

【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1月8日(2025.1.8)

【国際公開番号】WO2023/190300

【出願番号】特願2024-512437(P2024-512437)

【国際特許分類】

C 1 2 P 21/02(2006.01)

C 0 7 K 16/00(2006.01)

C 1 2 P 21/08(2006.01)

10

【F I】

C 1 2 P 21/02 C

C 0 7 K 16/00

C 1 2 P 21/08

【手続補正書】

【提出日】令和6年9月18日(2024.9.18)

【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

20

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

培養容器内で細胞を培養することを含む、生産物の生産方法であって、
前記培養が灌流培養方式であり、

目標となる生細胞密度に到達した後の生産物の生産期間において、式(1)~(5)を満たし、

前記生産期間中のVCDの変動が、前記生産期間中の平均生細胞密度に対して±20%以下であり、

30

前記生産期間中のVCVの変動が、前記生産期間中のVCVの平均値に対して±20%以下である、

生産物の生産方法。

0 Gln - C 2.5 式(1)

0.5 Gluc - C 8.0 式(2)

1.0 NH4 - C 8.0 式(3)

50 VCD 300 式(4)

0.6 × 10⁵ VCV 4.0 × 10⁵ 式(5)

式中、

Gln - Cは、培養液中のグルタミン濃度 [mmol/L] を示し、

Gluc - Cは、培養液中のグルコース濃度 [g/L] を示し、

NH4 - Cは、培養液中のアンモニア濃度 [mmol/L] を示し、

VCDは、生細胞密度 [×10⁶ cells/mL] を示し、

VCVは、VCD × / 6 × Cd³ [×10⁶ μm³/mL] を示し、

Cdは、生細胞の平均径 [μm] を示す。

40

【請求項2】

前記生産期間中のVCDの変動が、前記生産期間中の平均生細胞密度に対して±20%以下となるように、培養液をブリーディングする、請求項1に記載の生産物の生産方法。

【請求項3】

前記ブリーディングにおいて、培養液の静電容量をインライン計測しながら培養液をブリー

50

ーディングする、請求項 2 に記載の生産物の生産方法。

【請求項 4】

前記ブリーディングが自動で制御されている、請求項 3 に記載の生産物の生産方法。

【請求項 5】

前記インライン計測される培養液の静電容量の変動が、前記生産期間中の静電容量の平均値に対して $\pm 20\%$ 以下である、請求項 3 又は 4 に記載の生産物の生産方法。

【請求項 6】

前記ブリーディングが、

- (i) ターゲットとなる静電容量を設定すること；
 - (i i) 培養容器の重量制御値を設定すること；
 - (i i i) 培養液の静電容量を 0.1 秒以下の周期で測定すること；
 - (i v) 培養液の静電容量が前記ターゲットを越えたら、培養液を引き抜くポンプを $0.3 \text{ v v d} \sim 3 \text{ v v d}$ の速度で運転すること（ここで、 v v d は、引き抜かれる培養液の体積 / 培養液の体積 / d a y を意味する）；
 - (v) 培養液の液量の変動が 10% 以内になるよう、培養液の質量を測定しながら、培養容器に培地を自動供給すること；および
 - (v i) 培養液の静電容量が前記ターゲットを 0.01% 以上下回ったら、培養液を引き抜くポンプを停止すること、
- を含む、請求項 3 又は 4 に記載の生産物の生産方法。

【請求項 7】

前記生産期間において、式 (6) を満たす、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の生産物の生産方法。

$$2 \text{ LDH} / \text{VCD} \leq 40 \quad \text{式 (6)}$$

式中、 LDH は、培養液中の乳酸脱水素酵素の濃度 $[\text{U} / \text{L}]$ を示し、

VCD は、生細胞密度 $[\times 10^6 \text{ cells} / \text{mL}]$ を示す。

【請求項 8】

細胞が動物細胞である、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の生産物の生産方法。

【請求項 9】

細胞が、タンパク質を産生する細胞である、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の生産物の生産方法。

【請求項 10】

細胞が、抗体を産生する細胞である、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の生産物の生産方法。

【請求項 11】

細胞が、 CHO 細胞である、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の生産物の生産方法。

【請求項 12】

目標となる生細胞密度に到達した後の生産物の生産期間において、式 (2 B) を満たす、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の生産物の生産方法。

$$1.5 \text{ Gluc} - \text{C} \leq 5.0 \quad \text{式 (2 B)}$$

式中、 $\text{Gluc} - \text{C}$ は、培養液中のグルコース濃度 $[\text{g} / \text{L}]$ を示す。

【請求項 13】

請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の生産物の生産方法により生産される生産物。

【請求項 14】

生産物に含まれる N 型糖鎖全体におけるマンノース 5 の割合が 7% 以下である、請求項 13 に記載の生産物。

10

20

30

40

50