

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-509338

(P2017-509338A)

(43) 公表日 平成29年4月6日 (2017. 4. 6)

(51) Int. Cl.		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 M	1/12	(2006. 01)	C 1 2 M	1/12	4 B 0 2 9
A 6 1 K	9/08	(2006. 01)	A 6 1 K	9/08	4 B 0 6 5
C 1 2 N	7/04	(2006. 01)	C 1 2 N	7/04	4 C 0 7 6

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 21 頁)

(21) 出願番号	特願2016-556847 (P2016-556847)	(71) 出願人	516245885
(86) (22) 出願日	平成27年3月6日 (2015. 3. 6)		バイエル、アクチエンゲゼルシャフト
(85) 翻訳文提出日	平成28年10月13日 (2016. 10. 13)		BAYER AKTIENGESELLSCHAFT
(86) 国際出願番号	PCT/EP2015/054698		ドイツ連邦共和国レーバークーゼン、カイ
(87) 国際公開番号	W02015/135844		ザー・ビルヘルム・アレー、1
(87) 国際公開日	平成27年9月17日 (2015. 9. 17)	(74) 代理人	100091982
(31) 優先権主張番号	14158845.9		弁理士 永井 浩之
(32) 優先日	平成26年3月11日 (2014. 3. 11)	(74) 代理人	100091487
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		弁理士 中村 行孝
		(74) 代理人	100082991
			弁理士 佐藤 泰和
		(74) 代理人	100105153
			弁理士 朝倉 悟

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 継続的なウイルス不活化のための装置および方法

(57) 【要約】

本発明は、継続的なウイルス不活化のための装置および方法に関する。製品流における継続的なウイルス不活化のための前記装置は、前記製品流を運ぶための製品フローライン (8) に各々連結された入口 (4) および出口 (5) を有する管またはホース (1) を含み、前記管または前記ホース (1) は、コイル軸 (h) を中心として、屈曲しているおよび／または巻数 n で螺旋状に巻きついており、かつ、遠心力の法線の実効方向を変化させるために、前記コイル軸 (h) に $45^{\circ} \sim 180^{\circ}$ の角度 (α) を有する 1 つ以上の方向変化および／または屈曲 (2) を有し、前記装置は、0 よりも大きいディーン数と、0 よりも大きいねじれパラメータとを特徴とする。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

製品流におけるウイルスの継続的な不活化のための装置であって、前記製品流を運ぶための製品フローライン（８）に各々連結された入口（４）および出口（５）を有する管またはホース（１）を含み、

前記管または前記ホース（１）は、コイル軸 h を中心として、屈曲しているおよび／または巻数 n で螺旋状に巻きついており、かつ、遠心力の法線の作用方向を変化させるように、前記コイル軸 h に $45^\circ \sim 180^\circ$ の角度 α を有する１つ以上の方向変化および／または屈曲（２）を有し、

前記装置は、０よりも大きいディーン数と、０よりも大きいねじれパラメータとを特徴とする装置。 10

【請求項 2】

前記装置は、２以上、好ましくは３以上のディーン数と、３００以上、好ましくは５００以上のねじれパラメータとを特徴とする、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 3】

前記装置は、１つ以上の枠（３）に連結された保持台（６）を含むことを特徴とする、請求項 1 または 2 に記載の装置。

【請求項 4】

前記装置は、殺菌可能であり、好ましくはオートクレーブ可能であり、特に好ましくは γ 線滅菌可能であることを特徴とする、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の装置。 20

【請求項 5】

前記屈曲したおよび／または螺旋状に巻きついた管またはホース（１）の内径（ d_i ）は、１～２０ mm の範囲内であることを特徴とする、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 6】

