【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】令和7年4月7日(2025.4.7)

【国際公開番号】WO2024/024336
【出願番号】特願2024-536850(P2024-536850)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｍ　3/06(2006.01)
Ｃ１２Ｍ　1/00(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　1/00(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｍ　3/06
Ｃ１２Ｍ　1/00　　Ａ
Ｃ１２Ｎ　1/00

【手続補正書】
【提出日】令和7年1月9日(2025.1.9)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
微小有用物質を含む液を供給する原料供給部と、
前記液中の不純物を除去する除去部と、
前記原料供給部又は前記除去部から供給された前記液を中空糸膜で精製し、かつ濃縮する精製濃縮部と、
前記原料供給部から前記精製濃縮部への前記液の流通、又は、前記除去部から前記精製濃縮部への前記液の流通のタイミングを制御する第一制御部とを含む、微小有用物質を含む液の精製濃縮装置。
【請求項２】
前記除去部が、前記液内の不純物を除去し、不純物を除去した後の前記液を前記精製濃縮部に供給する流路が接続された担体カラムを備える、請求項１に記載の精製濃縮装置。
【請求項３】
前記除去部が、前記液内の不純物を除去するろ過部材を備え、
前記ろ過部材は、前記原料供給部から前記除去部へ前記液を供給する流路中に介装されている、請求項１または２に記載の精製濃縮装置。
【請求項４】
前記除去部が、前記担体カラムで処理した前記液を貯留する第一タンクを備え、
前記第一タンクは、前記担体カラムから前記精製濃縮部へ前記液を供給する流路中に配置され、かつタンク内の前記液を前記精製濃縮部に供給する流路が接続されており、
前記第一制御部は、前記タンク内の前記液を前記精製濃縮部へ供給するタイミングを制御する、請求項２に記載の精製濃縮装置。
【請求項５】
前記中空糸膜の、平均内径が０．２～１．４ｍｍであり、分画分子量が１万～１００万である、請求項１または２に記載の精製濃縮装置。
【請求項６】
前記精製濃縮部が、複数の前記中空糸膜が前記液の出入口を有する容器内に収容された中空糸膜モジュールを備え、

前記容器は、前記中空糸膜に前記液を供給するための、第一の液の出入口及び第二の液の出入口と、前記中空糸膜を透過した前記液を排出するための第三の液の出入口を、少なくとも有する、請求項１に記載の精製濃縮装置。

【請求項７】

前記中空糸膜モジュールが内圧式である、請求項６に記載の精製濃縮装置。

【請求項８】

前記精製濃縮部は、前記原料供給部又は前記除去部から供給された前記液を貯留し、前記中空糸膜モジュールの前記第一の液の出入口に前記液を供給する流路が接続された第二タンクと、

前記原料供給部又は前記除去部から供給された前記液を貯留し、前記中空糸膜モジュールの前記第二の液の出入口に前記液を供給する流路が接続された第三タンクと、

前記第二タンク又は前記第三タンクのいずれかを選択的に加圧する加圧装置と、

前記加圧装置で前記第二タンク又は前記第三タンク内を選択的に加圧して、前記第二タンク及び前記第三タンク内の前記液を前記中空糸膜モジュールに交互に供給するよう制御する第二制御部とを備える、請求項６に記載の精製濃縮装置。

【請求項９】

前記第二制御部は、前記第二タンク及び前記第三タンク内の液量を設定し、前記第二タンク及び前記第三タンク内の液量が設定された値となるように、前記加圧装置で前記第二タンク及び前記第三タンクを交互に加圧する、請求項８に記載の精製濃縮装置。

【請求項１０】

前記第二タンク及び前記第三タンクは、タンク底部の前記液の出入口に光センサーを含むタンク内液量監視装置をそれぞれ備え、

前記タンク内液量監視装置は、前記光センサーで前記液の出入口内に光を照射して光の透過率を検出し、前記透過率の変化に基づいてタンク内の液量を監視するよう構成されており、

前記第二制御部は、前記タンク内液量監視装置で前記第二タンク及び前記第三タンク内の液量を判断して、前記加圧装置で加圧するタンクを決定する、請求項９に記載の精製濃縮装置。

