 (intercalation agent))의 선택적 이동이 바람직할 수 있다. 이러한 유형의 이동은 수성 상에서 시약의 제한된 양을 지남으로써 초래된 검출 한계를 상대적으로 제거할 수 있다. 따라서, 안정성을 증가시키고 구획부의 유착을 감소시킬 뿐만 아니라 상 및/또는 구획부 사이의 분자 확산을 저감시키거나 선택적으로 제한하는 혁신은 본 명세서에 제공된 특정 실시형태에 포함된다.
- [0042] 일반적으로, 본 명세서에 제공된 조성물 및 방법은 한 구획부에서 연속상으로, 통상 또 다른 구획부로 성분의 이동을 감소 또는 제거하고/하거나, 선택된 성분의 구획부 안팎으로의 이동을 조절하고자 하는 에멀션 시스템에서 사용될 수 있다. 이론에 의해 얽매이길 원치 않지만, 성분의 구획부간 이동은 두 개 이상의 구획부가 더 큰 구획부로 함께 결합되어 각 구획부의 내용물을 혼화시키는 유착을 통해서; 역마이셀 형성 및 이동을 통해서; 그리고 구획부로부터 연속상으로 성분의 직접적 확산을 통해서, 그리고 통상 다른 구획부로 도로 발생할 수 있다고 생각된다. 대안적으로 또는 부가적으로, 가교결합 계면활성제를 위해 본 명세서에 제공된 조성물 및 방법은 구획부와 연속상 사이의 계면활성제 계면을 보다 강건하게 만들 수 있고; 따라서, 구획부는, 예컨대, 가혹한 반응 조건에 대해, 또는 가교결합이 없을 때 구획부를 불안정하게 만드는 구획부 내의 성분에 대해 더 내성이 있다.
- [0043] 에멀션을 유착에 대해 안정화시키기 위하여, 계면활성제는 계면 장력을 낮추고 따라서 깁스(Gibbs) 자유 에너지를 제공하거나, 입체 또는 정전기 반발을 제공하거나, 필름 배수 시간을 늘리거나, 또는 표면 탄성을 증가시키는 데 사용된다. 유화제는 흔히 두 상의 각각에 가용성인 기를 포함하는 양친매성 분자이다. 수성 또는 오일의 단일 용매에 존재할 때 마이셀 구조를 형성한다. 구획부 형성 및 구획부 계면 생성 시점 및 그 후 일정 기간 동안 마이셀은 유수 계면에 분산 및 흡착된다.
- [0044] 계면활성제의 특정 화학에 따라, 계면활성제는 수성 상 또는 유성 상(즉, 오일 상)에서 더 잘 가용성일 수 있다. 몇몇 경우에, 계면활성제는 어느 한쪽 상에 마이셀을 형성하고, 구획부 계면의 형성 시, 마이셀은 해리되고, 계면활성제 분자가 구획부 계면에 그 자체로 매립된다. 계면활성제는 양친매성이며 반대 용해도의 2개 이상의 기를 갖기 때문에, 테일기와 헤드기는 그들 각각의 용매와 회합한다. 계면과의 이러한 회합은 개선된 구획부 안정성을 야기한다. 마이셀 상태와 계면 상태 사이에 도달하는 각각의 용해도 평형은 구획부 안정성과 계면 무결성에 역할을 할 가능성이 있다.
- [0045] 유착은 두 상 중 하나에서 계면활성제의 용해도를 감소시킴으로써 화학적으로 악화될 수 있다. 몇몇 예에서, 용해도의 이러한 감소는 pH 조정 또는 계면활성제, 오일 또는 수용액의 화학적 조성을 변경하거나 상호작용하는

화학물질의 첨가를 통해 이루어질 수 있다.

- [0046] 연속상에서 분산상으로 또는 연속상의 구획부들 사이에서의 화학물질의 이동은 마이셀과 계면 상태 사이의 계면 활성제의 동적 평형에 의해 유도될 수 있다.
- [0047] 구획부 불안정성을 촉진시키는 많은 힘은 대부분의 구획부 응용 분야에서 쉽게 변경되지 않기 때문에, 구획부 안정성을 개선하는 새로운 방법은, 예컨대, 배수 시간을 증가시키고 고온, 기계적 힘, 예를 들어, 전단력, 전계 및/또는 많은 생명공학 제형에 존재하는 화학시약의 존재 하에 계면활성제를 안정화시키는 것이다.
- [0048] **정의**
- [0049] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "에멀션"은 두 상 중 하나(분산상)가 제2(연속) 상에 함유된 개별 구획부를 형성하도록 2개의 비혼화성 유체의 혼합물을 포함한다. 통상의 에멀션은 물 또는 수성 상에 현탁된 오일(O/W) 또는 오일에 현탁된 물(W/O)일 수 있다. 다른 통상의 에멀션은 수중유중수(WOW) 또는 유중수중유(OWO)와 같은 다중 에멀션일 수 있다.
- [0050] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "크림화(creaming)"는 에멀션을 2개의 에멀션으로 분리하는 것을 포함하고, 그 중 하나(크림)는 다른 것보다 분산상에서 더 풍부하다. 크림화는 유착의 전조일 수 있다.
- [0051] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "침강"은 2개의 상 사이의 밀도 차이로 인해 에멀션으로부터 구획부의 침강을 포함한다. 침전은 유착의 전조일 수 있다.
- [0052] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "응집(flocculation)"은 표면적의 변화 없이 에멀션에서 구획부를 함께 그룹화하는 것을 포함한다. 이 용어는 응집체(agggregation)와 교환 가능하다.
- [0053] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "오스트발트 숙성(Ostwald ripening)"은 표면 대 면적 비가 최소화되는 보다 열역학적으로 안정한 상태에 도달하기 위해 더 작은 구획이 더 큰 구획과 합쳐지는 현상을 포함한다.
- [0054] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "유착"은 더 큰 구획을 형성하기 위한 둘 이상의 구획부의 융합을 포함한다.
- [0055] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "계면활성제"는 용해되는 액체의 표면 장력을 감소시켜 에멀션의 안정화를 돕는 경향이 있는 물질을 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "계면활성제 분자" 및 "계면활성제 모이어티"는 일반적으로 동의어이며, 그 구조에 하나 초과 분자를 갖는 계면활성제를 포함할 수 있다.
- [0056] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "제미니(Gemini) 계면활성제"는 2개의 계면활성제 분자 사이에 스페이서 단위를 함유하는 이량체성 계면활성제를 포함한다.
- [0057] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "플루오린화"는 하나 이상의 플루오린 원자를 함유하는 임의의 기 또는 물질을 포함한다. 일반적으로, 기 또는 물질은 다수의 플루오린 원자를 함유한다. 예를 들어, 플루오린화 오일은 부분적으로 플루오린화된 탄화수소, 퍼플루오로카본, 하이드로플루오로에터 및 이들의 혼합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 플루오린 원자를 함유하는 임의의 오일을 지칭한다.
- [0058] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "플루오로계면활성제"는 적어도 하나의 플루오로카본 모이어티를 갖는 임의의 화학적 계면활성제를 포함한다.
- [0059] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "가교결합"은 2개 이상의 계면활성제 분자를 연결하여 구획부 계면에서 분자 네트워크의 형성을 초래하는 능력을 갖는 유체상들 중 하나의 유체상의 성분을 포함한다.
- [0060] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 계면활성제 분자, 예를 들어, 연속상 내 분산상의 구획부의 계면에서의 계면활성제 분자의 "가교결합"은 계면활성제 분자들 간의 결합의 형성을 의미한다. 결합은 공유 또는 비공유일 수 있고, 일반적으로 계면활성제 분자의 개질 없이 계면활성제 분자들 사이에 형성되지 않거나 실질적인 정도로 형성되지 않을 것이다. 개질은 계면활성제 분자에 하나 이상의 연결 모이어티의 첨가를 포함할 수 있고, 이어서 직접 또는 간접적으로 가교결합되고/되거나 계면활성제 분자들 간의 가교결합부를 형성하기에 적합한 조건에 계면활성제 분자를 노출시킨다. 일반적으로, 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "가교결합"은, 문맥상 달리 명백하지 않는 한, 계면활성제 분자의 헤드 또는 테일의 개질보다는 오히려 플루오로계면활성제 분자에 부착된 연결 모이어티의 사용을 지칭한다.
- [0061] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "분산된 수성 상"은 하나 이상의 관심 분석물을 포함할 수 있는 수계 용액을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 분산된 수성 상은 적어도 하나의 화학 시약을 포함하고 적어도 하나의 화

학 반응을 위한 별개의 반응 용기로서 작용한다. 분산된 수성 상을 포함하는 시스템은 별개의 반응 용기 중 적어도 하나에서 적어도 하나의 화학 반응의 특성을 측정할 수 있는 검출기를 추가로 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 분산된 수성 상은 관심 분석물을 포함할 수 있고 적어도 하나의 화학 반응의 특성은 관심 분석물의 특성과 상관될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 측정의 잠재적 결과가 이산 세트에 의해 표현될 수 있다는 점에서, 측정은 본질적으로 디지털이다. 추가의 실시형태에서, 임계값보다 위 또는 아래의 적어도 하나의 측정값은 적어도 하나의 개별 반응 용기가 관심 분석물을 수용하는지의 여부를 결정한다. 다른 실시형태에서, 측정의 잠재적인 결과가 값의 연속적인 범위에 의해 표현된다는 점에서, 측정은 본질적으로 아날로그이다. 몇몇 실시형태에서, 수성 상은 완충제, 염, 분석물, 안정제, 계면활성제, 염료, 또는 하기에 기재된 바와 같은 이들의 임의의 조합물을 포함할 수 있다

[0062] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "연속상"은 분산상과 실질적으로 비혼화성이고, 구획부가 구획화 전에, 동안 또는 후에 존재하는 액체를 포함한다. 연속상은 분산상을 구획부로 구획하는 데 사용된 비혼화성 상 또는 구획부가 형성 후에 교환된 새로운 비혼화성 상을 지칭할 수 있다.

[0063] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "안정제"는 방부제, 효소의 안정성 또는 활성을 유지하거나 향상시키는 데 도움이 되는 분자, 특정 유형의 효소를 저해하거나 불활성화하는 데 도움이 되는 분자, 예를 들어, 계면활성제, 금속 이온, 당, 크라우딩제(crowding agent), DNase 또는 RNase 저해제를 포함할 수 있는 광범위한 부류의 분자를 포함한다.

[0064] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이 용어 "안정성"은 액적 파괴 또는 유착의 감소 및/또는 구획부 계면을 통한 분자 확산의 변형, 예컨대, 역 마이셀 형성의 감소 및 계면을 통한 분자 확산의 감소 또는 증가를 초래하는 구획부 계면의 유지를 포함하고; 확산이 증가하거나 감소하는지의 여부는 특정 분자와 구획부 경계면의 특성에 따라 좌우된다.

[0065] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 "키트"는 함께 사용하도록 의도된 물품의 집합을 포함한다. 키트의 물품은 서로 작동적으로 연결되어 있을 수 있거나 연결되어 있지 않을 수 있다. 키트는, 예컨대, 시약, 완충액, 효소, 항체 및 목적에 특이적인 기타 조성물을 포함할 수 있다. 키트는 또한 데이터 분석 및 해석을 위한 소프트웨어와 사용 설명도를 포함할 수 있다. 키트는 규범적 표준으로 사용되는 샘플을 더 포함할 수 있다. 전형적으로 키트의 물품은 1차 용기, 예컨대, 바이알, 튜브, 병, 상자 또는 백에 수용된다. 별도의 물품은 그 자체의, 별도의 용기 또는 동일 한 용기에 수용될 수 있다. 키트의 물품 또는 키트의 1차 용기는, 선택적으로 상업적 판매, 예컨대, 선반용 또는 통상의 운송업체, 예컨대, 우편물 또는 배달 서비스에 의한 수송에 적합한, 2차 용기, 예를 들어, 박스 또는 백으로 조립될 수 있다.

[0066] 도 1은 에멀션의 형성을 예시한다. 분산상 액체[101]는 연속상 액체[102] 내에 구획된다. 얻어지는 에멀션은 연속상[102]의 벌크 액체에 용해된 다수의 분산상 구획부[103]를 포함한다. 각 구획부[103]는 원래의 분산상 액체의 부분 부피를 포함하고 분산상 액체와 벌크 연속상 액체 간의 계면[104]을 포함한다.

[0067] 구획부[103]는 1 피코리터 내지 1 밀리리터, 예컨대, 1pℓ 내지 1ml, 1pℓ 내지 100 uℓ, 1pℓ 내지 10uℓ, 1pℓ 내지 5uℓ, 1pℓ 내지 1uℓ, 1pℓ 내지 100nl, 1pℓ 내지 10nl, 1pℓ 내지 1nl, 1pℓ 내지 100pℓ, 1pℓ 내지 10pℓ, 10pℓ 내지 1ml, 10pℓ 내지 100 uℓ, 10pℓ 내지 10uℓ, 10pℓ 내지 5uℓ, 10pℓ 내지 1uℓ, 10pℓ 내지 100nl, 10pℓ 내지 10nl, 10pℓ 내지 1nl, 10pℓ 내지 100pℓ, 100pℓ 내지 1ml, 100pℓ 내지 100 uℓ, 100pℓ 내지 10uℓ, 100pℓ 내지 5uℓ, 100pℓ 내지 1uℓ, 100pℓ 내지 100nl, 100pℓ 내지 10nl, 100pℓ 내지 1nl, 1nl 내지 1ml, 1nl 내지 100 uℓ, 1nl 내지 10uℓ, 1nl 내지 5uℓ, 1nl 내지 1uℓ, 1nl 내지 100nl, 1nl 내지 10nl의 범위의 구체 부피와 동등한 단면 직경의 범위일 수 있다.

[0068] 구획부 계면[104]은 안정제, 예를 들어 계면활성제에 의해 안정화될 수 있다. 안정제는 액적 계면에 물리적 안정성을 부여하여 구획부 유착 및/또는 파손의 발생을 저감시킬 수 있다. 안정제는 또한 계면 무결성을 부여하여 계면을 통한 분자의 제어된 또는 감소된 이동을 초래할 수 있다.

[0069] 분산상 액체[101]는 친수성 액체, 예컨대, 수성 액체, 소수성 액체, 또는 플루오로필릭 액체일 수 있다. 분산상 액체[101]의 조성물에 따라서, 연속상 액체[102]는 또한 친수성 액체, 예컨대, 수성 액체, 소수성 액체, 또는 플루오로필릭 액체일 수 있다. 연속상 액체[102]는 분산상 액체와 실질적으로 비혼화성이어서 에멀션을 형성한다.

[0070] 도 2는 두 개 이상의 구획부[201]가 유착되어 두 개 이상의 시작 구획부의 결합된 부피와 동일한 유착 후 부피를 가진 단일 구획부[204]가 되는 도식적 표현이다.

- [0071] 구획부 유착에서, 둘 이상의 시작 구획부[201]는 각각 벌크 연속상 외부로 둘러싸인 분산상 액체 내부를 포함한다. 구획부 계면[202]은 분산상과 연속상 액체의 교차점에 존재한다. 둘 이상의 시작 구획부[201]는 안정제에 의해 안정화된 계면[202]을 가질 수도 있고 갖지 않을 수도 있다. 적합한 안정제는 계면활성제를 포함할 수 있다.
- [0072] 몇몇 경우에, 2개 이상의 시작 구획부[201]는 높은 근접도 및 높은 에너지 상태에 들어가, 2개 이상의 구획부[201]를 분리하는 연속상 유체의 완전한 손실을 초래할 수 있다. 연속상 유체의 손실과 표면 에너지의 존재는 구획부 경계면의 불안정화[202] 및 둘 이상의 구획부 경계면의 융합[203]을 초래하며, 그 위에 둘 이상의 구획부가 합쳐져, 두 개 이상의 원래 구획부[201]를 합친 부피와 동등한 부피의 결과적인 구획부[204]를 형성한다.
- [0073] 이론에 얽매는 일 없이, 다양한 현상, 예컨대, 크림화, 침강, 응집, 상 반전, 오스트발트 숙성은 에멀션의 물리적 불안정화를 초래하고, 이들 중 임의의 것 또는 모두는 유착을 초래하거나 그 가능성을 증가시킬 수 있다. 불안정성의 기전은 구획부 크기, 크기 분포, 유화제의 양 및 유형, 두 상의 상호 용해도, 교반, 온도 및 pH에 따라 좌우된다. 예를 들어, 유착은 에멀션의 높은 표면 자유 에너지( $\Delta G$ )로 인해 발생하고, 이는 에너지적으로 바람직하지 않다. 그 결과, 시스템은 총 계면 에너지( $\Delta A$ )의 감소를 향해 움직이고 구획부가 불안정해지고 혼합되지 않은 상태( $\Delta G = \gamma \Delta A$ )로 되돌아가는 경향이 있음을 의미한다. 여기서  $\gamma$ 는 계면 장력을 나타내고 시스템 에너지는 거의 항상 양수이다[McClements, 2015, Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques, Third Edition].
- [0074] 도 2에 나타난 바와 같이, 몇몇 경우에, 구획부 배수구 사이의 계면 필름으로서 구획부가 합쳐져서, 2개 이상의 분산상 구획부를 분리하는 연속상 장벽을 완전히 제거할 수 있다. 이 모델에서, 유착은 접촉 시간과 필름 배수라는 적어도 두 가지 파라미터에 따라 좌우된다. 접촉 시간이 필름 배수 시간을 초과하는 경우, 이는 둘 이상의 구획부가 이들 사이로부터 모든 오일이 배출될 정도로 충분히 길게 서로 접촉하면, 구획부가 파열되어 유착될 수 있음을 의미한다. 필름 배수는 분산상과 연속상 사이의 압력차로 인한 모세관 압력에 의해 유도된다. 필름 표면 사이의 반데르발스, 입체 및 정전기 상호 작용으로 인한 분리 압력에 의해 속도가 느려지거나 방지될 수 있다.
- [0075] 유착은 시스템의 에너지를 증가시키거나 온도 변화 또는 전단력을 통해 구획부를 더 밀접하게 접촉시킴으로써 기계적으로 악화될 수 있다.
- [0076] 도 3은 구획부 계면[302]을 가로지르는 두 가지 분자 이동 모드의 개략도를 도시한다. 분자 이동은 구획부 내부[301]에서부터 연속상 유체로 또는 연속상 유체에서부터 구획부 내부[301]로 일어날 수 있다. 몇몇 경우에, 이동은 양 방향으로 일어날 수 있고, 몇몇 경우에 이동은 두 이동 방향 중 하나를 선호할 수 있다. 이동은 무시할 수 있는 전체 농도 구배를 생성하기에 충분한 시간 후에 정적 또는 동적 평형 상태로 존재할 수 있다.
- [0077] 첫 번째 경우에, 분자 이동은 확산에 의해 지배된다. 구획부 내부[301]에 가용화된 분자[303]는 구획부 계면[302]을 가로질러 벌크 연속상으로 또는 벌크 연속상으로부터 구획부 계면[302]을 거쳐 구획부 내부[301]로 확산될 수 있다. 이어서, 벌크 연속상에서 생성된 분자[304]는 구획부 계면을 가로질러 액적 내부[301]로 다시 확산될 수 있다.
- [0078] 연속상에서의 분자[304]는 에멀션에서의 임의의 구획부의 계면을 통과하여 에멀션의 구획부들 사이에서 분자의 잠재적인 이동을 일으킬 수 있고, 즉, 하나의 구획부의 분자가 두 번째 구획부로 이동할 수 있다.
- [0079] 두 번째 경우에, 분자 이동은 벌크 연속상에서 계면활성제 마이셀[305]의 형성, 구획부 계면과의 융합, 그리고 연속상으로 다시 새로운 계면활성제 마이셀의 생성과 방출에 의해 지배된다. 마이셀은 소수성 용매의 마이셀의 경우에 마이셀 내부에서 헤드기가 상호 작용하는 계면활성제 분자의 응집체이다.
- [0080] 벌크 연속상 액체에서 구획부 계면[302]에 매립된 계면활성제와 마이셀[305]에 매립된 계면활성제는 동적 평형 상태에서 지속적으로 교환된다. 이 동적 평형상태에서, 계면활성제 마이셀[305]은 구획부 계면과 융합될 것이고 마이셀의 계면활성제는 구획부 계면[302]에 그 자체로 매립될 것이다. 계면활성제 분자가 존재하는 고정된 표면적이 있기 때문에, 마이셀의 융합으로 인해 계면활성제 분자가 구획부 계면[302] 내 어딘가에서 변위를 초래할 것이다. 이 변위는 동일한 또는 상이한 계면활성제 분자를 가진 새로운 계면활성제 마이셀[306]의 형성을 초래할 수 있다. 이 과정은 역마이셀 형성이라 불린다.
- [0081] 구획부 내부[301]에 용해된 분자[303]는 마이셀 형성 시 새롭게 형성된 마이셀의 내부에 포획될 수 있다. 이들 마이셀-포획된 분자[307]는 이제 벌크 연속상에 효과적으로 용해된다. 이어서, 분자로 채워진 마이셀[306]은 연

속상에 영구적으로 남아 있을 수 있거나 또는 에멀션의 임의의 적합한 구획부와 회합될 수 있다.

