

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6840219号
(P6840219)

(45) 発行日 令和3年3月10日 (2021.3.10)

(24) 登録日 令和3年2月18日 (2021.2.18)

(51) Int. Cl.	F I
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	C 1 2 M 1/00 D
C 1 2 M 1/04 (2006.01)	C 1 2 M 1/04
C 1 2 M 1/10 (2006.01)	C 1 2 M 1/10
C 1 2 N 1/00 (2006.01)	C 1 2 N 1/00 A

請求項の数 45 (全 33 頁)

(21) 出願番号	特願2019-500050 (P2019-500050)	(73) 特許権者	518327017
(86) (22) 出願日	平成28年10月4日 (2016.10.4)		パテル ラビンドラカマー ディラブハイ
(65) 公表番号	特表2019-512270 (P2019-512270A)		PATEL, Ravindrakumar
(43) 公表日	令和1年5月16日 (2019.5.16)		Dhirubhai
(86) 国際出願番号	PCT/IN2016/050336		インド 382421 グジャラート, ア
(87) 国際公開番号	W02017/158611		ーメダバード, ロイヤル レジデンシー
(87) 国際公開日	平成29年9月21日 (2017.9.21)		エヌアール, バンデマトラム シティー
審査請求日	平成31年2月12日 (2019.2.12)		エヌアール, ゴータ レイルウェイ クロ
(31) 優先権主張番号	201621008865		ッシング ゴータ, B-202
(32) 優先日	平成28年3月14日 (2016.3.14)		B-202, Royal Residen
(33) 優先権主張国・地域又は機関	インド (IN)		cy Nr. Vandematram C
前置審査			ity Nr. Gota Railway
			Crossing Gota, Ahme
			dabad, Gujarat 38242
			1 (IN)
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 バイオリアクタシステム及びその方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

生物学的材料、細胞、化学物質又は酵素を処理、繁殖、培養、閉じ込め又はカプセル化するためのバイオリアクタシステムであって、少なくとも1つの培養容器（1）と、少なくとも1つの支持マトリックス（2）と、少なくとも1つの再循環ループ導管（5）と、少なくとも1つの流体ポンピング手段（3）と、少なくとも1つのガス交換手段（4）とを備え、

前記少なくとも1つの培養容器（1）は、流体培地を収容し、入口ポート（1a）及び出口ポート（1b）を有し、少なくとも1つの流体イン／アウト導管（14）、及び少なくとも1つの検知素子（15）を収容するように配置され、細胞を培養するためのプロセスが前記少なくとも1つの培養容器（1）内で行われ、前記少なくとも1つの流体イン／アウト導管（14）は、接種導管及びサンプリング導管を含み、培養プロセスの所望の代謝状態を維持するように培養プロセスの完了後に流体を供給し及びそこから流体を排出するためのものであり、前記少なくとも1つの検知素子（15）は、温度、圧力、pH、酸素、二酸化炭素、及びプロセス中に測定及び制御することが重要な他の代謝物のためのものであり、

前記少なくとも1つの支持マトリックス（2）は、適切な材料から作製され且つ前記培養容器（1）内に収容され、前記支持マトリックス（2）は、前記容器（1）内に中心に及び長手方向に伸びる少なくとも1つの回転可能な中心軸（9）と、前記中心軸（9）を回転可能に設置するための少なくとも1つの支持フレームワークリング（6）と、少なく

10

20

とも1つの軸取り付けフレーム(6c)と、中心軸(9)に対して培養容器(1)内に半径方向に及び平行に延びる複数の回転可能な周辺軸(10)と、細胞付着及び細胞増殖のための基材を提供するために、中心軸(9)及び周辺軸(10)に中心に及び長手方向に搭載された複数の積層された離間したディスク(11)と、間隔の空間(11a)を限定するための2つの連続するディスク(11)の間に位置するスペーサーと、容器(1)内の混合条件を改善するように半径方向の流体流れを形成するための1つ以上のバッフリング手段と、中心軸(9)、周辺軸(10)及びバッフリング手段の回転のための1つ以上の回転手段(13)と、中心軸(9)及び周辺軸(10)の円滑な回転を支持するための軸駆動機構(16)とを含み、

前記少なくとも1つの再循環ループ導管(5)は、再循環ループ(A)を形成するために培養容器(1)へ／からの流体の無菌移送を支持するように前記入口ポート(1a)と前記出口ポート(1b)との間を外部的にかつ流体的に接続され、

前記少なくとも1つの流体ポンピング手段(3)は、プロセスの所望の操作のために再循環ループ(A)を通る所望の流体流れを生成し、前記再循環ループ導管(5)に設置され、培地、供給物、バッファー及び他のプロセスの要求を移送し、

前記少なくとも1つのガス交換手段(4)は、再循環ループ(A)を通る流体の循環中に一方の相から他方の相への流体の効率的な物質移動のために、再循環ループ導管(5)に設置され、

1つの幾何学的平面で前記周辺軸(10)に搭載された各ディスク(11)は、前記中心軸(9)に搭載された2つの連続するディスク(11)の間に作成された間隔の空間(11a)に部分的且つ実質的に回転可能に侵入しその空間を占有し、

前記バッフリング手段は、1つ以上の回転可能な偏向羽根(12)からなり、前記1つ以上の回転可能な偏向羽根(12)は、前記中心軸(9)及び周辺軸(10)に搭載されたディスク(11)を半径方向に及び平行に囲むように前記培養容器(1)の軸方向長さに沿って延び、且つバッフル取り付けリング(8)に取り付けられ、前記偏向羽根(12)の角度は、前記バッフル取り付けリング(8)の外周の接線方向に対して実質的に約45°の角度をなす、ことを特徴とするバイオリアクタシステム。

【請求項2】

前記システムは、プロセスの要求に応じて流体源を提供する少なくとも1つの流体リザーバを備える、ことを特徴とする請求項1に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項3】

前記システムは、培養プロセス中にプロセスパラメータを監視及び制御する少なくとも1つのプロセス制御システムを備える、ことを特徴とする請求項1に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項4】

前記システムは、前記回転手段(13)を介して軸及びバッフリング手段を回転させるための1つ以上の運動エネルギー源(19)を備える、ことを特徴とする請求項1に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項5】

前記培養容器(1)には、バイオリアクタ培養容器(1)内の流体内容物及び流体体積を正確に測定するための1つ以上の重量検知素子が備えられる、ことを特徴とする請求項1に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項6】

前記培養容器(1)には、少なくとも1つのガス供給導管及びガス排出導管又はエアベントが備えられる、ことを特徴とする請求項1に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項7】

前記ディスク(11)は、著しく増加した表面積を提供し、2D又は3Dの細胞及び組織培養を支持するために、繊維質又は多孔性材料から作製される、ことを特徴とする請求項1に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項8】

前記ディスク（１１）は、機能的強度を提供し、細胞の多層構造を支持する剛性で透明な材料から作製される、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項９】

前記ディスク（１１）は、追加の乱流及びより効率的な流体流れを提供するために、開口又は穴を有するように作製される、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項１０】

前記ディスク（１１）は、活性成分、粒子、化学若しくは生化学部分又は分子が閉じ込め、カプセル化又は表面被覆された材料で作製される、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

10

【請求項１１】

前記ディスク（１１）は、細胞培養担体をパッキングすることによって作製される、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項１２】

６つの周辺軸（１０）が中心軸（９）の周囲に配置され、それにより、１つの幾何平面内にあるときに、３つの交互の周辺軸に搭載された前記ディスク（１１）は、中心軸（９）に搭載された２つの連続するディスク（１１）の間に形成された間隔の空間（１１ａ）に部分的且つ実質的に侵入し占有する、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項１３】

20

２つの周辺軸（１０）が中心軸（９）の周囲に配置され、それにより、１つの幾何平面内にあるときに、周辺軸（１０）に搭載されたディスク（１１）は、中心軸（９）に搭載された２つの連続するディスクの間に形成された間隔の空間（１１ａ）を部分的且つ実質的に占有する、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項１４】

３つの周辺軸（１０）が中心軸（９）の周囲に配置され、それにより、周辺軸（１０）に搭載されたディスク（１１）は、中心軸（９）に搭載された２つの連続するディスクの間に形成された間隔の空間（１１ａ）を部分的且つ実質的に占有する、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項１５】

30

６つ以上の周辺軸（１０）が中心軸（９）の周囲に異なる連続的なペリセントリック直径で配置され、それにより、３つの交互の周辺軸に搭載された前記ディスクは、中心軸（９）に搭載された２つの連続するディスクの間に形成された間隔の空間を部分的且つ実質的に占有し、最外側の周辺軸（１０）の前記ディスクは、内周の周辺軸の連続するディスクの間の間隔の空間（１１ａ）に部分的に侵入する、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項１６】

前記偏向羽根（１２）の形状は、最大の接線方向の流体流れのために、実質的に平坦である、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項１７】

40

前記偏向羽根は、付加的な半径方向及び軸方向の流れを提供するために、湾曲形状、捻れ形状及び／又は角のある形状を有する、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項１８】

前記偏向羽根（１２）は、インペラ羽根が成形されたバッフル取り付けプレート（８）上に成形される、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項１９】

前記バッフルリング手段は、中心軸（９）に固定的に搭載され、前記中心軸（９）の回転から回転エネルギーを取得する、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

50

【請求項 2 0】

前記バッフリング手段は、前記中心軸（９）に回転可能に搭載され、前記バッフリング手段に取り付けられた回転手段から回転エネルギーを取得し、それにより、バッフル取り付けリング（８）に搭載された前記偏向羽根（１２）の回転速度は、軸の回転とは独立して選択的に制御される、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項 2 1】

前記バッフリング手段は、前記偏向羽根（１２）が上流端から下流端に半径方向に持ち上げられ且つ前記支持マトリックス（２）を囲むように、前記容器（１）の上流端に搭載される、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項 2 2】

前記バッフリング手段は、前記偏向羽根（１２）が下流端から上流端に半径方向に持ち上げられ且つ前記支持マトリックス（２）を囲むように、前記容器（１）の下流端に搭載される、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項 2 3】

前記バッフリング手段上の偏向羽根（１２）は螺旋状であり、前記中心軸（９）に固定的に搭載されて、前記バッフリング手段のための回転エネルギーが前記容器（１）の一端から他端へ流れる流体の流れから得られ、前記バッフリング手段の回転により、中心軸及び周辺軸が外部回転手段なしで回転する、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項 2 4】

前記培養容器（１）の壁は、酸素及び二酸化炭素ガスを含む流体間の直接的且つ迅速な物質移動のためのガス交換手段を収容するように作製される、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項 2 5】

前記ガス交換手段は、ガス透過性シリコンチューブ及び／又はガス透過性膜を含む、ことを特徴とする請求項２４に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項 2 6】

前記培養容器（１）の壁は、温度調整素子を収容するように作製される、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項 2 7】

前記温度調整素子は、水循環ジャケット及びシリコンラバーヒータを含む、ことを特徴とする請求項２６に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項 2 8】

前記培養容器（１）は、非使い捨ての材料から作製され、使い捨ての支持マトリックスを収容する、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項 2 9】

前記培養容器（１）は、非使い捨ての材料から作製され、非使い捨ての支持マトリックス構成要素を収容する、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項 3 0】

１つ以上のバイオリアクタシステム構成要素は、前記バイオリアクタが一回使用の使い捨てのシステムとして使用できるように、適切な高分子材料から作製される、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項 3 1】

１つ以上のバイオリアクタシステム構成要素は、バイオリアクタが予め滅菌されて一回使用の使い捨てのシステムとして使用されるように、ガンマ線安定性の適切な高分子材料から作製される、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項 3 2】

１つ以上のバイオリアクタシステム構成要素は、前記バイオリアクタが蒸気滅菌後に一回使用の使い捨てのシステムとして使用されるように、蒸気滅菌安定性の適切な高分子材料から作製される、ことを特徴とする請求項１に記載のバイオリアクタシステム。

10

20

30

40

50

【請求項 33】

前記培養容器（１）は、使用中及び操作中に実質的に水平に位置する、ことを特徴とする請求項 1 に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項 34】

前記培養容器（１）は、使用中及び操作中に実質的に垂直に位置する、ことを特徴とする請求項 1 に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項 35】

前記培養容器（１）は、使用中及び操作中にプロセスの要求に応じて、ある程度まで実質的に角度付けられて又は傾斜して位置する、ことを特徴とする請求項 1 に記載のバイオリアクタシステム。

10

【請求項 36】

前記培養容器（１）は、使用中及び操作中に流体によって完全に満たされる、ことを特徴とする請求項 1 に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項 37】

前記培養容器（１）は、使用中及び操作中に追加のガス交換のためのオーバーレイ空間（２３）を形成するように、流体によって部分的に満たされる、ことを特徴とする請求項 1 に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項 38】

２つ以上の培養容器（１）は、流体経路に沿って平行に又は直列に配置される、ことを特徴とする請求項 1 に記載のバイオリアクタシステム。

20

【請求項 39】

前記ディスクの表面に接着する生物細胞又は前記支持マトリックスのディスク（１１）の表面にコーティングされた活性成分若しくは粒子を分離するように、前記支持マトリックス（２）の表面に効果的に振動運動を加えるために、振動工具又は超音波処理プローブが培養容器壁を通して前記支持マトリックス（２）に挿入する、ことを特徴とする請求項 1 に記載のバイオリアクタシステム。

【請求項 40】

生物学的材料、細胞、化学物質又は酵素を処理、繁殖、培養、閉じ込め又はカプセル化するためのバイオリアクタシステムであって、少なくとも１つの培養容器（１）と、少なくとも１つの支持マトリックス（２）と、少なくとも１つの再循環ループ導管（５）と、少なくとも１つの流体ポンピング手段（３）と、少なくとも１つのガス交換手段（４）とを備え、

