



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0048002
(43) 공개일자 2025년04월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12M 1/00 (2006.01) B01D 61/14 (2006.01)
B01D 63/02 (2006.01) C07K 1/16 (2006.01)
C07K 1/34 (2006.01) C12N 15/10 (2017.01)
C12N 5/07 (2010.01)
(52) CPC특허분류
C12M 47/12 (2013.01)
B01D 61/14 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2025-7004220
(22) 출원일자(국제) 2023년06월19일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2025년02월10일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2023/022644
(87) 국제공개번호 WO 2024/024336
국제공개일자 2024년02월01일
(30) 우선권주장
JP-P-2022-120666 2022년07월28일 일본(JP)

(71) 출원인
주식회사 다이셀
일본 오사카후 (우편번호: 530-0011) 오사카시 기
타쿠 오후카쵸 3방 1고
(72) 발명자
쇼지 코이치
일본 1088230 도쿄도 미나토쿠 코난 2-18-1 다이
셀 멤브레인 시스템즈 가부시키가이샤 내
사토 히로시
일본 1088230 도쿄도 미나토쿠 코난 2-18-1 다이
셀 멤브레인 시스템즈 가부시키가이샤 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인와이에스장

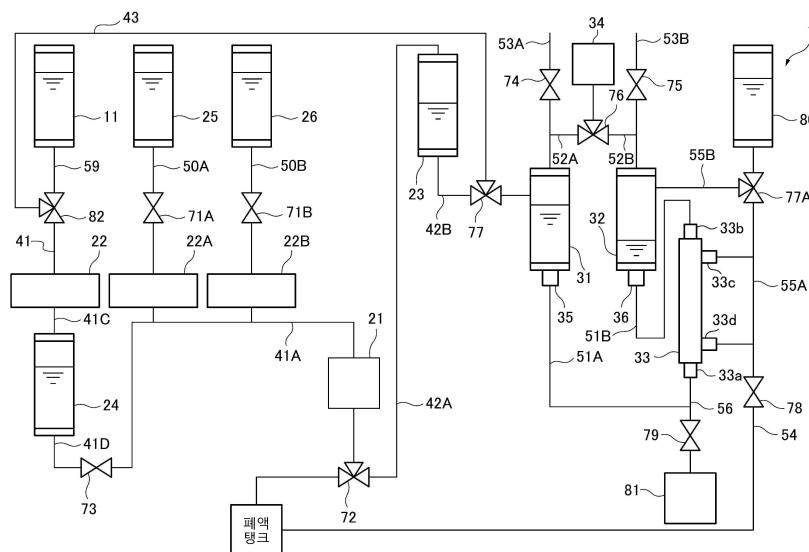
전체 청구항 수 : 총 50 항

(54) 발명의 명칭 미소 유용 물질을 포함하는 액의 정제 농축 장치 및 그것을 사용한 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법

(57) 요약

미소 유용 물질을 고순도 또한 고농도로 포함하는 액(미소 유용 물질의 정제농축액)을 제조 가능하며, 또한 보다 효율적으로 상기 정제농축액을 조제할 수 있는, 미소 유용 물질을 포함하는 액의 정제 농축 장치 및 그것을 사용한 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법을 제공한다. 미소 유용 물질을 포함하는 액을 공급하는 원료공급부와, 상기 액 중의 불순물을 제거하는 제거부와, 상기 원료공급부 또는 상기 제거부로부터 공급된 상기 액을 중공사막으로 정제하고 또한 농축시키는 정제농축부와, 상기 원료공급부로부터 상기 정제농축부로의 상기 액의 유통, 또는 상기 제거부로부터 상기 정제농축부로의 상기 액의 유통의 타이밍을 제어하는 제1 제어부를 포함하는, 미소 유용 물질을 포함하는 액의 정제 농축 장치.

대표도



(52) CPC특허분류

B01D 63/02 (2022.08)

C07K 1/16 (2013.01)

C07K 1/34 (2013.01)

C12M 29/16 (2013.01)

C12M 47/10 (2013.01)

C12N 15/10 (2022.05)

C12N 5/06 (2025.01)

(72) 발명자

나카츠카 슈지

일본 1088230 도쿄도 미나토쿠 코난 2-18-1 다이센
멤브레인 시스템즈 가부시키가이샤 내

우치무라 세이이치

일본 1088230 도쿄도 미나토쿠 코난 2-18-1 가부시
키가이샤 다이센 내

명세서

청구범위

청구항 1

미소 유용 물질을 포함하는 액을 공급하는 원료공급부와,

상기 액 중의 불순물을 제거하는 제거부와,

상기 원료공급부 또는 상기 제거부로부터 공급된 상기 액을 중공사막으로 정제하고 또한 농축시키는 정제농축부와,

상기 원료공급부로부터 상기 정제농축부로의 상기 액의 유통, 또는 상기 제거부로부터 상기 정제농축부로의 상기 액의 유통의 타이밍을 제어하는 제1 제어부를 포함하는, 미소 유용 물질을 포함하는 액의 정제 농축 장치.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 제거부가, 상기 액 내의 불순물을 제거하고, 불순물을 제거한 후의 상기 액을 상기 정제농축부에 공급하는 유로가 접속된 담체 칼럼을 갖추는, 정제 농축 장치.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 제거부가, 상기 액 내의 불순물을 제거하는 여과 부재를 갖추고,

상기 여과 부재는, 상기 원료공급부로부터 상기 제거부에 상기 액을 공급하는 유로 중에 개재장착되어 있는, 정제 농축 장치.

청구항 4

제2항에 있어서, 상기 제거부가, 상기 담체 칼럼으로 처리한 상기 액을 저류하는 제1 탱크를 갖추고,

상기 제1 탱크는, 상기 담체 칼럼으로부터 상기 정제농축부에 상기 액을 공급하는 유로 중에 배치되고, 또한 탱크 내의 상기 액을 상기 정제농축부에 공급하는 유로가 접속되어 있고,

상기 제1 제어부는, 상기 탱크 내의 상기 액을 상기 정제농축부에 공급하는 타이밍을 제어하는, 정제 농축 장치.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 중공사막의 평균 내경이 0.2~1.4mm이며, 분획 분자량이 1만~100만인, 정제 농축 장치.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 정제농축부가, 복수의 상기 중공사막이 상기 액의 출입구를 가지는 용기 내에 수용된 중공사막 모듈을 갖추고,

상기 용기는, 상기 중공사막에 상기 액을 공급하기 위한, 제1 액의 출입구 및 제2 액의 출입구와, 상기 중공사막을 투과한 상기 액을 배출하기 위한 제3 액의 출입구를 적어도 가지는, 정제 농축 장치.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 중공사막 모듈이 내압식인, 정제 농축 장치.

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 정제농축부는, 상기 원료공급부 또는 상기 제거부로부터 공급된 상기 액을 저류하고, 상기 중공사막 모듈의 상기 제1 액의 출입구에 상기 액을 공급하는 유로가 접속된 제2 탱크와,

상기 원료공급부 또는 상기 제거부로부터 공급된 상기 액을 저류하고, 상기 중공사막 모듈의 상기 제2 액의 출

입구에 상기 액을 공급하는 유로가 접속된 제3 탱크와,

상기 제2 탱크 또는 상기 제3 탱크 중 어느 하나를 선택적으로 가압하는 가압 장치와,

상기 가압 장치로 상기 제2 탱크 또는 상기 제3 탱크 내를 선택적으로 가압하여, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액을 상기 중공사막 모듈에 교대로 공급하도록 제어하는 제2 제어부를 갖추는, 정제 농축 장치.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 제2 제어부는, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액량을 설정하고, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액량이 설정된 값이 되도록, 상기 가압 장치로 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크를 교대로 가압하는, 정제 농축 장치.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크는, 탱크 바닥부의 상기 액의 출입구에 광 센서를 포함하는 탱크 내 액량 감시 장치를 각각 갖추고,

상기 탱크 내 액량 감시 장치는, 상기 광 센서로 상기 액의 출입구 내에 광을 조사하여 광의 투과율을 검출하고, 상기 투과율의 변화에 기초하여 탱크 내의 액량을 감시하도록 구성되어 있고,

상기 제2 제어부는, 상기 탱크 내 액량 감시 장치로 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액량을 판단하여, 상기 가압 장치로 가압할 탱크를 결정하는, 정제 농축 장치.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 정제농축부는, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액면 위치를 감시하는 카메라를 갖추고,

상기 제2 제어부는, 상기 카메라로부터 출력된 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액면 위치의 정보에 기초하여 상기 가압 장치로 가압할 탱크를 결정하는, 정제 농축 장치.

청구항 12

제8항에 있어서, 상기 정제농축부가, 회석액을 저류하고, 상기 회석액을 상기 중공사막 모듈의 상기 제3 액의 출입구에 공급하는 유로가 접속된 제4 탱크와,

상기 제4 탱크 내의 상기 회석액을 상기 중공사막 모듈의 상기 제3 액의 출입구에 공급하는 타이밍을 제어하는 제3 제어부를 갖추고,

상기 제3 제어부는, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액량의 합계가 상기 제2 제어부에서 설정한 값 이하가 된 경우에, 상기 제4 탱크 내의 상기 회석액을 상기 중공사막 모듈의 상기 제3 액의 출입구로부터 공급하는, 정제 농축 장치.

청구항 13

제8항에 있어서, 상기 정제농축부가, 상기 중공사막 모듈의 상기 제1 액의 출입구 또는 상기 제2 액의 출입구와 유로로 접속되고, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액을 회수하는 제5 탱크와, 상기 제5 탱크로의 상기 액의 회수를 제어하는 제4 제어부를 갖추는, 정제 농축 장치.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크는, 탱크 바닥부의 상기 액의 출입구에 광 센서를 포함하는 탱크 내 액량 감시 장치를 각각 갖추고,

상기 탱크 내 액량 감시 장치는, 상기 광 센서로 상기 액의 출입구 내에 광을 조사하여 광의 투과율을 검출하고, 상기 투과율의 변화에 기초하여 탱크 내의 액량을 감시하도록 구성되어 있고,

상기 제4 제어부는, 상기 가압 장치로 상기 제2 탱크 또는 상기 제3 탱크 내를 선택적으로 가압하여 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액을 상기 제5 탱크로 회수하고, 상기 탱크 내 액량 감시 장치로 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액량을 판단하여, 상기 가압 장치를 정지시키는, 정제 농축 장치.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 정제농축부는, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액면 위치를 감시하는 카메라를 갖추고,

상기 제4 제어부는, 상기 가압 장치로 상기 제2 탱크 또는 상기 제3 탱크 내를 선택적으로 가압하여, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액을 상기 제5 탱크로 회수하고, 상기 카메라로부터 출력된 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액면 위치의 정보에 기초하여 상기 가압 장치를 정지시키는, 정제 농축 장치.

청구항 16

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 원료공급부, 상기 제거부 및 상기 정제농축부를 포함하는 요소가 하우징 내에 배치된 구성으로 되어 있고, 상기 하우징 내의 클린도를 관리하는 관리부를 갖추고,

상기 관리부는, 여과 공기를 상기 하우징 내에 공급하는 팬필터 장치를 갖추는, 정제 농축 장치.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 관리부는 UV 램프를 추가로 갖추는, 정제 농축 장치.

청구항 18

제2항에 있어서, 상기 제거부가, 상기 담체 칼럼을 세정하는 세정액을 저류하는 제6 탱크와, 상기 담체 칼럼을 평형화하는 평형화액을 저류하는 제7 탱크를 갖추는, 정제 농축 장치.

청구항 19

제3항에 있어서, 상기 여과 부재는, 상기 원료공급부의 하부에 배치되어 있고, 상기 원료공급부로부터 상기 여과 부재로의 상기 액의 공급이 상기 액의 자중에 의해 행해지는, 정제 농축 장치.

청구항 20

제8항에 있어서, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크의 길이 방향의 측면이, 상기 중공사막 모듈의 길이 방향과 평행이 되도록 배치되어 있는, 정제 농축 장치.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 제거부가, 상기 액 내의 불순물을 제거하고, 불순물을 제거한 후의 상기 액을 상기 정제 농축부에 공급하는 유로가 접속된 담체 칼럼과, 상기 담체 칼럼으로 처리한 상기 액을 저류하는 제1 탱크를 갖추고,

상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크는, 상기 담체 칼럼 및 상기 제1 탱크와 유로로 접속되고, 또한 상기 담체 칼럼 및 상기 제1 탱크의 상방 위치에 배치되어 있는, 정제 농축 장치.

청구항 22

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 미소 유용 물질이, 세포외소포, 항체, 바이러스, 단백질, 효소 및 핵산으로부터 선택되는, 정제 농축 장치.

청구항 23

제1항 또는 제2항의 정제 농축 장치를 사용하여, 미소 유용 물질이 정제 농축된 상기 액을 제조하는 방법으로서,

상기 미소 유용 물질을 포함하는 원료액을 상기 정제 농축 장치에 공급하여, 상기 액 중의 불순물을 제거하는 것, 및/또는 상기 액을 중공사막으로 정제하고 또한 농축시키는 것을 포함하는, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 액 중의 불순물을 제거하는 것이, 담체 칼럼으로 상기 액 중의 불순물을 흡착 제거하는

것을 포함하는, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

청구항 25

제23항에 있어서, 상기 액을 상기 중공사막으로 정제하고 농축시키는 것이, 중공사막 모듈로 상기 액을 교호 탄젠셜 플로우 여과하는 것을 포함하는, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

청구항 26

제23항에 있어서, 상기 액을 상기 중공사막으로 정제하고 농축시키는 것이, 상기 중공사막의 표면에 퇴적된 상기 미소 유용 물질을 회수하면서, 중공사막 모듈로 상기 액을 교호 탄젠셜 플로우 여과하는 것을 포함하는, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

청구항 27

제23항에 있어서, 상기 액을 상기 중공사막으로 정제하고 농축시키는 것이, 농축된 상기 액에 회석액을 공급하여 추가로 정제하고 농축시키는 것을 포함하고,

상기 회석액은, 상기 원료액의 양(A)에 대한 상기 농축된 상기 액의 양(B)(B/A)이 $1/2 \sim 1/200$ 이 된 경우에 상기 액에 공급되는, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

청구항 28

제24항에 있어서, 상기 담체 칼럼으로 상기 액 중의 불순물을 제거하는 것과, 상기 중공사막으로 정제하고 농축시키는 것이 병행하여 행해지는, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

청구항 29

제23항에 있어서, 상기 미소 유용 물질이, 세포외소포, 항체, 바이러스, 단백질, 효소 및 핵산으로부터 선택되는 적어도 하나인, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

청구항 30

미소 유용 물질을 포함하는 액을 공급하는 원료공급부와,

상기 원료공급부로부터 공급된 상기 액을 중공사막 모듈로 정제하고 농축시키는 정제농축부를 포함하고,

상기 중공사막 모듈은, 상기 액을 중공사막에 공급하기 위한, 제1 액의 출입구 및 제2 액의 출입구와, 상기 중공사막을 통과한 상기 액을 배출하기 위한 제3 액의 출입구를 가지고,

상기 정제농축부는, 상기 원료공급부로부터 공급된 상기 액을 저류하고, 상기 중공사막 모듈의 상기 제1 액의 출입구에 상기 액을 공급하는 유로가 접속된 제2 탱크와,

상기 원료공급부로부터 공급된 상기 액을 저류하고, 상기 중공사막 모듈의 상기 제2 액의 출입구에 상기 액을 공급하는 유로가 접속된 제3 탱크와,

상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 어느 하나의 상기 액을 상기 중공사막 모듈에 선택적으로 송액하는 송액 장치와,

상기 송액 장치를 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액을 상기 중공사막 모듈에 선택적으로 공급하도록 제어하는 제2 제어부와,

상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액의 양을 감시하는 감시 장치를 갖추고,

상기 제2 제어부는, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액량을 설정하고, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액량이 설정된 값이 된 경우에, 상기 송액 장치가 상기 제2 탱크 또는 상기 제3 탱크로부터 상기 중공사막 모듈에 선택적으로 송액되도록 제어하고,

상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액량은, 상기 감시 장치의 정보에 기초하여 판단되는, 미소 유용 물질을 포함하는 액의 정제 농축 장치.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 중공사막의 평균 내경이 0.2~2.0mm이며, 분획 분자량이 5,000~300만인, 정제 농축 장치.

청구항 32

제30항 또는 제31항에 있어서, 상기 감시 장치가, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액면 위치를 감시하는 카메라를 갖추는, 정제 농축 장치.

청구항 33

제30항 또는 제31항에 있어서, 상기 감시 장치가, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크의 바닥부의 상기 액의 출입구에 각각 설치되고, 상기 액의 출입구 내에 광을 조사하여 광의 투과율을 검출하고, 상기 투과율의 변화에 기초하여 탱크 내의 상기 액의 양을 감시하는 광 센서를 갖추는, 정제 농축 장치.

청구항 34

제30항 또는 제31항에 있어서, 상기 중공사막 모듈이 내압식인, 정제 농축 장치.

청구항 35

제30항에 있어서, 상기 정제농축부가, 회석액을 저류하고, 상기 회석액을 상기 중공사막 모듈의 상기 제3 액의 출입구에 공급하는 유로가 접속된 제4 탱크와,

상기 제4 탱크 내의 상기 회석액을 상기 중공사막 모듈의 상기 제3 액의 출입구에 공급하는 타이밍을 제어하는 제3 제어부를 갖추고,

상기 제3 제어부는, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액량의 합계가, 상기 제2 제어부에서 설정한 값 이하가 된 경우에, 상기 제4 탱크 내의 상기 회석액을 상기 중공사막 모듈의 상기 제3 액의 출입구로부터 공급하는, 정제 농축 장치.

청구항 36

제30항 또는 제31항에 있어서, 상기 정제농축부가, 상기 중공사막 모듈의 상기 제1 액의 출입구 또는 상기 제2 액의 출입구와 유로로 접속되고, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액을 회수하는 제5 탱크와, 상기 제5 탱크로의 상기 액의 회수를 제어하는 제4 제어부를 갖추는, 정제 농축 장치.

청구항 37

제36항에 있어서, 상기 송액 장치가 가압 장치를 갖추고,

상기 제4 제어부는, 상기 가압 장치로 상기 제2 탱크 또는 상기 제3 탱크 내를 선택적으로 가압하여 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액을 상기 제5 탱크로 회수하고, 상기 감시 장치로 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액량을 판단하여, 상기 가압 장치를 정지시키는, 정제 농축 장치.

청구항 38

제30항 또는 제31항에 있어서, 상기 미소 유용 물질이, 전기 활성 고분자, 레어메탈 콜로이드 입자, 안료, 염료, 무기 또는 유기 나노 입자, 단백질, 호르몬, 사이토카인, 증식인자, 혈관신생인자, 성장인자, 효소, 항체, 혈장 단백질, 바이러스, 세포외소포, 효모, 이스트, 세포, 다당류 및 미세조류로부터 선택되는, 정제 농축 장치.

청구항 39

제1항, 제2항, 제30항 또는 제31항에 있어서, 상기 중공사막의 적어도 일부에, 상기 미소 유용 물질과는 상이한 종류의 생체분자가 부착되어 있는, 정제 농축 장치.

청구항 40

제12항 또는 제35항에 있어서, 상기 중공사막 모듈이 적어도 2개의 상기 제3 액의 출입구를 가지고,

상기 제3 제어부는, 상기 중공사막 모듈의 상기 제1 액의 출입구 및 상기 제2 액의 출입구의 상기 액의 유통을 멈춘 상태에서, 상기 제4 탱크 내의 상기 회석액을 상기 중공사막 모듈이 가지는 적어도 2개의 상기 제3 액의

출입구 중 하나로부터 공급하고, 그 후, 상기 제1 액의 출입구 및 상기 제2 액의 출입구를 상기 액의 유통을 가능하게 한 상태에서, 상기 제4 탱크 내의 상기 희석액을 상기 중공사막 모듈이 가지는 적어도 2개의 상기 제3 액의 출입구 중 적어도 하나로부터 공급하는, 정제 농축 장치.

청구항 41

미소 유용 물질과 불순물을 포함하는 원료의 액으로부터 불순물을 제거한 후, 상기 액을 정제 농축시켜, 미소 유용 물질의 정제농축액을 제조하는 방법으로서,

상기 액을 정제 농축시키는 것이, 중공사막 모듈을 사용하여 상기 액을 정제 농축시키는 것을 포함하고, 또한 상기 정제 농축의 과정에 있어서, 상기 중공사막 모듈의 투과액측으로부터 희석액을 압입하여, 상기 중공사막을 역세정 처리하는 것을 포함하는, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 중공사막 모듈에 수용되는 상기 중공사막이 셀룰로스아세테이트를 포함하는 수지 재료에 의해 구성되어 있는, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

청구항 43

제41항에 있어서, 상기 중공사막 모듈에 수용되는 상기 중공사막의 분획 분자량이 10만~100만인, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

청구항 44

제41항 또는 제42항에 있어서, 상기 액 중의 불순물을 제거하는 것이, 담체 칼럼으로 상기 액 중의 불순물을 흡착 제거하는 것을 포함하는, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

청구항 45

제41항 또는 제42항에 있어서, 상기 중공사막 모듈을 사용하여 상기 액을 정제 농축시키는 것이, 상기 액을 교호 탄젠셜 플로우 여과하는 것을 포함하는, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

청구항 46

제41항 또는 제42항에 있어서, 상기 중공사막 모듈을 사용하여 상기 액을 정제 농축시키는 것이, 정제 농축된 상기 액에 희석액을 공급하여 추가로 정제 농축시키는 것을 포함하고, 상기 희석액은, 상기 원료의 액의 양(A)에 대한 상기 정제 농축된 상기 액의 양(B)(B/A)이 $1/2 \sim 1/200$ 이 된 경우에 상기 액에 공급되는, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

청구항 47

제44항에 있어서, 상기 담체 칼럼으로 상기 액 중의 불순물을 제거하는 것과, 상기 중공사막 모듈을 사용하여 상기 액을 정제 농축시키는 것이 병행하여 행해지는, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

청구항 48

제41항 또는 제42항에 있어서, 상기 미소 유용 물질이, 세포외소포, 항체, 바이러스, 단백질, 효소 및 핵산으로부터 선택되는 적어도 하나인, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

청구항 49

제41항 또는 제42항에 있어서, 상기 중공사막의 적어도 일부에, 상기 미소 유용 물질과는 상이한 종류의 생체분자가 부착되어 있는, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

청구항 50

제41항 또는 제42항에 있어서, 상기 역세정 처리하는 것에 앞서, 상기 중공사막 모듈을 플리싱 처리하는 것을 포함하는, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 개시는 미소 유용 물질을 포함하는 액의 정제 농축 장치와, 그것을 사용한 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 세포외소포, 항체, 바이러스, 단백질, 핵산 등의 미소 유용 물질을 포함하는 액으로부터, 상기 미소 유용 물질을 분리 정제하는 방법으로서, 예를 들면 분리막을 사용한 방법이 알려져 있다.

[0003] 특허문헌 1에는, 세포의 배양조로부터 배양액을 배출하고, 배출한 배양액과 동량의 신선 배지를 상기 배양조에 가하는 브리딩 공정과, 상기 배양조로부터 추출한 배양액을 실질적으로 치밀층을 가지지 않는 다공막을 사용하여 여과하는 여과 공정을 포함하고, 상기 여과 공정에 있어서의 여과가 탄젠셜 플로우 여과이며, 상기 여과 공정에 있어서의 투과액의 속도가 1.0LMH 이하인, 유용 물질을 회수하는 방법이 기재되어 있다. 특허문헌 1에는, 상기 미소 유용 물질이, 단백질, 바이러스, 엑소좀 및 핵산으로 이루어지는 군으로부터 선택되어도 되는 것이 기재되어 있다.

[0004] 또 특허문헌 2에는, 세포외소포의 1종인 엑소좀을 효율적 또한 대량으로 채취 가능한 엑소좀 추출 장치 및 엑소좀 추출 방법이 기재되어 있다. 특허문헌 2에 기재된 엑소좀 추출 장치는, 원료공급부로부터 공급된 엑소좀을 포함하는 원료 액체를 제1 저류부에 송액한 후, 상기 제1 저류부로부터 각각 역할이 상이한 제1 필터 및 제2 필터를 포함하는 순환 경로를 순환시켜, 액체 내의 엑소좀을 농축시키고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 일본 특개 2018-76291호 공보
(특허문헌 0002) 일본 특개 2021-145649호 공보

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 일반적으로, 미소 유용 물질을 포함하는 원료 액체 중에는 불순물이 포함되어 있는 일이 많다. 그 때문에 미소 유용 물질을 고순도 또한 고농도로 포함하는 액(미소 유용 물질의 정제농축액)을 조제할 수 있는 정제 농축 장치가 요구되고 있다. 또 보다 효율적으로 상기 정제농축액을 조제할 수 있는 정제 농축 장치도 요구되고 있다.

[0007] 본 발명은 상기 사정을 감안하여 이루어진 것으로, 미소 유용 물질을 고순도 또한 고농도로 포함하는 액(미소 유용 물질의 정제농축액)을 제조 가능하며, 또한 보다 효율적으로 상기 정제농축액을 조제할 수 있는, 미소 유용 물질을 포함하는 액의 정제 농축 장치 및 그것을 사용한 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 개시에서는 이하의 수단을 채용할 수 있다.

[0009] [1] 미소 유용 물질을 포함하는 액을 공급하는 원료공급부와, 상기 액 중의 불순물을 제거하는 제거부와, 상기 원료공급부 또는 상기 제거부로부터 공급된 상기 액을 중공사막으로 정제하고 또한 농축시키는 정제농축부와, 상기 원료공급부로부터 상기 정제농축부로의 상기 액의 유통, 또는 상기 제거부로부터 상기 정제농축부로의 상기 액의 유통의 타이밍을 제어하는 제1 제어부를 포함하는, 미소 유용 물질을 포함하는 액의 정제 농축 장치.

[0010] [2] 상기 제거부가, 상기 액 내의 불순물을 제거하고, 불순물을 제거한 후의 상기 액을 상기 정제농축부에 공급하는 유로가 접속된 담체 칼럼을 갖추는, [1]에 기재된 정제 농축 장치.