請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の 1 つ以上の装置を含む、生産プラント。

【請求項 7】

製品流の継続的なウイルス不活化のためのプロセスであって、

a) 不活化される製品流を準備するステップと、

b) 入口（４）および出口（５）を有する管またはホース（１）の前記入口（４）に前記製品流を導入するステップであって、前記管または前記ホース（１）は、コイル軸 h を中心として、屈曲しているおよび／または巻数 n で螺旋状に巻きついており、かつ、遠心力の法線の作用方向を変化させるように、前記コイル軸に $45^\circ \sim 180^\circ$ の角度 α を有する１つ以上の方向変化および／または屈曲（２）を有し、前記装置は、０よりも大きいディーン数と、０よりも大きいねじれパラメータとを特徴とする、ステップと、 30

c) ウイルスを不活化させる条件下で、前記管または前記ホース（１）を通じて前記製品流を流すステップと、

d) 前記出口（５）を通して前記管または前記ホース（１）から出るステップと、を含むプロセス。

【請求項 8】 40

ステップ b) における前記装置は、２以上、好ましくは３以上のディーン数と、３００以上、好ましくは５００以上のねじれパラメータとを特徴とする、請求項 7 に記載のプロセス。

【請求項 9】

不活化される物質の pH がまだ必要な値を有していない場合に、ステップ a) における前記製品流の pH が 4 以下の値に設定される、請求項 7 または 8 に記載のプロセス。

【請求項 10】

不活化される溶液は、高分子の溶液、好ましくはタンパク質またはペプチドの溶液、特に好ましくは抗体溶液であることを特徴とする、請求項 7 ～ 9 のいずれか 1 項に記載のプロセス。 50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、継続的なウイルス不活化（continuous virus inactivation）のための装置およびプロセスに関する。特に、本発明は、低pHの滞留ループにおける継続的なウイルス不活化のための装置およびプロセスに関する。

【0002】

バイオ医薬品の製造プロセスは、ウイルス減少のために種々の直交するステップを必要とする。（エンベロープ）ウイルスを不活化する頻繁に使用される方法は、酸性媒体との接触である。

【背景技術】

【0003】

バッチ式での低pHにおいてのウイルス不活化が知られており、作用物質（例えば抗体）のバイオ医薬品製造で頻繁に採用されている（Sofer 2003, Virus Inactivation in the 1990s - and into the 21st Century. Part 4. BioPharm International）。ここで、不活化される物質、すなわち、活性ウイルスを含有し得る液体は、適切な容器の中に導入され、酸性溶液によってpH4以下にされ、必要ならホモジナイズされ、必要な時間放置される。ウイルスの不活化は、特定の製品およびプロセスに依存した時間の、ウイルスの酸性溶液との接触によって達成される。これにより、バッグ（bag）の全内容物は実質的に同じ滞留時間の不活化を受け、結果的に、容器の各液体要素において達成されるウイルス減少は実質的に同一となる。

【0004】

バイオ医薬品および生物由来物質、具体的には医薬品抗体、の製造プロセスが連続的に作動される場合、ウイルス不活化に必要な保持時間が達成される必要があるだろう。本特許出願において、継続的なウイルス不活化とは、ウイルス不活化モジュールへの供給流（feed stream）の導入およびウイルス不活化モジュールからの製品流（product stream）の放出が、間断無く起こることを意味する。少なくとも1つのバイオリアクターを含む生産プラントの連続的な作動とは、本特許出願において、バイオリアクターへの供給流の導入および生産プラントからの製品流の放出が間断無く起こり、いくつかのプロセスステップが半連続的に作動可能であること、を意味する。

【0005】

ウイルス不活化に必要な保持時間（＝滞留時間）は、滞留ループの中で達成され得る。ここで、滞留ループ内の層流が問題となり得る。管内の層流においては、放物状の速度分布が確立せられ、結果として、広範な滞留時間分布が生じる（図1）。管内の流れの中心における最大速度は平均速度の2倍であるが、管壁における速度がゼロ（固着状態）であるため、非常に広範な滞留時間分布がこれらの場合で生じる。このようにして得られた滞留時間は、平均滞留時間の半分（管の中央における流れの速い液体要素のため）から、無限に長い滞留時間（壁の近くの固着している液体要素のため）まで様々である。第1に、ある最小滞留時間がウイルスの効率的な不活化に必要であること、しかし、第2に、低pHでの長い滞留時間は製品（例えばタンパク質）を損傷させ得ることから、連続的な作動においては狭い滞留時間分布の達成が不可欠である。この場合、層流状態から、均一な滞留時間を有する乱流状の栓流への変化は、許容可能な代案ではない。乱流は速い流速を必要とする。低pHでのウイルス不活化に通例の長い滞留時間（例えば、60～120分間）を達成する場合、望ましくないほどに巨大なプラントが結果として生じる。