30

前記少なくとも１つの培養容器（１）は、流体培地を収容し、入口ポート（１a）及び出口ポート（１b）を有し、少なくとも１つの流体イン／アウト導管（１４）、及び少なくとも１つの検知素子（１５）を収容するように配置され、細胞を培養するためのプロセスが前記少なくとも１つの培養容器（１）内で行われ、前記少なくとも１つの流体イン／アウト導管（１４）は、接種導管及びサンプリング導管を含み、培養プロセスの所望の代謝状態を維持するように培養プロセスの完了後に流体を供給し及びそこから流体を排出するためのものであり、前記少なくとも１つの検知素子（１５）は、温度、圧力、pH、酸素、二酸化炭素、及びプロセス中に測定及び制御することが重要な他の代謝物のためのものであり、

40

前記少なくとも１つの支持マトリックス（２）は、適切な材料から作製され且つ前記培養容器（１）に覆われていないか又は収容されておらず、前記支持マトリックス（２）は、前記容器（１）内に中心に及び長手方向に伸びる少なくとも１つの回転可能な中心軸（９）と、前記中心軸（９）を回転可能に設置するための少なくとも１つの支持フレームワークリング（６）と、少なくとも１つの軸取り付けフレーム（６c）と、中心軸（９）に対して培養容器（１）内に半径方向に及び平行に延びる複数の回転可能な周辺軸（１０）と、細胞付着及び細胞増殖のための基材を提供するために、中心軸（９）及び周辺軸（１０）に中心に及び長手方向に搭載された複数の積層された離間したディスク（１１）と、間隔の空間（１１a）を限定するための２つの連続するディスク（１１）の間に位置する

50

スパーサーと、容器（１）内の混合条件を改善するように半径方向の流体流れを形成するための１つ以上のバッフリング手段と、中心軸（９）、周辺軸（１０）及びバッフリング手段の回転のための１つ以上の回転手段（１３）と、中心軸（９）及び周辺軸（１０）の円滑な回転を支持するための軸駆動機構（１６）とを含み、

前記少なくとも１つの再循環ループ導管（５）は、再循環ループ（Ａ）を形成するために培養容器（１）へ／からの流体の無菌移送を支持するように前記入口ポート（１ａ）と前記出口ポート（１ｂ）との間を外部的にかつ流体的に接続され、

前記少なくとも１つの流体ポンピング手段（３）は、プロセスの所望の操作のために再循環ループ（Ａ）を通る所望の流体流れを生成し、前記再循環ループ導管（５）に設置され、培地、供給物、バッファー及び他のプロセスの要求を移送し、

前記少なくとも１つのガス交換手段（４）は、再循環ループ（Ａ）を通る流体の循環中に一方の相から他方の相への流体の効率的な物質移動のために、再循環ループ導管（５）に設置され、

１つの幾何学的平面で前記周辺軸（１０）に搭載された各ディスク（１１）は、前記中心軸（９）に搭載された２つの連続するディスク（１１）の間に作成された間隔の空間（１１ａ）に部分的且つ実質的に回転可能に侵入しその空間を占有し、

前記バッフリング手段は、１つ以上の回転可能な偏向羽根（１２）からなり、前記１つ以上の回転可能な偏向羽根（１２）は、前記中心軸（９）及び周辺軸（１０）に搭載されたディスク（１１）を半径方向に及び平行に囲むように前記培養容器（１）の軸方向長さに沿って延び、且つバッフル取り付けリング（８）に取り付けられ、前記偏向羽根（１２）の角度は、前記バッフル取り付けリング（８）の外周の接線方向に対して実質的に約４５°の角度をなす、ことを特徴とするバイオリアクタシステム。

【請求項４１】

請求項１－４０のいずれか一項に記載の生物細胞を培養するためのバイオリアクタシステムを操作する方法であって、

A. ある量の流体（培養培地）を培養容器（１）に添加するステップと、
B. 前記生物細胞の増殖を促進するために培養培地に材料を添加するステップと、
C. 前記培養培地への及び前記培養培地からのプロセスガスの効率的な物質移動のためのガス交換機構（４）によってガス供給を開始するステップと、

D. 所望の量の生物細胞を前記容器（１）に加えて培養プロセスに播種するステップと、
E. 軸回転及びバッフリング手段の回転のための支持マトリックス（２）に搭載された回転手段（１３）に運動エネルギー源を供給することによって、培養プロセスを開始するステップと、

F. 制御された速度でプロセス流体を添加するために提供された検知素子（１５）、プロセス制御手段、ポンピング手段及び導管を用いて、最適なレベルで培養パラメータを測定し制御するステップと、

G. バイオプロセスの灌流モードでプロセスの安定した状態の操作を達成するために、容器（１）から流体出口導管を介して制御された速度で製品流（流体）を部分的に収集し、制御された速度で新鮮な栄養豊富な培地を添加し、一定の流体体積を維持するステップと、

H. 所望量の生成物を生成すると、バイオリアクタ容器（１）の採取を開始するステップを含む、ことを特徴とする方法。

【請求項４２】

生物学的材料、酵素、触媒タンパク質又はタンパク質の活性部位は、ディスク（１１）の表面上にコーティングされ、埋め込まれ又はカプセル化され、ステップＡ～Ｈを実施する、ことを特徴とする請求項４１に記載の方法。

【請求項４３】

化合物、有機化合物又は無機化合物又はそれらの官能基や活性部位は、ディスク（１１）の表面上にコーティングされ、埋め込まれ又はカプセル化され、ステップＡ～Ｈを実施

10

20

30

40

50

する、ことを特徴とする請求項４１に記載の方法。

【請求項４４】

流出液流の処理及び様々なバイオレメディエーションプロセスのためのバイオリアクタシステムの使用を可能にするように、表面上の微生物の増殖を支持するために、適切な材料から大型のディスク（１１）を作製し、ステップＡ～Ｈを実施する、ことを特徴とする請求項４１に記載の方法。

【請求項４５】

化学的、生化学的物質又は生体でディスク（１１）をコーティングし、バイオフィルタ又はケミカルフィルターとしての前記リアクタの作動のために、入口ガスから除去するのに不可欠な産業廃ガス又は他の揮発性物質を含む前記容器の入口ポートからガス形態の流体を流し、プロセス要求に従って様々なガス状混合物を処理又は洗浄し、ステップＡ～Ｈを実施する、ことを特徴とする請求項４１に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明はバイオリアクタに関し、特に、様々なタイプの細胞の培養及び大規模培養の支持並びにスケーラブルな支持マトリックス上の材料の処理のためのシステム及び方法に関する。

【背景技術】

【０００２】

バイオリアクタシステムは、生物学的材料の合成のためにますます使用されている。その中で、哺乳動物細胞株は、診断及び治療用途のための様々な組換えタンパク質を産生するために、生物医薬産業によって一般に使用されている。増大する市場の需要を満たすためには、大規模で高密度の細胞培養が必要である。製品経済を改善するために、生細胞密度の最大化及び最終生成物力価を増加させるための培養寿命の延長のための細胞培養条件の最適化は、大規模プロセス開発において最も重要な目標となっている。現在のバイオテクノロジー生産における圧力は、スピードの向上、コストの削減、柔軟性の向上に向けられている。理想的には、生産ユニットはコンパクトで（より少ない投資を必要とし）、モジュール式であるべきである

【０００３】

より新しい製品が承認されているため、哺乳動物細胞培養由来の治療用タンパク質に対する需要は伸び続けている。抗体や受容体結合タンパク質などのより新しい製品の一部は、より高用量で投与する必要があるため、これは、以前の製品の場合よりも大量の生産を必要とする。結果として、追加の装置への最小限の投資で哺乳動物細胞培養バイオリアクタの生産性を増加させる必要が依然としてある。

【０００４】

哺乳動物細胞は、天然ヒトタンパク質と類似のグリコシル化プロファイルを有する多種多様なタンパク質を発現する能力があるために、ヒト使用のための組換えタンパク質を製造するための好ましい発現系である。

【０００５】

攪拌型バイオリアクタにおける生産は、スケールアップするのは比較的簡単であるが、達成される比較的低い細胞密度を補うために大きな培養体積（即ち、 $10 \sim 20 \text{ m}^3$ ）を必要とする。典型的には、懸濁培養における細胞密度は、 $10^6 \sim 10^7$ 細胞・ m l^{-1} である。攪拌タンク中のバッチ培養と比較して、培地を一定容量の培養液中で適切な速度で灌流する灌流培養において、ほぼ１０倍高い細胞密度（すなわち、 $10^7 \sim 10^8$ 細胞・ m l^{-1} ）を達成することができ、細胞は様々な手段によってバイオリアクタ内に保持される。

【０００６】

細胞培養のために攪拌タンクバイオリアクタ技術を適合させるのは、無益な行使である。設計は、懸濁された細胞に対して本質的に高い局所的剪断速度を表し、スケールアップ

10

20

30

40

50

を非常に困難にし、懸濁液適合に必要な時間及び所望のクローンの選択がプロセスの確立及び経済について数えられるためである。流加バイオリアクタを用いて、培地充填バイオリアクタを用いて細胞を培養し、（例えば）8～21日後にバッチで採取する。対照的に、灌流バイオリアクタは、一般的に、さらに長い期間、数ヶ月でさえある、連続的な培養、供給及び使用済み培地の回収（採取）を含む。細胞は、特殊な濾過又は分離システムの使用により、毛細管線維又は他の膜上で増殖するように結合されるか、あるいは、バイオリアクタに保持されることによって、後者の中に保持される。

【0007】

培養中の多くの細胞の相対的な脆弱性を考慮すると、反応器の設計はプロセス経済性を向上させるのに重要な問題となる。培養環境に向けた動物細胞の要件の中で、流体力学的剪断応力は、考慮し、かつ可能な限り減少させるべき重要な部分である。一方、バイオリアクタ内の均質状態を維持し、連続プロセス中の塩基や培地、又は消泡剤のような供給物を迅速に分配するために、例えばスターラーによる十分な混合が提供されるべきである。

【0008】

造血細胞株及びその他の幾つかのものを除き、脊椎動物由来の細胞の大部分は足場依存性であり、細胞接着及び伸展を可能にするために特異的に処理される適切な基質上で培養されるべきである（即ち、組織培養処理）。しかしながら、多くの細胞株を懸濁培養に適合させることもできる。同様に、ほとんどの市販の昆虫細胞株は、単層又は懸濁培養で良好に増殖する。足場依存性細胞培養系の効率は、プレート、スパイラル、セラミック及びマイクロキャリアを使用して利用可能な表面積を増加させることに基づいている。ルー瓶、ローラーボトル、マルチトレイユニット、合成中空繊維カートリッジ、オプティセル（OptiCell）培養システム、プラスチックフィルム、ビーズベッドリアクター、マイクロキャリア培養物などは、現在使用されている様々な培養容器である。上記の培養容器はすべて、容器の設計及び複数のユニットの使用のために、増大した表面積を提供する。

【0009】

大量の非足場依存性細胞を産生するために、細胞は通常、各細胞が栄養素を十分に浴びること及び代謝性廃棄物が細胞から運び出されることを保証するように攪拌される栄養液体培地中に懸濁状態で増殖される。特定の割合の細胞は、インペラによる衝撃又は高剪断力によって破壊される。従来の懸濁培養から細胞を採取するためには、遠心分離機又は微多孔性フィルターの様な特殊な補充装置が必要である。また、栄養液の 1 cm^3 当たりの細胞濃度も比較的低い。

【0010】

バイオ医薬品の生産力と製造（Biopharmaceutical Manufacturing Capacity & Production）に関する最近の市場調査レポートには、バイオ医薬品企業がバイオプロセスに関連するすべての分野において予算を均一に増加していることが示されている。調査データによれば、産業界の専門家は、バイオプロセス装置（特にバイオリアクタ製品）の革新は明らかに不十分であり、業界の多くが灌流バイオリアクタの最近の進歩に気付いていないままであることについて、我慢できなくなっていることも示される。

【0011】

細胞密度が高いため、灌流システムの生産性は、同等の流加バイオリアクタの生産性より10倍高くなることができる。言い換えると、 2 m^3 の灌流培養はほぼ 20 m^3 のバッチ培養に等しい。灌流培養の欠点は、それらの複雑さやスケールアップにおける可能な困難を含む。例えば、懸濁細胞のための大規模な細胞保持デバイスは、まだ完全には満足できるものではない。

【0012】

細胞の増殖を促進するために、様々な種類の細胞培養システムが開発されている。そのような特許のリスト及びこれに関連する制限を以下に示す。英国特許第1,097,669号は、増殖培地用の容器と、容器内のラック上にスタックとして配置された一連の離間

10

20

30

40

50

したプレートを含む組織培養増殖器を記載している。プレートのスタックは、容器内に静止したままであり、容器内の増殖培地の必要な循環は、エアーリフトポンプによって達成される。使用時には、増殖させたい細胞を接種した増殖培地で容器を必要な程度まで満たし、細胞をプレートの表面に定着できるようにし、容器内の必要な循環をエアーリフトポンプ又は磁気攪拌若しくは振動攪拌によって産生する。

【0013】

このタイプの改良された装置は、スウェーデンの B i o t e c A B によって提案されており、この装置は円筒形容器内に回転可能なアキシアル軸に取り付けられたディスクのスタックを備える。使用時には、この装置は最初に垂直に、即ち、アキシアル軸が作業面に対して直角をなす状態で配置され、容器は栄養培地で満たされ、細胞はディスク表面上にプレATINGされる。次いで装置は水平位置に置かれ、栄養培地の約半分が容器から取り出され、軸及びディスクのスタックが回転して、ディスクの下部のみが容器内にある増殖培地を一度に通過する。

10

【0014】

英国特許第 1, 393, 654 号では、B i o t e c 装置のさらなる改良が提案されている。ここで、ディスクの直径と容器の直径との比は 0.80 : 1 ~ 0.90 : 1 である。さらに、ディスクの縁部と容器の内壁との間の距離は $1/2 \sim 3/4$ インチ (1.27 ~ 1.905 cm) であることが好ましい。ディスクの総表面積と容器の容量との比は 5.5 : 1 ~ 6.0 : 1 であることも好ましい。この装置及び B i o t e c 装置の動作の性質を考慮して、ディスクが増殖培地の内外を回転するときに細胞に生じる剪断力を最小にするためには、軸の回転を遅くする必要がある。