- [0011] [3] 상기 제거부가, 상기 액 내의 불순물을 제거하는 여과 부재를 갖추고, 상기 여과 부재는, 상기 원료공급부로부터 상기 제거부에 상기 액을 공급하는 유로 중에 개재장착되어 있는, [1] 또는 [2]에 기재된 정제 농축 장치.
- [0012] [4] 상기 제거부가, 상기 담체 칼럼으로 처리한 상기 액을 저류하는 제1 탱크를 갖추고, 상기 제1 탱크는, 상기 담체 칼럼으로부터 상기 정제농축부에 상기 액을 공급하는 유로 중에 배치되고, 또한 탱크 내의 상기 액을 상기 정제농축부에 공급하는 유로가 접속되어 있고, 상기 제1 제어부는, 상기 탱크 내의 상기 액을 상기 정제농축부에 공급하는 타이밍을 제어하는, [2] 또는 [3]에 기재된 정제 농축 장치.
- [0013] [5] 상기 중공사막의 평균 내경이 0.2~1.4mm이며, 분획 분자량이 1만~100만인, [1] 내지 [4] 중 어느 하나에 기재된 정제 농축 장치.
- [0014] [6] 상기 정제농축부가, 복수의 상기 중공사막이 상기 액의 출입구를 가지는 용기 내에 수용된 중공사막 모듈을 갖추고, 상기 용기는, 상기 중공사막에 상기 액을 공급하기 위한, 제1 액의 출입구 및 제2 액의 출입구와, 상기 중공사막을 투과한 상기 액을 배출하기 위한 제3 액의 출입구를 적어도 가지는, [1] 내지 [5] 중 어느 하나에 기재된 정제 농축 장치.
- [0015] [7] 상기 중공사막 모듈이 내압식인, [6]에 기재된 정제 농축 장치.
- [0016] [8] 상기 정제농축부는, 상기 원료공급부 또는 상기 제거부로부터 공급된 상기 액을 저류하고, 상기 중공사막 모듈의 상기 제1 액의 출입구에 상기 액을 공급하는 유로가 접속된 제2 탱크와, 상기 원료공급부 또는 상기 제거부로부터 공급된 상기 액을 저류하고, 상기 중공사막 모듈의 상기 제2 액의 출입구에 상기 액을 공급하는 유로가 접속된 제3 탱크와, 상기 제2 탱크 또는 상기 제3 탱크 중 어느 하나를 선택적으로 가압하는 가압 장치와, 상기 가압 장치로 상기 제2 탱크 또는 상기 제3 탱크 내를 선택적으로 가압하여, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액을 상기 중공사막 모듈에 교대로 공급하도록 제어하는 제2 제어부를 갖추는, [6] 또는 [7]에 기재된 정제 농축 장치.
- [0017] [9] 상기 제2 제어부는, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액량을 설정하고, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액량이 설정된 값이 되도록, 상기 가압 장치로 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크를 교대로 가압하는, [8]에 기재된 정제 농축 장치.
- [0018] [10] 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크는, 탱크 바닥부의 상기 액의 출입구에 광 센서를 포함하는 탱크 내 액량 감시 장치를 각각 갖추고, 상기 탱크 내 액량 감시 장치는, 상기 광 센서로 상기 액의 출입구 내에 광을 조사하여 광의 투과율을 검출하고, 상기 투과율의 변화에 기초하여 탱크 내의 액량을 감시하도록 구성되어 있고, 상기 제2 제어부는, 상기 탱크 내 액량 감시 장치로 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액량을 판단하여, 상기 가압 장치로 가압할 탱크를 결정하는, [9]에 기재된 정제 농축 장치.
- [0019] [11] 상기 정제농축부는, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액면 위치를 감시하는 카메라를 갖추고, 상기 제2 제어부는, 상기 카메라로부터 출력된 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액면 위치의 정보에 기초하여 상기 가압 장치로 가압할 탱크를 결정하는, [9] 또는 [10]에 기재된 정제 농축 장치.
- [0020] [12] 상기 정제농축부가, 회석액을 저류하고, 상기 회석액을 상기 중공사막 모듈의 상기 제3 액의 출입구에 공급하는 유로가 접속된 제4 탱크와, 상기 제4 탱크 내의 상기 회석액을 상기 중공사막 모듈의 상기 제3 액의 출입구에 공급하는 타이밍을 제어하는 제3 제어부를 갖추고, 상기 제3 제어부는, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액량의 합계가 상기 제2 제어부에서 설정한 값 이하가 된 경우에, 상기 제4 탱크 내의 상기 회석액을 상기 중공사막 모듈의 상기 제3 액의 출입구로부터 공급하는, [8] 내지 [11] 중 어느 하나에 기재된 정제 농축 장치.
- [0021] [13] 상기 정제농축부가, 상기 중공사막 모듈의 상기 제1 액의 출입구 또는 상기 제2 액의 출입구와 유로로 접속되고, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액을 회수하는 제5 탱크와, 상기 제5 탱크로의 상기 액의 회수를 제어하는 제4 제어부를 갖추는, [8] 내지 [12] 중 어느 하나에 기재된 정제 농축 장치.
- [0022] [14] 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크는, 탱크 바닥부의 상기 액의 출입구에 광 센서를 포함하는 탱크 내 액량 감시 장치를 각각 갖추고, 상기 탱크 내 액량 감시 장치는, 상기 광 센서로 상기 액의 출입구 내에 광을 조사하여 광의 투과율을 검출하고, 상기 투과율의 변화에 기초하여 탱크 내의 액량을 감시하도록 구성되어 있고, 상기 제4 제어부는, 상기 가압 장치로 상기 제2 탱크 또는 상기 제3 탱크 내를 선택적으로 가압하여 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액을 상기 제5 탱크로 회수하고, 상기 탱크 내 액량 감시 장치로 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액량을 판단하여, 상기 가압 장치를 정지시키는, [13]에 기재된 정제 농축 장치.

- [0023] [15] 상기 정제농축부는, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액면 위치를 감시하는 카메라를 갖추고, 상기 제4 제어부는, 상기 가압 장치로 상기 제2 탱크 또는 상기 제3 탱크 내를 선택적으로 가압하여, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액을 상기 제5 탱크로 회수하고, 상기 카메라로부터 출력된 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액면 위치의 정보에 기초하여 상기 가압 장치를 정지시키는, [13] 또는 [14]에 기재된 정제 농축 장치.
- [0024] [16] 상기 원료공급부, 상기 제거부 및 상기 정제농축부를 포함하는 요소가 하우징 내에 배치된 구성으로 되어 있고, 상기 하우징 내의 클린도를 관리하는 관리부를 갖추고, 상기 관리부는, 여과 공기를 상기 하우징 내에 공급하는 팬필터 장치를 갖추는, [1] 내지 [15] 중 어느 하나에 기재된 정제 농축 장치.
- [0025] [17] 상기 관리부는 UV 램프를 추가로 갖추는, [16]에 기재된 정제 농축 장치.
- [0026] [18] 상기 제거부가, 상기 담체 칼럼을 세정하는 세정액을 저류하는 제6 탱크와, 상기 담체 칼럼을 평형화하는 평형화액을 저류하는 제7 탱크를 갖추는, [2] 내지 [17] 중 어느 하나에 기재된 정제 농축 장치.
- [0027] [19] 상기 여과 부재는, 상기 원료공급부의 하부에 배치되어 있고, 상기 원료공급부로부터 상기 여과 부재로의 상기 액의 공급이 상기 액의 자중에 의해 행해지는, [3] 내지 [18] 중 어느 하나에 기재된 정제 농축 장치.
- [0028] [20] 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크의 길이 방향의 측면이, 상기 중공사막 모듈의 길이 방향과 평행이 되도록 배치되어 있는, [8] 내지 [19] 중 어느 하나에 기재된 정제 농축 장치.
- [0029] [21] 상기 제거부가, 상기 액 내의 불순물을 제거하고, 불순물을 제거한 후의 상기 액을 상기 정제농축부에 공급하는 유로가 접속된 담체 칼럼과, 상기 담체 칼럼으로 처리한 상기 액을 저류하는 제1 탱크를 갖추고, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크는, 상기 담체 칼럼 및 상기 제1 탱크와 유로로 접속되고, 또한 상기 담체 칼럼 및 상기 제1 탱크의 상방 위치에 배치되어 있는, [20]에 기재된 정제 농축 장치.
- [0030] [22] 상기 미소 유용 물질이, 세포외소포, 항체, 바이러스, 단백질, 효소 및 핵산으로부터 선택되는, [1] 내지 [21] 중 어느 하나에 기재된 정제 농축 장치.
- [0031] [23] [1] 내지 [22] 중 어느 하나에 기재된 정제 농축 장치를 사용하여, 미소 유용 물질이 정제 농축된 상기 액을 제조하는 방법으로서, 상기 미소 유용 물질을 포함하는 원료액을 상기 정제 농축 장치에 공급하여, 상기 액 중의 불순물을 제거하는 것, 및/또는 상기 액을 중공사막으로 정제하고 또한 농축시키는 것을 포함하는, 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.
- [0032] [24] 상기 액 중의 불순물을 제거하는 것이, 담체 칼럼으로 상기 액 중의 불순물을 흡착 제거하는 것을 포함하는, [23]에 기재된 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.
- [0033] [25] 상기 액을 상기 중공사막으로 정제하고 농축시키는 것이, 중공사막 모듈로 상기 액을 교호 탄젠셜 플로우 여과하는 것을 포함하는, [23] 또는 [24]에 기재된 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.
- [0034] [26] 상기 액을 상기 중공사막으로 정제하고 농축시키는 것이, 상기 중공사막의 표면에 퇴적된 상기 미소 유용 물질을 회수하면서, 중공사막 모듈로 상기 액을 교호 탄젠셜 플로우 여과하는 것을 포함하는, [23] 내지 [25] 중 어느 하나에 기재된 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.
- [0035] [27] 상기 액을 상기 중공사막으로 정제하고 농축시키는 것이, 농축된 상기 액에 희석액을 공급하여 추가로 정제하고 농축시키는 것을 포함하고, 상기 희석액은, 상기 원료액의 양(A)에 대한 상기 농축된 상기 액의 양(B)(B/A)이 1/2~1/200이 된 경우에 상기 액에 공급되는, [23] 내지 [26] 중 어느 하나에 기재된 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.
- [0036] [28] 상기 담체 칼럼으로 상기 액 중의 불순물을 제거하는 것과, 상기 중공사막으로 정제하고 농축시키는 것이 병행하여 행해지는, [24] 내지 [27] 중 어느 하나에 기재된 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.
- [0037] [29] 상기 미소 유용 물질이, 세포외소포, 항체, 바이러스, 단백질, 효소 및 핵산으로부터 선택되는 적어도 하나인, [23] 내지 [28] 중 어느 하나에 기재된 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.
- [0038] [30-1] 미소 유용 물질을 포함하는 액을 공급하는 원료공급부와, 상기 원료공급부로부터 공급된 상기 액을 중공사막 모듈로 정제하고 농축시키는 상기 정제농축부를 포함하고, 상기 중공사막 모듈은, 상기 액을 중공사막에 공급하기 위한, 제1 액의 출입구 및 제2 액의 출입구와, 상기 중공사막을 투과한 상기 액을 배출하기 위한 제3 액의 출입구를 가지고, 상기 정제농축부는, 상기 원료공급부로부터 공급된 상기 액을 저류하고, 상기 중공사막

모듈의 상기 제1 액의 출입구에 상기 액을 공급하는 유로가 접속된 제2 탱크와, 상기 원료공급부로부터 공급된 상기 액을 저류하고, 상기 중공사막 모듈의 상기 제2 액의 출입구에 상기 액을 공급하는 유로가 접속된 제3 탱크와, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 중 어느 하나를 선택적으로 가압하는 가압 장치와, 상기 가압 장치로 상기 제2 탱크 또는 상기 제3 탱크 내를 선택적으로 가압하여, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액을 상기 중공사막 모듈에 교대로 공급하도록 제어하는 제2 제어부와, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액의 양을 감시하는 감시 장치를 갖추고, 상기 제2 제어부는, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액량을 설정하고, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액량이 설정된 값이 되도록, 상기 가압 장치로 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크를 교대로 가압하고, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액량은, 상기 감시 장치의 정보에 기초하여 판단되는, 미소 유용 물질을 포함하는 액의 정제 농축 장치.

[0039] [30-2] 미소 유용 물질을 포함하는 액을 공급하는 원료공급부와,

[0040] 상기 원료공급부로부터 공급된 상기 액을 중공사막 모듈로 정제하고 농축시키는 정제농축부를 포함하고, 상기 중공사막 모듈은, 상기 액을 중공사막에 공급하기 위한, 제1 액의 출입구 및 제2 액의 출입구와, 상기 중공사막을 투과한 상기 액을 배출하기 위한 제3 액의 출입구를 가지고, 상기 정제농축부는, 상기 원료공급부로부터 공급된 상기 액을 저류하고, 상기 중공사막 모듈의 상기 제1 액의 출입구에 상기 액을 공급하는 유로가 접속된 제2 탱크와, 상기 원료공급부로부터 공급된 상기 액을 저류하고, 상기 중공사막 모듈의 상기 제2 액의 출입구에 상기 액을 공급하는 유로가 접속된 제3 탱크와, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 어느 하나의 상기 액을 상기 중공사막 모듈에 선택적으로 송액하는 송액 장치와, 상기 송액 장치를, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액을 상기 중공사막 모듈에 선택적으로 공급하도록 제어하는 제2 제어부와, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액의 양을 감시하는 감시 장치를 갖추고, 상기 제2 제어부는, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액량을 설정하고, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액량이 설정된 값이 된 경우에, 상기 송액 장치가 상기 제2 탱크 또는 상기 제3 탱크로부터 상기 중공사막 모듈에 선택적으로 송액되도록 제어하고,

[0041] 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액량은, 상기 감시 장치의 정보에 기초하여 판단되는, 미소 유용 물질을 포함하는 액의 정제 농축 장치.

[0042] [31] 상기 중공사막의 평균 내경이 0.2~2.0mm이며, 분획 분자량이 5,000~300만인, [30-1] 또는 [30-2]에 기재된 정제 농축 장치.

[0043] [32] 상기 감시 장치가, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 액면 위치를 감시하는 카메라를 갖추는, [30-1] 내지 [31] 중 어느 하나에 기재된 정제 농축 장치.

[0044] [33] 상기 감시 장치가, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크의 바닥부의 상기 액의 출입구에 각각 설치되고, 상기 액의 출입구 내에 광을 조사하여 광의 투과율을 검출하고, 상기 투과율의 변화에 기초하여 탱크 내의 상기 액의 양을 감시하는 광 센서를 갖추는, [30-1] 내지 [32] 중 어느 하나에 기재된 정제 농축 장치.

[0045] [34] 상기 중공사막 모듈이 내압식인, [30-1] 내지 [33] 중 어느 하나에 기재된 정제 농축 장치.

[0046] [35] 상기 정제농축부가, 희석액을 저류하고, 상기 희석액을 상기 중공사막 모듈의 상기 제3 액의 출입구에 공급하는 유로가 접속된 제4 탱크와, 상기 제4 탱크 내의 상기 희석액을 상기 중공사막 모듈의 상기 제3 액의 출입구에 공급하는 타이밍을 제어하는 제3 제어부를 갖추고, 상기 제3 제어부는, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액량의 합계가 상기 제1 제어부에서 설정한 값 이하가 된 경우에, 상기 제4 탱크 내의 상기 희석액을 상기 중공사막 모듈의 상기 제3 액의 출입구로부터 공급하는, [30-1] 내지 [34] 중 어느 하나에 기재된 정제 농축 장치.

[0047] [36] 상기 정제농축부가, 상기 중공사막 모듈의 상기 제1 액의 출입구 또는 상기 제2 액의 출입구와 유로로 접속되고, 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액을 회수하는 제5 탱크와, 상기 제5 탱크로의 상기 액의 회수를 제어하는 제4 제어부를 갖추는, [30-1] 내지 [35] 중 어느 하나에 기재된 정제 농축 장치.

[0048] [37] 상기 제4 제어부는, 상기 가압 장치로 상기 제2 탱크 또는 상기 제3 탱크 내를 선택적으로 가압하여 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액을 상기 제5 탱크로 회수하고, 상기 감시 장치로 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액량을 판단하여, 상기 가압 장치를 정지시키는, [36]에 기재된 정제 농축 장치.

[0049] [38] 상기 미소 유용 물질이, 전기 활성 고분자, 레어메탈 콜로이드 입자, 안료, 염료, 무기 또는 유기 나노 입자, 단백질, 호르몬, 사이토카인, 증식인자, 혈관신생인자, 성장인자, 효소, 항체, 혈장 단백질, 바이러스, 세포 외소포, 효모, 이스트, 세포, 다당류 및 미세조류로부터 선택되는, [30-1] 내지 [37] 중 어느 하나에 기재된 정

제 농축 장치.

- [0050] [39] 상기 중공사막의 적어도 일부에, 상기 미소 유용 물질과는 상이한 종류의 생체분자가 부착되어 있는, [1] 내지 [38] 중 어느 하나에 기재된 정제 농축 장치.
- [0051] [40] 상기 중공사막 모듈이 적어도 2개의 제3 액의 출입구를 가지고, 상기 제3 제어부는, 상기 중공사막 모듈의 상기 제1 액의 출입구 및 상기 제2 액의 출입구의 상기 액의 유통을 멈춘 상태에서, 상기 제4 탱크 내의 상기 회석액을, 상기 중공사막 모듈이 가지는 적어도 2개의 상기 제3 액의 출입구 중 하나로부터 공급하고, 그 후, 상기 제1 액의 출입구 및 상기 제2 액의 출입구를 상기 액의 유통을 가능하게 한 상태에서, 상기 제4 탱크 내의 상기 회석액을, 상기 중공사막 모듈이 가지는 적어도 2개의 상기 제3 액의 출입구 중 적어도 하나로부터 공급하는, [12] 내지 [22] 중 어느 하나, 또는 [35] 내지 [39] 중 어느 하나에 기재된 정제 농축 장치.
- [0052] [41] 미소 유용 물질과 불순물을 포함하는 원료의 액으로부터, 불순물을 제거한 후, 상기 액을 정제 농축시켜, 미소 유용 물질의 정제농축액을 제조하는 방법으로서, 상기 액을 정제 농축시키는 것이, 중공사막 모듈을 사용하여 상기 액을 정제 농축시키는 것을 포함하고, 또한 상기 정제 농축의 과정에 있어서, 상기 중공사막 모듈의 투과액측으로부터 회석액을 압입하여, 상기 중공사막을 역세정 처리하는 것을 포함하는, 미소 유용 물질의 정제 농축액의 제조 방법.
- [0053] [42] 상기 중공사막 모듈에 수용되는 상기 중공사막이, 셀룰로스아세테이트를 포함하는 수지 재료에 의해 구성되어 있는, [41]에 기재된 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.
- [0054] [43] 상기 중공사막 모듈에 수용되는 상기 중공사막의 분획 분자량이 10만~100만인, [42]에 기재된 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.
- [0055] [44] 상기 액 중의 불순물을 제거하는 것이, 담체 칼럼으로 상기 액 중의 불순물을 흡착 제거하는 것을 포함하는, [41] 내지 [43] 중 어느 하나에 기재된 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.
- [0056] [45] 상기 중공사막 모듈을 사용하여 상기 액을 정제 농축시키는 것이, 상기 액을 교호 탄젠셜 플로우 여과하는 것을 포함하는, [41] 내지 [44] 중 어느 하나에 기재된 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.
- [0057] [46] 상기 중공사막 모듈을 사용하여 상기 액을 정제 농축시키는 것이, 정제 농축된 상기 액에 회석액을 공급하여 추가로 정제 농축시키는 것을 포함하고, 상기 회석액은, 상기 원료의 액의 양(A)에 대한 상기 정제 농축된 상기 액의 양(B)(B/A)이 $1/2 \sim 1/200$ 이 된 경우에 상기 액에 공급되는, [41] 내지 [45] 중 어느 하나에 기재된 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.
- [0058] [47] 상기 담체 칼럼으로 상기 액 중의 불순물을 제거하는 것과, 상기 중공사막 모듈을 사용하여 상기 액을 정제 농축시키는 것이 병행하여 행해지는, [44] 내지 [46] 중 어느 하나에 기재된 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.
- [0059] [48] 상기 미소 유용 물질이, 세포외소포, 항체, 바이러스, 단백질, 효소 및 핵산으로부터 선택되는 적어도 하나인, [41] 내지 [47] 중 어느 하나에 기재된 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.
- [0060] [49] 상기 중공사막의 적어도 일부에, 상기 미소 유용 물질과는 상이한 종류의 생체분자가 부착되어 있는, [41] 내지 [48] 중 어느 하나에 기재된 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.
- [0061] [50] 상기 역세 처리하는 것에 앞서, 상기 중공사막 모듈을 플러싱 처리하는 것을 포함하는, [41] 내지 [49] 중 어느 하나에 기재된 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법.

발명의 효과

- [0062] 본 개시에 의하면, 미소 유용 물질을 고순도 또한 고농도로 포함하는 액(미소 유용 물질의 정제농축액)을 제조 가능하며, 또한 보다 효율적으로 상기 정제농축액을 조제할 수 있는, 미소 유용 물질을 포함하는 액의 정제 농축 장치 및 그것을 사용한 미소 유용 물질의 정제농축액의 제조 방법을 제공할 수 있다. 또 본 개시의 정제 농축 장치는, 자동 제어에 의해 미소 유용 물질을 정제 농축시킬 수 있는 장치로서도 유용하다.

도면의 간단한 설명

- [0063] 도 1은 제1 실시형태에 따른 정제 농축 장치의 일례를 나타내는 개략 구성도이다.
도 2는 제1 실시형태에 따른 제거부의 일례를 나타내는 개략 구성도이다.

- 도 3은 제1 실시형태에 따른 제거부의 일례를 나타내는 개략 구성도이다.
- 도 4는 제1 실시형태에 따른 제거부의 일례를 나타내는 개략 구성도이다.
- 도 5는 제1 실시형태에 따른 제거부의 일례를 나타내는 개략 구성도이다.
- 도 6은 제1 실시형태에 따른 제거부의 일례를 나타내는 개략 구성도이다.
- 도 7은 본 개시의 정제 농축 장치에 있어서의 중공사막 모듈의 일례를 나타내는 개략 단면도이다.
- 도 8은 제1 실시형태에 따른 정제농축부의 일례를 나타내는 개략 구성도이다.
- 도 9는 제1 실시형태에 따른 정제농축부의 일례를 나타내는 개략 구성도이다.
- 도 10은 제1 실시형태에 따른 정제농축부의 일례를 나타내는 개략 구성도이다.
- 도 11은 제1 실시형태에 따른 정제농축부의 일례를 나타내는 개략 구성도이다.
- 도 12는 제1 실시형태에 따른 정제 농축 장치의 일례를 나타내는 개략 구성도이다.
- 도 13은 제1 실시형태에 따른 정제 농축 장치의 전체 구성의 일례를 나타내는 개략 구성도이다.
- 도 14는 제2 실시형태에 따른 정제 농축 장치의 전체 구성의 일례를 나타내는 개략 구성도이다.
- 도 15는 중공사막의 γ -글로불린 투과율을 측정하기 위한 장치의 일례이다.
- 도 16은 제1 실시형태에 따른 정제 농축 장치를 사용한 정제 농축 처리의 일례를 나타내는 플로우차트이다.
- 도 17은 실시예 4 및 비교예 3에서 얻어진 농축액을 BCA 어췌이에 의해 측정한 결과를 나타내는 그래프이다.
- 도 18은 실시예 4 및 비교예 3에서 얻어진 농축액의 흡광도 차트이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0064] 이하, 도면을 사용하여 본 개시의 일례를 설명하는데, 각 실시형태에 있어서의 각 구성 및 그들의 조합 등은 일례로서, 본 개시의 주지로부터 이탈하지 않는 범위 내에서, 적절하게 구성의 부가, 생략, 치환 및 그 밖의 변경이 가능하다. 본 개시는 실시형태에 의해 한정되는 일은 없으며, 클레임의 범위에 의해서만 한정된다. 또 특정한 파라미터에 대해, 복수의 상한값 및 하한값이 기재되어 있는 경우, 이들 상한값 및 하한값 중 임의의 상한값과 하한값을 조합하여 적합한 수치 범위로 할 수 있다.
- [0065] [미소 유용 물질을 포함하는 액의 정제 농축 장치]
- [0066] 본 개시는 미소 유용 물질을 포함하는 액의 정제 농축 장치에 관한 것이다. 본 개시의 정제 농축 장치는 제1 실시형태 및 제2 실시형태를 가진다. 이하, 본 개시의 정제 농축 장치의 제1 실시형태에 대해, 도면을 사용하여 설명한다.
- [0067] [제1 실시형태]
- [0068] 도 1은 본 개시의 제1 실시형태의 일례인 정제 농축 장치(1)(이하, 「정제 농축 장치(1)」라고 기재한다)를 나타내는 개략 구성도이다. 본 개시의 정제 농축 장치(1)는, 미소 유용 물질을 포함하는 원료를 공급하는 원료공급부(10)와, 액 중의 불순물을 제거하는 제거부(20)와, 원료공급부(10) 또는 제거부(20)로부터 공급된 액을 중공사막으로 정제하고 또한 농축시키는 정제농축부(30)와, 원료공급부(10)로부터 정제농축부(30)로의 액의 유통, 또는 제거부(20)로부터 정제농축부(30)로의 액의 유통의 타이밍을 제어하는 제1 제어부(110)를 포함한다. 원료공급부(10)의 액은 유로(41)를 통하여 제거부(20)에 공급되거나, 또는 유로(43)를 통하여 정제농축부(30)에 공급된다. 또 제거부(20)의 액은 유로(42)를 통하여 정제농축부(30)에 공급된다. 본 개시의 정제 농축 장치(1)는 미소 유용 물질을 고순도 또한 고농도로 포함하는 액(미소 유용 물질의 정제농축액)을 제조 가능하며, 또한 보다 효율적으로 상기 정제농축액을 조제할 수 있다. 또 자동 제어에 의해 미소 유용 물질을 정제 농축시킬 수 있는 장치로서도 유용하다. 또한 본 개시에 있어서, 「유로」란 액이 흐르는 관로를 가리킨다.
- [0069] <원료공급부>
- [0070] 원료공급부(10)에는 미소 유용 물질을 포함하는 액의 원료액(이하, 「원료액」이라고 기재한다)이 저류된다. 원료공급부(10) 내의 원료액은, 그 순도 즉 원료액 내의 불순물의 농도에 따라, 제거부(20) 또는 정제농축부(30)에 공급된다. 원료액 내의 불순물의 농도가 높은 경우에는, 원료액이 제거부(20)에 공급되도록 설정하고, 원료

액 내의 불순물의 농도가 낮은 경우에는, 원료액이 정제농축부(30)에 공급되도록 설정할 수 있다. 원료공급부(10)에는, 제거부(20)에 원료액을 공급하기 위한 유로(41)와, 정제농축부(30)에 원료액을 공급하기 위한 유로(43)가 접속되어 있다.