- [0082] 이 경우에, 분자 이동은 확산 원리에 의해 결정되는 것이 아니라, 오히려 크기와 역 마이셀 형성의 상대적 동역학 및 에멀션의 계면활성제 농도에 따라 결정된다.
- [0083] 몇몇 실시형태에서, 온도 감소, 연속상 점도의 증가 및 구획부-구획부 근접도 감소는 구획부 내부에서 외부로 또는 그 반대로 분자 이동의 효율을 저감시킬 수 있다.
- [0084] 도 4는 에멀션에서 별도의 구획부들 사이의 두가지 모드의 분자 이동, 즉, 확산과 마이셀 형성의 또 다른 개략도를 도시한다.
- [0085] 첫 번째 경우에, 제1 구획부는 벌크 연속상 내에 분산상 액체[401]의 부피를 포함한다. 구획부 계면[402]은 분산상 액체[401]와 벌크 연속상 액체의 교차점에 존재한다. 구획부 계면[402]은 계면활성제와 같은 안정제에 의해 안정화될 수 있거나 안정화되지 않을 수 있다. 동일한 에멀션에서, 하나 이상의 추가의 분산상 구획부가 또한 벌크 연속상에 존재한다. 추가의 분산상 구획부는 또한 분산상 내부[405] 및 제2 구획부 계면[404]을 포함한다. 제1 구획부[403]에 존재하는 분자는 확산 통과에 의해 제1 구획부 계면[402]을 가로질러 벌크 연속상 액체로 통과할 수도 있고 그렇지 않을 수도 있다. 이어서, 벌크 연속상으로 이동된 분자는 벌크 연속상을 통해 자유롭게 통과할 수 있다. 제2 구획부에 도달하면, 연속상 분자[403]는 제2 구획부의 계면[404]을 통과하여 제2 구획부의 분산상 내부[405]로 유입될 수 있다.
- [0086] 두 번째 경우에, 분자 이동은 벌크 연속상에서 계면활성제 마이셀[406]의 형성에 의해 지배된다. 마이셀은 분산상 가용성 기가 마이셀 내부에서 상호 작용하는 계면활성제 분자의 응집체이다.
- [0087] 벌크 연속상 액체에서 구획부 계면[402]에 매립된 계면활성제 및 마이셀[406]에 매립된 계면활성제는 동적 평형 상태에서 지속적으로 교환된다. 이 동적 평형상태에서, 계면활성제 마이셀[406]은 구획부 계면과 융합될 것이고, 마이셀의 계면활성제는 그 자체로 구획부 계면[402]에 내장될 것이다. 계면활성제 분자가 존재하는 고정된 표면적이 있기 때문에, 마이셀의 융합으로 인해 계면활성제 분자가 구획부 계면[402] 내 어딘가에서 변위를 초래할 것이다. 이 변위는 동일한 또는 상이한 계면활성제 분자를 가진 새로운 계면활성제 마이셀[407]의 형성을 초래할 수 있다. 이 과정은 역마이셀 형성이라 불린다.
- [0088] 구획부 내부[401]에 용해된 분자[403]는 마이셀 형성 시 새롭게 형성된 마이셀[407]의 내부에 포획될 수 있다. 이들 마이셀-포획된 분자[403]는 이제 벌크 연속상에 효과적으로 용해된다. 이어서 분자로 채워진 마이셀[403]은 연속상에 영구적으로 남아 있을 수 있거나, 제1 구획부와 회합될 수 있거나, 또는 제2 구획부[404]의 계면에 그 자체로 매립되어, 제1 구획부로부터 제2 구획부의 분산상 내부[405]에 분자[403]를 효과적으로 방출할 수 있다.
- [0089] 장기간에 걸쳐 확산 또는 역마이셀 수단을 통해 액적에서 액적으로의 분자 이동은 평형 상태에 도달하는 경향이 있을 것이다. 이러한 유형의 분자 수송은 단리된 반응 용기로서 구획부를 사용하는 능력에 바람직하지 않은 영향을 미칠 수 있는데 그 이유는 이러한 수단을 통해 이동할 수 있는 분자가 더 이상 원래 구획부로 제한되지 않고, 예를 들어, 하나의 반응 용기 구획부에서 생성된 검출 가능한 마커가 반드시 생성된 구획부와 회합된 상태로 유지되지 않는 것이기 때문이다.
- [0090] 몇몇 경우에, 온도를 낮추고, 연속상 점도를 증가시키고, 구획부-구획부 근접성을 저감시키면 구획부 내부에서 외부로 또는 그 반대로 분자 이동의 효율성을 저감시킬 수 있다.
- [0091] 도 5는 계면활성제 가교결합의 실시형태를 나타낸다. 계면활성제 가교결합은 하나 이상의 물리적으로 연결된 가교결합체의 상호작용 및/또는 화학 반응을 통해 구획부 계면에 매립된 계면활성제들 간의 연결[501 및 502]의 형성을 지칭한다.
- [0092] 계면활성제는 전형적으로 연속상 또는 분산상 유체에 가용성인 2개 이상의 연결 모이어티를 포함하는 양친매성 분자이다. 상기 도면에서 모이어티 A 및 모이어티 B는 반대 유체에서 가용성인 계면활성제의 그룹을 지칭한다. 예를 들어, 모이어티 A가 연속상에서 우선적으로 가용성이면, 모이어티 B는 분산상에서 우선적으로 가용성이다. 예를 들어, 모이어티 B가 연속상에서 우선적으로 가용성이면, 모이어티 A는 분산상에서 우선적으로 가용성이다.
- [0093] 가교결합은 계면활성제 분자의 헤드(즉, 연속상에서 우선적으로 가용성이고 연속상과 접촉하는 모이어티) 사이, 계면활성제 분자의 테일(즉, 분산상에서 우선적으로 가용성이고 구획부의 내부에 대면하는 모이어티), 계면활성제 분자의 다른 부분 사이, 또는 이들의 조합에서 일어날 수 있다.

- [0094] 구획부 계면에 미립된 계면활성제 분자의 가교결합은 계면에서 계면활성제 네트워크를 형성하여 표면에서 계면활성제 분자의 보유를 촉진시켜서, 계면활성제 입자가 가교결합되지 않은 것보다 효과적으로 구획부 안정성을 증가시킨다. 이것은 접촉 시간이 길고, 온도가 상승하고, pH가 변하는 응용 분야에서 또는 계면활성제 입자가 가교결합되지 않은 구획부를 불안정하게 만드는 화학 물질의 존재 하에도 각 구획부를 둘러싸는 연속상 필름을 유지하는 데 도움이 될 수 있다. 가교결합은 자발적이거나 유도될 수 있고, 일성분 시스템 또는 다성분 시스템을 사용하여 형성될 수 있으며, 가교결합의 정도는 부분에서 완전까지 다양할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 또 다른 반응물에 대한 또 다른 가교결합 모이어티와 상호작용하는 계면활성제에 대한 가교결합 모이어티는 계면활성제의 양친매성 성질을 제공하는 모이어티 A 및 B와는 별개인 모이어티이며, 즉, 이들은 계면활성제의 헤드 또는 테일에 대한 부가이고 헤드 또는 테일의 부분이 아니다.
- [0095] 도 6은 가교결합의 정도가 부분에서 완전까지 다양할 수 있음을 나타낸다.
- [0096] 도 6a에서, 완전 가교결합이 달성되었다. 이 실시형태에서, 구획부[601]는 계면활성제 분자[602]로 포화된 구획부 계면을 포함한다. 각 계면활성제 분자는 가교결합부[603]를 통해 적어도 하나의 다른 계면활성제 분자에 연결되어, 이들 계면활성제 분자 사이의 연결을 초래한다. 구획부 계면의 각 계면활성제 분자는 구획부 계면에서 완전히 상호 연결된 계면활성제 네트워크를 형성하는 다른 인접 계면활성제 분자에 연결된다. 완전 또는 완전한 가교결합은 구획부 계면의 이웃하는 계면활성제 분자의 100% 또는 실질적으로 100%가 함께 가교결합될 때 발생한다. 도 6a의 경우에, 각 계면활성제 분자는 5개의 인접부를 갖고, 모든 또는 실질적으로 모든 계면활성제 분자가 이들의 5개의 인접부 모두에 결합될 때 완전한 가교결합이 달성된다. 부가적으로 또는 대안적으로, 표면에서의 계면활성제의 일부가 형광성인 경우, 그리고 가교결합되지 않은 계면활성제가 표면 주위를 자유롭게 이동할 수 있기 때문에, 일단 가교결합이 이루어지면, 이러한 형광성 계면활성제는 제자리에 고정될 것이다. FRAP에서는 샘플의 한 지점을 광표백한 다음 염료가 광표백된 영역으로 다시 이동하는지 관찰한다. 역마이셀의 경우, 전체 액적이 표백될 수 있으며, 역마이셀이 발생하면, 표백된 계면활성제가 떠나고, 이어서 새로운 형광성 계면활성제가 유입될 것이다. 염료가 광표백된 반점으로 다시 이동하는 타이밍 및/또는 형광 분자가 전체 광표백된 액적으로 이동하는 타이밍이 사용될 수 있으며, 몇몇 경우에, 가교결합 없이 제조된 액체에 대한 (그러나 그렇지 않으면 동일한) 타이밍과 비교될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 네트워크는 1 내지 100, 10 내지 100, 20 내지 100, 30 내지 100, 40 내지 100, 50 내지 100, 60 내지 100, 70 내지 100, 80 내지 100, 90 내지 100, 95 내지 100 또는 99 내지 100% 가교결합된다.
- [0097] 별도의 실시형태에서, 부분 가교결합이 달성되었다. 이 실시형태의 예(도 6b)에서, 구획부[604]는 계면활성제 분자로 포화된 구획부 계면을 포함한다. 구획부 계면에서 계면활성제 사이의 연결 수는 0 연결(0% 완전)에서 계면활성제에 인접한 계면활성제 분자 수를 기준으로 한 최대 연결 수(100% 완전)의 범위이다. 계면활성제 분자는 인접 계면활성제[605]와 연결이 없을 수 있다. 계면활성제 네트워크는 이웃한 계면활성제의 가교결합을 통해 실현될 수 있다. 그러나, 몇몇 경우에 해당 네트워크의 정도는 구획부 계면의 전체를 포함하지 않을 수 있다. 이들은, 예컨대, 2개의 계면활성제[606]에서부터 2개 초과인 계면활성제[607]의 보다 큰 "래프트(raft)"까지의 크기의 계면활성제 '래프트'의 범위일 수 있다.
- [0098] 도 7은 구획부 계면에 매립된 계면활성제가 물리적 기하형태에서 다를 수 있음을 도시한다. 이것은 계면활성제 기하형태의 비제한적인 목록이다.
- [0099] 일례에서, 계면활성제는 연속상 또는 분산상 유체에 가용성인 계면활성제의 일부와 반대 유체에 가용성인 계면활성제의 다른 부분을 갖는 비교적 선형인 분자[702, 703 및 705]이다. 하나의 계면활성제 기하형태는 분산상에 가용성인 커다란 부분과 연속상에 가용성인 작은 부분을 갖는 계면활성제[702]를 포함할 수 있다. 제2 계면활성제 기하형태는 분산상에 가용성인 작은 부분과 연속상에 가용성인 커다란 부분을 갖는 계면활성제[703]를 포함할 수 있다. 제3 계면활성제 기하형태는 이들 각각의 상에 가용성인 균등한 크기의 부분[705]을 포함할 수 있다. 이들 부분은 크거나 작을 수 있다.
- [0100] 제2 예에서, 계면활성제는 연속상 또는 분산상 유체에 가용성인 둘 이상의 외부 영역과 반대 상에 가용성인 내부 영역이 있는 구부러진 분자[701 및 704]이다. 이들 계면활성제는 제미니 계면활성제라 지칭될 수 있다. 하나의 계면활성제 기하형태는 분산상에 가용성인 외부 부분과 연속상에 가용성인 내부 부분을 갖는 계면활성제[701]를 포함할 수 있다. 제2 계면활성제 기하형태는 분산상에 가용성인 내부 부분과 연속상에 가용성인 외부 부분을 갖는 계면활성제[705]를 포함할 수 있다.
- [0101] 임의의 계면활성제 기하형태는 계면활성제 가교결합을 위해 이용될 수 있다. 계면활성제 기하형태의 조합은 계면활성제 가교결합에 사용될 수 있다. 일반적으로 연결 모이어티는 가교결합 성분 또는 조건에 접근할 수 있는

계면활성제 분자의 일부에 부착되는 것이 바람직하고; 예를 들어, 연결 모이어티, 예컨대, 바이오틴은 계면활성제 분자의 친수성 헤드부에 부착될 수 있고, 연결 모이어티, 예컨대, 스트렙타비딘과 같은 중간 연결 모이어티의 가교결합을 개시하거나 촉진하는 하나 이상의 성분은 수성 분산상에 존재하고, 구획부가 형성될 때 친수성 헤드가 위치하는 것이 바람직하다. 다른 예에서, 연결 모이어티는, 예컨대, 소수성 연속상에서 가교결합 성분에 접근할 수 있는 계면활성제 분자의 소수성 테일에 부착되므로, 이러한 성분은 테일기가 노출될 연속상에 존재한다. 예컨대, 친수성 연속상과 소수성 분산상에 대한 다른 조합이 용이하게 알 수 있다.

[0102] 도 8은 구획부 계면의 화학적 성질의 개질을 통한 분자 이동의 제어의 실시형태를 나타낸다. 구획부 계면에서의 화학의 개질은 구획부 계면을 가로질러 비-상보적인 화학을 가진 분자의 이동을 선택적으로 저감시킬 것이다.

[0103] 일례(도 8a)에서, 구획부는 분산상 내부[801], 연속상 외부 및 고도로 하전된 가교결합된 구획부 계면[802]을 포함한다. 소수성[804] 및/또는 친수성[803] 속성의 분자는 구획부 계면을 가로지르는 차등 수송을 나타낼 수 있다. 특히, 소수성 분자는 하전된 가교결합된 구획부의 높은 친수성 특성으로 인해 구획부 계면을 통과할 가능성이 아주 없다. 친수성 분자는 전하에 따라서 (구성 원자의 전기 음성도가 다르기 때문에) 완전 전하(이온성) 또는 부분 전하로 교차할 가능성이 다소 높을 수 있고; 두 경우 모두, 분자의 전하가 가교결합된 구획부의 전하와 같으면, 정전기적 반발로 인해 가교결합할 가능성이 적을 것인 반면, 분자의 전하가 가교결합된 구획부의 전하와 반대이면, 정전기 인력으로 인해 가교결합할 가능성이 더 많을 것이다.

[0104] 제2 예(도 8b)에서, 구획부는 분산상 내부[805], 연속상 외부, 및 고도로 소수성 구획부 계면[806]을 포함한다. 소수성[804] 및/또는 친수성[803] 속성의 분자는 구획부 계면을 가로질러 차등 수송을 나타낼 수 있다. 특히, 소수성 분자는 친수성 분자에 비해서 계면을 우선적으로 통과할 것이다.

[0105] 도 9는 역마이셀 형성의 저해에 의한 분자 이동의 저감예를 나타낸다. 이 예에서, 분자 이동은 벌크 연속상에서 계면활성제 마이셀[906]의 형성에 의해 지배된다. 마이셀은 분산상 가용성 기가 마이셀 내부에서 상호 작용하는 계면활성제 분자의 응집체이다.

[0106] 도 9a는 가교결합되지 않은 계면활성제 계면의 예를 도시한다. 벌크 연속상 액체에서 구획부 계면[902]에 매립된 계면활성제와 마이셀[904]에 매립된 계면활성제는 동적 평형 상태에서 지속적으로 교환된다. 이 동적 평형 상태에서, 계면활성제 마이셀[904]은 구획부 계면과 융합되고, 마이셀 내 계면활성제는 그 자체가 구획부 계면[902]에 매립된다. 계면활성제 분자가 존재하는 고정된 표면적이 있기 때문에, 마이셀의 융합으로 인해 계면활성제 분자가 구획부 계면[902] 내 어딘가에서 변위를 초래한다. 이 변위는 동일한 또는 상이한 계면활성제 분자를 가진 새로운 계면활성제 마이셀[905]의 형성을 초래할 것이다. 이 과정은 역마이셀 형성이라 불린다.

[0107] 구획부 내부[901]에 용해된 분자[903]는 마이셀 형성 시 새롭게 형성된 마이셀[905]의 내부에 포획될 수 있다. 이들 마이셀-포획된 분자[903]는 이제 벌크 연속상에 효과적으로 용해된다. 이어서 분자로 채워진 마이셀[905]은 연속상에 영구적으로 남아 있을 수 있거나, 제1 구획부와 회합될 수 있거나, 또는 제2 구획부의 계면에서 그 자체가 매립되어, 제1 구획부로부터 제2 구획부의 분산상 내부로 분자[903]를 효과적으로 방출할 수 있다.

[0108] 장기간에 걸쳐 확산 또는 역마이셀 수단을 통해서 액적에서 액적으로의 분자 이동은 평형 상태에 도달하는 경향이 있을 것이다. 이러한 유형의 분자 수송은 단리된 반응 용기로서 구획부를 사용하는 능력에 부정적인 영향을 미칠 수 있는데 그 이유는 이러한 수단을 통해 이동할 수 있는 분자가 더 이상 원래 구획부로 제한되지 않고, 하나의 반응 용기 구획부에서 생성된 검출 가능한 마커가 반드시 생성된 구획부와 회합된 상태로 유지되지 않을 것이기 때문이다. 또한, 분자로서, 예컨대, 구획부 내 반응물은 화학 반응에 사용됨에 따라서, 외부 분자가 구획부로 확산되는 농도 구배가 더 커져, 분자가 구획부로 더 유입될 수 있게 한다.

[0109] 계면활성제 분자의 물리적 연결에 의한 역 마이셀 형성의 저해는 이 과정에 의한 분자 이동을 효과적으로 감소시키거나 제거할 수 있다(도 9b). 이 경우에, 구획부는 분산상 내부[907], 구획부 계면[909], 계면[908]의 계면활성제들 간의 가교결합부, 및 분산상 내부[907] 내에 용해된 분자[903]를 포함한다. 계면활성제는 구획부 계면에서 계면활성제 네트워크를 형성하기 때문에, 연속상-용해된 계면활성제 마이셀[904]은 공간 제약으로 인해 구획부 계면 내에 그 자체로 매립되지 않을 수 있고, 구획부 계면으로부터의 마이셀은 이들의 이웃한 연결된 계면활성제에 의해 구획부 계면에 물리적으로 제약됨에 따라서 새로운 마이셀을 형성하지 않고 연속상으로 빠져나갈 수 있다.

[0110] 도 10은 계면활성제 네트워크 다공성의 크기-기반 제한을 통해서 제어된 분자 이동의 예를 도시한다. 이 예에서, 가교결합된 계면활성제 네트워크의 특정 기하학적 형성은 제어된 분자 이동을 위한 분자체로서 작용하는 정의된 다공성의 네트워크를 생성한다.

- [0111] 구획부[1001]는 분산상 내부, 연속상 외부, 구획부 계면, 계면 [1002]에 매립된 계면활성제, 인접 계면활성제 [1003] 사이의 가교결합부 및 계면활성제 가교결합부의 화학적 및 물리적 특성에 기초한 정의된 크기의 기공 [1004]을 포함한다. 이 예에서, 이러한 기공[1004]을 통과하기에 적합한 부피의 분자[1005]는 확산 원리에 기초하여 구획부에 유입되고 나갈 수 있다. 기공[1004]을 통과하기에 적합하지 않은 부피의 분자[1006]는 구획부에 유입되지도 나갈 수도 없다.
- [0112] 도 11은 다양한 링커 크기, 즉, 가교결합제 길이의 효과를 도시한다.
- [0113] 가교결합제 크기, 즉, 길이는 작은 것에서 큰 것, 즉, 짧은 것에서 긴 것까지의 범위일 수 있다. 그 결과, 가교결합제 길이는 구획부 계면에서 가교결합의 특성을 변경할 수 있다. 너무 짧은 길이의 가교결합제[1101]는 인접한 가교결합 형성을 저해할 수 있다. 너무 긴 길이의 가교결합제[1103]는 더 많은 계면활성제 분자와 가교결합하여 느슨한 계면활성제 네트워크를 생성할 수 있다.
- [0114] 따라서, 가교결합제 길이는 특정 가교결합 응용 분야에 적합한 크기[1102]에 맞춰질 수 있다. 소정의 실시형태에서, 가교결합제 길이, 예컨대, 각 분자 상의 연결 부분을, 몇몇 경우에는 직접적으로, 어떤 경우에는 중간 연결 부분을 통해 간접적으로 연결함으로써 형성된 2개의 계면활성제 분자 사이의 최종 연결부의 길이는, 계면활성제의 헤드기의 최장 치수 또는 계면활성제의 테일기의 최장 치수의 0.1 내지 100X, 0.1 내지 50X, 0.1 내지 30X, 0.1 내지 20X, 0.1 내지 10X, 0.1 내지 5X, 0.1 내지 3X, 1 내지 100X, 1 내지 50X, 1 내지 30X, 1 내지 20X, 1 내지 10X, 1 내지 5X, 또는 1 내지 3X가 되도록 선택된다. 본 명세서에서 일반적으로, "헤드기"는 계면활성제의 친수성 부분을 나타내고 "테일기"는 소수성 부분을 나타낸다. 용어를 단순화하기 위하여, 이 명명법은 친수성 연속상에서 소수성 분산상 구획부(친수성 헤드기는 구획부에서부터 연속상으로 향하고, 소수성 테일기는 소수성 분산상으로 향함)와 소수성 연속상에서 친수성 분산상 구획부(친수성 헤드기는 구획부 내부에서 구획부로부터 친수성 분산상으로 안쪽을 향하고, 소수성 테일기는 소수성 연속상으로 바깥쪽을 향함) 둘 다에 대해서 사용된다. 소정의 실시형태에서, 가교결합제는 길이가 0.1 내지 100nm, 0.1 내지 50nm, 0.1 내지 30nm, 0.1 내지 20nm, 0.1 내지 10nm, 0.1 내지 5nm, 0.1 내지 3nm, 1 내지 100nm, 1 내지 50nm, 1 내지 30nm, 1 내지 20nm, 1 내지 10nm, 1 내지 5nm 또는 1 내지 3nm이다.
- [0115] 도 12는 가교결합의 정도에 대한 가교결합제의 수, 즉, 계면활성제 분자당 연결 모이어티의 수의 영향을 나타낸다. 가교결합제를 함유하지 않는, 즉, 연결 모이어티가 없는 계면활성제의 경우에, 계면활성제 연결이 형성되지 않을 수 있다. 도 12a 참조. 단일 가교결합제, 즉, 단일 연결 모이어티를 보유하는 계면활성제[1201]의 경우에, 최대 2개의 인접 계면활성제가 연결될 수 있다. 도 12b 참조. 하나 초과와 가교결합제를 보유하는 계면활성제[1202]의 경우에, 다수의 인접 계면활성제가 구획부 계면 전체를 통해 가교결합될 수 있다. 도 12c 참조.
- [0116] 도 13은 계면활성제 모이어티의 헤드-투-헤드 가교결합 및 테일-투-테일 가교결합을 나타내고; 모이어티 A는 계면활성제의 헤드기이고 모이어티 B는 테일기이다. 도 13a는 가교결합제 (1301)에 의한 헤드-투-헤드 가교결합을 예시하고; 도 13b는 가교결합제 (1302)에 의한 테일-투-테일 가교결합을 예시한다.
- [0117] 도 14는 두 상이한 계면활성제 분자에 대한 연결 모이어티 간의 직접 가교결합을 나타낸다. 도 14a는 각 계면활성제 모이어티(1402 및 1403) 상의 동일한 연결 모이어티(1401)를 나타내고, 여기서 계면활성제 모이어티(1402 및 1403)는 동일하거나 상이할 수 있다. 도 14b는 제1 계면활성제 모이어티(1405) 상의 제1 연결 모이어티(1404) 및 제2 계면활성제 모이어티(1407) 상의 제2 연결 모이어티(1406)를 나타내며, 여기서 제1 및 제2 연결 모이어티는 상이하고 제1 및 제2 계면활성제 모이어티는 동일하거나 상이할 수 있다. 2개의 연결 모이어티 사이의 부착은 공유 또는 비공유일 수 있다.
- [0118] 도 15는 이온 결합에 의한 두 계면활성제 모이어티의 가교결합을 나타낸다. 몇몇 경우에, 계면활성제 모이어티(1501 및 1502)의 헤드기(모이어티 A)는 반대 전하를 갖는다. 몇몇 경우에 계면활성제 모이어티(1503 및 1504)의 테일기(모이어티 B)는 반대 전하를 갖는다. 전하는 계면활성제 모이어티에 그대로 존재할 수 있거나, 또는 하나 이상의 하전된기를 계면활성제에 부착함으로써 생성 및/또는 향상될 수 있다.
- [0119] 도 16은 하나 이상의 중간 연결 모이어티를 통한 두 계면활성제 모이어티 간의 간접 가교결합을 나타낸다. 도 16a는 중간 연결 모이어티(1602)를 통해 간접적으로 가교결합된 연결 모이어티(1601)와 동일하거나 상이할 수 있는 제1 및 제2 계면활성제 모이어티(1603 및 1604)를 도시한다. 도 16b는 중간 연결 모이어티(1607)를 통해서 제2 계면활성제 모이어티(1609)의 제2 연결 모이어티(1606)에 부착된 제1 연결 모이어티(1605)를 갖는 제1 계면활성제 모이어티(1608)를 도시한다. 도 16c는 각각 연결 모이어티(1610)를 갖는 제1 및 제2 계면활성제 모이어티(1612 및 1613)를 도시하고, 여기서 다수의 중간 모이어티(1611)는 연결 모이어티(1610)에 부착된다. 도 16d

는 다수의 계면활성제 연결 모이어티에 부착되도록 구성된 중간 연결 모이어티(1616)를 도시하고; 이 예에서, 제1 연결 모이어티를 갖는 제1 계면활성제 모이어티(1614), 제2 연결 모이어티를 갖는 제2 계면활성제 모이어티(1615), 제3 연결 모이어티를 갖는 제3 계면활성제 모이어티(1616), 제4 연결 모이어티를 갖는 제4 계면활성제 모이어티(1617)가 있으며, 여기서 제1, 제2, 제3 및 제4 계면활성제 모이어티는 중간 연결 모이어티(1616)에 이들 각각의 연결 모이어티의 부착을 통해서 가교결합된다. 제1, 제2, 제3 및 제4 계면활성제 모이어티는 동일할 수 있거나, 또는 이들 중 하나 이상은 다른 것과는 상이할 수 있거나, 또는 이들의 임의의 조합일 수 있다. 제1, 제2, 제3 및 제4 연결 모이어티는 동일할 수 있거나, 또는 이들 중 하나 이상은 다른 것과는 상이할 수 있거나, 또는 이들의 임의의 조합일 수 있다.