20

この装置の実際の最大値として、0.5 rpm 程度の回転速度が示唆されている。低速が頻繁に使用される。

【0015】

米国特許第 3407120 号の W e i s s 及び S c h l e i c h e r は、生細胞を増殖するための方法及び装置を発明した。その装置は、細胞が付着して増殖することができる複数の離間したプレートを備える。この装置は、栄養培地を含む容器又はタンク型コンテナ内に配置される。培地を混合及び酸素化するための手段が提供される。増殖させたい細胞を培地に植え付け、実質的にコンフルエントな細胞の単層がプレートの表面上に形成されるまで培地を酸素化して循環させることにより、装置内で細胞を増殖させることができる。

30

【0016】

米国特許 3933585 では、W i l l i a m J. M c A l e e r の主な目的は、最小の体積で細胞及びワクチンの最高の収率を得るために、表面積又は細胞プレATING面積と培地の体積との比を増加させることによって収率を増加させ、生産コストを削減することであった。彼らの発明は、スウェーデンの B i o t i c A. B. によって製造されたマルチプレート機械のさらなる進歩であった。B i o t e c 装置では、 $3.0 \text{ cm}^2 / \text{ml}$ に近くの表面積と体積との比が達成された。W i l l i a m J. M c A l e e r は、約 $1.7 \text{ cm}^2 / \text{ml} \sim 2.2 \text{ cm}^2 / \text{ml}$ の表面積と体積との比を有する装置を使用することによって、細胞及びワクチンの収率の顕著な増加が得られることを予想外に発見した。彼はまた、マルチプレート増殖器を利用することによって上記デバイスのいずれかを使用して産生された細胞及びワクチンの収率より著しく大きな細胞及びワクチンの収率を得ることができることを発見した。該マルチプレート増殖器は、プレート直径と内部タンク直径との臨界比を有するか、又はプレートの周囲とタンクの内壁との間の臨界距離を有する。臨界直径比は、B i o t e c ユニットの 0.96 と比較して、約 0.80 ~ 約 0.90、好ましくは約 0.82 ~ 約 0.84 であり得る。彼らは、各端部にフランジを有する円筒形のステンレススチール製のタンクを備える増殖器を開示した。

40

【0017】

上述した回転式の装置では、大規模な装置を考えるとときには、装置を垂直から水平に移動させる必要性は、実際の欠点となる。エアーリフトポンプを使用する増殖培地の循環は

50

、培地の許容できない発泡を伴わずに効率的に行うことができず、組織培養細胞の増殖及び代謝に悪影響を及ぼす消泡剤を添加する必要がある。必要な遅い回転速度は、後で添加される増殖培地成分及び他の試薬の混合を非効率的にし、且つ、不十分な混合により容器の内容物が均質システムとして機能できないため、容器内の条件の連続測定も信頼性を持たせることができない。

【0018】

米国特許第4343904号では、Birchらは、水平から少なくとも5°傾いた平行に離間したディスクのスタックを収容し回転可能なアキシアル軸に取り付けられた垂直に配置された円筒容器内で動物細胞を増殖させるバイオリアクタシステムを開示した。容器は、複数の入口を有する上部プレートと出口を有する下部プレートとによって閉じられ、容器の内容物を容器の底部から上部に循環させるための外部ポンプを含む。細胞の増殖は、動物細胞と増殖培地との混合物を容器に実質的に充填し、細胞をディスクの表面上に定着させ、次いで容器の内容物を容器の底部から上部に連続的に循環させながら少なくとも5rpmの速度でアキシアル軸を回転させることによって行われる。

このプロセス及び装置は、効率的な混合を提供し、容器内の均質システムを保証する。

【0019】

米国特許第US5168058号に開示された発明は、増殖のために固体表面を必要とする足場依存性細胞の培養に使用するための充填材料に関する。その発明の充填材料は、湾曲したシート材料のユニットの形態で提供され、個々のユニットは、一般に、約0.05mm~0.25mmの厚さを有し、他の寸法は、最大寸法1~数ミリメートル程度である。ねじれた矩形、シリンダのセグメント、コンピュレーテッド(convulated)リボン、ねじれ形状などの様々な形状を使用することができる。

【0020】

Developed by Glen Mills Inc. によって開発されたZRRPバイオリアクタを有するZellwerk細胞培養システムは、組み立て及び取り扱いが容易である。それは通常、灌流モードで操作され、非常に小体積で大量の細胞をホストする。センターピースは、細胞を培地及びオーバーレイに交互に曝露する選択された細胞キャリア又は組織キャリアが装着された磁気結合回転軸である。高度な多孔性のSponceramRディスクからインプラントスカフォールドまであらゆる種類のサポートをZRRPバイオリアクタに取り付けることができ、多様な培養オプションが得られる。すべての構成において、可能な限り良好な通気及び供給が保証される。穏やかな回転運動は、細胞及び組織を、剪断力によってストレスを受けずに接着及び増殖させるように刺激する。細胞集団は生存可能であり、多量の細胞外マトリックスを発現する。3次元高密度培養は、生存能力又は発現生産性を低下させることなく、数ヶ月に延長することができる。接着細胞の採取は、分離溶液と組み合わせて特異的な回転プログラムを用いて容易に達成される。

【0021】

接着細胞のための適切な大規模な増殖及び回収システムの欠如に応じて、PALLifeサイエンス(元々はATMILifeScienceによって開発された)は新たな2次元バイオリアクタであるIntegrity™Xpansion™MultiplateBioreactorを開発した。このバイオリアクタは、一連の積み重ねられたディスク又はプレートを含み、これらのディスク又はプレートは、垂直方向に上下に取り付けられ、液体培地は、円筒形の容器に積み重ねられたディスクによって生成される内部空間を流れる。その広い表面積とマルチプレート設計のために、このシステムは、従来のTフラスコ又は積み重ねられたトレイ方法から容易に適合されたプロセスで大量の細胞の生産を可能にする。Xpansionバイオリアクタは、Tフラスコと同じ条件及び表面において接着細胞増殖を可能にするように設計された。細胞は、積み重ねられたポリスチレンプレート上に接着し増殖する。%DO及びpHは、O₂及びCO₂の濃度が制御される気相での培地の平衡化によって制御される。ガスは、中央のカラムに配置された非常に薄いシリコン管の壁を通して拡散する。培地循環は、適切な剪断応力要件に適合させるために流量を制御する遠心ポンプによって生成される。

【0022】

コンパクトサイズで極めて高い生産性を提供することができるバイオリアクタシステムは、充填床バイオリアクタ（PBR）である。充填床は、固定化された哺乳動物細胞の灌流培養に広く使用されている。本発明は、細胞培養由来製品を製造するための潜在的な将来の好ましい生産ツールとしてのPBRの展望に重点を置いている。PALライフサイエンス（元々はATMILifeScienceによって開発された）はiCELLis充填床バイオリアクタを開発した。iCELLisバイオリアクタ技術の中心は、カスタムマクロキャリアで充填されたコンパクトな固定床を使用することである。このマトリックスは、医療グレードのポリエステルマイクロファイバーからなり、細胞増殖に利用可能な広い表面積を提供する。

10

【0023】

改善された混合条件によってより高い細胞密度及び向上した生産性を達成することの進歩を除いて、システムの効率的な物質移動及び工業的に適切なスケラビリティは、部分的に未説明／未解決の問題のままである。

【0024】

インビトロ細胞培養の特別な要求を認識し、満たすことは極めて重要であり、したがって、これらのニーズを満たすために新規なデバイスを設計する必要がある。これらの要求は、培養された動物細胞の剪断感受性、気泡のない通気の使用、比較的少ない酸素摂取速度、及び汚染又は他の手作業による誤りの可能性の少ない操作の容易さを含む。

【0025】

したがって、流体又はインペラブレード剪断及び気泡によって細胞を損傷することなく、培養容器内の効率的な栄養素及び酸素分布を有する、小さな培養体積での培養細胞の高密度増殖を収容するデバイス及び方法を開発することが切望されている。

20

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0026】

本発明の主な目的は、効率的な混合及び均質懸濁液を提供できるスケラブルな、好ましくは使い捨てのバイオリアクタを提供し、それにより、細胞及び生物学的材料の高密度増殖及び維持を支持するバイオリアクタシステム及びその方法を提供することである。

【0027】

本発明の別の目的は、培養容器内の培養される動物細胞のガスパーキングがない調和、気泡のない通気、比較的低い酸素摂取速度、及び汚染又は他の手作業による誤りの可能性が低減した操作の容易さによって剪断感受性を与えるバイオリアクタシステム及びその方法を提供することである。

30

【0028】

本発明のさらに別の目的は、労働コスト及び生産時間を削減するために、滅菌かつ使用準備済みの使い捨ての培養容器を提供するバイオリアクタシステム及びその方法を提供することである。

【0029】

本発明の更なる目的は、作製が簡単であり、機械的及び計装の複雑さを低減し、商業的にスケラブルなバイオリアクタシステム及びその方法を提供することである。

40

【0030】

本発明のもう1つの目的は、培養容器内での効率的な混合及び栄養素均質性を維持しながら、小さな培養体積内に大量の表面積の収容を可能にするバイオリアクタシステム及びその方法を提供することである。

【0031】

本発明のもう1つの目的は、pH、溶存酸素、温度などのプロセス変数のインライン監視及び制御を提供するバイオリアクタシステム及びその方法を提供することである。栄養素、代謝副生成物、及び供給添加物の測定のためのオンラインサンプリングが実現可能である。

50

【0032】

本発明のもう1つの目的は、培養容器内に含まれる栄養培地を、支持マトリックスの動きを中断して又は中断せずに交換、サンプリング又は変更することができるバイオリアクタシステム及びその方法を提供することである。

【0033】

本発明のもう1つの目的は、1つ以上の化合物を製造するために使用されるバイオリアクタシステム及びその方法を提供することである。

【0034】

本発明のもう1つの目的は、廃水流出物の処理及び産業廃液処理のレメディエーションのために使用されるバイオリアクタシステム及びその方法を提供することである。

10

【0035】

本発明のもう1つの目的は、種々の基質及び化合物の酵素処理のために使用されるバイオリアクタシステム及びその方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0036】

本発明は、細胞又は生物学的材料を支持マトリックス上に直接培養、閉じ込め又はカプセル化することによって、生物学的材料を取り扱いかつ生物細胞の大規模連続又はバッチ培養を支持するためのバイオリアクタシステム及びその方法に関する。本発明のバイオリアクタシステムは、培養容器、支持マトリックス、流体ポンピング手段、ガス交換モジュール、及び栄養培地の閉循環ループを形成するための主導管を備える。前記支持マトリックスは、培養容器の内部に配置される。支持マトリックスは、少なくとも1つの中心軸、中心軸を半径方向に囲む複数の周辺軸を含む。前記中心軸及び周辺軸は、支持フレームワーク及び軸取り付けフレームによって回転可能に支持される。本発明では、2つの連続するプレートの間に間隔の近傍を限定するために、複数のディスクが軸に沿って取り付けられる。従って、周辺軸に取り付けられたディスクは、中心軸の連続するディスクの間に形成された間隔の近傍内で回転することによって、十分な混合を確実にし、ディスクが軸上で互いに近くに離間して取り付けられたときに生じることがある停滞した流体ゾーンを回避する。さらに、複数の偏向羽根が中心軸の長さに沿って軸方向に提供されて、実質的に同軸方向の流体流れを培養容器の内部に、より具体的には中心軸に方向を変更する。従って、本発明に係るバイオリアクタシステムは、効率的な混合及び均質懸濁液を提供できる、スケラブルな、好ましくは使い捨てのバイオリアクタを提供し、それにより細胞及び生物学的材料の高密度増殖及び維持を支持する。

20

30

【図面の簡単な説明】

【0037】

本発明の目的及び利点は、添付の図面と併せて以下の詳細な説明から明らかになるであろう。

【図1a】図1aは、本発明による水平に配向された培養容器を有するバイオリアクタシステムの斜視図を示す。

【図1b】図1bは、図1aに示されるバイオリアクタシステムの概略図を示す。

【図2a】図2aは、本発明による垂直に配向された培養容器を有するバイオリアクタシステムの概略図を示す。

40

【図2b】図2bは、垂直に配向された培養容器とガス交換手段を有する再循環ループを有するバイオリアクタシステムの概略図を示す。

【図3】図3は、本発明による支持マトリックスが搭載された図1に示される培養容器の断面図を示す。

【図4a-4b】図4a及び4bは、本発明による支持マトリックス内に搭載された支持フレームワークの詳細図を示す。

【図4】図4cは、本発明による軸駆動機構の斜視図を示す。

【図5】図5は、本発明による軸の長さに沿って搭載されたディスクの配置を示す。

【図6】図6は、本発明によるディスクが搭載された中心軸及び周辺軸の配置を示す。

50

【図 7 a－7 b】図 7 a 及び 7 b は、本発明による支持マトリックス内の中心軸及び周辺軸を囲む様々な幾何学的形状の偏向羽根の配置を示す。

【図 8】図 8 a～8 f は、本発明による支持マトリックス内の異なる幾何学的形状の中央軸及び周辺軸の配置を示す。

【図 9】図 9 は、本発明による追加のポート及び導管を有する培養容器の断面図を示す。

【図 10 a－10 b】図 10 a 及び 10 b は、本発明によるセンサ素子を有する水平に配向された支持マトリックス及び培養容器の詳細な断面図及び斜視図を示す。

【図 11 a－11 b】図 11 a 及び 11 b は、軸に搭載されるディスクの断面図及び幾何学的配置を示す。

【図 12】図 12 a、12 b、12 c 及び 12 d は、本発明によるディスク形態の市販の細胞担体の使用を示す。

10

【図 13】図 13 は、本発明による中心軸及び周辺軸に搭載されたディスクの回転パターン及び回転方向を示す。

【図 14 a－14 b】図 14 a 及び 14 b は、本発明による支持マトリックスにおける直線状の偏向羽根及びねじれた偏向羽根の配置の詳細図を示す。

【図 14 c】図 14 c は、バッフル取り付けリングを有するねじれた偏向羽根の斜視図を示し、インペラ羽根を含む。

【図 15】図 15 a、15 b 及び 15 c は、本発明による容器の底部に位置する軸回転のための磁気回転手段、及び容器の上部に位置するバッフル取り付けプレートのためのバッフル回転手段を有する垂直に配向された培養容器の詳細図を示す。