- [0071] 원료공급부(10)는 원료액을 저류하는 용기를 가진다. 상기 용기는 정제 농축 장치(1)에 고정되어 있어도 되고, 용이하게 분리할 수 있도록 설치되어 있어도 된다. 용기가 용이하게 분리할 수 있도록 설치되어 있는 경우, 원료공급부(10)는 용기를 고정하기 위한 고정 부재 등의 각종 설비를 포함할 수 있다.
- [0072] 원료액을 저류하는 용기의 형상 및 그 용적은 특별히 한정되지 않으며, 미소 유용 물질의 종류, 원료액의 양 등에 따라 결정할 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 세포외소포, 항체, 바이러스, 단백질, 효소 및 핵산 등으로부터 선택되는 미소 유용 물질을 포함하는 원료액을 정제 농축시키는 경우, 상기 용기의 용적은 50~5,000mL여도 되고, 200~2,000mL여도 된다.
- [0073] <제거부>
- [0074] 제거부(20)는 유로(41)를 통하여 원료공급부(10)로부터 공급된 원료액 내의 불순물을 제거한다. 이 구성에 의하면, 미소 유용 물질의 정제농축액을 효율적으로 조제할 수 있다. 이하, 제거부(20)로 불순물이 제거된 액을 「조정제액」이라고 기재한다.
- [0075] 도 2~6에, 제거부(20)의 몇가지 대표적인 개략 구성예를 나타낸다.
- [0076] 도 2에 나타내는 제거부(20)에는, 원료액 내의 불순물을 제거하는 담체 칼럼(21)이 설치되어 있다. 담체 칼럼(21)의 일방은 유로(41)와 접속되고, 타방은 조정제액을 정제농축부(30)에 공급하기 위한 유로(42)와 접속되어 있다. 담체 칼럼(21)으로부터의 유로(42)에는 폐액 탱크(후술한다)에 액을 배출하기 위한 유로(후술한다)가 접속되어 있어도 된다.
- [0077] 제거부(20)에는 담체 칼럼(21) 대신에, 원료액 내의 불순물을 흡착 제거할 수 있는 흡착재가 충전된 용기를 갖춘 장치가 설치되어 있어도 된다. 그들 용기 내에서는, 교반이나 진동·진탕 등의 작용에 의해 원료액 내의 불순물을 흡착재에 흡착시켜, 불순물을 제거·저감시킬 수 있다. 이와 같은 장치로서, 로테이터를 사용할 수도 있다. 불순물이 흡착된 충전제는 임의의 필터레이션 유닛에 의해 제거할 수 있다.
- [0078] 도 3에 나타내는 제거부(20)는, 담체 칼럼(21)과, 담체 칼럼(21)으로 처리한 조정제액을 저류하는 제1 탱크(23)를 갖춘다. 제1 탱크(23)는 유로(42) 중에 배치되어 있다. 즉, 유로(42)는, 제1 탱크(23)를 끼우고, 담체 칼럼(21)측에 위치하는 유로(42A)와, 정제농축부측에 위치하는 유로(42B)로 나뉘어 배치되어 있다. 조정제액이 담체 칼럼(21)으로부터 유로(42A)를 통하여 제1 탱크(23)에 저류되고, 제1 탱크(23)에 저류된 조정제액은 유로(42B)를 통하여 정제농축부(30)에 공급된다. 유로(42B)에는 삼방 밸브(77)가 설치되어 있다. 제1 제어부(110)는 정제농축부(30)에서의 조정제액의 처리 상황에 따라, 유로(42B) 내의 삼방 밸브(77)를 정제농축부(30)측으로 열고, 제1 탱크(23) 내의 조정제액을 정제농축부(30)에 공급한다. 이 구성에 의하면, 조정제액을 제1 탱크(23)에 일단 저류한 후, 정제농축부(30)에 공급할 수 있기 때문에, 제거부(20)에서의 불순물 제거 처리와 정제농축부(30)에서의 정제 농축 처리를 병행하여 행할 수 있다. 그 결과, 효율적으로 정제 농축 처리를 행할 수 있다. 도 4~6에 나타내는 제거부(20)의 구성에 대해서는 후술한다.
- [0079] (담체 칼럼)
- [0080] 담체 칼럼(21)에는 원료액 내의 미소 유용 물질 이외의 불순물을 제거할 수 있는 재료가 충전되어 있다. 상기 재료는 원료액 내의 불순물을 흡착 제거할 수 있는 흡착재인 것이 바람직하다.
- [0081] 흡착재로서는, 상기 불순물을 흡착 유지할 수 있는 다공질 입상물이 바람직하다. 다공질 입상물이란, 그 표면 및 내부에 다수의 세공을 가지는 입상의 물질을 가리키고, 고분자의 다공질 입상물이나 무기 재료의 다공질 입상물을 사용할 수 있다. 정제 농축 장치(1)로 처리하는 원료액에 포함되는 미소 유용 물질이, 세포외소포, 항체, 바이러스, 단백질, 효소 및 핵산 등의 생체물질인 경우, 상기 다공질 입상물로서는 세공 내부가 정으로 하전되어 있는 것이 바람직하다.
- [0082] 이들 다공질 입상물은 하나 또는 상이한 흡착 성능을 가지고 있는 복수의 것을 조합하여 사용할 수 있다.
- [0083] 상이한 흡착 성능을 가지고 있는 복수의 다공질 입상물은, 세공 직경이 상이한 것, 다공질 입상물의 비표면적이 상이한 것, 다공질 입상물의 평균 입자 직경이 상이한 것, 다공질 입상물을 구성하는 기재의 종류가 상이한 것, 다공질 입상물의 세공 내부 표면에 존재하는 관능기의 종류나 밀도가 상이한 것 등을 예시할 수 있다.

- [0084] 이와 같은 다공질 입상물로서는, 예를 들면 셀룰로스, 아가로스, 전분, 아밀로스, 텍스트란, 폴루란, 글루코만난 등의 다당류, 폴리아크릴산 또는 그 유도체, 폴리비닐알코올, 나일론, 폴리술폰, 폴리아크릴니트릴, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리스티렌 등의 합성 고분자, 유리, 다공질 유리, 실리카겔, 히드록시아파타이트 등을 기재로 하는 것을 들 수 있다. 이들은 1종 단독으로 사용되어도 되고, 2종 이상을 병용해도 된다. 또 이온 교환과 사이즈 배제를 가지는 믹스 모드 담체, 바람직하게는 카티온 교환과 사이즈 배제를 가지는 믹스 모드 담체여도 된다.
- [0085] 상기 다공질 입상물은, 원료액 중에 포함되는 불순물의 종류 등에 따라, 평균 세공 직경이 0.1~1,000nm의 범위의 것으로부터 선택할 수 있다. 또한 상기 평균 세공 직경은 수은압입법이나 역사이즈 배제 크로마토그래피에 의해 측정할 수 있다.
- [0086] 또 상기 다공질 입상물은, 원료액 중에 포함되는 불순물의 종류 등에 따라, 평균 입자 직경이 1~1,000 μm 의 범위의 것으로부터 선택해도 된다. 상기 평균 입자 직경은 레이저 회절 산란법에 의해 측정할 수 있다.
- [0087] 하나의 실시형태에 있어서, 정제 농축 장치(1)로 처리하는 원료액에 포함되는 미소 유용 물질이, 세포외소포, 항체, 바이러스, 단백질, 효소 및 핵산 등의 생체물질인 경우, 담체 칼럼(21)은 항체 칼럼을 포함하고 있어도 된다. 「항체 칼럼」이란 항원(불순물)과 결합할 수 있는 항체가 고정된 담체를 충전한 칼럼을 가리킨다. 원료액이 상기 서술한 생체물질을 포함하는 경우, 상기 생체물질 이외의 불순물과 결합(흡착)할 수 있는 항체를 고정된 담체를 충전한 항체 칼럼을 채용할 수 있다. 또한 상기 서술한 생체분자를 미소 유용 물질로서 포함하는 원료액 중에는, 복수 종류의 불순물이 포함되어 있는 일이 많기 때문에, 불순물의 종류에 따른 복수의 항체 칼럼을 사용해도 된다.
- [0088] 또 담체 칼럼(21) 대신에, 복수개의 담체 칼럼을 조합하여 모듈화한 것(칼럼 모듈)을 채용할 수도 있다. 칼럼 모듈을 사용하는 경우, 각각의 담체 칼럼에 내포되는 흡착제의 종류는 동일해도 되고, 상이해도 된다. 또 담체 칼럼의 내경이나 길이도 동일해도 되고, 상이해도 된다.
- [0089] 도 4에 나타내는 제거부(20)는, 담체 칼럼(21)을 세정하기 위한 세정액을 저류하는 제6 탱크(25)(세정액 저류 탱크)와, 담체 칼럼(21)을 평형화하기 위한 평형화액을 저류하는 제7 탱크(26)(평형화액 저류 탱크)를 갖춘다. 도 4의 제거부(20)에 있어서, 제6 탱크(25)는 유로(50A)를 경유하여 유로(41)에 세정액을 공급할 수 있도록 구성되어 있다. 또 제7 탱크(26)는 유로(50B)를 경유하여 유로(41)에 평형화액을 공급할 수 있도록 구성되어 있다. 유로(50A 및 50B)에는 개폐 밸브(71A 및 71B)가 배치되어 있다. 담체 칼럼(21)으로부터 조정제액을 정제 농축부(30)에 공급하는 유로(42)에는 삼방 밸브(72)가 설치되어 있다.
- [0090] 하나의 실시형태에 있어서, 1배치분의 원료액을 처리하여 흡착 포화에 이른 담체 칼럼(21)을 세정, 평형화 처리하고, 또한 다음 1배치의 원료액의 처리를 행하는 것이 바람직하다. 담체 칼럼(21)의 세정, 평형화 처리는, 유로(50A 및 50B)에 설치된 개폐 밸브(71A 및 71B)를 열어, 제6 탱크(25) 및 제7 탱크(26)로부터 세정액 및 평형화액을 담체 칼럼(21)에 공급함으로써 실시할 수 있다. 담체 칼럼(21)을 처리한 후의 세정액 및 평형화액은, 유로(42)에 설치된 삼방 밸브(72)로부터 폐액 탱크(후술한다)로 배출되도록 구성되는 것이 바람직하다.
- [0091] (세정액 및 평형화액)
- [0092] 담체 칼럼(21)을 세정하는 세정액으로서, 예를 들면 염화나트륨 수용액, 염산, 구연산, 차아염소산나트륨 수용액, 수산화나트륨 수용액 등을 채용할 수 있다. 안전성의 관점에서는, 염화나트륨 수용액을 사용하는 것이 바람직하다. 담체 칼럼(21) 내에 세정액이 흘러들어가면, 담체 칼럼(21) 내의 흡착제에 부착된 불순물이 제거된다. 세정액으로 제거한 후, 담체 칼럼(21)의 평형화를 행한다. 평형화액으로서, 예를 들면 생리식염수, 인산 완충액(PBS), 트리스염산 완충액, 구연산나트륨 완충액, 구연산인산 완충액, 아세트산 완충액, 붕산 완충액 등을 채용할 수 있다.
- [0093] 또한 세정액 및 평형화액을 저류하는 제6 탱크(25), 제7 탱크(26)의 재질로서는 특별히 한정되지 않으며, 예를 들면 후술하는 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)와 동일한 구성으로 해도 된다. 탱크 내의 저류액의 양을 육안으로 확인하기 쉬운 관점에서는, 제6 탱크(25), 제7 탱크(26)는 투명성을 가지고 있는 것이 바람직하다.
- [0094] 도 5에 나타내는 제거부(20)는 담체 칼럼(21)에 액을 공급하기 전에 액 내의 불순물을 제거하는 여과 부재를 갖춘다. 도 5에 나타내는 제거부(20)는 유로(41)에 여과 부재(22)가 개재장착된 구성으로 되어 있다. 여과 부재(22)로 여과 처리된 원료액은 유로(41) 중 여과 부재(22)를 끼우고 담체 칼럼(21)측에 위치하는 유로(41A)로부터 담체 칼럼(21)에 공급된다. 이 구성에 의하면, 여과 부재(22)로 전처리한 후의 원료액을 담체 칼럼(21)에 공

급할 수 있다. 이하, 여과 부재(22)로 처리한 원료액을 「전처리액」이라고 기재한다. 또한 도 5에 있어서의 제거부(20)는 여과 부재(22)와 담체 칼럼(21)을 가지는 구성으로 되어 있지만, 여과 부재(22)만을 가지는 구성으로 할 수도 있다.

[0095] 도 6에 나타내는 제거부(20)는 여과 부재(22)로부터의 전처리액을 저류하는 탱크(24)(전처리액 저류 탱크)를 갖추고 있다. 여과 부재(22)로부터의 전처리액은 유로(41C)를 통하여 탱크(24)에 저류된다. 탱크(24)에 저류된 전처리액은 유로(41D)를 통하여 담체 칼럼(21)에 공급된다. 제1 제어부(110)(도시하지 않음)는, 담체 칼럼(21)에서의 불순물 제거 처리의 진척에 따라, 유로(41D) 내의 개폐 밸브(73)를 열어, 탱크(24) 내의 전처리액을 담체 칼럼(21)에 공급할 수 있다. 이 구성에 의하면, 전처리액을 탱크(24)에 일단 저류한 후, 담체 칼럼(21)에 공급할 수 있기 때문에, 여과 부재(22)에서의 여과 처리와, 담체 칼럼(21)에서의 불순물 제거 처리를 병행하여 행할 수 있어, 효율적으로 정제 농축 처리할 수 있기 때문에 바람직하다.

[0096] 도 6에 있어서, 여과 부재(22)는 원료공급부(10)의 하부에 배치된 구성으로 되어 있다. 이 구성에 의하면, 원료공급부(10)로부터 여과 부재(22)로의 원료액의 공급이, 원료액의 자중에 의해 진행되기 때문에, 원료공급부(10)로부터 여과 부재(22)에 원료액을 공급하기 위한 송액 부재(펌프 등)를 생략할 수 있다. 그 때문에 보다 컴팩트한 정제 농축 장치로 할 수 있기 때문에 바람직하다.

[0097] (여과 부재)

[0098] 여과 부재(22)는 원료액을 여과 처리하는 부재이다. 원료액에 포함되는 미소 유용 물질이 세포외소포를 포함하는 경우, 여과 부재(22)는 정밀여과막(정밀여과막 모듈)을 갖추는 여과 필터인 것이 바람직하다. 원료액 중의 세포 등 목적으로 하는 세포외소포보다 큰 생체분자 등의 불순물을 효율적으로 여과 제거하는 관점에서는, 정밀여과막(정밀여과막 모듈)의 평균 구멍 직경은 0.10~0.50 μm 가 바람직하고, 0.15~0.30 μm 가 더욱 바람직하다. 또 정밀여과막의 재료로서는 폴리에테르술폰, 폴리비닐리덴플루오라이드 등이 바람직하다. 또 정밀여과막은 이들 재료로 구성된 시판품을 사용할 수 있다.

[0099] (제1 제어부)

[0100] 이어서 제1 제어부의 상세에 대해 도 16의 플로우차트를 사용하여 설명한다.

[0101] 도 16은 도 13에 나타내는 정제 농축 장치(1)를 사용하여 정제 농축 처리를 행하는 경우의 기본적인 플로우차트이다. 도 16의 플로우차트 내에 각 제어부에 있어서의 액의 유통 제어의 일례를 나타낸다.

[0102] 제1 제어부(110)는 원료공급부(10) 내의 원료액의 불순물 농도에 따라 설정된 결과에 기초하여 원료액을 제거부(20) 또는 정제농축부(30)에 공급할 수 있다. 원료액의 불순물 농도가 높은 경우, 원료공급부(10) 내의 원료액이 제거부(20)에 공급되도록 설정한다. 그 경우, 제1 제어부(110)는, 도 13의 용기(11)의 하부에 배치된 삼방밸브(82)를 유로(41)측으로 열어, 원료액을 제거부(20)(도 13에서는 여과 부재(22))에 공급한다. 원료액의 불순물 농도가 낮은 경우, 원료공급부(10) 내의 원료액이 정제농축부(30)에 공급되도록 설정한다. 그 경우, 제1 제어부(110)는, 상기 삼방밸브(82)를 유로(43)측으로 열어, 원료액을 정제농축부(30)를 향하여 송액할 수 있다. 여과 부재(22)로 처리된 액(전처리액)은 탱크(24)에 공급된다. 제1 제어부(110)는 제1 탱크(23)(조정제액 저류 탱크) 내의 조정제액의 양이 설정된 값이 될 때까지, 탱크(24)로부터 담체 칼럼(21)을 향하여 액을 공급할 수 있다. 구체적으로는, 탱크(24)의 하부에 설치된 개폐 밸브(73)를 열어, 담체 칼럼(21)에 전처리액을 공급할 수 있다.

[0103] 제1 탱크(23) 내의 조정제액의 양이 미리 설정된 값에 이르면, 제2 탱크(31)에 송액된다. 이 때, 제1 제어부(110)는 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 액량도 확인할 수 있다. 제1 제어부(110)는, 후술하는 탱크 내 액량 감시 장치(35, 36) 및/또는 카메라에 의한 액면 감시에 기초하여, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 액량이 미리 설정된 액량이라고 판단한 경우에, 유로(42B)에 접속되어 있는 삼방밸브(77)를 제2 탱크(31)측을 향하여 열어, 제1 탱크(23) 내의 조정제액을 제2 탱크(31)에 공급할 수 있다.

[0104] 도 13의 제1 탱크(23)에 접속된 유로(42B)에는, 탱크 내의 액량을 판단하는 레벨 센서(도시하지 않음)가 설치되어 있다. 제1 제어부(110)는 상기 레벨 센서의 정보에 기초하여 제1 탱크(23) 내에 조정제액이 남아있는지 여부를 판단할 수 있다. 제1 탱크(23) 내의 조정제액이 제2 탱크(31)에 전부 공급되었다고 판단하면, 제1 제어부(110)는 개폐 밸브(73)를 열어, 탱크(24) 내의 전처리액을 담체 칼럼(21)에 다시 공급할 수 있다. 이와 같이 액의 흐름을 제어함으로써, 1배치의 처리가 끝날 때마다 담체 칼럼(21)의 세정, 평형화 처리를 행할 수 있다.

[0105] <정제농축부>

- [0106] 정제농축부(30)는 원료공급부(10) 또는 제거부(20)로부터 공급된 액을 중공사막으로 정제하고 또한 농축시킨다. 중공사막을 사용하여 정제 농축시키므로, 미소 유용 물질을 고순도 또한 고농도로 포함하는 액을 조제할 수 있다.
- [0107] (중공사막)
- [0108] 본 개시의 중공사막의 재질은, 본 개시의 사용 목적이나 미소 유용 물질을 포함하는 액의 성질 등에 따라 적절하게 설계할 수 있다.
- [0109] 구체적으로는, 폴리비닐리덴플루오라이드(PVDF), 폴리에테르술폰(PES), 폴리술폰(PSf), 폴리올레핀(PE, PP, PTFE 등), 폴리아미드, 폴리아크릴로니트릴, 셀룰로스아세테이트(CA) 등의 유기 고분자계 재료 및 그들의 변성체를 적용할 수 있다.
- [0110] 또한 상기로부터 선택되는 복수 성분으로 이루어지는 복합 중공사막도 적용할 수 있다.
- [0111] 이 중, 미소 유용 물질이 엑소좀 등의 생체분자인 경우에는, 셀룰로스아세테이트(CA)계의 중공사막을 사용하는 것이 바람직하다(즉, 셀룰로스아세테이트를 포함하는 수지 재료에 의해 구성되어 있는 것이 바람직하다). 셀룰로스아세테이트계의 중공사막을 사용함으로써, 정제 농축 처리시의 여과 속도의 저하를 억제하고, 또한 중공사막의 막 표면에 퇴적된 미소 유용 물질의 회수 효과를 보다 향상시킬 수 있다. 그 이유로서, 생체분자의 표면 전하가 약한 부전하이며, 셀룰로스아세테이트막도 약한 부전하이기 때문에, 생체분자와 셀룰로스아세테이트막이 강한 쿨롱력으로 서로 끌어당기는 일이 없고, 순환전속도를 적정하게 제어함으로써 크로스 플로우 여과의 전단력이 기능하기 쉬운 것 등을 들 수 있다. 또 셀룰로스아세테이트막을 사용함으로써, 후술하는 방법으로 중공사막의 막 표면에 퇴적된 미소 유용 물질을 보다 효율적으로 회수할 수 있다.
- [0112] 본 개시의 중공사막의 재질은 본 개시의 사용 목적이나 미소 유용 물질을 포함하는 원료액의 성질 등에 따라 적절하게 설계할 수 있는데, 그 위에 미소 유용 물질을 포함하는 원료액의 성질에 따라 중공사막 표면의 내파울링성을 향상시키기 위해서 적절한 물질을 코팅 처리할 수도 있다.
- [0113] 코팅 처리는 예를 들면 일본 특허 6081290호 공보에 기재되어 있는 술폰화 폴리에테르술폰과 폴리에테르술폰으로 이루어지는 중공사막 표면에 카티온성 폴리머를 결합시키는 방법과 마찬가지로 실시할 수 있다.
- [0114] 즉, 중공사막을 코팅 물질의 수용액(수분산액) 중에 침지하는 방법이나, 중공사막이나 중공사막 모듈의 상태에서, 코팅 물질의 수용액(수분산액)을 중공사막에 통액시킴으로써, 중공사막 표면에 흡착 결합시킨 후, 코팅 물질의 박층 상에 단지 퇴적되었을 뿐인 코팅 물질을 수세하여 제거하는 방법을 사용할 수 있다.
- [0115] 어느 종류의 배양 상층액 중의 어느 종류의 세포외소포의 농축 정제를 행하는 경우에 있어서, 셀룰로스아세테이트계의 중공사막에 어느 종류의 생체분자를 코팅 처리하는 것이 정제 농축 효율과 세포외소포 등의 미소 유용 물질의 회수율을 높이는 점에서 바람직한 경우가 있다.
- [0116] 일례로서는, 아세트산셀룰로스계 중공사막 모듈(분획 분자량 30만, 막 면적 0.062m^2)에 대하여, 인산 완충액(PBS)에 용해한 1.3mg/mL 의 탈지분유 용액을, 200mL/분 의 통액 속도로 10분간 통액시키고, 중공사막 표면에 탈지분유 중의 카세인 등의 생체분자를 박층으로서 흡착 결합시키기 위한 코팅 처리를 시행한 후, 박층 상에 단지 퇴적되었을 뿐인 여분의 성분을 제거하기 위해서 250mL 의 인산 완충액(PBS)으로 막 통수 세정한 것을 사용할 수 있다.
- [0117] 하나의 실시형태에 있어서, 중공사막의 내파울링성을 높이는 관점에서, 중공사막의 적어도 일부의 영역에 상기 미소 유용 물질과는 상이한 종류의 생체분자가 부착되어 있는 것이 바람직하다. 생체분자는 중공사막의 표면의 절반 이상의 영역에 걸쳐 부착되어 있는 것이 보다 바람직하고, 전영역에 부착되어 있는 것이 바람직하다. 하나의 실시형태에 있어서, 중공사막의 적어도 일부의 표면에 상기 미소 유용 물질과는 상이한 종류의 생체분자를 포함하는 층이 형성되어 있는 것이 바람직하다. 「생체분자를 포함하는 층」이란 중공사막의 적어도 일부의 영역에 생체분자를 포함하는 물질이 어느 넓이를 가지고 부착되어 있는 것을 의미하고 있다. 생체분자를 포함하는 층은 중공사막의 표면의 절반 이상의 영역에 형성되어 있는 것이 바람직하고, 전영역에 형성되어 있는 것이 보다 바람직하다. 하나의 실시형태에 있어서, 중공사막의 적어도 일부의 표면이 상기 미소 유용 물질과는 상이한 종류의 생체분자에 의해 코팅되어 있는 것이 바람직하다.
- [0118] 미소 유용 물질과는 상이한 종류의 생체분자로서는, 혈액, 젖, 연골 등의 동물 세포 조직이나 다른 생물 세포 조직으로부터 얻어지는 것이며, 대표예로서는, 스kim밀크나 탈지분유 등에 포함되는 생체분자(예를 들면 카세

인),; 혈청 등에 포함되는 생체분자(예를 들면 혈청 글로불린, 혈청 알부민); 젤라틴(예를 들면 피시 젤라틴) 등을 들 수 있고, 이들로부터 선택되는 하나 이상이면 된다.

[0119] (중공사막의 평균 내경)

[0120] 본 개시의 중공사막의 평균 내경은 본 개시의 사용 목적이나 미소 유용 물질을 포함하는 액의 성질 등에 따라 적절하게 설계할 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 0.2mm~1.4mm의 평균 내경을 가지는 중공사막을 채용할 수 있다. 다른 실시형태에 있어서, 0.2mm~2.0mm의 평균 내경을 가지는 중공사막을 채용할 수 있다. 또한 본 개시에 있어서의 「중공사막의 평균 내경」은 1개의 중공사막을 길이 방향에 대하여 수직인 임의의 면에서 절단하고, 그 절단면의 중공부와 내접하는 최소의 원의 직경으로부터 산출한 값이다. 본 개시에서는, 상기한 절단면에 있어서의 임의의 10개소 이상 100개소 이하의 상기 직경을 측정하고, 그 평균값을 「평균 내경」으로 한다.

