



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0057825
(43) 공개일자 2025년04월29일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 B01J 13/02 (2006.01) A61K 31/713 (2006.01)
 A61K 38/02 (2006.01) A61K 47/10 (2017.01)
 A61K 47/18 (2017.01) A61K 47/24 (2017.01)
 A61K 48/00 (2006.01) A61K 9/48 (2006.01)
 A61P 37/04 (2006.01) A61P 7/00 (2006.01)
 B01J 19/18 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
 B01J 13/02 (2013.01)
 A61K 31/713 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2025-7009363
- (22) 출원일자(국제) 2023년10월17일
 심사청구일자 2025년03월21일
- (85) 번역문제출일자 2025년03월21일
- (86) 국제출원번호 PCT/JP2023/037566
- (87) 국제공개번호 WO 2024/085149
 국제공개일자 2024년04월25일
- (30) 우선권주장
 JP-P-2022-167048 2022년10월18일 일본(JP)

- (71) 출원인
 가부시키가이샤 칩톤
 일본 아이치켄 나고야시 미나미쿠 도요다 산쵸메
 19반 21고
- (72) 발명자
 니와 타카코
 일본 1038426 도쿄도 츄오쿠 니혼바시 혼쵸 3-5-1
 다이이찌 산쿄 가부시키가이샤 내
 모리타 코지
 일본 1038426 도쿄도 츄오쿠 니혼바시 혼쵸 3-5-1
 다이이찌 산쿄 가부시키가이샤 내
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
 특허법인 무한

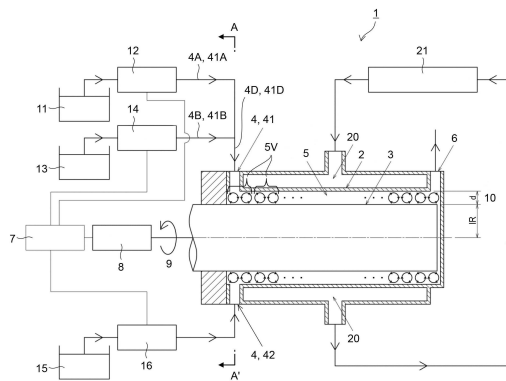
전체 청구항 수 : 총 27 항

(54) 발명의 명칭 테일러 반응 장치 및 캡슐 입자의 제조 방법

(57) 요약

캡슐 입자의 제조 방법을 제공하는 것을 과제로 한다. 테일러 반응 장치를 이용함으로써 캡슐 입자를 제조하는 방법이 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 38/02 (2013.01)

A61K 47/10 (2013.01)

A61K 47/18 (2013.01)

A61K 47/24 (2013.01)

A61K 48/00 (2024.01)

A61K 9/48 (2013.01)

A61K 9/4858 (2013.01)

A61K 9/4866 (2013.01)

B01J 19/1806 (2013.01)

(72) 발명자

코바야시 토모유키

일본 4578566 아이치켄 나고야시 미나미쿠 도요다
산쵸메 19반 21고 가부시킴가이샤 칩톤 내

카토 카이리

일본 4578566 아이치켄 나고야시 미나미쿠 도요다
산쵸메 19반 21고 가부시킴가이샤 칩톤 내

명세서

청구범위

청구항 1

테일러 반응 장치를 이용하는 캡슐 입자의 제조 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

테일러 반응 장치는, 외통, 내통, 및 하나 이상의 유입구를 구비하고 있고, 내통은, 외통 내에 회전 가능하게 배치되어 있고, 외통과의 사이에 환상의 반응실을 형성하는 것이며, 유입구 중 적어도 하나는, 반응실 내에 유체를 유입시킬 수 있도록 배치되어 있는, 제조 방법.

청구항 3

제2항에 있어서,

하나 이상의 유입구는, 제1 유입구, 및 제2 유입구를 포함하고, 제1 유입구와 제2 유입구는, 서로 독립하고 있으며, 각각 반응실에 연결되어 있고,

제1 유입구로부터 입자 형성 성분을 반응실로 주입하고,

제2 유입구로부터 봉입 성분을 반응실로 주입하고,

내통을 회전시켜, 입자 형성 성분과 봉입 성분을 반응실 내에서 혼합하는, 제조 방법.

청구항 4

제2항에 있어서,

하나 이상의 유입구는, 제1 라인 및 제2 라인을 포함하고, 제1 라인과 제2 라인은 합류하도록 배치되어 있고, 합류한 라인은 공통의 유입구를 통해 반응실에 연결되어 있고,

제1 라인으로부터 입자 형성 성분을 주입하고, 제2 라인으로부터 봉입 성분을 주입하고, 입자 형성 성분과 봉입 성분을 반응실 앞에서 혼합하여 입자 형성 성분-봉입 성분 혼합액을 생성하고, 그 다음에 입자 형성 성분-봉입 성분 혼합액을 공통의 유입구를 통해 반응실로 주입하고, 내통을 회전시켜, 입자 형성 성분-봉입 성분 혼합액을 반응실 내에서 더 혼합하는, 제조 방법.

청구항 5

제3항 또는 제4항에 있어서,

입자 형성 성분은 폴리머 성분 또는 지질 성분을 포함하고,

봉입 성분은 핵산, 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 또는 저분자 화합물을 포함하는, 제조 방법.

청구항 6

제5항에 있어서,

입자 형성 성분은 지질 성분을 포함하고,

봉입 성분은 핵산을 포함하는, 제조 방법.

청구항 7

제3항에 있어서,

먼저 입자 형성 성분을 주입하고, 그 후, 봉입 성분을 주입하는, 제조 방법.

청구항 8

제3항에 있어서,

먼저 봉입 성분을 주입하고, 그 후, 입자 형성 성분을 주입하는, 제조 방법.

청구항 9

제3항에 있어서,

입자 형성 성분과 봉입 성분을 동시에 주입하는, 제조 방법.

청구항 10

제2항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

내통의 주속은 0.5 ~ 47m/s인, 제조 방법.

청구항 11

제2항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서,

내통과 외통 사이의 간극 폭은 0.01mm ~ 5mm인, 제조 방법.

청구항 12

제2항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서,

테일러 반응을 행하는 교반 시간은, 1분 이하의 교반 시간인, 제조 방법.

청구항 13

제3항 및 제5항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

입자 형성 성분의 주입 속도와 봉입 성분의 주입 속도의 비는, 1:1 ~ 1:9의 범위에서 선택되는 비인, 제조 방법.

청구항 14

제3항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,

제1 유입구와, 제2 유입구의 내경이 동일 혹은 대략 동일한, 제조 방법.

청구항 15

제3항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,

제1 유입구와, 제2 유입구의 내경이 다른, 제조 방법.

청구항 16

캡슐 입자의 제법에 이용하기 위한 테일러 반응 장치로서, 외통, 내통, 및 하나 이상의 유입구를 구비하고 있고,

내통은, 외통 내에 회전 가능하게 배치되어 있고, 외통과의 사이에 환상의 반응실을 형성하는 것이며,

유입구 중 적어도 하나는, 반응실 내에 유체를 유입시킬 수 있도록 배치되어 있는, 테일러 반응 장치.

청구항 17

제16항에 있어서,

하나 이상의 유입구는, 제1 유입구, 및 제2 유입구를 포함하고, 제1 유입구와 제2 유입구는, 서로 독립하고 있

으며, 각각 반응실에 연결되어 있고,

제1 유입구는 입자 형성 성분을 주입하기 위한 것이며,

제2 유입구는 붕입 성분을 주입하기 위한 것이며,

내통은, 회전시켜 입자 형성 성분과 붕입 성분을 반응실 내에서 혼합하기 위한 것인, 장치.

청구항 18

제16항에 있어서,

하나 이상의 유입구는, 제1 라인 및 제2 라인을 갖고,

제1 라인은 입자 형성 성분을 주입하기 위한 것이며,

제2 라인은 붕입 성분을 주입하기 위한 것이며,

제1 라인과 제2 라인은 반응실 앞에서 합류하고 있고,

합류 부분보다 하류 측이 입자 형성 성분-붕입 성분 혼합액 라인을 형성하고 있고, 그 다음에 공통의 유입구를 통해 반응실로 연결되어 있고,

내통은, 회전시켜 입자 형성 성분-붕입 성분 혼합액을 반응실 내에서 더 혼합하기 위한 것인, 장치.

청구항 19

제17항 또는 제18항에 있어서,

입자 형성 성분은 폴리머 성분, 또는 지질 성분을 포함하는 것이며,

붕입 성분은 핵산, 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 또는 저분자 화합물을 포함하는 것인, 장치.

청구항 20

제19항에 있어서,

입자 형성 성분은 지질 성분을 포함하고,

붕입 성분은 핵산을 포함하는, 장치.

청구항 21

제17항 또는 제19항에 있어서,

반응실에 액을 공급하는 측을 상류 측, 반응실로부터 액을 배출하는 측을 하류 측으로 하면, 제1 유입구는 상류 측에 배치되고, 제2 유입구는 하류 측에 배치되어 있는, 장치.

청구항 22

제17항 또는 제19항에 있어서,

반응실에 액을 공급하는 측을 상류 측, 반응실로부터 액을 배출하는 측을 하류 측으로 하면, 제2 유입구는 상류 측에 배치되고, 제1 유입구는 하류 측에 배치되어 있는, 장치.

청구항 23

제17항 또는 제19항에 있어서,

제1 유입구와, 제2 유입구가 내통의 축방향으로 수직인 동일 단면 상에 배치되어 있는, 장치.

청구항 24

제16항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서,

내통과 외통 사이의 간극 폭은 0.01mm ~ 5mm인, 장치.

청구항 25

제17항 및 제19항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서,
입자 형성 성분의 주입 속도와 봉입 성분의 주입 속도의 비는, 1:1 ~ 1:9 범위에서 선택되는 비인, 장치.

청구항 26

제17항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서,
제1 유입구와, 제2 유입구의 내경이 동일 혹은 대략 동일한, 장치.

청구항 27

제17항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서,
제1 유입구와, 제2 유입구의 내경이 다른, 장치.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 개시는, 테일러 반응 장치 및 캡슐 입자의 제조 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 봉입물(封入物)을 표적으로 송달하기 위한 수단으로서, 캡슐 입자를 들 수 있다. 캡슐 입자는 통상, 외측의 캡슐 부분이, 내용물을 내측에 봉입하고 있다. 이에 따라 안정성을 향상시키거나, 내용물을 표적으로 송달할 수 있다. 캡슐 입자를 이용하는 예로서는, 화장품, 의약품, 기능성 식품, 인쇄 기술, 산업용 화학 약품 등을 들 수 있다. 캡슐 입자를 제조하는 방법으로서는, 용매 주입법, 핸드셰이크법, 역상(逆相) 증발법, 막투과 pH 구배법, 버블법, 마이크로 유동법, 박막 수화법, 가열법, 동결 용해법, 탈수 재수화법 등, 다양한 방법이 알려져 있다.

[0003] 플라스미드 DNA, 안티센스 올리고 핵산, siRNA, miRNA, mRNA 등의 각종 핵산을 이용한 의약품의 연구 개발이 행해지고 있다. 예를 들면, mRNA 백신은, 생체 내에 mRNA를 투여함으로써, 생체 내에서 목적하는 단백질을 발현시키고, 그에 따라 면역 반응을 야기하는 백신의 일종이다. mRNA 백신에 있어서의 항원 단백질로서는, 바이러스 항원이나 암 항원을 들 수 있고, 근년에는, SARS-CoV-2의 스파이크 단백질의 예가 있다. 그 외에는 정상 단백질을 코딩하는 mRNA를 투여하여, 유전자 질환을 치료하는 시도도 있다.

[0004] 핵산은 그대로 투여해도 음전하의 고분자인 점에서, 세포막을 투과할 수 없다. 특히, mRNA는 혈중에서 신속하게 분해되어 버리는 것, 생체 내에서 염증 반응을 야기하는 것을 과제로서 들 수 있다. 그래서 핵산의 송달에는, 각종 드러그 딜리버리 시스템이 이용된다.

[0005] 핵산을 송달하기 위한 드러그 딜리버리 시스템으로서, 예를 들면, 지질 나노 입자를 들 수 있다. 지질 나노 입자는 주로 구상(球狀) 또는 구상 모양의 형상이다. 지질로서는, 지방산, 아실글리세롤, 왁스, 및 이들의 계면활성제와의 혼합물을 사용할 수 있다. 안정화제를 사용해도 좋고, 안정화제로서, 인지질, 스펅고미엘린 등의 생체막 지질, 담즙산염, 스테롤류(예를 들면 콜레스테롤) 등을 사용할 수 있다. 지질 나노 입자에 대해서는, 예를 들면 Shah 등의 Lipid Nanoparticles: Production, Characterization and Stability, Springer, 2015를 참조한다.

[0006] 지질 나노 입자의 지질 성분으로서, 예를 들면 인지질, 콜레스테롤, pH 응답성 양이온성 지질, 및 PEG화된 지질을 들 수 있고, 이에 핵산이 포매(encapsulate)된다.

[0007] 핵산을 포매한 지질 나노 입자(LNP)의 제조 플로우는 일반적으로 다음과 같다. 우선, 지질 에탄올 용액과 핵산 수용액(산성)을 접촉시켜, 지질 용액과 핵산 용액의 혼합을 행한다(혼합 공정). 그 다음에 필요에 따라 희석한다(희석 공정). 그 다음에, 한외 여과나 투석 여과하고, 농축을 행한다(정제 공정). 이 단계에서 유리(遊離)의 핵산은 제거되고, 용매(에탄올)는 제거되며, 최종 매체로의 치환이 행해지고, 지질 나노 입자가 목적 농도로 농축된다. 그 다음에 필터 여과를 행한다.

[0008] 종래의 지질 성분과 핵산 성분의 혼합법으로서, 적하 혼합법, 인라인 혼합법 및 마이크로 유로(流路) 혼합법

이 알려져 있다. 적하 혼합법은, 배치(batch)식이기 때문에 연속 생산에 적합하지 않은 것, 얻어지는 입자의 품질이 불균일한 것이 과제이다. 인라인 혼합은, 연속 생산은 가능하지만, 유로가 밀리미터 오더이기 때문에, 얻어지는 입자 사이즈가 크고, 품질이 불균일하며, 재현성이 부족하다. 마이크로 유로 혼합법은, 입자 사이즈를 작게 제어할 수 있어, 재현성이 높지만, 한편으로, 유로가 0.1mm 정도로 작기 때문에 생산량은 낮다.

[0009] 대규모 생산에 적합한 캡슐 입자의 제조 방법이 필요하다고 여겨지고 있다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0010] (비특허문헌 0001) Shah 등, Lipid Nanoparticles: Production, Characterization and Stability, Springer, 2015

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명자들은 종래의 입자 제조의 문제를 적어도 부분적으로 해결하는 캡슐 입자의 제조 방법을 제공하는 것을 과제로 한다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명자들은, 상기 과제 해결을 위해 예의(銳意) 연구를 거듭한 결과, 일례로서, 테일러 반응 장치를 이용함으로써 캡슐 입자를 제조할 수 있음을 발견하고, 이를 일 실시형태로서 포함하는 본 발명을 완성했다.

[0013] 본 개시는, 이하의 실시형태를 포함한다.

[0014] [1] 테일러 반응 장치를 이용하는 캡슐 입자의 제조 방법.

[0015] [2] 테일러 반응 장치가, 외통, 내통, 및 하나 이상의 유입구를 구비하고 있고,

[0016] 내통은, 외통 내에 회전 가능하게 배치되어 있고, 외통과의 사이에 환상(環狀)의 반응실을 형성하는 것이며,

[0017] 유입구 중 적어도 하나는, 반응실 내에 유체(流體)를 유입시킬 수 있도록 배치되어 있는,

[0018] 실시형태 1에 기재된 제조 방법.

[0019] [3] 하나 이상의 유입구는, 제1 유입구, 및 제2 유입구를 포함하고, 제1 유입구와 제2 유입구는, 서로 독립하고 있으며, 각각 반응실에 연결되어 있고,

[0020] 제1 유입구로부터 입자 형성 성분을 반응실로 주입하고,

[0021] 제2 유입구로부터 봉입 성분을 반응실로 주입하고,

[0022] 내통을 회전시켜, 입자 형성 성분과 봉입 성분을 반응실 내에서 혼합하는,

[0023] 실시형태 2에 기재된 제조 방법.