[0120] 구획부가 일부 유형의 용기에 모이든지, 또는 유체 경로 내부에서 움직이도록 유지되든 간에, 일반적으로, 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법의 목표는 구획부 계면을 강화시킴으로써 에멀션에서 구획부의 안정성을 개선하는 것이다. 이러한 안정성 증가로 인해 구획부 유착이 감소할 수 있다. 대안적으로 또는 부가적으로, 증가된 안정성은 분자가 분산상으로부터 연속상으로, 연속상에서 분산상으로, 또는 하나의 구획부에서 또 다른 구획부로 이동하는 것을 저해한다. 구획부에서 구획부로 연속상에서 또는 연속상으로 분산된 구성요소의 교환은 각 구획부에서 특정 분석물의 측정에 영향을 미치거나 불명확할 수 있으므로 바람직하지 않을 수 있다. 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법은 몇몇 경우에 구획부 사이, 연속상에서 분산상으로, 그리고/또는 분산상에서 연속상으로 특정 유형의 분자의 선택적 수송을 가능하게 하는 데 도움이 될 수 있다. 몇몇 상황에서, 연속상에서 또는 연속상으로 또는 구획부에서 구획부로 분산된 구성요소의 교환이 필요하며, 예컨대, 이는 각 액적에서 특정 분석물의 측정을 향상시킬 수 있다.

[0121] 본 명세서에는 계면활성제 분자가 구획부의 계면에서 형성된 후 그리고/또는 계면의 형성 동안 가교결합함으로써 구획부 안정성을 개선하기 위한 조성물 및 방법이 개시되어 있다. 계면활성제의 가교결합은 각 구획부 주위에 계면활성제 네트워크를 형성하여 표면에서 계면활성제 분자의 보유를 촉진하여 계면활성제 입자가 가교결합되지 않은 것보다 구획부 안정성을 증가시킨다. 이것은 접촉 시간이 길고, 온도가 상승하고, pH가 변하는 응용 분야에서 또는 계면활성제 입자가 가교결합되지 않은 구획부를 불안정하게 만드는 화학 물질의 존재에서도 각 구획부를 둘러싸는 연속상 필름을 유지하는 데 도움이 된다. 가교결합은 자발적이거나 유도될 수 있고, 일성분 시스템 또는 다성분 시스템을 사용하여 형성될 수 있으며, 가교결합의 정도는 부분에서 완전까지 다양할 수 있다.

[0122] 일반적으로, 계면활성제 분자 사이의 가교결합은, 예컨대, 액적 생성기에서 구획부 형성 동안 그리고/또는 후에 형성된다. 연결 모이어티가 부착되고/되거나 가교결합될 수 있는 부분 또는 부분들이 있는 계면활성제는 구획부 형성 전에 분산상, 연속상 또는 둘 다에 존재할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어티가 부착된 계면활성제는 구획부 형성 전에 실질적으로 모두 연속상에 있고, 편의상 이 실시형태에 대해서 공정이 기재될 것이지만, 모든 조합이 본 명세서에 제공된 방법 및 조성물에 포함된다는 것을 이해할 것이다. 분산상 구획부를 안정화시키기 위한 계면활성제, 예컨대, 연결 모이어티가 부착된 계면활성제 분자는 구획부 형성 전에 연속상에 존재할 수 있다. 구획부의 형성 전에, 분산상은 프로그래밍된 에멀션, 즉, 계면에 계면활성제 분자층이 있는 연속상의 층으로 둘러싸인 비교적 큰 분산상의 덩어리로서 존재할 수 있다. 예컨대, 미국 특허 출원 공개 제 2020030794호 참조. 소정의 실시형태에서, 프로그래밍된 에멀션의 계면활성제는 가교결합되지 않는다. 따라서, 연속상에서 분산상 구획부를 안정화시키기 위한 계면활성제는 연속상에 형성된 구획부에서 계면활성제 사이에 가교결합을 형성하는 기초를 형성할 수 있다. 가교결합 계면활성제가 있는 연속상과 분산상은 초기에 분리된다. 분산상의 구획부가 연속상에서 형성되어 에멀션을 생성할 때, 연속상으로부터의 계면활성제 분자의 전체 또는 실질적으로 전체로 구성된 구획부 상에 계면활성제 계면이 형성된다. 구획부 형성 동안 그리고/또는 형성 후의 조건은 연속상에 의해 공급된 계면활성제 분자 상의 연결 모이어티가 계면활성제 분자 사이에 가교결합을 형성하도록 하는 것이다. 가교결합의 형성은 본 명세서에 기재된 바와 같이 다양한 방식으로 개시 및/또는 촉진될 수 있다.

[0123] 소정의 실시형태에서, 가교결합된 계면활성제 네트워크의 형성을 위한 연결 모이어티를 갖는 계면활성제 분자를 함유하는 연속상의 조건은 가교결합이 형성되지 않거나 실질적으로 형성되지 않는 반면, 계면활성제는 분산상과는 별개의 연속 상에 존재하는 조건이다. 대안적으로, 조건은 가교결합이 형성되도록 하는 것일 수 있지만, 계면활성제가 분산상과 접촉할 때 가교결합이 파손되고 재형성될 수 있는 구조를 갖는 것이다. 소정의 실시형태에서, 예컨대, 팽 가교결합 시, 조건은 가교결합부의 형성을 촉진시키기 위하여 에멀션이 형성될 때 변경된다. 몇몇 경우에, 상이한 연결 모이어티를 갖는 상이한 계면활성제가 연속상에서 분리될 수 있고, 예컨대, 연속상에 별도로 첨가될 수 있다. 연속상에서 계면활성제의 마이셀 사이에 약간의 이동이 있을 것이지만, 구획부 형성 전

연속상의 첨가 시기 및/또는 조건은 그러한 이동이 최소화되도록 할 수 있다.

[0124] 구획부 형성 동안 및/또는 이후에 가교결합 형성은 임의의 적절한 방식으로 유도 및/또는 촉진될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 분산상은 하나 이상의 성분을 함유하고/하거나, 직접적으로 또는 간접적으로 가교결합 형성을 유도 및/또는 촉진시키는 하나 이상의 조건을 확립시키고; 성분 및/또는 조건은, 소정의 실시형태에서, 연속 상에 존재하지 않을 수 있고, 실질적으로 존재하지 않을 수 있고, 그리고/또는 구획부 형성 전에 존재하지 않을 수 있다. 예를 들어, 소정의 실시형태에서, 분산상은 개별 계면활성제의 연결 모이어티 사이의 반응을 개시하여 직접적인 가교결합을 형성하는 하나 이상의 성분을 함유한다. 예를 들어, 아래에 기재된 바와 같이, 몇몇 계면활성제 분자는 아자이드인 제1 연결 모이어티를 가질 수 있고, 다른 계면활성제 분자는 알킨인 제2 연결 모이어티를 가질 수 있다. 계면활성제 분자는 연속상에 존재하지만, 가교결합부는, 계면활성제 분자가 구리 또는 구리가 없는 알킨-아자이드 부가고리화를 유도 및/또는 촉진시키는 데 필요한 성분을 함유하는 분산상을 만날 때까지 형성되지 않는다. 소정의 실시형태에서, 분산상은 계면활성제 사이에 간접 가교결합을 형성하기 위해 계면활성제 분자의 연결 모이어티와 결합을 형성할 수 있는 하나 이상의 중간 연결 모이어티를 함유한다. 몇몇 경우에, 하나 이상의 성분은 중간 연결 모이어티 또는 모이어티들과 계면활성제 연결 모이어티 사이의 결합 형성을 촉진시키는 분산상 및/또는 연속상에 존재한다. 중간 연결 모이어티의 예는 바이오틴-결합 모이어티, 예컨대, 스트렙타비딘이다. 이러한 모이어티는 분산상에 존재할 수 있는 반면, 연속상은 연결 모이어티로서 부착된 바이오틴과 함께 계면활성제 분자를 포함한다. 구획부의 형성 시, 바이오틴-결합 중간 연결 모이어티는 계면활성제 분자에 부착된 바이오틴과 상호작용하여 계면활성제 연결 모이어티와 중간 연결 모이어티 사이에 가교결합을 생성하여, 계면활성제 가교결합 네트워크를 생성한다. 몇몇 경우에, 연결 모이어티 사이 그리고/또는 연결 모이어티와 중간 모이어티 사이의 결합 형성을 유도 및/또는 촉진시키기 위해 외부 방법을 통해 조건이 변경된다. 일례는 연결 모이어티가 적절한 광에 노출될 때까지 가교결합이 발생하지 않거나 실질적으로 발생하지 않는 광 활성화 가교결합의 사용이다. 몇몇 경우에, 분산 상에 존재하는 조건은 연결 모이어티 사이의 결합 형성을 개시 및/또는 촉진시킬 수 있다. 예를 들어, 분산상의 pH는 연결 모이어티에서 이온 형성이 선호되고 연결 모이어티 사이의 이온 상호작용이 모이어티를 결합하도록 할 수 있다.

[0125] 소정의 실시형태에서, 상이한 계면활성제 분자는 부착된 동일한 연결 모이어티를 갖는다. 소정의 실시형태에서, 제1 계면활성제 분자는 부착된 제1 연결 모이어티를 갖고, 제2 계면활성제 분자는 부착된 제2 연결 모이어티를 갖되, 여기서 제1 및 제2 연결 모이어티는 상이하다. 소정의 실시형태에서, 가교결합은 직접적이고, 즉, 계면활성제 연결 모이어티는 서로 사이에 결합을 형성하고; 소정의 실시형태에서, 가교결합은 간접적이고, 즉, 계면활성제 연결 모이어티는 하나 이상의 중간 모이어티와 결합을 형성한다. 후자의 경우에, 소정의 실시형태에서 단일 중간 모이어티가 사용될 수 있고, 다른 실시형태에서, 복수의 중간 모이어티가 용될 수 있다. 연결 결합은 공유 또는 비공유일 수 있다.

[0126] 연결 모이어티는, 본 명세서에서 헤드 또는 헤드기로도 지칭되는, 계면활성제 분자의 친수성 또는 극성 부분에, 또는 본 명세서에서 테일 또는 테일기로도 지칭되는, 계면활성제 분자의 소수성 또는 비극성 부분에 부착될 수 있거나, 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0127] 기계적 메싱(mechanical meshing), 이온 상호작용, 화학적 가교결합, 광 가교결합 및 리간드 결합 상호작용을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 계면활성제 분자를 가교결합하기 위한 많은 방법이 있다.

[0128] **이온 상호작용**

[0129] 소정의 실시형태에서, 2개 이상의 상이한 이온 성질을 갖는 계면활성제 분자를 포함하는 혼합물이 사용된다. 제1 계면활성제는 양전하 영역을 포함하는 반면 제2 계면활성제는 음전하 영역을 포함한다. 일반적으로, 하전된 영역은 헤드기 상에 있을 것이다. 계면활성제 분자가 액적 계면에서 결합할 때, 반대로 하전된 영역은 액적 계면에서 고분자 전해질 네트워크를 형성한다. 액적 계면에서 고분자 전해질 네트워크에 포함된 계면활성제 분자의 수는 하전된 영역의 길이와 이러한 영역이 상호작용할 수 있는 상이한 계면활성제 분자의 수에 따라 부분적으로 달라진다. 헤드기에 기를 추가하거나 개질 없이 헤드기의 속성으로부터 전하가 부여될 수 있고; 어느 경우에도, 연결 모이어티는 전하 및/또는 전하기 자체로 간주될 수 있다.

[0130] 소정의 실시형태에서, 고도로 양전하 또는 음전하를 보유하는 수성 모이어티를 갖는 단일 계면활성제가 사용된다. 가교결합은 구획부 계면에서 계면활성제 분자 사이에 염 다리 네트워크를 형성하는 반대 이온을 통해 수성 상에서 발생한다.

[0131] **화학적/광 가교결합**

- [0132] 소정의 실시형태에서, 다수의 계면활성제, 예컨대, 플루오로계면활성제 간의 가교결합은, 계면활성제, 예컨대, 플루오로계면활성제에 연결될 수 있거나, 또는 계면활성제 분자에 연결된 모이어티와 주로 반응성인 용액에 존재하지 않을 수 있는 화학적 또는 광활성화된 가교결합제를 사용하여 화학적으로 달성될 수 있다.
- [0133] 2가지 이상의 계면활성제 사이, 예컨대, 계면활성제 연결 모이어티 사이, 또는 가교결합제와 계면활성제 사이, 예컨대, 중간 연결 모이어티와 계면활성제 연결 모이어티 사이의 공유 상호작용은 임의의 적합한 화학에 의해 생성될 수 있다. 본 명세서에 개시된 조성물 및 방법은 하나 이상의 이용 가능한 화학적 전략을 사용하여 개선된 구획부 안정성을 초래하는 계면활성제 네트워크의 형성을 초래할 수 있다. 화학적 전략은 이하의 작용기를 포함하는 반응: NHS 에스터, 말레이미드, 스쿠아란, 알킨-아자이드 클릭 화학 또는 유사한 방법, 및 바이오접합 반응(예컨대, 문헌[Koniev, O., Wagner, A, Chem. Soc. Rev., 44, 5495 (2015)]에 상세히 기재된 바와 같은 반응기와 라이신, 시스테인, 티로신과 같은 아미노산 간의 반응을 포함)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 몇몇 실시형태에서, 이들 화학은 생물학적으로 양립 가능하다.
- [0134] 소정의 실시형태에서, 가교결합은 아민 반응성 화학의 사용을 통해 2개 이상의 상이한 계면활성제 분자 사이에서 수행된다. 일례는 물에 접근 가능한 아민 작용기를 보유하는 플루로닉-(폴리옥시-탄화수소 블록 공중합체) 또는 제파민-페밀리(아미노 폴리에틸렌 글리콜 블록 공중합체) 중합체로 구성된 수성 모이어티를 갖는 제1 계면활성제 및 PEG-페밀리 중합체로 구성된 수성 모이어티를 갖는 제2 계면활성제를 생성하는 것에 의한다. 예컨대, 미국 특허 출원 공개 제20180112036호 참조. 제2 계면활성제를 NHS 에스터 작용기로 개질시키고, 제2 계면활성제를 수성 환경에서 제1 계면활성제와 조합함으로써, NHS 에스터 작용성 모이어티는 제1 계면활성제에 존재하는 아민기에 공유 결합을 형성한다.
- [0135] 소정의 실시형태에서, 계면활성제들 간의 가교결합은 DNA-가교결합 기전을 통해서 수행될 수 있다. 짧은 상보성 올리고뉴클레오타이드를 계면활성제 분자에 연결함으로써, 가닥간 가교결합제를 사용해서 이들에 부착된 계면활성제들을 효랫거으로 가교결합시키는 올리고뉴클레오타이드의 2개 이상의 조각을 가교결합할 수 있다. 가교결합제는 액적 형성 전에 올리고뉴클레오타이드에 부착될 수 있거나, 또는 수성 상에서 유리될 수 있고, 구획부 형성 후에 계면활성제와 반응할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 단일 가닥 올리고뉴클레오타이드 인터칼레이터는 제1 계면활성제에 연결된다. 짧은 올리고뉴클레오타이드를 제2 계면활성제에 연결하고 두 계면활성제를 구획부 계면에서 함께 조합함으로써, 2개의 계면활성제 분자는 연결되어 구획부 계면에서 분자 네트워크를 형성한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제는 이에 연결된 단일 가닥 또는 이중 가닥 올리고뉴클레오타이드로 생성된다. 이작용성 또는 삼작용성 가교결합제와 같은 다작용성 가교결합제를 포함함으로써, 계면활성제는 구획부 형성 시 가교결합된다. 임의의 적합한 올리고뉴클레오타이드 가교결합제는 이들 및 다른 실시형태에서 사용될 수 있다. 올리고뉴클레오타이드 가교결합제의 예는 5F-203, 4'-아미노메틸트라이옥살렌, 8-메톡시소랄렌, 안젤리신(Angelicin), 이작용성 알데하이드, 카보플라틴, 카무스틴, 클로람부실, 크립토폴레핀(Cryptolepine), 사이클로포스파마이드, 포테무스틴(Fotemustine), 펠팔란, 미토신 C, 미톡산트론, 아질산, 프로카바진, 소랄렌, S)-tert-부틸 1-(클로로메틸)-5-하이드록시-1H-벤조[e]인돌-3(2H)-카복실레이트, 트레오실판, 트라이옥살렌을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0136] 소정의 실시형태에서, 계면활성제들 간의 가교결합은 펩타이드-계면활성제 가교결합 기전을 통해서 수행될 수 있다. 펩타이드를 제1 계면활성제에 그리고 펩타이드 반응기를 제2 계면활성제에 연결함으로써, 반응 시, 계면활성제 분자는 공유 가교결합될 것이다. 소정의 실시형태에서, 펩타이드는 계면활성제에 연결되고, 다작용성 펩타이드간 가교결합제는 하나 이상의 펩타이드를 가교결합하는데 사용될 수 있다. 가교결합제는 구획부 형성 전에 펩타이드에 부착될 수 있거나, 또는 분산상, 예컨대, 수성 상이 없을 수 있고, 구획부 형성 후에 계면활성제-연결된 펩타이드와 반응할 수 있다.
- [0137] 소정의 실시형태에서, 계면활성제의 수성 모이어티는 산화 환경에 들어갈 때 다이설파이드 결합을 통해서 계면활성제간 가교결합부를 형성하는 설포하이드릴기로 개질될 수 있다.
- [0138] 소정의 실시형태에서, 제1 계면활성제는 1개 이상의 알킨 작용기를 갖도록 개질될 수 있고, 제2 계면활성제는 1개 이상의 아자이드 작용기를 갖도록 개질될 수 있다. 액적 구획 후에 수성 환경에 들어갈 때, 계면활성제는 구리 또는 구리-무함유 알킨-아자이드 부가교리화('클릭') 화학을 이용해서 가교결합될 수 있다.
- [0139] 소정의 실시형태에서, 다작용성 알킨 또는 아자이드 가교결합제는 구획부 형성 시 상보적 화학을 보유하는 계면활성제 분자와 반응하는 수성 상에 위치될 수 있다.
- [0140] 광 가교결합에 있어서, 당업계에 공지된 바와 같이, 계면활성제 분자 상의 연결 모이어티는 광반응성 요소를 함

유하고, 이는 적절한 광에 노출될 때 또 다른 요소, 예를 들어, 또 다른 광반응성 요소와 결합을 형성하는데, 이는 다른 계면활성제 연결 모이어티 상에 또는 중간 연결 모이어티 상에 있을 수 있다. 소정의 실시형태에서, 광반응성 요소는 계면활성제 분자에 부착되는 펩타이드 링커에 부착되고; 이러한 링커의 사용은, 예컨대, 펩타이드 내의 아미노산 잔기의 수를 제어함으로써 가고 길이의 제어를 허용하고, 그리고/또는 원하는 효과를 위한 적절한 아미노산 잔기를 선택함으로써 전하를 비롯하여 가고 소수성 또는 친수성을 허용한다. 이것은 펩타이드 링커가 사용되는 임의의 실시형태에서 일반적으로 사실이다. 적합한 광반응성 요소는 당업계에 공지되어 있고, 제한 없이, 아릴 아자이드, 아지도-메틸-쿠마린, 벤조페논, 안트라퀴논, 소정의 다이아조 화합물, 다이아지린, 및 소랄렌 유도체를 포함한다. 가고결합을 활성화시키는 광은 임의의 적합한 광, 예컨대, 가시광 또는 UV광일 수 있다.

[0141] **리간드 결합**

[0142] 몇몇 실시형태에서, 가고결합은 하나 이상의 리간드-수용체 상호작용을 통해서 달성된다. 리간드 또는 수용체는 계면활성제에 연결될 수 있거나, 또는 다작용성 수용체 또는 리간드는 분산상에 존재할 수 있거나, 또는 둘 다 일 수 있다.

[0143] 리간드와 수용체의 임의의 적합한 조합이 사용될 수 있다. 리간드 결합에는 펩타이드-펩타이드, 펩타이드-단백질, 펩타이드-소분자, 펩타이드, 올리고뉴클레오타이드, 단백질-소분자, 단백질-핵산, 핵산-소분자, 핵산-핵산 상호작용을 포함할 수 있지만 이들로 제한되지 않는다.

[0144] 이들의 예는 스플릿 인테인(split intein), 스파이 캐처-스파이 태그(spy catcher-spy tag), 스트랩타비딘-스트랩 태그, 항체-에피토프(예컨대, myc 및 항-myc, FLAG 및 항-플래그(anti-flag) 등) 핵산 헤어핀 및 결합, his 태그-니켈 또는 코발트, 헤파린-헤파린 결합 단백질, 폴리 N-아세틸 글루코사민-밀베아 응집소, MBP-말토스 또는 아밀로스를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0145] 몇몇 실시형태에서, 가고결합은 계면활성제에 대한 하나 이상의 바이오틴 모이어티의 접합 및 수성 상에서 바이오틴-결합 모이어티, 예컨대, 스트랩타비딘, -바이오틴 상호작용을 통한 하나 이상의 계면활성제의 후속의 가고결합을 통해서 달성된다. 스트랩타비딘이 사용될 경우, 이의 다가 속성은 최대 4개의 계면활성제 분자를 연결하는 능력을 부여한다.

[0146] 임의의 적합한 바이오틴-결합 모이어티가 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 스트랩타비딘 또는 스트랩타비딘 유도체가 사용된다. 스트랩타비딘은 잘 알려져 있는 연구된 바이오틴-결합 모이어티이다. 스트랩타비딘은 다수의 원핵 및 진핵 생물학적 과정에서 역할을 하는 244 달톤 보조인자인 바이오틴에 대해 상당한 친화성을 나타내는 단백질이다. 스트랩타비딘, 및 아비딘 및 이의 유도체를 포함하는 바이오틴-결합 단백질은 최대 4개의 바이오틴 분자에 결합하는 능력을 갖는다. 스트랩타비딘 유도체는 0, 1, 2, 3 또는 4개의 바이오틴 결합 부위를 갖도록 조작될 수 있다. 10배 더 느린 해리, 2배 더 느린 회합 속도, 그리고 더 높은 열 및 기계적 안정성을 나타내는 조작된 형태의 스트랩타비딘이 생성되었다[Chivers, 2010, Nature Methods].

[0147] 스트랩타비딘과 바이오틴의 고도로 특이적인 상호작용( $K_a = 10^{15} M^{-1}$ )은 생물학적 검정에서 유용한 틀이다. 단백질-리간드 복합체는 유기 용매, 변성제, 세제(detergent), 단백질 분해 효소에 대한 내성뿐만 아니라, 극한 온도(예컨대, 100°C 초과) 및 pH(예컨대, 4 내지 11)에 대한 내성을 비롯하여 매우 높은 안정성을 보여준다.

[0148] 159개 잔기 전장 단백질의 N 및 C 말단은, 통상 잔기 13 내지 139로 구성된 보다 짧은 '코어' 스트랩타비딘을 갖도록 처리되고; 높은 바이오틴-결합 친화도를 위하여 N 및 C 말단의 제거가 필요하다. 스트랩타비딘 단량체의 2차 구조는 8개의 역평행  $\beta$ -가닥으로 구성되는데, 이들은 접혀서 역평행 베타 배럴 3차 구조를 제공한다. 바이오틴 결합-부위는 각  $\beta$ -배럴의 일단부에 위치된다. 4개의 동일한 스트랩타비딘 단량체(즉, 4개의 동일한  $\beta$ -배럴)는 회합되어 스트랩타비딘의 사량체 4차 구조를 제공한다. 각 배럴 내 바이오틴 결합-부위는 인접한 서브유닛으로부터 보존된 Trp120과 함께 배럴의 내부로부터의 잔기로 이루어진다. 이와 같이 해서, 각 서브유닛은 인접한 서브유닛 상의 결합 부위에 기여하므로, 사량체가 또한 기능적 이량체의 이량체로 간주될 수 있다.