[0121] 또한 본 개시의 중공사막은 평균 외경이 0.3mm~2.0mm여도 된다. 하나의 실시형태에 있어서, 중공사막의 평균 내경이 0.2mm~1.0mm인 경우의 평균 외경은 0.3mm~1.4mm여도 된다. 또 그 밖의 실시형태에 있어서, 중공사막의 평균 내경이 1.0mm~1.4mm인 경우의 평균 외경은 1.5mm~2.0mm여도 된다. 또한 「중공사막의 평균 외경」은 상기 서술한 중공사막의 평균 내경과 동일한 방법으로 절단한 중공사막에 있어서, 그 절단면의 외측 가장자리를 내포하는 최소의 원의 직경으로부터 산출한 값이다. 본 개시에서는, 상기한 절단면에 있어서의 임의의 10개소 이상 100개소 이하의 상기 직경을 측정하고, 그 평균값을 「평균 외경」으로 한다.

[0122] 본 개시의 사용 목적에 있어서, 중공사막이 지나치게 유연하게 되지 않는 막 두께를 확보하기 쉽게, 또한 중공사막의 막 표면에 퇴적된 미소 유용 물질의 회수 효율이 향상되기 쉬운 관점에서는, 중공사막의 평균 내경은 0.6mm~1.4mm여도 된다.

[0123] 또한 미소 유용 물질을 포함하는 액의 운전시의 액 점도에 따라 상기 평균 내경을 조정해도 된다. 액 점도가 높은 경우(예를 들면 액은 20℃, 전단 속도 25s⁻¹에 있어서의 액 점도가 10~30mPa·s인 경우)에는, 평균 내경이 1.0mm~1.4mm의 굵은 직경 중공사막을 사용하는 것이 바람직하다. 또 미소 유용 물질을 포함하는 액의 운전시의 액 점도가 낮은 경우(예를 들면 액은 20℃, 전단 속도 25s⁻¹에 있어서의 액 점도가 10mPa·s 미만인 경우)에는, 평균 내경이 0.6mm~1.0mm의 중공사막을 사용하는 것이 바람직하다. 또한 중공사막의 평균 내경이 커지면, 상기 중공사막을 중공사막 모듈로서 사용하는 경우에, 유효 막 면적이 저하되기 쉬워진다. 따라서, 중공사막 모듈로 한 경우의 유효 막 면적의 저하를 억제하기 쉬운 관점에서는, 평균 내경이 0.2mm~1.0mm의 중공사막을 사용하는 것이 바람직하다.

[0124] (중공사막의 분획 분자량)

[0125] 본 개시의 중공사막의 분획 분자량은 본 개시의 사용 목적이나 미소 유용 물질을 포함하는 원료액의 성질 등에 따라 적절하게 설계할 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 상기 분획 분자량은 5,000~300만이어도 되고, 1만~100만이어도 된다. 미소 유용 물질이 특정의 단백질인 경우, 상기 단백질의 분자량보다 조금 낮은 분획 분자량의 중공사막(예를 들면 단백질의 분자량보다 10~50%정도 낮은 분획 분자량을 가지는 중공사막 등)을 사용하는 것이 바람직하다. 하나의 실시형태에 있어서, 미소 유용 물질이 엑소좀인 경우, 중공사막의 분획 분자량은 5만~100만인 것이 바람직하고, 7만~80만인 것이 보다 바람직하며, 10만~50만인 것이 더욱 바람직하다.

[0126] 본 개시의 중공사막 모듈의 γ -글로불린 투과율은, 미소 유용 물질이 세포외소포인 경우에는, 정제 농축의 효율성의 관점에서, 5~90%가 바람직하고, 10~80%가 보다 바람직하다. 본 개시에 있어서, 상기 서술한 γ -글로불린을 포함하는, 미소 유용 물질을 포함하는 액 내의 불순물의 투과율을 측정하는 방법은 특별히 한정되지 않으며, 종래 공지의 방법을 채용할 수 있다. 구체적으로는, 상기 불순물과 근사한 분자 구조, 또한 동일 정도의 분자량을 가지는 표준 물질의 투과율을 측정하는 방법 등을 채용할 수 있다. 상기 투과율을 측정하는 경우, 중공사막 모듈을 사용하는 경우나, 상기 중공사막 모듈에 사용하는 1개의 중공사막을 직접 사용하는 경우가 있다. 또한 내압식 중공사막 모듈의 상기 투과율을, 1개의 중공사막으로 중공사막 외측으로부터 압력을 가하여 내측으로 투과시키는 방법으로 측정된 투과율로 대응할 수도 있다.

[0127] (중공사막 모듈)

[0128] 본 개시에 있어서의 정제농축부(30)는, 복수의 상기 중공사막이 액의 출입구를 가지는 용기 내에 수용된 중공사막 모듈을 갖춘 구성으로 할 수 있다. 또 상기 용기는, 상기 중공사막에 액을 공급하기 위한, 제1 액의 출입구(33a) 및 제2 액의 출입구(33b)와, 상기 중공사막을 투과한 액을 배출하기 위한 제3 액의 출입구(33c, 33d)를 적어도 가진다.

- [0129] 본 개시의 중공사막 모듈에 사용하는 중공사막의 개수는 특별히 한정되지 않는다. 본 개시의 사용 목적 및 정제 농축되는 미소 유용 물질의 중량 등에 따라, 적절하게 필요한 유효 막 면적이 얻어지도록 하는 모듈 내에 집어 넣는 개수를 설계할 수 있다.
- [0130] 중공사막은 접착제 등으로 묶여 상기 용기 내에 수납되는 것이 바람직하다. 본 개시에 있어서, 미소 유용 물질을 포함하는 액이 중공사막 모듈의 제1 액의 출입구(33a) 및/또는 제2 액의 출입구(33b)로부터 공급되면, 용기 내의 중공사막 다발의 일방측(중공사막 다발의 내측 또는 외측)으로 액이 흘러들어가, 중공사막 다발로 정제, 농축된다. 중공사막 다발을 투과한 액은 중공사막 다발의 타방측(중공사막 다발의 외측 또는 내측)으로 흘러나와, 제3 액의 출입구(33c, 33d)로부터 배출된다. 이 때, 투과되지 않고 중공사막 다발의 내측 또는 외측에 체류한 액은, 제1 액의 출입구 및/또는 제2 액의 출입구로부터 중공사막 모듈 밖으로 배출(회수)할 수 있다. 이하, 본 개시에 있어서, 중공사막을 투과한 액을 「투과액」이라고 기재하고, 중공사막을 투과하지 않고 중공사막에 체류한 액을 「농축액」이라고 기재한다. 또한 「농축액」은 중공사막으로 정제, 농축 처리된 모든 액을 의미한다.
- [0131] 미소 유용 물질을 포함하는 액이 중공사막 다발의 내측으로 공급되는 것은 내압식 중공사막 모듈이며, 중공사막 다발의 외측으로 공급되는 중공사막 모듈은 외압식 중공사막 모듈이다. 이하, 본 개시에 있어서의 중공사막 모듈의 하나의 실시형태로서, 내압식 중공사막 모듈의 일례에 대해 설명한다.
- [0132] 도 7은 내압식의 중공사막 모듈(33)의 일례를 나타내는 개략 단면도이다. 중공사막 모듈(33)은 통형상 용기(61) 내에 복수의 중공사막이 묶인 중공사막 다발(60)이 수용되어 있다. 상기 복수의 중공사막은 생체적합성이 있는 밀봉접착제(예를 들면 폴리우레탄계 밀봉접착제 등)로 묶여 중공사막 다발(60)을 구성하고 있고, 또한 통형상 용기(61) 내의 길이 방향의 양단에 상기 밀봉접착제로 이루어지는 접착제층(62a, 62b)으로 접착 고정된 구성으로 되어 있다. 통형상 용기(61)는 투명성의 관점에서는 폴리카보네이트, 폴리(메타)아크릴레이트, 폴리술폰 등의 재료로 구성되어 있어도 된다. 또한 통형상 용기(61)의 양단면(61a, 61b)은 복수의 중공사막이 개구된 상태로 되어 있다. 중공사막 모듈(33)의 길이 방향의 양단부에는, 제1 액의 출입구(33a) 및 제2 액의 출입구(33b)가 설치되어 있다. 또 중공사막 모듈(33)의 길이 방향의 측면부에는, 제3 액의 출입구(33c, 33d)가 설치되어 있다. 제1 액의 출입구(33a) 및/또는 제2 액의 출입구(33b)로부터 공급된 액은, 중공사막 다발(60)의 내측으로 송액되어 정제, 농축된다. 또 중공사막 다발(60)의 외측으로 투과한 투과액은 통형상 용기(61)의 측면에 설치된 제3 액의 출입구(33c, 33d)로부터 배출된다. 또한 제3 액의 출입구는 통형상 용기(61)의 측면 상부 및 측면 하부의 적어도 2개소에 설치되는 것이 바람직하다. 도 7에서는, 제3 액의 출입구(33c, 33d)가 중공사막 모듈(33)의 일방의 측면부만에 설치된 구성으로 되어 있지만, 이것에 한정되지 않는다. 제3 액의 출입구(33c, 33d)는 일방의 측면부와 타방의 측면부로 나뉘어 설치되어 있어도 된다.
- [0133] 도 7은 내압식의 중공사막 모듈을 예시했지만, 본 개시의 중공사막 모듈은 상기 서술한 바와 같이 외압식이어도 된다. 외압식의 경우, 제1 내지 제3 액의 출입구의 설치 개소 및 설치 방법을 적절하게 설계하는 것이 필요하다.
- [0134] (중공사막 모듈의 충전율)
- [0135] 본 개시의 중공사막 모듈에 있어서의 충전율은 5~55%가 바람직하고, 20~55%가 보다 바람직하며, 25~55%가 더욱 바람직하다. 상기 충전율이란 중공사막 모듈의, 일반적으로는 통형상 용기의 짧은 방향의 단면적에 차지하는, 중공사막 다발의 외경부의 단면적의 총합의 백분율을 가리킨다. 상기 충전율이 5~55%이면, 중공사막 모듈의 크기를 최적화하면서, 중공사막의 막 표면에 퇴적된 미소 유용 물질을 보다 효율적으로 회수할 수 있다.
- [0136] 이하, 본 개시의 정제농축부(30)가 중공사막 모듈(33)을 갖추는 경우의 태양에 대해 도면을 사용하여 설명한다.
- [0137] 도 8~11에 정제농축부(30)의 몇가지의 대표적인 개략 구성도를 나타낸다. 또한 본 개시의 정제 농축 장치(1)에는 개략 구성도에서는 생략하는 밸브, 자동 밸브, 역류 방지 밸브, 오리피스, 유량계, 압력계, 액위계, 파열판 등의 안전 장치 등이 포함되는 경우가 있다.
- [0138] 도 8에 나타내는 정제농축부(30)는, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)와, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)에 접속된 중공사막 모듈(33)과, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)를 가압하는 가압 장치(34)를 갖춘다. 가압 장치(34)는 가스 공급로(52)를 통하여 삼방 밸브(76)와 접속되어 있다.
- [0139] 제2 탱크(31)는 원료공급부(10) 또는 제거부(20)로부터 공급된 액, 즉 원료액 또는 조정제액을 저류하는 탱크이며, 중공사막 모듈(33)의 제1 액의 출입구(33a)와 유로(51A)를 통하여 접속되어 있다. 또 제3 탱크(32)는 제2

탱크(31)와 마찬가지로 원료액 또는 조정제액을 저류하는 탱크이며, 중공사막 모듈(33)의 제2 액의 출입구(33b)와 유로(51B)를 통하여 접속되어 있다. 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)의 상부는 가압 장치(34)에 접속되어 있다. 제2 제어부(120)(도시하지 않음)는 가압 장치(34)를 작동시켜, 삼방 밸브(76)의 전환을 행함으로써, 제2 탱크(31) 또는 제3 탱크(32) 중 어느 하나를 선택적으로 가압하여, 제2 탱크(31) 또는 제3 탱크(32) 내의 원료액 또는 조정제액이 중공사막 모듈(33)에 교대로(선택적으로) 공급되도록 제어한다. 제2 탱크(31) 또는 제3 탱크(32)로부터 배출된 액은, 중공사막 모듈(33)로 정제, 농축된 후, 타방의 탱크까지 송액된다. 이하, 제2 탱크(31) 내에 저류된 액이며, 정제 농축 처리가 완료되기 전의 액을 「제2 저류액」이라고 기재하고, 제3 탱크(32) 내에 저류된 액이며, 정제 농축 처리가 완료되기 전의 액을 「제3 저류액」이라고 기재한다. 또한 도 8에서는, 유로(42, 43)가 제2 탱크(31)에 접속된 구성으로 되어 있지만, 유로(42, 43)는 제3 탱크(32)에 접속된 구성으로 해도 된다. 또한 제2 제어부(120)의 상세에 대해서는 후술한다.

[0140] (가압 장치)

[0141] 본 개시의 가압 장치(34)는 가스 공급원으로부터의 가스를 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내에 공급한다. 가압을 위한 가스는 제2 제어부(120)(도시하지 않음)에 의해 삼방 밸브(76)가 전환되어, 압력계(도시하지 않음)를 갖춘 가스 공급로(52A, 52B)로부터 제2 탱크(31) 또는 제3 탱크(32)에 공급된다. 가스로서는 질소, 아르곤, 헬륨 등의 불활성 가스, 이산화탄소, 여과 공기 등으로부터 선택할 수 있다.

[0142] 가압 장치(34)로 제2 탱크(31)를 가압하는 경우, 제2 제어부(120)(도시하지 않음)는 가스 공급원(도시하지 않음)으로부터의 가스를 가스 공급로(52)에 공급하고, 삼방 밸브(76)를 전환하여 가스 공급로(52A)에 보낸다. 이 때, 가스 제거로(53A)의 개폐 밸브(74), 유로(42, 43)를 접속하는 삼방 밸브(77)를 닫고, 가스 제거로(53B)의 개폐 밸브(75)를 연다. 한편, 가압 장치(34)로 제3 탱크(32)를 가압하는 경우, 제2 제어부(120)는 가스 공급원(도시하지 않음)으로부터의 가스를 가스 공급로(52)에 공급하고, 삼방 밸브(76)를 전환하여 가스 공급로(52B)에 보낸다. 이 때, 가스 제거로(53B)의 개폐 밸브(75), 삼방 밸브(77)를 닫고, 가스 제거로(53A)의 개폐 밸브(74)를 연다. 이러한 조작에 의해, 가압 장치(34)로 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)를 선택적으로 가압할 수 있다.

[0143] (제2 탱크 및 제3 탱크)

[0144] 본 개시의 정제 농축 장치(1)에 있어서, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)는, 육안이나 후술하는 카메라로 제2 저류액 및 제3 저류액의 액면 위치를 관찰할 수 있도록 투명성을 가지고 있는 것이 바람직하다. 또 탱크의 내벽면에 제2 저류액 또는 제3 저류액이 부착되어 잔류하는 것을 방지하는 관점에서는, 발수성을 가지는 재료로 구성되어 있는 것이 보다 바람직하다. 구체적으로는, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)는 폴리아크릴로니트릴; 폴리(메타)아크릴산에스테르 등의 폴리(메타)아크릴레이트; 폴리카보네이트; 불소 수지 등을 포함하는 재료로 구성되어 있는 것이 바람직하다. 또한 후술하는 탱크 내 액량 감시 장치 등에 의해 제2 탱크(31) 또는 제3 탱크(32)의 액의 출입구의 투명 부분의 액위를 관리하는 경우, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)의 소재는 불투명한 재료, 예를 들면 금속제나 섬유 강화 수지제의 탱크를 사용할 수 있다.

[0145] 도 8에 나타내는 정제농축부(30)에서는, 제2 저류액은 유로(51A)를 통하여 제1 액의 출입구(33a)로부터 중공사막 모듈(33) 내로 들어가고, 중공사막 다발(60)로 정제, 농축된 후, 제2 액의 출입구(33b)로부터 배출되어, 제3 탱크(32)까지 송액된다. 이 경우, 중공사막 다발(60)의 길이 방향의 막 표면에 대하여 액이 평행하게 흐르는, 탄젠셜 플로우 여과에 의해 제2 저류액이 정제, 농축된다. 또 중공사막 다발(60)을 투과한 투과액은 중공사막 모듈(33)의 제3 액의 출입구(33c, 33d)에 접속된 유로(54)로부터 폐액 탱크(후술한다)로 배출된다.

[0146] 마찬가지로, 제3 저류액은 유로(51B)를 통하여 제2 액의 출입구(33b)로부터 중공사막 모듈(33) 내로 들어가고, 중공사막 다발(60)로 정제, 농축된 후, 제1 액의 출입구(33a)로부터 배출되어 제2 탱크(31)까지 송액된다. 이 경우도, 중공사막 다발(60)의 길이 방향의 막 표면에 대하여 액이 평행하게 흐르는, 탄젠셜 플로우 여과에 의해 제3 저류액이 정제, 농축된다. 이 조작을 교대로 반복함으로써, 중공사막 표면에 미소 유용 물질이나 불순물이 퇴적되기 어려워진다. 그 결과, 액의 투과 속도의 저하를 억제하여, 처리 효율을 높게 유지할 수 있다. 즉, 액을 교호 탄젠셜 플로우 여과함으로써, 미소 유용 물질을 보다 고순도 또한 보다 고농도로 포함하는 액을 보다 효율적으로 제조할 수 있다.

[0147] 제2 제어부(120)는 제2 저류액 및 제3 저류액의 양을 설정하고, 이들 제2 및 제3 저류액이 설정된 값이 되도록, 가압 장치(34)와 개폐 밸브를 제어하여, 제2 탱크(31) 또는 제3 탱크(32)를 교대로 가압할 수 있다.

[0148] 도 8의 정제농축부(30)는 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 액량을 감시하는 장치를 갖춘 구성으로 할 수 있

다. 이 구성에 의하면, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 액량을 파악할 수 있기 때문에, 보다 효율적으로 교호 탄젠셜 플로우 여과를 행할 수 있다.

[0149] 도 9에 나타내는 정제농축부(30)는, 도 8에 나타내는 정제농축부(30)와 동일한 구성을 가짐과 아울러, 추가로 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)가 탱크 바닥부의 액의 출입구에 광 센서(도시하지 않음)를 포함하는 탱크 내 액량 감시 장치(35, 36)를 각각 갖추고 있다. 탱크 내 액량 감시 장치(35, 36)는 광 센서로 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)의 액의 출입구에 광을 조사하여, 액의 출입구에 있어서의 광의 투과율을 검출하고, 상기 투과율의 변화에 기초하여 탱크 내의 액량을 감시하도록 구성되어 있다. 제2 제어부(120)(도시하지 않음)는 탱크 내 액량 감시 장치(35, 36)로 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 제2 저류액 및 제3 저류액의 액량을 판단하여, 가압 장치(34)로 가압할 탱크를 결정한다.

[0150] (탱크 내 액량 감시 장치)

[0151] 본 개시의 탱크 내 액량 감시 장치(35, 36)는 광 센서를 갖춘다. 광 센서는 투광 소자 및 수광 소자를 갖추고 있어, 투광 소자로부터 탱크 바닥부의 액의 출입구를 향하여 광을 조사하고, 광의 투과광의 강도(투과율)를 수광 소자로 검출한다. 또한 탱크 바닥부의, 액의 출입구의 광이 조사되는 부분은 투명한 소재로 구성되어 있다. 검출한 투과율은 또한 검출부에 송신된다. 검출부가 투과율의 변화를 검출하면, 제2 제어부(120)는 가압 장치(34)로 가압할 탱크를 변경한다.

[0152] 탱크 내 액량 감시 장치와 제2 제어부의 관계에 대해, 보다 구체적으로 설명한다.

[0153] 제2 탱크(31)가 가압 장치(34)로 가압되어, 제2 저류액이 제3 탱크(32)를 향하여 공급되고 있는 경우, 제2 탱크(31) 내의 제2 저류액의 양이 저하되면, 가압 장치(34)로부터 공급된 가스가 제2 탱크(31)의 액의 출입구로부터 배출되어, 액의 출입구 내의 광의 투과율이 변화한다. 탱크 내 액량 감시 장치(35)가 투과율의 변화를 검출하면, 제2 제어부(120)(도시하지 않음)는 삼방 밸브(76)를 전환하여 가압 장치(34)로 가압할 탱크를 제2 탱크(31)로부터 제3 탱크(32)로 변경한다. 마찬가지로, 제3 탱크(32)의 액의 출입구에 설치된 탱크 내 액량 감시 장치(36)가 투과율의 변화를 검출하면, 제2 제어부(120)는 삼방 밸브(76)를 전환하여, 가압 장치(34)로 가압할 탱크를 제3 탱크(32)로부터 제2 탱크(31)로 변경한다. 탱크 내 액량 감시 장치(35, 36)는 파이버 센서여도 된다. 이와 같이 하여, 제2 제어부(120)는 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 액을 중공사막 모듈에 교대로 공급하도록 제어할 수 있다.

[0154] 그 밖의 실시형태에 있어서는, 정제농축부(30) 내에 배치된 카메라의 영상을 바탕으로, 탱크 내의 액량을 감시해도 된다. 즉, 정제농축부(30)가 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 액면 위치를 감시하는 카메라를 갖추고, 제2 제어부(120)는 상기 카메라로부터 출력된 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 액면 위치의 정보로부터 탱크 내의 액량을 파악하여, 가압 장치(34)로 가압할 탱크를 결정해도 된다. 구체적으로는, 정제농축부(30)는 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)의 액면을 관찰할 수 있는 위치에 카메라를 갖추고 있고, 상기 카메라로부터 출력된 액면 위치의 영상은 검출부에 송신된다. 검출부는 액면 위치의 정보로부터 제2 탱크(31) 및 제2 탱크(31) 내의 액량을 판단한다. 예를 들면 검출부가 카메라의 액면 위치의 정보로부터 제2 탱크(31) 내의 제2 저류액의 양이 미리 설정한 양 이하가 되었다고 판단한 경우, 제2 제어부(120)는 삼방 밸브(76)를 전환하여, 가압 장치(34)로 가압할 탱크를 제2 탱크(31)로부터 제3 탱크(32)로 변경한다. 마찬가지로, 검출부가 제3 탱크(32) 내의 제3 저류액의 양이 미리 설정한 양 이하가 되었다고 판단한 경우, 제2 제어부(120)는 삼방 밸브(76)를 전환하여, 가압 장치(34)로 가압할 탱크를 제3 탱크(32)로부터 제2 탱크(31)로 변경한다.

[0155] (제2 제어부)

[0156] 제2 제어부(120)의 액의 유통 제어에 있어서의 판단의 일례를 도 16의 플로우차트에 나타낸다. 도 16에 나타내는 바와 같이, 제2 제어부(120)는 주로 제2 탱크(31)와 제3 탱크(32) 사이에서 액(조정제액 또는 원료액)을 유통시키기 위해서, 개폐 밸브나 가압 장치를 조작할 수 있다. 또 제2 제어부(120)는 탱크 내 액량 감시 장치(35, 36) 및/또는 카메라에 의한 정보에 기초하여 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 액량을 판단하여, 탱크 내의 액을 유통시킬 수 있다. 또한 제2 제어부(120)는 제2 탱크(31) 및/또는 제3 탱크(32) 내의 액량을 설정할 수도 있다. 탱크 내의 액량의 설정 방법의 일례(관리 액면 위치(C)의 설정)에 대해서는 후술한다.

[0157] 도 10의 정제농축부(30)는 중공사막 모듈(33)에 회석액을 공급하여, 중공사막 다발(60) 내의 복수의 중공사막을 세정하는 세정 탱크를 갖춘다. 도 10에 나타내는 정제농축부(30)는, 회석액을 저류하고, 상기 회석액을 중공사막 모듈(33)의 제3 액의 출입구(33c, 33d)에 공급하는 유로(55A)가 접속된 제4 탱크(80)와, 제4 탱크(80) 내의 상기 회석액을 중공사막 모듈(33)의 제3 액의 출입구(33c, 33d)에 공급하는 타이밍을 제어하는 제3 제어부

(130)(도시하지 않음)를 갖추고 있다. 제4 탱크(80)에는 탱크 내의 회석액을 제3 탱크(32)(또는 제2 탱크(31))에 직접 공급하는 유로(55B)가 접속되어 있다.

[0158] (제3 제어부)

[0159] 제3 제어부(130)는 제4 탱크(80) 내의 회석액의 유통을 제어한다. 제3 제어부(130)의 액의 유통 제어에 있어서의 판단의 일례를 도 16의 플로우차트에 나타낸다. 제3 제어부(130)는 액의 정제 농축 처리시에, 제4 탱크(80)로부터, 제3 탱크(32), 또는 중공사막 모듈(33) 중 어느 하나에 회석액을 공급할 수 있다. 이하, 제3 탱크(32)에 회석액을 공급하는 것을 「회석 처리」라고 기재하고, 중공사막 모듈(33)에 회석액을 공급하는 것을 「역세정 처리」라고 기재한다.

[0160] (회석액)

[0161] 회석액은 본 개시의 목적이나 미소 유용 물질의 종류에 따라, 예를 들면 순수; 수도수, 지하수, 해수 또는 하천수 등의 여과수; 각종 수용액 등을 사용할 수 있다. 미세 유용 물질이 엑소좀인 경우에는, 생리식염수, 의약품 또는 생화학용의 완충액이 바람직하다. 상기 완충액으로서는 예를 들면 인산 완충액(PBS), 트리스염산 완충액, 구연산나트륨 완충액, 구연산인산 완충액, 아세트산 완충액, 붕산 완충액 등을 사용할 수 있다.

[0162] 회석액은 본 개시의 목적에 따라 불순물을 포함하지 않는 것이 바람직하지만, 불순물을 포함하지 않는 회석액의 입수가 곤란한 경우에는, 불순물 농도가 낮은 것(예를 들면 불순물 농도가 500ppm 미만인 것)을 사용할 수 있다.