【0006】

継続的なウイルス不活化を実行する1つの方法は、紫外線C光線の照射である。WO 2002038191、EP 1339643 B1、EP 1464342 B1、EP 1914202 A1およびEP 1916224 A1では、螺旋状の滞留ループの使用が記載されており、ここで、不活化される物質が紫外線C光線を照射され、存在するウイルスが継続的に不活化される。流体が螺旋状に巻いた管内を流れる際、遠心力が流体に働く。遠心力が

10

20

30

40

50

2 次的な流れ（Dean 渦（Dean eddy）と称される）を生み出し、これが、半径方向混合に改善をもたらし、不活化される物質がより均一に照射されることになる。上記出典で
使用される螺旋構造は、螺旋軸の方向変化が無いまっすぐな螺旋状コイルである。低 pH
での継続的なウイルス不活化での使用については、滞留時間分布が、層流が発生する直管
の場合よりは良好に狭くなり得るが、まだ広過ぎるために、UV-C 照射で使用されるよ
うなまっすぐな螺旋構造の使用は実用的ではない。滞留時間分布がまだかなり広いため
、この形状は pH ウイルス不活化のために大型のプラントをまだ必要とするだろう。

【0007】

第 1 に、必要な最小滞留時間が各々の液体要素において達成される必要があるため、第
2 に、製品、特にタンパク質製品、が低 pH において損傷を受ける可能性があるため、pH
に基づくウイルス不活化には、非常に狭い滞留時間分布を達成することが必要である。

【0008】

Nigam et al. [US7337835B2, AIChE Journal (1984), Vol. 30, No. 3, p. 363-368, Chem. Eng. Comm. (1983) 23, 4-6, p. 277-289]では、螺旋状コイルを通じた流れの場合
に、螺旋状コイルの軸の屈曲が、液体に対する遠心力の法線の作用方向における変化を生
じさせることが教示されている。最も狭い滞留時間分布は、Nigam et al.によれば、 $Dn \geq 3$ の
ディーン数（Dean number）の値で得ることができ、一方、 $Dn < 3$ では、滞留時
間分布の広範化が観察される。この技術は、その筆者らにより「コイル流インバータ（co
iled flow inverter）」（CFI）と呼ばれている。CFI の原理を図 2 に示す。螺旋状
の管形状によって生じた遠心力が 2 次流れを生み出し、この結果、狭い滞留時間分布が、
層流の場合でさえ、熱交換器において実現可能となる。Nigam et al.は、 90° 屈曲（be
nd）の実施によって、まっすぐな螺旋または層流が生じる直管においてよりも、かなり狭
い滞留時間分布をもたらされると教示している。また Nigam et al.は、より多くの屈曲が
使用されるほど、滞留時間分布がより狭くなると教示している。屈曲の数の増加に伴い、
乱流が発生し、栓流分布を有する流管の滞留時間分布への近似が得られる。

【0009】

長い滞留時間および狭い滞留時間分布を同時に必要とするプロセス（例えば低 pH にお
けるウイルス不活化）へのこの管形状の適用可能性は、試験も言及もされていない。長い
滞留時間は熱交換器の提供には無関係である。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

従って、本発明の目的は、低 pH での継続的なウイルス不活化のための連続流が生じる
滞留ループにおいて、狭い滞留時間分布で、必要な滞留時間の達成を可能にする、新規の
簡便で安価な溶液を提供することであった。

【発明を実施するための形態】

【0011】

本発明は、製品流におけるウイルスの継続的な不活化のための装置であって、製品流を
運ぶ（convey）ための製品フローライン 8 に各々連結された（connect）入口 4 および出
口 5 を有する管（tube）またはホース（hose）1 を含む装置、を提供することによってこ
の目的を達成し、

