

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-504024
(P2016-504024A)

(43) 公表日 平成28年2月12日(2016.2.12)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
C 12 M 1/00 (2006.01)	C 12 M 1/00	C 4 B 02 9
C 12 M 3/00 (2006.01)	C 12 M 3/00	D 4 B 06 5
C 12 N 1/14 (2006.01)	C 12 M 3/00	Z
C 12 N 1/16 (2006.01)	C 12 M 3/00	A
C 12 N 1/20 (2006.01)	C 12 N 1/14	B

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 40 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-545946 (P2015-545946)
(86) (22) 出願日	平成25年12月11日 (2013.12.11)
(85) 翻訳文提出日	平成27年7月28日 (2015.7.28)
(86) 國際出願番号	PCT/US2013/074307
(87) 國際公開番号	W02014/093444
(87) 國際公開日	平成26年6月19日 (2014.6.19)
(31) 優先権主張番号	61/735,841
(32) 優先日	平成24年12月11日 (2012.12.11)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(71) 出願人 514085160
 ポール テクノロジー ユーケイ リミテッド
 P A L L T E C H N O L O G Y U K
 L I M I T E D
 英国 ピーオー6 4 ピーキュー, ポーツマス, サウサンプトン ロード, ハーバーゲート ビジネス パーク 5
 5 H a r b o u r g a t e B u s i n e s s P a r k, S o u t h a m p t o n R o a d, P o r t s m o u t h, U n i t e d K i n g d o m P O 6 4 B Q

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】細胞培養のための受容体

(57) 【要約】

細胞増殖に適合する内側区画室を有する細胞培養のための受容体であり、1つの実施形態において、外側管状壁は、長手方向に延びるとともに、径方向で内側区画室の外側境界を画定する。第1および第2の端部は、外側管状壁の第1および第2の外端のそれぞれで内側区画室を画定する。内側区画室内の所定の充填物は、纖維マトリクスなどの充填物を構成する。更なる実施形態および関連する方法も開示される。

【選択図】図 1

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

細胞増殖のための内側区画室を有する細胞培養のための受容体であって、長手方向に延びる外側管状壁であり、該外側管状壁が径方向で前記内側区画室の外側境界を画定している、外側管状壁と、

前記外側管状壁の第1の外端および第2の外端のそれぞれで前記内側区画室を画定する第1の端部および第2の端部と、

前記内側区画室内にあり、纖維マトリクスを備える充填物と、
を備える受容体。

【請求項 2】

前記第1の端部および前記第2の端部が取り外し可能なキャップを備える、請求項1に記載の受容体。

【請求項 3】

前記第1の端部が入口を含み、前記第2の端部が出口を含む、請求項1または2に記載の受容体。

【請求項 4】

前記纖維マトリクスと接触するように前記内側区画室内に配置される1つ以上の流体透過隔壁を更に含む、請求項1に記載の受容体。

【請求項 5】

請求項1～4のいずれか一項に記載の受容体と、少なくとも前記充填物を回転させるための回転子とを含むシステム。

【請求項 6】

前記回転子が、前記受容体の前記外側管状壁と接触するためのローラを備える、請求項5に記載のシステム。

【請求項 7】

前記回転子が磁気カップリングを備える、請求項5に記載のシステム。

【請求項 8】

流体を前記内側区画室へおよび前記内側区画室から供給するための閉ループを更に含む、請求項5～7のいずれか一項に記載のシステム。

【請求項 9】

前記閉ループに接続されるリザーバを更に含む、請求項8に記載のシステム。

【請求項 10】

前記リザーバと関連付けられる少なくとも1つのセンサを更に含む、請求項9に記載のシステム。

【請求項 11】

前記センサが、温度センサ、位置センサ、光センサ、pHセンサ、酸素センサ、CO₂センサ、アンモニアセンサ、細胞密度センサ、および、これらの任意の組み合わせから成る群から選択される、請求項10に記載のシステム。

【請求項 12】

前記纖維マトリクスの纖維が不織PET纖維を備える、請求項1～11のいずれか一項に記載の受容体またはシステム。

【請求項 13】

細胞を増殖させるための装置であって、
長手方向に延びる外側管状壁と、前記外側管状壁の第1の外端および第2の外端のそれぞれで区画室を画定する第1の端部および第2の端部と、前記区画室内にあり、纖維マトリクスを備える充填物とを含むローラボトルと、

前記充填物を回転させるための回転子と、
を備える装置。

【請求項 14】

前記区画室内に配置される第1および第2の離間された第1の流体透過隔壁を更に含む

10

20

30

40

50

、請求項 1 3 に記載の装置。

【請求項 1 5】

流体を前記区画室へおよび前記区画室から供給するための閉ループを更に含む、請求項 1 3 または 1 4 に記載の装置。

【請求項 1 6】

前記閉ループに接続されるリザーバを更に含む、請求項 1 5 に記載の装置。

【請求項 1 7】

前記リザーバと関連付けられる少なくとも 1 つのセンサを更に含む、請求項 1 6 に記載の装置。

【請求項 1 8】

細胞増殖のための内側区画室を有する細胞培養のための受容体であって、

長手方向に延びる外側管状壁であり、該外側管状壁が長手方向で前記内側区画室の外側境界を画定している、外側管状壁と、

前記外側管状壁の第 1 の外端および第 2 の外端のそれぞれで前記内側区画室を画定する第 1 の端部および第 2 の端部と、

前記内側区画室の充填物と、

前記内側区画室内に配置される少なくとも 1 つの流体透過隔壁と、

を備える受容体。

【請求項 1 9】

前記流体透過隔壁が有孔板を備える、請求項 1 8 に記載の受容体。

20

【請求項 2 0】

細胞を培養するための方法であって、

繊維マトリクスを備える充填物をローラボトルに提供するステップと、

流体を前記ローラボトルに供給するステップと、

前記充填物を回転させるステップと、

を備える方法。

【請求項 2 1】

前記充填物を回転させる前記ステップが、前記供給するステップの後に前記ローラボトルを回転させるステップを備える、請求項 2 0 に記載の方法。

30

【請求項 2 2】

前記充填物を回転させる前記ステップは、前記ローラボトルが静止したままの状態で前記充填物を回転させるステップを備える、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記回転させるステップ中に流体を前記ローラボトルから引き出すステップを更に含む、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記引き出すステップの後に前記流体の特性を感知するステップを更に含むとともに、前記供給するステップ中に、引き出された前記流体を前記ローラボトルへ戻すステップを更に含む、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 5】

細胞増殖のための内側区画室を有する細胞培養のための受容体であって、

長手方向に延びる外側管状壁であり、該外側管状壁が長手方向で前記内側区画室の外側境界を画定している、外側管状壁と、

前記外側管状壁の第 1 の外端および第 2 の外端のそれぞれで前記内側区画室を画定する第 1 の端部および第 2 の端部と、

前記内側区画室の充填物と、

前記内側区画室内で細胞を培養するために流体を送るための管路と、

を備える受容体。

【請求項 2 6】

前記管路がコイル状チューブを備える、請求項 2 5 に記載の受容体。

50

【請求項 27】

前記コイル状チューブに接続するための入口を更に備える、請求項26に記載の受容体。

【請求項 28】

前記コイル状チューブに接続するための出口を更に備える、請求項26または27に記載の受容体。

【請求項 29】

入口および出口を更に含む、請求項25に記載の受容体。

【請求項 30】

前記管路が、前記入口に接続される第1のコイル状チューブと、前記出口に接続される第2のコイル状チューブとを備える、請求項29に記載の受容体。 10

【請求項 31】

前記入口および前記出口が前記受容体の共通壁に設けられている、請求項29に記載の受容体。

【請求項 32】

前記入口が、前記出口から離れた位置で流体を供給するように前記内側区画室内で延びるチューブに接続されている、請求項29に記載の受容体。

【請求項 33】

前記受容体に接続されるセンサを更に含み、前記センサがコイル状の伝送ラインと関連付けられている、請求項25～32のいずれか一項に記載の受容体。 20

【請求項 34】

前記管路に接続されるガス注入器を更に含む、請求項25～33のいずれか一項に記載の受容体。

【請求項 35】

前記注入器がロータメーターを備える、請求項34に記載の受容体。

【請求項 36】

前記管路と接続するための回転継手を更に含む、請求項25～35のいずれか一項に記載の受容体。

【請求項 37】

前記管路を含む再循環ループに配置されている、請求項25～36のいずれか一項に記載の受容体を含む細胞を培養するためのシステム。 30

【請求項 38】

前記管路が、一端が前記受容体に接続されるとともに、他端がリザーバに接続されている、請求項37に記載のシステム。

【請求項 39】

前記リザーバがフィルタおよび／またはセンサを含む、請求項38に記載のシステム。

【請求項 40】

細胞を培養するための方法であって、

(a) 所定の充填物を含む収容器を第1の方向に回転させるステップと、

(b) 前記第1の方向に回転させるステップの後、前記収容器を第2の方向に回転させるステップと、 40

を備える方法。

【請求項 41】

前記第1の方向に回転させるステップ中に流体を前記収容器へ供給するステップを備える、請求項40に記載の方法。

【請求項 42】

前記第1の方向に回転させるステップ中に流体を前記収容器へ供給するステップを備える、請求項40に記載の方法。

【請求項 43】

前記供給するステップの前にコイル状チューブを備える管路に対して前記収容器を接続

10

20

30

40

50

するステップを更に含む、請求項 4 1 または 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 4】

前記流体が液体を備え、前記供給するステップの前にガスを前記液体中に注入するステップを更に含む、請求項 4 1 ~ 4 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記回転させるステップが、前記第 1 の方向および前記第 2 の方向のそれぞれで前記收容器を少なくとも 1 回転させて完了する、請求項 4 1 ~ 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記回転させるステップが、前記第 1 の方向および前記第 2 の方向のそれぞれで前記收容器を少なくとも 2 回転させて完了する、請求項 4 1 ~ 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記回転させるステップが、前記第 1 の方向および前記第 2 の方向のそれぞれで前記收容器を少なくとも 3 回転させて完了する、請求項 4 1 ~ 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記ステップ (a) および (b) を繰り返すステップを更に含む、請求項 4 1 ~ 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 9】

細胞増殖に適合する充填物を收容する環状の内部空間を有する細胞培養のための受容体であって、環状の前記内部空間が環状容積部を有し、前記環状容積部が、

第 1 の外端および第 2 の外端と長手方向に延びる長手方向壁とを有する外側管状壁であり、該外側管状壁が長手方向で前記環状容積部の外側境界を画定している、外側管状壁と、

前記外側管状壁の前記第 1 の外端および前記第 2 の外端のそれぞれで前記環状容積部を画定して閉じる第 1 の閉鎖体および第 2 の閉鎖体と、

前記外側管状壁の前記第 1 の外端の方へ向けられる第 1 の外端と、前記外側管状壁の前記第 2 の外端の方へ向けられる第 2 の外端とを有する内側長尺壁であり、該内側長尺壁が前記外側管状壁内に配置されており、前記内側長尺壁が、長手方向に延びるとともに、前記環状容積部の内側境界を画定しており、前記内側境界が前記外側境界によって包囲されている、内側長尺壁と、

によって画定されている、受容体。

【請求項 5 0】

前記外側境界を囲むとともに長手方向にその軸線を有する最小円筒体が直径 D_{max} を有し、前記内側境界と前記外側境界との間の径方向の最大距離が D_{max} の 5 % ~ 45 % の範囲内である、請求項 4 9 に記載の受容体。

【請求項 5 1】

前記外側境界を囲むとともに長手方向にその軸線を有する最小円筒体が直径 D_{max} を有し、前記内側境界と前記外側境界との間の径方向の距離が D_{max} の 5 % ~ 45 % の範囲内である、請求項 4 9 または 5 0 に記載の受容体。

【請求項 5 2】

前記充填物が接着細胞増殖に適した充填物である、請求項 4 9 ~ 5 1 のいずれか一項に記載の受容体。

【請求項 5 3】

前記充填物が懸濁培養に適した充填物である、請求項 4 9 ~ 5 1 のいずれか一項に記載の受容体。

【請求項 5 4】

前記充填物が、織りもしくは不織りのマイクロファイバ、多孔質カーボン、および、キトサンのマトリクスから成る群から選択される、請求項 4 9 ~ 5 3 のいずれか一項に記載

10

20

30

40

50

の受容体。

【請求項 5 5】

前記受容体が、前記内部空間を少なくとも 2 つの区画室に分ける少なくとも第 1 の流体透過仕切りおよび第 2 の流体透過仕切りを更に備え、

前記第 1 の流体透過仕切りおよび前記第 2 の流体透過仕切りが、前記内側長尺壁から前記外側管状壁まで延びるとともに、管状軸線の方向と平行な長手方向で前記第 1 の閉鎖体から前記第 2 の閉鎖体まで延びており、

第 1 の区画室および第 2 の区画室のうちの一方が充填物を収容していない、
請求項 4 9 ~ 5 4 のいずれか一項に記載の受容体。

【請求項 5 6】

充填物を伴わない前記区画室が、前記内部空間の前記環状容積部の 25 ~ 90 % の容積を有する、請求項 5 5 に記載の受容体。

【請求項 5 7】

前記流体透過仕切りが、液体およびガスを透過できるとともに、前記充填物を保持するのに適している、請求項 5 5 または 5 6 に記載の受容体。

【請求項 5 8】

前記第 1 の閉鎖体および前記第 2 の閉鎖体のうちの少なくとも一方には、媒体および/またはガスを前記内部空間へおよび/または前記内部空間から供給するおよび/または引き出すための少なくとも 1 つのコネクタが設けられている、請求項 4 9 ~ 5 7 のいずれか一項に記載の受容体。

【請求項 5 9】

前記第 1 の閉鎖体および前記第 2 の閉鎖体のうちの少なくとも一方が、媒体および/またはガスを前記内部空間へおよび/または前記内部空間から供給するおよび/または引き出すための複数のコネクタを備える、請求項 5 8 に記載の受容体。

【請求項 6 0】

前記第 1 の閉鎖体および前記第 2 の閉鎖体のうちの少なくとも一方に、媒体および/またはガスを前記内部空間へおよび/または前記内部空間から供給するおよび/または引き出すための少なくとも 1 つのコネクタが設けられており、前記少なくとも 1 つの閉鎖体は、充填物が存在しない区画室へおよび/または該区画室から媒体および/またはガスを供給するおよび/または引き出すのに適したように配置される前記少なくとも 1 つのコネクタを備える、請求項 5 8 または 5 9 に記載の受容体。