[0163] 상기 회석액은 미소 유용 물질을 포함하는 원료액의 양(A)에 대한 제2 탱크(31)(또는 제3 탱크(32)) 내의 농축된 액의 양(B)(B/A)이 1/2~1/200이 된 경우에, 제2 탱크(31)(또는 제3 탱크(32)) 내에 있는 농축액에 공급할 수 있다. 그 때, 상기 농축액의 양(B)은 후술하는 방법으로 설정된 관리 액면 위치(C)의 액량과 동일해도 된다.

[0164] 또한 제1 탱크(23)로부터 조정제액이 제2 탱크(31)에 공급되면(또는 유로(43)를 통하여 원료액이 제2 탱크(31)에 공급되면), 제3 제어부(130)는 회석 처리를 행할 수 있다. 제3 제어부(130)는 탱크 내 액량 감시 장치(35) 및/또는 카메라의 액면 위치 정보에 기초하여 제2 탱크(31) 내에 조정제액 또는 원료액이 공급된 것을 판단할 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 제3 제어부(130)는 조정제액의 양이 1/2~1/200의 액량이 될 때까지 교호 탄젠셜 플로우 여과하여 농축 정제를 행한 후, 설정 액량이 될 때까지 회석 처리(또는 역세정 처리)를 실시하고, 회석액을 공급할 수 있다. 회석 처리를 행하는 경우, 제3 제어부(130)는 삼방 밸브(77A)를 유로(55B)측으로 열어, 제4 탱크(80) 내의 회석액을 제3 탱크(32)에 공급한다.

[0165] 제3 제어부(130)는 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 액의 합계량이 미리 설정된 액량 이하(예를 들면 후술하는 방법으로 설정된 관리 액면 위치(C) 이하)가 되었다고 판단한 경우에, 역세정 처리를 행할 수 있다. 역세정 처리를 행하는 경우, 제3 제어부(130)는 삼방 밸브(77A)를 유로(55A)측으로 연다. 제4 탱크(80) 내의 회석액은 유로(55A)를 통하여 중공사막 모듈(33)의 제3 액의 출입구(33c 및 33d)로부터 모듈 내에 공급된다. 그 후, 중공사막 다발(60)의 투과액측으로부터 농축액측을 향하여 회석액이 흐른다. 중공사막 모듈(33)이 내압식인 경우, 제3 액의 출입구(33c 및 33d)로부터 모듈 내에 공급된 회석액은 중공사막 다발(60)의 외측으로부터 내측을 향하여 흐른다. 이것에 의해, 중공사막의 막 표면, 특히 중공사막 내부의 막 표면에 퇴적된 미소 유용 물질을, 제1 액의 출입구(33a) 및/또는 제2 액의 출입구(33b)로부터 제2 탱크(31) 및/또는 제3 탱크(32)로 회수할 수 있다. 이 처리에 의해, 중공사막 표면에 퇴적된 미소 유용 물질이나 불순물이 박리되어, 액의 투과 속도가 거의 원래의 값까지 회복된다. 또 회석액으로 액이 회석됨으로써 불순물이 균일하게 분산되어, 제거 효율이 높아진다. 그 결과, 액의 정제, 농축의 효율을 보다 높일 수 있다.

[0166] 또한 역세정을 실시하기 전에는, 중공사막 모듈 중에 잔존하고 있는 투과액이 역세정액에 섞여 농축액측으로 유입되는 것을 방지하기 위해서, 세정액(회석액)으로 미리 플러싱 처리를 행하고, 중공사막 모듈 중에 잔존하고 있는 투과액을 세정액(회석액)으로 치환하는 조작을 임의로 행할 수 있다.

[0167] 이 때, 세정액(회석액)의 사용량은 중공사막 모듈 중에 잔존하고 있는 투과액 용량의 1~8배량이 바람직하고, 2~6배량이 보다 바람직하다.

[0168] 어느 종류의 배양 상청액 중의 어느 종류의 세포외소포의 농축 정제를 행하는 경우에 있어서, 역세정 전에 플러싱 조작을 실시한 경우, 플러싱 조작을 실시하지 않는 경우에 비해 불순물 단백질 잔존량을 절반 이하로 할 수 있는 경우가 있다.

[0169] 중공사막 모듈(33)이 내압식인 경우, 도 7에 있어서의 제3 액의 출입구(33c 또는 33d)의 어느 일방을 입구로 하

고, 타방을 출구로 하여 중공사막 모듈 중에 잔존하고 있는 투과액을 세정액(회석액)으로 치환하는 조작을 행할 수 있다.

[0170] 중공사막에는 통액 저항이 있기 때문에, 제3 액의 출입구(33c 및 33d) 중 어느 일방으로부터 회석액을 공급하면, 막측으로의 새어들어감은 적은 상태에서, 중공사막 모듈(33) 중에 잔존하고 있는 투과액을 회석액으로 치환할 수 있다.

[0171] 한편, 예를 들면 제1 액의 출입구(33a) 및 제2 액의 출입구(33b)의 출구 부근의 유로 상에, 도시하지 않는 개폐 밸브를 설치하고, 이 개폐 밸브를 단음으로써, 제1 액의 출입구(33a) 및 제2 액의 출입구(33b)의 상기 액의 유통을 멈출 수도 있다. 이 상태에서, 제3 액의 출입구(33c 및 33d) 중 어느 일방으로부터 회석액을 공급함으로써, 타방의 제3 액의 출입구(33c 또는 33d)로부터 회석액이 배출된다. 이것에 의해, 중공사막 모듈(33) 중에 잔존하고 있는 투과액을 회석액으로 치환할 수 있다.

[0172] 플러싱 처리의 타이밍은 상기 제3 제어부에 의해 제어된다. 예를 들면 제1 액의 출입구(33a) 및 제2 액의 출입구(33b)의 출구 부근의 유로 상에, 도시하지 않는 개폐 밸브가 설치되어 있는 경우에 대해 설명하면, 제3 제어부는 제2 탱크(31) 및 상기 제3 탱크(32) 내의 상기 액량의 합계가 상기 제2 제어부에서 설정한 값 이하가 된 경우에, 상기 제1 액의 출입구(33a) 및 상기 제2 액의 출입구(33b)의 부근에 설치된 개폐 밸브를 닫아 상기 액의 유통을 멈춘 상태에서, 상기 제4 탱크(80) 내의 회석액을 중공사막 모듈(33)이 가지는 적어도 2개의 상기 제3 액의 출입구(33c 및 33d) 중 어느 하나로부터 공급할 수 있다. 이 때, 폐액 탱크에 접속된 유로(54)에 설치되어 있는 개폐 밸브(78)는 열려 있다. 그 후, 상기 제1 액의 출입구(33a) 및 상기 제2 액의 출입구(33b)의 부근에 설치된 개폐 밸브를 열어 상기 제1 액의 출입구(33a) 및 상기 제2 액의 출입구(33b)를 유통 가능한 상태로 하고, 상기 제4 탱크(80) 내의 회석액을 중공사막 모듈(33)이 가지는 적어도 2개의 상기 제3 액의 출입구(33c 및 33d) 중 어느 하나로부터 공급함으로써 역세정을 행할 수 있다.

[0173] 이 때, 폐액 탱크에 접속된 유로(54)에 설치되어 있는 개폐 밸브(78)는 닫혀 있다.

[0174] 도 11에 나타내는 정제농축부(30)는 중공사막 모듈(33)로 정제, 농축시킨 농축액을 회수하는 회수 탱크를 갖는다. 도 11의 정제농축부(30)는 중공사막 모듈(33)의 제1 액의 출입구(33a)와 유로(56)로 접속된 제5 탱크(81)와, 제5 탱크(81)로의, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 액의 회수를 제어하는 제4 제어부(140)(도시하지 않음)를 갖추고 있다. 또한 제5 탱크(81)는 중공사막 모듈(33)의 제2 액의 출입구(33b)에 접속되어 있어도 된다. 도 11에서는, 유로(56)는 유로(51A)를 통하여 중공사막 모듈(33)에 접속된 구성으로 되어 있다. 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)에서 교호 탄젠셜 플로우 여과에 의한 정제 농축 처리가 행해지고 있는 동안은, 개폐 밸브(79)는 닫혀 있다. 정제 농축 처리 후, 개폐 밸브(79)를 열어 가압 장치(34)를 가동시킴으로써, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 농축액을 제5 탱크(81)로 회수할 수 있다. 또한 농축액을 회수하는 탱크는 정제농축부(30) 내 가 아니라 정제 농축 장치 밖에 배치하는 구성으로 해도 된다.

[0175] (제4 제어부)

[0176] 제4 제어부(140)는 제2 탱크(31), 제3 탱크(32) 내의 농축액을 회수하는 타이밍을 제어한다. 제4 제어부(140)의 액의 유통 제어에 있어서의 판단의 일례를 도 16의 플로우차트에 나타낸다.

[0177] 제4 제어부는 탱크 내 액량 감시 장치(35, 36) 및/또는 카메라로 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 농축액의 액량을 판단한다. 농축액의 액량은 후술하는 관리 액면 위치(C)로부터 판단해도 된다. 정제 농축 처리가 끝났다고 판단한 경우, 제4 제어부(140)는 가압 장치(34)로 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)를 가압한다. 이 때, 가스 제거로(53A)의 개폐 밸브(74), 가스 제거로(53B)의 개폐 밸브(75), 개폐 밸브(78), 삼방 밸브(77, 77A)는 닫아 두고, 개폐 밸브(79)를 연다. 탱크 내 액량 감시 장치(35, 36)가 투과율의 변화를 검출한 경우, 또는 상기 카메라의 영상으로부터 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 농축액의 양이 제로가 되었다고 판단한 경우, 제4 제어부(140)는 가압 장치(34)를 정지시키고, 제5 탱크(81)로의 농축액의 회수를 종료한다. 구체적으로는, 제4 제어부(140)는 제5 탱크(81)의 상부의 액의 출입구에 설치된 파이버 센서(도시하지 않음)로 유로(56) 내의 농축액량을 감시하고, 상기 액량이 제로가 되었다고 판단한 경우, 농축액의 회수를 종료해도 된다. 또는 유로(56) 내부의 농축액 회수 조작은 사람이 메뉴얼로 조작할 수도 있다. 또한 유로(56)는 에어 그리퍼 등으로 고정 유지할 수 있다.

[0178] 도 12에 제1 실시형태에 따른 정제 농축 장치의 구성예를 나타낸다. 도 12의 정제 농축 장치(1)는 원료공급부(10), 제거부(20) 및 정제농축부(30)를 포함하는 요소가 하우징 내에 배치되어 있다. 도 12의 정제 농축 장치(1)에 있어서, 하우징의 사이즈는 특별히 한정되지 않는다. 또 정제 농축 장치(1)는 하우징 내의 클린도를 관리

하는 관리부(도시하지 않음)를 갖춘다. 이 구성에 의하면, 정제 농축 장치(1) 내를 청결하게 유지할 수 있고, 미소 유용 물질을 포함하는 액의 오염을 막을 수 있다. 또 하우스(100) 내에 여과 공기를 공급하는 팬필터 장치(91)가 하우스(100)의 상부(정부)에 배치되고, UV 램프(92)가 하우스(100) 내에 배치된 구성으로 되어 있다. 이러한 조합에 의해, 하우스(100) 내의 클린도를 보다 높일 수 있다.

[0179] (팬필터 장치)

[0180] 팬필터 장치(91)는 여과 공기를 하우스(100) 내에 공급할 수 있는 구성을 가지고 있다. 팬필터 장치(91)는 프리필터를 내장한 팬이 부착된 필터 유닛으로 할 수 있다. 프리필터로서는, 하우스(100) 내의 클린도에 따라, HEPA 필터, ULPA 필터, 케미컬 필터, 섬유 활성탄 필터 등을 채용할 수 있다.

[0181] (UV 램프)

[0182] UV 램프(92)는 UV(자외선)를 조사하여 하우스(100) 내를 살균할 수 있는 것이면 특별히 한정되지 않는다. 또 하우스(100) 내에 배치되는 UV 램프(92)의 수도 특별히 한정되지 않으며, 하우스(100) 내의 클린도에 따라 2 이상의 UV 램프를 배치해도 된다.

[0183] (클린도)

[0184] 정제 농축 장치(1)를 하우스(100) 내에 각 요소가 배치된 구성으로 하는 경우, 상기 서술한 관리부에 의해 하우스(100) 내의 클린도를 높일 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 하우스(100) 내의 클린도는 ISO 14644-1:2015에서 규정되는 청정도 클래스에 있어서, 클래스 8 이하가 되도록 관리되어 있어도 되고, 클래스 5 이하가 되도록 관리되어 있어도 된다.

[0185] (미소 유용 물질)

[0186] 미소 유용 물질로서는 특별히 한정되지 않는다. 하나의 실시형태에 있어서는 평균 입경 100 μm 미만의 미소 유용 물질이어도 된다. 또 다른 실시형태에 있어서는, 평균 분자량이 5,000 이상의 미소 유용 물질이어도 된다. 이들 중, 의약품, 화장품, 건강 식품으로서 유용한 물질 전반을 채용할 수 있다.

[0187] 미소 유용 물질의 구체예로서는, 예를 들면 단백질(예를 들면 열 쇼크 단백질, 세포 골격 단백질, 막수송 단백질, 막관통 단백질, 콜라겐, 히알루론산, 콘드로이틴황산 등), 호르몬, 사이토카인, 증식인자, 혈관신생인자, 성장인자, 효소, 항체, 혈장 단백질, 바이러스(바이러스와 같은 입자를 포함한다), 세포외소포(예를 들면 엑소좀, 마이크로베시클, 아포토시스 소체 등), 효모, 이스트 세포 및 미세조류 등의 생체분자, 후코이단 등의 다당류 등을 들 수 있다.

[0188] 그 밖에 생체분자의 일종이며, 바이오 연료 등에 사용되는 특성의 미생물도 들 수 있다.

[0189] 이들 중, 미소 유용 물질은 세포외소포, 항체, 바이러스, 단백질, 효소 및 핵산으로부터 선택되어도 된다.

[0190] [미소 유용 물질이 정제 농축된 액의 제조 방법:제1 실시형태]

[0191] 이하, 본 개시의 정제 농축 장치(1)를 사용한 미소 유용 물질이 정제 농축된 액의 제조 방법에 대해, 도 13을 사용하여 설명한다. 본 개시의 제1 실시형태에 따른 제조 방법은, 정제 농축 장치(1)를 사용하여, 미소 유용 물질이 정제 농축된 상기 액을 제조하는 방법으로서, 상기 미소 유용 물질을 포함하는 원료액을 상기 정제 농축 장치에 공급하고, 상기 액 중의 불순물을 제거하는 것, 및/또는 상기 액을 증공사막으로 정제하고 또한 농축시키는 것을 포함한다.

[0192] 도 13은 본 개시의 정제 농축 장치(1)의 전체 구성의 일례를 나타내는 구성 도이다. 원료공급부(10)는 미소 유용 물질을 포함하는 액의 원료액을 저류하는 용기(11)가 배치된 구성으로 되어 있다. 본 장치를 기동시키면, 삼방 밸브(82)가 열리고, 용기(11) 내의 원료액은 자중에 의한 낙하 및 유로(41A)에 설치된 펌프(도시하지 않음) 등에 의해 유로(59)에 공급된다. 원료액은 삼방 밸브(82)를 조작함으로써 유로(41) 또는 유로(43)에 공급된다. 제1 제어부(110)는 원료액 중의 불순물의 농도에 따라 설정된 정보에 기초하여 원료액을 제거부(20) 또는 정제 농축부(30)에 공급한다. 제1 제어부(110)는 삼방 밸브(82)를 유로(43)측으로 열어, 상기 배양액을 유로(43)로부터 정제농축부(30)에 송액한다.

[0193] 유로(41)에 공급된 원료액은 여과 부재(22)로 전처리된 후, 유로(41C)를 통하여 탱크(24)에 공급된다. 탱크(24) 내의 액량은 레벨 센서(도시하지 않음)에 의한 액면 위치 감시에 의해 제어할 수 있다. 개폐 밸브(73)를 열면, 탱크(24) 내의 전처리액은 유로(41D)로부터 유로(41A)에 공급된다.

- [0194] (불순물 제거 처리)
- [0195] 담체 칼럼(21)까지 공급된 전처리액은 담체 칼럼(21) 내의 흡착제에 의해 액 내의 불순물을 흡착 제거하여 조정 제액으로 한 후, 유로(42A)를 통하여 제1 탱크(23)까지 공급된다. 담체 칼럼(21)에 의한 불순물 제거 처리는 원료액 또는 전처리액 내의 불순물의 농도를 1,000ppm 이하까지 저감시키는 것, 바람직하게는 500ppm 이하까지 저감시키는 것이어도 된다.
- [0196] 하나의 실시형태에 있어서, 불순물 제거 처리는 1배치분의 원료액 처리에 의해 흡착 포화에 이른 담체 칼럼(21)을 세정, 평형화 처리하고, 추가로 다음의 1배치분의 원료액을 처리하는 것을 반복해도 된다.
- [0197] 도 13의 정제 농축 장치(1)는 제6 탱크(25)와 제7 탱크(26)를 갖춘 구성으로 되어 있다. 흡착 포화에 이른 담체 칼럼(21)을 세정, 평형화 처리하는 경우, 우선 개폐 밸브(71A)(전자 밸브 등)를 열어, 제6 탱크(25) 내의 세정액을 유로(50A)를 통하여 여과 부재(22A)에 공급한다. 여과 부재(22A)로 세정액 내의 불순물을 제거한 후, 유로(41A)로부터 담체 칼럼(21)에 세정액을 공급한다. 담체 칼럼(21)을 세정한 후의 세정액은 삼방 밸브(72)를 여는 것으로 폐액 탱크로 배출할 수 있다. 또한 여과 부재(22A)는 여과 부재(22)와 동일한 여과 부재를 채용할 수 있다. 세정 처리 후, 개폐 밸브(71B)(전자 밸브 등)를 열어, 제7 탱크(26) 내의 평형화액을 여과 부재(22B)에 공급한다. 여과 부재(22B)로 평형화액 내의 불순물을 제거한 후, 유로(41A)로부터 담체 칼럼(21)에 평형화액을 공급한다. 담체 칼럼(21)을 평형화한 후의 평형화액은 삼방 밸브(72)를 여는 것으로 폐액 탱크로 배출할 수 있다. 또한 여과 부재(22B)도 여과 부재(22)와 동일한 부재를 채용할 수 있다.
- [0198] 담체 칼럼(21)의 세정 및 평형화는 담체 칼럼(21)으로 처리한 원료액의 양에 따라 임의로 설정할 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서는, 담체 칼럼(21)의 용량의 5~100배의 원료액을 처리한 경우에, 담체 칼럼(21)의 세정, 평형화를 행해도 된다. 예를 들면 1,000mL의 원료액을 처리하는 경우, 담체 칼럼(21)으로 원료액을 20~150mL 처리할 때마다, 담체 칼럼(21)의 세정, 평형화 처리를 행할 수 있고, 50~100mL 처리할 때마다, 세정, 평형화 처리를 행할 수도 있다.
- [0199] 본 개시의 제조 방법에 있어서는, 담체 칼럼(21)으로 원료액 중의 불순물을 제거하는 것 및 정제농축부(30)의 중공사막으로 액을 정제하고 농축시키는 것이 병행하여 행해지는 것이 바람직하다. 이 경우, 보다 효율적으로 미소 유용 물질이 정제 농축된 액을 제조할 수 있다.
- [0200] 도 13에서는, 조정제액이 유로(42A)를 통하여 제1 탱크(23)에 저류된다. 상기 서술한 제1 제어부(110)는 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 제2 저류액 및 제3 저류액의 양이 미리 설정된 액량이라고 판단한 경우에, 제1 탱크(23)에 저류된 조정제액을 유로(42B)에 보낸다. 삼방 밸브(77)의 방향을 전환함으로써, 유로(42B)로부터 제2 탱크(31)에 조정제액이 공급된다. 제2 탱크(31) 내(또는 제3 탱크(32) 내)에 조정제액이 공급되면, 제2 제어부(120)(도시하지 않음)는 가압 장치(34)를 가동시켜 교호 탄젠셜 플로우 여과에 의한 정제 농축 처리를 개시한다.
- [0201] 상기 서술한 바와 같이, 본 개시의 제1 실시형태에 따른 정제 농축 장치(1)는 제거부(20)에서의 불순물 제거 처리와, 정제농축부(30)에서의 정제 농축 처리가 병행하여 행해지도록 구성되어도 된다. 그 경우, 각 공정에서 처리된 액을 저류하는 탱크를 복수 배치한 구성으로 하는 것이 바람직하다. 정제 농축 장치(1)를 보다 콤팩트한 구성으로 하는 관점에서, 각 탱크의 배치 위치를 조정해도 된다. 예를 들면 도 13의 정제 농축 장치(1)에서는, 조정제액을 저류하는 제1 탱크(23)가 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)의 상방 위치에 배치된 구성으로 되어 있지만, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)가 제1 탱크(23)의 상방 위치가 되도록 배치해도 된다. 또 도 13에 나타내는 바와 같이, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)의 길이 방향의 측면이 중공사막 모듈(33)의 길이 방향과 평행이 되도록 배치되어도 된다.
- [0202] 이하, 정제농축부(30)로 조정제액(또는 원료액)을 교호 탄젠셜 플로우 여과하는 경우의 바람직한 조작에 대해 설명한다. 하나의 실시형태에 있어서, 조정제액의 정제 농축 처리는 제1 처리로부터 제2 처리 및 제3 처리로 나뉘어 행해지는 것이 바람직하다. 또한 제1 처리를 행하기 전에, 탱크 내의 액량의 설정을 행한다. 이하에 관리 액면 위치(C)를 설정하고 나서 제1 처리를 행하는 예에 대해 설명한다.
- [0203] (관리 액면 위치(C)의 설정)
- [0204] 제1 처리를 행하기 전에, 관리 액면 위치(C)의 양을 설정한다.
- [0205] 제1 탱크(23) 내에는, 항체 칼럼(21)으로 처리된 조정제액이 저류되어 있다. 관리 액면 위치(C)의 액량은 역세정 처리를 개시해야 할 액량과 동일하게, 제1 탱크(23) 내에 저류되는 조정제액의 최대 용량의 1/2 내지 1/200

의 액량이 되도록 미리 설정된다. 제2 탱크(31) 내의 조정제액이 미리 설정된 관리 액면 위치(C)의 양이 되면, 제1 탱크(23) 내의 조정제액을 제2 탱크(31)에 공급할 수 있다. 또한 조정제액이 제2 탱크(31)에 공급된 후에, 제3 제어부(130)가 삼방 밸브(77A)를 유로(55B)측으로 열어, 제4 탱크(80)로부터 회석액을 제2 탱크(31)에 공급한다.

[0206] 관리 액면 위치(C)를 설정한 후, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)의 액면 제어 위치를 설정한다. 제2 탱크(31)를 가압 장치(34)로 가압하여 제3 탱크(32) 내의 회석액을 제2 탱크(31)까지 송액한다. 이 때, 제2 제어부(120)는 제3 탱크(32)의 저액면 위치(L3)를 설정하고, 제3 탱크(32) 내의 회석액이 L3이 될 때까지 제2 탱크(31)에 회석액을 공급한다. 또한 제2 제어부(120)는 제3 탱크(32) 내의 회석액이 L3이 된 경우의, 제2 탱크(31)의 제2 저류액(조정제액과 회석액의 혼합액)의 액면 위치를 고액면 위치(H2)로서 설정한다. 또 제2 탱크(31)의 상부로부터 제2 저류액이 넘치는 것을 막는 관점에서, 고액면 위치의 상방에 고-고액면 위치(HH2)를 설정한다. 이어서 제2 제어부(120)는 제2 탱크(31)를 가압 장치(34)로 가압하여 제3 탱크(32)에 제2 저류액을 송액한다. 이 때, 제2 제어부(120)는 제2 탱크(31)의 저액면 위치(L2)를 설정하고, 제2 탱크(31) 내의 제2 저류액이 L2가 될 때까지 제3 탱크(32)에 제2 저류액을 공급한다. 또한 제2 제어부(120)는 제2 탱크(31)가 L2가 된 경우의 제3 탱크(32)의 액면 위치를 고액면 위치(H3)로서 설정한다. 제3 탱크(32)도 누설을 막는 관점에서 HH3을 설정한다. 제2 제어부(120)는 H2 및 L3, H3 및 L2의 합계 액량으로부터 관리 액면 위치(C)를 설정하고, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 사이의 교호 탄젠셜 플로우 여과가 관리 액면 위치(C)의 범위에서 액을 이동시켜 행해지도록 한다. 또한 L2, L3은 상기 서술한 탱크 내 액량 감시 장치(35, 36)에 의한 탱크의 액의 출입구의 투과율의 변화에 기초하여 설정되어도 되고, 카메라에 의한 액면 위치의 영상에 기초하여 설정되어도 된다.

[0207] 또 L2, L3, H2, H3, HH2 및 HH3의 위치는 제2 탱크(31), 제3 탱크(32)의 용량 및 조정제액의 양에 따라 적절하게 설정 가능하다.

[0208] (정제 농축 처리: 제1 처리)

[0209] 이어서 정제 농축 처리에 있어서의 제1 처리에 대해 설명한다. 관리 액면 위치(C)의 액량을 밑돌지 않도록 제2 제어부(120)는 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)를 가압 장치(34)로 교대로 가압하여, 제2 저류액 및 제3 저류액을 중공사막 모듈(33)에 교대로 공급한다. 이와 같이 교호 탄젠셜 플로우 여과함으로써, 미소 유용 물질을 포함하는 액의 농축 정제 조작을 실시한다. 투과액은 제3 액의 출입구(33c, 33d)로부터 유로(54)를 통하여 폐액 탱크에 폐기된다.

[0210] 제2 탱크(31) 또는 제3 탱크(32)의 액량이 설정값이 된 것을 확인하고, 조정제액의 적량을 제2 탱크(31) 또는 제3 탱크(32)에 추가 공급할 수 있다.

