



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2024년08월30일  
(11) 등록번호 10-2701687  
(24) 등록일자 2024년08월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61L 2/00 (2006.01) A61M 1/02 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
A61L 2/0047 (2013.01)  
A61K 41/17 (2020.01)  
(21) 출원번호 10-2018-7033147  
(22) 출원일자(국제) 2017년05월25일  
심사청구일자 2020년05월21일  
(85) 번역문제출일자 2018년11월15일  
(65) 공개번호 10-2019-0017747  
(43) 공개일자 2019년02월20일  
(86) 국제출원번호 PCT/US2017/034410  
(87) 국제공개번호 WO 2017/205590  
국제공개일자 2017년11월30일  
(30) 우선권주장  
62/342,756 2016년05월27일 미국(US)  
62/445,081 2017년01월11일 미국(US)  
(56) 선행기술조사문헌  
W02014194931 A1\*  
(뒷면에 계속)  
전체 청구항 수 : 총 18 항

(73) 특허권자  
헤마넥스트 인코포레이티드  
미국 매사추세츠 렉싱턴 헤이든 애비뉴 99 빌딩  
비 스위트 620 (우: 02421)  
(72) 발명자  
소웨미모-코커, 사무엘 오.  
미국 02421 매사추세츠 렉싱턴 헤이든 애비뉴 99  
빌딩 비 스위트 620  
서튼, 제프리  
미국 02421 매사추세츠 렉싱턴 헤이든 애비뉴 99  
빌딩 비 스위트 620  
요시다, 타츠로  
미국 02421 매사추세츠 렉싱턴 헤이든 애비뉴 99  
빌딩 비 스위트 620  
(74) 대리인  
특허법인(유)남아이피그룹, 특허법인 남앤남

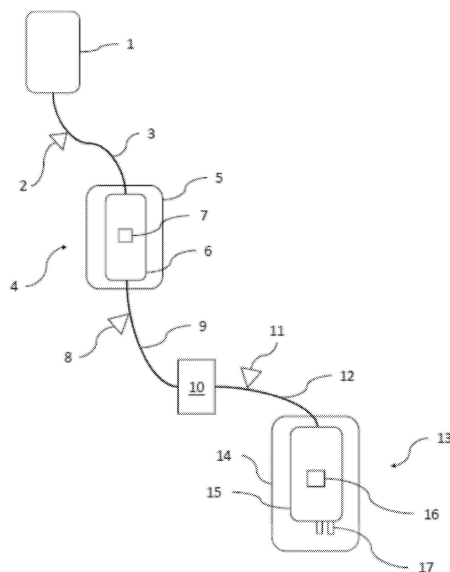
심사관 : 김민정

(54) 발명의 명칭 **협기성 혈액 저장 및 병원체 불활성화 방법**

**(57) 요약**

병원체 감소된 혈액의 저장동안 용혈 및 극미립자 형성을 감소시키는 방법. 용혈이 감소된 SAGM 및 리보플라빈을 포함하는, 산소 감소된 혈액 조성물. 극미립자가 감소된 SAGM 및 리보플라빈을 포함하는, 산소 감소된 혈액 조성물. 용혈이 감소된 CPAD 및 리보플라빈을 포함하는, 산소 및 병원체 감소된 혈액 조성물. 극미립자가 감소된 SAGM 및 리보플라빈을 포함하는, 산소 및 병원체 감소된 혈액 조성물.

**대표도** - 도1



(52) CPC특허분류

*A61L 2/0076* (2013.01)  
*A61M 1/0272* (2013.01)  
*A61L 2202/22* (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

JP5859558 B2\*  
JP2013507226 A  
HENSCHLER, REINHARD 등, “Development of the S-303 Pathogen Inactivation Technology for Red Blood Cell Concentrates” , Transfusion Medicine and Hemotherapy, 2011.01.31.(Available online), vol.38, no.1, p\*  
D’ AMICI, GIAN MARIA 등, “Red blood cell storage in SAGM and AS3: a comparison through the membrane two-dimensional electrophoresis proteome” , Blood transfusion, 2012.05., vol.10(Suppl 2), pp. s46-s54,\*  
FEYS, H.B 등, “Oxygen removal during pathogen inactivation with riboflavin and UV light preserves protein function in plasma for transfusion” , International Society of Blood Transfusion, 2013.10.29.(A\*  
WINTER, KELLY M. 등, “Red blood cell in vitro quality and function is maintained after S-303 pathogen inactivation treatment” , Transfusion, 2014.03.11.(Available online), vol.54, no.7, pp.1798-1807, 인터\*  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

혈액 병원체 감소 방법으로서:

혈액 제제로부터 산소를 제거하여 20% 미만의 산소 포화도(SO<sub>2</sub>)를 갖는 산소 감소된 혈액 제제를 제조하는 단계로서, 상기 혈액 제제는 적혈구 또는 전혈을 포함하는 조성물인, 단계; 및

상기 혈액 제제로부터 혈액 병원체를 감소시키는 단계로서, 리보플라빈을 40 내지 60 μM의 최종 농도로 첨가하는 단계 및 상기 리보플라빈 함유 혈액 제제에 265 내지 400 나노미터(nm)의 UV 광을 조사하는 단계를 포함하고,

이에 의해 산소가 감소되고 혈액 병원체가 감소된 혈액 제제가 형성되고,

산소가 감소되지 않고 혈액 병원체가 감소된 혈액 제제에 비해, 산소가 감소되고 혈액 병원체가 감소된 혈액 제제에서 용혈 및 극미립자 생성이 감소되는, 방법.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 혐기성 조건하에 상기 산소가 감소되고 혈액 병원체가 감소된 혈액 제제를 저장하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 혈액 제제로부터 이산화탄소를 감소시키는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

#### 청구항 4

제1항에 있어서, 산소가 감소되고 혈액 병원체가 감소된 혈액 제제에서 용혈은 14일에 0.2% 미만, 21일에 0.4% 미만, 28일에 0.5% 미만, 35일에 0.8% 미만, 또는 42일에 1.2% 미만인, 방법.

#### 청구항 5

삭제

#### 청구항 6

제1항에 있어서, 상기 산소가 감소되고 혈액 병원체가 감소된 혈액 제제에서 극미립자의 수는 산소가 감소되지 않고 혈액 병원체가 감소된 혈액 제제에 비하여, 14일에 2배 이상 감소되거나, 21일에 2배 이상 감소되거나, 또는 42일에 2배 이상 감소되는, 방법.

#### 청구항 7

제1항에 있어서, 상기 산소가 감소되고 혈액 병원체가 감소된 혈액 제제에서 극미립자의 수는 산소가 감소되지 않고 혈액 병원체가 감소된 혈액 제제에 비하여, 14일에 5배 이상 감소되거나, 21일에 5배 이상 감소되거나, 또는 42일에 5배 이상 감소되는, 방법.

#### 청구항 8

40 내지 60 μM의 리보플라빈을 가지며, 25% 미만의 산소 포화도(SO<sub>2</sub>)를 갖고, 37°C에서 90 수은주 밀리미터(mmHg) 이하의 이산화탄소 분압(pCO<sub>2</sub>)를 갖는, 시트레이트 포스페이트 텍스트로스(CPD)에서 수집된 전혈을 포함하는 산소 감소된, 조사된 전혈로서, 상기 산소 감소된, 조사된 전혈은 265 내지 400 나노미터(nm)의 UV 광으로 조사된 것이고, CPD에서 수집되고 265 내지 400nm의 UV 광으로 조사된, 산소 감소되지 않은 전혈에 비해 감소된 용혈 및 극미립자를 포함하는, 산소 감소된, 조사된 전혈.

**청구항 9**

제8항에 있어서, 상기 pCO<sub>2</sub>는 37℃에서 5 내지 20 mmHg인, 산소 감소된, 조사된 전혈.

**청구항 10**

삭제

**청구항 11**

혈액 병원체 감소 방법으로서,

적혈구-함유 혈액 제제로부터 산소를 제거하여 산소 감소된 혈액 제제를 제조하는 단계; 및

상기 산소 감소된 혈액 제제로부터 혈액 병원체를 감소시키는 단계로서:

아무스탈린(S-303)을 0.1 내지 0.5 밀리몰(mM)의 최종 농도로 첨가하는 단계,

글루타티온(GSH)을 2 내지 20 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계, 및

상기 S-303 및 GSH를 포함하는 상기 산소 감소된 혈액 제제를 최대 9시간 동안 산소 감소된 조건하에서 인큐베이팅하는 단계를 포함하는, 단계를 포함하고,

이에 의해 혈액 병원체가 감소되고 산소가 감소된 혈액 제제가 형성되고, 잔존 병원체가 60% 내지 100% 감소되고, 이에 의해 상기 S-303 수준이 10 나노몰(nM)미만으로 감소되고, 이에 의해 극미립자 형성 수준이 S-303 및 GSH로 처리되거나 산소 감소되지 않은 혈액 제제에 비해 감소된, 방법.

**청구항 12**

제11항에 있어서, 혐기성 조건하에 상기 산소가 감소되고 혈액 병원체가 감소된 혈액 제제를 저장하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

**청구항 13**

제11항에 있어서, 상기 적혈구-함유 혈액 제제로부터 이산화탄소를 감소시키는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

**청구항 14**

제11항에 있어서, 상기 S-303을 첨가하는 단계 후 상기 산소 감소된 혈액 제제를 원심분리하여 팩킹된 적혈구를 형성하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

**청구항 15**

제14항에 있어서, 상기 원심분리 후 상기 팩킹된 적혈구를 첨가제 용액과 혼합하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

**청구항 16**

삭제

**청구항 17**

삭제

**청구항 18**

삭제

**청구항 19**

삭제

**청구항 20**

삭제

**청구항 21**

삭제

**청구항 22**

삭제

**청구항 23**

삭제

**청구항 24**

제11항에 있어서, 상기 적혈구-함유 혈액 제제가 전혈, 백혈구 감소된 전혈, 혈장, 또는 팩킹된 적혈구인, 방법.

**청구항 25**

제11항에 있어서, 상기 극미립자 형성 수준이 S-303 및 GSH로 처리되나 산소 감소되지 않은 혈액 제제에 비하여, 10% 초과로 감소되는, 방법.

**청구항 26**

제11항에 있어서, 상기 적혈구-함유 혈액 제제로부터 상기 산소를 제거하는 단계와 상기 혈액 병원체를 감소시키는 단계가 동시에 일어나는, 방법.

**청구항 27**

삭제

**청구항 28**

제11항에 있어서, 상기 적혈구-함유 혈액 제제로부터 상기 산소를 제거하는 단계가 혈액 병원체를 감소시키는 단계 이전인, 방법.

**청구항 29**

삭제

**청구항 30**

제15항에 있어서, 상기 첨가제 용액이 첨가제 용액 1(AS-1), 첨가제 용액 3(AS-3), 첨가제 용액 5(AS-5) 및 첨가제 용액 7(AS-7), SAGM(saline-adenine-glucose-mannitol) 및 PAGGSM(phosphate-adenine-glucose-guanosine-saline-mannitol)로 이루어진 군으로부터 선택된, 방법.

**청구항 31**

삭제

**청구항 32**

삭제

**청구항 33**

삭제

**청구항 34**

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

### **발명의 설명**

### **기술 분야**

[0001] 관련 출원에 대한 교차-참조

[0002] 본 출원은 2016년 5월 27일자로 출원된 미국 가출원 제62/342,756호 및 2017년 1월 11일자로 출원된 미국 가출원 제62/445,081호에 대한 우선권을 주장한다. 상기 출원들은 모두 여기에 참고문헌으로 편입된다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 발명은 수혈 의약에 사용하기 위한 혈액 및 혈액 제제의 품질 및 안전성을 개선시키는 방법에 관한 것이다.

**배경 기술**

- [0005] 수혈을 위한 혈액 및 혈액 성분의 사용은 현재의 의학에서 통상적으로 실시하지만, 면역원성 및 병원성 오염물질에 대한 노출 가능성에 관해서 환자에게 위험을 초래한다. 수집된 혈액과 혈액 성분을 최대 몇주 동안 보관하는 것은 이러한 위험을 악화시킨다. 전혈은 전형적으로 여과에 의해 가공되어, 백혈구를 제거(백혈구 감소)한 다음, 원심분리하여 혈장, 혈소판 및 적혈구의 주요 3가지 혈액 성분을 분리한다. 그 다음, 백혈구감소된 팩킹된 적혈구(LRpRBC)는 전형적으로 첨가제 용액, 예컨대 미국의 AS-1(Adsol<sup>®</sup>), AS-3(Nutricel<sup>®</sup>), AS-5(Optisol<sup>®</sup>) 및 AS-7(SOLX<sup>®</sup>), 또는 EU의 SAGGM 또는 PAGGSM에 현탁되어, 최대 42일 동안 냉장 보관하기 전에 유통 기한을 연장할 수 있다. 혈장은 전형적으로 정맥질개술 및 분리 후 24시간 이내에 냉동된다("신선한 냉동된 혈장(Fresh Frozen Plasma)"-FFP 또는 FP24). FFP는 사용 전에 해동되며, 해동 5일 이내에 사용되어야 한다. 혈소판(PLT)은 성분채집술(apheresis)에 의해, 또는 전혈의 여러 유닛에서 분리된 PLT 분획을 풀링(pooling)함으로써 수집된다. 성분채집술에 의해 수집된 PLT는 전형적으로 첨가제 용액, 예컨대 EU의 PAS-C(Intersol<sup>®</sup>) 또는 PAS-F(Isoplate<sup>®</sup>)에 현탁된다(미국에는 아직 없음). PLT는 실온에서 교반되어 PLT 활성화를 방지하고 수집한지 5 내지 7일 이내에 사용되어야 한다. 모든 혈액 성분은 보관 조건으로 인해 공여체 바이러스 및 박테리아 오염에 민감하지만, PLT는 다른 혈액 성분보다 박테리아 오염 및 증식에 더 민감하다.
- [0006] 당해 분야에서는 최근, 저장 전에 광감작제로 혈액 성분을 조사하기 위해 UV 광을 이용함으로써(예를 들어, 소랄렌계 INTERCEPT<sup>®</sup> 시스템, 리보플라빈-기반 MIRASOL<sup>®</sup> 시스템 참조), 또는 광감작제가 없이(THERAFLEX<sup>®</sup> UV-Platelet 시스템), 박테리아 및 바이러스성 병원체의 불활성화에 대하여 진전이 있었다. 이들 시스템은 병원성 종에서 DNA를 가교-결합 및 불활성화시켜 환자에게 발생할 수 있는 위험을 줄인다. INTERCEPT<sup>®</sup> 시스템은 처리 후 잔류 아모토살렌(amtosalen) 및 광합성물의 제거 또는 감소와 함께, 병원체 DNA를 교차-결합시키기 위해 3 J/cm<sup>2</sup>의 방사 노출로 전달되는 UV-A 광 및 아모토살렌 HCl(합성 소랄렌(synthetic psoralen))을 사용한다. Mirasol<sup>®</sup> 시스템은 리보플라빈-뉴클레오타이드 복합체에 의한 흡수를 목표로 313 nm 부근의 UV 광 및 리보플라빈을 사용한다. 광감작제가 없는 시스템은 전형적으로 254 nm의 UV-C 광을 사용한다. 이러한 시스템에서 일부 광감작제 및 광합성물의 장기적인 효과가 확립되어야 한다.
- [0007] 당해 분야의 다른 진보는 핵산을 가교결합시키고 감염성 박테리아 및 다른 병원체를 불활성화시키기 위한 취약한 고정 기(frangible anchoring group)를 포함하는 퀴나크린 머스타드를 기반으로 하는 알킬화제인 S-303(Cerus Corporation, Concord, CA)을 포함한다(Henschler 등 "적혈구 농축물의 S-303 병원체 불활성화 기술 개발," *Transfus Med Hemother* 38:33-42 (2011) ("Henschler 2011") 참조). 이론적으로 제한되지는 않지만, S-303 병원체 불활성화 과정의 기초가 되는 두 가지 반응이 있다고 생각된다. 제1 반응은 S-303 분자와의 반응에 의한 공유결합 DNA 및 RNA 부가물의 형성이다. 이 제1 반응은 약 30분 내에 완료된다. 제2 반응은 과량의 S-303을 덜 독성인 부산물인 S-300으로 분해하는 것이다. 이 분해는 부가물 반응과 동시에 일어나고, 16 내지 18 시간 내에 완료된다.
- [0008] 임의의 특정 이론에 제한되지는 않지만, S-303과의 공유결합 DNA 및 RNA 부가물의 형성은 핵산 폴리머(예를 들어, DNA 또는 RNA)와의 분자의 삽입(intercalation)에 기반을 두고 있다고 생각된다. 현재 이해되는 바와 같이, RBC에 S-303을 첨가하면, 양친매성으로 인해 세포 및 바이러스성 외피를 포함하는, 막을 (수초 내지 수분 이내에) 빠르게 통과하고, 핵산의 나선형 영역에 삽입된다. 분자 상에 취약한 고정기의 존재는 DNA 또는 RNA의 핵산 사슬내 분자상의 양전하를 띤 아민 그룹의 음전하로의 인력에 의해 삽입 과정을 돕는다는 가설을 세웠다. S-303 분자가 가깝기 때문에 S-303 분자를 DNA 또는 RNA에 공유 결합시키는 열적 고리화부가 반응이 빠르게 일어난다. 공유 결합은 복제 또는 번역 과정의 발생을 방지하고, 추가 병원체의 생성을 추가로 정지시키는 것으로 믿어진다. 공유결합 부가물을 형성하는 과정에서 취약한 고정기가 가수분해에 의해 제거되어, 덜 독성인 화합물인 S-300을 얻는다.
- [0009] S-303의 덜 독성인 S300으로의 자발적인 분해는 병원체 불활성화 과정에서의 두 번째 반응이다. 과잉의 S-303(대략 0.2 mM)이 정상적으로 RBC에 첨가되어 샘플 내의 모든 DNA 및 RNA와 완전히 반응할 수 있는 충분한 시약을 제공한다. 그러나, S-303은 독성 화합물이기 때문에 수득한 생성물을 안전하게 수혈하기 위해서는 잔존 S-303을 제거해야 한다. Cerus 병원체 불활성화 과정에서 이것은 주로 S-303이 독성이 훨씬 적은 화합물인 S-300으로 분해되도록 함으로써 이루어진다. 분해 과정은 가수분해에 의해 발생하며; S-303의 가수분해는 S-303 시약이 초기에 RBC와 혼합될 때 pH가 낮은 곳에서 높은 곳으로 이동함으로써 유발된다. 잔존 S-303의 분해 반응속도는

약 20분의 반감기를 갖는 10 nM/L 이상의 농도에서 신속하다.

- [0010] 현재 이해되는 바와 같이, S-303은 또한 소분자, 예컨대 포스페이트, 물 및 거대분자, 예컨대 단백질을 포함하는 RBC의 유타내에서 다른 친핵체들과 반응할 가능성이 있다. 특정 이론에 국한되지는 않지만, 단백질과의 이러한 비특이적 상호작용을 감소시키기 위해 병원체 불활성화 과정에서 20 mM의 글루타티온(GSH)이 RBC에 동시에 첨가된다.(Henschler 2011 참조). 글루타티온(GSH)은 약 5mM의 세포내 농도로 대부분의 세포에 존재하는 자연 발생 산화방지제이다. 현재 이해되는 바와 같이, GSH는 세포의 혈장 공간에만 분포하고, S-303은 세포막을 가로질러 확산하여 세포의 내외부에서 평형을 이룬다. 이것은 GSH가 병원체 불활성화에 상당한 영향을 미치지 않으면서 S-303의 세포의 반응을 억제할 수 있게 한다(Olcina 등 저산소증 및 DNA 손상 반응. *암 약물 발견 및 개발에 있어서, 저산소증 및 암* 2014; Chapter 2:21-30; Melillo G (ed) 참조).
- [0011] 당해 분야의 최근의 진보는 또한 구혈의 사용과 통상적으로 관련된 저장 병변의 양을 감소시키기 위해 혐기성으로 저장된 팩킹된 적혈구를 첨가제 용액에 사용하는 것을 포함한다(Bitensky, 등, 미국특허 제5,789,152호; Bitensky, 등, 미국특허 제6,162,396호; 및 Bitensky, 등, 미국특허 제8,071,282호 참조). 상기 저장 병변은 순환계의 정상적인 생리적 환경없이 혈액을 저장함으로써 발생하는 대사 과정 및 부산물에서 유래되며, 저장된 혈액내 이용가능한 산소의 제거 또는 감소가 저장동안 적혈구 내 손상된 산화적 물질의 생성을 감소시키는 것으로 생각된다.
- [0012] 용혈은 혈액의 품질 및 안전성을 나타내는 중요한 지표로 인식되고 있다. 저장 중에 용혈 수준은 경시적으로 증가하며, 자유 헤모글로빈의 존재는 혈액이 그의 유통기한을 초과했다는 지표이다. 이로부터 수혈에 사용될 수 있는 혈액 제제의 유타를 위한 허용가능한 저장 기간을 제한하는 규정과 지침이 개발되었다. 혈액 안전성을 위한 용혈의 중요성은 혈액을 폐기해야 하기 전에 유타가 0.8%의 상한선을 정하도록 유도했다. FDA는 용혈 수준이 1.0%를 초과하지 않을 것을 권장한다. 따라서, 용혈을 감소시키는 방법은 혈액의 안전한 유통기한을 연장시켜 비용을 줄이고 혈액 이용가능성을 증가시킨다.
- [0013] 저장된 혈액 건강 및 안전성의 또 다른 지표는 극미립자이다. Cognasse 등, "염증과 수혈에서 극미립자의 역할: 간결한 검토", *Transfus. Apher. Sci.* 53(2):159-167 (2015)를 참조한다. 극미립자(Mps)는 적혈구, 백혈구, 혈소판 및 내피 세포에 의해 생성된다. 극미립자는 정상 생리학, 세포자멸사 또는 세포 손상의 결과로 생성되는 것으로 생각된다. 일반적으로, 이들은 1000 nm 미만의 입자로 설명된다. 더 낮은 범위는 때때로 50 nm로 표시되지만, 하한에 대한 명확한 정의 또는 합의가 없다. 일반적으로, 형광 표면 항체와 함께 유동 세포계측기가 정량화에 사용되지만, MP 측정에 일반적으로 허용된 방법이 없으며, 측정은 사용된 기기에 따라 다를 수 있다. Poncelet 등, "극미립자의 유동 세포계측-기반 분석 및 계수를 위한 팁 및 트릭", *Transfus. Apher. Sci.* 53(2):110-126 (2015)를 참조한다. 선택된 분자만 수득된 MP의 표면 상에 포함되거나 노출되지만, Mps의 조성은 그들이 유래된 모세포를 반영한다. 일부 MP는 혈전형성이 높은 것으로 간주된다(특히 혈소판 기원의 MP). 일반적으로 저장된 RBC 성분의 Mps는 면역 조절, 과도한 응고, 산화질소 제거(혈액 관류 저하) 또는 동종면역력 증진을 위한 공급원으로 수령체에게 유해하다. 따라서, 극미립자의 수준을 감소시키는 방법은 저장된 혈액 건강 및 안전성을 향상시킨다.
- [0014] 본 발명자들은 전혈내 산소 감소가 질환 유발 바이러스, 박테리아 및 다중-세포 기생충을 감소시키고, 백혈구를 감소시키기 위해 혈액 제제를 처리할 때 용혈 및 극미립자 생산량의 예기치 않은 감소를 제공함을 입증한다. 본 명세서에서 제공되는 방법은 용혈을 감소시킴으로써 병원체 감소된 혈액 제제의 사용가능한 수명을 연장시킨다.
- [0015] 혈액 및 혈액 제제의 안전성을 개선시키기 위해 그들의 병원체 불활성화가 개발되었다. 다양한 박테리아, 바이러스 및 기생충이 불활성화될 수 있지만, 조사 연구는 혈액 성분에 부정적인 영향을 미친다는 것을 입증한다. 현재, 혈장 및 혈소판 농축물은 병원체 불활성화 시스템으로 처리될 수 있지만; 그러나 적혈구 치료는 아직 개발 중에 있다. 기증 후 전혈의 병원체 불활성화는 유래된 모든 생성물이 병원체가 불활성화되어 잔존 백혈구가 파괴된다는 장점을 제공한다. 그러나 최근의 연구 결과에 따르면 리보플라빈/UV 광 기술(Mirasol, TerumoBCT)을 사용하여, 전혈 조명으로부터 유래된 적혈구의 품질이 유통 기한이 표준 보관 조건하에 있는 경우 단축을 필요로 하는 정도로, 미처리 연구 아암에 비해 상당히 감소된다. 이러한 분석의 특징은 혈액 은행 저장 약 30일에 현재 수용 수준인 0.8%에 달하는 용혈의 가속화된 개발이다. UV 조사 동안 반응성 산소 종(reactive oxygen species, ROS)의 생성은 용혈에 기여하는 것중 하나이다.
- [0016] 여기에서 본 발명자들은 Mirasol 시스템을 사용하여 병원체에 대한 처리 전에 전혈로부터의 산소의 감소가 혈액 품질을 향상시킨다는 것을 입증한다. Hemanext™ 시스템(New Health Sciences)은 병원체 감소와 함께 전혈 및 적혈구 농축물에서 산소를 제거하도록 설계되어 비-산소 감소 조건에서 병원체 감소와 비교하여 적혈구의 품질

개선을 초래한다. Hemanext™ 처리와 Mirasol 병원체 감소 처리를 병용하면, 산소 감소된 조건에서 42일 저장 후 혈액 용혈이 0.8% 미만인 혈액이 생성된다.