【請求項 6 1】

前記少なくとも 1 つのコネクタが、可撓性管路を接続するための耐密取付具を備える、
請求項 5 8 ~ 6 0 のいずれか一項に記載の受容体。

【請求項 6 2】

前記少なくとも 1 つのコネクタが、前記外側管状壁の近傍で前記閉鎖体に配置されている、
請求項 5 8 ~ 6 1 のいずれか一項に記載の受容体。

【請求項 6 3】

前記内側長尺壁が前記外側管状壁内に中心付けられて配置されている、
請求項 4 9 ~ 6 2 のいずれか一項に記載の受容体。

【請求項 6 4】

前記外側管状壁が円筒管状要素によって設けられている、
請求項 4 9 ~ 6 3 のいずれか一項に記載の受容体。

【請求項 6 5】

前記内側長尺壁が円筒要素によって設けられている、
請求項 6 3 に記載の受容体。

【請求項 6 6】

前記内側長尺壁が前記外側管状壁内に同心的に配置されている、
請求項 6 5 に記載の受容体。

【請求項 6 7】

前記内側長尺壁が、その長手方向に対して垂直な平面にしたがう径方向断面を有し、前

10

20

30

40

50

記径方向断面が、円、卵形、橜円、正方形、長方形、および、円弧の群から選択される形狀を有する、請求項 6 5 または 6 6 に記載の受容体。

【請求項 6 8】

前記内側長尺壁が、その長手方向に対して垂直な平面にしたがう径方向断面を有し、前記径方向断面が円弧形狀を有し、この円弧が 180° よりも大きい中心角を有する、請求項 6 7 に記載の受容体。

【請求項 6 9】

前記内側長尺壁が管状壁である、請求項 4 9 ~ 6 8 のいずれか一項に記載の受容体。

【請求項 7 0】

前記内側長尺壁が前記外側管状壁に対して所定の位置で結合されている、請求項 4 9 ~ 6 9 のいずれか一項に記載の受容体。 10

【請求項 7 1】

前記内側長尺壁が内側長尺要素によって設けられており、前記外側管状壁が外側管状要素によって設けられており、前記内側長尺要素と前記外側管状要素とが一体成形されている、請求項 7 0 に記載の受容体。

【請求項 7 2】

前記外側管状壁が、その長手方向に対して垂直な平面にしたがう径方向断面を有する円筒状の管状壁であり、前記径方向断面が、円、卵形、橜円、正方形、および、長方形の群から選択される形狀を有する、請求項 4 9 ~ 7 1 のいずれか一項に記載の受容体。

【請求項 7 3】

前記外側管状壁および前記内側長尺壁が円筒状の管状壁であり、前記外側管状壁と前記内側長尺壁との間の前記内部空間の径方向幅が、前記外側管状要素の直径の 5 ~ 35% の範囲内である、請求項 4 9 ~ 7 2 のいずれか一項に記載の受容体。 20

【請求項 7 4】

前記内側長尺壁が前記外側管状壁内に同心的に配置されている、請求項 4 9 ~ 7 3 のいずれか一項に記載の受容体。

【請求項 7 5】

前記内部空間が 100 ミリリットル ~ 25 リットルの容積を有する、請求項 4 9 ~ 7 4 のいずれか一項に記載の受容体。 30

【請求項 7 6】

前記外側管状壁の直径と前記受容体の長さとの間の比が 10 / 25 ~ 100 / 25 である、請求項 4 9 ~ 7 5 のいずれか一項に記載の受容体。

【請求項 7 7】

前記第 1 の閉鎖体および前記第 2 の閉鎖体のうちの少なくとも一方が、前記外側管状壁を回転させるための駆動ユニットに対して前記外側管状壁を結合するための結合要素を備える、請求項 4 9 ~ 7 6 のいずれか一項に記載の受容体。

【請求項 7 8】

前記内側長尺壁が中空の内側長尺要素によって設けられており、前記第 1 の閉鎖体が前記内側長尺要素の第 1 の外端をシールしている、請求項 4 9 ~ 7 7 のいずれか一項に記載の受容体。 40

【請求項 7 9】

前記内側長尺壁が中空の内側長尺要素によって設けられており、前記第 2 の閉鎖体が前記内側長尺要素の第 2 の外端をシールしている、請求項 4 9 ~ 7 8 のいずれか一項に記載の受容体。

【請求項 8 0】

前記内側長尺壁が流体透過壁であり、および / または、前記外側管状壁が流体透過壁である、請求項 4 9 ~ 7 9 のいずれか一項に記載の受容体。

【請求項 8 1】

前記受容体を振動させるための振動器を更に含む、請求項 4 9 ~ 8 0 のいずれか一項に記載の受容体。 50

【請求項 8 2】

請求項 4 9 ~ 8 0 のいずれか一項に記載の 1 つまたは複数の受容体を備える細胞培養のためのバイオリアクタであって、前記 1 つまたは複数の受容体は、それらの管状軸線が略水平となる状態で且つ長手方向軸線に沿って回転可能に配置されている、バイオリアクタ。

【請求項 8 3】

前記 1 つまたは複数の受容体が、媒体および / またはガスの貯留部に対して前記受容体の前記内部空間を結合するための可撓性管路を備える、請求項 8 2 に記載のバイオリアクタ。

【請求項 8 4】

前記外側管状壁を時計回りおよび反時計回りに交互に回転させることができる駆動手段を備える、請求項 8 2 または 8 3 に記載のバイオリアクタ。

【請求項 8 5】

前記外側管状壁の外表面と接触することによって前記外側管状壁を回転させるための駆動ローラを更に備える、請求項 8 4 に記載のバイオリアクタ。

【請求項 8 6】

細胞を培養するための方法であって、

(a) 請求項 4 9 ~ 8 1 のいずれか一項に記載の受容体内へ、

細胞、および、

培養媒体、

を導入するステップと、

(b) 前記外側管状壁の長手方向が略水平となる状態で前記受容体を配置するステップであり、前記外側管状壁がその長手方向と平行な軸線に沿って回転可能である、ステップと、

(c) 前記受容体の前記外側管状壁を前記軸線に沿って回転させるステップと、
を備える方法。

【請求項 8 7】

前記細胞が足場依存性細胞であり、前記細胞が接着細胞増殖によって培養される、請求項 8 6 に記載の方法。

【請求項 8 8】

前記細胞が非足場依存性細胞であり、前記細胞が懸濁培養によって培養される、請求項 8 6 に記載の方法。

【請求項 8 9】

前記受容体が少なくとも 1 つの径方向位置に至るときに前記培養媒体の上側流体表面が少なくとも前記内側長尺壁に到達する、請求項 8 6 ~ 8 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 0】

前記受容体が少なくとも 1 つの径方向位置に至るときに前記培養媒体の上側流体表面が前記内側長尺壁よりも下側にある、請求項 8 6 ~ 8 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 1】

開放空間内に設けられる前記培養媒体の体積が、前記受容体の前記内部空間の前記環状容積部の 2 5 ~ 1 0 0 % である、請求項 8 6 ~ 9 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 2】

前記外側管状壁が時計回りおよび反時計回りに交互に回転される、請求項 8 6 ~ 9 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 3】

前記軸線の周りの回転が、0 . 1 ~ 2 5 回転 / 分の最大角速度を伴って行なわれる、請求項 8 6 ~ 9 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 4】

前記外側管状壁が、前記内部空間とは反対の方向に向けられる外表面を有し、前記外表面が最大で 1 0 c m / 秒の最大線速度を有する、請求項 8 6 ~ 9 3 のいずれか一項に記載

10

20

30

40

50

の方法。

【請求項 9 5】

前記受容体の前記内部空間内の媒体および／またはガスを化学分析するおよび／または置き換えるステップを更に備える、請求項 8 6 ~ 9 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 6】

前記受容体を振動させるステップを更に含む、請求項 8 6 ~ 9 5 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

この出願は、その開示が参考することにより本願に組み入れられる米国仮特許出願第 6 1 / 7 3 5 , 8 4 1 号の利益を主張する。

【0 0 0 2】

この開示は、細胞培養のための受容体、細胞培養のための受容体を備えるバイオリアクタ、そのような受容体またはバイオリアクタを形成する方法、および、受容体またはバイオリアクタを使用するための方法、例えば細胞培養のための方法に関する。

【背景技術】

【0 0 0 3】

細胞培養では、今日、1つ以上の受容体を備えるバイオリアクタの収率がバイオ産業の主な懸案事項のうちの1つである。現在の手法の複雑さもコストを増大させ得る。したがって、改善の必要性が認められる。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0 0 0 4】

本明細書中に開示される実施形態の目的は、細胞培養のための良好な受容体および方法を提供することである。利点は、受容体が、細胞増殖のために使用されるときに、複雑性およびコストが増加することなく現在知られる受容体の収率に少なくとも等しい収率または現在知られる受容体の収率よりもかなり大きい収率を有することができるという点となり得る。受容体の単位容積当たりの収率である「「容積収率」の増大をもたらす細胞密度の増大を成す受容体を提供することが利点である。細胞増殖のために使用されるときにその全体にわたって略一様な細胞培養を成し得る受容体を提供することが利点である。細胞増殖のために使用されるときに、細胞が増殖するようになっている表面全体に沿って媒体のより均一なエアレーションおよびリフレッシュを行なう受容体を提供することが利点である。良好な細胞増殖および／または生存度維持の改善をもたらす受容体を提供することが利点である。使い捨てできる受容体およびバイオリアクタを製造するために使用され得る受容体を提供することが利点である。

【0 0 0 5】

方法および受容体は、前記目的のうちの1つ以上を達成してもよい。

【課題を解決するための手段】

【0 0 0 6】

第1の態様によれば、本開示に係る細胞培養のための受容体の実施形態は、細胞増殖に適合する充填物 (packing) を収容する内部空間を有する。内部空間は、

- 第1および第2の外端を有する外側管状壁と、
- 外側管状壁の第1の外端の方へ向けられた第1の外端と、外側管状壁の第2の外端の方へ向けられた第2の外端とを有する内側長尺壁であって、内側長尺壁が外側管状壁内に配置される、内側長尺壁と、
- 内部空間を閉じるための第1および第2の閉鎖体と
によって画定される。

【0 0 0 7】

細胞培養のための受容体は、細胞増殖に適合する充填物を収容する環状内部空間を有し

10

20

30

40

50

てもよい。この環状内部空間は環状容積を有し、環状容積は、

- 第1および第2の外端と長手方向に延びる長手方向壁とを有する外側管状壁であって、該外側管状壁が長手方向で環状容積の外側境界を画定する、外側管状壁と、

- 外側管状壁の第1および第2の外端のそれぞれで環状容積を画定して閉じる第1および第2の閉鎖体と、

- 外側管状壁の第1の外端の方へ向けられる第1の外端と、外側管状壁の第2の外端の方へ向けられる第2の外端とを有する内側長尺壁であって、該内側長尺壁が外側管状壁内に配置され、内側長尺壁が、長手方向に延びるとともに、環状容積の内側境界を画定し、内側境界が外側境界によって包囲される、内側長尺壁と
によって画定される。

10

【0008】

随意的に、内側境界は、外側境界によって囲まれる。

【0009】

内側長尺壁の第1の外端が第1の閉鎖体と一致してもよい。内側長尺壁の第2の外端が第2の閉鎖体と一致してもよい。

【0010】

内側長尺壁が内側長尺要素によって与えられてもよい。外側管状壁が外側管状要素によって与えられてもよい。

【0011】

細胞培養を可能にするための受容体内に設けられる細胞培養媒体などの培養媒体のほぼ全ての量を充填物に通して押し流すことができる事が利点である。

20

【0012】

1つの実施形態において、外側境界を囲むとともに長手方向にその軸線を有する最小円筒体は、直径 D_{max} を有してもよく、内側境界と外側境界との間の径方向の距離は、 D_{max} の 5% ~ 45% の範囲内であってもよい。

【0013】

環状容積を有する環状内部空間は、細胞増殖中に、細胞培養媒体などの培養媒体で少なくとも部分的に満たされる受容体を回転させると、媒体が略均一なおよび/または一定の流量にしたがって充填物を通じて流れることができるという利点を有する。更には、媒体が栓流にしたがって充填物を流通してもよい。より均一で予期し得る細胞増殖が得られてもよい。随意的に、より高い収率が得られてもよい。細胞が増殖できるようにするために媒体およびガス、例えば酸素または二酸化炭素が混合されるようになっている場合、充填物を通じた媒体の予期し得るより均一な流れは、充填物のより均一なエアレーションをもたらすことができ、したがって、充填物の全体にわたって細胞増殖の効率を高めることができる。これは、特に、細胞培養媒体などの培養媒体が栓流として充填物を通じて流れる場合である。

30

【0014】

充填物の所定の領域中へ細胞培養媒体などの培養媒体が貫く際には、存在するガスまたは空気が押しのけられ、例えば、存在するガスまたは空気がこの領域から流出する。所定量の細胞培養媒体などの培養媒体が領域を通過した時点で、この所定量の押しのけられた細胞培養媒体などの培養媒体の背後に陥凹部が形成される。この陥凹部により、隣り合う充填物領域に存在するガスまたは空気は、陥凹部が存在する領域へ吸引される。したがって、細胞培養媒体などの培養媒体が充填物を通じて移動されるだけでなく、受容体内に存在するガスまたは空気も充填物を通じて移動される。

40

【0015】

細胞培養媒体などの培養媒体、特に媒体の組成は、得られる収率に適合されてもよい。特定の実施形態では、例えば一時的発現または構成的発現のため、胞子要素または付加的な炭素源が媒体に混入される。他の特定の実施形態では、例えば標識実験（例えば、NMR 標識）のため、最小量の媒体が使用される。

【0016】

50

第1の態様に係る受容体は、細胞培養のためのバイオリアクタの一部であってもよい。受容体はバイオリアクタ内に回転可能に装着され、それにより、受容体は、受容体の長手方向、すなわち、外側管状壁の長手方向と略平行な軸線の周りで回転される。閉鎖体は、外側管状壁の2つの外端で環状容積を閉じる。これは、これらの閉鎖体の高さで容積内に存在する媒体が環状容積から横方向に漏れることを防止する。

【0017】

任意の実施形態において、充填物は、接着細胞増殖に適した充填物であってもよい。充填物は、懸濁培養に適した充填物であってもよい。充填物は、織り、もしくは不織りのマイクロファイバ、多孔質カーボン、および、キトサンのマトリクスから成る群から選択されてもよい。マイクロファイバは、随意的に、P E T または任意の他のポリマー、もしくはバイオポリマーから形成されてもよい。ポリマーは、そのような処理が必要な場合には、細胞培養に適合するように処理されてもよい。