[0211] 또한 제2 탱크(31) 또는 제3 탱크(32)의 액량이 관리 액면 위치(C)의 액량과 동일하게 되었을 때는, 역세정 처리를 하는 것이 바람직하다.

[0212] 역세정 처리에 사용되는 회석액량으로서는, 관리 액면 위치(C)의 액량의 2배~200배로 할 수 있다. 상기한 회석액량으로서는 제2 탱크(31) 또는 제3 탱크(32)의 용적이 필요 이상으로 커지지 않는 관점으로서, 관리 액면 위치(C)의 액량의 2배~20배가 바람직하다. 또 역세정 처리에 사용되는 회석액량은 역세정 조작 때마다 적절하게 변경할 수도 있다. 또한 역세정 처리를 실시하는 타이밍으로서는, 제2 탱크(31) 또는 제3 탱크(32)의 액량이 관리 액면 위치(C)의 액량과 동일하게 된 경우 이외에도 적절하게 실시할 수 있다. 그 일례로서, 압력 변동이나 유량 변동의 상황으로부터 투과 속도의 저하가 우려되는 경우, 또는 투과 속도의 저하 경향을 판단할 수 있는 경우, 중공사막의 폐색 발생을 미연에 방지하기 위한 안전 조작을 실시하는 경우 등을 들 수 있다.

[0213] 또 상기 회석액의 일부를 회석 처리로서 제2 탱크(31) 또는 제3 탱크(32)에 직접 송액할 수도 있다.

[0214] 회석 처리에 사용하는 회석액의 양은 회석 조작 때마다 적절하게 변경할 수도 있다.

[0215] 하나의 실시형태에 있어서, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)는 중공사막 모듈(33)의 막면에 있어서의 선속도가 0.3m/초~2m/초가 되도록 가압 장치(34)로 가압되는 것이 바람직하다. 또한 「막면에 있어서의 선속도」란 $1m^2$ 의 막면에 대하여 흐르는 미소 유용 물질을 포함하는 액의 1초당의 유량(m^3)이며, 단위는 m/초이다. 막면에 있어서의 선속도가 0.3~2.0m/초가 되도록 가압 장치(34)로 탱크를 가압하는 것에 의해, 정제 농축 효율이 향상되기 쉽고, 또 막면 속도를 상승시키기 위한 압력 레벨이 지나치게 높아지지 않고, 미소 유용 물질에 가해지는 전단력이 지나치게 높아져 미소 유용 물질이 변형하는 것을 막기 쉽다. 가압 장치(34)에 의한 탱크 내의 가압은 상기 막면에 있어서의 선속도가 0.5~1.5m/초가 되는 범위에서 행해져도 된다.

- [0216] 중공사막 모듈(33)의 운전 압력은 액의 입구 압력을 0.01MPa~0.2MPa로 조정하는 것이 바람직하고, 0.02MPa~0.15MPa로 조정하는 것이 보다 바람직하며, 0.03MPa~0.12MPa로 조정하는 것이 더욱 바람직하다.
- [0217] 또 미소 유용 물질을 포함하는 액의 운전시의 액 점도가 액온 20℃, 전단 속도 25s⁻¹에 있어서의 액 점도로, 10~30mPa·s인 경우에는, 막면에 있어서의 선속도를 0.7~1.4m/초로 할 수 있도록, 중공사막의 평균 내경은 1.0mm~1.4mm의 굵은 직경 중공사막을 사용할 수 있다. 그 때의 운전 압력은 액의 입구 압력을 0.08MPa~0.2MPa로 조정하는 것이 바람직하다.
- [0218] 중공사막은 중공사막 표면의 내파울링성을 향상시키기 위해서, 밧/또는 미소 유용 물질의 회수율을 높이기 위해서 적절한 물질이 코팅 처리되어 있어도 된다. 코팅 처리의 방법에 대해서는 상기 서술한 바와 같다.
- [0219] 제1 처리에서는, 조정제액의 양이 상기한 방법에 의해 미리 설정한 관리 액면 위치(C)의 양과 동일한 액량이 될 때까지 정제 농축 처리를 행하는 것이 바람직하다. 정제 농축 처리 후, 제3 제어부(130)는 제4 탱크(80)로부터 회석액을 공급한다. 회석액은 관리 액면 위치(C)의 액량의 2배~200배의 값이 될 때까지 공급할 수 있다. 즉, 제1 처리에서는 농축액을 2배~20배 회석하는 것을 포함할 수 있다.
- [0220] 회석액은 제3 탱크(32)에 직접 공급되어도 되고(회석 처리), 중공사막 모듈(33)로부터 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)에 공급해도 된다(역세정 처리). 역세정 처리를 행하는 경우, 도 13의 정제 농축 장치(1)에서는, 삼방 밸브(77A)의 방향을 유로(55A)측으로 열어, 중공사막 모듈(33)의 제3 액의 출입구(33c, 33d)로부터 회석액을 공급한다. 중공사막 모듈(33)로부터 공급된 회석액은 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)까지 공급된다. 역세정 처리를 행함으로써, 중공사막의 막 표면에 퇴적된 미소 유용 물질을 회수하면서, 농축된 액도 회석할 수 있기 때문에 바람직하다. 이하, 제1 처리에 의해 얻어진 액을 「제1 처리액」이라고 기재한다.
- [0221] (정제 농축 처리:제2 처리)
- [0222] 제1 처리액을 추가로 제2 처리하여, 보다 미소 유용 물질이 정제 농축된 액을 얻는다.
- [0223] 상기 서술한 제1 처리에 의해 제1 처리액 내의 불순물 농도가 저감되어 있기 때문에, 제2 처리는 더욱 제1 처리액 내의 불순물의 양이 적어지도록(즉, 미소 유용 물질의 순도를 높일 수 있도록) 처리하는 것이 바람직하다. 하나의 실시형태에 있어서, 제2 처리는 농축액의 양이 관리 액면 위치(C)로 설정한 값에 대하여, 역세정 처리나 회석 처리로 관리 액면 위치(C)의 액량의 2배~200배의 회석액을 가한 후, 또한 관리 액면 위치(C)의 액량이 될 때까지 정제 농축 조작을 반복하는 것이 바람직하다. 즉, 제2 처리에서는, 농축액을 2배~20배 회석하는 것을 포함할 수 있다. 제1 처리와 동일하게, 회석액은 제3 탱크(32)에 직접 공급되어도 되고(회석 처리), 중공사막 모듈(33)로부터 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)에 공급해도 된다(역세정 처리). 정제 농축 처리와 회석 처리를 조합한 제2 처리는 2~20세트 행해지는 것이 바람직하고, 2~10세트 행해지는 것이 보다 바람직하다. 이하, 상기 서술한 제2 처리에 의해 얻어진 농축액을 「제2 처리액」이라고 기재한다.
- [0224] (정제 농축 처리:제3 처리)
- [0225] 제2 처리액을 추가로 제3 처리하여, 보다 미소 유용 물질이 정제 농축된 액을 얻을 수도 있다. 제3 처리에서는 회석액은 사용하지 않고, 교호 탄젠셜 플로우 여과 조작만을 필요 정도에 따라 실시할 수 있다. 이하, 상기 서술한 제3 처리에 의해 얻어진 농축액을 「제3 처리액」이라고 기재한다.
- [0226] (회수 처리)
- [0227] 본 개시의 제조 방법은, 제2 처리액 또는 제3 처리액을 회수하는 것을 포함하고 있어도 된다. 제2 탱크(31), 제3 탱크(32) 및 중공사막 모듈(33) 내의 제2 처리액은 가압 장치(34)로 가압됨으로써 유로(56)를 통하여 제5 탱크(81)로 회수할 수 있다. 제4 제어부(140)는 가압 장치(34)로 가압할 때, 개폐 밸브(79)를 열고, 개폐 밸브(74, 75, 78), 삼방 밸브(77, 77A)는 닫아 둔다. 상기 서술한 바와 같이, 제4 제어부(140)는 제5 탱크(81)의 상부의 액의 출입구에 설치된 파이버 센서로 유로(56) 내의 농축액량을 감시하고, 상기 액량이 제로가 되었다고 판단한 경우, 농축액의 회수를 종료해도 된다. 또는 유로(56) 내부의 농축액 회수 조작은 사람이 매뉴얼로 조작할 수도 있다. 또한 유로(56)는 에어 그리퍼 등으로 고정 유지할 수 있다.
- [0228] (플러싱 처리)
- [0229] 역세정을 실시하기 전에는, 중공사막 모듈 중에 잔존하고 있는 투과액이 역세정액에 섞여 농축액측으로 유입되는 것을 방지하기 위해서, 세정액(회석액)으로 미리 플러싱 처리를 행하여, 중공사막 모듈 중에 잔존하고 있는 투과액을 세정액(회석액)으로 치환하는 조작을 임의로 행할 수 있다. 플러싱 처리의 방법에 대해서는 상기 서술

한 바와 같다.

- [0230] (회수 처리 직전에 있어서의 중공사막면에 퇴적되어 있는 미소 유용 물질 세출(洗出) 조작)
- [0231] 본 개시의 제조 방법은, 회수 처리 직전에 있어서의 중공사막면에 퇴적되어 있는 미소 유용 물질 세출 조작을 포함하고 있어도 된다.
- [0232] 일례로서 어느 종류의 배양 상청액 중의 어느 종류의 세포외소포의 농축 정제를 행하는 경우에 있어서, 중공사막면에 비교적 강고하게 퇴적되어 있는 세포외소포는 농축액에 분산되어 있지 않기 때문에 상기 회수 처리에서는 회수율이 낮아지는 일이 있다. 그 때문에 중공사막면에 퇴적되어 있는 세포외소포를 소량의 역세정액(회석액)에 의해 농축액 중에 재분산시키는 조작 공정을 회수 처리 직전의 타이밍에 실시할 수 있다. 이 때, 플러싱 조작을 충분히 실시하고, 사용하는 역세정액(회석액)을 소량으로 하는 것이 바람직하고, 사용하는 역세정액(회석액) 용량은 일례로서 제1 유로의 용량의 절반량으로부터 2배량이 바람직하다.
- [0233] 이 때의 통액 속도는 정제 농축 공정에 있어서의 통액 속도와 동등하게 할 수 있다.
- [0234] [그 밖의 실시형태:미소 유용 물질을 포함하는 액의 단계적 정제 농축]
- [0235] 본 개시의 제1 실시형태에 따른 제조 방법에 있어서의 그 밖의 실시형태는, 미소 유용 물질을 포함하는 액의 단계적 정제 농축을 포함하는, 정제농축액의 제조 방법이다. 미소 유용 물질을 포함하는 액의 정제 농축을 단계적으로 실시하는 방법으로서, 둘 이상의 평균 내경의 중공사막 모듈을 사용하여 2단계 이상의 정제 농축 처리를 행하는 것을 예시할 수 있다. 구체적으로는, 본 개시의 평균 내경이 0.6mm~1.0mm의 중공사막 모듈(33)을 사용하여 1단계제의 정제농축액을 얻고, 이어서 평균 내경이 1.0mm~1.4mm의 중공사막 모듈 장치를 사용하여 최종적인 정제농축액을 얻는 방법을 들 수 있다.
- [0236] [제2 실시형태]
- [0237] 이어서 본 개시의 정제 농축 장치의 제2 실시형태에 대해, 도면을 사용하여 설명한다. 또한 이하의 기재에 있어서, 제1 실시형태와 동일한 구성을 가지는 것은 동일한 부호를 사용하고, 그 상세한 설명을 생략한다.
- [0238] 도 14는 본 개시의 제2 실시형태의 정제 농축 장치(2)(이하, 「정제 농축 장치(2)」라고 기재한다)의 일례를 나타내는 개략 구성도이다. 본 개시의 정제 농축 장치(2)는, 원료공급부(10)와, 원료공급부(10)로부터 공급된 액을 중공사막 모듈(33)로 정제하고 농축시키는 정제농축부(30)를 포함하고, 중공사막 모듈(33)은, 상기 액을 중공사막에 공급하기 위한, 제1 액의 출입구(33a) 및 제2 액의 출입구(33b)와, 상기 중공사막을 투과한 상기 액을 배출하기 위한 제3 액의 출입구(33c, 33d)를 가지고, 정제농축부(30)는, 원료공급부(10)로부터 공급된 상기 액을 저류하고, 상기 중공사막 모듈(33)의 제1 액의 출입구(33a)에 상기 액을 공급하는 유로가 접속된 제2 탱크(31)와, 원료공급부(10)로부터 공급된 상기 액을 저류하고, 중공사막 모듈(33)의 제2 액의 출입구(33b)에 상기 액을 공급하는 유로가 접속된 제3 탱크(32)와, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 중 어느 하나를 선택적으로 가압하는 가압 장치(34)와, 가압 장치(34)로 제2 탱크(31) 또는 제3 탱크(32) 내를 선택적으로 가압하여, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 상기 액을 중공사막 모듈(33)에 교대로 공급하도록 제어하는 제2 제어부(도시하지 않음)와, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 상기 액의 양을 감시하는 감시 장치(도시하지 않음)를 갖추고, 상기 제2 제어부는, 제2 탱크(31) 및 제2 탱크(31) 내의 액량을 설정하고, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 액량이 설정된 값이 되도록, 가압 장치(34)로 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)을 교대로 가압하며, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 상기 액량은 상기 감시 장치의 정보에 기초하여 판단된다.
- [0239] 본 개시의 정제 농축 장치(2)는, 개략 구성도에서는 생략하는 밸브, 자동 밸브, 역류 방지 밸브, 오리피스, 유량계, 압력계, 액위계, 파열판 등의 안전 장치, 제해 설비, 압력 조정 설비, 중간조, 샘플링이나 다단계 분자량 분할 조작 등에 사용할 수 있는 가지치기 설비 등이 포함되는 경우가 있다.
- [0240] 또한 정제 농축 장치(2)에 있어서의 감시 장치에는, 장치 스케일(규모) 등에 따라, 적절하게 기계식 또는 반사식 등의 공지의 액면계(액위계)나 로드셀 등의 중량 감시 장치나 적산 유량계 장치를 단독 또는 복수 병용할 수 있다.
- [0241] 도 14의 정제 농축 장치(2)는 정제 농축 장치(1)의 제거부(20)를 가지지 않는 구성이다. 정제 농축 장치(2)도 자동 제어에 의해 미소 유용 물질을 정제 농축시킬 수 있는 장치로서 유용하다. 이 구성에 의하면, 원료공급부(10) 내의 원료액은 유로(201)를 통하여 직접 정제농축부(30)의 제2 탱크(31)(또는 제3 탱크(32))에 공급된다. 도 14의 정제 농축 장치(2)는 원료액 중의 불순물 농도가 매우 낮은, 고순도의 미소 유용 물질을 포함하는 원료액의 정제 농축 장치로서 유용하다. 도 1~도 13에 나타내는 정제 농축 장치(1)는 제거부(20)와 정제농축부(30)

를 가지고 있고, 또한 제거부(20)에서의 불순물 제거 처리와 정제농축부(30)에서의 정제 농축 처리를 병행하여 행할 수 있다. 즉 정제 농축 장치(1)는 보다 효율적으로 미소 유용 물질이 정제 농축된 농축액을 조제할 수 있는 장치이다. 한편 정제 농축 장치(2)는 제거부(20)를 가지지 않고, 원료공급부(10)로부터 정제농축부(30)에 직접 원료액을 공급하여, 원료액의 정제 농축 처리가 가능하다. 그 때문에 정제 농축 장치(2)는 정제 농축 장치(1)로 조제된 정제농축액을 추가로 정제 농축시키기 위한 장치로서도 유용하다.

[0242] 또 정제 농축 장치(2)를 2개 연결함으로써 3종의 분자량 분획을 할 수 있다. 「3종의 분자량 분획을 할 수 있다」는 것은 제1 막의 투과액과 제1 막의 농축액을 제2 막으로 보내어, 투과액과 농축액으로 분획할 수 있는 것을 가리킨다. 제2 막의 투과액은 제1 막으로 농축시키고, 제1 막의 투과액은 다른 막이나 다른 농축 장치로 농축시킬 수도 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 정제 농축 장치(2)는 정제 농축 장치(1)로 조제된 정제농축액을 저분자량(예를 들면 분획 분자량이 1만~10만인 미소 유용 물질)과 고분자량(분획 분자량이 10만 초과인 미소 유용 물질)으로 분획하기 위한 장치로서도 사용할 수 있다.

[0243] 도 14의 정제 농축 장치(2)에 있어서, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)는 정제 농축 장치(1)와 동일한 구성으로 할 수 있다. 정제 농축 장치(2)는 예를 들면 정제 농축 장치(1)와 같은 장치로 조제된 농축액을 원료액으로서 사용하는 것이 상정되는 점에서, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)의 용적은 정제 농축 장치(1)의 제2 탱크(31), 제3 탱크(32)보다 작게 할 수도 있다. 또 상기 탱크는 정제 농축 장치(1)의 것보다 크게 할 수도 있다. 또 제1 탱크(23)를 생략하는 것도 가능하다. 또한 정제 농축 장치(1)와 마찬가지로, 파이버 센서 등에 의해 제2 탱크(31) 또는 제3 탱크(32)의 액의 출입구의 투명 부분의 액위를 관리하는 경우, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32)의 소재는 불투명한 재료, 예를 들면 금속재나 섬유 강화 수지재의 탱크를 사용할 수 있다.

[0244] 도 14의 정제 농축 장치(2)에 있어서, 이액 장치는 가압 장치(34)만에 한정되는 것은 아니며, 펌프 송액이나 위치에너지지를 이용하는 송액을 단독으로 또는 병용한 송액 장치에 의해 행할 수도 있다.

[0245] 이액에 위치에너지를 사용하기 위해서, 승강 장치 등을 통하여 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 액면의 높이를 제어하는 것이나, 액의 출입구의 높이의 위치를 적절하게 변경할 수도 있다.

[0246] 도 14의 정제 농축 장치(2)에 있어서는, 제2 탱크(31) 또는 제3 탱크(32)의 액에 거품이 이는 것을 억제하기 위해서, 액의 입구의 높이의 위치가 액면보다 높은 경우에는 탱크 상부의 기체를 말려들게 하지 않도록 배관 직경, 송액 유량을 적절하게 조정하거나, 배관 출구로부터 액면까지의 높이를 자동 조정할 수 있는 설비, 파포·탈포 설비 등을 설치할 수 있으며, 경우에 따라 적절한 소포제를 첨가할 수도 있다.

[0247] 도 14의 정제 농축 장치(2)에 있어서, 중공사막 모듈(33) 내의 중공사막은, 중공사막 표면의 내파울링성을 향상시키기 위해서, 밧/또는 정제 농축 효율이나 세포외소포의 회수율을 높이기 위해서, 정제 농축 장치(1)와 마찬가지로, 적절한 물질로 코팅 처리되어 있어도 된다.

[0248] 도 14의 정제 농축 장치(2)에 있어서, 중공사막 모듈(33) 내의 중공사막의 평균 내경은 액의 점도에 따라 적절하게 조정할 수 있다. 하나의 실시형태에 있어서, 중공사막의 평균 내경은 0.2~2.0mm여도 된다. 상기 서술한 정제 농축 장치(1)와 마찬가지로, 액 점도가 높은 경우(예를 들면 액온 20℃, 전단 속도 25s⁻¹에 있어서의 액 점도가 10~30mPa·s인 경우)는 평균 내경이 1.0mm~1.4mm의 굵은 직경 중공사막을 사용하는 것이 바람직하다. 또 미소 유용 물질을 포함하는 액의 운전시의 액 점도가 낮은 경우(예를 들면 액온 20℃, 전단 속도 25s⁻¹에 있어서의 액 점도가 10mPa·s 미만인 경우)는 평균 내경이 0.2mm~1.0mm의 중공사막을 사용하는 것이 바람직하다. 또한 중공사막의 평균 내경이 커지면, 상기 중공사막을 중공사막 모듈로서 사용하는 경우에, 유효 막 면적이 저하되기 쉬워진다. 따라서, 중공사막 모듈로 한 경우의 유효 막 면적의 저하를 억제하기 쉬운 관점에서는, 평균 내경이 0.2mm~1.0mm의 중공사막을 사용하는 것이 바람직하다.

[0249] 도 14의 정제 농축 장치(2)에 있어서, 도시한 요소 이외에, 도 1~13의 정제 농축 장치(1)와 동일한 요소를 가지고 있어도 된다. 예를 들면 도 14의 정제 농축 장치(2)에 있어서, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 액량을 감시하는 감시 장치는 상기 서술한 탱크 내 액량 감시 장치(35, 36) 및/또는 카메라를 갖추고 있어도 된다. 정제 농축 장치(2)의 제2 제어부도 정제 농축 장치(1)의 제2 제어부(120)와 동일한 구성으로 할 수 있다. 즉, 제2 제어부는 탱크 내 액량 감시 장치(35, 36)가 갖추는 광 센서가 검출한 광의 투과율의 변화에 기초하여 탱크 내의 액량을 파악하여, 가압 장치(34)로 가압할 탱크를 결정할 수 있다. 또 제2 제어부는 카메라로부터 출력된 액면 위치의 정보로부터 탱크 내의 액량을 파악하여, 가압 장치(34)로 가압할 탱크를 결정할 수 있다. 정제 농축 장치(2)에 있어서, 상기 감시 장치는 탱크 내 액량 감시 장치(35, 36)를 갖추는 것이 바람직하다.

- [0250] 상기한 바와 같이, 정제 농축 장치(2)에 있어서, 이액 장치는 가압 장치만에 한정되는 것은 아니며, 펌프 송액이나 위치에너지를 이용하는 송액을 단독으로 또는 병용하여 행할 수도 있다. 이 경우에 있어서, 제2 제어부는 승강 장치 등을 통하여, 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 액면의 높이를 제어하도록 구성할 수 있고, 액의 출입구의 높이의 위치를 제어하도록 구성할 수도 있다. 이와 같은 구성에 의해, 제2 제어부는 상기 제2 탱크 및 상기 제3 탱크 내의 상기 액을 상기 중공사막 모듈에 선택적으로 공급하도록 송액 장치를 제어할 수 있다.
- [0251] 도 14의 정제 농축 장치(2)에 있어서의 정제농축부(30)는 중공사막 모듈(33)에 회석액을 공급하고, 중공사막 다발(60) 내의 복수의 중공사막을 세정하는 세정탱크를 갖춘 구성으로 할 수 있다. 즉, 정제 농축 장치(2)의 정제 농축부(30)는, 회석액을 저류하고, 상기 회석액을 중공사막 모듈(33)의 제3 액의 출입구(33c, 33d)로부터 공급하는 유로가 접속된 제4 탱크(도 10의 부호 80)를 갖추고 있어도 된다. 또 정제 농축 장치(1)와 동일한 제3 제어부(130)를 갖추고 있어도 된다. 즉, 정제 농축 장치(2)에 있어서의 제3 제어부는 제2 탱크(31) 및 제3 탱크(32) 내의 액량의 합계가 제2 제어부에서 설정한 값 이하가 된 경우에, 제4 탱크의 회석액을 중공사막 모듈(33)의 제3 액의 출입구(33c, 33d)로부터 공급할 수 있다. 이 구성에 의하면, 중공사막 내부의 막 표면에 퇴적된 미소 유용 물질을 회수하면서, 원료액을 정제 농축시킬 수 있다. 또 제4 탱크는 제2 탱크(31) 또는 제3 탱크(32)와 접속되어 있어도 된다.
- [0252] 정제 농축 장치(2)에 있어서, 정제 농축 장치(1)와 마찬가지로, 중공사막 모듈(33)에 회석액을 공급하기(역세정하기) 전에, 중공사막 모듈(33) 중에 잔존하고 있는 투과액이 역세정액에 섞여 농축액측으로 유입되는 것을 방지하기 위해서, 세정액(회석액)으로 미리 플러싱을 행하여, 중공사막 모듈 중에 잔존하고 있는 투과액을 세정액(회석액)으로 치환하는 조작을 임의로 행할 수 있다.
- [0253] 도 14의 정제 농축 장치(2)에 있어서의 정제농축부(30)는 제2 탱크(31), 제3 탱크(32) 및 중공사막 모듈(33) 내의 농축액을 회수하기 위한 제5 탱크(81)를 갖추고 있어도 된다. 또 제5 탱크(81)로의 농축액의 회수를 제어하는 제4 제어부를 갖추고 있어도 된다. 이들 제5 탱크(81) 및 제4 제어부의 구성은 정제 농축 장치(1)와 동일한 구성으로 할 수 있다.
- [0254] 제2 실시형태에 따른 정제 농축 장치로 정제 농축되는 미소 유용 물질로서는, 정제 농축 장치(1)에서 설명한 것과 동일한 것이어도 되고, 상이해도 된다. 제2 실시형태에 따른 정제 농축 장치로 정제 농축되는 미소 유용 물질은, 전기 활성 고분자, 레어메탈 콜로이드 입자, 안료, 염료, 무기 또는 유기 나노 입자 등의 공업 용도에 있어서의 미소 유용 물질을 포함할 수 있다. 일반적으로, 이들 공업 용도에 있어서의 미소 유용 물질을 포함하는 액을 정제 농축 처리하는 경우에는, 액 내의 불순물 제거 처리를 필요로 하지 않는다. 그 때문에 본 개시의 제2 실시형태에 따른 장치를 적합하게 사용할 수 있다.
- [0255] [미소 유용 물질이 정제 농축된 액의 제조 방법:제2 실시형태]
- [0256] 본 개시의 정제 농축 장치(2)를 사용한 미소 유용 물질이 정제 농축된 액의 제조 방법으로서, 상기 서술한 정제 농축 장치(1)를 사용한 경우의 제조 방법 중 불순물 제거 처리를 생략한 공정을 포함하는 방법을 예시할 수 있다. 또한 정제 농축 장치(2)는 제거부(20)를 가지지 않는 구성이지만, 정밀여과막 등을 사용한 프리여과 처리나 응집 침전 처리 등의 전처리 공정을 포함하는 경우가 있다.
- [0257] 도 14의 정제 농축 장치(2)에 있어서, 원료액을 원료공급부(10) 내의 용기 등에 도입한 후, 개폐 밸브(210)를 열면, 유로(201)를 통하여 제2 탱크(31)(또는 제3 탱크(32))에 원료액이 공급된다. 제2 탱크(31)(또는 제3 탱크(32)) 내에 공급된 원료액은 교호 탄젠셜 플로우 여과에 의해 정제 농축된다. 정제 농축 처리 후, 탱크 내 및 중공사막 모듈 내의 농축액을 제5 탱크(81)로 회수한다.
- [0258] [그 밖의 실시형태:미소 유용 물질의 분자량 분획 및 정제 농축]
- [0259] 본 개시의 제2 실시형태에 따른 제조 방법에 있어서의 그 밖의 실시형태는, 미소 유용 물질의 분자량 분획 및 정제 농축 처리를 포함하는, 정제농축액의 제조 방법이다. 미소 유용 물질을 둘 이상의 성분으로서 분자량 분획하는 것과, 각각의 액의 농축 정제를 실시하는 방법으로서, 둘 이상의 분획 분자량의 중공사막 모듈을 갖추는 본 개시의 정제 농축 장치(2)를 2 이상 연결하는 것, 또는 2단계 이상의 정제 농축 처리를 행하는 것을 예시할 수 있다.
- [0260] 구체적으로는, 분자량 분포가 폭넓은 콘드로이틴황산을 포함하는 액의 정제농축액을 제조하는 경우에는, 분획 분자량 1만의 장치와, 분획 분자량 7만의 장치를 연결하거나, 2단계 이상의 정제 농축 조작을 함으로써, 3개의 분자량 분포를 가지는 콘드로이틴황산의 정제(분자량 정제)농축액을 얻을 수 있다. 이 경우, 분획 분자량 1만

미만의 성분의 농축은 분획 분자량 1만의 장치에서의 투과액을 막분리 장치 이외의 장치로 농축시켜도 되고, NF 막 농축 장치(예를 들면 일본 특허 7021400호 공보에 기재된 막을 사용한 장치)로 농축시켜도 된다.

