(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0127997
(43) 공개일자 2023년09월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*C12M 1/12* (2006.01) *C08J 3/075* (2006.01)
*C08J 3/24* (2006.01) *C12M 1/00* (2006.01)
*C12N 5/071* (2010.01) *C12P 21/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*C12M 25/10* (2013.01)
*C08J 3/075* (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7021149
(22) 출원일자(국제) 2021년12월27일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년06월22일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2021/048567
(87) 국제공개번호 WO 2022/145420
국제공개일자 2022년07월07일
(30) 우선권주장
JP-P-2020-219024 2020년12월28일 일본(JP)
JP-P-2021-104094 2021년06월23일 일본(JP)

(71) 출원인
**모찌다 세이야쿠 가부시끼가이샤**
일본 160-8515 도쿄도 신주쿠쿠 요츠야 1쪼메 7반지
(72) 발명자
**후루사코, 쇼지**
일본 1608515 도쿄도 신주쿠쿠 요츠야 1쪼메 7반지 모찌다 세이야쿠 가부시끼가이샤 내
**츠다, 나오토**
일본 1608515 도쿄도 신주쿠쿠 요츠야 1쪼메 7반지 모찌다 세이야쿠 가부시끼가이샤 내
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**장수길, 이유리, 이석재**

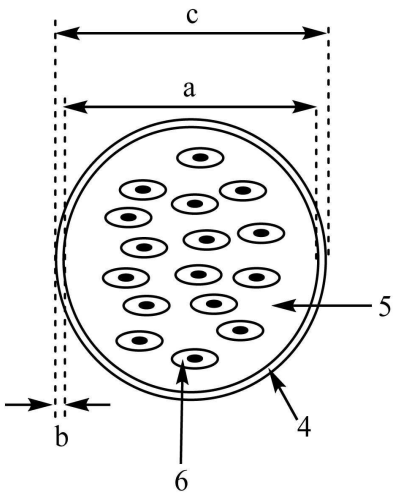
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **신규의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버**

## (57) 요 약

더한층의 항체의 생산 방법이 요구되고 있었다. 여기에서는, 항체 산생 세포(예를 들어, 항체 산생 CHO 세포) 또는 생리 활성 물질 산생 세포(예를 들어, 췌장 β 세포 유래의 MIN6 세포)와 가교 알긴산 겔을 포함하는 코어층을, 양이온성 폴리머로 피복한 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 당해 파이버를 사용하는 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법이 제공된다.

*대 표 도* - 도1



(52) CPC특허분류
***C08J 3/24*** (2021.05)
***C12M 23/20*** (2013.01)
***C12N 5/0676*** (2013.01)
***C12N 5/0682*** (2013.01)
***C12P 21/00*** (2013.01)
*C08J 2305/04* (2013.01)
*C12N 2533/74* (2013.01)

(72) 발명자
**사토, 츠토무**
일본 1608515 도쿄도 신주쿠쿠 요츠야 1쪼메 7반지 모찌다 세이야쿠 가부시끼가이샤 내
**나루미, 도모히로**
일본 1608515 도쿄도 신주쿠쿠 요츠야 1쪼메 7반지 모찌다 세이야쿠 가부시끼가이샤 내
**사토, 신고**
일본 1608515 도쿄도 신주쿠쿠 요츠야 1쪼메 7반지 모찌다 세이야쿠 가부시끼가이샤 내

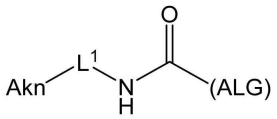
# *명 세 서*

## *청구범위*

### 청구항 1

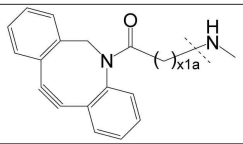
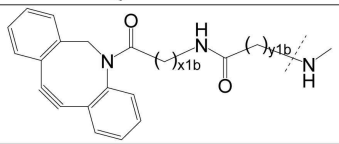
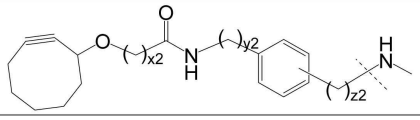
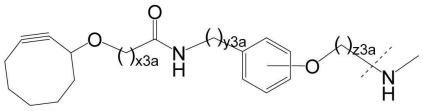
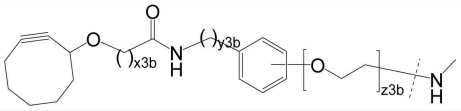
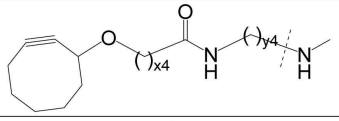
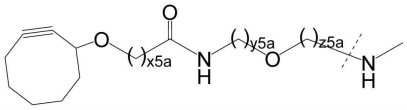
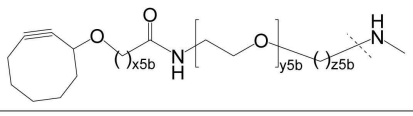
식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식(修飾) 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 얻어지는 가교 알긴산 겔에 포매된 항체 산생 세포 또는 생리 활성 물질 산생 세포를 포함하는 코어층과, 상기 코어층을 피복하는 양이온성 폴리머층과, 상기 양이온성 폴리머층을 피복하는 음이온성 폴리머층을 포함하는, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버:

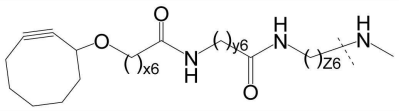
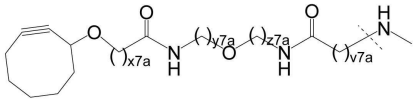
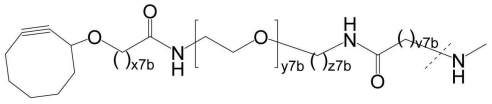
식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체는, 하기 식 (I):




(I)

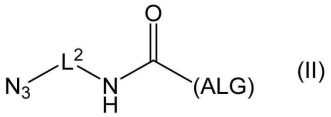
[식 (I) 중, (ALG)는 알긴산을 나타내고; -NHCO-는, 알긴산의 임의의 카르복실기를 통한 아미드 결합을 나타내고; Akn-$L^1$-(Akn은 환상 알킨기를 나타내고; -$L^1$-은, 환상 알킨기(Akn)와 결합하는 2가의 링커이다)은 하기 표:

| No. | Akn－$L^1$－ | |
|---|---|---|
| ALK-1a |  | x1a=1-6 |
| ALK-1b |  | x1b=1-6<br>y1b=1-6 |
| ALK-2 |  | x2=1-6<br>y2=0-6<br>z2=1-6 |
| ALK-3a |  | x3a=1-6<br>y3a=0-6<br>z3a=2-6 |
| ALK-3b |  | x3b=1-6<br>y3b=0-6<br>z3b=1-6 |
| ALK-4 |  | x4=1-6<br>y4=2-6 |
| ALK-5a |  | x5a=1-6<br>y5a=2-6<br>z5a=2-6 |
| ALK-5b |  | x5b=1-6<br>y5b=1-6<br>z5b=2-6 |

| No. | Akn－L¹－ | |
|---|---|---|
| ALK-6 |  | x6=1-6<br>y6=1-6<br>z6=2-6 |
| ALK-7a |  | x7a=1-6<br>y7a=2-6<br>z7a=2-6<br>v7a=1-6 |
| ALK-7b |  | x7b=1-6<br>y7b=1-6<br>z7b=2-6<br>v7b=1-6 |

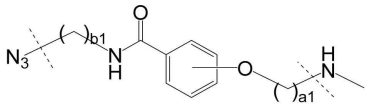
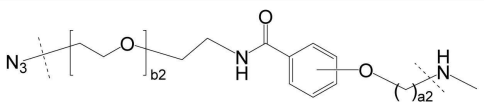
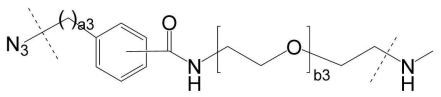
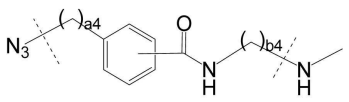
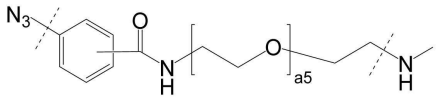
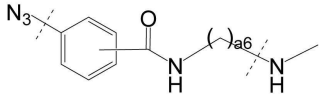
에 기재된 부분 구조식(각 식 중, 파선 우측은 포함하지 않는다)으로 이루어지는 군에서 선택되는 기이다]로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체이며;

식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체는, 하기 식 (II):



(II)

[식 (II) 중, (ALG)는 알긴산을 나타내고; -NHCO-는, 알긴산의 임의의 카르복실기를 통한 아미드 결합을 나타내고; $-L^2-$는, 하기 표:

| No. | $-L^2-$ | |
|---|---|---|
| LN-1 |  | a1=2-6<br>b1=2-6 |
| LN-2 |  | a2=2-6<br>b2=1-6 |
| LN-3 |  | a3=1-6<br>b3=1-6 |
| LN-4 |  | a4=1-6<br>b4=2-6 |
| LN-5 |  | a5=1-6 |
| LN-6 |  | a6=2-6 |

에 기재된 부분 구조식(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다)으로 이루어지는 군에서 선택되는 링커를 나타낸다]로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체.

**청구항 2**

제1항에 있어서, 코어층에 포함되는 항체 산생 세포가, 항체를 산생하는 유전자 재조합 동물 세포이며, 그의 숙주 세포가, CHO 세포, CHO 세포 아주, COS 세포, Sp2/0 세포, NS0 세포, SP2 세포, PERC6 세포, YB2/0 세포, YE2/0 세포, 1R983F 세포, Namalwa 세포, Wil-2 세포, Jurkat 세포, Vero 세포, Molt-4 세포, HEK293 세포,

BHK 세포, HT-1080 세포, KGH6 세포, P3X63Ag8.653 세포, C127 세포, JC 세포, LA7 세포, ZR-45-30 세포, hTERT 세포, NM2C5 세포 및 UACC-812 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 세포인, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버.

**청구항 3**

제1항에 있어서, 코어층에 포함되는 생리 활성 물질 산생 세포가, 인슐린 분비 세포, 췌장섬, 췌장섬 세포, 도파민 분비 세포, 뇌하수체 세포, 성장 호르몬 분비 세포, 부갑상선 세포, 신경 성장 인자 분비 세포, 혈액 응고 인자 분비 세포, 간세포, 상피 소체 세포, 에리트로포이에틴 분비 세포, 노르에피네프린 분비 세포 및 생리 활성 물질 발현 벡터(유전자 재조합 세포)로 이루어지는 군에서 선택되는 세포인, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버.

**청구항 4**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 코어층에 추가로 포함되는 성분이, 알긴산 용액, 알긴산 겔, 배지, 배양액, 콜라겐 용액, 메틸셀룰로오스 및 수크로오스 용액으로 이루어지는 군에서 선택되는 성분인, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버.

**청구항 5**

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 양이온성 폴리머층이, 폴리아미노산, 염기성 다당류 및 염기성 폴리머로 이루어지는 군에서 선택되는 양이온성 폴리머인, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버.

**청구항 6**

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 양이온성 폴리머층이, 폴리-L-오르니틴(PLO), 폴리-D-오르니틴(PDO), 폴리-DL-오르니틴, 폴리-D-리신(PDL), 폴리-L-리신(PLL), 폴리-DL-리신, 폴리-L-아르기닌(PLA), 폴리-D-아르기닌(PDA), 폴리-DL-아르기닌, 폴리-L-호모아르기닌(PLHA), 폴리-D-호모아르기닌(PDHA), 폴리-DL-호모아르기닌, 폴리-L-히스티딘(PLH), 폴리-D-히스티딘(PDH), 폴리-DL-히스티딘, 폴리메틸렌-CO-구아니딘(PMCG), 폴리알릴아민(PAA), 폴리비닐아민(PVA), 폴리에틸렌이민, 알릴아민-디알릴아민 공중합체 및 알릴아민-말레산 공중합체로 이루어지는 군에서 선택되는 양이온성 폴리머인, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버.

**청구항 7**

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 음이온성 폴리머층이, 음이온성 다당류, 황산화 다당류, 합성 폴리머, 음이온성 폴리아미노산, 이들의 화학 수식체, 이들의 가교체, 및 이들의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머인, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버.

**청구항 8**

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 음이온성 폴리머층이, 알긴산, 제1항에 기재된 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 제1항에 기재된 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 제1항에 기재된 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체로부터 형성되는 가교체, 및 이들의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머인, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버.

**청구항 9**

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 기재된 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법으로서,

(1) 항체 산생 세포 또는 생리 활성 물질 산생 세포 그리고 제1항에 기재된 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체가 포함되는 혼합 용액을, 2가 금속 이온을 포함하는 용액 중에 사출하여, 항체 또는 생리 활성 물질을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버를 얻는 공정,

(2) (1)에서 얻어진 항체 산생 세포 또는 생리 활성 물질 산생 세포를 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버를, 양이온성 폴리머를 포함하는 용액에 접촉시킴으로써, 양이온성 폴리머층으로 피복된 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 얻는 공정,

(3) (2)에서 얻어진 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를, 음이온성 폴리머를 포함하는 용액에 접촉시킴으로써, 음이온성 폴리머층으로 피복된 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 얻는 공정을 포함하

는 것을 특징으로 하는, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법.

**청구항 10**

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 기재된 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용하는, 항체 또는 생리 활성 물질의 제조 방법.

## 발명의 설명

### 기 술 분 야

[0001] 본 발명은 항체, 생리 활성 물질 등의 생산용의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버, 당해 파이버의 제조 방법 및 당해 파이버를 사용하는 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 항체, 생리 활성 물질 등의 생산용의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버, 당해 파이버의 제조 방법 및 당해 파이버를 사용하는 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법에 관한 것이다.

### 배 경 기 술

[0002] 지금까지, 동물 세포를 사용한 배양에 의한, 항체, 생리 활성 물질(예를 들어, 인터페론, 에리트로포이에틴, IL-2(인터류킨-2), CSF(콜로니 자극 인자), TNF(종양 괴사 인자) 등) 등의 다양한 생산 방법이 알려져 있었다.

[0003] 항체 생산의 경우, 항체 산생 세포로서는, CHO 세포(차이니즈 햄스터 난소 유래), Sp2/0 세포, NS0 세포 등이 숙주 세포로서 사용되고, 특히, CHO 세포는, 부유 배양이 가능한 세포이며, 또한 세포의 증식 속도가 빠르고, CHO 세포의 대량 배양에 의해, 목적으로 하는 단백질을 대량 생산하는 것이 용이한 것으로부터, 항체의 제조에 빈용되고 있다.

[0004] 근년, 항체 의약품의 개발·제조에 있어서, 항체 의약품의 안정 생산, 저비용화에 대한 대처가 요구되고 있고, 그것을 달성하기 위해, 보다 생산성이 높은 효율적인 생산 시스템(예를 들어, 연속 생산 방법, 소규모 생산 설비에 의한 필요한 양의 항체 산생을 위한 신규의 배양 기술 등)의 개발이 주목받고 있다.

[0005] 항체 산생 세포의 배양은, 항체 산생 세포주를 스피너 플라스크 등에서 세포를 만든 후에, 배지 조성·온도·교반 조건·가스 교환·pH 등의 배양 조건을 제어하면서 확대 배양을 행하여, 최종적으로 수천 내지 1만L 스케일의 대규모의 생산 배양 탱크에서 배양이 행해진다.

[0006] 항체 산생 세포를 고밀도로 연속 배양하는 경우, (1) 세포와 배양액의 분리 방법, (2) 효과적인 산소의 공급 방법, 등이 문제가 되는 경우가 있다. (1) 및 (2)에 대해서, 여러가지 개선이 도모되고 있지만, 항체를 효율적으로 생산시키기 위해서는, 다른 여러가지 문제를 해결할 필요가 있게 되어 있다.

[0007] 코어층에 각종 세포가 포함되고, 셸층이 알긴산 겔을 포함하는, 코어·쉘 구조를 갖는 알긴산 겔 파이버가 알려져 있다(특허 문헌 1: 국제 공개 제2011/046105호 팸플릿, 특허 문헌 2: 일본 특허 공개 제2016-77229호 공보).

[0008] 코어층에 항체 산생 세포가 포함되고, 셸층이 알긴산 겔을 포함하는, 코어·쉘 구조를 갖는 알긴산 겔 파이버가 알려져 있다(특허 문헌 3: 국제 공개 제2020/032221호 팸플릿).

[0009] 중공부에 각종 세포가 포함되고, 외각층이 알긴산 겔인, 알긴산 겔 중공 파이버가 알려져 있다(특허 문헌 4: 국제 공개 제2015/178427호 팸플릿, 특허 문헌 5: 일본 특허 제6601931호 공보, 특허 문헌 6: 일본 특허 공개 제2014-236698호 공보).

[0010] 세포(구체적으로는, 인간 피부 섬유아세포, HEK293T 세포)를 포함하는 알긴산하이드로겔 파이버를, 양이온성 수용성 폴리머로 표면이 피복된 나노 입자를 포함하는 접착제를 사용하여 접착한 번들이 알려져 있다(특허 문헌 7: 국제 공개 제2019/078251호 팸플릿, 특허 문헌 8: 국제 공개 제2019/123886호 팸플릿).

[0011] 신경 줄기 세포 또는 신경 줄기 세포를 포함하는 알긴산하이드로겔 파이버를, 키토산을 사용하여 번들화한 이식용 신경 다발이 알려져 있다(특허 문헌 9: 일본 특허 공개 제2014-136128호 공보).

[0012] 접착성 세포(구체적으로는, C2C12 세포), 마이크로캐리어 및 겔상의 다당류(구체적으로는, 알긴산 겔)를 포함하는 혼합물이 폴리아미노산으로 피복되어 있는 세포 구조체(예를 들어, 시트상(판상), 파이버상(섬유상), 구상 등을 들 수 있다)가 알려져 있다(특허 문헌 10: 일본 특허 공개 제2019-075993호 공보).

[0013] 세포(293/GFP 세포)가 포함되는 알긴산칼슘마이크로파이버를 폴리-L-리신으로 피복하고, 시트르산나트륨 용액으

로 용해하여 얻어진, 관상 겔이 알려져 있다(비특허 문헌 1: PA-Lab Chip, 2008, 8, p1255-1257).

[0014] 알긴산의 임의의 1개 이상의 카르복실기에, 아미드 결합 및 2가의 링커를 통하여 환상 알킨기 또는 아지드기가 도입된 화학 수식(修飾) 알긴산 유도체가 알려져 있다(특허 문헌 11: 국제 공개 제2019/240219호 팸플릿, 특허 문헌 12: 국제 공개 제2021/125255호 팸플릿).

[0015] 코어층에 항체 산생 세포가 포함되고, 셸층이 화학 수식 알긴산 유도체로부터 형성되는 가교 알긴산 겔을 포함하는, 코어·쉘 구조를 갖는 알긴산 겔 파이버가 알려져 있다(특허 문헌 13: 국제 공개 제2021/125279호 팸플릿).

[0016] 특허문헌 1 내지 13 및 비특허문헌 1에는, 본 발명의 항체, 생리 활성 물질 등의 생산용의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버, 각 겔 파이버의 제조 방법 및 각 겔 파이버를 사용하는 항체 등의 제조 방법이 개시되어 있지 않고, 시사도 되어 있지 않다.

## *선행기술문헌*

### *특허문헌*

[0017] (특허문헌 0001) 국제 공개 제2011/046105호 팸플릿

(특허문헌 0002) 일본 특허 공개 제2016-77229호 공보

(특허문헌 0003) 국제 공개 제2020/032221호 팸플릿

(특허문헌 0004) 국제 공개 제2015/178427호 팸플릿

(특허문헌 0005) 일본 특허 제6601931호 공보

(특허문헌 0006) 일본 특허 공개 제2014-236698호 공보

(특허문헌 0007) 국제 공개 제2019/078251호 팸플릿

(특허문헌 0008) 국제 공개 제2019/123886호 팸플릿

(특허문헌 0009) 일본 특허 공개 제2014-136128호 공보

(특허문헌 0010) 일본 특허 공개 제2019-075993호 공보

(특허문헌 0011) 국제 공개 제2019/240219호 팸플릿

(특허문헌 0012) 국제 공개 제2021/125255호 팸플릿

(특허문헌 0013) 국제 공개 제2021/125279호 팸플릿

### *비특허문헌*

[0018] (비특허문헌 0001) PA-Lab Chip, 2008, 8, p1255-1257

## *발명의 내용*

### *해결하려는 과제*

[0019] 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함한 알긴산 겔 파이버, 특히, 파이버가 분해되지 않고, 장기간(예를 들어, 7일 이상, 14일 이상, 28일 이상 등)에 걸쳐서 세포 배양이 가능하게 되는, 보다 실용적인 알긴산 겔 파이버가 요구되고 있었다.

### *과제의 해결 수단*

[0020] 본 발명자들은, 예의 연구를 거듭한 결과, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하고, 후술하는 양태 [1]에 기재된 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으

로써 얻어지는 가교 알긴산 겔을, 양이온성 폴리머로 피복함으로써 형성되는, 항체, 생리 활성 물질 등의 생산용의 신규의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 그의 제조 방법을 알아냈다. 또한, 당해 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용하여, 항체, 생리 활성 물질 등의 산생 세포의 배양을 행한 바, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버가 분해되지 않고, 항체, 생리 활성 물질 등을 장기간 연속하여 산생할 수 있음을 알아내어 본 발명을 완성하기에 이르렀다. 또한, 후술하는 양태 [1B]에 기재된 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 얻어지는 가교 알긴산 겔을, 양이온성 폴리머로 피복함으로써 형성되는, 항체, 생리 활성 물질 등의 생산용의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 음이온성 폴리머로 피복함으로써 형성되는, 항체, 생리 활성 물질 등의 생산용의 신규의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 그의 제조 방법을 알아냈다. 또한, 당해 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용하여, 항체 산생 세포의 배양을 행한 바, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버가 분해되지 않고, 항체 등을 장기간 연속하여 산생할 수 있음을 알아냈다.

## 발명의 효과

[0021] 본 발명에 의해, 신규의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 당해 겔 파이버를 사용한, 항체, 생리 활성 물질 등의 생산 방법이 제공된다. 몇 가지 양태에서는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포, 후술하는 양태 [1]에 기재된 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 등이 포함되는 혼합액을 사용하여 제작되는 가교 알긴산 겔을, 양이온성 폴리머로 피복함으로써, 장기간 연속하여 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버가 제공된다. 또한, 본 발명에 의해, 신규의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 당해 겔 파이버를 사용한, 항체, 생리 활성 물질 등의 생산 방법이 제공된다. 몇 가지 양태에서는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포, 후술하는 양태 [1B]에 기재된 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 등이 포함되는 혼합액을 사용하여 제작되는 가교 알긴산 겔을, 양이온성 폴리머로 피복함으로써 얻어지는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 음이온성 폴리머로 피복함으로써, 장기간 연속하여 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버가 제공된다.

[0022] 후술하는 실시예로부터, 항체 산생 세포(항GPVI 항체 산생 CHO 세포, 토실리주맙 산생 CHO 세포) 또는 생리 활성 물질 산생 세포(췌장 β 세포 유래의 MIN6 세포), 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 등이 포함되는 혼합액을 사용하여 형성되는 가교 알긴산 겔(코어층이라고도 한다)을 폴리-L-오르니틴, 폴리알릴아민, 폴리에틸렌이민, 또는 폴리메틸렌-CO-구아니딘(PMCG)의 양이온성 폴리머(양이온성 폴리머층이라고도 한다)로 피복함으로써, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 제작할 수 있고, 당해 파이버를 사용하여 배양한 바, 장기간(후술하는 실시예에 있어서, 최대 47일간) 연속하여, 항체 또는 인슐린을 산생할 수 있음을 알았다. 본 발명의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포에 적합한 환경을 제공하고 있어, 당해 파이버의 코어층에서 산생된 항체, 생리 활성 물질 등은, 코어층, 양이온성 폴리머층을 연속적으로 투과하여, 당해 파이버 밖으로 방출되는 특징을 갖는다.

[0023] 또한, 후술하는 실시예로부터, 토실리주맙 산생 CHO 세포가 코어층에 포함되는 상기 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 양이온성 폴리머층의 외측을, 음이온성 폴리머(음이온성 폴리머층이라고도 한다)로 하고, 알긴산, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 피복함으로써, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 제작할 수 있으며, 또한 당해 파이버를 사용하여 배양함으로써, 장기간(후술하는 실시예에 있어서, 최대 35일간) 연속하여, 항체가 산생할 수 있음을 알았다. 본 발명의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 전술한 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버와 마찬가지로, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포에 적합한 환경을 제공하고 있어, 당해 파이버의 코어층에서 산생된 항체, 생리 활성 물질 등이, 코어층, 양이온성 폴리머층 및 음이온성 폴리머층을 연속적으로 투과하여, 당해 파이버 밖으로 방출되는 특징을 갖는다.

[0024] 본 발명의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 항체, 생리 활성 물질 등의 생산에 적합한 환경을 제공한다. 코어층에 봉입되어 있는 항체, 생리 활성 물질 등의 산생 세포에 대한 물리적 스트레스가 적고, 봉입한 당해 세포가 장기간에 걸쳐 항체, 생리 활성 물질 등을 계속하여 산생할 것이 기대된다. 따라서, 이러한 파이버를 사용한 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법은, 항체, 생리 활성 물질 등의 생산 효율을 비약적으로 향상시킬 것을 기대할 수 있다. 예를 들어, 항체 생산의 경우, 대규모 배양 탱크를 요하는 항체의 부유 배양과는 달리, 소규모의 생산 설비로 항체를 제조하는 것도 기대된다. 소량·다종 품목의 항체 의약품 제조에도 적합한 차세대형 항체 의약품의 연속 생산 기술로서도 기대된다.

## 도면의 간단한 설명

[0025] 도 1은 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 단면도이다.

도 2는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층과 양이온성 폴리머층의 모식도이다.

도 3은 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 과정의 하나의 양태를 설명하는 모식도이다.

도 4는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 횡단면이다. 코어층에서 산생된 항체, 생리 활성 물질 등, 대사물 및 노폐물, 그리고 배양액(영양원) 및 산소가 양이온성 폴리머층을 투과하는 것을 설명하는 모식도이다.

도 5는 (실시예 F2-C)의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB2-A-5-c1)의 배양 전의 사진이다.

도 6은 (실시예 F2-C)의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB2-A-5-c1)의 배양 후의 사진이다.

도 7은 (실시예 F3)에서 제작된 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 형광 현미경에 의한 사진이다.

도 8은 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 단면도이다.

도 9는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층, 양이온성 폴리머층 및 음이온성 폴리머층의 모식도이다.

도 10은 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 과정의 하나의 양태를 설명하는 모식도이다.

도 11은 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 횡단면이다. 코어층에서 산생된 항체, 생리 활성 물질 등, 대사물 및 노폐물, 그리고 배양액(영양원) 및 산소가 양이온성 폴리머층 및 음이온성 폴리머층을 투과하는 것을 설명하는 모식도이다.

도 12는 (실시예 F9)의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB9-3-c3)의 배양 전의 사진이다.

도 13은 (실시예 F9)의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB9-3-c3)의 배양 후의 사진이다.

도 14는 (실시예 F9)의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB9-2-c2)의 배양 전의 사진이다.

도 15는 (실시예 F9)의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB9-2-c2)의 배양 후의 사진이다.

도 16은 (실시예 F12)의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB12-ac1)의 배양 전의 사진이다.

도 17은 (실시예 F12)의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB12-ac1)의 배양 후의 사진이다.

도 18은 (실시예 F12)의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB12-ac3)의 배양 전의 사진이다.

도 19는 (실시예 F12)의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB12-ac3)의 배양 후의 사진이다.

도 20은 (실시예 F12)의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB12-ac2)의 배양 전의 사진이다.

도 21은 (실시예 F12)의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB12-ac2)의 배양 후의 사진이다.

도 22는 (실시예 F14)에서 제작된 형광 표지 알긴산 겔 파이버(FB14-c2-2)의 형광 현미경에 의한 사진이다.

도 23은 (실시예 F14)에서 제작된 형광 표지 알긴산 겔 파이버(FB14-c1-1)의 형광 현미경에 의한 사진이다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

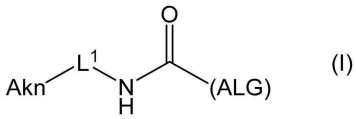
[0026] [구체적 양태]

[0027] 여기에서는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버, 당해 파이버의 제조 방법 및 당해 파이버를 사용하는 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법의 구체적 양태에 대하여 설명한다. 또한, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버, 당해 파이버의 제조 방법 및 당해 파이버를 사용하는 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법의 구체적 양태에 대해서도 설명한다. 보다 구체적으로는, 이하의 양태 [1] 내지 [7C-2]에 기재된 바와 같다.

[0028] [1] 제1 양태는 다음과 같다. 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포와, 하기 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 얻어지는 가교 알긴산 겔을 포함하는 코어층을, 양이온성 폴리머(양이온성 폴리머층)로 피복하여 얻어지는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버.

[0029] [식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체]

[0030] 하기 식 (I):

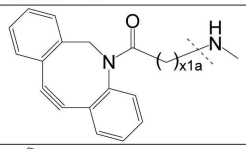
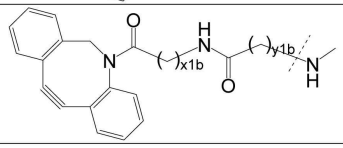
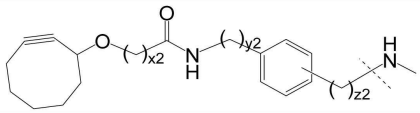
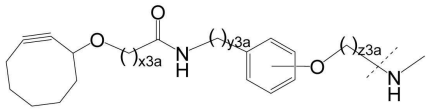
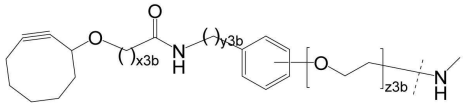
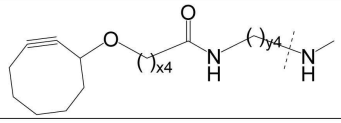
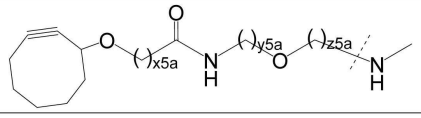
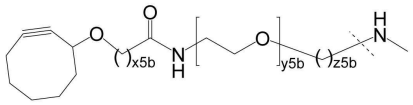


(I)

[0031]

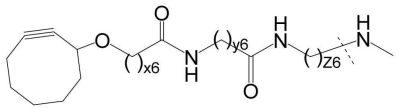
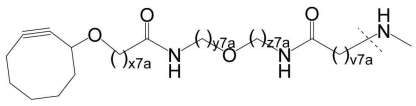
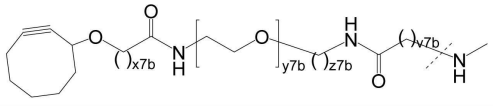
[0032] [식 (I) 중, (ALG)는 알긴산을 나타내고; -NHCO-는, 알긴산의 임의의 카르복실기를 통한 아미드 결합을 나타내고; Akn-$L^1$-(Akn은 환상 알킨기를 나타내고; -$L^1$-은, 환상 알킨기(Akn)와 결합하는 2가의 링커이다)은 하기 표:

[0033] [표 1-1]

| No. | Akn-$L^1$- | |
|---|---|---|
| ALK-1a |  | x1a=1-6 |
| ALK-1b |  | x1b=1-6<br>y1b=1-6 |
| ALK-2 |  | x2=1-6<br>y2=0-6<br>z2=1-6 |
| ALK-3a |  | x3a=1-6<br>y3a=0-6<br>z3a=2-6 |
| ALK-3b |  | x3b=1-6<br>y3b=0-6<br>z3b=1-6 |
| ALK-4 |  | x4=1-6<br>y4=2-6 |
| ALK-5a |  | x5a=1-6<br>y5a=2-6<br>z5a=2-6 |
| ALK-5b |  | x5b=1-6<br>y5b=1-6<br>z5b=2-6 |

[0034]

[0035] [표 1-2]

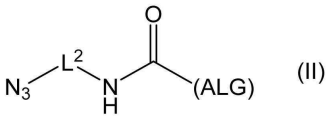
| No. | Akn-$L^1$- | |
|---|---|---|
| ALK-6 |  | x6=1-6<br>y6=1-6<br>z6=2-6 |
| ALK-7a |  | x7a=1-6<br>y7a=2-6<br>z7a=2-6<br>v7a=1-6 |
| ALK-7b |  | x7b=1-6<br>y7b=1-6<br>z7b=2-6<br>v7b=1-6 |

[0036]

[0037] 에 기재된 부분 구조식(각 식 중, 파선 우측은 포함하지 않는다)으로 이루어지는 군에서 선택되는 기이다]로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체.

[0038] [식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체]

[0039] 하기 식 (II):

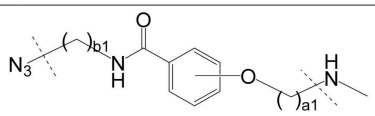
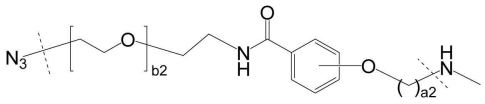
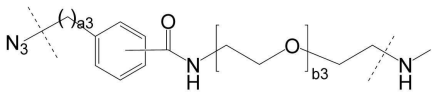
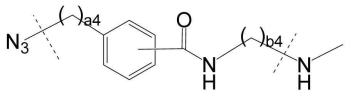
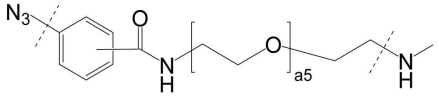
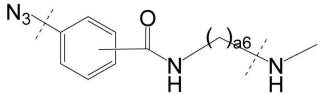


(II)

[0040]

[0041] [식 (II) 중, (ALG)는 알긴산을 나타내고; -NHCO-는, 알긴산의 임의의 카르복실기를 통한 아미드 결합을 나타내고; $-L^2-$는, 하기 표:

[0042] [표 2]

| No. | $-L^2-$ | |
|---|---|---|
| LN-1 |  | a1=2-6<br>b1=2-6 |
| LN-2 |  | a2=2-6<br>b2=1-6 |
| LN-3 |  | a3=1-6<br>b3=1-6 |
| LN-4 |  | a4=1-6<br>b4=2-6 |
| LN-5 |  | a5=1-6 |
| LN-6 |  | a6=2-6 |

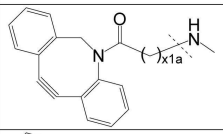
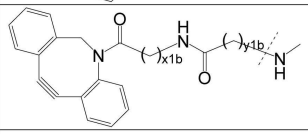
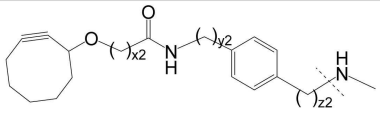
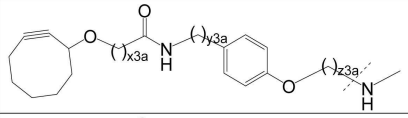
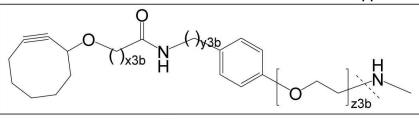
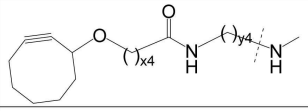
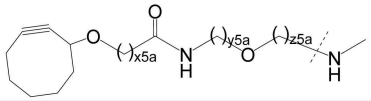
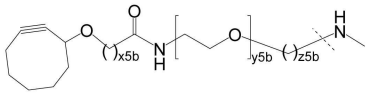
[0043]

[0044] 에 기재된 부분 구조식(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다)으로 이루어지는 군에서 선택되는 링커를 나타낸다]로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체.

[0045] [1A] 제1A 양태는 다음과 같다. 코어층과, 상기 코어층의 외측에 배치되는 양이온성 폴리머층을 포함하는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버이며, 상기 코어층은, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포와 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교가 형성된 가교 알긴산 겔을 포함하고, 상기 양이온성 폴리머층은, 양이온성 폴리머인, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버. 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체는, 상기 양태 [1]에 정의된 것과 동일하다.

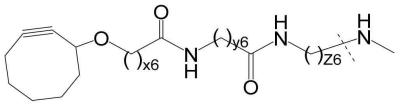
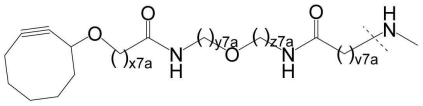
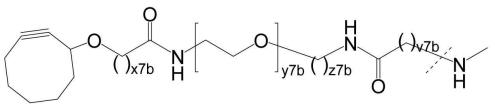
[0046] [1-1-1] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 $Akn-L^1-$은, 바람직하게는, 하기 표:

[0047] [표 3-1]

| No. | Akn－L$^1$－ | |
|---|---|---|
| ALK-1a-1 |  | x1a=2-6 |
| ALK-1b-1 |  | x1b=1-6<br>y1b=1-6 |
| ALK-2-1 |  | p 위치<br>x2=1-4<br>y2=0-6<br>z2=1-6 |
| ALK-3a-1 |  | x3a=1-6<br>y3a=0-6<br>z3a=2-6 |
| ALK-3b-1 |  | x3b=1-6<br>y3b=0-6<br>z3b=1-6 |
| ALK-4-1 |  | x4=1-6<br>y4=2-6 |
| ALK-5a-1 |  | x5a=1-6<br>y5a=2-6<br>z5a=2-6 |
| ALK-5b-1 |  | x5b=1-6<br>y5b=1-6<br>z5b=2-6 |

[0048]

[0049] [표 3-2]

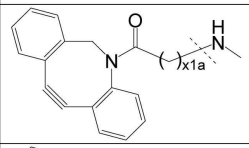
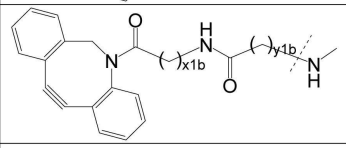
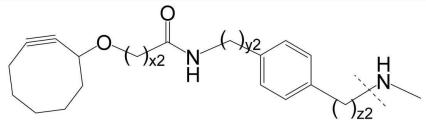
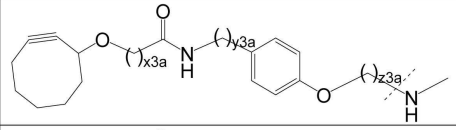
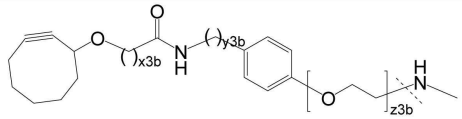
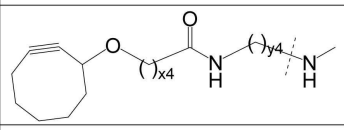
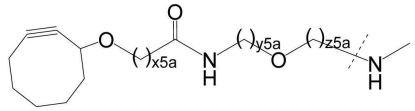
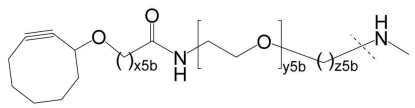
| No. | Akn－L$^1$－ | |
|---|---|---|
| ALK-6-1 |  | x6=1-6<br>y6=1-6<br>z6=2-6 |
| ALK-7a-1 |  | x7a=1-6<br>y7a=2-6<br>z7a=2-6<br>v7a=1-6 |
| ALK-7b-1 |  | x7b=1-6<br>y7b=1-6<br>z7b=2-6<br>v7b=1-6 |

[0050]

[0051] 에 기재된 부분 구조식(각 식 중, 파선 우측은 포함하지 않는다)으로 이루어지는 군에서 선택되는 기이다.

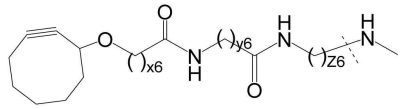
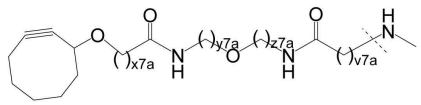
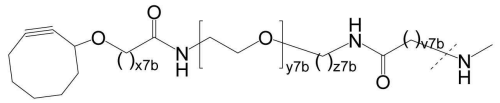
[0052] [1-1-2] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 Akn-L$^1$-은, 보다 바람직하게는, 하기 표:

[0053] [표 3-3]

| No. | Akn－L¹－ | |
|---|---|---|
| ALK-1a-2 |  | x1a=2-6 |
| ALK-1b-2 |  | x1b=1-3<br>y1b=1-3 |
| ALK-2-2 |  | x2=1-4<br>y2=1-6<br>z2=1-6 |
| ALK-3a-2 |  | x3a=1-3<br>y3a=0-3<br>z3a=2-4 |
| ALK-3b-2 |  | x3b=1-3<br>y3b=0-3<br>z3b=1-3 |
| ALK-4-2 |  | x4=1-3<br>y4=2-4 |
| ALK-5a-2 |  | x5a=1-3<br>y5a=2-4<br>z5a=2-4 |
| ALK-5b-2 |  | x5b=1-3<br>y5b=1-3<br>z5b=2-4 |

[0054]

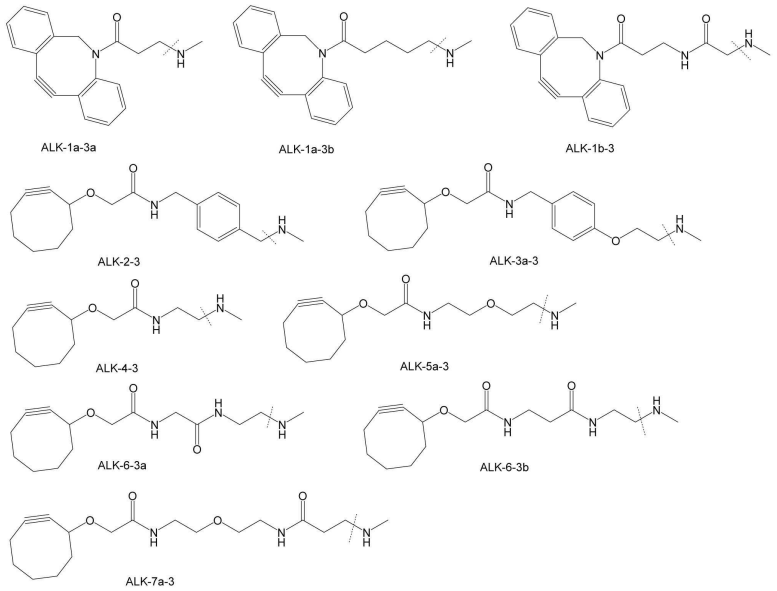
[0055] [표 3-4]

| No. | Akn－L¹－ | |
|---|---|---|
| ALK-6-2 |  | x6=1-3<br>y6=1-3<br>z6=2-4 |
| ALK-7a-2 |  | x7a=1-3<br>y7a=2-4<br>z7a=2-4<br>v7a=1-3 |
| ALK-7b-2 |  | x7b=1-3<br>y7b=1-3<br>z7b=2-4<br>v7b=1-3 |

[0056]

[0057] 에 기재된 부분 구조식(각 식 중, 파선 우측은 포함하지 않는다)으로 이루어지는 군에서 선택되는 기이다.

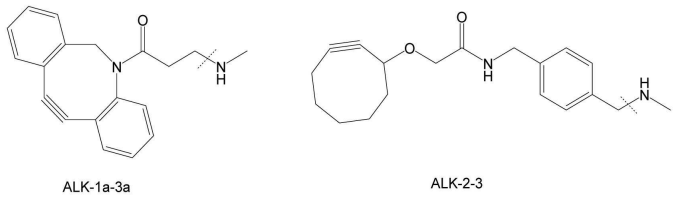
[0058] [1-1-3] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 Akn-$L^1$-은, 더욱 바람직하게는, 하기 부분 구조식(각 식 중, 파선 우측은 포함하지 않는다):




[0059]

[0060] 로 이루어지는 군에서 선택되는 기이다.

[0061] [1-1-4] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 Akn-$L^1$-은, 특히 바람직하게는, 하기 부분 구조식(각 식 중, 파선 우측은 포함하지 않는다):

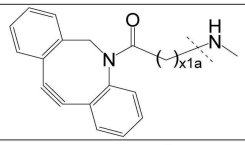
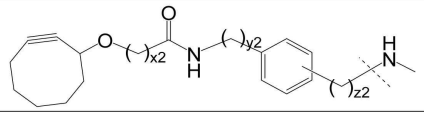



[0062]

[0063] 으로부터 선택되는 기이다.

[0064] [1-1-5] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 Akn-$L^1$-은, 하기 표:

[0065] [표 3-5]

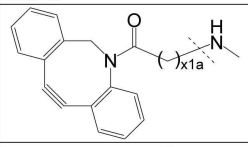
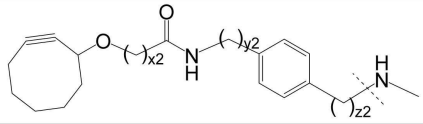
| No. | Akn-$L^1$- | |
|---|---|---|
| ALK-1a |  | x1a=1-6 |
| ALK-2 |  | x2=1-6<br>y2=0-6<br>z2=1-6 |

[0066]

[0067] 에 기재된 부분 구조식(각 식 중, 파선 우측은 포함하지 않는다)으로 이루어지는 군에서 선택되는 기이며;

[0068] 바람직하게는, 하기 표:

[0069] [표 3-6]

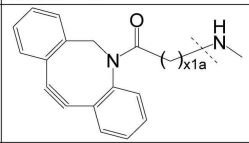
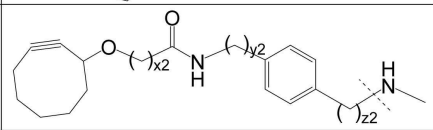
| No. | Akn-$L^1$- | |
|---|---|---|
| ALK-1a-1 |  | x1a=2-6 |
| ALK-2-1 |  | p 위치<br>x2=1-4<br>y2=0-6<br>z2=1-6 |

[0070]

[0071] 에 기재된 부분 구조식(각 식 중, 파선 우측은 포함하지 않는다)으로 이루어지는 군에서 선택되는 기이며;

[0072] 보다 바람직하게는, 하기 표:

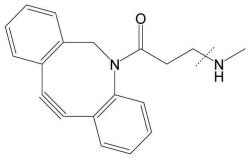
[0073] [표 3-7]

| No. | Akn－$L^1$－ | |
|---|---|---|
| ALK-1a-2 |  | x1a=2-6 |
| ALK-2-2 |  | x2=1-4<br>y2=1-6<br>z2=1-6 |

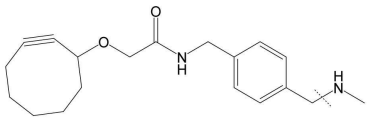
[0074]

[0075] 에 기재된 부분 구조식(각 식 중, 파선 우측은 포함하지 않는다)으로 이루어지는 군에서 선택되는 기이며;

[0076] 더욱 바람직하게는, 하기 부분 구조식(각 식 중, 파선 우측은 포함하지 않는다):



ALK-1a-3a



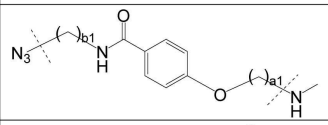
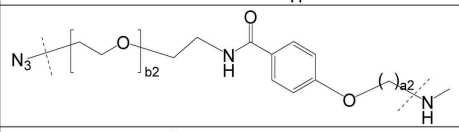
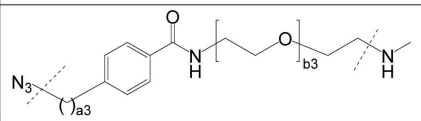
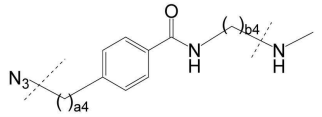
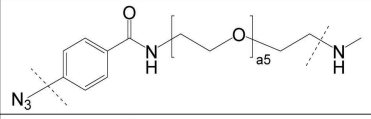
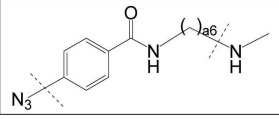
ALK-2-3

[0077]

[0078] 으로부터 선택되는 기이다.

[0079] [1-2-1] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 -$L^2$-는, 바람직하게는, 하기 표:

[0080] [표 4-1]

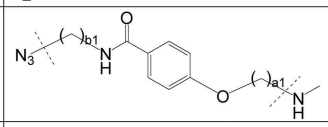
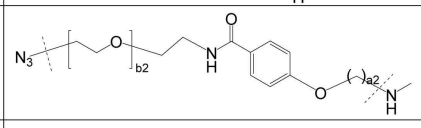
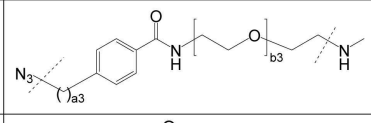
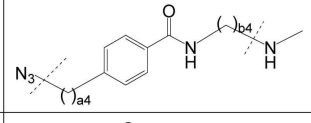
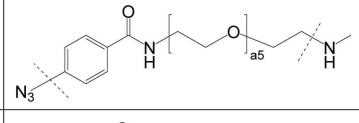
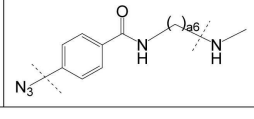
| No. | -L²- | |
|---|---|---|
| LN-1-1 |  | a1=2-6<br>b1=2-6 |
| LN-2-1 |  | a2=2-6<br>b2=1-6 |
| LN-3-1 |  | a3=1-6<br>b3=1-6 |
| LN-4-1 |  | a4=1-6<br>b4=2-6 |
| LN-5-1 |  | a5=1-6 |
| LN-6-1 |  | a6=2-6 |

[0081]

[0082] 에 기재된 부분 구조식(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다)으로 이루어지는 군에서 선택되는 기이다.

[0083] [1-2-2] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 -L²-는, 보다 바람직하게는, 하기 표:

[0084] [표 4-2]

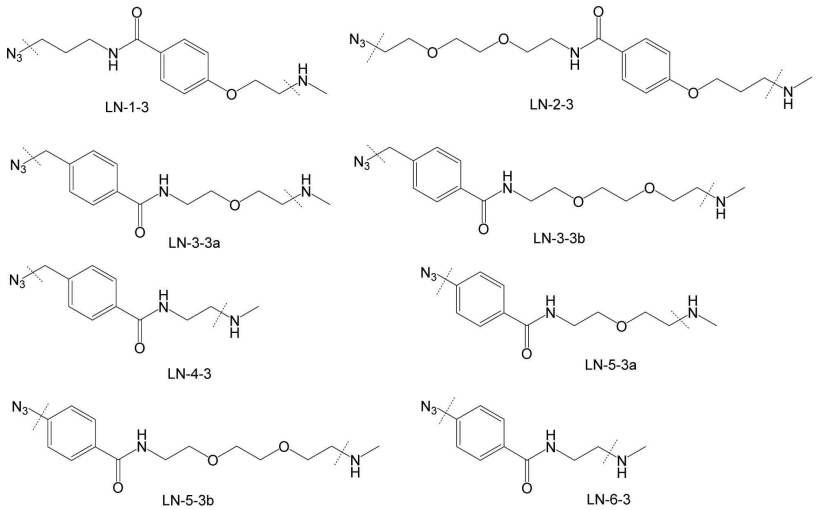
| No. | -L²- | |
|---|---|---|
| LN-1-2 |  | a1=2-4<br>b1=2-4 |
| LN-2-2 |  | a2=2-4<br>b2=1-3 |
| LN-3-2 |  | a3=1-3<br>b3=1-3 |
| LN-4-2 |  | a4=1-3<br>b4=2-4 |
| LN-5-2 |  | a5=1-3 |
| LN-6-2 |  | a6=2-4 |

[0085]

[0086] 에 기재된 부분 구조식(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다)으로 이루어지는 군에서 선택되는 기이

다.

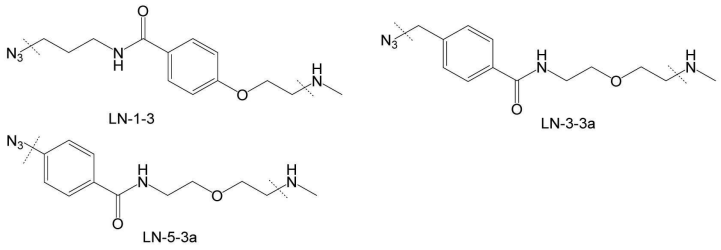
[0087] [1-2-3] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 $-L^2-$는, 더욱 바람직하게는, 하기 부분 구조식(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다):




[0088]

[0089] 로 이루어지는 군에서 선택되는 기이다.

[0090] [1-2-4] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 $-L^2-$는, 특히 바람직하게는, 하기 부분 구조식(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다):

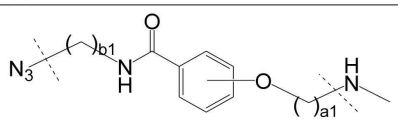
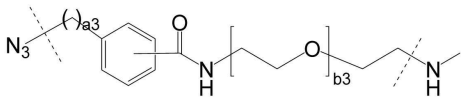
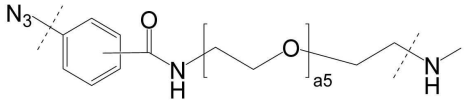



[0091]

[0092] 로 이루어지는 군에서 선택되는 기이다.

[0093] [1-2-5] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 $-L^2-$는, 하기 표:

[0094] [표 4-3]

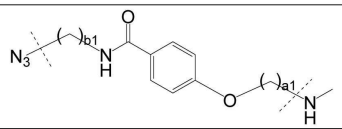
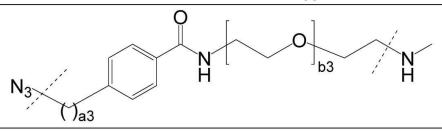
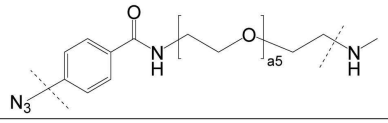
| No. | $-L^2-$ | |
|---|---|---|
| LN-1 |  | a1=2-6<br>b1=2-6 |
| LN-3 |  | a3=1-6<br>b3=1-6 |
| LN-5 |  | a5=1-6 |

[0095]

[0096] 에 기재된 부분 구조식(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다)으로 이루어지는 군에서 선택되는 기이며;

[0097] 바람직하게는, 하기 부분 구조식(각 식 중, 파선 우측은 포함하지 않는다):

[0098] [표 4-4]

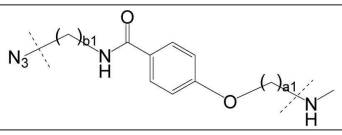
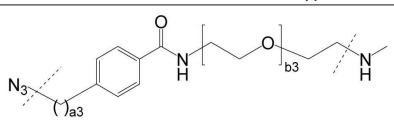
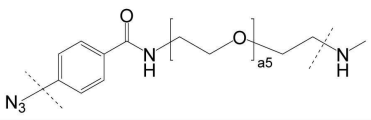
| No. | -L$^2$- | |
|---|---|---|
| LN-1-1 |  | a1=2-6<br>b1=2-6 |
| LN-3-1 |  | a3=1-6<br>b3=1-6 |
| LN-5-1 |  | a5=1-6 |

[0099]

[0100] 에 기재된 부분 구조식(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다)으로 이루어지는 군에서 선택되는 기이며;

[0101] 보다 바람직하게는, 하기 부분 구조식(각 식 중, 파선 우측은 포함하지 않는다):

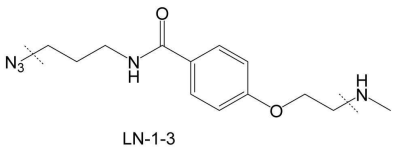
[0102] [표 4-5]

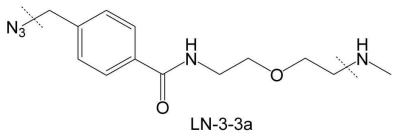
| No. | -L$^2$- | |
|---|---|---|
| LN-1-2 |  | a1=2-4<br>b1=2-4 |
| LN-3-2 |  | a3=1-3<br>b3=1-3 |
| LN-5-2 |  | a5=1-3 |

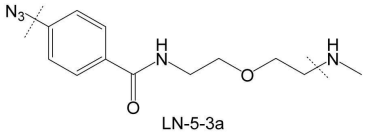
[0103]

[0104] 에 기재된 부분 구조식(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다)으로 이루어지는 군에서 선택되는 기이며;

[0105] 더욱 바람직하게는, 하기 부분 구조식(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다):


LN-1-3


LN-3-3a


LN-5-3a

[0106]

[0107] 로 이루어지는 군에서 선택되는 기이다.

[0108] [1-2A] 상기 양태 [1] 내지 [1-2-5]에 기재된 Akn, -L$^1$-, -L$^2$-의 정의를 적절히 조합한 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용함으로써, 본 발명의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 있어서의, 가교 알긴산 겔의 바람직한 형태를 임의로 형성할 수 있다.

[0109] [1-3] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는, 항체, 생

리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포는, 예를 들어, 항체(인간 항체, 인간화 항체, 키메라 항체, 마우스 항체 등의 각종 모노클로날 항체) 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 및 의약품 원료, 화학 원료, 식품 원료 등으로서 유용한 각종 유용 물질을 산생할 수 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 세포이다.

[0110] [1-3-1] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는, 항체를 산생할 수 있는 세포(항체 산생 세포라고도 한다)는 하이브리도마 또는 항체 발현 벡터에 의해 형질 전환된 배양 세포이며, 그의 숙주로서 사용되는 배양 세포(숙주 세포)가, 예를 들어, CHO 세포, CHO 세포 아주, COS 세포, Sp2/0 세포, NS0 세포, SP2 세포, PERC6 세포, YB2/0 세포, YE2/0 세포, 1R983F 세포, Namalwa 세포, Wil-2 세포, Jurkat 세포, Vero 세포, Molt-4 세포, HEK293 세포, BHK 세포, KGH6 세포, P3X63Ag8.653 세포, C127 세포, JC 세포, LA7 세포, ZR-45-30 세포, hTERT 세포, NM2C5 세포, UACC-812 세포 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 세포이다.

[0111] [1-3-2] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 항체 산생 세포는, 바람직하게는, 그의 숙주 세포가, CHO 세포, CHO 세포 아주, COS 세포, Sp2/0 세포, NS0 세포, SP2 세포 및 PERC6 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 세포이며; 보다 바람직하게는, CHO 세포, CHO 세포 아주, Sp2/0 세포 및 NS0 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 세포이며; 더욱 바람직하게는, CHO 세포 또는 CHO 세포 아주이다.

[0112] [1-3-3] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 항체 산생 세포는, 예를 들어, 그의 숙주 세포가 CHO 세포인 항체 산생 CHO 세포이며, 예를 들어, 무로모납-CD3 산생 CHO 세포, 트라스투주맙 산생 CHO 세포, 리툭시맙 산생 CHO 세포, 팔리비주맙 산생 CHO 세포, 인플릭시맙 산생 CHO 세포, 바실릭시맙 산생 CHO 세포, 토실리주맙 산생 CHO 세포, 겜투주맙 산생 CHO 세포, 베바시주맙 산생 CHO 세포, 이브리투모맙 산생 CHO 세포, 아달리무맙 산생 CHO 세포, 세툭시맙 산생 CHO 세포, 라니비주맙 산생 CHO 세포, 오말리주맙 산생 CHO 세포, 에쿨리주맙 산생 CHO 세포, 파니투무맙 산생 CHO 세포, 우스테키누맙 산생 CHO 세포, 골리무맙 산생 CHO 세포, 카나키누맙 산생 CHO 세포, 데노수맙 산생 CHO 세포, 모가물리주맙 산생 CHO 세포, 세르톨리주맙 산생 CHO 세포, 오파투무맙 산생 CHO 세포, 페르투주맙 산생 CHO 세포, 브렌툭시맙 산생 CHO 세포, 나탈리주맙 산생 CHO 세포, 니볼루맙 산생 CHO 세포, 알렘투주맙 산생 CHO 세포, 세쿠키누맙 산생 CHO 세포, 라무시루맙 산생 CHO 세포, 이필리무맙 산생 CHO 세포, 에볼로쿠맙 산생 CHO 세포, 메폴리주맙 산생 CHO 세포, 알리로쿠맙 산생 CHO 세포, 익세키주맙 산생 CHO 세포, 브로달루맙 산생 CHO 세포, 이다루시주맙 산생 CHO 세포, 엘로투주맙 산생 CHO 세포, 펨브롤리주맙 산생 CHO 세포, 사릴루맙 산생 CHO 세포, 베즐로톡수맙 산생 CHO 세포, 벨리무맙 산생 CHO 세포, 다라투무맙 산생 CHO 세포, 아벨루맙 산생 CHO 세포, 두필루맙 산생 CHO 세포, 아테졸리주맙 산생 CHO 세포, 벤랄리주맙 산생 CHO 세포, 이노투주맙 산생 CHO 세포, 에미시주맙 산생 CHO 세포, 구셀쿠맙 산생 CHO 세포, 두르발루맙 산생 CHO 세포, 오비누투주맙 산생 CHO 세포, 베돌리주맙 산생 CHO 세포, 항GPVI 항체 산생 CHO 세포 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 CHO 세포이며; 예를 들어, 트라스투주맙 산생 CHO 세포, 리툭시맙 산생 CHO 세포, 인플릭시맙 산생 CHO 세포, 토실리주맙 산생 CHO 세포, 아달리무맙 산생 CHO 세포, 니볼루맙 산생 CHO 세포 및 항GPVI 항체 산생 CHO 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 CHO 세포이며; 예를 들어, 토실리주맙 산생 CHO 세포 또는 항GPVI 항체 산생 CHO 세포이다.

[0113] [1-3-4] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 생리 활성 물질을 산생할 수 있는 세포(생리 활성 물질 산생 세포라고도 한다)는 예를 들어, 인슐린 분비 세포, 췌장섬, 췌장섬 세포, 도파민 분비 세포, 뇌하수체 세포, 성장 호르몬 분비 세포, 부갑상선 세포, 신경 성장 인자 분비 세포, 혈액 응고 인자 분비 세포, 간세포, 상피 소체 세포, 에리트로포이에틴 분비 세포, 노르에피네프린 분비 세포 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 세포이다.

[0114] [1-3-5] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 생리 활성 물질 산생 세포는, 바람직하게는, 인슐린 분비 세포, 췌장섬 및 췌장섬 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 세포이며; 보다 바람직하게는, 췌장 β 세포 유래의 MIN6 세포이다.

[0115] [1-4] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 추가로 포함할 수 있는 성분으로서는, 예를 들어, 알긴산 용액, 알긴산 겔, 배지, 배양액, 콜라겐 용액, 메틸셀룰로오스, 수크로오스 용액 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 성분이다.

[0116] [1-4-1] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 추가로 포함할 수 있는 성분으로서는, 바람직하게는, 알긴산 용액, 알긴산 겔, 배지 및 배양액으로 이루어지는 군에서 선택되는 성분이다.

[0117] [1-5] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 겔 여과 크로마토그래피법에 의해 측정한 중량 평균 분자량은, 예를 들어, 약 100,000Da 내지 약 3,000,000Da의 범위이며; 바람직하게는 약 300,000Da 내지 약 2,500,000Da의 범위이며, 보다 바람직하게는 약 500,000Da 내지 약 2,000,000Da의 범위이다.

[0118] [1-6] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 겔 여과 크로마토그래피법에 의해 측정한 중량 평균 분자량은, 예를 들어, 약 100,000Da 내지 약 3,000,000Da의 범위이며; 바람직하게는 약 300,000Da 내지 약 2,500,000Da의 범위이며, 보다 바람직하게는 약 500,000Da 내지 약 2,000,000Da의 범위이다.

[0119] [1-7] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 반응성기(Akn-$L^1$-$NH_2$기: Akn-$L^1$-은, 상기 양태 [1] 중의 정의와 동일하다)의 도입률은, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 30mol%의 범위이며; 바람직하게는, 약 0.3 내지 약 20mol%의 범위이며; 보다 바람직하게는, 약 0.5 내지 약 10mol%의 범위이다.

[0120] [1-8] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 반응성기($N_3$-$L^2$-$NH_2$기: -$L^2$-는, 상기 양태 [1] 중의 정의와 동일하다)의 도입률은, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 30mol%의 범위이며; 바람직하게는, 약 0.3 내지 약 20mol%의 범위이며; 보다 바람직하게는, 약 0.5 내지 약 15mol%의 범위이다.

[0121] [1-9] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 추가로 포함할 수 있는 알긴산 용액, 또는 알긴산 겔의 형성에 사용되는 알긴산 용액의 조제에 사용되는 알긴산(예를 들어, 알긴산 나트륨, 등)의 겔 여과 크로마토그래피법(GPC법)에 의해 측정한 중량 평균 분자량은, 예를 들어, 약 150,000Da 내지 약 2,500,000Da의 범위이며;

[0122] 바람직하게는 약 300,000Da 내지 약 2,000,000Da의 범위이며,

[0123] 보다 바람직하게는 약 700,000Da 내지 약 2,000,000Da의 범위이다.

[0124] [1-9-1] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 추가로 포함할 수 있는 알긴산 용액, 또는 알긴산 겔의 형성에 사용되는 알긴산 용액의 조제에 사용되는 알긴산(예를 들어, 알긴산나트륨, 등)의 겔 여과 크로마토그래피법(GPC법)에 의해 측정한 중량 평균 분자량은, 예를 들어, 약 150,000Da 내지 약 2,500,000Da의 범위이며; 바람직하게는, 약 300,000Da 내지 약 2,500,000Da의 범위; 보다 바람직하게는, 약 700,000Da 내지 약 1,400,000Da, 약 800,000Da 내지 약 1,500,000Da, 약 1,400,000 내지 약 2,000,000Da, 또는 약 1,500,000 내지 약 2,500,000로부터 선택되는 범위이다.

[0125] [1-10-1] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도는, 예를 들어, 약 0.01 내지 약 1.5중량%의 범위이며; 바람직하게는, 약 0.05 내지 약 1.0중량%의 범위이며; 보다 바람직하게는, 약 0.08 내지 약 0.75중량%의 범위이다.

[0126] [1-10-2] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도는, 예를 들어, 약 0.01 내지 약 1.5중량%의 범위이며; 바람직하게는, 약 0.05 내지 약 1.0중량%의 범위이며; 보다 바람직하게는, 약 0.08 내지 약 0.75중량%의 범위이다.

[0127] [1-10-3] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체와 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액의 농도는, 예를 들어, 약 0.02 내지 약 2.0중량%의 범위이며; 바람직하게는, 약 0.1 내지 약 2.0중량%의 범위이며; 보다 바람직하게는 약 0.15 내지 약 1.5중량%의 범위이다.

[0128] [1-10-4] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 추가로 포함할 수 있는 알긴산 용액, 또는 알긴산 겔의 형성에 사용되는 알긴산 용액의 농도는, 예를 들어, 0 내지 약 1.98중량%의 범위이며; 바람직하게는, 0 내지 약 1.8중량%의 범위이며; 보다 바람직하게는, 0 내지 약 1.7중량%의 범위

이다.

[0129] [1-11-1] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔에, 알긴산 용액, 또는 알긴산 용액으로부터 형성되는 알긴산 겔이 포함되는 경우, 코어층의 형성에 사용되는 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액의 농도와 알긴산 용액의 농도의 총 농도는, 바람직하게는 약 0.5 내지 약 2.0중량%이며; 보다 바람직하게는, 약 1.0중량%, 약 1.5중량% 및 약 2.0중량%로부터 선택되는 농도이다.

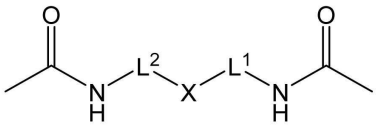
[0130] [1-11-2] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔에, 알긴산 용액, 또는 알긴산 용액으로부터 형성되는 알긴산 겔이 포함되는 경우, 코어층의 형성에 사용되는 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액의 농도(C1(중량%))와 알긴산 용액의 농도(C2(중량%))의 조합은, 바람직하게는, (C1:C2)=(약 0.2:약 1.3), (약 0.5:약 1.0), (약 1.0:약 0.5), (약 1.5:0), (약 0.66:약 1.34) 및 (약 0.34:약 0.66)으로 이루어지는 군에서 선택되는 조합이다.

[0131] [1-11-3] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔에, 알긴산 용액, 또는 알긴산 용액으로부터 형성되는 알긴산 겔이 포함되는 경우, 코어층의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도(C1A(중량%)), 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도(C1N(중량%)) 및 알긴산 용액의 농도(C2(중량%))의 조합은, 바람직하게는, (C1A:C1N:C2)=(약 0.1:약 0.1:약 1.3), (약 0.25:약 0.25:약 1.0), (약 0.5:약 0.5:약 0.5), (약 0.75:약 0.75:0), (약 0.33:약 0.33:약 1.34) 및 (약 0.17:약 0.17:약 0.66)으로 이루어지는 군에서 선택되는 조합이다.

[0132] [1-11-4] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액 혼합 용액에 있어서의, 각 유도체의 용액 용량비(v1, v2)는 예를 들어, v1+v2=15의 비율이며, 예를 들어, (v1:v2)=(7.5:7.5)이다.

[0133] [1-11-5] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔에, 알긴산 용액, 또는 알긴산 용액으로부터 형성되는 알긴산 겔이 포함되는 경우, 코어층의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액 및 알긴산 용액의 혼합 용액에 있어서의, 각각의 용액의 용량(v1, v2, v3)의 용량비는, 예를 들어, v1+v2+v3=15의 비율이며, 예를 들어, (v1:v2:v3)=(5:5:5), (2.5:2.5:10), (1:1:13) 등의 조합이다.

[0134] [1-12] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔이, 하기 식 (III-L):



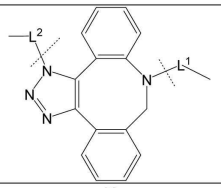
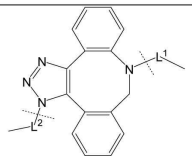
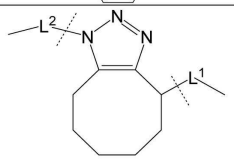
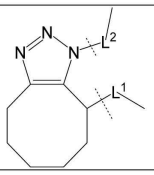

(III-L)

[0135]

[0136] [식 (III-L) 중, 양단의 -CONH- 및 -NHCO-는, 알긴산의 임의의 카르복실기를 통한 아미드 결합을 나타내고;

[0137] -X-는, 하기 표:

[0138] [표 5-1]

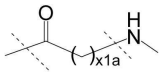
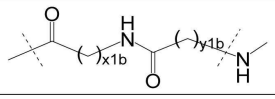
| No. | -X- | No. | -X- |
|---|---|---|---|
| CL-1 |  | CL-1-r |  |
| CL-2 |  | CL-2-r |  |

[0139]

[0140] 에 기재된 부분 구조식의 군에서 선택되는 환상기이며(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다);

[0141] -$L^1$-은, -X-가, (CL-1) 또는 (CL-1-r)인 경우, 하기 표:

[0142] [표 5-2]

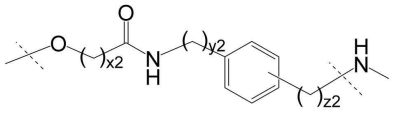
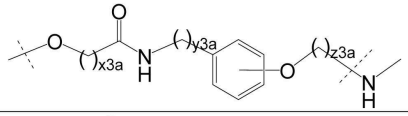
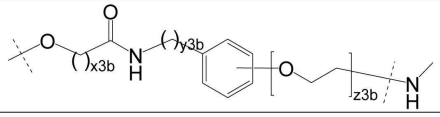
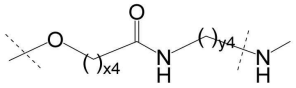
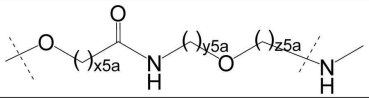
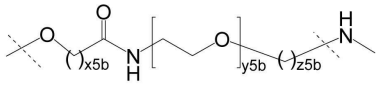
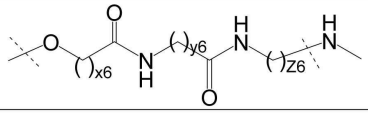
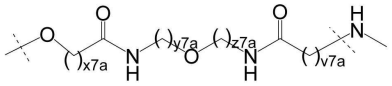
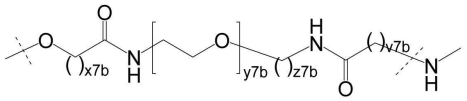
| No. | -$L^1$- | |
|---|---|---|
| LK-1a |  | x1a=1-6 |
| LK-1b |  | x1b=1-6<br>y1b=1-6 |

[0143]

[0144] 에 기재된 부분 구조식의 군에서 선택되는 2가의 링커이며(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다);

[0145] -$L^1$-은, -X-가, (CL-2) 또는 (CL-2-r)인 경우, 하기 표:

[0146] [표 5-3]

| No. | －L¹－ | |
|---|---|---|
| LK-2 |  | x2=1-6<br>y2=0-6<br>z2=1-6 |
| LK-3a |  | x3a=1-6<br>y3a=0-6<br>z3a=2-6 |
| LK-3b |  | x3b=1-6<br>y3b=0-6<br>z3b=1-6 |
| LK-4 |  | x4=1-6<br>y4=2-6 |
| LK-5a |  | x5a=1-6<br>y5a=2-6<br>z5a=2-6 |
| LK-5b |  | x5b=1-6<br>y5b=1-6<br>z5b=2-6 |
| LK-6 |  | x6=1-6<br>y6=1-6<br>z6=2-6 |
| LK-7a |  | x7a=1-6<br>y7a=2-6<br>z7a=2-6<br>v7a=1-6 |
| LK-7b |  | x7b=1-6<br>y7b=1-6<br>z7b=2-6<br>v7b=1-6 |

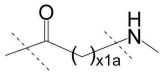
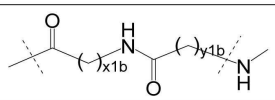
[0147]

[0148] 에 기재된 부분 구조식의 군에서 선택되는 2가의 링커이며(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다);

[0149] -$L^2$-는, 상기 양태 [1] 중의 식 (II)의 정의와 동일하다]로 표시되는 기를 통한 화학 가교를 포함하는 것이다.