10

【0018】

適した充填物または「担持材料」は、細胞増殖に適合する、鉱物キャリア、例えばケイ酸塩、リン酸カルシウム、有機化合物、例えば多孔質カーボン、天然物、例えばキトサン、ポリマー、または、バイオポリマーである。充填物は、規則正しい、または不規則な構造を有するビーズの形態を有することができ、あるいは、細胞増殖に適合するポリマーまたは任意の他の材料の織り、または不織りのマイクロファイバを備えてよい。また、充填物は、孔またはチャネルを有する一體品として設けることもできる。受容体内の充填物は、様々な形状および寸法を有することができる。いくつの実施形態において、充填物は、中実または多孔質の球、断片、多角形の微粒子材料である。一般に、使用時に受容体内での充填物粒子の動きを回避するため、十分な量の充填物が使用される。これは、粒子の動きが細胞を損傷させる場合があるからであり、また、粒子の動きがガスおよび/または媒体の循環に影響を及ぼす場合があるからである。あるいは、充填物は、内側受容体内に嵌合する、または受容体の区画室内に嵌合するとともに適切な多孔率および表面を有する要素から成る。特定の実施形態に係る充填物の多孔率は、60% ~ 99%、特に80% ~ 90%の範囲である。接着細胞増殖の場合、充填物のための細胞に対する接触可能表面は、約150 ~ 1000 cm² / cm³である。その一例は、C i n v e n t i o n (ドイツ)によって製造されるカーボンマトリクス (C a r b o s c a l e) である。

20

【0019】

外側管状壁、内側長尺要素、閉鎖体、および、随意的には受容体の他の要素は、細胞培養のための受容体に適した材料、例えば、ステンレス鋼、ポリスチレン、ガラス、ポリエチレン、ポリスルホン、メチルメタクリレート、高密度ポリエチレン、低密度ポリエチレン、ポリエチレンテレフタレート、グリコール、ペルフルオロアルコキシ、ポリカーボネート、フッ化ビニリデン樹脂、ポリテトラフルオロエチレン、超高分子量ポリエチレン、ナイロン、テフロン(登録商標)、結晶ポリスチレン、メタロセン系ポリプロピレン、または、シンジオタクチックポリスチレンから形成されてもよい。細胞が懸濁液中で増殖される1つの実施形態において、受容体の要素は、必要に応じて、細胞接着を防止するための化合物を用いて処理される。細胞が接着細胞として増殖される他の実施形態において、受容体の要素は、必要に応じて、所望の接着を得るためにポリリシンなどの化合物を用いて処理される。

30

【0020】

受容体は、内部空間を少なくとも2つの区画室に分ける少なくとも第1および第2の流体透過仕切りを更に備えてもよく、

- 流体透過仕切りは、内側長尺壁から外側管状壁まで延びるとともに、管状軸線の方向と平行な長手方向で第1の閉鎖体から第2の閉鎖体まで延び、

- 第1および第2の区画室のうちの一方が充填物を収容しない。

40

【0021】

受容体は、内部空間を少なくともN個の区画室に分ける少なくともN個の流体透過仕切りを更に備えてもよく、Nは2以上の整数である。流体透過仕切りは、内側長尺壁から外

50

側管状壁まで延びるとともに、管状軸線の方向と平行な長手方向で第1の閉鎖体から第2の閉鎖体まで延びてもよい。随意的に、最大でもN-1個の区画室に前記充填物が設けられる。随意的に、Nは偶数の整数であり、また、N/2個の区画室に前記充填物が設けられる。Nが2以上である場合、前記充填物を備える各区画室は、充填物を伴わない2つの区画室に隣接してもよい。

【0022】

外側管状壁が円筒壁である場合、内部空間は、外側管状壁の長手方向の方向と平行な方向に延びる複数の区画室に分けられてもよい。

【0023】

充填物を伴わない区画室は、内部空間の環状容積の25~90%の容積を有してもよい。

【0024】

流体透過仕切りは、液体およびガスを透過できてもよく、また、充填物を保持するのに適してもよい。

【0025】

仕切りは多孔質材料から形成されてもよく、その孔は、仕切りが液体およびガスを透過できるようにするのに適したサイズを有するとともに、仕切りが充填物を保持できるようにするべく十分小さい。

【0026】

あるいは、仕切りは、使用される液体およびガスを透過できなくてもよい。したがって、開放空気が複数のサブユニットに分けられ、その各サブユニットには適した充填物が設けられてもよい。

【0027】

第1および第2の閉鎖体のうちの少なくとも一方には、媒体および/またはガスを内部空間へおよび/または内部空間から供給するおよび/または引き出すための少なくとも1つのコネクタが設けられてもよい。

【0028】

コネクタは、スナップ取付具または耐密取付具を備えてもよく、あるいは、任意の他の適したコネクタであってもよい。1または複数のコネクタは、媒体を内部空間へ、または内部空間から案内する可撓性の管路またはチューブまたはダクトに接続されてもよい。特定の実施形態では、耐密取付具が可撓性チューブに接続される。

【0029】

媒体の組成は、考慮中の細胞のタイプによって決まる。これらの媒体は、当業者に良く知られており、様々な製造業者により市販されている。本発明の実施形態の受容体を用いて得られる高い細胞密度を考慮して、特定の実施形態では、炭素源、胞子要素、ビタミン、アミノ酸などが媒体に混入される。特定の実施形態では、媒体のレオロジー特性を適合させるために、媒体に界面活性剤が更に供給される。バクテリアおよび酵母の増殖においてはガスが一般に空気であり、一方、哺乳類の細胞は、一般に、95%空気および5%CO₂の混合物中で増殖される。本発明の方法の特定の実施形態において、受容体内のガスは、酸素および/またはCO₂の枯渇に関して監視されて、酸素および/またはCO₂が交換され、または補給される。

【0030】

第1および第2の閉鎖体のうちの少なくとも一方には、媒体および/またはガスを内部空間へおよび/または内部空間から供給するおよび/または引き出すための少なくとも1つのコネクタが設けられてもよい。少なくとも1つの閉鎖体は、充填物が存在しない区画室へおよび/または該区画室から媒体および/またはガスを供給するおよび/または引き出すために少なくとも1つのコネクタが適するように配置される少なくとも1つのコネクタを備えてもよい。第1および第2の閉鎖体は、媒体および/またはガスを内部空間へおよび/または内部空間から供給するおよび/または引き出すための複数のコネクタを備えてよい。

10

20

30

40

50

【0031】

少なくとも1つのコネクタを備える第1および第2の閉鎖体のうちの少なくとも一方と外側管状壁とが取り外し不可能な場合、少なくとも1つのコネクタは、充填物が存在しない区画室へおよび／または該区画室から媒体および／またはガスを供給するおよび／または引き出すために少なくとも1つのコネクタが適するように配置されるのに適する。

【0032】

少なくとも1つのコネクタは、可撓性管路を接続するための耐密取付具を備えてもよい。

【0033】

少なくとも1つのコネクタは、外側管状壁の近傍で閉鎖体に配置されてもよい。

10

【0034】

開口が外側管状壁と接触した状態で配置されてもよい。

【0035】

内側長尺要素が外側管状壁内に中心付けられて配置されてもよい。

【0036】

外側管状壁が円筒管状要素によって与えられてもよい。

20

【0037】

内側長尺壁が円筒要素によって与えられてもよい。

【0038】

内側長尺要素が外側管状壁内に同心的に配置されてもよい。

【0039】

内側長尺要素は、その長手方向に対して垂直な平面にしたがう径方向断面を有してもよい。径方向断面は、円、卵形、橢円、正方形、長方形、および、円弧の群から選択される形状を有してもよい。

【0040】

径方向断面は、円弧形状を有してもよく、この円弧は180°よりも大きい中心角を有する。この実施形態は、随意的には外側管状要素および内側長尺要素の両方の軸線であってもよい1つの軸線を中心に受容体が回転されるときに、ガスチャンバが形成される回転位置を得ることができるという利点を有する。これは、弦が略水平に至らされ且つ円弧が弦よりも上側に配置される姿勢まで受容体が回転されるときに得ることができる。媒体の液位が弦よりも下側となるように受容体が満たされると、媒体液位と弦との間の空間がガスチャンバとして機能し得る。随意的にはバイオリアクタの一部である受容体と随意的にはバイオリアクタの外部である受容体の外部との間でガスを交換するために自由媒体表面が受け入れられる。このチャンバを使用して受容体内に取り込まれ、または受容体から取り出されてもよいガスは、媒体と直接に接触しない。

30

【0041】

内側長尺壁は管状壁であってもよい。

【0042】

内側長尺壁は、外側管状壁に対して所定の位置で結合されてもよい。

40

【0043】

内側長尺要素が内側長尺要素によって与えられ、外側管状要素が外側管状要素によって与えられ、内側長尺要素と外側管状要素とが一体成形されてもよい。

【0044】

内側長尺壁と外側管状壁とが互いに対して回転可能であってもよい。

【0045】

外側管状壁は、その長手方向に対して垂直な平面にしたがう径方向断面を有する円筒状の管状壁であってもよく、径方向断面は、円、卵形、橢円、正方形、または、長方形の群から選択される形状を有する。

【0046】

外側管状壁および内側長尺壁が円筒状の管状壁であってもよい。外側管状壁と内側長尺

50

壁との間の内部空間の径方向幅は、外側管状要素の直径の5～45%の範囲内であってよい。

【0047】

内側長尺壁が外側管状壁内に同心的に配置されてもよい。

【0048】

内部空間が100ミリリットル～25リットル、更には100リットルの容積を有してもよい。

【0049】

外側管状壁の直径と受容体の長さとの間の比が10/25～100/25であってよい。したがって、受容体は、受容体の長さの0.4～4倍の外側管状要素の直径を有してもよい。

10

【0050】

第1および第2の閉鎖体のうちの少なくとも一方は、外側管状壁を回転させるための駆動ユニットに対して外側管状壁を結合するための結合要素を備えてもよい。

【0051】

内側長尺壁が内側中空長尺要素によって与えられてもよく、第1の閉鎖体は内側長尺要素の第1の外端をシールする。

20

【0052】

内側長尺壁が内側中空長尺要素によって与えられてもよく、第2の閉鎖体は内側長尺要素の第2の外端をシールする。

【0053】

内側長尺壁が流体透過壁であってよい。いくつの実施形態によれば、外側管状壁が流体透過壁であってよい。いくつの実施形態によれば、内側長尺壁および/または外側管状壁は、液体およびガスを透過できてもよく、充填物を保持するのに適している。

【0054】

流体透過壁は、孔を備える多孔質材料を使用して設けられてもよく、したがって多孔質壁を備える。あるいは、流体透過壁は、開口を備える有孔材料を使用して設けられてもよく、したがって有孔壁を備える。しかしながら、流体透過壁には、充填物が壁の一方側から他方側へ通過することを防止するのに十分小さい孔または開口が設けられる。

30

【0055】

第2の態様によれば、細胞培養のためのバイオリアクタが提供される。バイオリアクタは、本開示の第1の態様に係る1つ以上の受容体を備える。1つ以上の受容体は、それらの管状軸線が略水平となる状態で且つ長手方向軸線に沿って回転可能に配置されてもよい。

【0056】

受容体の長手方向軸線は、外側管状壁の長手方向と平行な軸線である。1つ以上の受容体は、リアクタ容器内に回転可能に装着されてもよい。随意的に、外側管状壁には開口が設けられ、あるいは、外側管状壁は、多孔質材料、例えば液体およびガスを透過する材料から形成される。流体透過外側管状壁が部分的に媒体で満たされた容器内で回転され、それにより、外側管状壁の一部だけが媒体中に浸漬されると、外側管状壁を通じて環状容積内へ流れる媒体を充填物に供給することができる。媒体の一部は、受容体が容器内で回転するようになっているときに充填物と共に引きずられてもよい。そのような流体透過材料の使用は、方法の制御も簡略化する。閉じられた受容体は、媒体およびガスを化学分析し、またはリフレッシュするために、コネクタまたは導管の使用を必要とする。これは、コネクタの適切な位置と、サンプルリングまたはリフレッシュの適切なタイミングとを要する。流体透過外側壁を有する1つ以上の受容体が大型容器内に回転可能に配置される実施形態では、ガスおよび媒体のサンプルリングをこの容器内で恒久的に行なうことができる。

40

【0057】

1つ以上の受容体は、媒体および/またはガスの貯留部に対して受容体の内部空間を結

50

合するための可撓性管路を備えてよい。

【0058】

バイオリアクタは、外側管状壁を時計回りおよび反時計回りに交互に回転させができる駆動手段を備えてよい。

【0059】

随意的に、内側長尺壁は、外側管状壁と同期して回転される。

【0060】

バイオリアクタは、外側管状壁の外表面と接触することによって外側管状壁を回転させるための駆動ローラを更に備えてよい。

【0061】

受容体は、磁気要素を備えてよい。バイオリアクタは、受容体の磁気要素と協働する磁気要素を更に備えてよい。両方の磁気要素は、回転軸線周りでのバイオリアクタの磁気要素の回転が、受容体の磁気要素の回転をもたらし、したがって受容体の外側管状壁、随意的には受容体全体を回転させるように配置されてもよい。

10

【0062】

他の態様によれば、細胞を培養するための方法が提供される。方法は、

(a) 本発明の第1の態様に係る受容体内へ

- 足場依存性細胞または非足場依存性細胞、および、
- 培養媒体

を導入するステップと、

20

(b) 外側管状壁の長手方向が略水平となる状態で受容体を配置させるステップであって、外側管状壁がその長手方向と平行な軸線に沿って回転可能である、ステップと、

(c) 前記受容体の外側管状壁を前記軸線に沿って回転させるステップとを備える。

【0063】

随意的に、内側長尺壁は、外側管状壁と同期して回転されてもよい。

【0064】

いくつの実施形態によれば、細胞の培養が接着細胞増殖によって得られてもよい。

【0065】

いくつの実施形態によれば、細胞の培養が懸濁培養によって得られてもよい。

30

【0066】

いくつの実施形態によれば、受容体が少なくとも1つの径方向位置に至らされるときに培養媒体の上側流体表面が少なくとも内側長尺壁に達してもよい。

【0067】

上側流体表面、この場合には液位は、少なくとも1つの径方向位置に至らされるときに上側流体表面が1つのポイントで少なくとも内側長尺壁と接触するように内部空間内に与えられる。内側長尺壁は、少なくとも1つの径方向位置に至らされるときに媒体中に部分的に浸漬されてもよい。

【0068】

いくつの実施形態によれば、受容体が少なくとも1つの径方向位置に至らされるときに培養媒体の上側流体液位が内側長尺壁よりも下側にあってもよい。

40

【0069】

上側流体表面、この場合には液位は、少なくとも1つの径方向位置に至らされるときに上側流体表面が1つのポイントで内側長尺壁と接触しないように内部空間内に与えられる。したがって、自由液面が与えられ、この自由液面よりも上側にガスチャンバが存在する。このガスチャンバは、受容体の外部から、または受容体の外部へガスを交換するために使用されてもよい。