[0024] [4] 하나 이상의 유입구는, 제1 라인 및 제2 라인을 포함하고, 제1 라인과 제2 라인은 합류하도록 배치되어 있고, 합류한 라인은 공통의 유입구를 통해 반응실에 연결되어 있고,

[0025] 제1 라인으로부터 입자 형성 성분을 주입하고, 제2 라인으로부터 봉입 성분을 주입하고, 입자 형성 성분과 봉입 성분을 반응실 앞에서 혼합하여 입자 형성 성분-봉입 성분 혼합액을 생성하고, 그 다음에 입자 형성 성분-봉입 성분 혼합액을 공통의 유입구를 통해 반응실로 주입하고, 내통을 회전시켜, 입자 형성 성분-봉입 성분 혼합액을 반응실 내에서 더 혼합하는,

[0026] 실시형태 2에 기재된 제조 방법.

[0027] [5] 입자 형성 성분은 폴리머 성분 또는 지질 성분을 포함하고,

[0028] 봉입 성분은 핵산, 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 또는 저분자 화합물을 포함하는,

- [0029] 실시형태 3 또는 4에 기재된 제조 방법.
- [0030] [6] 입자 형성 성분은 지질 성분을 포함하고,
- [0031] 봉입 성분은 핵산을 포함하는,
- [0032] 실시형태 5에 기재된 제조 방법.
- [0033] [7] 먼저 입자 형성 성분을 주입하고, 그 후, 봉입 성분을 주입하는, 실시형태 3에 기재된 제조 방법.
- [0034] [8] 먼저 봉입 성분을 주입하고, 그 후, 입자 형성 성분을 주입하는, 실시형태 3에 기재된 제조 방법.
- [0035] [9] 입자 형성 성분과 봉입 성분을 동시에 주입하는, 실시형태 3에 기재된 제조 방법.
- [0036] [10] 내통의 주속은 0.5 ~ 47m/s인, 실시형태 2 내지 9 중 어느 것에 기재된 제조 방법.
- [0037] [11] 내통과 외통 사이의 간극(間隙) 폭은 0.01mm ~ 5mm인, 실시형태 2 내지 10 중 어느 것에 기재된 제조 방법.
- [0038] [12] 테일러 반응을 행하는 교반 시간은, 1분 이하의 교반 시간인, 실시형태 1 내지 11 중 어느 것에 기재된 제조 방법.
- [0039] [13] 입자 형성 성분의 주입 속도와 봉입 성분의 주입 속도의 비는, 1:1 ~ 1:9의 범위에서 선택되는 비인, 실시형태 3 및 5 내지 12 중 어느 것에 기재된 제조 방법.
- [0040] [14] 제1 유입구와, 제2 유입구의 내경이 동일 혹은 대략 동일한, 실시형태 3 내지 13 중 어느 것에 기재된 제조 방법.
- [0041] [15] 제1 유입구와, 제2 유입구의 내경이 다른, 실시형태 3 내지 13 중 어느 것에 기재된 제조 방법.
- [0042] [16] 캡슐 입자의 제법(製法)에 이용하기 위한 테일러 반응 장치로서, 외통, 내통, 및 하나 이상의 유입구를 구비하고 있고,
- [0043] 내통은, 외통 내에 회전 가능하게 배치되어 있고, 외통과의 사이에 환상의 반응실을 형성하는 것이며,
- [0044] 유입구 중 적어도 하나는, 반응실 내에 유체를 유입시킬 수 있도록 배치되어 있는, 테일러 반응 장치.
- [0045] [17] 하나 이상의 유입구는, 제1 유입구, 및 제2 유입구를 포함하고, 제1 유입구와 제2 유입구는, 서로 독립하고 있으며, 각각 반응실에 연결되어 있고,
- [0046] 제1 유입구는 입자 형성 성분을 주입하기 위한 것이며,
- [0047] 제2 유입구는 봉입 성분을 주입하기 위한 것이며,
- [0048] 내통은, 회전시켜 입자 형성 성분과 봉입 성분을 반응실 내에서 혼합하기 위한 것인, 실시형태 16에 기재된 장치.
- [0049] [18] 하나 이상의 유입구는, 제1 라인 및 제2 라인을 갖고,
- [0050] 제1 라인은 입자 형성 성분을 주입하기 위한 것이며,
- [0051] 제2 라인은 봉입 성분을 주입하기 위한 것이며,
- [0052] 제1 라인과 제2 라인은 반응실 앞에서 합류하고 있고,
- [0053] 합류 부분보다 하류 측이 입자 형성 성분-봉입 성분 혼합액 라인을 형성하고 있고, 그 다음에 공통의 유입구를 통해 반응실로 연결되어 있고,
- [0054] 내통은, 회전시켜 입자 형성 성분-봉입 성분 혼합액을 반응실 내에서 더 혼합하기 위한 것인,
- [0055] 실시형태 16에 기재된 장치.
- [0056] [19] 입자 형성 성분은 폴리머 성분, 또는 지질 성분을 포함하는 것이며,
- [0057] 봉입 성분은 핵산, 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 또는 저분자 화합물을 포함하는 것인,
- [0058] 실시형태 17 또는 18에 기재된 장치.

- [0059] [20] 입자 형성 성분은 지질 성분을 포함하고,
- [0060] 봉입 성분은 핵산을 포함하는,
- [0061] 19에 기재된 장치.
- [0062] [21] 반응실에 액을 공급하는 측을 상류 측, 반응실로부터 액을 배출하는 측을 하류 측으로 하면, 제1 유입구는 상류 측에 배치되고, 제2 유입구는 하류 측에 배치되어 있는, 실시형태 17 또는 실시형태 17에 종속되는 실시형태 19에 기재된 장치.
- [0063] [22] 반응실에 액을 공급하는 측을 상류 측, 반응실로부터 액을 배출하는 측을 하류 측으로 하면, 제2 유입구는 상류 측에 배치되고, 제1 유입구는 하류 측에 배치되어 있는, 실시형태 17 또는 실시형태 17에 종속되는 실시형태 19에 기재된 장치.
- [0064] [23] 제1 유입구와, 제2 유입구가 내통의 축방향으로 수직인 동일 단면(斷面) 상에 배치되어 있는, 실시형태 17 또는 실시형태 17에 종속되는 실시형태 19에 기재된 장치.
- [0065] [24] 내통과 외통 사이의 간극 폭은 0.01mm ~ 5mm인, 실시형태 16 내지 23 중 어느 것에 기재된 장치.
- [0066] [25] 입자 형성 성분의 주입 속도와 봉입 성분의 주입 속도의 비는, 1:1 ~ 1:9 범위에서 선택되는 비인, 실시형태 17 및 19 내지 24 중 어느 것에 기재된 장치.
- [0067] [26] 제1 유입구와, 제2 유입구의 내경이 동일 혹은 대략 동일한, 실시형태 17 내지 25 중 어느 것에 기재된 장치.
- [0068] [27] 제1 유입구와, 제2 유입구의 내경이 다른, 실시형태 17 내지 25 중 어느 것에 기재된 장치.
- [0069] 본 명세서는 본원의 우선권의 기초가 되는 일본국 특허출원 번호 2022-167048호의 개시 내용을 포함한다.

발명의 효과

- [0070] 본 개시의 효과로서, 캡슐 입자를 제조할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0071] 도 1은 테일러 반응 장치의 모식도이다.
- 도 2는 제1 라인, 및 제2 라인을 구비한 유입구의 배치를 나타낸다.
- 도 3은 제1 유입구와 제2 유입구의 배치를 나타낸다.
- 도 4는 제1 라인, 제2 라인, 및 제3 라인을 구비한 유입구의 배치를 나타낸다.
- 도 5는 제1 라인, 제2 라인을 구비한 제1 유입구, 및 제2 유입구의 배치를 나타낸다. 도 5는, 도 1에서의 A-A' 단면에 대응한다.
- 도 6은 제1 유입구, 제2 유입구, 및 제3 유입구의 배치를 나타낸다.
- 도 7은 Tfr2 siRNA 봉입 핵산 지질 입자 투여 전의 마우스에 있어서의 혈장 중 철 농도를 나타내는 도면이다.
- 도 8은 Tfr2 siRNA 봉입 핵산 지질 입자의 투여의 1일 후의 마우스에 있어서의 혈장 중 철 농도를 나타내는 도면이다.
- 도 9는 Tfr2 siRNA 봉입 핵산 지질 입자의 투여의 7일 후의 마우스에 있어서의 혈장 중 철 농도를 나타내는 도면이다.
- 도 10은 A_Sin_GP1908_2015_H1 mRNA 봉입 핵산 지질 입자(참고예 2, 검체(檢體) 9, 검체 10, 및 검체 11) 투여 후의 마우스에 있어서의 혈청 중 HA 특이적 IgG 농도를 나타내는 도면이다.
- 도 11은 A_Sin_GP1908_2015_H1 mRNA 봉입 핵산 지질 입자(참고예 3, 참고예 4, 검체 12, 검체 13, 및 검체 14) 투여 후의 마우스에 있어서의 혈청 중 HA 특이적 IgG 농도를 나타내는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0072] 어느 실시형태에 있어서, 본 개시는, 테일러 반응 장치를 이용하는 캡슐 입자의 제조 방법을 제공한다.
- [0073] 캡슐 입자란, 내용물이 캡슐화된(encapsulated) 입자를 말한다. 본 명세서에서는 캡슐 입자에 봉입되는 내용물을, 봉입 성분(봉입되는 성분)이라고 하는 경우가 있다. 또한, 본 명세서에서는, 봉입되는 내용물을 둘러싸는 성분을, 입자를 형성하는 성분(입자 형성 성분) 또는 캡슐 형성 성분이라고 하는 경우가 있다. 또한, 캡슐 입자에 있어서, 봉입 성분과 입자 형성 성분은 복합체를 형성하고 있어도 좋다. 캡슐 입자에는, 지질 입자, 및 폴리머 입자가 포함되지만 이에 한정되지 않는다. 어느 실시형태에 있어서, 캡슐 입자는, 10nm 이상, 20nm 이상, 30nm 이상, 40nm 이상, 50nm 이상, 60nm 이상, 70nm 이상, 80nm 이상, 90nm 이상, 100nm 이상, 1 μ m 이상, 10 μ m 이상, 100 μ m 이상, 예를 들면 1mm 이상 2mm 이하, 1mm 이하, 100 μ m 이하, 10 μ m 이하, 1 μ m 이하, 예를 들면 100nm 이하, 90nm 이하, 80nm 이하, 70nm 이하, 60nm 이하, 50nm 이하, 40nm 이하, 30nm 이하, 20nm 이하, 예를 들면 10nm 이하의 평균 입자경을 갖는 입자일 수 있지만, 이에 한정되지 않는다. 또, 캡슐 입자는 임의의 내용물(봉입 성분)을 포함할 수 있다. 또한, 캡슐 입자는, 입자 형성 성분이나 봉입 성분에 따라 적절히, 사이즈나 평균 입자경을 조정할 수 있다. 예를 들면, 입자 형성 성분이나 봉입 성분, 및 그들의 조합에 따라 입자 경은 바뀔 수 있다.
- [0074] 어느 실시형태에 있어서, 입자 형성 성분은, 폴리머 성분, 지질 성분, 및 보조 성분 등을 포함할 수 있다. 폴리머 성분으로서는, 예를 들면 생분해성 폴리머를 들 수 있다. 그러한 생분해성 폴리머로서는, 폴리젯산, 폴리글리콜산, 폴리젯산-글리콜산 공중합체(PLGA), 및 폴리펩티드-젯산 공중합체를 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 지질 성분으로서는, 예를 들면, 양(兩) 이온성 지질, 중성 지질, 양이온성 지질을 들 수 있다. 구체적으로는, 인지질, 스펡고지질, 당지질, 글리세로지질, 스테롤지질, 폴리머 복합지질을 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 어느 실시형태에 있어서, 입자 형성 성분은, 용해 등 하여 이용할 수 있다. 봉입 성분으로서는, 핵산, 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 저분자 화합물, 예를 들면 약제 화합물, 화장품 혹은 화장품 성분, 색소, 스킨케어 성분, 서플리먼트 성분 등을 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 어느 실시형태에 있어서, 봉입 성분은, 용해 등 하여 이용할 수 있다.
- [0075] 본 명세서에서, 특별히 언급하지 않는 한, 평균 입자경이란, 동적 광산란법의 원리에 기초하여 측정·산출됨에 따라 구하는 체적 평균 입자경을 말한다. 여기에서, 입자경이 작은 순으로부터, d1, d2, … di, … dk의 입자경을 갖는 입자가 각각 n1개, n2개, … ni개, … nk개 있다고 한다. 또한 입자 1개당의 체적을 vi로 한다. 이때, 체적 평균 입자경(mean volume diameter)은,
- [0076] [수 1]
- [0077] $MV = \sum(V_i \cdot d_i) / \sum(d_i)$
- [0078] 에 의해 구해진다.
- [0079] 폴리머 입자란 폴리머 재료를 포함하는 입자를 말한다. 어느 실시형태에 있어서, 폴리머 입자는, 10nm 이상, 20nm 이상, 30nm 이상, 40nm 이상, 50nm 이상, 60nm 이상, 70nm 이상, 80nm 이상, 90nm 이상, 100nm 이상, 1 μ m 이상, 10 μ m 이상, 100 μ m 이상, 예를 들면 1mm 이상 2mm 이하, 1mm 이하, 500 μ m 이하, 400 μ m 이하, 300 μ m 이하, 200 μ m 이하, 예를 들면 100 μ m 이하, 10 μ m 이하, 1 μ m 이하, 예를 들면 100nm 이하, 90nm 이하, 80nm 이하, 70nm 이하, 60nm 이하, 50nm 이하, 40nm 이하, 30nm 이하, 20nm 이하, 예를 들면 10nm 이하의 평균 입자경을 갖는 입자일 수 있지만, 이에 한정되지 않는다. 어느 실시형태에 있어서, 폴리머 입자는, 10nm ~ 500 μ m, 예를 들면 20nm ~ 400 μ m, 30nm ~ 300 μ m, 20nm ~ 200 μ m, 예를 들면 10nm ~ 100 μ m의 평균 입자경을 갖는 입자일 수 있지만, 이에 한정되지 않는다. 폴리머 입자로서는, 예를 들면 입자 형성 성분으로서 생분해성 폴리머를 포함하는 입자를 들 수 있다. 생분해성 폴리머로서는, 예를 들면 폴리젯산을 포함하는 폴리머를 들 수 있다. 폴리젯산을 포함하는 폴리머로서는, 폴리젯산-글리콜산 공중합체(PLGA), 및 폴리펩티드-젯산 공중합체 등을 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 폴리머 입자는 임의의 내용물(봉입 성분)을 포함할 수 있다.
- [0080] 지질 입자란, 지질 성분을 포함하는 입자를 말한다. 지질 입자의 구조는 특별히 한정되지 않고, 지질 다중층, 지질 이중층(二重層) 또는 지질 일중층(一重層)이어도 좋고, 부분적으로 지질 다중층, 지질 이중층 또는 지질 일중층을 갖고 있어도 좋다. 지질 입자로서는, 예를 들면, 지질 이중층을 갖는 입자, 예를 들면 지질 이중층을 갖는 리포솜 혹은 니오솜, 지질 일중층을 갖는 입자, 예를 들면 테트라에테르형 지질을 포함하는 지질 일중층 입자, 부분적으로 지질 일중층 및 / 또는 지질 이중층을 갖는 입자, 지질 다중층을 갖는 입자, 지질 나노 입자(LNP) 등을 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 지질 입자는 임의의 내용물(봉입 성분)을 포함할 수 있지만, 봉입 성분으로서는 예를 들면, 핵산, 단백질, 펩티드, 저분자 화합물, 약제 화합물을 들 수 있고, 바람직하게는

핵산, 보다 바람직하게는 메신저 RNA(mRNA), 2개쇄 RNA(siRNA), 이중쇄 RNA(dsRNA), 이중쇄 DNA(dsDNA), 일중쇄 DNA(ssDNA), 더 바람직하게는 mRNA를 들 수 있다(핵산을 봉입 성분으로 하는 지질 입자를 특히 핵산 지질 입자라고 하는 경우가 있음). 또, 리포솜은 적어도 1개의 지질 이중층을 갖는 지질 입자를 말한다. 리포솜으로서, 작은 단층 소포(SUV), 큰 단층 소포(LUV), 다층 소포(MLV), 올리고라멜라 소포(OLV), 중형 단층 소포(MUV), 거대 단층 소포(GUV), 거대 다층 소포(GMV) 등을 들 수 있다. LUV는 일반적으로 입자경이 100nm 이상일 수 있지만, 50nm 이상으로 하는 분류도 있다. SUV는 일반적으로 입자경이 20 ~ 100nm일 수 있지만, 50nm 미만으로 하는 분류도 있다. 어느 분류를 채용해도 좋지만, LUV에 대해서도 SUV에 대해서도 동일한 분류를 이용하는 것으로 한다. MLV는, 각 소포가 2 이상인 이중층을 갖는다. MLV 내에는, 별개의 수성(水性) 구획이 형성될 수 있다. 리포솜은, 인지질로 구성된 이중막을 가질 수 있다. 니오솜은, 비이온계 계면활성제로 구성된 이중막을 가질 수 있다. 예를 들면 일본 특허공표 제2013-536803호를 참조한다. 참조에 의해 리포솜에 관한 그 기재를 본 명세서에 편성한다.