前記管または前記ホース 1 は、コイル軸 h を中心として、屈曲しているおよび／または
巻数（number of windings）n で螺旋状に巻きついており、かつ、遠心力の法線の作用方
向を変化させるように、コイル軸に $45^\circ \sim 180^\circ$ の角度 α を有する 1 つ以上の方向変
化および／または屈曲 2 を有し、

前記装置は、0 よりも大きいディーン数と、0 よりも大きいねじれパラメータとを特徴
とする。

【0012】

前記装置は、0 以上のディーン数に加えて、1 以上、好ましくは 2 以上、好ましくは 3
以上、より好ましくは 4 以上のディーン数も有し得る。

【0013】

前記装置は、0以上のねじれパラメータ（torsion parameter）に加えて、100以上、200以上、300以上、400以上、特に好ましくは500以上のねじれパラメータも有し得る。

【0014】

特定の好ましい実施形態では、前記装置は、3以上のディーン数と、500以上のねじれパラメータとを有する。

【0015】

管またはホース1は、コイル軸hを中心として螺旋状に巻きついていることが好ましい。コイル軸の断面は通常円形である。

10

【0016】

屈曲形状の一例が、EP0944431B1から、具体的には図5～図11において知られており、これらは、これらの記述と共に参照によって本明細書に援用される。

【0017】

本発明の装置は、1つ以上の枠3を有する保持台6を含み得る。あるいは、前記保持台はコイル軸を形成する。前記枠および／または前記保持台は中空であっても充填されていてもよい。前記ホースまたは前記管1が高い強度および剛性を有する場合、自立構造も可能である。

【0018】

プラントの寸法に関しては、Nigam et al.の教示が参照によって援用される：US 7 3 3 7 8 3 5 B 2、AIChE Journal (1984), Vol. 30, No. 3, p. 363-368, Chem. Eng. Comm. (1983) 23, 4-6, p. 277-289。具体的には、Nigam et al.では、滞留時間分布を狭くさせる、半径方向における混合の増加は、45°～180°の角度αにおいてでも起こるが、40°～120°の範囲、具体的には90°が好ましいことが教示されている。図2は、Nigam et al.に従ったCFIの原理およびα=90°という具体的事例についてのその設計パラメータを示している。螺旋状コイルの方向の関数として流動プロファイルがどのようにして変化するかを理解することが可能である。設計パラメータとしては、以下の言及がなされ得る：

20

- ・ホース内径 d_i
- ・ピッチ間隔p
- ・コイル管直径 d_{ct}
- ・コイル直径 d_c
- ・アーム当たりの巻き付きの数n（アームは2つの連続した屈曲間の真っすぐな螺旋状コイルの領域である）
- ・屈曲の角度α
- ・屈曲の数（枠において、枠当たり4つの屈曲が示される）

30

前記系を説明する無次元パラメータは、レイノルズ数Re、ディーン数DnおよびねじれパラメータTである。レイノルズ数Reは以下により算出される。

【0019】

【数1】

40

$$Re = \frac{\rho \cdot \bar{v} \cdot d_i}{\eta}$$

流体の密度ρ、平均流速

【数2】

$$\bar{v}$$

および動粘性率ηを用いる。

【0020】

ディーン数Dnは以下により算出される。

50

【数 3】

$$Dn = Re \cdot \sqrt{d_i/d_c}$$

【0021】

ねじれパラメータ T は以下により算出される。

【数 4】

$$T = \frac{\pi \cdot r_c \cdot Re}{p}$$

10

【0022】

Nigam et al. は、ピッチ間隔が最小限、角度 $\alpha = 90^\circ$ 、ディーン数が少なくとも 3、およびねじれパラメータが 500 以上である場合に、最良の結果を達成することができることを教示している。安定な 2 次流れが螺旋内で形成可能であるために、各アームは少なくとも 2 つの完全な巻き付きも有しているべきである。[AIChE Journal (1984), Vol. 30, No. 3, p. 363-368] および [Chem. Eng. Comm. (1983) 23, 4-6, p. 277-289]。