【0070】

いくつの実施形態によれば、開放空間内に設けられる媒体の体積は、受容体の内部空間の環状容積の25～100%であってもよい。

50

【0071】

いくつの実施形態によれば、外側管状壁が時計回りおよび反時計回りに交互に回転されてもよい。

【0072】

いくつの実施形態によれば、前記軸線の周りの回転は、0.1～25回転／分の最大角速度を伴って行なわれてもよい。

【0073】

いくつの実施形態によれば、管状壁は、内部空間とは反対の方向に向けられる外表面を有してもよい。外表面は、最大で10cm／秒の最大線速度を有してもよい。

【0074】

いくつの実施形態によれば、方法は、受容体の内部空間内の媒体および／またはガスを化学分析するおよび／または置き換えるステップを更に備えててもよい。

【0075】

本開示の更なる態様によれば、細胞増殖のための内側区画室を有する細胞培養のための受容体は、

- 長手方向に延びる外側管状壁であって、該外側管状壁が径方向で内側区画室の外側境界を画定する、外側管状壁と、

- 外側管状壁の第1および第2の外端のそれぞれで内側区画室を画定する第1および第2の端部と、

- 繊維マトリクスを備える内側区画室内の充填物と
を備える。

【0076】

1つの実施形態では、第1および第2の端部が取り外し可能なキャップを備える。第1の端部が入口を含んでもよく、また、第2の端部が出口を含んでもよい。繊維マトリクスと接触するために1つ以上の流体透過隔壁が区画室内に配置されてもよい。

【0077】

少なくとも充填物を回転させるために回転子が設けられてもよい。回転子は、受容体の外側管状壁と接触するためのローラを備えててもよい。回転子が磁気カップリングを備えててもよい。

【0078】

流体を区画室へおよび区画室から供給するための閉ループが設けられてもよい。リザーバが閉ループに接続されてもよく、また、少なくとも1つのセンサがリザーバと関連付けられてもよい。センサは、温度センサ、位置センサ、光センサ、pHセンサ、酸素センサ、CO₂センサ、アンモニアセンサ、細胞密度センサ、または、これらの任意の組み合わせから成る群から選択されてもよい。

【0079】

任意の実施形態では、繊維マトリクスの繊維が不織PET繊維を備えててもよい。

【0080】

本開示の更なる態様は、細胞を増殖させるための装置であって、

- 長手方向に延びる外側管状壁と、外側管状壁の第1および第2の外端のそれぞれで区画室を画定する第1および第2の端部と、繊維マトリクスを備える区画室内の充填物とを含むローラボトルと、

- 充填物を回転させるための回転子と
を備える装置に関連する。

【0081】

1つの実施形態では、第1および第2の離間された第1の流体透過隔壁が区画室内に配置される。流体を区画室へおよび区画室から供給するための閉ループが設けられてもよい。リザーバが閉ループに接続されてもよく、また、少なくとも1つのセンサがリザーバと関連付けられてもよい。

【0082】

10

20

30

40

50

本開示の更なる態様は、細胞増殖のための内側区画室を有する細胞培養のための受容体に関し、この受容体は、長手方向に延びる外側管状壁であって、該外側管状壁が長手方向で内側区画室の外側境界を画定する、外側管状壁と、外側管状壁の第1および第2の外端のそれぞれで区画室を画定する第1および第2の端部と、区画室内の充填物と、区画室内に配置される少なくとも1つの流体透過隔壁とを備える。1つの実施形態では、隔壁が有孔板を備える。

【0083】

本開示の更なる他の態様は、細胞を培養するための方法であって、充填物をローラボトルに与えるステップと、流体をローラボトルに供給するステップと、充填物を回転させるステップとを備える方法に関する。

10

【0084】

1つの実施形態において、充填物（繊維マトリクスを備えてよい）を回転させるステップは、供給するステップの後にローラボトルを回転させるステップを含む。充填物を回転させるステップは、ローラボトルが静止したままの状態で充填物を回転させるステップを備える。流体をローラボトルから引き出すステップが回転させるステップ中に行なわれてもよい。方法は、引き出すステップの後に流体の特性を感知するステップを更に含むとともに、引き出された流体を供給するステップ中にローラボトルへ戻すステップを更に含んでもよい。

20

【0085】

本開示の更なる態様は、細胞増殖のための内側区画室を有する細胞培養のための受容体に関連し、この受容体は、

- 長手方向に延びる外側管状壁であって、該外側管状壁が長手方向で内側区画室の外側境界を画定する、外側管状壁と、
- 外側管状壁の第1および第2の外端のそれぞれで区画室を画定する第1および第2の端部と、
- 内側区画室の充填物と、
- 内側区画室内で細胞を培養するために流体を送るための管路とを備える。

30

【0086】

1つの実施形態では、管路がコイル状チューブを備える。受容体は、コイル状チューブに接続するための入口、および、コイル状チューブに接続するための出口を更に備えてもよい。管路は、入口に接続される第1のコイル状チューブと、出口に接続される第2のコイル状チューブとを備えてもよい。入口および出口が受容体の共通壁に設けられてもよい。入口は、出口から離れた位置で流体を供給するために内側区画室内で延びるチューブに接続されてもよい。センサが受容体に接続されてもよく、前記センサはコイル状の伝送ラインと関連付けられる。ロータメーターなどのガス注入器が管路に接続されてもよい。管路と接続するために回転継手が設けられてもよい。

40

【0087】

任意の実施形態において、細胞を培養するためのシステムは、管路を含む再循環ループに配置される受容体を含んでもよい。管路は、一端が受容体に接続されるとともに、他端がリザーバに接続されてもよい。リザーバは、フィルタおよび／またはセンサを含んでもよい。

【0088】

本開示の更なる他の態様は、細胞を培養するための方法であって、(a)所定の充填物を含む収容器を第1の方向に回転させるステップと、(b)第1の方向に回転させるステップの後、前記収容器を第2の方向に回転させるステップとを備える方法に関する。

50

【0089】

方法は、第1の方向に回転させるステップ中に流体を収容器へ供給するステップを含んでもよい。方法は、第1の方向に回転させるステップ中に流体を収容器へ供給するステップを備えてもよい。方法は、供給するステップの前にコイル状チューブを備える管路に対して収容器を接続するステップを更に含んでもよい。流体が液体を備えてもよく、また、方法は、供給するステップの前にガスを液体中に注入するステップを更に含んでもよい。

【0090】

任意の実施形態において、回転させるステップは、第1および第2の方向のそれぞれで収容器の少なくとも1つの全回転にわたって完了されてもよい。回転させるステップは、第1および第2の方向のそれぞれで収容器の少なくとも2つの全回転にわたって完了されてもよい。回転させるステップは、第1および第2の方向のそれぞれで収容器の少なくとも3つの全回転にわたって完了されてもよい。方法は、ステップ(a)および(b)を繰り返すステップを更に含んでもよい。

10

【0091】

特定の好ましい態様は、添付の独立請求項および従属請求項に記載される。従属請求項からの特徴は、必要に応じて、単に請求項に明示的に記載されているだけでなく、独立請求項の特徴と組み合わされてもよく、また、他の従属請求項の特徴と組み合わされてもよい。

【0092】

この分野におけるデバイスの一定の改良、変更、および、進展が存在するが、本概念は、従前の方法からの逸脱を含めて、かなり新しい今までにない改良に相当し、それにより、より効率的で、安定した、信頼できるこの種のデバイスをもたらすと考えられる。

20

【0093】

本教示内容は、懸濁培養または接着細胞増殖を使用した、細胞の培養のための改良されたバイオリアクタの設計を可能にする。受容体は、例えば細菌性細胞などの原核細胞、特に、真核細胞、例えば酵母細胞、植物細胞、昆虫細胞、哺乳類細胞、とりわけ人の細胞、あるいは、ハイブリドーマ細胞または幹細胞をもたらす抗体のために使用されてもよい。1つの実施形態によれば、これらの細胞自体が採取される。他の実施形態では、感染細胞から得られるウイルス、抗体、組み換え核酸構成物(例えば、核外遺伝子)、組み換えタンパクまたは細胞内代謝物、例えばビタミンまたはホルモンなどの細胞由来生成物が収集される。

30

【0094】

前述したおよび他の特性、特徴、および、利点は、一例として発明の原理を示す添付図面と併せて解釈される以下の詳細な説明から明らかになる。この説明は、発明の範囲を限定することなく、単なる一例として与えられる。以下に引用される参照図は添付図面を示す。

【図面の簡単な説明】

【0095】

【図1】本開示の第1の態様に係る受容体の概略側面図およびこの受容体の径方向断面である。

40

【図1a】受容体の中心軸線に対して垂直な平面にしたがってもたらされる径方向断面である。

【図2】本開示の第1の態様に係る受容体の長手方向断面の概略図であり、断面は、受容体の中心軸線と平行で該中心軸線を備える長手方向平面にしたがってもたらされる。

【図3】第1の態様に係る受容体の側面図および径方向断面である。

【図3a】受容体の中心軸線に対して垂直な平面にしたがってもたらされる断面図である。

【図4a】第1の態様に係る別の受容体の一部である環状切断部の側面図である。

【図4b】第1の態様に係る別の受容体の径方向断面であって、断面が受容体の中心軸線に対して垂直な平面にしたがってもたらされる、径方向断面である。

50

【図4c】第1の態様に係る別の受容体の一部である環状切断部の側面図である。

【図4d】第1の態様に係る別の受容体の径方向断面であって、断面が受容体の中心軸線に対して垂直な平面にしたがってもたらされる、径方向断面である。

【図5a】第1の態様に係る受容体を備えるバイオリアクタの径方向断面であり、断面は、受容体の中心軸線に対して垂直な平面にしたがってもたらされる。

【図5b】第1の態様に係る受容体を備えるバイオリアクタの径方向断面であり、断面は、受容体の中心軸線に対して垂直な平面にしたがってもたらされる。

【図6】第1の態様に係る複数の受容体を備えるバイオリアクタの長手方向断面である。

【図6a】受容体の中心軸線と平行で該中心軸線を備える長手方向平面にしたがってもたらされる断面図である。

【図7】協働する駆動シャフトに装着される図3に示される受容体の断面および長手方向断面を概略的に示す。

【図8a】協働する駆動シャフトに装着される実施形態に係る別の受容体を概略的に示す。

【図8b】協働する駆動シャフトに装着される実施形態に係る別の受容体を概略的に示す。

【図8c】協働する駆動シャフトに装着される実施形態に係る別の受容体を概略的に示す。

【図9】本開示に係る一実施形態である受容体を備えるバイオリアクタの径方向断面を概略的に示す。

【図10】別の実施形態を示す図である。

【図10a】別の実施形態を示す図である。

【図10b】別の実施形態を示す図である。

【図10c】別の実施形態を示す図である。

【図11】本開示の更なる態様を描く。

【図12】本開示の更なる態様を描く。

【図13】本開示の更なる態様を描く。

【図14】本開示の更なる態様を描く。

【図15】本開示の更なる態様を描く。

【図16】本開示の更なる態様を描く。

【図17】本開示の更なる態様を描く。

【図18】本開示の更なる態様を描く。

【図19】本開示の更なる態様を描く。

【発明を実施するための形態】

【0096】

異なる図中、同じ参照符号は、同じ、または類似の要素を示す。

【0097】

本開示は、特定の図面に関連する特定の実施形態の説明を含むが、本発明は、これらに限定されず、特許請求の範囲によってのみ限定される。示された図面は、概略的であり、限定するものではない。図面中、一部の要素のサイズは、例示目的のために、誇張されて、原寸に比例して描かれない場合がある。寸法および相対寸法は、発明の実際の実施化に対応しない。

【0098】

また、明細書本文および特許請求の範囲における第1、第2、第3などの用語は、同様の要素間を区別するために使用され、必ずしも時間的に、空間的に、序列的に、あるいは、任意の他の仕方で順序を表わすために使用されるとは限らない。言うまでもなく、そのように使用される用語は、適切な状況下で置き換え可能であり、また、本明細書中に記載される発明の実施形態は、本明細書中に説明されて図示される以外の順序で作用することができる。

【0099】

10

20

30

40

50

更に、明細書本文および特許請求の範囲における上端、下端、上方、下方等の用語は、記述的ために使用され、必ずしも相対的な位置を表わすために使用されるとは限らない。言うまでもなく、そのように使用される用語は、適切な状況下で置き換え可能であり、また、本明細書中に記載される発明の実施形態は、本明細書中に説明されて図示される以外の方向で作用することができる。

【0100】

特許請求の範囲で使用される用語「備える」は、その後に挙げられる手段に限定されるように解釈されるべきでなく、他の要素またはステップを排除しないことに留意すべきである。したがって、この用語は、言及された記載の特徴、整数、ステップ、または、構成要素の存在を特定するように解釈されるべきであり、1つ以上の他の特徴、整数、ステップ、または、構成要素、あるいは、そのグループの存在または付加を排除しない。そのため、「手段Aおよび手段Bを備えるデバイス」という表現の範囲は、構成要素A, Bのみから成るデバイスに限定されるべきでない。この表現は、本開示に関して、デバイスの單なる関連構成要素がAおよびBであるにすぎないことを意味する。

10

【0101】

同様に、特許請求の範囲においても使用される用語「結合される」は、直接的な接続のみに限定されるように解釈されるべきでないことに留意すべきである。用語「結合される」および「接続される」がそれらの派生語と共に使用される場合がある。これらの用語が互いに関して同義語として意図されないことが理解されるべきである。したがって、「デバイスBに結合されるデバイスA」という表現の範囲は、デバイスAの出力がデバイスBの入力に直接に接続されるデバイスまたはシステムに限定されるべきでない。この表現は、他のデバイスまたは手段を含む経路であってもよい経路がAの出力とBの入力との間に存在することを意味する。「結合される」は、2つ以上の要素が直接的な物理的接触状態または電気的接触状態にあること、あるいは、2つ以上の要素が互いに直接的に接触しないが互いに依然として協働する、または相互作用することを意味してもよい。

20

【0102】

この明細書全体にわたる「1つの実施形態」または「一実施形態」への言及は、その実施形態に関連して説明される特定の特徴、構造、または、特性が少なくとも1つの実施形態に含まれることを意味する。したがって、この明細書の全体にわたる様々な場所における「1つの実施形態において」または「一実施形態において」の出現は、全てが必ずしも同じ実施形態に言及しているとは限らないが、そうであってもよい。更に、1つ以上の実施形態では、この開示から当業者に明らかのように、特定の特徴、構造、または、特性が任意の適した仕方で組み合わされてもよい。