[0081] 지질 성분은 양 이온성 지질, 중성 지질, 음이온성 지질, 양이온성 지질로 대별(大別)된다. 지질 성분으로서, 특별히 한정되지 않고, 인지질, 스펅고지질, 당지질, 글리세로지질, 스테롤지질, 폴리머 복합지질을 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다.

[0082] 양이온성 지질로서는, pH에 상관없이 지질 분자가 정미(正味)의 양전하를 갖는 지질, 및 생리학적 pH 등의 선택한 pH에 있어서, 그 지질이 갖는 pKa에 따라 일부의 지질 분자가 정미의 양전하를 갖는 지질(pH 응답성 양이온성 지질이라고 하는 경우가 있음)을 들 수 있다. pH에 상관없이 지질 분자가 정미의 양전하를 갖는 지질로서는, 예를 들면, N,N-디올레일-N,N-디메틸암모늄클로라이드(DODAC), N,N-디스테아릴-N,N-디메틸암모늄브로마이드(DDAB), N-[1-(2,3-디올레오일옥시)프로필]-N,N,N-트리메틸암모늄클로라이드(DOTAP), N,N-디옥타데실아미드글리실스페르민(DOGS), N-[1-(2,3-디올레일옥시)프로필]-N,N,N-트리메틸암모늄클로라이드(DOTMA), 2,3-디올레일옥시-N-[2(스페르민카르복사미드)에틸]-N,N-디메틸-1-프로파나미드니트릴플루오로아세테이트(DOSPA), N-[1-(2,3-디미리스틸옥시)프로필]-N,N-디메틸-N-(2-히드록시에틸)암모늄브로마이드(DMRIE), 3β-N-(N',N',-디메틸아미노에탄)-카르바모일콜레스테롤(DC-Chol)을 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다. pH 응답성 양이온성 지질로서는, 예를 들면, 1,2-디올레오일옥시-3-디메틸아미노프로판(DODAP), N,N-디메틸-(2,3-디올레일옥시)프로필아민(DODMA), 1,2-디리노레일옥시-3-디메틸아미노프로판(DLinDMA), 2,2-디리노레일-4-(2-디메틸아미노에틸)-[1,3]-디옥솔란(DLin-KC2-DMA), 헵타트리아콘타-6,9,28,31-테트라엔-19-일-4-(디메틸아미노)부타노에이트(DLin-MC3-DMA) 등을 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 예를 들면 국제공개 제2015 / 005253호, 국제공개 제2021 / 060440호 팜플렛을 참조한다. 참조에 의해 양이온성 지질에 관한 그 기재를 본 명세서에 편성한다.

[0083] 양(兩) 친매성 지질이란, 친수성기 및 소수성기 모두를 갖는 지질을 말한다. 양 친매성 지질로서는, 이온성 지질, 인지질, 스펅고지질, 당지질, 글리세로지질 등을 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 인지질로서는, 예를 들면, 글리세로인지질, 스펅고인지질을 들 수 있다. 글리세로인지질로서는, 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜세린, 포스파티딜이노시톨, 포스파티딜콜린 등을 들 수 있다. 스펅고인지질로서는, 예를 들면, 스펅고미엘린, 스펅고에탄올아민 등을 들 수 있다. 당지질로서는, 글리세로당지질과 스펅고당지질을 들 수 있다. 글리세로당지질로서는, 예를 들면, 모노갈락토실디아실글리세롤, 디갈락토실디아실글리세롤, 술포퀴노보실디아실글리세롤 등을 들 수 있다. 스펅고당지질로서는, 예를 들면, 세라미드, 강글리오사이드 등을 들 수 있다.

[0084] 구체적인 인지질로서는, 예를 들면 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DOPC), 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DMPC), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DSPC), 1,2-디올레오일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민(DOPE), 1,2-디아실-sn-글리세로-3-포스포콜린(PC), 1,2-디아실-sn-글리세로-3-포스파티딜에탄올아민(PE), 1,2-디아실-sn-글리세로-3-포스파티딜세린(PS), 1,2-디아실-sn-글리세로-3-포스파티딜글리세롤(PG), 1,2-디아실-sn-글리세로-3-포스파티딘산(PA), 1,2-디데카노일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DDPC), 1,2-디라이우로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DLPC), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DPPC), 1,2-디리놀레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DLoPC), 1,2-디엘코일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DEPC), 1-미리스토일-2-팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(MPPC), 1-미리스토일-2-스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(MSPC), 1-팔미토일-2-미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린(PMPC), 1-팔미토일-2-스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(PSPC), 1-팔미토일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(POP), 1-스테아로일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(SOPC) 등을 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 예를 들면 국제공개 제2021 / 060440호 팜플렛을 참조한다. 참조에 의해 인지질에 관한 그 기재를 본 명세서에 편성한다.

[0085] 스테롤지질로서는, 예를 들면, 동물 유래의 스테롤, 식물 유래의 스테롤, 미생물 유래의 스테롤 등을 들 수 있

다. 동물 유래의 스테롤로서는, 예를 들면, 콜레스테롤, 콜레스테롤 숙신산, 디히드로콜레스테롤, 7-데히드로 콜레스테롤, 라노스테롤, 디히드로라노스테롤, 데스모스테롤 등을 들 수 있다. 식물 유래의 스테롤로서는, 예를 들면, 브라시카스테롤, 캄페스테롤, 스티그마스테롤, 시토스테롤을 들 수 있다. 미생물 유래의 스테롤로서는, 예를 들면, 티모스테롤, 에르고스테롤을 들 수 있다.

[0086] 폴리머 복합지질이란, 비이온성 폴리에테르, 비이온성 폴리에스테르, 비이온성 폴리아미노산, 혹은 비이온성 폴리펩티드, 또는 이들의 말단이 알콕시화된 폴리머 등이 부가된 지질을 말한다. 폴리머 복합지질에 부가되는 폴리머로서는 특별히 한정되지 않지만, 바람직하게는 비이온성 폴리에테르 혹은 비이온성 폴리에스테르, 또는 이들의 말단이 알콕시화된 폴리머이며, 보다 바람직하게는 비이온성 폴리에테르 또는 비이온성 모노알콕시폴리에테르이며, 더 바람직하게는 폴리알킬렌글리콜 또는 모노메톡시폴리알킬렌글리콜이며, 보다 더 바람직하게는 폴리에틸렌글리콜 또는 모노메톡시폴리에틸렌글리콜이다. 폴리옥시알킬렌화 지질은 폴리알킬렌글리콜 또는 그 유도체에 의해 수식된 지질이며, 예를 들면, 폴리메틸렌글리콜화 지질, 폴리에틸렌글리콜화 지질(PEG 지질), 폴리프로필렌글리콜화 지질, 폴리테트라메틸렌글리콜화 지질, 폴리헥사메틸렌글리콜화 지질 등을 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 폴리알킬렌글리콜의 중량 평균 분자량은, 예를 들면 200 ~ 10,000Da일 수 있다. PEG 지질로서는, PEG-콜레스테롤, PEG-인지질, PEG-세라미드, PEG-디아실글리세롤을 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다. PEG 지질의 PEG 부분은, 예를 들면, 200 ~ 10,000Da의 분자량을 가질 수 있다. PEG 부분은, 직쇄상이어도 분기상이어도 좋다. PEG에 의한 수식에는, 스테아릴화 폴리메틸렌글리콜, N-[카르보닐-메톡시폴리에틸렌글리콜-1000]-1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, N-[카르보닐-메톡시폴리에틸렌글리콜-2000]-1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, n-[카르보닐-메톡시폴리에틸렌글리콜-5000]-1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, N-[카르보닐-메톡시폴리에틸렌글리콜-750]-1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, N-[카르보닐-메톡시폴리에틸렌글리콜-1000]-1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, N-[카르보닐-메톡시폴리에틸렌글리콜-2000]-1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, N-[카르보닐-메톡시폴리에틸렌글리콜-5000]-1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디미리스토일-rac-글리세로-3-메톡시폴리에틸렌글리콜-2000(PEG-DMG) 등의 폴리에틸렌글리콜 유도체 등을 사용할 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 예를 들면 국제공개 제2020 / 262150호 팜플렛을 참조한다. 참조에 의해 폴리옥시알킬렌화 지질에 관한 그 기재를 본 명세서에 편성한다.

[0087] 지질 성분은, 단일이어도 복수여도 좋다. 어느 실시형태에 있어서, 지질 성분은, 양이온성 지질을 포함하는 지질일 수 있다. 추가적인 실시형태에 있어서, 지질 성분은, 양 친매성 지질, 양이온성 지질, 스테롤지질 및 폴리머 복합지질을 포함할 수 있다. 추가적인 특정의 실시형태에 있어서, 이용하는 지질 성분 전체에서의 각 지질의 함유량은, 양 친매성 지질로서 인지질을 5 ~ 30몰%, 예를 들면 12.5몰%, 예를 들면 17.5몰%, 양이온성 지질을 10 ~ 75몰%, 예를 들면 30 ~ 70몰%, 예를 들면 40 ~ 65몰%, 예를 들면 45몰%, 예를 들면 60몰%, 콜레스테롤을 15 ~ 50몰%, 예를 들면 21몰%, 예를 들면 41몰%, 및 폴리옥시알킬렌화 지질을 1 ~ 10몰%, 예를 들면 1 ~ 5몰%, 예를 들면 1.5몰% 포함하는 지질일 수 있다. 예를 들면 국제공개 2009 / 127060호, 국제공개 제2015 / 005253호를 참조한다. 지질 성분의 조성비에 관한 그 기재를 본 명세서에 편성한다.

[0088] 캡슐 입자에 포함되는 봉입 성분(내용물)으로서, 핵산, 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 저분자 화합물, 및 약제 화합물을 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 핵산으로서 DNA 및 RNA를 들 수 있다. RNA로서는, 메신저 RNA(mRNA), 2개쇄 RNA(siRNA), 1개쇄 RNA(antisense oligo), 핵 내 저분자 RNA(snRNA), 비코딩 RNA(ncRNA), 장쇄 비코딩 RNA(lncRNA), 마이크로 RNA(miRNA), 이중쇄 RNA(dsRNA), 및 환상 RNA를 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다. DNA로서는 플라스미드, 1개쇄 DNA 및 2개쇄 DNA를 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 저분자 화합물로서는 약제 화합물, 향암제, 생체에 작용하는 화합물, 생리 활성을 갖는 물질, 대사 물질 등을 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드로서는, 항원 단백질, 치료용 단백질, 생리 활성을 갖는 단백질, 항체 등을 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다.

[0089] 입자 형성 성분과 봉입 성분의 조합은 특별히 한정되지 않는다. 특정의 실시형태에 있어서, 입자 형성 성분과 봉입 성분의 조합은 전하, 극성 등을 고려하여 선정할 수 있다. 어느 실시형태에 있어서, 봉입 성분이 음전하를 띠고 있는 경우, 입자 형성 성분(예를 들면 지질 성분)으로서 예를 들면 양전하를 띤 것을 선택할 수 있다. 어느 실시형태에 있어서, 봉입 성분이 양전하를 띠고 있는 경우, 입자 형성 성분(예를 들면 지질 성분)으로서 예를 들면 음전하를 띤 것을 선택할 수 있다. 어느 실시형태에 있어서, 봉입 성분이 전하를 띠고 있지 않거나 또는 거의 띠고 있지 않은 경우, 입자 형성 성분(예를 들면 지질 성분)으로서 예를 들면 전하를 띠고 있지 않거나 또는 거의 띠고 있지 않은 것을 선택할 수 있다. 어느 실시형태에 있어서, 봉입 성분이 소수성이 높은 성분인 경우, 봉입 성분을 용해시키는 매체와 입자 형성 성분을 용해시키는 매체를 동일한 매체로 해도 좋다. 다른

실시형태에서는, 봉입 성분이 소수성이 높은 성분인 경우, 봉입 성분을 용해시키는 매체와 입자 형성 성분을 용해시키는 매체를 다른 매체로 해도 좋다.

[0090] 본 발명의 어느 실시형태에 있어서, 캡슐 입자는, 봉입 성분으로서 핵산을 이용하는 지질 입자(핵산 지질 입자라고 하는 경우가 있음)이다. 핵산 지질 입자로서는, 예를 들면, 핵산을 봉입하는 지질 나노 입자(LNP), 및 핵산을 봉입하는 리포솜 등을 들 수 있다. 입자 형성 성분에 이용하는 지질 성분으로서, 예를 들면, 양 이온성 지질, 중성 지질, 양이온성 지질, 음이온성 지질, 양 친매성 지질, 스테롤지질, 폴리머 복합지질 등을 들 수 있고, 이들을 단독 또는 2종 이상 이용할 수 있다. 핵산 지질 입자에 있어서의 지질 성분으로서 복수의 지질을 이용하는 경우, 생체 내에서의 드러그 딜리버리의 관점에서, 양이온성 지질, 양 친매성 지질, 스테롤지질, 및 폴리머 복합지질을 이용하는 것이 바람직하고, pH 응답성 양이온성 지질, 인지질, 콜레스테롤 및 PEG 지질을 이용하는 것이 보다 바람직하다. 이용하는 지질 성분 전체에서의 각 지질의 함유량은, 이용하는 지질의 종류 및 봉입하는 핵산 등에 의해 적절히 조정할 수 있지만, 예를 들면, 인지질을 5 ~ 30몰%, 예를 들면 12.5몰%, 예를 들면 17.5몰%, 양이온성 지질을 10 ~ 75몰%, 예를 들면 30 ~ 70몰%, 예를 들면 40 ~ 65몰%, 예를 들면 45몰%, 예를 들면 60몰%, 콜레스테롤을 15 ~ 50몰%, 예를 들면 21몰%, 예를 들면 41몰%, 및 PEG화 지질을 1 ~ 10몰%, 예를 들면 1 ~ 5몰%, 예를 들면 1.5몰%로 할 수 있다. 봉입 성분으로서 이용하는 핵산으로서 특별히 한정되지 않지만, 바람직하게는 메신저 RNA(mRNA), 2개쇄 RNA(siRNA), 이중쇄 RNA(dsRNA), 2개쇄 DNA(dsDNA), 1개쇄 DNA(ssDNA), 보다 바람직하게는 mRNA를 들 수 있다. 또한, 지질 성분으로서 양이온성 지질을 이용하는 경우, 핵산 지질 입자 내의 양이온성 지질의 분자수(N)와 핵산 유래의 인 원자수(P)의 비율(N/P 비율)은, 예를 들면, 약 2.0 ~ 15.0으로 할 수 있고, 바람직하게는 약 2.0 ~ 12.0이며, 보다 바람직하게는, 약 2.0 ~ 9.0이며, 더 바람직하게는 약 3.0 ~ 9.0이다. N/P 비율의 하한은, 예를 들면, 2.0으로 할 수 있고, 바람직하게는 2.5이며, 보다 바람직하게는 3.0이며, 상한은, 예를 들면 15.0으로 할 수 있고, 바람직하게는 12.0, 보다 바람직하게는 9.0이다. 핵산 지질 입자의 평균 입자경으로서 특별히 한정되지 않지만, 예를 들면 1nm ~ 1 μ m로 할 수 있고, 바람직하게는 10nm ~ 500nm, 보다 바람직하게는 30nm ~ 300nm, 더 바람직하게는 50nm ~ 200nm, 가장 바람직하게는 75nm ~ 150nm이다.