[0149] 스트랩타비딘-바이오틴 복합체의 수 많은 결정 구조는 현저한 친화도의 기원을 밝혀내었다. 첫 번째로, 결합 포켓과 바이오틴 간에 높은 형상 상보성이 있다. 두 번째로, 결합 부위에 있을 때 바이오틴에 형성된 수소 결합의 광범위한 네트워크가 있다. 잔기 Asn23, Tyr43, Ser27, Ser45, Asn49, Ser88, Thr90 및 Asp128을 포함하는 결합 부위(소위 수소 결합의 '제1 셀')의 잔기로 직접 이루어진 8개의 수소 결합이 있다. 또한 제1 셀 잔기와 상호작용하는 잔기를 포함하는 수소 결합의 '제2 셀'이 있다. 그러나, 스트랩타비딘-바이오틴 친화도는 수소 결합

상호작용만으로 예측할 수 있는 수준을 초과하여, 높은 친화력에 기여하는 또 다른 기전을 시사한다. 바이오틴-결합 포켓은 소수성이고, 포켓에 있을 때 바이오틴에 대해 이루어진 많은 반데르발스힘-매개 접촉 및 소수성 상호작용이 있으며, 이는 또한 높은 친화도를 설명하는 것으로 여겨진다. 특히, 포켓은 보존된 트립토판 잔기로 라이닝된다. 마지막으로, 바이오틴 결합은 B 가닥 3과 4를 연결하는 가요성 루프(L3/4)의 안정화를 수반하는데, 이 루프는 결합된 바이오틴을 폐쇄시켜, 결합 포켓 위의 '뚜껑'처럼 작용하여 매우 느린 바이오틴 해리 속도에 기여한다.

[0150] 스트렙타비딘과 대조적으로 아비딘은 스트렙타비딘과 대략 30% 서열 동일성을 공유하지만 거의 동일한 2차, 3차 및 4차 구조를 공유한다. 이것은, 스트렙타비딘과 대조적으로, 글리코실화되고, 양전하를 띠며, 유사 촉매 활성을 갖고(바이오틴과 나이트로페닐기 간의 에스터 결합의 알칼리 가수분해를 향상시킬 수 있고), 더 높은 응집 경향을 갖는다. 또한, 스트렙타비딘은 더 양호한 바이오틴-접합 결합체이고; 아비딘은 유리 비접합 바이오틴에 대한 친화도가 더 높지만, 바이오틴이 또 다른 분자에 접합될 때 스트렙타비딘보다 더 낮은 결합 친화도를 갖는다. 스트렙타비딘은 임의의 탄수화물 개질을 결여하고 거의 중성 pI를 갖기 때문에, 아비딘보다 비특이적 결합이 훨씬 낮은 이점을 갖는다.

[0151] 소정의 실시형태에서, 의도된 리간드에 결합 시 재형성되는 분할 수용체가 사용될 수 있다. 일례는 분지 상에 금속 킬레이터의 절반을 포함하므로 두개의 분지가 함께 금속 이온을 킬레이트화하도록 한다. 이것은 혼성화를 위해 구리와 같은 금속 이온을 필요로 하는 변형된 염기쌍을 보유하는 핵산을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 많은 방법에 의해 달성될 수 있다.

[0152] **두 부분 가교결합**

[0153] 또 다른 실시형태에서, 분할 계면활성제가 사용되어 구획부 계면에서 완전 계면활성제로 형성될 때 구획부를 안정화시킨다. 이 실시형태에서, 분할 계면활성제의 한 부분은 연속상에서 가용성인 반면 분할 계면활성제의 제2 부분은 분산상, 예컨대, 수성 상에서 가용성이다. 계면활성제 부분 중 첫 번째는 반응성 모이어티를 함유하고, 계면활성제 부분 중 두 번째는 상보적인 반응성 모이어티를 함유한다. 구획부 형성 시, 연속상 및 분산상 계면활성제 부분은 상호작용하여 화학적으로 반응하여 전체 계면활성제를 형성한다. 분할 계면활성제는 3개 이상의 부분을 가질 수 있으며, 각각의 1개 이상은 연속 상에 가용성인 반면, 1개 이상은 또한 분산상, 예를 들어 수성 상에 가용성이다. 분할 계면활성제의 각 부분은 반응성 모이어티를 함유하므로 부분이 매우 근접하면 전체 계면활성제가 형성된다. 소정의 실시형태에서, 전체 계면활성제의 형성은 또한 임의의 상기 가교결합 방법을 사용한 가교결합을 위한 작용성 모이어티, 즉, 연결 모이어티를 함유한다. 완전 계면활성제의 형성은 가교결합을 활성화하거나 또는 활성화를 허용하여, 구획부 계면에서 서로 연결된 완전 형성된 계면활성제의 네트워크를 생성한다.

[0154] **가교결합 특징**

[0155] 구획부 계면에서 가교결합된 네트워크의 무결성과 강도는 계면활성제에 부착된 가교결합제의 물리적 파라미터에 따라 달라진다. 이들은 (1) 하나 이상의 가교결합제 간의 상호작용 강도, (2) 상대적 가교도, 즉, 0% 내지 100% 계면활성제 네트워킹 범위일 수 있는 계면활성제-계면활성제 상호작용의 수, (3) 계면활성제와 가교결합제 사이의 스페이서 암(spacer arm)의 길이, 예를 들어 가교결합의 길이, 및 (4) 각 계면활성제에 부착된 가교결합제, 예를 들어 연결 모이어티의 수 및 각 계면활성제에 부착된 가교결합제, 예컨대, 연결 모이어티의 수의 다분산성을 포함한다.

[0156] **상호작용 강도:** 두 가교결합 계면활성제 간의 상호 작용의 상대적 강도는 구획부 계면에서 네트워크의 전체 강도를 결정할 것이다. 이온 격자 에너지는 전형적으로 600 내지 4000 kJ/mol(일부는 훨씬 더 높음) 범위에 속하며, 공유 결합 해리 에너지는 단일 결합의 경우 전형적으로 150 내지 400 kJ/mol이고, 수소 결합 해리 에너지는 전형적으로 4 내지 21 kJ/mol의 범위이고, 반데르발스 해리 에너지는 1 내지 4 kJ/mol의 범위이다. 이온 네트워크에 대한 더 높은 결합 해리 에너지는 이온 격자의 형성으로 인한 것이다. 생물학적으로 관련된 가교결합제에 대한 결합 해리 에너지는 H-H: 436 kJ/mol, H-C: 415 kJ/mol, H-N: 390 kJ/mol, H-O: 464 kJ/mol, H-F: 569 kJ/mol, H-Si: 395 kJ/mol, H-P: 320 kJ/mol, H-S: 340 kJ/mol, H-Cl: 432 kJ/mol, H-Br: 370 kJ/mol, H-I: 295 kJ/mol, C-C: 345 kJ/mol, C=C: 611 kJ/mol, C≡C 837 kJ/mol, C-N: 290 kJ/mol, C=N: 615 kJ/mol, C≡N: 891 kJ/mol, C-O: 350 kJ/mol, C=O: 741 kJ/mol, C≡O: 1080 kJ/mol, C-F: 439 kJ/mol, C-Si: 360 kJ/mol, C-P: 265 kJ/mol, C-S: 260 kJ/mol, C-Cl: 330 kJ/mol, C-Br: 275 kJ/mol, C-I: 240 kJ/mol, N-N: 160 kJ/mol, N=N: 418 kJ/mol, N≡N: 946 kJ/mol, N-O: 200 kJ/mol, N-F: 270 kJ/mol, N-P: 210 kJ/mol, N-Cl: 200 kJ/mol, N-Br: 245 kJ/mol, O-O: 140 kJ/mol, O=O: 498 kJ/mol, O-F: 160 kJ/mol, O-Si: 370 kJ/mol, O-P: 350 kJ/mol, O-Cl: 205 kJ/mol, O-I: 200 kJ/mol

mol, F-F: 160 kJ/mol, F-Si: 540 kJ/mol, F-P: 489 kJ/mol, F-S: 285 kJ/mol, F-Cl: 255 kJ/mol, F-Br: 235 kJ/mol, Si-Si: 230 kJ/mol, Si-P: 215 kJ/mol, Si-S: 225 kJ/mol, Si-Cl: 359 kJ/mol, Si-Br: 290 kJ/mol, Si-I: 215 kJ/mol, P-P: 215 kJ/mol, P-S: 230 kJ/mol, P-Cl: 330 kJ/mol, P-Br: 270 kJ/mol, P-I: 215 kJ/mol, S-S: 215 kJ/mol, S-Cl: 250 kJ/mol, S-Br: 215 kJ/mol, Cl-Cl: 243 kJ/mol, Cl-Br: 220 kJ/mol, Cl-I: 210 kJ/mol, Br-Br: 190 kJ/mol, Br-I: 180 kJ/mol, I-I: 150 kJ/mol, 아비딘-바이오틴: 9 내지 100 kJ/mol을 포함한다. 따라서, 더 높은 해리 에너지로 결합을 형성하는 가교결합체는 구획부 계면에서 보다 구조적으로 건전한 네트워크를 생성할 것이다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 바와 같은 가교결합된 계면활성제 네트워크의 가교결합의 강도는 1 내지 4000, 1 내지 1000, 1 내지 500, 20 내지 4000, 20 내지 1000, 20 내지 500, 50 내지 4000, 50 내지 1000, 50 내지 500이다.

[0157] **가교결합도:** 가교결합도는 구획부 계면에서 네트워크 강도의 중요한 요소이다. 가교결합도는 0에서 100% 사이의 임의의 값을 취할 수 있으며, 일반적으로 가교결합도가 증가함에 따라서 네트워크 강도가 증가한다. 가교결합도는 임의의 적절한 방식으로 표현될 수 있다. 예를 들어, 계면활성제 분자의 시스템에서, 가능한 최대 수의 가교결합(예컨대, 계면활성제 분자가 각각 하나의 가교결합만을 형성할 수 있는 평균 4개의 연결 모이어티를 갖는 경우, 각각의 계면활성제 분자는 평균 최대 4개의 가교결합을 만들 수 있음) 및 최소수(제로)가 있을 것이고, 가교결합도는 최대 백분율로서 표현될 수 있다(예컨대, 상기 예에서, 각 계면활성제 분자가 가능한 최대 4개 중 평균 3개의 가교결합을 만들면, 가교결합도는 75%이다). 그러나, 일반적으로 가교결합되는 계면활성제 분자의 인접부의 백분율은, 본 명세서의 어딘가에 기재된 바와 같이, 더욱 유용한 비교이고, 즉, 인접한 계면활성제가 가교결합되지 않는다면, 가교결합도는 0%이다. 모든 계면활성제의 모든 인접부가 가교결합된다면, 가교결합도는 100%이다. 가교결합도는, 임의의 적합한 방식으로, 예를 들어, 계면활성제 분자에 모이어티를 부착하는데 사용되는 시약 농도 및 아마도 반응 완성도에 기초한 화학량론적 계산을 통해서 계면활성제당 연결 모이어티의 평균 개수를 결정하고, 구획부 계면에서 각 계면활성제의 인접부의 평균 개수를 결정하고, 모이어티 간의 연결 상호작용뿐만 아니라, 적용 가능한 경우, 연결 모이어티에 대한 중간 연결 모이어티의 화학량론적 비를 결정함으로써 결정될 수 있다. 예를 들어, 계면활성제는, 계면활성제당 바이오틴의 평균 개수가 6이 되도록, 계면활성제에 대해서 10-배 과잉의 바이오틴 및 60%의 반응 효율을 사용해서 부착된 바이오틴으로 제조될 수 있다. 계면활성제 분자는 인접부의 평균 개수가 5인 네트워크를 형성할 수 있고, 스트렙타비딘은 계면활성제의 평균 개수에 10 배 초과로 분할되어 존재할 수 있다. 스트렙타비딘-바이오틴 상호작용이 매우 효과적이기 때문에, 결합 효율이 100%인 것으로 가정될 수 있고, 연결 모이어티와 중간 연결 모이어티가 둘 다 과잉으로 존재하므로, 가교결합도는 이 경우에 100%인 것으로 계산될 것이다. FRAP 측정이, 본 명세서의 어딘가에 기재된 바와 같이, 또한 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 가교결합도는 1 내지 100, 2 내지 100, 5 내지 100, 10 내지 100, 20 내지 100, 30 내지 100, 40 내지 100, 50 내지 100, 60 내지 100, 70 내지 100, 80 내지 100, 90 내지 100, 95 내지 100, 98 내지 100, 또는 99 내지 100%, 또는 적어도 5, 10, 15, 20, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 또는 100%, 또는 이들 사이의 임의의 범위이다.

[0158] **가교결합부 길이:** 스페이싱 암이 계면활성제 분자와 이의 가교결합체 사이의 물리적 거리, 예컨대, 전체적으로, 연결 모이어티의 길이뿐만 아니라, 두 가교결합된 계면활성제 사이의 거리를 기술할 것이므로, 길이는 가교결합 효율 및 강도에 중요한 변수일 수 있다. 너무 짧은 스페이싱 암은 가교된 계면활성제 상의 반응성 모이어티에 대한 가교결합체의 접근을 입체적으로 저감시킬 수 있고, 각 계면활성제의 가교결합체가 반응이 일어나기에 충분히 근접하게 허용 가능하지 않음으로써 계면활성제-계면활성제 상호작용의 정도를 저감시킬 수 있거나, 또는 액적 계면에서 계면활성제 네트워킹의 정도를 제한하는 3개 이상의 계면활성제를 가교결합하는 능력을 제한하면서 2개의 계면활성제가 가교결합하게 허용할 수 있다. 너무 긴 가교결합체는 높은 수준의 계면활성제 네트워킹을 허용할 수 있지만, 구획부 계면의 안정성을 개선시키지 않는 느슨한 그리고/또는 헐렁한 네트워크를 초래할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 스페이서 암의 길이는 특정 적용분야를 위해 안정화되는 액적의 크기 범위에 맞추어 화된다. 일반적으로, 평균 가교결합 길이는 각 계면활성제 분자 상의 연결 모이어티의 길이를 가산하고 임의의 중첩 길이(예컨대, 상보적인 올리고뉴클레오타이드의 경우에, 어닐링될 상보적 서열의 길이)를 감산하고, 사용된 임의의 중간 연결 모이어티의 길이를 가산함으로써 계산될 수 있다. 연결 모이어티의 길이는 임의의 적합한 길이, 예컨대, 계면활성제의 헤드기의 최장 치수의 0.1 내지 100X, 0.1 내지 50X, 0.1 내지 30X, 0.1 내지 20X, 0.1 내지 10X, 0.1 내지 5X, 0.1 내지 3X, 0.1 내지 2X, 0.1 내지 1X, 0.1 내지 0.5X, 0.1 내지 0.3X, 1 내지 100X, 1 내지 50X, 1 내지 30X, 1 내지 20X, 1 내지 10X, 1 내지 5X, 1 내지 3X, 또는 1 내지 2X, 또는 계면활성제의 테일기 또는 계면활성제의 헤드기의 최장 치수의 0.1 내지 100X, 0.1 내지 50X, 0.1 내지 30X, 0.1 내지 20X, 0.1 내지 10X, 0.1 내지 5X, 0.1 내지 3X, 0.1 내지 2X, 0.1 내지 1X, 0.1 내지 0.5X, 0.1 내지 0.3X, 1 내지 100X, 1 내지 50X, 1 내지 30X, 1 내지 20X, 1 내지 10X, 1 내지 5X, 1 내지 3X 또는 1 내지 2X

일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 가교결합체는 길이가 0.1 내지 100nm, 0.1 내지 50nm, 0.1 내지 30nm, 0.1 내지 20nm, 0.1 내지 10nm, 0.1 내지 5nm, 0.1 내지 3nm, 0.1 내지 1nm, 0.1 내지 0.5nm, 1 내지 100nm, 1 내지 50nm, 1 내지 30nm, 1 내지 20nm, 1 내지 10nm, 1 내지 5nm 또는 1 내지 3nm이다.

[0159] **계면활성제당 연결 모이어티 수:** 계면활성제 분자당 가교결합체의 수, 예컨대, 계면활성제당 연결 모이어티의 수는 계면활성제 네트워크에서 얻어지는 가교결합도를 기술하는 하나의 인자이다. 예를 들어, 계면활성제당 단지 하나의 가교결합체, 예컨대, 연결 모이어티를 보유하는 균질한 계면활성제는 또 다른 계면활성제 분자와 최대 1개의 상호작용부를 형성 가능할 것인 반면, 2 이상의 가교결합체, 예컨대, 연결 모이어티를 가진 계면활성제는 1 이상의 추가의 계면활성제와 가교결합부를 형성할 수 있다. 예를 들어, 단일의 바이오틴 모이어티로 개질된 계면활성제 분자는 1개의 스트렙타비딘 분자에 연결되는 능력을 갖고, 스트렙타비딘 단백질의 사량체 속성으로 인해, 단일의 계면활성제는 이어서 최대 3개의 추가의 계면활성제 분자에 연결될 수 있다. 2개 이상의 바이오틴 모이어티로 개질된 계면활성제 분자는 1개 이상의 스트렙타비딘 단백질과 상호작용할 수 있고, 이들의 각각은 최대 3개의 유사한 또는 상이한 계면활성제 분자와 상호작용할 수 있다. 높은 가교결합도를 달성하기 위하여, 계면활성제당 연결 모이어티의 수는 구획부 계면에서 계면활성제에 대해서 인접부의 평균 개수에 근사, 동등 또는 초과해야 함이 이해될 것이다. 예를 들어, 인접부의 평균 개수가 5개인 경우, 100% 가교결합도를 달성하기 위하여, 각각의 계면활성제는 적어도 5개의 연결 모이어티를 가져야 한다. 계면활성제당 연결 모이어티의 수는 연결 모이어티의 부착 동안 계면활성제 분자에 대한 연결 모이어티의 화학량론적 비 및 부착 효율 조건으로부터 계산될 수 있고, 예를 들어, 계면활성제 분자에 대해서 10배 초과 연결 모이어티가 사용되고 부착 효율이 70%인 경우, 계면활성제 분자당 연결 모이어티의 평균 개수는 7이 되도록 취해질 수 있다. 계면활성제 분자당 연결 모이어티의 평균 개수는 임의의 적합한 수, 예컨대, 2 내지 20, 2 내지 15, 2 내지 12, 2 내지 10, 2 내지 8, 2 내지 6, 2 내지 4, 3 내지 20, 3 내지 15, 3 내지 12, 3 내지 10, 3 내지 8, 3 내지 6, 4 내지 20, 4 내지 15, 4 내지 12, 4 내지 10, 4 내지 8, 4 내지 6, 5 내지 20, 5 내지 15, 5 내지 12, 5 내지 10, 5 내지 8, 또는 5 내지 7; 또는 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20, 또는 이들 사이의 임의의 범위일 수 있다.

[0160] **가교결합된 계면활성제 네트워크의 안정성**

[0161] 모든 실시형태에서, 얻어진 가교결합된 계면활성제, 예컨대, 플루오로계면활성제는 액적 계면의 안정화를 초래한다.

[0162] 액적 계면 안정화에 사용되는 특정 화학에 따라서, 생성된 셀, 예컨대, 가교결합된 계면활성제 네트워크는 (예컨대, 직접 확산 및/또는 역 마이셀 형성에 의해) 분산상, 예컨대, 수성 상과 연속상, 예컨대, 오일 상 사이에 작은 그리고/또는 큰 분자 확산을 저감시킬 수 있거나, 두 상 간의 가스 교환을 촉진시킬 수 있거나, 또는 계면에 분자 흡착을 촉진시킬 수 있거나 또는 그렇지 않을 수 있다. 대안적으로 또는 부가적으로, 구획부의 유착은 저감 또는 제거될 수 있다.

[0163] 이것은 역마이셀 형성의 붕괴에 의해 구획부 계면에서 계면활성제 유지의 저감, 고도로 친수성, 예컨대, 하전된 구획부 계면의 생성, 고도로 소수성 액적 계면의 생성, 이들의 몇몇 조합, 및/또는 정해진 다공성을 가진 가교결합된 계면활성제 네트워크의 생성을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 많은 방식으로 나타날 수 있다. 구획부 계면에서 가교결합된 계면활성제 분자의 네트워크의 사용은, 특히 구획부 내부에서 다양한 모이어티의 사용을 허용할 수 있는데, 이는 그렇지 않으면 사용될 수 없거나 또는 낮은 농도에서만 사용할 수 있다. 이들 모이어티는 조직, 혈액, 식물 물질, 미생물 세포로부터의 용해물 성분; 의약품 및 이의 전구체 또는 유도체; 독성 물질; 성장 배지 성분; 생물 생산 기질, 중간체 또는 제품; 대사 중간체; 지질; 유도체; 항생제; 세제; 크라우딩제; 효소 기질, 산물 또는 저해제, 리포터 분자, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0164] 특정 계면활성제 화학에 따라, 계면활성제는 종종 마이셀 상태의 연속상 또는 분산상에서 가용성이다. 구획부 계면의 형성 시, 마이셀이 해리되고, 계면활성제 분자가 구획부 계면에 그 자체로 매립된다. 계면활성제는 양친매성이며 반대 용해도의 적어도 2개의 기를 갖기 때문에, 테일기와 헤드기는 각각의 용매와 회합된다. 마이셀 상태와 계면 사이에 도달하는 용해도 평형은 마이셀 상태에서 구획부 계면의 계면활성제 분자와 용매에 용해된 계면활성제의 일정한 교환에 존재하는 동적 과정이다. 이러한 구획부 계면과 마이셀 간의 계면활성제의 교환은 역마이셀 형성이라 불린다. 역마이셀 형성 동안, 분산상 가용성 분자는 마이셀에 캡슐화되어 연속상에서 마이셀을 효과적으로 가용화할 수 있다. 이러한 '로딩된' 마이셀은 연속상에 영구적으로 남아 있을 수 있거나, 생성된 동일한 구획부의 구획부 계면에서 재형성될 수 있거나, 또는 별도의 구획부에서 재형될 수 있다. 분산상 분자를 운반하는 구획부에서 구획부로의 마이셀의 이동은 이러한 분자가 연속상에서 완전히 가용성이 아니더라도 구획

부들 사이의 분자의 이동을 가능하게 한다. 이 현상은 구획부 계면에서 계면활성제 가교결합에 의해 상쇄될 수 있다. 계면활성제 분자가 구획부 계면에서 물리적으로 연결되므로, 역마이셀 형성이 효과적으로 저감되거나 심지어 제거되거나 또는 실질적으로 제거되어, 이 기전을 사용하여 액적 사이의 분산상 분자의 이동을 저감시키거나, 제거하거나 또는 실질적으로 제거한다. 저감 정도는 계면활성제 가교결합도에 따라 좌우된다.

[0165] 대안적으로, 구획부 계면에서의 화학의 조절은 구획부 계면을 가로질러 비상보적 화학을 갖는 분자의 이동을 선택적으로 저감시킬 것이다. 예를 들어, 고도로 친수성, 예컨대, 하전된 구획부 계면의 생성은 계면을 가로지르는 소수성 분자의 이동을 제한하고, 일반적으로 또한 동일한 전하 또는 부분 전하를 갖는 모이어티의 이동을 제한하고, 반대 전하 또는 부분 전하를 갖는 모이어티의 이동을 잠재적으로 제한한다. 대안적으로, 고도로 소수성 계면의 생성은 계면을 가로지르는 친수성 분자의 이동을 제한할 것이다.

[0166] 대안적으로, 액적 계면에서 정의된 다공성을 갖는 가교결합 계면활성제 네트워크의 정확한 생성은 구획부 계면을 가로지르는 크기에 기초하여 분자의 이동을 선택적으로 저감시킬 것이다. 예를 들어, 계면활성제 네트워크에서 1 kD의 공칭 다공성은 1 kD 초과 분자의 분자 이동을 선택적으로 제한할 것인 반면, 계면활성제 네트워크에서 10 kD의 공칭 다공성은 10 kD 초과 분자의 분자 이동을 선택적으로 제한할 것이다.

[0167] 저감된 소분자 확산, 높은 기체 확산, 및 계면에 대한 완화된 분자 흡착을 입증하는 가교결합 화학물질인 계면활성제, 예를 들어, 플루오로계면활성제는 세포, 단백질 및 핵산 분석을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 응용 분야에서 높은 유용성을 입증할 수 있다.