30

【0103】

同様に、典型的な実施形態の説明では、開示を合理化して、様々な発明態様のうちの1つ以上の理解に役立たせる目的で、本発明の様々な特徴が、時として、単一の実施形態、図、または、その説明において一緒にグループ化されることが理解されるべきである。しかしながら、開示のこの方法は、特許請求の範囲が各請求項に明示的に挙げられるよりも多くの特徴を必要とするという意図を反映するように解釈されるべきでない。むしろ、以下の特許請求の範囲が反映するように、発明態様は、単一の前述した開示実施形態の全てに満たない特徴の中にある。したがって、それにより、詳細な説明の後の特許請求の範囲は、この詳細な説明に明示的に組み入れられ、その場合、各請求項は、この発明の別個の実施形態として自立する。

40

【0104】

更に、本明細書中に記載されるいくつの実施形態は、他の実施形態に含まれる一部の特徴を含み他の特徴を含まないが、当業者により理解されるように、異なる実施形態の特徴の組み合わせは、本発明の範囲内に入るべく意図されるとともに、異なる実施形態を成す。例えば、以下の特許請求の範囲では、特許請求の範囲に記載される実施形態のいずれかを任意の組み合わせで使用できる。

【0105】

50

また、本明細書中に記載される装置の実施形態の要素は、発明を実行する目的で要素により果たされる機能を実施するための手段の一例である。

【0106】

本明細書中で与えられる説明では、多くの特定の詳細が記載される。しかしながら、本発明の実施形態がこれらの特定の詳細がなくても実施されてもよいことが理解される。他の事例では、この説明の理解を曖昧にしないように、良く知られた方法、構造、および、技術を詳しく示さなかった。

【0107】

以下の用語は、単に発明の理解に役立つべく与えられるにすぎない。

【0108】

「径方向」は、最小外接円柱の軸線に対して垂直であるとして理解されるべきである。

【0109】

「外接する」は、例えば、可能な限り多くの点に接するように幾何学的図形の周囲に設けられるように、例えば構成する、または構成されるように理解されるべきである。

【0110】

用語「管状の」は、長手方向に長尺な中空体積として理解されるべきである。

【0111】

用語「円筒状の」は、円筒の形態を有するとして理解されるべきである。円筒は、所定の直線（すなわち、長手方向）と平行に移動する直線により囲られる表面によって境界付けられるとともにこの表面を切断する2つの平行な平面および所定の曲線または閉曲線と交わる容積を有する物体として理解されるべきである。

【0112】

円弧または「切断円（truncated circle）」は、円が線と交差され、それにより、2つの交点を与えるときに得られる2つの部分のうちの一方である。それぞれの部分のうち、線に沿った第1の交点から第2の交点までの経路が、弦と呼ばれる。それぞれの部分に関しては、円区間である円に沿った第1の交点から第2の交点までの経路が存在する。それぞれの部分に関して、第1の交点を第2の交点と一致させるように第1の交点が円弧に沿って回転される角度は、円弧の中心角と呼ばれる。円弧の高さは、中心角の半分の位置での円弧と弦との間の距離である。その形状が円弧である高さは、円の半径よりも大きい場合がある。その形状が円弧を表わす円弧の表面は、円の表面の半分よりも大きい場合がある。

【0113】

ここで、いくつの実施形態の詳細な説明により、本明細書中に開示される発明概念について説明する。本発明の真の思想または技術的教示内容から逸脱することなく、当業者の知識にしたがって本発明の他の実施形態を構成できることは明らかであり、本発明は、添付の特許請求の範囲によってのみ限定される。

【0114】

本開示の第1の態様に係る受容体1の第1の実施形態が図1に示され、この実施形態では、受容体1がバイオリアクタで使用されるのに適している。細胞培養のための受容体1は内部空間2を有し、この内部空間2は、図示のように環状であってもよいが、本明細書中で言及されるような他の形態を成してもよい。空間2は充填物3を収容する。受容体が細胞培養のために使用されるようになっている場合には、充填物3が細胞増殖に適合しなければならない。

【0115】

図示の環状形態において、内部空間2は、以下によって画定される環状容積を有する。

- 第1の外端41および第2の外端42と、矢印44によって示される長手方向に延びる長手方向壁43とを有する外側管状壁4。外側管状壁4は、長手方向44で環状容積の外側境界を画定する；

- 外側管状壁4の第1の外端41および第2の外端42のそれぞれで環状容積を画定して閉じる第1および第2の閉鎖体（61, 62）；

10

20

30

40

50

- 外側管状壁の第1の外端の方へ向けられた第1の外端51と、外側管状壁4の第2の外端の方へ向けられた第2の外端52とを有する内側長尺壁5。内側長尺壁5は外側管状壁4内に配置される。内側長尺壁5は、長手方向44に延びるとともに、環状容積の内側境界を画定し、該内側境界は外側境界によって包囲される。

【0116】

内側長尺壁5の第2の外端52は、第2の閉鎖体62と一致する。一例として、外側管状壁は、円筒状の外側管状要素40によって与えられる。内側長尺壁5は、円柱ロッドなどの中実の内側円柱要素50によって与えられてもよい。外側管状要素40は、円筒管状要素であり、長手方向と平行な中心軸線45を有する。内側円柱要素50および外側管状要素40は同軸状に装着されてもよい。

10

【0117】

内側円柱要素50の第1の外端は、内側円柱要素50を、ならびに、内側円柱要素50および外側管状要素40に固定されている閉鎖体61, 62を用いて同様に外側管状要素40も、駆動機構、例えばバイオリアクタのモータに対して結合するために、結合要素53を備えてもよい。内部空間2へおよび/または内部空間2から媒体および/またはガスを与えるおよび/または引き出すために、第2の閉鎖体62には、受容体を媒体源またはガス源に結合するのに適したコネクタが設けられる。このコネクタ、または代わりに更なるコネクタは、第1の閉鎖体61または第2の閉鎖体62に設けられてもよい。

【0118】

内部空間2は少なくとも部分的に充填物3で満たされる。一例として、充填物は、細胞増殖に適合する、鉱物キャリア、例えば、ケイ酸塩、リン酸カルシウム、有機化合物、例えば多孔質カーボン、天然物、例えばキトサン、高分子、または、バイオポリマーであってもよい。充填物は、規則正しい、または不規則な構造を有するビーズの形態を有することができ、あるいは、細胞増殖に適合する高分子の織りもしくは不織りのマイクロファイバまたは任意の他の材料を備えてもよい。また、充填物は、孔および/またはチャネルを伴う単体として設けることもできる。

20

【0119】

随意的に、充填物は、50% ~ 98%の範囲内の多孔率Pを有してもよい。多孔率Pという用語は、所定の体積の材料中に存在する空気の体積であり、所定の体積の材料のパーセンテージとして表わされる。多孔率は、以下の式を用いて多孔質材料の単位体積当たりの重量Wxを測定することによって測定され得る。

30

$$P = 100 - (1 - Wx / W_{spec})$$

ここで、Wspecは、材料の比重である。多孔質材料は、多孔質材料の1つの固体単位であってもよく、あるいは、複数の個々の単位、例えば、粒子、チップ、ビーズ、繊維、または、繊維塊であってもよい。

【0120】

受容体の動作時、充填物、特に多孔質材料は、受容体に対して所定の相対位置に静止してもよく、あるいは、受容体内で受容体に対して、または場合によっては受容体の区画室内で移動してもよい。

40

【0121】

受容体は、随意的には0.1 ~ 25回転/分の回転速度でその軸線45の周りで回転されるようになっている。

【0122】

図1aの径方向断面において最も良く見えるように、内部空間は、細胞培養媒体15などの培養媒体で部分的に満たされる。一例として、液面18が少なくとも内側長尺壁5と接触する、あるいは、図1の実施形態に示されるように、内側長尺壁5が媒体15中に部分的に浸漬される。液面18の下側に配置される充填物3の部分は、細胞培養媒体などの培養媒体によって湿潤される。液面18よりも上側に配置される充填物3は、内部空間2内に存在するガスまたは空気と接触している。受容体が軸線45の周りで一方向に回転されると、例えば矢印17により示されるように時計回りに回転されると、細胞培養媒体1

50

5などの培養媒体は、充填物3に対して反対方向、例えば(19によって示される)反時計回り方向に回転する。細胞培養媒体15などの培養媒体は、栓流にしたがって充填物3の全体にわたって通される。受容体の例えば時計回りの回転時、細胞培養媒体などの培養媒体は、栓流の前縁20にあるガスまたは空気16を反時計回りに移動させる。媒体15の後縁21には、随意的に限られた陥凹部が形成され、それにより、ガスまたは空気16が後縁へ向けて吸引される。したがって、媒体15およびガスまたは空気16が充填物3全体にわたって通過する。

【0123】

図2に示される代案として、代わりの受容体200の内側長尺壁5は、円筒管状要素250によって与えられてもよい。同じ参照符号は、図1の受容体1に関して開示されるものと同様の特徴を示す。

10

【0124】

外側管状壁4は、外側管状要素240によって与えられる。内側長尺壁5は、長尺な円筒管状要素250によって与えられる。外側管状要素240および長尺な円筒管状要素250は、2つの取り外し可能な閉鎖体261, 262に固定される。第1の閉鎖体261には、長手方向44の軸線に沿って受容体を回転させるための駆動手段に対して受容体を結合するための結合要素253が設けられる。第1の閉鎖体261は、内部空間2を可撓性チューブなどの管路に接続するためのコネクタ263を更に備える。

【0125】

一例として、外側管状要素は、例えば110mmの長さLと例えば135mmの内径D_oとを有するガラスチューブであってもよい。内側長尺要素は、例えば88.9mmの外径D_iを有するフッ化ビニリデン樹脂(PVDF)であってもよい。内側長尺要素の外端、したがって内側長尺壁の外端は、閉鎖体261, 262と一致する。閉鎖体は、シリコーンを使用して内側要素および外側要素に取り付けられてもよいステンレス鋼またはPVDFの環状ディスクであってもよい。コネクタ263を備えてもよい第1の閉鎖体261は、例えば約35mmの外径D_ceを有する結合要素253を有する。

20

【0126】

内部空間2は少なくとも部分的に充填物3で満たされる。一例として、充填物は、図1の実施形態における充填物と同一または同様であってもよい。

30

【0127】

他の別の受容体300が図3に示される。同じ参照符号は、図1の受容体1に関して開示されるものと同様の特徴を示す。

【0128】

受容体は、内部空間を2つの区画室81, 82に分ける2つの流体透過仕切り71, 72を更に備える。流体透過仕切り71, 72は、内側長尺壁5から外側管状壁4まで延びるとともに、環状軸線45の方向と平行な長手方向44で第1の閉鎖体361から第2の閉鎖体362まで延びる。一方の区画室81には充填物3が設けられる。一方の区画室82には充填物が設けられない。流体透過仕切りには、例えば多孔質仕切りを形成するために多孔質材料を使用することによって孔が設けられてもよく、あるいは、開口が設けられ、それにより、いずれにせよ、液体、すなわち、培養媒体、および、ガスを通過させることができる。しかしながら、仕切り71, 72には、充填物が仕切りの一方側から他方側へ通過することを防止するのに十分小さい孔または開口が設けられる。

40

【0129】

外側管状壁4は、長手方向に対して垂直な平面に沿う径方向断面を有する外側管状要素240によって与えられ、その断面は円の形状を有する。

【0130】

内側長尺壁5は、長手方向に対して垂直な平面に沿う径方向断面を有する内側長尺要素350によって与えられ、その断面は切頂円または円弧の形状を有する。1つの実施形態では、円弧が円弧351と弦352とを有する。例えば、円弧の高さは、200mm(D_{cc})、400mm(D_o)、240mm(D_i)、および、125mm(L)の寸法を

50

有する。仕切り 7 1 , 7 2 は、この実施形態では、円弧の弦 3 5 2 と同一平面上にある。

【 0 1 3 1 】

2 つの閉鎖体 3 6 1 , 3 6 2 のうちの第 2 の閉鎖体 3 6 2 には 2 つのコネクタ 3 6 4 , 3 6 5 が設けられる。第 1 のコネクタ 3 6 4 は外側管状壁 4 の近傍に設けられる。第 2 のコネクタ 3 6 5 は内側長尺壁 5 の近傍に設けられる。図 3 に示されるように、受容体が液体表面 1 0 0 1 を有する培養媒体 1 0 0 0 で部分的にのみ満たされると、受容体は、液体が内側長尺壁 5 と接触せずに内側長尺壁 5 から所定の距離にとどまるような位置へ回転されてもよい。受容体がこの位置に至らされると、媒体を除去する、または充填物 3 で満たされない区画室 8 2 へ媒体を供給するために第 1 のコネクタが使用されてもよい。コネクタ 3 6 5 を用いて媒体液面よりも上側でガスが除去され、または供給されてもよい。受容体の例え最大で 3 6 0 ° 以上角度にわたる時計回り、または反時計回りの回転によって、媒体は、2 つの仕切りのうちの一方、特に媒体中に徐々に浸漬される仕切りを通過する。媒体は、充填物を通じてゆっくりと流れる。これは、回転に起因して充填物が徐々に媒体を通過するからである。受容体の回転に起因して、媒体は、栓流にしたがって充填物全体を通過して流れる。環状容積の全体にわたって媒体と充填物との間の均一な接触が起こる。充填物の一部が媒体を通過した時点で、媒体が徐々に充填物から浸出し、そのため、受容体内のガスが再び充填物と接触し、それにより、細胞が充填物の全体にわたって一様に増殖することができる。

10

【 0 1 3 2 】

図 4 a および図 4 b を参照すると、更なる他の別の受容体 4 0 0 が示される。複数の環状セクション 2 1 , 2 2 , 2 3 , 2 4 、この特定の場合には 4 つの環状四分円によって内部空間 2 の環状容積が形成される。セクション 2 1 , 2 2 , 2 3 , 2 4 のそれぞれは、外側管状壁セクション 4 4 1 , 4 4 2 , 4 4 3 , 4 4 4 のそれぞれによって外側管状壁 4 の 1 つの部分を与える。セクションのそれぞれは、内側長尺壁セクション 4 5 1 , 4 5 2 , 4 5 3 , 4 5 4 のそれぞれによって内側長尺壁 5 の 1 つの部分を与える。