[0091] 테일러 반응 장치(1)는 도 1에 나타내는 바와 같이, 테일러 반응(테일러 와류(渦流) 반응이라고도 함)을 행하는 장치를 말한다. 어느 실시형태에 있어서, 테일러 반응 장치(1)는, 내통(3) 및 외통(2)을 갖는다. 내통(3)의 외경(inner radius, IR)과, 외통(2)의 내경(outer radius, OR) 사이에 간극 부분(d)이 형성되며, 이를 반응실(5)(반응조라고도 함)로서 이용한다(OR = IR + d임). 따라서 테일러 반응 장치(1)는, 외통(2) 및 내통(3)을 구비하고 있고, 내통(3)은, 외통(2) 내에 회전 가능하게 배치되어 있고, 외통(2)과의 사이에 환상의 반응실(5)이 형성된다. 테일러 반응 장치(1)는, 반응실(5) 내로 액이 유입되기 위한 하나 이상의 유입구(4)(제1 유입구(41), 제2 유입구(42)를 포함함)를 가질 수 있다. 유입구(4), 제1 유입구(41), 제2 유입구(42)를 본 명세서에서 주입구, 혹은 주입 포트라고 하는 경우가 있다. 또한, 테일러 반응 장치(1)는, 반응실(5) 내의 액이 외부로 유출되기 위한 유출구(6)를 적어도 1개 가질 수 있다. 유출구(6)를 본 명세서에서 배출구 혹은 유출 포트라고 하는 경우가 있다. 또, 부호 7은 제어 장치로, 내통(3)을 회전하는 모터(8)의 회전수 제어와, 제1 펌프(12), 제2 펌프(14), 및 제3 펌프(16)의 공급량 제어를 행한다. 부호 20은 반응실(5)을 냉각하는 자켓, 21은 자켓(20) 내의 냉각 매체를 순환하여 온도 조절하는 자켓 온도조용(溫度用) 릴리이다.

[0092] 봉입 성분 및 입자 형성 성분은 용액의 상태에서 반응시켜 입자를 형성할 수 있다. 그 때문에, 봉입 성분 및 입자 형성 성분의 성질에 따라 적절히 각각의 용매를 선정할 수 있다. 핵산 지질 입자의 제조에 있어서, 예를 들면, 핵산은 시트르산 버퍼에, 지질은 에탄올에, 각각 용해시킨 상태에서 장치에 공급할 수 있다. 따라서, 봉입 성분, 및 입자 형성 성분은, 각각 용매로 용액의 상태에서 준비할 수 있고, 각각 장치에 제공할 수 있다.

[0093] 어느 실시형태에 있어서, 본 개시의 입자의 제조 방법은, 입자 형성 성분과 봉입 성분을 혼합하는 공정을 가질 수 있다. 반응실(5) 내에서는, 내통(3)의 회전축에 대하여 수직 방향의 단면시(斷面視)에 있어서, 1세트의 와열(渦列)(5V)이 서로 역방향으로 축방향을 따라 다수 형성되고, 이 다수의 와열(5V)이 축방향으로 이동하는 과정에서 각종 용액의 혼합(테일러 와류 반응)이 행해진다. 특정의 실시형태에서는, 우선 입자 형성 성분의 용액이 들어간 제1 탱크(11)로부터 제1 펌프(12)를 통해 제1 라인(4A)으로부터 공급하고, 봉입 성분의 용액이 들어간 제2 탱크(13)로부터 제2 펌프(14)를 통해 제2 라인(4B)으로부터 공급하여 혼합액 라인(4D)에서 혼합하고, 그 다음에 이를 유입구(4)(청구항에 기재된 공통의 유입구이기도 함)를 통해 테일러 반응 장치(1)의 반응실(5)에 공급한다(도 1, 2 참조). 2액의 혼합이 반응실(5)로의 주입 앞에서 행해지는 점에서, 편의상, 이를 본 명세서에서 「반응실 앞(반응조 앞)」에서의 혼합이라고 하는 경우가 있다. 다른 실시형태에서는, 입자 형성 성분과 봉입 성분은, 서로 접촉하는 일 없이, 각각 독립된 주입 포트(제1 유입구(41), 제2 유입구(42))를 통해 테일러

반응 장치(1)의 반응실(5)에 공급되고, 그 다음에 반응실(5) 내에서 처음으로 2액이 혼합된다(도 3 참조). 2액의 혼합이 반응실(5) 내에서 행해지는 점에서, 편의상, 이를 본 명세서에서 「반응실 내(반응조 내)」에서의 혼합이라고 하는 경우가 있다. 용액을 주입하는 순번은 특별히 제한되지 않고, 입자 형성 성분과 봉입 성분은 동시에 주입해도 좋고, 입자 형성 성분을 먼저 주입해도 좋고, 봉입 성분을 먼저 주입해도 좋다.

[0094] 다른 실시형태에 있어서, 본 개시의 입자의 제조 방법은, 미리 혼합된 입자 형성 성분과 봉입 성분을 포함하는 혼합 용액을, 제1 유입구(41)로부터 반응실(5)에 공급할 수 있다. 이 경우, 입자 형성 성분과 봉입 성분의 혼합은, 테일러 반응 장치(1) 밖에서 행해질 수 있다. 또한, 혼합 용액을 주입하는 제1 유입구(41)와는 다른 제2 유입구(42)로부터, 희석 용액을 주입할 수 있다(도 3 참조). 예를 들면, 입자 형성 성분도, 봉입 성분도, 모두 지용성 또는 소수성인 경우에, 입자 형성 성분 및 봉입 성분을, 동일 또는 다른 용매에 용해시켜 혼합할 수 있다. 그리고 그러한 미리 혼합된 용액을, 본 개시의 입자의 제조 방법에 사용할 수 있다.

[0095] 어느 실시형태에 있어서, 본 개시의 입자의 제조 방법은, 희석 용액을 더 주입하는 공정을 가질 수 있다. 희석 용액은, 어느 단계에서 주입해도 좋다. 어느 실시형태에 있어서, 우선 입자 형성 성분을 제1 라인(4A)으로부터 공급하고, 그 다음에 희석 용액을 제3 라인(4C)으로부터 공급하여 혼합하고, 입자 형성 성분-희석 용액 혼합액을 생성하고, 그 다음에 입자 형성 성분-희석 용액 혼합액에 대하여 봉입 성분을 제2 라인(4B)으로부터 공급하여 입자 형성 성분-봉입 성분-희석 용액 혼합액을 혼합액 라인(4D)에서 생성하고, 이를 유입구(4)(청구항에 기재된 공통의 유입구이기도 함)를 통해 반응실(5)에 공급할 수 있다(도 4 참조). 다른 실시형태에 있어서, 우선 봉입 성분과 희석 용액을 혼합하여, 봉입 성분-희석 용액 혼합액을 생성하고, 그 다음에 봉입 성분-희석 용액 혼합액을 입자 형성 성분과 혼합하여 입자 형성 성분-봉입 성분-희석 용액 혼합액을 생성하고, 이를 반응실에 공급할 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 우선 입자 형성 성분과 봉입 성분을 혼합하여, 입자 형성 성분-봉입 성분 혼합액을 생성하고, 그 다음에 입자 형성 성분-봉입 성분 혼합액을 희석 용액과 혼합하여 제1-2-3 혼합액을 생성하고, 이를 반응실에 공급할 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 우선 입자 형성 성분의 용액이 들어간 제1 탱크(11)로부터 제1 펌프(12)를 통해 제1 라인(41A)으로부터 공급하고, 봉입 성분의 용액이 들어간 제2 탱크(13)로부터 제2 펌프(14)를 통해 제2 라인(41B)으로부터 공급하여 혼합하고, 입자 형성 성분-봉입 성분 혼합액을 혼합액 라인(41D)에서 생성하고, 이를 제1 유입구(41)를 통해 반응실(5)에 공급하고, 그 다음에, 희석 용액이 들어간 제3 탱크(15)로부터 제3 펌프(16)를 통해 제2 유입구(42)로부터 반응실(5)에 공급하고, 입자 형성 성분-봉입 성분-희석 용액 혼합액을 생성할 수 있다(도 1, 5 참조). 용액을 반응실에 주입하는 순번은 특별히 제한되지 않는다. 먼저 희석 용액을 반응실에 공급하고, 그 다음에 입자 형성 성분-봉입 성분 혼합액을 반응실에 공급해도 좋다. 또한, 희석 용액과 입자 형성 성분-봉입 성분 혼합액을 동시에 반응실에 공급해도 좋다.

[0096] 어느 실시형태에 있어서, 희석 용액은 봉입 성분을 안정화할 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 희석 용액은, 형성된 캡슐 입자를 희석함으로써 입자끼리의 회합을 저감할 수 있다. 희석 용액의 종류는, 중성 완충액, 산성 완충액, 또는 염기성 완충액 모두 사용할 수 있고, 입자 형성 성분이나 봉입 성분에 따라 적절히, 선택할 수 있다. 희석 용액으로서, 예를 들면 시트르산 완충액, 아세트산 완충액, 인산 완충액, 굿 버퍼(good buffer)를 포함하는 완충액 등을 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 입자 형성 성분이 pH 응답성 양이온성 지질을 포함하고 봉입 성분이 핵산인 경우, 희석 용액은 바람직하게는 중성 또는 약산성의 완충액으로 할 수 있고, 예를 들면 중성의 완충액으로서 인산 완충액, 또는 약산성의 완충액으로서 시트르산 완충액 등을 이용할 수 있다. 입자 형성 성분이 중성의 양 친매성 지질을 포함하는 경우, 희석액은 중성 부근의 완충액, 예를 들면 인산 완충액 등을 포함할 수 있다. 입자 형성 성분이 음이온성 지질을 포함하는 경우, 희석액은 예를 들면 알칼리성 혹은 약알칼리성 완충액을 포함할 수 있다. 어느 실시형태에서는 핵산 지질 입자의 제조에 있어서, 지질을 용해하고 있는 용매(예를 들면 에탄올)의 함량을 낮추어, 입자를 안정화시키기 위해, 봉입 성분의 용매와 동일한 용매(예를 들면 봉입 성분의 용매에 시트르산 완충액을 사용한 것이면, 시트르산 완충액)를 희석 용액으로서 사용할 수 있다.

[0097] 다른 실시형태에 있어서, 우선 입자 형성 성분과 희석 용액을 혼합하여 입자 형성 성분-희석 용액 혼합액을 생성하고, 그 다음에 입자 형성 성분-희석 용액 혼합액을 반응실에 공급하고, 그 다음에, 봉입 성분을 반응실에 공급하고, 입자 형성 성분-봉입 성분-희석 용액 혼합액을 생성할 수 있다. 용액을 반응실에 주입하는 순번은 특별히 제한되지 않는다. 봉입 성분을 반응실에 공급하고, 동시에 혹은 다음에 입자 형성 성분-희석 용액 혼합액을 반응실에 공급해도 좋다. 다른 실시형태에 있어서, 우선 봉입 성분과 희석 용액을 혼합하여, 봉입 성분-희석 용액 혼합액을 생성하고, 그 다음에 봉입 성분-희석 용액 혼합액을 반응실에 공급하고, 그 다음에, 입자 형성 성분을 반응실에 공급하고, 입자 형성 성분-봉입 성분-희석 용액 혼합액을 생성할 수 있다. 용액을 반응실에 주입하는 순번은 특별히 제한되지 않는다. 입자 형성 성분을 반응실에 공급하고, 동시에 혹은 다음에 봉

입 성분-회석 용액 혼합액을 반응실에 공급해도 좋다. 다른 실시형태에 있어서, 입자 형성 성분을 제1 유입구(41)를 통해 반응실(5)에 공급하고, 붕입 성분을 제2 유입구(42)를 통해 반응실(5)에 공급하고, 회석 용액을 제3 유입구(43)를 통해 반응실(5)에 공급하고, 반응실(5)에서 입자 형성 성분-붕입 성분-회석 용액 혼합액을 생성할 수 있다(도 6 참조). 용액을 반응실에 주입하는 순번은 특별히 제한되지 않는다. 입자 형성 성분을 반응실에 공급하고, 동시에 혹은 다음에 회석 용액을 반응실에 공급하고, 동시에 혹은 다음에 붕입 성분을 반응실에 공급해도 좋다. 붕입 성분을 반응실에 공급하고, 동시에 혹은 다음에 입자 형성 성분을 반응실에 공급하고, 동시에 혹은 다음에 회석 용액을 반응실에 공급해도 좋다. 붕입 성분을 반응실에 공급하고, 동시에 혹은 다음에 회석 용액을 반응실에 공급하고, 동시에 혹은 다음에 입자 형성 성분을 반응실에 공급해도 좋다. 회석 용액을 반응실에 공급하고, 동시에 혹은 다음에 입자 형성 성분을 반응실에 공급하고, 동시에 혹은 다음에 붕입 성분을 반응실에 공급해도 좋다. 회석 용액을 반응실에 공급하고, 동시에 혹은 다음에 붕입 성분을 반응실에 공급하고, 동시에 혹은 다음에 입자 형성 성분을 반응실에 공급해도 좋다. 입자 형성 성분, 붕입 성분, 및 회석 용액의 3액을 동시에 반응실에 공급해도 좋다.

- [0098] 입자 형성 성분, 붕입 성분, 및 / 또는 회석 용액 이외의 용액에 대해서도 마찬가지이다. 즉, 어느 실시형태에 있어서, 본 개시의 입자의 제조 방법은, 입자 형성 성분, 붕입 성분, 및 / 또는 회석 용액 이외에도 하나 이상의 추가적인 용액을 주입하는 공정을 더 가질 수 있다. 추가적인 용액은, 각각 독립적으로, 입자 형성 성분을 용해시킨 용액, 붕입 성분을 용해시킨 용액, 혹은 회석 용액, 또는 이들의 혼합 용액일 수 있다.
- [0099] 또, 본 개시의 테일러 반응 장치(1)를 이용하는 입자의 제조 방법에 관하여, 입자는 반드시 반응실(5) 내에서만 제조되어야 하는 것은 아니다. 예를 들면 입자 형성 성분과 붕입 성분을 혼합하고, 그 다음에 이를 테일러 반응 장치(1)의 반응실(5)에 공급하는 태양(態樣)에서는, 입자 형성 성분과 붕입 성분을 혼합한 단계에서 일부, 목적하는 입자가 형성될 수 있다. 이러한 과정에 의해 형성된 목적 입자도 또한, 본 개시의 제조 방법에 의해 제조된 목적 입자, 또는 본 개시의 장치에 의해 제조된 목적 입자에 해당하는 것으로 한다. 또, 반응조 앞에서의 혼합 스텝의 경우, 반응실(5) 내에서는 목적 입자를 형성할 뿐만 아니라, 입자의 균질화를 도모할 수 있다.
- [0100] 어느 실시형태에 있어서, 테일러 반응 장치(1)는, 입자 형성 성분과 붕입 성분을 혼합한 입자 형성 성분-붕입 성분 혼합액을 반응실(5)에 주입하기 위한 유입구(4)(청구항에 기재된 공통의 유입구이기도 함)를 갖는다(도 2 참조). 어느 실시형태에 있어서, 입자 제조 방법은, 유입구(4)로부터 입자 형성 성분-붕입 성분 혼합액을 주입하고, 내통(3)을 회전시켜, 입자 형성 성분-붕입 성분 혼합액을 더 혼합하는 공정을 포함한다. 반응실(5)에서는, 입자 형성 성분-붕입 성분 혼합액은 테일러 와류 반응에 제공되고, 더 혼합될 수 있다.
- [0101] 어느 실시형태에 있어서, 테일러 반응 장치(1)는, 입자 형성 성분을 반응실(5)에 주입하기 위한 제1 유입구(41) 및 붕입 성분을 반응실(5)에 주입하기 위한 제2 유입구(42)를 갖는다(도 3 참조). 어느 실시형태에 있어서, 입자 제조 방법은, 제1 유입구(41)로부터 입자 형성 성분을 주입하고, 제2 유입구(42)로부터 붕입 성분을 주입하고, 내통(3)을 회전시켜, 입자 형성 성분과 붕입 성분을 혼합하는 공정을 포함한다. 반응실(5)에서는, 입자 형성 성분과 붕입 성분은 테일러 와류 반응에 제공될 수 있다.
- [0102] 어느 실시형태에 있어서, 테일러 반응 장치(1)는, 회석 용액을 반응실(5)에 주입하기 위한 제3 유입구(43)를 더 가질 수 있다(도 6 참조). 어느 실시형태에 있어서, 입자 제조 방법은, 제3 유입구(43)로부터 회석 용액을 주입하고, 내통(3)을 회전시키는 공정을 포함한다. 반응실(5)에서는, 회석 용액과 반응실(5) 내의 용액은 테일러 와류 반응에 제공될 수 있다. 제4 용액을 주입하기 위한 제4 유입구, 제5 용액을 주입하기 위한 제5 유입구, 제n 용액을 주입하기 위한 제n 유입구에 대해서도 마찬가지이다($n = 6$ 이상의 자연수). 즉, 어느 실시형태에 있어서, 본 개시의 테일러 반응 장치(1)는, 제4 유입구, 제5 유입구 ... 제n 유입구를 더 가질 수 있다.
- [0103] 어느 실시형태에 있어서, 제조되는 입자는 지질 입자일 수 있다. 어느 실시형태에 있어서, 지질 입자는 지질 성분 및 핵산 등의 붕입되는 성분을 포함할 수 있다. 어느 실시형태에 있어서, 입자 형성 성분이 지질 성분을 포함하고, 붕입 성분이 핵산 등의 붕입되는 성분을 포함할 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 입자 형성 성분이 핵산 등의 붕입되는 성분을 포함하고, 붕입 성분이 지질 성분을 포함할 수 있다.
- [0104] 특정의 실시형태에 있어서, 회석 용액은, 지질을 용해하고 있는 유기 용매(에탄올 등)의 함량을 낮춰, 입자를 안정화시킬 수 있다. 회석 용액은 임의의 타이밍에 지질 성분을 포함하는 용액과 접촉시킬 수 있다.
- [0105] 어느 실시형태에 있어서, 본 개시는, 입자를 제조하기 위한 테일러 반응 장치(1)를 제공한다. 제조되는 입자로서는, 캡슐 입자를 들 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 어느 실시형태에 있어서, 테일러 반응 장치(1)는, 내통(3) 및 외통(2)을 갖는다. 내통(3)의 외경과, 외통(2)의 내경 사이에 간극 부분이 형성되어 있고, 이것이 반

응실(5)로서 이용된다. 따라서 테일러 반응 장치(1)는, 외통(2) 및 내통(3)을 구비하고 있고, 내통(3)은, 외통(2) 내에 회전 가능하게 배치되어 있고, 외통(2)과의 사이에 환상의 반응실(5)이 형성된다. 테일러 반응 장치(1)는, 반응실(5) 내로 액이 유입되기 위한 유입구(4)를 하나 이상 가질 수 있다. 테일러 반응 장치(1)는, 반응실(5) 내의 액이 외부로 유출되기 위한 유출구(6)를 적어도 1개 가질 수 있다.