[0017] **발명의 요약**

[0018] 본 발명은 혈액 제제로부터 산소를 제거하고, 리보플라빈을 40 내지 60 μM의 최종 농도로 첨가하고, 리보플라빈 함유 혈액 제제에 265 내지 400 nm의 UV 광을 조사함으로써, 저장 중에 혈액 병원체를 불활성화시키고 용혈을 감소시키는 방법을 제공한다.

[0019] 본 발명은 혈액 제제로부터 산소를 제거하고, 리보플라빈을 40 내지 60 μM의 농도로 첨가하고, 리보플라빈 함유 혈액 제제에 265 내지 400 nm의 UV 광을 조사함으로써, 극미립자 형성을 감소시키고 혈액 병원체를 불활성화시키는 방법을 제공한다.

[0020] 본 발명은 40 내지 60 μM 리보플라빈을 갖고, 산소 포화도(SO<sub>2</sub>)가 25% 미만이고, 37°C에서 90 mmHg 이하의 pCO<sub>2</sub>를 갖는, 시트레이트 포스페이트 텍스트로스(CPD)에서 수집된 전혈을 포함하는, 산소 감소된 전혈을 제공하며, 여기서 상기 산소 감소된 전혈이 265 내지 400 nm의 UV 광으로 조사되었다.

[0021] 본 발명은 40 내지 60 μM 리보플라빈을 갖고, 산소 포화도(SO<sub>2</sub>)가 25% 미만이고, 37°C에서 20 mmHg 이하의 pCO<sub>2</sub>를 갖는, 시트레이트 포스페이트 텍스트로스(CPD)에서 수집된 전혈을 포함하는, 산소 및 이산화탄소 감소된 전혈을 제공하며, 여기서 상기 산소 감소된 전혈이 265 내지 400 nm의 UV 광으로 조사되었다.

[0022] 본 발명은 혈액 제제로부터 산소를 제거하고, S-303을 0.2 mM의 최종 농도로 첨가하고, 및 GSH를 2 내지 20 mM의 최종 농도로 첨가하여, 혈액 병원체를 불활성화시키고 용혈을 감소시키는 방법을 제공한다.

[0023] 본 발명은 혈액 제제로부터 산소 및 이산화탄소를 제거하고, S-303을 0.2 mM의 최종 농도로 첨가하고, GSH를 2 내지 20 mM의 최종 농도로 첨가하여, 혈액 병원체를 불활성화시키고 극미립자 생산을 감소시키는 방법을 제공한다.

[0024] 본 발명은 S-303을 대략 0.2 mM의 최종 농도로 갖고, 25% 미만의 산소 포화도(SO<sub>2</sub>)를 가지며, 및 37°C에서 90mmHg 이하의 pCO<sub>2</sub>를 갖는, 산소 감소된 적혈구를 제공한다.

**도면의 간단한 설명**

[0025] 본 발명은 첨부 도면을 참조하여 개시된다:

도 1은 본 발명의 일 양태에 따른 혈액 백(bag) 수집 및 저장 시스템을 도시하는 다이어그램이다.

도 2는 본 발명의 일 양태에 따른 불연속 성분채집술 시스템을 나타내는 다이어그램이다.

도 3은 본 발명의 일 양태에 따른 불연속 성분채집술 시스템을 나타내는 다이어그램이다.

도 4는 대조군 전혈의 평균 용혈을 멸균된 염수와 비교하고(1 avg), 대조군 전혈을 리보플라빈과 비교하고(2 avg), 산소 감소된 팩킹된 RBC를 멸균된 염수와 비교하고(3 avg), 산소 감소된 pRBC를 리보플라빈과 비교하고(4 avg), 산소 감소된 전혈을 멸균된 염수와 비교하고(5 avg), 및 산소 감소된 전혈을 리보플라빈과 비교하는(6 avg), 본 발명에 따른 실험 결과를 나타내는 그래프이다.

도 5는 대조군 전혈의 극미립자의 평균 양을 멸균된 염수와 비교하고(1 avg), 대조군 전혈을 리보플라빈과 비교하고(2 avg), 산소 감소된 팩킹된 RBC를 멸균된 염수와 비교하고(3 avg), 산소 감소된 pRBC를 리보플라빈과 비교하고(4 avg), 산소 감소된 전혈을 멸균된 염수와 비교하고(5 avg), 및 산소 감소된 전혈을 리보플라빈과 비교하는(6 avg), 본 발명에 따른 실험 결과를 나타내는 그래프이다.

도 6a 내지 6g는 대조군 전혈의 삼투 취도(6a), 칼륨(6b), 총 헤모글로빈(6c), 산소 포화도(6d), 글루코스(6e), 락테이트(6f) 및 pH(6g)를 멸균된 염수와 비교하고(1 avg), 대조군 전혈을 리보플라빈과 비교하고(2 avg), 산소 감소된 팩킹된 RBC를 멸균된 염수와 비교하고(3 avg), 산소 감소된 pRBC를 리보플라빈과 비교하고(4 avg), 산소 감소된 전혈을 멸균된 염수와 비교하고(5 avg), 및 산소 감소된 전혈을 리보플라빈과 비교하는(6 avg), 본 발명에 따른 실험 결과를 나타내는 그래프이다.

상응하는 참조 문자는 여러 도면에서 상응하는 부분을 나타낸다. 본 명세서에 개시된 예들은 본 발명의 양태들을 설명하지만, 임의의 방식으로 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0026] 본원에서, UV 광으로 혈액 샘플을 조사하는 것의 유해한 부작용이 샘플내에 존재하는 산소의 양을 감소시킴으로써 완화될 수 있음을 보여준다. 이론적으로 제한되지 않고, 산소의 감소는 반응성 산소 종(ROS)의 생성을 감소시키는 것으로 생각된다. ROS의 감소는 샘플이 전혈이든 임의의 혈액 성분, 예컨대 혈장, 혈소판 또는 적혈구이든 상관없이 혈액 샘플내에서 병원체 불활성화를 위한 UV 광 조사의 유의한 측면을 증가시키는 것으로 생각된다.
- [0027] 본 발명의 양태에 따르면, 혈액 처리 및 저장 시스템은 저장 전에 혈액 성분을 수집, 분리, 탈산소화 및 UV 광 조사할 수 있다. 혈액 처리 시스템은 중력 구동 백 시스템일 수 있으며, 예컨대 전혈 백혈구감소에 통상적으로 사용된다. 일부 양태에서, 혈액 처리 시스템은 당해 분야에 통상적으로 공지된 바와 같이, 혈액이 수집되어 원하는 구성요소로 분리되고, 이어서 원하는 구성요소가 탈산소화되고, 저장 전에 본 명세서에 따라 조사되는, 연속 또는 불연속 유동 유형의 성분채집술 시스템일 수 있다. 일부 양태에서, 혈액이 수집되고, 및 저장 전에 원하는 혈액 성분의 분리 및 UV 조사 전에 탈산소화된다. 일부 양태에서, 혈액이 수집되고, 및 저장 전에 원하는 혈액 성분의 탈산소화 및 UV 조사 전에 분리된다. 일부 양태에서, 혈액이 수집되고, 탈산소화되고, 원하는 혈액 성분의 분리 및 저장 전에 UV 조사된다.
- [0028] 이하의 실시예 및 도면이 단지 설명을 위한 것이며, 본 발명의 범위를 제한하는 것을 의미하지 않는다는 것을 당해 분야의 숙련가는 이해할 것이다. 본 명세서 및 설명의 목적을 위해, 하기 정의 및 용어는 그들의 공통된 의미를 갖는 것으로 이해된다. 용어 "UV"는 약 220 nm 내지 약 400 nm의 파장을 갖는 자외선 광(ultraviolet light)을 지칭한다. 용어 "혈액 샘플"은 동물 또는 인간의 혈액 샘플을 지칭하며, 적혈구(RBC), 혈소판(PLT), 혈장, 백혈구, 혈액에서 통상적으로 발견된 단백질, 예컨대 알부민, 효소, 응고 인자를 포함한 전혈 및 전혈 성분을 포함하며, 또한 혈액에서 통상적으로 발견되는 상기 성분의 조합, 예컨대 전혈의 부분적으로 분리된 분획, 이전에 분리된 재조합 성분을 포함하며, 새롭게 수집되거나 저장된 혈액 샘플을 포함한다. 용어 "성분채집술(apheresis)"은 당해 분야에서 통상적인 의미를 가지며, 당해 분야에 통상적으로 공지된 바와 같이 연속 및 불연속 방법에 의한 혈액의 수집 및 분리를 포함한다. 용어 "성분채집술 시스템"은 당해 분야에서 통상적인 의미를 갖는 것을 의미하며, 당해 분야에 통상적으로 공지된 바와 같이 연속 및 불연속적 방법 모두에 의한 혈액의 수집 및 분리를 위한 장치 및 시스템을 포함한다. 용어 "혈액 컨테이너"는 저장 기간과 무관하게, 혈액을 저장하기 위한 폴리머성 물질로 제조된 임의의 컨테이너를 지칭하여 의미하며, 당해 분야에서 통상적으로 사용되는 일반 용어 "혈액 백"을 포함한다. 용어 "PVC"는 폴리비닐염화물로 구성된 폴리머를 지칭하며, 임의의 첨가된 물질, 예컨대 가소제, 안정화제, 억제제 및 당해 분야에 통상적으로 공지되고 PVC의 제조에 사용되는 다른 물질을 갖는 PVC를 포함한다.
- [0029] 도 1은 혈액 수집 백(1), 혈액 처리 백(4), UV 조사 챔버(10) 및 혈액 저장 백(13)을 포함하는 본 발명의 양태를 도시한다. 혈액 수집 백(1)은 당해 분야에 통상적으로 공지되어 있으며, 전형적으로 가요성 플라스틱, 예컨대 폴리비닐염화물(PVC)로 제조되지만, 다른 폴리머 재료, 예컨대 우레탄, 실리콘 또는 기타 생체적합성 물질로 제조될 수 있다. 혈액 수집 백(1)은 혈액 이송 라인(3)을 구비한다. 혈액 이송 라인(3)은 당해 분야에 통상적으로 공지된 바와 같은 가요성 플라스틱으로 제조되며, 전형적으로 PVC로 제조되지만, 다른 생체적합성 폴리머성 물질로 또한 제조될 수 있다. 상기 혈액 이송 라인(3)은 상기 혈액의 유동 및 이송이 요구될 때까지 수집 백(1)으로부터 상기 이송 라인(3)을 통해 상기 혈액이 상기 처리 백(4) 내로 유동하는 것을 방지하기 위해 유동 제어 장치(2), 예컨대 핀치 클램프, 래치 클램프(ratchet clamp) 또는, 취약한 시일(frangible seal)이 구비되어 있다. 일부 양태들에서, 유동 제어 장치는 유동 속도를 제어하도록 설계된다.
- [0030] 처리 백(4)은 외부 장벽 백(5) 및 내부 혈액 백(6)으로 구성되며, 여기서 상기 외부 장벽 백(5)은 실질적으로 산소에 대해 불투과성이다. 장벽 백(5)의 구성에 적합한 재료는 당해 분야에 통상적으로 공지되어 있으며, 금속 포일, 예컨대 알루미늄 포일, 적합한 장벽 특성을 갖는 폴리머 필름, 예컨대 에틸 비닐 알코올(EVA), 폴리비닐 알코올(PVA), 폴리아크릴로니트릴(Barex<sup>®</sup>), 환형 폴리올레핀, 폴리클로로트리플루오로에틸렌(PCTFE 또는 Aclar<sup>®</sup>), 폴리비닐리덴 염화물(PVDC), 적합한 장벽 특성을 제공하기 위해 폴리에틸렌 또는 나일론 필름을 산화규소, 산화알루미늄 또는, 폴리머 필름 및/또는 코팅의 조합을 포함하는 다층 필름의 코팅으로 코팅함으로써, 적합한 장벽 특성을 제공하는 코팅물을 갖는 폴리머 필름을 포함한다. 양태에서, 장벽 백은 RollPrint ClearFoil<sup>®</sup> Z 필름 또는 Renolit Solmed Wrapflex<sup>®</sup> 필름으로 제조된다. 처리 백의 제조를 위한 예시적인 방법은 2016년 3월 10

일자로 출원된 국제 특허 출원 PCT/US2016/021794에 제공되어 있으며, 이는 그 전체가 참고 문헌으로 편입된다.

[0031] 내부 혈액 백(6)은 당해 분야에 통상적으로 공지된 높은 산소 전달 특성을 갖는 가요성 폴리머 재료로 제조되며, 및 PVC, 우레탄, 실리콘, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리에테르설폰, 폴리비닐리덴 플루오라이드(PVDF)를 포함한다. 일 양태에서, 내부 혈액 백(6)은 실리콘, 예컨대 예를 들어 Wacker Silpuran<sup>®</sup> 30- $\mu$ m 두께의 실리콘 필름으로 제조된다. 또 다른 양태에서, 내부 혈액 백(6)은 Millipore GVHP29325 PVDF 막으로 제조된다. 산소 흡수 흡착제 물질(7)은 외부 장벽 백(5)과 내부 혈액 백(6) 사이에 배치된다. 산소 흡수 흡착제 물질(7)은 당해 분야에 통상적으로 공지되어 있으며, 전형적으로 철-기반 흡착제 물질, 예컨대 Mitsubishi Ageless<sup>®</sup> 계열의 산소 흡수제, 또는 다른 산소 흡수 물질 또는 시스템, 예컨대 아스코르베이트/금속염 시스템, 금속 촉매, 예컨대 백금, 또는 산소 흡수 폴리머, 예컨대 나일론 MXD6으로 구성된다. 일부 양태에서, 외부 장벽 백(5) 및 내부 혈액 백(6)은 Mitsubishi Ageless<sup>®</sup> OMAC<sup>®</sup> 필름과 같은 적층 구조 내에 배치된 산소 흡수 물질(7)과 함께 적층될 수 있다.

[0032] 산소 흡수 흡착제 물질(7)은 전형적으로 통기성 사세트(sachet)에 배치되어 외부 장벽 백(5)과 내부 혈액 백(6) 사이의 가스 상부공간 내의 산소를 흡수하도록 적용되어있다. 일부 양태에서, 산소 흡수 흡착제 물질(7)은 플라스틱 메시 구조(도시되지 않음)에 부착되어, 내부 및 외부 백 사이의 공간을 제공하고, 따라서 가스 상부공간에서 향상된 가스 전달을 제공한다. 일부 양태들에서, 복수의 산소 흡수 사세트가 가스 상부공간에 배치된다. 양태들에서, 산소 흡수 흡착제 물질(7)은 신속하게 작용하여 높은 수준의 산소를 신속하게 흡수하도록 제형화되고, 혈액의 전체 유닛의 전체 산소 함량을 흡수하는 능력을 갖는다. 양태들에서, 산소 흡수 흡착제 물질(7)의 산소 흡수 용량은 적어도 100 cc의 산소이고, 및 더욱 바람직하게는 적어도 200 cc이다. 일부 양태에서, 산소 지표 탭(도시되지 않음)은 예를 들어 Sorbent Systems Tell-Tab<sup>®</sup> 과 같은 특정 수준에서 산소의 존재 또는 부재를 색상으로 표시하기 위해 가스 상부공간 내에 배치된다. 본 명세서에 적합한 처리 백(4) 및 내부 혈액 백(6)의 추가 세부사항은 2016년 3월 10일자로 출원된 국제 특허 출원 PCT/US2016/021794에 제공된다.

[0033] 내부 혈액 백(6)의 유동 경로는 혈액의 유동 및 이송이 요구될 때까지 내부 혈액 백(6)으로부터 상기 이송 라인(9)을 통해 상기 혈액이 UV 조사 챔버(10) 내로 유동하는 것을 방지하기 위해 유동 제어 장치(8), 예컨대 핀치 클램프, 래칫 클램프 또는, 취약한 시일이 구비된 혈액 이송 라인(9)에 의해 UV 조사 챔버(10)로 연결된다. 일부 양태들에서, 유동 제어 장치는 유동 속도를 제어하도록 설계된다. UV 조사 챔버(10)는 혈액의 유동 및 이송이 요구될 때까지 UV 조사 챔버(10)로부터 상기 이송 라인(12)을 통해 상기 혈액이 혈액 저장 백(13) 내로 유동하는 것을 방지하기 위해 유동 제어 장치(11), 예컨대 핀치 클램프, 래칫 클램프, 또는 취약한 시일이 구비된 혈액 이송 라인(12)에 의해 혈액 저장 백(13) 내로 추가로 유동 연결된다. 일부 양태들에서, 유동 제어 장치(11)는 유동 속도를 제어하도록 설계되고, 일부 양태들에서 유동 제어 장치는 UV 램프와 통신하여 UV 조사 챔버 내에 함유된 혈액 샘플의 제어된 조사 노출을 제공한다.

[0034] UV 조사 챔버(10)는 전원(도시되지 않음)에 작동가능하게 연결된 UV 램프(도시되지 않음)를 추가로 포함하고, 챔버 내에 함유되거나 챔버를 통과하는 혈액의 UV 조사를 제공한다. 일부 양태들에서, UV 조사 챔버는 혈액 이송 튜빙(9)의 섹션을 수용하고 튜빙을 통해 UV 광을 조사하도록 구성된다. 대부분의 플라스틱은 더 낮은 파장에서 UV 광을 흡수하고, 가공을 위한 더 낮은 파장의 UV 광, 예컨대 254 nm에서의 UV-C 광을 사용하기에 부적합하지만, 더 높은 파장, 예컨대 UV-B(~ 290-320 nm) 또는 UV-A(~ 320-400 nm)에서 흡수하는 특정 광감작제의 경우 얇은 플라스틱 섹션이 적합할 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, 혈액 이송 튜빙(9)의 일부분은 UV 조사 챔버(10) 내로 적합하도록 벽 두께가 매우 얇아서 플라스틱 튜빙을 통해 혈액 샘플로 향상된 광 침투를 제공하도록 적용된다. 일부 양태에서, UV 조사 챔버 내의 이송 튜빙 부분의 벽 두께는 약 0.1 내지 약 1.0mm이고, 양태에서 이송 튜빙 벽 두께는 약 0.2 내지 약 0.5mm 두께이다.

[0035] 일부 양태에서, UV 조사 챔버(10)는 혈액 이송 튜빙(9) 및 혈액 이송 튜빙(12)과 유체 연통하는 석영(SiO<sub>2</sub>) 또는 사파이어(Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 물질의 섹션과 같은 UV-C 투명한 부분을 갖도록 구성된다. 일부 양태에서, 혈액 이송 라인(9)은 혈액 이송 튜빙(9)과 혈액 이송 튜빙(12) 사이에 내포된 석영(SiO<sub>2</sub>) 또는 사파이어(Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 튜빙의 섹션과 같은 UV-C 투명한 부분을 가지도록 적용되어, UV-C 투명한 부분이 UV 조사 챔버(10)에 쉽게 삽입될 수 있다. 일부 양태에서, UV 조사 챔버(10)는 석영(SiO<sub>2</sub>) 또는 사파이어(Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)와 같은 UV-C 투명 재료로 제조되며, 혈액 이송 튜빙(9) 및 혈액 이송 튜빙(12)에 연결되어 적용되고, 이와 유체 연통한다. 일부 양태에서, UV 조사 챔버(10)는 UV-C에 대해 투명하지는 않지만 UV-A 및/또는 UV-B 파장에 대해 투명한 물질, 예컨대 유리 또

는 폴리머, 예컨대 폴리카보네이트, 아크릴, PVC, 우레탄 및 기타로 제조되며, 혈액 이송 튜우빙(9) 및 혈액 이송 튜우빙(12)에 연결되어 적용되고, 이와 유체 연통한다. 일부 양태에서, UV 조사 챔버(10)는 UV-C, UV-A 및 UV-B 파장에 대해 충분히 투명한 폴리머성 물질, 예컨대 실리콘으로 제조되어, UV 광을 조사 챔버의 내강 내로 투과시키는데 효과적이다.