[0150] [1-12-1] 상기 양태 [1-12]에 기재된 식 (III-L)에 있어서, -$L^1$-은 상기 양태 [1-12]이며, 바람직하게는, -X-가, (CL-1) 또는 (CL-1-r)인 경우, 하기 표:

[0151] [표 6-1]

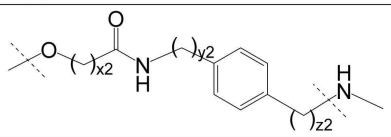
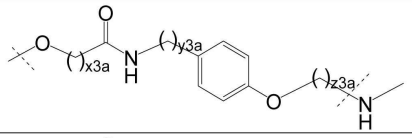
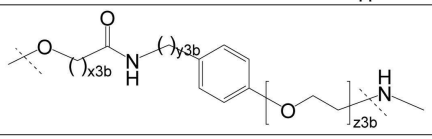
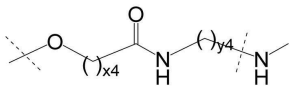
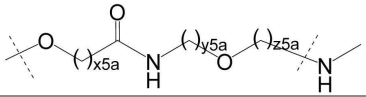
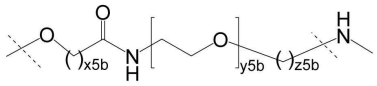
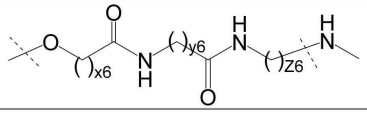
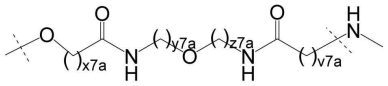
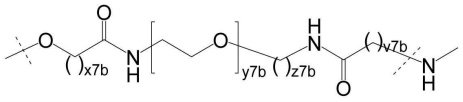
| No. | －L¹－ | |
|---|---|---|
| LK-1a-1 |  | x1a=2-6 |
| LK-1b-1 |  | x1b=1-6<br>y1b=1-6 |

[0152]

[0153] 에 기재된 부분 구조식의 군에서 선택되는 2가의 링커이며(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다);

[0154] -X-가, (CL-2) 또는 (CL-2-r)인 경우, 하기 표:

[0155] [표 6-2]

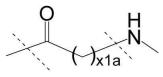
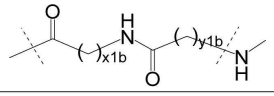
| No. | －L¹－ | |
|---|---|---|
| LK-2-1 |  | x2=1-4<br>y2=0-6<br>z2=1-6 |
| LK-3a-1 |  | x3a=1-6<br>y3a=0-6<br>z3a=2-6 |
| LK-3b-1 |  | x3b=1-6<br>y3b=0-6<br>z3b=1-6 |
| LK-4-1 |  | x4=1-6<br>y4=2-6 |
| LK-5a-1 |  | x5a=1-6<br>y5a=2-6<br>z5a=2-6 |
| LK-5b-1 |  | x5b=1-6<br>y5b=1-6<br>z5b=2-6 |
| LK-6-1 |  | x6=1-6<br>y6=1-6<br>z6=2-6 |
| LK-7a-1 |  | x7a=1-6<br>y7a=2-6<br>z7a=2-6<br>v7a=1-6 |
| LK-7b-1 |  | x7b=1-6<br>y7b=1-6<br>z7b=2-6<br>v7b=1-6 |

[0156]

[0157] 에 기재된 부분 구조식의 군에서 선택되는 2가의 링커이며(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다);

[0158] 보다 바람직하게는, -X-가, (CL-1) 또는 (CL-1-r)인 경우, 하기 표:

[0159] [표 6-3]

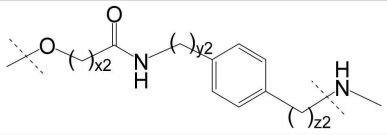
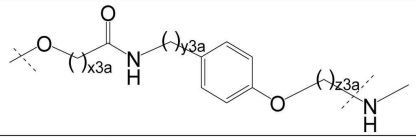
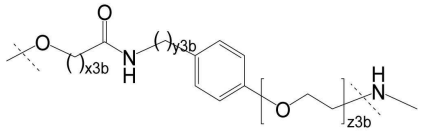
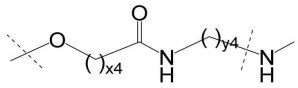
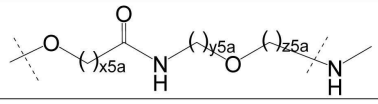
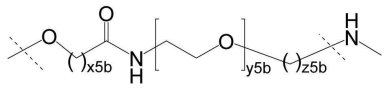
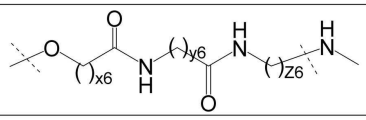
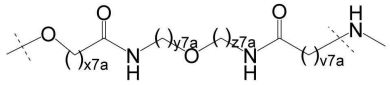
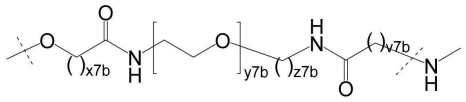
| No. | －L¹－ | |
|---|---|---|
| LK-1a-2 |  | x1a=2-6 |
| LK-1b-2 |  | x1b=1-3<br>y1b=1-3 |

[0160]

[0161] 에 기재된 부분 구조식의 군에서 선택되는 2가의 링커이며(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다);

[0162] -X-가, (CL-2) 또는 (CL-2-r)인 경우, 하기 표:

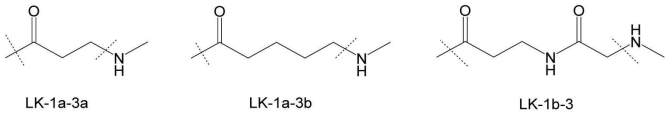
[0163] [표 6-4]

| No. | －L¹－ | |
|---|---|---|
| LK-2-2 |  | x2=1-4<br>y2=1-6<br>z2=1-6 |
| LK-3a-2 |  | x3a=1-3<br>y3a=0-3<br>z3a=2-4 |
| LK-3b-2 |  | x3b=1-3<br>y3b=0-3<br>z3b=1-3 |
| LK-4-2 |  | x4=1-3<br>y4=2-4 |
| LK-5a-2 |  | x5a=1-3<br>y5a=2-4<br>z5a=2-4 |
| LK-5b-2 |  | x5b=1-3<br>y5b=1-3<br>z5b=2-4 |
| LK-6-2 |  | x6=1-3<br>y6=1-3<br>z6=2-4 |
| LK-7a-2 |  | x7a=1-3<br>y7a=2-4<br>z7a=2-4<br>v7a=1-3 |
| LK-7b-2 |  | x7b=1-3<br>y7b=1-3<br>z7b=2-4<br>v7b=1-3 |

[0164]

[0165] 에 기재된 부분 구조식의 군에서 선택되는 2가의 링커이며(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다);

[0166] 더욱 바람직하게는, -X-가, (CL-1) 또는 (CL-1-r)인 경우, 하기 부분 구조식:

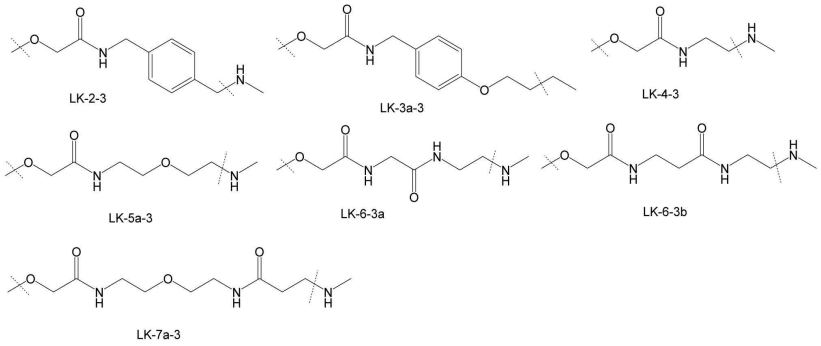


LK-1a-3a LK-1a-3b LK-1b-3

[0167]

[0168] 의 군에서 선택되는 2가의 링커이며(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다);

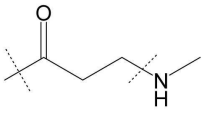
[0169] -X-가, (CL-2) 또는 (CL-2-r)인 경우, 하기 부분 구조식:




[0170]

[0171] 의 군에서 선택되는 2가의 링커이며(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다);

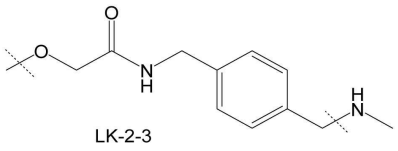
[0172] 특히 바람직하게는, -X-가, (CL-1) 또는 (CL-1-r)인 경우, 하기 부분 구조식:




[0173]

[0174] 의 2가의 링커이며(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다);

[0175] -X-가, (CL-2) 또는 (CL-2-r)인 경우, 하기 부분 구조식:




[0176]

[0177] 의 2가의 링커이다(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다).

[0178] [1-12-2] 상기 양태 [1-12]에 기재된 식 (III-L)에 있어서, 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한, 특히 바람직한 $-L^2-$는, 각각, 상기 양태 [1-2-1] 내지 [1-2-4]에 기재된 정의와 동일하다.

[0179] [1-12-3] 상기 양태 [1-12]에 있어서, 식 (III-L)로 표시되는 기의 $-L^2-X-L^1-$의 바람직한 조합은, 하기 표의 식:

[0180] [표 7-1]

| -X- | $-L^1-$ | $-L^2-$ |
|---|---|---|
| CL-1<br>또는<br>CL-1-r | LK-1a-1 또는 LK-1b-1로부터 선택되는 링커 | LN-1-1, LN-2-1, LN-3-1, LN-4-1, LN-5-1 및 LN-6-1로 이루어지는 군에서 선택되는 링커 |
| CL-2<br>또는<br>CL-2-r | LK-2-1, LK-3a-1, LK-3b-1, LK-4-1, LK-5a-1, LK-5b-1, LK-6-1, LK-7a-1 및 LK-7b-1로 이루어지는 군에서 선택되는 링커 | LN-1-1, LN-2-1, LN-3-1, LN-4-1, LN-5-1 및 LN-6-1로 이루어지는 군에서 선택되는 링커 |

[0181]

[0182] 의 군에서 선택되는 부분 구조로 나타내지는 바와 같으며(표 중의 $-L^1-$은 상기 양태 [1-12-1]에 기재된 바람직한 $-L^1-$의 정의와 동일하고; $-L^2-$는 상기 양태 [1-2-1]에 기재된 바람직한 $-L^2-$의 정의와 동일하고; -X-는 상기 양태 [1-12]에 기재된 바와 같다);

[0183] 보다 바람직하게는, $-L^2-X-L^1-$의 조합은, 하기 표의 식:

[0184] [표 7-2]

| -X- | $-L^1-$ | $-L^2-$ |
|---|---|---|
| CL-1<br>또는<br>CL-1-r | LK-1a-2 또는 LK-1b-2로부터 선택되는 링커 | LN-1-2, LN-2-2, LN-3-2, LN-4-2, LN-5-2 및 LN-6-2로 이루어지는 군에서 선택되는 링커 |
| CL-2<br>또는<br>CL-2-r | LK-2-2, LK-3a-2, LK-3b-2, LK-4-2, LK-5a-2, LK-5b-2, LK-6-2, LK-7a-2 및 LK-7b-2로 이루어지는 군에서 선택되는 링커 | LN-1-2, LN-2-2, LN-3-2, LN-4-2, LN-5-2 및 LN-6-2로 이루어지는 군에서 선택되는 링커 |

[0185]

[0186] 의 군에서 선택되는 부분 구조로 나타내지는 바와 같으며(표 중의 $-L^1-$은 상기 양태 [1-12-1]에 기재된 보다 바람직한 $-L^1-$의 정의와 동일하고; $-L^2-$는 상기 양태 [1-2-2]에 기재된 보다 바람직한 $-L^2-$의 정의와 동일하고; -X-는 상기 양태 [1-12]에 기재된 바와 같다);

[0187] 더욱 바람직하게는, $-L^2-X-L^1-$의 조합은, 하기 표의 식:

[0188] [표 7-3]

| -X- | $-L^1-$ | $-L^2-$ |
|---|---|---|
| CL-1<br>또는<br>CL-1-r | LK-1a-3a, LK-1a-3b 및 LK-1b-3으로 이루어지는 군에서 선택되는 링커 | LN-1-3, LN-2-3, LN-3-3a, LN-3-3b, LN-4-3, LN-5-3a, LN-5-3b 및 LN-6-3으로 이루어지는 군에서 선택되는 링커 |
| CL-2<br>또는<br>CL-2-r | LK-2-3, LK-3a-3, LK-4-3, LK-5a-3, LK-6-3a, LK-6-3b 및 LK-7a-3으로 이루어지는 군에서 선택되는 링커 | LN-1-3, LN-2-3, LN-3-3a, LN-3-3b, LN-4-3, LN-5-3a, LN-5-3b 및 LN-6-3으로 이루어지는 군에서 선택되는 링커 |

[0189]

[0190] 의 군에서 선택되는 부분 구조로 나타내지는 바와 같으며(표 중의 $-L^1-$은 상기 양태 [1-12-1]에 기재된 더욱 바람직한 $-L^1-$의 정의와 동일하고; $-L^2-$는 상기 양태 [1-2-3]에 기재된 더욱 바람직한 $-L^2-$의 정의와 동일하고; -X-는 상기 양태 [1-12]에 기재된 바와 같다);

[0191] 특히 바람직하게는, $-L^2-X-L^1-$의 조합은, 하기 표의 식:

[0192] [표 7-4]

| -X- | $-L^1-$ | $-L^2-$ |
|---|---|---|
| CL-1<br>또는<br>CL-1-r | LK-1a-3a의 링커 | LN-1-3, LN-3-3a 및 LN-5-3a로 이루어지는 군에서 선택되는 링커 |
| CL-2<br>또는<br>CL-2-r | LK-2-3의 링커 | LN-1-3, LN-3-3a 및 LN-5-3a로 이루어지는 군에서 선택되는 링커 |

[0193]

[0194] 의 군에서 선택되는 부분 구조로 나타내지는 바와 같다(표 중의 $-L^1-$은 상기 양태 [1-12-1]에 기재된 특히 바람직한 $-L^1-$의 정의와 동일하고; $-L^2-$는 상기 양태 [1-2-4]에 기재된 특히 바람직한 $-L^2-$의 정의와 동일하고; -X-는 상기 양태 [1-12]에 기재된 바와 같다).

[0195] [1-12A] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔이, 상기 양태 [1-12]에 기재된 식 (III-L)[식 (III-L) 중, 양단의 -CONH- 및 -NHCO-, -X-는, 상기 양태 [1-12] 중의 정의와 동일하고; $-L^1-$은, -X-가 (CL-1) 또는 (CL-1-r)인 경우, 상기 양태 [1-12]에 기재된 부분 구조식 (LK-1a)로 표시되는 기와 동일하며; -X-가 (CL-2) 또는 (CL-2-r)인 경우, 상기 양태 [1-12]에 기재된 부분 구조식 (LK-2-1)로 표시되는 기와 동일하며; $-L^2-$는, 상기 양태 [1]에 기재된 부분 구조식 (LN-1), (LN-3) 및 (LN-5)로부터 선택되는 기와 동일하다]로 표시되는 기를 통한 화학 가교를 포함하는 것이다.

[0196] [1-12A-1] 상기 양태 [1-12A]에 있어서, -X-가 (CL-1) 또는 (CL-1-r)인 경우, 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한 $-L^1-$은, 각각, 상기 양태 [1-12]에 기재된 부분 구조식 (LK-1a-1), (LK-1a-2), (LK-1a-3)으로 표시되는 기와 동일하며; -X-가, (CL-2) 또는 (CL-2-r)인 경우, 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한 $-L^1-$은, 각각, 상기 양태 [1-12]에 기재된 부분 구조식 (LK-2-1), (LK-2-2), (LK-2-3)으로 표시되는 기와 동일하며; $-L^2-$

는, 바람직하게는 상기 양태 [1-2-1]에 기재된 부분 구조식 (LN-1-1), (LN-3-1), (LN-5-1)로 표시되는 기와 동일하고, 보다 바람직하게는 상기 양태 [1-2-2]에 기재된 부분 구조식 (LN-1-2), (LN-3-2), (LN-5-2)로 표시되는 기와 동일하고, 더욱 바람직하게는 상기 양태 [1-2-3]에 기재된 부분 구조식 (LN-1-3), (LN-3-3a), (LN-5-3a)로 표시되는 기와 동일하다.

[0197] [1-12A-2] 상기 양태 [1-12A]에 있어서, 식 (III-L)로 표시되는 기의 $-L^2-X-L^1-$의 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한 조합은, 하기 표의 식:

[0198] [표 7-5]

| 바람직한 조합 | -X- | $-L^1-$ | $-L^2-$ |
|---|---|---|---|
| | CL-1 또는 CL-1-r | LK-1a-1 | (LN-1-1), (LN-3-1) 또는 (LN-5-1) |
| | CL-2 또는 CL-2-r | LK-2-1 | |

| 보다 바람직한 조합 | -X- | $-L^1-$ | $-L^2-$ |
|---|---|---|---|
| | CL-1 또는 CL-1-r | LK-1a-2 | (LN-1-2), (LN-3-2) 또는 (LN-5-2) |
| | CL-2 또는 CL-2-r | LK-2-2 | |

| 더욱 바람직한 조합 | -X- | $-L^1-$ | $-L^2-$ |
|---|---|---|---|
| | CL-1 또는 CL-1-r | LK-1a-3a | (LN-1-3), (LN-3-3a) 또는 (LN-5-3a) |
| | CL-2 또는 CL-2-r | LK-2-3 | |

[0199]

[0200] 의 군에서 선택되는 부분 구조로 나타내지는 바와 같다(표 중의 $-L^1-$, $-L^2-$는, 상기 양태 [1-12A-1]에 기재된 정의와 동일하고; -X-는 상기 양태 [1-12]에 기재된 바와 같다).

[0201] [1-13] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔이, 상기 양태 [1-12]의 식 (III-L)[식 (III-L) 중, 각 정의는, 양태 [1-12]의 정의와 동일하다] 또는 상기 양태 [1-12A]의 식 (III-L)[식 (III-L) 중, 각 정의는, 양태 [1-12A]의 정의와 동일하다]로 표시되는 기를 통한 화학 가교 및 2가 금속 이온을 통한 이온 가교를 포함하는 것이다.

[0202] [1-13A] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의, 이온 가교 형성에 사용되는 2가 금속 이온은, 바람직하게는, 칼슘 이온, 마그네슘 이온, 바륨 이온, 스트론튬 이온 및 아연 이온의 군에서 선택되는 2가 금속 이온이며; 보다 바람직하게는, 칼슘 이온, 바륨 이온 또는 스트론튬 이온이며; 더욱 바람직하게는, 칼슘 이온 또는 바륨 이온이다.

[0203] [1-14] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의, 이온 가교 형성에 사용되는 2가 금속 이온을 포함하는 수용액은, 염화칼슘 수용액, 탄산칼슘 수용액, 글루콘산칼슘 수용액, 염화바륨 수용액, 염화스트론튬 수용액 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 2가 금속 이온을 포함하는 수용액을 공급원으로 할 수 있고; 바람직하게는, 염화칼슘 수용액 또는 염화바륨 수용액이다.

[0204] [1-15-1] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 양이온성 폴리머층의 양이온성 폴리머는, 폴리아미노산, 염기성 다당류 및 염기성 폴리머 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 양이온성 폴리머이다.

[0205] [1-15-2] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 양이온성 폴리머층의 양이온성 폴리머는, 바람직하게는, 폴리아미노산인, 폴리-L-오르니틴(PLO), 폴리-D-오르니틴(PDO), 폴리-DL-오르니틴, 폴리-D-리신(PDL), 폴리-L-리신(PLL), 폴리-DL-리신, 폴리-L-아르기닌(PLA), 폴리-D-아르기닌(PDA), 폴리-DL-아르기닌, 폴리-L-호모아르기닌(PLHA), 폴리-D-호모아르기닌(PDHA), 폴리-DL-호모아르기닌, 폴리-L-히스티딘(PLH), 폴리-D-히스티딘(PDH) 및 폴리-DL-히스티딘으로 이루어지는 군에서 선택되는 양이온성 폴리머이며; 보다 바람직하게는, 폴리-L-오르니틴 또는 폴리-L-리신이며; 더욱 바람직하게는, 폴리-L-오르니틴이다.

[0206] [1-15-3] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 양이온성 폴리머층의 양이온성 폴리머는, 키토산이다.

[0207] [1-15-4] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 양이온성 폴리머층의 양이온성 폴리머는, 폴리메틸렌-CO-구아니딘(PMCG), 폴리알릴아민(PAA), 폴리비닐아민(PVA), 폴리에틸렌이민, 알릴아민-디알릴아민 공중합체 및 알릴아민-말레산 공중합체로 이루어지는 군에서 선택되는 양이온성 폴리머이며; 바람직하게는, 폴리알릴아민(PAA), 폴리에틸렌이민, 또는 폴리메틸렌-CO-구아니딘(PMCG)이다.

[0208] [1-16] 상기 양태 [1] 또는 [1A]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 외경은, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 2000㎛의 범위이다.

[0209] 상기 양태에 기재된 Akn, $-L^1-$, $-L^2-$, X의 정의를 적절히 조합한 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용함으로써, 상기 양태의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 있어서의, 가교 알긴산 겔의 바람직한 형태를 임의로 형성할 수 있다.

[0210] [1-17-1] 상기 양태 [1] 또는 [1A]의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 바람직하게는, 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-1-1]에 기재된 알긴산 유도체 또는 상기 양태 [1-1-5]의 바람직한 알긴산 유도체로부터 선택되고, 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-2-1]에 기재된 알긴산 유도체 또는 상기 양태 [1-2-5]의 바람직한 알긴산 유도체로부터 선택되고; 항체 산생 세포가, 상기 양태 [1-3-1] 내지 [1-3-3]에 기재된 세포로부터 선택되고; 양이온성 폴리머층이, 상기 양태 [1-15-1]에 기재된 양이온성 폴리머로부터 선택되는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버이다.

[0211] [1-17-1B] 상기 양태 [1] 또는 [1A]의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 바람직하게는, 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-1-1]에 기재된 알긴산 유도체 또는 상기 양태 [1-1-5]의 바람직한 알긴산 유도체로부터 선택되고, 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-2-1]에 기재된 알긴산 유도체 또는 상기 양태 [1-2-5]의 바람직한 알긴산 유도체로부터 선택되고; 항체 산생 세포가, 양태 [1B-3-1] 내지 [1B-3-9]에 기재된 세포로부터 선택되고; 양이온성 폴리머층이, 상기 양태 [1-15-1]에 기재된 양이온성 폴리머로부터 선택되는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버이다.

[0212] [1-17-2] 상기 양태 [1] 또는 [1A]의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 보다 바람직하게는, 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-1-2]에 기재된 알긴산 유도체 또는 상기 양태 [1-1-5]의 보다 바람직한 알긴산 유도체로부터 선택되고, 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-2-2]에 기재된 알긴산 유도체 또는 상기 양태 [1-2-5]의 보다 바람직한 알긴산 유도체로부터 선택되고; 항체 산생 세포가 상기 양태 [1-3-2] 내지 [1-3-3]에 기재된 세포로부터 선택되고; 양이온성 폴리머층이, 상기 양태 [1-15-2] 내지 [1-15-4]에 기재된 양이온성 폴리머로부터 선택되는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버이다.

[0213] [1-17-2B] 상기 양태 [1] 또는 [1A]의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 보다 바람직하게는, 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-1-2]에 기재된 알긴산 유도체 또는 상기 양태 [1-1-5]의 보다 바람직한 알긴산 유도체로부터 선택되고, 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-2-2]에 기재된 알긴산 유도체 또는 상기 양태 [1-2-5]의 보다 바람직한 알긴산 유도체로부터 선택되고; 항체 산생 세포가 양태 [1B-3-2] 내지 [1B-3-9]에 기재된 세포로부터 선택되고; 양이온성 폴리머층이, 상기 양태 [1-15-2] 내지 [1-15-4]에 기재된 양이온성 폴리머로부터 선택되는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버이다.

[0214] [1-17-3] 상기 양태 [1] 또는 [1A]의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 더욱 바람직하게는, 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-1-3]에 기재된 알긴산 유도체로부터 선택되고, 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-2-3]에 기재된 알긴산 유도체로부터 선택되고; 항체 산생 세포가 상기 양태 [1-3-2] 내지 [1-3-3]에 기재된 세포로부터 선택되고; 양이온성 폴리머층이, 상기 양태 [1-15-2] 또는 [1-15-4]에 기재된 양이온성 폴리머로부터 선택되는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버이다.

[0215] [1-17-3B] 상기 양태 [1] 또는 [1A]의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 더욱 바람직하게는, 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-1-3]에 기재된 알긴산 유도체로부터 선택되고, 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-2-3]에 기재된 알긴산 유도체로부터 선택되고; 항체 산생 세포가 양태 [1B-3-3] 또는 [1B-3-9]에 기재된 세포로부터 선택되고; 양이온성 폴리머층이, 상기 양태 [1-15-2] 또는 [1-15-4]에 기재된 양이온성 폴리머로부터 선택되는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버이다.

[0216] [1-17-4] 상기 양태 [1] 또는 [1A]의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 특히 바람직하게는, 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-1-4]에 기재된 알긴산 유도체로부터 선택되고, 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-2-4]에 기재된 알긴산 유도체로부터 선택되고; 항체 산생 세포는 항체 산생 CHO 세포이며; 양이온성 폴리머층이, 폴리-L-오르니틴, 폴리알릴아민(PAA), 폴리에틸렌이민, 또는 폴리메틸렌-CO-구아니딘(PMCG)으로부터 선택되는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버이다.

[0217] [1-17-5] 상기 양태 [1-17-1] 내지 [1-17-4]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 가교 알긴산

겔은, 상기 양태 [1-4] 내지 [1-4-1]에 기재된 어느 첨가할 수 있는 성분을 포함하는 것이다.

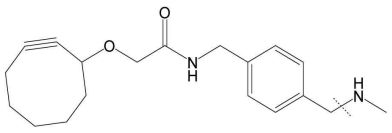
[0218] 상기 양태에 기재된 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버에 있어서의, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포, 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 양이온성 폴리머(양이온성 폴리머층)의 각 요소를 조합함으로써, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법의 바람직한 형태를 임의로 형성할 수 있다.

[0219] [1B] 제1B 양태는 다음과 같다. 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 얻어지는 가교 알긴산 겔에 포매된 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 코어층과, 상기 코어층을 피복하는 양이온성 폴리머층(양이온성 폴리머)과, 상기 양이온성 폴리머층을 피복하는 음이온성 폴리머층(음이온성 폴리머)을 포함하는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버. 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체는, 상기 양태 [1]에 정의된 것과 동일하다.

[0220] [1C] 제1C 양태는 다음과 같다. 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포와, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 얻어지는 가교 알긴산 겔을 포함하는 코어층을, 양이온성 폴리머 및 음이온성 폴리머로 피복함으로써 얻어지는, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버. 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체는, 상기 양태 [1]에 정의된 것과 동일하다.

[0221] [1D] 제1D 양태는 다음과 같다. 코어층과, 상기 코어층의 외측에 배치되는 양이온성 폴리머층, 상기 양이온성 폴리머층의 외측에게 배치되는 음이온성 폴리머층을 포함하는, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버이며, 상기 코어층은, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포와 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교가 형성된 가교 알긴산 겔을 포함하는, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버. 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체는, 상기 양태 [1]에 정의된 것과 동일하다.

[0222] [1B-1-1] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 Akn-$L^1$-은, 바람직하게는, 상기 양태 [1-1-1]에 기재된 정의와 동일하고; 보다 바람직하게는, 상기 양태 [1-1-2]에 기재된 정의와 동일하고; 더욱 바람직하게는, 상기 양태 [1-1-3]에 기재된 정의와 동일하고; 특히 바람직하게는, 상기 양태 [1-1-4]에 기재된 정의와 동일하고; 가장 바람직하게는, 하기 부분 구조식(각 식 중, 파선 우측은 포함하지 않는다):

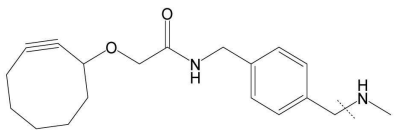


ALK-2-3

[0223]

[0224] 으로 표시되는 기이다.

[0225] [1B-1-2] 상기 양태 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 Akn-$L^1$-은, 상기 양태 [1-1-5]에 기재된 정의와 동일하고; 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한 Akn-$L^1$-은, 각각, 상기 양태 [1-1-5]에 기재된 정의와 동일하고; 특히 바람직하게는, 하기 부분 구조식(각 식 중, 파선 우측은 포함하지 않는다):



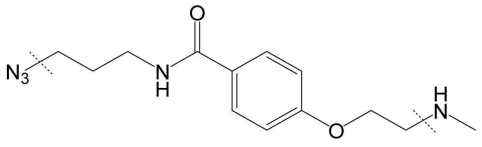
ALK-2-3

[0226]

[0227] 으로 표시되는 기이다.

[0228] [1B-2-1] 상기 양태 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 -$L^2$-는, 바람직하게는, 상기 양태 [1-2-1]에 기재된 정의와 동일하고; 보다 바람직하게는, 상기 양태 [1-2-2]에 기재된 정의와 동일하고; 더욱 바람직하게는, 상기 양태 [1-2-3]에 기재된 정의와 동일하고; 특히 바람직하게는, 상기 양태 [1-2-4]에 기재된 정의와 동일하고; 가장 바람직하게는, 하기 부분 구조식(각 식 중, 양단의 파선 외

측은 포함하지 않는다):

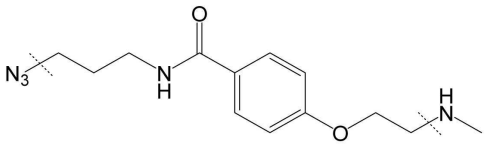


LN-1-3

[0229]

[0230] 으로 표시되는 기이다.

[0231] [1B-2-2] 상기 양태 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 $-L^2-$는, 상기 양태 [1-2-5]에 기재된 정의와 동일하고; 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한 $-L^2-$는, 각각, 상기 양태 [1-2-5]에 기재된 정의와 동일하고; 특히 바람직하게는, 하기 부분 구조식(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다):



LN-1-3

[0232]

[0233] 으로 표시되는 기이다.

[0234] [1B-2A] 상기 양태 [1], [1B-1-1] 내지 [1B-2-2]에 기재된 Akn, $-L^1-$, $-L^2-$의 정의를 적절히 조합한 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용함으로써, 본 발명의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 있어서의, 가교 알긴산 겔의 바람직한 형태를 임의로 형성할 수 있다.

[0235] [1B-3] 상기 양태 [1], [1A], [1B] 내지 [1D]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포는, 예를 들어, 항체(인간 항체, 인간화 항체, 키메라 항체, 마우스 항체 등의 각종 모노클로날 항체 또는 그들의 이중 특이적 항체, 저분자화 항체, 당쇄 개변 항체 등의 각종 개변형 항체) 산생 세포, 생리 활성 물질(효소, 사이토카인, 호르몬, 혈액 응고계 인자, 백신 등) 산생 세포, 의약품 원료, 화학 원료, 식품 원료 등으로서 유용한 각종 유용 물질을 산생할 수 있는 세포를 들 수 있고; 바람직하게는, 항체 산생 세포 또는 생리 활성 물질 산생 세포이다.

[0236] [1B-3-1] 상기 양태 [1], [1A], [1B], [1C] 또는 [1D]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 항체 산생 세포는, 항체를 산생하는 B 세포로부터 얻어진 하이브리도마(항체 산생 하이브리도마) 또는 항체 발현 벡터에 의해 형질 전환된 배양 세포(항체 산생 유전자 재조합 세포)이다.

[0237] [1B-3-2] 상기 양태 [1], [1A], [1B] 내지 [1D]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 항체 산생 세포는, 바람직하게는, 항체를 산생하는 유전자 재조합 동물 세포이다.

[0238] [1B-3-3] 상기 양태 [1B-3-2]에 있어서, 숙주로서 사용되는 동물 세포는, CHO 세포, CHO 세포 아주(CHO-K1 세포, CHO-DG44 세포, CHO-DXB11 세포, 또는 당쇄를 개변시키도록 형질 전환된 CHO 세포 등), COS 세포, Sp2/0 세포, NS0 세포, SP2 세포, PERC6 세포, YB2/0 세포, YE2/0 세포, 1R983F 세포, Namalwa 세포, Wil-2 세포, Jurkat 세포, Vero 세포, Molt-4 세포, HEK293 세포, BHK 세포, HT-1080 세포, KGH6 세포, P3X63Ag8.653 세포, C127 세포, JC 세포, LA7 세포, ZR-45-30 세포, hTERT 세포, NM2C5 세포, 또는 UACC-812 세포로부터 선택되는 세포이다.

[0239] [1B-3-4] 상기 양태 [1B-3-2]에 있어서, 숙주로서 사용되는 동물 세포는, 바람직하게는, CHO 세포, CHO 세포 아주, COS 세포, Sp2/0 세포, NS0 세포, SP2 세포, PERC6 세포, HEK293 세포, BHK 세포, HT-1080 세포, 또는 C127 세포로부터 선택되는 세포이며; 보다 바람직하게는, CHO 세포, CHO 세포 아주, Sp2/0 세포, NS0 세포,

HEK293 세포, 또는 BHK 세포로부터 선택되는 세포이며; 더욱 바람직하게는, CHO 세포 또는 CHO 세포 아주이다.

[0240] [1B-3-5] 상기 양태 [1], [1A], [1B] 내지 [1D]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 항체 산생 세포는, 바람직하게는, 그의 숙주 세포가 CHO 세포, CHO 세포 아주, Sp2/0 세포, 또는 NS0 세포로부터 선택되는 세포이며; 보다 바람직하게는, CHO 세포 또는 CHO 세포 아주이다.

[0241] [1B-3-6] 상기 양태 [1], [1A], [1B] 내지 [1D]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 항체 산생 세포는, 바이오 의약품 또는 바이오 의약품 원료로서 사용할 수 있는 항체를 산생하는 세포이다.

[0242] [1B-3-7] 상기 양태 [1], [1A], [1B] 내지 [1D]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 항체 산생 세포는, 무로모납-CD3, 트라스투주맙, 리툭시맙, 팔리비주맙, 인플릭시맙, 바실릭시맙, 토실리주맙, 베바시주맙, 아달리무맙, 세툭시맙, 오말리주맙, 에쿨리주맙, 파니투무맙, 우스테키누맙, 골리무맙, 카나키누맙, 데노수맙, 오파투무맙, 페르투주맙, 나탈리주맙, 니볼루맙, 알렘투주맙, 세쿠키누맙, 라무시루맙, 이필리무맙, 에볼로쿠맙, 메폴리주맙, 알리로쿠맙, 익세키주맙, 브로달루맙, 엘로투주맙, 펨브롤리주맙, 사릴루맙, 베즐로톡수맙, 벨리무맙, 다라투무맙, 아벨루맙, 두필루맙, 아테졸리주맙, 에미시주맙, 구셀쿠맙, 두르발루맙, 베돌리주맙, 로모소주맙, 리산키주맙, 네시투무맙, 라불리주맙, 부로수맙, 이사툭시맙, 틸드라키주맙, 사트랄리주맙, 갈카네주맙, 디누툭시맙, 프레마네주맙, 에레누맙, 카시리비맙, 임데비맙, 아니프롤루맙, 소트로비맙, 오크렐리주맙, 낙시타맙, 아두카누맙, 타파시타맙, 마르게툭시맙, 간테네루맙, 티라골루맙, 크로발리맙, 네몰리주맙, 카투막소맙, 플라모타밥, 파리시맙, 겜투주맙, 이브리투모맙, 브렌툭시맙, 이노투주맙, 폴라투주맙, 엔포르투맙, 사시투주맙, 벨란타맙, 론카스툭시맙, 티소투맙, 다토포타맙, 파트리투맙 등의 항체를 산생하는 세포; 모가물리주맙, 벤랄리주맙, 오비누투주맙, 이네빌리주맙 등의 개변 당쇄를 갖는 항체를 산생하는 세포; 라니비주맙, 이다루시주맙, 블리나투모맙, 브롤루시주맙, 아브식시맙, 카플라시주맙, 세르톨리주맙 등의 항체 단편을 포함하는 저분자 항체를 산생하는 세포 등으로부터 선택되는 세포이다.

[0243] [1B-3-8] 상기 양태 [1], [1A], [1B] 내지 [1D]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 항체 산생 세포는, 항체 산생 동물 세포이며, 바람직하게는, 항체 산생 CHO 세포, 항체 산생 Sp2/0 세포 또는 항체 산생 NS0 세포이며, 보다 바람직하게는, 항체 산생 CHO 세포이다.

[0244] [1B-3-9] 상기 양태 [1], [1A], [1B] 내지 [1D]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 항체 산생 세포는, 바람직하게는, 그의 숙주 세포가 CHO 세포인 항체 산생 CHO 세포이고, 예를 들어, 무로모납-CD3 산생 CHO 세포, 트라스투주맙 산생 CHO 세포, 리툭시맙 산생 CHO 세포, 팔리비주맙 산생 CHO 세포, 인플릭시맙 산생 CHO 세포, 바실릭시맙 산생 CHO 세포, 토실리주맙 산생 CHO 세포, 겜투주맙 산생 CHO 세포, 베바시주맙 산생 CHO 세포, 이브리투모맙 산생 CHO 세포, 아달리무맙 산생 CHO 세포, 세툭시맙 산생 CHO 세포, 라니비주맙 산생 CHO 세포, 오말리주맙 산생 CHO 세포, 에쿨리주맙 산생 CHO 세포, 파니투무맙 산생 CHO 세포, 우스테키누맙 산생 CHO 세포, 골리무맙 산생 CHO 세포, 카나키누맙 산생 CHO 세포, 데노수맙 산생 CHO 세포, 모가물리주맙 산생 CHO 세포, 세르톨리주맙 산생 CHO 세포, 오파투무맙 산생 CHO 세포, 페르투주맙 산생 CHO 세포, 브렌툭시맙 산생 CHO 세포, 나탈리주맙 산생 CHO 세포, 니볼루맙 산생 CHO 세포, 알렘투주맙 산생 CHO 세포, 세쿠키누맙 산생 CHO 세포, 라무시루맙 산생 CHO 세포, 이필리무맙 산생 CHO 세포, 에볼로쿠맙 산생 CHO 세포, 메폴리주맙 산생 CHO 세포, 알리로쿠맙 산생 CHO 세포, 익세키주맙 산생 CHO 세포, 브로달루맙 산생 CHO 세포, 이다루시주맙 산생 CHO 세포, 엘로투주맙 산생 CHO 세포, 펨브롤리주맙 산생 CHO 세포, 사릴루맙 산생 CHO 세포, 베즐로톡수맙 산생 CHO 세포, 벨리무맙 산생 CHO 세포, 다라투무맙 산생 CHO 세포, 아벨루맙 산생 CHO 세포, 두필루맙 산생 CHO 세포, 아테졸리주맙 산생 CHO 세포, 벤랄리주맙 산생 CHO 세포, 이노투주맙 산생 CHO 세포, 에미시주맙 산생 CHO 세포, 구셀쿠맙 산생 CHO 세포, 두르발루맙 산생 CHO 세포, 오비누투주맙 산생 CHO 세포, 베돌리주맙 산생 CHO 세포, 로모소주맙 산생 CHO 세포, 리산키주맙 산생 CHO 세포, 네시투무맙 산생 CHO 세포, 라불리주맙 산생 CHO 세포, 부로수맙 산생 CHO 세포, 이사툭시맙 산생 CHO 세포, 틸드라키주맙 산생 CHO 세포, 사트랄리주맙 산생 CHO 세포, 갈카네주맙 산생 CHO 세포, 디누툭시맙 산생 CHO 세포, 프레마네주맙 산생 CHO 세포, 에레누맙 산생 CHO 세포, 카시리비맙 산생 CHO 세포, 임데비맙 산생 CHO 세포, 아니프롤루맙 산생 CHO 세포, 소트로비맙 산생 CHO 세포, 오크렐리주맙 산생 CHO 세포, 낙시타맙 산생 CHO 세포, 아두카누맙 산생 CHO 세포, 타파시타맙 산생 CHO 세포, 마르게툭시맙 산생 CHO 세포, 폴라투주맙 산생 CHO 세포, 엔포르투맙 산생 CHO 세포, 사시투주맙 산생 CHO 세포, 벨란타맙 산생 CHO 세포, 론카

스툭시맙 산생 CHO 세포, 티소투맙 산생 CHO 세포, 이네빌리주맙 산생 CHO 세포, 블리나투모맙 산생 CHO 세포, 브롤루시주맙 산생 CHO 세포, 아브식시맙 산생 CHO 세포, 카플라시주맙 산생 CHO 세포, 또는 항GPVI 항체 산생 CHO 세포로부터 선택되는 세포이며; 트라스투주맙 산생 CHO 세포, 리툭시맙 산생 CHO 세포, 인플릭시맙 산생 CHO 세포, 토실리주맙 산생 CHO 세포, 아달리무맙 산생 CHO 세포, 니볼루맙 산생 CHO 세포, 또는 항GPVI 항체 산생 CHO 세포로부터 선택되는 세포이다.

[0245] [1B-3-10] 상기 양태 [1], [1A], [1B] 내지 [1D]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 생리 활성 물질 산생 세포는, 상기 양태 [1-3-4]에 기재된, 생리 활성 물질 산생 세포와 동일하다.

[0246] [1B-3-11] 상기 양태 [1], [1A], [1B] 내지 [1D]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 생리 활성 물질 산생 세포는, 인슐린 분비 세포, 췌장섬, 췌장섬 세포, 또는 췌장 β 세포 유래의 MIN6 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 세포이다.

[0247] [1B-3-12] 상기 양태 [1], [1A], [1B] 내지 [1D]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 생리 활성 물질 산생 세포는, 생리 활성 물질 발현 벡터에 의해 형질 전환된 배양 세포(생리 활성 물질 산생 유전자 재조합 세포)이다.

[0248] [1B-3-13] 상기 양태 [1], [1A], [1B] 내지 [1D]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 생리 활성 물질 산생 세포는, 생리 활성 물질을 산생하는 유전자 재조합 동물 세포이다.

[0249] [1B-3-14] 상기 양태 [1B-3-13]에 있어서, 숙주로서 사용되는 동물 세포로서는, CHO 세포, CHO 세포 아주, COS 세포, Sp2/0 세포, NS0 세포, SP2 세포, 또는 PERC6 세포, HEK293 세포, BHK 세포, HT-1080 세포, 또는 C127 세포로부터 선택되는 세포이며; 바람직하게는, CHO 세포, CHO 세포 아주, Sp2/0 세포 및 NS0 세포, HEK293 세포, 또는 BHK 세포로부터 선택되는 세포이며; 보다 바람직하게는, CHO 세포, 또는 CHO 세포 아주이다.

[0250] [1B-3-15] 상기 양태 [1], [1A], [1B] 내지 [1D]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 생리 활성 물질 산생 세포는, 바람직하게는, 그의 숙주 세포가 CHO 세포, CHO 세포 아주, HEK293 세포, 또는 BHK 세포로부터 선택되는 세포이며; 보다 바람직하게는, CHO 세포, 또는 CHO 세포 아주이다.

[0251] [1B-3-16] 상기 양태 [1], [1A], [1B] 내지 [1D]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 생리 활성 물질 산생 세포는, 바이오 의약품 또는 바이오 의약품 원료로서 사용할 수 있는 생리 활성 물질을 산생하는 세포이다.

[0252] [1B-3-17] 상기 양태 [1], [1A], [1B] 내지 [1D]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 생리 활성 물질 산생 세포는, 알테플라아제, 몬테플라아제, 이미글루세라아제, 벨라글루세라아제, 아갈시다아제, 라로니다아제, 알글루코시다아제, 아발글루코시다아제, 이두술파아제, 갈술파아제, 엘로술파아제, 라스부리카아제, 도르나아제, 세르리포나아제, 글루카르피다아제, 히알루로니다아제, 아스포타아제 등의 효소를 산생하는 세포; 엡타코그, 옥토코그, 루리옥토코그, 투록토코그, 로녹토코그, 다목토코그, 시목토코그, 노나코그, 알부트레페노나코그, 카트리데카코그, 에프랄록토코그, 에프트레노나코그, 트롬보모듈린, 안티트롬빈, 보니코그, 알부민 등의 혈액 응고계 인자 및 혈액 관련 단백을 산생하는 세포; 인슐린, 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 인슐린 글라진, 인슐린 데테미르, 글루리신, 데굴데크, 소마트로핀, 소마파시탄, 메카세르민, 카르페리티드, 보소리티드, 글루카곤, 폴리트로핀, 코리오고나도트로핀, 둘라글루티드, 리라글루티드, 세마글루티드, 테두글루티드, 테리파라티드, 메트렐렙틴 등의 호르몬을 산생하는 세포; 인터페론알파-2a, 인터페론알파-2b, 인터페론베타-1a, 인터페론베타-1b, 인터페론감마-1a 등의 인터페론을 산생하는 세포; 에포에틴, 다르베포에틴, 로미플로스팀 등의 조혈 인자를 산생하는 세포; 필그라스팀, 레노그라스팀, 테세류킨, 트라페르민, 벨페르민, 에타네르셉트, 아플리베르셉트, 데닐류킨 디프티톡스 등의 사이토카인 및 그들의 수용체를 산생하는 세포; 아바타셉트 등의 세포 표면 항원, 세포 표면 수용체 및 그들의 리간드를 산생하는 세포로부터 선택되는 세포이다.

[0253] [1B-3-18] 상기 양태 [1], [1A], [1B] 내지 [1D]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 생리 활성 물질 산생 세포는, 생리 활성 물질 산생 동물 세포이며, 바람직하게는, 생리 활성 물질 산생 CHO 세포, 생리 활성 물질 산생 HEK293 세포 또는 생리 활성 물질 산생 BHK 세포이며, 보다 바람직하게는, 생리 활성 물질 산생 CHO 세포이다.

[0254] [1B-3-19] 상기 양태 [1], [1A], [1B] 내지 [1D]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 생리 활성 물질 산생 세포는, 바람직하게는, 그의 숙주 세포가 CHO 세포인 생리 활성 물질 산생 세포 CHO 세포이며, 예를 들어, 알테플라아제 산생 CHO 세포, 알글루코시다아제 산생 CHO 세포, 루리옥토코그 산생 CHO 세포, 둘라글루티드 산생 CHO 세포, 인터페론베타-1a 산생 CHO 세포, 다르베포에틴 산생 CHO 세포, 에타네르셉트 산생 CHO 세포, 아플리베르셉트 산생 CHO 세포 또는 아바타셉트 산생 CHO 세포로부터 선택되는 세포이다.

[0255] [1B-4] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 추가로 포함할 수 있는 성분은, 상기 양태 [1-4]에 기재된 성분과 동일하며; 바람직한 성분으로서는, 상기 양태 [1-4-1]에 기재된 성분과 동일하다.

[0256] [1B-5] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 겔 여과 크로마토그래피법에 의해 측정한 중량 평균 분자량은, 상기 양태 [1-5]에 기재된 중량 평균 분자량의 범위와 동일하다.

[0257] [1B-6] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 겔 여과 크로마토그래피법에 의해 측정한 중량 평균 분자량은, 상기 양태 [1-6]에 기재된 중량 평균 분자량의 범위와 동일하다.

[0258] [1B-7] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 반응성기(Akn-$L^1$-$NH_2$기: Akn-$L^1$-은, 상기 양태 [1], [1B-1-1] 또는 [1B-1-2] 중의 정의와 동일하다)의 도입률은, 상기 양태 [1-7]에 기재된 도입률의 범위와 동일하다.

[0259] [1B-8] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 반응성기($N_3$-$L^2$-$NH_2$기: -$L^2$-는, 상기 양태 [1], [1B-2-1] 또는 [1B-2-2] 중의 정의와 동일하다)의 도입률은, 상기 양태 [1-8]에 기재된 도입률의 범위와 동일하다.

[0260] [1B-9] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 추가로 포함할 수 있는 알긴산 용액, 또는 알긴산 겔의 형성에 사용되는 알긴산 용액의 조제에 사용되는 알긴산(예를 들어, 알긴산나트륨, 등)의 겔 여과 크로마토그래피법(GPC법)에 의해 측정한 중량 평균 분자량은, 상기 양태 [1-9-1]에 기재된 중량 평균 분자량의 범위와 동일하다.

[0261] [1B-10-1] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도는, 상기 양태 [1-10-1]에 기재된 농도의 범위와 동일하다.

[0262] [1B-10-2] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도는, 상기 양태 [1-10-2]에 기재된 농도의 범위와 동일하다.

[0263] [1B-10-3] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체와 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액의 농도는, 상기 양태 [1-10-3]에 기재된 농도의 범위와 동일하다.

[0264] [1B-10-4] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 추가로 포함할 수 있는 알긴산 용액, 또는 알긴산 겔의 형성에 사용되는 알긴산 용액의 농도는, 상기 양태 [1-10-4]에 기재된 농도의 범위와 동일하다.

[0265] [1B-11-1] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔에, 알긴산 용액, 또는 알긴산 용액으로부터 형성되는 알긴산 겔이 포함되는 경우, 코어층의 형성에 사용되는 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액의 농도와 알긴산 용액의 농도의 총 농도는, 바람직하게는 약 0.5 내지 약 2.0중량%이며; 보다 바람직하게는, 약 1.0중량%, 약 1.5중량% 및 약 2.0중량%로부터 선택되는 농도이며; 더욱 바람직하게는, 약 1.5중량%이다.

[0266] [1B-11-2] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔에, 알긴산 용액, 또는 알긴산 용액으로부터 형성되는 알긴산 겔이 포함되는 경우, 코어층의 형성에 사용되는 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액의 농도(C1(중량%))와 알긴산 용액의 농도(C2(중량%))의 조합은, 바람직하게는, (C1:C2)=(약 0.2:약 1.3), (약 0.5:약 1.0), (약 1.0:약 0.5), (약 1.5:0), (약 0.66:약 1.34) 및 (약 0.34:약 0.66)으로 이루어지는 군에서 선택되는 조합이다.

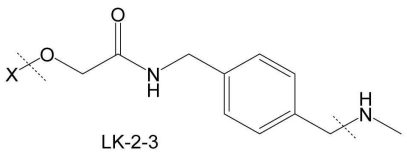
[0267] [1B-11-3] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔에, 알긴산 용액, 또는 알긴산 용액으로부터 형성되는 알긴산 겔이 포함되는 경우, 코어층의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도(C1A(중량%)), 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도(C1N(중량%)) 및 알긴산 용액의 농도(C2(중량%))의 조합은, 바람직하게는, (C1A:C1N:C2)=(약 0.1:약 0.1:약 1.3), (약 0.25:약 0.25:약 1.0), (약 0.5:약 0.5:약 0.5), (약 0.75:약 0.75:0), (약 0.33:약 0.33:약 1.34) 및 (약 0.17:약 0.17:약 0.66)으로 이루어지는 군에서 선택되는 조합이다.

[0268] [1B-11-4] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액 혼합 용액에 있어서의, 각 유도체의 용액 용량비(v1, v2)는 예를 들어, v1+v2=15의 비율이며, 예를 들어, (v1:v2)=(7.5:7.5)이다.

[0269] [1B-11-5] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔에, 알긴산 용액, 또는 알긴산 용액으로부터 형성되는 알긴산 겔이 포함되는 경우, 코어층의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액 및 알긴산 용액의 혼합 용액에 있어서의, 각각의 용액의 용량(v1, v2, v3)의 용량비는, 예를 들어, v1+v2+v3=15의 비율이며, 예를 들어, (v1:v2:v3)=(5:5:5), (2.5:2.5:10), (1:1:13) 등의 조합이다.

[0270] [1B-12] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔은, 상기 양태 [1-12]에 기재된 식 (III-L)(식 중의 정의는 상기 양태 [1-12] 중의 정의와 동일하다)로 표시되는 기를 통한 화학 가교를 포함하는 것이다.

[0271] [1B-12-1] 상기 양태 [1B-12]의 식 (III-L)에 있어서, 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한, 특히 바람직한 $-L^1-$은, 각각, 상기 양태 [1-12-1]에 기재된 정의와 동일하고; 가장 바람직하게는, -X-가, (CL-2) 또는 (CL-2-r)에서의, 하기 부분 구조식:

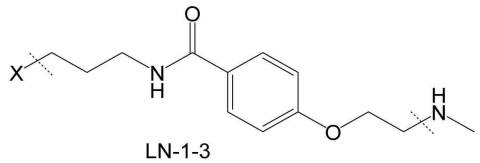



LK-2-3

[0272]

[0273] 의 2가의 링커이다(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다).

[0274] [1B-12-2] 상기 양태 [1B-12]의 식 (III-L)에 있어서, 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한, 특히 바람직한 $-L^2-$는, 각각, 상기 양태 [1-12-2]에 기재된 정의와 동일하고; 가장 바람직하게는, 하기 부분 구조식:



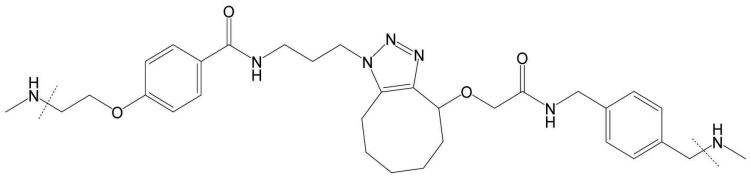

LN-1-3

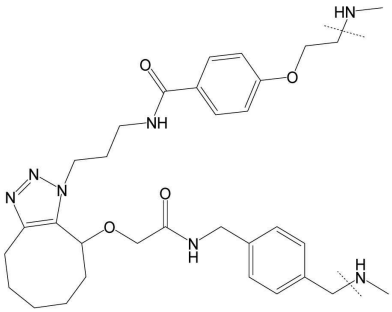
[0275]

[0276] 의 2가의 링커이다(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다).

[0277] [1B-12-3] 상기 양태 [1B-12]에 있어서, 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한, 특히 바람직한 식 (III-L)로 표시되는 기의 $-L^2-X-L^1-$의 조합은, 각각, 상기 양태 [1-12-3]에 기재된 정의와 동일하고; 가장 바람직하게는,

$-L^2-X-L^1-$은, 하기 식:





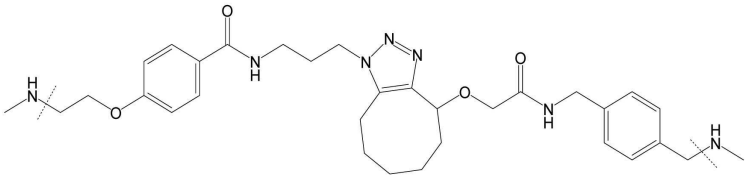
[0278]

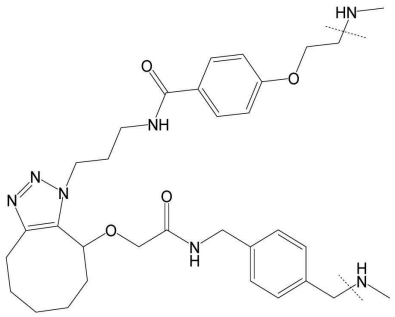
[0279] 의 어느 것이다(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다).

[0280] [1B-12A] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔이, 상기 양태 [1-12A]에 기재된 식 (III-L)[식 (III-L) 중의 각 정의는, 상기 양태 [1-12A]에 기재된 정의와 동일하다]로 표시되는 기를 통한 화학 가교를 포함하는 것이다.

[0281] [1B-12A-1] 상기 양태 [1B-12A]에 있어서, 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한 $-L^1-$은, 각각, 상기 양태 [1-12A-1]에 기재된 기와 동일하며; 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한 $-L^2-$는, 각각, 상기 양태 [1-12A-1]에 기재된 기와 동일하다.

[0282] [1B-12A-2] 상기 양태 [1B-12A]에 있어서, 식 (III-L)로 표시되는 기의 $-L^2-X-L^1-$의 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한 조합은, [1-12A-2]에 기재된 조합과 동일하고; 특히 바람직한 조합은, 하기 식:





[0283]

[0284] 의 어느 것이다(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다).

[0285] [1B-13] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔이, 상기 양태 [1-12]의 식 (III-L)[식 (III-L) 중, 각 정의는, 상기 양태 [1-12]의 정의와 동일하다] 또는 상기 양태 [1B-12A]의 식 (III-L)[식 (III-L) 중, 각 정의는, 양태 [1B-12A]의 정의와 동일하다]로 표시되는 기를 통한 화학 가교 및 2가 금속 이온을 통한 이온 가교를 포함하는 것이다.

[0286] [1B-13A] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의, 이온 가교 형성에 사용되는 2가 금속 이온은, 상기 양태 [1-13A]에 기재된 2가 금속 이온과 동일하다.

[0287] [1B-14] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의, 이온 가교 형성에 사용되는 2가 금속 이온의 공급원은, 상기 양태 [1-14]에 기재된 2가 금속 이온을 포함하는 수용액과 동일하다.

[0288] [1B-15-1] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 양이온성 폴리머층의 양이온성 폴리머는, 상기 양태 [1-15-1]에 기재된 양이온성 폴리머와 동일하다.

[0289] [1B-15-2] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 양이온성 폴리머층의, 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한 양이온성 폴리머는, 각각, 상기 양태 [1-15-2]에 기재된 양이온성 폴리머와 동일하다.

[0290] [1B-15-3] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 양이온성 폴리머층의 양이온성 폴리머는, 키토산이다.

[0291] [1B-15-4] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 양이온성 폴리머는, 상기 양태 [1-15-4]에 기재된 양이온성 폴리머와 동일하다.

[0292] [1B-16] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층은, 음이온성 다당류, 황산화 다당류, 합성 폴리머, 음이온성 폴리아미노산, 이들의 화학 수식체, 이들의 가교체, 이들의 혼합물, 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머이다.

[0293] [1B-16-1] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층은, 예를 들어, 알긴산, 히알루론산, 폴리갈락투론산, 카라기난, 숙시노글루칸, 아라비아 고무, 크산탄검, 알긴산, 펙틴, 펙틴산, 카르복시메틸셀룰로오스, 한천 등의 음이온성 다당류, 이들의 화학 수식체, 이들의 가교체, 이들의 혼합물, 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머이다.

[0294] [1B-16-2] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층은, 알긴산이다.

[0295] [1B-16-3] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층은, 상기 양태 [1] 또는 [1-1-5]의 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 상기 양태 [1] 또는 [1-2-5]의 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 상기 양태 [1] 또는 [1-1-5]의 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 및 상기 양태 [1] 또는 [1-2-5]의 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체로부터 형성되는 가교체, 및 이들의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머이다.

[0296] [1B-16-4] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층은, 알긴산, 상기 양태 [1] 또는 [1-1-5]의 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 상기 양태 [1] 또는 [1-2-5]의 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 상기 양태 [1] 또는 [1-1-5]의 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 및 상기 양태 [1] 또는 [1-2-5]의 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체로부터 형성되는 가교체, 및 이들의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머이다.

[0297] [1B-16-4-1] 상기 양태 [1B-16-3] 또는 [1B-16-4]에 있어서, 양태 [1]의 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한, 특히 바람직한 유도체는, 각각, 상기 양태 [1-1-1], 양태 [1-1-2], 양태 [1-1-3], 양태 [1-1-4]에 기재된 것과 동일하다.

[0298] [1B-16-4-2] 상기 양태 [1B-16-3] 또는 [1B-16-4]에 있어서, 양태 [1-1-5]의 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의, 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한 유도체는, 각각, 상기 양태 [1-1-5]에 기재된 것과 동일하다.

[0299] [1B-16-4-3] 상기 양태 [1B-16-3] 또는 [1B-16-4]에 있어서, 양태 [1]의 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한, 특히 바람직한 유도체는, 각각, 상기 양태 [1-2-1], 양태 [1-2-2], 양태 [1-2-3], 양태 [1-2-4]에 기재된 것과 동일하다.

[0300] [1B-16-4-4] 상기 양태 [1B-16-3] 또는 [1B-16-4]에 있어서, 양태 [1-2-5]의 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의, 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한 유도체는, 각각, 상기 양태 [1-2-5]에 기재된 것과 동

일하다.

[0301] [1B-16-5] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층은, 예를 들어, 콘드로이틴황산, 덱스트란황산, 헤파란황산, 데르마탄황산, 푸코이단, 케라탄황산, 또는 헤파린 등의 황산화 다당류, 이들의 화학 수식체, 이들의 가교체, 이들의 혼합물, 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머이다.

[0302] [1B-16-6] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층은, 예를 들어, 아크릴산, 메타크릴산, 에틸아크릴산, 폴리스티렌술폰산 등의 합성 폴리머, 이들의 화학 수식체, 이들의 가교체, 이들의 혼합물, 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머이다.

[0303] [1B-16-7] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층은, 예를 들어, 폴리글루탐산, 폴리아스파르트산 등의 음이온성 폴리아미노산, 이들의 화학 수식체, 이들의 가교체, 이들의 혼합물, 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머이다.

[0304] [1B-17] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 외경은, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 2000㎛의 범위이다.

[0305] 상기 양태에 기재된 Akn, $-L^1-$, $-L^2-$, X의 정의를 적절히 조합한 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용함으로써, 상기 양태의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 있어서의, 가교 알긴산 겔의 바람직한 형태를 임의로 형성할 수 있다.

[0306] [1B-18-1] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 바람직하게는, 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-1-1]에 기재된 알긴산 유도체 또는 상기 양태 [1-1-5]의 바람직한 알긴산 유도체로부터 선택되고, 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-2-1]에 기재된 알긴산 유도체 또는 상기 양태 [1-2-5]의 바람직한 알긴산 유도체로부터 선택되고; 항체 산생 세포가, 상기 양태 [1B-3-1] 내지 [1B-3-9]에 기재된 세포로부터 선택되고; 양이온성 폴리머층이, 상기 양태 [1-15-1]에 기재된 양이온성 폴리머로부터 선택되고; 음이온성 폴리머층이, 상기 양태 [1B-16] 내지 [1B-16-7]에 기재된 음이온성 폴리머로부터 선택되는, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버이다.

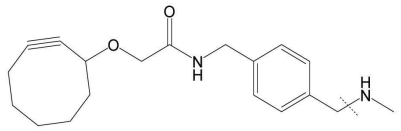
[0307] [1B-18-2] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 보다 바람직하게는, 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-1-2]에 기재된 알긴산 유도체 또는 상기 양태 [1-1-5]의 보다 바람직한 알긴산 유도체로부터 선택되고, 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-2-2]에 기재된 알긴산 유도체 또는 상기 양태 [1-2-5]의 보다 바람직한 알긴산 유도체로부터 선택되고; 항체 산생 세포가 상기 양태 [1B-3-2] 내지 [1B-3-9]에 기재된 세포로부터 선택되고; 양이온성 폴리머층이, 상기 양태 [1-15-2] 내지 [1-15-4]에 기재된 양이온성 폴리머로부터 선택되고; 음이온성 폴리머층이, 상기 양태 [1B-16-1]에 기재된 음이온성 폴리머로부터 선택되는, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버이다.

[0308] [1B-18-3] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 더욱 바람직하게는, 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-1-3]에 기재된 알긴산 유도체로부터 선택되고, 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-2-3]에 기재된 알긴산 유도체로부터 선택되고; 항체 산생 세포가 상기 양태 [1B-3-3] 내지 [1B-3-9]에 기재된 세포로부터 선택되고; 양이온성 폴리머층이, 상기 양태 [1-15-2] 또는 [1-15-4]에 기재된 양이온성 폴리머로부터 선택되고; 음이온성 폴리머층이, 상기 양태 [1B-16-2] 내지 [1B-16-4-4]에 기재된 음이온성 폴리머로부터 선택되는, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버이다.

[0309] [1B-18-4] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 특히 바람직하게는, 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-1-4]에 기재된 알긴산 유도체로부터 선택되고, 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체가 상기 양태 [1-2-4]에 기재된 알긴산 유도체로부터 선택되고; 항체 산생 세포가 상기 양태 [1B-3-6] 내지 [1B-3-9]에 기재된 세포로부터 선택되고; 양이온성 폴리머층이, 폴리-L-오르니틴, 폴리알릴아민(PAA), 폴리에틸렌이민, 또는 폴리메틸렌-CO-구아니딘(PMCG)으로부터 선택되고; 음이온성 폴리머층이, 알긴산, 상기 양태 [1-1-1] 내지 [1-1-4], [1-2-5]에 기재된 식 (I)로 표시되는 알긴산 유도체, 상기 양태 [1-2-1] 내지 [1-2-4], [1-2-5]에 기재된 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체 및 상기 양태 [1-1-1] 내지 [1-1-4], [1-1-5]에 기재된 식 (I)로 표시되는 알긴산 유도체와 상기 양태 [1-2-1] 내지 [1-2-4], [1-2-5]에 기재된 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체로부터 형성되는 가교체로부터 선택되는, 다층 폴리머

코팅 가교 알긴산 겔 파이버이다.

[0310] [1B-18-5] 상기 양태 [1B] 내지 [1D]의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 가장 바람직하게는, 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I)로 표시되는 알긴산 유도체가, Akn-$L^1$-로서 하기 부분 구조식(각 식 중, 파선 우측은 포함하지 않는다):

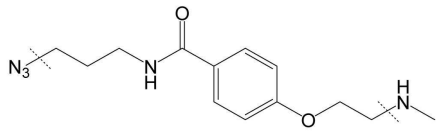


ALK-2-3

[0311]

[0312] 으로 표시되는 기를 갖는 것이며; 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체가, -$L^2$-

[0313] 로서, 하기 부분 구조식(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다):

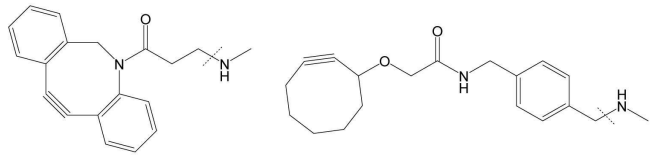


LN-1-3

[0314]

[0315] 으로 표시되는 기를 갖는 것이며; 항체 산생 세포가 상기 양태 [1B-3-5]에 기재된 세포로부터 선택되고, 바람직하게는 항체 산생 세포가 항체 산생 CHO 세포이며; 양이온성 폴리머층이, 폴리-L-오르니틴, 폴리알릴아민(PAA), 폴리에틸렌이민, 또는 폴리메틸렌-CO-구아니딘(PMCG)으로부터 선택되고;

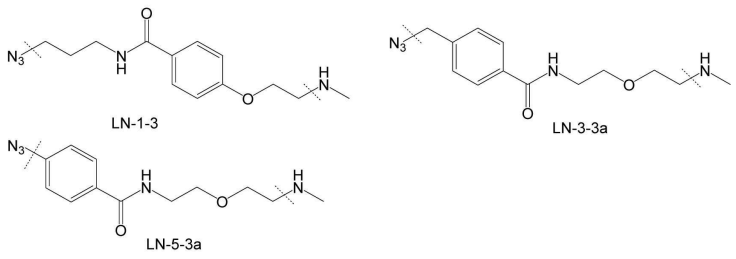
[0316] 음이온성 폴리머층이, 알긴산, Akn-$L^1$-로서 하기 부분 구조식(각 식 중, 파선 우측은 포함하지 않는다):



ALK-1a-3a ALK-2-3

[0317]

[0318] 를 갖는 식 (I)로 표시되는 알긴산 유도체, -$L^2$-로서, 하기 부분 구조식(각 식 중, 양단의 파선 외측은 포함하지 않는다):



LN-1-3 LN-3-3a LN-5-3a

[0319]

[0320] 를 갖는 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체 및 Akn-$L^1$-로서 상기 부분 구조식 (ALK-1a-3a) 또는 (ALK-2-3)을 갖는 식 (I)로 표시되는 알긴산 유도체와 -$L^2$-로서 상기 부분 구조식 (LN-1-3), (LN-3-3a) 또는 (LN-5-3a)를 갖는 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체로부터 형성되는 가교체로부터 선택되는, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버이다.

[0321] [1B-18-6] 상기 양태 [1B-18-1] 내지 [1B-18-5]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 가교 알긴산 겔은, 상기 양태 [1-4] 내지 [1-4-1]에 기재된 어느 첨가할 수 있는 성분을 포함하는 것이다.

[0322] 상기 양태에 기재된 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버에 있어서의, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포, 가교 알긴산 겔의 형성에 사용되는 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 양이온성 폴리머(양이온성 폴리머층), 음이온성 폴리머(다층 음이온성 폴리머)의 각 요소를 조합함으로써, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법의 바람직한 형태를 임의로 형성할 수 있다.

[0323] [2] 제2 양태는 다음과 같다. 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 상기 양태 [1]에 기재된 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 얻어지는 가교 알긴산 겔을 포함하는 코어층을, 양이온성 폴리머로 피복하여 형성되는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법으로서,

[0324] 공정 (1): 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 상기 양태 [1]에 기재된 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체가 포함되는 혼합 용액을, 2가 금속 이온을 포함하는 용액 중에 사출하여, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 코어층에 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를 얻는 공정,

[0325] 공정 (2): 공정 (1)에서 얻어진 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 코어층에 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를, 양이온성 폴리머를 포함하는 용액에 접촉시킴으로써, 양이온성 폴리머층으로 피복된 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)를 얻는 공정을 포함하는 것을 특징으로 하는, 제조 방법이다.

[0326] [2A] 상기 양태 [2]에 있어서의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 상기 양태([1] 내지 [1-17-5])의 어느 것에 기재된 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버이다.

[0327] [2-1] 상기 양태 [2]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조에 사용되는 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포는, 상기 양태 [1-3] 내지 [1-3-5] 중 어느 한 항에 기재된 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포와 동일하다.

[0328] [2-1-1] 상기 양태 [2]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조에 사용되는 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포는, 상기 양태 [1B-3] 내지 [1B-3-19] 중 어느 한 항에 기재된 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포와 동일하다.

[0329] [2-2] 상기 양태 [2]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조에 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 겔 여과 크로마토그래피법에 의해 측정한 중량 평균 분자량은, 예를 들어, 약 100,000Da 내지 약 3,000,000Da의 범위이며; 바람직하게는 약 300,000Da 내지 약 2,500,000Da의 범위이며, 보다 바람직하게는 약 500,000Da 내지 약 2,000,000Da의 범위이다.

[0330] [2-3] 상기 양태 [2]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조에 사용되는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 겔 여과 크로마토그래피법에 의해 측정한 중량 평균 분자량은, 예를 들어, 약 100,000Da 내지 약 3,000,000Da의 범위이며; 바람직하게는 약 300,000Da 내지 약 2,500,000Da의 범위이며, 보다 바람직하게는 약 500,000Da 내지 약 2,000,000Da의 범위이다.

[0331] [2-4] 상기 양태 [2]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조에 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 반응성기: Akn-$L^1$-$NH_2$기(Akn-$L^1$-은, 상기 양태 [1] 내지 [1-1-4] 중의 정의와 동일하다)의 도입률은, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 30mol%의 범위이며; 바람직하게는, 약 0.3 내지 약 20mol%의 범위이며; 보다 바람직하게는, 약 0.5 내지 약 10mol%의 범위이다.

[0332] [2-5] 상기 양태 [2]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조에 사용되는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 반응성기: $N_3$-$L^2$-$NH_2$기(-$L^2$-는, 상기 양태 [1], [1-2-1] 내지 [1-2-4] 중의 정의와 동일하다)의 도입률이, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 30mol%의 범위이며; 바람직하게는, 약 0.3 내지 약 20mol%의 범위이며; 보다 바람직하게는, 약 0.5 내지 약 15mol%의 범위이다.

[0333] [2-6] 상기 양태 [2]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에 첨가할 수 있는 성분으로서는, 예를 들어, 알긴산 용액, 배지, 배양액, 콜라겐 용액, 메틸셀룰로오스, 수크로오스 용액, 또는 그들의 혼합물 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 성분이며; 바람직하게는, 알긴산 용액, 배지, 배양액, 또는 그들의 혼합물 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 성분이다.

[0334] [2-7] 상기 양태 [2]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에 첨가할 수 있는 알긴산 용액의 조제에 사용되는 알긴산(예를 들어, 알긴산나트륨, 등)의 겔 여과 크로마토그래피법(GPC법)에 의해 측정한 중량 평균 분자량이, 예를 들어, 약 150,000Da 내지 약 2,500,000Da의 범위이며; 바람직하게는 약 300,000Da 내지 약 2,000,000Da의 범위이며, 보다 바람직하게는 약 700,000Da 내지 약 1,500,000Da의 범위이다.

[0335] [2-7A] 상기 양태 [2]의 파이버 제조의 공정 (1)에서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에 첨가할 수 있는 알긴산 용액의 조제에 사용되는 알긴산(예를 들어, 알긴산나트륨, 등)의 겔 여과 크로마토그래피법(GPC법)에 의해 측정한 중량 평균 분자량이, 예를 들어, 약 150,000Da 내지 약 2,500,000Da의 범위이며; 바람직하게는, 약 300,000Da 내지 약 2,500,000Da의 범위; 보다 바람직하게는, 약 700,000Da 내지 약 1,400,000Da, 약 800,000Da 내지 약 1,500,000Da, 약 1,400,000 내지 약 2,000,000Da, 또는 약 1,500,000 내지 약 2,500,000로부터 선택되는 범위이다.

[0336] [2-8] 상기 양태 [2]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조에 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도는, 예를 들어, 약 0.01 내지 약 1.5중량%의 범위이며; 바람직하게는, 약 0.05 내지 약 1.0중량%의 범위이며; 보다 바람직하게는, 약 0.08 내지 약 0.75중량%의 범위이다.

[0337] 본 명세서 중, 중량%로 기재한 경우, w/v%를 의미하는 것으로 한다.

[0338] [2-9] 상기 양태 [2]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조에 사용되는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도는, 예를 들어, 약 0.01 내지 약 1.5중량%의 범위이며; 바람직하게는, 약 0.05 내지 약 1.0중량%의 범위이며; 보다 바람직하게는, 약 0.08 내지 약 0.75중량%의 범위이다.

[0339] [2-10] 상기 양태 [2]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조에 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체와 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액의 농도는, 예를 들어, 약 0.02 내지 약 2.0중량%의 범위이며; 바람직하게는, 약 0.1 내지 약 2.0중량%의 범위이며; 보다 바람직하게는 약 0.15 내지 약 1.5중량%의 범위이다.