20

【 0 1 3 3 】

セクションのそれぞれは、2 つの径方向に延びるセクション壁を有する。一例として、セクション 2 1 は、2 つの径方向に延びるセクション壁 4 4 1 1 , 4 4 1 2 を有する。これらのセクション壁は、液体およびガスを透過させない。セクション壁のそれぞれには、隣り合うセクションが互いに結合できるようにする装着手段 4 4 1 3 , 4 4 1 4 が設けられる。

30

【 0 1 3 4 】

環状セクションの容積を画定して閉じる第 1 および第 2 のセクション閉鎖体 4 6 1 , 4 6 2 が外側管状壁の第 1 および第 2 の外端にそれぞれある。セクション閉鎖体は、共に、受容体の環状容積 2 の第 1 および第 2 の閉鎖体のそれぞれを形成する。

【 0 1 3 5 】

図 4 a および図 4 b を更に参照すれば分かるように、セクションのそれぞれには、各環状セクションの内部空間を 3 つの区画室 4 8 1 , 4 8 2 , 4 8 3 に分ける 2 つの流体透過仕切り 4 7 1 , 4 7 2 が更に設けられてもよい。流体透過仕切り 4 7 1 , 4 7 2 、例えは多孔質仕切りは、内側長尺壁 5 から外側管状壁 4 まで延びるとともに、管状軸線 4 0 5 の方向と平行な長手方向 4 4 で第 1 の閉鎖体 4 6 1 から第 2 の閉鎖体 4 6 2 まで延びる。1 つの区画室 4 8 2 には充填物 3 が設けられる。2 つの区画室 4 8 1 , 4 8 3 には充填物が設けられない。仕切りは、図 3 の受容体の仕切りと同様または同一であってもよい。

40

【 0 1 3 6 】

図 3 に示される場合と同様に、それぞれの環状セクション 2 1 , 2 2 , 2 3 , 2 4 ごとに、第 1 のコネクタ 4 6 4 が外側管状壁 4 の近傍に設けられる。第 2 のコネクタ 4 6 5 が内側長尺壁 5 の近傍に設けられる。図 4 から明らかなように、セクションのそれぞれは、受容体が軸線 4 0 5 の周りで回転されるときに、受容体 4 0 0 の独立した受容体セクションとして機能してもよい。各セクション内の充填物には、セクションの径方向位置に応じてこのセクション内に存在する媒体が供給される。

50

【0137】

セクション、この実施形態では4つのセクション21, 22, 23, 24を装着することにより、外側管状壁と内側長尺壁とを有する受容体が得られ、受容体の環状容積は、2つの閉鎖体によって外側管状壁の2つの外端で閉じられる。セクションの結合は、2つの径方向に延びるセクション壁を装着して結合することによって行なわれるため、2つの隣り合うセクションの組み合わせは、内側長尺壁5から外側管状壁4まで延びるとともに管状軸線405の方向と平行な長手方向44で第1の閉鎖体から第2の閉鎖体まで延びる液体およびガスを透過させない仕切りを形成する。この実施形態は、セクションのそれぞれに異なる細胞培養のための異なる媒体を設けることができるという利点を有する。また、セクションのうちの1つで充填物の反応が誤って機能する場合には、1つのセクションだけを置き換えることができる。

10

【0138】

この実施形態に示されるように、受容体（または、本明細書中に開示される任意の他の受容体）の回転が回転子によって与えられてもよい。1つの例において、この回転子は、外側管状壁の外面と少なくとも2つの支持ホイール490, 491とを接触させることを含んでもよく、支持ホイールのうちの少なくとも1つが駆動される。

【0139】

図4cおよび図4dは受容体401の別の実施形態を示す。図4cにおいて、同一の参照符号は、図4aの場合と同一の部分および要素を示す。この実施形態において、受容体401のセクションのそれぞれは、2つの径方向に延びるセクション壁4421, 4422を有する。これらのセクション壁4421, 4422は液体およびガスを透過する。各セクション壁4421はいくつかの開口4423を備え、これらの開口のそれぞれは、隣り合う区画室の第2のセクション壁4422における対応する開口を見出す。詳細Bに示されるように、第1のセクション壁4421の開口には、第2のセクション壁4422の対応する開口を通じて延びる外方延出リム4425が設けられてもよい。随意的に、接触する壁間で媒体が漏れるのを防止するために、隣り合うセクション壁の開口の周囲にシール4426が設けられる。別の実施形態では、シールの代わりに、受容体間に可撓性チューブが配置される。

20

【0140】

バイオリアクタ500の一実施形態が図5aおよび図5bに示される。図1に開示される受容体1と同様の少なくとも1つの受容体501が容器502内に回転可能に装着され、容器502は、図5aに示されるような例えば円形、あるいは、図5bに示されるような長方形（随意的には正方形）等の多角形など、任意の適した径方向断面を有してもよい。容器は部分的に培養媒体503で満たされ、そのため、液面504は、随意的に、バイオリアクタの軸線505よりも高く上昇しないが、少なくとも内側長尺壁509と接触する。受容体501は、受容体501の長手方向軸線と同一であるこの軸線505の周りで回転される。受容体501の長手方向軸線は、外側管状壁506の長手方向と平行な軸線である。随意的に、外側管状壁506には開口が設けられ、あるいは、外側管状壁506が、多孔質材料、例えば液体およびガスを透過する材料から形成される。そのような流体透過外側管状壁506が部分的に媒体503で満たされた容器502内で回転され、それにより、外側管状壁506の一部だけが媒体中に浸漬されると、外側管状壁506を通じて環状容積508内へ流れる媒体を充填物507に供給することができる。媒体の一部は、受容体が容器内で回転するようになっているときに充填物と共に引きずられてもよい。当業者であれば分かるように、受容体1, 200, 300または400に関連して記載される他の特徴が受容体501に加えられてもよい。

30

【0141】

他のバイオリアクタ600が図6および図6Aに示される。図1に開示される受容体と同様の少なくとも1つの受容体601、この図では2つの受容体601, 611が、容器602内に回転可能に装着される。容器は部分的に培養媒体603で満たされ、そのため、液面604は、随意的に、バイオリアクタの軸線605よりも高く上昇しないが、少な

40

50

くとも内側長尺壁 609 と接触する。受容体 601 は、受容体 601 の長手方向軸線と同一であるこの軸線 605 の周りで回転される。受容体の長手方向軸線は、外側管状壁の長手方向と平行な軸線である。随意的に、外側管状壁 606 には開口が設けられ、あるいは、外側管状壁 606 が、多孔質材料、例えば液体およびガスを透過する材料から形成される。そのような流体透過外側管状壁 606 が部分的に媒体 603 で満たされた容器 602 内で回転され、それにより、外側管状壁 606 の一部だけが培養媒体 603 中に浸漬されると、外側管状壁 606 を通じて環状容積 608 内へ流れる培養媒体 603 を充填物 607 に供給することができる。培養媒体 603 の一部は、受容体が容器内で回転するようになっているときに充填物と共に引きずられてもよい。

【0142】

受容体のうちの少なくとも 1 つ、この実施形態では受容体 601 は、磁気要素 612 を備える。バイオリアクタは、受容体の磁気要素 612 と協働する磁気要素 613 を更に備える。両方の磁気要素 613, 612 は、回転軸線 605 の周りでのバイオリアクタ 600 の磁気要素 613 の回転が受容体 601 の磁気要素 612 の回転を引き起こし、したがって、受容体 601 全体を回転させるように配置される。隣り合う受容体は共通シャフト 620 上に装着されてもよく、共通シャフトの周りでこれらの受容体が回転する。隣り合う受容体 601, 611 は所定位置で互いに結合されてもよく、そのため、受容体 601 の回転が受容体 611 の回転も同様に引き起こす。

【0143】

当業者であれば分かるように、液体およびガスを透過させない外側管状壁を有するが随意的に可撓性チューブによって受容体をガス貯留部または媒体貯留部に接続するためのコネクタを有する受容体は、図 5 および図 6 に関連して記載される方法と同様の方法で装着されて回転されてもよい。当業者であれば分かるように、受容体 1, 200, 300 または 400 に関連して記載される他の特徴が受容体 601 に加えられてもよい。

【0144】

図 7 に示されるように、図 3 の受容体 300 などの受容体は、バイオリアクタをもたらすために駆動システムによって回転されてもよい。受容体は、受容体 300 の軸線 45 と一致する回転軸線の周りで回転できる回転可能シャフト 701 に装着される。シャフト 701 は、異形であり、内側長尺要素 350 の内部空隙 702 内に固有の回転位置で嵌合する。したがって、シャフト 701 の回転位置を制御することにより、軸線 45 周りの受容体の位置が明確に規定される。駆動システムは、シャフト 701 の回転を正確に制御するために、リニアモータなどのモータ 703 または任意の他の適した手段を更に備えてもよい。受容体がシャフト 701 上にわたって長手方向に移動することを防止するためのクランプ 704、ねじ、または、任意の適した手段が、シャフト 701 上の受容体 300 の位置を長手方向 705 で固定してもよい。

【0145】

随意的に、複数の受容体 300 が共通シャフト 701 に装着されてもよいことが理解される。

【0146】

図 8 a ~ 図 8 c は、協働する駆動シャフト 801 に装着される受容体の別の例の断面を示す。内側長尺要素 850 の内部空隙 802 およびシャフト 801 の外周の形状は、シャフトおよび受容体を限定された方法で、または更には固有の方法で装着できるように選択される。

【0147】

図 1 の受容体と同様の受容体 810 において、内側長尺要素は、内側長尺要素の内壁に長手方向凹部 811 を有する。シャフト 801 上の隆起部 812 がこの凹部 811 内に嵌合する。受容体は、一義的な方法でシャフト上に嵌合する。隆起部 812 は凹部 811 内でスライド移動できてもよい。

【0148】

受容体 820 は、図 1 の受容体と同様の受容体である。内側長尺要素は、該内側長尺要

10

20

30

40

50

素の内壁に2つの長手方向凹部821を有する。シャフト801上の2つの互いに垂直な隆起部822がこれらの凹部821内に嵌合する。受容体820は2つの方法でシャフト上に嵌合し、第1の位置が第2の位置に対して軸線周りで180°回転される。隆起部822は凹部821内でスライド移動できてもよい。

【0149】

受容体830は、図4aおよび図4cの受容体と同様の受容体である。内側長尺要素は、区画室によって与えられる内側長尺要素の内壁のそれぞれに1つずつ、4つの長手方向凹部831を有する。シャフトは、該シャフト801上に4つの互いに垂直な隆起部832を備える略十字形状の断面を有する。隆起部のそれぞれは、区画室のうちの1つの凹部831内に嵌合する。受容体830は、4つの方法でシャフト上に嵌合する。隆起部832は凹部831内でスライド移動できてもよい。

10

【0150】

当業者であれば分かるように、図1～図6に関連して説明された受容体の他の特徴は、図7および図8を用いて開示された駆動システムと組み合わされてもよい。

【0151】

図9を参照すると、本開示に係る更なる他の別の受容体901がバイオリアクタ900の一部であるとして示される。同じ参照符号は、図1の受容体1に関して開示される特徴と同様の特徴を示す。

20

【0152】

内部空間2の容積は、複数のセグメント921, 922, 923, 924、この特定の場合には4つの四分円によって与えられる。

20

【0153】

セクションのそれぞれは、外側管状壁部分9441, 9442, 9443, 9444のそれによつて外側管状壁4の1つの部分を与える。セグメントのそれぞれは、内側長尺壁部分9451, 9452, 9453, 9454のそれによつて内側長尺壁5の1つの部分を与える。

30

【0154】

セグメントのそれぞれは2つの径方向に延びるセグメント壁を有する。一例として、セグメント921は2つの径方向に延びるセグメント壁9411, 9412を有する。これらのセグメント壁は、液体およびガスを透過させない。

30

【0155】

第1および第2の閉鎖体が、外側管状壁の第1および第2の外端のそれぞれでセグメントの容積2を画定して閉じ、したがつて、受容体の容積2を閉じる。

30

【0156】

セグメントのそれぞれには、各セグメントの内部空間を3つの区画室981, 982, 983に分ける2つの流体透過仕切り971, 972が更に設けられてもよい。流体透過仕切り971, 972は、内側長尺壁5から外側管状壁4まで延びるとともに、管状軸線905の方向と平行な長手方向944で第1の閉鎖体から第2の閉鎖体まで延びる。1つの区画室982には充填物3が設けられる。2つの区画室981, 983には充填物が設けられない。仕切りは、図3の受容体の仕切りと同様または同一であつてもよい。

40

【0157】

受容体901は容器900内に回転可能に装着される。容器は部分的に培養媒体903で満たされ、そのため、液面904は、随意的に、バイオリアクタ900の軸線905よりも高く上昇しない。受容体901は、受容体901の長手方向軸線と同一であるこの軸線905の周りで回転される。受容体の長手方向軸線は、外側管状壁の長手方向と平行な軸線である。

【0158】

区画室981, 983のそれぞれには、内壁9451, 9452, 9453, 9454のそれによつて長手方向スリットなどの適切な開口が設けられる。各外側管状壁部分9441, 9442, 9443, 9444のそれぞれには開口が設けられ、あるいは、各

50

外側管状壁部分が、多孔質材料、例えば液体およびガスを透過する材料から形成される。そのような流体透過外側管状壁が部分的に培養媒体903で満たされた容器900内で回転され、それにより、外側管状壁の一部だけが培養媒体903中に浸漬されると、外側管状壁を通じて容積内へ流れる培養媒体903を区画室内の充填物3に供給することができる。培養媒体903の一部は、受容体が容器内で回転するようになっているときに充填物と共に引きずられてもよい。培養媒体903は、内側長尺壁の内部空隙9450を更に満たしてもよい。開口991を通じて、培養媒体903は、セクション981, 982に流入し、または該セクションから流出することができ、随意的には隣接するセクション982, 981のそれぞれへ流れることができる。

【0159】

10

図10および図10a～10cは、長手方向壁を形成する本体1002を含むとともにキャップ1004, 1006の形態を成して終わる受容体1000の更なる例を示す。キャップ1004, 1006は、図示のように取り外しできてもよく、また、接続された位置で、任意の流体を本体1002内に収容するために流体密なシールを形成してもよい。各キャップ1004, 1006は、培養媒体を受けるための入口または出口を形成する開口1004a, 1006aを含んでもよい(図11参照)が、入口および出口をそれぞれ同じキャップに同様に、または本体1002の長手方向壁に設けることができる。

【0160】

少なくとも1つ、図示の場合には一対の流体透過構造体、例えば有孔隔壁1008, 1010が、任意の充填物を収容するための区画室1012を形成するように設けられる(図12参照)。各隔壁1008または1010における穿孔は、区画室1012内の流体の流れおよび滞留時間を制御するべき形状およびサイズで設けられてもよく、また、隔壁間で同じであってもよく、または異なってもよい。