[0261] (실시예)

[0262] 이하, 실시예를 나타내어 본 발명을 상세하게 설명하는데, 본 발명은 이하의 기재에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0263] <중공사막 모듈(33)의 제작>

[0264] 평균 내경 0.8mm, 평균 외경 1.3mm, 분획 분자량 30만의 셀룰로스아세테이트(CA)제의 중공사막(다이센·멤브레인·시스템즈(주)제) 75개를 묶은 중공사막 다발(60)을 폴리카보네이트제의 통형상 용기(61)에 수용하여, 도 7에 기재된 내압식 중공사막 모듈을 작성했다. 중공사막 모듈(33)의 0.1MPa에 있어서의 순수 투과 유량은 28.8L/Hr이었다. 또 이하의 측정 방법으로 측정된 γ -글로불린 투과율은 54%이며, 중공사막의 유효 길이가 17cm이며, 유효 막 면적은 0.0312m^2 이며, 중공사막의 충전율은 30%였다.

[0265] (γ -글로불린 투과율 측정)

[0266] 도 15의 γ -글로불린 투과율 측정 장치(300)를 사용하여, 이하의 조작으로 γ -글로불린 투과율을 측정했다.

[0267] 1) 탱크(302)에 γ -글로불린 수용액(γ -글로불린 농도 100ppm)을 도입했다.

[0268] 2) 중공사막(303)을 유로(305)에 접속했다.

[0269] 3) 밸브(V-1)로부터 질소 가스를 주입하고, 탱크(302)에 0.1MPa의 압력을 가했다. 중공사막(303)의 내표면으로부터 외표면을 향하여 상기 수용액을 여과하고, 여과액은 용기(307)에 폐기하고, 투과액을 용기(306)로 회수했다. 또한 초기의 투과액(약100mL)은 폐기하고, 그 후에 배출된 투과액을 투과율 측정용 샘플로 했다.

[0270] 장치(300)로 투과액의 샘플을 작성한 후, 이하의 방법으로 γ -글로불린 투과율을 측정했다.

[0271] 4) 분광광도계((주)시마즈세이사쿠쇼제, 제품명 「UV2450」)를 사용하여, γ -글로불린 수용액(100ppm)의 280nm의 흡광도(A1)와, 투과액의 280nm의 흡광도(A2)를 측정하고, 계산식($A2/A1 \times 100$)에 의해 γ -글로불린 투과율(%)을 산출했다.

[0272] <정제 농축 장치(1)>

[0273] 이하에 도 13의 정제 농축 장치(1)를 사용한 경우의 구체적 조작을 설명한다.

[0274] 원료공급부(10), 제거부(20), 정제농축부(30)를 포함하는 요소를, 폭 800mm, 안길이 350mm, 높이 1745mm의 하우징(100)(도시하지 않음) 내에 배치한다.

[0275] 정제 농축 장치(1)의 정부에 팬필터 장치(91)(애즈윈(주)제, 제품명 「퓨어스페이스01」, ULPA 필터 유닛 부착, 풍량 $1\text{m}^3/\text{min}$)(도시하지 않음)를 배치하고, 여과 공기가 하우징(100) 내에 다운플로우되는 구성으로 한다.

[0276] 또 하우징(100) 내에는 UV 램프(92)(다이와덴키산교(주)제, 글로우식 살균등)(도시하지 않음)를 4개 부착한다.

[0277] 정제 농축 장치(1)의 바닥부에는 자재 스톱퍼 부착 이동 캐스터(도시하지 않음)를 부착한다.

[0278] 정제 농축 장치(1)의 전면에는 문(도시하지 않음)이 배치되고, 상기 문에는 정제 농축 장치(1)의 공정을 관리하는 터치패널((주)기엔스, 제품명 「터치패널 디스플레이 형식:VT-W4M」)(도시하지 않음)을 부착한다.

[0279] 정제 농축 장치(1)에는 압축 공기의 취입구(도시하지 않음)와 DC 전원(도시하지 않음)을 배치한다. 압축 공기는 레귤레이터로 0.05MPa까지 감압되어, 담체 칼럼(21)의 세정, 평형화 처리, 불순물 제거 처리, 정제 농축 처리, 역세정 처리를 위해, 복수의 개폐 밸브(2포트 전자 밸브), 삼방 밸브(3포트 전자 밸브), 전자 밸브 매니폴드를 통하여 액의 공급처의 전환이나, 공급의 제어를 행한다. 또 레귤레이터로 0.3MPa까지 감압한 압축 공기는 농축액을 회수할 때의 에어 그립에도 사용한다.

[0280] (원료공급부(10))

[0281] 원료액을 저류하는 용기(11)를 배치한다.

[0282] (제거부(20))

- [0283] 담체 칼럼(21)은 내경 25mm ϕ 의 칼럼 내에, 흡착제 담체(Cytiva제, 제품명 「CaptoTM Core 700」(17548101)) 5mL를 봉입한 구성으로 한다.
- [0284] 여과 부재(22)로서는, 정밀여과막(밀리포어사제, 제품명 「Millex-GP」, 재질:폴리에테르술폰, 구멍 직경:0.22 μ m)을 사용한다.
- [0285] 제6 탱크(25)에는 세정액으로서 2M염화나트륨 수용액을 도입한다.
- [0286] 제7 탱크(26)에는 평형화액으로서 50mM Tris-HCl(pH7.2) 용액을 도입한다.
- [0287] 도 13에 나타내는 바와 같이, 복수의 개폐 밸브(전자 밸브)를 통하여, 탱크(24), 제6 탱크(25), 제7 탱크(26)로부터 유로(41A)를 통하여 담체 칼럼(21)을 향하여 액이 공급되도록 구성한다. 유로(41A)에는 튜브 펌프(도시하지 않음)를 배치한다.
- [0288] (정제농축부(30))
- [0289] 중공사막으로서, 상기에서 제작한 중공사막 모듈(33)을 사용한다.
- [0290] 제2 탱크(31), 제3 탱크(32)에는 폴리(메타)아크릴레이트계의 투명 용기(용량 120mL)를 사용했다. 제2 탱크(31) 및 제2 탱크(31) 바닥부의 액의 출입구에는 광 센서를 포함하는 탱크 내 액량 감시 장치(35, 36)((주)기엔스제, 파이프 부착형 액면 검출 파이버 유닛(형식:FU-95S))를 배치한다.
- [0291] 제4 탱크(80)에는 희석액으로서 인산 완충액(PBS)을 도입한다.
- [0292] [실시예 1]
- [0293] 원료액으로서, 하기 방법으로 조제한 엑소솜을 포함하는 간엽계간세포의 배양 상청액 800mL를 용기(11)에 도입한다.
- [0294] <엑소솜을 포함하는 간엽계간세포의 배양 상청액의 조제>
- [0295] 인간 지방 조직 유래의 간엽계간세포는 Ultra ExoMCulture Medium for Extracellular Vesicles(FK-K0204024, Santeja)를 사용하여 배양한다.
- [0296] 세포가 배양 용기 접촉면의 약80%를 덮은 상태에서, 페놀 레드 불포함의 Ultra ExoM CultureMedium으로 교환하고, 48시간 배양을 행한다.
- [0297] 그 후, 배양 상청액을 원심력 2000 $\times$ g로 10분간, 4℃에서 원심하여 세포 파편을 제거하고 배양 상청액을 조제한다.
- [0298] 용기(11) 내의 원료액을 여과 부재(22)에 공급하여 전량 전처리를 행하고, 그 후, 탱크(24)(전처리액 저류 탱크)에 저류한다.
- [0299] 이어서 제6 탱크(25)(세정액 저류 탱크)로부터 세정액 50mL를 담체 칼럼(21)에 5mL/분으로 공급하여 담체 칼럼(21)을 세정한 후, 세정액을 폐액 탱크로 배출한다. 그 후, 제7 탱크(26)(평형화액 저류 탱크)로부터 평형화액 50mL를 담체 칼럼(21)에 5mL/분으로 공급하여 담체 칼럼(21)을 평형화한 후, 평형화액을 폐액 탱크로 배출한다.
- [0300] <불순물 제거 처리>
- [0301] 탱크(24) 내의 전처리액 50mL를 담체 칼럼(21)에 공급하고, 전처리액 중의 숙주 유래 단백질(HCPs)이나 DNA 등을 담체로 흡착 제거한다. 얻어진 조정제액을 유로(42A)를 통하여 제1 탱크(23)에 공급한다. 그 후, 2회째의 담체 칼럼(21)의 세정, 평형화 처리를 상기와 동일한 조건으로 실시한다. 2회째의 세정, 평형화 처리 후, 탱크(24) 내의 전처리액 50mL를 담체 칼럼(21)에 공급하여 2회째의 불순물 제거 처리를 실시한다. 그 후에는 마찬가지로, 3회째의 담체 칼럼(21)의 세정, 평형화 처리와, 3회째의 불순물 제거 처리를 행한다. 계속해서, 4~16회째의 담체 칼럼(21)의 세정, 평형화 처리와, 4~16회째의 불순물 제거 처리를 행한다.
- [0302] <정제 농축 처리>
- [0303] 불순물 제거 처리와 정제 농축 처리를 병행하여 행한다.
- [0304] 우선, 1~4회째의 불순물 제거 처리에 의해 저류된 제1 탱크(23) 내의 조정제액(약200mL)을 0.05MPa의 압축 공기로 제2 탱크(31)까지 송액한다. 그 때, 우선 1회째의 조정제액(약50mL)을 제2 탱크(31)에 송액한 후에 가압 장

치(34)로 제2 탱크(31)를 가압하여, 관리 액면 위치(C)의 액량을 10mL로 설정하고, 제2 탱크(31)의 액량이 10mL를 밑돌지 않도록 교호 탄젠셜 플로우 여과(TFF)에 의한 정제 농축 처리를 실시한다. 그 후, 차례대로 2~4회째의 조정제액을 제2 탱크(31)에 송액하면서, 제2 탱크(31)의 액량이 10mL를 밑돌지 않도록 교호 탄젠셜 플로우 여과(TFF)에 의한 정제 농축 처리를 계속해서 행한다.

[0305] 이어서 역세정 처리를 행한다. 역세정 처리에는 희석액을 90mL 사용한다. 또 희석액으로는 인산 완충액(PBS)을 사용한다. 희석액으로 역세정 처리를 행한 후, 제2 탱크(31)의 액량이 10mL를 밑돌지 않도록, 교호 탄젠셜 플로우 여과(TFF)에 의한 정제 농축 처리를 행한다. 그 후, 5~8회째의 불순물 제거 처리에 의해 얻어진 조정제액, 9~12회째의 조정제액 및 13~16회째의 조정제액을 각각 제2 탱크(31)에 부어 더하면서, 정제 농축 처리와 역세정 처리를 행한다. 또한 역세정 처리는 상기 서술한 역세정 처리 후의 조정제액의 송액량이 200mL가 될 때마다 실시하고, 정제 농축 처리는 제2 탱크(31)의 액량이 10mL를 밑돌지 않도록 교호 탄젠셜 플로우 여과(TFF)로 행한다. 합계 800mL의 조정제액의 정제 농축 처리 및 역세정 처리를 행하고, 제2 탱크(31)의 액량이 10mL가 된 후에는, 희석액량을 90mL(10배 희석)로 한 역세정 처리와 정제 농축 처리를 3회 반복하여, 엑소좀의 정제농축액을 얻는다.

[0306] <회수 처리>

[0307] 얻어진 엑소좀의 정제농축액은 유로(56)를 통하여 제5 탱크(81)에 전량 회수한다. 농축액의 회수 처리는 제5 탱크(81)의 상부의 액의 출입구에 설치된 파이버 센서로 유로(56) 내의 농축액량을 감시하고, 파이버 센서가 기포를 감지하는 단계까지 2개의 탱크 내의 농축액을 제5 탱크(81)로 회수한다. 이 때 얻어지는 엑소좀 정제농축액의 수량은 0.8~80mL가 되고, 엑소좀 회수율은 50~100%가 된다. 또 단백질 제거율은 80% 이상이 되는 것이 상정된다.

[0308] [실시예 2]

[0309] 원료액으로서, 인간 지방 조직 유래의 간엽계간세포 배양 상청액 800mL를 사용했다. 배양 상청액 중의 단백질 농도, CD9/CD63 양성 세포외소포를 각각 Bradford법, ELISA법으로 정량했더니, 단백질 농도는 0.49mg/mL, 152pg/mL였다.

[0310] 상기 배양 상청액에 대하여, 50mM Tris-HCl(pH7.2) 용액으로 평형화한, 카티온 교환과 사이즈 배제를 가지는 믹스 모드 담체를 80mL 첨가하고, 50mL 튜브에 분주 후, 로테이터를 사용하여 10분간 실온에서 10rpm/min의 회전속도로 전도 혼화했다. 그 후, 실온에서 10,000xg로 5분간 원심하고, 또한 상청액을 0.22 μ m 필터레이션 유닛을 사용하여 여과함으로써, 담체를 제거했다. 얻어진 담체 처리 완료 배양 상청액 790mL 중의 단백질 농도는 0.06mg/mL, 엑소좀 농도는 144pg/mL였다.

[0311] 이어서 담체 처리한 배양 상청액을 용기(11)로부터 유로(43)를 통하여 제2 탱크(31)에 공급하고, 가압 장치(34)에서의 가압 조건을 질소 가스압 0.04MPa로 하여 교호 탄젠셜 플로우 여과를 행했다. 잔량이 10mL가 된 곳에서, 역세정을 행하기 위해서, 제4 탱크(80)로부터 90mL의 인산 완충액(PBS)을 중공사막 모듈(33)측으로부터 공급했다. 그 후, 교호 탄젠셜 플로우 여과와, 90mL의 인산 완충액의 공급을 추가로 2회 반복한 후, 교호 탄젠셜 플로우 여과에 의해 12.9mL의 정제농축액을 얻었다. 얻어진 정제농축액의 단백질 농도는 0.09mg/mL, 엑소좀 농도는 7149pg/mL였다. 농도와 액량으로부터 산출한 단백질 제거율은 99% 이상이며, 회수율은 76%였다.

[0312] [비교예 1]

[0313] 비교예 1로서, 단백질 농도 0.52mg/mL, 엑소좀 농도 130pg/mL의 배양 상청액 800mL를 원료액으로서 사용하고, 용기(11)로부터 유로(43)를 통하여 제2 탱크(31)에 상기 원료액을 공급하여, 교호 탄젠셜 플로우 여과에 의한 정제 농축 처리를 행했다. 또한 비교예 1에서는 도중의 세정 공정을 역세정이 아니라 순세정에 의해 행한 것이 외에는 실시예 2와 동일한 조건으로 정제 농축 처리를 행했다. 순세정은 제4 탱크(80) 내의 희석액을 유로(55B)를 통하여 제3 탱크(32)에 공급한 후, 중공사막 모듈(33)까지 희석액을 공급하여 중공사막을 세정하는 것에 의해 실시했다. 최종적으로 11mL의 정제농축액을 얻었다. 또 정제농축액 중의 단백질 농도는 0.02mg/mL 이하이며, 엑소좀 농도는 2595pg/mL였다. 농도와 액량으로부터 산출한 단백질 제거율은 99% 이상이며, 회수율은 27%였다. 이 결과로부터, 역세정을 행함으로써, 회수율이 향상되는 것을 알 수 있었다.

[0314] [실시예 3]

[0315] 여기서는, 정제 농축 공정에 있어서, 중공사막의 표면을 생체분자로 코팅 처리하는 것에 의해, 미소 유용 물질의 회수율을 더욱 향상시키는 방법에 대해 검토했다.

- [0316] 원료액으로서, 단백질 농도 0.49mg/mL, 엑소좀 농도 166.4pg/mL의 간엽계간세포의 배양 상청액 790mL를 사용했다.
- [0317] 엑소좀의 농도는 CD9/CD63 ELISA법(EXH0102EL, 코스모·바이오)으로 정량 분석한, 검량선 작성에 사용한 CD9/CD63 용합 표준 단백질 상당량이다.
- [0318] 배양 상청액 790mL에 대하여, 50mM Tris-HCl(pH7.2) 용액으로 평형화한 담체(세공 내부가 정으로 하전되어 있는 다공질 입상물이며, 세포외소포를 제외한 부로 하전되어 있는 불필요한 물질을 흡착 유지할 수 있는 흡착제)를 79mL 첨가하고, 로테이터를 사용하여 실온에서 10분간 전도 혼화했다. 그 후, 담체-세포 상청 혼합액으로부터 0.22 μ m 필터레이션 유닛(S2GPU11RE, Merck Millipore)을 사용하여, 담체를 제거하고, 담체 처리한 배양 상청액을 얻었다.
- [0319] 이어서 담체 처리한 배양 상청액을 여과 압력 30~40kPa의 교호 탄젠셜 플로우 방식으로 여과하여 정제 및 농축시켰다. 여과막으로는 아세트산셀룰로오스제 중공사막 모듈(분획 분자량 30만, 막 면적 0.062m²)을 사용했다. 상기 여과막은 막 표면을 생체분자로 코팅 처리한 것을 사용했다. 코팅 처리는 상기 여과막에 PBS에 용해한 1.3mg/mL의 스킵밀크 용액을 200mL/분의 통액 속도로 10분간 통액시킴으로써 행했다. 이것에 의해, 막 표면에 스킵밀크 중의 어느 종류의 생체분자가 박층으로서 흡착 결합한 코팅 처리막이 얻어졌다. 그 후, 250mL의 PBS로 여과막을 통수 세정하고, 박층 상에 단지 퇴적되었을 뿐인 여분의 스킵밀크를 제거했다.
- [0320] 여기서, 상기 여과막과 스킵밀크 중의 어느 종류의 생체분자와의 결합 상태는, 수세 및 운전 조작 조건하에서는 탈락하지 않고, 또한 장기 운전에서도 여과 성능의 감소가 거의 없는 정도까지 강하게 결합되어 있다.
- [0321] 농축액의 액량이 10mL가 될 때까지 교호 탄젠셜 플로우 여과를 반복하고, 그 후, 90mL의 PBS를 중공사막 모듈에 공급함으로써 농축액을 회석했다. 이 농축 여과·회석 공정을 추가로 2회 반복한 후, 교호 탄젠셜 플로우 여과에 의해 11.9mL의 정제농축액(세포외소포 정제물)을 얻었다. 최종적으로 얻어진 엑소좀의 농축액 중의 세포외소포를 CD9/CD63 ELISA법(EXH0102EL, 코스모·바이오)으로 정량 분석했더니, 검량선 작성에 사용한 CD9/CD63 용합 표준 단백질 상당으로 3,746.7pg/mL이며, 회수율은 33.9%였다.
- [0322] [비교예 2]
- [0323] 스킵밀크에 의한 코팅을 행하고 있지 않은 중공사막을 사용하여 마찬가지로의 조작을 했더니, 회수율은 7.4%였다.
- [0324] 실시예 3 및 비교예 2의 결과로부터, 생체분자에 의해 코팅 처리된 중공사막(즉, 적어도 일부의 영역 상에, 미소 유용 물질과는 상이한 종류의 생체분자가 부착되어 있는 중공사막)을 사용함으로써, 미소 유용 물질의 회수율이 향상되는 것을 알 수 있었다.
- [0325] [실시예 4]
- [0326] 여기서는, 정제 농축 공정에 있어서 얻어지는 정제농축액 중의 미소 유용 물질의 순도를 더욱 향상시키는 방법에 대해 검토했다.
- [0327] 원료액으로서, 단백질 농도 1.49mg/mL, 엑소좀 농도 196pg/mL의 양막 유래의 간엽계간세포의 배양 상청액 40mL를 사용했다. 배양 상청액 중의 엑소좀을, 아세트산셀룰로오스제 중공사막 모듈(33)(분획 분자량 30만, 막 면적 0.01m², 투과층 용적(즉 중공사 외부 공간(ECS: Extracapillary Space) 10mL)을 탑재한 정제 농축 장치를 사용하여, 여과 압력 30~40kPa의 교호 탄젠셜 플로우 방식으로 분리 정제 및 농축을 행했다. 배양 상청액을 약10mL까지 농축시킨 후, 회석액(PBS) 40mL를 중공사막 모듈의 제3 액의 출입구(33c)로부터 주입하고, 제3 액의 출입구(33d)로 배출했다. 이것에 의해, ECS 내에 체류하는 투과액 중의 불순물을 PBS에 의해 플러싱 했다. 그 후, 동일한 회석액(PBS) 90mL를 중공사막 모듈(33)의 투과층으로부터 농축층으로 압입하여 역압 세정(역세)을 행했다. 다시, 마찬가지로의 조건으로 분리 정제 조작을 행하고, 배양 상청액이 약10mL에 이른 시점에서 마찬가지로의 플러싱과 역세를 행하는 조작을 추가로 2회 행했다. 역세를 3회 행한 후에 배양 상청액을 5.5mL까지 농축시켰다. 얻어진 정제농축액 중의 단백질량 잔존량을 BCA 어췌이에 의해 측정했더니, 단백질 농도는 0.16mg/mL였다. 결과로도 17에 나타낸다. 또 얻어진 정제농축액에 대해서, TECAN제 흡광 마이크로플레이트 리더 Infinite M Nano+를 사용하여, 흡광도를 측정했다. 결과로도 18에 나타낸다.
- [0328] [비교예 3]
- [0329] 실시예 4와 마찬가지로의 분리 정제 조작에 있어서, PBS에 의한 ECS 내의 플러싱 조작을 행하지 않고, 배양 상청

액을 5.2mL까지 농축시켰다. 얻어진 정제농축액 중의 단백질량 잔존량을 BCA 어췌이에 의해 측정했더니, 단백질 농도는 0.36mg/mL였다. 결과를 도 17에 나타낸다. 또 얻어진 정제농축액에 대해서, 실시예 4와 마찬가지로 흡광도를 측정했다. 결과를 도 18에 나타낸다.

[0330] 도 17, 18에 있어서, 「처리 전」은 정제 농축 처리 전의 시료를 의미하고 있고, 「ECF 있음」은 실시예 4의 방법으로 얻어진 정제농축액을 나타내고, 「ECS 없음」은 비교예 3의 방법으로 얻어진 정제농축액을 나타내고 있다. 도 17로부터 분명한 바와 같이, 실시예 4의 방법에 의하면, 불순물로서의 단백질 농도가 보다 저하되어 있어, 엑소좀의 순도를 보다 향상시킬 수 있다. 도 18에 있어서, 파장 557nm 부근의 피크는 배양액 중에 pH 지시약으로서 포함되는 페놀 레드에 유래하는 피크이며, 정제농축액에 있어서의 불순물에 해당한다. 도 18에 나타내는 바와 같이, 실시예 4의 방법에 의하면, 불순물로서의 페놀 레드의 농도가 보다 저하되어 있어, 엑소좀의 순도를 보다 향상시킬 수 있다.

[0331] 이러한 결과로부터, 중공사막 모듈의 역세정 공정 전에, ECS 내를 PBS나 생리식염수 등의 희석액으로 흘려가게 하여(플러싱), ECS 내에 잔존하는 불순물을 제거하는 것에 의해, 얻어지는 정제농축액 중의 불순물의 농도를 보다 저하시킬 수 있고, 그 결과, 미소 유용 물질의 순도를 더욱 향상시킬 수 있는 것을 알 수 있었다. 비한정적인 이유로서, 플러싱하는 것에 의해, 그 후의 희석액에 의한 역세 공정에 있어서 정제농축액에 ECS 내의 불순물이 재혼입하는 것을 막을 수 있기 때문이라고 생각된다.