[0036] 혈액 저장 백(13)은 외부 장벽 백(14)과 내부 혈액 백(15)으로 구성되며, 여기서 외부 장벽 백(14)은 산소에 대해 실질적으로 불투과성이다. 적합한 혈액 저장 백(13)은 2016년 4월 22일자로 출원된 국제 특허 출원 PCT/US2016/029069에 기재되어 있으며, 그 전체가 본원에 참고로 편입되어있다. 간단히, 외부 장벽 백(14)의 구성에 적합한 물질이 제공되며; 외부 장벽 백(14)은 외부 장벽 백(5)과 실질적으로 동일하다. 내부 혈액 백(15)은 스파이크 포트(17)를 추가로 포함한다는 점을 제외하고는 상기 혈액 수집 백(1)과 실질적으로 동일하며, 여기서 스파이크 포트(17)는 수혈 의약의 당해 분야에 통상적으로 공지되어 있으며, 환자의 사용시에 내부 혈액 백(15) 내에 함유된 혈액을 받기 위해 주입 스파이크의 멸균된 연결에 적합하다. 혈액 저장 백(13)은 외부 장벽 백(14)과 내부 혈액 백(15) 사이에 배치된 산소 흡수 물질(16)을 추가로 포함한다. 양태에서, 산소 흡수 물질(16)은 장시간 동안 냉장 온도에서 기능하고 저수준의 산소를 흡수하도록 제형화된다.

[0037] 도 2는 불연속적인 3-라인 성분채집술 시스템을 도시하며, 여기서 전혈은 대상체 아암에 삽입될 수 있는 정맥-접근 디바이스(110)를 통해 대상체로부터 회수된다. 채혈 라인(120)은 혈액 성분의 분리를 위해 혈액 성분 분리 디바이스(150)에 정맥-접근 디바이스(110)를 유체로 연결한다. 채혈 라인(120) 상에 위치한 드로우 펌프(122)는 채혈 라인(120)을 통한 유동의 방향, 속도 및 지속 시간을 제어한다.

[0038] 전혈이 대상체로부터 배출됨에 따라, 혈액이 라인 내 또는 혈액 성분 분리 디바이스(150) 내에서 응고되는 것을 방지하기 위해 항응고제가 전혈에 첨가될 수 있다. 이를 위해, 시스템은 한 단부의 항응고제 공급원(134)(예를 들어, 항응고제의 백) 및 다른 단부의 정맥-접근 디바이스(110)(또는 채혈 라인(120))에 유체로 연결된 항응고제 라인(130)을 포함한다. 항응고제 라인(130)이 통과하는 항응고제 펌프(132)는 항응고제 라인(130)을 통한 유동 및 전혈로 도입되는 항응고제의 양을 제어한다. 항응고제 펌프(132)는 적합한 양의 항응고제가 전혈에 첨가되도록 드로우 펌프(122)에 비례하여 작동한다. 항응고제는 전형적으로 정맥-접근 디바이스(110)에 가능한 한 가깝게 전혈에 도입된다. 라인/도관은 전형적으로 라인 내의 유동을 멈추게 하는 클램프 밸브(164)를 포함한다.

[0039] 원하는 양의 항응고된 전혈이 대상체로부터 배출되고, 혈액 성분 분리 디바이스(150) 내에 함유된다면, 혈액 성분 분리 디바이스가 전혈을 몇 개의 혈액 성분, 전형적으로는 혈장, 혈소판, 적혈구 및, 선택적으로 백혈구로 분리한다.

[0040] 혈액 처리 시스템(100)의 일부 양태는 이송 펌프(210), 및 혈장 백(158)에 연결된 회석/추출 라인(160)을 포함한다. 이송 펌프(210) 및 회석/추출 라인(160)은 혈액 성분 분리 디바이스로 도입되는 항응고된 채취된 혈액의 회석을 포함하는 다양한 목적을 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 사용자가 채취된 혈액이 더 높은 혈장 함량을 가지기를 희망하는 경우, 시스템은 이송 펌프를 켜고 혈장 백(158)으로부터 채혈 라인(120) 내의 채취된 혈액 내로 혈장을 도입함으로써, 상기 채취된 혈액을 희석시킬 수 있다. 추가로 또는 대안적으로, 혈장 백(158)으로부터 혈장 성분 분리 디바이스(150)로 혈장을 도입하여 혈소판(또는 다른 혈액 성분)을 추출하기 위해 서지 정화(surge elutriation)동안 이송 펌프가 사용될 수 있다.

[0041] 혈액 성분 분리 디바이스(150)에서 혈액 샘플이 분리되고, 원하는 구성요소가 제거되어 적합한 저장 컨테이너(156 또는 158)에 저장된 후, 시스템은 추출되지 않은 성분 및/또는 원하지 않는 성분을 전용 라인을 통해 상기 대상체에 다시 복귀시킨다.

[0042] 도 3은 불연속 3-라인 성분채집술 시스템과 함께 사용하기 위한 본 발명의 양태를 도시하며, 개선된 부분은 점선으로 도시되어있다. 특히, 성분채집술 혈액 처리 시스템(100)은 이송 라인(170) 및 재순환 라인(175)에 의해 유체 연결되는 유체 이송 펌프(172), 탈산소화 디바이스(173), 처리 저장소(174) 및 UV 조사 챔버(177)를 추가로 포함한다. 이송 라인(170) 및 재순환 라인(175)의 유체 유동 조절은 유체를 원하는 장치로 향하게 하기 위해 협력하여 작용하는 유동 제어 밸브(171, 176, 178 및 179)에 대한 제어에 의해 유지된다.

[0043] 혈액 분리 디바이스(150)에서 혈액 성분의 분리가 완료되면, 원하는 혈액 성분의 유동은 본 발명의 유동 제어 밸브(179)를 폐쇄하고, 및 유동 제어 밸브(171)를 개방함으로써 본 발명의 이송 라인(170)으로 지향된다. 따라서, 원하는 혈액 성분은 이송 라인(152) 및 궁극적으로는 혈장 백(158) 또는 혈소판 백(156)보다는 본 발명의 이송 펌프(172)로 지향된다. 이송 라인(170)에서의 유체의 유동은 이송 펌프(122) 또는 이송 펌프(210)로부터의 유체 유동에 의해, 또는 본 발명의 이송 펌프(172)에 의해, 또는 이들의 조합에 의해 지향될 수 있다.

- [0044] 이송 라인(170) 내의 유체의 유동은 유동 제어 밸브(171)에 의해 제어되고 이송 펌프(172)로 유입되어 도면에서 화살표로 도시된 바와 같이 탈산소화 디바이스(173) 및 처리 저장소(174)로 계속 유동한다. 탈산소화 공정 동안 유동 제어 밸브(178)는 폐쇄되고, 재순환 라인(175) 상에 배치된 유동 제어 밸브(176)는 개방될 수 있어, 그렇게 함으로써 유체가 탈산소화 디바이스(173), 처리 저장소(174) 및 재순환 라인(175)을 통해 원하는 수준의 산소가 유체내에서 달성될때까지 이송 펌프(172)에 의해 재순환된다. 일부 양태에서, 탈산소화 디바이스(173)는 당해 분야에 통상적으로 공지된 중공 다공성 섬유로 구성되어 있으며, Membrana Liqui-Cel<sup>®</sup> 및 MiniModule<sup>®</sup> 디바이스와 같은 유체 탈가스를 위해, 및 Medtronic Affinity<sup>®</sup> 시리즈 산소공급기 및 Sorin Inspire<sup>®</sup> 시리즈 산소공급기와 같은 심폐 바이패스 관류에서의 혈액 산소공급을 위해 사용된다. 일부 양태에서, 탈산소화 디바이스(173)는 중공의 다공성 섬유에 질소 가스를 제공하여 혈액으로부터 산소를 제거하기 위해 질소 가스의 공급원(도시되지 않음)에 작동가능하게 연결된다. 일부 양태에서, 탈산소화 디바이스(173)는 유체 샘플이 약 25% 이하, 및 일부 양태에서 10% 이하의 산소 수준으로 탈산소화되었을 때를 결정하기 위한 수단을 제공하기 위해 그 안에 함유된 유체의 산소 함량을 측정하는 수단(도시되지 않음)에 작동가능하게 연결된다. 일부 양태들에서, 이송 펌프는 처리되는 유체의 용적에 대해 유효한 것으로 실험적으로 나타난, 예정된 기간후에 펌프의 전원을 끄는 제어 수단에 작동가능하게 연결된다.
- [0045] 유체 샘플이 적절하게 탈산소화된 후에, 유동 제어 밸브(178)를 개방함으로써 펌프(172)에 의해 UV 조사 챔버(177)를 통해 혈액 샘플이 펌핑된다. 혈액 샘플은 적합한 UV 광원(도시하지 않음)으로부터의 UV 광에 의해 조사된다. UV 광원은 UV 조사 챔버(177) 내에 함유되고, 전원(도시되지 않음)에 작동가능하게 연결될 수 있거나, 또는 UV 광원은 예컨대 광 파이프 또는 거울(도시되지 않음)에 의해 UV 광 조사 챔버에 작동가능하게 연결될 수 있다. UV 광원은 당해 분야에 공지되어 있으며, 혈액 성분의 처리에 관련된 원하는 스펙트럼 출력 및 화학적 특성에 기초하여 선택되며, 수은 아크 램프, 크세논 램프, 플래시 램프, 중수소 램프, 할로겐 램프, 텅스텐 램프, 형광 램프, UV-방출 LED를 포함하는 그룹으로부터 선택될 수 있다.
- [0046] UV 조사 챔버 내의 유체의 유동은 바람직하게는 UV 조사 챔버(177) 내에 함유된 정적 샘플의 적시의 UV 조사에 의해, 또는 UV 조사 챔버(177)를 통해 통과하는 동적 샘플의 제어된 유동에 의해 유체내에서 UV 광의 목표 복사 노출이 달성되도록 제어되며, 및 유동 밸브(178)에 의해 제어된다. 일부 양태에서, UV 광의 복사 노출은 약 1 내지 8 J/cm<sup>2</sup> 이고, 양태에서는 약 3 J/cm<sup>2</sup>이다. 탈산소화되고 UV 조사된 혈액 성분은 다음에 수집 및 저장을 위한 이송 라인(152)으로 이송 라인(180)을 통해 유동한다. 본 발명에 따라, 병원체를 감소시키도록 처리되고 약 25% 미만의 산소 수준으로 탈산소화되면, 혈액 성분은 혈액 저장 백으로 이송된다. 일부 양태에서, 이송 라인(180)은 소말렌 광감작제와 함께 사용되고, 당해 분야에 통상적으로 공지되어있는 것과 같은 과량의 광감작제 및 광 생성물의 감소를 제공하기 위한 성분 흡수 디바이스(도시되지 않음)를 포함한다.
- [0047] 본 발명은 혈액 제제로부터 산소를 제거하여 산소 감소된 혈액 제제를 제조하는 단계, 리보플라빈을 40 내지 60 μM의 최종 농도로 첨가하는 단계, 상기 리보플라빈 함유 혈액 제제에 265 내지 400 nm의 UV 광을 조사하는 단계를 포함하는, 혈액 제제로부터 혈액 병원체를 감소시키는 단계를 포함하는, 감소된 용혈을 갖는 병원체 감소 방법을 제공하고 포함한다. 특정 양태에서, 상기 방법은 혐기성 조건하에 상기 산소 감소된 병원체 감소 혈액 제제를 저장하는 단계를 추가로 포함한다. 또한 본 명세서에는 혈액 제제로부터 산소 및 이산화탄소를 제거하여 산소 및 이산화탄소 감소된 혈액 제제를 제조하는 단계, 리보플라빈을 40 내지 60 μM의 최종 농도로 첨가하는 단계, 상기 리보플라빈 함유 혈액 제제에 265 내지 400 nm의 UV 광을 조사하는 단계를 포함하는, 혈액 제제로부터 혈액 병원체를 감소시키는 단계를 포함하는, 감소된 용혈을 갖는 병원체 감소 방법이 포함되고 제공된다. 본원에서 사용되는 "혐기성 조건"은 이산화탄소 고갈 및 이산화탄소 함유 조건을 모두 포함한다. 대부분의 양태에서, 혐기성 조건은 산소와 이산화탄소가 모두 고갈된 저장 조건을 지칭한다.
- [0048] 본 발명은 혈액 제제로부터 산소를 제거하여 산소 감소된 혈액 제제를 제조하는 단계, S-303을 대략 0.1 내지 0.5 mM의 최종 농도로 첨가하고 글루타티온(GSH)을 2 내지 20 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계를 포함하는, 혈액 제제로부터 혈액 병원체를 감소시키는 단계를 포함하는, 감소된 용혈을 갖는 병원체 감소 방법을 제공하며, 포함한다. 특정 양태에서, 감소된 용혈을 갖는 병원체 감소 방법은 혈액 병원체를 감소시키기 전에 혈액 제제로부터 산소를 제거하여 산소 감소된 혈액 제제를 제조하는 단계를 포함한다. 다른 양태에서, 감소된 용혈을 갖는 병원체 감소 방법은 혈액 병원체를 감소시킨 후에 혈액 제제로부터 산소를 제거하여 산소 감소된 혈액 제제를 제조하는 단계를 포함한다. 다른 양태에서, 감소된 용혈을 갖는 병원체 감소 방법은 혈액 병원체를 감소시킴과 동시에, 혈액 제제로부터 산소를 제거하여 산소 감소된 혈액 제제를 제조하는 단계를 포함한다. 또한 본 명세서에는 혈액 제제로부터 산소 및 이산화탄소를 제거하여 산소 및 이산화탄소 감소된 혈액 제제를 제조하는 단계,

S-303을 대략 0.2 mM의 최종 농도로 첨가하고 글루타티온(GSH)을 5 내지 20 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계를 포함하는, 혈액 제제로부터 혈액 병원체를 감소시키는 단계를 포함하는, 감소된 용혈을 갖는 병원체 감소 방법이 포함되고, 및 제공된다. 다른 양태에서, 감소된 용혈을 갖는 병원체 감소 방법은 혈액 제제로부터 산소 및 이산화탄소를 제거하여 산소 및 이산화탄소 감소된 혈액 제제를 제조하는 단계, 및 S-303을 대략 0.1 내지 0.5 mM의 최종 농도로 첨가하고 글루타티온(GSH)을 2 내지 20 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계를 포함하는, 혈액 제제로부터 혈액 병원체를 감소시키는 단계를 포함한다. 또 다른 양태에서, 감소된 용혈을 갖는 병원체 감소 방법은 혈액 제제로부터 산소 및 이산화탄소를 제거하여 산소 및 이산화탄소 감소된 혈액 제제를 제조하는 단계, 및 S-303을 대략 0.1 내지 0.4 mM의 최종 농도로 첨가하고 글루타티온(GSH)을 5 내지 20 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계를 포함하는, 혈액 제제로부터 혈액 병원체를 감소시키는 단계를 포함한다. 또 다른 양태에서, 감소된 용혈을 갖는 병원체 감소 방법은 혈액 제제로부터 산소 및 이산화탄소를 제거하여 산소 및 이산화탄소 감소된 혈액 제제를 제조하는 단계, 및 S-303을 대략 0.1 내지 0.3 mM의 최종 농도로 첨가하고 글루타티온(GSH)을 5 내지 10 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계를 포함하는, 혈액 제제로부터 혈액 병원체를 감소시키는 단계를 포함한다. 추가 양태에서, 감소된 용혈을 갖는 병원체 감소 방법은 혈액 제제로부터 산소 및 이산화탄소를 제거하여 산소 및 이산화탄소 감소된 혈액 제제를 제조하는 단계, 및 S-303을 대략 0.1 내지 0.3 mM의 최종 농도로 첨가하고 글루타티온(GSH)을 2 내지 10 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계를 포함하는, 혈액 제제로부터 혈액 병원체를 감소시키는 단계를 포함한다.

- [0049] 본원에서 사용된 바와 같이, 병원체는 바이러스, 기생충 및 박테리아를 포함한다. 또한 본원에서 사용된 바와 같이, 백혈구감소 후에 잔류하는 저수준의 백혈구는 병원체로 간주된다. 따라서, 병원체 감소 방법은 백혈구 감소 후에 남아있을 수 있는 백혈구를 추가로 감소시킬 수 있다.
- [0050] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "감소하는", "감소" 또는 "감소된"은 초기 양보다 적거나 또는 대조군 샘플에 비해 적은 최종 양을 지칭하는 것으로 의미한다. 병원체의 감소된 수준은 유사한 미처리 샘플과 비교할 때 병원체 수준이 적어도 한 자릿수만큼 감소된다는 것을 의미한다. 일반적으로 수혈 의약품의 경우, 병원체의 수준이 적어도 1.8 로그(log) 감소된다. 본원의 일 양태에서, 병원체의 수준은 적어도 3 로그 감소된다. 또 다른 양태에서, 병원체의 수준은 적어도 4 로그 감소된다. 또 다른 양태에서, 병원체의 수준은 3 내지 10 로그 감소된다. 다른 양태에서, 병원체의 수준은 적어도 7 로그 감소된다.
- [0051] 본원에 사용된 "산소 감소" 또는 "산소 포화도 감소"는 적혈구의 산소 포화도를 25% 이하로 감소시키는 것을 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, "이산화탄소 감소"는 37°C에서 측정시 이산화탄소를 90 mmHg 이하로 감소시키는 것을 지칭한다. 산소 감소된 혈액 제제는 25% 미만, 일반적으로 10% 미만의 산소 포화도를 가지며, 약 5% SO<sub>2</sub>일 수 있다. 이산화탄소 감소된 혈액 제제는 37°C에서 측정했을 때 20mmHg 이하의 이산화탄소 수준을 갖는 혈액 제제이다.
- [0052] 본 명세서에 사용된 "혈액 제제"는 전혈, 또는 적혈구, 혈소판, 혈장 및 백혈구를 포함하는 임의의 전혈 유래 성분을 포함한다.
- [0053] 본 명세서에서 사용되는 "전혈"은 백혈구(WBC), 혈장 중에 현탁된 혈소판을 포함하며, 전해질, 호르몬, 비타민, 항체 등을 포함한다. 전혈에서, 백혈구는 일반적으로 4.5 및 11.0 x 10<sup>9</sup> 세포/L의 범위로 존재하며, 해수면에서의 정상 RBC 범위는 남성의 경우 4.6 내지 6.2 x 10<sup>12</sup>/L이고 여성의 경우 4.2 내지 5.4 x 10<sup>12</sup>/L이다. 정상 적혈구용적률(hematocrit), 또는 %팩킹된 세포 용적은 남성의 경우 약 40 내지 54%, 여성의 경우 약 38 내지 47%이다. 혈소판 수는 남녀 모두 보통 150 내지 450 x 10<sup>9</sup>/L이다. 전혈은 헌혈 공여체로부터 수집되고, 및 일반적으로 항응고제와 조합한다. 수집시 전혈은 초기에는 약 37°C이며, 수집 중 및 수집 직후 약 30°C로 빠르게 냉각되지만, 약 6시간 이상 서서히 주위 온도로 냉각된다. 전혈은 30 내지 37°C에서 시작하여, 또는 실온(전형적으로 약 25°C)에서 수집시 본 발명의 방법에 따라 가공될 수 있다.
- [0054] 본 명세서에서 사용되는 "적혈구"(RBC), 저장된 적혈구, 산소 감소된 적혈구, 및 산소 및 이산화탄소 감소된 적혈구는 전혈에 존재하는 RBC, 백혈구 감소된 RBC, 혈소판 감소된 RBC, 백혈구 및 혈소판 감소된 RBC 및 팩킹된 적혈구(pRBCs)를 포함한다. 생체내 인간 적혈구는 동적인 상태에 있다. 적혈구는 신체 전체에 산소를 전달하고 적혈에 색상을 부여하는 철-함유 단백질인 헤모글로빈(hemoglobin)을 함유한다. 적혈구로 구성된 혈액량의 백분율을 적혈구용적률이라고한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 달리 한정되지 않는 한, RBC는 팩킹된 적혈구(pRBCs)를 또한 포함한다. 팩킹된 적혈구는 당해 분야에 통상적으로 공지된 원심분리 기술을 사용하여 전혈로부터 제조된다. 본원에서 사용된 바와 같이, 달리 명시되지 않는 한, pRBC의 적혈구용적률은 약 70%이다. 본원에

서 사용된 바와 같이, 산소 감소된 RBC(OR-RBC)는 산소 및 이산화탄소 감소된(OCR-) RBC(OCR-RBC)를 포함할 수 있다.