【0023】

本発明の装置の寸法記入は、通常以下の通りに実行される。

【0024】

20

— 第 1 ステップで、所望の体積流量が指定される。

【0025】

— これに基づき、ディーン数は好ましくは 3 以上、およびねじれパラメータは好ましくは 500 以上という条件に従って、上記の式を用いて可能な寸法が算出される。

【0026】

— 一例として、3 ml / 分の体積流量において作成された曲線が図 4 に示される。装置の適切な寸法は、Nigam et al. に従って、ねじれパラメータ = 500 の有利な曲線 (advantageous curve) の左側、且つ、ディーン数 = 3 の有利な曲線の左側に、見出すことができる。特に空間要件の点で最適化されるために、最も適切な管内径およびコイル管直径が選択される。ここで、ホース内径は要求される最小滞留時間が達成されるように選択される。さらに、コイル管直径は可能な限り小さくされるべきである。この理由は、Nigam et al. によると、滞留時間分布がより狭くなり、より多くの屈曲が滞留区画で設置されるためである。滞留区画の所定のホース長さおよび螺旋当たりの固定巻き付き数において、より多くの屈曲が設置されるほど、コイル管直径はより小さくなり得る。近似として、長さ L を有する滞留区画の屈曲の数 n_{Bend} を算出することができ、ここで、 $n_{arm, frame}$ は枠当たりのアームの数であり、 $n_{winding, arm}$ はアーム当たりの巻き付きの数であり、 π は数 pi であり、 d_c はコイル直径であり、ここで $d_c = d_t + d_o$ であり：ここで、 d_o はホースの外径である。

30

【数 5】

$$\frac{L}{n_{bend, frame} \cdot n_{winding, arm} \cdot \pi \cdot d_c} - 1$$

40

【0027】

本発明において、上記のパラメータは、約 3 ml / 分の体積流量における継続的なウィルス不活化のための試験プラントのために選択された例示であった。必要なホース長さは、特定の場合に要求される最小滞留時間および選択されたホース内径を用いることで得られる。次のステップでは、ディーン数 ≥ 0 、且つ、ねじれパラメータ ≥ 0 、好ましくは、ディーン数 ≥ 2 、好ましくは ≥ 3 、且つ、ねじれパラメータ ≥ 300 、好ましくは ≥ 500 、という条件が満たされるように、コイル管直径が選択される。これに関して、図 4 を参照されたい。

50

【0028】

管またはホース1の内径 d_i は、通常1～30mm、好ましくは3～6mmの範囲である。例えば、3mmの内径を有する市販の管／市販のホースが試験プラントで使用された。次に、この場合の可能な最小コイル管直径が選択された。選択されるコイル管直径が小さいほど、所与のホース長さに対してより多くの屈曲が実現可能となる。屈曲数の増加は滞留時間分布を狭めるため、この数は常に可能な限り大きくされるべきである。

【0029】

管／ホース1の全長 L および内径（internal diameter）は、特定の場合に要求される滞留時間が堅持されるように、プラント全体の寸法／プラントの流速に適合される。

【0030】

上記のサイズを有するプラントの場合、管またはホース1は通常、1～200m、好ましくは50～100mの全長 L を有する。

【0031】

2つの方向変化および／または屈曲2の間の巻数 n は通常、少なくとも2～20、好ましくは5～15、特に好ましくは10であり、巻数は前記ユニットが非常に小さな容積を占めるように選択される。

【0032】

保持台がコイル軸を形成している場合、またはホースまたは管1が自立している場合、コイル軸は通常、2～ n の方向変化および／または屈曲2を有し、ここで n はあらゆる所望の数で有り得る。数 n は、管／ホース1の全長 L がユニットに巻き付き、且つ非常に小さな容積を占めるように選択される。

【0033】

枠がコイル軸として使用される場合、各々の枠3は通常、2～6の方向変化および／または屈曲2を有する。図2に示されるような四角の枠（90°屈曲）が優先されるが、これに限定はされない。1つ以上の枠は通常、管／ホース1の全長 L がユニットに巻き付き、且つ非常に小さな容積を占めるまで、台6に接し互いの上部に固定される。