[0168] 저감된 소분자 확산, 낮은 가스 확산, 및 완화된 분자 흡착을 입증하는 가교결합 화학물질인 계면활성제, 예를 들어, 플루오로계면활성제는 세포, 단백질 및 핵산 검정을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 많은 응용 분야에서 높은 유용성을 입증할 것이다. 가교결합이 가능한 임의의 적합한 계면활성제가 본 명세서에 제공된 방법 및 조성물에 사용될 수 있다. 예시적인 계면활성제는 비이온성 계면활성제, 음이온성 계면활성제, 양이온성 계면활성제, 및 양쪽성 이온 계면활성제를 포함하고; 소정의 실시형태에서, 계면활성제는 하나 이상의 플루오로계면활성제를 포함한다. 음이온성 계면활성제의 비제한적인 부류는 선형 알킬벤젠 설포네이트(LAS), 알코올 에터 설페이트(AES), 2차 알칸 설포네이트(SAS) 및 알코올 설페이트(AS)를 포함한다. 음이온성 계면활성제 기의 예는 설푼산염, 알코올 설페이트, 알킬벤젠 설포네이트, 인산 에스터, 및 카복실산 염을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제는 음이온성 플루오로계면활성제, 예컨대, 퍼플루오로나노에이트 또는 퍼플루오로옥토에이트, 또는 임의의 다른 적합한 음이온성 플루오로계면활성제이다. 예시적인 양이온성 계면활성제는 1차, 2차 또는 3차 아민을 포함하고; 소정의 실시형태에서, 양이온성 계면활성제는 4차 아민, 예컨대, CTAB, CPC, BAC, BZT 또는 DODAB이다. 양쪽성 이온 계면활성제에서, 양이온성 부분은 1차, 2차 또는 3차 아민, 또는 4차 암모늄 양이온에 기반할 수 있다. 음이온성 부분은 설포네이트, 카복실레이트, 포스페이트 등을 포함할 수 있고; 소정의 실시형태에서 양쪽성 이온 계면활성제는 아민 또는 암모늄과의 포스페이트 음이온, 예컨대, 인지질, 예를 들어 포스파티딜세린, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜콜린, 및 스펅고미엘린을 포함한다. 비이온성 계면활성제는, 예컨대, 소수성 테일기에 부착된, 이의 친수성 헤드에 공유 결합된 비-이온성 산소기를 가질 수 있다.

[0169] 예시적인 플루오로계면활성제는 올리고에틸렌 글리콜, TRIS, 또는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 플루오로계면활성제는 플루오로카본 및/또는 클로로플루오로카본 모이어티를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 플루오로계면활성제는 에터, 아마이드, 또는 카브아마이드 결합에 의해 연결된 헤드 및 테일 모이어티를 갖는다. 소정의 실시형태에서, 플루오로계면활성제는 카브아마이드, 에터 또는 아마이드 결합을 통해서 플루오로카본 모이어티에 연결된 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 갖는다. 플루오린화 계면활성제는 Picosurf-1, Ran FS-008, FC-4430, FC-4432, FC-4434를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 소정의 경우에, 플루오로계면활성제는 카브아마이드, 아마이드 또는 에터 결합에 의해 플루오로카본 모이어티에 연결된 폴리에틸렌 모이어티를 포함할 수 있다. 바이오틴이 연결 모이어티로서 사용되는 소정의 실시형태에서, 바이오틴을 포함하는 예시적인 플루오로계면활성제는 Ran Biotechnologies사로부터의 FS-바이오틴이다. 예컨대, 미국 특허 출원 공개 제20180112036호 참조.

[0170] 임의의 적합한 연속상은 본 명세서에서 제공된 방법 및 조성물에 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 연속상은 오일을 포함하고; 소정의 실시형태에서 오일은 플루오린화 오일이다. 예시적인 오일은 본 명세서의 어딘가에 기재된 것들을 포함한다. 예시적인 플루오린화 오일은 본 명세서의 어딘가에 기재된 것들을 포함한다.

[0171] 대안적으로 또는 부가적으로, 구획부 계면에서의 가교결합된 계면활성제 네트워크는 구획부의 유착을 저감 또는 제거할 수 있다.

- [0172] 가교결합된 계면활성제 네트워크의 안정성 평가. 일반적으로, 개선된 안정성은 확산, 역마이셀 형성, 및/또는 유착을 통해 하나의 구획부로부터 다른 구획부로 성분의 이동을 감소시킬 것이고, 그리고/또는 에멀션으로 수행된 과정의 효율 및/또는 정확도를 개선시킬 수 있다. 유착은 또한 구획부의 총수를 저감시킨다. 소정의 실시형태에서, 가교결합된 계면활성제 네트워크의 형성을 위하여 본 명세서에 제공된 방법 및 조성물은, 가교결합 없는, 예컨대, 부착된 연결 모이어티 없이 그리고/또는 연결 공정의 완료를 위한 필요한 성분 및/또는 조건 없이 계면활성제 분자로 제조된 동일한 에멀션과 비교해서 에멀션의 안정성을 증가시킬 수 있다.
- [0173] 안정성은 임의의 적합한 방식으로 평가될 수 있다.
- [0174] 소정의 실시형태에서, 안정성은 정의된 조건 및 시간 하에 인큐베이션 후에 분자를 함유하는 구획부에서부터 분자를 함유하지 않는 구획으로의 염료 분자와 같은 검출 가능한 종의 이동에 의해 평가된다. 이 종은 소정의 크기, 친수성, 예컨대, 전하, 소수성, 또는 이들의 조합을 갖도록 선택될 수 있다. 예를 들어, 작은 수용성 염료는 구획부의 집단에 제공될 수 있고, 두 집단을 혼합한 후에 염료를 함유하지 않는 구획부의 집단으로의 후속의 이동의 평가가 사용될 수 있다. 예시적인 염료는 전형적으로 분 단위로 매우 빠른 교환 속도를 갖는 로다민 CG; 시간 단위로 중간 교환 속도를 갖는 레소루핀(resorufin); 일 단위로 느린 교환 속도를 갖는 플루오레세인을 포함한다.
- [0175] 예시적인 조건은 동일한 조건 하에 구획부의 두 집단(그 중 하나는 적절한 농도, 예컨대, 2 $\mu$ M의 목적하는 염료를 함유하고, 다른 하나는 염료를 함유하지 않음)을 생산하고, 이어서 동등량의 두 집단을 예를 들어 에펜도르프 튜브(Eppendorf tube)에서 혼합할 수 있다. 두 집단을 생산하는데 임의의 적합한 방법, 예컨대, 문헌[Guner et al., Controlling molecular transport in minimal emulsions, Nat Comm DOI 10.1038/natcomms10392, 2016]에 기재된 방법이 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에서, Dropworks PCR 시스템이 사용되는데, 여기서 액적 생성기는 시스템의 나머지로 부터 해제되고, 적절한 염료, 계면활성제, 분산상, 및 연속상은, 예컨대, 20,000, 25,000; 30,000; 35,000; 40,000; 45,000; 또는 50,000개 액적 또는 이들 사이의 임의의 범위로 분할된 20  $\mu$ l 샘플로부터 액적 생성기에 공급되고, 빈(염료 없음) 액적과 염료-함유 액적의 별도의 부피가 PCR 검정에 대한 것과 동일한 조건에 대해서 형성되고, 이어서 2개의 집단이 합쳐진다. 합쳐진 집단은 이어서 적절한 조건 하에 인큐베이션되는데; 이는 상승된 온도에서, 예컨대, 약 50, 60, 70, 80, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99 $^{\circ}$ C, 또는 이들 사이의 임의의 범위에서 집단을 인큐베이션하는 것이 바람직할 수 있다. 인큐베이션을 위한 적절한 지속시간은 사용된 염료에 따라서 채택된다. 신속한 교환 속도를 갖는 염료, 예컨대, 로다민 CG의 경우, 분 단위의 인큐베이션 시간은 적절할 수 있고, 예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 20, 15, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120분일 수 있다. 중간 교환 속도를 갖는 염료, 예컨대, 레소루핀의 경우, 더 긴 인큐베이션 시간이 (온도에 따라서) 적절할 수 있고, 예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 20, 15, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120분, 또는 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 또는 6시간일 수 있다. 긴 교환 속도를 갖는 염료, 예컨대, 플루오레세인의 경우에, 훨씬 더 긴 인큐베이션 시간이 (재차 온도에 따라서) 적절할 수 있고, 예컨대, 0.5, 1, 1.5, 2.0, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 20, 24, 30, 36, 42, 48, 72 또는 96시간일 수 있다. 적절한 시점에서, 집단은 현미경으로 이미지화될 수 있고 염료-무함유 액적의 형광 강도는, 예를 들어, Leics 소프트웨어의 라인 프로파일 툴을 사용하여 평가될 수 있다. 시간 0 집단의 비-염색 집단의 무작위로 선택된 부분, 예컨대, 10, 20, 30, 50 또는 100개의 무작위로 선택된 구획부의 평균 형광값은 배경으로 가정될 수 있고, 1, 2 또는 3일 중 하나 이상에서의 형광값과 비교될 수 있다. 가교결합된 구획부 대 가교결합되지 않은 구획부에 대해서 시험이 수행될 수 있다. 주어진 시점에서 비-가교결합된 구획부에 대한 형광값이 100%인 것으로 취해지면, 가교결합된 구획부의 안정성은, 가교결합된 샘플의 형광 감소가 반영된 바와 같이 비-가교결합된 것과 비교해서 확산의 감소로서 표현될 수 있고, 예컨대, 비-가교결합된 구획부의 형광이 평균 100 단위이고 가교결합된 구획부의 형광이 40 단위이면, 확산의 감소는 60%이다. 안정성의 증가는 특정 염료 분자의 경우에 이러한 확산 감소%로서 표현될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 방법 및 조성물은 본 명세서에 기재된 바와 같이 적어도 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 또는 99%, 또는 이들 사이의 임의의 범위와 같이 염료 확산 검정에 의해 결정된 바와 같이 액적의 안정성의 증가를 초래할 수 있다.
- [0176] 소정의 실시형태에서, 구획부의 안정성은 유착의 측정을 통해서 평가될 수 있다. 이러한 검정을 위하여 액적을 생산하기 위하여 임의의 적합한 방법, 예컨대, 문헌[Guner et al., Controlling molecular transport in minimal emulsions, Nat Comm DOI 10.1038/natcomms10392, 2016]에 기재된 방법이 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에서, Dropworks PCR 시스템이 사용되는데, 여기서 액적 생성기는 시스템의 나머지로 부터 해제되고, 적절한 계면활성제, 분산상, 및 연속상은 액적 생성기로 공급되고, 액적의 부피는, 예컨대, 20,000, 25,000;

30,000; 35,000; 40,000; 45,000; 또는 50,000개의 액적 또는 이들 사이의 임의의 범위로 분할된 20  $\mu$ l 샘플로부터 얻어진다. 구획부의 단분산 집단, 예컨대, 대부분 또는 실질적으로 모든 구획부가 비교적 작은 크기 범위, 예컨대, 액적에 대한 직경 범위 내에 있는 집단이 생성되는 경우, 유착에 대한 비교적 간단한 시험은 에멀션을 몇몇 표준 조건에 적용시킨 후 각 시점에서 에멀션을 시각화하고, 부피 부피가 구획부의 초기 부피의 적어도 2X로 증가되는 구획부의 상대적 백분율을 결정함으로써 유착의 상대량을 결정하는 것이다. 에멀션은, 크기(직경)가 결정될 수 있거나 또는 상대 직경이 결정될 수 있도록 액적이 충분히 가시화되는 한, 두 집단을 조합할 필요가 없는 점을 제외하고, 염료 측정에 대해서 설명된 바와 같이 생산될 수 있다. 따라서, 시간 0에서, 융합된 구획부의 백분율은 낮을 수 있고, 예컨대, 0 또는 0에 가까울 수 있고, 이어서 이후 시간에, 10, 20, 50, 또는 50% 초과로 증가될 수 있다. 각 융합 구획부가 적어도 2개의 비융합 구획부를 나타내지만, 단순화하기 위하여, 현장에서 융합 구획부를 세고 총 구획부 수를 세고 전자를 후자로 나누고 100을 곱하여 각 시점에서 백분율을 측정할 수 있음이 이해될 것이다. 다른 시험과 마찬가지로, 가교결합된 구획부의 성능은 가교결합이 없는 동일한 구획부와 비교될 수 있다. 몇몇 경우에, 이것은 단지 가교결합제(예컨대, 스트렙타비딘) 또는 가교결합 자극(예컨대, 광)의 존재를 제거함으로써 달성될 수 있고; 다른 경우에, 더 광범위한 변형이 필요할 수 있지만 일반적으로 가교결합된 구획부와 비교해서 가능한 한 작게 비가교결합된 구획부를 변형시키는 것이 바람직하다. 예시적인 유착 시험은 개별 집단에서 가교결합된 구획부 및 비가교결합 구획부를 형성하는 것이며, 바람직하게는 동시에 반드시 그런 것은 아니지만, 초기 유착을 결정하기 위하여 시간 0에서 이미지 구획부를 형성하고, 이어서 유착을 선호하는 조건 하에, 예를 들어, 40, 50, 60, 70, 80, 또는 90°C와 같은 상승된 온도에서 구획부를 유지하고, 예컨대, 10, 20, 30, 40, 50 및/또는 60분, 및/또는 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 9, 및/또는 10시간에 시각적, 예컨대, 현미경 검사에 의해 하나 이상의 시점에서 유착을 결정하고, 유착을 백분율로서 표현한다. 소정의 경우에, 두 집단 사이에 동일한 정도인 한 교반이 추가될 수 있다. 가교결합된 구획부의 안정성은 비-가교결합된 것에 비해서 유착의 감소로서 표현된다. 예를 들어, 두 세트의 에멀션이 0 유착에서 시작해서, 1시간에 비-가교결합된 에멀션이 위에서 정의된 바와 같이 예컨대 80% 유착을 나타내고 가교결합된 에멀션이 20% 유착을 나타낸다면, 비-가교결합된 것에 비해서 가교결합된 에멀션의 증가된 안정성은 75%로서 표현될 수 있다(특정 조건 하에 유착의 감소). 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서 제공된 방법 및 조성물은 이 단락에 기재된 바와 같은 유착 검정에 의해 결정된 바와 같이 적어도 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 또는 99%, 또는 이들 사이의 임의의 범위의 안정성의 증가를 초래할 수 있다.

[0177] 사용될 수 있는 유착에 대한 다른 검정은 계면활성제 가교결합을 가진 액적의 집단과 계면활성제 가교결합 없는 또 다른 집단을 준비하고, 예컨대, 액적이 PCR 검정에 적용되는 조건 하에, 관심 프로세스 시스템, 예컨대, PCR 시스템, 예컨대, Dropworks PCR 시스템을 통해서 실행하는 것이다. 액적 부피를 추정할 수 있는 검출기가 사용된다면, 예컨대, 액적 생성기에서 생성된 액적의 초기 수는 샘플 부피를 평균 액적 부피로 나눔으로써 추정될 수 있고, 예컨대, 0.57 n $\mu$ l의 평균 부피를 갖는 액적을 생성한 20 $\mu$ l 샘플은 대략 35,000개 액적을 초기에 생성했다고 가정될 수 있다. 검출기를 통과하는 액적의 수는 계수될 수 있고, 이 수와 초기 수 간의 차이는 유착된 액적을 나타내고; 대안적으로 또는 부가적으로, 검출기에서 측정된 액적의 부피는 액적이 유착된 액적을 나타내는 것을 결정하는데 사용될 수 있는데, 여기서 2X 예상된 부피 이상을 갖는 액적이 유착되는 것으로 간주된다. 이들 수로부터, 유착의 백분율은 가교결합된 것 대 비-가교결합된 것에 대해서 결정되고 비교될 수 있다. 이 검정에서, 퍼센트로서 표현된 유착의 저감은 안정성의 증가에 대응할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서 제공된 방법 및 조성물은 이 단락에 기재된 바와 같은 유착 검정에 의해 결정된 바와 같이 적어도 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 또는 99%, 또는 이들 사이의 임의의 범위의 액적의 안정성의 증가를 초래할 수 있다.

[0178] 구획부 안정성의 다른 시험, 특히 구획부가 사용될 수 있는 조건을 모방하거나 재현하는 시험이 사용될 수 있다. 예를 들어, 정상 동작 하에, 예컨대, 관심 핵산을 함유하는 샘플로부터 수만개의 액적을 생성하고, 여기서 물질의 농도 및 액적 형성 조건은 대부분의 액적, 예컨대, 적어도 90, 95, 99, 또는 99.9%의 액적이 관심 핵산을 하나 또는 전혀 함유하지 않는 디지털 PCR 시스템에서, 유일한 차이점이 하나 또는 복수의 실행에서 계면활성제 네트워크 가교결합이고 하나 또는 복수의 다른 실행에서 가교결합이 없는 제어된 실행이 비교될 수 있다. 예를 들어, 기지의 양의 제1 시험 올리고뉴클레오타이드 및 제2 시험 올리고뉴클레오타이드가 시험 샘플에서 합쳐질 수 있다. 두 시험 올리고뉴클레오타이드의 몰량은 동일할 수 있거나 또는 실질적으로 동일할 수 있거나, 또는 상이할 수 있고; 소정의 실시형태에서, 각 양은 동일하거나 또는 실질적으로 동일하다. 샘플은 또한 프라이머, 완충액, 효소, 및 PCR을 위한 임의의 다른 필요한 성분을 함유하고; 제1 올리고뉴클레오타이드의 증폭 산물에 특이적인 제1 형광 표지가 존재하고, 제2 올리고뉴클레오타이드의 증폭 산물에 특이적인 제2 형광 표

지가 존재하며; 두 표지는 상이하고 검출 가능하게 별개의 파장에서 형광을 발한다.

[0179]

시험 샘플은 염료 이동 및 유착 시험을 위하여 액적을 생성하기 위하여 기재된 액적 생성 시스템, 예컨대, Dropworks 시스템으로 이송되지만; 그러나, 이 경우에, 상기 시스템은 PCR 시스템, 예컨대, 열사이클러 및 검출기의 벌크에 유체 가능하게 연결된다. 시험 샘플의 제1 분취액의 경우, 액적은 시험 샘플(수성 분산상)을 액적 생성기에서 제1 유입구, 그리고 가교결합된 계면활성제 네트워크를 생성하기 위하여 처리되지 않은 계면활성제를 포함하는 연속상(예컨대, 오일, 예컨대, 플루오린화 오일)을 액적 생성기의 제2 유입구에 흐르게 함으로써 생성되고; 액적 생성기 내부에서, 제1 및 제2 유입구는 교차하고 연속상 내 샘플의 액적이 형성된다. 분산상이 가교결합된 계면활성제 네트워크를 생산하기 위하여 가교결합을 개시 또는 촉진시키는 성분을 포함하는 실시형태에서, 이들 성분이 포함되지 않고; 마찬가지로, 액적이 가교결합을 개시 또는 촉진시키는 하나 이상의 조건에 노출된다면, 이들 조건이 존재하지 않는 것이 이해될 것이다. 액적은, 예컨대, 20,000, 25,000; 30,000; 35,000; 40,000; 45,000; 또는 50,000 액적 또는 이들 사이의 임의의 범위로 분할된 20  $\mu$ l 샘플로부터 단분산 에멀션에 형성되고, 대부분의 액적, 예컨대, 적어도 90, 95, 99, 99.5, 99.9, 99.95, 또는 99.99%의 액적이 제1 시험 올리고뉴클레오타이드 중 단지 하나를 함유하고, 제2 시험 올리고뉴클레오타이드 중 단지 하나를 함유하거나, 또는 이들의 어느 것도 함유하지 않도록 샘플의 농도, 유량 및 기타 관련된 인자가 된다. 제1 및 제2 시험 올리고뉴클레오타이드가 임의의 적합한 길이, 예컨대, 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 55, 57, 60, 62, 65, 67, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 150, 170, 200 또는 250개의 뉴클레오타이드, 또는 이들 사이의 임의의 범위일 수 있고, 동일한 또는 상이한 길이일 수 있지만, 일반적으로 그 길이는 유사하거나 동일해야 한다. 임의의 적합한 서열은 두 서열이 증폭되고 검출된 경우 서로 구별되는 한 올리고뉴클레오타이드에 대해서 사용될 수 있다. 이어서, 액적의 볼루스는 PCR 시스템을 통해서, 예컨대, 열사이클러, 이어서 검출기로 보내진다. 몇몇 경우에, 도관의 직경은 열사이클러에서 증가하여, 유량을 늦춘다. 검출기는 단일 액적을 검출하고, 사용된 두 상이한 형광 표지를 구별할 수 있는 임의의 검출기일 수 있다. 바람직하게는, 검출기는 또한 액적 생성기와 검출기 사이에 유착된 액적의 백분율을 결정하기 위해 액적의 부피를 결정할 수 있다. 증폭된 올리고뉴클레오타이드를 함유하지 않고, 단지 증폭된 제1 올리고뉴클레오타이드를 함유하고 단지 증폭된 제2 올리고뉴클레오타이드를 함유하고, 증폭된 제1 및 제2 올리고뉴클레오타이드를 둘 다 함유하는 액적의 총수가 결정된다. 액적 부피 또는 부피와 관련된 양을 검출할 수 있는 검출기에서,  $nX$ 의 부피를 가진 유착된 액적의 수(여기서  $n$ 은 유착된 액적의 수이고,  $X$ 는 비-유착 액적의 부피임)가 결정될 수 있다. 올리고뉴클레오타이드 또는 단지 제1 올리고뉴클레오타이드 또는 단지 제2 올리고뉴클레오타이드의 증폭 산물을 함유하지 않는 이들 액적의 수는 증폭된 제1 및 제2 올리고뉴클레오타이드를 둘 다 함유하는 액적의 수에 추가될 수 있고; 둘 다를 함유하는 유착된 액적의 수가 이전 단계에서 계수되었고, 그래서 재차 추가되지 않아야 한다는 것이 이해될 것이다. 총 액적의 수로 나뉘고 100을 곱한 후자의 수는 이동 대상 액적의 백분율로서 취해지며, 즉, 이러한 액적의 대다수의 경우, 두 올리고뉴클레오타이드가 존재하거나 증폭되는데, 그 이유는 이들 중 하나가 그의 원래의 액적으로부터 검출된 액으로 이동되기 때문이다. 연속상 내에 계면활성제 및/또는 분산상 내 성분 및/또는 연속 액적이 형성 동안 및/또는 후에 노출되어 시험될 가교결합된 계면활성제 네트워크를 생성하는 것을 제외하고 동일한 샘플에 대해서 동일한 시험이 실행된다. 이동 대상 액적의 제2 백분율을 결정하기 위하여 동일한 계산이 수행된다. 제1 백분율(가교결합 없음)을 제2 수(가교결합)로 나누어서 가교결합의 유효성의 정량적 표시를 제공할 수 있다. 예를 들어, 계면활성제 분자에 부착된 연결 모이어티로서 바이오틴을 사용하고 바이오틴을 가교결합하기 위한 중간 모이어티로서 스트렙타비딘을 사용하는 시스템에서, 올리고 1 및 올리고 2를 포함하는 제1 시험이 실행되고, 여기서 연속상 내 계면활성제는 부착된 바이오틴 모이어티를 갖지 않고 분산상은 스트렙타비딘을 함유하지 않는다. 20,000개의 액적이 액적 생성기에서 생성되고, 열사이클러를 통해서 검출기로 이동된다. 검출기는 올리고를 갖지 않는 18,000개의 액적; 단지 올리고 1만 갖는 800개의 액적; 단지 올리고 2만 갖는 800개의 액적; 및 올리고 1 및 2를 둘 다 갖는 400개의 액적을 검출한다. 또한, 검출기는 액적 중 150개가 정상 액적의 부피의 적어도 두 배인 것을 검출하는데, 이 중 50개는 올리고 1 및 올리고 2를 둘 다 함유한다. 이동 "이벤트"의 백분율은  $(400+(150-50))/20,000 \times 100$ , 또는  $500/20,000 \times 100 = 2.5\%$ 이다. 이어서, 올리고 1 및 올리고 2를 포함하는 제2 시험이 실행되며, 여기서 연속상 내 계면활성제는 부착된 바이오틴 모이어티를 갖고 분산상은 스트렙타비딘을 함유한다. 20,000개의 액적이 생성되고, 검출기는 올리고를 갖지 않는 18,000개의 액적, 단지 올리고 1만 갖는 990개의 액적, 단지 올리고 2만 갖는 990개의 액적, 및 올리고 1 및 2를 둘 다 갖는 20개의 액적을 검출한다. 또한, 검출기는 액적 중 15개가 정상 액적의 부피의 적어도 두 배인 것을 검출하고, 여기서 5개는 올리고 1 및 올리고 2를 둘 다 함유한다. 이동 "이벤트"의 백분율은  $(20+(15-5))/20,000 \times 100$ , 또는  $25/20,000 \times 100 = 0.125\%$ 이다. 이 경우에, 액적 간의 이

동이 95% 향상되었다고 볼 수 있다. 이 숫자가 발생하는 모든 이동 과정을 반드시 반영하는 것은 아님을 이해해야 하지만(예컨대, 올리고 1이 빈 액적으로 이동하거나, 또는 올리고 1이 올리고 1을 사용하여 다른 액적으로 이동하는 등), 이는 PCR 시스템에서 액적 내용물을 이산적으로 유지함에 있어서 개선의 적절한 표시로서 역할할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 검출기가 이러한 액적 사이의 형광 강도의 차이를 검출하기에 충분한 능력을 갖는다면, 단일 액적에서 동일한 올리고 2개를 생성하는 올리고의 이동을 설명하도록 계산이 개선될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 제공되는 방법 및 조성물은 이 단락에 기재된 바와 같은 유착 검정에 의해 결정된 바와 같이 적어도 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 또는 99%, 또는 이들 사이의 임의의 범위의 액적의 안정성의 증가를 초래할 수 있다.

