

【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6年12月17日(2024.12.17)

【国際公開番号】WO2023/190829
 【出願番号】特願2024-512772(P2024-512772)

【国際特許分類】

C 1 2 P 2 1 / 0 8 (2 0 0 6 . 0 1)

C 1 2 N 5 / 1 0 (2 0 0 6 . 0 1)

【 F I 】

C 1 2 P 2 1 / 0 8

C 1 2 N 5 / 1 0

10

【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

【補正方法】変更

【補正の内容】

20

【特許請求の範囲】

【請求項1】

細胞を培養することを含む、生産物の製造方法であって、
 生産物の生産時における細胞密度が $80 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 以上 $300 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ の灌流培養であり、灌流培養の期間は13日以上500日以下であり、
 前記灌流培養の期間のうち少なくとも1日以上でアルカリが添加され、
 前記灌流培養の期間のうち少なくとも1日以上の期間において、1日あたりのアルカリ添加速度である $X [\text{mol/L/day}]$ が、 $0 < X < 0.029$ の範囲で制御され、添加されるアルカリ水溶液のpHは、 $7 < \text{pH} < 13$ である、
 生産物の製造方法。

30

【請求項2】

前記灌流培養における細胞密度が $100 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 以上 $300 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 以下である、請求項1に記載の生産物の製造方法。

【請求項3】

前記灌流培養の期間が18日以上500日以下である、請求項1又は2に記載の生産物の製造方法。

【請求項4】

生産物の生産のための培養の期間が、5日以上450日以下である、請求項1又は2に記載の生産物の製造方法。

【請求項5】

前記灌流培養の期間のうち少なくとも13日以上の期間において、1日あたりのアルカリ添加速度である $X [\text{mol/L/day}]$ が、 $0 < X < 0.008$ の範囲で制御される、請求項1又は2に記載の生産物の製造方法。

40

【請求項6】

前記灌流培養の期間のうち少なくとも13日以上の期間において、1日あたりのアルカリ添加速度である $X [\text{mol/L/day}]$ が0である、請求項1又は2に記載の生産物の製造方法。

【請求項7】

前記灌流培養の期間のうち50%以上の期間において、1日あたりのアルカリ添加速度である $X [\text{mol/L/day}]$ が、 $0 < X < 0.029$ の範囲で制御される、請求項1又

50

は 2 に記載の生産物の製造方法。

【請求項 8】

前記灌流培養における細胞培養液の連続分離方法が、膜濾過である、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

【請求項 9】

前記膜濾過が、A T F と称される交互接線流濾過である、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

【請求項 10】

濾過時の流束である $Y [L / m^2 / h o u r]$ が、 $0 < Y < 10$ である、請求項 8 に記載の生産物の製造方法。

10

【請求項 11】

前記培養中の培養液の平均 pH が 6.7 ~ 7.2 である、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

【請求項 12】

前記培養中の培養液の最低 pH が 6.6 以上である、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

【請求項 13】

前記培養中の培養液の pH が、培養液中の pH をインラインで測定しながら、自動でアルカリ水溶液を添加することにより制御される、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

20

【請求項 14】

前記灌流培養において、細胞密度が $80 \times 10^6 \text{ cells / mL}$ 以上である目標細胞密度に到達した後に、細胞を含む培養液を取り出すことにより、細胞密度を、前記目標細胞密度 $\pm 40\%$ 以内に維持し、細胞密度が前記目標細胞密度 $\pm 40\%$ 以内に維持された期間において、生産物を回収する、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

【請求項 15】

前記灌流培養において、細胞密度が $80 \times 10^6 \text{ cells / mL}$ 以上である目標細胞密度に到達した後に、1日につき少なくとも1度以上細胞を含む培養液を取り出すことにより、細胞密度を、前記目標細胞密度 $\pm 10\%$ 以内に調整することを含む、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

30

【請求項 16】

前記細胞密度が $80 \times 10^6 \text{ cells / mL}$ 以上に維持される期間の溶存 CO_2 濃度が $60 \sim 180 \text{ mmHg}$ である、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

【請求項 17】

前記アルカリが NaHCO_3 および / または Na_2CO_3 である、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

【請求項 18】

前記アルカリが NaHCO_3 である、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

【請求項 19】

前記アルカリ水溶液の濃度 $Z [\text{mol / L}]$ が、 $0 < Z < 5$ である、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

40

【請求項 20】

灌流培養において添加される培地の pH が 7.0 ~ 8.0 である、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

【請求項 21】

アルカリを添加せずに培養を行う場合において培養液の pH が低下する場合には、アルカリを追加した培地を供給することにより、培養液の pH を制御する、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

【請求項 22】

培養液の pH が 6.85 を下回ったときに、 $1.0 \times 10^{-3} \sim 2.0 \text{ mol / L}$ のアル

50

カリを追加した培地を供給することを含む、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

【請求項 23】

前記灌流培養においてジメチコンを含有する消泡剤が添加され、

前記アルカリの添加速度である X [mol / L / day] と、前記ジメチコンの添加速度である B [g / L / day] とが、 $B < -0.79X + 0.0228$ を満たす、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

【請求項 24】

細胞を培養することを含む、生産物の製造方法であって、

生産物の生産時における細胞密度が 80×10^6 cells / mL 以上 300×10^6 c

e l l s / m L の灌流培養であり、灌流培養の期間は 13 日以上 500 日以下であり、

前記灌流培養の期間のうち少なくとも 1 日以上期間において、1 日あたりのアルカリ添加速度である X [mol / L / day] が、 $0 < X < 0.029$ の範囲で制御され、添加されるアルカリ水溶液の pH は、 $7 < \text{pH} < 13$ であり、

アルカリを追加せずに培養を行う場合において培養液の pH が低下する場合には、アルカリを追加した培地を供給することにより、培養液の pH を制御し、

培養液の pH が 6.85 を下回ったときに、 $1.0 \times 10^{-3} \sim 2.0$ mol / L のアルカリを追加した培地を供給することを含む、

生産物の製造方法。

【請求項 25】

前記細胞が動物細胞である、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

【請求項 26】

前記細胞が CHO 細胞である、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

【請求項 27】

前記生産物が抗体である、請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法。

【請求項 28】

請求項 1 又は 2 に記載の生産物の製造方法により製造される、生産物。

10

20

30

40

50