【請求項１１】

前記精製濃縮部は、前記第二タンク及び前記第三タンク内の液面位置を監視するカメラを備え、

前記第二制御部は、前記カメラから出力された前記第二タンク及び前記第三タンク内の液面位置の情報に基づいて、前記加圧装置で加圧するタンクを決定する、請求項９に記載の精製濃縮装置。

【請求項１２】

前記精製濃縮部が、希釈液を貯留し、前記希釈液を前記中空糸膜モジュールの前記第三の液の出入口に供給する流路が接続された第四タンクと、

前記第四タンク内の前記希釈液を前記中空糸膜モジュールの前記第三の液の出入口に供給するタイミングを制御する第三制御部とを備え、

前記第三制御部は、前記第二タンク及び前記第三タンク内の液量の合計が、前記第二制御部で設定した値以下となった場合に、前記第四タンク内の前記希釈液を前記中空糸膜モジュールの前記第三の液の出入口から供給する、請求項８に記載の精製濃縮装置。

【請求項１３】

前記精製濃縮部が、前記中空糸膜モジュールの前記第一の液の出入口又は前記第二の液の出入口と流路で接続され、前記第二タンク及び前記第三タンク内の前記液を回収する第五タンクと、前記第五タンクへの前記液の回収を制御する第四制御部とを備える、請求項８に記載の精製濃縮装置。

【請求項１４】

前記第二タンク及び前記第三タンクは、タンク底部の前記液の出入口に光センサーを含むタンク内液量監視装置をそれぞれ備え、

前記タンク内液量監視装置は、前記光センサーで前記液の出入口内に光を照射して光の透過率を検出し、前記透過率の変化に基づいてタンク内の液量を監視するよう構成されており、

前記第四制御部は、前記加圧装置で前記第二タンク又は前記第三タンク内を選択的に加圧して前記第二タンク及び前記第三タンク内の前記液を前記第五タンクへ回収し、前記タンク内液量監視装置で前記第二タンク及び前記第三タンク内の液量を判断して、前記加圧装置を停止させる、請求項１３に記載の精製濃縮装置。

【請求項１５】

前記精製濃縮部は、前記第二タンク及び前記第三タンク内の液面位置を監視するカメラを備え、

前記第四制御部は、前記加圧装置で前記第二タンク又は前記第三タンク内を選択的に加圧して、前記第二タンク及び前記第三タンク内の前記液を前記第五タンクへ回収し、前記カメラから出力された前記第二タンク及び前記第三タンク内の液面位置の情報に基づいて前記加圧装置を停止させる、請求項１３に記載の精製濃縮装置。

【請求項１６】

前記原料供給部、前記除去部、及び前記精製濃縮部を含む要素がハウジング内に配置された構成とされ、前記ハウジング内のクリーン度を管理する管理部を備え、

前記管理部は、ろ過空気を前記ハウジング内に供給するファンフィルター装置を備える、請求項１または２に記載の精製濃縮装置。

【請求項１７】

前記管理部は、ＵＶランプをさらに備える、請求項１６に記載の精製濃縮装置。

【請求項１８】

前記除去部が、前記担体カラムを洗浄する洗浄液を貯留する第六タンクと、前記担体カラムを平衡化する平衡化液を貯留する第七タンクとを備える、請求項２に記載の精製濃縮装置。

【請求項１９】

前記ろ過部材は、前記原料供給部の下部に配置されており、前記原料供給部から前記ろ過部材への前記液の供給が前記液の自重によって行われる、請求項３に記載の精製濃縮装置。

【請求項２０】

前記第二タンク及び前記第三タンクの長手方向の側面が、前記中空糸膜モジュールの長手方向と平行となるように配置されている、請求項８に記載の精製濃縮装置。

【請求項２１】

前記除去部が、前記液内の不純物を除去し、不純物を除去した後の前記液を前記精製濃縮部に供給する流路が接続された担体カラムと、前記担体カラムで処理した前記液を貯留する第一タンクを備え、

前記第二タンク及び前記第三タンクは、前記担体カラム及び前記第一タンクと流路で接続され、かつ前記担体カラム及び前記第一タンクの上方位置に配置されている、請求項２０に記載の精製濃縮装置。