[0180] 따라서, 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 에멀션에서 구획부 안정성을 증가하는 방법이 제공되며, 여기서 에멀션은 연속상에 복수의 분산상 구획부를 포함하고, 구획부는 구획부 내 분산상과 연속상 사이의 계면에서 계면활성제 모이어티를 포함하고, 해당 방법은 계면에서 계면활성제 모이어티의 가교결합된 계면활성제 네트워크를 생성하는 단계를 포함하되, 안정성의 증가는 염료 확산 검정, 예컨대, 본 명세서에 기재된 검정에 의해 평가되고, 염료 확산의 감소로 반영되는 바와 같은 계면활성제 네트워크 안정성은, 적어도 1, 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5, 99.9 또는 100%, 또는 이들 사이의 값들의 임의의 범위만큼, 예를 들어, 적어도 50%, 예컨대, 적어도 80%, 몇몇 경우에 적어도 90%만큼 증가된다. 가교결합을 위한 임의의 적합한 방법, 예컨대, 본 명세서에 기재된 것들이 사용될 수 있다.

[0181] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 에멀션에서 구획부 안정성을 증가하는 방법이 제공되며, 여기서 에멀션은 연속상에 복수의 분산상 구획부를 포함하고, 구획부는 구획부 내 분산상과 연속상 사이의 계면에서 계면활성제 모이어티를 포함하고, 해당 방법은 계면에서 계면활성제 모이어티의 가교결합된 계면활성제 네트워크를 생성하는 단계를 포함하되, 안정성의 증가는 유착 검정, 예컨대, 본 명세서에 기재된 검정에 의해 평가되고, 유착의 감소로 반영되는 바와 같은 계면활성제 네트워크 안정성은, 적어도 1, 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5, 99.9 또는 100%, 또는 이들 사이의 값들의 임의의 범위만큼, 예를 들어, 적어도 50%, 예컨대, 적어도 80%, 몇몇 경우에 적어도 90%만큼 증가된다. 가교결합을 위한 임의의 적합한 방법, 예컨대, 본 명세서에 기재된 것들이 사용될 수 있다.

[0182] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 에멀션에서 구획부 안정성을 증가하는 방법이 제공되며, 여기서 에멀션은 연속상에 복수의 분산상 구획부를 포함하고, 구획부는 구획부 내 분산상과 연속상 사이의 계면에서 계면활성제 모이어티를 포함하고, 해당 방법은 계면에서 계면활성제 모이어티의 가교결합된 계면활성제 네트워크를 생성하는 단계를 포함하되, 안정성의 증가는 PCR 검정, 예컨대, 본 명세서에 기재된 검정에 의해 평가되고, 구획부들 간의 교란을 나타내는 PCR 이벤트의 감소로 반영되는 바와 같은, 계면활성제 네트워크 안정성은 적어도 1, 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99, 99.5, 99.9 또는 100%, 또는 이들 사이의 값들의 임의의 범위만큼, 예를 들어, 적어도 50%, 예컨대, 적어도 80%, 몇몇 경우에 적어도 90%만큼 증가된다. 가교결합을 위한 임의의 적합한 방법, 예컨대, 본 명세서에 기재된 것들이 사용될 수 있다.

[0183] **가교결합된 계면활성제 네트워크를 불안정화시키는 방법**

[0184] 계면활성제를 가교결합하는데 사용되는 특정 화학에 따라서, 예컨대, 다운스트림 분석을 위해 액적 내용물의 회수가 필요한 경우, 사용 후 액적(구획부)을 파괴하기 위해 많은 상이한 방법이 사용될 수 있다. 이것은 임의의 적절한 방법, 예컨대, 화학적으로 또는 기계적으로 수행될 수 있다.

[0185] 일 실시형태에서, 파괴제가 에멀션에 첨가되어, 에멀션의 후속적인 해체를 초래하는 단백질 가교결합제를 파괴시킨다. 몇몇 실시형태에서, 산, 염기 및/또는 퍼옥사이드는 또한 네트워크 해체를 위해 사용될 수 있다. 바람직한 구체예에서, 클로로포름은 네트워크 해체를 위해 사용된다.

[0186] 별도의 실시형태에서, 절단 가능한 링커를 사용하여 사용 후 액적을 파괴할 수 있다. 절단 가능한 링커는, 예를 들어, 문헌[Leriche, et al. Bioorg. Med. Chem. 20, 571 (2012)]에 예시된 바와 같이, 효소적으로 분할 가능한 링커, 호중구/염기 선택적 링커, 환원 감지 링커, 광분해성 링커, 친전자체/산 감지 링커 및 산화 감지 링커로 이루어진 군으로부터 선택된다. 절단 가능한 링커의 다른 예는 문헌[West et al. Current Drug Discovery Technologies, 2, 123 (2005)]에서 찾을 수 있다.

[0187] 몇몇 실시형태에서, 동결, 기계적 과단, 초음파분해, 가열 및 삼투압 충격을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 기계적 방법은 구획부 계면에서 네트워크를 파괴하는데 사용될 수 있다.

[0188] 소정의 실시형태에서, 핵산-기반 가교결합제의 경우 뉴클레아제 및/또는 단백질-기반 가교결합제의 경우 프로테

아제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는, 특정 가교결합제 분해 분자가 사용될 수 있다.

**[0189] 수성 첨가제**

**[0190]** 구획부 계면의 견고성에 따라서, 계면활성제 안정화된 액적은 하나 이상의 첨가제의 존재 하에 안정적으로 유지될 수 있다. 가교결합된 계면활성제 네트워크에 의해 생성된 안정성의 증가로 인해, 가교결합된 계면활성제 네트워크를 갖는 구획부는 이들의 비-가교결합된 대안물보다 첨가제의 더 높은 수준 및/또는 상이한 조합을 용인 (tolerate)할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 가교결합된 계면활성제 네트워크를 포함하는 구획부는 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 구획부에 비해서 1종 이상의 첨가제의 양, 예컨대, 농도의 적어도 10, 20, 30, 40, 50, 70, 100, 150, 200, 500 또는 1000%, 또는 이들 사이의 임의의 범위를 용인할 수 있다. 추가의 첨가제의 "용인"은, 일반적으로, 가교결합된 계면활성제 네트워크를 갖는 구획부 및/또는 함유된 에멀션이 적어도 수행되고 또는 적어도 10, 20, 50, 70, 80, 90, 95, 97, 99, 99.5 또는 99.9% 함유되는 것을 의미하며, 몇몇 경우에, 의도된 용도를 위하여 가교결합된 계면활성제 네트워크 및/또는 함유된 에멀션이 없는 것을 제외하고 동일한 조성물의 구획부보다 더 양호한 것을 의미한다. 성능은, 임의의 적합한 수단, 예컨대, 검정, 예컨대, PCR에 의해, 기지의 농도의 하나 이상의 대조 샘플을 사용하고, 결과의 정확도 및/또는 정밀도를 가교결합된 구획부 대 비가교결합된 구획부와 비교함으로써 평가될 수 있다.

**[0191]** 수성 상은 하나 이상의 완충 화합물을 함유할 수 있다. 생물학적 완충제의 일반적인 예는 tris, 포스페이트, 시트레이트 등을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.

**[0192]** 수성 상은 1종 이상의 염을 함유할 수 있다.

**[0193]** 수성 상은 이하의 목록에 포함되지만 이들로 제한되지 않는 1종 이상의 탄수화물을 함유할 수 있다: 한천, 아가로스, 알로스, 알로로스, 아라비노스, 아라비톨, 카복시메틸 셀룰로스, 셀룰로스, 키틴, 키토산, 콘드로이틴, 사이클로덱스트린, 텍스트란, 텍스트린, 텍스트로스, 에를로스, 에리트리톨, 에리트로스, 프럭토폴라노스, 프럭토스, 갈락토만난, 갈락토스, 글루칸, 글루코피라노스, 글루코사민, 글루코스, 글리코젠, 글리코사미노글리칸, 글루코스, 헤파린, 헥시톨, 헥소피라노스, 이디톨, 이노시톨, 아이소말티톨, 케스토스, 락티톨, 락토스, 렉틴, 말레지토스, 말티톨, 말토덱스트린, 말토스, 말톨로스, 만니톨, 만노스, 말레지토스, 파노스, 펙틴, 폴리수크로스, 퀘르시톨, 라피노스, 람노스, 리비톨, 리보푸라노스, 리보스, 리블로스, 루티노스, 소르비톨, 전분, 수크랄로스, 수크로스, 타가토스, 탈리톨, 트레이트톨, 트레오스, 트레할로스, 투라노스, 자일라노스, 자일리톨, 자일로스.

**[0194]** 수성 상은 아스파르트산, 시스테인, 메탈로-, 세린, 트레오닌, 및 트립신 프로테아제를 표적화할 수 있는 하나 이상의 프로테아제 저해제를 함유할 수 있다.

**[0195]** 수성 상은 1종 이상의 향미생물제를 함유할 수 있다.

**[0196]** 수성 상은 이하의 목록에 포함되지만 이들로 제한되지 않는 1종 이상의 크라우딩제를 함유할 수 있다: 1,2-프로판다이올, 카복시메틸 셀룰로스, 에틸렌 글리콜, 글리세롤, PEG 200, PEG300, PEG 400, PEG 600, PEG 1000, PEG 1300, PEG 1600, PEG 1450, PEG 1500, PEG 2000, PEG 3000, PEG 2050, PEG 3350, PEG 4000, PEG 4600, PEG 6000, PEG 8000, PEG 10000, PEG 12000, PEG 20000, PEG 35000, PEG 40000, PEG 108000, PEG 218000, PEG 510000, PEG 90M, 폴리수크로스, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐피롤리돈, 프로필렌 글리콜.

**[0197]** 수성 상은 1종 이상의 세제를 함유할 수 있다. 세제는 이온성 또는 비이온성일 수 있다.

**[0198]** 수성 상은 이하의 목록에 포함되지만 이들로 제한되지 않는 1종 이상의 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드의 유도체를 함유할 수 있다: 5-플루오로오르트산(5-FOA), 아데닌, 아데노신, 아데노신 다이포스페이트, 아데노신 모노포스페이트, 아데노신 트라이포스페이트, 사이티딘, 사이티딘 다이포스페이트, 사이티딘 모노포스페이트, 사이티딘 트라이포스페이트, 사이토신, 데옥시아데노신, 데옥시아데노신 다이포스페이트, 데옥시아데노신 모노포스페이트, 데옥시아데노신 트라이포스페이트, 데옥시사이티딘, 데옥시사이티딘 다이포스페이트, 데옥시사이티딘 모노포스페이트, 데옥시사이티딘 트라이포스페이트, 데옥시구아노신, 데옥시구아노신 다이포스페이트, 데옥시구아노신 모노포스페이트, 데옥시구아노신 트라이포스페이트, 구아닌, 구아노신, 구아노신 다이포스페이트, 구아노신 모노포스페이트, 구아노신 트라이포스페이트, 하이포잔틴, 이노시톨, 티미딘, 티미딘 다이포스페이트, 티미딘 모노포스페이트, 티미딘 트라이포스페이트, 티민, 우라실, 우리딘, 우리딘 다이포스페이트, 우리딘 모노포스페이트, 우리딘 트라이포스페이트. 수성 상은 1종 이상의 합성 뉴클레오타이드 유도체를 함유할 수 있다.

**[0199]** 수성 상은 1종 이상의 아미노산, 아미노산의 유도체, 또는 아미노산 유래 펩타이드를 함유할 수 있다.

- [0200] 수성 상은 1종 이상의 비타민을 함유할 수 있다.
- [0201] 수성 상은 미생물 유기체의 성장, 전파, 또는 유도, 사멸 또는 분석을 위한 1종 이상의 배지 첨가제를 함유할 수 있다.
- [0202] 본 명세서에 기재된 방법에 유용한 중합효소는 표적 핵산 분자에 결합된 올리고뉴클레오타이드의 3' 하이드록실 말단을 연장시키기 위하여 뉴클레오타이드의 혼입을 촉매화할 수 있다. 이러한 중합효소는 증폭 및/또는 가닥 변위를 가능하게 하는 것들을 포함한다. 중합효소는 5'-3' 엑소뉴클레아제 활성을 보유할 수 있거나 결여할 수 있다. 다른 실시형태에서, 중합효소는 또한 역전사효소 활성(예컨대, Bst(커다란 단편), Terminator, Terminator II)를 갖는다. 예시적인 중합효소는 BST(커다란 단편), DNA 중합효소 I(이. 콜라이(*E. coli*)), DNA 중합효소 I, 커다란 (Klenow) 단편, Klenow 단편(3'-5' 엑소-), T4 DNA 중합효소, T7 DNA 중합효소, Deep VentR. (엑소-) DNA 중합효소, Deep VentR DNA 중합효소, DyNAzyme, High-Fidelity DNA 중합효소, Terminator, Terminator II DNA 중합효소, AmpliTherm DNA 중합효소, Taq DNA 중합효소, Tth DNA 중합효소, Tfi DNA 중합효소, Tgo DNA 중합효소, SP6 DNA 중합효소, Thr DNA 중합효소를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 역전사효소(RT)의 이하의 비제한적인 예는 RNA 서열을 검출할 때 성능을 개선하기 위하여 본 방법의 반응에 사용될 수 있다: OmniScript, SensiScript, MonsterScript, Transcriptor, HIV RT, SuperScript III, ThermoScript, Thermo-X, ImProm II. RNA 중합효소의 이하의 비제한적인 예는 T3, T7, SP6, 이. 콜라이 RNA pol, RNA pol II 및 mtRNA pol을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0203] 본 명세서에 기재된 방법에 유용한 니킹 효소(nicking enzyme)는 Nt.BspQI, Nb.BbvCI, Nb.BsmI, Nb.BsrDI, Nb.BtsI, Nt.AlwI, Nt.BbvCI, Nt.BstNBI, Nt.CviPII, Nb.Bpu10I 및 Nt.Bpu10I를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0204] 다른 화학 첨가제는 pH 또는 이온 강도를 변화시키는 첨가제를 포함한다. 다른 생물학적 첨가제는 바이러스, 박테리아, 진균, 고세균, 식물 및 포유동물 세포를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 살아있는 또는 죽은 유기체 또는 이들의 용해물을 포함한다. MgCl<sub>2</sub> 및 KCl 농도는 PCR에 중요하며, 몇몇 실시형태에서는 조절될 수 있다. triton-x100과 같은 세제뿐만 아니라 높은 단백질 농도가 도움이 될 수 있다.
- [0205] **조성물 및 방법**
- [0206] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 적합한 조건 하에 제2 계면활성제 분자와 가교결합되도록 개질된 복수의 제1 계면활성제 분자를 포함하는 조성물이 제공된다. 계면활성제 분자는 테일부 및 헤드부를 갖는다. 개질은 제1 및/또는 제2 계면활성제 분자에 부착된, 연결 모이어티, 예컨대, 복수의 연결 모이어티의 형태를 취할 수 있고, 여기서 연결 모이어티는, 적합한 조건 하에, 그들 자체로(예컨대, 제1 및 제2 연결 모이어티가 동일함) 또는 또 다른 연결 모이어티와(예컨대, 제1 및 제2 연결 모이어티가 상이함)와, 또는 (예컨대, 제1 및 제2 연결 모이어티 중 하나 또는 둘 다에 연결되는) 중간 연결 모이어티에 가교결합을 형성하도록 구성된다. 소정의 실시형태에서, 제1 및 제2 계면활성제 분자는 동일한 계면활성제 유형을 포함하고, 예컨대, 구조적으로 동일하다. 소정의 실시형태에서, 제1 및 제2 계면활성제 분자는 상이한 계면활성제 유형을 포함하고, 예컨대, 구조적으로 상이하다. 조성물의 제1 및/또는 제2 계면활성제 분자는 연결 모이어티의 임의의 적합한 평균 개수, 예컨대, 1 내지 20, 1 내지 15, 1 내지 10, 2 내지 20, 2 내지 15, 2 내지 10, 2 내지 8, 2 내지 6, 3 내지 20, 3 내지 15, 3 내지 10, 3 내지 8, 3 내지 5, 4 내지 20, 4 내지 15, 4 내지 10, 4 내지 8, 5 내지 20, 5 내지 15, 5 내지 10, 5 내지 9, 6 내지 20, 6 내지 15, 또는 6 내지 10, 예를 들어 2 내지 20, 예컨대, 2 내지 10, 몇몇 경우에 3 내지 10개의 연결 모이어티에 부착될 수 있다. 연결 모이어티는 계면활성제 분자의 임의의 적합한 부분, 예컨대, 헤드부 또는 테일부에 임의의 적합한 부착 방법, 예컨대, 공유 결합 또는 비공유 결합에 의해 부착될 수 있다. 연결 모이어티의 길이는 임의의 적합한 길이, 예컨대, 계면활성제의 헤드기의 최장 치수의 0.1 내지 100X, 0.1 내지 50X, 0.1 내지 30X, 0.1 내지 20X, 0.1 내지 10X, 0.1 내지 5X, 0.1 내지 3X, 0.1 내지 2X, 0.1 내지 1X, 0.1 내지 0.5X, 0.1 내지 0.3X, 1 내지 100X, 1 내지 50X, 1 내지 30X, 1 내지 20X, 1 내지 10X, 1 내지 5X, 1 내지 3X, 또는 1 내지 2X, 또는 계면활성제의 테일기의 최장 치수의 0.1 내지 100X, 0.1 내지 50X, 0.1 내지 30X, 0.1 내지 20X, 0.1 내지 10X, 0.1 내지 5X, 0.1 내지 3X, 0.1 내지 2X, 0.1 내지 1X, 0.1 내지 0.5X, 0.1 내지 0.3X, 1 내지 100X, 1 내지 50X, 1 내지 30X, 1 내지 20X, 1 내지 10X, 1 내지 5X, 1 내지 3X, 또는 1 내지 2X일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 가교결합제는 길이가 0.1 내지 100nm, 0.1 내지 50nm, 0.1 내지 30nm, 0.1 내지 20nm, 0.1 내지 10nm, 0.1 내지 5nm, 0.1 내지 3nm, 0.1 내지 1nm, 0.1 내지 0.5nm, 1 내지 100nm, 1 내지 50nm, 1 내지 30nm, 1 내지 20nm, 1 내지 10nm, 1 내지 5nm 또는 1 내지 3nm이다. 계면활성제는 임의의 적합한 계면활성제, 예컨대, 비이온성, 양이온성, 음이온성, 또는 양쪽성 이온 계면활성제일

수 있다. 소정의 실시형태에서 계면활성제는 플루오로계면활성제를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 플루오로계면활성제는 에터, 아마이드, 또는 카브아마이드 결합에 의해 연결된 헤드 및 테일 모이어티를 갖고; 플루오로계면활성제는 카브아마이드, 에터 또는 아마이드 결합을 통해서 플루오로카본 모이어티에 연결된 폴리에틸렌 모이어티를 포함하는 플루오로계면활성제, 또는 이들의 조합물을 갖는다. 소정의 실시형태에서, 플루오로계면활성제는 카브아마이드, 아마이드 또는 에터 결합에 의해 플루오로카본 모이어티에 연결된 폴리에틸렌 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어티는 또 다른 연결 모이어티가 아니라 중간 모이어티에 결합되도록 구성된다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어티는 공유 결합을 형성하는 연결 모이어티이다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어티는 비공유 결합을 형성하는 모이어티이다. 적합한 연결 모이어티는 본 명세서에 기재된 바와 같은 임의의 것을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어티는 바이오틴이다. 소정의 실시형태에서, 중간 모이어티는 바이오틴-결합기, 예컨대, 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 유도체이다. 복수의 계면활성제 분자는 연속상에 함유될 수 있다. 조성물은 연속상, 예컨대, 소수성 연속상을 더 포함할 수 있고; 소정의 실시형태에서, 제1 계면활성제 분자는 제1 연속상에, 예컨대, 마이셀로서 함유되고; 소정의 실시형태에서, 제2 계면활성제 분자는 제2 연속상에, 예컨대, 마이셀로서 함유되고, 여기서 제1 및 제2 연속상은 동일 또는 상이할 수 있다. 연속상은 오일, 예컨대, 플루오린화 오일일 수 있다. 적합한 오일 및 플루오린화 오일은 본 명세서의 어딘가에 기재된 바와 같다. 조성물은 분산상을 더 포함할 수 있고; 소정의 실시형태에서, 분산상은 제1 계면활성제 분자를 함유하지 않고; 소정의 실시형태에서, 분산상은 제2 계면활성제 분자를 함유하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 분산상은 중간 모이어티를 포함하고; 연결 모이어티가 바이오틴인 경우에, 중간 모이어티는 바이오틴-결합 모이어티, 예컨대, 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 유도체일 수 있다.