20

【図 16】図 16 a、16 b 及び 16 c は、本発明による容器の上部に位置する軸回転のための磁気回転手段、及び容器の底部に位置するバッフル取り付けプレートのためのバッフル回転手段を有する垂直に配向された培養容器の詳細図を示す。

【発明を実施するための形態】

【0038】

本発明を詳細に説明する前に、本発明はその適用が添付図面に示された部品の作製及び配置の詳細に限定されないことを理解されたい。本発明は、上述した異なる図面に示されるような他の実施形態が可能であり、様々な方法で実施又は実行することができる。本明細書で使用される表現及び用語は、説明のためのものであり、限定のためのものではないことを理解されたい。

30

【0039】

さらに、本明細書で使用される「生物学的材料」という用語は、有機体、細胞、及び／又はウイルスに由来するか、又はそれに対応する任意の粒子、物質、抽出物、混合物、及び／又はアセンブリを意味するか、これらに限定されないことを理解されたい。自動化された細胞管理システムで培養され得る細胞は、動物細胞、昆虫細胞、哺乳動物細胞、ヒト細胞、遺伝子導入細胞、遺伝子操作された細胞、形質転換細胞、細胞株、植物細胞、足場依存性細胞、足場非依存性細胞、及び当技術分野で知られているようにインビトロで培養することができる他の細胞を含む 1 つ以上の細胞型を含むが、これらに限定されないことは、当業者には明らかであろう。生物学的材料はまた、流体（例えば、水）、バッファー、培養栄養素、塩、他の試薬、色素などの分析を容易にするための追加の成分を含んでもよい。したがって、生物学的材料は、培養培地及び／又は別の適切な液体培地中に配置された 1 つ以上の細胞を含んでもよい。本明細書で使用される「ディスク又はプレート」という語句は、細胞、タンパク質、及び他の生化学的物質や化学物質などの（それらに限定されない）粒子の付着、閉じ込め又はカプセル化のための表面領域を提供することができる任意の幾何学的形状の材料を意味するが、それらに限定されない。

40

【0040】

本明細書で使用される「使い捨て式」という用語は、一度目的のために使用されると、本質的に廃棄され、他の目的のために再使用されない任意のプロセスの適切な材料を意味するが、これに限定されない。本明細書で使用される「使い捨ての材料又は使い捨てのフィルム」という用語は、例えば、キャストフィルム又はインフレーションフィルム押出プ

50

ロセスなどのフィルム押出及び／又は発泡プロセスを使用して製造された多層ポリマーフィルムや熱可塑性フィルムを含むポリマーフィルムを意味する。本発明の目的のために、この用語は、無孔性フィルム及び微孔質又はマクロ多孔性フィルムを含む。フィルムは、蒸気透過性又は不透過性であり、通常の使用条件下で液体バリア及び／又はガスバリアとして機能することができる。本明細書で使用される「ポリマー」又は「ポリマー材料」という用語は、ホモポリマー、コポリマー、例えば、ブロック、グラフト、ランダム及び交互コポリマー、ターポリマーなど、並びにこれらのブレンド及び変性物などを含むが、それらに限定されない。さらに、特に限定されない限り、用語「ポリマー」は、材料のすべての可能な幾何学的配置を含むものとする。これらの配置は、イソタクチック、シンジオタクチック及びアタクチック対称性を含むが、それらに限定されない。本発明に使用されるポリマーは、天然、合成、生体適合性及び／又は生分解性のものであることができる。10

「天然ポリマー」という用語は、天然に存在する任意のポリマー、例えば、絹、コラーゲンベースの材料、キトサン、ヒアルロン酸及びアルギン酸塩を意味する。「合成ポリマー」という用語は、ポリマーが天然に存在する生体材料から製造されたとしても、天然には見出されない任意のポリマーを意味する。それらの例として、脂肪族ポリエステル、ポリ（アミノ酸）、コポリ（エーテルエステル）、ポリアルキレン、シュウ酸塩、ポリアミド、チロシン誘導ポリカーボネート、ポリ（イミノカーボネート）、ポリオルトエステル、ポリオキサエステル、ポリアミドエステル、アミノ基含有ポリオキサエステル、ポリ（無水物）、ポリホスファゼン及びこれらの組み合わせを含むが、それらに限定されない。「生体適合性ポリマー」という用語は、有機体の細胞、組織又は体液と接触したときに、免疫学的反応及び／又は拒絶反応などの有害作用を誘導しない任意のポリマーを指す。20

「生分解性ポリマー」という用語は、プロテアーゼなどの生理学的環境で分解することができる任意のポリマーを指す。生分解性ポリマーの例は、コラーゲン、フィブリン、ヒアルロン酸、ポリ乳酸（PLA）、ポリグリコール酸（PGA）、ポリカプロラクトン（PCL）、ポリジオキサノン（PDO）、トリメチレンカーボネート（TMC）、ポリエチレングリコール（PEG）、アルギン酸塩、キトサン又はこれらの組み合わせを含むが、それらに限定されない。

【0041】

「適切な材料は」という用語は、例えば、フィルム、ポリマー、熱可塑性ポリマー、ホモポリマー、コポリマー、ブロックコポリマー、グラフトコポリマー、ランダムコポリマー、交互コポリマー、ターポリマー、メタロセンポリマー、不織布、スパンボンド繊維、メルトブローン繊維、ポリセルロース繊維、ポリエステル繊維、ポリウレタン繊維、ポリオレフィン繊維、ポリアミド繊維、綿繊維、コポリエステル繊維、連続気泡フォーム、ポリウレタン、ポリ塩化ビニル、ポリエチレン、金属、合金、繊維ガラス、ガラス、プラスチック（例えば、ポリエチレン（PE）、ポリプロピレン（PP）、ポリ塩化ビニル（PVC）、ポリエチレンテレフタレート（PET）、ポリエーテルエーテルケトン（PEEK）、ポリテトラフルオロエチレン（PTFE）、及びそれらのポリフルオロアルコキシ（PFA）誘導体、ゴム、並びにそれらの組み合わせ又は混合物を含むが、それらに限定されない。好適な硬質ポリマーは、USPC Class VIによって承認されたポリカーボネート及びポリスチレンを含むが、それらに限定されない。好適な可撓性ポリマーは、低密度ポリエチレン及びエチレン／酢酸ビニルコポリマーを含むが、それらに限定されない。30

【0042】

「細胞培養」又は「培養」とは、人工のインビトロ環境における細胞の維持を意味する。しかしながら、「細胞培養」という用語は総称であり、個々の細胞だけでなく、組織、器官、器官系又は生物全体の培養を包含するために使用され得ることを理解されたい。「組織培養」、「器官培養」、「器官系培養」又は「器官型培養」は、用語「細胞培養」と互換的に使用され得る。40

【0043】

「培養」とは、細胞の活性状態又は静止状態での増殖、分化又は継続的生存に有利な条 50

件下でのインビトロでの細胞の維持を意味する。この意味で、「培養」は、「細胞培養」又は上記の同義語のいずれかと互換的に使用され得る。

【0044】

「栄養培地」、「細胞培養培地」及び「培養培地」という用語は、細胞を培養するための栄養溶液を指し、互換的に使用され得る。

【0045】

本発明は、培養容器内に収容された支持マトリックスに配置されたディスク上に細胞又は生物学的材料を直接繁殖、培養、閉じ込め又はカプセル化することによって、生物学的材料を取り扱い及び／又は生物細胞の大規模培養を支持するためのシステム、方法及び装置を提供する。

【0046】

図1に例示される第1実施形態に示されるように、本発明による生物細胞を培養するためのバイオリアクタシステムは主に、培養容器(1)と、支持マトリックス(2)と、流体ポンピング手段(3)と、ガス交換モジュール(4)と、主導管(5)とを備える。培養容器(1)は水平に配向される。該培養容器(1)には、栄養(培養)培地及び／又は生物細胞を導入するための入口ポート(1a)と、容器(1)から栄養(培養)培地を排出するための出口ポート(1b)が備えられる。支持マトリックス(2)では、培養プロセスが行われる。該支持マトリックス(2)は、培養容器(1)の内部に(図1(b)に示される)長手方向に配置され、その両端部が回転可能に固定されて、栄養培地が入口ポート(1a)から培養容器内に導入され、支持マトリックス(2)を通して流れた後に、培養容器(1)から出口ポート(1b)を経て排出される。流体ポンピング手段(3)は、容器(1)を介して栄養培地を駆動するためのものである。ガス交換モジュール(4)は、栄養培地にガスを溶解させ、栄養培地から廃ガスを除去するためのものである。主導管(5)は、栄養培地の循環のための閉鎖された外部ループ(矢印Aで示される)を形成するように、前記入口ポート(1a)と出口ポート(1b)を流体的及び外部的に接続し、ガス交換モジュール(4)及び流体ポンピング手段(3)を通して延びる。再循環ループ(A)は、本質的にシリコンチューブと、1つ以上の流体リザーバと、1つ以上のポンピング手段と、1つ以上のガス交換モジュール(4)を含む。1つ以上のガス交換モジュール(4)は、再循環流体(栄養流体)と気相との間のガスの効果的な物質移動のためのものである。圧力指示計及び調節器、支持マトリックス及びバッフリング手段内に搭載されたディスクの回転のための運動エネルギー源、1つ以上の検知素子、プロセス制御手段、可変速ポンプ及び／又は定速ポンプ(図示せず)を流体再循環システムに採用することは、本発明の範囲内である。栄養流体は、流体出口ポート(1b)から排出され、流体ポンピング手段(3)を経てガス交換手段(4)を通過し、入口ポート(1a)から培養容器(1)内に供給されて、主導管(5)により閉鎖循環ループ(A)が形成される。前記ガス交換手段(4)は、栄養培地に酸素を輸送し、栄養培地から二酸化炭素を除去することができる。

【0047】

好ましくは、再循環ループの構成要素と培養容器の入口及び出口とを接続するための主導管(5)として、短いストレッチのシリコンチューブを使用することができる。これらのチューブは、内部から流体を自由に通過させ、流体を一方の構成要素から他方の構成要素に移動させる。様々な長さ及び直径のシリコンチューブを、本発明による操作の規模及びプロセスアプリケーションの性質に応じて使用することができる。

【0048】

本発明の他の実施形態では、図2a及び2bに示されるように、バイオリアクタシステムは主に、培養容器(1)と、支持マトリックス(2)と、流体ポンピング手段(3)と、ガス交換手段(4)と、主導管(5)とを備える。培養容器(1)は垂直に配向され、入口ポート(1a)及び出口ポート(1b)を備える。支持マトリックス(2)は培養容器(1)の内部に長手方向に及び実質的に垂直に配置され、その両端部が回転可能に固定されて、流体が入口ポート(1a)から培養容器内に導入され、支持マトリックス(2)

を通して流れた後に、培養容器（１）から出口ポート（１ｂ）を経て排出され、それにより容器を部分的に充填してオーバーレイヘッドスペースを形成する。主導管（５）は、栄養培地の循環のための閉鎖された外部ループ（矢印Ａで示される）を形成するように、前記入口ポート（１ａ）と出口ポート（１ｂ）を流体的及び外部的に接続し、ガス交換モジュール（４）及び流体ポンピング手段（３）を通して延びる。

【００４９】

図３及び図４ａ～４ｃに示されるように、支持マトリックス（２）は、本質的に支持フレームワーク（６）と、軸取り付けフレーム（７）と、バッフル取り付けプレート（８）と、少なくとも１つの回転可能な中心軸（９）と、複数の回転可能な周辺軸（１０）と、複数の離間したディスク（１１）とを備える。支持フレームワーク（６）は、中空センター（６ａ）と、中空センター（６ａ）から半径方向に延びて内円板（６ｃ）を形成するスポーク（６ｂ）と、円板（６ｃ）から半径方向に延びて、複数のノッチを有するバッフル支持フレーム（６ｅ）を形成するスポーク（６ｄ）とを有する。前記支持フレームワーク（６）は、容器（１）の内壁に回転可能に固定され、前記容器（１）の一端に近接して位置する。軸取り付けフレーム（７）は、好ましくは前記容器（１）の他端に取り付けられ、中空センター（７ａ）と、外円板（７ｃ）を限定するように前記中空センター（７ａ）から半径方向に延びるスポーク（７ｂ）を有する。バッフル取り付けプレート（８）は、中空センター（８ａ）を有し、支持フレームワーク（６）と実質的に同様の直径を有し、軸取り付けフレーム（７）の近くに回転可能に位置する。少なくとも１つの回転可能な中心軸（９）は、支持フレームワーク（６）、軸取り付けフレーム（７）及びバッフル取り付けプレート（８）の中空センターからアキシアルに延びる。複数の回転可能な周辺軸（１０）（点線で示される）は、中心軸（９）の中心線に対して半径方向に且つ平行に取り付けられる。前記複数の周辺軸（１０）が中心軸（９）を半径方向に囲むように、各前記周辺軸（１０）の両端が内円板（６ｃ）と外円板（７ｃ）との間に固着される。複数の離間したディスク（１１）は、前記中心軸（９）及び各周辺軸（１０）の長さに沿って長手方向に取り付けられる（図５及び６に示される）。前記支持フレームワーク（６）は、適切な引張強度を有し、前記軸の実質的に低い摩擦回転を支持する。中心軸（９）の端部は、培養容器（１）の上流端及び下流端に向かって中空センターを通してさらに延びている。

【００５０】

なお、本発明の好ましい実施形態では、システムは、中心軸（９）の周りに同軸に配置された６つの周辺軸（１０）を含む。しかしながら、図８に示されるように、より多くの又はより少ない周辺軸を異なる幾何学的配置で取り付けることも本発明の範囲内である。