- [0055] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "백혈구감소된 전혈"(LRWB)은 일반적으로 여과 또는 원심분리에 의해 백혈구 및 혈소판을 제거하도록 처리된 항응고제를 갖는 전혈을 포함한다. 백혈구감소된 전혈은 적어도 5 로그 감소되는 백혈구의 수준을 가지고 있다.
- [0056] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "산소 감소된 백혈구감소된 전혈"(OR-LRWB)은 산소 및 이산화탄소 감소된 백혈구감소된 전혈(OCR-LRWB)을 포함할 수 있다.
- [0057] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "백혈구감소된 적혈구"(LRpRBC)는 백혈구를 제거하도록 처리된 산소 감소된(OR-) 전혈을 갖는 팩킹된 적혈구를 포함한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 산소 감소된 백혈구감소된 팩킹된 적혈구(OR-LRpRBC)는 산소 및 이산화탄소 감소된 백혈구감소된 팩킹된 적혈구(OCR-LRpRBC)를 포함할 수 있다.
- [0058] 본 발명의 양태에 따르면, 인용된 방법에 의해 감소된 바이러스는 외피보유 바이러스를 포함한다. 다른 양태에서, 본 방법은 비-외피보유 바이러스의 감소를 제공한다. 본 발명의 양태에서, 감소된 바이러스성 병원체는 하기 중 하나 이상을 포함한다: HIV-1, HIV-2, B형 간염 바이러스(HBV), C형 간염 바이러스(HCV), 인간 T 림프친 화성 바이러스 I 및 II(HTV-1 및 -II), 세포-관련 사이토메갈로바이러스(CMV), 소 바이러스성 설사 바이러스(BVDV), 오리 B형 간염 바이러스(DHBV), 가성광견병 바이러스(PRV), 웨스트 나일 바이러스, 인간 코로나 바이러스, 치쿤군야 바이러스, 인플루엔자 바이러스, 수이드 헤르페스바이러스(SuHV-1), 수포성 구내염 바이러스(VSV), 신드비스 바이러스, 단순 포진 바이러스(HSV), 엡스타인-바르 바이러스(EBV), 돼지 가성광견병 바이러스(PPRV), 가성광견병 바이러스(PRV), 또는 쉐리키 포레스트 바이러스(SLFV). 일부 양태에서, 불활성화된 바이러스는 청철 바이러스, 칼리시바이러스, 인간 아데노바이러스-5, 돼지 파보바이러스(PPV), 엔세팔로마이오카디티스 바이러스(EMCV), A형 간염 바이러스(HAV), 콕사키(Coxsackie) 바이러스 및 폴리오 바이러스를 포함하는 비-외피보유 바이러스를 포함한다. 바이러스성 기생충 감소 방법은 모든 바이러스를 포함하며, 상기 인용된 것에 제한되지 않는다는 것을 이해할 것이다. 당해 분야의 숙련가는 불활성화 방법이 다양한 병원체의 유전 물질에 관한 것이며, 산소 감소가 예를 들어 혈액 제제의 적혈구 성분의 용혈을 감소시키는 반면, 그렇지 않으면 혈액 품질을 향상시킨다는 것을 인식할 것이다.
- [0059] 본 명세서에 따른 양태에서, 본 방법은 감소된 용혈 및 기생충의 불활성화를 제공한다. 본 발명의 일부 양태에서, 불활성화된 기생충은 플라즈모디움 팔시파럼(*Plasmodium falciparum*)(말라리아), 트라이파노소마 크루지(*Trypanosoma cruzi*)(샤가스' 질환), 라이쉬마니아 멕시카나(*Leishmania mexicana*), 라이쉬마니아 메이저(*Leishmania major*), 라이쉬마니아 인판툼(*leishmania infantum*)(리슈만편모충증), 바베시아 마이크로티(*Babesia microti*), 및 바베시아 다이버겐스(*Babesia divergens*)(바베스열원충증)을 포함한다. 일부 양태에서, 불활성화된 병원성 박테리아는 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*), 클로스트리듐 페르프링겐스(*Clostridium perfringens*), 에스케리치아 콜라이(*Escherichia coli*), 엔테로박터 클로아케(*Enterobacter cloacae*), 클렙시엘라 뉴모니아에(*Klebsiella pneumoniae*), 슈도모나스 에어루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 프로피오니박테리움 아크네스(*Propionibacterium acnes*), 세라티아 마르세스센스(*Serratia marcescens*), 스태필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 스태필로코쿠스 에피더미디스(*Staphylococcus epidermidis*), 슈도모나스 플루오레스센스(*Pseudomonas fluorescens*), 리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria monocytogenes*), 연쇄상구균 파이오제네스(*Streptococcus pyogenes*), 및 아시네토박터 바우만니(*Acinetobacter baumannii*)를 포함할 수 있다.
- [0060] 본 발명의 방법은 병원체 처리 후 적혈구의 용혈을 감소시키며, 및 감소시키는 단계를 제공하고 포함한다. 산소 감소된 혈액 또는 산소 및 이산화탄소 감소된 혈액에 적용된 병원체 감소 방법은 용혈 수준을 상당히 감소시킨다. 산소 감소된 혈액 또는 산소 및 이산화탄소 감소된 혈액에 적용된 병원체 감소 방법은 극미립자 수준을 상당히 감소시킨다. 병원체 감소 방법에 추가의 산소 감소 단계를 도입하면, 저장된 혈액의 품질이 개선되어 유통기한이 개선된다. 중요하게는, 기존의 병원체 감소 방법에 혈액 산소 감소 방법을 적용시키면 상당한 개선이 초래된다. 따라서, 본 발명의 방법은 당해 분야에 공지된 병원체 감소 방법에 적용될 수 있다. 감소된 산소 병원체 불활성화와 양립가능한 병원체 제거를 위한 적합한 방법은 Wagner 등, "RBC 현탁액을 위한 병원체 저감 기술 개발" in *Vox Sanguinis*, 100:112-121 (2011), Pidcoke 등, "전혈의 1차 지혈 용량: 경시적인 병원체 감소 및 냉동 효과에 대한 포괄적 분석" *수혈에서*, 53:137-149 (2013), Henschler 등, "적혈구 농축물에 대한 S-303 병원체 불활성화 기술의 개발" *수혈의약 및 헤모요법에서*, 38:33-42 (2011), Guignard 등, "혈소판 농축물에 대

한 신규한 병원체 불활성화 기술의 임상적 및 생물학적 영향" in *Blood Reviews*, 28: 235-241 (2014), Picker 등, "혈액 매개 병원체의 감소를 위한 현재 방법: 포괄적인 문헌 검토" *수혈*에서, 11:343-348 (2014), Irsch 등, "INTERCEPT 혈액 시스템™을 사용한 수혈을 위한 혈소판 및 혈장 혈액 성분의 병원체 불활성화" *수혈 의약 및 해모요법*에서, 38:19-31 (2010), 및 King, et al의 1992년 6월 9일자 미국 특허 제5,120,659호에 논의된 방법을 포함하지만, 이에 한정되지 않는다.

[0061] 상기 방법은 용혈 수준을 0.8% 미만으로, 또는 특정 양태에서 1.0% 미만으로 유지함으로써 병원체 불활성화 후의 허용가능한 저장 시간을 연장시키는 용혈 감소를 제공한다. 일 양태에서, 혐기성 조건하에 14일간 저장한 후에 용혈은 0.2% 이하이다. 일 양태에서, 혐기성 조건하에 21일간 저장한 후에 용혈은 0.4% 이하이다. 또 다른 양태에서, 혐기성 조건하에 28일간 저장한 후에 용혈은 0.5% 이하이다. 추가의 양태에서, 혐기성 조건하에 35일간 저장한 후에 용혈은 0.8% 이하이다. 다른 양태에서, 혐기성 조건하에 42일간 저장한 후에 용혈은 0.8% 이하이다. 다른 양태에서, 혐기성 조건하에 49일간 저장한 후에 용혈은 0.8% 이하이다. 일부 양태에서, 혐기성 조건하에 35일간 저장한 후에 용혈은 1.0% 이하이다. 다른 양태에서, 혐기성 조건하에 42일간 저장한 후에 용혈은 1.0% 이하이다. 다른 양태에서, 혐기성 조건하에 49일간 저장한 후에 용혈은 1.0% 이하이다. 또 다른 양태에서, 혐기성 조건하에 14일간 저장한 후에 용혈은 0.1% 이하이다. 또 다른 양태에서, 혐기성 조건하에 14일간 저장한 후에 용혈은 0.01 내지 0.2%이다. 일 양태에서, 혐기성 조건하에 21일간 저장한 후에 용혈은 0.2 내지 0.4%이다. 일 양태에서, 혐기성 조건하에 21일간 저장한 후에 용혈은 0.05 내지 0.4%이다. 또 다른 양태에서, 혐기성 조건하에 28일간 저장한 후에 용혈은 0.6% 이하이다. 또 다른 양태에서, 혐기성 조건하에 28일간 저장한 후 용혈은 0.1 내지 0.4%이다. 또 다른 양태에서, 혐기성 조건하에 28일간 저장한 후에 용혈은 0.1 내지 0.5%이다. 또 다른 양태에서, 혐기성 조건하에 35일간 저장한 후에 용혈은 0.4% 이하이다. 또 다른 양태에서, 혐기성 조건하에 35일간 저장한 후에 용혈은 0.1 내지 0.8%이다. 또 다른 양태에서, 혐기성 조건하에 35일간 저장한 후에 용혈은 0.2 내지 1.0%이다. 또 다른 양태에서, 혐기성 조건하에 42일간 저장한 후에 용혈은 0.2 내지 0.8%이다. 또 다른 양태에서, 혐기성 조건하에 42일간 저장한 후 용혈은 0.2 내지 1.0%이다. 또 다른 양태에서, 혐기성 조건하에 49일간 저장한 후에 용혈은 0.2 내지 0.8%이다. 또 다른 양태에서, 혐기성 조건하에 49일간 저장한 후에 용혈은 0.2 내지 1.0%이다. 산소 및 이산화탄소 감소된 혈액 제제를 사용하여 병원체를 감소시키는 방법은 상기 제공된 용혈 감소를 제공한다.

[0062] 본원에 제시된 바와 같이, 본 방법은 비-산소 감소된 적혈구와 비교할 때 병원체로 처리된 산소 감소된 적혈구에서의 용혈 수준을 감소시킨다. 일 양태에서, 산소 감소된 조건 하에서의 병원체 감소는 비-산소 감소된 제제에서 병원체 감소에서 관측된 용혈 수준의 약 30%를 초래한다. 일 양태에서, 혐기성 저장 21일 후에 적어도 약 30%의 감소가 관측된다. 일 양태에서, 혐기성 저장 35일에 용혈의 약 30% 감소가 관측된다. 추가의 양태에서, 혐기성 저장 42일에 약 30% 감소가 관측된다.

[0063] 본원에 제시된 바와 같이, 본 방법은 비-산소 감소된 백혈구감소된 전혈(LRWB)과 비교할 때 병원체 처리된 산소 감소된 백혈구감소된 전혈(OR-LRWB)에서의 용혈 수준을 감소시킨다. 일 양태에서, 산소 감소된 조건 하에서의 병원체 감소는 비-산소 감소된 제제에서 병원체 감소에서 관측된 용혈 수준의 약 30%를 초래한다. 일 양태에서, 혐기성 저장 21일 후에 적어도 약 30%의 감소가 관측된다. 일 양태에서, 혐기성 저장 35일에 용혈의 약 30% 감소가 관측된다. 추가의 양태에서, 혐기성 저장 42일에 약 30% 감소가 관측된다.

[0064] 일부 양태에서, 종래의 병원체 감소 방법과 비교할 때 용혈의 감소는 적어도 20%이다. 일 양태에서, 혐기성 저장 21일 후에 적어도 20% 감소가 관측된다. 일 양태에서, 혐기성 저장 35일에 용혈의 적어도 20% 감소가 관측된다. 추가의 양태에서, 혐기성 저장 42일에 적어도 20% 감소가 관측된다. 일부 양태에서, 종래의 병원체 감소 방법과 비교할 때의 용혈 감소는 적어도 25%이다. 일 양태에서, 혐기성 저장 21일 후에 적어도 25% 감소가 관측된다. 다른 양태에서, 혐기성 저장 35일 후에 적어도 25% 감소가 관측된다. 추가의 양태에서, 혐기성 저장 42일 후에 적어도 25% 감소가 관측된다. 일부 양태에서, 종래의 병원체 감소 방법과 비교할 때 용혈의 감소는 적어도 35%이다. 일 양태에서, 혐기성 저장 21일 후에 적어도 35% 감소가 관측된다. 또 다른 양태에서, 혐기성 저장 35일 후에 적어도 35% 감소가 관측된다. 추가의 양태에서, 혐기성 저장 42일 후에 적어도 35% 감소가 관측된다. 일부 양태에서, 종래의 병원체 감소 방법과 비교할 때의 용혈 감소는 적어도 40%이다. 일 양태에서, 혐기성 저장 21일 후에 적어도 40% 감소가 관측된다. 또 다른 양태에서, 혐기성 저장 35일 후에 적어도 40% 감소가 관측된다. 추가의 양태에서, 혐기성 저장 42일 후에 적어도 40% 감소가 관측된다.

[0065] 일부 양태에서, 종래의 병원체 감소 방법과 비교할 때의 용혈 감소는 적어도 45%이다. 일 양태에서, 혐기성 저장 21일 후에 적어도 45% 감소가 관측된다. 또 다른 양태에서, 혐기성 저장 35일 후에 적어도 45% 감소가 관측

된다. 추가의 양태에서, 혐기성 저장 42일 후에 적어도 45% 감소가 관측된다. 일부 양태에서, 종래의 병원체 감소 방법과 비교할 때의 용혈 감소는 적어도 50%이다. 일 양태에서, 혐기성 저장 21일 후에 적어도 50% 감소가 관측된다. 또 다른 양태에서, 혐기성 저장 35일 후에 적어도 50% 감소가 관측된다. 추가의 양태에서, 혐기성 저장 42일 후에 적어도 50% 감소가 관측된다.

[0066] 본원에 제시된 바와 같이, 상기 방법은 비-산소 감소된 적혈구와 비교할 때 병원체 처리된 산소 및 이산화탄소 감소된 적혈구의 용혈 수준을 감소시킨다. 일 양태에서, 산소 및 이산화탄소 감소된 조건 하에서의 병원체 감소는 비-산소 및 이산화탄소 감소된 제제내 병원체 감소에서 관측된 용혈 수준의 약 30%를 초래한다. 일 양태에서, 혐기성 저장 21일 후에 적어도 약 30% 감소가 관측된다. 일 양태에서, 혐기성 저장 35일에 용혈의 약 30% 감소가 관측된다. 추가의 양태에서, 혐기성 저장 42일에 약 30% 감소가 관측된다.

[0067] 본원에서 제공된 바와 같이, 상기 방법은 비-산소 감소된 백혈구감소된 전혈(LRWB)과 비교할 때 병원체 처리된 산소 및 이산화탄소 감소된 백혈구감소된 전혈(OR-LRWB)에서의 용혈 수준을 감소시킨다. 일 양태에서, 산소 및 이산화탄소 감소된 조건 하에서의 병원체 감소는 비-산소 감소된 제제에서 병원체 감소에서 관측된 용혈 수준의 약 30%를 초래한다. 일 양태에서, 혐기성 저장 21일 후에 적어도 약 30% 감소가 관측된다. 일 양태에서, 혐기성 저장 35일에 용혈의 약 30% 감소가 관측된다. 추가의 양태에서, 혐기성 저장 42일에 약 30% 감소가 관측된다.

[0068] 일부 양태에서, 종래의 병원체 감소 방법과 비교할 때, 산소 및 이산화탄소가 감소된 혈액 제제에서의 용혈의 감소는 적어도 20%이다. 일 양태에서, 혐기성 저장 21일 후에 적어도 20% 감소가 관측된다. 일 양태에서, 혐기성 저장 35일에 용혈의 적어도 20% 감소가 관측된다. 추가의 양태에서, 혐기성 저장 42일에 적어도 20% 감소가 관측된다. 일부 양태에서, 종래의 병원체 감소 방법과 비교할 때의 용혈 감소는 적어도 25%이다. 일 양태에서, 혐기성 저장 21일 후에 적어도 25% 감소가 관측된다. 다른 양태에서, 혐기성 저장 35일 후에 적어도 25% 감소가 관측된다. 추가의 양태에서, 혐기성 저장 42일 후에 적어도 25% 감소가 관측된다. 일부 양태에서, 종래의 병원체 감소 방법과 비교할 때 용혈의 감소는 적어도 35%이다. 일 양태에서, 혐기성 저장 21일 후에 적어도 35% 감소가 관측된다. 또 다른 양태에서, 혐기성 저장 35일 후에 적어도 35% 감소가 관측된다. 추가의 양태에서, 혐기성 저장 42일 후에 적어도 35% 감소가 관측된다. 일부 양태에서, 종래의 병원체 감소 방법과 비교할 때의 용혈 감소는 적어도 40%이다. 일 양태에서, 혐기성 저장 21일 후에 적어도 40% 감소가 관측된다. 또 다른 양태에서, 혐기성 저장 35일 후에 적어도 40% 감소가 관측된다. 추가의 양태에서, 혐기성 저장 42일 후에 적어도 40% 감소가 관측된다.

[0069] 일부 양태에서, 종래의 병원체 감소 방법과 비교할 때, 산소 및 이산화탄소 감소된 혈액 제제에서의 용혈의 감소는 적어도 45%이다. 일 양태에서, 혐기성 저장 21일 후에 적어도 45% 감소가 관측된다. 또 다른 양태에서, 혐기성 저장 35일 후에 적어도 45% 감소가 관측된다. 추가의 양태에서, 혐기성 저장 42일 후에 적어도 45% 감소가 관측된다. 일부 양태에서, 종래의 병원체 감소 방법과 비교할 때의 용혈 감소는 적어도 50%이다. 일 양태에서, 혐기성 저장 21일 후에 적어도 50% 감소가 관측된다. 또 다른 양태에서, 혐기성 저장 35일 후에 적어도 50% 감소가 관측된다. 추가의 양태에서, 혐기성 저장 42일 후에 적어도 50% 감소가 관측된다.

[0070] 감소된 용혈에 의해 나타난 적혈구의 개선된 건강으로 인해, 병원체 불활성화 전에 혈액 내의 산소 수준을 감소 시킴으로써 병원체 감소된 혈액 제제의 안전한 저장 기간(예를 들어, 유통 기한)은 연장될 수 있다. 이론에 의해 제한되지 않고, 저장된 혈액 제제의 안전성과 유용성이 수많은 측정가능한 파라미터에 반영되어 있다고 생각된다. 파라미터 중에는 용혈의 전반적인 수준과 극미립자의 수준이 있다. 따라서, 본 발명의 방법을 사용하여 관측된 감소된 용혈 및 감소된 극미립자 형성은 무특성구명된 또는 미공지된 적혈액 생리학의 근본적인 개선을 반영할 수 있다.

[0071] 병원체 치료 전에 혈액 내의 산소를 감소시킴으로써 제공되는 적혈구의 개선된 초기 건강으로 인해, 본 명세서는 병원체 감소된 혈액 제제의 안전한 저장 기간(예를 들어, 유통 기한)을 연장하는 것을 제공하고 포함한다. 본 명세서에 제공된 바와 같이, 병원체 감소된 혈액 제제의 유통 기한은 일주일 이상 증가될 수 있다. 일 양태에서 유통 기한은 2주 정도 연장될 수 있다. 다른 양태에서, 유통 기한은 3주 증가될 수 있으며, 여기서 혈액은 용혈 수준을 0.8% 이하로 유지한다.

[0072] 상기에서 제공된 바와 같이, 다양한 병원체 감소 방법은 하나 이상의 광 파장의 조사에 앞서 혈액 제제에 첨가되는 하나 이상의 광감작제를 제공한다. 표 1은 수많은 적합한 광감작제를 나타낸다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 광감작제는 반응성 생성물뿐만 아니라 자체반응성인 광감작제(예를 들어, 소랄렌 관련된 광감작제)를 생성하는 것들을 포함한다.

표 1 : 병원제 감소 광감작제 및 방법

저자	혈액 성분	X-레이	X-레이 농도 (μM)	방사선 노출	인용	2 차 인용
Pidgeoke	WB	리보플라빈	50	80 J/m <sup>2</sup> @ 265-400nm; 6.2 J/cm <sup>2</sup> @ 265-400nm	수월 2013, Vol. 53, Supplement pp. 139S-149S	n/a
hsch	PLT, 혈장	아모토살렌	150	3 J/cm <sup>2</sup> UV-A	Transfus Med Hemother 2011;38:19-31 DOI: 10.1159/000323937	Lin L, Dikeman R, Molini B, Lakshart SA, Lane R, Dupuis K, Metzger P, Corash L. 아모토살렌 및 UVA 에 의한 혈소판 농축물의 광화학적 처리는 파도-제닉 박테리아의 광범위 스펙트럼을 분할성화한다. 수월 2004;44:1496-1504.
Picker	PLT	n/a	n/a	0.2 J/cm <sup>2</sup> UV-C	혈액 Transfus 2013; 11: 343-8 DOI 10.2450/2013.02.18-12	Selsam A, Müller TH. 혈소판 농축물 및 혈장의 병원제 감소를 위한 UV-C 조사. Transfus Med Hemother 2011; 38:43-54.
Picker	혈장	메틸렌 블루	1	1.0 J/cm <sup>2</sup> UV-C followed by 180 J/cm <sup>2</sup> @ 590 nm	혈액 Transfus 2013; 11: 343-8 DOI 10.2450/2013.02.18-12	Sandler SG. 병원제-감소된 혈장의 상태. Transfus Apher Sci 2010; 43: 393-9.
Wagner	RBC	하이페리신	10	19.8 J/cm <sup>2</sup> @ 590 nm	Vox Sanguinis (2011) 100, 112-121	Prince AM, Pascual D, Meruelo D. et al.: 하이페리신을 사용한 RBC 농축물내 외피보유 바이리우스 분할성화의 평가를 위한 전략. Photochem Photobiol 2009; 71:188-195
Wagner	RBC	하이페리신	2	15 J/cm <sup>2</sup> Fluor. light	Vox Sanguinis (2011) 100, 112-121	..
Wagner	RBC	알루미늄 프로탈로시아닌	25	44 J/cm <sup>2</sup> Red light	Vox Sanguinis (2011) 100, 112-121	Howowitz B, Williams B, Rywkin S. et al.: 알루미늄 프로탈로시아닌 유도체에 의한 혈액내 바이리우스의 분할성화. 수월 1991; 31:102-108
Wagner	RBC	실리코 프탈로시아닌	2	45 J/cm <sup>2</sup> Red light	Vox Sanguinis (2011) 100, 112-121	Ber-Hur E, Rywkin S, Rosenthal I. et al.: 프탈로시아닌에 의한 감염화에 의해 RBC 농축물내 바이리우스 분할성화: 비타민 E 의

[0073]

수용성 유사체에 의한 소포성 구내염 바이러스로부터의 RBC 보호, 수월 1995; 35:401-406										
B en-Hur E, Chan WS, Yim Z, <i>et al.</i> .; 실리콘 프탈로시아닌 PC4 및 적광에 의한 적혈구 농축물의 광화학적 탈오염, Dev Biol (Base) 2000; 102:149-156	Vox Sanguinis (2011) 100, 112-121	15 J/cm <sup>2</sup> @ 670 nm	5	실리콘 프탈로시아닌	RBC	Wagner				
Wagner SJ, Story JR, Mallory DA, <i>et al.</i> .; 살마이리스성 메틸렌블루 광처리과 관련된 RBC 막 변경, 수월 1992; 33:30-36	Vox Sanguinis (2011) 100, 112-121	3.2 J/cm <sup>2</sup> Fluor. light	5	페노티아진 MB 염료	RBC	Wagner				
Wagner SJ, Skripchenko A, Robinette D, <i>et al.</i> .; 디메틸렌블루에 의한 살마이리스성 광처리후 RBC 특성의 보존, 수월 1998; 38:729-737	Vox Sanguinis (2011) 100, 112-121	13.5 J/cm <sup>2</sup> Fluor. light	4	페노티아진 DMMB 염료	RBC	Wagner				
Wagner S, Skripchenko A, Thompson-Montgomery D; 2 개의 RBC 첨가제 영역에서 살마이리스성 디메트-일메틸렌 블루 광처리를 조사하기 위한 유통-세포 시스템의 용도, 수월 2002; 42:1200-1205	Vox Sanguinis (2011) 100, 112-121	0.187 J/cm <sup>2</sup> @ 670 nm	6	페노티아진 DMMB 염료	RBC	Wagner				
Skripchenko A, Balch A, Mackin A, <i>et al.</i> .; 개 모델을 사용하여 티오퍼릴륨 및 적광에 의한 광동적 처리후 RBC의 생체내 회수 및 생존, Vox Sang 2007; 92:157-159	Vox Sanguinis (2011) 100, 112-121	1.1 J/cm <sup>2</sup> Red light	160	티오퍼릴륨	RBC	Wagner				
Skripchenko A, Wagner SJ, Thompson-Montgomery D, <i>et al.</i> .; 가요성 구조를 갖는 DNA-결합 광감작제인 티아졸 오렌지는 RBC 저장 특성을 유지하면서 적혈구 현탁액 내 병원체를 불활성화시킬 수 있다, 수월 2006; 46:213-219	Vox Sanguinis (2011) 100, 112-121	1.1 J/cm <sup>2</sup> Fluor. light	80	티아졸 오렌지	RBC	Wagner				
Stassinopoulos A, Mababangloob RS, Dupuis KW, <i>et al.</i> .; HELINX에 의해 처리된 백혈구감소된 PRBC 내 박테리아 불활성화, 수월 2000; 40(Suppl):388 (abstract S139-0401)	Transfus Med Hemother 2011;38:33-42	n/a	200	S-303	RBC	Henschler				

[0074]

[0075]

본 명세서에 따른 양태에서, 병원체 감소 방법은 하나 이상의 광감작제를 포함할 수 있다. 일 양태에서, 광감작제는 리보플라빈이다. 본 발명의 일 양태에서, 리보플라빈의 최종 농도는 40 내지 60 μM이다. 또 다른 양태에서, 리보플라빈의 최종 농도는 적어도 40 μM이다. 또 다른 양태에서, 리보플라빈의 최종 농도는 최대 60 μM이다. 또 다른 양태에서, 리보플라빈의 최종 농도는 40 내지 55 μM이다. 다른 양태에서, 리보플라빈의 최종 농도는 45 내지 55 μM이다. 추가의 양태에서, 리보플라빈의 최종 농도는 50 내지 60 μM이다. 일 양태에서, 리보플라빈의 최종 농도는 50 μM이다.