[0207] 또한 본 명세서에서는 헤드부 및 테일부를 포함하는 복수의 제1 계면활성제 분자를 함유하는 조성물이 제공되되, 여기서 제1 계면활성제 분자는, 연속상에, 부착된 적어도 하나의 제1 연결 모이어티를 갖는다. 몇몇 경우에, 계면활성제 분자는 부착된 복수의 연결 모이어티, 예컨대, 2 내지 20, 2 내지 15, 2 내지 10, 2 내지 8, 2 내지 6, 3 내지 20, 3 내지 15, 3 내지 10, 3 내지 8, 3 내지 5, 4 내지 20, 4 내지 15, 4 내지 10, 4 내지 8, 5 내지 20, 5 내지 15, 5 내지 10, 5 내지 9, 6 내지 20, 6 내지 15, 또는 6 내지 10, 예를 들어 2 내지 20, 예컨대, 2 내지 10, 몇몇 경우에 3 내지 10개의 연결 모이어티를 갖는다. 몇몇 경우에, 부착은 공유이다. 몇몇 경우에, 부착은 비공유이다. 몇몇 경우에, 연결 모이어티는 제1 계면활성제의 테일부에 부착된다. 몇몇 경우에, 연결 모이어티는 계면활성제 분자의 헤드부에 부착된다. 연결 모이어티는, 적합한 조건 하에, 몇몇 경우에 공유적으로, 다른 경우에 비공유적으로 서로 연결되고; 제1 연결 모이어티와는 상이한 제2 연결 모이어티와, 몇몇 경우에 공유적으로, 다른 경우에 비공유적으로 서로 연결되고; 중간 연결 모이어티와, 몇몇 경우에 공유적으로, 다른 경우에 비공유적으로 서로 연결되고; 또는 이들의 임의의 조합으로 연결되도록 구성된다. 소정의 실시형태에서, 조성물은 복수의 제2 계면활성제 분자를 더 포함하되, 제2 계면활성제 분자는, 평균, 예컨대, 2 내지 20, 2 내지 15, 2 내지 10, 2 내지 8, 2 내지 6, 3 내지 20, 3 내지 15, 3 내지 10, 3 내지 8, 3 내지 5, 4 내지 20, 4 내지 15, 4 내지 10, 4 내지 8, 5 내지 20, 5 내지 15, 5 내지 10, 5 내지 9, 6 내지 20, 6 내지 15, 또는 6 내지 10개의, 예를 들어 2 내지 20, 예컨대, 2 내지 10, 몇몇 경우에 3 내지 10개의 연결 모이어티를 포함한다. 몇몇 경우에, 부착은 공유이다. 몇몇 경우에, 부착은 비공유이다. 몇몇 경우에, 제1 및 제2 연결 모이어티는 반대로 하전된다. 조성물은 분산상을 더 포함할 수 있다. 분산상은 몇몇 경우에 제1 및/또는 제2 계면활성제 분자를 함유하지 않는다. 몇몇 경우에, 분산상은 제1 및/또는 제2 계면활성제 분자를 함유한다. 몇몇 경우에, 분산상은 제1 연결 모이어티 사이, 제1 연결 모이어티와 중간 연결 모이어티 사이, 제1 연결 모이어티와 제2 연결 모이어티 사이, 또는 이들의 조합에서 연결을 개시 또는 촉진시키는 하나 이상의 성분을 함유한다. 제1 연결 모이어티가, 예컨대, 바이오틴인 실시형태에서, 분산상은, 예컨대, 바이오틴-결합 모이어티, 예컨대, 본 명세서에 기재된 바이오틴-결합 모이어티, 예컨대, 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 유도체를 함유할 수 있다.

[0208] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 연속상 내에 분산상의 구획부들을 포함하는 에멀션이 제공되되, 여기서 분산상의 구획부들은 계면활성제 분자의 층을 형성하도록 연속상과 구획부의 계면에 위치되는 테일부 및 헤드부를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하고, 복수의 계면활성제 분자는 서로 가교결합되어 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성한다. 소정의 실시형태에서, 가교결합도는 1 내지 100, 2 내지 100, 5 내지 100, 10 내지 100, 20 내지 100, 30 내지 100, 40 내지 100, 50 내지 100, 60 내지 100, 70 내지 100, 80 내지 100, 90 내지 100, 95 내지 100, 98 내지 100, 또는 99 내지 100%, 또는 적어도 5, 10, 15, 20, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 또는 100%, 또는 이들 사이의 임의의 범위, 예를 들어 20 내지 100%, 예컨대, 40 내지 100%, 몇몇 경우에 60 내지 100%이다. 가교결합은 임의의 적합한 길이, 예컨대, 계면활성제의 헤드기의 최장 치수의 0.1 내지 100X, 0.1 내지 50X, 0.1 내지 30X, 0.1 내지 20X, 0.1 내지 10X, 0.1

내지 5X, 0.1 내지 3X, 0.1 내지 2X, 0.1 내지 1X, 0.1 내지 0.5X, 0.1 내지 0.3X, 1 내지 100X, 1 내지 50X, 1 내지 30X, 1 내지 20X, 1 내지 10X, 1 내지 5X, 1 내지 3X, 또는 1 내지 2X, 또는 계면활성제의 테일기의 최장 치수, 또는 계면활성제의 헤드기의 최장 치수의 0.1 내지 100X, 0.1 내지 50X, 0.1 내지 30X, 0.1 내지 20X, 0.1 내지 10X, 0.1 내지 5X, 0.1 내지 3X, 0.1 내지 2X, 0.1 내지 1X, 0.1 내지 0.5X, 0.1 내지 0.3X, 1 내지 100X, 1 내지 50X, 1 내지 30X, 1 내지 20X, 1 내지 10X, 1 내지 5X, 1 내지 3X, 또는 1 내지 2X의 가교 결합부를 통해서 이루어질 수 있다. 소정의 실시형태에서, 가교결합부의 길이는 0.1 내지 100nm, 0.1 내지 50nm, 0.1 내지 30nm, 0.1 내지 20nm, 0.1 내지 10nm, 0.1 내지 5nm, 0.1 내지 3nm, 0.1 내지 1nm, 0.1 내지 0.5nm, 1 내지 100nm, 1 내지 50nm, 1 내지 30nm, 1 내지 20nm, 1 내지 10nm, 1 내지 5nm, 또는 1 내지 3nm 길이이다. 계면활성제 분자는 가교결합된 헤드-투-헤드, 테일-투-테일, 또는 헤드-투-테일일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 동일한, 즉, 동일한 구조를 갖는 연결 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 소정의 부분은 계면활성제 분자의 다른 부분에서 연결 모이어티와는 상이한, 즉, 상이한 구조를 갖는 연결 모이어티를 포함한다. 부가적으로 또는 대안적으로, 모든 계면활성제 분자는 동일할 수 있거나, 즉, 동일한 구조를 가질 수 있거나, 또는 계면활성제 분자는 2, 3, 4, 5가지, 또는 5가지 초과 상이한 구조를 갖는 분자의 부분을 포함할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 제1 부분은 가교결합부의 부분을 형성하는 제1 연결 모이어티를 포함하고, 계면활성제 분자의 제2 부분은, 가교결합부의 부분을 형성하는, 제1 연결 모이어티와 동일 또는 상이한 제2 연결 모이어티를 포함한다. 계면활성제 분자 상의 연결 모이어티의 평균 개수는 1 내지 20, 1 내지 15, 1 내지 10, 2 내지 20, 2 내지 15, 2 내지 10, 2 내지 8, 2 내지 6, 3 내지 20, 3 내지 15, 3 내지 10, 3 내지 8, 3 내지 5, 4 내지 20, 4 내지 15, 4 내지 10, 4 내지 8, 5 내지 20, 5 내지 15, 5 내지 10, 5 내지 9, 6 내지 20, 6 내지 15, 또는 6 내지 10, 예를 들어, 2 내지 20, 예컨대, 2 내지 10, 몇몇 경우에 3 내지 10개의 연결 모이어티일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 연속상은 오일, 예컨대, 본 명세서에 기재된 바와 같은 플루오린화 오일을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 분산상은 수성 상을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제는 본 명세서에 기재된 바와 같은 플루오린화 계면활성제를 포함한다. 가교결합부는 공유, 비공유, 또는 이들의 조합일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 하나 이상의 부착된 바이오틴 모이어티를 포함하고, 가교결합은 바이오틴-결합 중간 모이어티, 예컨대, 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 유도체를 통해서 이루어진다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 본 명세서에 기재된 염료 확산 시험과 같은 염료 확산 시험에서 적어도 20%의 염료 확산의 감소에 의해 측정된 바와 같이, 에멀션 내 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 증가시킨다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 본 명세서에 기재된 바와 같은 PCR 시험과 같은 PCR 시험에 의해 측정된 바와 같이, 에멀션 내 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 적어도 20% 증가시킨다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 본 명세서에 기재된 바와 같은 유착 검정과 같은 유착 검정에 의해 측정된 바와 같이, 에멀션 내 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 적어도 20% 증가시킨다.

[0209]

소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 구획부들의 에멀션에서 공정을 수행하는 방법이 제공되되, 여기서 구획부들은 그들의 표면에 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 포함한다. 따라서, 본 명세서에서는 연속상 내 분산상의 구획부들의 에멀션에서 공정을 수행하는 방법이 제공되되, 해당 방법은 (i) 연속상 내 분산상의 구획부들의 에멀션을 제공하는 단계로서, 분산상의 구획부들은 계면활성제 분자의 층을 형성하도록 연속상과 구획부의 계면에 위치되는 테일부 및 헤드부를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하고, 복수의 계면활성제 분자는 서로 가교결합되어 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성하는, 상기 에멀션을 제공하는 단계; 및 (ii) 구획부에 대해 상기 공정을 수행하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 가교결합도는 1 내지 100, 2 내지 100, 5 내지 100, 10 내지 100, 20 내지 100, 30 내지 100, 40 내지 100, 50 내지 100, 60 내지 100, 70 내지 100, 80 내지 100, 90 내지 100, 95 내지 100, 98 내지 100, 또는 99 내지 100%, 또는 적어도 5, 10, 15, 20, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 또는 100%, 또는 이들 사이의 임의의 범위, 예를 들어 20 내지 100%, 예컨대, 40 내지 100%, 몇몇 경우에 60 내지 100%이다. 가교결합은 임의의 적합한 길이, 예컨대, 계면활성제의 헤드기의 최장 치수의 0.1 내지 100X, 0.1 내지 50X, 0.1 내지 30X, 0.1 내지 20X, 0.1 내지 10X, 0.1 내지 5X, 0.1 내지 3X, 0.1 내지 2X, 0.1 내지 1X, 0.1 내지 0.5X, 0.1 내지 0.3X, 1 내지 100X, 1 내지 50X, 1 내지 30X, 1 내지 20X, 1 내지 10X, 1 내지 5X, 1 내지 3X, 또는 1 내지 2X, 또는 계면활성제의 테일기의 최장 치수, 또는 계면활성제의 헤드기의 최장 치수의 0.1 내지 100X, 0.1 내지 50X, 0.1 내지 30X, 0.1 내지 20X, 0.1 내지 10X, 0.1 내지 5X, 0.1 내지 3X, 0.1 내지 2X, 0.1 내지 1X, 0.1 내지 0.5X, 0.1 내지 0.3X, 1 내지 100X, 1 내지 50X, 1 내지 30X, 1 내지 20X, 1 내지 10X, 1 내지 5X, 1 내지 3X, 또는 1 내지 2X의 가교결합부를 통해서 이루어질 수 있다. 소정의 실시형태에서, 가교결합부의 길이는 0.1 내지 100nm,

0.1 내지 50nm, 0.1 내지 30nm, 0.1 내지 20nm, 0.1 내지 10nm, 0.1 내지 5nm, 0.1 내지 3nm, 0.1 내지 1nm, 0.1 내지 0.5nm, 1 내지 100nm, 1 내지 50nm, 1 내지 30nm, 1 내지 20nm, 1 내지 10nm, 1 내지 5nm, 또는 1 내지 3nm 길이이다. 계면활성제 분자는 가교결합된 헤드-투-헤드, 테일-투-테일, 또는 헤드-투-테일일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 동일한, 즉, 동일한 구조를 갖는 연결 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 소정의 부분은 계면활성제 분자의 다른 부분에서 연결 모이어티와는 상이한, 즉, 상이한 구조를 갖는 연결 모이어티를 포함한다. 부가적으로 또는 대안적으로, 모든 계면활성제 분자는 동일할 수 있거나, 즉, 동일한 구조를 가질 수 있거나, 또는 계면활성제 분자는 2, 3, 4, 5가지, 또는 5가지 초과 상이한 구조를 갖는 분자의 부분을 포함할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 제1 부분은 가교결합부의 부분을 형성하는 제1 연결 모이어티를 포함하고, 계면활성제 분자의 제2 부분은, 가교결합부의 부분을 형성하는, 제1 연결 모이어티와 동일 또는 상이한 제2 연결 모이어티를 포함한다. 계면활성제 분자 상의 연결 모이어티의 평균 개수는 1 내지 20, 1 내지 15, 1 내지 10, 2 내지 20, 2 내지 15, 2 내지 10, 2 내지 8, 2 내지 6, 3 내지 20, 3 내지 15, 3 내지 10, 3 내지 8, 3 내지 5, 4 내지 20, 4 내지 15, 4 내지 10, 4 내지 8, 5 내지 20, 5 내지 15, 5 내지 10, 5 내지 9, 6 내지 20, 6 내지 15, 또는 6 내지 10, 예를 들어 2 내지 20, 예컨대, 2 내지 10, 몇몇 경우에 3 내지 10개의 연결 모이어티일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 연속상은 오일, 예컨대, 본 명세서에 기재된 바와 같은 플루오린화 오일을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 분산상은 수성 상을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제는 본 명세서에 기재된 바와 같은 플루오린화 계면활성제를 포함한다. 가교결합부는 공유, 비공유, 또는 이들의 조합일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 하나 이상의 부착된 바이오틴 모이어티를 포함하고, 가교결합은 바이오틴-결합 중간 모이어티, 예컨대, 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 유도체를 통해서 이루어진다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 본 명세서에 기재된 염료 확산 시험과 같은 염료 확산 시험에서 적어도 20%의 염료 확산의 감소에 의해 측정된 바와 같이, 에멀션 내 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 증가시킨다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 본 명세서에 기재된 바와 같은 PCR 시험과 같은 PCR 시험에 의해 측정된 바와 같이, 에멀션 내 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 적어도 20% 증가시킨다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 본 명세서에 기재된 바와 같은 유착 검정과 같은 유착 검정에 의해 측정된 바와 같이, 에멀션 내 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 적어도 20% 증가시킨다. 상기 방법은, 예컨대, 본 명세서에 기재된 바와 같은 방법에 의해 가교결합된 계면활성제 네트워크를 형성하는 단계를 더 포함할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 분산상이 연속상 내에 복수의 구획부를 형성하는 조건 하에, 적어도 하나의 연결 모이어티를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하는 연속상을 분산상과 접촉시킴으로써 형성되거나, 또는 형성된 것이고, 상기 방법은 구획부의 형성 동안 그리고/또는 후에, 연결 모이어티를 포함하는 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 조건을 제공하고, 연결 모이어티는 하나의 계면활성제 분자에서부터 적어도 하나의 다른 계면활성제 분자까지 가교결합부를 형성하여, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성한다. 소정의 실시형태에서, 가교결합 반응을 개시 및/또는 촉진시키는 조건은 연결 모이어티를 분산상 내의 하나 이상의 성분과 접촉시키는 것을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 연결 모이어티는 바이오틴이고, 분산상은 바이오틴-결합 모이어티, 예컨대, 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 유도체를 함유한다. 공정은 임의의 적합한 공정, 예컨대, 디지털 PCR, 고속대량 스크리닝, 균주 및 단백질 조작, 및 세포, 단백질 및 화학 분석일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 공정은 디지털 PCR이다. 소정의 실시형태에서, 공정은 복수의 구획부를 파괴시켜 개방하여, 예컨대, 구획부 내 분산상을 방출시키는 단계, 예컨대, 구획부의 적어도 5, 10, 20, 50, 70, 80, 90, 95 또는 99% 또는 이들 사이의 임의의 범위를 파괴시켜 개방하는 단계를 더 포함한다. 구획부를 베이킹하는 방법은 본 명세서에 기재된 바와 같을 수 있다.

[0210] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 연속상 내 분산상의 구획부들의 에멀션을 제조하는 방법이 제공되며, 여기서 구획부들은 연속상과의 계면에서 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 연속상 내 분산상의 구획부들의 에멀션을 제조하는 방법이 제공되며, 여기서 분산상의 구획부들은 계면활성제 분자의 층을 형성하도록 연속상과 구획부의 계면에 위치되는 테일부 및 헤드부를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하고, 상기 방법은 (i) 연속상을 분산상과 접촉시키는 단계로서, 분산상이 연속상 내에 복수의 구획부를 형성하는 조건 하에, (a) 연속상은 적어도 1개의 연결 모이어티를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하거나, 또는 (b) 분산상은 적어도 1개의 연결 모이어티를 포함하는 복수의 계면활성제 분자를 포함하거나, 또는 (c) (a) 및 (b) 둘 다인, 상기 접촉시키는 단계; 및 (ii) 구획부의 형성 동안 그리고/또는 후에, 연결 모이어티를 포함하는 계면활성제 분자들 사이에 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 조건을 제공하여, 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 형성하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서,

연속상은 연결 모이어티를 포함하는 계면활성제 분자를 포함하고, 상기 분산상은 그러하지 않고; 소정의 실시형태에서, 분산상은 부착된 연결 모이어티를 갖는 계면활성제 분자를 함유하고, 연속상은 그러하지 않고; 소정의 실시형태에서, 연속상은 제1 부착된 연결 모이어티를 갖는 계면활성제 분자를 함유하고, 분산상은 제2 부착된 연결 모이어티를 갖는 계면활성제 분자를 함유하고, 여기서 제1 및 제2 계면활성제는 동일할 수 있거나 또는 상이할 수 있고, 그리고/또는 제1 및 제2 연결 모이어티는 동일할 수 있거나 또는 상이할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 공정은, 가교결합도가 1 내지 100, 2 내지 100, 5 내지 100, 10 내지 100, 20 내지 100, 30 내지 100, 40 내지 100, 50 내지 100, 60 내지 100, 70 내지 100, 80 내지 100, 90 내지 100, 95 내지 100, 98 내지 100, 또는 99 내지 100%, 또는 적어도 5, 10, 15, 20, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 또는 100%, 또는 이들 사이의 임의의 범위, 예를 들어 20 내지 100%, 예컨대, 40 내지 100%, 몇몇 경우에 60 내지 100%가 될 때까지 계속된다. 형성된 가교결합부는 임의의 적합한 길이, 예컨대, 계면활성제의 헤드기의 최장 치수의 0.1 내지 100X, 0.1 내지 50X, 0.1 내지 30X, 0.1 내지 20X, 0.1 내지 10X, 0.1 내지 5X, 0.1 내지 3X, 0.1 내지 2X, 0.1 내지 1X, 0.1 내지 0.5X, 0.1 내지 0.3X, 1 내지 100X, 1 내지 50X, 1 내지 30X, 1 내지 20X, 1 내지 10X, 1 내지 5X, 1 내지 3X, 또는 계면활성제의 테일기의 최장 치수, 또는 계면활성제의 헤드기의 최장 치수의 1 내지 2X, 또는 0.1 내지 100X, 0.1 내지 50X, 0.1 내지 30X, 0.1 내지 20X, 0.1 내지 10X, 0.1 내지 5X, 0.1 내지 3X, 0.1 내지 2X, 0.1 내지 1X, 0.1 내지 0.5X, 0.1 내지 0.3X, 1 내지 100X, 1 내지 50X, 1 내지 30X, 1 내지 20X, 1 내지 10X, 1 내지 5X, 1 내지 3X, 또는 1 내지 2X일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 가교결합부의 길이는 0.1 내지 100nm, 0.1 내지 50nm, 0.1 내지 30nm, 0.1 내지 20nm, 0.1 내지 10nm, 0.1 내지 5nm, 0.1 내지 3nm, 0.1 내지 1nm, 0.1 내지 0.5nm, 1 내지 100nm, 1 내지 50nm, 1 내지 30nm, 1 내지 20nm, 1 내지 10nm, 1 내지 5nm, 또는 1 내지 3nm 길이이다. 계면활성제 분자는 가교결합된 헤드-투-헤드, 테일-투-테일 또는 헤드-투-테일일 수 있다. 계면활성제 분자 상의 연결 모이어티의 평균 개수는 1 내지 20, 1 내지 15, 1 내지 10, 2 내지 20, 2 내지 15, 2 내지 10, 2 내지 8, 2 내지 6, 3 내지 20, 3 내지 15, 3 내지 10, 3 내지 8, 3 내지 5, 4 내지 20, 4 내지 15, 4 내지 10, 4 내지 8, 5 내지 20, 5 내지 15, 5 내지 10, 5 내지 9, 6 내지 20, 6 내지 15, 또는 6 내지 10, 예를 들어 2 내지 20, 예컨대, 2 내지 10, 몇몇 경우에 3 내지 10개의 연결 모이어티일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 연속상은 오일, 예컨대, 본 명세서에 기재된 바와 같은 플루오린화 오일을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 분산상은 수성 상을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제는 본 명세서에 기재된 바와 같은 플루오린화 계면활성제를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 분산상은 연결 모이어티와 접촉될 경우 연결 모이어티를 포함하는 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 하나 이상의 성분을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 예컨대, 연결 모이어티가 바이오틴을 포함하고 중간 모이어티가 바이오틴-결합 모이어티, 예컨대, 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 유도체를 포함할 경우, 하나 이상의 성분은 계면활성제 연결 모이어티와 하나 이상의 결합을 형성하는 하나 이상의 중간 연결 모이어티를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제는 본 명세서에 기재된 바와 같은 플루오린화 계면활성제를 포함한다. 가교결합부는 공유, 비공유, 또는 이들의 조합일 수 있다. 가교결합부는 헤드-투-헤드, 테일-투-테일, 또는 헤드-투-테일일 수 있다. 구획부는 구획부 형성 동안 그리고/또는 후에 연결 모이어티를 포함하는 가교결합부의 형성을 개시 및/또는 촉진시키는 외부 자극, 예컨대, 광에 노출된다. 소정의 실시형태에서, 계면활성제 분자는 하나 이상의 부착된 바이오틴 모이어티를 포함하고, 가교결합은 바이오틴-결합 중간 모이어티, 예컨대, 스트렙타비딘 또는 스트렙타비딘 유도체를 통해서 이루어진다. 소정의 실시형태에서, 상기 방법에 의해 제조된 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 본 명세서에 기재된 염료 확산 시험과 같은 염료 확산 시험에서 적어도 20%의 염료 확산의 감소에 의해 측정된 바와 같이, 에멀션 내 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 증가시킨다. 소정의 실시형태에서, 상기 방법에 의해 제조된 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 본 명세서에 기재된 바와 같은 PCR 시험과 같은 PCR 시험에 의해 측정된 바와 같이, 에멀션 내 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서 적어도 20% 증가시킨다. 소정의 실시형태에서, 상기 방법에 의해 제조된 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크는, 본 명세서에 기재된 유착 검정과 같은 유착 검정에 의해 측정된 바와 같이, 에멀션 내 구획부의 안정성을, 가교결합된 계면활성제 네트워크 없는 동일한 에멀션에 비해서, 적어도 20%만큼 증가시킨다.

[0211] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서는 오일 연속상 내에 분산된 수성 상의 복수의 구획부를 포함하는 에멀션을 제조하는 방법이 제공되며, 여기서 구획부는 구획부의 표면에 계면활성제 분자의 가교결합된 네트워크를 더 포함하고, 상기 방법은 분산될 수성 상을 준비하는 단계, 개질된 계면활성제를 포함하는 오일상을 준비하는 단계로서, 개질된 계면활성제는 테일부 및 헤드부를 포함하고, 연결 모이어티를 더 포함하는, 상기 오일상을 준비하는 단계; 및 수성 상과 오일상을 혼합하여, 오일 내에 수성 상의 복수의 구획부의 에멀션을 형성하는 단계로서, 개질된 계면활성제 분자는 서로 가교결합부를 형성하여 상기 연속상과 상기 구획부의 계면에 계면활성제 분자의

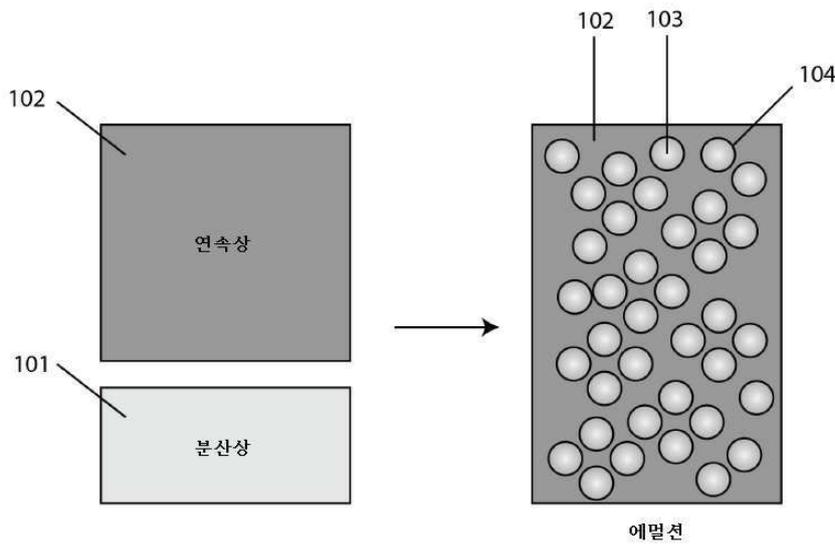
가교결합된 네트워크를 형성하는, 상기 에멀션을 형성하는 단계를 포함한다. 혼합은, 보텍싱, 피펫팅, 시린징, 진탕 등에 의해, 또는 마이크로유체 액적 형성 디바이스, 예컨대, T-합류 액적 생성 디바이스(충돌 방식 디바이스일 수 있음)에서 대량으로 행해질 수 있고; 소정의 실시형태에서 혼합은 마이크로유체 T-합류, 유동 집중 합류, 역-y 합류, 밀리피드 합류 또는 이들의 조합에 의해 행해진다. 소정의 실시형태에서 에멀션을 생성하기 위한 시스템이 보다 큰 기기, 예컨대, 샘플 전달 모듈, 액적 생성기 모듈, 열사이클러 모듈, 검출 모듈, 폐기물 관리 모듈, 또는 이들의 조합을 수용하는 기기 내에 내장된다. 보다 큰 기기는 내장된 마이크로유체 디바이스, 튜빙, 용기 또는 배트를 가질 수 있다. 기기는 전체로서 상기 기기의 성능을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 기기를 제어하는 관련된 소프트웨어 또는 상기 마이크로유체 디바이스를 포함할 수 있다.