[0340] [2-11] 상기 양태 [2]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에 첨가할 수 있는 알긴산 용액의 농도는, 예를 들어, 0 내지 약 1.98중량%의 범위이며; 바람직하게는, 0 내지 약 1.8중량%의 범위이며; 보다 바람직하게는, 0 내지 약 1.7중량%의 범위이다.

[0341] [2-11-1] 상기 양태 [2]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 당해 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액의 농도와 알긴산 용액의 농도의 총 농도는, 바람직하게는 약 0.5 내지 약 2.0중량%이며; 보다 바람직하게는, 약 1.0중량%, 약 1.5중량% 및 약 2.0중량%로부터 선택되는 농도이다.

[0342] [2-11-2] 상기 양태 [2]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 당해 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액의 농도(C1(중량%))와 알긴산 용액의 농도(C2(중량%))의 조합은, 바람직하게는, (C1:C2)=(약 0.2:약 1.3), (약 0.5:약 1.0), (약 1.0:약 0.5), (약 1.5:0), (약 0.66:약 1.34) 및 (약 0.34:약 0.66)으로 이루어지는 군에서 선택되는 조합이다.

[0343] [2-11-3] 상기 양태 [2]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 당해 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도(C1A(중량%)), 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도(C1N(중량%)) 및 알긴산 용액의 농도(C2(중량%))의 조합은, 바람직하게는, (C1A:C1N:C2)=(약 0.1:약 0.1:약 1.3), (약 0.25:약 0.25:약 1.0), (약 0.5:약 0.5:약 0.5), (약 0.75:약 0.75:0), (약 0.33:약 0.33:약 1.34) 및 (약 0.17:약 0.17:약 0.66)으로 이루어지는 군에서 선택되는 조합이다.

[0344] [2-12-1] 상기 양태 [2]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액 중의, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 각 용량비(v1, v2)는 예를 들어, v1+v2=15의

비율이며, 예를 들어, (v1:v2)=(7.5:7.5)이다.

[0345] [2-12-2] 상기 양태 [2]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층의 형성에 사용하는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에, 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 알긴산 용액을 첨가한 혼합 용액에 있어서의, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용량(v1), 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액 용량(v2) 및 알긴산 용액의 용량(v3)의 용량비는, 예를 들어, v1+v2+v3=15의 비율이며, 예를 들어, (v1:v2:v3)=(5:5:5), (2.5:2.5:10), (1:1:13) 등의 조합이다.

[0346] [2-13] 상기 양태 [2]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체가 포함되는 혼합 용액을 사출시키는 용액 중에 포함되는 2가 금속 이온으로서는, 칼슘 이온, 마그네슘 이온, 바륨 이온, 스트론튬 이온, 아연 이온 등의 군에서 선택되는 2가 금속 이온이며; 바람직하게는, 칼슘 이온, 바륨 이온 또는 스트론튬 이온이며; 보다 바람직하게는, 칼슘 이온 또는 바륨 이온이다.

[0347] [2-14] 상기 양태 [2]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체가 포함되는 혼합 용액을 사출시키는 용액은, 염화칼슘 수용액, 탄산칼슘 수용액, 글루콘산칼슘 수용액, 염화바륨 수용액, 염화스트론튬 수용액 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 2가 금속 이온을 포함하는 수용액이며; 바람직하게는, 염화칼슘 수용액 또는 염화바륨 수용액이다.

[0348] [2-15] 상기 양태 [2] 또는 [2-14]에 있어서, 2가 금속 이온의 농도는, 예를 들어, 약 1mM 내지 약 1M의 범위, 또는 약 10 내지 약 500mM의 범위이며; 바람직하게는, 약 10 내지 약 100mM이다.

[0349] [2-16-1] 상기 양태 [2]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액은, 예를 들어, 도 3에 도시되는 바와 같은, 도입구(1) 및 배출구(2)가 구비되는 장치(XX) 등을 사용하여, 장치(XX)의 도입구(1)로부터 당해 혼합 용액을 도입하고, 장치(XX)의 배출구(2)로부터 사출할 수 있다.

[0350] [2-16-2] 상기 양태 [2-16-1]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액은, 예를 들어, 도 3에 도시되는 바와 같은, 압출통(YY) 등을 사용하여, 장치(XX)의 배출구(2)로부터 사출할 수 있다.

[0351] [2-17] 상기 양태 [2-16-2]에 있어서, 장치(XX)와 압출통(YY)을 합친 것으로서, 예를 들어, 주사통을 사용할 수 있다. 또한, 주사통은 유리제 또는 플라스틱제의 주사통을 사용할 수 있다.

[0352] [2-18] 상기 양태 [2], [2-16-1] 및 [2-16-2]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액의 사출 속도(유속)는 예를 들어, 약 100 내지 약 10000μL/분의 범위이다.

[0353] [2-19-1] 상기 양태 [2]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를 접촉시키는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 폴리아미노산(염기성 아미노산의 중합체), 염기성 다당류, 염기성 폴리머, 그들의 염 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액이다.

[0354] [2-19-2] 상기 양태 [2]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를 접촉시키는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액은 바람직하게는, 폴리아미노산인, 폴리-L-오르니틴(PLO), 폴리-D-오르니틴(PDO), 폴리-DL-오르니틴, 폴리-D-리신(PDL), 폴리-L-리신(PLL), 폴리-DL-리신, 폴리-L-아르기닌(PLA), 폴리-D-아르기닌(PDA), 폴리-DL-아르기닌, 폴리-L-호모아르기닌(PLHA), 폴리-D-호모아르기닌(PDHA), 폴리-DL-호모아르기닌, 폴리-L-히스티딘(PLH), 폴리-D-히스티딘(PDH), 폴리-DL-히스티딘 및 그들의 염을 포함하는 군에서 선택되는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액이며; 보다 바람직하게는, 폴리-L-오르니틴, 폴리-L-리신 및 그들의 염으로 이루어지는 군에서 선택되는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액이며; 더욱 바람직하게는, 폴리-L-오르니틴 또는 그의 염으로부터 선택되는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액이다.

[0355] [2-19-3] 상기 양태 [2]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를 접촉시키는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 예를 들어, 염기성 다당류인 키토산 또는 그의 염을 포함하는 군에서 선택되는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액이다.

[0356] [2-19-4] 상기 양태 [2]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 가교 알긴산 겔

파이버(CLA)를 접촉시키는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 예를 들어, 염기성 폴리머인 폴리메틸렌-CO-구아니딘(PMCG), 폴리알릴아민(PAA), 폴리비닐아민(PVA), 폴리에틸렌이민, 알릴아민-디알릴아민 공중합체, 알릴아민-말레산 공중합체 및 그들의 염을 포함하는 군에서 선택되는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액이다.

[0357] [2-19-4-1] 상기 양태 [2-19-4]에 있어서, 바람직하게는, 양이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 폴리알릴아민(PAA), 폴리에틸렌이민, 폴리메틸렌-CO-구아니딘(PMCG) 및 그들의 염을 포함하는 군에서 선택되는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액이다.

[0358] [2-20] 상기 양태 [2]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를 접촉시키는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 염화칼슘 용액, 완충액 등의 성분을 포함할 수 있다.

[0359] [2-21] 상기 양태 [2]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 시의 온도는, 예를 들어, 약 4 내지 약 37℃의 범위이다.

[0360] 상기 양태에 기재된 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법 및 각 요소를 조합함으로써, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법의 바람직한 형태를 임의로 형성할 수 있다.

[0361] [2B] 제2B 양태는 다음과 같다. 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 상기 양태 [1]에 기재된 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 얻어지는 가교 알긴산 겔을 포함하는 코어층을, 양이온성 폴리머 및 음이온성 폴리머로 순차 피복함으로써 형성되는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법으로서,

[0362] 공정 (1): 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 상기 양태 [1]에 기재된 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액을, 2가 금속 이온을 포함하는 용액 중에 사출하여, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 코어층에 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를 얻는 공정,

[0363] 공정 (2): 공정 (1)에서 얻어진 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 코어층에 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를, 양이온성 폴리머를 포함하는 용액에 접촉시킴으로써, 양이온성 폴리머층으로 피복된 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)를 얻는 공정,

[0364] 공정 (3): 공정 (2)에서 얻어진 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)를, 음이온성 폴리머를 포함하는 용액에 접촉시킴으로써, 음이온성 폴리머층으로 피복된 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(ACFB)를 얻는 공정

[0365] 을 포함하는 것을 특징으로 하는, 제조 방법이다.

[0366] [2C] 상기 양태 [2B]에 있어서의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 상기 양태([1B] 내지 [1B-18-6])의 어느 것에 기재된 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버이다.

[0367] [2B-1] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버의 제조에 사용되는 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포는, 상기 양태 상기 양태 [1-3] 내지 [1-3-5], [1B-3] 내지 [1B-3-19] 중 어느 한 항에 기재된 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포와 동일하다.

[0368] [2B-2] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버의 제조 공정 (1) 또는 공정 (3)에서 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 겔 여과 크로마토그래피법에 의해 측정한 중량 평균 분자량은, 상기 양태 [2-2]에 기재된 중량 평균 분자량의 범위와 동일하다.

[0369] [2B-3] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버의 제조 공정 (1) 또는 공정 (3)에서 사용되는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 겔 여과 크로마토그래피법에 의해 측정한 중량 평균 분자량은, 상기 양태 [2-3]에 기재된 중량 평균 분자량의 범위와 동일하다.

[0370] [2B-4] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버의 제조 공정 (1) 또는 공정 (3)에서 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 반응성기: Akn-$L^1$-$NH_2$기(Akn-$L^1$-은, 상기 양태 [1], [1B-1-1] 또는 [1B-1-2] 중의 정의와 동일하다)의 도입률은, 상기 양태 [2-4]에 기재된 도입률의 범위와 동일하다.

[0371] [2B-5] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버의 제조 공정 (1) 또는 공정 (3)에서 사용되는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 반응성기: $N_3$-$L^2$-$NH_2$기(-$L^2$-는, 상기 양태 [1], [1B-2-1] 또는 [1B-2-2] 중의 정의와

동일하다)의 도입률은, 상기 양태 [2-5]에 기재된 도입률의 범위와 동일하다.

[0372] [2B-6] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버의 제조 공정 (1)에서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에 첨가할 수 있는 성분은, 상기 양태 [2-6]에 기재된 성분과 동일하다.

[0373] [2B-7] 상기 양태 [2B]의 파이버 제조의 공정 (1)에서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에 첨가할 수 있는 알긴산 용액의 조제에 사용되는 알긴산(예를 들어, 알긴산나트륨, 등), 또는 상기 양태 [2B]의 파이버 제조의 공정 (3)에서, 음이온성 폴리머로서 알긴산을 사용하는 경우에, 그 용액의 조제에 사용되는 알긴산(예를 들어, 알긴산나트륨, 등)의 겔 여과 크로마토그래피법(GPC법)에 의해 측정한 중량 평균 분자량은, 상기 양태 [2-7A]에 기재된 분자량과 동일하다.

[0374] [2B-8] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버의 제조 공정 (1)에서 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도는, 상기 양태 [2-8]에 기재된 농도의 범위와 동일하다.

[0375] [2B-9] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버의 제조 공정 (1)에서 사용되는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도는, 상기 양태 [2-9]에 기재된 농도의 범위와 동일하다.

[0376] [2B-10] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버의 제조 공정 (1)에서 사용되는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체와 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액의 농도는, 상기 양태 [2-10]에 기재된 농도의 범위와 동일하다.

[0377] [2B-11] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (1)에서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에 첨가할 수 있는 알긴산 용액의 농도는, 상기 양태 [2-11]에 기재된 농도의 범위와 동일하다.

[0378] [2B-11-1] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (1)에서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 당해 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액의 농도와 알긴산 용액의 농도의 총 농도는, 상기 양태 [2-11-1]에 기재된 농도의 범위와 동일하고; 더욱 바람직하게는, 약 1.5중량%이다.

[0379] [2B-11-2] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (1)에서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 당해 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액의 농도(C1(중량%))와 알긴산 용액의 농도(C2(중량%))의 조합은, 상기 양태 [2-11-2]에 기재된 농도의 범위와 동일하다.

[0380] [2B-11-3] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (1)에서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 당해 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도(C1A(중량%)), 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도(C1N(중량%)) 및 알긴산 용액의 농도(C2(중량%))의 조합은, 상기 양태 [2-11-3]에 기재된 농도의 범위와 동일하다.

[0381] [2B-12-1] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (1)에서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액 중의, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 각 용량비(v1, v2)는 예를 들어, v1+v2=15의 비율이며, 예를 들어, (v1:v2)=(7.5:7.5)이다.

[0382] [2B-12-2] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (1)에서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에, 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 알긴산 용액을 첨가한 혼합 용액에 있어서의, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용량(v1), 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액 용량(v2) 및 알긴산 용액의 용량(v3)의 용량비는, 상기 양태 [2-12-2]에 기재된 조합과 동일하다.

[0383] [2B-13] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (1)에서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체가 포함되는 혼합 용액을 사출시키는 용액 중

에 포함되는 2가 금속 이온은, 상기 양태 [2-13]에 기재된 2가 금속 이온과 동일하다.

[0384] [2B-14] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (1)에서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체가 포함되는 혼합 용액을 사출시키는 용액은, 상기 양태 [2-14]에 기재된 2가 금속 이온을 포함하는 수용액과 동일하다.

[0385] [2B-15] 상기 양태 [2B] 또는 [2B-14]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (1)에서 사용하는 2가 금속 이온의 농도는, 예를 들어, 약 1mM 내지 약 1M의 범위, 또는 약 10 내지 약 500mM의 범위이며; 바람직하게는, 약 10 내지 약 100mM이다.

[0386] [2B-16-1] 상기 양태 [2B]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액은, 예를 들어, 도 10에 도시되는 바와 같은, 도입구(1) 및 배출구(2)가 구비되는 장치(XX) 등을 사용하여, 장치(XX)의 도입구(1)로부터 당해 혼합 용액을 도입하고, 장치(XX)의 배출구(2)로부터 사출할 수 있다.

[0387] [2B-16-2] 상기 양태 [2B-16-1]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액은, 예를 들어, 도 10에 도시되는 바와 같은, 압출통(YY) 등을 사용하여, 장치(XX)의 배출구(2)로부터 사출할 수 있다.

[0388] [2B-17] 상기 양태 [2B-16-2]에 있어서, 장치(XX)와 압출통(YY)을 합친 것으로서, 예를 들어, 주사통을 사용할 수 있다. 또한, 주사통은 유리제 또는 플라스틱제의 주사통을 사용할 수 있다.

[0389] [2B-18] 상기 양태 [2B], [2B-16-1] 및 [2B-16-2]에 있어서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액의 사출 속도(유속)는 예를 들어, 약 100 내지 약 10000μL/분의 범위이다.

[0390] [2B-19-1] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (2)에서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를 접촉시키는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 상기 양태 [2-19-1]에 기재된 용액과 동일하다.

[0391] [2B-19-2] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (2)에서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를 접촉시키는, 바람직한, 보다 바람직한, 더욱 바람직한 양이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 각각, 상기 양태 [2-19-2]에 기재된 용액과 동일하다.

[0392] [2B-19-3] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (2)에서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를 접촉시키는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 예를 들어, 염기성 다당류인 키토산 또는 그의 염을 포함하는 군에서 선택되는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액이다.

[0393] [2B-19-4] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (2)에서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를 접촉시키는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 상기 양태 [2-19-4]에 기재된 용액과 동일하다.

[0394] [2B-20] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (2)에서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를 접촉시키는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 염화칼슘 용액, 완충액 등의 성분을 포함할 수 있다.

[0395] [2B-21] 상기 양태 [2B]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 시의 온도는, 예를 들어, 약 4 내지 약 37℃의 범위이다.

[0396] [2B-22] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (3)에서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)를 접촉시키는 음이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 음이온성 다당류, 황산화 다당류, 합성 폴리머, 음이온성 폴리아미노산, 이들의 화학 수식체, 이들의 가교체, 그들의 염 및 이들의 혼합물 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머를 포함하는 용액이다.

[0397] [2B-23] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (3)에서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)를 접촉시키는 음이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 알긴산, 상기 양태 [1]에 기재된 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 상기 양태 [1]에 기재된 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 상기 양태 [1]에 기재된 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 및/또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체로부터 형성되는 가교체, 이들의 염, 및 이들의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머를 포함하는 용액이

다.

[0398] [2B-24] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (3)에서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)를 접촉시키는 음이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 예를 들어, 알긴산, 히알루론산, 폴리갈락투론산, 카라기난, 숙시노글루칸, 아라비아 고무, 크산탄검, 알긴산, 펙틴, 펙틴산, 카르복시메틸셀룰로오스, 한천 등의 음이온성 다당류, 이들의 화학 수식체, 이들의 가교체, 이들의 염, 및 이들의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머를 포함하는 용액이다.

[0399] [2B-25] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (3)에서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)를 접촉시키는 음이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 예를 들어, 콘드로이틴황산, 덱스트란황산, 헤파란황산, 데르마탄황산, 푸코이단, 케라탄황산, 또는 헤파린 등의 황산화 다당류, 이들의 화학 수식체, 이들의 가교체, 이들의 염, 및 이들의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택되는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액이다.

[0400] [2B-26] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (3)에서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)를 접촉시키는 음이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 예를 들어, 아크릴산, 메타크릴산, 에틸아크릴산, 폴리스티렌술폰산 등의 합성 폴리머, 이들의 화학 수식체, 이들의 가교체, 이들의 염, 및 이들의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택되는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액이다.

[0401] [2B-27] 상기 양태 [2B]에 있어서, 파이버 제조의 공정 (3)에서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)를 접촉시키는 음이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 예를 들어, 폴리글루탐산, 폴리아스파르트산 등의 음이온성 폴리아미노산, 이들의 화학 수식체, 이들의 가교체, 이들의 염, 및 이들의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택되는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액이다.

[0402] 상기 양태에 기재된 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법 및 각 요소를 조합함으로써, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법의 바람직한 형태를 임의로 형성할 수 있다.

[0403] [3] 제3 양태는 다음과 같다. 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 상기 양태 [1]에 기재된 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 얻어지는 가교 알긴산 겔을 포함하는 코어층을, 양이온성 폴리머로 피복하여 형성되는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용하는 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법이다. 일 양태의 상기 제조 방법은, 상기 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 배양 용기에 넣고, 배지를 첨가하여 상기 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 함침시켜, 배양을 행하는 것에 의한, 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법이다.

[0404] [3A] 상기 양태 [3]에 있어서의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 상기 양태([1] 내지 [1-17-5])의 어느 것에 기재된 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버이다.

[0405] [3-1] 상기 양태 [3]에 있어서, 배양 용기는, 예를 들어, 조직 배양용 플레이트, 삼각 플라스크, T-플라스크, 스피너 플라스크, 배양 백, 동물 세포 배양조 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 용기이며; 바람직하게는 삼각 플라스크 또는 동물 세포 배양조이다. 배양은, 예를 들어, 정치 배양 또는 진탕 배양 등의 어느 방법을 선택해도 되고, 회분 배양(배치 배양), 유가 배양(페드배치 배양), 연속 배양 등의 어느 방법을 사용해도 되지만, 유가 배양 또는 연속 배양이 바람직하다.

[0406] [3-2] 상기 양태 [3] 내지 [3-1]의 어느 하나에 있어서, 배양 시의 온도는, 예를 들어, 약 28℃ 내지 약 39℃의 범위이며, 예를 들어, 약 30℃ 내지 약 37℃의 범위이다.

[0407] [3-3] 상기 양태 [3] 내지 [3-2]의 어느 하나에 있어서, 배양 시의 교반 속도는, 예를 들어, 약 50 내지 약 250rpm이며, 예를 들어, 약 125rpm이다.

[0408] [3-4] 상기 양태 [3] 내지 [3-3]의 어느 하나에 있어서, 배양 조건은, 예를 들어, 배양 온도를 약 28℃ 내지 약 39℃의 범위로 하고, 5% $CO_2$ 분위기 하에 배양 장치에서, 약 125rpm의 교반 속도로 배양을 한다.

[0409] [3-5] 상기 양태 [3] 내지 [3-4]의 어느 하나에 있어서, 배양하는 기간은, 예를 들어, 7일간이며, 또는 14일이며, 또는 28일이며, 또는 42일이며, 또는 56일이며, 또는 70일이다.

[0410] 본 명세서 중, 배양 온도에 있어서, 「약」이라고 기재한 경우, 당해 수치의 ±10%까지, 어떤 양태에서는 당해 수치의 ±20%까지의 값도 포함할 수 있는 것이다.

[0411] [3-6] 상기 양태 [3]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포는, 상기 양태 [1-3] 내지 [1-3-5] 중 어느 한 항에 기재된 항체, 생리 활성 물질 등

을 산생할 수 있는 세포와 동일하다.

[0412] [3-6-1] 상기 양태 [3]에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포는, 상기 양태 [1B-3] 내지 [1B-3-19] 중 어느 한 항에 기재된 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포와 동일하다.

[0413] [3-7] 상기 양태 [3] 내지 [3-5]의 어느 하나에 있어서, 세포 증식 억제제를 첨가하는 것을 포함하는, 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법이다.

[0414] 상기 양태에 기재된 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용하는 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법 및 각 요소를 조합함으로써, 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법의 바람직한 형태를 임의로 형성할 수 있다.

[0415] [3B] 제3B 양태는 다음과 같다. 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 상기 양태 [1]에 기재된 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 얻어지는 가교 알긴산 겔을 포함하는 코어층을, 양이온성 폴리머 및 음이온성 폴리머로 순차 피복하여 형성되는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용하는 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법이다. 일 양태에 있어서의 상기 제조 방법은, 상기 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 배양 용기에 넣고, 배지를 첨가하고, 상기 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 함침시켜, 배양을 행하는 것에 의한, 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법이다.

[0416] [3C] 상기 양태 [3B]에 있어서의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 상기 양태([1B] 내지 [1B-18-6])의 어느 것에 기재된 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버이다.

[0417] [3B-1] 상기 양태 [3B]에 있어서, 배양 용기 및 배양은, 상기 양태 [3-1]에 기재된 것과 동일하다.

[0418] [3B-2] 상기 양태 [3B] 내지 [3B-1]의 어느 하나에 있어서, 배양 시의 온도는, 예를 들어, 약 28℃ 내지 약 39℃의 범위이며, 예를 들어, 약 30℃ 내지 약 37℃의 범위이다.

[0419] [3B-3] 상기 양태 [3B] 내지 [3B-2]의 어느 하나에 있어서, 배양 시의 교반 속도는, 예를 들어, 약 50 내지 약 250rpm이며, 예를 들어, 약 125rpm이다.

[0420] [3B-4] 상기 양태 [3] 내지 [3B-3]의 어느 하나에 있어서, 배양 조건은, 예를 들어, 배양 온도를 약 28℃ 내지 약 39℃의 범위로 하고, 5% $CO_2$ 분위기 하에 배양 장치에서, 약 125rpm의 교반 속도로 배양을 한다.

[0421] [3B-5] 상기 양태 [3B] 내지 [3B-4]의 어느 하나에 있어서, 배양하는 기간은, 예를 들어, 7일이며, 또는 14일이며, 또는 28일이며, 또는 42일이며, 또는 56일이며, 또는 70일이다.

[0422] [3B-6] 상기 양태 [3B]에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포는, 상기 양태 [1-3] 내지 [1-3-5], [1B-3] 내지 [1B-3-19] 중 어느 한 항에 기재된 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포와 동일하다.

[0423] [3B-7] 상기 양태 [3B] 내지 [3B-5]의 어느 하나에 있어서, 세포 증식 억제제를 첨가하는 것을 포함하는, 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법이다.

[0424] 상기 양태에 기재된 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용하는 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법 및 각 요소를 조합함으로써, 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법의 바람직한 형태를 임의로 형성할 수 있다.

[0425] [4] 제4 양태는, 상기 양태 [3] 내지 [3-7]의 어느 하나에 기재된 항체의 제조 방법으로 얻어지는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에서 산생된 양이온성 폴리머층을 투과하는 항체가, 예를 들어, IgG, IgA, IgM, IgD 및 IgE 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 아이소타입을 갖는 항체이다.

[0426] [4B] 제4B 양태는, 상기 양태 [3B] 내지 [3B-7]에 기재된 항체의 제조 방법에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에서 산생되어 양이온성 폴리머층 및 음이온성 폴리머층을 투과하는 항체가, 예를 들어, IgG, IgA, IgM, IgD 및 IgE 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 아이소타입을 갖는 항체이다.

[0427] [5] 제5 양태는, 상기 양태 [3] 내지 [3-7]의 어느 하나에 기재된 항체의 제조 방법으로 얻어지는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에서 산생된 양이온성 폴리머층을 투과하는 항체의 분자량이, 예를 들어, 약 45,000 내지 약 1,000,000Da, 약 3,000 내지 약 1,000,000Da, 약 20,000 내지 약 1,000,000Da, 약 20,000 내지 약 400,000Da, 약 45,000 내지 약 400,000Da, 약 20,000 내지 약 200,000Da, 약 45,000 내지 약 200,000Da의 범위인 항체이다.

[0428] [5B] 제5B 양태는, 상기 양태 [3B] 내지 [3B-7]에 기재된 항체의 제조 방법에 있어서, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에서 산생되고, 양이온성 폴리머층 및 음이온성 폴리머층을 투과하는 항체의 분자량이, 예를 들어, 약 3,000 내지 약 1,000,000Da, 약 20,000 내지 약 1,000,000Da, 약 45,000 내지 약 1,000,000Da, 약 20,000 내지 약 400,000Da, 약 45,000 내지 약 400,000Da, 약 20,000 내지 약 200,000Da, 약 45,000 내지 약 200,000Da의 범위인 항체이다.

[0429] [6] 제6 양태는, 상기 양태 [3] 내지 [3-7]의 어느 하나에 기재된 제조 방법으로, MIN6 세포를 사용하여 산생된 인슐린의 분자량이, 예를 들어, 약 5,000 내지 10,000의 범위인 인슐린이다.

[0430] [6B] 제6B 양태는, 상기 양태 [3] 내지 [3-7], [3B] 내지 [3B-7]에 기재된 제조 방법으로, 생리 활성 물질 산생 세포를 사용하여 산생된 생리 활성 물질의 분자량이, 예를 들어, 예를 들어, 약 3,000 내지 약 1,000,000Da, 약 20,000 내지 약 1,000,000Da, 약 45,000 내지 약 1,000,000Da, 약 20,000 내지 약 400,000Da, 약 45,000 내지 약 400,000Da, 약 20,000 내지 약 200,000Da, 약 45,000 내지 약 200,000Da의 범위인 생리 활성 물질이다.

[0431] [7] 제7 양태는, 상기 양태 [3] 내지 [3-7]의 어느 하나에 기재된 항체의 제조 방법에 있어서 얻어지는 항체가, 예를 들어, 무로모납-CD3 산생 CHO 세포를 사용하여 무로모납-CD3, 트라스투주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 트라스투주맙, 리툭시맙 산생 CHO 세포를 사용하여 리툭시맙, 팔리비주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 팔리비주맙, 인플릭시맙 산생 CHO 세포를 사용하여 인플릭시맙, 바실릭시맙 산생 CHO 세포를 사용하여 바실릭시맙, 토실리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 토실리주맙, 겜투주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 겜투주맙, 베바시주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 베바시주맙, 이브리투모맙 산생 CHO 세포를 사용하여 이브리투모맙, 아달리무맙 산생 CHO 세포를 사용하여 아달리무맙, 세툭시맙 산생 CHO 세포를 사용하여 세툭시맙, 라니비주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 라니비주맙, 오말리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 오말리주맙, 에쿨리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 에쿨리주맙, 파니투무맙 산생 CHO 세포를 사용하여 파니투무맙, 우스테키누맙 산생 CHO 세포를 사용하여 우스테키누맙, 골리무맙 산생 CHO 세포를 사용하여 골리무맙, 카나키누맙 산생 CHO 세포를 사용하여 카나키누맙, 데노수맙 산생 CHO 세포를 사용하여 데노수맙, 모가물리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 모가물리주맙, 세르톨리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 세르톨리주맙, 오파투무맙 산생 CHO 세포를 사용하여 오파투무맙, 페르투주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 페르투주맙, 브렌툭시맙 산생 CHO 세포를 사용하여 브렌툭시맙, 나탈리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 나탈리주맙, 니볼루맙 산생 CHO 세포를 사용하여 니볼루맙, 알렘투주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 알렘투주맙, 세쿠키누맙 산생 CHO 세포를 사용하여 세쿠키누맙, 라무시루맙 산생 CHO 세포를 사용하여 라무시루맙, 이필리무맙 산생 CHO 세포를 사용하여 이필리무맙, 에볼로쿠맙 산생 CHO 세포를 사용하여 에볼로쿠맙, 메폴리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 메폴리주맙, 알리로쿠맙 산생 CHO 세포를 사용하여 알리로쿠맙, 익세키주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 익세키주맙, 브로달루맙 산생 CHO 세포를 사용하여 브로달루맙, 이다루시주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 이다루시주맙, 엘로투주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 엘로투주맙, 퓀브롤리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 퓀브롤리주맙, 사릴루맙 산생 CHO 세포를 사용하여 사릴루맙, 베즐로톡수맙 산생 CHO 세포를 사용하여 베즐로톡수맙, 벨리무맙 산생 CHO 세포를 사용하여 벨리무맙, 다라투무맙 산생 CHO 세포를 사용하여 다라투무맙, 아벨루맙 산생 CHO 세포를 사용하여 아벨루맙, 두필루맙 산생 CHO 세포를 사용하여 두필루맙, 아테졸리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 아테졸리주맙, 벤랄리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 벤랄리주맙, 이노투주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 이노투주맙, 에미시주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 에미시주맙, 구셀쿠맙 산생 CHO 세포를 사용하여 구셀쿠맙, 두르발루맙 산생 CHO 세포를 사용하여 두르발루맙, 오비누투주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 오비누투주맙, 베돌리주맙 산생 CHO 세포, 또는 항GPVI 항체 산생 CHO 세포를 사용하여 항GPVI 항체이다.

[0432] [7-1] 상기 양태 [3] 내지 [3-7]의 어느 하나에 기재된 항체의 제조 방법에 있어서, 산생 가능한 항체로서는, 예를 들어, 트라스투주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 트라스투주맙, 리툭시맙 산생 CHO 세포를 사용하여 리툭시맙, 인플릭시맙 산생 CHO 세포를 사용하여 인플릭시맙, 토실리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 토실리주맙, 아달리무맙 산생 CHO 세포를 사용하여 아달리무맙, 니볼루맙 산생 CHO 세포를 사용하여 니볼루맙 또는 항GPVI 항체 산생 CHO 세포를 사용하여 항GPVI 항체이며; 예를 들어, 토실리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 토실리주맙, 또는 항GPVI 항체 산생 CHO 세포를 사용하여 항GPVI 항체이다.

[0433] [7B] 제7B 양태는, 상기 양태 [3] 내지 [3-7], [3B] 내지 [3B-7]에 기재된 항체의 제조 방법에 있어서 얻어지는 항체가, 무로모납-CD3, 트라스투주맙, 리툭시맙, 팔리비주맙, 인플릭시맙, 바실릭시맙, 토실리주맙, 베바시주맙, 아달리무맙, 세툭시맙, 오말리주맙, 에쿨리주맙, 파니투무맙, 우스테키누맙, 골리무맙, 카나키누맙, 데노수맙, 오파투무맙, 페르투주맙, 나탈리주맙, 니볼루맙, 알렘투주맙, 세쿠키누맙, 라무시루맙, 이필리무맙, 에볼로쿠맙, 메폴리주맙, 알리로쿠맙, 익세키주맙, 브로달루맙, 엘로투주맙, 퓀브롤리주맙, 사릴루

맙, 베즐로톡수맙, 벨리무맙, 다라투무맙, 아벨루맙, 두필루맙, 아테졸리주맙, 에미시주맙, 구셀쿠맙, 두르발루맙, 베돌리주맙, 로모소주맙, 리산키주맙, 네시투무맙, 라불리주맙, 부로수맙, 이사툭시맙, 틸드라키주맙, 사트랄리주맙, 갈카네주맙, 디누툭시맙, 프레마네주맙, 에레누맙, 카시리비맙, 임데비맙, 아니프롤루맙, 소트로비맙, 오크렐리주맙, 낙시타맙, 아두카누맙, 타파시타맙, 마르게툭시맙, 간테네루맙, 티라골루맙, 크로발리맙, 네몰리주맙, 카투막소맙, 플라모타밥, 파리시맙, 겜투주맙, 이브리투모맙, 브렌툭시맙, 이노투주맙, 폴라투주맙, 엔포르투맙, 사시투주맙, 벨란타맙, 론카스툭시맙, 티소투맙, 다토포타맙, 파트리투맙 등의 항체; 모가물리주맙, 벤랄리주맙, 오비누투주맙, 이네빌리주맙 등의 개변 당쇄를 갖는 항체; 라니비주맙, 이다루시주맙, 블리나투모맙, 브롤루시주맙, 아브식시맙, 카플라시주맙, 세르톨리주맙 등의 항체 단편을 포함하는 저분자 항체이다.

[0434] [7C] 제7C 양태는, 상기 양태 [3] 내지 [3-7], [3B] 내지 [3B-7]에 기재된 항체의 제조 방법에 있어서 얻어지는 항체가, 무로모납-CD3 산생 CHO 세포, 트라스투주맙 산생 CHO 세포, 리툭시맙 산생 CHO 세포, 팔리비주맙 산생 NS0 세포, 팔리비주맙 산생 CHO 세포, 인플릭시맙 산생 Sp2/0 세포, 인플릭시맙 산생 CHO 세포, 바실릭시맙 산생 Sp2/0 세포, 바실릭시맙 산생 CHO 세포, 토실리주맙 산생 CHO 세포, 베바시주맙 산생 CHO 세포, 아달리무맙 산생 CHO 세포, 세툭시맙 산생 Sp2/0 세포, 세툭시맙 산생 CHO 세포, 오말리주맙 산생 CHO 세포, 에쿨리주맙 산생 NS0 세포, 에쿨리주맙 산생 CHO 세포, 파니투무맙 산생 CHO 세포, 우스테키누맙 산생 Sp2/0 세포, 우스테키누맙 산생 CHO 세포, 골리무맙 산생 Sp2/0 세포, 골리무맙 산생 CHO 세포, 카나키누맙 산생 Sp2/0 세포, 카나키누맙 산생 CHO 세포, 데노수맙 산생 CHO 세포, 오파투무맙 산생 NS0 세포, 오파투무맙 산생 CHO 세포, 페르투주맙 산생 CHO 세포, 나탈리주맙 산생 NS0 세포, 나탈리주맙 산생 CHO 세포, 니볼루맙 산생 CHO 세포, 알렘투주맙 산생 CHO 세포, 세쿠키누맙 산생 CHO 세포, 라무시루맙 산생 NS0 세포, 라무시루맙 산생 CHO 세포, 이필리무맙 산생 CHO 세포, 에볼로쿠맙 산생 CHO 세포, 메폴리주맙 산생 CHO 세포, 알리로쿠맙 산생 CHO 세포, 익세키주맙 산생 CHO 세포, 브로달루맙 산생 CHO 세포, 엘로투주맙 산생 NS0 세포, 엘로투주맙 산생 CHO 세포, 펨브롤리주맙 산생 CHO 세포, 사릴루맙 산생 CHO 세포, 베즐로톡수맙 산생 CHO 세포, 벨리무맙 산생 NS0 세포, 벨리무맙 산생 CHO 세포, 다라투무맙 산생 CHO 세포, 아벨루맙 산생 CHO 세포, 두필루맙 산생 CHO 세포, 아테졸리주맙 산생 CHO 세포, 에미시주맙 산생 CHO 세포, 구셀쿠맙 산생 CHO 세포, 두르발루맙 산생 CHO 세포, 베돌리주맙 산생 CHO 세포, 로모소주맙 산생 CHO 세포, 리산키주맙 산생 CHO 세포, 네시투무맙 산생 NS0 세포, 네시투무맙 산생 CHO 세포, 라불리주맙 산생 CHO 세포, 부로수맙 산생 CHO 세포, 이사툭시맙 산생 CHO 세포, 틸드라키주맙 산생 CHO 세포, 사트랄리주맙 산생 CHO 세포, 갈카네주맙 산생 CHO 세포, 디누툭시맙 산생 Sp2/0 세포, 디누툭시맙 산생 CHO 세포, 프레마네주맙 산생 CHO 세포, 에레누맙 산생 CHO 세포, 카시리비맙 산생 CHO 세포, 임데비맙 산생 CHO 세포, 아니프롤루맙 산생 NS0 세포, 아니프롤루맙 산생 CHO 세포, 소트로비맙 산생 CHO 세포, 오크렐리주맙 산생 CHO 세포, 낙시타맙 산생 CHO 세포, 아두카누맙 산생 CHO 세포, 타파시타맙 산생 CHO 세포, 마르게툭시맙 산생 CHO 세포, 겜투주맙 산생 NS0 세포, 겜투주맙 산생 CHO 세포, 이브리투모맙 산생 CHO 세포, 브렌툭시맙 산생 CHO 세포, 이노투주맙 산생 CHO 세포, 폴라투주맙 산생 CHO 세포, 엔포르투맙 산생 CHO 세포, 사시투주맙 산생 Sp2/0 세포, 사시투주맙 산생 CHO 세포, 벨란타맙 산생 CHO 세포, 론카스툭시맙 산생 CHO 세포, 티소투맙 산생 CHO 세포, 모가물리주맙 산생 CHO 세포, 벤랄리주맙 산생 CHO 세포, 오비누투주맙 산생 CHO 세포, 이네빌리주맙 산생 CHO 세포, 라니비주맙 산생 CHO 세포, 이다루시주맙 산생 CHO 세포, 블리나투모맙 산생 CHO 세포, 브롤루시주맙 산생 CHO 세포, 아브식시맙 산생 CHO 세포, 카플라시주맙 산생 CHO 세포, 세르톨리주맙 산생 CHO 세포, 항GPVI 항체 산생 CHO 세포 등의 CHO 세포로부터 산생되는 항체이다.

[0435] [7C-1] 상기 양태 [3] 내지 [3-7], [3B] 내지 [3B-7]에 기재된 항체의 제조 방법에 있어서 얻어지는 항체가, 무로모납-CD3 산생 CHO 세포, 트라스투주맙 산생 CHO 세포, 리툭시맙 산생 CHO 세포, 팔리비주맙 산생 CHO 세포, 인플릭시맙 산생 CHO 세포, 바실릭시맙 산생 CHO 세포, 토실리주맙 산생 CHO 세포, 겜투주맙 산생 CHO 세포, 베바시주맙 산생 CHO 세포, 이브리투모맙 산생 CHO 세포, 아달리무맙 산생 CHO 세포, 세툭시맙 산생 CHO 세포, 라니비주맙 산생 CHO 세포, 오말리주맙 산생 CHO 세포, 에쿨리주맙 산생 CHO 세포, 파니투무맙 산생 CHO 세포, 우스테키누맙 산생 CHO 세포, 골리무맙 산생 CHO 세포, 카나키누맙 산생 CHO 세포, 데노수맙 산생 CHO 세포, 모가물리주맙 산생 CHO 세포, 세르톨리주맙 산생 CHO 세포, 오파투무맙 산생 CHO 세포, 페르투주맙 산생 CHO 세포, 브렌툭시맙 산생 CHO 세포, 나탈리주맙 산생 CHO 세포, 니볼루맙 산생 CHO 세포, 알렘투주맙 산생 CHO 세포, 세쿠키누맙 산생 CHO 세포, 라무시루맙 산생 CHO 세포, 이필리무맙 산생 CHO 세포, 에볼로쿠맙 산생 CHO 세포, 메폴리주맙 산생 CHO 세포, 알리로쿠맙 산생 CHO 세포, 익세키주맙 산생 CHO 세포, 브로달루맙 산생 CHO 세포, 이다루시주맙 산생 CHO 세포, 엘로투주맙 산생 CHO 세포, 펨브롤리주맙 산생 CHO 세포, 사릴루맙 산생 CHO 세포, 베즐로톡수맙 산생 CHO 세포, 벨리무맙 산생 CHO 세포, 다라투무맙 산생 CHO 세포, 아벨루맙 산생 CHO 세포, 두필루맙 산생 CHO 세포, 아테졸리주맙 산생 CHO 세포, 벤랄리주맙 산생 CHO 세포, 이노투주맙 산생 CHO 세포, 에

미시주맙 산생 CHO 세포, 구셀쿠맙 산생 CHO 세포, 두르발루맙 산생 CHO 세포, 오비누투주맙 산생 CHO 세포, 베돌리주맙 산생 CHO 세포, 로모소주맙 산생 CHO 세포, 리산키주맙 산생 CHO 세포, 네시투무맙 산생 CHO 세포, 라불리주맙 산생 CHO 세포, 부로수맙 산생 CHO 세포, 이사툭시맙 산생 CHO 세포, 틸드라키주맙 산생 CHO 세포, 사트랄리주맙 산생 CHO 세포, 갈카네주맙 산생 CHO 세포, 디누툭시맙 산생 CHO 세포, 프레마네주맙 산생 CHO 세포, 에레누맙 산생 CHO 세포, 카시리비맙 산생 CHO 세포, 임데비맙 산생 CHO 세포, 아니프롤루맙 산생 CHO 세포, 소트로비맙 산생 CHO 세포, 오크렐리주맙 산생 CHO 세포, 낙시타맙 산생 CHO 세포, 아두카누맙 산생 CHO 세포, 타파시타맙 산생 CHO 세포, 마르게툭시맙 산생 CHO 세포, 폴라투주맙 산생 CHO 세포, 엔포르투맙 산생 CHO 세포, 사시투주맙 산생 CHO 세포, 벨란타맙 산생 CHO 세포, 론카스툭시맙 산생 CHO 세포, 티소투맙 산생 CHO 세포, 이네빌리주맙 산생 CHO 세포, 블리나투모맙 산생 CHO 세포, 브롤루시주맙 산생 CHO 세포, 아브식시맙 산생 CHO 세포, 카플라시주맙 산생 CHO 세포, 항GPVI 항체 산생 CHO 세포 등의 CHO 세포로부터 산생되는 항체이다.

[0436] [7C-2] 상기 양태 [3] 내지 [3-7], [3B] 내지 [3B-7]에 기재된 항체의 제조 방법에 있어서 얻어지는 항체가, 트라스투주맙 산생 CHO 세포, 리툭시맙 산생 CHO 세포, 인플릭시맙 산생 CHO 세포, 토실리주맙 산생 CHO 세포, 아달리무맙 산생 CHO 세포, 니볼루맙 산생 CHO 세포 및 항GPVI 항체 산생 CHO 세포 등의 CHO 세포로부터 산생되는 항체이며; 또는 토실리주맙 산생 CHO 세포 또는 항GPVI 항체 산생 CHO 세포로부터 산생되는 항체이며; 또는 토실리주맙 산생 CHO 세포로부터 산생되는 항체이다.

[0437] 이하, 각 양태에 대하여 의해 상세하게 설명한다.

[0438] 1. 알긴산(Alginic acid)

[0439] 본 명세서 중의, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 합성 원료가 되는 알긴산, 코어층에 포함할 수 있는 알긴산 용액 또는 알긴산 겔의 원료가 되는 알긴산 및 음이온성 폴리머층의 형성에 사용되는 알긴산에 대해서, 이하 설명한다.

[0440] 본 명세서 중, 알긴산이라고 기재하는 경우, 알긴산, 알긴산에스테르 및 그들의 염(예를 들어, 알긴산나트륨)으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 1종의 알긴산(「알긴산류」라고 하는 경우가 있다)을 의미한다. 사용되는 알긴산은, 천연 유래여도 되고, 합성물이어도 되지만, 천연 유래인 것이 바람직하다. 바람직하게 사용되는 알긴산류는, 레소니아, 마크로키스티스, 라미나리아, 아스코필럼, 더빌리아, 감태, 대황, 다시마 등의 갈조류로부터 추출되는 생체내 흡수성의 다당류이며, D-만누론산(M)과 L-글루론산(G)이라고 하는 2종류의 우론산이 직쇄상으로 중합한 폴리머이다. 보다 구체적으로는, D-만누론산의 호모폴리머 분획(MM 분획), L-글루론산의 호모폴리머 분획(GG 분획) 및 D-만누론산과 L-글루론산이 랜덤하게 배열된 분획(M/G 분획)이 임의로 결합한 블록 공중합체이다.

[0441] 알긴산은, 갈조류의 해조로부터 추출하고, 정제하여 제조되는 천연 다당류의 일종이며, D-만누론산(M)과 L-글루론산(G)이 중합한 폴리머이다. 알긴산의 D-만누론산과 L-글루론산의 구성비(M/G비), 즉 겔 강도는, 주로 해조 등의 유래가 되는 생물의 종류에 따라 상이하고, 또한, 그 생물의 생육 장소나 계절에 따른 영향을 받아, M/G비가 약 0.2인 고G형부터 M/G비가 약 5인 고M형까지 고범위에 걸친다. 알긴산의 M/G비, M과 G의 배열의 방법 등에 따라 알긴산의 물리화학적 성질이 다르고, 또한 바람직한 용도가 다른 경우가 있다. 알긴산류의 겔화 능력 및 생성된 겔의 성질은, M/G비에 따라 영향을 받아, 일반적으로, G 비율이 높은 경우에는 겔 강도가 높아지는 것이 알려져 있다. M/G비는, 그 밖에도, 겔의 경도, 취성, 흡수성, 유연성 등에도 영향을 준다. 따라서, 본 발명에서 사용하는 알긴산은, 그의 최종 사용 용도에 따라, 적절한 M/G비나 적절한 점도의 것을 사용하는 것이 좋다.

[0442] 알긴산의 공업적인 제조 방법에는, 산법과 칼슘법 등이 있는데, 본 발명에서는 어느 제법으로 제조된 것이든 사용할 수 있다. 정제에 의해, HPLC법에 의한 정량값이 80 내지 120질량%의 범위에 포함되는 것이 바람직하고, 90 내지 110질량%의 범위에 포함되는 것이 보다 바람직하고, 95 내지 105질량%의 범위에 포함되는 것이 더욱 바람직하다. 본 발명에 있어서는, HPLC법에 의한 정량값이 상기한 범위에 포함되는 것을 고순도의 알긴산이라고 칭한다. 본 발명에서 사용하는 알긴산 또는 그의 염은, 고순도 알긴산인 것이 바람직하다. 시판품으로서는, 예를 들어, 키미카 알긴 시리즈로서, (주)키미카로부터 판매되고 있는 것, 바람직하게는, 고순도 식품·의약품용 그레이드의 것을 구입하여 사용할 수 있다. 시판품을, 더 적절히 정제하여 사용하는 것도 가능하다. 예를 들어, 저엔도톡신 처리하는 것이 바람직하다. 정제법이나 저엔도톡신 처리 방법은, 예를 들어 일본 특허 공개 제2007-75425호 공보에 기재되어 있는 방법을 채용할 수 있다. 본 명세서 중, 질량%로 기재한 경우, w/w% 또는 w/v%를 의미하는 것으로 한다.

[0443] 본 발명에서 사용하는 「알긴산」에 있어서의 알긴산의 염으로서는, 「알긴산의 1가 금속염」이며, 알긴산의 D-만누론산 또는 L-글루론산의 카르복실산수소 이온을, Na+나 K+ 등의 1가 금속 이온과 이온 교환함으로써 만들어지는 염이다. 알긴산의 1가 금속염으로서는, 구체적으로는, 알긴산나트륨, 알긴산칼륨 등을 들 수 있는데, 특히, 알긴산나트륨이 바람직하다.

[0444] 본 명세서 중, 알긴산은, 알긴산을 (ALG)로 하고, 알긴산의 임의의 카르복실기의 하나를 -COOH로 하여, (ALG)-COOH라고 표기하는 경우가 있다.

[0445] 본 발명에서 사용하는 알긴산은, 그의 최종 사용 용도에 따라, 적절한 중량 평균 분자량을 갖는 것을 사용한다. 본 발명에서 사용하는 알긴산의 중량 평균 분자량(GPC)은 예를 들어, 1만 내지 1,000만이며; 바람직하게는 10만 내지 500만이며; 보다 바람직하게는 15만 내지 300만이다.

[0446] 몇 가지 양태에서는, 알긴산은, 알긴산나트륨이다. 알긴산나트륨은, 시판품의 알긴산나트륨을 사용할 수 있다. 여기서, 후술하는 실시예에서 사용되는 알긴산나트륨은, 하기 표에 기재한 A-1, A-2, A-3, B-1, B-2 및 B-3의 알긴산나트륨(발매원 모치다 세이야쿠 가부시키가이샤)으로부터 선택된다. 각 알긴산나트륨의 1w/w% 수용액의 점도, 중량 평균 분자량 및 M/G비를 하기의 표에 나타낸다.

[0447] [표 8]

| 알긴산나트륨 | 1w/w%의 점도 (mPa·s) | 중량 평균 분자량 | | M/G비 |
|---|---|---|---|---|
| | | GPC | GPC-MALS | |
| A-1 | 10 내지 40 | 300,000~700,000 | 60,000~130,000 | 0.5 내지 1.8 |
| A-2 | 50 내지 150 | 700,000~1,400,000 | 130,000~200,000 | |
| A-3 | 300 내지 600 | 1,400,000~2,000,000 | 200,000~400,000 | |
| B-1 | 10 내지 40 | 150,000~800,000 | 60,000~130,000 | 0.1 내지 0.5 |
| B-2 | 70 내지 150 | 800,000~1,500,000 | 130,000~200,000 | |
| B-3 | 400 내지 600 | 1,500,000~2,500,000 | 200,000~350,000 | |

[0448]

[0449] 상기 알긴산나트륨 A-1, A-2, A-3, B-1, B-2 및 B-3의 각 물성값은, 하기의 각종 방법에 의해 측정하였다. 측정 방법은, 당해 방법에 한정되는 것은 아니지만, 측정 방법에 따라 각 물성값이 상기의 것과 다른 경우가 있다.

[0450] [알긴산나트륨의 점도 측정]

[0451] 일본 약전(제16판)의 점도 측정법에 따라서, 회전 점도계법(콘플레이트형 회전 점도계)을 사용하여 측정하였다. 구체적인 측정 조건은 이하와 같다. 시료 용액의 조제는, MilliQ물을 사용하여 행하였다. 측정 기기는, 콘플레이트형 회전 점도계(점도 점탄성 측정 장치 레오스트레스 RS600(Thermo Haake GmbH) 센서: 35/1)를 사용하였다. 회전수는, 1w/w% 알긴산나트륨 용액 측정 시에는 1rpm으로 하였다. 판독 시간은, 2분간 측정하고, 개시 1분부터 2분까지의 평균값으로 하였다. 3회 측정의 평균값을 측정값으로 하였다. 측정 온도는 20℃로 하였다.

[0452] [알긴산나트륨의 중량 평균 분자량 측정]

[0453] (1) 겔 침투 크로마토그래피(GPC)와, (2) GPC-MALS의 2종류의 측정법으로 측정하였다. 측정 조건은 이하와 같다.

[0454] [전처리 방법]

[0455] 시료에 용리액을 첨가하여 용해 후, 0.45㎛ 멤브레인 필터 여과한 것을 측정 용액으로 하였다.

[0456] (1) 겔 침투 크로마토그래피(GPC) 측정

[0457] [측정 조건(상대 분자량 분포 측정)]

[0458] 칼럼: TSKgel GMPW-XL×2+G2500PW-XL(7.8㎜ I.D.×300㎜×3개)

[0459] 용리액: 200mM 질산나트륨 수용액

[0460] 유량: 1.0mL/min

[0461] 농도: 0.05%

[0462] 검출기: RI 검출기

[0463] 칼럼 온도: 40℃

[0464] 주입량: 200μL

[0465] 분자량 표준: 표준 풀루란, 글루코오스

[0466] (2) GPC-MALS 측정

[0467] [굴절률 증분(dn/dc) 측정(측정 조건)]

[0468] 시차 굴절률계: Optilab T-rEX

[0469] 측정 파장: 658nm

[0470] 측정 온도: 40℃

[0471] 용매: 200mM 질산나트륨 수용액

[0472] 시료 농도: 0.5 내지 2.5mg/mL(5 농도)

[0473] [측정 조건(절대 분자량 분포 측정)]

[0474] 칼럼: TSKgel GMPW-XL×2+G2500PW-XL(7.8㎜ I.D.×300㎜×3개)

[0475] 용리액: 200mM 질산나트륨 수용액

[0476] 유량: 1.0mL/min

[0477] 농도: 0.05%

[0478] 검출기: RI 검출기, 광산란 검출기(MALS)

[0479] 칼럼 온도: 40℃

[0480] 주입량: 200μL

[0481] 본 명세서 중, 알긴산, 알긴산 유도체, 가교 알긴산 및 가교 알긴산의 분자량에 있어서, 단위로서 Da(달톤)을 부기하는 경우가 있다.

[0482] 알긴산류의 D-만누론산과 L-글루론산의 구성비(M/G비)는 주로 해조 등의 유래가 되는 생물의 종류에 따라 상이하고, 또한, 그 생물의 생육 장소나 계절에 따른 영향을 받아, M/G비가 약 0.2인 고G형부터 M/G비가 약 5인 고M형까지 고범위에 걸친다. 알긴산류의 겔화 능력 및 생성된 겔의 성질은, M/G비에 의해 영향을 받아, 일반적으로, G 비율이 높은 경우에는 겔 강도가 높아지는 것이 알려져 있다. M/G비는, 그 밖에도, 겔의 경도, 취성, 흡수성, 유연성 등에도 영향을 준다. 사용하는 알긴산류 및/또는 그의 염의 M/G비는, 통상적으로, 0.1 내지 4.0이며, 어떤 양태에서는, 0.1 내지 3.0이며, 어떤 양태에서는, 0.1 내지 2.0이며, 어떤 양태에서는 0.5 내지 1.8이며, 어떤 양태에서는 0.8 내지 1.2이다. 또한, 다른 양태에서는, 0.1 내지 0.5이다.

[0483] 또한, 본 발명에서 사용하는 알긴산은, 그의 최종 사용 용도에 따라, 적절한 점도나, 적절한 M/G비의 것을 사용하는 것이 좋다.

[0484] 본 명세서 중, 「내지」를 사용하여 나타낸 수치 범위는, 「내지」의 전후에 기재되는 수치를 각각 최솟값 및 최댓값으로서 포함하는 범위를 나타낸다.

[0485] 본 명세서 중, 사용되는 「알긴산에스테르」, 「알긴산염」이란, 특별히 한정되지 않지만, 가교제와 반응시키기 위해서, 가교 반응을 저해하는 관능기를 갖고 있지 않을 필요가 있다. 알긴산에스테르로서는, 바람직하게는, 알긴산프로필렌글리콜, 등을 들 수 있다.

[0486] 알긴산은, 예를 들어, 알긴산의 1가의 염, 알긴산의 2가의 염 형태를 취할 수 있다. 알긴산의 1가의 염으로서는, 예를 들어, 알긴산나트륨, 알긴산칼륨, 알긴산암모늄, 등을 들 수 있고, 바람직하게는, 알긴산나트륨 또는 알긴산칼륨이며, 보다 바람직하게는, 알긴산나트륨이다. 알긴산의 2가의 염으로서는, 예를 들어, 알긴산칼슘, 알긴산마그네슘, 알긴산바륨, 알긴산스트론튬, 등을 들 수 있다.

[0487] 알긴산은, 고분자 다당류이며, 분자량을 정확하게 정하는 것은 곤란하지만, 일반적으로 중량 평균 분자량으로 1,000 내지 1000만, 바람직하게는 1만 내지 800만, 보다 바람직하게는 2만 내지 300만이다. 천연물 유래의 고분자 물질의 분자량 측정에서는, 측정 방법에 따라 값에 차이가 발생할 수 있는 것이 알려져 있다.

[0488] 본 명세서에 있어서 본 발명의 알긴산 유도체 또는 알긴산 또는 그의 염의 분자량을 특정하는 경우에는, 특별한 언급이 없는 한, 사이즈 배제 크로마토그래피(SEC)에 의해 산출되는 중량 평균 분자량이다. 본 발명에서 사용하는 알긴산 또는 그의 염으로서도, 그의 최종 사용 용도에 따라, 적절한 분자량 분포의 것을 사용하는 것이 바람직하다.

[0489] 예를 들어, 후기 실시예에 기재한 겔 침투 크로마토그래피(GPC) 또는 겔 여과 크로마토그래피(이들을 합쳐서 사이즈 배제 크로마토그래피(SEC)라고도 한다)의 측정 조건에서, 바람직하게는, 10만 내지 500만이며, 보다 바람직하게는 15만 내지 300만이다. 또한, 어떤 양태에서는, 50만 내지 300만이며, 보다 바람직하게는, 100만 내지 250만이며, 더욱 바람직하게는, 100만 내지 200만이다.

[0490] 또한, 예를 들어, GPC-MALS(SEC-MALS)법에 의하면, 절대 중량 평균 분자량을 측정할 수 있다. GPC-MALS법에 의해 측정한 중량 평균 분자량(절대 분자량)은 바람직하게는 1만 이상, 보다 바람직하게는 5만 이상, 더욱 바람직하게는 6만 이상이며, 또한 바람직하게는, 100만 이하, 보다 바람직하게는 80만 이하, 더욱 바람직하게는 70만 이하, 특히 바람직하게는 50만 이하이다. 그의 바람직한 범위는, 1만 내지 100만이며, 보다 바람직하게는 5만 내지 80만이며, 더욱 바람직하게는 6만 내지 50만이다.

[0491] 통상적으로, 고분자 다당류의 분자량을 상기와 같은 SEC, SEC-MALS를 사용한 방법으로 산출하는 경우, 약 10% 내지 약 30%의 측정 오차를 발생시킬 수 있다. 예를 들어, 50만이면 35만 내지 65만, 100만이면 70만 내지 130만 정도의 범위에서 값의 변동이 발생할 수 있다. 본 명세서 중, 분자량 측정의 기재에 있어서 「약」이라고 기재한 경우, 당해 수치의 ±10%까지, 어떤 양태에서는 당해 수치의 ±20%까지의 값도 포함할 수 있는 것이다.

[0492] 여기서, 일반적으로 천연물 유래의 고분자 물질은, 단일의 분자량을 갖는 것은 아니며, 여러가지 분자량을 갖는 분자의 집합체이기 때문에, 어떤 일정한 폭을 가진 분자량 분포로서 측정된다. 대표적인 측정 방법은 겔 여과 크로마토그래피이다. 겔 여과 크로마토그래피에 의해 얻어지는 분자량 분포의 대표적인 정보로서는, 중량 평균 분자량(Mw), 수 평균 분자량(Mn), 분산비(Mw/Mn)를 들 수 있다.

[0493] 분자량이 큰 고분자의 평균 분자량에 대한 기여를 중시한 것이 중량 평균 분자량이며, 하기 식으로 표시된다.

[0494] $Mw=\Sigma(WiMi)/W=\Sigma(HiMi)/\Sigma(Hi)$

[0495] 수 평균 분자량은, 고분자의 총중량을 고분자의 총 수로 제산하여 산출된다.

[0496] $Mn=W/\Sigma Ni=\Sigma(MiNi)/\Sigma Ni=\Sigma(Hi)/\Sigma(Hi/Mi)$

[0497] 여기서, W는 고분자의 총중량, Wi는 i번째의 고분자의 중량, Mi는 i번째의 용출 시간에 있어서의 분자량, Ni는 분자량 Mi의 개수, Hi는 i번째의 용출 시간에 있어서의 높이이다.

[0498] 천연물 유래의 고분자 물질의 분자량 측정에서는, 측정 방법에 따라 값에 차이가 발생할 수 있는 것이 알려져 있다(히알루론산의 예: Chikako YOMOTA et.al. Bull.Natl.Health Sci., Vol.117, pp135-139(1999), Chikako YOMOTA et.al. Bull.Natl.Inst. Health Sci., Vol.121, pp30-33(2003)). 알긴산의 분자량 측정에 대해서는, 고유 점도(Intrinsic viscosity)로부터 산출하는 방법, SEC-MALLS(Size Exclusion Chromatography with Multiple Angle Laser Light Scattering Detection)에 의해 산출하는 방법이 기재된 문헌이 있다(ASTM F2064-00(2006), ASTM International 발행). 본 발명에 있어서는, 중량 평균 분자량은, 상기 문헌에 나타낸 바와 같은 통상적인 방법으로, 예를 들어 사이즈 배제 크로마토그래피(SEC)에 의해 분자량을 측정하고, 풀루란을 표준 물질로서 사용한 교정 곡선에 의해 산출한 값으로 할 수 있다.

[0499] 또한, 본 발명에 있어서는, 중량 평균 분자량은, 상기 문헌에 나타낸 바와 같은 통상적인 방법으로, 예를 들어 사이즈 배제 크로마토그래피(SEC)-MALS에 의해 측정한 절대 분자량으로 할 수 있다.

[0500] 알긴산류의 분자량의 측정은, 통상적인 방법에 따라서 측정할 수 있다.

[0501] 본 명세서 중에 있어서 알긴산 또는 그의 염의 분자량을 특정하는 경우에는, 특별한 언급이 없는 한, 겔 여과 크로마토그래피에 의해 산출되는 중량 평균 분자량이다. 분자량 측정에 겔 여과 크로마토그래피를 사용하는 경우의 대표적인 조건은, 예를 들어, 후술하는 본 실시예의 조건을 채용할 수 있다. 칼럼은, 예를 들어,

Superose6 Increase10/300 GL 칼럼(GE 헬스케어 사이언스사)을 사용할 수 있고, 전개 용매로서, 예를 들어, 0.15mol/L NaCl을 포함하는 10mmol/L 인산 완충액(pH7.4)을 사용할 수 있고, 분자량 표준으로서 블루 덱스트란, 티로글로불린, 페리틴, 알돌라아제, 콘알부민, 오브알부민, 리보뉴클레아제 A 및 아프로티닌을 사용할 수 있다.

[0502] 본 명세서 중에서 사용되는 알긴산의 점도는, 특별히 한정되지 않지만, 1w/w%의 알긴산류의 수용액으로서 점도를 측정한 경우, 바람직하게는, 10mPa·s 내지 1000mPa·s, 보다 바람직하게는, 50mPa·s 내지 800mPa·s이다.

[0503] 알긴산의 수용액의 점도의 측정은, 통상적인 방법에 따라서 측정할 수 있다. 예를 들어, 회전 점도계법의, 공축 이중 원통형 회전 점도계, 단일 원통형 회전 점도계(브룩필드형 점도계), 원추-평판형 회전 점도계(콘플레이트형 점도계) 등을 사용하여 측정할 수 있다. 바람직하게는, 일본 약전(제16판)의 점도 측정법에 따르는 것이 바람직하다. 보다 바람직하게는, 콘플레이트형 점도계를 사용한다.

[0504] 알긴산류는, 갈조류로부터 추출된 당초에는, 분자량이 크고, 점도가 높은 편이지만, 열에 의한 건조, 정제 등의 과정에서, 분자량이 작아지고, 점도는 낮아진다. 제조 공정의 온도 등의 조건 관리, 원료로 하는 갈조류의 선택, 제조 공정에 있어서의 분자량의 분획 등의 방법에 의해 분자량이 다른 알긴산류를 제조할 수 있다. 또한, 다른 분자량 혹은 점도를 갖는 다른 로트의 알긴산류와 혼합함으로써, 목적으로 하는 분자량을 갖는 알긴산류로 하는 것도 가능하다.

[0505] 본 명세서 중에서 사용되는 알긴산은, 몇 가지 양태에 있어서는, 저엔도톡신 처리되어 있지 않은 알긴산이며, 또는 다른 몇 가지 양태에 있어서는, 저엔도톡신 처리된 알긴산이다. 저엔도톡신이란, 실질적으로 염증, 또는 발열을 야기하지 않을 정도까지 엔도톡신 레벨이 낮은 것을 말한다. 보다 바람직하게는, 저엔도톡신 처리된 알긴산류인 것이 바람직하다.

[0506] 저엔도톡신 처리는, 공지된 방법 또는 그에 준하는 방법에 의해 행할 수 있다. 예를 들어, 히알루론산나트륨을 정제하는, 스가 등의 방법(예를 들어, 일본 특허 공개 평9-324001호 공보 등 참조), β1,3-글루칸을 정제하는, 요시다 등의 방법(예를 들어, 일본 특허 공개 평8-269102호 공보 등 참조), 알지네이트, 젤란 검 등의 생체 고분자염을 정제하는, 윌리엄 등의 방법(예를 들어, 일본 특허 공표 제2002-530440호 공보 등 참조), 폴리사카라이드를 정제하는, 제임스 등의 방법(예를 들어, 국제 공개 제93/13136호 팸플릿 등 참조), 루이스 등의 방법(예를 들어, 미국 특허 제5589591호 명세서 등 참조), 알지네이트를 정제하는, 하만 프랭크 등의 방법(예를 들어, Appl Microbiol Biotechnol(1994)40: 638-643 등 참조) 등 또는 이들에 준하는 방법에 의해 실시할 수 있다. 저엔도톡신 처리는, 그들에 한하지 않고, 세정, 필터(엔도톡신 제거 필터나 대전된 필터 등)에 의한 여과, 한외여과, 칼럼(엔도톡신 흡착 친화성 칼럼, 겔 여과 칼럼, 이온 교환 수지에 의한 칼럼 등)을 사용한 정제, 소수성 물질, 수지 또는 활성탄 등에 대한 흡착, 유기 용매 처리(유기 용매에 의한 추출, 유기 용제 첨가에 의한 석출·침강 등), 계면 활성제 처리(예를 들어, 일본 특허 공개 제2005-036036호 공보 등 참조) 등 공지된 방법에 의해, 혹은 이들을 적절히 조합하여 실시할 수 있다. 이들 처리의 공정에, 원심 분리 등 공지된 방법을 적절히 조합해도 된다. 알긴산의 종류에 맞춰서 적절히 선택하는 것이 바람직하다.

[0507] 엔도톡신 레벨은, 공지된 방법으로 확인할 수 있고, 예를 들어, 리물루스 시약(LAL)에 의한 방법, 엔도스페시(등록 상표) ES-24S 세트(세이카가쿠 고교 가부시키가이샤)를 사용하는 방법 등에 의해 측정할 수 있다.

[0508] 사용되는 엔도톡신의 처리 방법은 특별히 한정되지 않지만, 그 결과로서, 알긴산류의 엔도톡신 함유량이, 리물루스 시약(LAL)에 의한 엔도톡신 측정을 행한 경우에, 500엔도톡신 단위(EU)/g 이하인 것이 바람직하고, 더욱 바람직하게는, 100EU/g 이하, 특히 바람직하게는, 50EU/g 이하, 특히 바람직하게는, 30EU/g 이하이다. 본 발명에 있어서, 「실질적으로 엔도톡신을 포함하지 않는다」란, 일본 약전 엔도톡신 시험에 의해 측정한 엔도톡신값이 상기한 수치 범위에 있는 것을 의미한다. 저엔도톡신 처리된 알긴산나트륨은, 예를 들어, Sea Matrix(등록 상표)(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤), PRONOVA™ UP LVG(FMCBioPolymer) 등 시판품에 의해 입수 가능하다.

[0509] 다른 몇 가지 양태에 있어서, 본 명세서 중의, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 합성 원료가 되는 알긴산나트륨 및 코어층에 포함할 수 있는 알긴산 용액 또는 알긴산 겔의 원료가 되는 알긴산나트륨은, 특별히 한정될 일은 없지만, 예를 들어, 상기 표 8에 기재된 알긴산나트륨 A-1, A-2, A-3, B-1, B-2, 또는 B-3으로부터 선택하는 것이 가능하다.

[0510] 다른 몇 가지 양태에 있어서, 음이온성 폴리머층에 사용할 수 있는 알긴산 용액의 원료가 되는 알긴산나트륨은, 특별히 한정될 일은 없지만, 예를 들어, 상기 표 8에 기재된 알긴산나트륨 A-1, A-2, A-3, B-1, B-2, 또는 B-3으로부터 선택하는 것이 가능하다.

[0511] 본 명세서 중, 상기 알긴산나트륨을 사용하여 조제된 알긴산 용액(알긴산나트륨 용액이라고도 한다)의 농도는,

예를 들어, 약 0.1 내지 약 3.3중량%의 범위이다.

[0512] 본 명세서 중, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 합성 원료가 되는 알긴산나트륨은, 바람직하게는, 상기 표 8에 기재된 A-2, A-3, B-2 또는 B-3이며, 보다 바람직하게는, A-2 또는 A-3이다. 또한, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 합성에서 사용되는 당해 알긴산나트륨 용액의 농도는, 바람직하게는, 1.5 내지 2.0중량%의 범위이다.

[0513] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함할 수 있는 알긴산 용액, 또는 알긴산 겔의 형성에 사용되는 알긴산 용액의 조제에 사용되는 알긴산나트륨은, 바람직하게는, 상기 표 8에 기재된 A-2, A-3, B-2 또는 B-3이며, 보다 바람직하게는, A-2 또는 A-3이다. 또한, 당해 알긴산나트륨을 사용하여 조제한 알긴산 용액의 농도는, 바람직하게는 약 0.3 내지 약 1.5중량%의 범위이다.

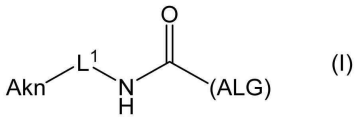
[0514] 본 명세서 중, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층의 형성에 사용할 수 있는 알긴산 용액의 조제에 사용되는 알긴산나트륨은, 바람직하게는, 상기 표 8에 기재된 A-2 또는 B-2이다. 또한, 당해 알긴산나트륨을 사용하여 조제한 알긴산 용액의 농도는, 예를 들어, 약 0.01 내지 약 5.0중량%, 약 0.05 내지 약 1.0중량%, 약 0.1 내지 약 0.5중량%, 약 0.15 내지 약 0.4중량% 등의 범위의 농도이다.

[0515] 본 명세서 중, 알긴산 용액이란, 알긴산을 용매에 용해시킨 용액을 의미한다. 당해 용매로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, 배지, 세포 배양용 배지, 배양액, 등장 완충액, 물, 인산 완충 생리 식염수(PBS) 및 생리 식염수 등을 들 수 있다. 알긴산나트륨을 용매에 용해한 경우, 알긴산나트륨 용액이라고 한다.

[0516] 몇 가지 양태에 있어서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층의 형성에 사용되는 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액, 알긴산 용액은, 특별히 한정될 일은 없지만, 콜라겐 용액, 배지, 배양액 등을, 혼합하는 것도 가능하다. 또한, 식 (I) 또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액 및 알긴산 용액의 조제에 사용되는 용매는, 후술하는 바와 같다.

[0517] 2. 화학 수식 알긴산 유도체

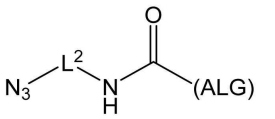
[0518] 몇 가지 양태에 있어서, 본 명세서 중의 화학 수식 알긴산 유도체는, 알긴산의 임의의 1개 이상의 카르복실기에 아미드 결합 및 2가의 링커를 통하여, 후술하는 Huisgen 반응에 있어서의 반응성기, 또는 당해 반응성기의 상보적인 반응성기가 도입된 것이다. 보다 구체적으로는, 하기 식 (I):



(I)

[0519]

[0520] [식 (I) 중, (ALG), Akn-$L^1$- 및 -NH-CO-의 정의는, 전술한 제1 양태 중의 정의와 동일하다]로 표시되는 알긴산 유도체 및 하기 식 (II):



(II)

[0521]

[0522] [식 (II) 중, (ALG), -$L^2$- 및 -NH-CO-의 정의는, 전술한 제1 양태 중의 정의와 동일하다]로 표시되는 알긴산 유도체이다.

[0523] 2가의 링커(-$L^1$- 또는 -$L^2$-)는 구체적으로는, 상기 양태 중에 기재되는 2가의 링커로부터 선택하여 사용할 수 있다.

[0524] 몇 가지 양태에 있어서, 본 명세서 중의 2가의 링커(-$L^1$- 또는 -$L^2$-)는 환상 알킨기(Akn-) 및 아지드기와의 반응(Huisgen 반응)을 저해하지 않는 한, 임의의 링커를 사용하는 것도 가능하다. 구체적으로는, 직쇄의 알킬렌기

$(-(CH_2)_n-$, n=1 내지 30)[당해 기 중의 $-CH_2-$은, -C(=O)-, -CONH-, -O-, -NH-, -S-, 탄소수가 3 내지 8의 시클로알킬환, 벤젠환, 복소환(피리딘환, 피페리딘환, 피페라진환, 등의 5 내지 6원 방향족 복소환 또는 5 내지 6원 비방향족 복소환), 등의 기로 복수개(예를 들어, 1 내지 10개, 또는 1 내지 5개) 치환되어도 되고; 당해 직쇄의 알킬렌기($-CH_2-$)의 수소 원자는, 옥소기(=O), $C_{1-6}$ 알킬기(예를 들어, 메틸기, 에틸기, n-프로필기, iso-프로필기, 등의 기), 할로겐 원자(예를 들어, 불소 원자, 염소 원자, 브롬 원자, 요오드 원자, 등), 수산기(-OH), 등의 기로부터 선택되는 기로 복수개(예를 들어, 1 내지 10개, 또는 1 내지 5개) 치환되어 있어도 된다]를 들 수 있지만, 이들에 한정되는 것은 아니다.

[0525] 상기 식 (I) 또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 -NH-CO-기에 있어서, 이미노기(-NH-)의 수소 원자를 메틸기로 치환하여 -N(Me)-CO-기로 하는 것이 가능하다.

[0526] 상기 식 (I) 또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체에 있어서의, 링커($-L^1-$, $-L^2-$)와 알긴산의 결합 양식은, -NH-CO- 결합, 또는 -N(Me)-CO- 결합이 있고; 바람직하게는, -NH-CO- 결합이다. 상기 -NH-CO- 결합, 또는 -N(Me)-CO- 결합의 -CO-는 알긴산의 카르복실기에서 유래되는 것이다.