20

【0161】

充填物は、前述した任意の構造を備えてもよいが、1つの実施形態では、纖維(織り、または不織りのポリエスチル系纖維など)、特に不織PET纖維を備えてもよい。充填物は、それが受容体1000の区画室を完全に占め、したがって、本体1002の壁の内面および流体透過構造体(例えば隔壁1008, 1010)と周方向で接触するような仕方で設けられてもよい。

30

【0162】

図11は、受容体1000が回転デバイス1100と関連付けられてもよいことを示す。デバイス1100は、受容体1000を受けて支持するとともに本体の長手方向軸線の周りで回転させるための一対のローラ1102を含んでもよい。この場合の受容体1000には、任意の流体(例えば、培養媒体、または、任意の灌ぎ物質あるいは回収物質)を区画室内に存在する任意の充填物を通じて分配するのに役立つべくローラ1102と係合してローラ1102により回転されるようになっている略円筒状の本体1002が設けられてもよい。

【0163】

流体を区画室へ供給するための入口1004aおよび出口1006aと関連して管状コネクタ1014, 1016が設けられてもよい。これは、受容体1000が静止している間または受容体が回転している間に行なわれてもよい。後者の場合、コネクタ1014, 1016は、例えばスナップ式係合によりもたらされる回転継手を使用することによって、またはベアリングを使用することによって相対回転を可能にする仕方で接続されてもよい。任意の漏れを防止して細胞培養にとって望ましい無菌状態を維持するのに役立つようにOリングなどのシールが使用されてもよい。

40

【0164】

図10～図12の受容体1000の1つの利点は、構成の簡略さである。例えば、図示の実施形態において、受容体1000は、センサ、プローブ、混合器などを含まない。そのような構造を含むことが望ましい場合には、これが可能であり、また、これは、図13に示されるように、受容体1000を閉ループでリザーバ1200と接続することによっ

50

て達成されてもよい。リザーバ 1200 は、循環流体の 1 つ以上の特性を測定するための任意の数のセンサまたは同様のものを含んでもよく、また、洗浄および殺菌の必要性を避けるために使い捨て容器（可撓性バッグなど）を含んでもよい。流体をループを通じて循環させるために蠕動ポンプ 1202 などのポンプが設けられてもよい。

【0165】

ここで、図 14～図 16 を参照して、この開示の更なる態様について説明する。この実施形態において、受容体 1300 は、先に詳述した任意の内容にしたがって構成されてもよく（したがって、ローラボトルを形成する）、また、入口 1302 および出口 1304 を含んでもよい。入口および出口 1302, 1304 のそれぞれは、受容体 1300 の回転を可能にする管路に対して流体伝送を妨げない仕方で管路を過度に締め付ける、またはねじることなく接続されてもよく、それにより、受容体が回転される間、受容体 1300 へのおよび受容体 1300 からの連続した流れを可能にしてもよい。具体的には、管路は、入口 1302 または出口 1304 のそれぞれに接続するための開放端を有するコイル状チューブ 1306 を備えてもよく、また、反対側の端部が任意の流体リザーバと関連してもよい。流体を管路および受容体 1300 を通じて移動させるために適したポンプ装置が設けられてもよい。

【0166】

図 15 および図 16 は、回転を可能にするようになっている管路を含む、図 14 の受容体の実施形態の 1 つの想定し得る使用の仕方を示す。具体的には、図 15 に示されるように、受容体 1300 は、適した回転子（ローラ 1308 など）を使用して、1 つ以上の完全回転にわたって時計回りなどの第 1 の方向に回転されてもよい。管路を締め付けずに可能な回転数は異なり得るが、最低でも 2～3 回転は可能なはずであると想定される。受容体 1300 は、その後、1 つ以上の完全回転にわたって第 2 の反対の方向に回転されてもよい。より具体的には、回転は、コイル状チューブをその定位置に戻すために第 1 の方向における回転数にわたってもよく、更に、コイル状チューブが締まり付かない、またはさもなければ流体伝送を妨げない限りにわたって第 2 の方向で対応する回転数なされてもよい。回転および逆回転が連続的に、または断続的に行なわれてもよく、また、同じことが管路を介した流体の供給および回収にも当てはまる。

【0167】

また、図 14 に戻って参考すると分かるように、受容体 1300 がセンサ 1310 を含む場合、受容体は、検出のために使用される任意のエネルギー源に接続されてもよい。そのような場合、ケーブル 1312 などの任意の伝送ラインが、ねじれ、または締め付けを伴うことなく先に考慮された仕方で相対回転を受け入れるべくコイル状または螺旋状であってもよい。この場合も先と同様に、任意のセンサまたは同様のものを任意の再循環ループ内に配置することが望ましい。これは、それにより、受容体 1300 のコストを下げるからである。

【0168】

図 16 および図 17 は、ローラボトルの形態を成す受容体 1400 のための提案された構成の他の詳細を示す。例えば、入口 1402 および出口 1404 が共通壁 1400a に設けられてもよい。入口 1402 は、固定床内の流体透過内側円筒体 1400b 内に配置されるチューブと関連付けられてもよく、このチューブは、導入される流体（ガス、液体、または、これらの両方）が入口 1402 を通じて簡単にすぐさま抜け出ないようにするのに役立つ。

【0169】

また、図 17 は、ロータメーターなどの注入器 1420 を再循環ループ内に配置することによってガスが液体中へ導入されてもよいことも示す。配置は、入口 1402 の直ぐ上流側であってもよい。図 18 に示されるように、液体流に関連するガス導入のこの仕方は、好適には、泡立ちの発生を減らして質量輸送速度を向上させるのに役立つ。これは、液体によって分離されるポケット内にガスが残存するからである（図 19 参照）。また、図 18 は、受容体 1400 との直接的な接続のための通気を避けるべく、出口 1404 と関

10

20

30

40

50

連付けられる伝送ライン 1422 が、図示のようにフィルタ 1426 を介して通気されてもよいリザーバ 1424 に戻ることも示す。

【0170】

言うまでもなく、他の要素が受容体およびバイオリアクタに加えられてもよい。一例として、内側長尺壁が長尺な管状の壁、随意的には円筒状の壁であってもよい。内側管状壁の内部空隙は、温度センサ、位置センサ（例えば、回転軸線に対する受容体の方向を規定するため）、光センサ（例えば、細胞培養媒体などの培養媒体の色に関するデータを発生させるため）、pHセンサ、酸素センサ（溶存酸素（DO）センサなど）、CO₂センサ、アンモニアセンサ、または、細胞バイオマスセンサ（例えば、濁り濃度計）などの1つ以上のセンサを受け入れるために使用されてもよい。そのようなセンサは、付加的に、または随意的に、閉鎖体内または閉鎖体上に配置されてもよい。

10

【0171】

受容体は、新鮮な栄養媒体のかん流、連続付加、および、等しい量の使用済み媒体の引き出しに対応してもよく、それにより、生体内状況に可能な限り近く近似される細胞培養状態の実現を可能にする。かん流細胞培養と例えば酵素グルコースバイオセンサとの組み合わせは、細胞培養のグルコース消費量を連続的に監視できるようにする。

【0172】

また、受容体内の媒体および充填物を加熱する、またはそれらの温度を維持するため、加熱ブランケットなどの加熱要素が外壁および随意的には内壁に設けられてもよいことも理解される。

20

【0173】

実施例

例 1：充填材料への酸素輸送

外壁と、有孔内壁と、2つの閉鎖体とを有し、一方の閉鎖体がキャップ含むPVCの円筒状の受容体（長さ120mm、内径75mm、および、外径90mm）に不織PET繊維から構成される66gのキャリア（約500mlの充填床）が充填された。受容体は350mlの水で満たされた。受容体のキャップは、スポンジを伴うシリコンキャップ（Siliconen 培養プラグ，Fisher Scientific Bioblock）によって閉じられた。受容体内へ配置される蛍光DOプローブ（ドイツのレーンスブルクにあるPresent）によって酸化吸収速度が測定された（測定は、プローブが液体中にあるときに行なわれた）。受容体のキャップが開放されて、酸素の完全な脱離（0%DO）まで窒素ガスが受容体へフラッシングされた。受容体がSiliconen 培養プラグを用いて閉じられ、ボトルがローラステーション上に配置された。プラグのスポンジが空気の流入を可能にした。酸素吸収の速度の後、酸素濃度の増大対時間が測定された。異なる回転速度で実験が行なわれた。2.60rpm、5rpm、および、6.65rpmにおいて、液体中のDOが約6分、5分、および、4分（13h⁻¹、16h⁻¹、38h⁻¹のK₁に対応する）のそれぞれで0%から75%まで増大した。

30

【0174】

例 2：部分的に充填された受容体における小規模細胞増殖

（90°の角度を規定する）4つの仕切りによって画定される1350mlの内部空間容積を有する、ガラス外壁と、有孔ステンレス鋼内壁と、1つのガラス閉鎖体と、キャップを含む1つのステンレス鋼閉鎖体とを伴う円筒状の受容体（長さ120mm、内径70mm、および、外径130mm）が、不織PET繊維から構成される1.33gのキャリアで満たされる充填床の10mlのセクションを含んだ。受容体のキャップがSiliconen 培養プラグによって閉じられた。受容体は、殺菌されて、250mlの培養媒体（1.8g/Lのグルコース、5%のウシ胎仔血清、および、1%の非必須アミノ酸を伴うMEM）で満たされるとともに、12.2×10⁶MDBK細胞（Madin-Darby Bovine Kidney Cell）（すなわち、1.2×10⁶細胞/cm³の充填床）が接種された。受容体は、37°の培養器内で、ローラ（6.5rpm

40

50

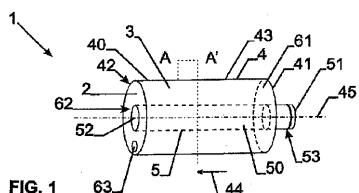
）上に配置された。キャップを通じたガス供給は、7日の期間にわたって細胞を増殖させるのに十分であった。5日の培養後、細胞密度が 18.2×10^6 細胞/ cm^3 に達し、媒体が交換された。7日後、細胞密度が 46.0×10^6 細胞/ cm^3 に達した（すなわち、7日で38.4倍のバイオマス増大）。

〔 0 1 7 5 〕

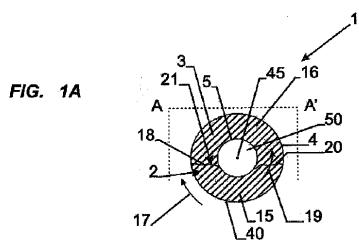
本発明を具現化する受容体の目的を達成するための他の構成は当業者にとって自明である。言うまでもなく、本明細書中では、デバイスの様々な実施形態に関して、好ましい実施形態、特定の構成、および、形態、ならびに、材料について論じてきたが、添付の特許請求の範囲により規定されるこの発明の範囲から逸脱することなく、形態および細部において様々な変更または改良がなされてもよい。例えば、先に与えられた任意の処方は、使用されてもよい手順を単に代表しているにすぎない。機能性がブロック図に加えられ、またはブロック図から削除されてもよく、また、機能ブロック間で動作が置き換えられてもよい。本発明の範囲内で、記載された方法にステップが加えられ、または削除されてもよい。

10

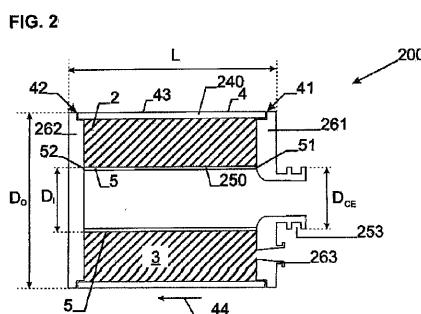
〔 図 1 〕



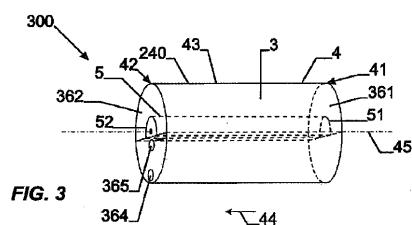
【図 1 A】



〔 図 2 〕



〔 3 〕



【図3A】

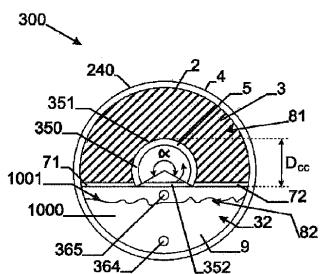


FIG. 3A

【 図 4 A 】

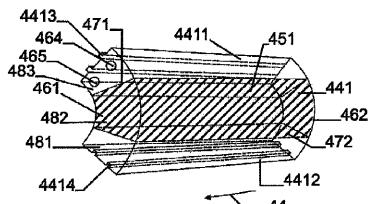


FIG. 4A

【図4C】

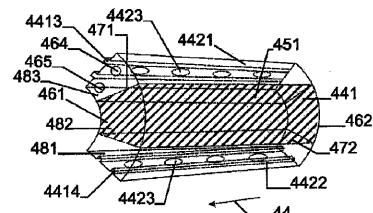


FIG. 4C

【 図 4 B 】

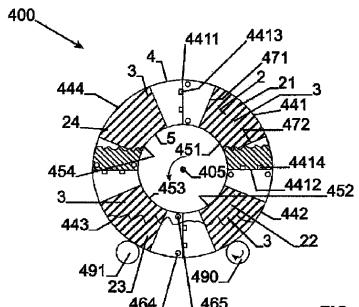


FIG. 4B

【 図 4 D 】

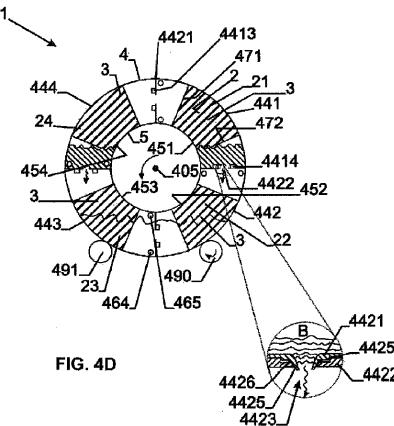


FIG. 4D

【図 5 a】

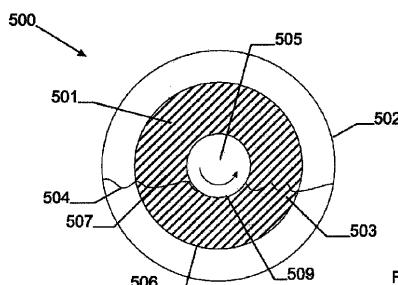


Fig. 5a

【 図 6 】

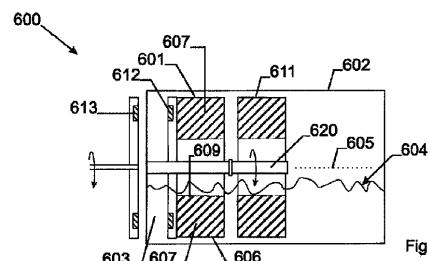


Fig. 6

(図 5 b)