[0106] 어느 실시형태에 있어서, 테일러 반응 장치(1)는, 「반응실 앞」에서 입자 형성 성분과 봉입 성분을 혼합하도록 구성될 수 있다. 이 경우, 입자 형성 성분을 주입하는 제1 라인(4A)과, 봉입 성분을 주입하는 제2 라인(4B)이 합류한다(도 2). 합류 부분 이후(즉 하류 측)의 것을 편의상, 본원 명세서에서 입자 형성 성분-봉입 성분 혼합액 라인(4D), 또는 공통 라인이라고 하는 경우가 있다. 입자 형성 성분-봉입 성분 혼합액 라인(4D)에서 입자 형성 성분과 봉입 성분이 혼합된다. 그 다음에, 입자 형성 성분-봉입 성분 혼합액 라인(4D)이, 입자 형성 성분-봉입 성분 혼합액을 유입구(4)(청구항에 기재된 공통의 유입구이기도 함)를 통해 반응실(5) 내로 공급한다. 다른 실시형태에서는, 테일러 반응 장치(1)는, 「반응실 내」에서 입자 형성 성분과 봉입 성분을 혼합하도록 구성될 수 있다. 이 경우, 반응실(5)에는, 입자 형성 성분을 주입하기 위한 제1 유입구(41)(제1 주입 포트라고도 함), 및 봉입 성분을 주입하기 위한 제2 유입구(42)(제2 주입 포트라고도 함)가 마련된다(도 3). 「반응실 앞」에서 입자 형성 성분과 봉입 성분을 혼합하는 경우에도, 「반응실 내」에서 입자 형성 성분과 봉입 성분을 혼합하는 경우에도, 용액을 주입하는 순번은 특별히 제한되지 않고, 입자 형성 성분과 봉입 성분은 동시에 주입해도 좋고, 입자 형성 성분을 먼저 주입해도 좋고, 봉입 성분을 먼저 주입해도 좋다.

[0107] 반응실(5)에, 입자 형성 성분을 주입하기 위한 제1 유입구(41), 및 봉입 성분을 주입하기 위한 제2 유입구(42)를 마련하는 경우, 제1 유입구(41), 및 제2 유입구(42)는, 임의의 상대적인 배치로 할 수 있다. 어느 실시형태에 있어서, 제1 유입구(41)와 제2 유입구(42)는, 내통(3)을 회전시키기 위한 회전축 방향에서 볼 때(내통(3)의 원형 단면에 대하여 수직 방향에서 볼 때), 서로 약 15도, 약 30도, 약 45도, 약 60도, 약 75도, 약 90도, 약 105도, 약 120도, 약 135도, 약 150도, 약 165도, 약 180도, 약 195도, 약 210도, 약 225도, 약 240도, 약 255도, 약 270도, 약 285도, 약 300도, 약 315도, 약 330도, 약 345도, 또는 약 360도의 각도를 형성하도록 배치될 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 여기에서, 각도에 대해서 「약」이란, 나타나 있는 각도의 ± 7.5 도의 범위를 말하는 것으로 한다. 어느 실시형태에 있어서, 제1 유입구(41)와 제2 유입구(42)는, 내통(3)을 회전시키기 위한 회전축에 대하여 수직 방향에서 볼 때(내통의 장방향 단면에 대하여 수직 방향에서 볼 때), 인접해 있어도 좋고, 일정한 간격을 두고 떨어져 있어도 좋다.

[0108] 반응실(5)에 액을 공급하는 측을 상류 측, 반응실(5)로부터 액을 배출하는 측을 하류 측으로 하면, 어느 실시형태에 있어서, 제1 유입구(41)를 상류 측에 배치하고, 제2 유입구(42)를 하류 측에 배치해도 좋다. 다른 실시형태에 있어서, 제2 유입구(42)를 상류 측에 배치하고, 제1 유입구(41)를 하류 측에 배치해도 좋다. 다른 실시형태에 있어서, 제1 유입구(41)와 제2 유입구(42)를, 내통(3)의 축방향으로 수직인 동일 단면 상에 배치해도 좋다(도 3). 이 경우, 제1 유입구(41)와 제2 유입구(42)는, 어느 쪽이 상류이고 어느 쪽이 하류가 되는 것이 아니라, 어느 쪽이나 동일한 회전 단면 상에 있다. 제3 유입구(43)도 임의로 배치할 수 있다. 즉, 제3 유입구(43)를, 제1 유입구(41)의 상류 측, 제1 유입구(41)와 동일한 회전 단면 상, 제1 유입구(41)의 하류 측이며 제2 유입구(42)의 상류 측, 제2 유입구(42)와 동일한 회전 단면 상, 또는 제2 유입구(42)의 하류 측에 배치할 수 있다. 또는 제1, 제2, 및 제3 유입구(43)를 동일한 회전 단면 상에 배치할 수 있다(도 6). 제4 유입구, 제5 유입구, ..., 제n 유입구에 대해서도 마찬가지이다($n = 6$ 이상의 자연수).

[0109] 특정의 실시형태에서는, 입자의 제조 방법에 관하여, 및 / 또는, 테일러 반응 장치(1)에 관하여, 내통(3)의 주속이 예를 들면 0.5 ~ 47m/s, 예를 들면 0.4m/s 이상, 0.41m/s 이상, 0.42m/s 이상, 0.43m/s 이상, 0.44m/s 이상, 0.45m/s 이상, 0.46m/s 이상, 0.47m/s 이상, 0.48m/s 이상, 0.49m/s 이상, 0.5m/s 이상, 0.51m/s 이상, 0.52m/s 이상, 0.53m/s 이상, 0.54m/s 이상, 0.55m/s 이상, 0.6m/s 이상, 0.65m/s 이상, 0.7m/s 이상, 0.75m/s 이상, 0.8m/s 이상, 0.85m/s 이상, 0.9m/s 이상, 0.95m/s 이상, 1m/s 이상, 1.5m/s 이상, 2m/s 이상, 2.5m/s 이상, 3m/s 이상, 4m/s 이상, 5m/s 이상, 6m/s 이상, 7m/s 이상, 8m/s 이상, 9m/s 이상, 10m/s 이상, 11m/s 이상, 12m/s 이상, 13m/s 이상, 14m/s 이상, 15m/s 이상, 20m/s 이상, 25m/s 이상, 30m/s 이상, 35m/s 이상, 40m/s 이상, 41m/s 이상, 42m/s 이상, 43m/s 이상, 44m/s 이상, 45m/s 이상, 46m/s 이상, 예를 들면 47m/s 이상, 예를 들면 55m/s 이하, 54m/s 이하, 53m/s 이하, 52m/s 이하, 51m/s 이하, 50m/s 이하, 49m/s 이하, 48m/s 이하, 47m/s 이하, 46m/s 이하, 45m/s 이하, 44m/s 이하, 43m/s 이하, 42m/s 이하, 41m/s 이하, 40m/s 이하, 35m/s 이하, 30m/s 이하, 25m/s 이하, 20m/s 이하, 15m/s 이하, 14m/s 이하, 13m/s 이하, 12m/s 이하, 11m/s 이하, 10m/s 이하, 9m/s 이하, 8m/s 이하, 7m/s 이하, 6m/s 이하, 5m/s 이하, 4m/s 이하, 3m/s 이하, 2m/s 이하, 1m/s 이하, 0.95m/s

s 이하, 0.9m/s 이하, 0.85m/s 이하, 0.8m/s 이하, 0.75m/s 이하, 0.7m/s 이하, 0.65m/s 이하, 0.6m/s 이하, 0.55m/s 이하, 0.54m/s 이하, 0.53m/s 이하, 0.52m/s 이하, 0.51m/s 이하, 0.5m/s 이하, 0.49m/s 이하, 0.48m/s 이하, 0.47m/s 이하, 0.46m/s 이하, 0.45m/s 이하, 0.44m/s 이하, 0.43m/s 이하, 0.42m/s 이하, 예를 들면 0.41m/s 이하, 예를 들면 이들의 임의의 상한 및 하한의 조합, 예를 들면, 0.4 ~ 55m/s, 0.45 ~ 54m/s, 0.5 ~ 53m/s, 0.5 ~ 52m/s, 0.5 ~ 51m/s, 0.5 ~ 50m/s, 0.5 ~ 49m/s, 0.5 ~ 48m/s, 0.5 ~ 47m/s, 0.51 ~ 46m/s, 0.52 ~ 45m/s, 0.53 ~ 44m/s, 0.54 ~ 43m/s, 0.55 ~ 42m/s, 0.6 ~ 41m/s, 0.7 ~ 40m/s, 0.8 ~ 35m/s, 0.9 ~ 30m/s, 1 ~ 25m/s, 1.5 ~ 20m/s, 2 ~ 15m/s, 3 ~ 14m/s, 4 ~ 13m/s, 5 ~ 12m/s, 6 ~ 11m/s, 7 ~ 10m/s, 예를 들면 8 ~ 9m/s로 할 수 있지만, 이에 한정되지 않는다. 또, 본 명세서에서, 특별히 언급하지 않는 한, 주속이란,

[0110] [수 2]

[0111] 주속 = 내통 외경 × π × 회전수

[0112] (식 중, π는 원주율을 나타냄)

[0113] 로 정의된다.

[0114] 특정의 실시형태에서는, 외통 내경이 φ30mm인 경우에 있어서, 내통(3)의 회전수를, 예를 들면 500 ~ 30000rpm, 550 ~ 25000rpm, 600 ~ 20000rpm, 650 ~ 15000rpm, 700 ~ 10000rpm, 750 ~ 9000rpm, 800 ~ 8000rpm, 850 ~ 7000rpm, 900 ~ 6000rpm, 예를 들면 1000 ~ 6000rpm으로 할 수 있지만, 이에 한정되지 않는다. 특정의 실시형태에서는, 외통 내경이 φ30mm인 경우에 있어서, 내통 외경을 φ20mm 이상, φ21mm 이상, φ22mm 이상, φ23mm 이상, φ24mm 이상, φ25mm 이상, φ26mm 이상, φ27mm 이상, φ28mm 이상, φ29mm 이상, φ29.1mm 이상, φ29.2mm 이상, φ29.3mm 이상, φ29.4mm 이상, φ29.5mm 이상, φ29.6mm 이상, φ29.7mm 이상, φ29.8mm 이상, φ29.9mm 이상, φ29.91mm 이상, φ29.92mm 이상, φ29.93mm 이상, φ29.94mm 이상, φ29.95mm 이상, φ29.96mm 이상, φ29.97mm 이상, φ29.98mm 이상, φ29.99mm 이상으로 할 수 있지만 이에 한정되지 않는다.

[0115] 특정의 실시형태에서는, 입자의 제조 방법에 관하여, 및 / 또는, 테일러 반응 장치(1)에 관하여, 내통(3)과 외통(2) 사이의 간극 폭(d)을 0.01mm 이상, 0.02mm 이상, 0.03mm 이상, 0.04mm 이상, 0.05mm 이상, 0.06mm 이상, 0.07mm 이상, 0.08mm 이상, 0.09mm 이상, 0.1mm 이상, 0.11mm 이상, 0.12mm 이상, 0.13mm 이상, 0.14mm 이상, 0.15mm 이상, 예를 들면 0.21mm 이상, 0.75mm 이상, 1.5mm 이상, 예를 들면 5mm 이하, 4.9mm 이하, 4.8mm 이하, 4.7mm 이하, 4.6mm 이하, 4.5mm 이하, 4.4mm 이하, 4.3mm 이하, 4.2mm 이하, 4.1mm 이하, 4mm 이하, 3.5mm 이하, 3mm 이하, 2.5mm 이하, 2mm, 1.5mm 이하, 1.0mm 이하, 예를 들면 0.01mm ~ 5mm, 0.02mm ~ 4.9mm, 0.03mm ~ 4.8mm, 0.04mm ~ 4.7mm, 0.05mm ~ 4.6mm, 0.06mm ~ 4.5mm, 0.07mm ~ 4.4mm, 0.08mm ~ 4.3mm, 0.09mm ~ 4.2mm, 0.1mm ~ 4.1mm, 0.11mm ~ 4mm, 0.12mm ~ 3.5mm, 0.13mm ~ 3mm, 0.14mm ~ 2mm, 예를 들면 0.15mm ~ 1.5mm로 할 수 있지만, 이에 한정되지 않는다.

[0116] 입자의 제조 방법에 관하여, 및 / 또는, 테일러 반응 장치(1)에 관하여, 주속이나 간극 폭(d)은, 전단력을 간략화한 식으로서 교반력 R이 되도록, 설정할 수 있다. 교반력 R은, 하기의 식에 의해 산출된다.

[0117] [수 3]

[0118] 교반력 R = 주속 ÷ 간극 폭(d)

[0119] 어느 실시형태에 있어서, 교반력 R은, 0.5/5 < R < 47/0.01, 100 ~ 5,000,000s⁻¹, 104 ~ 4,900,000s⁻¹, 105 ~ 4,900,000s⁻¹, 110 ~ 4,800,000s⁻¹, 120 ~ 4,710,000s⁻¹, 130 ~ 4,700,900s⁻¹, 140 ~ 4,700,000s⁻¹, 150 ~ 4,600,000s⁻¹, 160 ~ 4,500,000s⁻¹, 170 ~ 4,400,000s⁻¹, 180 ~ 4,300,000s⁻¹, 190 ~ 4,200,000s⁻¹, 200 ~ 4,100,000s⁻¹, 250 ~ 4,000,000s⁻¹, 300 ~ 3,900,000s⁻¹, 400 ~ 3,800,000s⁻¹, 500 ~ 3,700,000s⁻¹, 600 ~ 3,600,000s⁻¹, 700 ~ 3,500,000s⁻¹, 800 ~ 3,400,000s⁻¹, 900 ~ 3,300,000s⁻¹, 1000 ~ 3,200,000s⁻¹, 1500 ~ 3,100,000s⁻¹, 2000 ~ 3,000,000s⁻¹, 3000 ~ 2,500,000s⁻¹, 4000 ~ 2,000,000s⁻¹, 5000 ~ 1,500,000s⁻¹, 10,000 ~ 1,000,000s⁻¹, 또는 이들의 상한 및 하한의 임의의 조합의 범위가 되도록, 내통(3)의 회전수 및 내통(3)과 외통(2) 사이의 간극 폭(d)을 설정할 수 있다.