【0034】

このようにして達成された狭い滞留時間分布は、特定の製品およびプロセスに応じた最小滞留時間において、同様に製品およびプロセスに応じた、製品への損傷をもたらすであろう最大滞留時間（典型的には、pH感受性の製品の30分～感受性が低い製品の120分）を達成することなく、要求されるウイルス除去を達成することを可能にする。要求される滞留時間、およびまた、最大滞留時間は、製品依存的であり、典型的には、実験によって決定される。下流の精製ステップの必要を可能な限り少なく保つために、最大滞留時間は製品が最小の損傷を受けるように最適化される。滞留時間分布は理想的な流管反応器の平均滞留時間に近づく。このようにして、バッチプロセスにおけるウイルス不活化に匹敵するであろう、連続的に作動される低pHでの効率的なウイルス不活化、結果すなわちウイルス除去、および製品品質、を確実にすることが可能である。

【0035】

特に、台に接した枠を利用する場合、前記装置の簡便で、拡張性のある、安価な製造（使い捨て用も）が可能である。ホース／管は、ホース／管が滅菌された後または滅菌される前に、要求された方法で、単に枠に巻き付けられる。プロセスでユニットを使用した後、ホース／管は、枠から脱離し、処分または洗浄（複数回の使用が望まれる場合）することができる。屈曲の角度は所定の値を有するべきである。ホース／管の位置も同様に、例えば簡便で再現性のあるコイルのために、枠に刻まれたガイド切欠きによって、定められるべきである。プラントにおける作動においては、このようにして、プラントが確実に各製造プロセスで同一の有効性を有するようにされる。

【0036】

さらに、前記装置は殺菌可能（sterilizable）、好ましくはオートクレーブ可能（autoclavable）またはγ線照射可能（gamma-irradiatable）であり得る。この特性を獲得するために、関連する品質要求事項、例えば医用品質（USPクラスVI）、に対応したホー

10

20

30

40

50

スの使用が優先される。本発明の装置は、オートクレーブ可能または γ 線滅菌可能であることが好ましく、これにより無菌作動が可能となる。

【0037】

さらに、本発明は、製品流の継続的なウイルス不活化のためのプロセスを提供し、前記プロセスは、

a) 不活化される製品流を準備するステップと、

b) 入口4および出口5を有する管またはホース1の前記入口4に前記製品流を導入するステップであって、前記管または前記ホース1は、コイル軸hを中心として、屈曲しているおよび／または巻数nで螺旋状に巻きついており、かつ、遠心力の法線の作用方向を変化させるように、前記コイル軸に $45^{\circ} \sim 180^{\circ}$ の角度 α を有する1つ以上の方向変化および／または屈曲2を有し、前記装置は、0よりも大きいディーン数と、0よりも大きいねじれパラメータとを特徴とする、ステップと、

c) ウイルスを不活化させる条件下で、前記管または前記ホース1を通じて製品流を流すステップと、

d) 前記出口5を通して前記管または前記ホース1から出るステップと、を含む。

【0038】

製品および、可能性として、不活性化されるべきウイルスの両方を含有する液体の製品流が、ステップa)で生み出される。

【0039】

前記装置は、本発明のプロセスのステップb)において、0以上のディーン数に加えて、1以上、好ましくは2以上、好ましくは3以上、より好ましくは4以上のディーン数も有し得る。

【0040】

前記装置は、本発明のプロセスのステップb)において、0以上のねじれパラメータに加えて、100以上、200以上、300以上、400以上、特に好ましくは500以上のねじれパラメータも有し得る。

【0041】

特定の好ましい実施形態では、前記装置は、本発明のプロセスのステップb)において、3以上のディーン数と、500以上のねじれパラメータとを有する。

【0042】

ステップc)のウイルスを不活性化する可能な条件としては、 $pH \leq 4$ 、UV処理または熱処理が挙げられ得る。

【0043】

ステップa)において、不活性化される物質のpHがまだ所望の値を有していない場合、製品流のpHは4以下の値に設定されることが好ましい。この場合、前記pHは、ウイルス不活化を止めるために、ステップd)の後に塩基によって5以上に設定されることが好ましい。