[0076]

본 발명은 병원체 수준을 감소시키기 위해 광감작제가 첨가된 산소 감소된 혈액 체제를 조사하는 단계를 제공하고 포함한다. 본원에서 사용된 용어 "조사"는 가시 광선 및 자외선 파장 모두를 사용하여 혈액을 조명하는 것을 지칭한다.

[0077]

본 발명의 일 양태에서, 리보플라빈을 갖는 산소 감소된 혈액 체제는 265 내지 400nm에서 조사된다. 또 다른 양태에서, 혈액 체제는 300 내지 400nm에서 조사된다. 또 다른 양태에서, 혈액 체제는 265 내지 350nm에서 조사된

다. 산소 감소된 혈액 제제의 조사에 적합한 파장은 예를 들어 표 1에 제공된 바와 같이 광감작제에 기초하여 결정된다. 본 명세서에서 제공되는 바와 같이, 산소 수준의 감소는 병원체 감소 과정으로부터 정상적으로 초래되고 및 병원체 불활성화된 혈액 제제내 적혈구의 건강 증진을 반영하는, 용혈 감소 및 극미립자 형성의 감소를 초래한다.

[0078] 본 명세서는 리보플라빈을 갖는 산소 감소된 혈액 제제에 3.2 내지 7.0 J/cm<sup>2</sup>의 UV 복사 노출 f를 조사하는 단계를 제공하고 포함한다. 또 다른 양태에서, 리보플라빈을 함유하는 산소 감소된 전혈은 5 내지 7.0 J/cm<sup>2</sup>의 UV 복사 노출로 조사된다. 또 다른 양태에서, 리보플라빈을 함유하는 산소 감소된 전혈은 5 내지 6.0 J/cm<sup>2</sup>의 UV 복사 노출로 조사된다. 또 다른 양태에서, 리보플라빈을 함유하는 산소 감소된 전혈은 4 내지 7.0 J/cm<sup>2</sup>의 UV 복사 노출로 조사된다. 또 다른 양태에서, 리보플라빈을 함유하는 산소 감소된 전혈은 적어도 3.2 J/cm<sup>2</sup>의 UV 복사 노출로 조사된다. 또 다른 양태에서, 리보플라빈을 함유하는 산소 감소된 전혈은 적어도 5 J/cm<sup>2</sup>의 UV 복사 노출로 조사된다. 추가의 양태에서, 리보플라빈을 함유하는 산소 감소된 전혈은 최대 7.0J/cm<sup>2</sup>의 UV 복사 노출로 조사된다.

[0079] 본 발명은 최대 100 J/mL의 총 투약량을 제공하고 포함한다. 일 양태에서, 투약량은 10 내지 100 J/mL이다. 또 다른 양태에서, 투약량은 50 내지 100 J/mL이다. 또 다른 양태에서, 투약량은 50 내지 80 J/mL이다. 다른 양태에서, 투약량은 150 J/mL 미만이다. 일 양태에서, 투약량은 적어도 25 J/mL이다. 다른 적합한 투약량이 결정될 수 있다.

[0080] 본 명세서는 저장된 혈액 내의 극미립자 수준을 감소시키는 병원체 불활성화 방법을 제공하고, 이를 포함한다. 본 명세서에 따른 양태에서, 상기 방법은 산소 감소된 혈액 제제를 얻는 단계, 광감작제를 첨가하는 단계, 및 산소 감소된 혈액 제제를 함유하는 상기 광감작제를 조사하는 단계를 포함한다. 특정 양태에서, 상기 방법은 저장 기간 동안 산소 감소된 혈액 제제를 함유하는 조사된 광감작제를 저장하는 단계를 추가로 포함한다. 다른 양태에서, 산소 감소된 혈액 제제를 함유하는 조사된 광감작제는 저장 기간 동안 혐기성 조건하에 저장된다.

[0081] 본 명세서에서 제공되는 바와 같이, 저장 기간은 호기성 또는 혐기성 조건하에 최대 9주일 수 있으며, 극미립자 형성을 감소시킨다. 일 양태에서, 호기성 또는 혐기성 조건 하에서의 저장 기간은 2주이다. 또 다른 양태에서, 호기성 또는 혐기성 조건 하에서의 저장 기간은 3주이다. 추가의 양태에서, 호기성 또는 혐기성 조건 하에서의 저장 기간은 3주이다. 본 방법은 4주간의 호기성 또는 혐기성 조건하에서의 저장 기간을 추가로 제공한다. 다른 양태에서, 병원체 불활성화 이후의 저장 기간은 5주일 수 있다. 또 다른 양태에서, 호기성 또는 혐기성 저장 기간은 6주이다. 추가의 양태에서, 호기성 또는 혐기성 저장 기간은 6주이다. 현저히, 저장 기간이 연장될 때, 혈구 품질에 있어서의 관측된 개선이 증가한다. 이론에 의해 제한되지 않고, 극미립자 형성의 감소는 즉각적인 개선된 적혈구 품질의 결과라고 생각된다. 즉, 저장 전에 적혈구 품질이 개선되고 극미립자 형성 감소가 그 개선의 증거가 된다. 적혈구의 다른 무특성규명된 변화가 관측된 극미립자 감소의 밑바탕이 될 수 있다고 믿어진다.

[0082] 본 명세서에 따른 양태에서, 극미립자 형성을 감소시키는 병원체 감소 방법은 하나 이상의 광감작제를 포함할 수 있다. 일 양태에서, 광감작제는 리보플라빈이다. 본원의 일 양태에서, 리보플라빈의 최종 농도는 40 내지 60 μM이다. 또 다른 양태에서, 리보플라빈의 최종 농도는 적어도 40 μM이다. 또 다른 양태에서, 리보플라빈의 최종 농도는 최대 60 μM이다. 또 다른 양태에서, 리보플라빈의 최종 농도는 40 내지 55 μM이다. 또 다른 양태에서, 리보플라빈의 최종 농도는 45 내지 55 μM이다. 추가의 양태에서, 리보플라빈의 최종 농도는 50 내지 60 μM이다. 일 양태에서, 리보플라빈의 최종 농도는 50 μM이다.

[0083] 본 발명은 병원체 수준을 감소시키고 극미립자 형성을 감소시키기 위해 광감작제가 첨가된 산소 감소된 혈액 제제를 조사하는 단계를 제공하고, 포함한다. 본원에서 사용된 용어 "조사"는 가시광선 및 자외선 파장 모두를 사용하여 혈액을 조명하는 것을 지칭한다.

[0084] 본 발명의 일 양태에서, 리보플라빈을 갖는 산소 감소된 혈액 제제는 265 내지 400nm에서 조사되어 극미립자 형성을 감소시킨다. 또 다른 양태에서, 혈액 제제는 300 내지 400 nm에서 조사된다. 또 다른 양태에서, 혈액 제제는 265 내지 350 nm에서 조사된다. 산소 감소된 혈액 제제의 조사에 적합한 파장은 예를 들어 표 1에 제공된 바와 같이 광감작제에 기초하여 결정된다. 본 명세서에서 제공된 바와 같이, 산소 수준의 감소는 병원체 감소 과정으로부터 정상적으로 초래되고 및 병원체 불활성화된 혈액 제제내 적혈구의 건강 증진을 반영하는, 극미립자 형성의 감소를 초래한다.

- [0085] 극미립자 형성의 감소는 당해 분야에 공지된 방법에 의해 측정될 수 있다. 극미립자 형성을 위한 적합한 방법은 Schubert 등(Schubert, 등, "리보플라빈 및 UV 광으로 처리한 전혈: 버피 코트 방법으로 생성된 모든 혈액 성분의 품질 평가", 수혈 55(4): 815-823(2015)). 극미립자 수의 절대 값이 결정될 수 있지만, 일반적으로 극미립자의 감소는 대조군 샘플에 대해 결정된다. 본 명세서에서, 대조군은 비-산소 감소된 혈액 제제를 포함한다. 절대 값은 일련의 표준을 제조함으로써 결정될 수 있다.
- [0086] 본 발명의 방법은 저장된 혈액내 극미립자 형성의 감소를 제공한다. 일부 양태에서, 저장된 혈액은 혐기성 조건하에 저장되고, 따라서 병원체 불활성화 과정을 위해 얻어진 산소 감소된 상태를 유지한다. 다른 양태에서, 저장된 혈액은 종래의 저장 조건하에 유지된다. 종래의 저장 조건은 산소의 침투를 경시적으로 허용하고 예를 들어 ATP 및 2,3-DPG로의 개선을 감소시키지만, 종래의 저장은 비용을 감소시키고, 현존하는 혈액 은행 설비에 대한 혼란을 감소시킬 수 있다. 그러나 대부분의 양태에서 이산화탄소가 있건 없건 혐기성 조건에서 저장이 일어날 것으로 예상된다.
- [0087] 본원에 제시된 바와 같이, 병원체 불활성화 방법을 완료하기 전에 산소를 25% SO<sub>2</sub> 이하로 감소시킴으로써 극미립자 형성이 감소된다. 일 양태에서, 극미립자는 2일 후에 동등하게 처리된 호기성 샘플과 비교하여 산소 감소된 샘플에서 약 2배 감소된다. 상기 방법은 또한 1주일 후 극미립자의 적어도 2배 감소를 제공한다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 2주 저장 후에 5배 이상 감소된다. 일 양태에서, 극미립자는 3주 저장 후에 9배 감소된다. 추가의 양태에서, 극미립자의 수는 6주 저장 후에 9배 감소된다. 본 발명의 방법은 혐기성 조건하에 9주 저장한 후에 극미립자 형성의 적어도 2배 감소를 제공한다. 다른 양태에서, 본 방법은 호기성 조건 하에서 9주 저장 후 극미립자 형성의 적어도 2배 감소를 제공한다.
- [0088] 또한, 산소 존재하에 수행되는 병원체 감소 방법과 비교할 때 극미립자 형성의 적어도 3배 감소가 본 방법에 의해 제공된다. 2 내지 6주에서 측정될 때 극미립자 수준은 유사하게 처리된 산소 함유 샘플에 비해 적어도 3배 정도 남아 있다. 다른 양태에서, 감소된 극미립자 형성은 2주간의 저장 후에 적어도 5배 감소시킨다.
- [0089] 본 발명의 양태에서, 극미립자 형성 수준은 비-병원체 처리된 샘플의 수준으로 감소된다. 따라서, 본 발명의 방법을 사용하여, 병원체 불활성화에 기인한 극미립자 형성의 증가가 역전된다.
- [0090] 본 명세서는 연장된 유통 기한을 갖는 개선된 혈액 조성물을 제공하고 포함한다. 일 양태에서, 본 발명은 시트레이트 포스페이트 텍스트로스(CPD)에서 수집된 전혈을 포함하고, 40 내지 60 μM의 리보플라빈을 가지며, 1 내지 25%의 산소 포화도(SO<sub>2</sub>)를 갖고, 37°C에서 90mmHg 이하의 pCO<sub>2</sub>를 갖는, 상기 산소 감소된 전혈을 제공하고, 포함하며, 여기서 상기 산소 감소된 전혈은 265 내지 400 nm의 UV 광으로 조사된다.
- [0091] 본 명세서에 따른 양태들에서, 25% 미만의 산소 포화도(SO<sub>2</sub>)를 갖는 전혈을 포함하는 산소 감소된 전혈은 20% 미만의 SO<sub>2</sub>를 가질 수 있다. 다른 양태에서, 리보플라빈 함유 병원체 감소된 혈액은 15% 미만의 SO<sub>2</sub>를 가질 수 있다. 일 양태에서, 산소 감소된 혈액 제제를 함유하는 리보플라빈 중의 SO<sub>2</sub> 수준은 10% 미만의 SO<sub>2</sub>를 가질 수 있다. 특정 양태에서, 리보플라빈 함유 병원체 감소된 혈액은 5%의 SO<sub>2</sub>를 가질 수 있다. 본 명세서는 5 내지 20%의 SO<sub>2</sub>를 갖는 산소 감소된 전혈을 추가로 제공한다. 또 다른 양태에서, SO<sub>2</sub>는 5 내지 25%일 수 있다. 또 다른 양태에서, SO<sub>2</sub>는 5 내지 15%일 수 있다. 추가의 양태에서, SO<sub>2</sub>는 5 내지 10%로 감소된다.
- [0092] 본 명세서에 따른 양태들에서, 리보플라빈을 함유하는 산소 감소된 전혈은 3.2 내지 7.0 J/cm<sup>2</sup>의 UV 투약량으로 조사된다. 또 다른 양태에서, 리보플라빈을 함유하는 산소 감소된 전혈은 5 내지 7.0 J/cm<sup>2</sup>의 UV 투약량으로 조사된다. 다른 양태에서, 리보플라빈을 함유하는 산소 감소된 전혈은 5 내지 6.0 J/cm<sup>2</sup>의 UV 투약량으로 조사된다. 또 다른 양태에서, 리보플라빈을 함유하는 산소 감소된 전혈은 4 내지 7.0 J/cm<sup>2</sup>의 UV 투약량으로 조사된다. 또 다른 양태에서, 리보플라빈을 함유하는 산소 감소된 전혈은 적어도 3.2 J/cm<sup>2</sup>의 UV 투약량으로 조사된다. 또 다른 양태에서, 리보플라빈을 함유하는 산소 감소된 전혈은 적어도 5 J/cm<sup>2</sup>의 UV 투약량으로 조사된다. 추가의 양태에서, 리보플라빈을 함유하는 산소 감소된 전혈은 최대 7.0 J/cm<sup>2</sup>의 UV 투약량으로 조사된다.
- [0093] 본 명세서는 연장된 유통 기한을 갖는 개선된 혈액 조성물을 제공하고 포함한다. 일 양태에서, 본 발명은 40 내지 60 μM 리보플라빈을 갖고, 1 내지 25%의 산소 포화도(SO<sub>2</sub>)를 갖고, 및 37°C에서 20 mmHg 이하의 pCO<sub>2</sub>를 갖는, 시트레이트 포스페이트 텍스트로스(CPD)에서 수집된 전혈을 포함하는 산소 및 이산화탄소 감소된 전혈을 제공하고 포함하며, 여기서 상기 산소 감소된 전혈은 265 내지 400 nm의 UV 광으로 조사되었다. 또 다른 양태에서, 40 내지 60 μM의 리보플라빈을 갖고, 1 내지 25%의 산소 포화도(SO<sub>2</sub>)를 갖고, 및 37°C에서 20 내지

40 mmHg의 pCO<sub>2</sub>를 갖는, 시트레이트 포스페이트 텍스트로스(CPD)에서 수집된 전혈을 포함하는 산소 및 이산화탄소 감소된 전혈을 제공하고 포함하며, 여기서 상기 산소 감소된 전혈은 265 내지 400 nm의 UV 광으로 조사되었다. 또 다른 양태에서, 40 내지 60 μM의 리보플라빈을 갖고, 1 내지 25%의 산소 포화도(SO<sub>2</sub>)를 갖고, 및 37°C에서 40 내지 70 mmHg의 pCO<sub>2</sub>를 갖는, 시트레이트 포스페이트 텍스트로스(CPD)에서 수집된 전혈을 포함하는 산소 및 이산화탄소 감소된 전혈을 제공하고 포함하며, 여기서 상기 산소 감소된 전혈은 265 내지 400 nm의 UV 광으로 조사되었다. 또 다른 양태에서, 40 내지 60 μM의 리보플라빈을 갖고, 1 내지 25%의 산소 포화도(SO<sub>2</sub>)를 갖고, 및 37°C에서 10 내지 20 mmHg의 pCO<sub>2</sub>를 갖는, 시트레이트 포스페이트 텍스트로스(CPD)에서 수집된 전혈을 포함하는 산소 및 이산화탄소 감소된 전혈을 제공하고 포함하며, 여기서 상기 산소 감소된 전혈은 265 내지 400 nm의 UV 광으로 조사되었다. 또 다른 양태에서, 40 내지 60 μM의 리보플라빈을 갖고, 1 내지 25%의 산소 포화도(SO<sub>2</sub>)를 갖고, 및 37°C에서 15 mmHg 미만의 pCO<sub>2</sub>를 갖는, 시트레이트 포스페이트 텍스트로스(CPD)에서 수집된 전혈을 포함하는 산소 및 이산화탄소 감소된 전혈을 제공하고 포함하며, 여기서 상기 산소 감소된 전혈은 265 내지 400 nm의 UV 광으로 조사되었다.

[0094] 본 발명의 방법은 산소 존재하에 수행되는 병원체 감소 방법과 비교할 때, 저장된 혈액내, 전혈구 계산치(CBC), 잔존 병원체의 농도, 용혈률, ATP, 2,3-DPG, 변형성, 극미립자 형성, 세포막 표면에 대한 포스포티딜세린 노출, % SO<sub>2</sub> 및 S-303의 분해 반응속도 및 이들의 조합을 포함하는 그룹으로부터 선택된 파라미터의 개선을 제공하고 포함한다. 일부 양태에서, 저장된 혈액은 혐기성 조건하에 저장되고, 따라서 병원체 불활성과 과정을 위해 수득된 산소 감소된 상태를 유지한다. 다른 양태에서, 저장된 혈액은 종래의 저장 조건하에 유지된다. 종래의 저장 조건은 산소의 진입을 경시적으로 허용하고, 예를 들어 ATP 및 2,3-DPG의 개선을 감소시키지만, 종래의 저장은 비용을 감소시키고 현존하는 혈액 은행 설비에 대한 파괴를 감소시킬 수 있다. 그러나 대부분의 양태에서 이산화탄소가 있건 없건 혐기성 조건하에 저장이 일어날 것으로 예상된다.

[0095] 본 발명의 방법은 혈액 제제로부터 산소를 제거하는 단계, S-303을 0.2 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계, 및 GSH를 2 내지 20 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계를 포함하는, 혈액 제제의 용혈 감소를 제공한다. 또 다른 양태에서, 용혈의 감소는 혈액 제제로부터 산소를 제거하는 단계, S-303을 0.2 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계, 및 GSH를 5 내지 10 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계를 포함한다. 다른 양태에서, 용혈의 감소는 혈액 제제로부터 산소 및 이산화탄소를 제거하는 단계, S-303을 0.2 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계, 및 GSH를 2 내지 20 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계를 포함한다. 추가의 양태에서, 용혈의 감소는 혈액 제제로부터 산소를 제거하는 단계, S-303을 0.2 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계, GSH를 2 내지 20 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계, 및 혐기성 조건하에 저장하는 단계를 포함한다. 또 다른 양태에서, 혈액 제제의 용혈의 감소는 첨가제 용액을 혈액 제제와 혼합하는 단계, 혈액 제제로부터 산소를 제거하는 단계, S-303을 0.2 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계, GSH를 2 내지 20 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계, 및 혐기성 조건하에 저장하는 단계를 포함한다. 본 발명의 방법은 또한 용혈 수준을 1.0% 이하로 유지함으로써 S-303 병원체 불활성화된, 및 산소 감소된 혈액 제제에서의 용혈 감소를 제공한다. 일 양태에서, 용혈은 0.8% 미만이다. 또 다른 양태에서, 용혈은 0.2% 이하이다. 또 다른 양태에서, 용혈은 0.4% 이하이다. 또 다른 양태에서, 용혈은 0.6% 이하이다. 또 다른 양태에서, 용혈은 0.01 내지 0.2%이다. 특정 양태에서, 용혈은 0.2 내지 0.8%이다. 다른 양태에서, 용혈은 0.2 내지 0.6%이다. 다른 양태에서, 용혈은 0.5 내지 1.0%이다.