[0212] 또한 본 명세서에서는 키트가 제공된다. 키트는 에멀션을 형성하는데 사용하기 위한 복수의 제1 계면활성제 분자를 수용하는 제1 용기를 포함할 수 있고, 여기서 제1 계면활성제 분자는 다른 계면활성제 분자에 직접적으로 또는 간접적으로 가교결합하기 위한 복수의 제1 연결 모이어티, 및 제1 용기를 수용하는 패키징을 포함한다. 키트는 또한 제1 용기의 계면활성제의 연결 모이어티들 간에 가교결합 반응을 개시 또는 촉진시키는 하나 이상의 성분을 수용하는 제2 용기, 및 제2 용기를 수용하는 패키징을 포함할 수 있다. 키트는 제2 연결 모이어티를 포함하는 복수의 제2 계면활성제 분자를 수용하는 제3 용기, 및 용기를 위한 패키징을 포함할 수 있다. 키트는 또한 사용 설명서를 포함할 수 있다.

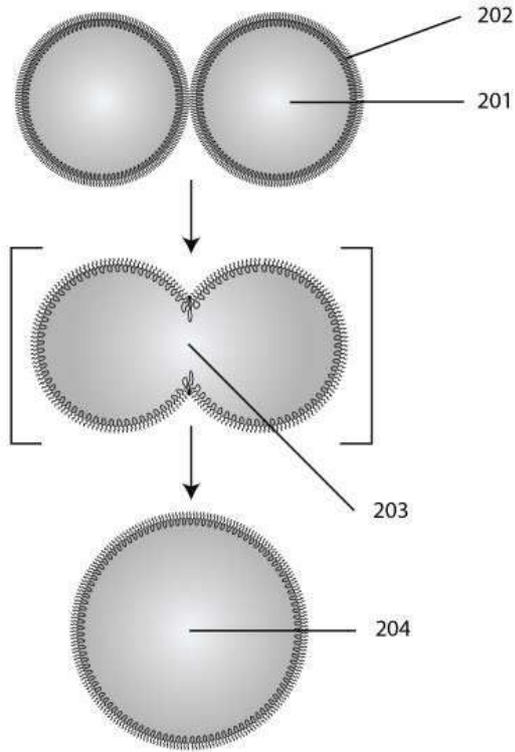
[0213] 본 발명의 바람직한 실시형태가 본 명세서에 도시되고 설명되었지만, 그러한 실시형태는 단지 예로서 제공되는 것이 당업자에게 명백할 것이다. 수많은 변형, 변화 및 치환이 이제 본 발명을 벗어나지 않고 당업자에게 떠오를 것이다. 본 명세서에 기재된 본 발명의 실시형태에 대한 다양한 대안이 본 발명을 실시하는데 이용될 수 있음을 이해해야 한다. 이하의 청구범위는 본 발명의 범위를 정의하고 이러한 청구범위 및 그 균등물의 범위 내의 방법 및 구조는 이에 의해 커버되는 것으로 의도된다.

**도면**

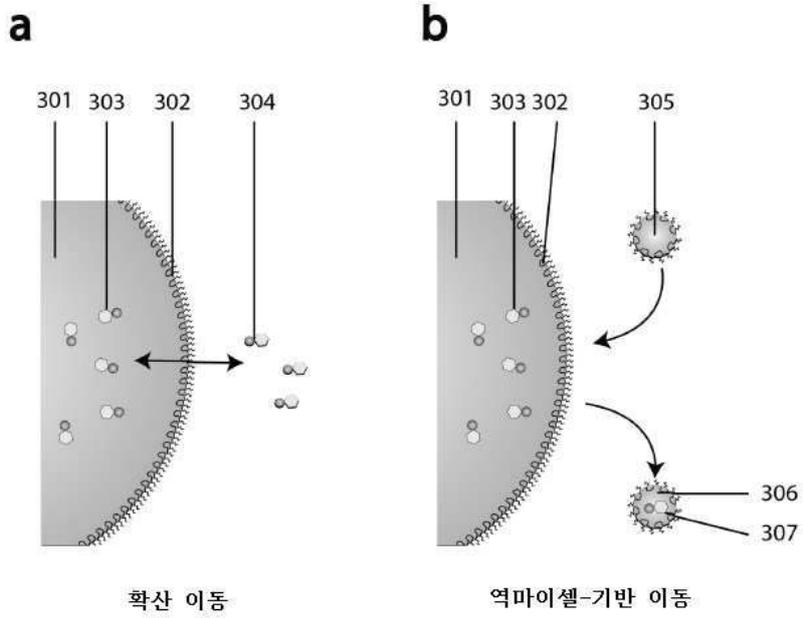
**도면1**



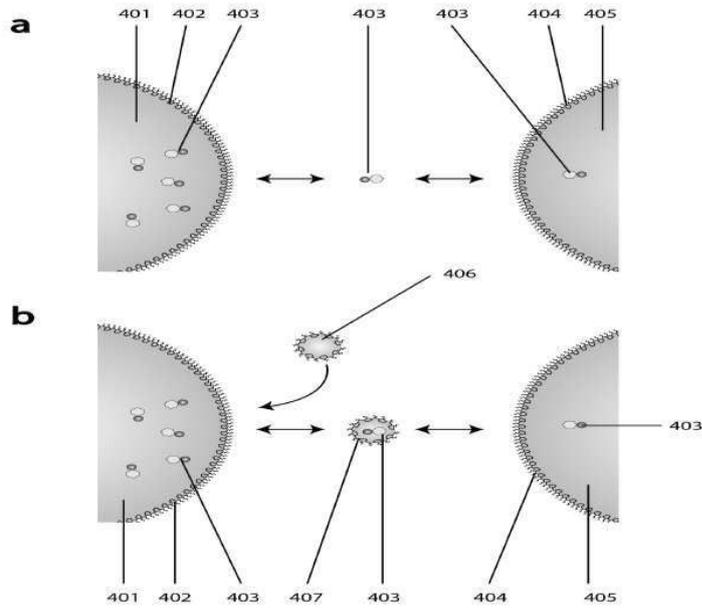
도면2



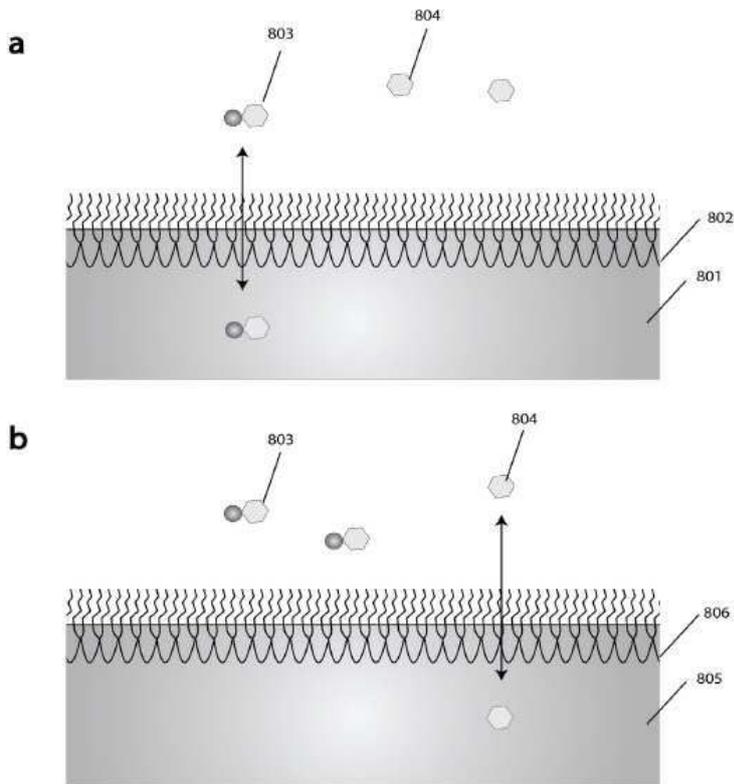
도면3



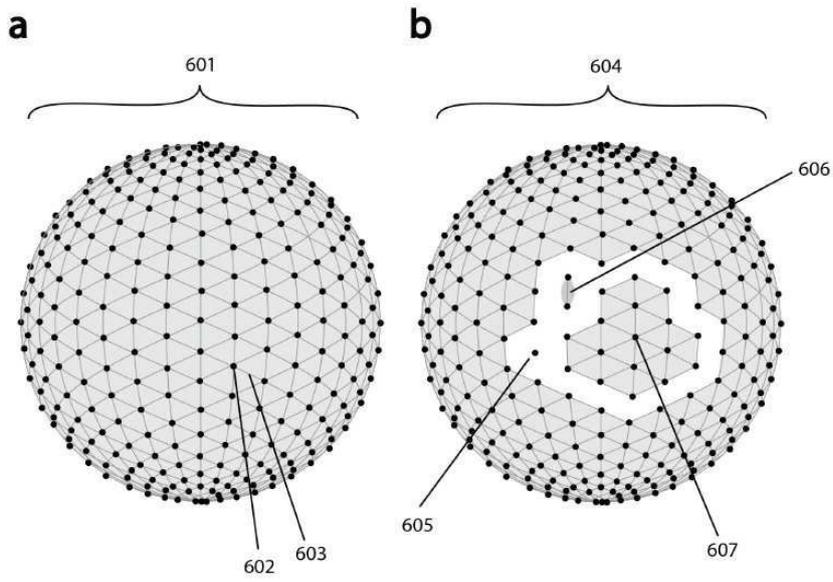
도면4



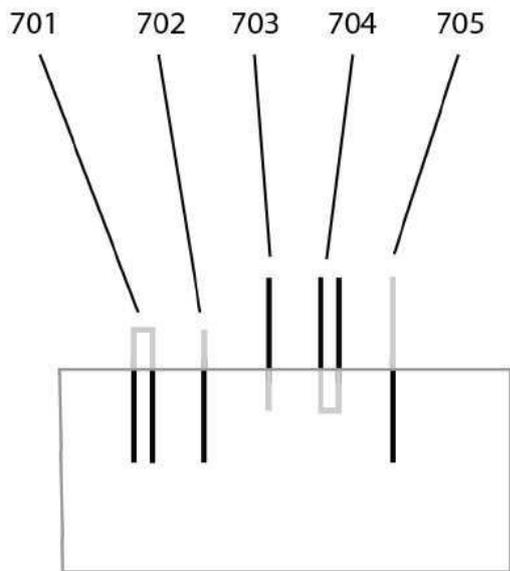
도면5



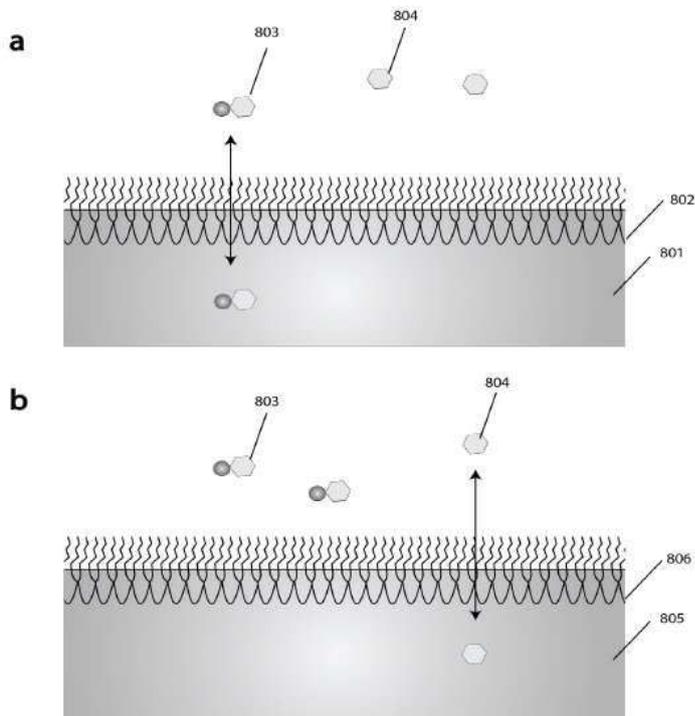
도면6



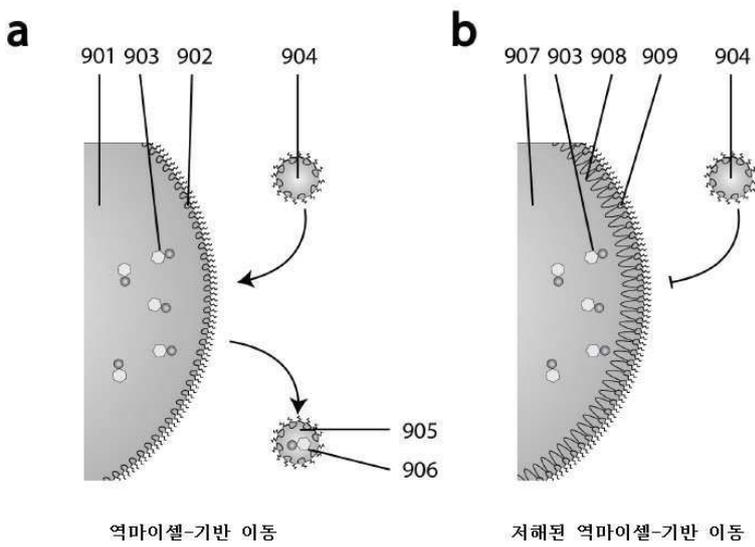
도면7



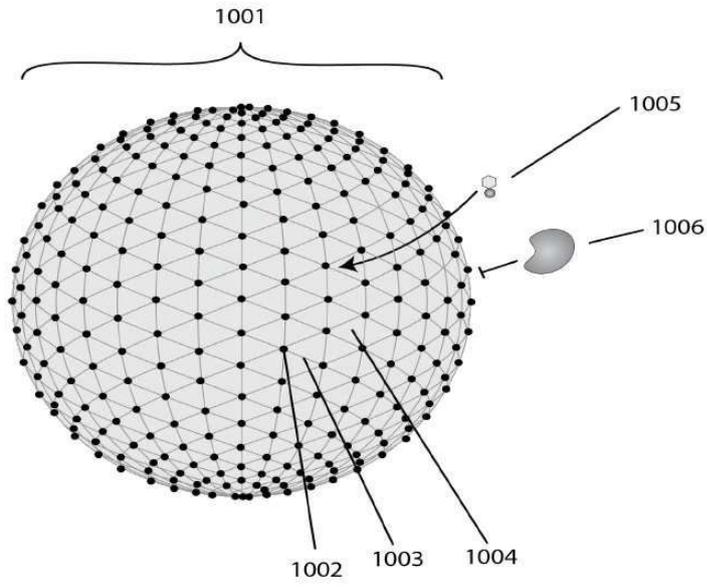
도면8



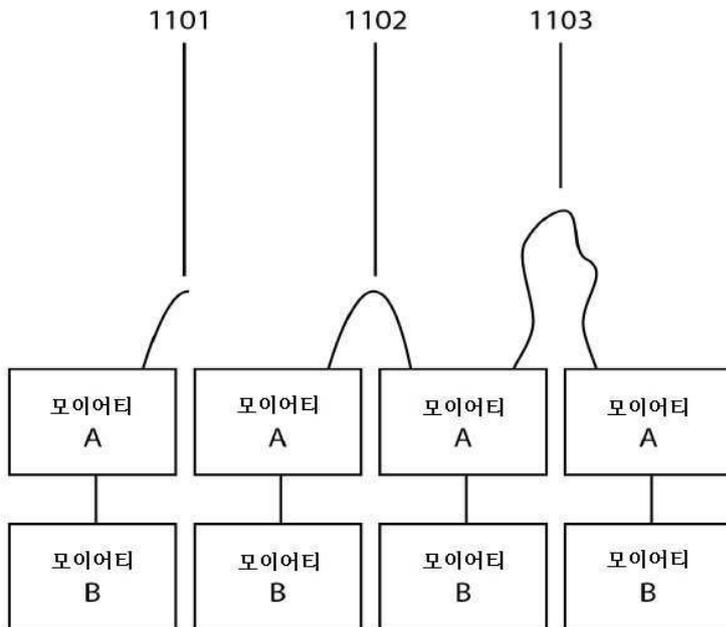
도면9



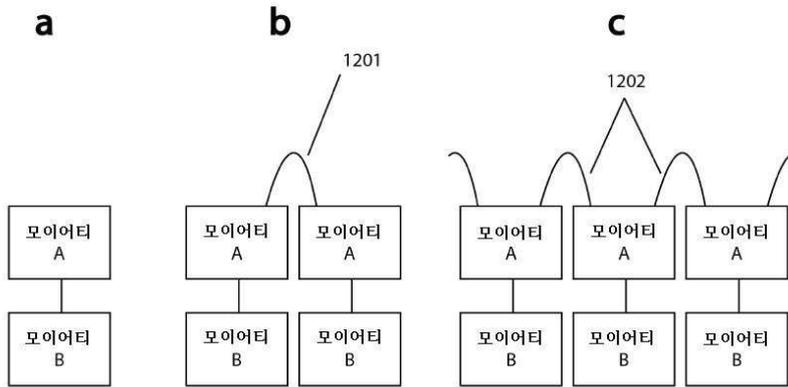
도면10



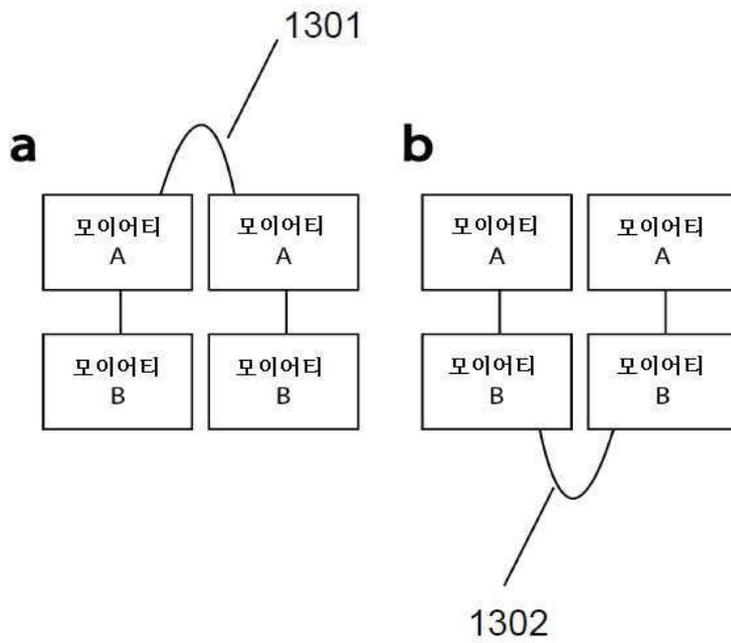
도면11



도면12

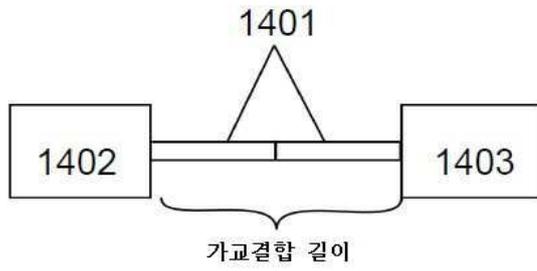


도면13

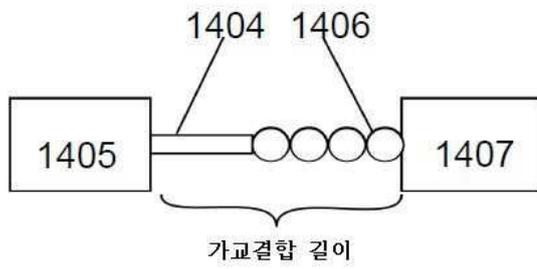


도면14

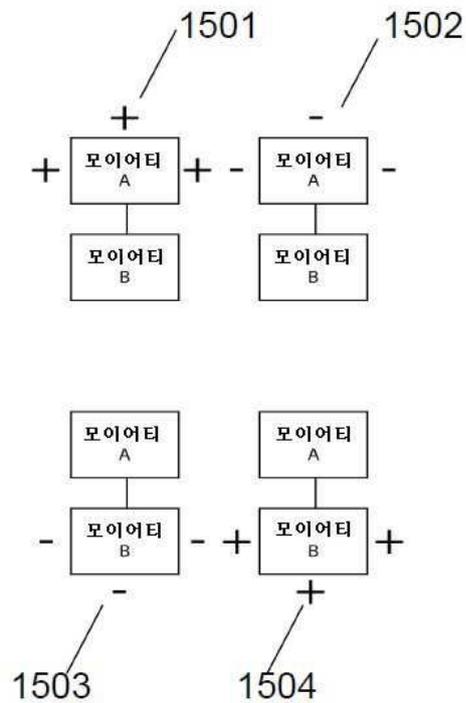
**a** 각 계면활성제에 대한 동일한 연결 모이어티



**b** 각 계면활성제에 대한 상이한 연결 모이어티

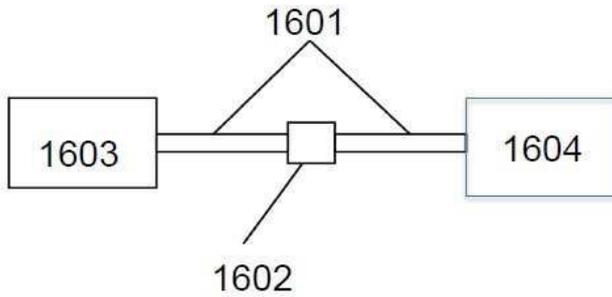


도면15

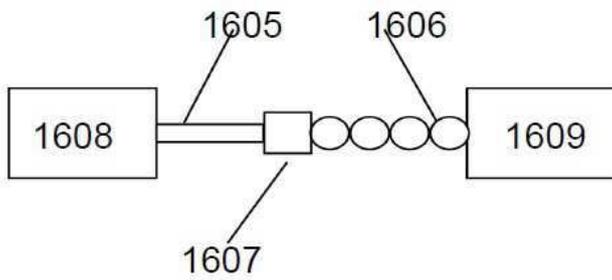


도면16a

**a** 동일한 링커 모이어티들 간의 중간 모이어티

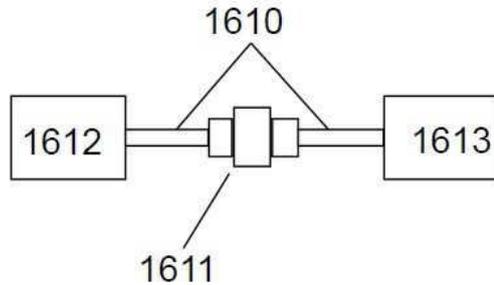


**b** 상이한 링커 모이어티들 간의 중간 모이어티



도면16b

**c** 다수의 중간 링커 모이어티



**d** 다각 중간 연결 모이어티