[0120] 각 용액은, 적절한 주입 속도로, 서로 혼합할 수 있고, 반응실(5)에 주입할 수 있다. 당업자이면 용액의 주입

속도를 적절히, 설정할 수 있다. 또한, 당업자이면 각 용액의 주입 속도의 비를 적절히, 설정할 수 있다. 어느 실시형태에 있어서, 입자 형성 성분의 주입 속도와 봉입 성분의 주입 속도의 비를, 1:1 ~ 1:9의 범위에서 선택되는 비, 예를 들면 1:2 ~ 1:9, 1:3 ~ 1:9, 예를 들면 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 예를 들면 1:9로 할 수 있지만, 이에 한정되지 않는다. 주입 속도는 입자 형성 성분과 봉입 성분의 조합에 따라 결정할 수 있다. 입자 형성 성분 또는 봉입 성분의 주입 속도는, 예를 들면 1mL/min 이상, 1.1mL/min 이상, 1.2mL/min 이상, 1.3mL/min 이상, 1.4mL/min 이상, 1.5mL/min 이상, 1.6mL/min 이상, 1.7mL/min 이상, 1.8mL/min 이상, 1.9mL/min 이상, 2mL/min 이상, 2.1mL/min 이상, 2.2mL/min 이상, 2.3mL/min 이상, 2.4mL/min 이상, 2.5mL/min 이상, 2.6mL/min 이상, 2.7mL/min 이상, 2.8mL/min 이상, 2.9mL/min 이상, 3mL/min 이상, 3.5mL/min 이상, 4mL/min 이상, 4.5mL/min 이상, 5mL/min 이상, 6mL/min 이상, 7mL/min 이상, 8mL/min 이상, 9mL/min 이상, 10mL/min 이상, 20mL/min 이상, 30mL/min 이상, 40mL/min 이상, 50mL/min 이상, 60mL/min 이상, 70mL/min 이상, 80mL/min 이상, 90mL/min 이상, 100mL/min 이상, 110mL/min 이상, 120mL/min 이상, 130mL/min 이상, 140mL/min 이상, 예를 들면 150mL/min 이상 150mL/min 이하, 140mL/min 이하, 130mL/min 이하, 120mL/min 이하, 110mL/min 이하, 100mL/min 이하, 90mL/min 이하, 80mL/min 이하, 70mL/min 이하, 60mL/min 이하, 50mL/min 이하, 40mL/min 이하, 30mL/min 이하, 20mL/min 이하, 10mL/min 이하, 9mL/min 이하, 8mL/min 이하, 7mL/min 이하, 6mL/min 이하, 5mL/min 이하, 4.5mL/min 이하, 4mL/min 이하, 3.5mL/min 이하, 3mL/min 이하, 2.9mL/min 이하, 2.8mL/min 이하, 2.7mL/min 이하, 2.6mL/min 이하, 2.5mL/min 이하, 2.4mL/min 이하, 2.3mL/min 이하, 2.2mL/min 이하, 2.1mL/min 이하, 2mL/min 이하, 1.9mL/min 이하, 1.8mL/min 이하, 1.7mL/min 이하, 1.6mL/min 이하, 1.5mL/min 이하, 1.4mL/min 이하, 1.3mL/min 이하, 1.2mL/min 이하, 1.1mL/min 이하, 예를 들면 1mL/min 이하일 수 있다.

[0121] 어느 실시형태에 있어서, 테일러 반응을 행하는 교반 시간을 5분 이하, 4분 이하, 3분 이하, 2분 이하, 90초 이하, 60초 이하, 50초 이하, 40초 이하, 30초 이하, 20초 이하, 15초 이하, 예를 들면 10초 이하로 할 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 어느 실시형태에 있어서, 테일러 반응을 행하는 교반 시간을 1초 이상, 2초 이상, 3초 이상, 4초 이상, 예를 들면 5초 이상으로 할 수 있지만 이에 한정되지 않는다. 또, 본 명세서에서 「교반 시간」이란, 특별히 언급하지 않는 한, 주입된 액체가 반응조에 유입되고 나서 출구 포트를 통과할 때까지의 시간을 말한다. 주입된 액체가 반응조에 유입되고 나서 출구 포트를 통과할 때까지의 시간을, 1패스 통과분의 시간이라고 하는 경우가 있다. 또한, 교반 시간은, 유입 포트가 복수 존재하는 경우는, 가장 늦게 주입되는 액이 반응조에 유입되고 나서 출구 포트를 통과할 때까지의 시간을 말한다.

[0122] 어느 실시형태에 있어서, 제1 유입구(41)와, 제2 유입구(42)의 내경은 동일 또는 대략 동일할 수 있다. 대략 동일하다는 것은, ±5%를 포함하는 것으로 한다. 다른 실시형태에 있어서, 제1 유입구(41)와, 제2 유입구(42)의 내경은 다를 수 있다.

[0123] 실시예

[0124] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 구체적으로 설명한다. 또, 이들 실시예는, 본 발명을 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0125] [실시예 1]

[0126] siRNA 봉입 핵산 지질 입자의 조제

[0127] 검체 1 ~ 3으로서, 다음과 같이 siRNA 봉입 핵산 지질 입자를 조제했다. 디스테아로일포스파티딜콜린(1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine: 이하 DSPC라고 표기, NOF CORPORATION), 콜레스테롤(Cholesterol: 이하 Chol이라고 표기, Sigma-Aldrich, Inc.), 양이온성 지질 1(WO2015/005253에 기재된 화합물)(이하 LP1이라고 표기), 및 폴리에틸렌글리콜의 분자량이 약 2000인 1,2-디미리스토일-sn-글리세롤메톡시폴리에틸렌글리콜(1,2-Dimyristoyl-sn-Glycero-3-Methoxypolyethyleneglycol, 이하 PEG2000-DMG라고 표기, NOF CORPORATION)을, DSPC:Chol:LP1:PEG2000-DMG = 10:48:40:2의 몰비로, 총 지질 농도 1.96mg/mL가 되도록 에탄올에 용해했다.

[0128] 한편, Transferin Receptor 2에 대한 siRNA(AD-47882)를 51.4 μg/mL가 되도록 시트르산 완충액(20mM Citrate Buffer, pH4.0)에 용해했다. 또, AD-47882는, WO2012/177921에 기재되어 있는 마우스 Tfr2에 대한 siRNA이다.

[0129] 상기의 지질 용액과 siRNA 용액을, 표 1에 기재된 각각의 「주입 포트」로부터, 표 1에 기재된 「주속」이 되도록

록 내통이 회전하고, 표 1에 기재된 내통과 외통 사이의 「간극 폭」을 가지는 테일러 반응 장치에, 표 1에 기재된 「주입 속도(지질 용액과 siRNA 용액의 주입 속도의 합)」로 펌프를 이용하여 주입함으로써 혼합하고, 출구 포트로부터 핵산 지질 입자의 분산액을 얻었다. 지질 용액과 siRNA 용액의 주입 속도비는 1:3으로 했다. 본 실시예의 장치에서는, 제1 유입구가 상류 측에 있고, 제2 유입구가 하류 측에 있고, 제1 유입구로부터 봉입 성분인 siRNA 용액을 주입하고, 제2 유입구로부터 입자 형성 성분인 지질 용액을 주입했다. 또, 표 1에 나타내는 「주입 포트」에 관하여, 「반응조 내(반응실 내)」와 「반응조 앞(반응실 앞)」은, 2액의 혼합 위치에 관한 조건이다. 주입 포트가 「반응조 내」이면, 2액을 반응조에서 혼합할 수 있다. 주입 포트가 「반응조 앞」이면, 2액을 반응조의 앞에서 혼합하고, 그 다음에 상기 혼합액을 테일러 반응 장치의 반응부, 즉 내통과 외통 사이의 간극 부분에 주입할 수 있다. 표 2 ~ 5에 대해서도 마찬가지이다. 또한, 표 1에 나타내는 「회석 유무」에 관하여, 핵산 지질 입자의 회석을 행하는 경우는, 출구 포트의 앞의 주입 포트로부터 회석 용액으로서 시트르산 완충액(20mM Citrate Buffer, pH4.0)을 표 1에 기재된 「주입 속도」와 등속도로 펌프를 이용하여 주입했다. 얻어진 핵산 지질 입자의 분산액을 약 25 ~ 50배량의 PBS(pH7.4)로 12 ~ 18시간 투석(Float-A-Lyzer G2, MWC: 1,000kD, Spectra / Por)함으로써, 에탄올 제거를 행하고, 정제된 siRNA 봉입 핵산 지질 입자의 분산액을 얻었다.

[0130] 또, LP1은 W02015 / 005253에 기재된 방법에 따라 합성했다. 참조에 의해, LP1의 합성에 관한 W02015 / 005253의 기재를 본 명세서에 편성한다.

[0131] [실시예 2]

[0132] dsDNA 봉입 핵산 지질 입자의 조제

[0133] 검체 4 ~ 8로서, 다음과 같이 dsDNA 봉입 핵산 지질 입자를 조제했다. 디스테아로일포스파티딜콜린(1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine: 이하 DSPC라고 표기, NOF CORPORATION), 콜레스테롤(Cholesterol: 이하 Chol이라고 표기, Sigma-Aldrich, Inc.), LP1, 및 폴리에틸렌글리콜 분자량이 약 2000인 1,2-디미리스토일-sn-글리세롤메톡시폴리에틸렌글리콜(1,2-Dimyristoyl-sn-Glycero-3-Methoxypolyethyleneglycol, 이하 PEG2000-DMG라고 표기, NOF CORPORATION)을, DSPC:Chol:LP1:PEG2000-DMG = 12.5:41:45:1.5의 몰비로, 총 지질 농도 3.16mg / mL가 되도록 에탄올에 용해했다.

[0134] 한편, β -catenin dsDNA를 52.7 μ g / mL가 되도록 시트르산 완충액(20mM Citrate Buffer, pH4.0)으로 회석 조제했다.

[0135] 상기의 지질 용액과 dsDNA 용액을, 표 2에 기재된 「주입 포트」로부터, 표 2에 기재된 「주속」으로 내통이 회전하고, 표 2에 기재된 내통과 외통 사이의 「간극 폭」을 가지는 테일러 반응 장치에, 표 2에 기재된 「주입 속도(지질 용액과 dsDNA 용액의 주입 속도의 합)」로 펌프를 이용하여 주입함으로써 혼합하고, 출구 포트로부터 핵산 지질 입자의 분산액을 얻었다. 지질 용액과 dsDNA 용액의 주입 속도비는 1:3으로 했다. 또한, 표 2에 나타내는 「회석 유무」에 관하여, 핵산 지질 입자의 회석을 행하는 경우는, 출구 포트의 앞의 주입 포트로부터 회석 용액으로서 시트르산 완충액(20mM Citrate Buffer, pH4.0)을 표 2에 기재된 「주입 속도」와 등속도로 펌프를 이용하여 주입했다. 핵산 지질 입자의 분산액을 약 25 ~ 50배량의 PBS(pH7.4)로 12 ~ 18시간 투석(Float-A-Lyzer G2, MWC: 1,000kD, Spectra / Por)함으로써, 에탄올 제거를 행하고, 정제된 dsDNA 봉입 핵산 지질 입자의 분산액을 얻었다.

[0136] 또, LP1은 W02015 / 005253에 기재된 방법에 따라 합성했다.

[0137] [실시예 3]

[0138] mRNA 봉입 핵산 지질 입자의 조제

[0139] 검체 9 ~ 11로서, 다음과 같이 mRNA 봉입 핵산 지질 입자를 조제했다. 디스테아로일포스파티딜콜린(1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine: 이하 DSPC라고 표기, NOF CORPORATION), 콜레스테롤(Cholesterol: 이하 Chol이라고 표기, Sigma-Aldrich, Inc.), LP1, 및 폴리에틸렌글리콜 분자량이 약 2000인 1,2-디미리스토일-sn-글리세롤메톡시폴리에틸렌글리콜(1,2-Dimyristoyl-sn-Glycero-3-Methoxypolyethyleneglycol, 이하 PEG2000-DMG라고 표기, NOF CORPORATION)을, DSPC:Chol:LP1:PEG2000-DMG = 12.5:41:45:1.5의 몰비로, 총 지질 농도 3.16mg / mL가 되도록 에탄올에 용해했다.

[0140] 한편, A_Sin_GP1908_2015_H1 mRNA를 52.7 μ g / mL가 되도록 시트르산 완충액(20mM Citrate Buffer, pH4.0)으로 회석 조제했다.

- [0141] 상기의 지질 용액과 mRNA 용액을, 표 3에 기재된 「주입 포트」로부터, 표 3에 기재된 「주속」으로 내통이 회전하고, 표 3에 기재된 내통과 외통 사이의 「간극 폭」을 가지는 테일러 반응 장치에, 표 3에 기재된 「주입 속도(지질 용액과 mRNA 용액의 주입 속도의 합)」로 펌프를 이용하여 주입함으로써 혼합하고, 출구 포트로부터 핵산 지질 입자의 분산액을 얻었다. 지질 용액과 mRNA 용액의 주입 속도비는 1:3으로 했다. 또한, 표 3에 나타내는 「희석 유무」에 관하여, 핵산 지질 입자의 희석을 행하는 경우는, 출구 포트의 앞의 주입 포트로부터 희석 용액으로서 시트르산 완충액(20mM Citrate Buffer, pH4.0)을 표 3에 기재된 「주입 속도」와 등속도로 펌프를 이용하여 주입했다. 핵산 지질 입자의 분산액을 약 25 ~ 50배량의 PBS(pH7.4)로 12 ~ 18시간 투석(Float-A-Lyzer G2, MWCO: 1,000kD, Spectra / Por)함으로써, 에탄올 제거를 행하고, 정제된 mRNA 봉입 핵산 지질 입자의 분산액을 얻었다.
- [0142] 또, LP1은 W02015 / 005253에 기재된 방법에 따라 합성했다.
- [0143] [실시예 4]
- [0144] mRNA 봉입 핵산 지질 입자의 조제
- [0145] 검체 12, 13으로서, 다음과 같이 mRNA 봉입 핵산 지질 입자를 조제했다. 디스테아로일포스파티딜콜린(1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine: 이하 DSPC라고 표기, NOF CORPORATION), 콜레스테롤(Cholesterol: 이하 Chol이라고 표기, Sigma-Aldrich, Inc.), LP1, 및 폴리에틸렌글리콜 분자량이 약 2000인 1,2-디미리스토일-sn-글리세롤메톡시폴리에틸렌글리콜(1,2-Dimyristoyl-sn-Glycero-3-Methoxypolyethyleneglycol, 이하 PEG2000-DMG라고 표기, NOF CORPORATION)을, DSPC:Chol:LP1:PEG2000-DMG = 12.5:41:45:1.5의 몰비로, 총 지질 농도 3.16mg / mL가 되도록 에탄올에 용해했다.
- [0146] 한편, A_Sin_GP1908_2015_H1 mRNA를 52.7 μg / mL가 되도록 시트르산 완충액(20mM Citrate Buffer, pH4.0)으로 희석 조제했다.
- [0147] 상기의 지질 용액과 mRNA 용액을, 표 4에 기재된 「주입 포트」로부터, 표 4에 기재된 「주속」으로 내통이 회전하고, 표 4에 기재된 내통과 외통 사이의 「간극 폭」을 가지는 테일러 반응 장치에, 표 4에 기재된 「주입 속도(지질 용액과 mRNA 용액의 주입 속도의 합)」로 펌프를 이용하여 주입함으로써 혼합하고, 출구 포트로부터 핵산 지질 입자의 분산액을 얻었다. 지질 용액과 mRNA 용액의 주입 속도비는 1:3으로 했다. 또한, 출구 포트의 앞의 주입 포트로부터 희석 용액으로서 시트르산 완충액(20mM Citrate Buffer, pH4.0)을 표 4에 기재된 「주입 속도」와 등속도로 펌프를 이용하여 주입했다. 핵산 지질 입자의 분산액을 약 25 ~ 50배량의 10mM Histidine 300mM Sucrose(pH7.0)로 12 ~ 18시간 투석(Float-A-Lyzer G2, MWCO: 1,000kD, Spectra / Por)함으로써, 에탄올 제거를 행하고, 정제된 mRNA 봉입 핵산 지질 입자의 분산액을 얻었다.
- [0148] 또, LP1은 W02015 / 005253에 기재된 방법에 따라 합성했다.
- [0149] [실시예 5]
- [0150] mRNA 봉입 핵산 지질 입자의 조제
- [0151] 검체 14로서, 다음과 같이 mRNA 봉입 핵산 지질 입자를 조제했다. 디스테아로일포스파티딜콜린(1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine: 이하 DSPC라고 표기, NOF CORPORATION), 콜레스테롤(Cholesterol: 이하 Chol이라고 표기, Sigma-Aldrich, Inc.), 양이온성 지질 2(W02015 / 005253에 기재된 화합물)(이하 LP2라고 표기), 및 폴리에틸렌글리콜 분자량이 약 2000인 1,2-디미리스토일-sn-글리세롤메톡시폴리에틸렌글리콜(1,2-Dimyristoyl-sn-Glycero-3-Methoxypolyethyleneglycol, 이하 PEG2000-DMG라고 표기, NOF CORPORATION)을, DSPC:Chol:LP2:PEG2000-DMG = 17.5:21:60:1.5의 몰비로, 총 지질 농도 3.08mg / mL가 되도록 에탄올에 용해했다.
- [0152] 한편, A_Sin_GP1908_2015_H1 mRNA를, 51.3 μg / mL가 되도록 시트르산 완충액(20mM Citrate Buffer, pH4.0)으로 희석 조제했다.
- [0153] 상기의 지질 용액과 mRNA 용액을, 표 5에 기재된 「주입 포트」로부터, 표 5에 기재된 「주속」으로 내통이 회전하고, 표 5에 기재된 내통과 외통 사이의 「간극 폭」을 가지는 테일러 반응 장치에, 표 5에 기재된 「주입 속도(지질 용액과 mRNA 용액의 주입 속도의 합)」로 펌프를 이용하여 주입함으로써 혼합하고, 출구 포트로부터 핵산 지질 입자의 분산액을 얻었다. 지질 용액과 mRNA 용액의 주입 속도비는 1:3으로 했다. 또한, 출구 포트의 앞의 주입 포트로부터 희석 용액으로서 시트르산 완충액(20mM Citrate Buffer, pH4.0)을 표 5에 기재된 「주입 속도」와 등속도로 펌프를 이용하여 주입했다. 핵산 지질 입자의 분산액을 약 25 ~ 50배량의 10mM

Histidine 300mM Sucrose(pH7.0)로 12 ~ 18시간 투석(Float-A-Lyzer G2, MWCO: 1,000kD, Spectra / Por)함으로써, 에탄올 제거를 행하고, 정제된 mRNA 봉입 핵산 지질 입자의 분산액을 얻었다.