【００５１】

さらに図３及び図４ａを参照すると、培養容器（１）内の混合条件を向上させるために、前記支持マトリックス（２）はまた、複数の偏向羽根（バッフルリング手段）（１２）を含む。複数の偏向羽根（バッフルリング手段）（１２）は、周辺軸（１０）を半径方向に囲むことによって、培養容器（１）の軸長に沿って伸びる。各偏向羽根（１２）の一端は、バッフル取り付けプレート（８）上に成形され、各羽根（１２）の他端は、それに対応する反対側の支持フレームワーク（６）のバッフル支持フレーム（６ｅ）のノッチによって受け入れられ、それによって複数の周辺軸（１０）を実質的に囲む。偏向羽根（１２）は、好ましくは、バッフル支持フレーム（８）のペリセントリック外面から実質的に約４５°の角度をなす。前記中心軸（９）及び周辺軸（１０）の回転によって、その軸の長さに沿って取り付けられたディスク（１１）及びバッフル偏向羽根（１２）が回転する。中心軸（９）の周囲に周辺軸が配置されていない場合、中心軸ディスク（１１）が、バッフルリング手段としての１つ以上の偏向羽根によって直接囲まれる（図８ａに示される）ことは、本発明の範囲内である。

【００５２】

好ましい実施形態による培養容器（１）は、好ましくは、支持マトリックス（２）を実質的に取り囲む密閉された円筒形容器の形状である。培養容器（１）の形状は、一般的に

円筒形として示されるが、それに限定されない。様々な形状（例えば、平行六面体）の容器が提供されてもよい。本発明の培養容器は、培養チャンバー、円筒形、矩形又は取り扱いが容易な他の任意の形状として役立つ。操作中、培養容器は好ましくは水平軸に沿って配向することができるが、垂直方向及び他の軸方向の配向は、後述するようにプロセスの要求に応じて最適にすることができる。所与の実施形態では、支持マトリックス（２）は実質的に容器（１）によって取り囲まれているが、培養容器（１）によって前記支持マトリックス（２）を部分的に覆うことも本発明の範囲内である。さらに、覆われていない又は培養容器（１）内に収容されていない支持マトリックス（２）を利用することも、本発明の範囲内である。

【００５３】

本発明によるバイオリアクタシステムは、好ましくは、フルオロポリマー、高密度ポリプロピレン（ＨＤＰＥ）及び特別に処理されたポリスチレンプラスチックなどの適切なポリマー材料から製造された滅菌一回使用バイオリアクタとしての使い捨て可能な形式である。特定の実施形態では、システムの１つ以上の部分は、ガラス、ステンレス鋼及び／又は他の生体適合性材料で作製され得る。

【００５４】

さらに、本発明による培養容器（１）は、プラスチック、金属、ガラス、セラミックなどを含むがこれらに限定されない滅菌技術に耐えることができる多種多様な適切な材料からなることが好ましい。培養容器の直径及び長さは、プロセス条件及び規模によって決定される。本発明による培養容器、支持マトリックス及び他の培養接触部分は、好ましくは、相互汚染に関連するリスクを低減するために、発熱物質を含まない滅菌可能な材料から製造される。

【００５５】

好ましい実施形態では、使い捨ての培養容器（１）は、使用前及び使用後に容器内容物の目視検査を可能にし、バイオリアクタが作動しているときの内部インプロセス条件を探るために、実質的又は完全に透明な硬質プラスチック材料から製造される。全てのバルブ及び導管アタッチメントは、容器全体の気密／液密及び防漏性を維持するために、密閉される過される。容器の様々なパネルは、熱、高ラジオ周波数又は他の技術を使用するプラスチックフィルムシーリング技術によって気密及び水密継ぎ目を形成するように互いにシールされる。次に、コネクタ、チューブ、フィルター及びクロージャーが容器に取り付けられ、無菌バリアが形成される。次いで、組み立てられた容器は、例えば、個々の培養容器をガンマ照射、好ましくは２５～５０Ｋグレイに曝すことによって滅菌することができる。使い捨ての培養容器を作製するのに適した材料は、プロセス適合性に応じて所望の厚さを有するポリエチレン又はポリビニリデンフルオライド（ＰＶＤＦ）からなるフィルムを含む多層又は単層のプラスチックフィルムを含む。あるいは、容器は、例えば、ポリエチレンテレフタレートグリコール（ＰＥＴＧ）又はポリカーボネートのような適切なプラスチックを射出成形することによって形成され、補助構造によって支持されていてもいなくてもよい比較的剛性の容器を含んでもよい。

【００５６】

別の実施形態では、培養容器（１）は、好ましくは多層硬質プラスチック材料により作製され、容器壁の内側は、容器本体内に密封されたガス透過性膜／材料又はチューブパッチで作製され、それによりバイオリアクタが作動しているときにガス交換及び物質移動の追加源を組み込むことができる。使い捨てのプラスチック容器の壁は、多層積層構造を含んでもよい。所望の機能を提供するために、異なる材料の複数の層が一緒に積層されてもよい。エチレンビニルアルコール（ＥＶＯＨ）などの材料で形成された１つ以上のガスバリア層を含むことができる。タイ層が、材料の異なる層の間に提供されてもよい。材料の選択は、容器の壁が培養容器内に充填される流体及び内容物の体積を保持するのに十分な強度を得ることに基づいている。結合された又は結合されていない領域を有する１つ以上のエアギャップが、多層又は複合硬質フィルムに提供されてもよい。それによって容器壁内に形成／成形されたエアギャップチャンネルは、支持マトリックスを覆う容器の円筒壁の

10

20

30

40

50

長さに沿って延びる。これらのエアギャップチャンネルは、エア、酸素、二酸化炭素、窒素などのガスをバイオリアクタに運ぶためのガス入口と、微生物又は細胞によって生成された二酸化炭素のようなガスを除去するためのガス出口とに集合的に接続される。容器壁のエアギャップチャンネルからの所望のガスの流れは、培養容器内の流体とガスとの間の物質移動のための追加の手段を提供する。好ましい多層積層体は、ポリアミド外層、第1タイ層、ポリエチレン又はポリエチレンブレンド／コポリマー層、第2タイ層、EVOH（ガスバリア）層、第3タイ層、別のポリエチレン又はポリエチレンブレンド／コポリマー層、エアギャップ、次いでシリコン膜を含むガス透過性ポリエチレン又はポリエチレンブレンド／コポリマー層を含む内部コンタクト層を含む。

【0057】

また、別の実施形態によれば、培養容器（1）は、ガラス、又はセラミック、ステンレス鋼などのような任意の他の化学的に非反応性の生体適合性材料から作製され得るが、これに限定されない。培養容器が非使い捨ての容器として使用される場合、支持マトリックス（2）は、手動で、又は自動化された機械を用いてその場で組み立てることができる。好ましくは、支持マトリックスの1つ以上の部分は、使い捨て可能であり得る。支持マトリックスを取り囲み、培養容器を組み立てた後、バイオリアクタシステムは、任意の適切な滅菌方法、好ましくは蒸気滅菌によって滅菌することができる。あるいは、培養容器内に取り囲まれた支持マトリックスは、予め包装された使い捨て可能な形式であってもよい。ここで、可撓性の外側カバーを有する支持マトリックスは、非使い捨ての培養容器内に配置することができる。この場合、支持マトリックスの外側被覆は、隔離バリアとして役立ち、任意の適切なタイプの任意の伸縮可能な、折りたたみ可能な、柔軟な及び／又は弾性の材料で作られており、培養容器は、適切な材料から製造され得る支持コンテナとして役立つ。

【0058】

図2a及び2bに示されるように、回転運動を得るために、中心軸（9）は運動エネルギー源（19）からの運動エネルギーを受け取るように機械的に結合されている。ここで、軸回転のための1つ以上の磁気回転手段（13）、及びバッファリング手段回転のための1つ以上の磁気回転手段は、図2に示されるように、外部運動エネルギー源から運動エネルギーを受け取るために使用される。しかしながら、運動エネルギーのための前記源は、モータによる機械的シール、1つ以上のサーボ、ピストン、ソレノイド、線形又は回転アクチュエータ、及び外部電磁又は磁気手段などを含むが、それらに限定されない。搭載された軸の円滑な回転を容易にするために、ベアリング（図示せず）の形態の摩擦力を低減する手段が、軸の端部とフレームワーク（6）の接合部で支持フレームワーク（6）に取り付けられる。

【0059】

前記磁気回転手段（13）は、図2及び3に示されるような回転可能な中心軸の少なくとも1つの端部に固定的に接続された内部磁石（図示せず）を含む。好ましくは、内部磁石は、外部磁石機構により加えられた磁力によって回転される。したがって、外部磁石の回転は、内部磁石を回転させ、それによって回転可能な軸を回転させる。容器の小さなパッチを外部から覆う電氣的に操作される磁気回転手段を埋め込み、内部磁石に磁氣的加速を与えることができる。この磁気回転手段は機械的シールの使用を排除し、それにより外来汚染源からさらなる安全性のレベルを提供する。回転手段の別の実施形態では、中心軸（9）は、モータ軸を介してバイオリアクタの外側に位置するモータに直接接続される。モータの軸は、機械的シールデバイスを用いて容器壁に侵入し、伝達システムは、中心軸をモータの軸に接続するために使用される。プロセス及び経済の適合性に応じて、他の機構又は機構の組み合わせを採用することができる。

【0060】

図5は、中心軸（9）及び周辺軸（10）上のディスクの配置を示す。図5によれば、スペーサー（図示せず）を介して2つの連続するディスク（11）の間に所定の空間を維持して間隔の空間（11a）を限定することにより、（透過性）ディスク（11）が各軸

10

20

30

40

50

に中心及び長手方向に取り付けられる。ディスクの間に配置された前記スペーサーは、ディスク（１１）の間の実質的に等距離の分離を維持する。好ましくは、スペーサーは、ディスク（１１）の作製に使用される同種の材料から製造することができ、又はスペーサーはシリコンゴムから製造することができる。スペーサー直径とディスク直径との比は、プロセスの規模に応じて最適化される。さらに、図１１（ｂ）で説明したように、ディスクを支持及び分離する他の手段を使用することもできる。例えば、これに限定されるものではないが、各ディスクは、その中央部分でその作製中に一体的に形成されたリッジ又はスペーサーを有する。このリッジ又はスペーサーは、それに直接隣接するディスクのスペーサー上に載る。各ディスクの間の円筒形のスペーサーの存在は、動作中、軸に取り付けられたディスクが分離状態にあることを本質的に保証する。バイオリアクタのディスク搭載能力を最大にし、支持マトリックスの所望のコンパクト性を達成するために、中心軸に搭載されたディスクの直径と周辺軸に搭載されたディスクの直径との比を調節することができる。好ましくは、ディスクの混在を最大にし、周辺軸に搭載されたディスクにより中心軸ディスクの間に形成される間隔の空間を効率的に占有するように、中心軸に搭載されたディスクの直径は、周辺軸に取り付けられたディスクの直径より大きい。

【００６１】

図６は、支持マトリックス（２）内の周辺軸（１０）及び中心軸（１１）に搭載されたディスクの配置を示す。図６から分かるように、各周辺軸に搭載された各ディスク（１１）の部分は、中心軸（９）に搭載されたディスクの間隔の空間（１１ａ）内に部分的に延びている

【００６２】

本発明によるディスク（１１）は、好ましくは、不織布材料から作製されるが、これに限定されない。図１１は、ディスク又はプレート（１１）の幾何学的形状が、その後の細胞付着及び増殖のために必要な基材を本質的に提供することを示す。細胞の付着は、ディスクのいずれかの側で起こることができ、それによって小さな空間又は容積内での細胞の付着及び成長のための非常に大きな表面積が提供される。典型的には、細胞増殖の薄い単層又はフィルムは、ディスクの表面上で観察され、一般に、数 μm （例えば、 $1\mu\text{m}$ ）～約 1mm （即ち、 $100\mu\text{m}$ ）の厚さを有する。用途が細胞の多層又は構造的増殖を必要とする場合、ディスク（１１）は所望の形状に成形され、表面は、それらを物理的、化学的又は生物学的に処理することによって形成することができる。

【００６３】

図１２ａ～１２ｄに記載の別の実施形態では、キャリア材料が流体透過性成形ディスクフレーム（２１）の間に配置又は充填された市販の細胞担体（２０）、例えば、F i b r a C e l ディスクやB i o N O C - I I 担体を使用することができる。様々なサイズ及び形状の市販の細胞担体を包装した後、ディスクフレームを中心軸及び周辺軸に固定することができる。

【００６４】

図１１は、ディスク（１１）のための幾何形状の別の実施形態を示す。このディスク（１１）は、プラスチック材料、好ましくは、ポリスチレン又はポリプロピレン支持体を有するポリエステル繊維の多孔性及び繊維性の不織布塊から作製され、或いは、ディスクの表面はマクロ又はマイクロキャリアでコーティングすることができる。この場合、任意のオープン・ツー・セルのプラスチックマトリックスを使用することができる。プラスチックマトリックスの形成においては、その隙間を通る液体栄養培地の流れを可能にするだけでなく、細胞の自由な通過を可能にするのに十分な多孔性を有することに注意しなければならない。さもなければ、均質な細胞伸展及びその後の細胞の増殖又は細胞の採取において困難が生じる可能性がある。ディスク（１１）は、任意の適切な孔径及び幾何学的形状を有することができ、さらに、ポリマーコーティング又はマイクロビーズなどの様々な構造を表面に含めることによって修飾される。代替的に又は追加的に、ディスクの表面の一部又は全部を化学的又は生物学的に修飾又は処理して、全体的なプロセスの有効性を高めることができる。ディスク材料の孔径は、プロセス要求に応じて変化し得る。しかしなが

ら、穿孔を設けることができる。代替的な実施形態では、支持マトリックス内の混合条件を高めるように、ディスク上に穴又は開口が形成される。これらの穴のパターン、形状、サイズ及び直径は、近接して積み重ねられたディスク間の停滞した不均質な領域を防止する流れパターンを生成することによって、乱流のスケールを増加させる。

【0065】

さらに、本発明による前記培養容器（1）は、好ましくは、細胞、培養培地及び他の供給物を含む生物学的材料の入り口のための1つ以上の導管と、廃棄代謝産物及び使用済み培地の除去のための少なくとも1つの導管を含む。