[0332] [실시예 5]

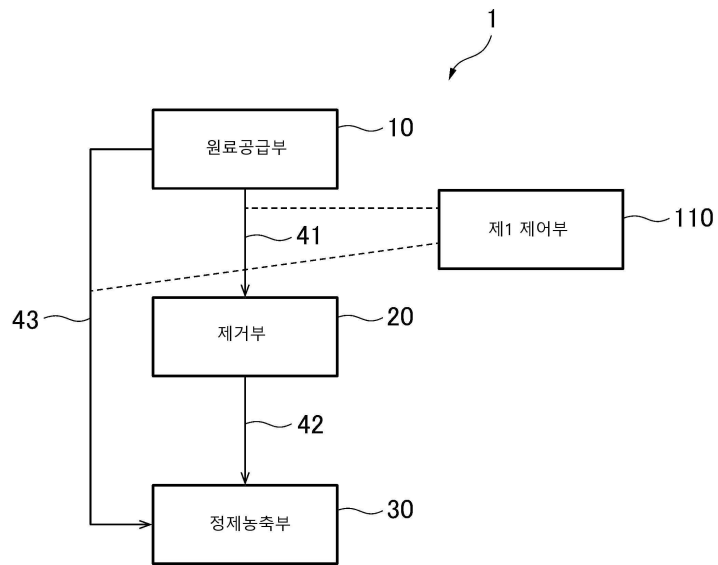
[0333] 원료액으로서, 단백질 농도 1.25mg/mL, 엑소좀 농도 138pg/mL의 양막 유래의 간엽계간세포의 배양 상청액 200mL를 사용했다. 배양 상청액 중의 엑소좀을, 아세트산셀룰로오스제 중공사막 모듈(분획 분자량 30만, 막 면적 0.01m², ESC 10mL)을 탑재한 정제 농축 장치를 사용하여, 교호 탄젠셜 플로우 방식으로 분리 정제 및 농축을 행했다. 배양 상청액을 약17mL까지 농축시킨 후, 희석액(PBS) 40mL를 중공사막 모듈의 제3 액의 출입구(33c)로부터 주입하고, 제3 액의 출입구(33d)로 배출했다. 이것에 의해, ECS 내에 체류하는 투과액 중의 불순물을 PBS에 의해 플러싱했다. 그 후, 동일한 희석액(PBS) 160mL를 중공사막 모듈(33)의 투과측으로부터 농축측으로 압입하여 역압 세정(역세)을 행했다. 다시, 마찬가지로의 조건으로 분리 정제 조작을 행하고, 배양 상청액을 약17mL에 이른 시점에서 마찬가지로의 플러싱과 역세를 행하는 조작을 추가로 2회 행했다. 역세 후의 배양 상청액을 17mL까지 농축시켰다. 다시, 역세를 행하여 중공사막 표면에 부착된 미소 유용 물질을 정제농축액 중에 세출하고, 정제농축액 50mL를 회수했다. 얻어진 정제농축액 중의 세포외소포를 CD9/CD63 ELISA법(EXH0102EL, 코스모·바이오)으로 정량 분석했더니, 검량선 작성에 사용한 CD9/CD63 융합 표준 단백질 상당으로 486pg/mL이며, 회수율은 88%였다. 이 결과로부터, 정제농축액을 회수하기 직전에 중공사막 모듈에 희석액을 추가로 공급하여 미소 유용 물질의 세출 조작을 행함으로써, 미소 유용 물질의 회수율을 80% 이상으로 할 수 있는 것을 알 수 있었다.

부호의 설명

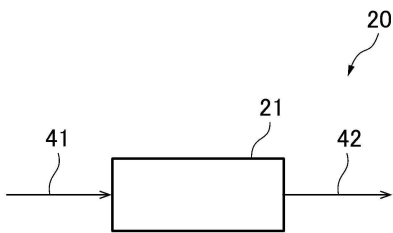
[0334] 1, 2...정제 농축 장치, 10...원료공급부, 11...용기, 20...제거부, 21...담체 칼럼, 22...여과 부재, 23...제1 탱크(조정제액 저류 탱크), 24...탱크(전처리액 저류 탱크), 25...제6 탱크(세정액 저류 탱크), 26...제7 탱크(평형화액 저류 탱크), 30...정제농축부, 31...제2 탱크, 32...제3 탱크, 33...중공사막 모듈, 33a...제1 액의 출입구, 33b...제2 액의 출입구, 33c, 33d...제3 액의 출입구, 34...가압 장치, 35, 36...탱크 내 액량 감시 장치, 41~43...유로, 80...제4 탱크(희석액 저류 탱크), 81...제5 탱크(회수 탱크), 91...팬필터 장치, 92...UV 램프, 110...제1 제어부

도면

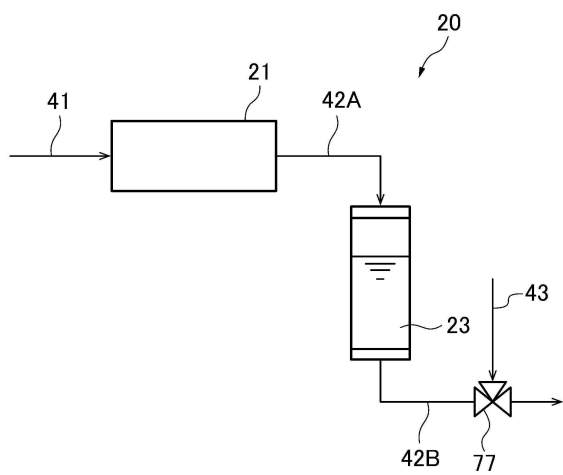
도면1



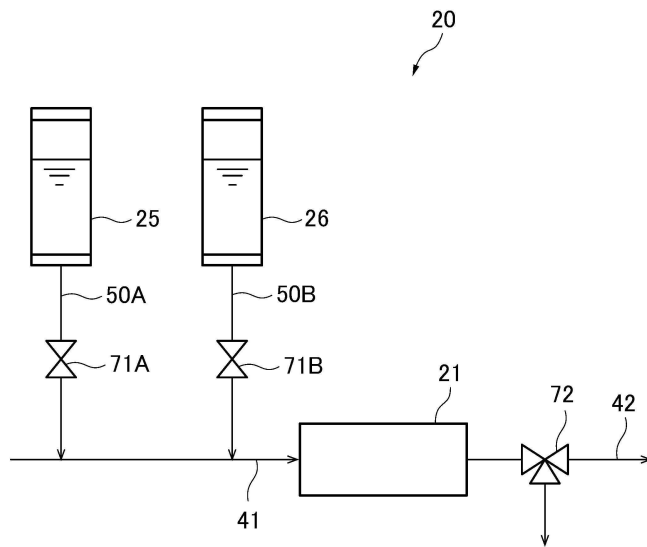
도면2



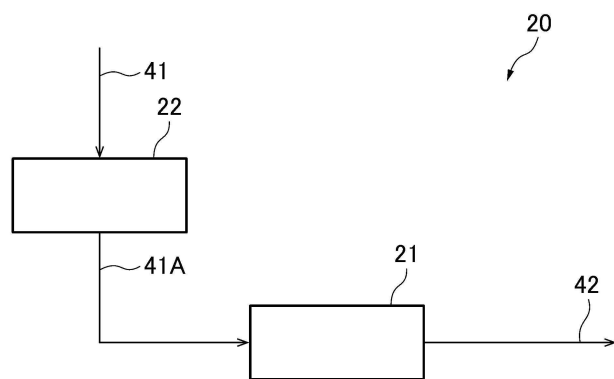
도면3



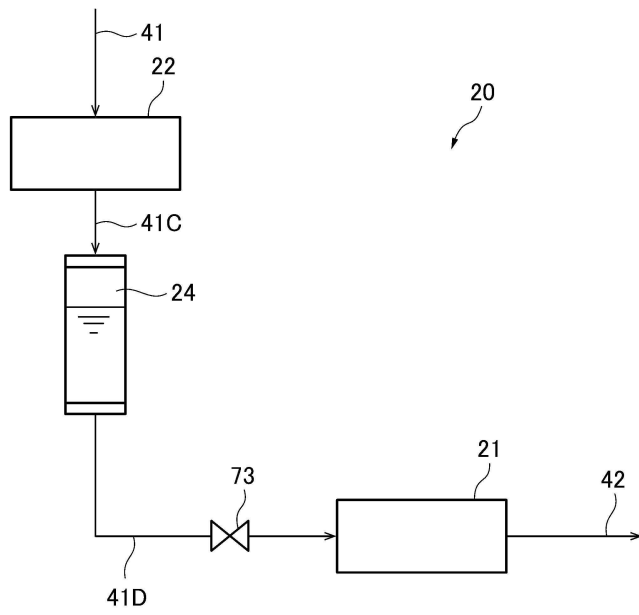
도면4



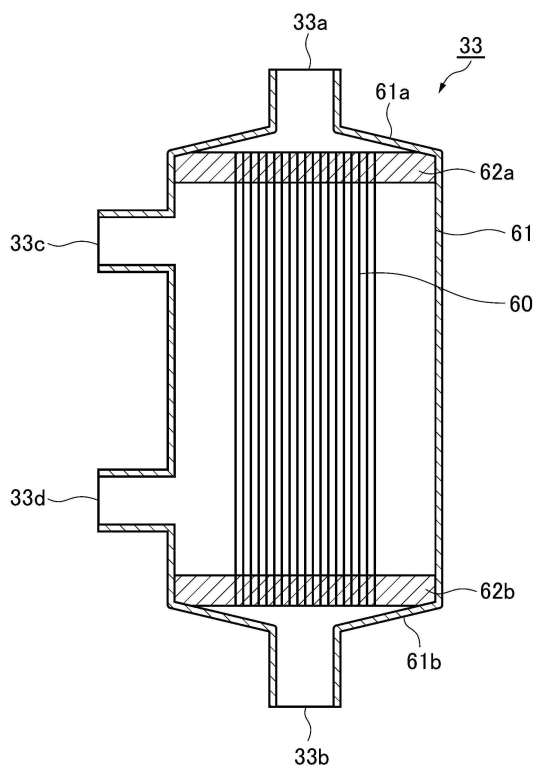
도면5



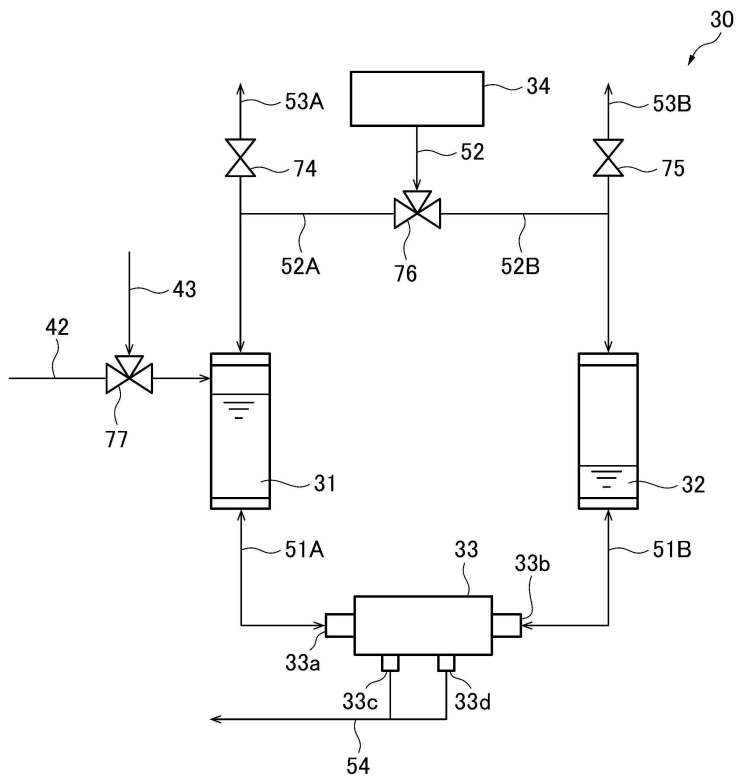
도면6



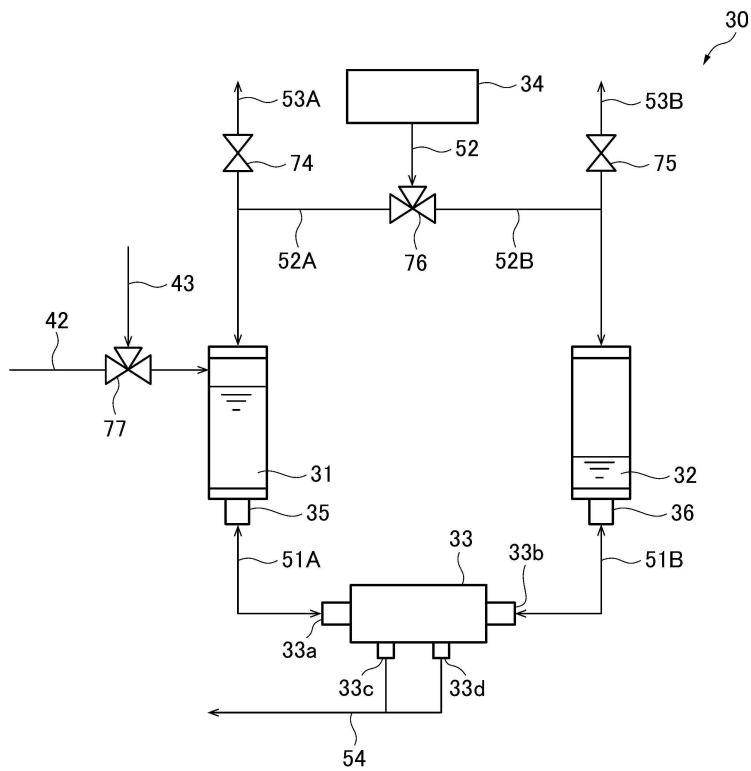
도면7



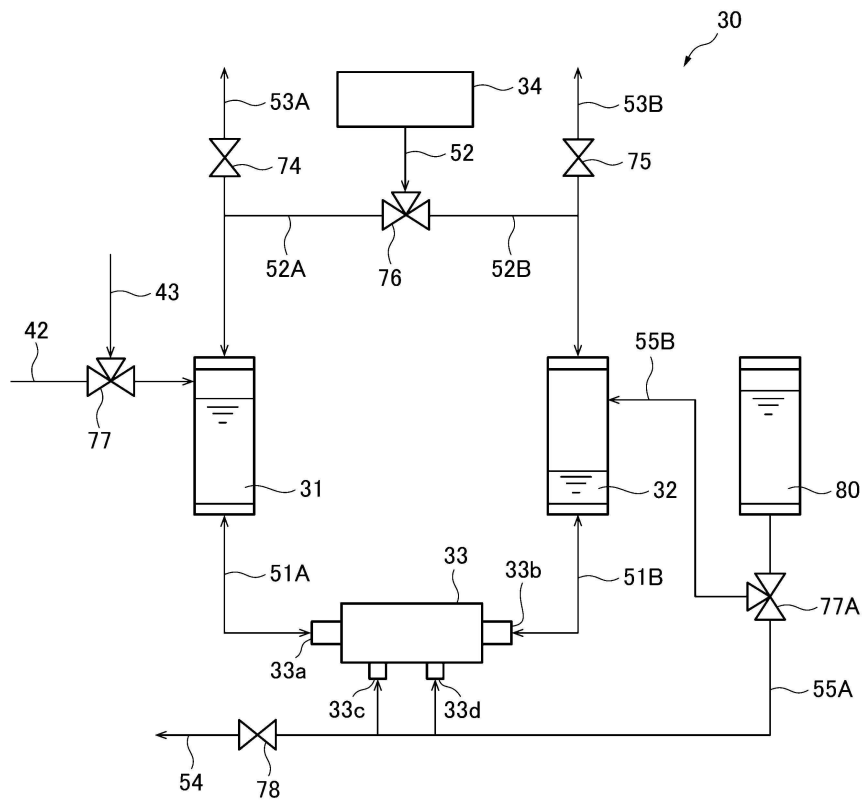
도면8



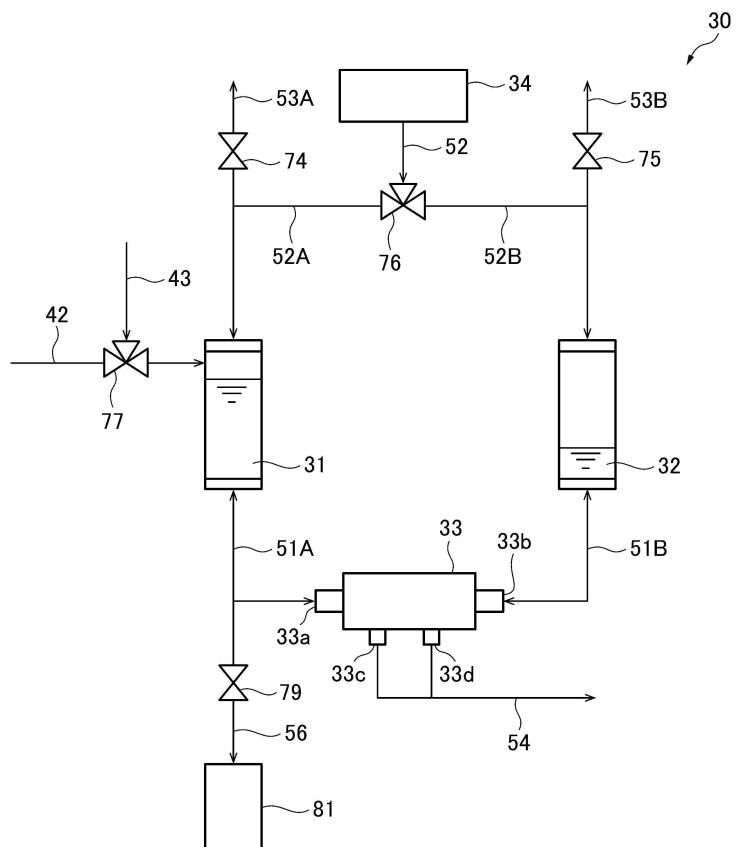
도면9



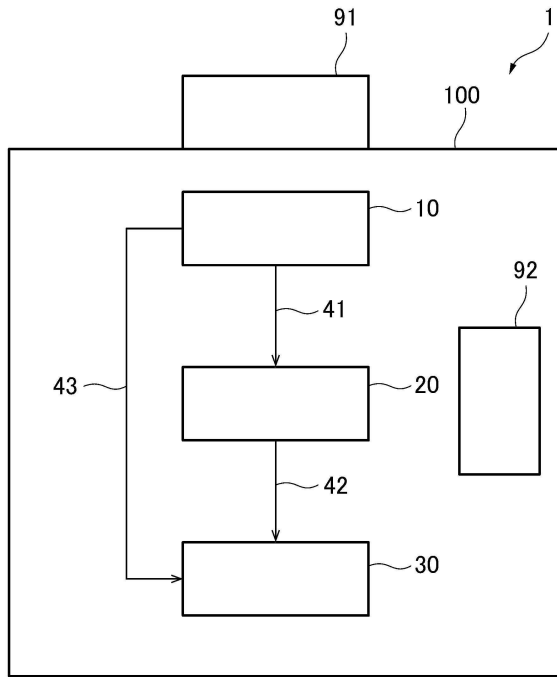
도면10



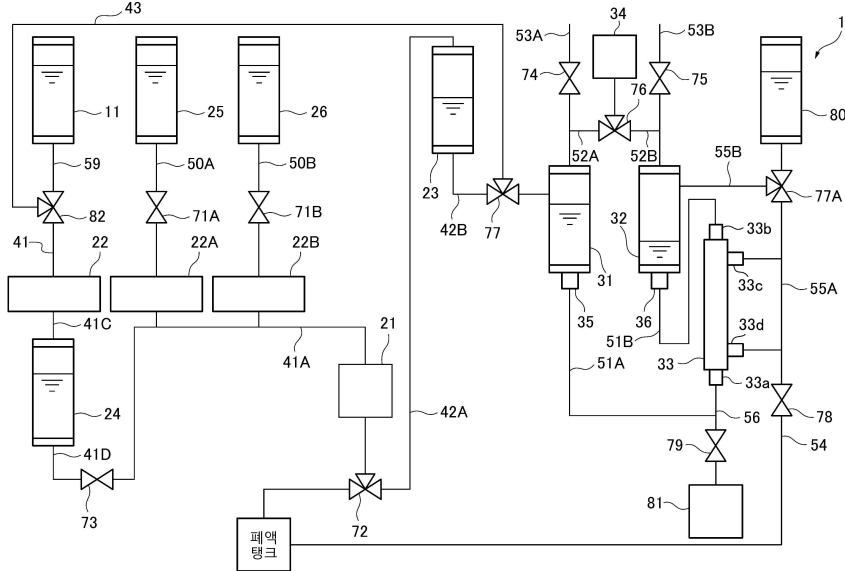
도면11



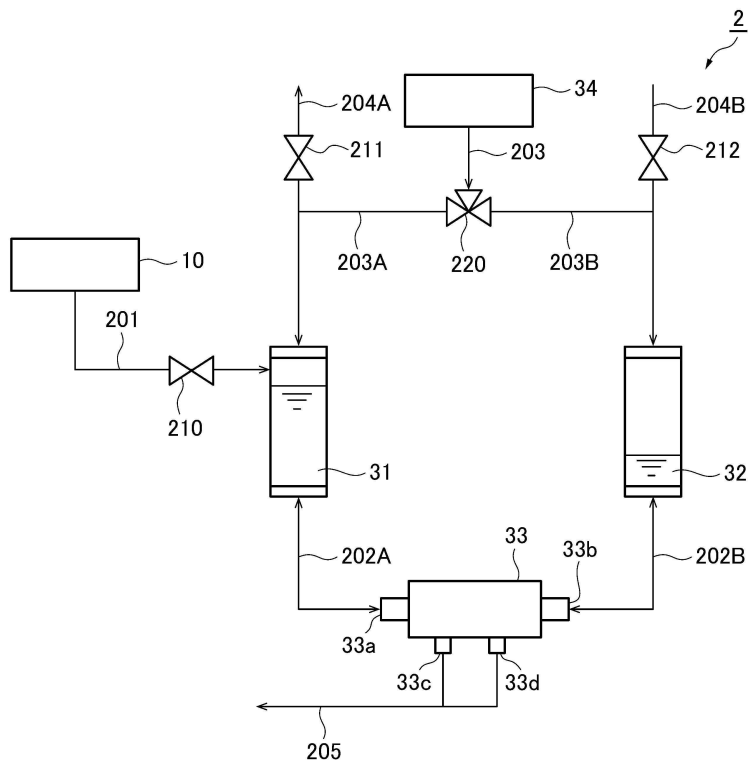
도면12



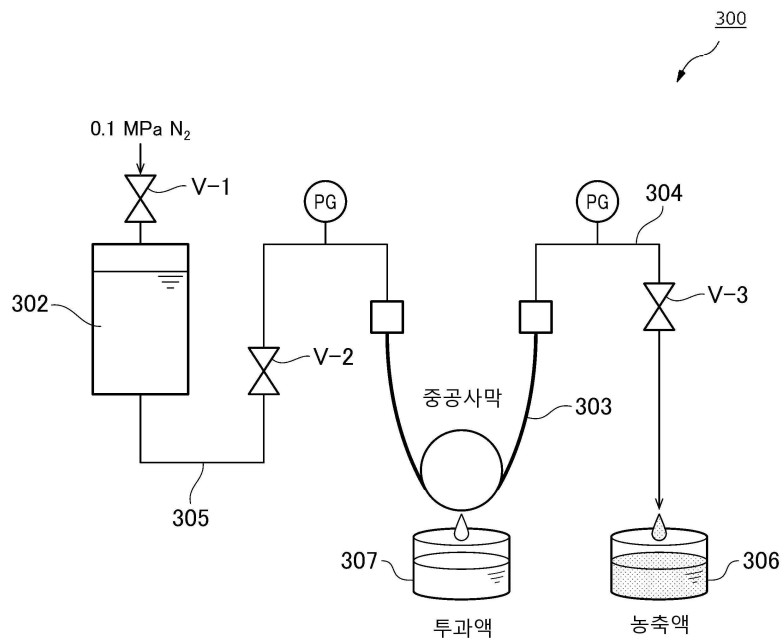
도면13



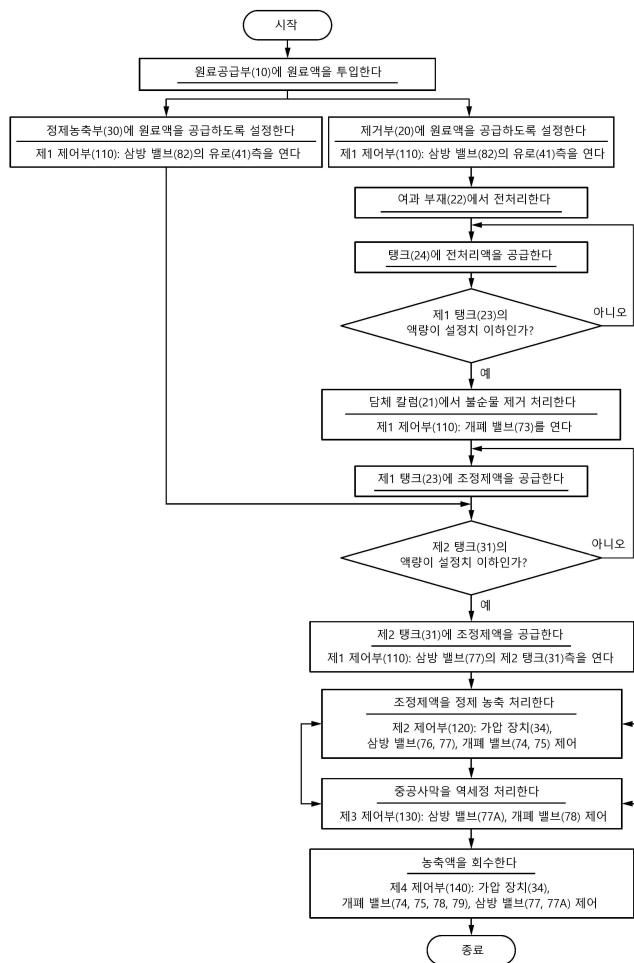
도면14



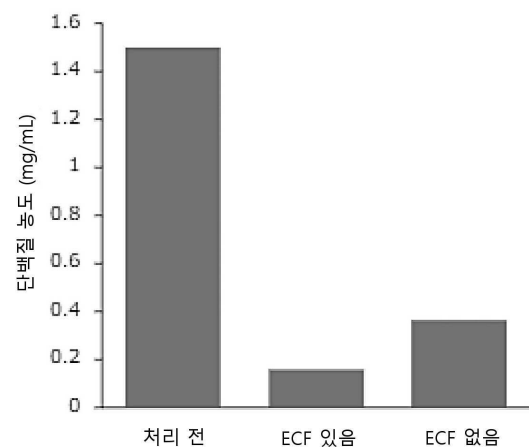
도면15



도면16



도면17



도면18