- [0154] 또, LP2는 W02015 / 005253에 기재된 방법에 따라 합성했다. 참조에 의해, LP2의 합성에 관한 W02015 / 005253의 기재를 본 명세서에 편성한다.
- [0155] [실시에 6]
- [0156] 핵산 봉입 핵산 지질 입자의 특성 평가
- [0157] 검체 1 ~ 14에 대해서, 핵산 지질 입자를 포함하는 분산액의 특성 평가를 행했다. 각각의 특성 평가의 방법에 대해서 설명한다.
- [0158] (1) 핵산의 봉입률
- [0159] 핵산의 봉입률은, Quant-iT RiboGreen RNA Assay Kit(Invitrogen)를 이용하여, 첨부 문서에 준하여 측정했다.
- [0160] 즉, 0.015% Triton X-100 계면활성제 존재하 및 비존재하에서, 핵산 지질 입자의 분산액 중의 핵산을 정량하고, 다음 식에 의해 봉입률을 산출했다.
- [0161] [수 4]
- [0162] $\{([계면활성제\ 존재하에서의\ 핵산량] - [계면활성제\ 비존재하에서의\ 핵산량]) / [계면활성제\ 존재하에서의\ 핵산량]\} \times 100(\%)$
- [0163] (2) 평균 입자경 · 다분산 지수(PDI)
- [0164] 핵산 지질 입자의 평균 입자경 및 다분산 지수는, Zeta Potential / Particle Sizer NICOMP(상표) 380ZLS(PARTICLE SIZING SYSTEMS)로 측정했다. 표 중의 평균 입자경은 체적 평균 입자경을 나타낸다. 또한, PDI는 (표준 편차 / 평균 입자경)의 제곱에 의해 산출되는 다분산도 지수(poly dispersity index)이며, 단순히 분산도라고 하는 경우도 있다.
- [0165] 특성 평가의 결과를 표 1 ~ 5에 나타냈다. 표에 나타내는 바와 같이, 평균 입자경이 80 ~ 200nm, 핵산 봉입률이 85% 이상인 핵산 지질 입자가 얻어졌다. 이는, 테일러 반응 장치에 의해, 핵산이 봉입된 지질 입자를 제조할 수 있음을 실증하고 있다. 또한, 마이크로 유로에 의해 제조 가능한 입자는 테일러 반응 장치에서도 제조 가능한 것이 실증되었다.
- [0166] (참고예) 마이크로 유로 혼합에 의한 핵산 지질 입자의 조제
- [0167] (참고예 1) siRNA 봉입 핵산 지질 입자의 조제 및 특성 평가
- [0168] 참고예 1을 다음과 같이 조제했다. DSPC, Chol, LP1 및 PEG2000-DMG를 DSPC:Chol:LP1:PEG2000-DMG = 10:48:40:2의 몰비로, 총 지질 농도 1.96mg / mL가 되도록 에탄올에 용해했다. 한편, Transferin Receptor 2에 대한 siRNA(AD-47882)를 51.4 μg / mL가 되도록 시트르산 완충액(20mM Citrate Buffer, pH4.0)에 용해했다. 상기의 지질 용액과 mRNA 용액을 그 체적비가 1:3이 되도록 NanoAssemblr BenchTop(Precision Nanosystems Inc.)을 이용하여 마이크로 유로 내에서 혼합하고, 핵산 지질 입자의 조(粗)분산액을 얻었다. 핵산 지질 입자의 분산액을 약 25 ~ 50배량의 완충액으로 12 ~ 18시간 투석(Float-A-Lyzer G2, MWCO: 1,000kD, Spectra / Por)함으로써, 에탄올 제거를 행하고, 정제된 siRNA 봉입 핵산 지질 입자의 분산액을 얻었다.
- [0169] 얻어진 참고예 1의 핵산 지질 입자에 대해서, 실시예 6과 마찬가지로의 방법으로, 특성 평가를 실시하고, 결과를 표 6에 기재했다.
- [0170] (참고예 2, 3) mRNA 봉입 핵산 지질 입자의 조제 및 특성 평가
- [0171] 참고예 2, 3을 다음과 같이 조제했다. DSPC, Chol, LP1 및 PEG2000-DMG를 DSPC:Chol:LP1:PEG2000-DMG = 12.5:41:45:1.5의 몰비로, 총 지질 농도 3.16mg / mL가 되도록 에탄올에 용해했다. 한편, A_Sin_GP1908_2015_H1 mRNA(배열 정보)를 52.7 μg / mL가 되도록 시트르산 완충액(20mM Citrate Buffer, pH4.0)으로 희석 조제했다. 상기의 지질 용액과 mRNA 용액을 그 체적비가 1:3이 되도록 NanoAssemblr BenchTop(Precision Nanosystems Inc.)을 이용하여 마이크로 유로 내에서 혼합하고, 핵산 지질 입자의 조분산액을 얻었다. 핵산 지질 입자의 분산액을 약 25 ~ 50배량의 완충액으로 12 ~ 18시간 투석(Float-A-Lyzer G2, MWCO: 1,000kD, Spectra / Por)함으로써, 에탄올 제거를 행하고, 정제된 mRNA 봉입 핵산 지질 입자의 분산액을

얻었다.

[0172] 얻어진 참고예 2, 3의 핵산 지질 입자에 대해서, 실시예 6과 마찬가지로의 방법으로, 특성 평가를 실시하고, 결과를 표 6에 기재했다.

[0173] (참고예 4) mRNA 봉입 핵산 지질 입자의 조제 및 특성 평가

[0174] 참고예 4를 다음과 같이 조제했다. DSPC, Chol, LP2 및 PEG2000-DMG를 DSPC:Chol:LP2:PEG2000-DMG = 17.5:21:60:1.5의 물비로, 총 지질 농도 3.08mg/mL가 되도록 에탄올에 용해했다. 한편, A_Sin_GP1908_2015_H1 mRNA(배열 정보)를, 51.3 μg/mL가 되도록 시트르산 완충액(20mM Citrate Buffer, pH4.0)으로 희석 조제했다. 상기의 지질 용액과 mRNA 용액을 그 체적비가 1:3이 되도록 NanoAssemblr BenchTop(Precision Nanosystems Inc.)을 이용하여 마이크로 유로 내에서 혼합하고, 핵산 지질 입자의 조분산액을 얻었다. 핵산 지질 입자의 분산액을 약 25 ~ 50배량의 완충액으로 12 ~ 18시간 투석(Float-A-Lyzer G2, MWCO: 1,000kD, Spectra/Por)함으로써, 에탄올 제거를 행하고, 정제된 mRNA 봉입 핵산 지질 입자의 분산액을 얻었다.

[0175] 얻어진 참고예 4의 핵산 지질 입자에 대해서, 실시예 6과 마찬가지로의 방법으로, 특성 평가를 실시하고, 결과를 표 6에 기재했다.

[0176] 표 6에 나타내는 바와 같이, 참고예 1 ~ 4에 대해서, 평균 입자경이 90 ~ 140nm, 핵산 봉입률이 95% 이상인 핵산 지질 입자가 얻어졌다.

[0177] [표 1]

| 검체 | 주입 포트 | 간극 폭 (mm) | 주속 (m/s) | 레이놀즈 수 | 교반 시간 (sec) | 주입 속도 (mL/min) | 희석 유무 | 평균 입자경 (nm) | PDI | 핵산 봉입률 (%) |
|----|-------|-----------|----------|--------|-------------|----------------|-------|-------------|-------|------------|
| 1 | 반응조 내 | 0.21 | 9.29 | 770 | 3 | 32 | 무 | 98 | 0.043 | 97 |
| 2 | 반응조 내 | 0.21 | 0.77 | 64 | 20 | 2.4 | 유 | 129 | 0.024 | 98 |
| 3 | 반응조 내 | 0.75 | 8.95 | 2649 | 60 | 2.8 | 유 | 128 | 0.105 | 97 |

TfR2 siRNA

DSPC:Chol:LP1:PEG2000-DMG=10:48:40:2

[0178]

[0179] [표 2]

| 검체 | 주입 포트 | 간극 폭 (mm) | 주속 (m/s) | 레이놀즈 수 | 교반 시간 (sec) | 주입 속도 (mL/min) | 희석 유무 | 평균 입자경 (nm) | PDI | 핵산 봉입률 (%) |
|----|-------|-----------|----------|--------|-------------|----------------|-------|-------------|-------|------------|
| 4 | 반응조 앞 | 1.5 | 8.48 | 5021 | 2.5 | 128 | 무 | 145 | 0.269 | 93 |
| 5 | 반응조 앞 | 0.21 | 0.77 | 64 | 10 | 4.8 | 무 | 182 | 0.075 | 98 |
| 6 | 반응조 앞 | 0.21 | 9.29 | 770 | 0.5 | 96 | 유 | 101 | 0.030 | 96 |
| 7 | 반응조 내 | 0.21 | 9.29 | 770 | 10 | 4.8 | 유 | 116 | 0.112 | 94 |
| 8 | 반응조 내 | 0.21 | 4.65 | 385 | 5 | 9.6 | 유 | 83 | 0.181 | 95 |

β catenin dsDNA

DSPC:Chol:LP1:PEG2000-DMG=12.5:41:45:1.5

[0180]

[0181] [표 3]

| 검체 | 주입 포트 | 간극 폭 (mm) | 주속 (m/s) | 레이놀즈 수 | 교반 시간 (sec) | 주입 속도 (mL/min) | 희석 유무 | 평균 입자경 (nm) | PDI | 핵산 봉입률 (%) |
|----|-------|-----------|----------|--------|-------------|----------------|-------|-------------|-------|------------|
| 9 | 반응조 내 | 0.21 | 0.77 | 64 | 3 | 32 | 무 | 161 | 0.012 | 97 |
| 10 | 반응조 내 | 0.21 | 9.29 | 770 | 20 | 2.4 | 유 | 140 | 0.104 | 94 |
| 11 | 반응조 내 | 0.75 | 8.95 | 2649 | 60 | 2.8 | 유 | 151 | 0.028 | 98 |

A_Sin_GP1908_2015_H1 mRNA

DSPC:Chol:LP1:PEG2000-DMG=12.5:41:45:1.5

[0182]

[0183] [표 4]

| 검체 | 주입 포트 | 간극 폭 (mm) | 주속 (m/s) | 레이놀즈 수 | 교반 시간 (sec) | 주입 속도 (mL/min) | 희석 유무 | 평균 입자경 (nm) | PDI | 핵산 봉입률 (%) |
|----|-------|-----------|----------|--------|-------------|----------------|-------|-------------|-------|------------|
| 12 | 반응조 내 | 0.21 | 9.29 | 770 | 1 | 48 * | 유 | 98 | 0.036 | 97 |
| 13 | 반응조 내 | 1.5 | 8.48 | 5021 | 4 | 81 * | 유 | 89 | 0.074 | 97 |

* 시린지 펌프

A_Sin_GP1908_2015_H1 mRNA

DSPC:Chol:LP2:PEG2000-DMG=12.5:41:45:1.5

[0184]

[0185] [표 5]

| 검체 | 주입 포트 | 간극 폭 (mm) | 주속 (m/s) | 레이놀즈 수 | 교반 시간 (sec) | 주입 속도 (mL/min) | 희석 유무 | 평균 입자경 (nm) | PDI | 핵산 봉입률 (%) |
|----|-------|-----------|----------|--------|-------------|----------------|-------|-------------|-------|------------|
| 14 | 반응조 내 | 0.21 | 9.29 | 770 | 1 | 48 * | 유 | 137 | 0.083 | 89 |

* 시린지 펌프

A_Sin_GP1908_2015_H1 mRNA

DSPC:Chol:LP2:PEG2000-DMG=17.5:21:60:1.5

[0186]

[0187] [표 6]

| 참고예 | 핵산 | 지질 조성 (mol%) | 평균 입자경 (nm) | PDI | 핵산 봉입률 (%) |
|-----|---------------------------|--|-------------|-------|------------|
| 1 | TfR2 siRNA | DSPC:Chol:LP1:PEG2000-DMG=10:48:40:2 | 92 | 0.045 | 97 |
| 2 | A_Sin_GP1908_2015_H1 mRNA | DSPC:Chol:LP1:PEG2000-DMG=12.5:41:45:1.5 | 112 | 0.049 | 98 |
| 3 | A_Sin_GP1908_2015_H1 mRNA | DSPC:Chol:LP1:PEG2000-DMG=12.5:41:45:1.5 | 112 | 0.185 | 98 |
| 4 | A_Sin_GP1908_2015_H1 mRNA | DSPC:Chol:LP2:PEG2000-DMG=17.5:21:60:1.5 | 132 | 0.110 | 96 |

[0188]

[0189] [시험예 1] 정상 마우스에 있어서의 TfR2 siRNA 봉입 핵산 지질 입자의 약효 평가 시험

[0190] 상술한 실시예 1 및 참고예 1에서 지질 입자에 봉입한 TfR2 siRNA는, 정상 마우스에 있어서의 혈장 중 철 농도를 상승시키는 것이 보고되고 있다(WO2012/177921). 그래서, 테일러 반응 장치를 이용하여 제조한 TfR2 siRNA 봉입 핵산 지질 입자(검체 1 ~ 3)와, 마이크로 유로 혼합에 의해 제조한 TfR2 siRNA 봉입 핵산 지질 입자(참고예 1)를 이용하여 이하의 시험을 행했다.

[0191] 지질 입자에 봉입한 TfR2 siRNA를 0.3mg/kg(0.3mpk)의 용량으로, 응성의 C57BL/6NJcl 마우스(CLEA Japan, Inc. 제조)에 미정맥(尾靜脈) 내 투여(i.v.)했다(n = 4/군). 비히클(vehicle)군으로서는, PBS를 미정맥 내 투여했다(n = 4/군). siRNA 또는 PBS의 처치 전(Pre), 처치하고 1일 후(Day1), 7일 후(Day7)에 미정맥 채혈을 행하고, 메탈로어세이 철 측정 키트(Metallogenics Co., Ltd. 제조)를 이용하여, 혈장 중 철 농도(plasma Fe(ug/mL))를 측정했다. 각 혈장 중 철 농도의 결과를 도 7 ~ 9에 각각 나타냈다(평균값 ± 표준오차).

[0192] 도 7 ~ 9에 나타내는 바와 같이, TfR2 siRNA 봉입 핵산 지질 입자를 투여하고 1일 후 및 7일 후에 있어서, vehicle군과 비교하여, 혈장 중 철 농도의 상승 효과가 인정되었다. 이들의 결과는, 테일러 반응 장치를 이용하여 제조한 TfR2 siRNA 봉입 핵산 지질 입자가 인비보에서 작용하는 것을 나타내고 있다.

[0193] [시험예 2] 1가(價) LNP-mRNA의 면역원성: A Singapore GP1908 2015 H1 mRNA 봉입 핵산 지질 입자의 HA 특이적 IgG의 생산 유도능

[0194] 테일러 반응 장치를 이용하여 제조한 mRNA 봉입 핵산 지질 입자의 인비보에서의 면역 유도능을 조사하기 위해, A_Sin_GP1908_2015_H1 mRNA 봉입 핵산 지질 입자(검체 9 ~ 14)와, 마이크로 유로 혼합에 의해 제조한 A_Sin_GP1908_2015_H1 mRNA 봉입 핵산 지질 입자(참고예 2 ~ 4)를 이용하여 이하의 시험을 행했다.