[0527] 본 명세서 중, 식 (I) 또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체는, 예를 들어, 후술하는 화학 수식 알긴산 유도체의 합성 방법에 의해 제조하는 것이 가능하다

[0528] 본 명세서의 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 겔 여과 크로마토그래피법에 의해 측정한 중량 평균 분자량이, 약 10만Da 내지 약 300만Da의 범위이며; 바람직하게는 약 30만Da 내지 약 250만Da의 범위이며, 보다 바람직하게는 약 50만Da 내지 약 200만Da의 범위이다. 또한, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 겔 여과 크로마토그래피법에 의해 측정한 중량 평균 분자량이, 약 10만Da 내지 약 300만Da의 범위이며; 바람직하게는 약 30만Da 내지 약 250만Da의 범위이며, 보다 바람직하게는 약 50만Da 내지 약 200만Da의 범위이다.

[0529] 본 명세서 중, 식 (I)의 $Akn-L^1-NH-$기는, 알긴산 구성 단위의 모든 카르복실기에 결합하고 있을 필요는 없고, 또한, 식 (II)의 $N_3-L^2-NH-$기는, 알긴산 구성 단위의 모든 카르복실기에 결합하고 있을 필요는 없다.

[0530] 본 명세서 중, 식 (I)의 $Akn-L^1-NH-$기를 반응성기라고 하는 경우, 식 (II)의 $N_3-L^2-NH-$기가 상보적인 반응성기가 된다. 또한, 반대로 식 (II)의 $N_3-L^2-NH-$기를 반응성기라고 하는 경우, 식 (I)의 $Akn-L^1-NH-$기가 상보적인 반응성기가 된다.

[0531] 본 명세서 중, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 반응성기의 도입률은, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 30mol%의 범위이며; 바람직하게는, 약 0.3 내지 약 20mol%의 범위이며; 보다 바람직하게는, 약 0.5 내지 약 10mol%의 범위이다. 또한, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 반응성기의 도입률은, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 30mol%의 범위이며; 바람직하게는, 약 0.3 내지 약 20mol%의 범위이며; 보다 바람직하게는, 약 0.5 내지 약 15mol%의 범위이다.

[0532] 상기 반응성기 또는 상보적인 반응성기의 도입률은, 알긴산의 반복 단위인 우론산 단당 단위 중, 각 반응성기가 도입된 우론산 단당 단위의 수를 백분율로 나타낸 값이다. 각 반응성기 또는 상보적인 반응성기의 도입률은, 후술하는 실시예에 기재된 방법에 의해 구할 수 있다.

[0533] 본 명세서 중, 식 (I) 중의 환상 알킨기(Akn) 및 식 (II) 중의 아지드기가, Huisgen 반응에 의해 트리아졸환을 형성하고, 이에 의해 가교가 형성된다.

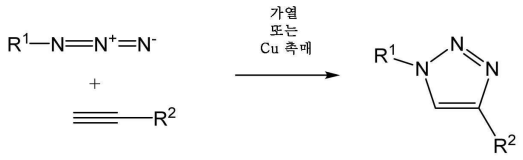
[0534] 본 명세서 중, 식 (I) 또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체는, 그 분자 내의 임의의 카르복실기로 1가의 염(예를 들어, 나트륨염 등)을 형성하고 있는 것도 포함된다.

[0535] 본 명세서 중, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔의 형성에 사용할 수 있고, 또한 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층의 형성에 사용할 수 있다.

[0536] 3. Huisgen 반응

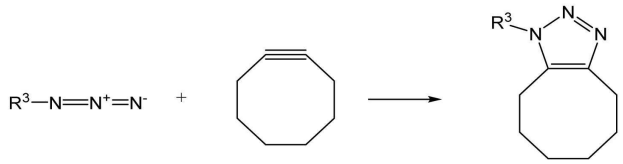
[0537] Huisgen 반응(1,3-쌍극자 부가 환화 반응)은 하기 식에 나타내지는 바와 같이 말단 아지드기 및 말단 알킨기를 갖는 화합물 간의 축합 반응이다. 반응의 결과, 2 치환 1,2,3-트리아졸환이 수율 좋게 얻어지고, 쓸데 없는 부

생성물이 발생하지 않는다는 특징을 갖고 있다. 당해 반응은, 1,4- 또는 1,5-2 치환 트리아졸환을 생성할 수 있다고 생각할 수 있는데, 구리 촉매(Cu catalyst)를 사용함으로써 위치 선택적으로 트리아졸환을 얻는 것이 가능하다.




[0538]

[0539] 또한, 구리 촉매를 사용하지 않는 Huisgen 반응이 Wittig과 Krebs에 의해 보고가 이루어져 있다. 즉, 시클로옥틴과 페닐아지드를 혼합하는 것만으로 환화 부가체가 얻어지는 반응이다(하기 식 중, $R^3$=페닐임). 본 반응은, 시클로옥틴의 삼중 결합이 크게 변형되어 있기 때문에, 페닐아지드와의 반응을 의한 변형의 해소가 구동력이 되어, 반응이 자발적으로 진행됨으로써, 촉매가 불필요하게 되었다.



[0540]

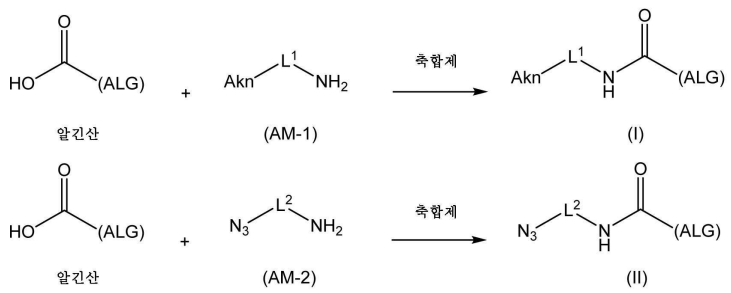
[0541] 이상과 같이, Huisgen 반응은, 치환된 1급 아지드, 2급 아지드, 3급 아지드, 방향족 아지드, 등을 갖는 아지드 화합물 및 아지드기의 상보적인 반응성기인 말단 또는 환상 알킨기를 갖는 화합물을 사용할 수 있다. 또한, Huisgen 반응에서는, 거의 아지드기 및 알킨기만이 반응하는 것으로부터, 반응 기질 중에 여러가지 관능기(예를 들어, 에스테르기, 카르복실기, 알케닐기, 수산기, 아미노기, 등)를 치환시키는 것이 가능하다.

[0542] 몇 가지 양태에서는, 바람직하지 않은 부생성물을 발생시키지 않고, 구리 촉매에 의한 세포 독성을 회피시키기 위하여 구리 촉매를 사용하지 않고, 단시간, 용이하게, 또한 효율적으로 1,2,3-트리아졸환에 의한 가교를 알긴산 분자 간에 형성시키기 위해서, Huisgen 반응의 알킨기로서는, 예를 들어, 상기 양태 [1]에 기재된 환상 알킨기(시클로옥틸기)를 사용한다.

[0543] 바람직한 양태의 화학 수식 알긴산 유도체의 가교 방법에 있어서는, 당해 반응(Huisgen 반응)에서 바람직하지 않은 부반응은 일어나지 않아, 부생성물이 거의 형성되지 않는다. 따라서, 본 발명의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 도입하는 것이 가능하게 된다.

[0544] 4. 화학 수식 알긴산 유도체의 제조 방법

[0545] 본 명세서 중, 식 (I) 또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체는, 하기 반응식에 나타내지는 바와 같이, 식 (AM-1)(Akn-$L^1$-$NH_2$: Akn-$L^1$-은, 상기 양태 [1] 중의 정의와 동일하다)로 표시되는 아민, 또는, 식 (AM-2)($N_3$-$L^2$-$NH_2$: -$L^2$-는, 상기 양태 [1] 중의 정의와 동일하다)로 표시되는 아민을, 알긴산의 임의의 카르복실기와, 임의의 축합제(condensing agent)를 사용하는 축합 반응에 의해 제조할 수 있다. 각 반응의 상세 조건은, 국제 공개 제2019/240219호 팸플릿에 기재된 조건에 준한다.




[0546]

[0547] 상기, 식 (I) 또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 제조 방법에 있어서, 식 (AM-1) 또는 식

(AM-2)로 표시되는 아민의 도입률(상기 양태 중의 식 (I) 또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 반응성기의 도입률과 동일한 의미가 된다)은, 당해 아민의 성질 등을 고려함으로써, 하기 (i) 내지 (v) 등의 반응 조건을 적절히 선택하여 조합함으로써 조절이 가능해진다. (i) 축합제의 등량의 증감, (ii) 반응 온도의 상승·하강, (iii) 반응 시간의 연장·단축, (iv) 반응 기질인 알긴산 농도 조정, (v) 식 (AM-1) 또는 식 (AM-2)의 아민의 용해도를 높이기 위하여 물에 혼화하는 유기 용매를 첨가하는, 등.

[0548] 이하에, 식 (AM-1) 또는 식 (AM-2)로 표시되는 아민 중, 본 명세서 중에서 사용되는, 보다 구체적인 아민의 제조 방법을 나타낸다.

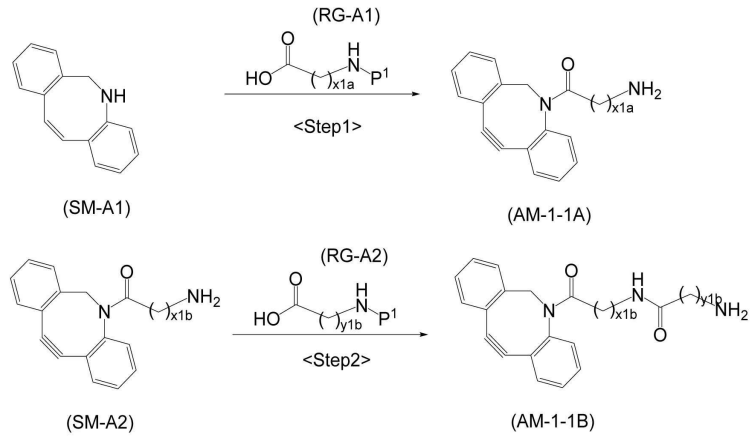
[0549] 이하의 각 제조 방법에 있어서, x1a, x1b, y1b, x2, y2, z2, x3a, y3a, z3a, x3b, y3b, z3b, x4, y4, x5a, y5a, z5a, x5b, y5b, z5b, x6, y6, z6, x7a, y7a, z7a, v7a, x7b, y7b, z7b, v7b, a1, b1, a2, b2, a3, b3, a4, b4, a5 및 a6의 정의는 상기 양태 [1] 중의 기재와 동일한 정의이며; $R^A$=메틸기, 에틸기, 등의 $C_{1\sim6}$ 알킬기이며; $P^1$은, -C(O)O-tertBu기, -C(O)O-Bn기, $-C(O)CH_3$기, $-C(O)CF_3$기, $-SO_2Ph$, $-SO_2PhMe$기, $-SO_2Ph(NO_2)$기, 등으로부터 선택되는 아미노기의 보호기이며; E=할로겐 원자(불소 원자, 염소 원자, 브롬 원자, 요오드 원자, 등), -OTs기, -OMs기, 등의 탈리기이며, X=할로겐 원자(불소 원자, 염소 원자, 브롬 원자, 요오드 원자, 등)이다. 또한, 이하의 각 제조 방법에 있어서, 식 (SM-A1), 식 (SM-A2), 식 (SM-B), 식 (SM-C1), 식 (SM-C2), 식 (SM-D), 식 (SM-E1), 식 (SM-E2), 식 (SM-F), 식 (SM-G1), 식 (SM-G2), 식 (SM-H), 식 (SM-J), 식 (SM-K), 식 (SM-L), 식 (RG-A1), 식 (RG-A2), 식 (RG-B1), 식 (RG-C1), 식 (RG-C2), 식 (RG-D1), 식 (RG-E1), 식 (RG-E2), 식 (RG-F1), 식 (RG-F2), 식 (RG-F3), 식 (RG-G1-1), 식 (RG-G1-2), 식 (RG-G1-3), 식 (RG-G2-1), 식 (RG-G2-2), 식 (RG-G2-3), 식 (RG-H1), 식 (RG-H2), 식 (RG-I1), 식 (RG-J1), 식 (RG-K), 식 (RG-L1) 및 식 (RG-M)으로 표시되는 화합물은 시판 화합물, 또는 시판 화합물로부터 문헌 공지된 제조 방법에 의해 제조할 수 있는 화합물이다.

[0550] 또한, 이하의 각 제조 방법에 있어서, 보호기 $P^1$의 보호·탈보호는, 문헌에 공지된 방법, 예를 들어, 『프로텍티브·그룹스·인·오가닉·신서시스(Protective Groups in Organic Synthesis 4th Edition) 제4판, 2007년, 존 윌리 앤드 선즈(John Wiley & Sons), 그린(Greene) 등』의 성서(成書)에 기재된 탈보호의 방법에 준하여, 보호·탈보호를 행할 수 있다.

[0551] 또한, 이하의 각 제조 방법에 있어서, 축합 반응이라고 기재한 경우, 상기한 축합 반응과 마찬가지의 반응을 의미한다.

[0552] [제조 방법 A]

[0553] 식 (AM-1-1A) 및 식 (AM-1-1B)로 표시되는 아민의 제조 방법:



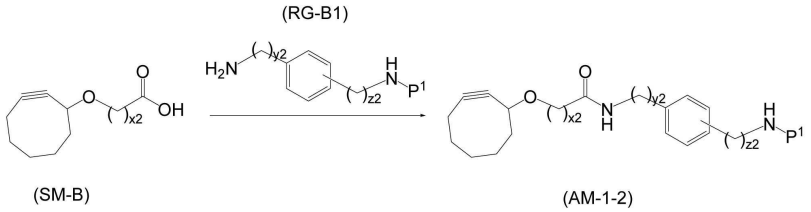

[0554]

[0555] <Step 1> 식 (SM-A)의 화합물 및 식 ($RG-A_1$)의 화합물을 사용하여, 축합 반응을 행함으로써 축합체를 얻는다. 계속해서, 브롬을 부가시킨 후, tert-BuOK 등의 염기를 사용하여 탈취소화 반응을 행함으로써 알킨기를 형성시킨다. 계속해서, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-1-1A)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0556] <Step 2> 상기 [제조 방법 A] <Step 1>과 마찬가지의 방법으로 얻어지는 식 (SM-A2)의 화합물 및 식 (RG-A2)의 화합물을 사용하여 축합 반응을 행하고, 계속해서, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-1-1B)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0557] [제조 방법 B]

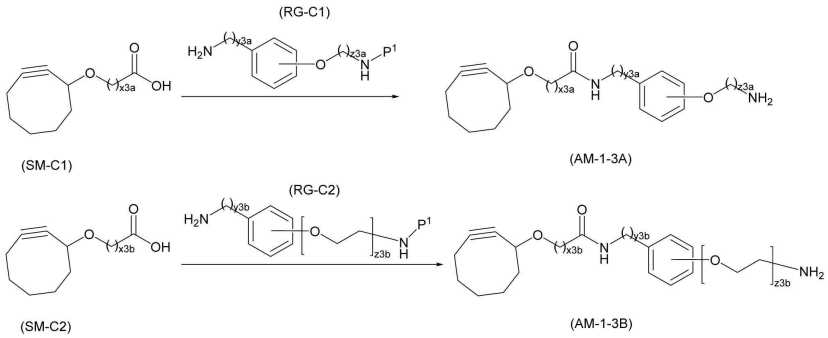
[0558] 식 (AM-1-2)로 표시되는 아민의 제조 방법:




[0559]

[0560] 식 (SM-B)의 화합물 및 식 (RG-B1)의 화합물을 사용하여 축합 반응을 행함으로써 축합체를 얻는다. 계속해서, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-1-2)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0561] [제조 방법 C] 식 (AM-1-3A) 및 식 (AM-1-3B)로 표시되는 아민의 제조 방법:

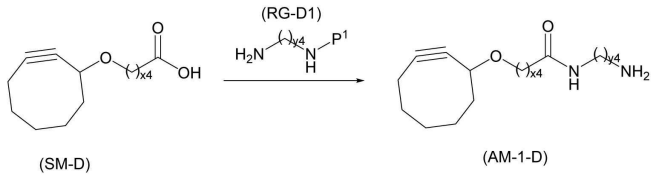



[0562]

[0563] 식 (SM-C1)의 화합물 및 식 (RG-C1)의 화합물을 사용하여, 축합 반응을 행하여 축합체를 얻는다. 계속해서, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-1-3A)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0564] 식 (SM-C2)의 화합물 및 식 (RG-C2)의 화합물을 사용하여, 축합 반응을 행하여 축합체를 얻는다. 계속해서, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-1-3B)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

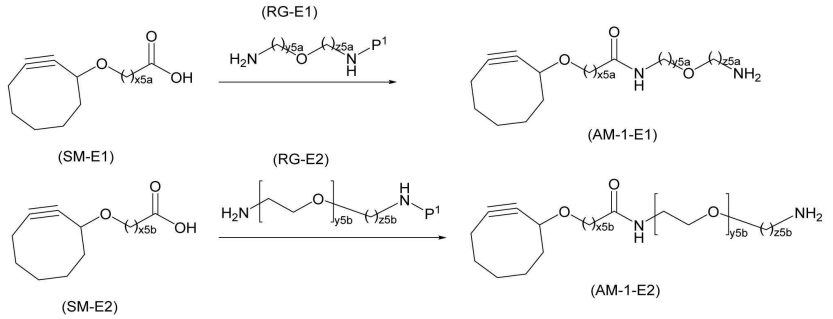
[0565] [제조 방법 D] 식 (AM-1-D)로 표시되는 아민의 제조 방법:




[0566]

[0567] 식 (SM-D)의 화합물 및 식 (RG-D1)의 화합물을 사용하여 축합 반응을 행하고, 축합체를 얻는다. 계속하여 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-1-D)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0568] [제조 방법 E] 식 (AM-1-E1) 및 식 (AM-1-E2)로 표시되는 아민의 제조 방법:

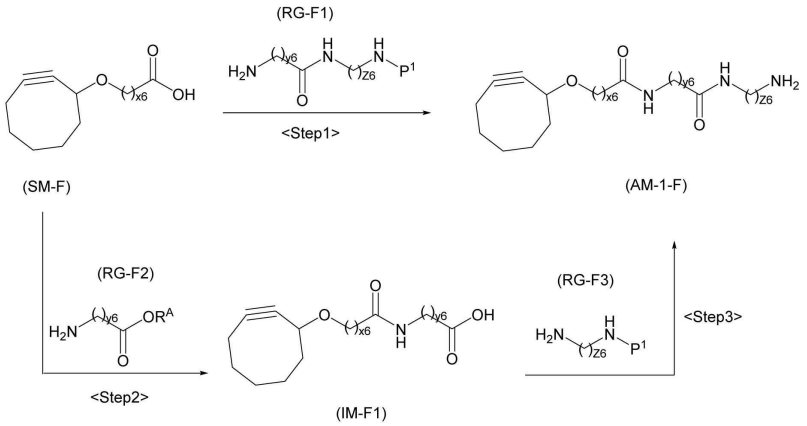



[0569]

[0570] 식 (SM-E1)의 화합물 및 식 (RG-E1)의 화합물을 사용하여, 축합 반응을 행하여 축합체를 얻는다. 계속해서, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-1-E1)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0571] 식 (SM-E2)의 화합물 및 식 (RG-E2)의 화합물을 사용하여, 축합 반응을 행하여 축합체를 얻는다. 계속해서, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-1-E2)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0572] [제조 방법 F] 식 (AM-1-F)로 표시되는 아민의 제조 방법:



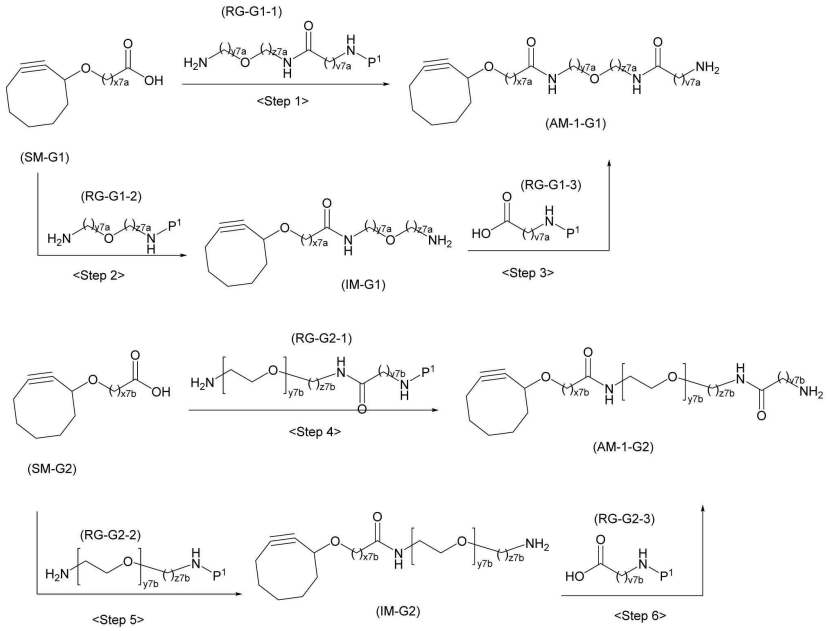

[0573]

[0574] <Step 1> 식 (SM-F)의 화합물의 화합물 및 식 (RG-F1)의 화합물을 사용하여, 축합 반응을 행하여 축합체를 얻는다. 계속해서, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-1-F)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0575] <Step 2> 식 (SM-F)의 화합물의 화합물 및 식 (RG-F2)의 화합물을 사용하여, 축합 반응을 행하여 축합체를 얻는다. 계속해서, 수산화나트륨 등의 염기 존재 하, 메탄올, 에탄올, 테트라히드로푸란, 물 등의 반응에 관여하지 않는 용매 혹은 그들의 혼합 용매 중에서, 에스테르기를 가수 분해함으로써 식 (IM-F1)로 표시되는 카르복실산, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0576] <Step 3> [제조 방법 F] <Step 2>에서 얻어진 식 (IM-F1)의 화합물의 화합물 및 식 (RG-F3)의 화합물을 사용하여, 축합 반응을 행하여 축합체를 얻는다. 계속해서, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-1-F)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0577] [제조 방법 G] 식 (AM-1-G1) 및 식 (AM-1-G2)로 표시되는 아민의 제조 방법:




[0578]

[0579] <Step 1> 식 (SM-G1)의 화합물의 화합물 및 식 (RG-G1-1)의 화합물을 사용하여, 축합 반응을 행하여 축합체를 얻는다. 계속해서, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-1-G1)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0580] <Step 2> 식 (SM-G1)의 화합물의 화합물 및 식 (RG-G1-2)의 화합물을 사용하여, 축합 반응을 행하여 축합체를 얻는다. 계속해서, 에스테르기를 가수 분해함으로써 식 (IM-G1)로 표시되는 카르복실산, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0581] <Step 3> [제조 방법 G] <Step 2>에서 얻어진 식 (IM-G1)의 화합물의 화합물 및 식 (RG-G1-3)의 화합물을 사용하여, 축합 반응을 행하여 축합체를 얻는다. 계속해서, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-1-G1)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

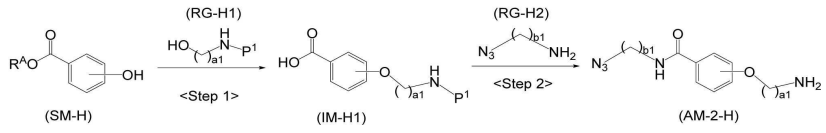
[0582] <Step 4> 식 (SM-G2)의 화합물의 화합물 및 식 (RG-G2-1)의 화합물을 사용하여, 축합 반응을 행하여 축합체를 얻는다. 계속해서, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-1-G2)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0583] <Step 5> 식 (SM-G2)의 화합물의 화합물 및 식 (RG-G2-2)의 화합물을 사용하여, 축합 반응을 행하여 축합체를 얻는다. 계속해서, 에스테르기를 가수 분해함으로써 식 (IM-G2)로 표시되는 카르복실산, 또는 그의 염(예를 들어, 리튬염, 나트륨염, 칼륨염 등)을 제조할 수 있다.

[0584] <Step 6> [제조 방법 G] <Step 5>에서 얻어진 식 (IM-G2)의 화합물의 화합물 및 식 (RG-G2-3)의 화합물을 사용하여, 축합 반응을 행하여 축합체를 얻는다. 계속해서, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-1-G2)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0585] [제조 방법 H]

[0586] 식 (AM-2-H)로 표시되는 아민의 제조 방법:




[0587]

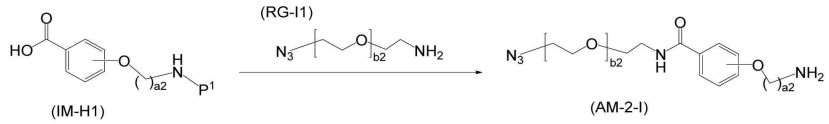
[0588] <Step 1> 식 (SM-H)의 화합물 및 식 (RG-H1)의 화합물을 사용하여, 문헌에 공지된 방법, 예를 들어, 『

European Journal of Organic Chemistry, 2014(6), p1280-1286; 2014년』 등에 기재된 방법에 준하여, (i) $PPh_3$ 및 $N_2(CO_2CHMe_2)_2$의 시약 존재 하, 테트라히드로푸란 등의 반응에 관여하지 않는 용매 중, 미츠노부 반응을 행하고, 계속하여 [제조 방법 F] <Step 2>에 기재된 방법과 마찬가지로, 가수 분해를 행함으로써, 식 (IM-H1)로 표시되는 화합물, 또는 그의 염(예를 들어, 리튬염, 나트륨염, 칼륨염 등)을 제조할 수 있다.

[0589] <Step 2> [제조 방법 H] <Step 1>에서 얻어진 식 (IM-H1)의 화합물 및 식 (RG-H2)의 화합물을 사용하여 축합 반응을 행하여 축합체를 얻는다. 계속해서, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-2-H)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0590] [제조 방법 I]

[0591] 식 (AM-2-I)로 표시되는 아민의 제조 방법:

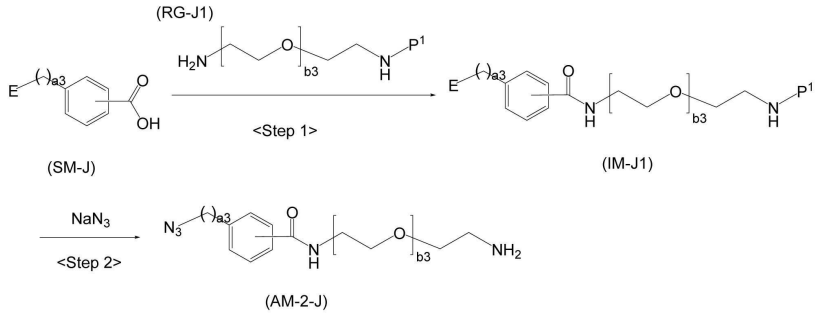



[0592]

[0593] <Step 1A> [제조 방법 H] <Step 1>에서 얻어진 식 (IM-H1)의 화합물 및 식 (RG-I1)의 화합물을 사용하여 축합 반응을 행하여 축합체를 얻는다. 계속해서, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-2-I)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0594] [제조 방법 J]

[0595] 식 (AM-2-J)로 표시되는 아민의 제조 방법:



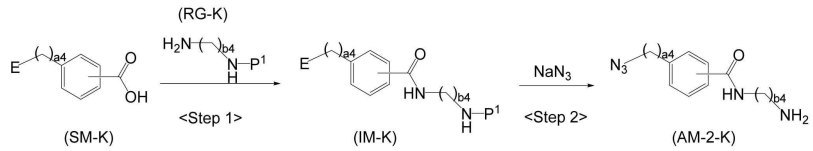

[0596]

[0597] <Step 1> 식 (SM-J)의 화합물 및 식 (RG-J1)의 화합물을 사용하여, 축합 반응을 행함으로써 식 (IM-J1)을 제조할 수 있다.

[0598] <Step 2> [제조 방법 J] <Step 1>에서 얻어지는 식 (IM-J1)의 화합물을 사용하여, 문헌에 공지된 방법, 예를 들어, 『Organometallics, 29(23), p6619-6622; 2010년』 등에 기재된 방법에 준하여, 디메틸술폭시드 등의 반응에 관여하지 않는 용매 중, $NaN_3$을 반응시켜 아지드기를 도입한 후, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-2-J)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0599] [제조 방법 K]

[0600] 식 (AM-2-K)로 표시되는 아민의 제조 방법:




[0601]

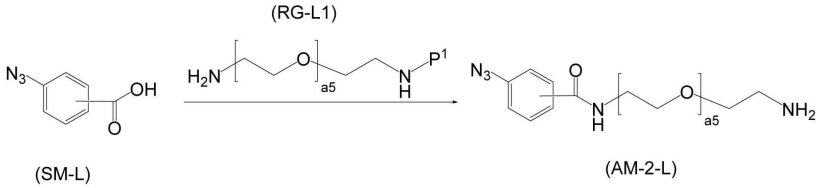
[0602] <Step 1> 식 (SM-K)의 화합물 및 식 (RG-K)의 화합물을 사용하여 축합 반응을 행함으로써 식 (IM-K)를 제조할

수 있다.

[0603] <Step 2> [제조 방법 K] <Step 1>에서 얻어지는 식 (IM-K)의 화합물을 사용하여, [제조 방법 J] <Step 2>와 마찬가지의 반응, 보호기 $P^1$의 탈보호를 행함으로써 식 (AM-2-K)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0604] [제조 방법 L]

[0605] 식 (AM-2-L)로 표시되는 아민의 제조 방법:

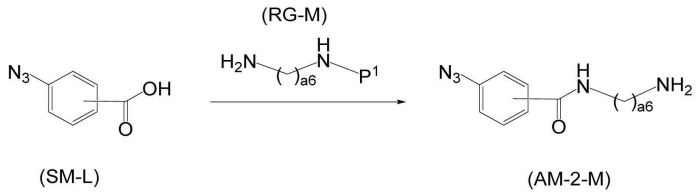



[0606]

[0607] 식 (SM-L)의 화합물 및 식 (RG-L1)의 화합물을 사용하여, 축합 반응을 행하여 축합체를 얻는다. 계속해서, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-2-L)로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0608] [제조 방법 M]

[0609] 식 (AM-2-M)으로 표시되는 아민의 제조 방법:




[0610]

[0611] 식 (SM-L)의 화합물 및 식 (RG-M)의 화합물을 사용하여, 축합 반응을 행하여 축합체를 얻는다. 계속해서, 보호기 $P^1$을 탈보호함으로써 식 (AM-2-M)으로 표시되는 아민, 또는 그의 염을 제조할 수 있다.

[0612] 상기 [제조 방법 A] 내지 [제조 방법 M]으로 제조할 수 있는 식 (AM-1) 또는 식 (AM-2)로 표시되는 아민 이외의 아민, 예를 들어, 식 (AM-1)의 링커 $-L^1-$ 또는 식 (AM-2)의 링커 $-L^2-$이, 직쇄의 알킬렌기($-(CH_2)_n-$, n=1 내지 30)[당해 기 중의 $-CH_2-$은, -C(=O)-, -CONH-, -O-, -NH-, -S-, 탄소수가 3 내지 8의 시클로알킬환, 벤젠환, 복소환(피리딘환, 피페리딘환, 피페라진환, 등의 5 내지 6원 방향족 복소환 또는 5 내지 6원 비방향족 복소환), 등의 기로 복수개(예를 들어, 1 내지 10개, 또는 1 내지 5개) 치환되어도 되고; 당해 직쇄의 알킬렌기($-CH_2-$)의 수소 원자는, 옥소기(=O), $C_{1-6}$ 알킬기(예를 들어, 메틸기, 에틸기, n-프로필기, iso-프로필기, 등의 기), 할로겐 원자(예를 들어, 불소 원자, 염소 원자, 브롬 원자, 요오드 원자, 등), 수산기(-OH), 등의 기로부터 선택되는 기로 복수개(예를 들어, 1 내지 10개, 또는 1 내지 5개) 치환되어 있어도 된다]일 경우, 문헌에 공지된 방법, 예를 들어, 『실험 화학 강좌 제5판, 각 본, 2007년, 마루젠』, 『Comprehensive Organic Transformations, A Guide to Functional Group Preparations, 3rd Edition(Edited by Richard C. Larock), 2018년』, 『Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis, (Edited by Laszlo Kurti, Barbara Czako), Academic Press, 2005년』 등에 기재된 합성 방법을 적절히 조합함으로써, 원하는 아민을 제조할 수 있다.

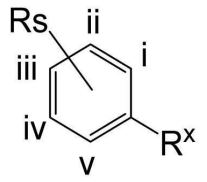
[0613] 본 명세서 중, 식 (AM-1) 또는 식 (AM-2)로 표시되는 아민(각각의 식의 하위의 식도 포함한다)은 제약학적으로 허용되는 염(예를 들어, 산 부가염; 예를 들어 염산염, 브롬화수소산염, 황산염, 아세트산염, 트리플루오로아세트산염, p-톨루엔술폰산염 등)을 형성하는 경우가 있다.

[0614] 본 명세서 중의 화합물은, 염을 형성할 수 있고, 통상적인 방법에 따라서, 예를 들어, 적량의 산 혹은 염기를 포함하는 용액을 혼합함으로써 목적으로 하는 염을 형성시킨 후에 분별 여과 취출하거나, 혹은 해당 혼합 용매를 증류 제거함으로써 얻을 수 있다. 염에 관한 총설로서, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties,

Selection, and Use, Stahl&Wermuth(Wiley-VCH, 2002)가 출판되어 있고, 본서에 상세한 기재가 이루어져 있다.

[0615] 본 명세서 중, 식 (AM-1) 또는 식 (AM-2)로 표시되는 아민(각각의 식의 하위의 식도 포함한다) 또는 그의 염은, 물, 에탄올, 글리세롤 등의 용매와 용매화물을 형성할 수 있다.

[0616] 본 명세서 중, 특별히 언급하지 않는 한, 환상기에 가변 치환기가 치환되어 있는 경우, 해당 가변 치환기는 환상기의 특정한 탄소 원자에 결합되어 있지 않음을 의미한다. 예를 들어, 하기 식 A에 있어서의 가변 치환기 Rs는, 해당 식 A에 있어서의 탄소 원자 i, ii, iii, iv 또는 v의 어느 것으로 치환할 수 있음을 의미한다.




식 A

[0617]

[0618] 5-1. 가교 알긴산 겔

[0619] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔은, 상기 「2. 화학 수식 알긴산 유도체」의 항에 기재된 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 형성되는, (i) 2가의 금속 이온 결합을 통한 가교, (ii) 화학 결합을 통한 가교, 또는 (iii) 2가의 금속 이온 결합 및 화학 결합의 양쪽을 통한 가교를 갖는 가교 알긴산 겔(가교 알긴산 또는 화학 가교 알긴산이라고 할 수도 있다)이 있다. 상기 각 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔은, 가교로서 Huisgen 반응(가교 반응)을 행함으로써 형성되는 트리아졸환에 의한 화학 가교 및 2가 금속 이온(예를 들어, 칼슘 이온 등)을 공존시킴으로써 형성되는 이온 가교의 양쪽을 포함하는 가교 알긴산 겔이다. 또한, 상기 각 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔은, 가교로서 Huisgen 반응(가교 반응)을 행함으로써 형성되는 트리아졸환에 의한 화학 가교를 포함하는, 가교 알긴산 겔이다.

[0620] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔은, 상기 식 (I) 및 상기 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여, 당해 유도체 간에 화학 가교를 형성시키는 Huisgen 반응(가교 반응)을 행함으로써 얻어진다. 또는, 상기 식 (I) 및 상기 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 2가의 금속 이온을 공존시킴으로써, 당해 유도체 간에 이온 가교를 형성시킴으로써 얻어진다. 또는, 상기 식 (I) 및 상기 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여, Huisgen 반응(가교 반응)을 행하여, 당해 유도체 간에 화학 가교를 형성시키고, 또한 2가의 금속 이온을 공존시킴으로써, 당해 유도체 간에 이온 가교를 형성시킴으로써도 얻어진다.

[0621] 본 명세서 중, 「가교가 형성된다」, 「가교가 형성되었다」, 또는 「가교 반응을 행한다」란, 상기 식 (I) 및 상기 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여, Huisgen 반응을 행함으로써, 당해 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 간에 화학 가교(화학 결합)가 형성되는 것, 또는, 상기 식 (I) 및 상기 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 2가의 금속 이온을 공존시킴으로써 당해 식 (I)의 화학 수식 알긴산 유도체 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 각 유도체 간에 이온 가교(이온 결합)가 형성되는 것, 또는, 상기 Huisgen 반응에 의한 화학 가교 및 2가의 금속 이온에 의한 이온 가교의 양쪽이 형성되는 것을 의미한다. 또한, 알긴산(알긴산나트륨 등)의 2가의 금속 이온을 공존시킴으로써, 알긴산에 이온 가교가 형성되는 것도 의미한다.

[0622] 상기 식 (I) 및 상기 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 2가 금속 이온을 접촉시킴으로써, 이온 가교가 형성되어, 이온 가교 알긴산 겔이 되는 시간은, 예를 들어, 순간(예를 들어, 1 내지 5초) 내지 수 시간(예를 들어, 1 내지 3시간)이다. 또한, 상기 식 (I) 및 상기 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 간에 Huisugen 반응이 진행하여, 화학 가교가 형성되어, 화학 가교 알긴산 겔이 되는 시간은, 예를 들어, 수초 내지 24시간, 수초 내지 12시간, 또는 수초 내지 30분간이다.

[0623] 상기 가교 알긴산 겔을 얻기 위하여 사용되는 2가 금속 이온으로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, 칼슘 이온, 마그네슘 이온, 바륨 이온, 스트론튬 이온, 아연 이온 등을 들 수 있고, 바람직하게는 칼슘 이온, 바륨 이온 또는 스트론튬 이온이며, 보다 바람직하게는 칼슘 이온 또는 바륨 이온이다.

[0624] 2가 금속 이온을 포함하는 용액으로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, 칼슘 이온을 포함하는 용액(예를

들어, 염화칼슘 수용액, 탄산칼슘 수용액, 글루콘산칼슘 수용액, 등의 수용액), 바륨 이온을 포함하는 용액(예를 들어, 염화바륨 수용액 등의 수용액), 스트론튬 이온을 포함하는 용액(예를 들어, 염화스트론튬 수용액 등의 수용액)을 들 수 있고, 바람직하게는 칼슘 이온을 포함하는 용액 또는 바륨 이온을 포함하는 용액이며, 보다 바람직하게는, 염화칼슘 수용액 또는 염화바륨 수용액이다.

[0625] 2가 금속 이온을 포함하는 용액의 2가 금속 이온 농도(예를 들어, 칼슘 이온 또는 바륨 이온 농도)는 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, 약 1mM 내지 약 1M의 범위, 또는 약 10 내지 약 500mM의 범위이며; 바람직하게는, 약 10 내지 약 100mM이다.

[0626] 2가 금속 이온을 포함하는 용액 등을 제조할 때에 사용하는 용매는, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, 수돗물, 순수(예를 들어, 증류수, 이온 교환수, RO수, RO-EDI수, 등), 초순수(MilliQ수), 배지, 세포 배양용 배지, 배양액, 인산 완충 생리 식염수(PBS) 및 생리 식염수 등을 들 수 있고; 바람직하게는 생리 식염수 또는 초순수이다.

[0627] 상기 각 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔에 있어서, 이온 가교 및 화학 가교가 있는 경우, 이온 가교의 반응은 순시 또한 가역적인 데 반해, 화학 가교의 반응은, 비교적 온화한 조건에서 천천히 반응이 진행하여 얻어지고, 비가역적이다. 이 성질을 이용하여, 화학 가교와 이온 가교를 적절하게 조합함으로써, 본 발명의 가교 알긴산 겔을 효율적으로 제작하는 것이 가능하게 된다. 예를 들어, 후술하는 「11. 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법」에 있어서의 장치(XX)를 사용하여, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액을, 2가 금속 이온을 함유하는 용액 중에 사출함으로써, 이온 가교가 형성되고, 순간적으로 파이버(섬유) 형상의 가교 알긴산 겔을 제작할 수 있다. 또한, 동시에 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 간에 Huisgen 반응(가교 반응)이 진행하여 화학 가교가 형성됨으로써, 이온 가교 및 화학 가교의 양쪽을 포함하는 파이버(섬유) 형상의 가교 알긴산 겔이 얻어진다. 가교 알긴산 겔의 물성은, 예를 들어, 사용하는 2가 금속 이온이 포함되는 수용액(예를 들어, 염화칼슘 수용액)의 농도, 혹은, 화학 수식 알긴산 유도체에 도입되는 반응성기의 도입률을 변화시키는 등의 방법으로 조정이 가능하다.

[0628] 상기한 가교 반응을 이용하여, 식 (I) 및 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여, 본 발명의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔을 파이버(섬유) 형상(「가교 알긴산 겔 파이버」라고도 한다)으로서 제작할 수 있다. 또한, 당해 가교 알긴산 겔 파이버를 제작할 때에, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액에, 알긴산(예를 들어, 알긴산나트륨) 용액을 첨가하여 제작할 수 있다.

[0629] 본 발명에서는, 파이버 구조를 강화(예를 들어, 장기 안정성의 획득, 등)하는 방법의 하나로서, 화학 가교(Huisugen 반응)를 이용하고 있다. 상기와 같이 제작된 이온 가교 및 화학 가교의 양쪽을 갖는 가교 알긴산 겔 파이버를 사용하여, 배양액 중에서 배양을 행하는 경우, 이온 가교를 형성하고 있는 2가 금속 이온이 서서히 가역적으로 방출되어, 화학 가교만이 남은 가교 알긴산 겔 파이버가 되는데, 비가역적인 화학 가교에 의해 겔 구조가 유지되어, 안정적으로 계속하여 배양하는 것이 가능하다.

[0630] 본 발명의, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 형성되는 가교 알긴산 겔은, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, 콜라겐 용액, 콜라겐 겔, 배지, 세포 배양용 배지, 배양액, 메틸셀룰로오스, 수크로오스 용액, 알긴산 용액, 알긴산 겔, 등의 다른 성분을 포함할 수 있다.

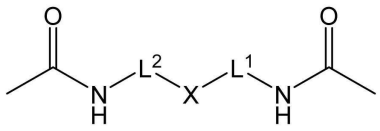
[0631] 본 명세서 중, 단순하게 「알긴산 겔」이라고 기재하는 경우, 알긴산(예를 들어, 알긴산나트륨) 또는 그의 용액에 2가의 금속 이온을 공존시킴으로써, 이온 가교가 형성된, 알긴산 겔을 의미한다.

[0632] 5-2. 가교 알긴산 겔에 있어서의 화학 가교

[0633] 본 명세서 중, 가교 알긴산 겔은, 상기 식 (I) 및 상기 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 혼합하여 Huisgen 반응을 행함으로써 얻을 수 있다.

[0634] 본 명세서 중, 가교 알긴산 겔은, 화학 가교(알킨기 및 아지드기로 형성되는 트리아졸환에 의한 가교)를 통하여 삼차원의 그물눈 구조를 형성한다. 바람직한 화학 수식 알긴산 유도체는, 가교 후의 가교 알긴산 겔의 안정성을 개선하는 것이다. 또한, 가교 알긴산 겔의 물성은, 예를 들어, 원료인 식 (I) 또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산에 있어서의 각 반응성기의 도입률에 의해 조정하는 것이 가능하다.

[0635] 몇 가지 양태의 가교 알긴산 겔은, 하기 식 (III-L):



(III-L)

[0636]

[0637] [식 (III-L) 중, 양단의 -CONH- 및 -NHCO-는, 알긴산의 임의의 카르복실기를 통한 아미드 결합을 나타내고; $-L^1-$, $-L^2-$ 및 -X-는, 상기 양태 [1-12] 중의 정의와 동일하다]로 표시되는 기를 통하여 가교된 가교 알긴산 겔이다.

[0638] 몇 가지 양태에서, 가교 알긴산 겔을 제작할 때의, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체와, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합비는, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체와 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 중량비로, 예를 들어, 1:1.0 내지 4.0, 또는 1:1.0 내지 3.0, 또는 1:1.0 내지 2.0, 또는 1:1.0 내지 1.5, 또는 1:1이며; 바람직하게는 1:1.0 내지 3.0이다.

[0639] 몇 가지 양태에서, 가교 알긴산 겔을 제작할 때의, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체와, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합비는, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체와 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 중량비로, 예를 들어, 1:1.0 내지 4.0, 또는 1:1.0 내지 3.0, 또는 1:1.0 내지 2.0, 또는 1:1.0 내지 1.5, 또는 1:1이다.

[0640] 몇 가지 양태에서, 가교 알긴산 겔을 제작할 때의, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체와, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합비는, 보다 바람직하게는 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체와 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 반응성기의 도입률(mol%)비로, 예를 들어, 1:1.0 내지 4.0, 또는 1:1.0 내지 3.0, 또는 1:1.0 내지 2.0, 또는 1:1.0 내지 1.5, 또는 1:1이며; 바람직하게는 1:1.0 내지 3.0이다.

[0641] 몇 가지 양태에서, 가교 알긴산 겔을 제작할 때의, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체와, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합비는, 보다 바람직하게는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체와 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 반응성기의 도입률(mol%)비로, 예를 들어, 1:1.0 내지 4.0, 또는 1:1.0 내지 3.0, 또는 1:1.0 내지 2.0, 또는 1:1.0 내지 1.5, 또는 1:1이다.

[0642] 가교 알긴산 겔은, 알긴산의 구성 단위의 모든 카르복실기가 상기 식 (III-L)의 가교를 갖고 있을 필요는 없다. 가교 알긴산 겔에 있어서의, 상기 식 (III-L)로 표시되는 가교의 도입률(가교율이라고도 한다)은 예를 들어, 약 0.1 내지 약 80%, 약 0.3 내지 약 60%, 약 0.5 내지 약 30%, 또는 약 1.0 내지 약 10%의 범위이다.

[0643] 본 발명의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔을 얻기 위한 Huisgen 반응에 있어서의 상기 식 (I) 또는 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체의 용액의 농도는, 예를 들어, 약 0.01 내지 약 1.5중량%의 범위이며; 바람직하게는, 약 0.05 내지 약 1.0중량%의 범위이며; 보다 바람직하게는, 약 0.08 내지 약 0.75중량%의 범위이다.

[0644] 본 발명의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔을 얻기 위한 상기 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체를 사용한 Huisgen 반응에 있어서, 상기 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 알긴산 유도체의 혼합 용액에, 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 당해 알긴산 용액의 농도는, 예를 들어, 0% 내지 약 1.98중량%의 범위이며; 바람직하게는, 0% 내지 약 1.8중량%의 범위이며; 보다 바람직하게는, 0 내지 약 1.7중량%의 범위이다.

[0645] Huisgen 반응의 반응 온도(가교 알긴산 겔, 가교 알긴산 겔 파이버를 제작할 때의 온도)는 통상적으로, 외온 약 4 내지 약 60℃이고, 바람직하게는 외온 약 15 내지 약 37℃의 범위이다.

[0646] 6. 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버

[0647] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포와, 상기 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 얻어지는 가교 알긴산 겔을 포함하는 코어층을, 양이온성 폴리머(양이온성 폴리머층)로 피복하여 얻어지는, 파이버상(섬유상)의 구조체를 의미한다(폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법은 후술한다).

[0648] 또한, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 코어층과 코어층의 외측에 배치되는 양이온성 폴리머층을 포함하는, 파이버상(섬유상)의 구조체이다. 상기 코어층은, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포와 상기 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교가 형성된 가교 알긴산 겔을 포함하고, 상기 양이온성 폴리머층은, 양이온성 폴리머이다.

[0649] 또한, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 코어층과 코어층의 외측에 배치되는 양이온성 폴리머층을 포함하는, 파이버상(섬유상)의 구조체이다. 상기 코어층은, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포와, 가교 알긴산 겔을 포함하고, 상기 가교 알긴산 겔은, 상기 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 얻어지는 가교를 포함하고, 상기 양이온성 폴리머층은, 양이온성 폴리머이다.

[0650] 도 1은, 가교 알긴산 겔 파이버를 양이온성 폴리머로 피복함으로써 형성된 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 일례의 단면도를 도시한다. 이 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 그 외경이 c이며, 직경 a의 코어층(5)과 두께 b의 양이온성 폴리머층(4)을 포함하고, 코어층(5)은 항체, 생리 활성 물질 등을 산생하는 세포(6)가 포함된 가교 알긴산 겔을 포함하고 있다. 당해, 코어층(5)의 가교 알긴산 겔은, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 형성된 가교 알긴산 겔이다.

[0651] 몇 가지 양태의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층은, 상기 양태 [1]에 기재된 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 형성된 가교 알긴산 겔 이외에, 세포 독성을 갖지 않는 것이라면 특별히 한정되지 않지만, 콜라겐 용액, 콜라겐 겔, 배지, 세포 배양용 배지, 배양액, 메틸셀룰로오스, 수크로오스 용액, 알긴산 용액, 알긴산 겔, 등의 다른 성분을 포함할 수 있고; 바람직하게는, 알긴산 용액, 알긴산 겔, 배지, 배양액으로 이루어지는 군에서 선택되는 성분을 포함할 수 있다.

[0652] 「폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버」는, 파이버의 외경(도 2에서의 c)이 예를 들어, 약 0.1 내지 약 2000㎛ 정도인 섬유상의 구조체인 것으로부터, 「폴리머 코팅 가교 알긴산 마이크로파이버」라고 하는 경우도 있다.

[0653] 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 중심축에 대한 수직 방향의 단면 형상은, 원형에 한정되는 것은 아니며, 비대칭 구조나 변형시킨 형상이어도 되고, 예를 들어, 단면 형상은, 원형, 타원계, 또는 다각형(예를 들어, 삼각형, 사각형, 오각형 등) 등의 다양한 형상이어도 되고, 바람직하게는, 도 2에 도시된 바와 같은 원형의 단면 형상이다.

[0654] 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 외경(비원형의 경우에는, 긴 직경 또는 최대 직경을 외경으로 간주한다)은 예를 들어, 약 0.1 내지 약 2000㎛, 약 0.2㎛ 내지 약 2000㎛, 약 1 내지 약 1000㎛, 약 2 내지 약 500㎛, 약 2 내지 약 200㎛ 등의 범위이다.

[0655] 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층의 직경은, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 2000㎛, 약 0.2㎛ 내지 약 2000㎛, 약 1 내지 약 1000㎛, 약 2 내지 약 500㎛, 약 2 내지 약 200㎛ 등의 범위이다. 코어층의 단면의 직경은, 파이버 단면의 직경 미만이며 50% 이상인 것이 바람직하다.

[0656] 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 폴리머층 (b)의 두께는, 「(폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 외경-코어층의 직경)/2(도 2에서 b=(c-a)/2)」에 의해 구할 수 있다. 폴리머층의 두께는, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 200㎛, 약 1 내지 약 200㎛, 약 5㎛ 내지 약 200㎛ 등이다.

[0657] 상기 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층의 직경, 외경 및 폴리머층의 내경의 값은, 예를 들어, 폴리머층에 형광 발색하는 양이온성 폴리머를 사용하여 파이버를 제작하고, 위상차 광학 현미경에 의한 화상으로부터 계측하는 것이 가능하다. 당해 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 몇군데에 있어서의 계측값의 평균값으로서 나타내어진다. 상기 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층 및 폴리머층은, 통상적으로, 실질적으로 균일한 두께를 갖고 있고, 바람직하게는, 각 층은, ±10%의 범위 내의 두께 균일성을 갖는다.

[0658] 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 길이는, 특별히 한정은 되지 않지만, 예를 들어, 약 0.01 내지 약 100m이며, 또는 약 0.1 내지 약 75m이며, 또는 약 0.3 내지 약 50m이다.

[0659] 본 명세서 중, 몇 가지 양태의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층은, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함시킨, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액을 사용하여 형성할 수 있다. 그 경우, 식 (I) 또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도는, 예를 들어, 각각, 약 0.01 내지 약 1.5중량%의 범위이며; 바람직하게는, 약 0.05 내지 약 1.0중량%의 범위이며; 보다 바람직하게는, 약 0.08 내지 약 0.75중량%의 범위이다. 또한, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액의 농도는, 예를 들어, 약 0.02 내지 약 2.0중량%의 범위이며; 바람직하게는, 약

0.1 내지 약 2.0중량%의 범위이며; 보다 바람직하게는 약 0.15 내지 약 1.5중량%의 범위이다. 또한, 상기, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액에, 알긴산 용액을 첨가하는 경우의, 당해 알긴산의 농도는, 예를 들어, 0 내지 약 1.98중량%의 범위이며; 바람직하게는, 0 내지 약 1.8중량%의 범위이며; 보다 바람직하게는, 0 내지 약 1.7중량%의 범위이다.

[0660] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층의 형성에 사용하는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함시킨, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액에, 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 당해 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액의 농도(C1(중량%))와 알긴산 용액의 농도(C2(중량%))의 조합은, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, (C1:C2)=(약 0.2:약 1.3), (약 0.5:약 1.0), (약 1.0:약 0.5), (약 1.5:0), (약 0.66:약 1.34), (약 0.34:약 0.66), (약 0.16:약 0.34) 등의 조합을 들 수 있다. 이들 농도 이외에도, C1 및 C2의 농도를 적절히 조합하여 조제할 수 있다.

[0661] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층의 형성에 사용하는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함시킨, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액에, 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 당해 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도(C1A(중량%)), 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도(C1N(중량%)) 및 알긴산 용액의 농도(C2(중량%))의 조합은, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, (C1A:C1N:C2)=(약 0.1:약 0.1:약 1.3), (약 0.25:약 0.25:약 1.0), (약 0.5:약 0.5:약 0.5), (약 0.75:약 0.75:0), (약 0.33:약 0.33:약 1.34), (약 0.17:약 0.17:약 0.66), (약 0.08:약 0.08:약 0.34) 등의 조합을 들 수 있다. 이들 농도 이외에도, C1A, C1N, C2의 농도를 적절히 조합하여 조제할 수 있다.

[0662] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층의 형성에 사용하는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액 중의, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 각 용량비(v1, v2)는 예를 들어, v1+v2=15의 비율이며, 예를 들어, (v1:v2)=(7.5:7.5)이다.

[0663] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층의 형성에 사용하는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에, 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 알긴산 용액을 첨가한 혼합 용액에 있어서의, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용량(v1), 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액 용량(v2) 및 알긴산 용액의 용량(v3)의 용량비는, 예를 들어, v1+v2+v3=15의 비율이며, 예를 들어, (v1:v2:v3)=(5:5:5), (2.5:2.5:10), (1:1:13) 등의 조합이다.

[0664] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층의 형성에 사용하는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함시킨, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액에, 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 당해 알긴산 용액의 조제에 사용되는 알긴산(예를 들어, 알긴산나트륨, 등)의 분자량은, 특별히 한정은 되지 않지만, 겔 여과 크로마토그래피법(GPC법)에 의해 측정한 중량 평균 분자량이, 예를 들어, 약 150,000Da 내지 약 2,500,000Da의 범위, 약 300,000Da 내지 약 2,000,000Da의 범위, 약 700,000Da 내지 약 2,000,000Da 등의 범위이다.

[0665] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층의 형성에 사용하는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함시킨, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액에, 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 당해 알긴산 용액의 조제에 사용되는 알긴산(예를 들어, 알긴산나트륨, 등)의 분자량은, 특별히 한정은 되지 않지만, 겔 여과 크로마토그래피법(GPC법)에 의해 측정한 중량 평균 분자량이, 예를 들어, 약 150,000Da 내지 약 2,500,000Da의 범위, 약 300,000Da 내지 약 2,500,000Da의 범위, 약 700,000Da 내지 약 1,400,000Da, 약 800,000Da 내지 약 1,500,000Da, 약 1,400,000 내지 약 2,000,000Da, 약 1,500,000 내지 약 2,500,000 등의 범위이다.

[0666] 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층을 제작할 때에 사용하는, 식 (I) 또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액, 알긴산 용액 등을 제조할 때에 사용하는 용매로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, 배지, 세포 배양용 배지, 배양액, 등장 완충액, 인산 완충 생리 식염수(PBS) 및 생리 식염수 등을 들 수 있고; 바람직하게는, 배지, 세포 배양용 배지, 배양액, 생리 식염수 또는 등장 완충액이다.

[0667] 7. 양이온성 폴리머

[0668] 폴리 양이온이란, 1분자 중에 2개 이상의 양이온성기를 갖는 화합물을 말하며, 양이온성기란, 양이온기 또는 양이온 기로 유도될 수 있는 기를 말한다. 양이온성기로서는, 예를 들어, 아미노기; 메틸아미노기, 에틸아미노기 등의 모노알킬아미노기; 디메틸아미노기, 디에틸아미노기 등의 디알킬아미노기; 이미노기; 구아니디노기, 등의 기를 들 수 있다. 아미노기는 프로톤이 배위 결합한 $-NH_3^+$기여도 된다.

[0669] 본 명세서 중, 양이온성 폴리머란, 1분자 중에 2개 이상의 양이온성기를 갖는 폴리머를 말한다. 양이온성 폴리머로서는, 양이온성기를 갖는 모노머를 중합시킨 것을 들 수 있다. 또한, 양이온성 폴리머는, 물에 용해하는 것이 가능한 친수성을 갖고, 수중에서 양이온성기가 해리됨으로써 양전하를 띤다고 하는 특성을 갖는 것이 바람직하다. 양이온성 폴리머로서는, 특히 1분자 중에 2개 이상의 아미노기를 갖는 폴리머가 바람직하다.

[0670] 본 명세서 중, 양이온성 폴리머로서는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 형성되는 가교 알긴산 겔 파이버의 표면에 있어서, 당해 가교 알긴산 겔 파이버가 갖는 카르복실기와 양이온성 폴리머의 양이온성기가 정전적 상호 작용에 의해, 당해 가교 알긴산 겔 파이버의 표면이 양이온성 폴리머로 피복됨(도 2를 참조)으로써, 가교 알긴산 겔 파이버의 강도를 높일 수 있는 물질인 것이 바람직하다. 또한, 양이온성 폴리머는, 코어층에 포함되는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생하는 세포로부터 산생된 항체, 생리 활성 물질 등이, 코어층을 피복한 양이온성 폴리머(폴리머층)를 투과하여, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 밖으로 방출할 수 있는 물질인 것이 바람직하다.

[0671] 본 명세서 중, 양이온성 폴리머로서는, 예를 들어, 폴리아미노산(염기성 아미노산의 중합체), 염기성 다당류(예를 들어, 키토산 등), 염기성 폴리머(폴리메틸렌-CO-구아니딘(PMCG), 폴리알릴아민(PAA), 폴리비닐아민(PVA), 폴리에틸렌이민, 알릴아민-디알릴아민 공중합체 및 알릴아민-말레산 공중합체 등)의 양이온성 폴리머를 들 수 있고, 바람직하게는, 폴리아미노산인 폴리-L-오르니틴(PLO), 폴리-D-오르니틴(PDO), 폴리-DL-오르니틴, 폴리-D-리신(PDL), 폴리-L-리신(PLL), 폴리-DL-리신, 폴리-L-아르기닌(PLA), 폴리-D-아르기닌(PDA), 폴리-DL-아르기닌, 폴리-L-호모아르기닌(PLHA), 폴리-D-호모아르기닌(PDHA), 폴리-DL-호모아르기닌, 폴리-L-히스티딘(PLH), 폴리-D-히스티딘(PDH) 및 폴리-DL-히스티딘으로 이루어지는 군에서 선택되는 양이온성 폴리머이며; 보다 바람직하게는, 폴리-L-오르니틴, 폴리-L-리신 또는 폴리알릴아민이며; 더욱 바람직하게는, 폴리-L-오르니틴이다.

[0672] 본 명세서 중, 양이온성 폴리머를 포함하는 용액을 제조할 때에 사용하는 양이온성 폴리머로서는, 예를 들어, 상기 폴리아미노산, 염기성 다당류, 염기성 폴리머 및 그들의 염(염산염, 브롬화수소산염 등)을 들 수 있다. 상기, 양이온성 폴리머는 시판품 또는 시판품으로부터 조정된 것을 사용하는 것이 가능하다.

[0673] 본 명세서 중, 양이온성 폴리머의 중합도는, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, 50 내지 6,000의 중합도, 50 내지 2,000의 중합도, 100 내지 1,500의 중합도 등을 들 수 있다. 폴리-L-오르니틴의 경우, 예를 들어, 130 내지 1,300의 중합도이며, 폴리알릴아민의 경우, 예를 들어, 50 내지 1,800의 중합도이며, 키토산의 경우, 예를 들어, 60 내지 6,000의 중합도이다.

[0674] 본 명세서 중, 양이온성 폴리머의 중량 평균 분자량(Mw)은, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, 500 내지 1,000,000의 범위 내, 1,000 내지 500,000의 범위 내, 3,000 내지 300,000의 범위 내, 5,000 내지 100,000의 범위 내, 10,000 내지 50,000의 범위 내, 등을 들 수 있다. 양이온성 폴리머의 중량 평균 분자량(Mw)은 겔 침투 크로마토그래피(GPC)에 의해 측정할 수 있다.

[0675] 예를 들어, 폴리-L-오르니틴의 경우, 시판품인 폴리-L-오르니틴브롬화수소산염[예를 들어, 분자량: 70,000 내지 150,000(후지 필름-와코준야쿠제), 분자량: 15,000 내지 30,000, 30,000 내지 70,000, 5,000 내지 15,000(Sigma-Aldrich제) 등]을 사용할 수 있고; 예를 들어, 폴리알릴아민의 경우, 시판품의 폴리알릴아민[예를 들어, 분자량: 1,600, 3,000, 5,000, 8,000, 15,000, 25,000(니토보제), 내지 15,000, 내지 65,000(Sigma-Aldrich제) 등], 시판품의 폴리알릴아민염산염[예를 들어, 분자량: 1,600, 3,000, 5,000, 15,000, 100,000(니토보제), 내지 17,500, 50,000(Sigma-Aldrich제) 등]을 사용할 수 있고; 예를 들어, 키토산의 경우, 시판품의 키토산[예를 들어, 분자량: 내지 15,000(후지 필름-와코준야쿠제), 5,000, 50,000, 100,000, 160,000, 180,000(Sigma-Aldrich제) 등]을 사용할 수 있다.

[0676] 양이온성 폴리머의 하나인 키토산은, 키틴의 탈아세틸화물이며, 그의 수용성의 관점에서, 그의 탈아세틸화도가, 예를 들어, 40 내지 100%의 범위 내, 45 내지 90%의 범위 내, 또는 50 내지 80%의 범위 내 등의 것을 사용할

수 있다.

[0677] 양이온성 폴리머를 포함하는 용액의 농도는, 특별히 한정되지 않지만, 알긴산 겔 파이버의 표면을 균일하게 코팅할 수 있는 농도이면 되고, 예를 들어, 약 0.01 내지 약 10.0중량%, 약 0.01 내지 약 5.0중량%, 약 0.02 내지 약 1.0중량%의 농도를 들 수 있고, 바람직하게는, 약 0.02 내지 약 5.0중량%, 보다 바람직하게는 약 0.05 내지 약 1.0중량%의 농도이다.

[0678] 양이온성 폴리머를 포함하는 용액의 점도는, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, 10.0 내지 500.0mPa·s의 범위 내, 20.0 내지 300.0mPa·s의 범위 내, 50.0 내지 200.0mPa·s의 범위 내 등이다.

[0679] 양이온성 폴리머를 포함하는 용액에는, 2종류 이상의 양이온성 폴리머를 병용하는 것이 가능하다.

[0680] 양이온성 폴리머를 포함하는 용액의 용매로서는, 양이온성 폴리머를 용해할 수 있는 것이라면, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, 물(수돗물, 순수(예를 들어, 증류수, 이온 교환수, RO수, RO-EDI수, 등), 초순수(MilliQ수)), 무기염류의 수용액(인산 완충 생리 식염수(PBS), 생리 식염수 등) 등을 들 수 있고, 양이온성 폴리머의 전하량을 보다 많게 할 수 있는, 초순수, 물 또는 생리 식염수가 바람직하다.

[0681] 8. 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버

[0682] 본 명세서 중, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 전술한 「6. 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버」에 기재되어 있는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 양이온성 폴리머층의 외측을, 음이온성 폴리머(음이온성 폴리머층)로 피복하여 얻어지는, 파이버상(섬유상)의 구조체를 의미한다. 즉, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포와, 상기 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 얻어지는 가교 알긴산 겔을 포함하는 코어층을, 양이온성 폴리머로 피복하여 얻어지는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 양이온성 폴리머층의 외측을, 음이온성 폴리머로 피복하여 얻어지는, 파이버상의 구조체이다(다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법은 후술한다).

[0683] 또한, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 코어층, 코어층의 외측에 배치되는 양이온성 폴리머층 및 양이온성 폴리머층의 외측에 배치되는 음이온성 폴리머층을 포함하는, 파이버상(섬유상)의 구조체이다. 상기 코어층은, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포와 상기 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교가 형성된 가교 알긴산 겔을 포함하고, 상기 양이온성 폴리머층은, 양이온성 폴리머이며, 상기 음이온성 폴리머층은, 음이온성 폴리머이다.

[0684] 또한, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 코어층, 코어층의 외측에 배치되는 양이온성 폴리머층 및 양이온성 폴리머층의 외측에 배치되는 음이온성 폴리머층을 포함하는, 파이버상(섬유상)의 구조체이다. 상기 코어층은, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포와, 가교 알긴산 겔을 포함하고, 상기 가교 알긴산 겔은, 상기 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 얻어지는 가교를 포함하고, 상기 양이온성 폴리머층은, 양이온성 폴리머이며, 상기 음이온성 폴리머층은, 음이온성 폴리머이다.

[0685] 도 8은, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 일례의 단면도를 도시한다. 이 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 그 외경이 e이며, 직경 a의 코어층(5), 두께 b의 양이온성 폴리머층(4)과 두께 d의 음이온성 폴리머층(7)을 포함하고, 코어층(5)은 항체, 생리 활성 물질 등을 산생하는 세포(6)가 포함된 가교 알긴산 겔을 포함하고 있다. 당해, 코어층(5)의 가교 알긴산 겔은, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 형성된 가교 알긴산 겔이다.

[0686] 몇 가지 양태의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층은, 상기 양태 [1]에 기재된 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 형성된 가교 알긴산 겔 이외에, 세포 독성을 갖지 않는 것이라면 특별히 한정되지 않지만, 콜라겐 용액, 콜라겐 겔, 배지, 세포 배양용 배지, 배양액, 메틸셀룰로오스, 수크로오스 용액, 알긴산 용액, 알긴산 겔, 등의 다른 성분을 포함할 수 있고; 바람직하게는, 알긴산 용액, 알긴산 겔, 배지, 배양액으로 이루어지는 군에서 선택되는 성분을 포함할 수 있다.

[0687] 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 파이버의 외경(도 8에서의 e)이 예를 들어, 약 0.1 내지 약 2000㎛ 정도인 섬유상의 구조체인 것으로부터, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 마이크로파이버라고 하는 경우도 있다.

[0688] 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 중심축에 대한 수직 방향의 단면 형상은, 원형에 한정되는 것은 아니며, 비대칭 구조나 변형시킨 형상이어도 되고, 예를 들어, 단면 형상은, 원형, 타원계, 또는 다각형(예를 들어, 삼각형, 사각형, 오각형 등) 등의 다양한 형상이어도 되고, 바람직하게는, 도 8에 도시되는 원형의 단면 형

상이다.

[0689] 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 외경(비원형의 경우에는, 긴 직경 또는 최대 직경을 외경으로 간주한다)은 예를 들어, 약 0.1 내지 약 2000㎛, 약 0.2㎛ 내지 약 2000㎛, 약 1 내지 약 1000㎛, 약 2 내지 약 500㎛, 약 2 내지 약 200㎛ 등의 범위이다.

[0690] 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층의 직경은, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 2000㎛, 약 0.2㎛ 내지 약 2000㎛, 약 1 내지 약 1000㎛, 약 2 내지 약 500㎛, 약 2 내지 약 200㎛ 등의 범위이다. 코어층의 직경은, 파이버의 직경 미만이며 50% 이상인 것이 바람직하다.

[0691] 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 양이온성 폴리머층 (b)의 두께는, 전술한 「6. 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버」로 기재한 방법으로 구할 수 있다. 또한, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층 (e)의 두께는, 「(다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 외경-폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 외경)/2(도 8에서 e=(d-a)/2)」에 의해 구할 수 있다. 음이온성 폴리머층의 두께는, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 200㎛, 약 1 내지 약 200㎛, 약 5㎛ 내지 약 200㎛ 등이다.

[0692] 상기 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층의 직경, 외경, 양이온성 폴리머층의 내경, 음이온성 폴리머층의 내경의 값은, 예를 들어, 각 폴리머층에 형광 발색하는 폴리머를 사용하여 파이버를 제작하고, 위상차 광학 현미경에 의한 화상으로부터 계측하는 것이 가능하다. 당해 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 몇군데에 있어서의 계측값의 평균값으로서 나타내어진다. 상기 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층 및 폴리머층은, 통상적으로, 실질적으로 균일한 두께를 갖고 있고, 바람직하게는, 각 층은, ±10%의 범위 내의 두께 균일성을 갖는다.

[0693] 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 길이는, 특별히 한정은 되지 않지만, 예를 들어, 약 0.01 내지 약 100m이며, 또는 약 0.1 내지 약 75m이며, 또는 약 0.3 내지 약 50m이다.

[0694] 본 명세서 중, 몇 가지 양태의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층은, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함시킨, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액을 사용하여 형성할 수 있다. 그 경우, 식 (I) 또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도 범위는, 전술한 6. 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버에 기재된 것과 동일하다.

[0695] 본 명세서 중, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층의 형성에 사용하는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함시킨, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액에, 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 당해 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액의 농도와 알긴산 용액의 농도, 농도의 조합, 각 용액의 용량비는, 전술한 「6. 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버」에 기재된 것과 동일하다.

[0696] 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층을 제작할 때에 사용하는, 식 (I) 또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액, 알긴산 용액 등을 제조할 때에 사용하는 용매는, 전술한 「6. 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버」에 기재된 용매와 동일하다.

[0697] 9. 음이온성 폴리머

[0698] 다가 음이온이란, 1분자 중에 2개 이상의 음이온성기를 갖는 화합물을 말하며, 음이온성기란, 음이온기 또는 음이온 기로 유도될 수 있는 기를 말한다. 음이온성기로서는, 예를 들어, 카르복실기, 황산기 등의 산성 관능기를 들 수 있다.

[0699] 본 명세서 중, 음이온성 폴리머층이란, 양이온성 폴리머와의 정전적인 상호 작용에 의해 양이온성 폴리머층의 외측을 피복하는 층이다. 음이온성 폴리머층을 형성하는 음이온성 폴리머로서는, 양이온성 폴리머와의 정전적인 상호 작용에 의해 막을 형성할 수 있는 것이라면 특별히 제한되지 않지만, 예를 들어, 카르복실기 또는 황산기 등의 산성 관능기를 갖는 폴리머를 들 수 있다. 구체적으로는, 예를 들어, 알긴산, 폴리갈락투론산, 펙틴, 펙틴산, 카르복시메틸셀룰로오스, 카라기난, 히알루론산 및 콘드로이틴황산 등의 다당류, 폴리아크릴산 및 폴리스티렌술폰산 등의 합성 폴리머 등, 및 이들의 화학 수식체를 들 수 있고, 이들의 화학 가교체도 포함된다. 또한, 당해 음이온성 폴리머는, 양이온성 폴리머와의 정전적인 상호 작용에 의해 막을 형성할 수 있는 특성을 가지면 되고, 전체적으로 중성을 나타내는 폴리머여도 된다.

[0700] 본 명세서 중, 음이온성 폴리머는, 상기 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 양이온성 폴리머층을, 음이온성 폴리머층으로서 피복할 수 있고, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 형성할 수 있는(도 9를 참조) 물질

인 것이 바람직하다. 또한, 음이온성 폴리머는, 상기 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에서 산생된 항체, 생리 활성 물질 등이, 양이온성 폴리머층을 투과한 후, 당해 양이온성 폴리머층을 피복하고 있는 음이온성 폴리머층을 투과하여, 당해 파이버의 밖으로 방출할 수 있는 물질인 것이 바람직하다.

[0701] 본 명세서 중, 음이온성 폴리머층은, 예를 들어, 음이온성 다당류, 황산화 다당류, 합성 폴리머, 음이온성 폴리아미노산, 이들의 화학 수식체, 이들의 가교체, 이들의 혼합물, 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머이며, 구체적으로는, 예를 들어, 알긴산, 히알루론산, 폴리갈락투론산, 카라기난, 숙시노글루칸, 아라비아 고무, 크산탄검, 펙틴, 펙틴산, 카르복시메틸셀룰로오스, 한천 등의 음이온성 다당류, 이들의 화학 수식체, 이들의 가교체, 이들의 혼합물, 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머이다.

[0702] 본 명세서 중, 음이온성 폴리머층은, 예를 들어, 알긴산, 전술한 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 및/또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체로부터 형성되는 가교체, 및 이들의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머이며; 예를 들어, 콘드로이틴황산, 덱스트란황산, 헤파란황산, 데르마탄황산, 푸코이단, 케라탄황산, 또는 헤파린 등의 황산화 다당류, 이들의 화학 수식체, 이들의 가교체, 이들의 혼합물, 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머이며; 예를 들어, 아크릴산, 메타크릴산, 에틸아크릴산, 폴리스티렌술폰산 등의 합성 폴리머, 이들의 화학 수식체, 이들의 가교체, 이들의 혼합물, 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머이며; 예를 들어, 폴리글루탐산, 폴리아스파르트산 등의 음이온성 폴리아미노산, 이들의 화학 수식체, 이들의 가교체, 이들의 혼합물, 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머이다.

[0703] 본 명세서 중, 음이온성 폴리머층은, 바람직하게는, 알긴산, 전술한 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 및/또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체로부터 형성되는 가교체, 및 이들의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머이다.

[0704] 음이온성 폴리머를 포함하는 용액을 제조할 때의 용매는, 음이온성 폴리머를 용해할 수 있는 것이라면, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, 물(수돗물, 순수(예를 들어, 증류수, 이온 교환수, RO수, RO-EDI수, 등), 초순수(MilliQ수)), 무기염류의 수용액(인산 완충 생리 식염수(PBS), 생리 식염수 등) 등을 들 수 있고, 바람직하게는, 물 또는 생리 식염수가 사용된다. 단, 알긴산, 식 (I) 또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 음이온성 폴리머에 사용하는 경우에는, 겔화가 발생해버리는 다가(2가, 3가) 금속 이온을 포함하는 용액은 제외한다.