[0096] 혈액 제제로부터 산소를 제거하는 단계, S-303을 0.2 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계, 및 GSH를 2 내지 20 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계를 포함하는 본 발명의 방법은 혈액 제제의 극미립자 형성을 감소시킨다. 또 다른 양태에서, 극미립자 형성의 감소는 혈액 제제로부터 산소를 제거하는 단계, S-303을 0.2 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계, 및 GSH를 2 내지 10 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계를 포함한다. 다른 양태에서, 극미립자 형성의 감소는 혈액 제제로부터 산소 및 이산화탄소를 제거하는 단계, S-303을 0.2 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계, 및 GSH를 2 내지 20 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계를 포함한다. 추가의 양태에서, 극미립자 형성의 감소는 혈액 제제로부터 산소를 제거하는 단계, S-303을 0.2 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계, GSH를 2 내지 20 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계, 및 혐기성 조건하에 저장하는 단계를 포함한다. 또 다른 양태에서, 혈액 제제의 극미립자 형성의 감소는 첨가제 용액을 혈액 제제와 혼합하는 단계, 혈액 제제로부터 산소를 제거하는 단계, S-303을 0.2 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계, GSH를 2 내지 20 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계, 및 혐기성 조건하에 저장하는 단계를 포함한다. 추가의 양태에서, 혈액 제제의 극미립자 형성 감소는 첨가제 용액을 혈액 제제와 혼합하는 단계, 혈액 제제로부터 산소를 제거하는 단계, S-303을 0.2 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계, GSH를 2 내지 20 mM의 최종 농도로 첨가하는 단계, 혈액 제제를 원심분리하는 단계 및 혐기성 조건하에 저장하는 단계를 포함한다. 또한, 본 발명의 방법은 적어도 1주일 저장한 후에 극미립자의 수준을 5배 이상 감소시킴으로써, S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 혈액 제제에서 극미립자 형성의 감소를 제공한다. 일 양태에서,

극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 4배 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 3배 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 2배 이상 감소된다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 10% 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 25% 이상 감소된다. 추가의 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 10 내지 50% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 20 내지 60% 감소된다. 추가의 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 60% 이상 감소된다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 60 내지 90% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후 90 내지 100% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 80% 이상 감소된다. 또한, 본 발명의 방법은 적어도 3주간 저장한 후 극미립자의 수준을 5배 이상 감소시킴으로써, S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 혈액 제제에서 극미립자 형성의 감소를 제공한다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 4배 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 3배 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 2배 이상 감소된다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 10% 이상 감소된다. 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 25% 이상 감소된다. 추가의 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 10 내지 50% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 20 내지 60% 감소된다. 추가의 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 60% 이상 감소된다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 60 내지 90% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 90 내지 100% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 80% 이상 감소된다. 또한, 본 발명의 방법은 3주간의 저장 후에 극미립자의 수준을 5배 이상 감소시킴으로써, S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 혈액 제제에서 극미립자 형성의 감소를 제공한다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 3주간의 저장 후에 4배 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 3주간의 저장 후에 3배 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 3주간의 저장 후에 2배 이상 감소된다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 3주간의 저장 후에 10% 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 3주간의 저장 후에 25% 이상 감소된다. 추가의 양태에서, 극미립자의 수준은 3주간의 저장 후에 10 내지 50% 감소된다. 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 3주간의 저장 후에 20 내지 60% 감소된다. 추가의 양태에서, 극미립자의 수준은 3주간의 저장 후에 60% 이상 감소된다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 3주 저장 후 60 내지 90% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 3주간의 저장 후에 90 내지 100% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 3주간의 저장 후에 80% 이상 감소된다. 본 발명의 방법은 또한 적어도 6주간의 저장 후에 극미립자의 수준을 5배 이상 감소시킴으로써, S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 혈액 제제에서 극미립자 형성의 감소를 제공한다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 4배 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 3배 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 2배 이상 감소된다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 10% 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 25% 이상 감소된다. 추가의 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 10 내지 50% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 20 내지 60% 감소된다. 추가의 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 60% 이상 감소된다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 60 내지 90% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 90 내지 100% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 80% 이상 감소된다.

[0097] 본 명세서는 연장된 유통 기한을 갖는 개선된 혈액 조성물을 제공하고 포함한다. 일 양태에서, 본 발명은 약 0.2 mM S-303의 최종 농도를 갖고, 25% 미만의 산소 포화도(SO<sub>2</sub>)를 가지며, 37°C에서 90 mmHg 이하의 pCO<sub>2</sub>를 갖는 적혈구를 포함하는 산소 감소된 적혈구를 제공하고 포함한다. 또 다른 양태에서, 산소 감소된 적혈구는 약 0.2 mM S-303의 최종 농도 및 약 5 내지 20 mM GSH의 최종 농도를 갖는 적혈구를 포함한다. 일 양태에서, 산소 감소된 적혈구는 또한 약 0.2 mM S-303의 최종 농도를 갖고, 25% 미만의 산소 포화도(SO<sub>2</sub>)를 갖고, 및 37°C에서 90 mmHg 이하의 pCO<sub>2</sub>를 갖는 적혈구를 포함하는 이산화탄소 감소된 적혈구이다. 또 다른 양태에서, 산소 및 이산화탄소 감소된 적혈구는 약 0.2 mM S-303의 최종 농도 및 약 2 내지 20 mM GSH의 최종 농도를 갖는 적혈구를 포함한다. 또한, 본 명세서는 CBC, 잔존 병원체의 농도, 용혈률, ATP, 2,3-DPG, 변형성, 극미립자 형성, 세포막 표면에 대한 포스파티딜세린 노출, % SO<sub>2</sub> 및 S-303의 분해 반응속도로 구성된 그룹으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 파라미터의 개선을 갖는 개선된 혈액 조성물을 제공하고 포함한다. 일 양태에서, 개선된 혈액 조성물은 CBC, 잔존 병원체의 농도, 용혈률, ATP, 2,3-DPG, 변형성, 극미립자 형성, 세포막 표면에 대한 포스파티딜세린 노출, % SO<sub>2</sub> 및 S-303의 분해 반응속도로 구성된 그룹으로부터

터 선택된 2개의 파라미터에서의 개선을 갖는다. 또 다른 양태에서, 개선된 혈액 조성물은 CBC, 잔존 병원체의 농도, 용혈률, ATP, 2,3-DPG, 변형성, 극미립자 형성, 세포막 표면에 대한 포스파티딜세린 노출, % S02 및 S-303의 분해 반응속도로 구성된 그룹으로부터 선택된 3개의 파라미터에서의 개선을 갖는다. 추가의 양태에서, 개선된 혈액 조성물은 CBC, 잔존 병원체의 농도, 용혈률, ATP, 2,3-DPG, 변형성, 극미립자 형성, 세포막 표면에 대한 포스파티딜세린 노출, % S02 및 S-303의 분해 반응속도로 구성된 그룹으로부터 선택된 3개의 파라미터에서의 개선을 갖는다. 또 다른 양태에서, 개선된 혈액 조성물은 CBC, 잔존 병원체의 농도, 용혈률, ATP, 2,3-DPG, 변형성, 극미립자 형성, 세포막 표면에 대한 포스파티딜세린 노출, % S02 및 S-303의 분해 반응속도로 구성된 그룹으로부터 선택된 4개의 파라미터에서의 개선을 갖는다. 또 다른 양태에서, 개선된 혈액 조성물은 CBC, 잔존 병원체의 농도, 용혈률, ATP, 2,3-DPG, 변형성, 극미립자 형성, 세포막 표면에 대한 포스파티딜세린 노출, % S02 및 S-303의 분해 반응속도로 구성된 그룹으로부터 선택된 5개의 파라미터에서의 개선을 갖는다. 또 다른 양태에서, 개선된 혈액 조성물은 CBC, 잔존 병원체의 농도, 용혈률, ATP, 2,3-DPG, 변형성, 극미립자 형성, 세포막 표면에 대한 포스파티딜세린 노출, % S02 및 S-303의 분해 반응속도로 구성된 그룹으로부터 선택된 5 내지 9 개의 파라미터에서의 개선을 갖는다.

[0098] 본 명세서는 병원체의 수준을 10% 이상 감소시킴으로써 개선된 농도의 잔존 병원체를 갖는 S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다. 특정 양태에서, 잔존 병원체의 농도는 20% 이상 감소된다. 다른 양태에서, 잔존 병원체의 농도는 30% 감소된다. 또 다른 양태에서, 잔존 병원체의 농도는 40% 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 잔존 병원체의 농도는 60% 이상 감소된다. 추가의 양태에서, 잔존 병원체의 농도는 80% 이상 감소된다. 특정 양태에서, 잔존 병원체의 농도는 10 내지 50% 감소된다. 다른 양태에서, 잔존 병원체의 농도는 50 내지 95% 감소된다. 다른 양태에서, 잔존 병원체의 농도는 60 내지 100% 감소된다. 일부 양태에서, 본 명세서는 이산화탄소가 감소됨으로써 개선된 농도의 잔존 병원체를 갖는 S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다.

[0099] 본 명세서는 용혈 수준이 1.0% 미만인 S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다. 일 양태에서, 용혈은 0.8% 미만이다. 또 다른 양태에서, 용혈은 0.2% 이하이다. 또 다른 양태에서, 용혈은 0.4% 이하이다. 또 다른 양태에서, 용혈은 0.6% 이하이다. 다른 양태에서, 용혈은 0.01 내지 0.2%이다. 특정 양태에서, 용혈은 0.2 내지 0.8%이다. 다른 양태에서, 용혈은 0.2 내지 0.6%이다. 다른 양태에서, 용혈은 0.5 내지 1.0%이다. 일부 양태에서, 본 명세서는 또한 이산화탄소가 감소됨으로써 개선된 용혈을 갖는 S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다.

[0100] 본 명세서는 개선된 변형성을 갖는 S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다. 특정 양태에서, 변형성은 5% 이상 증가된다. 다른 양태에서, 변형성은 10% 이상 증가된다. 또 다른 양태에서, 변형성은 10 내지 50% 증가된다. 다른 양태에서, 변형성은 50% 이상 증가된다. 일부 양태에서, 본 명세서는 또한 이산화탄소를 감소시킴으로써 개선된 변형성을 갖는 S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다.

[0101] 본 명세서는 ATP의 수준을 증가시킴으로써 개선된 수준의 ATP를 갖는 S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다. 특정 양태에서, ATP의 수준은 10% 이상 증가된다. 다른 양태에서, ATP의 수준은 5 내지 40% 증가된다. 또 다른 양태에서, ATP의 수준은 1주 저장 후에 증가된다. 다른 양태에서, ATP의 수준은 2주 저장 후에 증가된다. 또 다른 양태에서, ATP의 수준은 4주 저장 후에 증가된다. 또 다른 양태에서, ATP의 수준은 5주 저장 후에 증가된다. 추가의 양태에서, ATP의 수준은 6주 저장 후에 증가된다. 일부 양태에서, 본 명세서는 또한 이산화탄소를 감소시킴으로써 개선된 수준의 ATP를 갖는 S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다.

[0102] 본 명세서는 2,3-DPG의 수준을 증가시킴으로써 개선된 수준의 2,3-DPG를 갖는 S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다. 특정 양태에서, 2,3-DPG의 수준은 10% 이상 증가된다. 다른 양태에서, 2,3-DPG의 수준은 20% 이상 증가된다. 추가의 양태에서, 2,3-DPG의 수준은 30% 이상 증가된다. 다른 양태에서, 2,3-DPG의 수준은 5 내지 40% 증가된다. 또 다른 양태에서, 2,3-DPG의 수준은 1주 저장 후에 증가된다. 다른 양태에서, 2,3-DPG의 수준은 2주 저장 후에 증가된다. 또 다른 양태에서, 2,3-DPG의 수준은 4주 저장 후에 증가된다. 또 다른 양태에서, 2,3-DPG의 수준은 5주 저장 후에 증가된다. 추가의 양태에서, 2,3-DPG의 수준은 6주 저장 후에 증가된다. 일부 양태에서, 본 명세서는 또한 이산화탄소를 감소시킴으로써 개선된 수준의 2,3-DPG를 갖는 S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다.

[0103] 본 명세서는 적어도 1주간의 저장 후에 극미립자의 수준을 5배 감소시킴으로써 개선된 수준의 극미립자를 갖는

S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 4배 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 3배 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 2배 이상 감소된다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 10% 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 25% 이상 감소된다. 추가의 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 10 내지 50% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 20 내지 60% 감소된다. 추가의 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 60% 이상 감소된다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 60 내지 90% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 90 내지 100% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 80% 이상 감소된다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 10% 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 25% 이상 감소된다. 추가의 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 10 내지 50% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 20 내지 60% 감소된다. 추가의 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 60% 이상 감소된다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 60 내지 90% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 90 내지 100% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 3주간의 저장 후에 80% 이상 감소된다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 10% 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 25% 이상 감소된다. 추가의 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 10 내지 50% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 20 내지 60% 감소된다. 추가의 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 60% 이상 감소된다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 60 내지 90% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 90 내지 100% 감소된다. 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 6주간의 저장 후에 80% 이상 감소된다. 일부 양태에서, 본 명세서는 이산화탄소를 감소시킴으로써 개선된 수준의 극미립자를 갖는 S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다.

[0104] 또한, 본 명세서는 세포막의 세포질 표면을 따라 포스파티딜세린의 비대칭 분포를 유지함으로써 세포막 표면상에 대한 개선된 포스파티딜세린 노출을 갖는 S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다. 특정 양태에서, 포스파티딜세린 발현은 세포막을 형광 아넥신-V로 라벨링하고 유세포계측법 또는 현미경검사로 정량화함으로써 측정될 수 있다. 일부 양태에서, 본 명세서는 또한 이산화탄소가 감소된, S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다.

[0105] 본 명세서는 30% 미만의 % SO<sub>2</sub>를 가짐으로써 개선된 수준의 % SO<sub>2</sub>를 갖는 S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다. 일 양태에서, % SO<sub>2</sub>는 25% 미만이다. 다른 양태에서, % SO<sub>2</sub>는 20% 미만이다. 또 다른 양태에서, % SO<sub>2</sub>는 20% 미만이다. 또 다른 양태에서, % SO<sub>2</sub>는 10% 미만이다. 또 다른 양태에서, % SO<sub>2</sub>는 5% 미만이다. 특정 양태에서, % SO<sub>2</sub>는 5 내지 20%이다. 다른 양태에서, % SO<sub>2</sub>는 3 내지 15%이다. 일부 양태에서, 본 명세서는 또한 이산화탄소가 감소된, S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다.

[0106] 본 명세서는 3시간의 병원체 불활성화 과정 후에 S-303의 수준이 감소된 S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다. 일 양태에서, S-303의 수준은 6시간의 병원체 불활성화 과정 후에 감소된다. 또 다른 양태에서, S-303의 수준은 9시간의 병원체 불활성화 과정 후에 감소된다. 또 다른 양태에서, S-303의 수준은 12시간의 병원체 불활성화 과정 후에 감소된다. 추가의 양태에서, S-303의 수준은 24시간의 병원체 불활성화 과정 후에 감소된다. 일부 양태에서, 본 명세서는 이산화탄소가 감소된, S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 개선된 혈액 조성물을 제공한다.

[0107] 본 발명의 방법은 적혈구로부터 산소를 제거하는 단계, 0.2 mM의 최종 농도로 S-303을 첨가하는 단계, 및 2 내지 20 mM의 최종 농도로 GSH를 첨가하는 단계를 포함하며, 혈액 제제내 S-303의 병원체 불활성화 효능을 개선시킨다. 또 다른 양태에서, 혈액 제제내 S-303의 병원체 불활성화 효능을 개선시키는 방법은 혈액 제제로부터 산소를 제거하는 단계, 0.2 mM의 최종 농도로 S-303을 첨가하는 단계, 및 2 내지 10 mM의 최종 농도로 GSH를 첨가하는 단계를 포함한다. 다른 양태에서, 혈액 제제내 S-303의 병원체 불활성화 효능을 개선시키는 방법은 혈액 제제로부터 산소 및 이산화탄소를 제거하는 단계, 0.2 mM의 최종 농도로 S-303을 첨가하는 단계, 및 2 내지 20 mM의 최종 농도로 GSH를 첨가하는 단계를 포함한다. 추가의 양태에서, 혈액 제제내 S-303의 병원체 불활성화 효능을 개선시키는 방법은 혈액 제제로부터 산소를 제거하는 단계, 0.2 mM의 최종 농도로 S-303을 첨가하는 단계, 2 내지 20 mM의 최종 농도로 GSH를 첨가하는 단계, 및 혐기성 조건하에 저장하는 단계를 포함한다. 또 다른 양

태에서, 적혈구내 S-303의 병원체 불활성화의 효능을 개선시키는 방법은 첨가제 용액을 혈액 제제와 혼합하는 단계, 혈액 제제로부터 산소를 제거하는 단계, 0.2 mM의 최종 농도로 S-303을 첨가하는 단계, 2 내지 20 mM의 최종 농도로 GSH를 첨가하는 단계, 및 혐기성 조건하에 저장하는 단계를 포함한다. 특정 양태에서, S-303의 병원체 불활성화 효능은 잔존 병원체의 농도를 10% 이상 감소시킴으로써 개선된다. 특정 양태에서, 잔존 병원체의 농도는 20% 이상 감소된다. 다른 양태에서, 잔존 병원체의 농도는 30% 감소된다. 또 다른 양태에서, 잔존 병원체의 농도는 40% 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 잔존 병원체의 농도는 60% 이상 감소된다. 추가의 양태에서, 잔존 병원체의 농도는 80% 이상 감소된다. 특정 양태에서, 잔존 병원체의 농도는 10 내지 50% 감소된다. 다른 양태에서, 잔존 병원체의 농도는 50 내지 95% 감소된다. 또 다른 양태에서, 잔존 병원체의 농도는 60 내지 100% 감소된다.

[0108] 추가의 양태에서, 혈액 제제의 극미립자 형성 감소 방법은 첨가제 용액을 혈액 제제와 혼합하는 단계, 혈액 제제로부터 산소를 제거하는 단계, 0.2 mM의 최종 농도로 S-303을 첨가하는 단계, 2 내지 20 mM의 최종 농도로 GSH를 첨가하는 단계, 혈액 제제를 원심분리하는 단계 및 혐기성 조건 하에서 저장하는 단계를 포함한다. 특정 양태에서, 혈액 제제내 극미립자 형성의 감소는 적어도 1주간의 저장 후에 극미립자의 수준을 5배 감소시키는 것을 포함한다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 4배 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 3배 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 2배 이상 감소된다. 일 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 10% 이상 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 25% 이상 감소된다. 추가의 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 10 내지 50% 감소된다. 또 다른 양태에서, 극미립자의 수준은 적어도 1주간의 저장 후에 20 내지 60% 감소된다.

[0109] 본 명세서는 풀링된 혈액 샘플과 비교할때 저장된 혈액내 CBC, 잔존 병원체의 농도, 용혈률, ATP, 2,3-DPG, 변형성, 극미립자 형성, 세포막 표면에 대한 포스파티딜세린 노출, % SO<sub>2</sub> 및 S-303의 분해 반응속도로 구성된 그룹으로부터 선택된 개선된 파라미터를 갖는, S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 혈액 조성물을 제공한다. 특정 양태에서 저장된 혈액내 CBC, 잔존 병원체의 농도, 용혈률, ATP, 2,3-DPG, 변형성, 극미립자 형성, 세포막 표면에 대한 포스파티딜세린 노출, % SO<sub>2</sub> 및 S-303의 분해 반응속도는 상기에 기재된 바와 같다.

[0110] 본 명세서는 산소 존재 하에 수행된 병원체 감소 방법을 갖는 혈액의 단위와 비교할 때, 저장된 혈액내 CBC, 잔존 병원체의 농도, 용혈률, ATP, 2,3-DPG, 변형성, 극미립자 형성, 세포막 표면에 대한 포스파티딜세린 노출, % SO<sub>2</sub> 및 S-303의 분해 반응속도를 포함하는 그룹으로부터 선택된 개선된 파라미터를 갖는 S-303 병원체 불활성화된 및 산소 감소된 혈액의 단위를 제공한다.

[0111] 용어 "포함한다", "포함하는", "포함하다", "포함한", "갖는" 및 이들의 콘주게이트는 "포함하지만, 이에 제한되지 않는다"를 의미한다.

[0112] 용어 "구성되는"은 "포함하고, 이에 제한되는"을 의미한다.

[0113] 용어 "본질적으로 구성되는"은 추가 성분, 단계 및/또는 부분이 청구된 조성물, 방법 또는 구조의 기본적인 및 신규한 특성을 실질적으로 변경시키지 않는 경우에만 조성물, 방법 또는 구조가 추가 성분, 단계 및/또는 부분을 포함할 수 있음을 의미한다.

[0114] 본원에서 사용된 단수 형태는 문맥이 달리 지시하지 않는 한 복수의 인용을 포함한다. 예를 들어, 용어 "화합물" 또는 "적어도 하나의 화합물"은 이들의 혼합물을 포함하는 복수의 화합물을 포함할 수 있다.

[0115] 본 발명은 특정 양태를 참조하여 기술되었지만, 본 개시내용의 범위를 벗어나지 않으면서 다양한 변형이 가해질 수 있고 그 등가물이 그의 구성요소로 치환될 수 있음이 당해 분야의 숙련가에 의해 이해될 것이다. 또한, 본 개시내용의 범위를 벗어나지 않으면서 본 개시내용의 교시에 특정 상황 또는 물질을 적용하기 위해 많은 변형이 가해질 수 있다.

[0116] 따라서, 본 개시내용은 본 개시내용을 수행하기 위해 고려된 최상의 방식으로서 개시된 특정한 양태들로 제한되지 않으며, 본 개시내용은 첨부된 청구항들의 범위 및 사상 내에 포함되는 모든 양태들을 포함할 것이다.

[0117] **실시예**

[0118] **실시예 1: 혈액의 수집과 샘플 준비**

[0119] 6개의 ABO-매치된 전혈 유닛을 수집하고, 풀링하고, 표 2에 제공된 바와 같이 3쌍으로 6개의 샘플로 분할한다. 6 단위의 전혈(450 mL + 10%)을 시트레이트 포스페이트 텍스트로스(CPD)에서 수집하고, 병원체 불활성화 처리가

지 냉각 트레이에 보관한다. 기증 당일(D<sub>0</sub>)에 상기 6개의 전혈 유닛을 폴링하고 분할한다. 전혈의 탈산소화는 하기 기술된 바와 같이 수행된다. 표 2에 표시된 바와 같이 염수 또는 리보플라빈으로 유닛들을 처리한다. 샘플 3 및 4는 병원체 처리 및 성분 분리 및 패키징된 적혈구 제조 후 산소 감소된다. 샘플 5 및 6은 전혈 단계에서 산소 감소되고, 및 성분 분리 및 패키징된 적혈구 제조에 앞서 병원체 감소된다. 리보플라빈 함유 유닛은 MIRASOL<sup>®</sup> 전혈 조명 백으로 이송하고, 및 전혈 유닛은 냉각 트레이 상에 둔다. 기증 후 24시간 이내에, 전혈 유닛을 버피 코트 방법으로 가공하고, SAGM 첨가제 용액을 첨가한 후 적혈구 농축물을 저장한다. 산소 감소된 적혈구 농축물은 실시예 2에 기술된 바와 같이 제조된다.

**표 2: 리보플라빈 광감작제를 갖는 병원체 감소를 위한 샘플**

처리	샘플 1	샘플 2	샘플 3	샘플 4	샘플 5	샘플 6
산소 감소됨	아니오	아니오	RBCs	RBCs	전혈	전혈
리보플라빈 (50 μM 최종)	아니오	35 ml	아니오	35 ml	아니오	35 ml
멸균 식염수	35 ml	아니오	35 ml	아니오	35 ml	아니오
병원체 감소전 제거된 O <sub>2</sub>	n/a	아니오	n/a	아니오	n/a	예

[0120]

[0121]

**실시예 2: 전혈의 수집, 백혈구감소 및 가스 고갈**

[0122]

시트레이트 포스페이트 텍스트로스(CPD) 내 폴링된 및 분할된 적혈구 유닛("혈액 유닛")은 Mirasol 처리 및 성분 분리 후에 제조자의 지침에 따라 백혈구감소된다.