【0044】

不活性化される溶液の4以下へのpHの設定は、例えば、HCl溶液の添加によって達成することができる。この添加は、典型的には、本発明の装置の上流で実行される。

【0045】

ウイルス不活化のための装置に入れる前の製品流のpHが、センサpH0501(図8)によって測定される。このpHセンサには常に調節の務めがあるわけではない。pHシグナルの記録は、プロセスのモニタリングに役立つのみである。

【0046】

製造プロセスが1つ以上のpH調整を必要とする場合、ウイルス不活化装置はpHを設定するためのユニットに接続される。通常は2つのユニットがpH設定に使用され、1つ目は製品流を $pH \leq 4$ にするために不活化の前であり(ステップb)、もう1つは製品流を中和するために不活化の後(ステップd)である。

10

20

30

40

50

【0047】

ステップc)において、酸性溶液と、存在するあらゆるウイルスとの所望の接触時間（＝滞留時間）が達成される。

【0048】

ステップd)における塩基としては、例えば、水酸化ナトリウム溶液（NaOH）の使用が可能である。前記プロセスは、バッチ操作として、および連続した製造プロセスとして実行することができるため、バッチ操作に、および連続プロセスに組み込むことができる。

【0049】

ウイルス不活化装置が連続した製造プロセスに組み込まれる場合、pHを設定するための1つ以上のユニットが優先され、その中で、製品流は再循環ループを流れる。図8は、これに限定はされないが、ウイルス不活化およびその後の中和を一例として示している。M0503は製品流をバッグB0502内に運び、そこで、ウイルス不活化から離れた後のpHが5以上の値に設定される。バッグB0502の内容物は、再循環ループ内の再循環ポンプM0504によってpHセンサpH0502内に運ばれ、これにより製品流のpHが測定される。センサの下流において、pHを変更するための調整剤（adjusting agent）が供給される。調整剤のためのポンプはM0505であり、付随したセンサpH0502を介して制御される。

【0050】

本発明のプロセスにおいて、不活性化される製品流は、通常、バイオリアクターから得られた溶液、特にタンパク質またはペプチドの溶液、なかでも特に好ましくは抗体溶液、である。

【0051】

従来技術において慣例のバッチ式でのウイルス不活化に優る、本発明の継続的なウイルス不活化の技術的優位性は、プロセスの動作モードを変更する必要無しに、「下流プロセス」とも称される継続的なワークアッププロセスに組み込むことができることである。ここで、プロセス動作においてバッチから連続への変更および元へ戻す変更は無く、代わりに、「下流プロセス」全体または製造プロセス全体（上流および下流）が連続的に作動し得る。

【0052】

本特許出願はさらに、製品流におけるウイルスの継続的な不活化のための1つ以上の本発明の装置、および好ましくはpHを設定するための少なくとも1つのユニットを含む、生産プラントを提供する。

【0053】

好ましい実施形態を含む本発明は、以下の図面および実施例と関連して説明されるが、これらに限定はされない。実施形態は、文脈が明白に別様を示していない限り、どのような所望の様式でも組み合わせることができる。使用される参照数字は、

- 1 = 屈曲したおよび／または螺旋状に巻きついた管またはホース
- 2 = $45^{\circ} \sim 180^{\circ}$ の角度 α でのコイル軸 h の方向変化および／または屈曲
- 3 = 枠
- 4 = 入口
- 5 = 出口
- 6 = 保持台
- 7 = 底部
- 8 = 製品フローライン

である。

【図面の簡単な説明】

【0054】

【図1】図1は、層流が生じる管の放物状の流動プロファイルを示している（上段：管の縦断面）。層流が生じる管内の流動方向における等速の線（下段：管の断面）。 a = 管

壁 b = 流動方向における管の軸方向の軸 c = 放射軸 d = 流動方向における同じ流速の線

【図 2】図 2 は、流動プロファイルの記述と共に、C F I の原理および設計パラメータを示している。流動方向における等速の線が示される。流動プロファイルは、Ind. Eng. Chem. Res. (2008), 47, 10, pp. 3630-3638 から得た。 $\cdot$ ホース内径 d_i $\cdot$ ホース外径 d_o $\cdot$ ピッチ間隔 p $\cdot$ コイル管直径 d_{ct} $\cdot$ コイル直径 d_c $\cdot$ 屈曲の角度 α e = 遠心力の作用方向 f = 螺旋状コイル内の流れの方向 g = 螺旋状コイル内の流体の流動方向 h = コイル軸／螺旋の軸