[0705] 본 명세서 중, 음이온성 폴리머의 중량 평균 분자량(Mw)은 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, 약 500 내지 약 5,000,000의 범위, 약 300,000 내지 약 2,000,000의 범위, 약 150,000 내지 약 2,500,000의 범위, 약 100,000 내지 약 3,000,000의 범위이다. 음이온성 폴리머의 중량 평균 분자량(Mw)은 겔 침투 크로마토그래피(GPC)에 의해 측정할 수 있다.

[0706] 본 명세서 중, 음이온성 폴리머에 알긴산을 사용하는 경우, 그의 중량 평균 분자량(Mw)은 예를 들어, 약 150,000Da 내지 약 2,500,000Da의 범위, 약 150,000Da 내지 약 800,000Da의 범위, 약 300,000Da 내지 약 700,000Da의 범위, 약 700,000Da 내지 약 1,400,000Da, 약 800,000Da 내지 약 1,500,000Da, 약 1,400,000 내지 약 2,000,000Da, 약 1,500,000 내지 약 2,500,000 등의 범위이다.

[0707] 본 명세서 중, 음이온성 폴리머에, 식 (I) 또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하는 경우, 그 중량 평균 분자량(Mw)은 예를 들어, 약 100,000 내지 약 3,000,000의 범위, 약 300,000Da 내지 약 2,500,000의 범위, 약 500,000 내지 약 2,000,000 등의 범위이다.

[0708] 음이온성 폴리머를 포함하는 용액의 농도는, 특별히 한정되지 않지만, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 양이온성 폴리머층의 표면을 균일하게 코팅할 수 있는 농도이면 되고, 예를 들어, 약 0.01 내지 약 5.0중량%, 약 0.05 내지 약 1.0중량%, 약 0.1 내지 약 0.5중량%, 약 0.15 내지 약 0.4중량%의 범위의 농도이다. 바람직하게는, 0.15중량%이다.

[0709] 음이온성 폴리머를 포함하는 용액에는, 2종류 이상의 음이온성 폴리머를 병용하는 것이 가능하다.

[0710] 본 명세서 중, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층의 형성에, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체가 포함되는 용액을 사용하는 경우, 그 용액의 농도는, 예를 들어, 약 0.01 내지 약 5.0중량%, 약 0.05 내지 약 1.0중량%, 약 0.1 내지 0.5중량%, 약 0.15 내지 약 0.4중량%의 범위의 농도이다. 또한, 예를 들어, 약 0.05 내지 약 0.15중량%, 약 0.075 내지 약 0.2중량%, 약 0.15 내지 약 0.4중량%의 범

위의 농도이다.

[0711] 본 명세서 중, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층의 형성에, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체가 포함되는 용액을 사용하는 경우, 그 용액의 농도는, 예를 들어, 약 0.01 내지 약 5.0중량%, 약 0.05 내지 약 1.0중량%, 약 0.1 내지 약 0.5중량%, 약 0.15 내지 약 0.4중량%의 범위의 농도이다. 또한, 예를 들어, 약 0.05 내지 약 0.15중량%, 약 0.075 내지 약 0.2중량%, 약 0.15 내지 약 0.4중량%의 범위의 농도이다.

[0712] 본 명세서 중, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층의 형성에 알긴산 용액을 사용하는 경우, 그 용액의 농도는, 예를 들어, 약 0.01 내지 약 5.0중량%, 약 0.05 내지 약 1.0중량%, 약 0.1 내지 약 0.5중량%, 약 0.15 내지 약 0.4중량%의 범위의 농도이다. 또한, 예를 들어, 약 0.05 내지 약 0.15중량%, 약 0.075 내지 약 0.2중량%, 약 0.15 내지 약 0.4중량%의 범위의 농도이다.

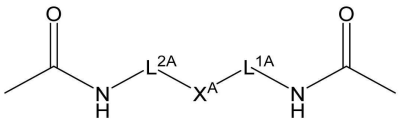
[0713] 본 명세서 중, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층의 형성에, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체가 포함되는 혼합 용액을 사용하는 경우, 그들의 혼합 용액의 농도는, 예를 들어, 약 0.01 내지 약 5.0중량%, 약 0.05 내지 약 1.0중량%, 약 0.1 내지 약 0.5중량%, 약 0.15 내지 약 0.4중량%의 범위의 농도이다. 바람직하게는, 0.15중량%이다.

[0714] 본 명세서 중, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층의 형성에, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체와 알긴산이 포함되는 혼합 용액을 사용하는 경우, 당해 혼합 용액의 농도는, 예를 들어, 약 0.01 내지 약 5.0중량%, 약 0.05 내지 약 1.0중량%, 약 0.1 내지 약 0.5중량%, 약 0.15 내지 약 0.4중량%의 범위의 농도이다. 바람직하게는, 0.15중량%이다.

[0715] 본 명세서 중, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층의 형성에, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체가 포함되는 혼합 용액을 사용하는 경우, 그 혼합 용액에 있어서의, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액과 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액 용량비(v1, v2)는 예를 들어, v1+v2=15의 비율이며, 예를 들어, (v1:v2)=(7.5:7.5)이다.

[0716] 본 명세서 중, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층의 형성에, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체와 알긴산이 포함되는 혼합 용액을 사용하는 경우, 그 혼합 용액에 있어서의, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액 및 알긴산 용액의 용량비(v1, v2, v3)는 예를 들어, $v1+v2+3v_3=15$의 비율이며, 예를 들어, (v1:v2:v3)=(5:5:5), (2.5:2.5:10), (1:1:13) 등의 조합이다.

[0717] 본 명세서 중, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층의 형성에, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체가 사용되는 경우, 코팅 후의 음이온성 폴리머층에 있어서, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체가 화학 가교를 형성하고 있는 경우도 있다. 당해 화학 가교는, 하기 식 (III-LA):




(III-LA)

[0718]

[0719] [식 (III-LA) 중, 양단의 -CONH- 및 -NHCO-는, 알긴산의 임의의 카르복실기를 통한 아미드 결합을 나타내고; $-L^{1A}-$, $-L^{2A}-$ 및 $-X^{A}-$은, 각각, 상기 양태 [1-12] 중의 대응하는 $-L^{1}-$, $-L^{2}-$ 및 -X-의 정의와 동일하다]로 표시되는 기이다.

[0720] 10. 코어층에 포함되는 세포

[0721] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 세포로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예를 들어, 항체(인간 항체, 인간화 항체, 키메라 항체, 마우스 항체 등의 각종 모노클로날 항체 또는 그들의 이중 특이적 항체, 저분자화 항체, 당쇄 개변 항체 등의 각종 개변형 항체) 산생 세포, 생리 활성 물질(효소, 사이토카인, 호르몬, 혈액 응고계 인자, 백신 등) 산생 세포, 의약품 원료, 화학 원료, 식품 원료 등으로서 유용한 각종 유용 물질을 산생할 수 있는 세포를 들 수 있다. 바람직하게는, 항체 산생 세포 또는 생리 활성 물질 산생 세포이다.

[0722] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 항체 산생 세포로서는, 항체를 산생하는 B 세포로부터 얻어진 하이브리도마(항체 산생 하이브리도마), 또는 항체 발현 벡터에 의해 형질 전환된 배양 세포(항체 산생 유전자 재조합 세포)를 들 수 있다.

[0723] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 생리 활성 물질 산생 세포로서는, 생리 활성 물질 발현 벡터에 의해 형질 전환된 배양 세포(생리 활성 물질 산생 유전자 재조합 세포)를 들 수 있다.

[0724] 이들 유전자 재조합의 숙주로서 사용되는 배양 세포는, 특별히 한정될 일은 없지만, 세균 혹은 효모 등의 미생물, 식물 세포, 곤충 세포 또는 동물 세포를 들 수 있다.

[0725] 숙주로서 사용되는 미생물로서는, 예를 들어, 대장균, 출아 효모, 분열 효모 또는 피키아 효모 등을 들 수 있고, 숙주로서 사용되는 곤충 세포로서는, 예를 들어, Sf9 세포, Sf21 세포 또는 High five 세포 등을 들 수 있다.

[0726] 숙주로서 사용되는 동물 세포로서는, 예를 들어, CHO 세포, CHO 세포 아주(CHO-K1 세포, CHO-DG44 세포, CHO-DXB11 세포, 또는 당쇄를 개변시키도록 형질 전환된 CHO 세포 등), COS 세포, Sp2/0 세포, NS0 세포, SP2 세포, PERC6 세포, YB2/0 세포, YE2/0 세포, 1R983F 세포, Namalwa 세포, Wil-2 세포, Jurkat 세포, Vero 세포, Molt-4 세포, HEK293 세포, BHK 세포, HT-1080 세포, KGH6 세포, P3X63Ag8.653 세포, C127 세포, JC 세포, LA7 세포, ZR-45-30 세포, hTERT 세포, NM2C5 세포, 또는 UACC-812 세포 등(이들 세포는, American Type Culture Collection으로부터 입수 가능한 ATCC 세포계 카탈로그에 기재되어 있는 것도 있다)로부터, 적절히 선택할 수 있다. 또한, 본 명세서에 있어서, 특별히 언급하지 않는 한, 「CHO 세포」라고 기재한 경우 「CHO 세포 아주」도 포함한 세포를 의미하고, 다른 세포에 있어서도 각각의 세포 아주를 포함한 세포를 의미한다.

[0727] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 봉입할 수 있는 항체 산생 세포로서는, 바람직하게는, 항체 발현 벡터에 의해 형질 전환된 동물 세포이며, 즉, 항체를 산생하는 유전자 재조합 동물 세포이다. 또한, 코어층에 봉입할 수 있는 생리 활성 물질 산생 세포로서는, 바람직하게는, 생리 활성 물질 발현 벡터에 의해 형질 전환된 동물 세포이며, 즉, 생리 활성 물질을 산생하는 유전자 재조합 동물 세포이다.

[0728] 그들이 숙주로서 사용되는 동물 세포로서는, 구체적으로는, CHO 세포, CHO 세포 아주, COS 세포, Sp2/0 세포, NS0 세포, SP2 세포, 또는 PERC6 세포, HEK293 세포, BHK 세포, HT-1080 세포, 또는 C127 세포이며; 보다 바람직하게는, CHO 세포, CHO 세포 아주, Sp2/0 세포 및 NS0 세포, HEK293 세포 및 BHK 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 세포이며; 더욱 바람직하게는, CHO 세포 또는 CHO 세포 아주이다. 또한, 어떤 양태에서는, 항체 산생 세포의 숙주 세포로서는, 바람직하게는, CHO 세포, CHO 세포 아주, Sp2/0 세포, 또는 NS0 세포이며; 보다 바람직하게는, CHO 세포 또는 CHO 세포 아주이다. 또한, 생리 활성 물질 산생 세포의 숙주 세포로서는, 바람직하게는, CHO 세포, CHO 세포 아주, HEK293 세포, 또는 BHK 세포이며; 보다 바람직하게는, CHO 세포 또는 CHO 세포 아주이다.

[0729] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함할 수 있는 항체 산생 세포로서는, 특별히 한정될 일은 없지만, 바이오 의약품 또는 바이오 의약품 원료로서 사용할 수 있는 항체를 산생하는 세포를 들 수 있다. 또한, 생리 활성 물질 산생 세포로서는, 특별히 한정될 일은 없지만, 바이오 의약품 또는 바이오 의약품 원료로서 사용할 수 있는 생리 활성 물질을 산생하는 세포를 들 수 있다.

[0730] 바이오 의약품으로서는, 예를 들어, 각종 암, 자기 면역 질환·염증성 질환, 안 질환, 혈액 질환, 뇌신경 질환, 유전성 희소 질환, 내분비 대사계 질환, 순환기 질환, 호흡기 질환, 소화기 질환, 피부 질환, 근·골 질환, 감염증 등의 각종 질환에 대한 의약품을 들 수 있다.

[0731] 바이오 의약품 중, 항체 의약품의 구체적인 표적으로서는, 특별히 한정될 일은 없지만, C5(보체), CD3, CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD38, CD52, CD79, IL-1β, IL-4R, IL-5, IL-6, IL-6R, IL-12, IL-17, IL-17R, IL-23, IFNAR, PCSK9, CGRP, CGRPR, GD2(강글리오시드), HER2, HER3, TROP2, BCMA, PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG-3, TIM-3, TIGIT, KIR, SLAMF7, RANKL, TNF-α, BLyS, EGFR, VEGF, VEGFR, FGF, 넥틴, 인테그린, EpCAM, CCR4, TfR, TF, FIXa, FX, GPVI, 스클레로스틴, 아밀로이드 β, IgE, 또는 각종 바이러스 등(이들 서브타입, 서브유닛, 단편도 포함한다)을 들 수 있고, 이들 표적에 대한 항체를 산생하는 세포를 코어층에 포함할 수 있다.

[0732] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함할 수 있는 항체 산생 세포로서는, 특별히 한정될 일은 없지만, 구체적으로는, 무로모납-CD3, 트라스투주맙, 리툭시맙, 팔리비주맙, 인플릭시맙, 바실릭시맙, 토실리주맙, 베바시주맙, 아달리무맙, 세툭시맙, 오말리주맙, 에쿨리주맙, 파니투무맙, 우스테키누맙, 골리무맙, 카나키누맙, 데노수맙, 오파투무맙, 페르투주맙, 나탈리주맙, 니볼루맙, 알렘투주맙, 세쿠키누맙, 라무시루맙, 이필리무맙, 에볼로쿠맙, 메폴리주맙, 알리로쿠맙, 익세키주맙, 브로달루맙, 엘로투주맙, 펨브롤리주맙, 사릴루맙, 베즐로톡수맙, 벨리무맙, 다라투무맙, 아벨루맙, 두필루맙, 아테졸리주맙, 에미시주맙, 구셀쿠맙, 두르발루맙, 베돌리주맙, 로모소주맙, 리산키주맙, 네시투무맙, 라불리주맙, 부로수맙, 이사툭시맙, 틸드라키주맙, 사트랄리주맙, 갈카네주맙, 디누툭시맙, 프레마네주맙, 에레누맙, 카시리비맙, 임데비맙, 아니프롤루맙, 소트로비맙, 오크렐리주맙, 낙시타맙, 아두카누맙, 타파시타맙, 마르게툭시맙, 간테네루맙, 티라골루맙, 크로발리맙, 네몰리주맙, 카투막소맙, 플라모타밥, 파리시맙, 겜투주맙, 이브리투모맙, 브렌툭시맙, 이노투주맙, 폴라투주맙, 엔포르투맙, 사시투주맙, 벨란타맙, 론카스툭시맙, 티소투맙, 다토포타맙, 파트리투맙 등의 항체를 산생하는 세포; 모가물리주맙, 벤랄리주맙, 오비누투주맙, 이네빌리주맙 등의 개변 당쇄를 갖는 항체를 산생하는 세포; 라니비주맙, 이다루시주맙, 블리나투모맙, 브롤루시주맙, 아브식시맙, 카플라시주맙, 세르톨리주맙 등의 항체 단편을 포함하는 저분자 항체를 산생하는 세포 등을 들 수 있다.

[0733] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함할 수 있는 항체 산생 세포로서는, 특별히 한정될 일은 없지만, 구체적으로는, 항체 산생 동물 세포를 들 수 있고, 바람직하게는, 항체 산생 CHO 세포, 항체 산생 Sp2/0 세포 또는 항체 산생 NS0 세포이며, 보다 바람직하게는, 항체 산생 CHO 세포이다.

[0734] 보다 구체적으로는, 상기 항체 산생 동물 세포로서는, 특별히 한정될 일은 없지만, 예를 들어, 무로모납-CD3 산생 CHO 세포, 트라스투주맙 산생 CHO 세포, 리툭시맙 산생 CHO 세포, 팔리비주맙 산생 NS0 세포, 팔리비주맙 산생 CHO 세포, 인플릭시맙 산생 Sp2/0 세포, 인플릭시맙 산생 CHO 세포, 바실릭시맙 산생 Sp2/0 세포, 바실릭시맙 산생 CHO 세포, 토실리주맙 산생 CHO 세포, 베바시주맙 산생 CHO 세포, 아달리무맙 산생 CHO 세포, 세툭시맙 산생 Sp2/0 세포, 세툭시맙 산생 CHO 세포, 오말리주맙 산생 CHO 세포, 에쿨리주맙 산생 NS0 세포, 에쿨리주맙 산생 CHO 세포, 파니투무맙 산생 CHO 세포, 우스테키누맙 산생 Sp2/0 세포, 우스테키누맙 산생 CHO 세포, 골리무맙 산생 Sp2/0 세포, 골리무맙 산생 CHO 세포, 카나키누맙 산생 Sp2/0 세포, 카나키누맙 산생 CHO 세포, 데노수맙 산생 CHO 세포, 오파투무맙 산생 NS0 세포, 오파투무맙 산생 CHO 세포, 페르투주맙 산생 CHO 세포, 나탈리주맙 산생 NS0 세포, 나탈리주맙 산생 CHO 세포, 니볼루맙 산생 CHO 세포, 알렘투주맙 산생 CHO 세포, 세쿠키누맙 산생 CHO 세포, 라무시루맙 산생 NS0 세포, 라무시루맙 산생 CHO 세포, 이필리무맙 산생 CHO 세포, 에볼로쿠맙 산생 CHO 세포, 메폴리주맙 산생 CHO 세포, 알리로쿠맙 산생 CHO 세포, 익세키주맙 산생 CHO 세포, 브로달루맙 산생 CHO 세포, 엘로투주맙 산생 NS0 세포, 엘로투주맙 산생 CHO 세포, 펨브롤리주맙 산생 CHO 세포, 사릴루맙 산생 CHO 세포, 베즐로톡수맙 산생 CHO 세포, 벨리무맙 산생 NS0 세포, 벨리무맙 산생 CHO 세포, 다라투무맙 산생 CHO 세포, 아벨루맙 산생 CHO 세포, 두필루맙 산생 CHO 세포, 아테졸리주맙 산생 CHO 세포, 에미시주맙 산생 CHO 세포, 구셀쿠맙 산생 CHO 세포, 두르발루맙 산생 CHO 세포, 베돌리주맙 산생 CHO 세포, 로모소주맙 산생 CHO 세포, 리산키주맙 산생 CHO 세포, 네시투무맙 산생 NS0 세포, 네시투무맙 산생 CHO 세포, 라불리주맙 산생 CHO 세포, 부로수맙 산생 CHO 세포, 이사툭시맙 산생 CHO 세포, 틸드라키주맙 산생 CHO 세포, 사트랄리주맙 산생 CHO 세포, 갈카네주맙 산생 CHO 세포, 디누툭시맙 산생 Sp2/0 세포, 디누툭시맙 산생 CHO 세포, 프레마네주맙 산생 CHO 세포, 에레누맙 산생 CHO 세포, 카시리비맙 산생 CHO 세포, 임데비맙 산생 CHO 세포, 아니프롤루맙 산생 NS0 세포, 아니프롤루맙 산생 CHO 세포, 소트로비맙 산생 CHO 세포, 오크렐리주맙 산생 CHO 세포, 낙시타맙 산생 CHO 세포, 아두카누맙 산생 CHO 세포, 타파시타맙 산생 CHO 세포, 마르게툭시맙 산생 CHO 세포, 겜투주맙 산생 NS0 세포, 겜투주맙 산생 CHO 세포, 이브리투모맙 산생 CHO 세포, 브렌툭시맙 산생 CHO 세포, 이노투주맙 산생 CHO 세포, 폴라투주맙 산생 CHO 세포, 엔포르투맙 산생 CHO 세포, 사시투주맙 산생 Sp2/0 세포, 사시투주맙 산생 CHO 세포, 벨란타맙 산생 CHO 세포, 론카스툭시맙 산생 CHO 세포, 티소투맙 산생 CHO 세포, 모가물리주맙 산생 CHO 세포, 벤랄리주맙 산생 CHO 세포, 오비누투주맙 산생 CHO 세포, 이네빌리주맙 산생 CHO 세포, 라니비주맙 산생 CHO 세포, 이다루시주맙 산생 CHO 세포, 블리나투모맙 산생 CHO 세포, 브롤루시주맙 산생 CHO 세포, 아브식시맙 산생 CHO 세포, 카플라시주맙 산생 CHO 세포, 세르톨리주맙 산생 CHO 세포, 항GPVI 항체 산생 CHO 세포 등을 들 수 있고;

[0735] 예를 들어, 상기 항체 산생 CHO 세포로서는, 무로모납-CD3 산생 CHO 세포, 트라스투주맙 산생 CHO 세포, 리툭시맙 산생 CHO 세포, 팔리비주맙 산생 CHO 세포, 인플릭시맙 산생 CHO 세포, 바실릭시맙 산생 CHO 세포, 토실리주

맙 산생 CHO 세포, 겜투주맙 산생 CHO 세포, 베바시주맙 산생 CHO 세포, 이브리투모맙 산생 CHO 세포, 아달리무맙 산생 CHO 세포, 세툭시맙 산생 CHO 세포, 라니비주맙 산생 CHO 세포, 오말리주맙 산생 CHO 세포, 에쿨리주맙 산생 CHO 세포, 파니투무맙 산생 CHO 세포, 우스테키누맙 산생 CHO 세포, 골리무맙 산생 CHO 세포, 카나키누맙 산생 CHO 세포, 데노수맙 산생 CHO 세포, 모가물리주맙 산생 CHO 세포, 세르톨리주맙 산생 CHO 세포, 오파투무맙 산생 CHO 세포, 페르투주맙 산생 CHO 세포, 브렌툭시맙 산생 CHO 세포, 나탈리주맙 산생 CHO 세포, 니볼루맙 산생 CHO 세포, 알렘투주맙 산생 CHO 세포, 세쿠키누맙 산생 CHO 세포, 라무시루맙 산생 CHO 세포, 이필리무맙 산생 CHO 세포, 에볼로쿠맙 산생 CHO 세포, 메폴리주맙 산생 CHO 세포, 알리로쿠맙 산생 CHO 세포, 익세키주맙 산생 CHO 세포, 브로달루맙 산생 CHO 세포, 이다루시주맙 산생 CHO 세포, 엘로투주맙 산생 CHO 세포, 퀨브롤리주맙 산생 CHO 세포, 사릴루맙 산생 CHO 세포, 베즐로톡수맙 산생 CHO 세포, 벨리무맙 산생 CHO 세포, 다라투무맙 산생 CHO 세포, 아벨루맙 산생 CHO 세포, 두필루맙 산생 CHO 세포, 아테졸리주맙 산생 CHO 세포, 벤랄리주맙 산생 CHO 세포, 이노투주맙 산생 CHO 세포, 에미시주맙 산생 CHO 세포, 구셀쿠맙 산생 CHO 세포, 두르발루맙 산생 CHO 세포, 오비누투주맙 산생 CHO 세포, 베돌리주맙 산생 CHO 세포, 로모소주맙 산생 CHO 세포, 리산키주맙 산생 CHO 세포, 네시투무맙 산생 CHO 세포, 라불리주맙 산생 CHO 세포, 부로수맙 산생 CHO 세포, 이사툭시맙 산생 CHO 세포, 틸드라키주맙 산생 CHO 세포, 사트랄리주맙 산생 CHO 세포, 갈카네주맙 산생 CHO 세포, 디누툭시맙 산생 CHO 세포, 프레마네주맙 산생 CHO 세포, 에레누맙 산생 CHO 세포, 카시리비맙 산생 CHO 세포, 임데비맙 산생 CHO 세포, 아니프롤루맙 산생 CHO 세포, 소트로비맙 산생 CHO 세포, 오크렐리주맙 산생 CHO 세포, 낙시타맙 산생 CHO 세포, 아두카누맙 산생 CHO 세포, 타파시타맙 산생 CHO 세포, 마르게툭시맙 산생 CHO 세포, 폴라투주맙 산생 CHO 세포, 엔포르투맙 산생 CHO 세포, 사시투주맙 산생 CHO 세포, 벨란타맙 산생 CHO 세포, 론카스툭시맙 산생 CHO 세포, 티소투맙 산생 CHO 세포, 이네빌리주맙 산생 CHO 세포, 블리나투모맙 산생 CHO 세포, 브롤루시주맙 산생 CHO 세포, 아브식시맙 산생 CHO 세포, 카플라시주맙 산생 CHO 세포, 항GPVI 항체 산생 CHO 세포 등을 들 수 있고;

[0736] 예를 들어, 트라스투주맙 산생 CHO 세포, 리툭시맙 산생 CHO 세포, 인플릭시맙 산생 CHO 세포, 토실리주맙 산생 CHO 세포, 아달리무맙 산생 CHO 세포, 니볼루맙 산생 CHO 세포 및 항GPVI 항체 산생 CHO 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 CHO 세포이며; 예를 들어, 토실리주맙 산생 CHO 세포이다.

[0737] 이와 같이 하여 산생한 항체를, 산생 후에 수식이나 개변할 수도 있고, 구체적으로는, PEG화, 약물의 결합 수식, 방사 표지 등을 들 수 있다. 즉, PEG화 항체나 항체 약물 복합체 등의 수식 항체의 생산에 있어서, 원료가 되는 항체의 산생에 사용하는 세포(원료 항체 산생 세포)를 코어층에 봉입할 수 있는 세포로서 들 수 있다. 당해 원료 항체 산생 세포로서는, 특별히 제한되지 않지만, PEG화 항체의 원료 항체 산생 세포로서는, 예를 들어, 세르톨리주맙 페골의 원료 항체 단편을 산생하는 세포, 구체적으로는, 세르톨리주맙 산생 CHO 세포 등을 들 수 있고; 항체 약물 복합체의 원료 항체 산생 세포로서는, 예를 들어, 겜투주맙 오조가마이신, 이브리투모맙 티욱세탄, 트라스투주맙 엠탄신, 트라스투주맙 데룩스테칸, 브렌툭시맙 베도틴, 이노투주맙 오조가마이신, 세툭시맙 사로탈로칸나트륨, 폴라투주맙 베도틴, 엔포르투맙 베도틴, 사시투주맙 고비테칸, 벨란타맙 마포도틴, 론카스툭시맙 테실린, 티소투맙 베도틴, 다토포타맙 데룩스테칸, 파트리투맙 데룩스테칸 등의 원료 항체를 산생하는 세포를 들 수 있고, 구체적으로는, 겜투주맙 산생 NS0 세포, 이브리투모맙 산생 CHO 세포, 트라스투주맙 산생 CHO 세포, 브렌툭시맙 산생 CHO 세포, 이노투주맙 산생 CHO 세포, 세툭시맙 산생 Sp2/0 세포, 폴라투주맙 산생 CHO 세포, 엔포르투맙 산생 CHO 세포, 사시투주맙 산생 Sp2/0 세포, 벨란타맙 산생 CHO 세포, 론카스툭시맙 산생 CHO 세포, 티소투맙 산생 CHO 세포 등을 들 수 있다.

[0738] 또한, 항체 또는 항체 단편과 다른 단백질 또는 펩티드의 융합 단백질을 산생하는 세포를, 코어층에 포함할 수도 있고, 예를 들어, 파비나푸스프 알파 산생 CHO 세포, 빈트라푸스프 알파 산생 CHO 세포 등을 들 수 있다.

[0739] 「항체」에 대해서는, 「14. 항체의 분류」 및 「15. 항체·생리 활성 물질의 산생 및 정제법」에서 상세하게 설명한다.

[0740] 본 명세서 중, 생리 활성 물질이란, 생물에 대하여 생리 작용이나 약리 작용을 발현하는 물질 및 화합물군을 의미한다. 생물에 대하여 생리 작용이나 약리 작용을 발현하는 물질 및 화합물군으로서는, 예를 들어, 효소, 인슐린, 알칼로이드, 사이토카인(인터페론, 인터류킨, 케모카인, 종양 괴사 인자 등), 식물 호르몬, 신경 전달 물질, 페로몬, 호르몬(동물 호르몬), 성장 인자, 성장 조절 인자, 성장 저해 인자, 활성화 인자, 조혈 인자, 혈액 응고계 인자, 백신(약독화 백신, 불활성화 백신, 단백 백신 등) 등을 들 수 있다.

[0741] 또한, 이들 물질의 수용체, 세포 표면 항원, 세포 표면 수용체 및 그들의 리간드도, 생리 작용이나 약리 작용을 발현하는 물질이며, 생리 활성 물질에 포함된다. 또한, 생체가 원래 갖는 생리 활성 물질에 추가로, 생리 활성

물질을 수식이나 개변한 물질, 생리 활성을 활성화 또는 저해하는 물질, 복수의 생리 활성 물질 또는 그의 일부 영역이나 단편을 조합시킨 융합 단백질도, 생리 작용이나 약리 작용을 발현하는 물질인 한은, 생리 활성 물질에 포함되고, 본 명세서에 있어서는, 이들도 포함하여 생리 활성 물질이라고 칭한다. 본 명세서 중, 생리 활성 물질로서는, 바람직하게는 단백성의 생리 활성 물질, 즉 단백질 또는 펩티드를 포함하는 생리 활성 물질이다.

[0742] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함할 수 있는 생리 활성 물질 산생 세포로서는, 특별히 한정될 일은 없지만, 전술한 바와 같이, 바이오 의약품 또는 바이오 의약품 원료로서 사용할 수 있는 생리 활성 물질을 산생하는 세포를 들 수 있다.

[0743] 바이오 의약품으로서 사용되는 생리 활성 물질로서는, 특별히 한정될 일은 없지만, 예를 들어, t-PA, 글루코세레브로시다아제, 갈락토시다아제, 히알루로니다아제, 이두로니다아제, 글루코시다아제, 술파타아제, 요산옥시다아제, DNA 분해 효소, 아데노신데아미나아제, 트리펩티딜펩티다아제, 히알루로니다아제, 페닐알라닌암모니아리아제, 알칼리포스파타아제 등의 효소; FVIIa, FVIII, FIX, FXIII, 트롬보모듈린, 안티트롬빈, 알부민 등의 혈액 응고계 인자 및 혈액 관련 단백; 인슐린, 성장 호르몬, 이뇨 펩티드, 성선 자극 호르몬, GLP-1, GLP-2, 부갑상선 호르몬, 렙틴 등의 호르몬; IFN-α, IFN-β, IFN-γ 등의 인터페론; 에리트로포이에틴, 트롬보포이에틴 등의 조혈 인자; G-CSF, IL-2, IL-10, IL-2R, IL-4R, IL-5R, IL-6R, IL-17R, TNFR, EGF, EGFR, FGF, VEGF, VEGFR, PDGF, PDGFR, TGF-β 등의 사이토카인 및 그들의 수용체; CTLA-4 등의 세포 표면 항원, 세포 표면 수용체 및 그들의 리간드; B형 간염 바이러스 유래 항원, 파필로마바이러스 유래 항원, 수두 대상 포진 바이러스 유래 항원, SARS-CoV-2 유래 항원 등의 백신용 단백·펩티드 등을 들 수 있고, 이들 서브타입, 서브유닛, 활성 단편도 들 수 있고, 이들 생리 활성 물질을 산생하는 세포를 코어층에 포함할 수 있다.

[0744] 본 명세서 중, 생리 활성 물질로서는 구조 개변된 물질도 포함하는데, 예를 들어, 물질의 활성을 변화시키는 아미노산 서열의 개변을 첨가한 물질을 들 수 있고, 구체적으로는, 인슐린 아날로그, GLP-1 아날로그, 에리트로포이에틴 아날로그 등을 들 수 있다. 또한, 본래의 물질의 일부 영역이나 단편의 아미노산 서열을 포함하는 물질도 포함되고, 그들의 일부 영역이나 단편의 아미노산 서열을 복수 서열 조합한 물질이어도 되며; 구체적으로는, 인슐린 아날로그, FVIII 아날로그, 부갑상선 호르몬 아날로그 등을 들 수 있다. 또한, 2종류 이상의 물질이나 그의 일부 영역이나 단편을 조합시킨 융합 단백질도 포함되고, 예를 들어, 효소와 항체의 융합 단백질, 사이토카인 수용체와 항체 Fc 부분의 융합 단백질, 세포 표면 항원 세포외 도메인과 항체 Fc 부분의 융합 단백질, 혈액 응고계 인자와 항체 Fc 부분의 융합 단백질, 혈액 응고계 인자와 혈장 단백의 융합 단백질 등을 들 수 있다. 이들 구조 개변된 생리 활성 물질을 산생하는 세포를 코어층에 포함할 수 있다.

[0745] 이와 같이 하여 산생한 생리 활성 물질을, 산생 후에 수식이나 개변할 수도 있고, 구체적으로는, PEG화, 당쇄 수식, 약물의 결합 수식, 방사 표지 등을 들 수 있다. 즉, PEG화 단백질, 지방산 부가 펩티드 등의 수식 단백질·펩티드의 생산에 있어서, 원료가 되는 단백질·펩티드의 생산에 사용할 수 있고, 구체적으로는, PEG화 FVIII, PEG화 에리트로포이에틴, 지방산 부가 인슐린 아날로그 등의 원료 단백질·펩티드를 산생하는 세포를 들 수 있고, 이들 원료가 되는 생리 활성 물질을 산생하는 세포(원료 생리 활성 물질 산생 세포)를 코어층에 포함할 수 있다.

[0746] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함할 수 있는 생리 활성 물질 산생 세포로서는, 특별히 한정될 일은 없지만, 구체적으로는, 알테플라아제, 몬테플라아제, 이미글루세라아제, 벨라글루세라아제, 아갈시다아제, 라로니다아제, 알글루코시다아제, 아발글루코시다아제, 이두술파아제, 갈술파아제, 엘로술파아제, 라스부리카아제, 도르나아제, 세르리포나아제, 글루카르피다아제, 히알루로니다아제, 아스포타아제 등의 효소를 산생하는 세포; 엡타코그, 옥토코그, 루리옥토코그, 투록토코그, 로녹토코그, 다목토코그, 시목토코그, 노나코그, 알부트레페노나코그, 카트리데카코그, 에프랄록토코그, 에프트레노나코그, 트롬보모듈린, 안티트롬빈, 보니코그, 알부민 등의 혈액 응고계 인자 및 혈액 관련 단백을 산생하는 세포; 인슐린, 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 인슐린 글라진, 인슐린 데테미르, 글루리신, 데굴데크, 소마트로핀, 소마파시탄, 메카세르민, 카르페리티드, 보소리티드, 글루카곤, 폴리트로핀, 코리오고나도트로핀, 둘라글루티드, 리라글루티드, 세마글루티드, 테두글루티드, 테리파라티드, 메트렐렙틴 등의 호르몬을 산생하는 세포; 인터페론알파-2a, 인터페론알파-2b, 인터페론베타-1a, 인터페론베타-1b, 인터페론감마-1a 등의 인터페론을 산생하는 세포; 에포에틴, 다르베포에틴, 로미플로스팀 등의 조혈 인자를 산생하는 세포; 필그라스팀, 레노그라스팀, 테세류킨, 트라페르민, 베르페르민, 에타네르셉트, 아플리베르셉트, 데닐류킨 디프티톡스 등의 사이토카인 및 그들의 수용체를 산생하는 세포; 아바타셉트 등의 세포 표면 항원, 세포 표면 수용체 및 그들의 리간드를 산생하는 세포를 들 수 있고; 이들의 서브타입, 서브유닛, 활성 단편을 산생하는 세포도 들 수 있

다.

[0747] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 및 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함할 수 있는 생리 활성 물질 산생 세포로서는, 특별히 한정될 일은 없지만, 구체적으로는, 생리 활성 물질 산생 동물 세포를 들 수 있고, 바람직하게는, 생리 활성 물질 산생 CHO 세포, 생리 활성 물질 산생 HEK293 세포 또는 생리 활성 물질 산생 BHK 세포이며, 보다 바람직하게는, 생리 활성 물질 산생 CHO 세포이다.

[0748] 보다 구체적으로는, 상기 생리 활성 물질 산생 동물 세포로서는, 특별히 한정될 일은 없지만, 예를 들어, 알테플라아제 산생 CHO 세포, 이미글루세라아제 산생 CHO 세포, 아갈시다아제 산생 CHO 세포, 라로니다아제 산생 CHO 세포, 알글루코시다아제 산생 CHO 세포, 아발글루코시다아제 산생 CHO 세포, 이두술파아제 산생 CHO 세포, 갈술파아제 산생 CHO 세포, 엘로술파아제 산생 CHO 세포, 도르나아제 산생 CHO 세포, 세르리포나아제 산생 CHO 세포, 히알루로니다아제 산생 CHO 세포, 아스포타아제 산생 CHO 세포, 루리옥토코그 산생 CHO 세포, 투록토코그 산생 CHO 세포, 로녹토코그 산생 CHO 세포, 노나코그 산생 CHO 세포, 알부트레페노나코그 산생 CHO 세포, 트롬보모듈린 산생 CHO 세포, 안티트롬빈 산생 CHO 세포, 보니코그 산생 CHO 세포, 폴리트로핀 산생 CHO 세포, 코리오고나도트로핀 산생 CHO 세포, 둘라글루티드 산생 CHO 세포, 인터페론베타-1a 산생 CHO 세포, 에포에틴 산생 CHO 세포, 다르베포에틴 산생 CHO 세포, 레노그라스팀 산생 CHO 세포, 에타네르셉트 산생 CHO 세포, 아플리베르셉트 산생 CHO 세포, 아바타셉트 산생 CHO 세포 등의 생리 활성 물질 산생 CHO 세포; 시목토코그 산생 HEK293 세포, 에프랄록토코그 산생 HEK293 세포, 에프트레노나코그 산생 HEK293 세포 등의 생리 활성 물질 산생 HEK293 세포; 몬테플라아제 산생 BHK 세포,엡타코그 산생 BHK 세포, 옥토코그 산생 BHK 세포, 다목토코그 산생 BHK 세포 등의 생리 활성 물질 산생 BHK 세포; 벨라글루세라아제 산생 HT-1080 세포, 아갈시다아제 산생 HT-1080 세포, 이두술파아제 산생 HT-1080 세포 등의 생리 활성 물질 산생 HT-1080 세포; 폴리트로핀 산생 PERC6 세포 등의 생리 활성 물질 산생 PERC6 세포 등을 들 수 있고;

[0749] 예를 들어, 상기 생리 활성 물질 산생 CHO 세포로서는, 알테플라아제 산생 CHO 세포, 알글루코시다아제 산생 CHO 세포, 루리옥토코그 산생 CHO 세포, 둘라글루티드 산생 CHO 세포, 인터페론베타-1a 산생 CHO 세포, 다르베포에틴 산생 CHO 세포, 에타네르셉트 산생 CHO 세포, 아플리베르셉트 산생 CHO 세포 및 아바타셉트 산생 CHO 세포 등을 들 수 있다.

[0750] 또한, 여기에 든 생리 활성 물질은, 전술한 바와 같이 산생 후에 수식이나 개변을 더하여진 물질명을 기재하고 있는 경우가 있는데, 그들은 그의 원료가 되는 생리 활성 물질을 산생하는 세포를 코어층에 포함할 수 있다. 예를 들어, 엘라페가데마아제, 페그발리아제, 루리옥토코구 알파 페골, 투록토코그 알파 페골, 다목토코그 알파 페골, 노나코그 베타 페골, 페그비소만트, 페그인터페론 알파-2a, 페그인터페론 알파-2b, 에포에틴 베타 페골, 페그필그라스팀, 페그벨페르민 등의 PEG화된 생리 활성 물질에 있어서는, 그들의 원료가 되는 생리 활성 물질을 산생하는 세포를 코어층에 포함할 수 있다.

[0751] 생리 활성 물질을 산생할 수 있는 세포로서는, 전술한 생리 활성 물질 산생 유전자 재조합 세포에 추가로, 천연의 세포나, 인공적인 개변 조작을 실시된 세포도 포함되고, 복수개의 세포를 포함하는 세포괴도 포함되고, 예를 들어, 인슐린 분비 세포, 췌장섬, 췌장섬 세포, 도파민 분비 세포, 뇌하수체 세포, 성장 호르몬 분비 세포, 부갑상선 세포, 신경 성장 인자 분비 세포, 혈액 응고 인자 분비 세포, 간세포, 상피 소체 세포, 에리트로포이에틴 분비 세포, 노르에피네프린 분비 세포 등을 들 수 있다. 본 명세서 중, 생리 활성 물질을 산생하는 세포로서는, 어떤 양태에 있어서는, 인슐린 분비 세포, 췌장섬 또는 췌장섬 세포, 또는 췌장 β 세포 유래의 MIN6 세포이다.

[0752] 「인슐린 분비 세포」란, 인슐린을 분비하는 기능을 갖는 세포를 의미하고, 예를 들어, 췌장섬을 구성하는 세포에 있어서는, 인슐린을 분비하는 β 세포를 의미한다. 또한, 「인슐린 분비 세포」는, 분화, 성숙이나 개변 등에 의해 인슐린 분비 기능을 갖도록 된 세포여도 되고, 예를 들어, iPS 세포, ES 세포, 또는 체성 줄기 세포(예를 들어, 간엽계 줄기 세포) 등의 줄기 세포를 분화되게 하여 얻어진 인슐린 분비 기능을 갖는 세포, 유약 세포나 전구 세포를 성숙시켜서 얻어진 인슐린 분비 기능을 갖는 세포 및 유전자 재조합에 의해 인슐린 분비 기능을 부여된 세포도 포함할 수 있다. 여기서, 당해 세포를 분화나 성숙시키는 것에는, 당해 세포를 배양시키는 것이 포함되고, 즉, 분화 또는 성숙시켜서 얻어진 세포란, 배양되어서 얻어진 세포를 포함할 수 있다.

[0753] 「췌장섬」이란, 별명 랑게르한스섬이라고도 불리는, 평균 약 2000개의 췌장섬 세포로부터 구성되는 세포괴이다. 췌장섬은, 글루카곤을 분비하는 α 세포, 인슐린을 분비하는 β 세포, 소마토스타틴을 분비하는 δ 세포, 그렐린을 분비하는 ε 세포 및 췌장 폴리펩티드를 분비하는 PP(pancreatic polypeptide; 췌장 폴리펩티드) 세포의 5종의 세포로 구성된다.

[0754] 본 명세서에 있어서, 「췌장섬 세포」란, 상기 췌장섬을 구성하는 5종류의 세포 중 적어도 1종류의 세포를 포함하는 것이면 되지만, 적어도 β 세포를 포함하는 것이 바람직하다. 몇 가지 양태에서는, 췌장섬 세포로서는, α 세포, β 세포, δ 세포, ε 세포 및 PP 세포의 모두를 포함하는 혼합물이어도 되고, 췌장섬에 포함된 상태의 것이어도 된다.

[0755] 또한, 「췌장섬 세포」는, 분화, 성숙이나 개변 등에 의해 췌장섬 세포가 된 것이어도 된다. 이 경우, 「췌장섬 세포」에는, 예를 들어, iPS 세포, ES 세포 및 체성 줄기 세포(예를 들어, 간엽계 줄기 세포) 등의 줄기 세포를 분화시켜서 얻어진 췌장섬 세포 및 유약 세포나 전구 세포를 성숙시켜서 얻어진 췌장섬 세포도 포함할 수 있다.

[0756] 「인슐린 분비 세포」 또는 「췌장섬(췌장섬 세포를 포함한다)」으로서는, 이식 용도로서 사용하는 경우에는, 환자에게 이식한 때에, 환자의 병적 상태를 회복할 수 있을 정도의 생존성과 기능을 갖는 것이 바람직하다. 인슐린 분비 세포, 췌장섬 또는 췌장섬 세포의 기능으로서는, 예를 들어, 인슐린을 분비하는 것을 들 수 있고, 이식 후에 있어서도 글루코오스 응답성이 유지되고 있는 것이 바람직하다.

[0757] 「인슐린 분비 세포」, 「췌장섬」 또는 「췌장섬 세포」의 도너는, 동물, 바람직하게는 척추동물, 보다 바람직하게는 포유류이며, 구체적으로는 인간, 돼지, 원숭이, 래트 또는 마우스 등을 들 수 있고, 더욱 바람직하게는 인간 또는 돼지이다. 「인슐린 분비 세포」, 「췌장섬」 또는 「췌장섬 세포」의 도너는, 몇 가지 양태에서는, 도너 부족 해소의 관점에서 돼지이다. 「인슐린 분비 세포」, 「췌장섬」 또는 「췌장섬 세포」로서는, 도너인 동물로부터 얻어진 췌장섬 또는 췌장섬 세포, 혹은 도너 유래 세포로부터 얻어진 인슐린 분비 세포 또는 췌장섬 세포의 어느 것이어도 되고, 예를 들어, 인간 유래의 ES 세포 또는 iPS 세포로부터 분화된 인슐린 분비 세포 또는 췌장섬 세포여도 된다.

[0758] 「인슐린 분비 세포」, 「췌장섬」 또는 「췌장섬 세포」가 돼지 유래일 경우에는, 성체의 돼지 췌장섬, 또는, 태생기, 신생아기, 혹은 주산기의 돼지 췌장섬, 또는 당해 췌장섬으로부터 얻어진 인슐린 분비 세포 혹은 췌장섬 세포를 들 수 있다. 당해 췌장섬은 적절히 배양하고 나서 사용하게 해도 되고, 태생기, 신생아기, 혹은 주산기의 돼지 췌장섬을 성숙시킨 췌장섬을 사용해도 된다.

[0759] 혈액 응고 인자 분비 세포로서는, 예를 들어, 제VIII 인자 분비 세포 및 제IX 인자 분비 세포를 들 수 있다.

[0760] 11. 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법

[0761] 여기에서는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하고, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 형성되는 가교 알긴산 겔(코어층)이 양이온성 폴리머(양이온성 폴리머층)로 피복된, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법이 제공된다. 예를 들어, 도 3에 도시되는 장치(XX)를 사용하는 것을 포함하는 당해 파이버의 제조 방법이 제공된다.

[0762] 이하에, 상기 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법에 대하여 설명한다.

[0763] 상기 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법은, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, 도 3에 도시되는 장치(XX)를 사용하여 행한다. 여기에서의 장치(XX)는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 제작하는 데 바람직하게 사용되는 장치이다.

[0764] 장치(XX)는, 예를 들어, 도 3에 도시된 바와 같이, 도입구를 1개, 배출구를 1개 구비하는 미세 유로를 만드는 것이 가능한 장치이며, 도입구로부터 용액을 도입하고, 적당한 속도로 흘림으로써, 배출구로부터 용액이 파이버상(섬유상)이 되어 배출된다.

[0765] 장치(XX)는, 예를 들어, 도 3에 도시되는 압출통(YY) 등을 사용하여, 장치(XX)의 도입구로부터 도입한, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액을, 압출함으로써 장치(XX)의 배출구로부터, 당해 혼합 용액을 사출할 수 있다.

[0766] 장치(XX)와 압출통(YY)을 구비하는 것으로서, 예를 들어, 주사통을 사용할 수 있다. 주사통의 경우, 장치(XX)가 외통이 되고, 장치(XX)에 도입된 용액을 배출구로부터 압출하기 위한 압출통(YY)이 내통이 된다. 주사통을 사용하는 경우, 유리제 또는 플라스틱제의 주사통을 사용할 수 있다.

[0767] 도 3에 도시한 바와 같이, 장치(XX)의 배출구(2)로부터 배출되는 파이버상 물질을 받는 용기로서, 2가 금속 이온을 포함하는 용액을 포함하는 비이커 등의 용기(DD)가 사용된다. 또한, 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)의 표면을, 양이온성 폴리머로 피복하기 위한 용기로서, 양이온성 폴리머를 포함하는 용액을 포함하는 비이커 등의 용

기(EE)가 사용된다.

[0768] 도 3은, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 과정의 하나의 양태를 설명하는 모식도이다. 일례로서, 세포(항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포)를 포함하고, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액을 사용하는 제작 방법에 대하여 설명한다.

[0769] 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 예를 들어 하기 공정 (S) 내지 (2)를 포함하는 방법에 의해 제조할 수 있다.

[0770] 공정 (S): 장치(XX)의 도입구(1)로부터, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액을 도입하는 공정,

[0771] 공정 (1): 장치(XX)의 배출구(2)로부터, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체가 포함되는 혼합 용액을, 2가 금속 이온을 포함하는 용액 중에 사출하여, 2가 금속 이온에 접촉시켜, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를 얻는 공정,

[0772] 공정 (2): 공정 (1)에서 얻어진 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를, 양이온성 폴리머를 포함하는 용액에 접촉시킴으로써, 양이온성 폴리머층으로 피복하여 형성되는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)를 얻는 공정.

[0773] 공정 (S)에서는, 전술한 코어층에 포함되는 세포에서 설명되는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 용액에 현탁 또는 용해시킨다. 이때, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 이외에, 알긴산 용액, 배지, 배양액, 콜라겐 용액, 메틸셀룰로오스, 수크로오스 용액 등의 성분을 첨가하는 것도 가능하다.

[0774] 공정 (1)에서는, 공정 (S)에서 조제한 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액(또는 현탁액)을 2가 금속 이온을 포함하는 용액에 천천히 방출함으로써, 방출된 용액이 순차적으로 겔화해 가는 것에 의해, 파이버상(섬유상)의 구조물을 제조할 수 있다. 2가 금속 이온을 포함하는 용액과 접촉시킴으로써, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 간에 이온 가교가 진행하는 것과 동시에 Huisgen 반응에 의한 화학 가교도 진행하여, 겔을 제작할 수 있다.

[0775] 공정 (2)에서는, 공정 (1)에서 얻어진 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버를, 양이온성 폴리머를 포함하는 용액에 접촉시킴으로써, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 가교 알긴산 겔 파이버의 표면이 양이온성 폴리머층으로 피복된다.

[0776] 상기 (S) 내지 (2)의 공정을 행함으로써, 본 발명의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)를 제조할 수 있다.

[0777] 본 명세서에 있어서, 「접촉」이란, 어떤 용액(예를 들어, 화학 수식 알긴산 유도체의 용액) 또는 겔(예를 들어, 가교 알긴산 겔)을 다른 용액(예를 들어, 2가 금속 이온을 포함하는 용액, 양이온성 폴리머를 포함하는 용액, 음이온성 폴리머를 포함하는 용액)에 침지 또는 첨가하는 것 등을 의미한다.

[0778] 장치(XX)의 배출구(2)로부터 사출되는 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액의 유속(사출 속도)은 예를 들어, 약 100 내지 약 10000μL/분 정도여도 된다. 예를 들어, 항GPVI 항체 산생 CHO 세포 또는 토실리주맙 산생 CHO 세포를 코어층에 포함하는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 제작하는 경우의 유속은, 예를 들어, 250μL/분, 4mL/분, 10mL/분 등이며, MIN6 세포를 코어층에 포함하는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 제작하는 경우의 유속은, 예를 들어, 125μL/분이다. 유속(사출 속도)은 시린지 펌프 등을 사용하여 조정하는 것이 가능하고, 여러 가지 사이즈의 파이버를 제조하는 것이 가능해진다. 또한, 장치(XX)의 배출구(2)의 크기(직경)를 변화시킴으로써, 코어층의 직경을 조정할 수 있었던 파이버를 제조하는 것도 가능하게 된다.

[0779] 장치(XX)의 배출구(2)에는, 루어 로크용 니들(금속제 등의 재질), 실리콘 튜브, 유리 모세관 등을 적절히 조합하여 접속하고, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액을 2가 금속 이온을 포함하는 용액에 방출할 수 있다.

[0780] 장치(XX)의 도입구(1)로부터 도입되는 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식

(II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액은, 예를 들어, 상기 양태 [1]에 기재된 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여, 용매(예를 들어, 배지, 세포 배양용 배지, 배양액, 등장 완충액, 인산 완충 생리 식염수 및 생리 식염수 등 등)를 첨가하고, 소정의 농도(예를 들어, 각 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도가 약 0.01 내지 약 1.5중량%, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액의 농도가 약 0.02 내지 약 2.0중량%)의 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 혼합 용액을 조제한다.

[0781] 장치(XX)의 도입구(1)로부터 도입되는 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 당해 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액의 농도와 알긴산 용액의 농도의 총 농도는, 예를 들어, 약 0.5 내지 약 2.0중량%의 범위로 조제된다.

[0782] 장치(XX)의 도입구(1)로부터 도입되는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 당해 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액의 농도(C1(중량%))와 알긴산 용액의 농도(C2(중량%))의 조합은, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, (C1:C2)=(약 0.2:약 1.3), (약 0.5:약 1.0), (약 1.0:약 0.5), (약 1.5:0), (약 0.66:약 1.34), (약 0.34:약 0.66), (약 0.16:약 0.34) 등의 조합을 들 수 있다. 이들 농도 이외에도, C1 및 C2의 농도를 적절히 조합하여 조제할 수 있다.

[0783] 장치(XX)의 도입구(1)로부터 도입되는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 당해 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도(C1A(중량%)), 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 농도(C1N(중량%)) 및 알긴산 용액의 농도(C2(중량%))의 조합은, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, (C1A:C1N:C2)=(약 0.1:약 0.1:약 1.3), (약 0.25:약 0.25:약 1.0), (약 0.5:약 0.5:약 0.5), (약 0.75:약 0.75:0), (약 0.33:약 0.33:약 1.34), (약 0.17:약 0.17:약 0.66), (약 0.08:약 0.08:약 0.34) 등의 조합을 들 수 있다. 이들 농도 이외에도, C1A, C1N, C2의 농도를 적절히 조합하여 조제할 수 있다.

[0784] 장치(XX)의 도입구(1)로부터 도입되는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액 중의, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액의 각 용량비(v1, v2)는 예를 들어, v1+v2=15의 비율이며, 예를 들어, (v1:v2)=(7.5:7.5)이다.

[0785] 장치(XX)의 도입구(1)로부터 도입되는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액에 알긴산 용액을 첨가하는 경우, 알긴산 용액을 첨가한 혼합 용액에 있어서의, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용량(v1), 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체의 용액 용량(v2) 및 알긴산 용액의 용량(v3)의 용량비는, 예를 들어, v1+v2+v3=15의 비율이며, 예를 들어, (v1:v2:v3)=(5:5:5), (2.5:2.5:10), (1:1:13) 등의 조합이다.

[0786] 제작되는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)의 외경은, 특별히 한정되지 않지만, 전술한 바와 같으며, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 200㎛의 범위이다. 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)의 길이는 특별히 한정되지 않고 전술한 바와 같으며, 예를 들어, 약 0.3 내지 약 50m 정도여도 된다. 당해 파이버의 단면 형상으로서는, 전술한 바와 같으며, 예를 들어, 원형, 타원계, 사각형이나 오각형 등의 다각형 등을 들 수 있다.

[0787] 장치(XX)의 배출구(2)로부터 사출되는 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액을 접촉시키는, 2가 금속 이온을 포함하는 용액은, 전술한 「5-1. 가교 알긴산 겔」에 기재된 바와 같으며, 예를 들어, 칼슘 이온, 마그네슘 이온, 바륨 이온, 스트론튬 이온, 아연 이온 등이 포함되는 용액을 들 수 있다.

[0788] 2가 금속 이온을 포함하는 용액의 2가 금속 이온 농도는, 예를 들어, 약 1mM 내지 약 1M의 범위, 또는 약 10 내지 약 500mM의 범위이며; 바람직하게는, 약 10 내지 약 100mM이다.

[0789] 2가 금속 이온을 포함하는 용액을 제조할 때에 사용하는 용매는, 전술한 「5-1. 가교 알긴산 겔」에 기재된 바와 같으며, 예를 들어, 물 및 생리 식염수 등을 들 수 있다.

[0790] 장치(XX)의 배출구(2)로부터 사출되는 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 그리고 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 포함하는 혼합 용액을 2가 금속 이온을 포함하는 용액에 접촉시키

는 시간은, 예를 들어, 약 1분 내지 60분, 1분 내지 30분 등이다.

[0791] 상기 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법 공정 (2)에서 얻어지는 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를 접촉시키는, 양이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 전술한 「7. 양이온성 폴리머」에 기재되는 양이온성 폴리머를 포함하는 용액이며, 예를 들어, 폴리아미노산, 염기성 다당, 염기성 폴리머 등을 포함하는 용액을 들 수 있다.

[0792] 상기 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를 접촉시키는, 양이온성 폴리머를 포함하는 용액의 농도는, 전술한 「7. 양이온성 폴리머」에 기재되는 바와 같으며, 예를 들어, 약 0.02 내지 약 0.2중량%, 약 0.05 내지 약 0.1중량% 등이다.

[0793] 상기 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를 접촉시키는, 양이온성 폴리머를 포함하는 용액은, 염화칼슘 수용액, 염화나트륨 수용액, 용액의 pH 조정을 위한 완충액(아세트산, 아세트산나트륨, 수산화나트륨, 히드록시에틸피페라진에탄술폰산 등의 수용액) 등의 성분을 포함할 수 있다.

[0794] 상기 가교 알긴산 겔 파이버(CLA)를 양이온성 폴리머를 포함하는 용액에 접촉시키는 시간은, 예를 들어, 약 1분 내지 60분, 1분 내지 30분 등이다.

[0795] 몇 가지 양태에서는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제법 시의 온도는, 예를 들어, 약 4 내지 약 37℃의 범위이다.

[0796] 상기 제조 방법에 의해, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포가 어느 일정수 포함된 코어층을 갖는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 용이하게 얻을 수 있다.

[0797] 몇 가지 양태에서는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 배양액 중에서 배양함으로써, 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등이 배양되어, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있다. 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 배양액을 적절하게 교환함으로써, 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등을 수주일 내지 수개월의 동안 연속 배양하는 것이 가능하게 된다.

[0798] 상기 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 강도에 대해서는, 당업자에게 주지인 방법에 따라서, 진탕 붕괴 시험, 인장 강도 시험 등에 의해 측정할 수 있다.

[0799] 12. 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법

[0800] 여기에서는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하고, 식 (I) 및 식 (II)로 표시되는 화학수식 알긴산 유도체를 사용하여 가교 반응을 행함으로써 형성되는 가교 알긴산 겔(코어층)이 양이온성 폴리머(양이온성 폴리머층) 및 음이온성 폴리머(음이온성 폴리머층)로 피복된, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법이 제공된다. 예를 들어, 도 3 또는 도 10에 도시되는 장치(XX)를 사용하여 얻어지는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)를 사용한, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법이 제공된다.

[0801] 이하에, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법에 대하여 설명한다.

[0802] 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 상기 「11. 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제조 방법」에 기재된 공정 (S) 내지 공정 (2)에 계속하여, 하기 공정 (3)을 행함으로써 제조할 수 있다.

[0803] 공정 (3): 공정 (2)에서 얻어진 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)를, 음이온성 폴리머를 포함하는 용액에 접촉시키고, 또한 음이온성 폴리머로 코팅하는 공정.

[0804] 공정 (3)에서는, 공정 (2)에서 얻어진 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)를, 음이온성 폴리머를 포함하는 용액에 접촉시킴으로써, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 포함하는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 표면이 음이온성 폴리머층으로 피복된다.

[0805] 상기 (S) 내지 (3)의 공정을 행함으로써, 본 발명의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(ACFB)를 제조할 수 있다.

[0806] 음이온성 폴리머로 피복하기 위한 용기로서는, 도 10에 도시되는, 음이온성 폴리머를 포함하는 용액을 포함하는 비이커 등의 용기(FF)가 사용된다.

[0807] 제작되는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(ACFB)의 외경은, 특별히 한정되지 않지만, 전술한 바와 같으며, 예를 들어, 약 0.1 내지 약 200㎛의 범위이다. 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(ACFB)의 길이는 특별히 한정되지 않고 전술한 바와 같으며, 예를 들어, 약 0.3 내지 약 50m 정도여도 된다. 당해 파이버의 단

면 형상으로서는, 전술한 바와 같으며, 예를 들어, 원형, 타원계, 사각형이나 오각형 등의 다각형 등을 들 수 있다.

[0808] 상기 공정 (2)에서 얻어지는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)를 접촉시키는 음이온성 폴리머는, 전술한 「9. 음이온성 폴리머」에 기재되는 음이온성 폴리머이며, 바람직하게는, 음이온성 다당류, 황산화 다당류, 합성 폴리머, 음이온성 폴리아미노산, 이들의 화학 수식체, 이들의 가교체, 이들의 혼합물, 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머 등이다. 보다 바람직하게는, 상기 공정 (3)에서 얻어지는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)에, 알긴산, 전술한 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 및/또는 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체로부터 형성되는 가교체, 및 이들의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택되는 음이온성 폴리머를 접촉시킨다. 이에 의해, 양이온성 폴리머로 코팅된 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)의 표면이, 또한 알긴산, 전술한 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체 등으로 코팅된다.

[0809] 여기서, 음이온성 폴리머로서 식 (I)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체, 식 (II)로 표시되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하는 경우, 코어층에 사용하고 있는 당해 알긴산 유도체와 동일한 것을 사용해도 되고, 다른 것을 사용해도 된다.

[0810] 상기 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)를 접촉시키는, 음이온성 폴리머를 포함하는 용액의 농도는, 전술한 「9. 음이온성 폴리머」에 기재되는 바와 같으며, 예를 들어, 약 0.01 내지 약 5.0중량%, 약 0.05 내지 약 1.0중량%, 약 0.1 내지 약 0.5중량%, 약 0.15 내지 약 0.4중량% 등의 범위의 농도이다.

[0811] 상기 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB)를, 음이온성 폴리머를 포함하는 용액에 접촉시키는 시간은, 예를 들어, 약 1분 내지 60분, 1분 내지 30분 등이다.

[0812] 몇 가지 양태에서는, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(ACFB)의 제법 시의 온도는, 예를 들어, 약 4 내지 약 37℃의 범위이다.

[0813] 상기 제조 방법에 의해, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포가 어느 일정수 포함된 코어층을 갖는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 용이하게 얻을 수 있다.

[0814] 몇 가지 양태에서는, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 배양액 중에서 배양함으로써, 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등이 배양되어, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있다. 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 배양액을 적절하게 교환함으로써, 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등을 수주일 내지 수개월의 동안 연속 배양하는 것이 가능하게 된다.

[0815] 상기 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 강도에 대해서는, 당업자에게 주지의 방법에 따라서, 진탕 붕괴 시험, 인장 강도 시험 등에 의해 측정할 수 있다.

[0816] 본 명세서 중의 기재에 있어서 「약」이라고 기재한 경우, 특별한 언급이 없는 경우에는, 당해 수치의 ±20%까지, 바람직하게는 당해 수치의 ±10%까지의 값도 포함할 수 있는 것이다.

[0817] 13. 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등의 배양 방법

[0818] 여기에서는, 상기 제조 방법으로 제작되는 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 코어층에 포함하는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용한, 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법이 제공된다. 예를 들어, 상기 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 배양 용기에 넣고, 배지를 첨가하여 상기 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 함침시켜, 배양을 행함으로써, 항체, 생리 활성 물질 등을 제조할 수 있다. 이하, 「항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법」을 「항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등의 배양 방법」이라고 하는 경우가 있다.

[0819] 바람직한 양태의 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등의 배양 방법에 의하면, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 코어층에 포함하는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 상기 제조 방법으로 제작한 후의 이른 단계에서, 배양액에 침윤시켜 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등의 배양을 개시할 수 있다. 이에 의해, 도 4에 도시하는 바와 같이, 코어층에의 배양액(영양원) 및 산소의 공급을 바로 행할 수 있고, 즉, 코어층에 포함되는, 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등을 괴사시키지 않고, 배양이 가능하게 된다. 특히 바람직한 양태에서는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에서의 항체 산생 세포, 생

리 활성 물질 산생 세포 등의 괴사를 충분히 방지하면서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있다.

[0820] 바람직한 양태의 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등의 배양 방법에 의하면, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 코어층에 포함하는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 상기 제조 방법으로 제작한 후의 이른 단계에서, 배양액에 침윤시켜 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등의 배양을 개시할 수 있다. 이에 의해, 도 11에 도시한 바와 같이, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에의 배양액(영양원) 및 산소의 공급을 바로 행할 수 있고, 즉, 당해 코어층에 포함되는, 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등을 괴사시키지 않고, 배양이 가능하게 된다. 특히 바람직한 양태에서는, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에서의 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등의 괴사를 충분히 방지하면서, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있다.

[0821] 본 발명의 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 코어층에 포함하는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 배양 시에 파이버 밖에 존재하고 있는 배양액(영양원) 및 산소 등의 성분에 대하여 충분한 투과성을 갖고 있는 것이다.

[0822] 이하에, 항체 산생 세포의 배양 방법의 일례에 대해서 구체적으로 설명하지만, 이것에 한정되지 않는다. 벤트 캡 구비 삼각 플라스크(Corning사, Cat.431143)에, 전술한 제조 방법으로 제작된, 코어층에 항체 산생 세포를 포함하는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 넣고, 후술하는 표 31의 조성인 배지(30mL)를 첨가하여, 겔 파이버를 함침시킨 후, 37℃, 5% $CO_2$ 분위기 하에 인큐베이터 내에서 진탕기(파나소닉 헬스케어(주) MIR-S100C)를 사용한 125rpm의 조건에서 진탕하면서 배양을 행한다. 배양 기간 중, 2 내지 3일에 1회, 배지 1.8mL를 발취하고, Feed액(Irvine사제, JX Feed 003) 또는 표 31의 조성인 배지 1.8mL를 첨가하고, 배지의 총량을 30mL로 유지한다. 또한, 배양 기간 중, 주에 한번 배지의 절반량 교환을 행한다.

[0823] 또한, 이하에, 생리 활성 물질 산생 세포의 배양 방법의 일례에 대해서 구체적으로 설명하지만, 이것에 한정되지 않는다. 전술한 제조 방법으로 제작된, 코어층에 생리 활성 물질 산생 세포를 포함하는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 저접착 표면 디쉬에 넣고, 후술하는 표 35의 조성인 배지(5mL)를 첨가하고, 37℃, 5% $CO_2$ 분위기 하에서, 인큐베이터 내에서 정치하여 배양을 행한다.

[0824] 이하에, 항체 산생 세포의 배양 방법의 일례에 대해서 구체적으로 설명하지만, 이것에 한정되지 않는다. 벤트 캡 구비 삼각 플라스크(Corning사, Cat.431143)에, 전술한 제조 방법으로 제작된, 코어층에 항체 산생 세포를 포함하는, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 넣고, 후술하는 표 31의 조성인 배지(30mL)를 첨가하여, 겔 파이버를 함침시킨 후, 37℃, 5% $CO_2$ 분위기 하에 인큐베이터 내에서 진탕기(파나소닉 헬스케어(주) MIR-S100C)를 사용한 125rpm의 조건에서 진탕하면서 배양을 개시하고, 5일 후에 배양 온도를 30℃로 하고, 동일 온도에서 배양을 계속한다. 배양 기간 중, 2 내지 3일에 1회, 배양액 1.8mL를 발취하고, 표 XX의 조성인 배지 1.8mL 또는 Feed액(Irvine사제, 카탈로그 번호 JX F003) 1.8mL를 첨가하고, 배지의 총량을 30mL로 유지한다. 또한, 주에 한번 배양액의 절반량 교환을 실시한다.

[0825] 어떤 양태의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용하는 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 기술은, 코어층에 포함되는 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등이 어느 일정수 이상으로는 증식하지 않음으로써, 세포에 대한 물리적 스트레스가 적기 때문에, 봉입한 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등이 장기간에 걸쳐 항체, 생리 활성 물질 등을 계속하여 산생할 가능성을 갖고 있는 점에서 우수하다.

[0826] 또한, 이하에, 생리 활성 물질 산생 세포의 배양 방법의 일례에 대해서 구체적으로 설명하지만, 이것에 한정되지 않는다. 전술한 제조 방법으로 제작된, 코어층에 생리 활성 물질 산생 세포를 포함하는, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를, 예를 들어, 저접착 표면 디쉬에 넣어, 후술하는 표 35의 조성인 배지 등을 첨가하고, 37℃, 5% $CO_2$ 분위기 하에서, 인큐베이터 내에서 정치하여 배양을 행한다.

[0827] 특히 바람직한 양태에서는, 항체의 생산·정제 효율을 비약적으로 향상시킬가능성이 있어(예를 들어, 바람직한 양태의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용함으로써 대규모 배양 탱크를 요하는 부유 배양과는 달리, 소규모의 생산 설비에서 항체를 배양하는 것도 가능하게 된다), 소량·다종 품목의 항체 의약품의 제조에도 적합한 차세대형 항체 의약품의 연속 생산 기술로서 기대할 수 있다.

[0828] 배양에 의해 산생된 항체(예를 들어, 항GPVI 항체, 토실리주맙 산생 CHO 세포) 또는 생리 활성 물질(예를 들어, 인슐린)은 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 저류되어도 되고, 바람직하게는, 폴리머 코팅 가교

알긴산 겔 파이버의 코어층 및 양이온성 폴리머층을 투과하여 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 밖의 배양액 중에 저류된다.

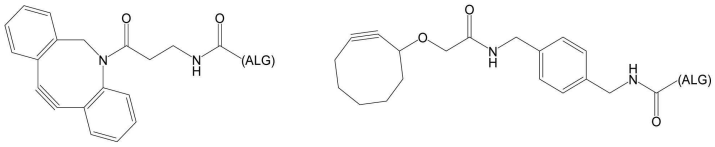
[0829] 또한, 배양에 의해 산생된 항체(예를 들어, 토실리주맙 산생 CHO 세포) 또는 생리 활성 물질은, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 저류되어도 되고, 바람직하게는, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층, 양이온성 폴리머층 및 음이온성 폴리머층을 투과하여 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 밖의 배양액 중에 저류된다.

[0830] 또한, 항체, 생리 활성 물질 등의 회수·정제는, 후술하는 기재를 참조하여 행하는 것이 가능하다.

[0831] 바람직한 양태에서는, 도 4에 도시하는 바와 같이, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층 내에서 산생된 항체, 생리 활성 물질 등이, 코어층 및 양이온성 폴리머층을 투과하여 당해 파이버 밖으로 순차 방출되게 되어, 항체, 생리 활성 물질 등의 연속 배양이 가능한 사이클이 형성 가능하다. 또한, 이때, 대사물 및 노폐물도 당해 파이버 밖으로 방출되어도 된다.

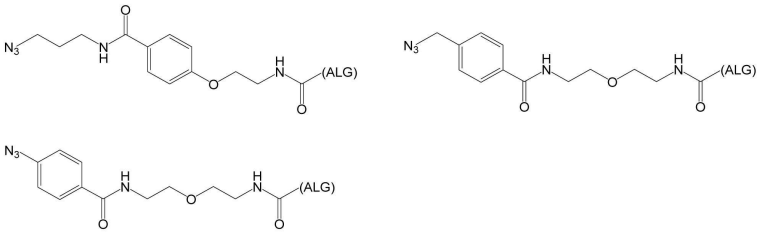
[0832] 바람직한 양태에서는, 도 11에 도시한 바와 같이, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층 내에서 산생된 항체, 생리 활성 물질 등이, 코어층, 양이온성 폴리머층 및 음이온성 폴리머층을 투과하여 당해 파이버 밖으로 순차 방출되게 되어, 항체, 생리 활성 물질 등의 연속 배양이 가능한 사이클이 형성 가능하다. 또한, 이때, 대사물 및 노폐물도 당해 파이버 밖으로 방출되어도 된다.

[0833] 실제로, 후술하는 실시예에서는, 코어층에 포함하는 세포로서, 항GPVI 항체 산생 CHO 세포, 토실리주맙 산생 CHO 세포 또는 MIN6 세포로부터 선택되는 세포를 사용하여, 코어층의 가교 알긴산 겔의 형성에 사용하는 식 (I)의 화학 수식 알긴산 유도체로서, 하기 식:



[0834]

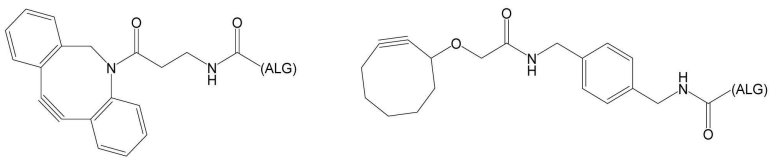
[0835] [식 중, (ALG)는 알긴산을 나타내고; -NHCO-는, 알긴산의 임의의 카르복실기를 통한 아미드 결합을 나타낸다]으로부터 선택되는 화학 수식 알긴산 유도체를, 식 (II)의 화학 수식 알긴산 유도체로서, 하기 식:



[0836]

[0837] [식 중, (ALG)는 알긴산을 나타내고; -NHCO-는, 알긴산의 임의의 카르복실기를 통한 아미드 결합을 나타낸다]으로부터 선택되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하고, 양이온성 폴리머층의 양이온성 폴리머로서, 폴리-L-오르니틴, 폴리알릴아민(PAA), 폴리에틸렌이민 또는 폴리메틸렌-CO-구아니딘(PMCG)을 사용하여, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 제작하였다.

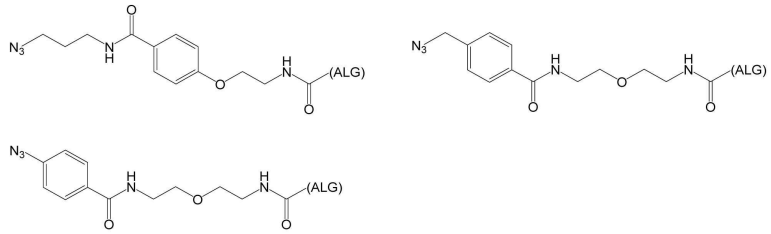
[0838] 또한, 상기에서 제작된 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 양이온성 폴리머층의 외측을, 음이온성 폴리머로서, 알긴산, 하기 식 (I)의 화학 수식 알긴산 유도체:



[0839]

[0840] [식 중, (ALG)는 알긴산을 나타내고; -NHCO-는, 알긴산의 임의의 카르복실기를 통한 아미드 결합을 나타낸다]로

부터 선택되는 화학 수식 알긴산 유도체, 하기 식 (II)의 화학 수식 알긴산 유도체:



[0841]

[0842] [식 중, (ALG)는 알긴산을 나타내고; -NHCO-는, 알긴산의 임의의 카르복실기를 통한 아미드 결합을 나타낸다]로부터 선택되는 화학 수식 알긴산 유도체를 사용하여 피복함으로써, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 제작하였다.

[0843] 또한, 상기에서 얻어진 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 배양한 장소, 산생된 항체(항GPVI 항체, 토실리주맙) 또는 생리 활성 물질(인슐린)이 코어층 및 양이온성 폴리머층을 투과하여 배양액 중에 저류된 것을 확인할 수 있었다.