【請求項２２】

前記微小有用物質が、細胞外小胞、抗体、ウィルス、タンパク質、酵素、及び核酸から選択される、請求項１または２に記載の精製濃縮装置。

【請求項２３】

請求項１または２に記載の精製濃縮装置を用いて、微小有用物質が精製濃縮された前記液を製造する方法であって、

前記微小有用物質を含む原料液を前記精製濃縮装置に供給して、前記液中の不純物を除去すること、及び／又は前記液を中空糸膜で精製し、かつ濃縮することを含む、微小有用物質の精製濃縮液の製造方法。

【手続補正２】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】００８７
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００８７】
図１３は、本開示の精製濃縮装置１の全体構成の一例を示す構成図である。原料供給部１０は、微小有用物質を含む液の原料液を貯留する容器１１が配置された構成となっている。本装置を起動させると、三方弁８２が開き、容器１１内の原料液は、自重による落下及び流路４１Ａに設けられたポンプ（図示せず）等によって流路５９に供給される。原料液は三方弁８２を操作することで、流路４１又は流路４３に供給される。第一制御部１１０は、原料液中の不純物の濃度によって設定された情報に基づいて、原料液を除去部２０又は精製濃縮部３０に供給する。第一制御部１１０は、三方弁８２を流路４３側に開いて、前記原料液を流路４３から精製濃縮部３０に送液する。
【手続補正３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００９６
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００９６】
管理液面位置Ｃを設定した後、第二タンク３１及び第三タンク３２の液面制御位置を設定する。第二タンク３１を加圧装置３４で加圧して第三タンク３２内の希釈液を第二タンク３１まで送液する。この時、第二制御部１２０は、第三タンク３２の低液面位置（Ｌ３）を設定し、第三タンク３２内の希釈液がＬ３となるまで第二タンク３１に希釈液を供給する。さらに第二制御部１２０は、第三タンク３２内の希釈液がＬ３となった場合の、第二タンク３１の第二貯留液（粗精製液と希釈液の混合液）の液面位置を高液面位置（Ｈ２）として設定する。また第二タンク３１の上部から第二貯留液が溢れるのを防ぐ観点から、高液面位置の上方に高－高液面位置（ＨＨ２）を設定する。次に、第二制御部１２０は、第二タンク３１を加圧装置３４で加圧して第三タンク３２に第二貯留液を送液する。この時、第二制御部１２０は第二タンク３１の低液面位置（Ｌ２）を設定し、第二タンク３１内の第二貯留液がＬ２となるまで第三タンク３２に第二貯留液を供給する。さらに第二制御部１２０は第二タンク３１内の第二貯留液がＬ２となった場合の第三タンク３２の液面位置を高液面位置（Ｈ３）として設定する。第三タンク３２も漏洩を防ぐ観点からＨＨ３を設定する。第二制御部１２０は、Ｈ２及びＬ３、Ｈ３及びＬ２の合計液量から管理液面位置Ｃを設定し、第二タンク３１及び第三タンク３２間の交互タンジェンシャルフローろ過が、管理液面位置Ｃの範囲で液を移動させて行われるようにする。なお、Ｌ２、Ｌ３は前述のタンク内液量監視装置３５、３６によるタンクの液の出入口の透過率の変化に基づいて設定されてもよく、カメラによる液面位置の映像に基づいて設定されてもよい。
また、Ｌ２、Ｌ３、Ｈ２、Ｈ３、ＨＨ２及びＨＨ３の位置は、第二タンク３１、第三タンク３２の容量、及び粗精製液の量に応じて適宜設定可能である。
【手続補正４】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１０９
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１０９】
［その他の実施形態：微小有用物質を含む液の段階的精製濃縮］
本開示の第一の実施形態に係る製造方法におけるその他の実施形態は、微小有用物質を含む液の段階的精製濃縮を含む、精製濃縮液の製造方法である。微小有用物質を含む液の精製濃縮を段階的に実施する方法として、二つ以上の平均内径の中空糸膜モジュールを用いて２段階以上の精製濃縮処理を行うことが例示できる。具体的には、本開示の平均内径が０．６ｍｍ～１．０ｍｍの中空糸膜モジュール３３を用いて１段階目の精製濃縮液を得