【0066】

図9によれば、前記培養容器（1）は培地添加を受けるようにさらに構成され、出口、導管、塩基添加導管、サンプリングライン、接種／種子添加ライン、及び栄養供給培地添加のためのライン、並びに数字（14）によって示されるエアメントを含む。導管は、培養容器（1）の壁の特定の位置に配置されているように図9に示されているが、流体を培養容器に出入りさせる容器の任意の所望の位置に配置することができ、それにより、培養システムは、均質な栄養素及びガス分配を受けて支持マトリックス（2）の表面上に増殖する有機体の増殖を促進する。前記導管は、好ましくは、培養容器（1）の作製に使用される材料からの適切な材料で作られる。

【0067】

培養容器（1）はまた、様々な成分（有害性、危険性及び／又は感染性を有する可能性がある）とヒトとの接触量（そのような成分の一部として及びそのような成分の混合中に混合される）を減少させるために、成分を充填、スパイク、エアレーション、添加及び／又は排出するための1つ以上のポートを備える。適切なポートは、圧縮、ゴールドスタンダード又はサニタリータイプのフィッティングのような当該技術分野で知られているサニタリー防漏フィッティングを非限定的に含む。適切なジョイントは、パイプ、チューブ、ホース、中空ジョイントアセンブリなどを非限定的に含む。さらに、容器には、好ましくは、プロセス供給原料投入（例えば、pH緩衝剤、グルコースなど）のための1つ以上の投入ポートが備えられることができる。

【0068】

本発明によるバイオリアクタシステムには、培養容器（1）内の温度、溶存酸素、pH、溶存二酸化炭素、代謝産物などを測定するために、好ましくは、予め挿入され且つ事前較正された1つ以上の検知素子が適切に備えられる。これらのセンサは、従来の電気化学センサ及び／又は使い捨ての事前較正された光センサのいずれかである。それにより、培養容器（1）は、pH及び／又は溶存酸素などを測定するセンサ用の1つ以上のプローブ開口部（15）（図9、10a、10bを参照）を備える。好ましい実施形態では、培養容器の隙間に延びる1つ以上の溶存酸素プローブ及びpHプローブが使用される。ベントフィルター付きの1つ以上のベントポートもまた、培養容器の充填及び採取の際に培養容器中に最初に存在する空気を逃がすために提供される。

【0069】

さらに、バイオリアクタ内の実質的に固定された液体体積を維持するために、培養システムは、正確な物質収支維持のためのロードセル及び／又はオーバーフロー出口をさらに含んでもよい。オーバーフロー出口は、容器内容物の一部を回収して所望の液体レベルを維持できるように、容器から外向きに延びるパイプの形態であってもよい。定常状態環境のために一定の体積の栄養培地又は流体を維持し、バイオリアクタシステムの灌流プロセスを可能にすることが不可欠である。

【0070】

本発明によるシステムの効率を最大にするために、プロセス温度を厳密に制御することが望ましい。これは、1つ以上の加熱ブランケットの使用を含む多くの方法で達成することができる。あるいは、培養容器の壁の一部としてウォータージャケットシステムを設けることもできる。それにより、容器壁は、容器の長さを囲むウォータージャケットと、ウォータージャケットを通る流体流れの温度を調節するための入口導管及び出口導管を含む。

あるいは、培養システムの所望の温度を維持するために、インキュベータ室内のような温度制御領域内に容器を維持／配置することができる。

【0071】

図3、6及び13を参照すると、中心軸(9)周りの周辺軸(10)の配置は、周辺軸(10)のディスク(11)が回転しながら中心軸(9)のディスク(11)間に形成された空間に侵入するようなものである。図13に説明されるように、6つの周辺軸(10)が中心軸(9)を囲んでいる場合、1つの幾何平面内にある時に、3つの交互の周辺軸に搭載されたディスクが中心軸の2つの連続するディスク間に形成される間隔の空間に侵入する。中心軸(9)の連続するディスク(11)の間の近傍又は空間(間隔の空間)からの周辺ディスク(11)の間隔の回転は、生物学的材料又は流体の流路を作り出す。この流路は、十分な混合を確実にし、且つ、ディスクが軸上で互いに近くに離間して取り付けられたときに生じ得る停滞した流体ゾーンを回避する。中心軸(9)及び周辺軸(10)からのディスク(11)の回転によって生成される流体流れパターンは、バイオリアクタシステムをより効率的にし、且つ他の従来の細胞培養システムより高い細胞密度を支持することを可能にする。これは、全ての先行技術によって開示されたシステムがマトリクスベッド内の不均質な条件の問題に悩まされ、栄養素の分配及び物質移動のための混合が非効率的であることが観察されているからである。

10

【0072】

図3及び4に示されるように、本発明では、中心軸(9)の回転に伴って周辺軸(10)を接続して回転させるために、好ましくは、タイミングベルト及びプーリーシステム又はギア駆動システム(図4(c)に図示)のような軸駆動機構(16)が使用される。好ましい実施形態では、駆動プーリーが中心軸に固定的に配置され、従動プーリーが周辺軸に固定されているタイミングベルト及びプーリーシステムが使用される。摩擦システム、スパーシステム(Spur system)、チェーン及びスプロケットシステムのような他の駆動機構を使用して、周辺軸(10)を中心軸(9)と共に駆動することができる。ここで使用される軸駆動システムでは、プーリー又はギヤプレートの直径を変えることによって、中心軸に対する周辺軸の回転速度を変えることができる。

20

【0073】

本発明の他の実施形態では、周辺軸をフレームワーク上の固定位置に固定した状態に維持するために、複数の軸取り付けフレーム(7)が使用される。複数の軸取り付けフレーム(7)の間には、軸駆動機構(16)が取り付けられる。さらに、別の支持フレームワーク(6)が、先に取り付けられた支持フレーム(6)に対して、容器の反対側及び遠位側の端部の容器壁に固定して取り付けられる。

30

【0074】

中心軸(9)と周辺軸(10)の距離、ディスクの直径及び厚さ、偏向羽根のペリセントリック直径などの配置、スケーリング及び幾何学的パラメータは、プロセス規模及び条件によって決定される。説明したように、1つ以上の周辺軸はまた、異なる幾何学的配置で取り付けられてもよく、ディスクの縁部は、図8に示されるように、他の軸に取り付けられたディスクの間隔の領域に延びることは明らかである。しかしながら、別の実施形態では、回転バッフルリング手段によって囲まれた支持マトリックス(2)に1つの軸を配置することができる。

40

【0075】

図6、7、11及び13に示されるように、半径方向の偏向羽根(12)によって内向きに導かれた流体流れは、軸に取り付けられたディスク(11)に当たる。図3に示されるように、支持マトリックスに複数の軸が取り付けられた場合、周辺軸(10)に取り付けられたディスク(11)には、まず、回転偏向羽根(12)によって形成された内向き流体流れが当たる。このようにして、中心軸(9)上のディスク(11)は、周辺軸(10)の混在するディスク(11)が回転すると、中心軸ディスク(11)の間隔の空間から補給された新鮮な栄養豊富な流体流を受け取る。

【0076】

50

図7に示されるように、偏向羽根(12)のサイズ及び形状は、所望の用途に応じて異なる流れパターンを生成するようにカスタマイズすることができることに留意されたい。偏向羽根は、内向き方向における最大接線流体流れのために、図7(a)に示されるように実質的に平坦であってもよいし、又は内向き流れの追加の角度及び強度を提供するために、図7(b)に示されるように湾曲し、及び／又は角度があるものであってもよい。バッフル取り付けプレート(8)が回転すると、偏向羽根(12)の回転によって生成された流体の抗力は、支持マトリックス内に均質な条件を作り出すのに必要な流体の内向き流れを作り出す。流体の内向きの動きは、偏向羽根(12)がある程度ねじられ、バッフル取り付けリング(8)がインペラ羽根を含むように作製される場合、混合時間を著しく短縮する。図14(c)に示されるように、垂直に配向された容器では、偏向羽根(12)は、半径方向に配置されたインペラ羽根(22)を有するバッフル取り付けリング(8)に取り付けられて、容器の軸方向に向かって上向きの流れを作り出す。それにより、半径方向に配置されたインペラ羽根(22)は、重力による容器の底の生物学的材料、生物細胞、デブリ及び他の浮遊粒子の沈降を防止する。偏向羽根(12)と共にインペラ羽根(22)の回転は、垂直に配向された培養容器内の混合条件を著しく改善することができる。図14は、バッフルリング手段内の偏向羽根(12)の直線状の配置(図14(a)に示される)、偏向羽根(12)のねじれ配置(図14(b)に示される)、及びバッフル取り付けプレート(8)内に取り付けられたインペラ羽根(22)を有するバッフルリング手段(図14(c)に示される)を示す。これらの配置は、栄養豊富な流体がディスクの間隔の近傍を流れるように、支持マトリックスの各位置が栄養分分布に関して実質的に同等であることを確実にし、また支持マトリックス内の空気又はガスの十分な交換も確実にする。

【0077】

バッフルリング手段のための回転エネルギーが、容器(1)の一端から他端へ流れる流体の流れから得られ、バッフルリング手段の回転により中心軸及び周辺軸が外部回転手段なしで回転するように、中心軸(9)に固定的に搭載されたバッフルリング手段上に螺旋形状の偏向羽根(12)を提供することは、本発明の範囲内である。したがって、いかなる回転手段も使用せずに、本発明によるバイオリアクタシステムが操作される。

【0078】

好ましい実施形態では、ディスク(11)及び偏向羽根(12)の回転は、運動エネルギー源からの運動エネルギーを受け取るように機械的に結合される。それにより、ディスク(11)及び偏向羽根(12)上の回転が同時に制御される。内部磁石(図示せず)が中心軸に固定的に取り付けられた磁気アームに取り付けられると、外側磁石は機械的手段、即ちモータベルトによって駆動される。外側磁石駆動の運動は、内部磁石を運動状態に維持し、それにより、制御された速度で軸、ディスク(11)及び偏向羽根(12)のために回転運動を同時に与える。本明細書で説明される回転手段はまた、ディスク及び偏向羽根の回転速度を監視するための機構を含んでもよい。

【0079】

別の好ましい実施形態では、別個の磁気回転手段が、ディスク(11)及び偏向羽根(12)のために使用される。ディスク回転のための磁気回転手段は、中心軸に固定的に取り付けられ、偏向羽根のための回転手段は、バッフル取り付けプレート上に取り付けられる。ディスク回転及び偏向羽根回転のために別個の回転手段が使用される場合、ディスクの回転速度及び偏向羽根の回転速度は独立して制御及び測定することができる。

【0080】

図1及び2に示される本発明の好ましい実施形態では、ディスクが等間隔に離間されているので、支持マトリックスの一部を含むディスクが培地によって完全に満たされたとき、各プレート上の液体培養培地の流れはリザーバ全体にわたって実質的に均一である。リザーバを通る均一な流れは、静水圧原理によって容易に証明することができ、すべてのプレートにわたる均一な流れは、染料分散実験によって経験的に実証することができる。

【0081】

組織工学の応用で使用する場合、ディスクの作製に適した材料は、天然植物スポンジ又は動物スポンジも含むが、これらに限定されない。上記の基準を満たすポリウレタン又は他の合成材料から作製された合成スポンジを利用することができる。マイクロメートル又はナノメートルスケールの平均繊維直径を有するそのような繊維織物は、組織工学の応用における使用のための複雑な３次元スカフォールドを製造するために使用されている。これらの２Ｄ及び／又は３Ｄスカフォールドは、支持マトリックスの作製に使用することができる。

【００８２】

操作中、培地添加導管を介して栄養培地が容器に充填される。栄養培地が適切に調整された後、生物学的材料が容器（１）内に添加される。そして、磁気回転手段（１３）を介して運動エネルギーを供給することによって、前記中心軸（９）、周辺軸（１０）及び偏向羽根（１２）は一定の回転速度で回転する。プロセスに関連する生理学的パラメータは、ポンピング手段を有するセンサ素子及び添加導管の使用によって制御される。ここで、中心軸（１０）と周縁軸（１１）と偏向羽根（１２）とは、別々の回転手段を用いて異なる速度で回転させることができることに留意されたい。中心軸（９）の連続するディスク（１１）の間隔の空間（１１ａ）からの周辺ディスク（１１）の間隔のある回転は、生物学的材料又は流体の流体流れパターンを作り出す。この流体流れパターンは、十分な混合を確実にし、且つ、ディスクが軸上で互いに近くに離間して取り付けられたときに生じ得る停滞した流体ゾーンを回避する。中心軸（９）及び周辺軸（１０）からのディスク（１１）の回転によって生成される流体流れパターンは、本発明によるバイオリアクタシステムをより効率的にし、且つ他の従来の細胞培養システムより高い細胞密度を支持することを可能にする。これは、全ての先行技術によって開示されたシステムがマトリックスベッド内の不均質な条件の問題に悩まされ、栄養素の分配及び物質移動のための混合が非効率的であることが観察されているからである。ディスク回転の配置の前記パターンは、各ディスクの間隔の近傍（空間）（１１ａ）に非均質且つ停滞した流体ゾーンが存在しないことを保証する。さらに、このようなディスク回転の配置は、非常に効率的な混合に貢献するだけでなく、さらなる重要な利点として、空にすること、デカントすること又は採取する上での容器の内容物の排出を容易にする。通常、培地は毛細管作用によってプレート間に保持される傾向があるが、プレートが混在して回転すると排出効率が改善されることが判明している。灌流処理のために、計算された流体体積の量が連続的に排出され、新鮮な栄養豊富な培地又は流体が容器に加えられて、一定の流体体積を維持し、プロセスの定常状態の均衡を達成する。所望の量の生成物が生成されると、容器の内容物がデカントされるか又は採取され、さらなる処理のために貯蔵される。

【００８３】

ディスクの表面に接着する生物細胞又は支持マトリックスディスクの表面にコーティングされた活性成分若しくは粒子を分離するように、支持マトリックスの表面に効果的に振動運動を加えるために、培養容器壁を通して支持マトリックスに挿入する振動工具又は超音波処理プローブを利用することは、本発明の範囲内である。