[0844] 또한, 상기에서 얻어진 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 배양한 장소, 산생된 항체(토실리주맙)가 코어층, 양이온성 폴리머층 및 음이온성 폴리머층을 투과하여 배양액 중에 저류된 것을 확인할 수 있었다.

[0845] 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포를 코어층에 포함하는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 배양하는, 배양 용기로서는, 예를 들어, 조직 배양용 플레이트, 삼각 플라스크, T-플라스크, 스피너 플라스크, 배양 백, 동물 세포 배양조 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 용기이며; 바람직하게는 삼각 플라스크 또는 동물 세포 배양조이다. 배양은, 정치 배양, 진탕·요동 배양 등의 어느 방법을 선택해도 된다.

[0846] 항체, 생리 활성 물질 등의 생산성 향상에는, 배양당의 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등의 세포수의 증대화가 유효하지만, 한편으로 과잉의 증식이 일어나서, 배양 환경이 악화되고, 배양 기간의 단축이 일어날 수 있다. 몇 가지 양태의 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법에서, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는, 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등의 과잉 증식에 기인하는 세포에 대한 물리적 스트레스를 적게 하기 위한 방법으로서, 예를 들어, 코어층에 포함되는 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등이 어느 일정수 이상으로 증식하지 않는 방법으로서는, 배양 중의 배양 온도의 대조, 배양액 중에 세포 증식 억제제를 첨가하는, 등의 방법을 들 수 있다.

[0847] 몇 가지 양태의 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법에서, 배양 온도는, 예를 들어, 약 28 내지 약 39℃의 범위이며, 예를 들어, 약 30℃ 내지 약 37℃의 범위이다.

[0848] 몇 가지 양태의 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법에서, 배양 개시부터 종료 시까지의 배양 온도는, 적시, 변화시키는 것도 가능하다. 예를 들어, 배양 개시 시의 온도를 약 37℃로 하고, 어떤 일정 시간 배양한 단계에서, 약 30℃로 변화시키는 것이 가능하다.

[0849] 몇 가지 양태의 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법에서, 배양 기간은, 예를 들어, 7일 이상이며, 또는 10일 이상이며, 또는 20일 이상이며, 또는 30일 이상이며, 또는 40일 이상이며, 또는 50일 이상이며, 또는 60일 이상이며, 또는 70일 이상이다.

[0850] 몇 가지 양태의 항체, 생리 활성 물질 등의 제조 방법에서, 배양 기간은, 예를 들어, 7일이며, 또는 14일이며, 또는 28일이며, 또는 35일이며, 또는 42일이며, 또는 49일이며, 또는 56일이며, 또는 63일이며, 또는 70일이다.

[0851] 몇 가지 양태의 항체 제조 방법에서, 배양액 중에 세포 증식 억제제를 첨가할 수도 있다. 세포 증식 억제제란, 배양 기간 중, 과잉의 세포 증식을 억제하는 것이 가능한 제이며, 예를 들어, 디메틸술폭시드, 부티르산나트륨, 발프로산, 염화리튬, 발레르산, 메토트렉세이트(MTX) 등의 첨가제를 들 수 있다. 세포 증식 억제제를 배양액에 첨가하는 타이밍은, 배양 개시 시점, 또는 배양 기간 중(필요한 세포수까지 증식할 수 있었던 시점)의 어느 것이어도 가능하다. 본 명세서에서, 항GPVI 항체 산생 세포를 사용하여 배양을 행하는 경우, 메토트렉세이트(MTX)를 첨가하고 있다.

[0852] 본 명세서 중, 세포 배양용 배지에는, 시판하고 있는 배지 기재 또는 조제완료 배지, 혹은 자작한 배지를 사용

할 수 있다. 또한, 천연 배지(예를 들어, 소이 빈-카제인 다이제스트 배지(SCD 배지) 등이 있다) 또는 합성 배지(증식에 필요한 각종 영양소를 모두 화학 약품으로 보충하는 배지이다)를 사용할 수도 있다. 또한, 당해 배지는, 특별히 한정될 일은 없지만, 세포의 생존 증식에 필요한 성분(무기염, 탄수화물, 호르몬, 필수 아미노산, 비필수 아미노산, 비타민 등)이 포함되는 기본 배지이면 되고, 예를 들어, 둘베코 수정 이글 배지(Dulbecco's Modified Eagle Medium)(DMEM), 최소 필수 배지(Minimum Essential Medium)(MEM), RPMI-1640, 기저 배지 이글(Basal Medium Eagle)(BME), 둘베코 수정 이글 배지(Dulbecco's Modified Eagle's Medium): 영영소 혼합물(Nutrient Mixture) F-12(DMEM/F-12), 글래스고 최소 필수 배지(Glasgow Minimum Essential Medium)(글래스고 MEM), G016 배지, DMEM(고 글루코오스) 등을 들 수 있다.

[0853] 또한, 상기 배지에는, 또한 혈청이 포함되어 있어도 된다. 상기 혈청으로서는, 특별히 한정될 일은 없지만, 예를 들어, FBS/FCS(소 태아/송아지 혈청(Fetal Bovine/Calf Serum)), NCS(초생 송아지 혈청(Newborn Calf serum)), CS(송아지 혈청(Calf Serum)), HS(말 혈청(Horse Serum)) 등을 들 수 있다. 배지에 포함되는 혈청의 농도는, 예를 들어, 2중량% 이상 10중량% 이하이다.

[0854] 본 발명의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 그 코어층의 가교 알긴산 겔 파이버의 양단이 양이온성 폴리머로 피복되어 있는 것으로부터, 배양 기간 중에 코어층에 포함되는 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등의 세포가, 다량으로(예를 들어, $1\times10^5$개 이상) 파이버 밖으로 누출되는 것의 방지, 억제 또는 저감으로 이어진다.

[0855] 본 발명의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 그 코어층의 가교 알긴산 겔 파이버의 양단이 양이온성 폴리머 및 음이온성 폴리머로 피복되어 있는 것으로부터, 배양 기간 중에 코어층에 포함되는 항체 산생 세포, 생리 활성 물질 산생 세포 등의 세포가, 다량으로(예를 들어, $1\times10^5$개 이상) 파이버 밖으로 누출되는 것의 방지, 억제 또는 저감으로 이어진다.

[0856] 13-1. 코어층에 있어서의 생세포수의 산출 방법

[0857] 이하에, 배양 개시 시, 배양 기간 중 또는 배양 후에 있어서의, 항체 산생 세포를 함유하는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에 포함되는 항체 산생 세포의 생세포수의 측정 방법의 일례에 대해서 구체적으로 설명하지만, 이것에 한정되는 것은 아니다.

[0858] 항체 산생 세포를 함유하는 가교 알긴산 겔 파이버, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(0.2mL)를 15mL 튜브(원침관(인쇄 눈금 구비·벌크), 형식: 2325-015-MYP)에 옮기고, 튜브의 눈금으로 약 4.5mL까지 후술하는 표 31의 조성인 G016 배지(4.5mL)를 첨가한다. 계속해서, 1mg/mL 알긴산 리아제(Alginate lyase)(폴리 α-굴루론산 리아제 재조합 조벨리아 갈락타니보란스(Poly α-guluronate lyase Recombinant Zobellia galactanivorans)(크리에이티브 효소(Creative Enzymes), Cat#NATE-1563)를 30μL 첨가하고, 30℃, 125rpm으로 1시간 이상 진탕 교반하였다. 진탕 교반하는 동안, 가교 알긴산 겔 파이버가 균일하게 용해될 때까지, 적절히, 용액의 피펫팅 혹은 상기 알긴산 리아제를 첨가하였다. 상기 가교 알긴산 겔 파이버가 균일하게 용해된 것을 확인 후, 액량을 확인하고, 상기 G016 배지를 추가하여 5mL로 한다. 상기 용액의 일부를 채취하고, 세포수를 카운트한다. 2회 측정의 평균값을 사용하여, 가교 알긴산 겔 파이버 중의 생세포수로 한다.

[0859] 14. 항체의 분류

[0860] 항체는, 제작 시의 면역 동물종에 의해, 마우스 항체, 래트 항체, 토끼 항체, 인간 항체 등이라고 칭해진다. 인간으로 사용할 때의 면역원성을 감소시키기 위해서, 다른 종 유래의 항체 부분 영역을 인간 서열로 변환시킨 개변 항체로서, 키메라 항체와 인간화 항체가 있고, 바이오 의약품으로서 사용된다. 또한, 인간 항체 유전자를 삽입된 마우스 등을 사용하여, 인간 항체 유전자로부터 산생된 항체도 있고, 인간형 항체, 혹은 간단히 인간 항체라고 칭해지고, 바이오 의약품으로서 사용된다.

[0861] 상기 각종 항체에 추가로, 차세대 항체라고 말해지는 여러가지 개변 항체도 개발되어 있어, 본 명세서에 있어서는, 개변 항체도 「항체」에 포함된다. 예를 들어, 2 이상의 항원에 대하여 특이성을 나타내는 항체인 다가 항체가 있고, 특히 이중 특이성을 나타내는 것을 이중 특이적 항체라고 하고, 고기능화 항체의 하나이다. 항체의 Fc 부위를 제거하여 저분자화한 항체인 저분자화 항체도 있고, Fab, $F(ab')_2$, scFv(단쇄 Fv), VHH 등을 들 수 있고, 바이오 의약품으로서 사용되고 있다. 또한, 이중 특이적 저분자화 항체도 제작되어 있어, 예를 들어 scFv-scFv가 바이오 의약품으로서 사용되고 있다. 당쇄를 개변시키도록 Fc 영역 등에 변이를 넣은 항체도 개변

항체의 일례이다. 당쇄를 개변시키도록 숙주 세포를 미리 형질 전환시킴으로써, 당쇄 개변 항체를 산생시킬 수도 있고, 예를 들어, 푸코오스 제거 항체를 들 수 있다. 또한, 본 명세서에 있어서, 항체 또는 항체 단편과 다른 단백질 또는 펩티드의 융합 단백질도, 개변 항체, 즉 항체의 일례로서 들 수 있는데, 상기한 생리 활성 물질과의 융합 단백질일 경우에는, 생리 활성 물질에도 포함된다.

[0862] 항체는, 정상 영역의 구조상의 차이에 따라, 하기 표에 나타낸 바와 같은 클래스(아이소타입)나 서브 클래스로 분류된다.

[0863] 인간 Ig의 분류

[0864] [표 9]

[0865]

| 클래스(아이소타입) | 서브 클래스 | Ig 중의 비율(%) | 분자량(약) |
|---|---|---|---|
| IgG | IgG1 | 65 | 150,000 |
| | IgG2 | 25 | 150,000 |
| | IgG3 | 7 | 170,000 |
| | IgG4 | 3 | 150,000 |
| IgA | * | 10-15 | 320,000 |
| IgM | * | 10 | 900,000 |
| IgD | * | 1% 이하 | 180,000 |
| IgE | * | 0.001% 이하 | 200,000 |

[0866] 15. 항체 · 생리 활성 물질의 산생 및 정제법

[0867] 몇 가지 양태의 항체 제조 방법에서, 항체 산생 세포를 배양하는 것 따라서 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에서 산생되어 폴리머층을 투과할 수 있는 항체로서는, 특별히 한정될 일은 없지만, 예를 들어, IgG, IgA, IgM, IgD, IgE 등으로 이루어지는 군에서 선택되는 클래스(아이소타입)를 갖는 항체를 들 수 있다. 산생 항체를 바이오 의약품으로서 사용하는 경우에는, 바람직하게는, IgG 항체이다.

[0868] 몇 가지 양태의 항체 제조 방법에서, 항체 산생 세포를 배양함으로써, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에서 산생되어 양이온성 폴리머층, 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에서 산생되어 양이온성 폴리머층 및 음이온성 폴리머층을 투과할 수 있는 항체의 분자량은, 특별히 한정될 일은 없지만, 예를 들어, 약 45,000 내지 약 1,000,000Da의 범위에 있는 항체이다. 또한, 양이온성 폴리머층을 투과할 수 있는 항체의 분자량은 예를 들어, 약 3,000 내지 약 1,000,000Da, 약 20,000 내지 약 1,000,000Da, 약 20,000 내지 약 400,000Da, 약 45,000 내지 약 400,000Da, 약 20,000 내지 약 200,000Da, 약 45,000 내지 약 200,000Da의 범위에 있는 항체이다.

[0869] 몇 가지 양태의 생리 활성 물질의 제조 방법에서, 생리 활성 물질 산생 세포를 배양함으로써, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에서 산생되어 양이온성 폴리머층, 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층에서 산생되어 양이온성 폴리머층 및 음이온성 폴리머층을 투과할 수 있는 생리 활성 물질의 분자량은, 특별히 한정될 일은 없지만, 예를 들어, 약 3,000 내지 약 1,000,000Da, 약 20,000 내지 약 1,000,000Da, 약 45,000 내지 약 1,000,000Da, 약 20,000 내지 약 400,000Da, 약 45,000 내지 약 400,000Da, 약 20,000 내지 약 200,000Da, 약 45,000 내지 약 200,000Da의 범위에 있는 생리 활성 물질이다.

[0870] 본 명세서 중, 상기한 각 항체 산생 세포를 사용하여 상기한 항체의 제조 방법으로 배양을 행하는 경우, 사용한 항체 산생 세포에 대응하는 항체가 산생된다. 예를 들어, 무로모납-CD3 산생 CHO 세포를 사용하는 경우, 항체로서 무로모납-CD3이 산생된다.

[0871] 본 명세서 중, 상기한 각 생리 활성 물질 산생 세포를 사용하여 상기한 생리 활성 물질의 제조 방법으로 배양을 행하는 경우, 사용한 생리 활성 물질 산생 세포에 대응하는 생리 활성 물질이 산생된다.

[0872] 산생되는 항체로서는, 예를 들어, 무로모납-CD3 산생 CHO 세포를 사용하여 무로모납-CD3(IgG; 150,000), 트라스투주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 트라스투주맙(IgG; 148,000), 리툭시맙 산생 CHO 세포를 사용하여 리툭시맙(IgG; 144,510), 팔리비주맙 산생 NS0 세포를 사용하여 팔리비주맙(IgG; 147,700), 인플릭시맙 산생 Sp2/0 세포 또는 인플릭시맙 산생 CHO 세포를 사용하여 인플릭시맙(IgG; 149,000), 바실릭시맙 산생 Sp2/0 세포를 사용하여 바실릭시맙(IgG; 147,000), 토실리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 토실리주맙(IgG; 148,000), 겜투주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 겜투주맙(IgG; 150,000), 베바시주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 베바시주맙(IgG; 149,000), 이브리투모맙 산생 CHO 세포를 사용하여 이브리투모맙(IgG; 148,000), 아달리무맙 산생 CHO 세포를

사용하여 아달리무맙(IgG; 148,000), 세툭시맙 산생 Sp2/0 세포를 사용하여 세툭시맙(IgG; 151,800), 라니비주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 라니비주맙(IgG(Fab); 48,000), 오말리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 오말리주맙(IgG; 149,000), 에쿨리주맙 산생 NS0 세포를 사용하여 에쿨리주맙(IgG; 145,235), 파니투무맙 산생 CHO 세포를 사용하여 파니투무맙(IgG; 147,000), 우스테키누맙 산생 Sp2/0 세포를 사용하여 우스테키누맙(IgG; 148,079 내지 149,690), 골리무맙 산생 Sp2/0 세포를 사용하여 골리무맙(IgG; 149,802 내지 151,064), 카나키누맙 산생 Sp2/0 세포를 사용하여 카나키누맙(IgG; 148,000), 데노수맙 산생 CHO 세포를 사용하여 데노수맙(IgG; 150,000), 모가물리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 모가물리주맙(IgG; 149,000), 세르톨리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 세르톨리주맙(IgG(Fab'); 50,000), 오파투무맙 산생 NS0 세포를 사용하여 오파투무맙(IgG; 149,000), 페르투주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 페르투주맙(IgG; 148,000), 브렌툭시맙 산생 CHO 세포를 사용하여 브렌툭시맙(IgG; 148,000), 나탈리주맙 산생 NS0 세포를 사용하여 나탈리주맙(IgG; 146,178), 니볼루맙 산생 CHO 세포를 사용하여 니볼루맙(IgG; 145,000), 알렘투주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 알렘투주맙(IgG; 150,000), 세쿠키누맙 산생 CHO 세포를 사용하여 세쿠키누맙(IgG; 151,000), 라무시루맙 산생 NS0 세포를 사용하여 라무시루맙(IgG; 147,000), 이필리무맙 산생 CHO 세포를 사용하여 이필리무맙(IgG; 148,000), 에볼로쿠맙 산생 CHO 세포를 사용하여 에볼로쿠맙(IgG; 141,789), 메폴리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 메폴리주맙(IgG; 149,000), 알리로쿠맙 산생 CHO 세포를 사용하여 알리로쿠맙(IgG; 145892.049.), 익세키주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 익세키주맙(IgG; 149,000), 브로달루맙 산생 CHO 세포를 사용하여 브로달루맙(IgG; 147,000), 이다루시주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 이다루시주맙(IgG(Fab); 47,782), 엘로투주맙 산생 NS0 세포를 사용하여 엘로투주맙(IgG; 148,000), 펨브롤리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 펨브롤리주맙(IgG; 149,000), 사릴루맙 산생 CHO 세포를 사용하여 사릴루맙(IgG; 150,000), 베즐로톡수맙 산생 CHO 세포를 사용하여 베즐로톡수맙(IgG; 148,000), 벨리무맙 산생 NS0 세포를 사용하여 벨리무맙(IgG; 147,000), 다라투무맙 산생 CHO 세포를 사용하여 다라투무맙(IgG; 148,000), 아벨루맙 산생 CHO 세포를 사용하여 아벨루맙(IgG; 147,000), 두필루맙 산생 CHO 세포를 사용하여 두필루맙(IgG; 152,000), 아테졸리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 아테졸리주맙(IgG; 144,611), 벤랄리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 벤랄리주맙(IgG; 148,000), 이노투주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 이노투주맙(IgG; 149,000), 에미시주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 에미시주맙(IgG; 148,000), 구셀쿠맙 산생 CHO 세포를 사용하여 구셀쿠맙(IgG; 146,000), 두르발루맙 산생 CHO 세포를 사용하여 두르발루맙(IgG; 149,000), 오비누투주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 오비누투주맙(IgG; 148,000 내지 150,000), 베돌리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여 베돌리주맙(IgG; 150,000) 또는 항GPVI 항체 산생 CHO 세포를 사용하여 항GPVI 항체(IgG; 150,000)를 들 수 있다(항체명 다음의 괄호 내는, 당해 항체의 클래스(아이소타입) 및 분자량을 나타낸다). 또한, 본 발명의 항체 제조 방법으로 얻을 수 있는 항체는, 상기 클래스(아이소타입)나 서브 클래스에, 특별히 한정되는 것은 아니다.

[0873] 산생된 항체는, 예를 들어, 하기의 3 공정을 거쳐서 정제가 행해진다.

[0874] 〔공정 1〕 배지 중에 포함되는, 항체 이외의 단백질 및 고형물을 거의 제거하기 위해서, 원심 분리법 또는 필터에 의한 여과 등을 행한다.

[0875] 〔공정 2〕 예를 들어, 친화성 크로마토그래피(항체의 경우에는, 단백질 A 또는 단백질 G를 사용한 친화성 크로마토그래피), 또는 이온 교환 크로마토그래피 등의 크로마토그래피로 목적으로 하는 항체를 취출한다.

[0876] 〔공정 3〕 공정 2에서 혼입되어 온 협잡물을 제거하기 위해서, 이온 교환 크로마토그래피, 겔 여과 크로마토그래피 또는 히드록시아파타이트 크로마토그래피 등을 행하여, 목적으로 하는 항체를 고순도 정제한다.

[0877] 산생된 생리 활성 물질은, 예를 들어, 상기 공정과 마찬가지의 방법을 거쳐서 정제가 행해진다.

[0878] 단백질 A 또는 단백질 G를 사용한 친화성 크로마토그래피:

[0879] IgG의 정제법으로서는, 예를 들어, 단백질 A 또는 단백질 G를 사용한 항체의 정제 방법이 알려져 있다. 단백질 A를 사용한 항체의 정제법으로서, 하기 방법을 일례로서 들 수 있다. (1) 단백질 A가 고정된 비즈가 충전된 칼럼을 사용하여, 상기 〔스텝 1〕의 방법으로 얻어진 용액에 혈청을 첨가한 용액을 여과함으로써, IgG가 칼럼 중의 비즈에 결합하고, 다른 혈청 성분이 칼럼 밖으로 유출된다. (2) 그 후, 칼럼에 산성 용액을 통과시킴으로써, 비즈에 결합하고 있었던 IgG가 끊어져서, 칼럼 밖으로 용출되어서 IgG가 얻어진다. 또한, Ig의 단백질 A와 단백질 G에의 결합력이, 동물종이나 서브 클래스에 따라 다른 것으로부터, 목적에 따라, 단백질 A 또는 단백질 G를 구분지어 사용할 수 있다.

[0880] 이온 교환 크로마토그래피:

[0881] 단백질이 갖는 전기적인 성질(전하)을 이용하여 단백질을 분리하는 방법이다. 양전하를 나타내는 염기성 단백

질은, 음전하를 갖는 양이온 교환체(담체)에 이온 결합하고, 음전하를 나타내는 산성 단백질은 양전하를 갖는 음이온 교환체에 결합하는 것으로부터, 단백질이 포함되는 시료를 이온 교환체가 충전된 칼럼을 통과시킴으로써, 단백질이 이온 교환체에 결합한다. 그 후, 칼럼을 통과시키는 용매의 염 농도를 고농도로 함으로써, 단백질과 이온 교환체의 이온 결합이 약해지고, 결합력이 약한 단백질부터 차례로, 이온 교환체로부터 빠져서, 칼럼 밖으로 유출해 온다. 양이온 교환체 또는 음이온 교환체의 선택은, 시료로서 사용하는 단백질의 전하로부터 선택하는 것으로 한다.

[0882] 겔 여과 크로마토그래피:

[0883] 단백질의 분자량의 차이를 이용하여 단백질을 분리하는 방법이다. 작은 구멍이 있는 담체가 충전된 칼럼에 시료를 흘림으로써, 분자량이 작은 단백질은, 상기 작은 구멍에 들어가면서 유출되어 가고, 분자량이 큰 단백질은 상기 작은 구멍에 들어가지 않고 유출되어 오기 때문에, 칼럼을 통과하는 시간이 분자량이 작은 단백질은 느리고, 분자량이 큰 단백질은 빨라지는 것으로부터, 시간차적으로 단백질을 분리하는 것이 가능하게 된다.

[0884] 히드록시아파타이트 크로마토그래피:

[0885] 인산칼슘의 일종인 히드록시아파타이트를 사용한 크로마토그래피이다. 주로 칼슘 이온에 의한 금속 어피니티와 인산기에 의한 양이온 교환에 기초하는, 복수의 상호 작용을 이용하여 단백질을 분리하는 방법이다. 아미노산의 카르복실기 및 아미노기가 각각 담체와 상호 작용함으로써 흡착하고, 고농도 인산 또는 고염농도의 용매를 흘림으로써 목적물과 불순물의 분리를 행한다.

[0886] 16. 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 물성

[0887] [폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 안정성의 확인법]

[0888] 본 명세서 중, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 안정성은, 예를 들어, 이하의 시험법에 의해 확인할 수 있다. 보다 구체적으로는, 후기 실시예에 기재된 방법으로 확인할 수 있다.

[0889] <진탕 붕괴 시험>: 상기 제조 방법으로 얻어지는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 인산 완충 생리 식염수중(PBS)에 현탁시키고, 이것을 일정 시간 진탕시킨 뒤, 파이버의 붕괴되기 쉬움(진탕 붕괴도)을 확인함으로써, 그 물리적인 강도를 측정할 수 있다. 구체적인 시험 방법으로서는, 예를 들어, 후술하는 실시예에 기재된 방법을 들 수 있다.

[0890] <인장 강도 시험>: 상기 제조 방법으로 얻어지는 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용하여, 인장 강도 측정 장치를 사용하여, 그의 파단값(mN)을 확인함으로써, 그의 물리적인 강도를 측정할 수 있다. 구체적인 시험 방법으로서는, 예를 들어, 후술하는 실시예에 기재된 방법을 들 수 있다.

[0891] 본 발명의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 강도는, 이것을 구성하는 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔 및 코어층과 양이온성 폴리머층 사이에 형성되어 있는 가교 알긴산 겔과 양이온성 폴리머의 정전적 작용이, 본 발명의 파이버 강도에 있어서 최적의 성질을 갖고 있는 것에 기인한다.

[0892] 본 발명의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 강도는, 이것을 구성하는 코어층에 포함되는 가교 알긴산 겔, 코어층과 양이온성 폴리머층 사이에 형성되어 있는 가교 알긴산 겔과 양이온성 폴리머의 정전적 작용 및 양이온성 폴리머층과 음이온성 폴리머층 사이에 형성되어 있는 양이온성 폴리머와 음이온성 양이온성 폴리머의 정전적 작용이, 본 발명의 파이버 강도에 있어서 최적의 성질을 갖고 있는 것에 기인한다.

[0893] 본 발명의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 높은 물리적 안정성을 가짐과 함께, 코어층에서 산생된 항체, 생리 활성 물질 등이 코어층으로부터 방출되고, 또한 폴리머층을 투과할 수 있는 것으로부터, 적절한 투과성도 갖고 있어, 항체, 생리 활성 물질 등을 생산하기에 적합한 구조체이기도 하다.

[0894] 17. 화학 수식 알긴산 유도체의 반응성기(상보적인 반응성기)의 도입률 측정

[0895] 반응성기 또는 상보적인 반응성기 도입률은, 알긴산의 반복 단위인 우론산 단당 단위당에 도입된 반응성기 또는 상보적인 반응성기의 수를 백분율로 나타낸 값을 의미한다.

[0896] 후기 실시예에 있어서는, 반응성기 또는 상보적인 반응성기 도입률(mol%)은 $^{1}$H-NMR의 적분비에 의해 계산하였

다. 또한, 도입률의 산출에 필요한 알긴산의 양은, 검량선을 이용한 카르바졸황산법에 의해 측정하고, 반응성기 또는 상보적인 반응성기의 양은, 검량선을 이용한 흡광도 측정법에 의해 측정할 수도 있다.

[0897] 18. 화학 수식 알긴산 유도체의 분자량의 측정

[0898] 후기 실시예에서 얻어진 화학 수식 알긴산 유도체의 고체를 0.15 mol/L의 NaCl을 포함하는 10mmol/L 인산 완충액(pH7.4)에 용해시켜서 0.1% 또는 0.2% 용액을 조제하고, 구멍 직경 0.22㎛의 폴리에테르술폰제 여과 필터(Minisart High Flow Filter, Sartorius사)에 통과시켜 불용물을 제거한 후, 겔 여과용 샘플로 하였다. 각 샘플의 스펙트럼을 분광 광도계 DU-800(Beckman-Coulter사)에 의해 측정하고, 각 화합물의 겔 여과에 있어서의 측정 파장을 결정하였다. 특이적인 흡수 파장을 갖지 않는 화합물에 대해서는, 시차 굴절계를 사용하였다.

[0899] 겔 여과용 샘플의 200μL를 Superose6 Increase10/300 GL 칼럼(GE 헬스케어 사이언스사)에 제공하였다. 겔 여과는, 크로마토그래프 장치로서 AKTA Explorer 10S를, 전개 용매로서 0.15 mol/L NaCl을 포함하는 10mmol/L 인산 완충액(pH7.4)을 사용하여, 실온에서 유속 0.8mL/min의 조건에서 실시하였다. 샘플의 용출 프로파일은, 각 화합물에서 결정된 파장의 흡수를 모니터하여 제작하였다. 얻어진 크로마토그램은, Unicorn 5.31 소프트웨어(GE 헬스케어 사이언스사)로 해석하고, 피크 범위를 결정하였다.

[0900] 반응성기 또는 상보적인 반응성기가 도입된 알긴산의 분자량은, 블루 덱스트란(분자량 200만Da, SIGMA사), 티로글로불린(분자량 66.9만Da, GE 헬스케어 사이언스사), 페리틴(분자량 44만Da, GE 헬스케어 사이언스사), 알돌라아제(분자량 15.8만Da, GE 헬스케어 사이언스사), 콘알부민(분자량 7.5만Da, GE 헬스케어 사이언스사), 오브알부민(분자량 4.4만Da, GE 헬스케어 사이언스사), 리보뉴클레아제 A(분자량 1.37만Da, GE 헬스케어 사이언스사) 및 아프로티닌(분자량 6500Da, GE 헬스케어 사이언스사)을 표준품으로서 사용하여, 반응성기 또는 상보적인 반응성기가 도입된 알긴산과 동일 조건에서 겔 여과를 행하고, 각 성분의 용출액량을 Unicorn 소프트웨어로 결정하였다. 이 각 성분의 용출액량을 횡축에, 분자량의 대수값을 종축에 각각 플롯하고, 직선 회귀하여, 검량선을 작성하였다. 검량선은, 블루 덱스트란부터 페리틴까지, 페리틴부터 아프로티닌까지의 2종류를 작성하였다.

[0901] 이 검량선을 사용하여, 먼저 얻어진 크로마토그램의 용출 시간 i에 있어서의 분자량(Mi)을 계산하였다. 이어서, 용출 시간 i에 있어서의 흡광도를 판독하여 Hi로 하였다. 이들 데이터로부터 중량 평균 분자량(Mw)을 이하의 식으로부터 구하였다.

[0902] $$Mw = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} (Hi \times Mi)}{\sum_{i=1}^{\infty} Hi}$$

[0903] 또한, 본 명세서에 있어서 인용한 모든 문헌 및 공개 공보, 특허 공보, 기타의 특허문헌은, 그 목적에 관계 없이 참조로서 본 명세서에 편입하는 것으로 한다.

[0904] 또한, 본 발명의 목적, 특징, 이점, 및 그 아이디어는, 본 명세서의 기재에 의해, 당업자에게는 명확하며, 본 명세서의 기재로부터, 당업자라면 본 발명을 실시할 수 있다. 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용 및 구체적인 실시예 등은, 본 발명의 바람직한 실시 양태를 나타내는 것이며, 예시 또는 설명을 위하여 나타내져 있는 것이며, 본 발명을 그들에 한정하는 것은 아니다. 본 명세서에서 개시되어 있는 본 발명의 의도 그리고 범위 내에서, 본 명세서의 기재에 기초하여, 다양하게 수식을 할 수 있음은, 당업자에게 있어서 명확하다.

[0905] 실시예

[0906] 이하, 실시예에 의해 본 발명을 설명하지만, 본 발명은 이하의 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0907] [화학 수식 알긴산 유도체의 합성법]

[0908] 핵자기 공명 스펙트럼(NMR)의 측정에는, JEOL JNM-ECX 400 FT-NMR(니혼덴시)을 사용하였다. 액체 크로마토그래피-질량 분석 스펙트럼(LC-Mass)은 이하의 방법으로 측정하였다. [UPLC] Waters AQUITY UPLC 시스템 및 BEH C18 칼럼(2.1㎜×50㎜, 1.7㎛)(Waters)을 사용하여, 아세토니트릴: 0.05% 트리플루오로아세트산 수용액=5:95(0분) 내지 95:5(1.0분) 내지 95:5(1.6분) 내지 5:95(2.0분)의 이동상 및 구배 조건을 사용하였다.

[0909] $^{1}$H-NMR 데이터 중, NMR 시그널의 패턴에서, s는 싱글렛, d는 더블렛, t는 트리플렛, q는 콰르텟, m은 멀티플렛, br은 브로드, J는 커플링 상수, Hz는 헤르츠, $CDCl_3$은 중클로로포름, DMSO-$d_6$은 중디메틸술폭시드, $D_2O$는 중수를

의미한다. $^{1}$H-NMR 데이터 중, 수산기(OH), 아미노기($NH_2$), 카르복실기(COOH)의 프로톤 등, 브로드밴드이기 때문에 확인을 할 수 없는 시그널에 대해서는, 데이터에 기재하고 있지 않다.

[0910] LC-Mass 데이터 중, M은 분자량, RT는 유지 시간, $[M+H]^+$, $[M+Na]^+$는 분자 이온 피크를 의미한다.

[0911] 실시예 중의 「실온」 또는 「r.t.」은, 통상적으로 약 0℃ 내지 약 35℃의 온도를 나타내는 것으로 한다. 실시예 중의 「DMT-MM」은, 4-(4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진-2-일)-4-메틸모르폴리늄클로라이드(CAS REGISTRY NO.: 3945-69-5)를 의미하고, 시판품 또는 문헌에 공지된 방법으로 합성한 것을 사용할 수 있다.

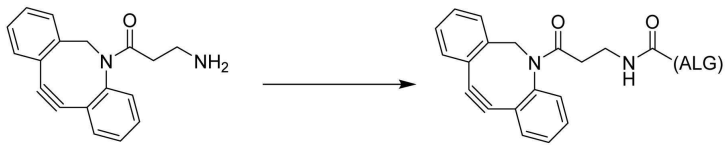
[0912] 실시예 중의 반응성기 도입률(mol%)은 $^{1}$H-NMR($D_2O$)의 적분비로부터 산출된 알긴산을 구성하는 단당(글루론산 및 만누론산) 단위의 몰수에 대한 도입된 반응성기의 몰수의 비율을 나타내는 것으로 한다.

[0913] 실시예 중, 알긴산나트륨은, 상기 표 8에 기재되는 물성값을 나타내는 알긴산나트륨(A-1 내지 A-3 또는 B-2 내지 B-3)을 사용하였다. 또한, 알긴산나트륨 혹은 각종 알긴산 유도체는, 필요에 따라 여과 멸균을 실시하였다.

[0914] 표 24-1 내지 표 24-2에는, (실시예 1) 내지 (실시예 18)에서 얻어진, 반응성기가 도입된 알긴산 유도체의 물성값(구체적으로는, 반응성기 도입률(mol%), 분자량 및 중량 평균 분자량(Da))을 나타낸다.

[0915] 표 25-1 내지 표 25-3에는, 실시예 중의 각 중간체의 $^{1}$H-NMR, LC-Mass의 데이터를 나타낸다.

[0916] (실시예 1a～i) 디벤조시클로옥틴-아미노기 도입 알긴산(1-A2, 1-A1, 1-A3, 1-B2, 1-B2b, 1-B2c, 1-A2b, 1-A2c 및 1-A2d)의 합성:




SM1 1-A2,1-A1,1-A3,1-B2,1-B2b, 1-B2c,1-A2b,1-A2c, 1-A2d

[0917]

[0918] 하기의 합성 방법 및 반응 조건에서, 1-A2, 1-A1, 1-A3, 1-B2, 1-B2b, 1-B2c, 1-A2b, 1-A2c 및 1-A2d의 화합물을 합성하였다.

[0919] [합성 방법]

[0920] 1중량% 또는 2중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제) 수용액에, 4-(4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진-2-일)-4-메틸모르폴리늄클로라이드(DMT-MM), 1몰 농도-중조수를 첨가하였다. 이 용액에, 시판하고 있는 디벤조시클로옥틴-아민(3-아미노-1-(11,12-디데히드로디벤즈[b,f]아조신-5(6H)-일)-1-프로파논)[CAS REGISTRY NO.: 1255942-06-3](SM1)의 에탄올(EtOH 1) 용액을 적하하고, 실온에서 교반하였다. 염화나트륨을 첨가한 후, 에탄올을 첨가하고, 실온에서 교반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올(EtOH 2)로 세정 후, 감압 건조시켜서, 표기 화합물을 얻었다. 실시예 1g, 1h 및 1i는, 전번의 조작으로 얻어진 고체를 물에 녹이고, 동결 건조시킴으로써 표기 화합물을 얻었다.

[0921] [반응 조건 · 결과]

[0922] [표 10]

| 실시예 | 1a | 1b | 1c | 1d | 1e |
|---|---|---|---|---|---|
| 화합물 | 1-A2 | 1-A1 | 1-A3 | 1-B2 | 1-B2b |
| 알긴산나트륨 | A-2 | A-1 | A-3 | B-2 | B-2 |
| 1중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | 43.6 | 19.32 | 15.06 | 53 | 35 |
| 2중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | * | * | * | * | * |
| DMT-MM(mg) | 111.65 | 49.47 | 38.57 | 111 | 14.7 |
| 1몰 농도-중조수(μL) | 403.5 | 178.8 | 139.4 | 134 | 17.7 |
| SM1(mg) | 83.62 | 37.05 | 28.88 | 36.9 | 4.9 |
| EtOH 1(mL) | 2 | 4 | 2 | 5.3 | 3.5 |
| 반응 시간(시간) | 18 | 20 | 23 | 3 | 3.5 |
| 반응 온도 | r.t. | r.t. | r.t. | 30℃ | 30℃ |
| NaCl(mg) | 400 | 200 | 150 | 530 | 350 |
| EtOH 2(mL) | 87.2 | 38.64 | 60.24 | 101 | 70 |
| 후처리 교반 시간(분) | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| 수량(mg) | 376 | 184 | 164 | 465 | 329 |
| 형태(색·형) | 담황색 고체 | 담황색 고체 | 담황색 고체 | 백색 고체 | 백색 고체 |

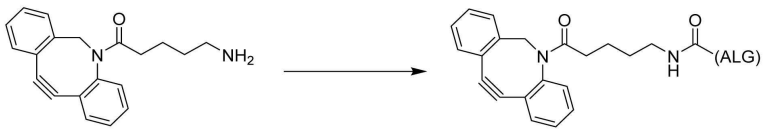
[0923]

[0924] [표 11]

| 실시예 | 1f | 1g | 1h | 1i |
|---|---|---|---|---|
| 화합물 | 1-B2c | 1-A2b | 1-A2c | 1-A2d |
| 알긴산나트륨 | B-2 | A-2 | A-2 | A-2 |
| 1중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | 60 | 120 | 120 | * |
| 2중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | * | * | * | 250 |
| DMT-MM(mg) | 67 | 335 | 67 | 279 |
| 1몰 농도-중조수(μL) | 60.5 | 303 | 61 | 252 |
| SM1(mg) | 16.7 | 84 | 17 | 70 |
| EtOH 1(mL) | 6 | 12 | 12 | 25 |
| 반응 시간(시간) | 3 | 3 | 3.5 | 3 |
| 반응 온도 | 30℃ | 30℃ | 30℃ | 32℃ |
| NaCl(mg) | 600 | 1200 | 1200 | 5000 |
| EtOH 2(mL) | 120 | 240 | 240 | 500 |
| 후처리 교반 시간(분) | 30 | 105 | 30 | 30 |
| 수량(mg) | 558 | 1174 | 1138 | 4600 |
| 형태(색·형) | 백색 고체 | 백색 고체 | 백색 고체 | 백색 고체 |

[0925]

[0926] (실시예 2) 5-아미노-1-(11,12-디데히드로디벤즈[b,f]아조신-5(6H)-일)-1-펜타논기(ADIBO-C5-아민) 도입 알긴산(2-B2)의 합성:

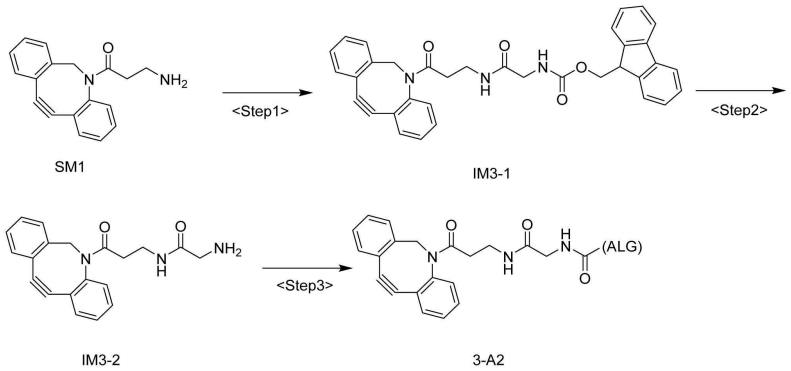



SM2 2-B2

[0927]

[0928] 1중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제: B-2) 수용액(28.5mL)에, DMT-MM(60mg), 문헌에 공지된 방법으로 얻어진 ADIBO-C5-아민[CAS REGISTRY NO.: 2401876-29-5](SM2)(22mg)의 에탄올(2.9mL) 용액, 1몰 농도-중조수(72μL)를 첨가하고, 30℃에서 3시간 교반하였다. 염화나트륨(285mg)을 첨가한 후, 에탄올(57mL)을 첨가하고, 30분간 실온에서 교반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올로 세정 후, 감압 건조시켜서, 표기 화합물(277mg)을 백색 고체로서 얻었다.

[0929] (실시예 3) 2-아미노-N-[3-(11,12-디데히드로디벤즈[b,f]아조신-5(6H)-일)-3-옥소프로필]아세트아미드기 도입 알긴산(3-A2)의 합성:




[0930]

[0931] <Step 1> (9H-플루오렌-9-일)메틸-N-[3-(11,12-디데히드로디벤즈[b,f]아조신-5(6H)-일)-3-옥소프로필]아세트아미드-2-카르바메이트(IM3-1)의 합성:

[0932] 식 SM1의 화합물(50mg), N-[(9H-플루오렌-9-일메톡시)카르보닐]글리신[CAS REGISTRY NO.: 29022-11-5](54mg)을 아세토니트릴(1.5mL)에 용해하였다. O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸유로늄헥사플루오로인산염(76mg), N,N-디이소프로필에틸아민(70μL)을 첨가하고, 실온에서 4.5시간 교반하였다. 반응액에, 아세트산에틸(15mL), 물(5mL)을 첨가하고, 분액 후, 유기층을 물, 포화 식염수로 순차 세정하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 감압 농축하고, 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 정제하여, 표기 화합물(63mg)을 옅은 베이지 비정질로서 얻었다.

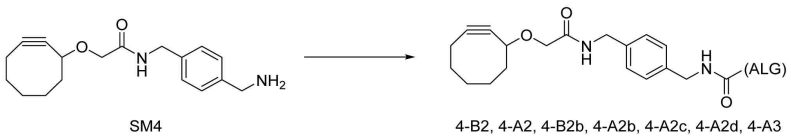
[0933] <Step 2> 2-아미노-N-[3-(11,12-디데히드로디벤즈[b,f]아조신-5(6H)-일)-3-옥소프로필]아세트아미드(IM3-2)의 합성:

[0934] (실시예 3) <Step 1>에서 얻어진 식 IM3-1의 화합물(63mg)에, 피페리신(56μL)의 N,N-디메틸포름아미드(315μL) 용액을 첨가하고, 실온에서 30분간 교반하였다. 반응액에, 아세트산에틸(15mL), 물(5mL)을 첨가하고, 분액 후, 유기층을 물, 포화 식염수로 순차 세정하였다. 유기층을, 무수 황산나트륨으로 건조 후, 감압 농축하였다. 얻어진 고체에, tert-부틸메틸에테르(5mL)를 첨가하고, 트리츄레이트한 후, 여과취출하여, 표기 화합물(10mg)을 옅은 베이지 고체로서 얻었다. 또한, 여액으로부터 회수하여, 추가로, 표기 화합물(11mg)을 담황색 검상물로서 얻었다.

[0935] <Step 3> 2-아미노-N-[3-(11,12-디데히드로디벤즈[b,f]아조신-5(6H)-일)-3-옥소프로필]아세트아미드기 도입 알긴산(3-A2)의 합성:

[0936] 1중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제: A-2) 수용액(19mL)에, DMT-MM(106mg), (실시예 3) <Step 3>에서 얻어진 식 IM3-2의 화합물(21mg)의 에탄올(1.9mL) 용액, 1몰 농도-중조수(48μL)를 첨가하였다. 30℃에서 3시간 교반한 후, 염화나트륨(0.19g), 에탄올(38mL)을 순차 첨가하고, 30분간 실온에서 교반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올로 세정 후, 감압 건조시켰다. 얻어진 고체를 물에 용해 후 동결건조시켜서, 표기 화합물(188mg)을 백색 고체로서 얻었다.

[0937] (실시예 4a~g) N-(4-(아미노메틸)벤질)-2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드기 도입 알긴산(4-B2, 4-A2, 4-B2b, 4-A2b, 4-A2c, 4-A2d 및 4-A3)의 합성:




[0938]

[0939] 하기의 합성 방법 및 반응 조건에서, 4-B2, 4-A2, 4-B2b, 4-A2b, 4-A2c, 4-A2d 및 4-A3의 화합물을 합성하였다.

[0940] [합성 방법]

[0941] 1중량% 또는 2중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제) 수용액에, 실온 교반 하, DMT-MM을 첨가하였다. 계속해서, 문헌에 공지된 방법으로 얻어진 N-[[4-(아미노메틸)벤질]-2-(2-시클로옥틴-1-

일옥시)-아세트아미드[CAS REGISTRY NO.: 2401876-33-1](SM4)의 에탄올(EtOH 1) 용액을 실온에서 적하하고, 교반하였다. 실온으로 냉각 후, 염화나트륨을 첨가한 후, 에탄올(EtOH 2)을 첨가하고, 교반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올(2mL)로 3회 세정 후, 감압 하 건조시켜서, 표기 화합물을 얻었다. 실시예 4c, 4d, 4e, 4f 및 4g는, 전번의 조작으로 얻어진 고체를 물에 녹이고, 동결 건조시킴으로써 표기 화합물을 얻었다.

[0942] [반응 조건 · 결과]

[0943] [표 12]

| 실시예 | 4a | 4b | 4c | 4d |
|---|---|---|---|---|
| 화합물 | 4-B2 | 4-A2 | 4-B2b | 4-A2b |
| 알긴산나트륨 | B-2 | A-2 | B-2 | A-2 |
| 1중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | 50.86 | 30.1 | 200 | 120 |
| 2중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | * | * | * | * |
| DMT-MM(mg) | 118 | 83.7 | 335.0 | 73.7 |
| 1몰 농도-중조수(μL) | * | 75.7 | 303 | 66.6 |
| SM4(mg) | 35 | 22.7 | 98.9 | 22.2 |
| EtOH 1(mL) | 3 | 3 | 20 | 6 |
| 반응 시간(시간) | 4 | 3 | 4 | 3 |
| 반응 온도 | 40℃ | 30℃ | 30℃ | 32℃ |
| NaCl(mg) | 500 | 300 | 2.0(g) | 1200 |
| EtOH 2(mL) | 101.72 | 60 | 400 | 240 |
| 후처리 교반 시간(분) | 30 | 30 | 30 | 60 |
| 수량(mg) | 521 | 285 | 1.96(g) | 1100 |
| 형태(색·형) | 백색 고체 | 백색 고체 | 백색 고체 | 백색 고체 |

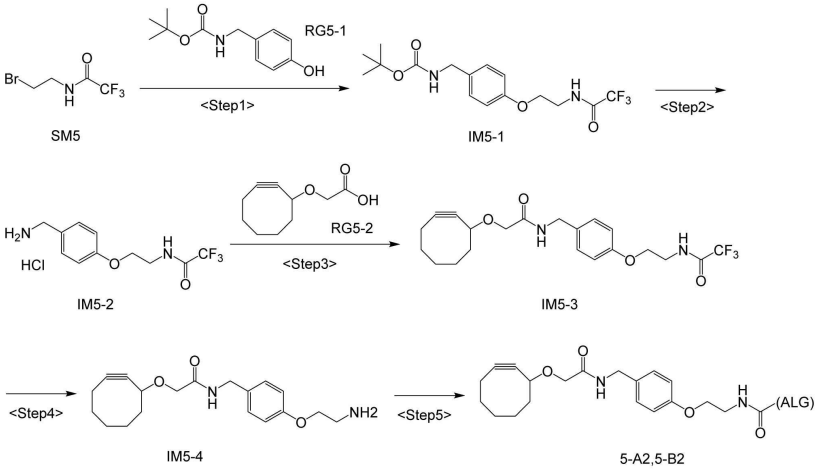
[0944]

[0945] [표 13]

| 실시예 | 4e | 4f | 4g |
|---|---|---|---|
| 화합물 | 4-A2c | 4-A2d | 4-A3 |
| 알긴산나트륨 | A-2 | A-2 | A-3 |
| 1중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | * | * | 100 |
| 2중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | 250 | 600 | * |
| DMT-MM(mg) | 279.1 | 670 | 56 |
| 1몰 농도-중조수(μL) | 252 | 606 | 50 |
| SM4(mg) | 84.2 | 202 | 17 |
| EtOH 1(mL) | 25 | 60 | 5 |
| 반응 시간(시간) | 3 | 3.25 | 3 |
| 반응 온도 | 32℃ | 32℃ | 32℃ |
| NaCl(mg) | 5000 | 12000 | 1000 |
| EtOH 2(mL) | 500 | 1200 | 200 |
| 후처리 교반 시간(분) | 30 | 75 | 30 |
| 수량(mg) | 4570 | 10690 | 940 |
| 형태(색·형) | 백색 고체 | 백색 고체 | 백색 고체 |

[0946]

[0947] (실시예 5a, b) N-(4-(2-아미노에톡시)벤질)-2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드기 도입 알긴산(5-A2 및 5-B2)의 합성:




[0948]

[0949] <Step 1> tert-부틸(4-(2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미드)에톡시)벤질)카르바메이트(IM-5-1)의 합성:

[0950] 시판하고 있는 tert-부틸(4-히드록시벤질)카르바메이트(식 RG5-1, CAS REGISTRY NO.: 149505-94-2)(0.36g), 시판 또는 문헌에 공지된 방법으로 합성하여 얻어진 N-(2-브로모에틸)-2,2,2-트리플루오로아세트아미드(식 SM5, CAS REGISTRY NO.: 75915-38-7)(0.46g), 요오드화 칼륨(0.35g) 및 N-메틸피롤리돈(3.6mL)의 혼합물에 대하여 실온에서 탄산칼륨(0.45g)을 첨가하고, 140℃에서 5시간 교반하였다. 반응 종료 후, 실온까지 냉각하고, 물(10mL)로 희석하였다. 메틸tert-부틸에테르(10mL)로 3회 추출하고, 유기층을 1 규정-수산화나트륨 수용액(5mL)으로 2회, 물(5mL), 포화 식염수(5mL)로 순차 세정하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 유기층을 여과 후, 감압 하에서 농축함으로써, 조생성물을 얻었다. 얻어진 조생성물을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(n-헵탄/아세트산에틸)로 정제하여, 표기 화합물(0.202g)을 백색 비정질로서 얻었다.

[0951] <Step 2> N-(2-(4-(아미노메틸)페녹시)에틸)-2,2,2-트리플루오로아세트아미드염산염(IM5-2)의 합성:

[0952] (실시예 5) <Step 1>에서 얻어진 식 IM5-1의 화합물(0.2g) 및 1,4-디옥산(1.4mL)의 혼합물에 대하여 수랭 교반하, 4 규정-염화수소/1,4-디옥산(1.4mL)을 첨가한 후, 실온에서 7시간 교반하였다. 반응액에, 디이소프로필에테르(20mL)를 첨가하고, 현탁액을 실온에서 1일 교반하였다. 석출물을 여과하고, 회수한 고체를 감압 건조시켜서, 표기 화합물(0.15g)을 백색 고체로서 얻었다.

[0953] <Step 3> N-(2-(4-((2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드)메틸)페녹시)에틸)-2,2,2-트리플루오로아세트아미드(IM5-3)의 합성:

[0954] 문헌에 공지된 방법(Org. Process Res. Dev.(2018)22: 108-110)에 따라서 합성한 2-(2-시클로옥틴-1-일옥시)-아세트산(식 RG5-2)[CAS REGISTRY NO.: 917756-42-4](50mg), (실시예 5) <Step 2>에서 합성한 식 IM5-2의 화합물(81.96mg) 및 에탄올(1mL)의 혼합물에 대하여 빙랭 교반 하, DMT-MM(137.22mg) 및 트리에틸아민(38.25μL)을 첨가하고, 실온에서 1시간 30분 교반하였다. 반응 종료 후, 물(2mL)을 첨가하고, 현탁액을 교반하고, 메틸tert-부틸에테르(0.5mL)를 첨가하였다. 분리한 수층을 메틸tert-부틸에테르(5mL)로 2회 추출하고, 물(5mL), 포화 식염수(5mL)로 순차 세정하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조시킨 유기층을 여과하고, 감압 하에서 농축하였다. 조생성물을 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(n-헵탄/아세트산에틸)로 정제하여, 표기 화합물(99mg)을 백색 비정질로서 얻었다.

[0955] <Step 4> N-(4-(2-아미노에톡시)벤질-2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드(IM5-4)의 합성:

[0956] (실시예 5) <Step 3>에서 얻어진 식 IM5-3의 화합물(99mg) 및 메탄올(1485μL)의 혼합물에 대하여 수랭 교반하, 탄산칼륨(64.17mg) 및 물(495μL)을 첨가하고, 실온에서 15시간 교반하였다. 반응 종료 후, 메탄올을 감압 하에서 농축하고, 발생한 수층을 아세트산에틸(5mL)로 3회 추출하였다. 유기층을 물(5mL) 및 포화 식염수(5mL)로 순차 세정하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. 건조시킨 유기층을 여과 후, 감압 하에서 농축함으로써, 표기 화합물(68mg)의 조생성물을 황색 유상물로서 얻었다.

[0957] <Step 5> N-(4-(2-아미노에톡시)벤질)-2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드기 도입 알긴산(5-A2 및 5-B2)의 합성:

[0958] 하기의 합성 방법 및 반응 조건에서, 식 5-A2 및 5-B2의 화합물을 합성하였다.

[0959] [합성 방법]

[0960] 1중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제) 수용액에, 실온 교반 하, DMT-MM을 첨가하였다. 계속해서 (실시예 5) <Step 4>에서 얻어진 식 IM5-4의 화합물 물(1mL) 및 에탄올(EtOH 1) 용액을 실온에서 적하하고, 동온에서 교반한 후, 염화나트륨, 에탄올(EtOH 2)을 순차 첨가하고, 실온에서 교반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올로 세정 후, 감압 건조시켰다. 얻어진 고체를 물에 용해 후 동결 건조시켜서, 표기 화합물을 얻었다.

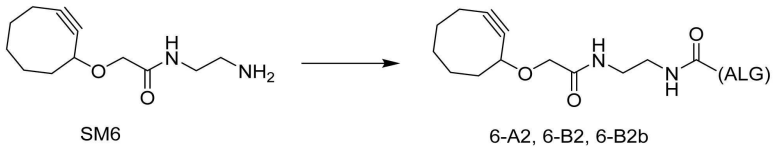
[0961] [반응 조건 · 결과]

[0962] [표 14]

| 실시예 | 5a | 5b |
|---|---|---|
| 화합물 | 5-A2 | 5-B2 |
| 알긴산나트륨 | A-2 | B-2 |
| 1중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | 49.44 | 40.08 |
| DMT-MM(mg) | 152.54 | 123.66 |
| IM5-4(mg) | 37.79 | 30.64 |
| EtOH 1(mL) | 1 | 1 |
| 반응 시간(시간) | 15 | 15 |
| 반응 온도 | r.t. | r.t. |
| NaCl(mg) | 500 | 400 |
| EtOH 2(mL) | 98.88 | 80.16 |
| 후처리 교반 시간(분) | 30 | 30 |
| 수량(mg) | 479 | 356 |
| 형태(색·형) | 백색 고체 | 백색 고체 |

[0963]

[0964] (실시예 6a, 6b, 6c) N-(2-아미노에틸)-2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드기 도입 알긴산(6-A2, 6-B2 및 6-B2b)의 합성:




[0965]

[0966] 하기의 합성 방법 및 반응 조건에서, 6-A2, 6-B2 및 6-B2b의 화합물을 합성하였다.

[0967] [합성 방법]

[0968] 1중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제) 수용액에, 실온 교반 하, DMT-MM, 문헌에 공지된 방법으로 얻어진 N-(2-아미노에틸)-2-(2-시클로옥틴-1-일옥시)-아세트아미드[CAS REGISTRY NO.: 1809789-76-1](SM$_6$)의 에탄올(EtOH 1) 용액, 1몰 농도 중조수를 순차 첨가하고, 교반하였다. 반응액에, 염화나트륨을 첨가한 후, 에탄올(EtOH 2)을 첨가하고, 교반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올로 세정 후, 감압 건조시켜서, 표기 화합물을 얻었다. 전번의 조작으로 얻어진 고체를 물에 녹이고, 동결 건조시킴으로써 표기 화합물을 얻었다.

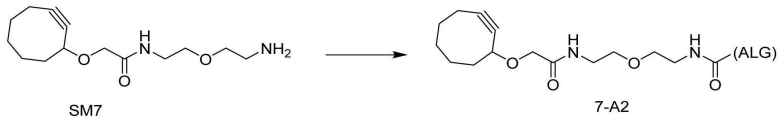
[0969] [반응 조건 · 결과]

[0970] [표 15]

| 실시예 | 6a | 6b | 6c |
|---|---|---|---|
| 화합물 | 6-A2 | 6-B2 | 6-B2b |
| 알긴산나트륨 | A-2 | B-2 | B-2 |
| 1중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | 30 | 120 | 120 |
| DMT-MM(mg) | 84 | 335 | 167 |
| SM6(mg) | 17 | 68 | 34 |
| EtOH 1(mL) | 3 | 12 | 12 |
| 1몰 농도 중조수(μL) | 76 | 303 | 151 |
| 반응 시간(시간) | 3 | 3 | 3 |
| 반응 온도 | 30℃ | 30℃ | 30℃ |
| NaCl(mg) | 300 | 1200 | 1200 |
| EtOH 2(mL) | 60 | 240 | 240 |
| 후처리 교반 시간(분) | 90 | 90 | 90 |
| 수량(mg) | 290 | 1160 | 1120 |
| 형태(색·형) | 백색 고체 | 백색 고체 | 백색 고체 |

[0971]

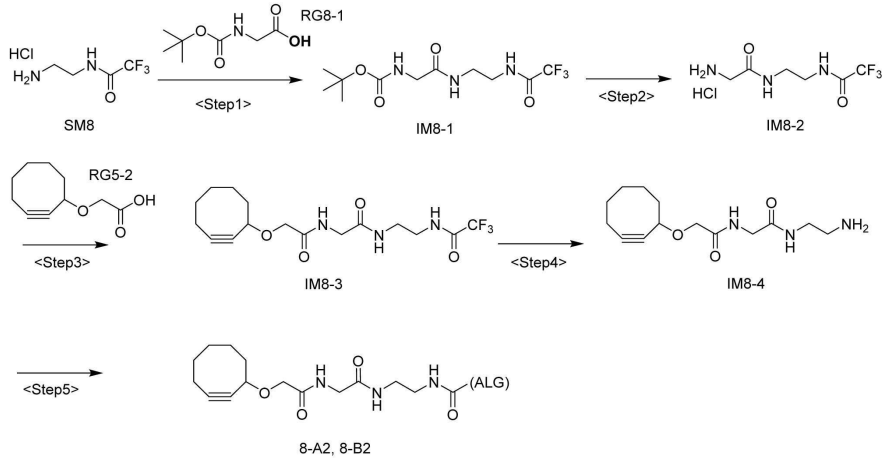
[0972] (실시예 7) N-(2-(2-아미노에톡시)에틸)-2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드기 도입 알긴산(7-A2)의 합성:




[0973]

[0974] 1중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제, A-2) 수용액(40mL)에, 실온 교반 하, DMT-MM(112mg), 문헌에 공지된 방법으로 얻어진 N-[2-(2-아미노에톡시)에틸]-2-(2-시클로옥틴-1-일옥시)-아세트아미드[CAS REGISTRY NO.: 2401876-51-3](SM7)(30mg)의 에탄올(4.0mL) 용액, 1몰 농도 중조수(101μL)를 순차 첨가하고, 30℃에서 3시간 교반하였다. 반응액에, 염화나트륨(0.4g)을 첨가한 후, 에탄올(80mL)을 첨가하고, 30분간 교반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올로 세정 후, 감압 건조시켰다. 얻어진 고체를 물에 녹이고, 동결 건조시켜서, 표기 화합물(410mg)을 백색 고체로서 얻었다.

[0975] (실시예 8a, 8b) N-(2-아미노에틸)-2-(2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드)아세트아미드기 도입 알긴산(8-A2, 8-B2)의 합성:




[0976]

[0977] <Step 1> tert-부틸(2-옥소-2-((2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미드)에틸)아미노)에틸)카르바메이트(IM8-1)의 합성:

[0978] 문헌에 공지된 방법으로 얻어진 N-(2-아미노에틸)-2,2,2-트리플루오로아세트아미드염산염(식 SM8)[CAS REGISTRY NO.: 496946-73-7](100mg) 및 N-(tert-부톡시카르보닐)글리신(식 RG8-1)[CAS REGISTRY NO.: 4530-20-5](91mg)을 아세토니트릴(3.0mL)에 용해하였다. O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸유로늄헥사플루오로인산염(217mg), N,N-디이소프로필에틸아민(281μL)을 첨가하고, 실온에서 3.5시간 교반하였다. 반응액에, 아세트산에틸(15mL), 물(5mL)을 첨가하고, 분액 후, 유기층을 물, 포화 식염수로 순차 세정하였다. 유기층을, 무수 황산나트륨으로 건조 후, 감압 농축하였다. 잔사를 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(용출 용매: 40% 아세트산에틸/n-헵탄→아세트산에틸)로 정제하여, 표기 화합물(180mg)을 옅은 베이지 비정질로서 얻었다.

[0979] <Step 2> N-(2-(2-아미노아세트아미드)에틸)-2,2,2-트리플루오로아세트아미드염산염(IM8-2)의 합성:

[0980] (실시예 8) <Step 1>에서 얻어진 식 IM8-1의 화합물(180mg)에, 빙수냉 하 4 규정-염화수소/1,4-디옥산(1.2mL)을 첨가한 후, 실온에서 0.8시간 교반하였다. 반응액에, 디이소프로필에테르(3.6mL)를 첨가하고, 30분간 교반하였다. 얻어진 고체를 여과하여, 표기 화합물(114mg)을 백색 고체로서 얻었다.

[0981] <Step 3> N-(2-(2-(2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드)아세트아미드)에틸)-2,2,2-트리플루오로아세트아미드(IM8-3)의 합성:

[0982] 문헌에 공지된 방법으로 얻어진 2-(2-시클로옥틴-1-일옥시)-아세트산(식 RG5-2)[CAS REGISTRY NO.: 917756-42-4](80mg), (실시예 8) <Step 2>에서 얻어진 식 IM8-2의 화합물(110mg)에, 에탄올(1.6mL), DMT-MM(219mg), 트리에틸아민(67μL)을 첨가하고, 실온에서 3시간 교반하였다. 반응액에, 물(3.2mL)을 첨가하고, 실온에서 30분간 교반한 후, 고체를 여과하고, 물로 세정하였다. 얻어진 고체에, 아세트산에틸/에탄올(1/1, 10mL)을 첨가하고, 불용물을 여과 제거하였다. 여액을 감압 농축하여, 표기 화합물(101mg)을 백색 고체로서 얻었다.

[0983] <Step 4> N-(2-(아미노에틸)-2-(2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드)아세트아미드(IM8-4)의 합성:

[0984] (실시예 8) <Step 3>에서 얻어진 식 IM8-3의 화합물(60mg)의 메탄올(1.8mL) 용액에, 탄산칼륨(59mg)의 물(0.3mL) 용액을 첨가하고, 실온에서 4시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축한 후, 물(2mL)을 첨가하고, 염화나트륨으로 포화시켰다. 아세트산에틸(15mL, 10mL×4)로 추출하고, 유기층을 감압 농축하였다. 잔사에 아세트산에틸(10mL), 에탄올(1mL)을 첨가하고, 불용물을 여과 제거하였다. 얻어진 여액을 감압 농축하여, 표기 화합물(49mg)을 무색 검상물로서 얻었다.

[0985] <Step 5> N-(2-아미노에틸)-2-(2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드)아세트아미드기 도입 알긴산(8-A2 및 8-B2)의 합성:

[0986] 하기의 합성 방법 및 반응 조건에서, 식 8-A2 및 8-B2의 화합물을 합성하였다.

[0987] [합성 방법]

[0988] 1중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제) 수용액에, DMT-MM, 식 IM8-4의 화합물 에탄올(EtOH 1) 용액, 1몰 농도-중조수를 첨가하고, 교반한 후, 염화나트륨, 에탄올(EtOH 2)을 순차 첨가하고, 실온에서 교반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올로 세정 후, 감압 건조시켰다. 얻어진 고체를 물에 용해 후 동결 건조시켜서, 표기 화합물을 백색 고체로서 얻었다. 전번의 조작으로 얻어진 고체를 물에 녹이고, 동결 건조시킴으로써 표기 화합물을 얻었다.

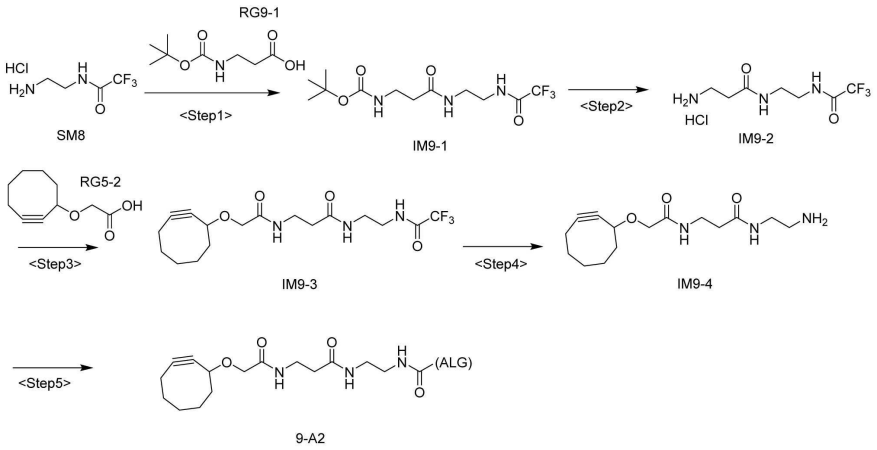
[0989] [반응 조건 · 결과]

[0990] [표 16]

[0991]

| 실시예 | 8a | 8b |
|---|---|---|
| 화합물 | 8-A2 | 8-B2 |
| 알긴산나트륨 | A-2 | B-2 |
| 1중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | 38 | 38 |
| DMT-MM(mg) | 106 | 64 |
| IM8-4(mg) | 30.3 | 18.2 |
| EtOH 1(mL) | 3.8 | 3.8 |
| 1몰 농도 중조수(μL) | 96 | 58 |
| 반응 시간(시간) | 3.2 | 3.2 |
| 반응 온도 | 30℃ | 30℃ |
| NaCl(mg) | 380 | 380 |
| EtOH 2(mL) | 76 | 76 |
| 후처리 교반 시간(분) | 30 | 30 |
| 수량(mg) | 381 | 366 |
| 형태(색·형) | 백색 고체 | 백색 고체 |

[0992] (실시예 9) N-(2-아미노에틸)-3-(2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드)프로판아미드기 도입 알긴산(9-A2)의 합성:




[0993]

[0994] <Step 1> tert-부틸(3-옥소-3-((2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미드)에틸)아미노)프로필)카르바메이트(IM9-1)의 합성:

[0995] 문헌에 공지된 방법으로 얻어진 N-(2-아미노에틸)-2,2,2-트리플루오로아세트아미드염산염(식 SM8)(110mg) 및 N-(tert-부톡시카르보닐)-β-알라닌(식 RG9-1)[CAS REGISTRY NO.: 3303-84-2](113.5mg)을 아세토니트릴(3.3mL)에 용해하고, O-(7-아자벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸유로늄헥사플루오로인산염(261mg), N,N-디이소프로필에틸아민(319μL)을 첨가하고, 실온에서 3시간 교반하였다. 반응액에, 아세트산에틸(15mL), 물(5mL)을 첨가하고, 분액 후, 유기층을 물, 포화 식염수로 순차 세정하였다. 유기층을, 무수 황산나트륨으로 건조 후, 감압 농축하고, 메틸tert-부틸에테르(20mL)로 트리츄레이트하였다. 고체를 여과취출하고, 아세트산에틸(20mL)에 용해하였다. 유기층을, 1 규정-시트르산, 물, 포화 식염수로 순차 세정한 후, 무수 황산나트륨으로 건조 후, 감압 농축하였다. 잔사를 메틸tert-부틸에테르(10mL)로 트리츄레이트한 후, 고체를 여과취출하여, 표기 화합물(80mg)을 백색 고체로서 얻었다.

[0996] <Step 2> 3-아미노-N-(2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미드)에틸)프로판아미드염산염(IM9-2)의 합성:

[0997] (실시예 9) <Step 1>에서 얻어진 식 IM9-1의 화합물(80mg)에, 빙수냉 하 4 규정-염화수소/1,4-디옥산(1.1mL)을 첨가한 후, 실온에서 2시간 교반하였다. 반응액에, 디이소프로필에테르(3.4mL)를 첨가하고, 1.5시간 교반하였다. 얻어진 고체를 여과하여, 표기 화합물(61mg)을 백색 고체로서 얻었다.

[0998] <Step 3> 3-(2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드)-N-(2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미드)에틸)프로판아미드(IM9-3)의 합성:

[0999] 문헌에 공지된 방법으로 얻어진 식 RG5-2의 화합물(44mg), (실시예 9) <Step 2>에서 얻어진 식 IM9-2의 화합물(61mg)에, 에탄올(1.2mL), DMT-MM(115mg), 트리에틸아민(39μL)을 첨가하고, 실온에서 2시간 교반하였다. 반응액에, 물(3.7mL)을 첨가하고, 아세트산에틸(15mL, 5mL)로 추출하였다. 유기층을, 물, 포화 식염수로 순차 세정하고, 무수 황산나트륨건조 후, 감압 농축하였다. 얻어진 고체에, tert-부틸메틸에테르(10mL)를 첨가하고, 트리츄레이트하고, 여과하였다. 얻어진 고체를 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(80% 아세트산에틸/n-헵탄→아세트산에틸→20% 메탄올/아세트산에틸)로 정제하여, 표기 화합물(60mg)을 담황색 고체로서 얻었다.

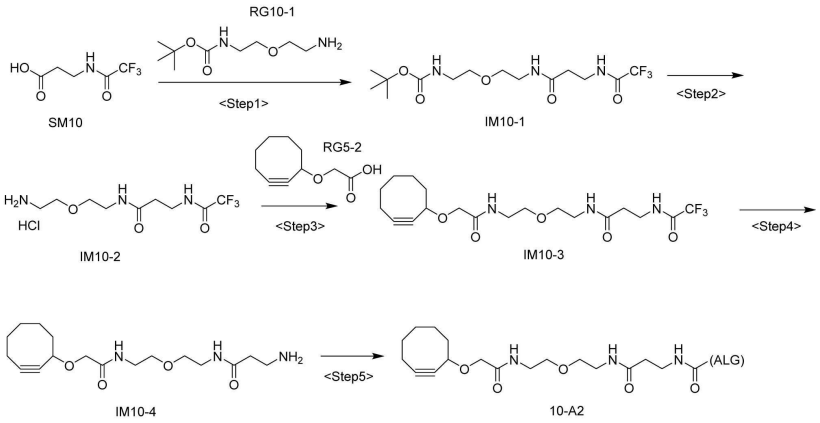
[1000] <Step 4> N-(2-(아미노에틸)-3-(2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드)프로판아미드(IM9-4)의 합성:

[1001] (실시예 9) <Step 3>에서 얻어진 식 IM9-3의 화합물(60mg)의 메탄올(3.0mL) 용액에, 탄산칼륨(42mg)의 물(0.3mL) 용액을 첨가하고, 실온에서 3시간 교반 후, 또한, 탄산칼륨(42mg)의 물(0.3mL) 용액을 첨가하고, 실온에서 16.5시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축한 후, 포화 식염수(2mL)를 첨가하고, 또한 염화나트륨으로 포화시켰다. 아세트산에틸(15mL, 10mL×4)로 추출하고, 추출층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 감압 농축하였다. 잔사에 아세트산에틸(5mL)과 몇방울의 메탄올을 첨가하고, 불용물을 여과 제거하였다. 얻어진 여액을 감압 농축하여, 표기 화합물(31mg)을 무색 유상물로서 얻었다.

[1002] <Step 5> N-(2-아미노에틸)-3-(2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드)프로판아미드기 도입 알긴산(9-A2)의 합성:

[1003] 1중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제: A-2) 수용액(41mL)에, DMT-MM(114mg), (실시예 9) <Step 4>에서 얻어진 식 IM9-4의 화합물(30.5mg)의 에탄올(4.1mL) 용액, 1몰 농도-중조수(103μL)를 첨가하였다. 30℃에서 3시간 교반한 후, 염화나트륨(0.41g), 에탄올(82mL)을 순차 첨가하고, 30분간 실온에서 교반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올로 세정 후, 감압 건조시켰다. 얻어진 고체를 물에 용해 후 동결 건조시켜서, 표기 화합물(406mg)을 백색 고체로서 얻었다.

[1004] (실시예 10) 3-아미노-N-(2-(2-(2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드)에톡시)에틸)프로판아미드기 도입 알긴산(10-A2)의 합성:




[1005]

[1006] <Step 1> tert-부틸(2-(2-(3-(2,2,2-트리플루오로아세트아미드)프로판아미드)에톡시)에틸)카르바메이트(IM10-1)의 합성:

[1007] 문헌에 공지된 방법으로 얻어진 식 SM10의 화합물[CAS REGISTRY NO.: 50632-82-1](400mg) 및 시판품 또는 문헌 공지가 방법으로 얻어지는 식 RG10-1의 화합물(tert-부틸(2-(2-아미노에톡시)에틸)카르바메이트, CAS REGISTRY NO.: 127828-22-2)(441mg)의 에탄올(4.0mL) 용액에, DMT-MM(897mg)을 첨가하고, 3.5시간 교반하였다. 반응액에, 물(5mL)을 첨가하고, 아세트산에틸(20mL, 10mL)로 추출 후, 유기층을 물, 포화 식염수로 순차 세정하였다. 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 감압 농축하고, 잔사를 실리카겔 칼럼 크로마토그래피([용출 용매·비율%]아세트산에틸:n-헵탄=30:70→아세트산에틸:n-헵탄=100:0)로 정제하여, 표기 화합물(451mg)을 무색 유상물로서 얻었다.