て、次に平均内径が１．０ｍｍ～１．４ｍｍの中空糸膜モジュールを用いて最終的な精製濃縮液を得る方法が挙げられる。

【手続補正５】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１１０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１１０】
［第二の実施形態］

次に、本開示の精製濃縮装置の第二の実施形態について、図面を用いて説明する。なお、以下の記載において、第一の実施形態と同じ構成を有するものは同じ符号を用い、その詳細な説明を省略する。

図１４は本開示の第二の実施形態の精製濃縮装置２（以下、「精製濃縮装置２」と記載する）の一例を示す概略構成図である。本開示の精製濃縮装置２は、原料供給部１０と、原料供給部１０から供給された液を中空糸膜モジュール３３で精製し、濃縮する精製濃縮部３０とを含み、中空糸膜モジュール３３は、前記液を中空糸膜に供給するための、第一の液の出入口３３ａ及び第二の液の出入口３３ｂと、前記中空糸膜を透過した前記液を排出するための第三の液の出入口３３ｃ、３３ｄとを有し、精製濃縮部３０は、原料供給部１０から供給された前記液を貯留し、前記中空糸膜モジュール３３の第一の液の出入口３３ａに前記液を供給する流路が接続された第二タンク３１と、原料供給部１０から供給された前記液を貯留し、中空糸膜モジュール３３の第二の液の出入口３３ｂに前記液を供給する流路が接続された第三タンク３２と、第二タンク３１及び第三タンク３２のいずれかを選択的に加圧する加圧装置３４と、加圧装置３４で第二タンク３１又は第三タンク３２内を選択的に加圧して、第二タンク３１及び第三タンク３２内の前記液を中空糸膜モジュール３３に交互に供給するよう制御する第二制御部（図示せず）と、第二タンク３１及び第三タンク３２内の前記液の量を監視する監視装置（図示せず）とを備え、前記第二制御部は、第二タンク３１及び第三タンク３２内の液量を設定し、第二タンク３１及び第三タンク３２内の液量が設定された値となるように、加圧装置３４で第二タンク３１及び第三タンク３２を交互に加圧し、第二タンク３１及び第三タンク３２内の前記液量は、前記監視装置の情報に基づいて判断される。

本開示の精製濃縮装置２は、概略構成図では省略するバルブ、自動弁、逆流防止弁、オリフィス、流量計、圧力計、液位計、破裂板等の安全装置、除害設備、圧力調整設備、中間槽、サンプリングや多段階分子量分割操作等に使用できる枝抜き設備等が含まれる場合がある。

さらに、精製濃縮装置２における監視装置には、装置スケール（規模）等に応じて、適宜、機械式または反射式等の公知の液面計（液位計）やロードセルなどの重量監視装置や積算流量計装置を、単独または複数併用することができる。

【手続補正６】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１２８
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１２８】
（精製濃縮部３０）

中空糸膜として、上記で作製した中空糸膜モジュール３３を用いる。

第二タンク３１、第三タンク３２には、ポリ（メタ）アクリレート製の透明容器（容量１２０ｍＬ）を用いた。第二タンク３１及び第三タンク３２底部の液の出入口には、光センサーを含むタンク内液量監視装置３５、３６（（株）キーエンス製、パイプ取付型液面検出ファイバユニット（型式：ＦＵ－９５Ｓ））を配置する。

第四タンク８０には、希釈液としてリン酸緩衝液（ＰＢＳ）を仕込む。

【手続補正７】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１４７
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１４７】
図１７、１８において、「Ｂｅｆｏｒｅ」は、精製濃縮処理前の試料を意味しており、「ＥＣＦあり」は実施例４の方法で得られた精製濃縮液を示し、「ＥＣＦなし」は比較例３の方法で得られた精製濃縮液を示している。図１７から明らかなように、実施例４の方法によれば、不純物としてのタンパク質濃度がより低下しており、エクソソームの純度をより向上させることができる。図１８において、波長５５７ｎｍ付近のピークは、培養液中にｐＨ指示薬として含まれるフェノールレッドに由来するピークであり、精製濃縮液における不純物に該当する。図１８に示すように、実施例４の方法によれば、不純物としてのフェノールレッドの濃度がより低下しており、エクソソームの純度をより向上させることができる。