【００８４】

このように、本発明による容器内容物の効率的な混合は、容器内で均質系が達成され、維持されることを確実にする。この効率的な混合は、容器の内容物に添加された成分の迅速且つ完全な分布をもたらし、増殖培地の組成及び他の条件の連続的且つ信頼できる測定が容易に行われ得ることを確実にし、その結果として、完全な器具による正確なプロセス制御が可能になる。容器内の混合の速度及び混合の程度は、ディスクスタックの回転速度と補助ポンピング手段の組み合わせに依存する。混合はまた、バッフルリング手段の回転速度を増加させることによって、かつ湾曲羽根の角度を調節することによって、さらに改善され得る。ディスクスタックの回転速度と容器内容物の補助ポンピングの程度の影響及び相互関係は、培養容器にある量の染料を注入し、ディスクスタックを回転させ、補助的なポンピングを行い、容器内容物全体に染料が９５％分散するのに要する時間を測定することによって実証され得る。ディスク、バッフル羽根及び周辺軸の最適なパターンニング（例

えば、サイズ、形状及び頻度)は、リアクタのサイズ(スケール)、速度、粘度、及び細胞プラットフォームとそれに関連する最適化された増殖培地の性質の関数となる。最適な混合条件を提供する特定のパターンニングは、有限要素解析研究(www.fluent.com)又は経験的実験を通じて決定することができる。これらの研究は、一般に、時間又は攪拌サイクル数の関数としての混合研究を含む。

【0085】

さらに、各ディスク(11)が可能な最大増殖表面を提供できるようにするために、各プレート間の空間、及び周辺軸(10)に搭載されたディスク(11)の外周と培養容器の内壁との間の空間は、最適化することができ、それらはプロセス条件及び規模によって決定される。

10

【0086】

プロセス流体又は栄養培地を保持するための1つ以上のリザーバは、再循環ループシステムに、好ましくは、培養容器の入口の前に接続される。

【0087】

さらに、好ましい実施形態では、本発明は、ベーンポンプ、ダイアフラムポンプ又は蠕動ポンプなどのポンピングコネクタ本体又は任意の他の流れ生成手段を介して培地を再循環させるための手段も利用する。バイオリアクタシステムを新鮮な栄養素で灌流するために部分再循環成分を有する再循環システムを提供することは、本発明の範囲内である。

【0088】

本発明によるバイオリアクタの別の重要な特徴は、1つのバイオリアクタ装置の出口を次のより大きなバイオリアクタ装置の入口に接続して、順次連結する能力である。バイオリアクタのこの一連のサイズは、完全なシードトレイン及び生産段階のための使い捨てのバイオリアクタの使用を可能にする。

20

【0089】

小さなユニットから大きなユニットにスケールアップする場合、本発明のデバイスは、ガス交換モジュール又は培養容器壁においてより多くのガス交換膜又はチューニングを単に増加又は組み込むことによって、ガス交換拡散速度が維持されるように、直接又は線形にスケラブルである。スケールアップは、支持マトリックスの厚さ及び高さ並びに培養チャンバーの対応するサイズを維持することによって、かつ支持マトリックスを有用な生産サイズに拡大することによって達成される。培養容器に係るアスペクト比(容器の高さ対直径)及び支持マトリックスのサイズは、最適化することができ、プロセスに依存する。線形なスケラビリティにより、製造開発時間が短縮され、開発コストと市場投入までの時間が大幅に短縮される。

30

【0090】

本発明の実施形態の特徴又は操作は、操作を実行するための配線論理を含む特定のハードウェアコンポーネントによって、又はプログラムされたデータ処理コンポーネントと特定のハードウェアコンポーネントの任意の組み合わせによって実行される。本発明の実施形態は、ソフトウェア、データ処理ハードウェア、データ処理システム実施方法、及び本明細書で説明される様々な処理操作で実施されるか、又はそれらを含んでもよい。

【0091】

40

図15a、15b及び15cは、本発明によるバイオリアクタシステムの別の実施形態を示す。この実施形態では、図15(a)に詳述するように、容器(1)及び支持マトリックス(2)は、垂直構成で配向される。なお、バイオリアクタシステムのすべての構成要素及びそれらの機能並びに全体の操作は、図1~14を参照して上述した実施形態と同様に実行される。前記実施形態では、容器(1)は、軸のすべてのディスク(11)が沈降し、培地中に回転するように、栄養培地で部分的に満たされる。前記構成は、軸駆動機構(16)が配置され、そこから前記中心軸(9)及び周辺軸(10)が培地内に延びる容器(1)へのオーバーレイ空間(23)を限定する。ここで、容器(1)には、空気、酸素、二酸化炭素又は他のガスをオーバーレイ空間(23)に注入するための追加のガス入口ポート(14)が備えられ、それによって物質移動のための追加の手段が提供される

50

。ここで、ディスクの回転のための磁気回転手段（１３）は、容器の底部に位置し、図１５（ａ）に示されるように、バッフル取り付けリング（８）と共に、偏向羽根のための回転手段が培養容器の上部に位置する。培地は、ガス交換器からポンピング手段を用いて流れることによって、出口（１ｂ）を通して容器（１）から排出され、そして入口（１ａ）を通して容器（１）内に供給される。この実施形態では、ディスクの回転のための底部磁気回転手段（１３）はまた、培養容器（１）の底面における細胞及び他のデブリの沈降を防止するために、推進フレームを含む。

【００９２】

図１６ａ、１６ｂ及び１６ｃに示される本発明の別の実施形態では、前記軸駆動機構（１６）及び磁気回転手段（１３）はオーバーレイ空間（２３）内に取り付けられている。インペラ羽根が成形されたバッフル取り付けリング（８）に取り付けられた偏向羽根（１２）は、培養容器の底面における細胞及び他のデブリの沈降を防止するために、培養容器の底部に回転自在に取り付けられている。さらに、図１６（ａ）に示されるように、前記実施形態では、ギヤプレートは中心軸（９）及び周辺軸（１０）の回転のために利用される。ここで、中心軸（９）に取り付けられたギヤプレートは、中央ギヤプレート（１７）と呼ばれ、周辺軸（１０）に取り付けられたギヤプレートは、周辺ギヤプレート（１８）とみなすことができる。中央ギヤプレート（１７）の歯は、周辺ギヤプレート（１９）の歯の間の空間に受け入れられ、中央ギヤプレート（１７）の回転により周辺ギヤプレート（１９）が回転する（図４（ｃ）を参照）。操作中、中央ギヤプレートは、前記磁気回転手段（１３）によって回転され、それにより、周辺ギヤプレートが回転され、したがって対応する周辺軸（１０）が回転される。中心軸（９）及び周辺軸（１０）の回転速度は、中央ギヤプレート及び周辺ギヤプレートの歯の直径を変えることによって変化させ得る。前述の実施形態における前記駆動軸機構を適合させることは、本発明の範囲内である。この実施形態では、底部インペラ羽根が成形されたバッフル取り付けリング（８）は、培養容器（１）の底面における細胞及び他のデブリの沈降を防止するために、推進羽根又はフレームを含む。

【００９３】

上述の実施形態を参照して記載された本発明は、特に、様々な生物細胞の効率的な細胞培養のためのものであることに留意されたい。しかしながら、本発明によるバイオリアクタシステムは、以下に記載されるような異なるタイプの分野でも使用することができる。

【００９４】

種々の基質の酵素処理のために本発明によるバイオリアクタシステムを構成することは、本発明の範囲内である。酵素は人類の歴史を通じて使用されており、今日の酵素の応用はバイオテクノロジープロセスの中心でかなりの役割を担っている。これらのバイオテクノロジープロセスの多くは、漏出に対する耐性、不利な環境条件下での長期保存及び操作安定性としての酵素活性の保持、基質への接近可能性、迅速な触媒作用、並びに、一般に高い酵素固定密度及び適切な配向の面で成功した酵素固定化を必要とする。異なる固定化方法の中で、ホスト半透膜の内部での酵素カプセル化、又は、ヒドロゲル及び粒子、カプセル、繊維などの形態の他のポリマー材料のようなネットワークマトリックス内の閉じ込めが特に重要である。上述した酵素のカプセル化技術を用いてディスクを作成又は製造することにより、前記バイオリアクタシステムは多様な基質の効率的な酵素処理が可能となる。支持マトリックス内の均質化された状態のため、基質は、酵素、触媒的タンパク質又はこれらのタンパク質の活性部位がディスクの表面上にコーティングされ、埋め込まれ又はカプセル化されるように、前記ディスク（１１）を作製することによって生成物又は他の中間体に変換することができる。このプロセスでは、バイオリアクタシステム及びその構成要素は、前述の実施形態で説明したのと同じ方法で機能する。

【００９５】

様々な化合物、有機化合物又は無機化合物又はそれらの官能基若しくは活性部位がディスク（１１）の表面上にコーティングされ、埋め込まれ又はカプセル化されるように、前記ディスク（１１）を作製することによって、様々な化学的又は生化学的変換又は反応を

達成するために、本発明によるバイオリアクタシステムを構成することは、本発明の範囲内である。

【0096】

さらに、流出物流の処理及び様々なバイオレメディエーションプロセスのための本発明によるバイオリアクタシステムを構成するために、大型ディスクは、生物学的コンタクターを回転させるのと同様の容器（１）の使用を可能にするために、表面上の微生物の増殖を支持するのに適した材料から作製される。支持マトリックス（２）は、容器によって実質的に又は部分的に覆われていてもよく、リアクタは開放環境条件下で操作されてもよい。上記のように、ディスク（１１）が混在して回転し、周辺ディスクが回転して中心軸に搭載されたディスク間の間隔の領域を実質的に部分的に覆う場合、ディスク表面上の微生物の過剰増殖が剥がれるか又は除去されると、プロセスの持続時間と効率が向上する。

10

【0097】

さらに、本発明によるバイオリアクタシステムは、プロセス要求に従って様々なガス混合物を処理又は洗浄するために使用することができるバイオフィルタ又は化学フィルターとして利用するように構成される。そのため、ディスクは化学的、生化学的物質又は生体で被覆され、容器（１）の入口ポートから流れる流体は、産業廃ガス又は入口ガス混合物から除去されるのに必須の他の揮発性物質を含むガス状態である。

【0098】

本発明は、以下の実施例において詳細に実験され例示される。実施例は、本発明の範囲内の実施形態を説明し例示する。この実施例は、単に説明の目的のために与えられており、本発明の限定として解釈されるべきではなく、その多くの変形が精神及び範囲から逸脱することなく可能である。

20

<実施例１>

【0099】

生物学的材料の均質な攪拌のための混合時間を測定するための実験は、細胞の凝集体が導入された１Ｌの培養培地が充填された容器中で行われた。そのため、前記培養容器の高さ／直径比は１．８０に維持され、好ましくは、各ディスクの直径は３８mmに維持され、周辺軸のペリセントリック直径は５０mmであり、湾曲羽根のペリセントリック直径は８５mmであり、湾曲羽根の角度は４０°に維持される。軸の羽根及びディスクの回転率に応じて、次の読み取りは、容器内の成分の適切な混合を表す混合時間の形式で行われた。染料脱色技術は最も簡単な方法であり、主に混合時間の測定に使用される。それは、１つ以上のpH指示薬を用いてバルク溶液に酸（又は塩基）を添加することによって行われる。脱色は目視観察によって検査することができる。混合時間の評価は、裸眼又はビデオ画像による目視観察のため、しばしば主観的である。混合時間は、分散相の添加と最後の色のトレースの消失との間の時間間隔として定義される。

30

【0100】

バイオリアクタの容積	バッフリング湾曲羽根のRPM	ディスクのRPM	培地中導管からの液体の再循環流（L／分）	混合時間（秒）
1 L	10	2	0.4	48
	10	10	1	35
	35	2	0.4	32
	35	10	1	21

40

<実施例２>

【0101】

他の試験では、前記容器には、１０Ｌの培養培地が充填された。そのため、前記培養容器の高さ／直径比は１．８５に維持され、好ましくは、各ディスクの直径は７０mmに維持され、周辺軸のペリセントリック直径は９６mmであり、湾曲羽根のペリセントリック

50

直径は178mmであり、湾曲羽根の角度は40°に維持される。適切な混合のための混合時間を測定する手順は、羽根及びディスクの回転速度及び媒体の再循環流を変えることによって、上記実施例に記載したのと同じ方法で行った。以下の結果が得られた。

【0102】

バイオリアクタの容積	バッフリング湾曲羽根のRPM	ディスクのRPM	培地中導管からの液体の再循環流 (L/分)	混合時間 (秒)
10L	10	2	0.5	209
	10	10	2	178
	35	2	0.5	93
	35	10	2	65

10

<実施例3>

【0103】

細胞の培養は、100Lの培養培地が充填された容器中で行われ、以下の結果が記録された。そのため、前記培養容器の高さ／直径比は2.00に維持され、好ましくは、各ディスクの直径は160mmに維持され、周辺軸のペリセントリック直径は195mmであり、湾曲羽根のペリセントリック直径は380mmであり、湾曲羽根の角度は40°に維持される。

【0104】

20

バイオリアクタの容積	バッフリング湾曲羽根のRPM	ディスクのRPM	培地中導管からの液体の再循環流 (L/分)	混合時間 (秒)
100L	10	5	2	647
	10	15	8	501
	35	5	2	267
	35	15	8	188

【0105】

観察

30

前述の結果から、羽根及びディスクのRPM及び導管中の培地の再循環流を増加させることによって、混合時間は実質的に短縮されたことに留意されたい。従って、本装置で最適な回転速度を用いることにより、細胞を連続的且つ大規模に培養するための手順が大幅に簡素化される。容器の寸法、羽根の角度等の他のパラメータを変化させることによって混合を改善することは、本発明の範囲内である。

【0106】

本開示に照らして、過度の実験をすることなく、開示され、請求された装置及び方法のすべてを作製及び実行することができる。本発明のシステム、装置及び方法は、好ましい実施形態について説明されているが、当業者には、本発明の概念、精神及び範囲から逸脱することなく、本明細書に記載された方法、システム及び装置、並びに方法のステップ又は一連のステップに変形を適用することができることは明らかであろう。