[1008] <Step 2> N-(2-(2-아미노에톡시)에틸)-3-(2,2,2-트리플루오로아세트아미드)프로판아미드염산염(IM10-2)의 합성:

[1009] (실시예 10) <Step 1>에서 얻어진 식 IM10-1의 화합물(451mg)에, 빙수냉 하 4 규정-염화수소/1,4-디옥산(3.16mL)을 첨가하고, 실온에서 3시간 교반하였다. 반응액에, 디이소프로필에테르(6.4mL)를 첨가하고, 감압 농축하여, 표기 화합물(433mg)을 무색 검상물로서 얻었다.

[1010] <Step 3> N-(2-(2-(2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드)에톡시)에틸-3-(2,2,2-트리플루오로아세트아미드)프로판아미드(IM10-3)의 합성:

[1011] 문헌에 공지된 방법으로 얻어진 식 RG5-2의 화합물(111mg) 및 (실시예 10) <Step 2>에서 얻어진 식 IM10-2 화합물(215mg)에, 에탄올(1.7mL), DMT-MM(253mg), 트리에틸아민(102μL)을 첨가하고, 실온에서 21시간 교반하였다. 반응액에, 물(5mL)을 첨가하고, 아세트산에틸(15mL)로 추출하였다. 유기층을, 물, 포화 식염수로 순차 세정하고, 무수 황산나트륨으로 건조 후, 감압 농축하였다. 얻어진 잔사를 실리카겔 칼럼 크로마토그래피([용출 용매·비율%]아세트산에틸:n-헵탄=30:70→아세트산에틸:n-헵탄=100:0→메탄올:아세트산에틸=15:85)로 정제하여, 표기 화합물(35mg)을 무색 유상물로서 얻었다.

[1012] <Step 4> 3-아미노-N-(2-(2-(2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드)에톡시)에틸)프로판아미드(IM10-4)의 합성:

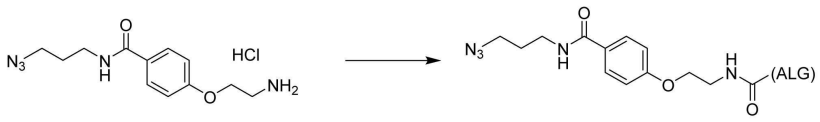
[1013] (실시예 10) <Step 3>에서 얻어진 식 IM10-3의 화합물(35mg)의 메탄올(700μL) 용액에, 탄산칼륨(33mg)의 물(175μL) 용액을 첨가하고, 실온에서 16.5시간 교반하였다. 반응액을 감압 농축한 후, 물(2mL)을 첨가하고, 염화나트륨으로 포화시켰다. 아세트산에틸(10mL×5)로 추출하고, 추출층을 무수 황산나트륨으로 건조 후, 감압 농축하였다. 잔사에 아세트산에틸(10mL)과 몇방울의 메탄올을 첨가하고, 불용물을 여과 제거하였다. 얻어진 여액을 감압 농축하여, 표기 화합물(24mg)을 무색 검상물로서 얻었다.

[1014] <Step 5> 3-아미노-N-(2-(2-(2-(시클로옥트-2-인-1-일옥시)아세트아미드)에톡시)에틸)프로판아미드기 도입 알긴산(10-A2)의 합성:

[1015] 1중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제: A-2) 수용액(28mL)에, DMT-MM(78mg), (실시예 10) <Step 4>에서 얻어진 식 IM10-4의 화합물(24mg)의 에탄올(2.8mL) 용액, 1몰 농도-중조수(71μL)를 첨가하였다. 30℃에서 3.5시간 교반한 후, 염화나트륨(0.28g), 에탄올(56mL)을 순차 첨가하고, 30분간 실온에서 교

반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올로 세정 후, 감압 건조시켰다. 얻어진 고체를 물에 용해 후 동결 건조시켜서, 표기 화합물(272mg)을 백색 고체로서 얻었다.

[1016] (실시예 11a～l) 4-(2-아미노에톡시)-N-(3-아지드프로필)벤즈아미드기 도입 알긴산(11-A2, 11-A1, 11-A3, 11-B2, 11-B2b, 11-B2c, 11-A2b, 11-A2c, 11-B2d, 11-A2d, 11-A2e 및 11-A3)의 합성:




SM11

11-A2, 11-A1, 11-A3, 11-B2,11-B2b, 11-B2c, 11-A2b, 11-A2c, 11-B2d 11-A2d, 11-A2e, 11-A3

[1017]

[1018] 하기의 합성 방법 및 반응 조건에서, 11-A2, 11-A1, 11-A3, 11-B2, 11-B2b, 11-B2c, 11-A2b, 11-A2c, 11-B2d, 11-A2d, 11-A2e 및 11-A3의 화합물을 합성하였다.

[1019] [합성 방법]

[1020] 1중량% 또는 2중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제) 수용액에, DMT-MM, 문헌에 공지된 방법으로 합성한 식 SM11의 화합물(4-(2-아미노에톡시)-N-(3-아지드프로필)벤즈아미드염산염; CAS REGISTRY NO.: 2401876-19-3), 1몰 농도-중조수를 첨가하고 교반하였다. 염화나트륨을 첨가한 후, 에탄올(EtOH 2)을 첨가하고, 실온에서 교반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올로 세정 후, 감압 건조시켜서, 표기 화합물을 고체로서 얻었다. 실시예 11g, 11h, 11i, 11j, 11k 및 11l은, 전번의 조작으로 얻어진 고체를 물에 녹이고, 동결 건조시킴으로써 표기 화합물을 얻었다.

[1021] [반응 조건 · 결과]

[1022] [표 17]

| 실시예 | 11a | 11b | 11c | 11d |
|---|---|---|---|---|
| 화합물 | 11-A2 | 11-A1 | 11-A3 | 11-B2 |
| 알긴산나트륨 | A-2 | A-1 | A-3 | B-2 |
| 0.67중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | * | * | * | * |
| 1중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | 19.6 | 19.32 | 15.06 | 60.0 |
| 2중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | * | * | * | * |
| DMT-MM(mg) | 50.19 | 49.47 | 38.57 | 125.6 |
| 1몰 농도-중조수(μL) | 181.4 | 178.8 | 139.4 | 211.8 |
| SM11(mg) | 54.37 | 53.59 | 41.78 | 45.4 |
| 반응 시간(시간) | 5 | 20 | 5 | 3 |
| 반응 온도 | r.t. | r.t. | r.t. | 30도 |
| NaCl(mg) | 200 | 200 | 150 | 600 |
| EtOH 2(mL) | 39.2 | 38.64 | 60.24 | 120 |
| 후처리 교반 시간(분) | 30 | 30 | 30 | 30 |
| 수량(mg) | 198 | 221 | 155 | 553 |
| 형태(색·형) | 백색 고체 | 백색 고체 | 백색 고체 | 백색 고체 |

[1023]

[1024] [표 18]

| 실시예 | 11e | 11f | 11g | 11h |
|---|---|---|---|---|
| 화합물 | 11-B2b | 11-B2c | 11-A2b | 11-A2c |
| 알긴산나트륨 | B-2 | B-2 | A-2 | A-2 |
| 0.67중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | * | * | * | * |
| 1중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | 35.0 | 60.0 | 120 | 120 |
| 2중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | * | * | * | * |
| DMT-MM(mg) | 14.7 | 67.0 | 335.0 | 200.97 |
| 1몰 농도-중조수(μL) | 26.5 | 90.8 | 453.9 | 272.4 |
| SM11(mg) | 5.3 | 18.1 | 90.7 | 54.4 |
| 반응 시간(시간) | 3.5 | 3 | 3 | 3.5 |
| 반응 온도 | 30도 | 30도 | 30도 | 30도 |
| NaCl(mg) | 350 | 600 | 1200 | 1200 |
| EtOH 2(mL) | 70 | 120 | 240 | 240 |
| 후처리 교반 시간(분) | 30 | 30 | 30 | 30 |
| 수량(mg) | 304 | 568 | 1171 | 1169 |
| 형태(색·형) | 백색 고체 | 백색 고체 | 백색 고체 | 백색 고체 |

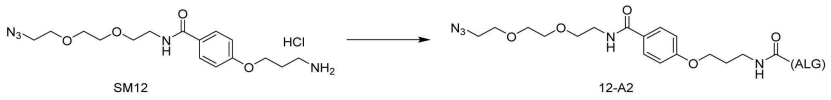
[1025]

[1026] [표 19]

| 실시예 | 11i | 11j | 11k | 11l |
|---|---|---|---|---|
| 화합물 | 11-B2d | 11-A2d | 11-A2e | 11-A3 |
| 알긴산나트륨 | B-2 | A-2 | A-2 | A-3 |
| 0.67중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | * | * | * | 150 |
| 1중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | 250 | * | * | * |
| 2중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | * | 300 | 225 | * |
| DMT-MM(mg) | 697.8 | 1005 | 754 | 167 |
| 1몰 농도-중조수(μL) | 945.7 | 1362 | 1021 | 227 |
| SM11(mg) | 189.0 | 272.1 | 204 | 45 |
| 반응 시간(시간) | 3.5 | 3.6 | 3 | 3.5 |
| 반응 온도 | 30℃ | 32℃ | 32 | 32 |
| NaCl(mg) | 2500 | 6000 | 4500 | 1000 |
| EtOH 2(mL) | 500 | 600 | 450 | 300 |
| 후처리 교반 시간(분) | 30 | 30 | 30 | 30 |
| 수량(mg) | 2420 | 5600 | 4160 | 860 |
| 형태(색·형) | 백색 고체 | 백색 고체 | 백색 고체 | 백색 고체 |

[1027]

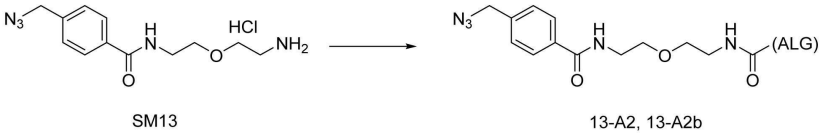
[1028] (실시예 12) 4-(3-아미노프로폭시)-N-(2-(2-(2-아지드에톡시)에톡시)에틸)벤즈아미드기 도입 알긴산(12-A2)의 합성:




[1029]

[1030] 1중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제: A-2) 수용액(19.6mL)에, 빙랭 교반 하, DMT-MM(50.19mg), 문헌에 공지된 방법으로 합성한 식 SM12의 화합물(4-(3-아미노프로폭시)-N-(2-(2-(2-아지드에톡시)에톡시)에틸)벤즈아미드염산염; CAS REGISTRY NO.: 2401876-22-8)(70.35mg), 1몰 농도-중조수(181.4μL)를 첨가하고, 실온에서 5시간 교반하였다. 염화나트륨(200mg)을 첨가한 후, 에탄올(39.2mL)을 첨가하고, 30분간 실온에서 교반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올로 세정 후, 감압 건조시켜서, 표기 화합물(199mg)을 백색 고체로서 얻었다.

[1031] (실시예 13a, b) N-(2-(2-아미노에톡시)에틸)-4-(아지드메틸)벤즈아미드기 도입 알긴산(13-A2 및 13-A2b)의 합성:




[1032]

[1033] 하기의 합성 방법 및 반응 조건에서, 13-A2 및 13-A2b의 화합물을 합성하였다.

[1034] [합성 방법]

[1035] 1중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제) 수용액에, DMT-MM, 문헌에 공지된 방법으로 합성한 식 SM13의 화합물(N-(2-(2-아미노에톡시)에틸)-4-(아지드메틸)벤즈아미드염산염; CAS REGISTRY NO.: 2401876-38-6), 1몰 농도-중조수를 첨가하고 교반하였다. 염화나트륨을 첨가한 후, 에탄올(EtOH 2)을 첨가하고, 실온에서 교반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올로 세정 후, 감압 건조시켜서, 표기 화합물을 고체로서 얻었다. 전번의 조작으로 얻어진 고체를 물에 녹이고, 동결 건조시킴으로써 표기 화합물을 얻었다.

[1036] [반응 조건 · 결과]

[1037] [표 20]

| 실시예 | 13a | 13b |
|---|---|---|
| 화합물 | 13-A2 | 13-A2b |
| 알긴산나트륨 | A-2 | A-2 |
| 1중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | 40 | 140 |
| DMT-MM(mg) | 112 | 234.5 |
| 1몰 농도-중조수(μL) | 151 | 317.7 |
| SM13(mg) | 30 | 63.5 |
| 반응 시간(시간) | 3 | 3 |
| 반응 온도 | 30℃ | 32℃ |
| NaCl(mg) | 400 | 1400 |
| EtOH 2(mL) | 80 | 280 |
| 후처리 교반 시간(분) | 30 | 30 |
| 수량(mg) | 408 | 1320 |
| 형태(색·형) | 백색 고체 | 백색 고체 |

[1038]

[1039] (실시예 14a～c) N-(2-아미노에틸)-4-(아지드메틸)벤즈아미드기 도입 알긴산(14-A2, 14-B2 및 14-A2b)의 합성:




SM14 14-A2, 14-B2, 14-A2b

[1040]

[1041] 하기의 합성 방법 및 반응 조건에서, 14-A2, 14-B2 및 14-A2b의 화합물을 합성하였다.

[1042] [합성 방법]

[1043] 1중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제) 수용액에, DMT-MM, 문헌에 공지된 방법으로 합성한 식 SM14의 화합물(N-(2-아미노에틸)-4-(아지드메틸)벤즈아미드염산염; CAS REGISTRY NO.: 2401876-25-1), 1몰 농도-중조수를 첨가하고 교반하였다. 염화나트륨을 첨가한 후, 에탄올(EtOH 2)을 첨가하고, 실온에서 교반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올로 세정 후, 감압 건조시켜서, 표기 화합물을 고체로서 얻었다. 실시예 13-A2b는, 전번의 조작으로 얻어진 고체를 물에 녹이고, 동결 건조시킴으로써 표기 화합물을 얻었다.

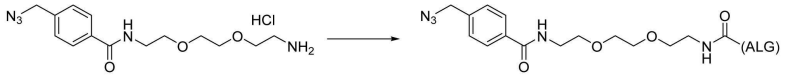
[1044] [반응 조건 · 결과]

[1045] [표 21]

| 실시예 | 14a | 14b | 14c |
|---|---|---|---|
| 화합물 | 14-A2 | 14-B2 | 14-A2b |
| 알긴산나트륨 | A-2 | B-2 | A-2 |
| 1중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | 20 | 20 | 30 |
| DMT-MM(mg) | 84 | 84 | 83.7 |
| 1몰 농도-중조수(μL) | 252 | 151 | 113.5 |
| SM14(mg) | 52 | 26 | 19.3 |
| 반응 시간(시간) | 3 | 3 | 3 |
| 반응 온도 | 30℃ | 30℃ | 30℃ |
| NaCl(mg) | 200 | 200 | 300 |
| EtOH 2(mL) | 40 | 40 | 60 |
| 후처리 교반 시간(분) | 30 | 30 | 30 |
| 수량(mg) | 185 | 187 | 276 |
| 형태(색·형) | 백색 고체 | 백색 고체 | 백색 고체 |

[1046]

[1047] (실시예 15) N-(2-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)에틸)-4-(아지드메틸)벤즈아미드기 도입 알긴산(15-A2)의 합성:



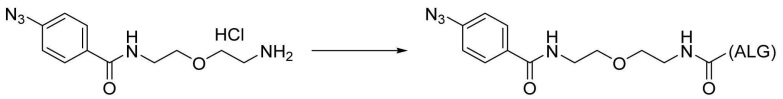

SM15 15-A2

[1048]

[1049] 1중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제: A-2) 수용액(40mL)에, DMT-MM(112mg), 문헌에 공지된 방법으로 합성한 식 SM15의 화합물(N-(2-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)에틸)-4-(아지드메틸)벤즈아미드

염산염; CAS REGISTRY NO.: 2401876-41-1)(38mg)의 에탄올(4.0mL) 용액, 1몰 농도-중조수(151μL)를 첨가하고, 30℃에서 3시간 교반하였다. 염화나트륨(0.4g)을 첨가한 후, 에탄올(80mL)을 첨가하고, 30분간 실온에서 교반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올로 세정 후, 감압 건조시켰다. 전번의 조작으로 얻어진 고체를 물에 녹이고, 동결 건조시킴으로써 표기 화합물(416mg)을 백색 고체로서 얻었다.

[1050] (실시예 16a,b) N-(2-(2-아미노에톡시)에틸)-4-아지드벤즈아미드기 도입 알긴산(화합물: 16-A2, 16-A2b)의 합성:




SM16 16-A2, 16-A2b

[1051]

[1052] 하기의 합성 방법 및 반응 조건에서, 16-A2 및 16-A2b의 화합물을 합성하였다.

[1053] [합성 방법]

[1054] 1중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제) 수용액에, DMT-MM, 문헌에 공지된 방법으로 합성한 식 SM16의 화합물(N-(2-(2-아미노에톡시)에틸)-4-아지드벤즈아미드염산염; CAS REGISTRY NO.: 2401876-47-7), 1몰 농도-중조수를 첨가하고 교반하였다. 염화나트륨을 첨가한 후, 에탄올(EtOH 2)을 첨가하고, 실온에서 교반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올로 세정 후, 감압 건조시켜서, 표기 화합물을 고체로서 얻었다. 전번의 조작으로 얻어진 고체를 물에 녹이고, 동결 건조시킴으로써 표기 화합물을 얻었다.

[1055] [반응 조건 · 결과]

[1056] [표 22]

[1057]

| 실시예 | 16a | 16b |
|---|---|---|
| 화합물 | 16-A2 | 16-A2b |
| 알긴산나트륨 | A-2 | A-2 |
| 1중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | 40 | 140 |
| DMT-MM(mg) | 112 | 234 |
| 1몰 농도-중조수(μL) | 151 | 318 |
| SM16(mg) | 31 | 61 |
| 반응 시간(시간) | 3 | 3 |
| 반응 온도 | 30℃ | 32℃ |
| NaCl(mg) | 400 | 1400 |
| EtOH 2(mL) | 80 | 280 |
| 후처리 교반 시간(분) | 30 | 30 |
| 수량(mg) | 400 | 1310 |
| 형태(색·형) | 백색 고체 | 백색 고체 |

[1058] (실시예 17a～c) N-(2-아미노에틸)-4-아지드벤즈아미드기 도입 알긴산(17-B2, 17-B2b 및 17-A2)의 합성:




SM17 17-B2, 17-B2b, 17-A2

[1059]

[1060] 하기의 합성 방법 및 반응 조건에서, 17-B2, 17-B2b 및 17-A2의 화합물을 합성하였다.

[1061] [합성 방법]

[1062] 1중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제) 수용액에, DMT-MM, 문헌에 공지된 방법으로 합성한 식 SM17의 화합물(N-(2-아미노에틸)-4-아지드벤즈아미드염산염; CAS REGISTRY NO.: 164013-00-7), 1몰 농도-중조수를 첨가하고 교반하였다. 염화나트륨을 첨가한 후, 에탄올(EtOH 2)을 첨가하고, 실온에서 교반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올로 세정 후, 감압 건조시켜서, 표기 화합물을 고체로서 얻었다. 실시예 17c는, 전번의 조작으로 얻어진 고체를 물에 녹이고, 동결 건조시킴으로써 표기 화합물을 얻었다.

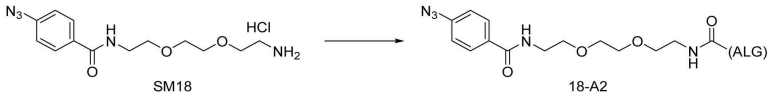
[1063] [반응 조건 · 결과]

[1064] [표 23]

| 실시예 | 17a | 17b | 17c |
|---|---|---|---|
| 화합물 | 17-B2 | 17-B2b | 17-A2 |
| 알긴산나트륨 | B-2 | B-2 | A-2 |
| 1중량% 알긴산 Na 수용액(mL) | 30.0 | 60.0 | 30 |
| DMT-MM(mg) | 63 | 67 | 84 |
| 1몰 농도-중조수(μL) | 113 | 91 | 113 |
| SM17(mg) | 18 | 15 | 18 |
| 반응 시간(시간) | 3 | 3 | 3 |
| 반응 온도 | 30℃ | 30℃ | 30℃ |
| NaCl(mg) | 300 | 600 | 300 |
| EtOH 2(mL) | 60 | 120 | 60 |
| 후처리 교반 시간(분) | 30 | 30 | 30 |
| 수량(mg) | 282 | 560 | 271 |
| 형태(색·형) | 백색 고체 | 백색 고체 | 백색 고체 |

[1065]

[1066] (실시예 18) N-(2-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)에틸)-4-아지드벤즈아미드기 도입 알긴산(18-A2)의 합성:




[1067]

[1068] 1중량%로 조제한 알긴산나트륨(모치다 세이야쿠 가부시키가이샤제: A-2) 수용액(40mL)에, DMT-MM(112mg), 문헌에 공지된 방법으로 합성한 식 SM18의 화합물(N-(2-(2-(2-아미노에톡시)에톡시)에틸)-4-아지드벤즈아미드염산염; CAS REGISTRY NO.: 2401876-48-8)(45mg)의 에탄올(4.0mL) 용액, 1몰 농도-중조수(151μL)를 첨가하고, 30℃에서 3시간 교반하였다. 염화나트륨(0.4g)을 첨가한 후, 에탄올(80mL)을 첨가하고, 30분간 실온에서 교반하였다. 얻어진 침전을 여과취출하고, 에탄올로 세정 후, 감압 건조시켰다. 전번의 조작으로 얻어진 고체를 물에 녹이고, 동결 건조시킴으로써 표기 화합물(408mg)을 백색 고체로서 얻었다.

[1069] [표 24-1]

| Ex. | Cpd. No. | MWL(㎚) | MWD(Da) | WAMW(Da) | RGIR(mol%)($) |
|---|---|---|---|---|---|
| 1a | 1-A2 | 280 | 12,000-2, 650,000 | 1, 530,000 | 6.9 |
| 1b | 1-A1 | 280 | 5,000-2, 620,000 | 1, 150,000 | 6.5 |
| 1c | 1-A3 | 280 | 27,000-2, 660,000 | 1, 710,000 | 6.6 |
| 1d | 1-B2 | 288 | 3, 730-2, 850,000 | 1, 410,000 | 4.9 |
| 1e | 1-B2b | 287 | 13, 700-2, 520,000 | 1, 400,000 | 0.8 |
| 1f | 1-B2c | 287 | 2, 230-2, 570,000 | 1, 420,000 | 1.9 |
| 1g | 1-A2b | - | - | - | 4.9 |
| 1h | 1-A2c | - | - | - | 0.8 |
| 1i | 1-A2d | - | - | - | 0.9 |
| 2 | 2-B2 | 287 | 2,080-2, 570,000 | 1, 400,000 | 2.7 |
| 3 | 3-A2 | 290 | 1,000-2, 690,000 | 1, 260,000 | 4.3 |
| 4a | 4-B2 | 215 | 1, 850-2, 830,000 | 1, 380,000 | 4.5 |
| 4b | 4-A2 | - | - | - | 4.4 |
| 4c | 4-B2b | - | - | - | 2.4 |
| 4d | 4-A2b | - | - | - | 0.6 |
| 4e | 4-A2c | - | 35, 600-2, 520,000 | 1, 380,000 | 0.7 |
| 4f | 4-A2d | - | - | - | 0.7 |
| 4g | 4-A3 | - | - | - | 0.5 |
| 5a | 4-A2 | 220 | 8,000-2, 650,000 | 1, 420,000 | 4.6 |
| 5b | 4-B2 | 220 | 5,000-2, 680,000 | 1, 400,000 | 4.1 |
| 6a | 6-A2 | # | 13,000-2, 820,000 | 1, 420,000 | 4.3 |
| 6b | 6-B2 | # | 13,000-2, 590,000 | 1, 410,000 | 4.2 |
| 6c | 6-B2b | # | 13,000-2, 670,000 | 1, 410,000 | 2.1 |
| 7 | 7-A2 | # | 13,000-3, 640,000 | 1, 400,000 | 3.2 |
| 8a | 8-A2 | # | 13,000-2, 660,000 | 1, 370,000 | 5.0 |
| 8b | 8-B2 | # | 17,000-2, 540,000 | 1, 380,000 | 2.4 |
| 9 | 9-A2 | # | 14,000-2, 720,000 | 1, 370,000 | 4.3 |
| 10 | 10-A2 | # | 13,000-2, 580,000 | 1, 350,000 | 4.4 |
| 11a | 11-A2 | 255 | 15,000-2, 530,000 | 1, 510,000 | 6.1 |
| 11b | 11-A1 | 255 | 5,000-2, 590,000 | 1, 140,000 | 9.4 |
| 11c | 11-A3 | 255 | 18,000-2, 690,000 | 1, 650,000 | 6.9 |
| 11d | 11-B2 | 249 | 7, 630-2, 590,000 | 1, 420,000 | 3.7 |
| 11e | 11-B2b | 249 | 2, 290-2, 560,000 | 1, 410,000 | 0.6 |
| 11f | 11-B2c | 249 | 11, 800-2, 540,000 | 1, 420,000 | 1.5 |
| 11g | 11-A2b | - | - | - | 4.3 |
| 11h | 11-A2c | - | - | - | 2.7 |
| 11i | 11-B2d | - | - | - | 4.9 |
| 11j | 11-A2d | - | - | - | 3.1 |
| 11k | 11-A2e | 250 | 8, 710-2, 600,000 | 1, 350,000 | 3.0 |
| 11l | 11-A3 | - | - | - | 3.0 |
| 12 | 12-A2 | 255 | 10,000-2, 850,000 | 1, 460,000 | 4.3 |

Cpd.No.: 화합물 번호, MWL: 측정 파장, MWD: 분자량 분포, WAMW: 중량 평균 분자량, RGIR: 반응성기 도입률, #: 시차 굴절계, $: NMR 적분비

[1070]

[1071] [표 24-2]

| Ex. | Cpd. No. | MWL(㎚) | MWD(Da) | WAMW(Da) | RGIR(mol%)($) |
|---|---|---|---|---|---|
| 13a | 13-A2 | 230 | 7, 740-2, 660,000 | 1, 430,000 | 4.7 |
| 13b | 13-A2b | - | - | - | 2.7 |
| 14a | 14-A2 | 255 | 11,000-2, 660,000 | 1, 530,000 | 9.4 |
| 14b | 14-B2 | 232 | 5, 190-2, 660,000 | 1, 410,000 | 11.1 |
| 14c | 14-A2b | - | - | - | 4.9 |
| 15 | 15-A2 | 230 | 7, 120-2, 710,000 | 1, 450,000 | 4.2 |
| 16a | 16-A2 | 270 | 5, 130-2, 690,000 | 1, 410,000 | 3.9 |
| 16b | 16-A2b | - | - | - | 2.7 |
| 17a | 17-B2 | 267 | 6, 430-2, 590,000 | 1, 410,000 | 5.1 |
| 17b | 17-B2b | 267 | 1, 820-2, 560,000 | 1, 410,000 | 2.0 |
| 17c | 17-A2 | - | - | - | 5.0 |
| 18 | 18-A2 | 270 | 5,020-2, 670,000 | 1, 430,000 | 4.2 |

Cpd.No.: 화합물 번호, MWL: 측정 파장, MWD: 분자량 분포, WAMW: 중량 평균 분자량, RGIR: 반응성기 도입률, #: 시차 굴절계, $: NMR 적분비

[1072]

[1073] [표 25-1]

| IM No. | NMR Data(δ:ppm) | Mass | |
|---|---|---|---|
| | | MS-ESI(m/z), [M+H]+ | RT(min) |
| IM3-1 | DMSO-$d_6$: 7.88(2H, d, J =8 Hz), 7.73-7.66(3H, m), 7.61-7.57(2H, m), 7.50-7.29(11H, m), 5.02(1H, d, J =14 Hz), 4.29-4.18(3H, m), 3.62(1H, d, J =14 Hz), 3.46(2H, d, J =6 Hz), 3.18-3.08(1H, m), 3.02-2.89(1H, m), 2.47-2.39(1H, m), 1.85-1.74(1H, m) | - | - |
| IM3-2 | DMSO-$d_6$: 7.73(1H, brs), 7.64-7.58(2H, m), 7.51-7.29(6H, m), 5.04(1H, d, J =14 Hz), 3.63(1H, d, J =14 Hz), 3.18-3.06(1H, m), 3.04-2.95(1H, m), 2.95(2H, s), 2.47-2.39(1H, m), 1.87-1.78(1H, m) | 334 | 0.74 |
| IM5-1 | $CDCl_3$: 7.22(2H, d, J =8 Hz), 6.85(2H, d, J =8 Hz), 6.74(1H, br s), 4.79(1H, br s), 4.25(2H, d, J =6 Hz), 4.09(2H, t, J =5 Hz), 3.78(2H, q, J =5 Hz), 1.46(9H, s) | - | - |
| IM5-2 | DMSO-$d_6$: 9.67(1H, br s), 8.14(3H, br s), 7.38(2H, d, J =9 Hz), 6.98(2H, d, J =9 Hz), 4.10(2H, t, J =6 Hz), 3.94(2H, br s), 3.57(2H, q, J =6 Hz) | *285 | 0.59 |
| IM5-3 | $CDCl_3$: 7.23(2H, d, J =9 Hz), 6.94(1H, br s), 6.85(2H, d, J =9 Hz), 6.80-6.77(1H, m), 4.42(2H, d, J =6 Hz), 4.25-4.21(1H, m), 4.11-4.05(3H, m), 3.92(1H, d, J =15 Hz), 3.78(2H, q, J =6 Hz), 2.28-2.05(3H, m), 1.99-1.55(6H, m), 1.48-1.39(1H, m) | 427 | 1.02 |
| IM5-4 | $CDCl_3$: 7.22(2H, d, J =9 Hz), 6.87(2H, d, J =9 Hz), 6.75(1H, br s), 4.42(2H, d, J =6 Hz), 4.25-4.20(1H, m), 4.10(1H, d, J =15 Hz), 4.03-3.90(3H, m), 3.08(2H, t, J =5 Hz), 2.28-2.07(3H, m), 1.99-1.55(6H, m), 1.48-1.40(1H, m) | 331 | 0.72 |

*: [M+Na]+, IM No.=중간체 번호, RT=유지 시간

[1074]

[1075] [표 25-2]

| IM No. | NMR Data(δ:ppm) | Mass | |
|---|---|---|---|
| | | MS-ESI(m/z), [M+H]+ | RT(min) |
| IM8-1 | DMSO-$d_6$: 9.39(1H, brs), 7.93(1H, brs), 6.92(1H, t, J =6 Hz), 3.49(2H, d, J =6 Hz), 3.25-3.17(4H, m), 1.38(9H, s) | - | - |
| IM8-2 | DMSO-$d_6$: 9.50(1H, brs), 8.54(1H, brs), 8.01(3H, brs), 3.49(2H, s), 3.28-3.24(4H, m) | - | - |
| IM8-3 | DMSO-$d_6$: 9.41(1H, brs), 8.03(1H, t, J =6 Hz), 7.78(1H, t, J =6 Hz), 4.35-4.29(1H, m), 3.93(1H, d, J =15 Hz), 3.79(1H, d, J =15 Hz), 3.68(2H, dd, J =6, 24 Hz), 3.27-3.16(4H, m), 2.28-2.05(3H, m), 1.99-1.69(4H, m), 1.65-1.54(2H, m), 1.46-1.36(1H, m) | 378 | 0.84 |
| IM8-4 | DMSO-$d_6$: 7.83(1H, t, J =6 Hz), 7.78(1H, t, J =6 Hz), 4.33-4.29(1H, m), 3.92(1H, d, J =15 Hz), 3.79(1H, d, J =15 Hz), 3.69(2H, dd, J =6, 2 Hz), 3.05(2H, q, J =6 Hz), 2.55(2H, t, J =6 Hz), 2.28-2.05(3H, m), 1.99-1.69(4H, m), 1.63-1.56(2H, m), 1.46-1.36(1H, m) | 282 | 0.62 |
| IM9-1 | DMSO-$d_6$: 9.39(1H, t, J =5 Hz), 8.00(1H, t, J =6 Hz), 6.74(1H, t, J =6 Hz), 3.21(2H, t, J =6 Hz), 3.17(2H, t, J =6 Hz), 3.14-3.07(2H, m), 2.20(2H, t, J =7 Hz), 1.37(9H, s) | - | - |
| IM9-2 | DMSO-$d_6$: 9.47(1H, brs), 8.27(1H, t, J =6 Hz), 7.74(3H, brs), 3.27-3.17(4H, m), 2.96(2H, t, J =7 Hz), 2.43(2H, t, J =7 Hz) | - | - |
| IM9-3 | DMSO-$d_6$: 9.40(1H, t, J =5 Hz), 8.04(1H, t, J =6 Hz), 7.68(1H, t, J =6 Hz), 4.29-4.23(1H, m), 3.85(1H, d, J =15 Hz), 3.73(1H, d, J =15 Hz), 3.32-3.13(6H, m), 2.25(2H, t, J =7 Hz), 2.23-2.03(3H, m), 1.95-1.70(4H, m), 1.66-1.50(2H, m), 1.43-1.35(1H, m) | 392 | 0.83 |
| IM9-4 | DMSO-$d_6$: 7.85(1H, t, J =6 Hz), 7.68(1H, t, J =6 Hz), 4.30-4.25(1H, m), 3.86(1H, d, J =15 Hz), 3.74(1H, d, J =15 Hz), 3.32-3.25(2H, m), 3.04(2H, q, J =6 Hz), 2.55(2H, t, J =6 Hz), 2.27(2H, t, J =7 Hz), 2.25-2.04(3H, m), 1.96-1.71(4H, m), 1.67-1.51(2H, m), 1.45-1.35(1H, m) | 296 | 0.62 |

*: [M+Na]+, IM No.=중간체 번호, RT=유지 시간

[1076]

[1077] [표 25-3]

| IM No. | NMR Data(δ:ppm) | Mass | |
|---|---|---|---|
| | | MS-ESI(m/z), [M+H]+ | RT(min) |
| IM10-1 | $CDCl_3$: 7.73(1H, brs), 6.40(1H, brs), 4.86(1H, brs), 3.64(2H, q, J =6 Hz), 3.56-3.50(4H, m), 3.47-3.43(2H, m), 3.30(2H, q, J =5 Hz), 2.53-2.50(2H, m), 1.45(9H, s) | - | - |
| IM10-2 | DMSO-$d_6$: 9.50(1H, t, J =5 Hz), 8.15(1H, t, J =6 Hz), 8.01(3H, brs), 3.58((2H, t, J =5 Hz), 3.43(2H, t, J =6 Hz), 3.38(2H, q, J =7 Hz), 3.24(2H, q, J =6 Hz), 3.00-2.92(2H, m), 2.39(2H, t, J =7 Hz) | - | - |
| IM10-3 | $CDCl_3$: 7.80(1H, brs), 6.80(1H, brs), 6.58(1H, brs), 4.29-4.23(1H, m), 4.06(1H, d, J =15 Hz), 3.89(1H, d, J =15 Hz), 3.64(2H, q, J =6 Hz), 3.60-3.55(4H, m), 3.52-3.46(2H, m), 3.44(2H, q, J =5 Hz), 2.52(2H, t, J =6 Hz), 2.31-2.11(3H, m), 2.02-1.78(4H, m), 1.76-1.61(2H, m), 1.51-1.42(1H, m) | 436 | 0.82 |
| IM10-4 | $CDCl_3$: 7.33(1H, brs), 6.82(1H, brs), 4.28-4.23(1H, m), 4.06(1H, d, J =15 Hz), 3.90(1H, d, J =15 Hz), 3.56(4H, t, J =5 Hz), 3.51-3.44(4H, m), 3.01(2H, t, J =6 Hz), 2.35(2H, t, J =6 Hz), 2.31-2.12(3H, m), 2.02-1.79(4H, m), 1.77-1.60(2H, m), 1.50-1.42(1H, m) | 340 | 0.64 |

*: [M+Na]+, IM No.=중간체 번호, RT=유지 시간

[1078]

[1079] (실시예 F1-A) 가교 알긴산 겔 파이버의 제작 (1)

[1080] 화합물 4-A2d 또는 화합물 1-A2d로부터 조제되는 3중량% 알킨 수용액(알킨 용액) 및 화합물 11-A2d, 화합물 13-A2b 또는 화합물 16-A2b로부터 조제되는 3중량%의 아지드 수용액(아지드 용액)을 사용하여, 표 26에 나타내는 조합으로, 상기 알킨 용액 및 아지드 용액을 등용량 혼합하여, 화학 수식 알긴산 혼합 용액(F1A-M1)을 조제하였다. 혼합 용액 F1A-M1 및 알긴산나트륨(B-2)으로부터 조제된 3중량% 알긴산 수용액(ALGS)을 표 26에 나타내는 비율로 혼합하여, 알긴산 혼합 용액(F1A-M2)으로 하였다. 계속해서, 혼합 용액 F1A-M2 및 20mg/mL의 블루 덱스트란(cytiva제, Blue Dextran 2000, 코드 번호 17036001) 함유의 1.8중량% 식염수를 등용량 혼합하여, 알긴산 혼합 용액(F1A-M3)으로 하였다. 혼합 용액 F1A-M3을 헤밀톤 시린지에 충전하고, 시린지에 금속 니들(무사시 엔지니어링, SNA-19G-B), 실리콘 튜브(애즈원, φ1×φ2) 및 유리 모세관(나리시게, G-1)을 순차 접속하고, 시린지 펌프에 세트하였다. 상기 유리 모세관의 선단을 100mmol/L의 염화칼슘 수용액이 포함되는 비이커에 침지하고, 유속 250μL/min으로 당해 염화칼슘 수용액 중에 1분간 사출하였다. 상기 염화칼슘 수용액 중에 사출된 섬유상 형태의 물질은, 30분 이상 정치함으로써, 가교 알긴산 겔 파이버(CLA-1A)로서 얻어졌다(표 26 중 CLA-1A No. 참조).

[1081] [표 26]

| No. | F1A-M1 중의 알킨 화합물/아지드 화합물의 조합 | F1A-M1/ALGS의 혼합비 | F1A-M3 중의 알킨 화합물 및 아지드 화합물의 최종 농도(중량%) | CLA-1A No. |
|---|---|---|---|---|
| F1-A-1 | - | ALGS만 | 0 | FB1-A-1 |
| F1-A-2 | 1-A2d/11-A2d | 5/10 | 0.5 | FB1-A-2 |
| F1-A-3 | 1-A2d/13-A2b | 5/10 | 0.5 | FB1-A-3 |
| F1-A-4 | 1-A2d/16-A2b | 5/10 | 0.5 | FB1-A-4 |
| F1-A-5 | 4-A2d/11-A2d | 2/13 | 0.2 | FB1-A-5 |
| F1-A-6 | 4-A2d/11-A2d | 5/10 | 0.5 | FB1-A-6 |
| F1-A-7 | 4-A2d/11-A2d | 10/5 | 1.0 | FB1-A-7 |
| F1-A-8 | 4-A2d/13-A2b | 5/10 | 0.5 | FB1-A-8 |
| F1-A-9 | 4-A2d/16-A2b | 5/10 | 0.5 | FB1-A-9 |

[1082]

[1083] (실시예 F1-B) 가교 알긴산 겔 파이버의 제작 (2)

[1084] 화합물 4-A2d로부터 조제된 3중량% 화합물 4-A2d 수용액 및 화합물 11-A2d로부터 조제된 3중량% 화합물 11-A2d 수용액을 등용량 혼합하여, 화학 수식 알긴산의 혼합 용액(F1B-M1)을 조제하였다. 혼합 용액 F1B-M1 및 알긴산나트륨(B-2)으로부터 조제된 3중량% 알긴산나트륨 수용액을 1/2의 용량 비율로 혼합하여, 3중량% 알긴산 혼합 용액(F1B-M1B)으로 하였다. 혼합 용액 F1B-M1B를 표 27에 나타내는 농도로 조제하고(표 27 중; F1B-M2의 농도), 별도 조제한 블루 덱스트란(cytiva제, Blue Dextran 2000, 코드 번호 17036001)을 함유하는 식염수(F1B-BS: 블루 덱스트란의 농도와 염화나트륨의 농도는 표 27과 같다)를 표 27에 나타내는 용량 비율로 혼합하

여, 알긴산 혼합 용액(F1B-M3)으로 하였다. 혼합 용액 F1B-M3 중의 블루 덱스트란 농도(mg/mL)와 염화나트륨 농도(mg/mL)는 블루 덱스트란이 10mg/mL, 염화나트륨이 9mg/mL로 되도록 조제하였다. 혼합 용액 F1B-M3을, 헤밀톤 시린지에 충전하였다. 계속해서, 시린지에 금속 니들(무사시 엔지니어링, SNA-19G-B), 실리콘 튜브(애즈원, φ1×φ2) 및 유리 모세관(나리시게, G-1)을 순차 접속하고, 시린지 펌프에 세트하였다. 상기 유리 모세관의 선단을, 100mmol/L의 염화칼슘 수용액이 포함되는 비이커에 침지하고, 유속 250μL/min으로 1분간 사출하였다. 상기 염화칼슘 수용액 중에 사출된 섬유상 형태의 물질은, 30분 이상 정치함으로써, 가교 알긴산 겔 파이버(CLA-1B)로서 얻어졌다(표 27 중 CLA-1B No. 참조).

[1085] [표 27]

| No. | F1B-M2 농도(중량%) | F1B-BS 중의 블루 덱스트란, NaCl의 농도(mg/mL) | | F1B-M3 중의 F1B-M2와 F1B-BS의 용량 비율 | F1B-M3 중의 알킨 화합물 및 아지드 화합물의 최종 농도(중량%) | CLA-1B No. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| F1-B-1 | 3.0 | 30 | 27 | 2/1 | 2.0 | FB1-B-1 |
| F1-B-2 | 2.0 | 20 | 18 | 1/1 | 1.0 | FB1-B-2 |
| F1-B-3 | 1.0 | 20 | 18 | 1/1 | 0.5 | FB1-B-3 |

[1086]

[1087] (실시예 F1-C) 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제작 (1)

[1088] 상기 (실시예 F1-A) 또는 (실시예 F1-B)에서 얻어진, 염화칼슘 수용액 중의 가교 알긴산 겔 파이버를 셀 스트레이너를 사용하여 여과, 분취하였다. 분취한 가교 알긴산 겔 파이버를, 표 28에 나타내는 각 조성의 양이온성 폴리머가 포함되는 수용액에 첨가하고, 37℃, 125rpm으로 20분간 진탕 교반하고, 가교 알긴산 겔 파이버를 폴리머 코팅하였다. 수용액 중의 파이버를, 셀 스트레이너를 사용하여 여과, 분취하고, 생리 식염액 5mL를 사용하여 2회 세정하여, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB-1)(표 29 중 CFB-1 No. 참조)를 얻었다.

[1089] [표 28]

| No. | 양이온성 폴리머 함유 수용액의 조성 |
|---|---|
| F1-c1 | 0.1% 폴리-L-오르니틴브롬화수소산염/100mM 염화칼슘 |
| F1-c2 | 0.1% 폴리알릴아민염산염/100mM 염화칼슘 |

[1090]

[1091] [표 29]

| No. | CLA-1A, 1B No. | 양이온성 폴리머 함유 수용액 | CFB-1 No. |
|---|---|---|---|
| F1-C-1 | FB1-A-1 | F1-c1 | FB1-A-1-c1 |
| F1-C-2 | FB1-A-2 | F1-c1 | FB1-A-2-c1 |
| F1-C-3 | FB1-A-3 | F1-c1 | FB1-A-3-c1 |
| F1-C-4 | FB1-A-4 | F1-c1 | FB1-A-4-c1 |
| F1-C-5 | FB1-A-6 | F1-c1 | FB1-A-6-c1 |
| F1-C-6 | FB1-A-7 | F1-c1 | FB1-A-7-c1 |
| F1-C-7 | FB1-A-8 | F1-c1 | FB1-A-8-c1 |
| F1-C-8 | FB1-A-9 | F1-c1 | FB1-A-9-c1 |
| F1-C-9 | FB1-B-1 | F1-c1 | FB1-B-1-c1 |
| F1-C-10 | FB1-B-2 | F1-c1 | FB1-B-2-c1 |
| F1-C-11 | FB1-A-6 | F1-c2 | FB1-A-6-c2 |

[1092]

[1093] (실시예 F1-D) 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 안정성

[1094] (1) 파이버의 EDTA 처리

[1095] 상기 (실시예 F1-C)에서 얻어진 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB-1)를 20mM EDTA·2Na/생리 식염액(5mL)에 첨가하고, 37℃, 125rpm으로 20분간 진탕 교반하였다. 상기 킬레이트 처리한 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는, 다시 셀 스트레이너를 사용하여 여과, 분취하고, 생리 식염액 5mL를 사용하여 2회 세정하였다. 얻어진 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버는 안정성 평가 시험의 실시까지 5mL 생리 식염액 중에 침지하였다.

[1096] (2) 진탕 붕괴 시험

[1097] 상기 EDTA 처리한 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 셀 스트레이너를 사용하여 분리한 후, 10mL의 PBS 용액을 첨가한 25mL 원침관에 첨가하고, 37℃에서 24시간 진탕하였다.

[1098] 상기, EDTA 처리 후, 진탕 후의 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 안정성은, 이하의 지표에 기초하여 평가하였다.

[1099] 안정성 평가(스코어):

[1100] 3: 파이버의 붕괴/용해/변형/블루 덱스트란의 용출 등이 전혀 보이지 않음

[1101] 2: 파이버의 일부에 붕괴/용해/변형/블루 덱스트란의 용출(누적에서 100μg/mL 미만) 등이 보임

[1102] 1: 파이버에 명확한 붕괴/용해/변형/블루 덱스트란의 용출(누적에서 100μg/mL 이상) 등이 보임

[1103] [표 30]

| No. | CFB-1 No. | 안정성 평가(스코어) | |
|---|---|---|---|
| | | EDTA 처리 | 진탕 후 |
| F1-D-1 | FB1-A-1-c1 | 1 | 1 |
| F1-D-2 | FB1-A-2-c1 | 3 | 3 |
| F1-D-3 | FB1-A-3-c1 | 3 | 3 |
| F1-D-4 | FB1-A-4-c1 | 3 | 3 |
| F1-D-5 | FB1-A-6-c1 | 3 | 3 |
| F1-D-6 | FB1-A-7-c1 | 3 | 3 |
| F1-D-7 | FB1-A-8-c1 | 3 | 3 |
| F1-D-8 | FB1-B-1-c1 | 3 | 3 |
| F1-D-9 | FB1-B-2-c1 | 3 | 3 |
| F1-D-10 | FB1-A-6-c2 | 2 | 2 |
| F1-D-11 | FB1-A-9-c1 | 3 | 3 |

[1104]

[1105] (실시예 F2-A) 항체 산생 세포 함유 가교 알긴산 겔 파이버의 제작

[1106] 하기 표 31의 조성을 갖는 G016 배지를 조제하였다. 계속해서, 메토트렉세이트(이하, MTX로 한다)를 1mmol/L이 되도록 D-PBS에 용해시켜, MTX 용액을 조제하였다. 상기 MTX 용액을 최종 농도 1μmol/L이 되도록 G016 배지로 희석하여, 항체 산생 배지 용액을 조제하였다.

[1107] [표 31]

| | 샘플 | 메이커 | 첨가량(mL) | 최종 농도 |
|---|---|---|---|---|
| 배지 | JX G016 | Irvine | 930 | |
| 첨가물 | L-글루타민 200mM | SIGMA | 40 | 8mM |
| | 페니실린 스트렙토마이신 | Invitrogen | 10 | 1% |
| | 대두 가수분해 UF 용액 50X | SIGMA | 20 | 2% |

[1108]

[1109] 하기 표 32 및 표 33의 처방으로 조제된 알긴 수용액 및 아지드 수용액을 사용하여, 표 34에 나타내는 조합으로 등용량 혼합하여, 알긴산 혼합 용액(F2A-M1)을 조제하였다.

[1110] [표 32]

3중량% 알긴 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)

| | |
|---|---|
| F2A1 | 3.3중량% 화합물 4-A2d 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |
| F2A2 | 3.3중량% 화합물 4-A2c 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |
| F2A3 | 3.3중량% 화합물 1-A2d 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |

[1111]

[1112] [표 33]

3중량% 아지드 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)

| | |
|---|---|
| F2N1 | 3.3중량% 화합물 11-A2d 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |
| F2N2 | 3.3중량% 화합물 11-A2e 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |
| F2N3 | 3.3중량% 화합물 13-A2b 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |
| F2N4 | 3.3중량% 화합물 16-A2b 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |

[1113]

[1114] 혼합 용액 F2A-M1 및 알긴산나트륨(B-2)과 0.9중량% 염화나트륨 수용액으로부터 조제된 3중량% 알긴산 수용액(0.9% 염화나트륨 함유)(ALGS2) 또는 알긴산나트륨(A-2)과 0.9중량% 염화나트륨 수용액으로부터 조제된 3중량% 알긴산 수용액(0.9% 염화나트륨 함유)(ALGS2A)을 표 34에 나타내는 비율로 혼합하여, 알긴산 혼합 용액(F2A-M2)으로 하였다. 계속해서, 혼합 용액 F2A-M2 및 항GPVI 항체 산생 세포($2\times10^7$세포/mL)를 포함하는 항체 산생 배지 용액을 등용량 혼합하여, 혼합 용액(F2A-M3)으로 하였다. 혼합 용액 F2A-M3을 헤밀톤 시린지에 충전하고, 시린지에 루어 로크용 니들(간또 가가꾸 가부시키가이샤, 15/23 NL-F)을 접속하고, 시린지 펌프에 세트하였다. 상기 니들 선단을 100mmol/L의 염화칼슘 수용액이 포함되는 비이커에 침지하고, 유속 250μL/min으로 당해 염화칼슘 수용액 중에 2분간 사출하였다. 상기 염화칼슘 수용액 중에 사출된 섬유상 형태의 물질은, 30분

이상 정치함으로써, 항GPVI 항체 산생 세포 함유의 가교 알긴산 겔 파이버(CLA-G)를 얻었다(표 34 중 CLA-G No. 참조).

[1115] [표 34]

| No. | F2A-M1 중의 알킨 화합물/아지드 화합물의 조합 | F2A-M1/ALGS2의 혼합비 | F2A-M1/ALGS2A의 혼합비 | F2A-M3 중의 알킨 화합물 및 아지드 화합물의 최종 농도(중량%) | CLA-G No. |
|---|---|---|---|---|---|
| F2-A-1 | 1-A2d/11-A2d | 5/10 | * | 0.5 | FB2-A-1 |
| F2-A-2 | 1-A2d/13-A2b | 5/10 | * | 0.5 | FB2-A-2 |
| F2-A-3 | 1-A2d/16-A2b | 5/10 | * | 0.5 | FB2-A-3 |
| F2-A-4 | 4-A2d/11-A2d | 2/13 | * | 0.2 | FB2-A-4 |
| F2-A-5 | 4-A2d/11-A2d | 5/10 | * | 0.5 | FB2-A-5 |
| F2-A-6 | 4-A2c/11-A2e | * | 5/10 | 0.5 | FB2-A-6 |
| F2-A-7 | 4-A2d/11-A2d | 10/5 | * | 1.0 | FB2-A-7 |
| F2-A-8 | 4-A2d/13-A2b | 5/10 | * | 0.5 | FB2-A-8 |
| F2-A-9 | 4-A2d/16-A2b | 5/10 | * | 0.5 | FB2-A-9 |
| F2-A-10 | 4-A2c/11-A2e | F2A-M1만 | * | 1.5 | FB2-A-10 |

[1116]

[1117] (실시예 F2-B) 생리 활성 물질 산생 세포 함유 가교 알긴산 겔 파이버의 제작

[1118] 하기 표 35의 조성을 갖는 완전 배지를 조제하였다.

[1119] [표 35]

배지 조성

| | 샘플 | 메이커 | 첨가량(mL) | 최종 농도 |
|---|---|---|---|---|
| 배지 | 최적 DMEM | AddexBio | 420 | |
| 첨가물 | 소태아 혈청(FBS) | NICHIREI | 75 | 15% |
| | 페니실린 스트렙토마이신 | Gibco | 5 | 1% |
| | 2-머캅토에탄올 | Gibco | 0.455 | 0.05 mM |

[1120]

[1121] (실시예 F2-A)의 표 32 및 33에 기재된, F2A1의 알킨 수용액 및 F2N2의 아지드 수용액을 등용량 혼합하여, 화학 수식 알긴산 혼합 용액(F2B-M1)을 조제하였다. 혼합 용액 F2B-M1 및 알긴산나트륨(B-2)과 0.9중량% 염화나트륨 수용액으로부터 조제된 3중량% 알긴산 수용액(0.9% 염화나트륨 함유)을 1:2의 비율로 혼합하여, 알긴산 혼합 용액(F2B-M2)으로 하였다. 계속해서, 혼합 용액 F2B-M2와 MIN6 세포($1\times10^7$세포/mL)를 포함하는 표 35의 완전 배지를 등용량을 혼합하여, 혼합 용액 F2B-M3으로 하였다. 혼합 용액 F2B-M3을 헤밀톤 시린지에 충전하고, 시린지에 루어 로크용 니들(간또 가가꾸 가부시키가이샤, 15/23 NL-F)을 접속하고, 시린지 펌프에 세트하였다. 니들 선단을 100mmol/L의 염화칼슘 수용액이 포함되는 비이커에 침지하고, 유속 125μL/min으로 당해 염화칼슘 수용액 중에 2분간 사출하였다. 상기 염화칼슘 수용액 중에 사출된 섬유상 형태의 물질은, 30분 이상 정치함으로써, MIN6 세포 함유의 가교 알긴산 겔 파이버(CLA-M)(FB2-B-1)로서 얻어졌다.

[1122] (실시예 F2-C) 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제작

[1123] 상기 (실시예 F2-A) 또는 (실시예 F2-B)에서 얻어진 각종 세포 함유 가교 알긴산 겔 파이버를, 표 36에 나타내는 각 조성의 양이온성 폴리머가 포함되는 용액을 사용하여, 상기 (실시예 F1-C)에 기재되는 방법과 마찬가지로 하여(진탕 교반 시간은 30분), 코팅을 행함으로써, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB-S)(표 37 중 CFB-S No. 참조)을 얻었다.

[1124] [표 36]

| No. | 양이온성 폴리머 함유 수용액의 조성 |
|---|---|
| F2-c1 | 0.1% 폴리-L-오르니틴브롬화수소산염/100mM 염화칼슘 |
| F2-c2 | 0.1% 폴리알릴아민염산염/100mM 염화칼슘 |

[1125]

[1126] [표 37]

| No. | CLA-G, CLA-M No. | 양이온성 폴리머 함유 수용액 | CFB-S No. |
|---|---|---|---|
| F2-C-1 | FB2-A-1 | F2-c1 | FB2-A-1-c1 |
| F2-C-2 | FB2-A-2 | F2-c1 | FB2-A-2-c1 |
| F2-C-3 | FB2-A-3 | F2-c1 | FB2-A-3-c1 |
| F2-C-4 | FB2-A-4 | F2-c1 | FB2-A-4-c1 |
| F2-C-5 | FB2-A-5 | F2-c1 | FB2-A-5-c1 |
| F2-C-6 | FB2-A-6 | F2-c1 | FB2-A-6-c1 |
| F2-C-7 | FB2-A-7 | F2-c1 | FB2-A-7-c1 |
| F2-C-8 | FB2-A-8 | F2-c1 | FB2-A-8-c1 |
| F2-C-9 | FB2-A-9 | F2-c1 | FB2-A-9-c1 |
| F2-C-10 | FB2-A-5 | F2-c2 | FB2-A-5-c2 |
| F2-C-11 | FB2-B-1 | F2-c1 | FB2-B-1-c1 |
| F2-C-12 | FB2-A-10 | F2-c1 | FB2-A-10-c1 |

[1127]

[1128] (실시예 F3) 양이온성 폴리머에 의한 가교 알긴산 겔 파이버의 코팅 확인

[1129] (실시예 F1-A)의 No. F1-A-6에 나타내는 조건에서 제작한 가교 알긴산 겔 파이버(FB1-A-6)를 사용하여, 0.1% 폴리-L-리신-FITC 라벨/100mM 염화칼슘이 함유되는 수용액에 침지하였다. (실시예 F1-C)와 마찬가지의 조작을 한 후, 얻어진 파이버의 표면을 형광 현미경을 사용하여 관찰하였다.

[1130] 관찰 결과를 도 7에 도시한다. 겔 파이버의 표면에 폴리-L-리신-FITC이 코팅되어 있는 것이 확인되었다(도 7의 배경(흑색)에 반전된 색의 부분이 폴리-L-리신-FITC임). 이 결과는, 가교 알긴산 겔 파이버가 양이온성 폴리머에 의해 코팅되어 있는 것을 시사하는 것이었다.

[1131] (실시예 F4-A) 가교 알긴산 겔 파이버의 제작 (3)

[1132] 알긴산나트륨(B-2)와 주사용 생리 식염수(오츠카 세이야쿠 고죠제)(INs)로부터 3중량% 알긴산 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)(ALGS2)을 조제하였다. 계속해서, 하기 표 38 및 표 39의 처방으로 알킨 수용액 및 아지드 수용액을 조제하였다.

[1133] [표 38]

3중량% 알킨 수용액 및 아지드 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)

| | |
|---|---|
| F4A1 | 3.3중량% 화합물 4-A2d 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |
| F4N1 | 3.3중량% 화합물 11-A2d 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |

[1134]

[1135] [표 39]

3중량% 알킨 수용액 및 아지드 수용액

| | |
|---|---|
| F4A2 | 3중량% 화합물 1-A2d 수용액 |
| F4N2 | 3중량% 화합물 13-A2b 수용액 |
| F4N3 | 3중량% 화합물 16-A2b 수용액 |

[1136]

[1137] 상기 알킨 수용액(F4A1, F4A2) 및 아지드 수용액(F4N1, F4N2 및 F4N3)을 하기 표의 조합으로 등용량 혼합하여, 화학 수식 알긴산 혼합 용액(F4A-M1)으로 하였다. 혼합 용액 F4A-M1 및 ALGS2를 1:2의 비율로 혼합하여, 알긴산 혼합 용액(F4A-M2)으로 하였다. 계속해서, 하기 표 40의 처방에서, 알긴산 혼합 용액(F4A-M2), 9.9중량% 염화나트륨 수용액 및 주사용 생리 식염수(오츠카 세이야쿠 고죠제)(INs)로 조제하여, 혼합 용액(F4A-M3)으로 하였다. 또한, F4A-M3에 포함되는 전체 알긴산 농도는 약 1.5중량%이다. 계속해서, 혼합 용액 F4A-M3을 헤밀톤 시린지에 충전하고, 시린지에 금속 니들(무사시 엔지니어링, SNA-19G-B), 실리콘 튜브(애즈원, φ1×φ2) 및 유리 모세관(나리시게, G-1)을 순차 접속하고, 시린지 펌프에 세트하였다. 상기 유리 모세관의 선단을 100mmol/L의 염화칼슘 수용액이 포함되는 비이커에 침지하고, 유속 250μL/min으로 당해 염화칼슘 수용액 중에 1분간 사출하였다. 상기 염화칼슘 수용액 중에 사출된 섬유상 형태의 물질은, 30분 이상 정치함으로써, 가교 알긴산 겔 파이버(CLA-X1)(표 40 중 CLA-X1 No. 참조)를 얻었다.

[1138] [표 40]

| No. | F4A-M1 중의 알킨 화합물/아지드 화합물의 조합 | F4A-M2/9.9중량% 염화나트륨 수용액/INs의 혼합비 | CLA-X1 No. |
|---|---|---|---|
| F4-A-1 | 1-A2d/11-A2d | 125/4/142 | FB4-A-1 |
| F4-A-2 | 1-A2d/13-A2b | 125/2/146 | FB4-A-2 |
| F4-A-3 | 1-A2d/16-A2b | 125/2/146 | FB4-A-3 |
| F4-A-4 | 4-A2d/11-A2d | 125/0/146 | FB4-A-4 |
| F4-A-5 | 4-A2d/13-A2b | 125/4/142 | FB4-A-5 |
| F4-A-6 | 4-A2d/16-A2b | 125/4/142 | FB4-A-6 |

[1139]

[1140] (실시예 F4-B) 가교 알긴산 겔 파이버의 제작 (4)

[1141] 상기 (실시예 F4-A) 기재된 알킨 수용액(F4A1) 및 아지드 수용액(F4N1)을 등용량 혼합하여, 화학 수식 알긴산 혼합 용액(F4B-M1)으로 하였다. 혼합 용액 F4B-M1 및 상기 ALGS2를 하기 표 41의 처방으로 조제하여, 알긴산 혼합 용액(F4B-M2)으로 하였다. 계속해서, 하기 표 41에 나타내는 알긴산 혼합 용액 F4B-M2 및 INs의 혼합 비율로 혼합 용액(F4B-M3)을 조제하였다. 계속해서, 혼합 용액 F4B-M3을 헤밀톤 시린지에 충전하고, 시린지에 금속 니들(무사시 엔지니어링, SNA-19G-B), 실리콘 튜브(애즈원, φ1×φ2) 및 유리 모세관(나리시게, G-1)을 순차 접속하고, 시린지 펌프에 세트하였다. 상기 유리 모세관의 선단을 100mmol/L의 염화칼슘 수용액이 포함되는 비이커에 침지하고, 유속 250μL/min으로 당해 염화칼슘 수용액 중에 1분간 사출하였다. 상기 염화칼슘 수용액 중에 사출된 섬유상 형태의 물질은, 30분 이상 정치함으로써, 가교 알긴산 겔 파이버(CLA-X2)(표 41 중 CLA-X2 No. 참조)을 얻었다.

[1142] [표 41]

| No. | F4B-M1/ALGS2 혼합비 | F4B-M2/INs 혼합비 | F4B-M3 중의 알킨 화합물 및 아지드 화합물의 최종 농도 (중량%) | 전체 알긴산 농도(중량%) | CLA-X2 No. |
|---|---|---|---|---|---|
| F4-B-1 | 17/108 | 1/1 | 0.2 | 1.5 | FB4-B-1 |
| F4-B-2 | 2/1 | 1/1 | 1.0 | 1.5 | FB4-B-2 |
| F4-B-3 | 56/111 | 167/83 | 0.67 | 2.0 | FB4-B-3 |
| F4-B-4 | 1/2 | 83/167 | 0.33 | 1.0 | FB4-B-4 |
| F4-B-5 | 1/2 | 21/104 | 0.17 | 0.5 | FB4-B-5 |
| F4-B-6 | F4B-M1만 | 1/1 | 1.5 | 1.5 | FB4-B-6 |

[1143]

[1144] (실시예 F4-C) 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제작 (2)

[1145] 상기 (실시예 F4-A) 혹은 (실시예 F4-B)에서 얻어진, 염화칼슘 수용액 중의 가교 알긴산 겔 파이버(CLA-X1 및 CLA-X2)를 셀 스트레이너를 사용하여 여과, 분취하였다. 분취한 가교 알긴산 겔 파이버를, 0.1% 폴리-L-오르니틴브롬화수소산염/100mM 염화칼슘의 수용액에 첨가하고, 37℃, 125rpm으로 30분간 진탕 교반하고, 가교 알긴산 겔 파이버를 폴리머 코팅하였다. 수용액 중의 파이버를, 셀 스트레이너를 사용하여 여과, 분취하고, 생리식염액 5mL를 사용하여 2회 세정하여, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB-X)(표 42 중 CFB-X No. 참조)를 얻었다.

[1146] [표 42]

| No. | CLA-X1 No. | CLA-X2 No. | CFB-X No. |
|---|---|---|---|
| F4-C-1 | FB4-A-1 | - | FB4-A-1-c |
| F4-C-2 | FB4-A-2 | - | FB4-A-2-c |
| F4-C-3 | FB4-A-3 | - | FB4-A-3-c |
| F4-C-4 | FB4-A-4 | - | FB4-A-4-c |
| F4-C-5 | FB4-A-5 | - | FB4-A-5-c |
| F4-C-6 | FB4-A-6 | - | FB4-A-6-c |
| F4-C-7 | - | FB4-B-1 | FB4-B-1-c |
| F4-C-8 | - | FB4-B-2 | FB4-B-2-c |
| F4-C-9 | - | FB4-B-3 | FB4-B-3-c |
| F4-C-10 | - | FB4-B-4 | FB4-B-4-c |
| F4-C-11 | - | FB4-B-5 | FB4-B-5-c |
| F4-C-12 | - | FB4-B-6 | FB4-B-6-c |

[1147]

[1148] (실시예 F4-D) 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 인장 시험

[1149] 상기 (실시예 F4-C)에서 얻어진 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB-X)의 인장 시험은, 소형 탁상 겔 강도 측정기 EZ-SX5NC1(시마즈, No.I308256D0592), 로드셀 SMT1-5N(S/N=913193)을 사용하여, 주사용 생리 식염수(오츠카 세이야쿠 고죠제) 중에서, 파이버를 지그에 세트하여 측정하였다. 측정값은, 파이버가 파단된 곳의 응력을 MPa 및 변형을 %로, 표 43에 나타낸다.

[1150] [표 43]

| No. | CFB-X No. | 응력(MPa) | 변형(%) |
|---|---|---|---|
| F4-D-1 | FB4-A-1-c | 0.248 | 116 |
| F4-D-2 | FB4-A-2-c | 0.290 | 137 |
| F4-D-3 | FB4-A-3-c | 0.285 | 127 |
| F4-D-4 | FB4-A-4-c | 0.331 | 141 |
| F4-D-5 | FB4-A-5-c | 0.199 | 103 |
| F4-D-6 | FB4-A-6-c | 0.219 | 121 |
| F4-D-7 | FB4-B-1-c | 0.205 | 107 |
| F4-D-8 | FB4-B-2-c | 0.436 | 174 |
| F4-D-9 | FB4-B-3-c | 0.253 | 140 |
| F4-D-10 | FB4-B-4-c | 0.165 | 111 |
| F4-D-11 | FB4-B-5-c | 0.063 | 72 |
| F4-D-12 | FB4-B-6-c | 0.482 | 174 |

[1151]

[1152] 표 43 중, No.F4-D-1 내지 F4-D-10 및 F4-D-12에 있어서, 0.1MPa 이상의 인장 강도 및 100% 이상의 변형(신장률)을 나타내는, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버임이 확인되었다.

[1153] (실시예 FI-1) 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 배양

[1154] 125mL 폴리카르보네이트제 삼각 플라스크에, (실시예 F2-C)에서 얻어진 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB2-A-1-c1, FB2-A-2-c1, FB2-A-3-c1, FB2-A-4-c1, FB2-A-5-c1, FB2-A-6-c1, FB2-A-7-c1, FB2-A-8-c1, FB2-A-9-c1 및 FB2-A-10-c1)를 넣고, (실시예 F2-A)에 기재된 항체 산생 배지 용액(30mL)을 첨가하고, 37℃, 5% $CO_2$ 분위기 하에서, 인큐베이터 내에서 125rpm으로 진탕하면서 배양을 14일 또는 20일간 실시하였다. 2 내지 3일에 1회, 배양액 1.8mL를 발취하고, 상기 항체 산생 배지 용액 1.8mL 또는 Feed액(Irvine사제, 카탈로그 번호 JX F003) 1.8mL를 첨가하고, 배지의 총량을 30mL로 유지하였다. 또한, 주에 한번 배양액의 절반량 교환을 실시하였다. 배양 기간에 있어서, 배양액의 IgG 농도를 Cedex Bio 애널라이저(로슈·다이아그노스틱스사)에 의해 인간 IgG 농도로서 측정하였다. 상기 세포 봉입 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용한 배양에 있어서, 배양 기간 중의 누적 항체량 및 배양액에 검출되는 항GPVI 항체 생산 CHO 세포의 농도는 표 44와 같았다.

[1155] [표 44]

| No. | CFB-S No. | 배양 기간 | 배양 종료 시점에서의 배양액 중의 누출 생세포 농도 | 배양 기간 중의 누적 항체(IgG)량(mg/L) |
|---|---|---|---|---|
| FB1-A-1 | FB2-A-1-c1 | 14일 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 312 |
| FB1-A-2 | FB2-A-2-c1 | 14일 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 375 |
| FB1-A-3 | FB2-A-3-c1 | 14일 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 405 |
| FB1-A-4 | FB2-A-4-c1 | 14일 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 560 |
| FB1-A-5 | FB2-A-5-c1 | 14일 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 328 |
| FB1-A-6 | FB2-A-6-c1 | 20일 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 816 |
| FB1-A-7 | FB2-A-7-c1 | 14일 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 314 |
| FB1-A-8 | FB2-A-8-c1 | 14일 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 353 |
| FB1-A-9 | FB2-A-9-c1 | 14일 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 396 |
| FB1-A-10 | FB2-A-10-c1 | 20일 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 195 |

[1156]

[1157] (실시예 FI-2) 생리 활성 물질 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 배양

[1158] <공정 1> MIN6 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 배양

[1159] (실시예 F2-C)에서 얻어진 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB2-B-1-c1)를 60㎜ 초과 저접착 표면 디쉬(Corning사제, 제품 번호: 3261)에 넣고, (실시예 F2-B)에 기재된 완전 배지(5mL)를 첨가하고, 37℃, 5% $CO_2$ 분위기 하에서, 인큐베이터 내에서 정치하여 3일 혹은 14일간 배양하였다.

[1160] <공정 2> 인슐린 분비능 평가

[1161] (실시예 FI-2) <공정 1>에서 3일간 혹은 14일간 배양한, MIN6 세포 봉입 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 중의 MIN6 세포의 인슐린 분비능을 평가하였다. MIN6 세포 봉입 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 저글루코오스 용액(2 mM 글루코오스/KRBH/0.1% BSA) 10mL 중에서 2시간 배양하고, 고글루코오스 용액(20 mM 글루코오스/KRBH/0.1% BSA) 10mL로 용액 교환한 뒤에 또한 2시간 배양하였다. 그 후 다시 저글루코오스 용액 10mL로 용액 교환하여 2시간 배양하였다. 각 공정의 종료 시의 용액 중 인슐린 농도를 초고감도 마우스 인슐린 측정 키트(모리나가 세카가쿠 겐큐죠 제)를 사용하여 측정하였다. 글루코오스 농도에 의존하여, 인슐린을 방출함을 확인할 수 있었다.

[1162] [표 45]

| | 저글루코오스 용액 | 고글루코오스 용액 | 저글루코오스 용액 |
|---|---|---|---|
| 3일째의 인슐린 농도(ng/mL) | 3.9 | 43.4 | 2.0 |
| 14일째의 인슐린 농도(ng/mL) | 10.5 | 48.9 | 11.4 |

[1163]

[1164] (실시예 F5-A) 항체 산생 세포 함유 가교 알긴산 겔 파이버의 제작

[1165] (실시예 F2-A)에 기재된 표 32 및 표 33의 처방과 마찬가지로 하여, 화합물 4-A2d 및 화합물 11-A2d의 3중량% 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)을 조제한 후, 각 수용액을 등용량 혼합하여, 화학 수식 알긴산 혼합 용액(F5A-M1)을 조제하였다. 상기 혼합 용액 F5A-M1, 알긴산나트륨(B-2)와 주사용 생리 식염수(오츠카 세이야쿠 고죠제)(INs)로부터 조제된 3중량% 알긴산 수용액(0.9% 염화나트륨 함유)(ALGS2)을 F5A-M1:ALGS2=5:10의 비율로 혼합하여, 알긴산 혼합 용액(F5A-M2)으로 하였다. 계속해서, 혼합 용액 F5A-M2 및 토실리주맙 산생 CHO 세포($1\times10^8$세포/mL)를 포함하는 (실시예 F2-A)에 기재된 조성을 갖는 G016 배지를 등용량 혼합하여, 세포 함유 알긴산 혼합 용액(F5A-M3)으로 하였다. 상기 혼합 용액 F5A-M3을 헤밀톤 시린지에 충전하고, 시린지에 루어 로크용 니들(간또 가가꾸 가부시키가이샤, 15/23 NL-F)을 접속하고, 시린지 펌프에 세트하였다. 상기 니들 선단을 100mmol/L의 염화칼슘 수용액 혹은 0.9% 염화나트륨 함유 20mmol/L의 염화바륨 수용액이 포함되는 비이커에 침지하고, 유속 250μL/min으로 당해 염화칼슘 혹은 염화바륨 수용액 중에 0.8분간 사출하였다. 상기 수용액 중에 사출된 섬유상 형태의 물질은, 30분 이상 정치함으로써, 토실리주맙 산생 CHO 세포 함유의 가교 알긴산 겔 파이버(CLA-G5)를 얻었다(표 46 중 CLA-G5 No. 참조).

[1166] [표 46]

| No. | F5A-M3 중의 알킨 화합물 및 아지드 화합물의 최종 농도(중량 %) | 겔 파이버 제작 시의 양이온종 | CLA-G5 No. |
|---|---|---|---|
| F5-A-1 | 0.5 | Ca | FB5-A-1 |
| F5-A-2 | 0.5 | Ba | FB5-A-2 |

[1167]

[1168] (실시예 F5-B) 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제작

[1169] (실시예 F5-A)에서 얻어진 항체 산생 세포 함유 가교 알긴산 겔 파이버(CLA-G5)를 표 47에 나타내는 각 조성의 양이온성 폴리머 함유 수용액에 첨가하고, 37℃, 125rpm으로 30분간 진탕 교반하고, 세포 함유 가교 알긴산 겔 파이버를 폴리머 코팅하였다. 또한, 폴리머 코팅에 사용한 수용액은 코팅하는 파이버량의 10배량 사용하였다. 수용액 중의 파이버를, 셀 스트레이너를 사용하여 여과, 분취하고, 생리 식염수 5mL를 사용하여 2회 세정하여, 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB-S2)(표 48 중 CFB-S2 No. 참조)를 얻었다.