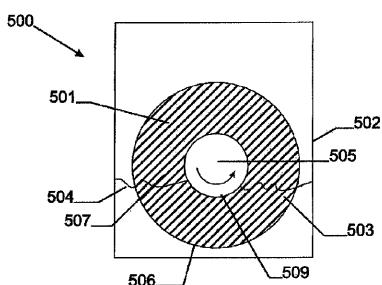
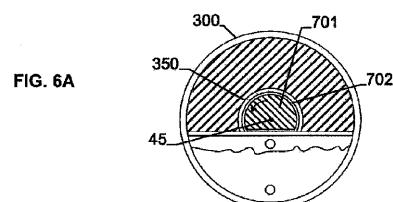


Fig. 5b

(図 6 A)



【図7】

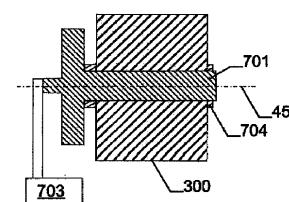


Fig. 7

【 図 8 A 】

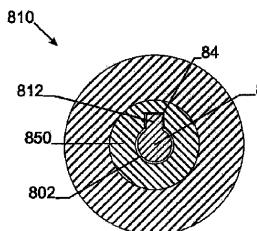
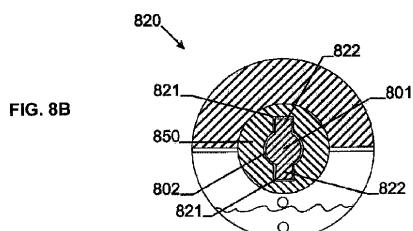


FIG. 8A

【 図 8 B 】



【図 8 C】

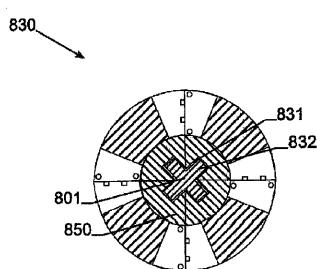


FIG. 8C

【図10A】

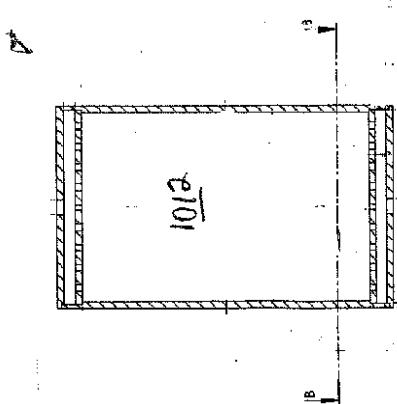


FIG. 10A

【図10B】

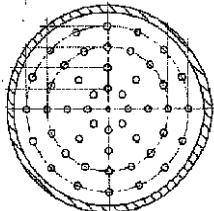


FIG. 10B

【 図 9 】

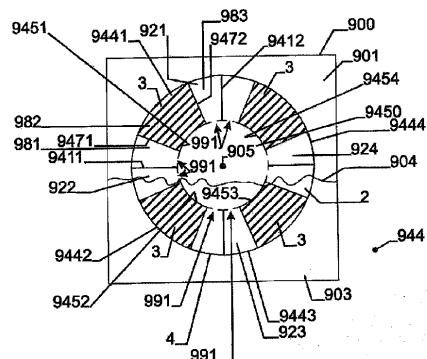
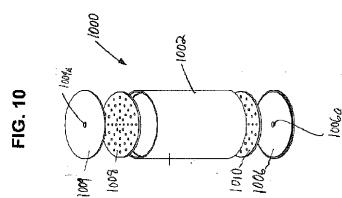


Fig. 9

〔 四 10 〕



【図10c】

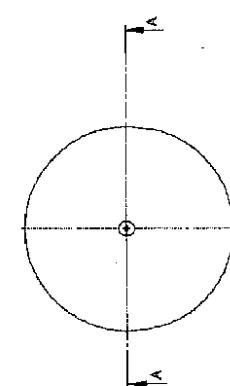
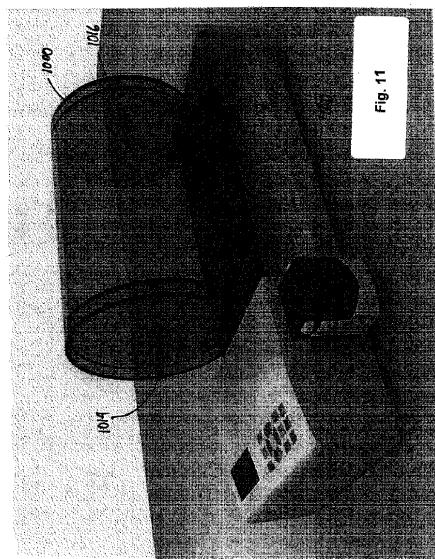


FIG. 10C

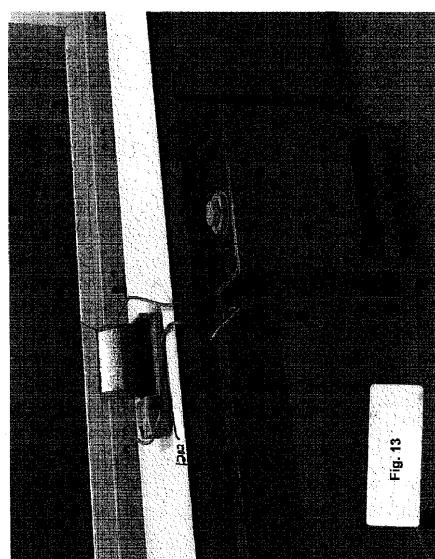
【図 1 1】



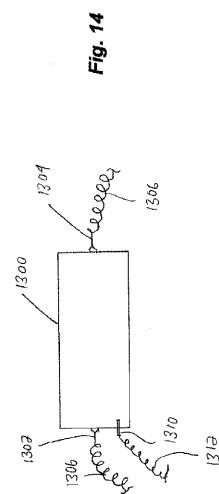
【図 1 2】



【図 1 3】



【図 1 4】



【図 1 5】

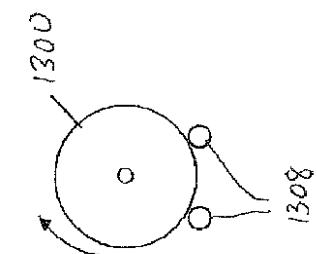


Fig. 15

【図 16】

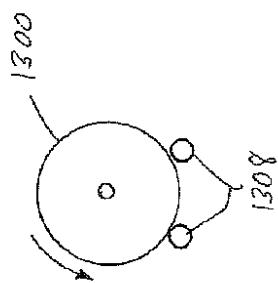


Fig. 16

【図 17】

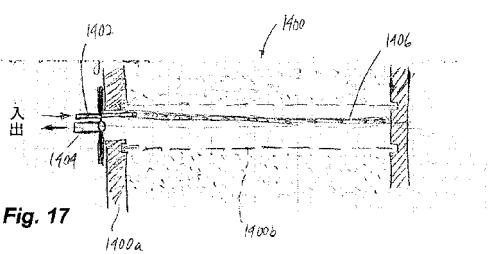


Fig. 17

【図 18】

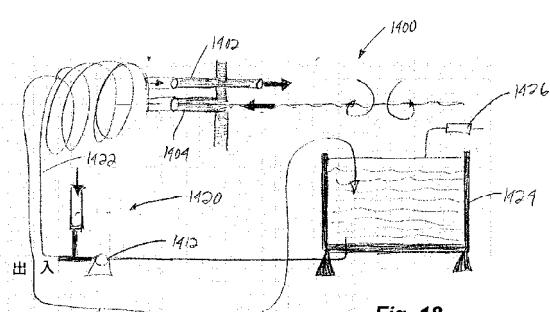


Fig. 18

【図 19】

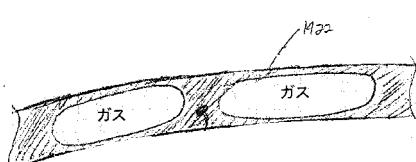


Fig. 19

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2013/074307
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C12M 3/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12M 3/00; C12M 1/00; C12N 5/02; C12M 1/14; C12M 3/04; C12M 3/02; C12M 1/10; B65D 90/04; C12M 1/34		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: recipient, bioreactor, cell cultivation, outer tubular wall, inner compartment, packing, fiber matrix, roller bottle		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	US 2011-0281343 A1 (GAY, ROGER J.) 17 November 2011 See paragraphs [0014] and [0017]; claims 1 and 3; figures 2 and 3.	1,49 2-3,25,40 4,13-24,26-32 ,41-43
Y	US 5527705 A (MUSI, EDWARD F. et al.) 18 June 1996 See column 5, lines 7-12; figure 1.	2
Y	WO 95-19424 A1 (YEDA RESEARCH AND DEVELOPMENT CO. et al.) 20 July 1995 See abstract; claim 1; figure 1.	3,25
Y	US 5432087 A (SPIELMANN, RICHARD) 11 July 1995 See abstract; claim 5.	40
A	US 4720462 A (ROSENSON, ROBERT) 19 January 1988 See claims 1, 16 and 18; figures 1-4.	1-4,13-32,40-43,49
A	US 2004-0110273 A1 (AKERS, ROGER et al.) 10 June 2004 See claims 1 and 18-21; figure 1.	1-4,13-32,40-43,49
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 25 April 2014 (25.04.2014)	Date of mailing of the international search report 25 April 2014 (25.04.2014)	
Name and mailing address of the ISA/KR  International Application Division Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City, 302-701, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-472-7140	Authorized officer HEO, Joo Hyung Telephone No. +82-42-481-8150	
		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2013/074307

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.: 6-7, 9-11, 35, 38-39, 50-51, 56, 59, 65-66, 68, 71, 83, 85, 87-88 because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
Claims 6-7, 9-11, 35, 38-39, 56, 59, 65-66, 68, 71, 83, 85 and 87-88 are unclear since they refer to claims which are not searchable due to not being drafted in accordance with the second and third sentence of Rule 6.4(a).
Claims 50-51 are worded in reference to the smallest cylinder of claim 49. However, said smallest cylinder has not been word in claim 49 (PCT Article 6).
3. Claims Nos.: See Extra Sheet because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/US2013/074307

Continuation of Box No. II:

Claims: 5, 8, 12, 33-34, 36-37, 44-48, 52-55, 57-58, 60-64, 67, 69-70, 72-82, 84, 86, 89-96

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2013/074307

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2011-0281343 A1	17/11/2011	WO 2010-040060 A2 WO 2010-040060 A3	08/04/2010 10/06/2010
US 5527705 A	18/06/1996	CA 2156578 A1 EP 0700990 A2 EP 0700990 A3 JP 02620060 B2 JP 08-173145 A	13/03/1996 13/03/1996 23/04/1997 11/06/1997 09/07/1996
WO 95-19424 A1	20/07/1995	AU 1596995 A AU 681243 B2 IL 108321 A IL 108321 D0 JP 09-507390 A US 5958761 A	01/08/1995 21/08/1997 30/10/1998 12/04/1994 29/07/1997 28/09/1999
US 5432087 A	11/07/1995	AU 1992-18691 A BE 1004610 A5 DE 69106726 D1 DE 69106726 T2 DK 0559678 T3 EP 0559678 A1 EP 0559678 B1 US 5650325 A US 6078436 A WO 92-09681 A1	25/06/1992 22/12/1992 23/02/1995 17/08/1995 08/05/1995 15/09/1993 11/01/1995 22/07/1997 20/06/2000 11/06/1992
US 4720462 A	19/01/1988	None	
US 2004-0110273 A1	10/06/2004	AU 2003-298523 A1 AU 2003-298826 A1 EP 1539983 A2 EP 1572983 A1 EP 1572983 A4 US 2004-0014177 A1 US 6902909 B2 US 7390653 B2 WO 2004-033627 A2 WO 2004-033627 A3 WO 2004-050864 A1	04/05/2004 23/06/2004 15/06/2005 14/09/2005 15/03/2006 22/01/2004 07/06/2005 24/06/2008 22/04/2004 24/06/2004 17/06/2004

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
C 1 2 N	5/00	(2006.01)	C 1 2 N	1/16 A
C 1 2 M	3/02	(2006.01)	C 1 2 N	1/14 G
C 1 2 M	3/04	(2006.01)	C 1 2 N	1/20 A
C 1 2 M	1/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/00
C 1 2 M	1/04	(2006.01)	C 1 2 M	3/02
C 1 2 M	1/24	(2006.01)	C 1 2 M	3/04 Z
			C 1 2 M	1/10
			C 1 2 M	1/04
			C 1 2 M	1/24

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

(71)出願人	514196938	ポール アルテリス ビーヴイビーエー
		ベルギー, ビー-1120 ブリュッセル, ルドゥ ランピーク 310
(71)出願人	514266459	ポール ライフ サイエンシズ ベルジウム ビーヴイビーエー
		P A L L L I F E S C I E N C E S B E L G I U M B V B A
		ベルギー, 3320 フガールデン, リューゲルシュトラート 2
(74)代理人	100107456	弁理士 池田 成人
(74)代理人	100162352	弁理士 酒巻 順一郎
(74)代理人	100123995	弁理士 野田 雅一
(74)代理人	100148596	弁理士 山口 和弘
(72)発明者	ドラグマンド, ジャン クリストフ	ベルギー, ビー-1348 ルヴァン ラ ヌーヴ, アゴラ 5 ビーティーイー 214
(72)発明者	カスティリヨ ゴンザレス, ホセ, アントニオ	ベルギー, ビー-1000 ブリュッセル, ルドゥ ラ ピュアンドリ 18 ビー-3.1
(72)発明者	ペーテ, ヴィシュワス	アメリカ合衆国, ミネソタ州, シャコピー, フィリップ ウェイ 1668
(72)発明者	クレーマー, マシュー	アメリカ合衆国, ペンシルベニア州, フィラデルフィア, ノース リングゴールド ストリート 766, ケア オブ ノース アメリカン セールス, インテグリティ セル カルチャ-テクノロジーズ
F ターム(参考)	4B029 AA02 AA08 AA11 BB11 CC02 CC08 CC10 DB10 DF04 DF08	
	DF10 GA02 GA08 GB01 GB04 GB07 GB08 GB09	
	4B065 AA90X BB12 BB15 BB25 BC05 BC08 BC26 BC42	