[0123]

Sorin D100 멤브레인 산소공급기에 연결된 수집 백에서 95% N<sub>2</sub> 및 5% CO<sub>2</sub> 가스의 혼합물을 700 ml/분의 유속으로 전혈로 이동시켜, 3% 미만의 예비-저장 %SO<sub>2</sub> 및 70mmHg(37°C)의 pCO<sub>2</sub>를 달성함으로써, 각각의 전혈 유닛(샘플 5 및 6)을 산소 고갈 처리한다. 샘플 6의 경우, Mirasol<sup>®</sup> 일회용(리보플라빈 용액을 포함하지 않음)의 O<sub>2</sub>는 가공 전에 산소 퍼지된다. 각각의 샘플의 제조 직후, 제조자의 지침에 따라 ABL90 혈액 가스 수준을 측정하여, 기준선 SO<sub>2</sub> 및 pCO<sub>2</sub> 수준(예를 들어, T<sub>0</sub>)을 확립한다. 샘플 6의 경우, 산소-감소된 혈액은 Mirasol 처리 백으로 이송한다. 리보플라빈을 첨가한 후, Mirasol 광감작 디바이스에 넣고, 제조자의 지침에 따라 UV에 노출시킨다. Mirasol 처리(샘플 6) 후, 내용물을 최초 혈액 수집 백으로 다시 옮기고, 표준 상부-바닥 버피 코트 방법에 따라 성분을 가공한다. 분리된 RBC는 부착된 백혈구감소 필터로 백혈구감소시키고 혐기성 캐니스터에 저장한다. 샘플 5의 경우 Mirasol 처리 단계는 위에서 건너뛴다.

[0124]

샘플 3 및 4의 경우, 분리된 및 백혈구감소된 RBC 백을 95% N<sub>2</sub> 및 5% CO<sub>2</sub> 가스의 혼합물과 함께 700 ml/분의 유속으로 Sorin D100 멤브레인 산소공급기에 연결하여, 3% 미만의 예비-저장 %SO<sub>2</sub> 및 70mmHg(37°C)의 pCO<sub>2</sub>를 달성한다. 각각의 샘플의 제조 직후, 제조자의 지침에 따라 ABL90 혈액 가스 수준을 측정하여 기준선 SO<sub>2</sub> 및 pCO<sub>2</sub> 수준(예를 들어, T<sub>0</sub>)을 확립한다. O<sub>2</sub>-감소된 RBC는 최초의 RBC 저장 백으로 다시 옮기고, 혐기성 캐니스터에 저장한다.

[0125]

**실시예 3: Mirasol<sup>®</sup> 병원체 감소**

[0126]

제조자의 지침에 따라 Mirasol 조명장치를 사용하여 샘플을 가공한다. 실험은 각각의 데이터 포인트에서 총 n=5 샘플에 대해 5회 반복된다.

[0127]

**실시예 4: 혐기성 시험 생성물의 보관**

[0128]

이송 백내의 산소 감소된 및 산소 및 이산화탄소 감소된 혈액을 메쉬로 랩핑하여, 탄성으로 고정시키고, 4개의 흡착제 샷세트(Mitsubishi, SS-300)로 혐기성 캐니스터에 넣는다. 캐니스터를 밀폐시키고, 질소 가스를 사용하여 캐니스터에 공기를 퍼지한다. 혐기성 및 호기성 혈액을 1 내지 6°C의 혈액 은행 냉장고에 보관한다. 매일 5 ± 1 psi를 읽도록 캐니스터 게이지를 모니터링한다. 2 psi 미만으로 떨어지는 캐니스터를 조정한다.

[0129] **실시예 5: 샘플 분석**

[0130] 2일, 7일, 14일, 21일, 28일 및 42일에, 상기 실시예에 따라 제조된 6개의 샘플 각각으로부터 하기 측정을 수행한다. 실험은 각각의 데이터 포인트에서 총 n=5 샘플에 대해 5회 반복된다.

[0131] a. 샘플 준비

[0132] 이들 방법은 당해 분야의 숙련자에게 공지되어있다. 적혈구-상청액은 Schubert 등의 절차를 사용하여 미세소포 MV 카운트를 위해 준비된다.(Schubert, 등, "Reiboflavin과 UV 광으로 처리한 전혈: 버피 코트 방법으로 생성된 모든 혈액 성분의 품질 평가", 수혈 55(4): 815-823(2015)). 적혈구 수, 평균 소체 용적(MCV) 및 개별 샘플내 총 헤모글로빈은 혈액학 분석기(ADVIA 120, Siemens)에서 측정한다. Hettrich Zentrifugen의 HAEMATOKRIT 210 디바이스를 사용하여 제조자의 지침에 따라 적혈구용적률을 측정한다. 대사물(글루코스 및 락테이트) 및 칼륨(K<sup>+</sup>)은 Gem Premier 3000 혈액 가스 분석기(Instrumentation Laboratories)를 사용하여 정량화된다. pH는 Orion Ross Ultra 반-마이크로 pH 프로브(Thermo Scientific)로 측정한다. 1일 측정 후, Gem Premier 3000 혈액 가스 분석기(Instrumentation Laboratories)(% SO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, pH, K<sup>+</sup>, 글루코스, % Hb-O<sub>2</sub>, % Hb-CO, % met-Hb, % Hb)를 사용하여 측정한다. Han et. al, (2010) Vox Sang; 98:116-23)의 Harboe 방법에 의해 용혈의 정도를 측정한다. 적혈구에서 ATP의 수준은 적혈구의 과염소산 추출 후 HPLC에 의해 정량화된다. BacT/ALERT 시스템(bioMerieux)을 사용하여 42일째에 박테리아 검사를 수행한다.

[0133] 용혈 분석 결과는 4에 제시되어 있다. 도 4에 도시된 바와 같이, 병원체 감소 이전의 산소 감소는 모든 시점에서 용혈을 크게 감소시킨다. 적혈구의 저장능력 개선은 초기에 개선이 나타나지만, 14일째부터 시작하여 분명해진다.

[0134] 극미립자의 상대적인 감소를 나타내는 극미립자 분석 결과를 도 5에 나타낸다. 도 5에 도시된 바와 같이, 병원체 감소 전의 산소 감소는 모든 시점에서 극미립자의 형성을 크게 감소시킨다. 적혈구의 저장능력 개선은 초기에 개선이 나타나지만, 14일째부터 시작하여 분명해진다.

[0135] 멸균된 염수를 갖는 대조군 전혈(1 avg), 리보플라빈을 갖는 대조군 전혈(2 avg), 멸균된 염수를 갖는 산소 감소된 팩킹된 RBC(3 avg), 리보플라빈을 갖는 산소 감소된 pRBC(4 avg), 멸균된 염수를 갖는 산소 감소된 전혈(5 avg) 및 리보플라빈을 갖는 산소 감소된 전혈(6 avg)의 삼투 취도(6a), 칼륨(6b), 총 헤모글로빈(6c), 산소 포화(6d), 글루코스(6e), 락테이트(6f) 및 pH(6g)의 결과.

[0136] **실시예 6: 산소 감소된 혈액에 대한 병원체 불활성화 방법**

[0137] 병원체 불활성화를 위해 처리되는 혈액 샘플을 Sorin D100 멤브레인 산소공급기(Sorin Group, Arvada, CO)에 연결된 전혈 수집 백으로 이송시켜서 산소가 고갈되도록 먼저 처리하고, 95% N<sub>2</sub> 및 5% CO<sub>2</sub> 가스의 혼합물로 700 ml/분의 유속으로 펌핑하여, 약 23°C에서 25% 미만의 전처리 % SO<sub>2</sub> 및 약 70mmHg의 pCO<sub>2</sub>를 달성하였다. 항응고제(WB)를 갖는 전혈의 원하는 혈액 성분에 대해 500 +/- 50 mL의 용적을 사용하고; 첨가제 용액(LRpRBC)을 갖는 백혈구감소된 팩킹된 적혈구의 원하는 혈액 성분에 대해, 500 +/- 50 mL의 용적을 사용하고; 현탁된 혈소판(PLT)의 원하는 혈액 성분에 대해, 약 400 +/- 50 mL의 총 용적을 위해 샘플을 조합하고; 혈장의 원하는 혈액 성분에 대해, 각각 약 200 mL의 두 유닛을 400 +/- 50 mL의 용적으로 조합한다. 혈액 샘플을 폴리비닐염화물 조명 백(Terumo BCT, Lakewood, CO)에 이송하고, 백에 주입하고 계산된 용량의 가교결합제와 혼합한다. 그 다음, 조명 백을 트레이 상에 배치하고, 가교 결합제에 따라 적합한 조명 공급원으로 조명하고, 및 표에 따라 조명의 지속 시간을 주어진 가교 결합제에 요구되는 주어진 용적 및 용량에 대해 요구되는 용량에 따라 계산한다. 조명 동안 트레이를 부드럽게 교반하여, 노출 기간 동안 조명 공급원에 내용물을 균일하게 노출시킨다. 조명 사이클이 완료되면, 혈액 샘플을 조명 백에서 냉장 보관용 혐기성 저장 백으로 이송한다. 전혈 샘플을 원심분리에 의해 추가로 가공하고, 및 별개의 혈액 성분으로 분리할 수 있다. 본 발명의 방법에 적합한 병원체 불활성화 방법은 표 1에 제시된 방법을 포함한다

[0138] **실시예 7: 혈액 성분의 성분채집술 수집 및 UV 처리**

[0139] 17 게이지 피하 주사 바늘을 사용하여 혈액 공여체를 정맥 천자로 접근시키고, 성분채집술 시스템에 연결한다. 약 450 mL의 전혈(WB)을 공여체로부터 성분채집술 시스템으로 흡입시키고, 원심분리 및 혈액 성분 분리 전에 항응고제와 혼합한다. 분리된 적혈구(RBC)를 첨가제 용액 및 리보플라빈과 혼합한 다음, UV 조명 챔버를 통과시키고, UV 광을 조사하여 병원체를 불활성화시키고, 및 또한, 임의의 잔존 백혈구를 불활성화시킨다. UV 조사 후, RBC를 별개의 저장 백에 수집한다. 분리된 PLT를 PLT 첨가제 용액 및 리보플라빈과 혼합한 다음, UV 조명 챔버

를 통과시키고, UV 광을 조사하여 병원체를 불활성화시킨다. UV 조사 후, PLT를 별개의 저장 백에 수집한다. 그런 다음, 분리된 혈장을 리보플라빈과 혼합한 다음 UV 조명 챔버를 통과시키고, UV 광을 조사하여 병원체를 불활성화시킨다. UV 조사 후, 혈장을 별개의 저장 백에 수집한다. 정맥절개술(phlebotomy) 바늘을 제거하기 전에 0.9% 염수 및 결정체의 대체 유체 용적이 공여체에게 반환된다.

[0140] **실시예 8: 성분채집술 수집 및 전혈의 UV 처리**

[0141] 17 게이지 피하 주사 바늘을 사용하여 혈액 공여체를 정맥 천자로 접근시키고, 성분채집술 시스템에 연결시킨다. 약 450 mL의 전혈(WB)을 공여체로부터 성분채집술 시스템으로 흡인시키고, 항응고제 및 리보플라빈과 혼합하여, 조사 챔버를 통과시키고, UV 광을 조사하여 병원체를 불활성화시키고, 이어서 원심분리 및 혈액 성분의 분리를 수행한다. 원심분리 및 혈액 성분의 분리 후, RBC를 첨가제 용액과 혼합하고, 별개의 저장 백에 수집한다. 그 후, 분리된 PLT를 별개의 저장 백에 수집된 PLT 첨가제 용액과 혼합한다. 분리된 혈장을 별개의 저장 백에 수집한다. 정맥절개술 바늘을 제거하기 전에 0.9% 염수 및 결정체의 대체 유체 용적이 공여체에게 반환된다.

[0142] **실시예 9: 병원체 불활성화(S-303) 처리된 RBC의 품질 시험**

[0143] 첨가제 용액(예를 들어, AS3)(LRpRBC)을 갖는 백혈구감소된 팩킹된 적혈구 5유닛을 전혈구 계산치(CBC) 및 산소 포화도(% S02)에 대해 측정한다. 5 유닛을 2 내지 3 리터의 혈액 백으로 함께 풀링하여, 균질한 풀을 생성한다. 풀링된 LRpRBC에 대해 CBC 및 % S02를 측정한다. 300 mL LRpRBC의 균등한 분취액을 표 3에 설명되어 있는대로 처리한, A부터 E까지 레이블이 붙은 5개의 저장 컨테이너에 넣고, 42일동안 4°C의 표준 혈액 은행 냉장고에 저장한다.

[0144] 실시예 5에 기술된 방법을 사용하여, 샘플 A 내지 E의 분취액을 0일(저장 전), 7, 14, 21 및 42일에 수집하고, 하기 파라미터에 대해 시험한다: CBC, 용혈률, ATP 2,3-DPG, MVA를 사용한 변형성, 극미립자, 적혈구 막에 대한 포스파티딜세린(PS) 노출, % S02, RBC 형태 및 RBC 응집. S-303 및 S-300의 농도는 0, 3, 6, 9, 12 및 24시간에 수집된 샘플 A 내지 E의 분취액으로부터 측정한다. 실험은 각 데이터 포인트에서 총 n=5 샘플에 대해 5회 반복한다.

[0145] 데이터의 중심 추세를 평균 및 중앙 값을 사용하여 측정하고, 데이터의 확산은 표준 편차로 결정한다.

**표 3: LRpRBC의 처리 조건**

샘플	처리 조건
A	가공되지않은 대조군 이후, 42 일간 4°C 에서 통상적인 저장
B	병원체 불활성화 이후, 42 일간 4°C 에서 통상적인 저장
C	병원체 불활성화 이후, 산소-감소 백(ORB)내 산소 감소
D	RBC 의 산소 감소후 병원체 불활성화
E	ORB 로 병원체 불활성화를 밤새 진행

[0146] **실시예 10: 혐기성 조건 하에서 S-303 병원체 불활성화의 효능 조사**

[0148] AS3 첨가제 용액을 갖는 백혈구감소된 팩킹된 적혈구(LRpRBC)의 5 유닛을 전혈구 계산치(CBC) 및 산소 포화도(% S02)에 대해 측정한다. 5 유닛을 2 내지 3 리터의 혈액 백으로 함께 풀링하여, 균질한 풀을 생성한다. 풀링된 LRpRBC에 대해 CBC 및 % S02를 측정한다. 풀링된 혈액을 제조자의 지침에 따라 선택된 병원체 또는 모델 바이러스로 스파이크한다. 300 mL LRpRBC의 균등한 분취액을 표 3에 설명되어 있는대로 처리한, A부터 E까지 레이블이 붙은 5개의 저장 컨테이너에 넣는다. 혐기성 조건 하에서 약 0.2 mM S-303 및 약 2 내지 20 mM 글루타티온(GSH)으로 샘플 B를 처리한다. 샘플 C 및 D는 각각 약 0.2 mM S-303 및 약 2 내지 20 mM GSH로, 산소 감소된 전후에 처리한다. 샘플 E는 ORB에서 약 0.2 mM S-303 및 약 2 내지 20 mM GSH로 밤새 처리한다. 설명된 처리 후, 모든 샘플을 42일동안 4°C의 표준 혈액 은행 냉장고에 저장한다. 대안적으로, 샘플내 S-300의 잔존량은 원심분리 및 신선한 AS3의 대체에 의해 제거된다.

[0149] 실시예 5에 기술된 방법을 사용하여, 샘플 A 내지 E의 분취액을 0일(저장 전), 7, 14, 21 및 42일에 수집하고,

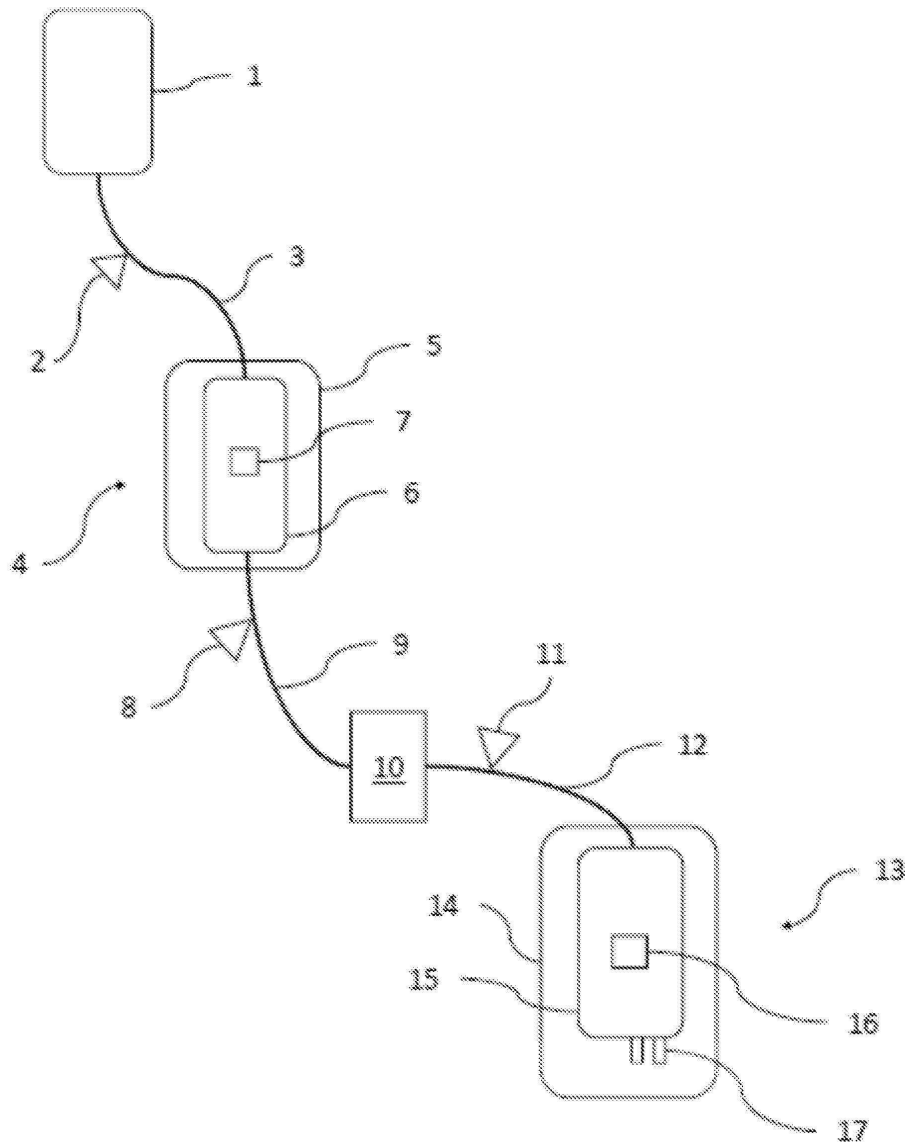
하기 파라미터에 대해 시험한다: CBC, 잔존 병원체의 농도, 용혈률, ATP 2,3-DPG, MVA를 사용한 변형성, 극미립자, 적혈구 막에 대한 포스파티딜세린(PS) 노출, 및 % S02. S-303 및 S-300의 농도는 0, 3, 6, 9, 12 및 24시간에 수집된 샘플 A 내지 E의 분취액으로부터 측정한다. 실험은 각 데이터 포인트에서 총 n=5 샘플에 대해 5회 반복된다.

[0150]

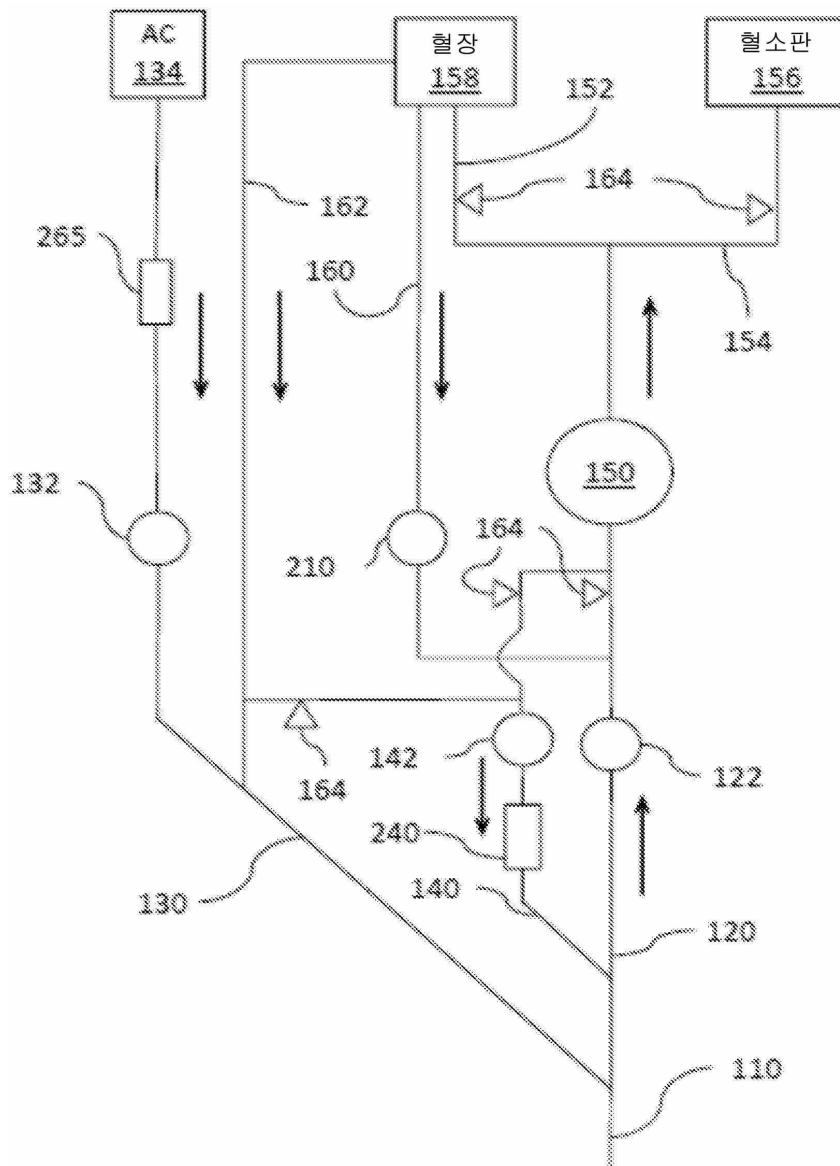
데이터의 중심 추세를 평균 및 중앙 값을 사용하여 측정하고, 데이터의 확산은 표준 편차로 결정한다. 다양한 샘플 조건들의 차이를 Neuman-Keuls 다중 비교 시험을 사용하여 변동 분석을 반복 측정하여 분석하고, 0.05 미만의 확률 수준을 상당한 것으로 간주한다.