[1170] [표 47]

| No. | 양이온성 폴리머 함유 수용액의 조성 |
|---|---|
| F5-c1 | 0.1% 폴리-L-오르니틴브롬화수소산염/100mM 염화칼슘 |
| F5-c2 | 0.1% 폴리-L-오르니틴브롬화수소산염/0.9% 염화나트륨/20mM 염화바륨 |

[1171]

[1172] [표 48]

| No. | CLA-G5 No. | 양이온성 폴리머 함유 수용액 | CFB-S2 No. |
|---|---|---|---|
| F5-B-1 | FB5-A-1 | F5-c1 | FB5-A-1-c1 |
| F5-B-2 | FB5-A-2 | F5-c2 | FB5-A-2-c2 |

[1173]

[1174] (실시예 FI-3) 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 배양

[1175] 125mL 폴리카르보네이트제 삼각 플라스크에, (실시예 F5-B)에서 얻어진 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB5-A-1-c1 또는 FB5-A-2-c2)를 1개 넣고, (실시예 F2-A)에 기재된 G016 배지(30mL)를 첨가하고, 37℃, 5% $CO_2$ 분위기 하에서, 인큐베이터 내에서 125rpm으로 진탕하면서 배양을 개시하고, 5일 후에 배양 온도를 30℃로 하고, 동일 온도에서 배양을 계속하였다. 이 동안, 2 내지 3일에 1회, 배양액 1.8mL를 발취하고, 상기 G016 배지 1.8mL 또는 Feed액(Irvine사제, 카탈로그 번호 JX F003) 1.8mL를 첨가하고, 배지의 총량을 30mL로 유지하였다. 또한, 주에 한번 배양액의 절반량 교환을 실시하였다. 배양 기간에 있어서, 배양액의 IgG 농도를 Cedex Bio 애널라이저(로슈·다이아그노스틱스사)에 의해 인간 IgG 농도로서 측정하였다. 상기 항체 산생 세포 봉입 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용한 배양에 있어서, 각 측정일에 있어서의 누적 항체 농도 및 배양액에 검출되는 토실리주맙 산생 CHO 세포의 농도는 표 49와 같았다. 배양 결과로부터, 각 파이버의 배양에 있어서, 항체의 산생량이 경시적으로 증가하고 있음을 확인할 수 있었다.

[1176] [표 49]

| No. | CFB-S2 No. | 측정일 | 각 측정일 시점에서의 배양액 중의 누출 생세포 농도 | 각 측정일 시점에서의 누적 항체(IgG) 농도(mg/L) |
|---|---|---|---|---|
| FI-3-1 | FB5-A-1-c1 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 308 |
| | | 28 | $2\times10^4$세포/mL | 684 |
| | | 47 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 994 |
| FI-3-2 | FB5-A-2-c2 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 533 |
| | | 28 | $1.5\times10^4$세포/mL | 1475 |
| | | 47 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 2349 |

[1177]

[1178] (실시예 F6) 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제작

[1179] 토실리주맙 산생 CHO 세포($3\times10^7$세포/mL 혹은 $1\times10^8$세포/mL)를 포함하는 (실시예 F2-A)에 기재된 조성을 갖는 G016 배지 및 상기 (실시예 F5-A)에서 조제된 혼합 용액 F5A-M2를 등용량 혼합하여, 세포 함유 알긴산 혼합 용액(F6A-M3)으로 하였다. 또한, 혼합 용액 F6A-M3 중에는, 알킨 화합물 및 아지드 화합물의 최종 농도가 0.5중량%로, 토실리주맙 산생 CHO 세포를 표 50에 나타내는 농도로 함유시켰다. 상기 혼합 용액 F6A-M3을 헤밀톤 시린지에 충전하고, 시린지에 루어 로크용 니들(간또 가가꾸 가부시키가이샤, 15/23 NL-F)을 접속하고, 시린지 펌프에 세트하였다. 상기 니들 선단을 0.9% 염화나트륨 함유 20mmol/L의 염화바륨 수용액이 포함되는 비이커에 침지하고, 유속 250μL/min으로 당해 수용액 중에 표 50에 기재한 시간 사출하였다. 상기 용액 중에 사출된 섬유상 형태의 물질은, 30분 이상 정치함으로써, 토실리주맙 산생 CHO 세포 함유의 가교 알긴산 겔 파이버로서 얻었다. 계속해서, 0.1% 폴리-L-오르니틴브롬화수소산염, 0.9% 염화나트륨 및 20㎜mol/L 염화바륨이 포함되는 수용액을 사용하여, 상기 (실시예 F5-B)에 기재되는 방법과 마찬가지로 하여 코팅을 행함으로써, 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB-S3)(표 50 중 CFB-S3 No. 참조)를 얻었다.

[1180] [표 50]

| No. | F6A-M2와 혼합 전의 G016 배지중 토실리주맙 산생CHO 세포 농도 | F6A-M3 중의 토실리주맙 산생CHO 세포 농도 | 사출 시간(분) | CFB-S3 No. |
|---|---|---|---|---|
| F6-1 | $3x10^7$세포/mL | $1.5x10^7$세포/mL | 1.2 | FB6-1-c1 |
| F6-2 | $3x10^7$세포/mL | $1.5x10^7$세포/mL | 4 | FB6-2-c1 |
| F6-3 | $3x10^7$세포/mL | $1.5x10^7$세포/mL | 6 | FB6-3-c1 |
| F6-4 | $1x10^8$세포/mL | $5x10^7$세포/mL | 4 | FB6-4-c1 |

[1181]

[1182] (실시예 FI-4) 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 배양

[1183] 125mL 폴리카르보네이트제 삼각 플라스크에, (실시예 F6)에서 얻어진 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB6-1-c1, FB6-2-c1 또는 FB6-4-c1은 1개, FB6-3-c1은 2개)를 넣고, (실시예 F2-A)에 기재된 조성을 갖는 G016 배지를 첨가하고, 겔 파이버 및 G016 배지의 총량을 30mL로 하고, 37℃, 5% $CO_2$ 분위기 하에서, 인큐베이터 내에서 125rpm으로 진탕하면서 배양을 개시하고, 5일 후에 배양 온도를 30℃로 하고, 동일 온도에서 배양을 계속하였다. 배양 개시 2일 후에, 배양액 1.8mL를 발취하고, Feed액(Irvine사제, 카탈로그 번호 JX F003) 1.8mL를 첨가하고, 배지의 총량을 30mL로 유지하였다. 이후, 2 내지 3일에 1회, 배양액의 절반량 교환을 실시하였다. 배양 기간에 있어서, 배양액의 IgG 농도를 Cedex Bio 애널라이저(로슈·다이아그노스틱스사)에 의해 인간 IgG 농도로서 측정하였다. 상기 항체 산생 세포 봉입 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를

사용한 배양에 있어서, 각 측정일에 있어서의 누적 항체 농도 및 배양액에 검출되는 토실리주맙 산생 CHO 세포의 농도는 표 51과 같았다. 배양 결과로부터, 각 파이버의 배양에 있어서, 항체의 산생량이 경시적으로 증가하고 있음을 확인할 수 있었다.

[1184] [표 51]

| No. | CFB-S3 No. | 측정일 | 각 측정일 시점에서의 누출 생세포 농도 | 각 측정일 시점에서의 누적 항체(IgG) 농도(mg/L) |
|---|---|---|---|---|
| FI-4-1 | FB6-1-c1 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 270 |
| | | 28 | $3.5\times10^4$세포/mL | 812 |
| | | 37 | $2\times10^4$세포/mL | 1119 |
| FI-4-2 | FB6-2-c1 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 1120 |
| | | 28 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 2662 |
| | | 37 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 3295 |
| FI-4-3 | FB6-3-c1 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 2401 |
| | | 28 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 4587 |
| | | 37 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 5312 |
| FI-4-4 | FB6-4-c1 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 1806 |
| | | 28 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 3416 |
| | | 37 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 3849 |

[1185]

[1186] (실시예 F7) 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제작

[1187] 항GPVI 항체 산생 세포($2\times10^7$세포/mL)를 포함하는 (실시예 F2-A)에 기재된 항체 산생 배지 용액 및 상기 (실시예 F5-A)에서 조제된 혼합 용액 F5A-M2를 등용량 혼합하여, 세포 함유 알긴산 혼합 용액(F7A-M3)으로 하였다. 또한, 혼합 용액 F7A-M3 중에는, 알킨 화합물 및 아지드 화합물을 최종 농도 0.5중량%로 함유시켰다. 상기 혼합 용액 F7A-M3을 헤밀톤 시린지에 충전하고, 시린지에 루어 로크용 니들(간또 가가꾸 가부시키가이샤, 15/23 NL-F)을 접속하고, 시린지 펌프에 세트하였다. 상기 니들 선단을 0.9% 염화나트륨 함유 20mmol/L의 염화바륨 수용액이 포함되는 비이커에 침지하고, 유속 250μL/min으로 당해 수용액 중에 표 52에 기재한 시간 사출하였다. 상기 수용액 중에 사출된 섬유상 형태의 물질은, 30분 이상 정치함으로써, 항GPVI 항체 산생 세포 함유의 가교 알긴산 겔 파이버로서 얻었다. 계속해서, 0.1% 폴리-L-오르니틴브롬화수소산염, 0.9% 염화나트륨 및 20mmmol/L 염화바륨이 포함되는 수용액을 사용하여, 상기 (실시예 F5-B)에 기재되는 방법과 마찬가지로 하여 코팅을 행함으로써, 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB-S4)(표 52 중 CFB-S4 No. 참조)를 얻었다.

[1188] [표 52]

| No. | 사출 시간(분) | CFB-S4 No. |
|---|---|---|
| F7-1 | 1.2 | FB7-1-c1 |
| F7-2 | 4 | FB7-2-c1 |
| F7-3 | 6 | FB7-3-c1 |

[1189]

[1190] (실시예 FI-5) 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 배양

[1191] 125mL 폴리카르보네이트제 삼각 플라스크에, (실시예 F7)에서 얻어진 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB7-1-c1 또는 FB7-2-c1은 1개, FB7-3-c1은 2개)를 넣고, (실시예 F2-A)에 기재된 항체 산생 배지 용액을 첨가하고, 겔 파이버 및 항체 산생 배지 용액의 총량을 30mL로 하고, 37℃, 5% $CO_2$ 분위기하에서, 인큐베이터 내에서 125rpm으로 진탕하면서 배양하였다. 배양 개시 2일 후에, 배양액 1.8mL를 발취하고, Feed액(Irvine사제, 카탈로그 번호 JX F003) 1.8mL를 첨가하고, 배지의 총량을 30mL로 유지하였다. 이후, 2 내지 3일에 1회, 항체 산생 배지 용액을 사용하여 배양액의 절반량 교환을 실시하였다. 배양 기간에 있어서, 배양액의 IgG 농도를 Cedex Bio 애널라이저(로슈 · 다이아그노스틱스사)에 의해 인간 IgG 농도로서 측정하였다. 상기 항체 산생 세포 봉입 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용한 배양에 있어서, 각 측정일에 있어서의 누적 항체 농도 및 배양액에 검출되는 항GPVI 항체 산생 세포의 농도는 표 53과 같았다. 배양 결과로부터, 각 파이버의 배양에 있어서, 항체의 산생량이 경시적으로 증가하고 있음을 확인할 수 있었다.

[1192] [표 53]

| No. | CFB-S4 No. | 측정일 | 각 측정일 시점에서의 배양액 중의 누출 생세포 농도 | 각 측정일 시점에서의 누적 항체(IgG) 농도(mg/L) |
|---|---|---|---|---|
| FI-5-1 | FB6-1-c1 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 271 |
| | | 28 | $1\times10^4$세포 | 589 |
| FI-5-2 | FB6-2-c1 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 1021 |
| | | 28 | $0.5\times10^4$세포 | 2584 |
| | | 37 | $3\times10^4$세포 | 3772 |
| FI-5-3 | FB6-3-c1 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 2512 |
| | | 28 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 6050 |
| | | 37 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 8050 |

[1193]

[1194] (실시예 F8) 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제작

[1195] 하기 표 54의 처방으로 각종 알긴산나트륨과 주사용 생리 식염수(오츠카 세이야쿠 고죠제)(INs)로부터 3중량% 알긴산 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)을 조제하였다. 계속해서, 하기 표 55의 처방으로 3중량% 알킨 수용액 및 아지드 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)을 조제하였다.

[1196] [표 54]

3중량% 알긴산나트륨 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)

| No. | 조성 |
|---|---|
| ALGS2A | 알긴산나트륨(A-2)/INs |
| ALGS3 | 알긴산나트륨(B-3)/INs |
| ALGS3A | 알긴산나트륨(A-3)/INs |

[1197]

[1198] [표 55]

3중량% 알킨 수용액 및 아지드 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)

| No. | 조성 |
|---|---|
| F8A1 | 3.3중량% 화합물 4-A2d 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |
| F8A2 | 화합물 4-A3/INs |
| F8N1 | 3.3중량% 화합물 11-A2d 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |
| F8N2 | 화합물 11-A3/INs |

[1199]

[1200] 상기 표 54 및 55에 기재된 3중량% 알킨 수용액 및 아지드 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)을 하기 표 56에 나타내는 처방으로 등용량 혼합하여, 화학 수식 알긴산 혼합 용액(F8A-M1)을 조제하였다. 혼합 용액 F8A-M1, 상기 3중량% 알긴산나트륨 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)을 하기 표 56에 기재된 조합으로 5:10이 되도록 혼합하여, 알긴산 혼합 용액(F8A-M2)을 조제하였다. 계속해서, 토실리주맙 산생 CHO 세포($1\times10^8$세포/mL)를 포함하는 (실시예 F2-A)에 기재된 조성을 갖는 G016 배지 및 혼합 용액 F8A-M2를 등용량 혼합하여, 세포 함유 알긴산 혼합 용액(F8A-M3)으로 하였다. 또한, 혼합 용액 F8A-M3 중에는, 알킨 화합물 및 아지드 화합물을 최종 농도 0.5중량%로 함유시켰다.

[1201] 혼합 용액 F8A-M3을 헤밀톤 시린지에 충전하고, 시린지에 루어 로크용 니들(간또 가가꾸 가부시키가이샤, 15/23 NL-F)을 접속하고, 시린지 펌프에 세트하였다. 상기 니들 선단을 0.9% 염화나트륨 함유 20mmol/L의 염화바륨 수용액이 포함되는 비이커에 침지하고, 유속 250μL/min으로 0.8분간 사출하였다. 상기 수용액 중에 사출된 섬유상 형태의 물질은, 30분 이상 정치함으로써, 토실리주맙 산생 CHO 세포 함유의 가교 알긴산 겔 파이버로서 얻었다. 계속해서, 얻어진 토실리주맙 산생 CHO 세포 함유의 가교 알긴산 겔 파이버 및 0.1% 폴리-L-오르니틴브롬화수소산염, 0.9% 염화나트륨 및 20mmmol/L 염화바륨이 포함되는 수용액을 사용하여, 상기 (실시예 F5-B)에 기재되는 방법과 마찬가지로 하여 코팅을 행함으로써, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB-S5)(표 56 중 CFB-S5 No. 참조)를 얻었다.

[1202] [표 56]

| No. | F8A-M1 중의 알킨 화합물/아지드 화합물의 조합 | F8A-M2 중의 알긴산나트륨의 종류 | CFB-S5 No. |
|---|---|---|---|
| F8-1 | F8A1/F8N1 | ALGS2A | FB8-1-c1 |
| F8-2 | F8A1/F8N1 | ALGS3 | FB8-2-c1 |
| F8-3 | F8A1/F8N1 | ALGS3A | FB8-3-c1 |
| F8-4 | F8A2/F8N2 | ALGS3A | FB8-4-c1 |
| F8-5 | F8A2/F8N2 | ALGS3 | FB8-5-c1 |

[1203]

[1204] (실시예 FI-6) 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 배양

[1205] 125mL 폴리카르보네이트제 삼각 플라스크에, (실시예 F8)에서 얻어진 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB8-1-c1, FB8-2-c1, FB8-3-c1, FB8-4-c1 또는 FB8-5-c1)를 1개 넣고, (실시예 F2-A)에 기재된 조성을 갖는 G016 배지(30mL)를 첨가하고, 37℃, 5% $CO_2$ 분위기 하에서, 인큐베이터 내에서 125rpm으로 진탕하면서 배양을 개시하고, 5일 후에 배양 온도를 30℃로 하고, 동일 온도에서 배양을 계속하였다. 이 동안, 2 내지 3일에 1회, 배양액 1.8mL를 발취하고, 상기 G016 배지 1.8mL 또는 Feed액(Irvine사제, 카탈로그 번호 JX F003) 1.8mL를 첨가하고, 배지의 총량을 30mL로 유지하였다. 또한, 주에 한번 배양액의 절반량 교환을 실시하였다. 배양 기간에 있어서, 배양액의 IgG 농도를 Cedex Bio 애널라이저(로슈 · 다이아그노스틱스사)에 의해 인간 IgG 농도로서 측정하였다. 상기 항체 산생 세포 봉입 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용한 배양에 있어서, 각 측정일에 있어서의 누적 항체 농도 및 배양액에 검출되는 토실리주맙 산생 CHO 세포의 농도는 표 57과 같았다. 배양 결과로부터, 각 파이버의 배양에 있어서, 항체의 산생량이 경시적으로 증가하고 있음을 확인할 수 있었다.

[1206] [표 57]

| No. | CFB-S5 No. | 측정일 | 각 측정일 시점에서의 배양액 중의 누출 생세포 농도 | 각 측정일 시점에서의 누적 항체(IgG) 농도(mg/L) |
|---|---|---|---|---|
| FI-6-1 | FB8-1-c1 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 575 |
| | | 21 | $4.5\times10^4$세포/mL | 1116 |
| FI-6-2 | FB8-2-c1 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 445 |
| | | 28 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 1103 |
| | | 38 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 1412 |
| FI-6-3 | FB8-3-c1 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 636 |
| | | 28 | $4\times10^4$세포/mL | 1758 |
| | | 38 | $2.5\times10^4$세포/mL | 2343 |
| FI-6-4 | FB8-4-c1 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 566 |
| | | 28 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 1559 |
| | | 38 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 2075 |
| FI-6-5 | FB8-5-c1 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 360 |
| | | 28 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 854 |
| | | 38 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 1050 |

[1207]

[1208] (실시예 F9) 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제작

[1209] 토실리주맙 산생 CHO 세포($1\times10^8$세포/mL)를 포함하는 (실시예 F2-A)에 기재된 조성을 갖는 G016 배지 및 상기 (실시예 F5-A)에서 조제된 알긴산 혼합 용액 F5A-M2를 등용량 혼합하여, 세포 함유 알긴산 혼합 용액(F9A-M3)으로 하였다. 또한, 혼합 용액 F9A-M3 중에는, 알킨 화합물 및 아지드 화합물의 최종 농도를 0.5중량%로 함유시켰다. 상기 혼합 용액 F9A-M3을 헤밀톤 시린지에 충전하고, 시린지에 루어 로크용 니들(간또 가가꾸 가부시키가이샤, 15/23 NL-F)을 접속하고, 시린지 펌프에 세트하였다. 상기 니들 선단을 0.9% 염화나트륨 함유 20mmol/L의 염화바륨 수용액이 포함되는 비이커에 침지하고, 유속 250μL/min으로 당해 수용액 중에 0.8분간 사출하였다. 상기 용액 중에 사출된 섬유상 형태의 물질은, 30분 이상 정치함으로써, 토실리주맙 산생 CHO 세포 함유의 가교 알긴산 겔 파이버로서 얻었다. 얻어진 상기 세포 함유 가교 알긴산 겔 파이버를, 표 58에 나타내는 각 조성의 양이온성 폴리머 함유 수용액을 사용하여, 상기 (실시예 F5-B)에 기재되는 방법과 마찬가지로 하여 코팅을 행함으로써, 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB-S6)(표 59 중 CFB-S6 No. 참조)를 얻었다.

[1210] [표 58]

| No. | 양이온성 폴리머 함유 수용액의 조성 |
|---|---|
| F9-c1 | 0.1% 폴리-L-오르니틴브롬화수소산염/0.9% 염화나트륨/20mM 염화바륨 |
| F9-c2 | 0.1% 폴리(메틸렌-코구아니딘)염산염/0.9% 염화나트륨/20mM 염화바륨 |
| F9-c3 | 0.075% 직쇄 폴리에틸렌이민 염산염/0.9% 염화나트륨/20mM 염화바륨 |

[1211]

[1212] [표 59]

| No. | 양이온성 폴리머 함유 수용액 | CFB-S6 No. |
|---|---|---|
| F9-1 | F9-c1 | FB9-1-c1 |
| F9-2 | F9-c2 | FB9-2-c2 |
| F9-3 | F9-c3 | FB9-3-c3 |

[1213]

[1214] (실시예 FI-7) 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 배양

[1215] 125mL 폴리카르보네이트제 삼각 플라스크에, 상기 (실시예 F9)에서 얻어진 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB9-1-c1, FB9-2-c2 또는 FB9-3-c3)를 1개 넣고, (실시예 F2-A)에 기재된 G016 배지(30mL)를 첨가하고, 37℃, 5% $CO_2$ 분위기 하에서, 인큐베이터 내에서 125rpm으로 진탕하면서 배양을 개시하고, 5일 후에 배양 온도를 30℃로 하고, 동일 온도에서 배양을 계속하였다. 이 동안, 2 내지 3일에 1회, 배양액 1.8mL를 발취하고, 상기 G016 배지 1.8mL 또는 Feed액(Irvine사제, 카탈로그 번호 JX F003) 1.8mL를 첨가, 혹은 배양액의 절반량 교환을 실시하였다. 배양 기간에 있어서, 배양액의 IgG 농도를 Cedex Bio 애널라이저(로슈·다이아그노스틱스사)에 의해 인간 IgG 농도로서 측정하였다. 상기 항체 산생 세포 봉입 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용한 배양에 있어서, 각 측정일에 있어서의 누적 항체 농도 및 배양액에 검출되는 토실리주맙 산생 CHO 세포의 농도는 표 60와 같았다. 배양 결과로부터, FB9-1-c1 및 FB9-1-c3의 파이버 배양에 있어서, 항체의 산생량이 경시적으로 증가하고 있음을 확인할 수 있었다.

[1216] [표 60]

| No. | CFB-S6 No. | 측정일 | 각 측정일 시점에서의 배양액 중의 누출 생세포 농도 | 각 측정일 시점에서의 누적 항체(IgG) 농도(mg/L) |
|---|---|---|---|---|
| FI-7-1 | FB9-1-c1 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 601 |
| | | 35 | $1.5\times10^4$세포/mL | 1863 |
| FI-7-2 | FB9-2-c2 | 14 | $3.5\times10^4$세포/mL | 606 |
| FI-7-3 | FB9-3-c3 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 543 |
| | | 35 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 1803 |

[1217]

[1218] (실시예 F10) 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제작

[1219] <공정 a> 가교 알긴산 겔 파이버의 제작

[1220] 3.0중량%로 조제한 알긴산 수용액 1 및 20mg/mL의 블루 덱스트란(cytiva제, Blue Dextran 2000, 코드 번호 17036001) 함유 1.8중량% 식염수를 등량 혼합하여, 헤밀톤 시린지에 충전하였다. 시린지에 금속 니들(무사시 엔지니어링제, SNA-19G-B), 실리콘 튜브(애즈원제, φ1×φ2) 및 유리 모세관(나리시게제, G-1)을 순차 접속하고, 시린지 펌프에 세트하였다. 유리 모세관의 선단을 100mmol/L의 염화칼슘 수용액에 침지하고, 유속 250μL/min으로 1분간 송액하였다. 회수한 가교 알긴산 겔 파이버는, 동 농도의 염화칼슘 수용액(10mL) 중에서 30분간 정치하였다. 또한, 공정 a에서 사용한 알긴산 수용액 1은, 알긴산나트륨(A-2)의 수용액 또는 화합물 4-A2c/화합물 11-A2e의 혼합 용액이다.

[1221] <공정 b> PLO 코팅

[1222] (실시예 F10) <공정 a>에서 얻어진 가교 알긴산 겔 파이버를 포함하는 염화칼슘 수용액으로부터, 셀 스트레이너를 사용하여 가교 알긴산 겔 파이버를 분리하였다. 분리한 가교 알긴산 겔 파이버를, 0.1중량%로 조제한 폴리-L-오르니틴(PLO) 수용액(5mL)[0.1% 폴리-L-오르니틴 염산염 및 100㎜mol/L 염화칼슘이 포함되는 수용액]에 첨가하고, 37℃, 125rpm으로 20분간 진탕 교반하였다. 그 후, 셀 스트레이너를 사용하여 상기 폴리-L-오르니틴 수용액으로부터 양이온 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 분리하고, 생리 식염수 5mL를 사용하여 2회 세정하였다.

[1223] <공정 c> 알긴산 코팅

[1224] (실시예 F10) <공정 b>에서 얻어진 PLO 코팅의 양이온 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 0.15중량%로 조제한 알긴산 수용액 2(5mL)에 첨가하고, 37℃, 125rpm으로 20분간 진탕 교반하였다. 그 후, 셀 스트레이너를 사용하여 상기 알긴산 수용액으로부터 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB-10)(하기 표 61 중 CFB-10 No.을 참조)를 분리하고, 생리 식염수 5mL를 사용하여 2회 세정하였다. 또한, 공정 c에서 사용한 알긴산 수용액 2는, 알긴산나트륨(A-2)의 수용액 또는 화합물 4-A2c/화합물 11-A2e의 혼합 용액이다.

[1225] [표 61]

[1226]

| No. | 알긴산 수용액 ① 중의 조성 | 알긴산 수용액 ②의 조성 | CFB-10 No. |
|---|---|---|---|
| F10-1 | A-2만 | A-2만 | FB10-1 |
| F10-2 | A-2만 | 4-A2c/11-A2e | FB10-2 |
| F10-3 | 4-A2c/11-A2e | A-2만 | FB10-3 |
| F10-4 | 4-A2c/11-A2e | 4-A2c/11-A2e | FB10-4 |

[1227] (실시예 F10B) 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제작

[1228] 화합물 4-A2d의 3중량% 수용액, 화합물 11-A2d의 3중량% 수용액 및 알긴산나트륨(A-2) 수용액을 사용하여, 하기 표 62에 나타내는 조합으로 알긴산 용액(F10B-M1)을 조제하였다. 계속해서, 20mg/mL 블루 덱스트란(Blue Dextran 2000, GE 헬스케어 사이언스, 17036001) 함유 1.8% 염화나트륨 수용액 및 F10B-M1을 등용량 혼합하여, 알긴산 혼합 용액(F10B-M2)을 조제하였다. 또한, 혼합 용액 F10B-M2 중에는, 알킨 화합물 및 아지드 화합물의 최종 농도를 1.5중량% 혹은 알긴산나트륨의 최종 농도를 1.5중량%로 되도록 함유시켰다. 혼합 용액 F10B-M2를 헤밀톤 시린지에 충전하고, 시린지에 금속 니들(무사시 엔지니어링, SNA-19G-B), 실리콘 튜브(애즈원, φ1×φ2) 및 유리 모세관(나리시게, G-1)을 순차 접속하고, 시린지 펌프에 세트하였다. 상기 유리 모세관의 선단을 0.9% 염화나트륨 함유 20mmol/L의 염화바륨 수용액이 포함되는 비이커에 침지하고, 유속 250μL/min으로 당해 용액 중에 1분간 사출하였다. 상기 용액 중에 사출된 섬유상 형태의 물질은, 동 농도의 용액 중에서 30분간 정치시켜, 가교 알긴산 겔 파이버를 얻었다. 얻어진 가교 알긴산 겔 파이버를 포함하는 용액을 셀 스트레이너를 사용하여 여과하고, 상기 겔 파이버를 분리하였다. 분리한 겔 파이버를, 0.1% 폴리-L-오르니틴 염화수소산염, 0.9% 염화나트륨 및 20㎜mol/L 염화바륨이 포함되는 양이온성 폴리머 함유 수용액(5mL)에 첨가하고, 37℃, 125rpm으로 20분간 진탕 교반하여, 양이온 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 얻었다. 얻어진 겔 파이버는, 다시 셀 스트레이너를 사용하여 여과하고, 생리 식염액 5mL를 사용하여 2회 세정하였다. 계속해서, 알긴산나트륨(A-2)을 생리 식염수에 용해시켜, 최종 농도 0.15% 알긴산 용액(F10B-M3)을 조제하였다. 상기 세정한 양이온 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 F10B-M3(5mL)에 첨가하고, 37℃, 125rpm으로 20분간 진탕 교반하여, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB-10B)(하기 표 62 중 CFB-10B No.을 참조)를 얻었다. 얻어진 CFB-10B는, 셀 스트레이너를 사용하여 여과하고, 생리 식염액 5mL를 사용하여 2회 세정하였다.

[1229] [표 62]

[1230]

| No. | F10B-M1 중의 조성 | CFB-10B No. |
|---|---|---|
| F10B-1 | A-2만 | FB10B-1 |
| F10B-2 | 4-A2d/11-A2d | FB10B-2 |

[1231] (실시예 F11) 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 안정성

[1232] <공정 d> 킬레이트 처리

[1233] (실시예 F10) <공정 c>에서 얻어진 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(하기 표 63 중 CFB-10 No.을 참조)를 20mM의 EDTA·2K/생리 식염수(5mL)에 첨가하고, 37℃, 125rpm으로 20분간 진탕 교반하였다. 그 후, 셀 스트레이너를 사용하여 EDTA·2K/생리 식염수로 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 분리하고, 생리 식염수 5mL를 사용하여 2회 세정하였다. 회수한 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(하기 표 63 중 CFB-11 No.을 참조)는 안정성 평가 시험의 실시까지 5mL 생리 식염수에 침지하였다.

[1234] <공정 e> 안정성 평가

[1235] (실시예 $F1_1$) <공정 d>에서 얻어진 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 5mL의 PBS 용액을 첨가한 15mL

원침관에 옮기고, 37℃에서 1일 진탕(워터 배스 셰이커(TAITEC제, personal II), 180rpm)하였다. 그 후, 당해 파이버를 10mL의 PBS 용액을 첨가한 25mL 원침관에 옮기고, 37℃에서 또한 1시간 진탕하였다. 관찰 결과를 하기 표 63에 나타낸다. 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 안정성은, 이하의 지표에 기초하여 눈으로 봐서 평가하였다.

[1236] 안정성 평가(스코어):

[1237] 3: 파이버의 붕괴/용해/변형/블루 덱스트란의 용출 등이 전혀 보이지 않음

[1238] 2: 파이버의 일부에 붕괴/용해/변형/블루 덱스트란의 용출 등이 보임

[1239] 1: 파이버에 명확한 붕괴/용해/변형/블루 덱스트란의 용출 등이 보여서, 구조체의 기능을 유지할 수 없다

[1240] [표 63]

[1241]

| No. | CFB-10 No. | CFB-11 No. | 안정성 평가(스코어) | |
|---|---|---|---|---|
| | | | EDTA 처리 후 | 진탕 후 |
| F11-1 | FB10-1 | FB11-1 | 2 | 1 |
| F11-2 | FB10-2 | FB11-2 | 3 | 2 |
| F11-3 | FB10-3 | FB11-3 | 3 | 3 |
| F11-4 | FB10-4 | FB11-4 | 3 | 3 |

[1242] (실시예 F11B) 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 안정성

[1243] (1) 파이버의 EDTA 처리

[1244] 상기 (실시예 F10B)에서 제작한 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB-10B)(하기 표 64 중 CFB-10B No.을 참조)를 사용하여, (실시예 F11)과 마찬가지의 조작을 실시함으로써, 킬레이트 처리한 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB-11B)(하기 표 64 중 CFB-11B No.을 참조)를 얻었다.

[1245] (2) 진탕 붕괴 시험

[1246] 상기 EDTA 처리한 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 셀 스트레이너를 사용하여 분리한 후, 10mL의 PBS 용액을 첨가한 25mL 원침관에 첨가하고, 37℃에서 41시간 진탕하였다.

[1247] 상기, EDTA 처리 후, 진탕 후의 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 안정성은, 이하의 지표에 기초하여 눈으로 봐서 평가하였다.

[1248] 안정성 평가(스코어):

[1249] 3: 파이버의 붕괴/용해/변형/블루 덱스트란의 용출 등이 전혀 보이지 않음

[1250] 2: 파이버의 일부에 붕괴/용해/변형/블루 덱스트란의 용출 등이 보임

[1251] 1: 파이버에 명확한 붕괴/용해/변형/블루 덱스트란의 용출 등이 보여서, 구조체의 기능을 유지할 수 없다

[1252] [표 64]

[1253]

| No. | CFB-10B No. | CFB-11B No. | 안정성 평가(스코어) | |
|---|---|---|---|---|
| | | | EDTA 처리 후 | 진탕 후 |
| F11B-1 | FB10B-1 | FB11B-1 | 3 | 2 |
| F11B-2 | FB10B-2 | FB11B-2 | 3 | 3 |

[1254] (실시예 F12) 항체 산생 세포 함유 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제작

[1255] 상기 실시예(실시예 F5-A)에서 조제된 알긴산 혼합 용액 F5A-M2와 주사용 생리 식염수(오츠카 세이야쿠 고죠 제)(INs)를 1:19의 비율로 혼합하여, 음이온성 폴리머 함유 수용액을 조제했다(상기 음이온성 폴리머 함유 수용액은, F5A-M2가 0.15중량% 함유되어 있다). 계속해서, 상기 실시예 F9에 기재된 방법으로 얻어진, 항체 산생 세포 함유 양이온 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB9-1-c1, FB9-2-c2 또는 FB9-3-c3)를 파이버의 10배량의 상기 음이온성 폴리머 함유 수용액에 침지하고, 37℃, 125rpm으로 20분간 진탕 교반하고, 음이온성 폴리머로 코팅하였다. 수용액 중의 파이버를, 셀 스트레이너를 사용하여 여과, 분취하고, INs 7mL를 사용하여 3회 세정하여, 항체 산생 세포 함유 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(ACFB-S1)(표 65 중 ACFB-S1 No. 참조)를 얻

었다.

[1256] [표 65]

| No. | CFB-S6 No. | ACFB-S1 No. |
|---|---|---|
| F12-1 | FB9-1-c1 | FB12-ac1 |
| F12-2 | FB9-2-c2 | FB12-ac2 |
| F12-3 | FB9-3-c3 | FB12-ac3 |

[1257]

[1258] (실시예 FI-8) 항체 산생 세포 함유 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 배양

[1259] 125mL 폴리카르보네이트제 삼각 플라스크에, (실시예 F12)에서 얻어진 항체 산생 세포 함유 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB12-ac1, FB12-ac2 또는 FB12-ac3)를 1개 넣고, (실시예 FI-7)과 마찬가지의 조작을 실시하였다. 배양 기간에 있어서, 배양액의 IgG 농도를 Cedex Bio 애널라이저(로슈·다이아그노스틱스사)에 의해 인간 IgG 농도로서 측정하였다. 상기 항체 산생 세포 봉입 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용한 배양에 있어서, 각 측정일에 있어서의 누적 항체 농도 및 배양액에 검출되는 토실리주맙 산생 CHO 세포의 농도는 표 66와 같았다.

[1260] [표 66]

| No. | CFB-S8 No. | 측정일 | 각 측정일 시점에서의 배양액 중의 누출 생세포 농도 | 각 측정일 시점에서의 누적 항체(IgG) 농도(mg/L) |
|---|---|---|---|---|
| FI-8-1 | FB12-ac1 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 691 |
| | | 21 | $0.5\times10^4$세포/mL | 1267 |
| | | 35 | $2\times10^4$세포/mL | 2219 |
| FI-8-2 | FB12-ac2 | 14 | $8\times10^4$세포/mL | 693 |
| FI-8-3 | FB12-ac3 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 613 |
| | | 21 | $5\times10^4$세포/mL | 1145 |

[1261]

[1262] (실시예 F13-A) 항체 산생 세포 함유 양이온 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제작

[1263] 토실리주맙 산생 CHO 세포를 사용하여, 상기 (실시예 F5-A) 및 (실시예 F5-B)와 마찬가지의 조작을 실시함으로써, 항체 산생 세포 함유 양이온 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CLA-G13)(하기 표 67 CLA-G13 No. 참조)를 제작하였다. 또한, CLA-G13에는 토실리주맙 산생 CHO 세포를 최종 농도 $5\times10^7$세포/mL로 함유시켰다.

[1264] [표 67]

| No. | 겔 파이버 제작 시의 양이온종 | 양이온 폴리머 함유 수용액 중의 2가 이온종 | CLA-G13 No. |
|---|---|---|---|
| F13-A-1 | Ca | Ca | FB13-A-1-c1 |
| F13-A-2 | Ba | Ba | FB13-A-2-c2 |

[1265]

[1266] (실시예 F13-B) 항체 산생 세포 함유 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제작

[1267] 하기 표 68 및 표 69의 처방으로 3중량% 알킨 수용액 및 아지드 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)을 조제하였다. 계속해서, 알긴산나트륨(B-2)와 주사용 생리 식염수(오츠카 세이야쿠 고죠제)(INs)를 혼합하여 3중량% 알긴산 수용액(0.9% 염화나트륨 함유)(ALGS2)을, 알긴산나트륨(A-2)과 INs를 혼합하여 3중량% 알긴산 수용액(0.9% 염화나트륨 함유)(ALGS2A)을 각각 조제하였다.

[1268] [표 68]

알킨 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)

| | |
|---|---|
| F13A1 | 3.3중량% 화합물 4-A2d 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |
| F13A2 | 3.3중량% 화합물 1-A2d 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |

[1269]

[1270] [표 69]

아지드 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)

| | |
|---|---|
| F13N1 | 3.3중량% 화합물 11-A2d 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |
| F13N2 | 3.3중량% 화합물 13-A2b 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |
| F13N3 | 3.3중량% 화합물 16-A2b 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |

[1271]

[1272] 상기 알킨, 아지드, ALGS2, ALGS2A 혹은 INs를 표 70에 나타내는 조합으로 혼합하여, 음이온성 폴리머 함유 수용액을 조제하였다. 또한, 음이온성 폴리머 함유 수용액에 포함되는 전체 알긴산 농도는 약 0.15중량%이며,

각각 표 70의 비율이 되도록 혼합하였다. 계속해서, (실시예 F13-A)에서 얻어진 양이온 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CLA-G13)(하기 표 70 CLA-G13 No. 참조) 및 음이온성 폴리머 함유 수용액을 사용하여, (실시예 F12)와 마찬가지로 음이온성 폴리머에 의한 코팅 조작을 실시함으로써, 항체 산생 세포 함유 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(ACFB-S2)(하기 표 70 ACFB-S2 No. 참조)를 얻었다.

[1273] [표 70]

| No. | 음이온성 폴리머 함유 수용액의 조성 | 알킨/아지드/알긴산나트륨의 혼합 비율 | CLA-G13 No. | ACFB-S2 No. |
|---|---|---|---|---|
| F13-B-1 | F13A1/F13N1/ALGS2/INs | 1/1/4 | FB13-A-1-c1 | FB13-B-1-ac1 |
| F13-B-2 | F13A2/F13N1/ALGS2/INs | 1/1/4 | FB13-A-2-c2 | FB13-B-2-ac2 |
| F13-B-3 | F13A1/F13N2/ALGS2/INs | 1/1/4 | FB13-A-2-c2 | FB13-B-3-ac2 |
| F13-B-4 | F13A1/F13N3/ALGS2/INs | 1/1/4 | FB13-A-2-c2 | FB13-B-4-ac2 |
| F13-B-5 | F13A1/F13N1/ALGS2A/INs | 1/1/4 | FB13-A-2-c2 | FB13-B-5-ac2 |
| F13-B-6 | F13A1/F13N1/INs | 1/1/0 | FB13-A-2-c2 | FB13-B-6-ac2 |
| F13-B-7 | F13A1/F13N3/INs | 1/1/0 | FB13-A-2-c2 | FB13-B-7-ac2 |
| F13-B-8 | ALGS2/INs | - | FB13-A-2-c2 | FB13-B-8-ac2 |

[1274]

[1275] (실시예 FI-9) 항체 산생 세포 함유 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 배양

[1276] 125mL 폴리카르보네이트제 삼각 플라스크에, (실시예 F13-B)에서 얻어진 항체 산생 세포 함유 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB13-B-1-ac1, FB13-B-2-ac2, FB13-B-3-ac2, FB13-B-4-ac2, FB13-B-5-ac2, FB13-B-6-ac2, FB13-B-7-ac2 및 FB13-B-8-ac2)를 1개 넣고, (실시예 F2-A)에 기재된 G016 배지(30mL)를 첨가하고, 37℃, 5% $CO_2$ 분위기 하에서, 인큐베이터 내에서 125rpm으로 진탕하면서 배양을 개시하고, 5일 후에 배양 온도를 30℃로 하고, 동일 온도에서 배양을 계속하였다. 이 동안, 2 내지 3일에 1회, 배양액 1.8mL를 발취하고, 상기 G016 배지 1.8mL 또는 Feed액(Irvine사제, 카탈로그 번호 JX F003) 1.8mL를 첨가하고, 배지의 총량을 30mL로 유지하였다. 또한, 주에 한번 배양액의 절반량 교환을 실시하였다. 배양 기간에 있어서, 배양액의 IgG 농도를 Cedex Bio 애널라이저(로슈 · 다이아그노스틱스사)에 의해 인간 IgG 농도로서 측정하였다. 상기 항체 산생 세포 함유 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 사용한 배양에 있어서, 각 측정일에 있어서의 누적 항체 농도 및 배양액에 검출되는 토실리주맙 산생 CHO 세포의 농도는 표 71과 같았다.

[1277] [표 71]

| No. | CFB-S8B No. | 측정일 | 각 측정일 시점에서의 배양액 중의 누출 생세포 농도 | 각 측정일 시점에서의 누적 항체(IgG) 농도(mg/L) |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |
| FI-9-1 | FB13-B-2-ac2 | 9 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 212 |
| FI-9-2 | FB13-B-3-ac2 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 337 |
| FI-9-3 | FB13-B-4-ac2 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 340 |
| FI-9-4 | FB13-B-5-ac2 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 324 |
| FI-9-5 | FB13-B-6-ac2 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 340 |
| FI-9-6 | FB13-B-7-ac2 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 307 |
| FI-9-7 | FB13-B-8-ac2 | 14 | $1\times10^4$세포/mL 미만 | 385 |

[1278]

[1279] (실시예 F14) 음이온성 폴리머 · 양이온성 폴리머에 의한 가교 알긴산 겔 파이버의 코팅 확인

[1280] (실시예 F2-A)에 기재된 처방과 마찬가지로 하여, 알킨 화합물 4-A2d 및 아지드 화합물 11-A2d의 3중량% 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)을 조제하였다. 계속해서, 3중량% 알킨 및 아지드 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)을 등용량 혼합함으로써, 화학 수식 알긴산 혼합 용액(F14A-M1)을 조제하였다. 혼합 용액 F14A-M1 및 알긴산나트륨(B-2)과 주사용 생리 식염수(오츠카 세이야쿠 고죠제)(INs)로부터 조제된 3중량% 알긴산 수용액(0.9% 염화나트륨 함유)(ALGS2)을 F14A-M1:ALGS2=5:10의 비율로 혼합하여, 알긴산 혼합 용액(F14A-M2)을 조제하였다. 계속해서, F14A-M2와 INs를 등용량 혼합하여, 혼합 용액(F14A-M3)을 조제하였다. 상기 수용액 F14A-M3을 헤밀톤 시린지에 충전하고, 시린지에 루어 로크용 니들(간또 가가꾸 가부시키가이샤, 15/23 NL-F)을 접속하고, 시린지 펌프에 세트하였다. 상기 니들 선단을 0.9% 염화나트륨 함유 20mmol/L의 염화바륨 수용액이 포함되는 비이커에 침지하고, 유속 250μL/min으로 0.8분간 사출하였다. 상기 용액 중에 사출된 섬유상 형태의 물질은, 30분 이상 정치함으로써, 가교 알긴산 겔 파이버로서 얻었다. 계속하여 파이버를 약 20cm로 절단 후, (실시예 F9)와 마찬가지의 조작(코팅에 사용한 수용액은 2mL)을 행함으로써 양이온 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 얻었다. 또한, 코팅에 사용한 양이온성 폴리머 함유 수용액의 조성은 하기 표 72와 같으며, 각 파이버에 대하여 2mL 사용하였다. 계속해서, 알긴산나트륨(A-2) 및 플루오레세인-5-티오세미카르바지드(CAS REGISTORY No.: 76863-28-0)로부터 합성한 형광 표지 알긴산(LA)을 최종 농도 0.15중량%로 되도록 생리 식염수

에 용해시켜, 음이온성 폴리머 함유 수용액(LAPS)을 조제하였다. 계속해서, 양이온 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버를 2mL의 LAPS에 침지하고, 37℃, 125rpm으로 20분간 진탕 교반하고, 음이온성 폴리머로 코팅하였다. 수용액 중의 파이버를, 셀 스트레이너를 사용하여 여과, 분취하고, 생리 식염수 8mL를 사용하여 1회 세정하여, 음이온·양이온 폴리머 가교 알긴산 겔 파이버(LCLA-G)(표 73 중LCLA-G No. 참조)를 얻었다. 얻어진 파이버의 표면을 형광 현미경을 사용하여 관찰하였다.

[1281] 관찰 결과를 도 22 및 23에 도시한다. 겔 파이버의 표면에 LA가 코팅되어 있는 것이 확인되었다(도 22 및 23의 배경에 반전한 색이 LA이다).

[1282] [표 72]

[1283]

| No. | 양이온성 폴리머 함유 수용액의 조성 |
|---|---|
| F14-c1 | 0.1% 폴리(메틸렌-코구아니딘)염산염/0.9% 염화나트륨/20mM 염화바륨 |
| F14-c2 | 0.1% 직쇄 폴리에틸렌이민 염산염/0.9% 염화나트륨/20mM 염화바륨 |

[1284] [표 73]

[1285]

| No. | 양이온성 폴리머 함유 수용액 | LCLA-G No. |
|---|---|---|
| F14-1 | F14-c1 | FB14-c1-1 |
| F14-2 | F14-c2 | FB14-c2-2 |

[1286] (실시예 F15-A) 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제작

[1287] 알긴산나트륨(B-2)과 주사용 생리 식염수(오츠카 세이야쿠 고죠제)(INs)로부터 3중량% 알긴산 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)(ALGS2)을 조제하였다. 계속해서, 하기 표 74의 처방으로 알킨 수용액 및 아지드 수용액을 조제하였다.

[1288] [표 74]

[1289]

3중량% 알킨 수용액 및 아지드 수용액(0.9중량% 염화나트륨 함유)

| | |
|---|---|
| F15A1 | 3.3중량% 화합물 4-A2d 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |
| F15N1 | 3.3중량% 화합물 11-A2d 수용액과 9.9중량% 염화나트륨 수용액을 10/1의 비율로 혼합하여 조제 |

[1290] F15A1, F15N1 및 ALGS2를 하기 표 75의 조합 및 비율로 혼합하여, 3중량% 알긴산 용액(F15A-M1)을 조제하였다. 계속해서, F15A-M1 및 INs를 등용량 혼합함으로써, 혼합 용액(F15A-M2)을 조제하였다. 또한, F15A-M2에 포함되는 전체 알긴산 농도는 1.5중량%이다. 혼합 용액 F15A-M2를 헤밀톤 시린지에 충전하고, 시린지에 금속 니들(무사시 엔지니어링, SNA-19G-B), 실리콘 튜브(애즈원, φ1×φ2) 및 유리 모세관(나리시게, G-1)을 순차 접속하고, 시린지 펌프에 세트하였다. 상기 유리 모세관의 선단을 100mmol/L의 염화칼슘 수용액이 포함되는 비이커에 침지하고, 유속 250μL/min으로 0.8분간 사출하였다. 상기 수용액 중에 사출된 섬유상 형태의 물질은, 30분 이상 정치함으로써, 가교 알긴산 겔 파이버로서 얻었다. 얻어진 가교 알긴산 겔 파이버를 셀 스트레이너를 사용하여 여과, 분취하고, 0.1% 폴리-L-오르니틴브롬화수소산염 및 100 mmmol/L염화칼슘이 포함되는 수용액에 첨가하고, 37℃, 125rpm으로 30분간 진탕 교반하고, 가교 알긴산 겔 파이버를 양이온성 폴리머로 코팅하였다. 또한, 폴리머 코팅에 사용한 수용액은 코팅하는 파이버량의 10배량 사용하였다. 수용액 중의 파이버를, 셀 스트레이너를 사용하여 여과, 분취하고, 생리 식염액 7mL를 사용하여 3회 세정하여, 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB-G15A)(표 75 중 CFB-G15A No. 참조)를 얻었다.

[1291] [표 75]

[1292]

| No. | F15A-M1의 조성 | 알킨 화합물/아지드 화합물/알긴산의 혼합 비율 | CFB-G15A No. |
|---|---|---|---|
| F15-A-1 | F15A1/F15N1/ALGS2 | 1/1/4 | FB15-A-1-c1 |
| F15-A-2 | ALGS2 | - | FB15-A-2-c1 |

[1293] (실시예 F15-B) 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 제작

[1294] 하기 표 76에 나타내는 조성으로 상기 F15A-M1을 INs를 사용하여, 전체 알긴산 농도가 0.15중량%로 되도록 희석하여, 음이온성 폴리머 함유 수용액을 조제하였다. 실시예 F15-A에서 얻어진 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(FB15-A-1-c1 또는 FB15-A-2-c1)를 상기 음이온성 폴리머 함유 수용액에 첨가하고, (실시예 F12)와 마찬가지의 코팅 조작을 실시함으로써, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(ACFB-G15B)(표 76 중 ACFB-G15B No. 참조)를 얻었다.

[1295] [표 76]

| No. | 음이온성 폴리머 함유 수용액 중의 F15A-M1의 조성 | 알킨 화합물/아지드 화합물/알긴산의 혼합 비율 | CFB-G15A No. | ACFB-G15B No. |
|---|---|---|---|---|
| F15-B-1 | ALGS2 | - | FB15-A-1-c1 | FB15-B-1-ac1 |
| F15-B-2 | F15A1/F15N1/ALGS2 | 1/1/4 | FB15-A-1-c1 | FB15-B-2-ac1 |
| F15-B-3 | F15A1/F15N1/ALGS2 | 1/1/4 | FB15-A-2-c1 | FB15-B-3-ac1 |

[1296]

[1297] (실시예 F15-C) 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 인장 시험

[1298] 상기 (실시예 F15-B)에서 얻어진 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버(CFB-G15B)의 인장 시험은, 소형 탁상 겔 강도 측정기 EZ-SX 5NC1(시마즈, No.I308256D0592), 로드셀 SMT1-5N(S/N=913193)을 사용하여, 주사용 생리 식염수(오츠카 세이야쿠 고죠제) 중에서, 파이버를 지그에 세트하여 측정하였다. 측정값은, 파이버가 파단된 곳의 응력을 MPa 및 변형을 %로, 표 77에 나타낸다.

[1299] [표 77]

| No. | ACFB-G15B No. | 응력(MPa) | 변형(%) |
|---|---|---|---|
| F15-C-1 | FB15-B-1-ac1 | 0.188 | 113 |
| F15-C-2 | FB15-B-2-ac1 | 0.205 | 118 |
| F15-C-3 | FB15-B-3-ac1 | 0.124 | 71 |

[1300]

[1301] 표 77 중, No.F15-C-1 및 F15-C-2에 있어서, 0.1MPa 이상의 인장 강도 및 100% 이상의 변형(신장률)을 나타내는, 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버임이 확인되었다.

## *산업상 이용가능성*

[1302] 본 명세서에서는, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 및 가교 알긴산 겔을 포함하는 코어층이, 양이온성 폴리머(양이온성 폴리머층)로 피복된 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버가 제공된다. 또한, 당해 파이버의 제조 방법 및 당해 파이버를 사용한 항체, 생리 활성 물질 등의 배양 방법을 제공할 수 있다. 또한, 항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포 및 가교 알긴산 겔을 포함하는 코어층이, 양이온성 폴리머(양이온성 폴리머층) 및 음이온성 폴리머(음이온성 폴리머층)로 피복된 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버가 제공된다. 또한, 당해 파이버의 제조 방법 및 당해 파이버를 사용한 항체, 생리 활성 물질 등의 배양 방법을 제공할 수 있다.

## *부호의 설명*

[1303] a: 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 코어층의 직경

b: 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버 또는 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 양이온성 폴리머층의 두께

c: 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 외경

d: 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 외경

e: 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버의 음이온성 폴리머층의 두께

4: 양이온성 폴리머층

5: 코어층

6: 세포(항체, 생리 활성 물질 등을 산생할 수 있는 세포)

7: 음이온성 폴리머층

XX: 장치

YY: 압출통

1: 도입구

2: 배출구

DD: 용기(예를 들어, 비이커)(2가 금속 이온 함유 용액)

EE: 용기(예를 들어, 비이커)(양이온성 폴리머 함유 용액)

FF: 용기(예를 들어, 비이커)(음이온성 폴리머 함유 용액)

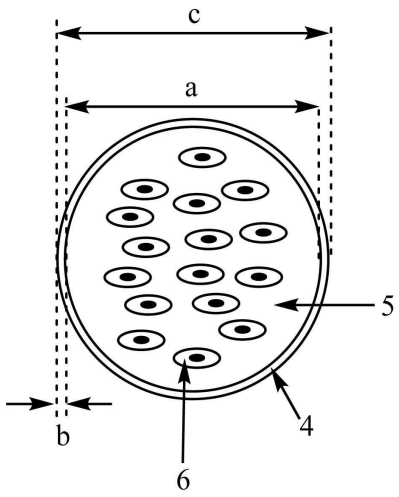
CLA: 가교 알긴산 겔 파이버

CFB: 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버

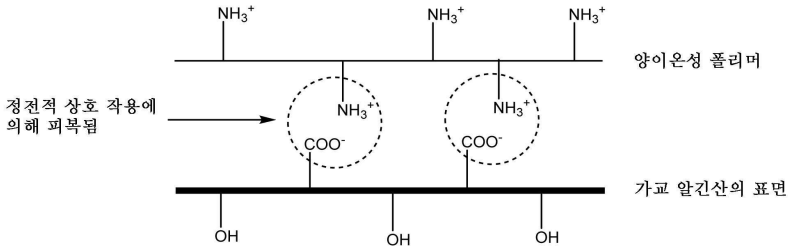
ACFB: 다층 폴리머 코팅 가교 알긴산 겔 파이버

## 도면

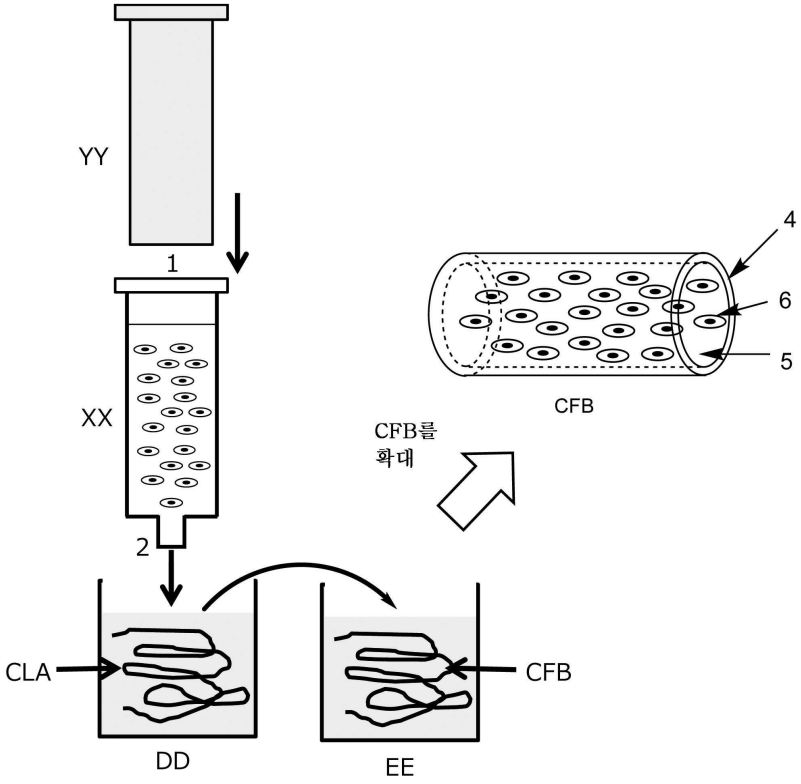
### 도면1



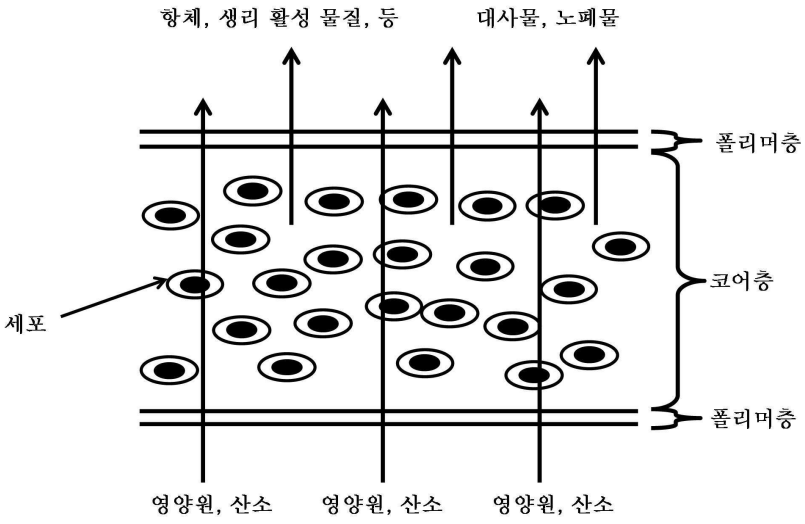

### 도면2



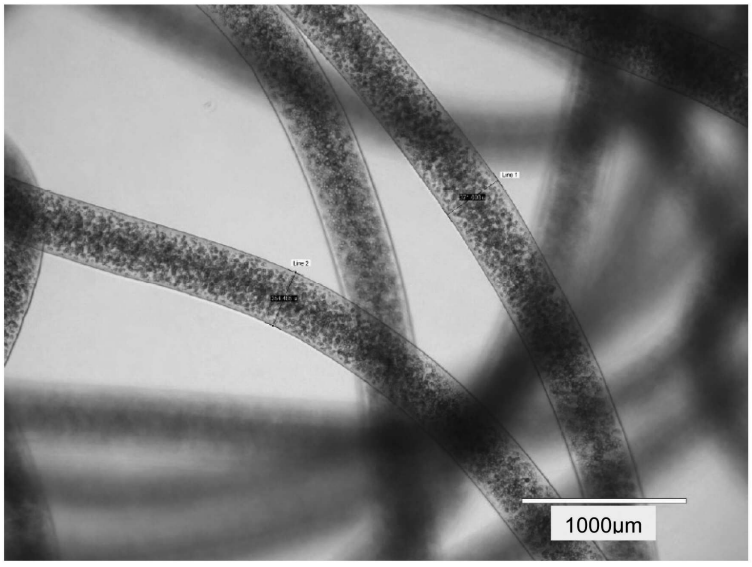
도면3


YY
1
XX
2
CLA
DD
EE
CFB
CFB를
확대
4
6
5
CFB

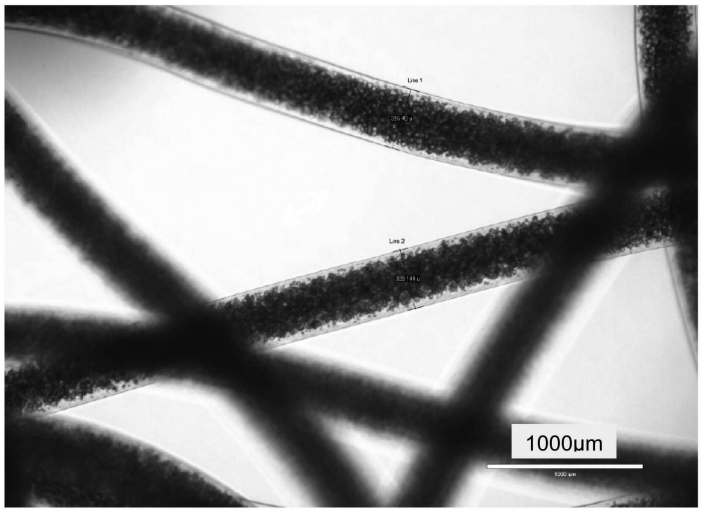
도면4


항체, 생리 활성 물질, 등
대사물, 노폐물
폴리머층
코어층
세포
폴리머층
영양원, 산소
영양원, 산소
영양원, 산소

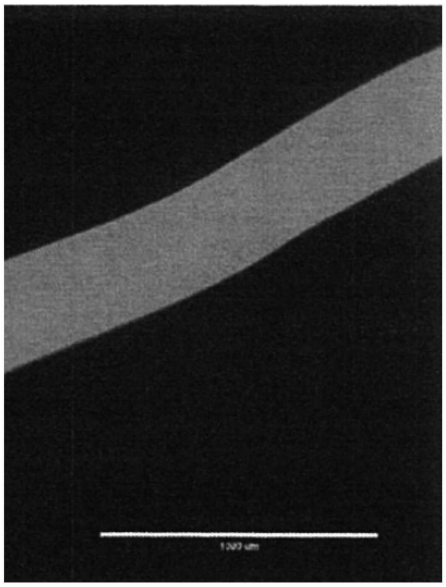
도면5



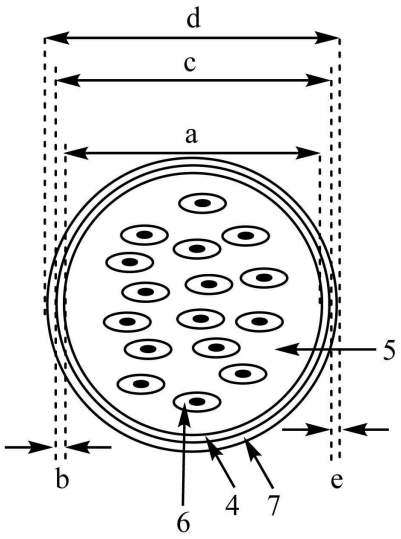

도면6



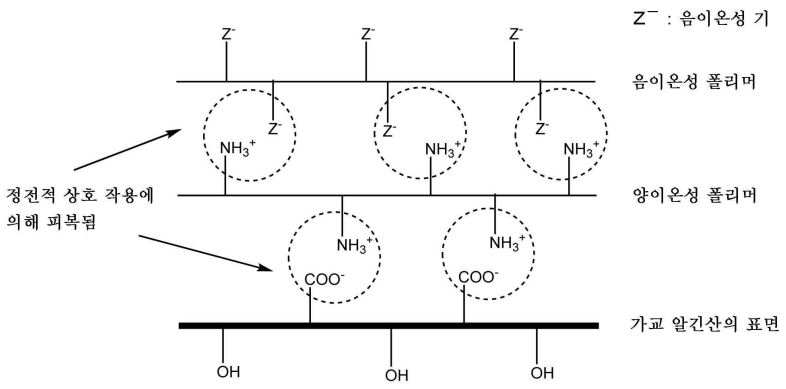
도면7



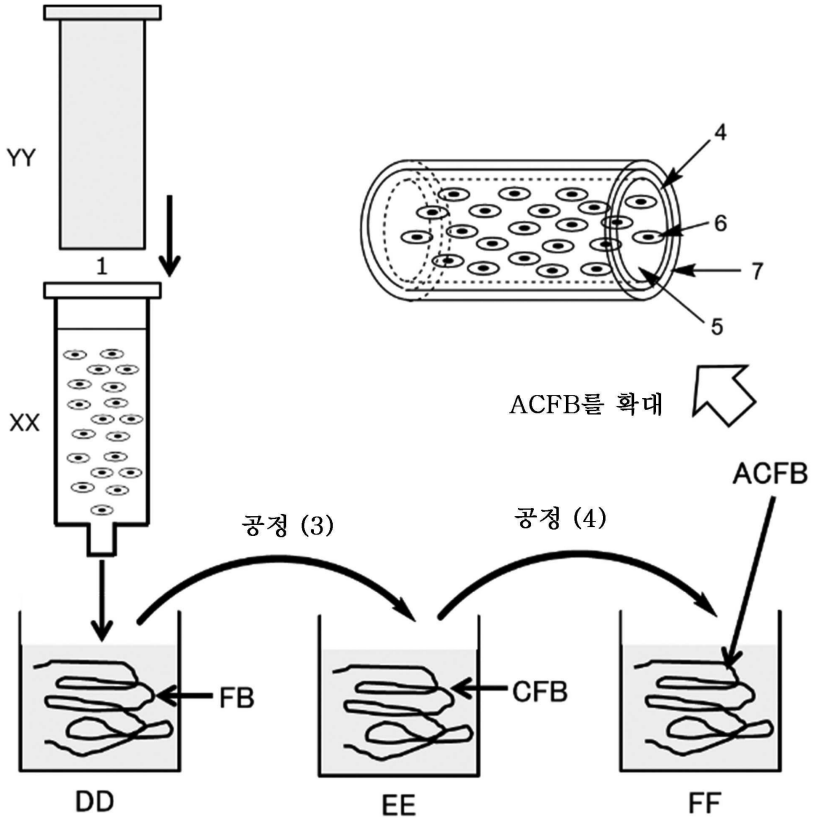
도면8


d
c
a
5
b
e
6
4
7

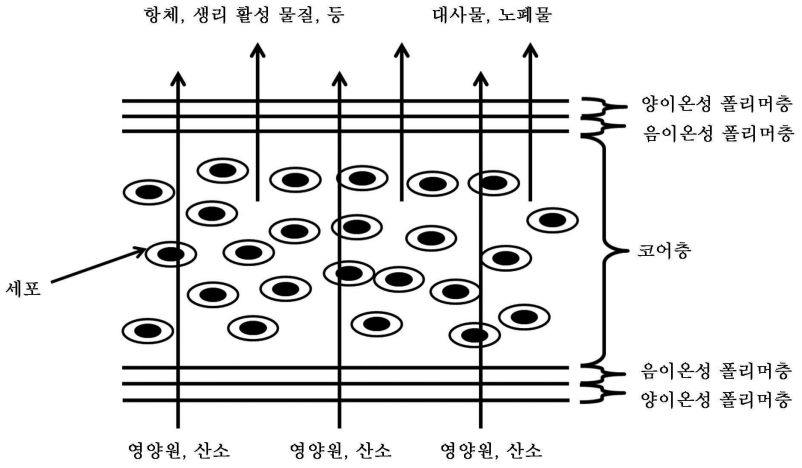
도면9


Z⁻ : 음이온성 기
음이온성 폴리머
양이온성 폴리머
가교 알긴산의 표면
정전적 상호 작용에
의해 피복됨
Z⁻
NH3+
COO⁻
OH

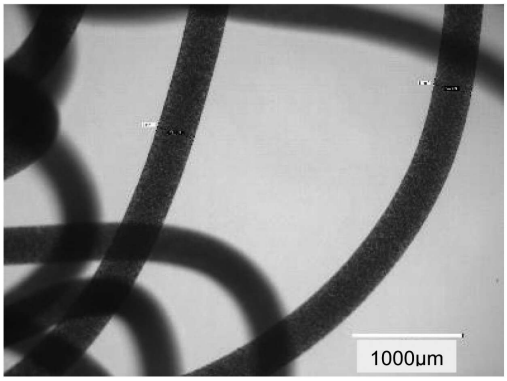
도면10


YY
1
XX
4
6
7
5
ACFB를 확대
ACFB
공정 (3)
공정 (4)
FB
CFB
DD
EE
FF

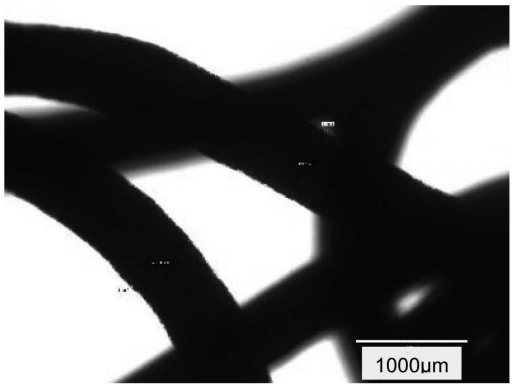
도면11


항체, 생리 활성 물질, 등
대사물, 노폐물
양이온성 폴리머층
음이온성 폴리머층
코어층
세포
음이온성 폴리머층
양이온성 폴리머층
영양원, 산소
영양원, 산소
영양원, 산소

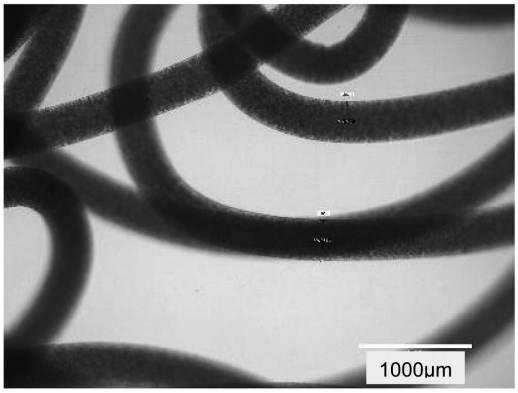
도면12



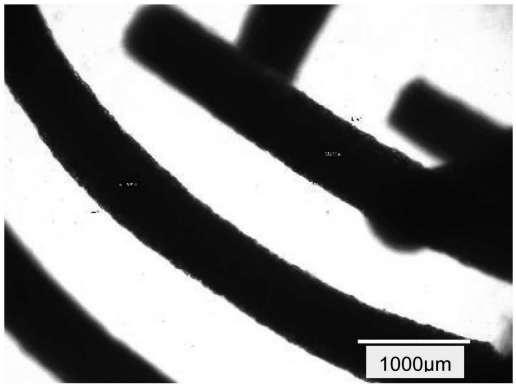

도면13



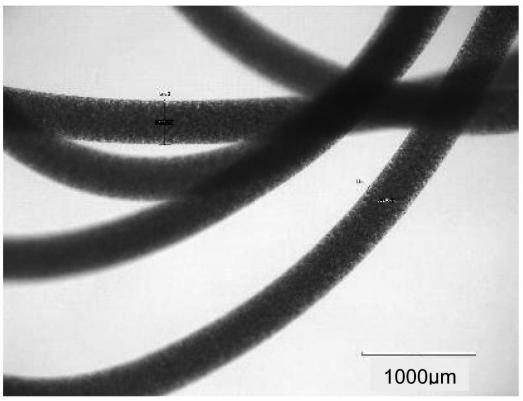

도면14



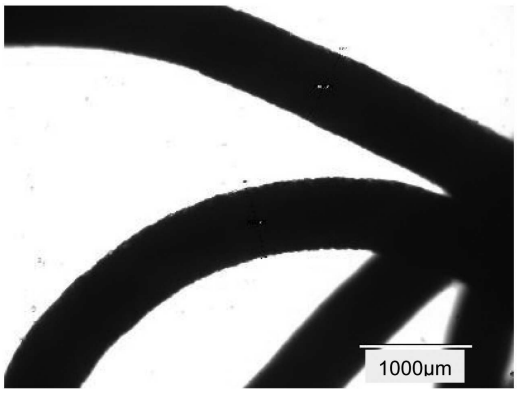
도면15



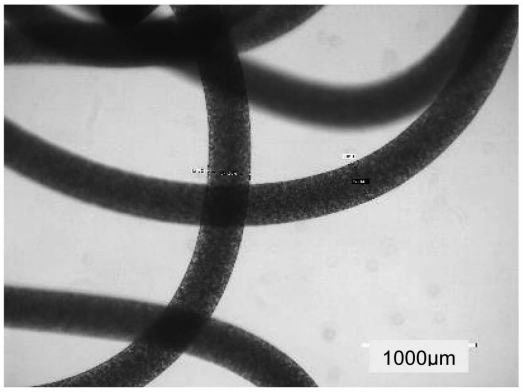

도면16



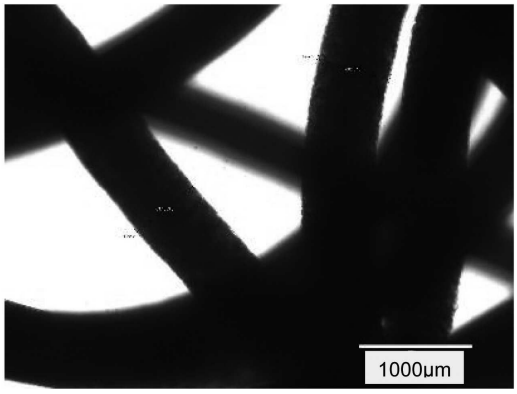

도면17



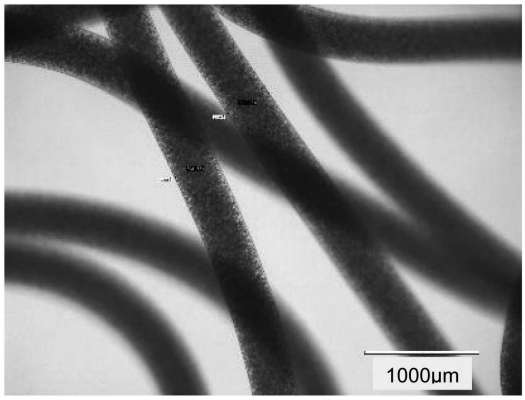
도면18



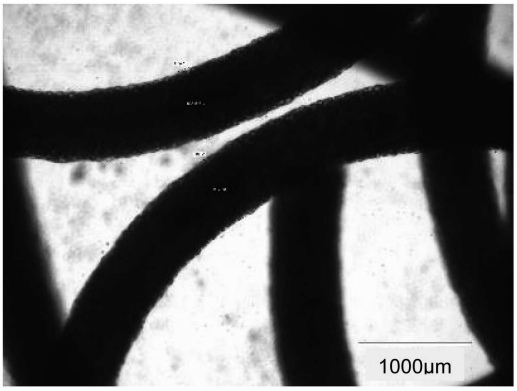

도면19



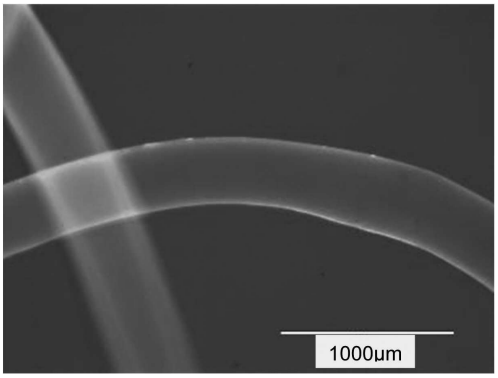

도면20



도면21




도면22




도면23