- [0195] 7주령의 BALB/c 마우스의 비복근 내에, 0.2 μg의 참고예 2, 검체 9, 검체 10, 및 검체 11을 2주 간격으로 2회 투여했다. 최종 투여로부터 2주간 후에 채혈하고, 혈청을 조제했다. 마찬가지로, 6주령의 BALB/c 마우스에, 참고예 3, 참고예 4, 검체 12, 검체 13, 및 검체 14를 투여하고, 혈청을 조제했다. HA에 대한 혈청 중 특이적 IgG를 Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)법으로 검출했다.
- [0196] ELISA법의 고상화(固相化) 처리는, 96well 플레이트에 0.5 μg/mL의 재조합 A/Michigan/45/2015의 HA를 25 μL/well로 첨가하고, 4°C에서 하룻밤 정치함으로써 실시했다. 동시에, 표준 곡선을 작성하기 위해, 기지(既知)의 농도의 마우스 IgG를 단계 희석하고, 마찬가지로 고상화했다. 고상화액을 제거 후, 0.05%의 Tween 20을 포함하는 DPBS(DPBST)로 3회 세정하고, 1%의 소(牛) 혈청 알부민(BSA) 및 0.05%의 Tween 20을 포함하는 둘베코 인산 완충 생리 식염수(DPBS)(DPBST/BSA)로 블로킹 처리했다. 혈청은, DPBST/BSA로 단계 희석했다. 블로킹 처리 후, DPBST로 3회 세정하고, 25 μL/well로 희석 혈청을 첨가했다. 표준 곡선용의 well에는, 희석 혈청 대신에 DPBST/BSA를 첨가했다. 실온에서 1시간 이상 반응시킨 후, DPBST로 3회 세정하고, DPBST/BSA로 희석한 호스래디시 퍼옥시다아제(HRP) 표지 항마우스 IgG를 첨가했다. 실온에서 1시간 반응시킨 후, DPBST로 3회 세정하고, 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB) 퍼옥시다아제 기질을 30 μL/well로 첨가했다. 실온에서 약 10분간 정치하여 발색시킨 후, 염산을 포함하는 발색 정지액을 30 μL/well로 첨가하여, 450nm의 흡광도를 측정했다. 혈청 중의 특이적 IgG 농도는, 표준 곡선으로부터 산출했다.
- [0197] 참고예 2, 검체 9, 검체 10, 및 검체 11을 투여한 결과를 도 10에 나타낸다. 검체 10은 참고예 2와 동(同) 정도의, 검체 9 및 검체 11은 참고예 2보다 높은 특이적 IgG 유도 레벨을 나타냈다.
- [0198] 마찬가지로, 참고예 3, 참고예 4, 검체 12, 검체 13, 및 검체 14를 투여한 결과를 도 11에 나타낸다. 참고예 3 및 참고예 4는 동 정도의 특이적 IgG 유도 레벨을 나타냈다. 또한, 검체 12, 검체 13, 및 검체 14는 양 참고예와 동 정도의 특이적 IgG 유도 레벨을 나타냈다.
- [0199] 이들의 결과는, 테일러 반응 장치를 이용하여 제조한 A_Sin_GP1908_2015_H1 mRNA 봉입 핵산 지질 입자가 인비보에서 HA 특이적 IgG의 생산을 유도하는 것을 나타내고 있다.

산업상 이용가능성

- [0200] 본 개시에 의해, 캡슐 입자를 제조할 수 있다. 이는 예를 들면 RNA 백신이나 siRNA 의약의 제조에 이용할 수 있다. 또한, 캡슐 입자를 연속적으로 제조할 수 있다. 또한, 캡슐 입자를 대규모 생산할 수 있지만, 본 발명은 이에 한정되지 않는다.
- [0201] 본 명세서에서는, 특허출원 및 제조업자의 메뉴얼을 포함하는 다수의 문서가 인용되고 있다. 이들 문서의 개시는, 본 발명의 특허성에 관련되는 것으로는 간주되지 않지만, 그 전체를 참조에 의해 본 명세서에 편성하는 것으로 한다. 보다 상세하게는, 모든 참조 문서를, 각각의 문서가 참조에 의해 편성되면 구체적이며 또한 개별적으로 나타나 있는 경우와 마찬가지로, 참조에 의해 본 명세서에 편성하는 것으로 한다. 인용되고 있는 문서 사이에 기재된 저어(齟齬) 또는 모순이 생긴 경우에는 본 명세서가 우선한다.

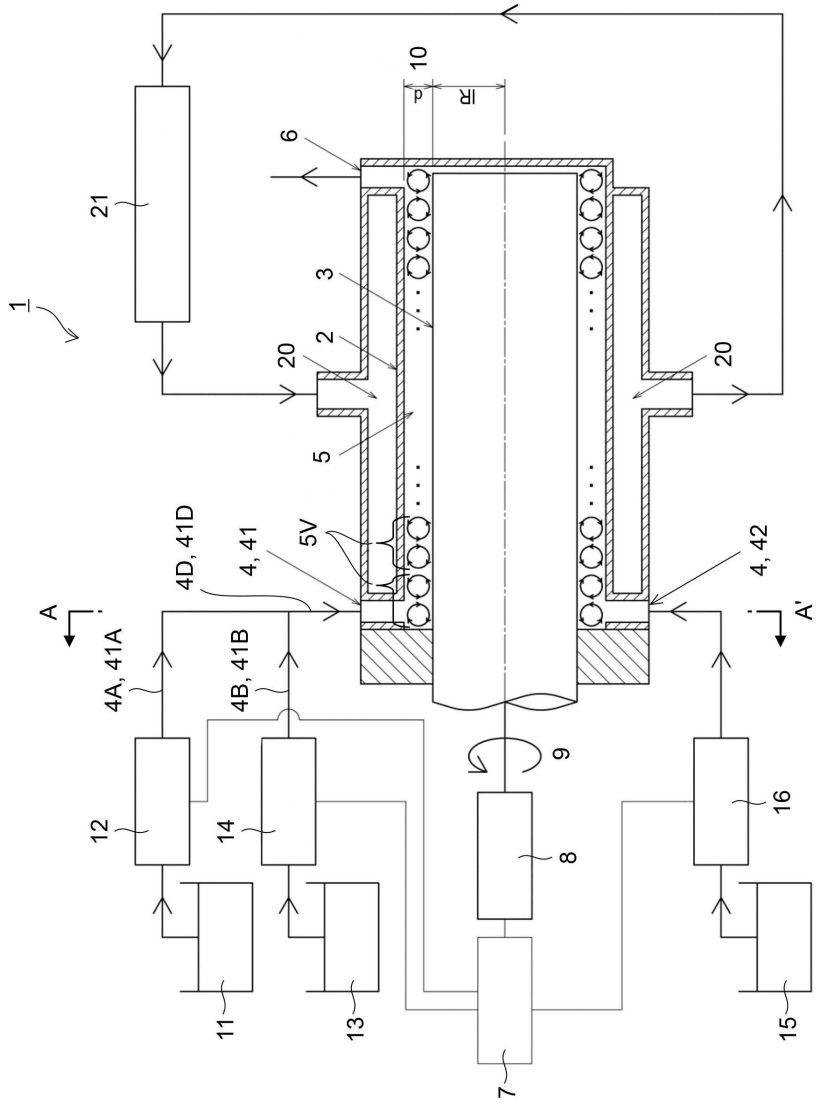
부호의 설명

- [0202] 1: 테일러 반응 장치
 2: 외통
 3: 내통
 4: 유입구
 4A: 제1 라인
 4B: 제2 라인
 4D: 혼합액 라인
 5: 반응실
 5V: 와열
 6: 유출구

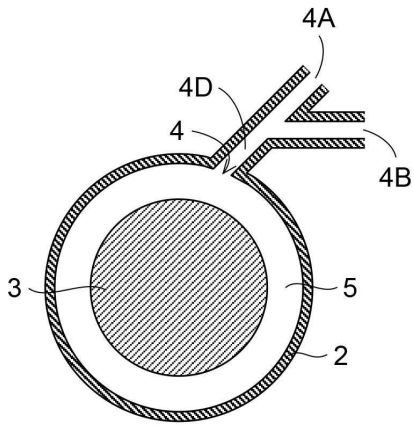
- 7: 제어 장치
- 8: 모터
- 11: 제1 탱크
- 12: 제1 펌프
- 13: 제2 탱크
- 14: 제2 펌프
- 15: 제3 탱크
- 16: 제3 펌프
- 20: 자켓
- 21: 자켓 온조용 칠러
- 41: 제1 유입구
- 41A: 제1 라인
- 41B: 제2 라인
- 41D: 혼합액 라인
- 42: 제2 유입구
- 43: 제3 유입구
- IR: 내통 외경
- d: 간극 폭

도면

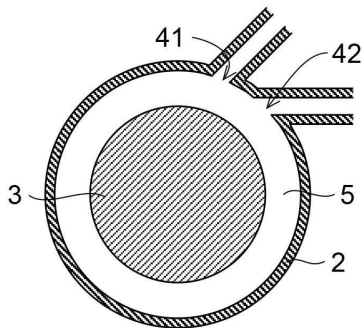
도면1



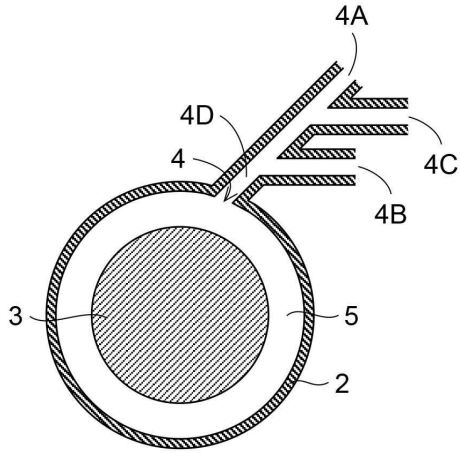
도면2



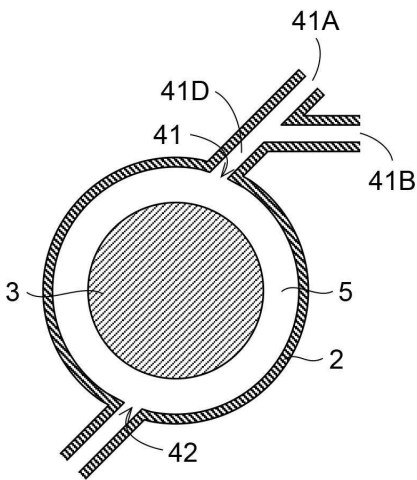
도면3



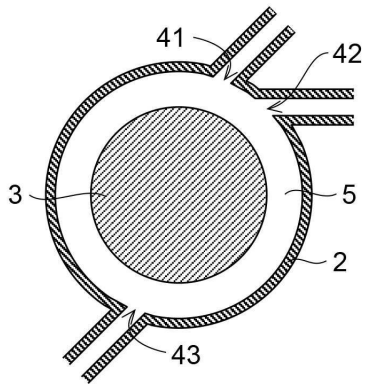
도면4



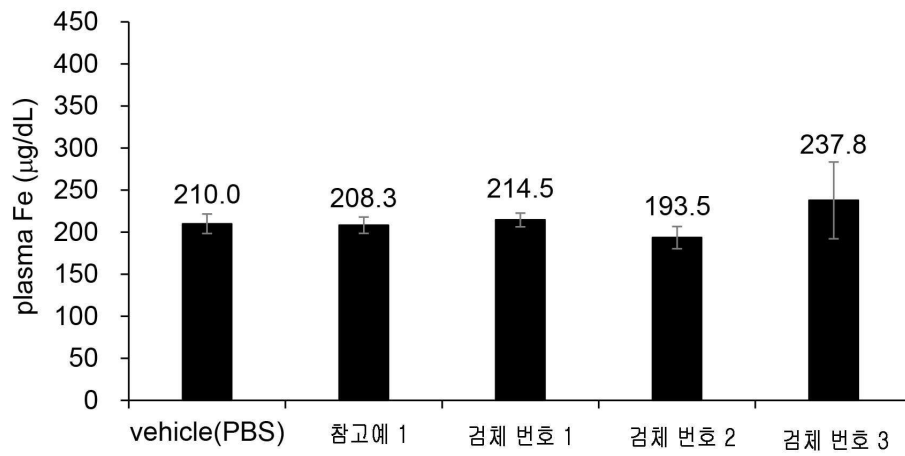
도면5



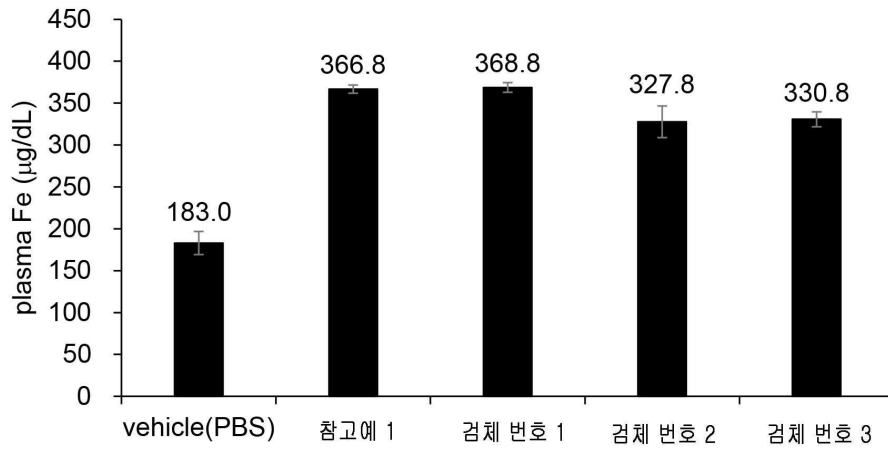
도면6



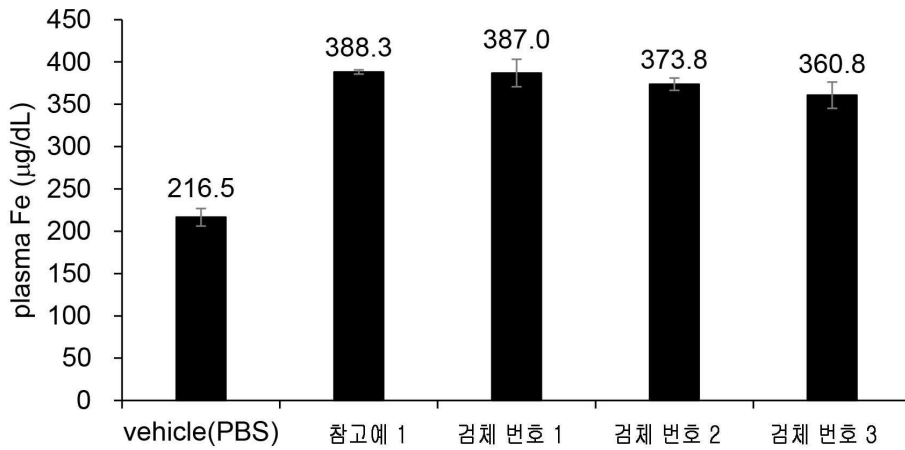
도면7



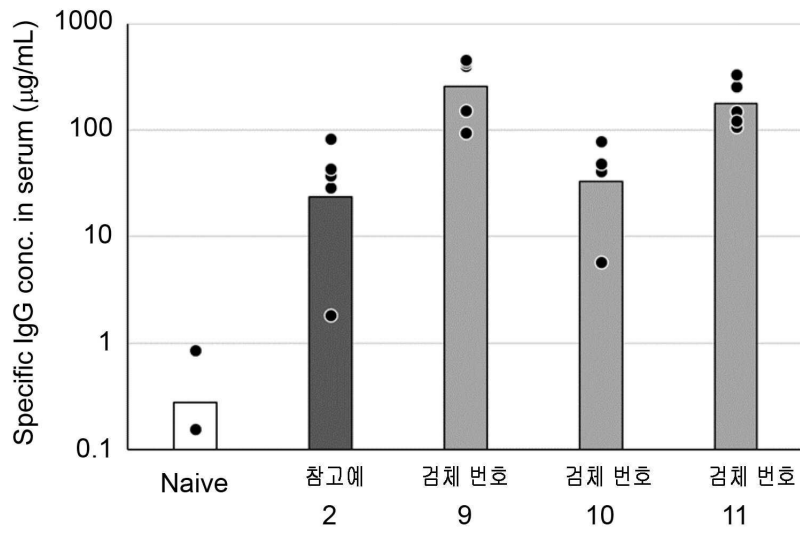
도면8



도면9



도면10



도면11