도면

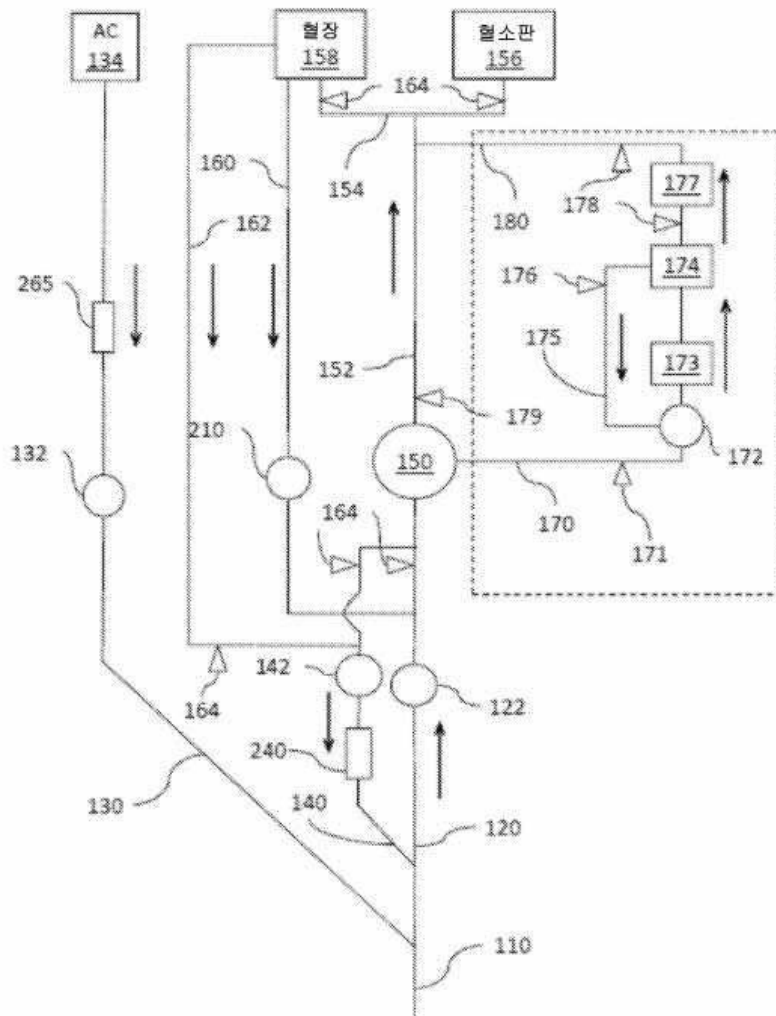
도면1



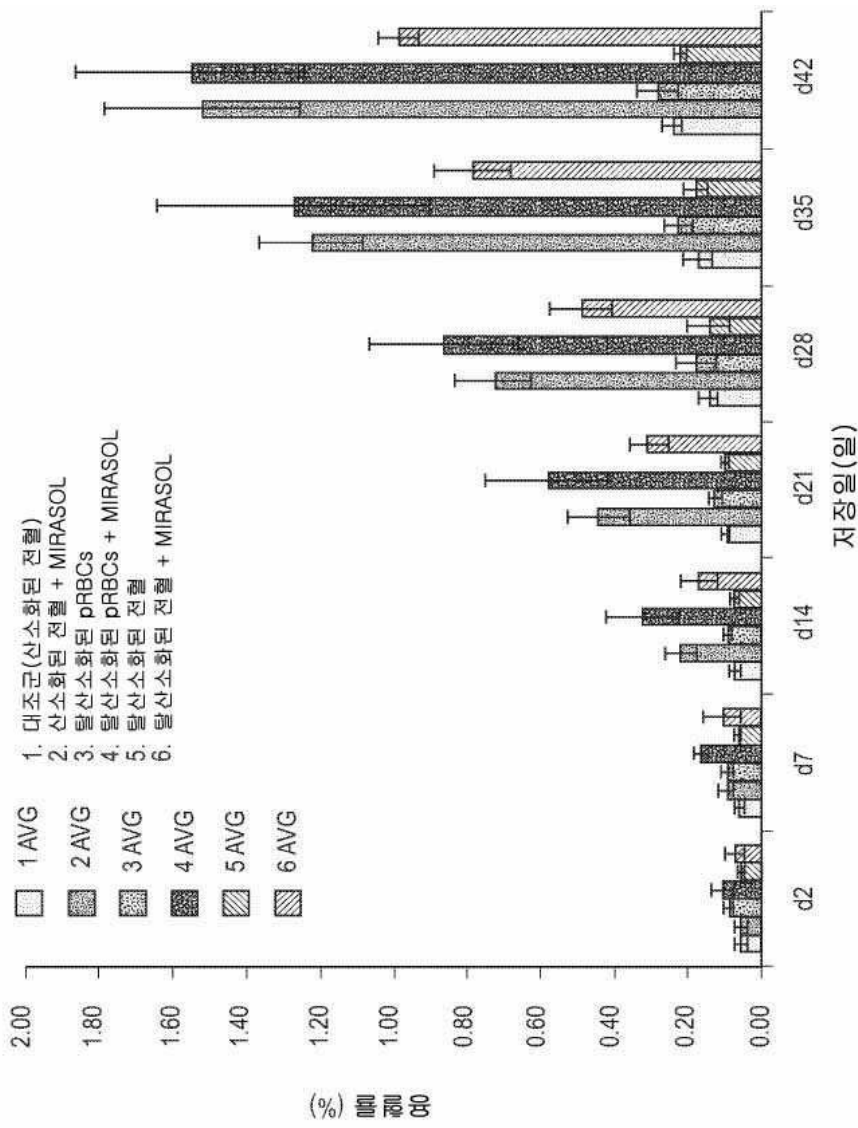
도면2



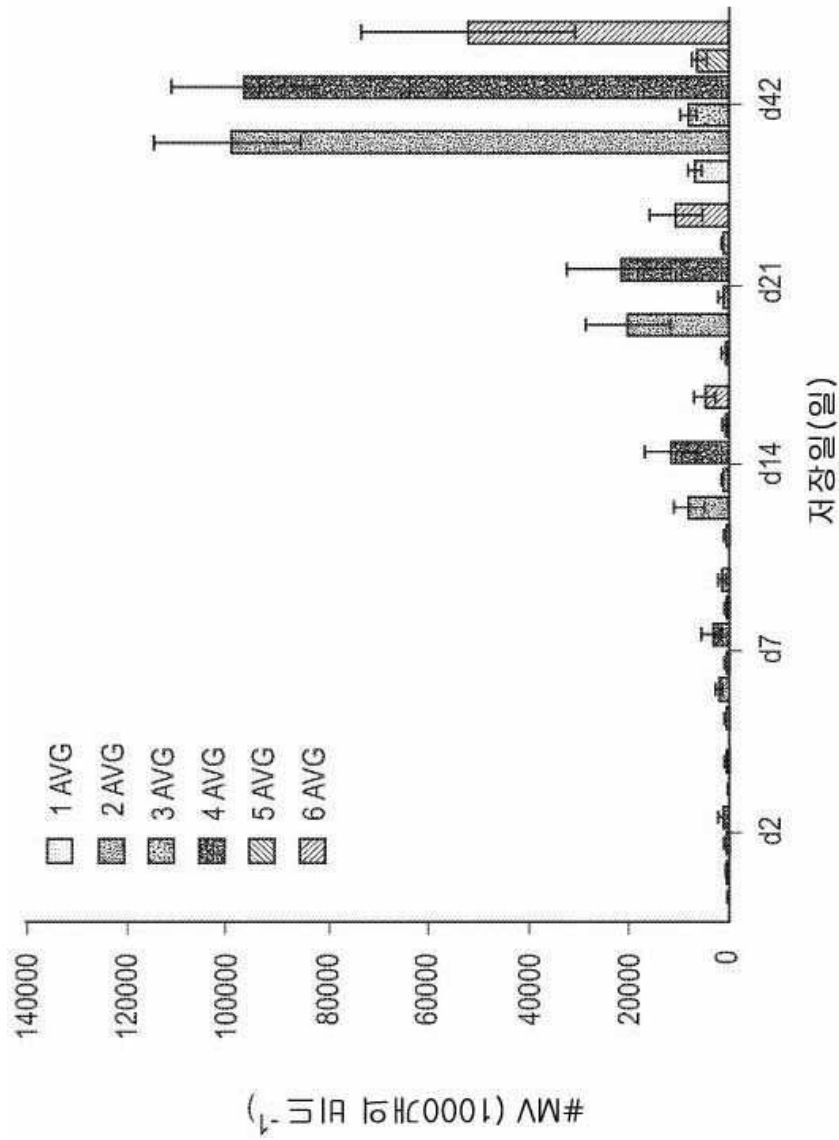
도면3



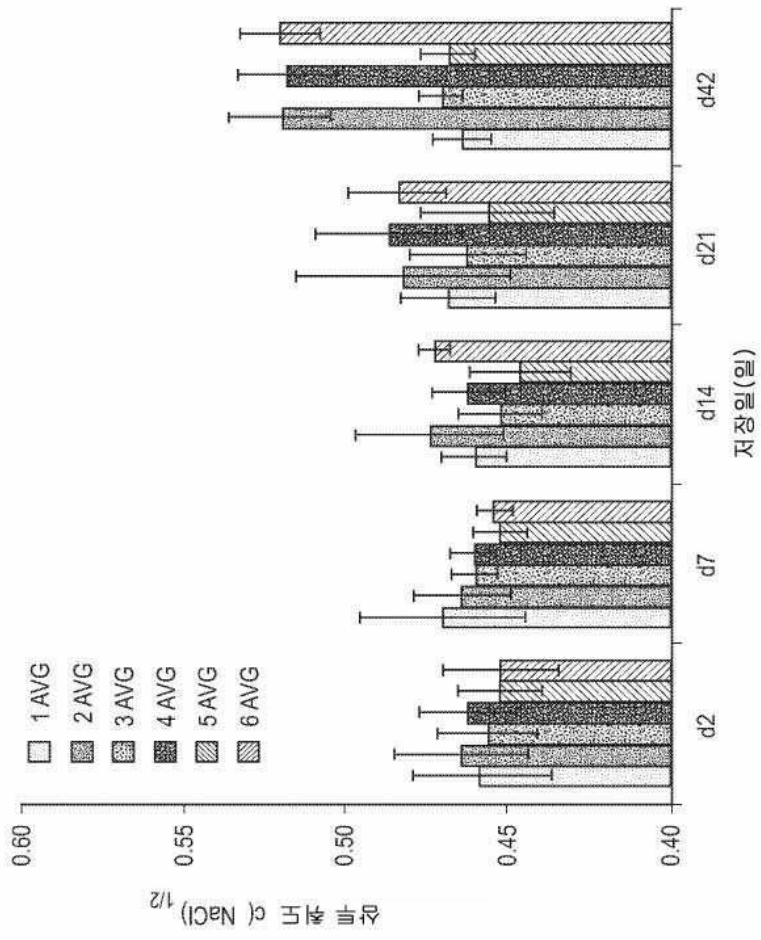
도면4



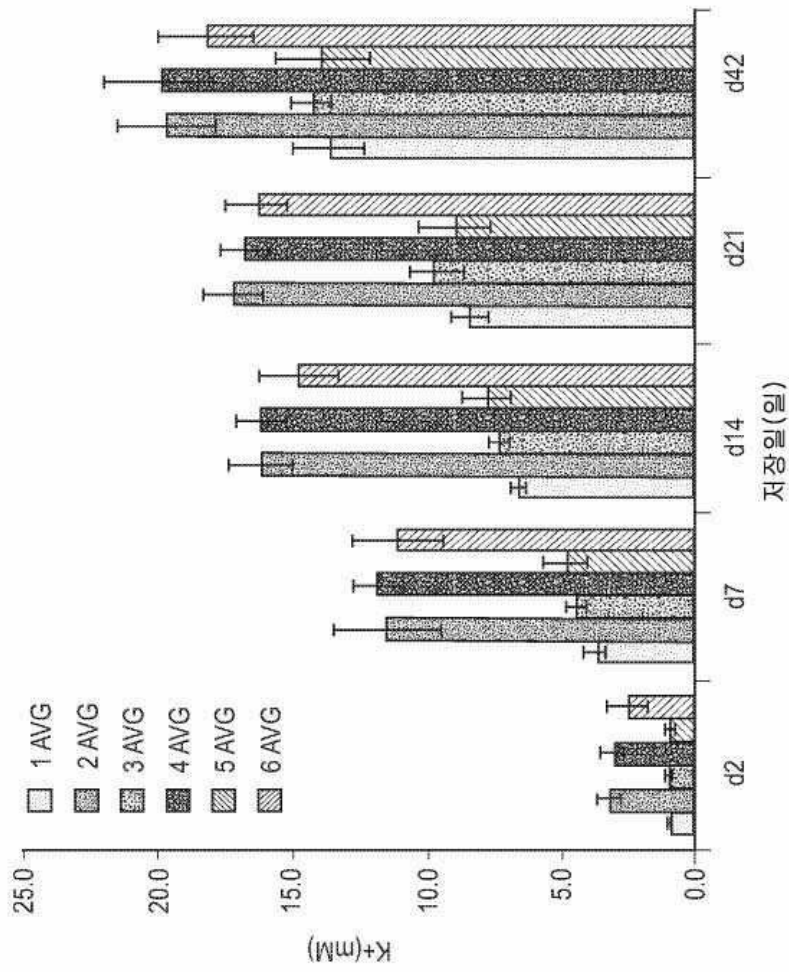
도면5



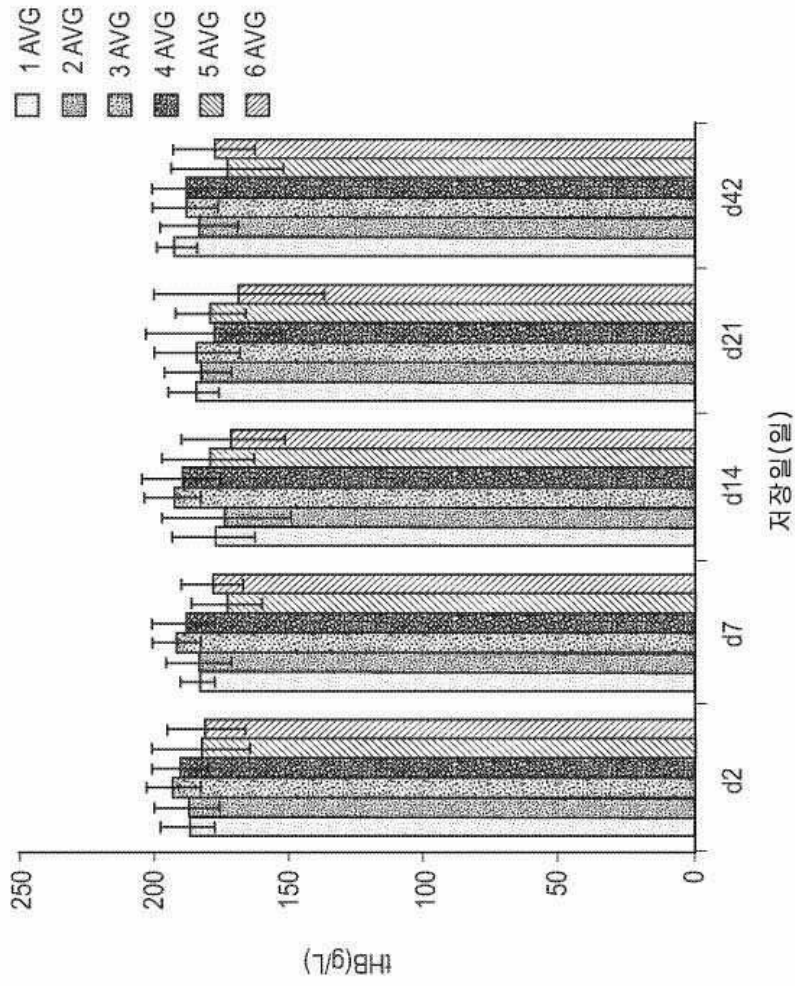
도면6a



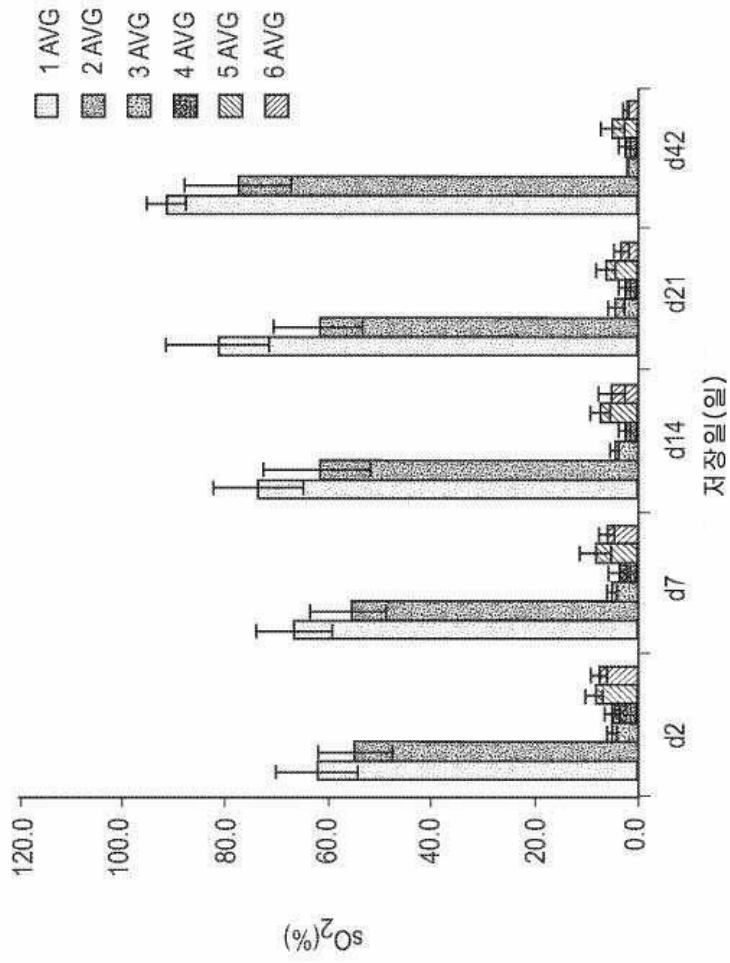
도면6b



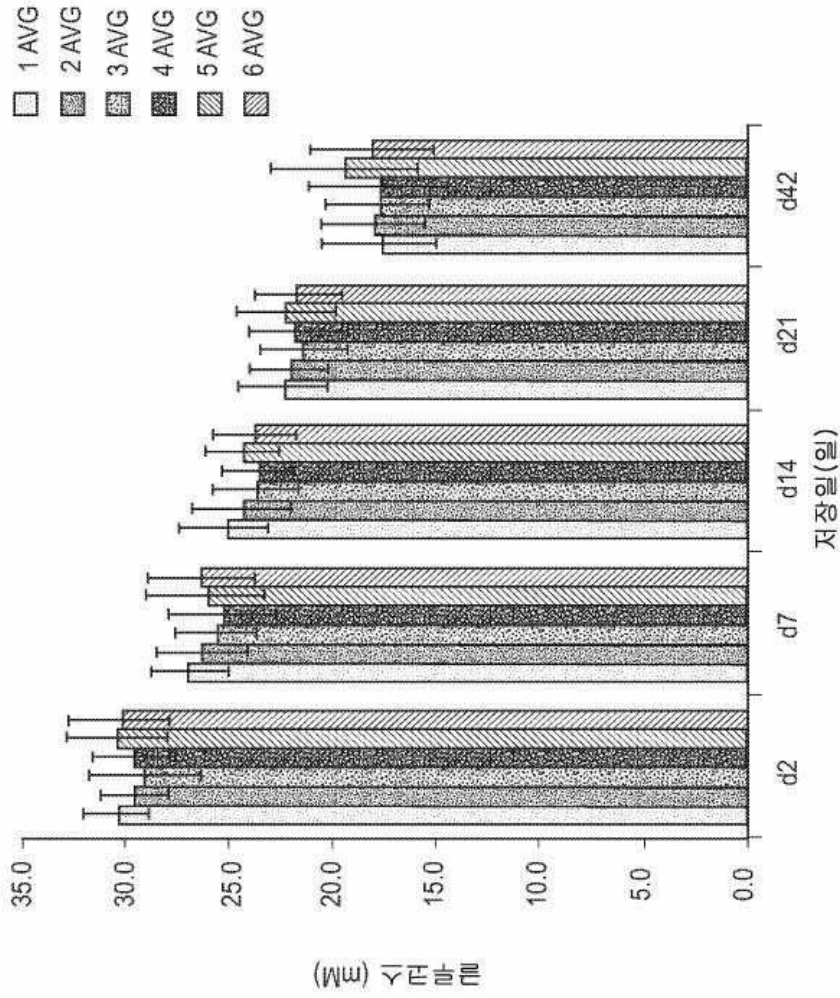
도면6c



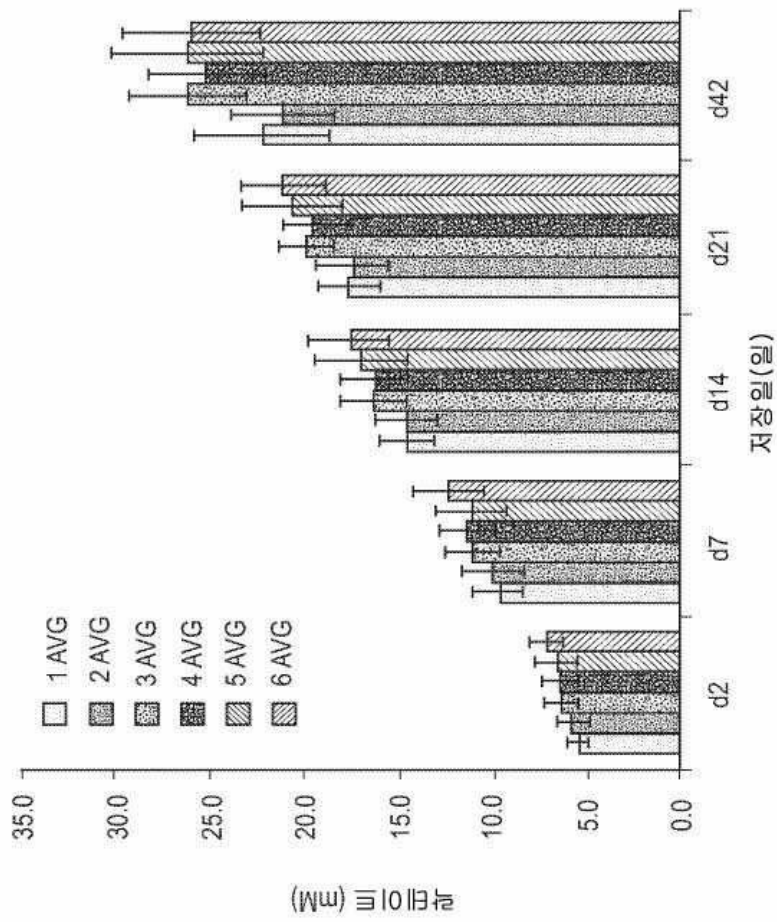
도면6d



도면6e



도면6f



도면6g