40

【符号の説明】

【0107】

培養容器 (1)

入口ポート (1a)

出口ポート (1b)

支持マトリックス (2)

ポンピング手段 (3)

ガス交換手段 (4)

主導管 (5)

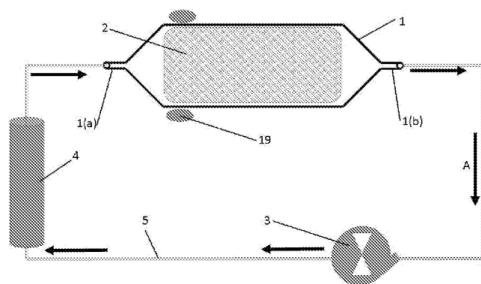
50

再循環ループ (A)
 支持フレームワーク (6)
 中空センター (6 a、7 a)
 スポーク (6 b、6 d、7 b)
 内円板 (6 c)
 バッフル支持フレーム (6 e)
 周辺軸取り付けフレーム (7)
 バッフル取り付けプレート (8)
 中心軸 (9)
 周辺軸 (10)
 ディスク (11)
 間隔の空間 (11 a)
 偏向羽根 (12)
 磁気回転手段 (13)
 導管 (14)
 センサ (15)
 軸駆動機構 (16)
 中央ギヤプレート (17)
 周辺ギヤプレート (18)
 運動エネルギー手段 (19)
 市販の細胞担体 (20)
 流体透過性成形ディスクフレーム (21)
 インペラ羽根 (22)
 オーバーレイ空間 (23)

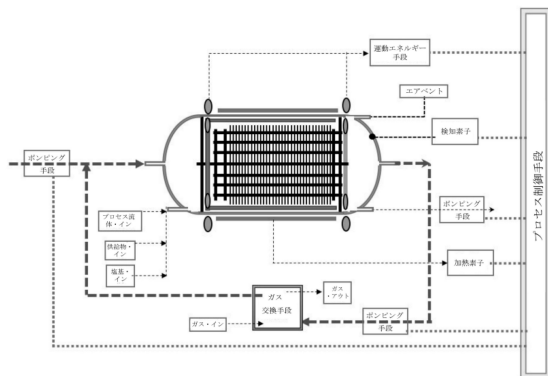
10

20

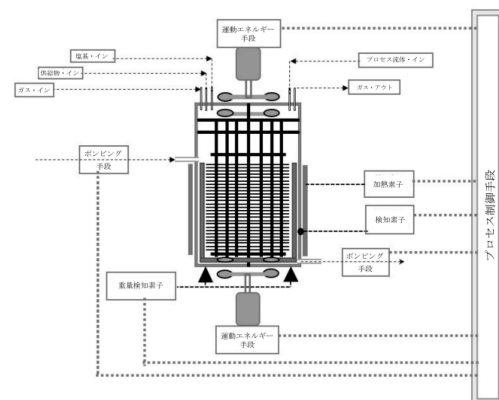
【図 1 a】



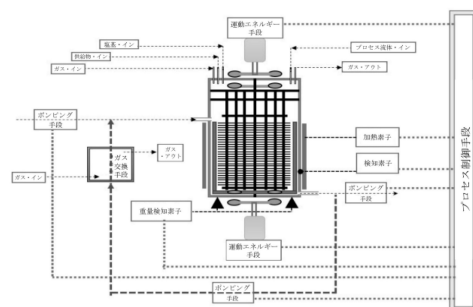
【図 1 b】



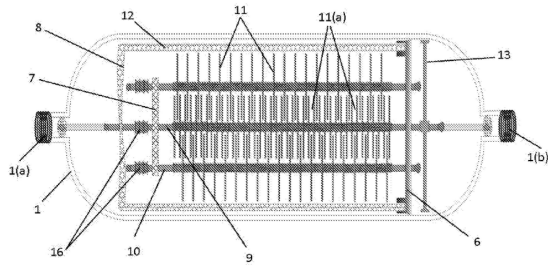
【図 2 a】



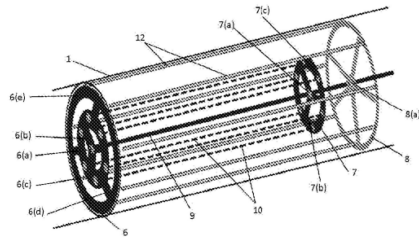
【図 2 b】



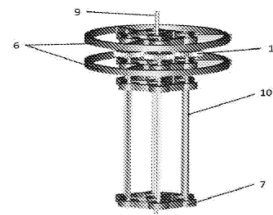
【図 3】



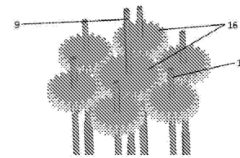
【図 4 a】



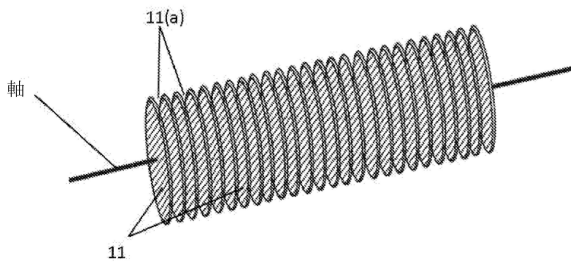
【図 4 b】



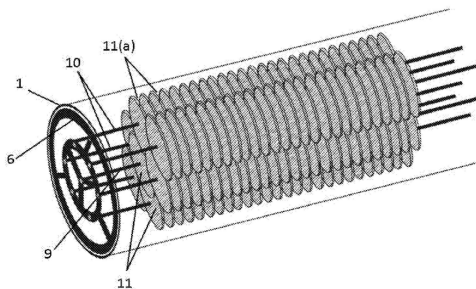
【図 4 c】



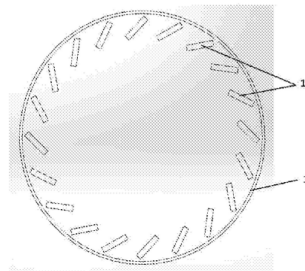
【図 5】



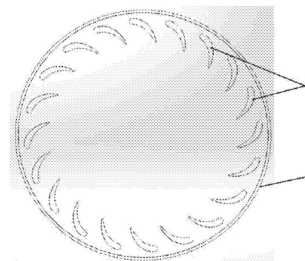
【図 6】



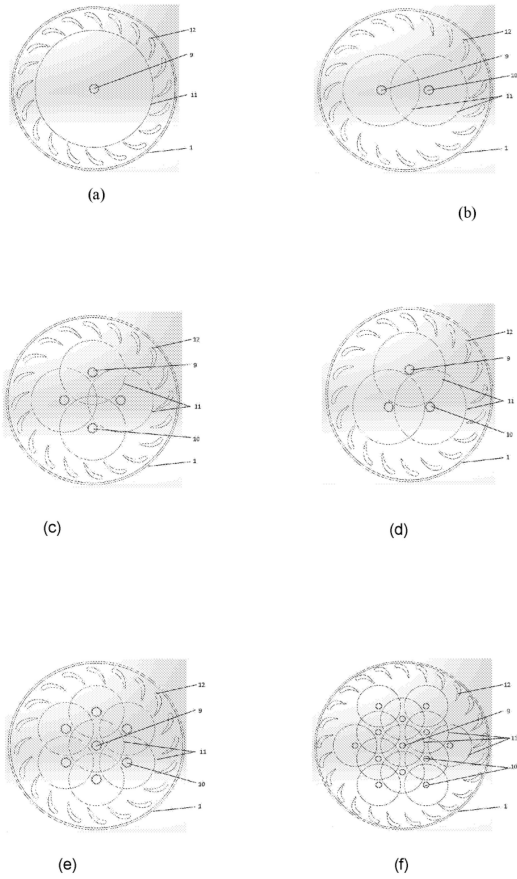
【図 7 a】



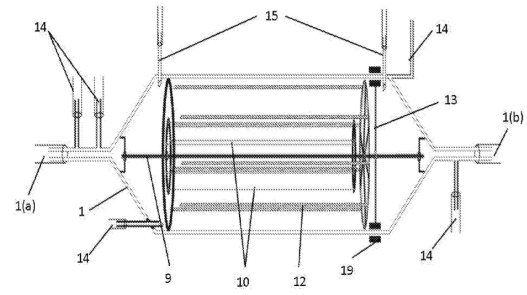
【図 7 b】



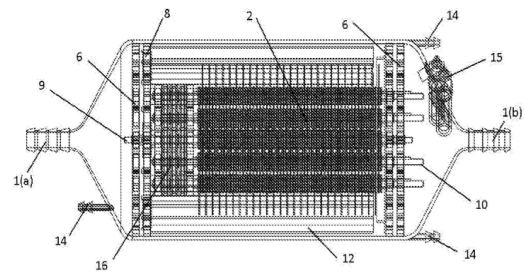
【図 8】



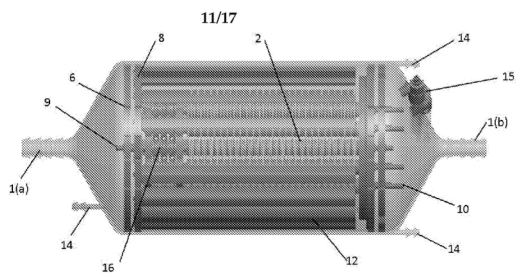
【図 9】



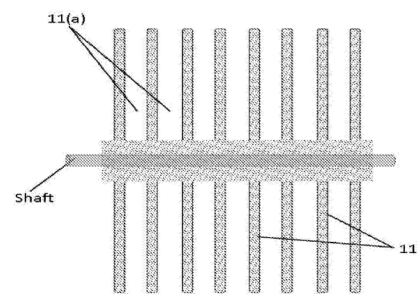
【図 10 a】



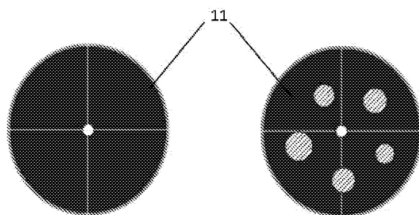
【図 10 b】



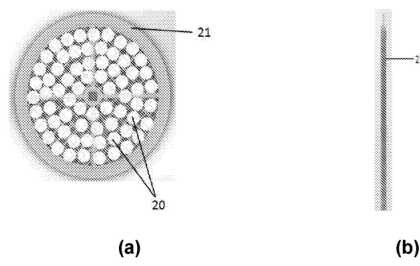
【図 11 b】



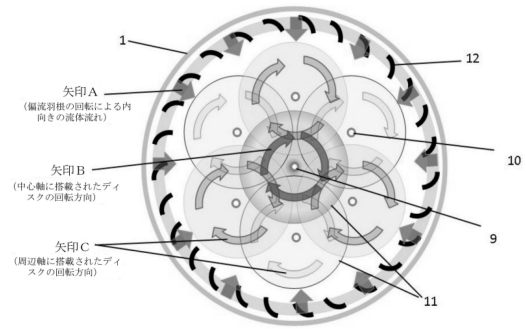
【図 11 a】



【図 1 2】



【図 1 3】



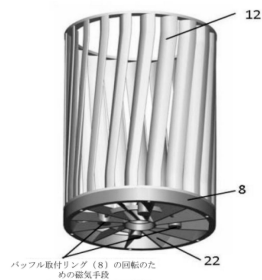
【図 1 4 a】



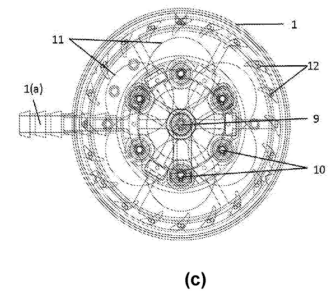
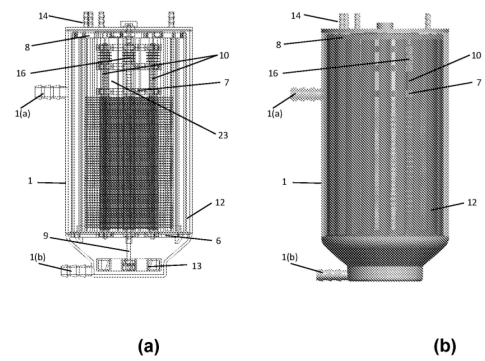
【図 1 4 b】



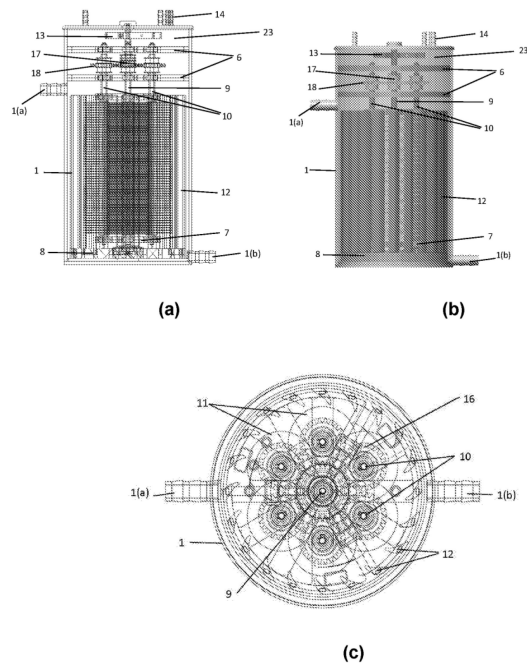
【図 1 4 c】



【図 1 5】



【図 16】



フロントページの続き

(74)代理人 110002262

TRY国際特許業務法人

(72)発明者 パテル ラビンドラカマー ディラブハイ

インド 382421 グジャラート, アーメダバード, ロイヤル レジデンス エヌアール.
バンデマトラム シティー エヌアール. ゴータ レイルウェイ クロッシング ゴータ, B-2
02

審査官 佐久 敬

(56)参考文献 特開平04-126068 (JP, A)

特表2014-519825 (JP, A)

特開平07-008260 (JP, A)

特開平07-075550 (JP, A)

特開平04-335882 (JP, A)

国際公開第2016/013069 (WO, A1)

国際公開第2016/026932 (WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12M

C12N