【図 3】図 3 は、層流が生じる直管および理想的な流管と比較した、3 ml / 分の体積流量における、様々な数の屈曲を有するウイルスの継続的な不活化のための装置の、滞留時間挙動の試験結果を示している。（屈曲 = 流れに対する遠心力の作用方向の法線を変化させるための 90° の方向変化。1 の無次元濃度は 0.25 g / l のビタミン B12 の濃度に対応する）。

【図 4】図 4 は、3 ml / 分の体積流量における C F I を設計するためのグラフを示している。

【図 5】図 5 は、滞留時間測定のための実験で使用された装置の写真を示している（4 つの枠）。

【図 6】図 6 は、ウイルス不活化装置への入口における実施例 1 に導入されたトレーサ溶液の階段関数を示している。 i = 時間軸 j = UV シグナルの軸 k = C F I の入口におけるトレーサ物質の導入の時点

【図 7】図 7 は、C F I の実施例による、継続的なウイルス不活化のための装置の図面を示している。左：枠が据え付けられた保持台。右：枠が据え付けられていない保持枠。

【図 8】ウイルス不活化、およびその後の pH の調整の流れ図であり、螺旋状に巻きついた管 1 並びにその方向変化および／または屈曲 2 は単に模式的に示されている。

【図 9】実験研究から得られた枠の組立図。

【実施例】

【0055】

実施例 1：

枠の設計を図 4 に示すように実行した。このグラフは、3 ml / 分の流速において作成されており、枠の構成においてディーン数 ≥ 3 およびねじれパラメータ ≥ 500 の必須条件に従うために、設計パラメータのホース内径およびコイル管直径が変動し得る範囲を示している。

【0056】

3 mm のホース内径を実験研究に選択した。次に、コイル管直径を、各枠に巻き付くホース長さが最短化され得るように、63 mm に選択した。

【0057】

図 3 に結果が示される、実験研究で使用した構造の寸法は：枠直径（コイル管直径）63 mm；枠 195 mm の外縁長さ。ホース内径 3 mm；ホース外径 5 mm。枠を図 9 に示すように構築した。

【0058】

各アームに常に、最小ピッチ間隔の 11 回の巻き付きを持たせたところ、9.5 m のホースが枠に巻き付いた。最小ピッチ間隔とは、ホースが螺旋において接触していることを意味する。「3 回屈曲」の場合、1 つの枠を使用した。従って、この実験では 9.5 m のホースを巻き付かせた。「15 回屈曲」の場合、4 つの枠を使用した。合計 38 m のホースを 4 つの枠に巻き付かせた。「27 回屈曲」の場合、7 つの枠を使用した。合計 66.5 m のホースを 7 つの枠に巻き付かせた。枠当たり使用されたホース長さは、アーム当たり一定の巻数の前提では、コイル管直径に比例する。使用したホースについて、ホース外径は 5 mm であった。

【0059】

図 5 は、滞留時間測定実験に使用した枠およびホースコイルの配置を示している。しか

10

20

30

40

50

しながら、明確さのために、より長いホース直径（ホース内径 6 mm）をこの図では使用した。結果的に、実験で使用したアーム当たり 1 1 回の巻き付きは不可能であった。実験的構造において、図 2 および図 5 に示されるそれぞれの実験で使用したホースは、まず、各枠に別々に巻き付かせた。ホースを有する枠を次に、保持台に接して、互いの上部に配置した。ここで、上部の枠の出口を下の枠の入口に接続して、ホースコイルが上から下に枠を走り抜けるようにした。あるいは、流れを下から上、または水平方向にすることもできる。

【0060】

継続的なウイルス不活化のための装置（CFI）における滞留時間測定の実験を、系の出口における UV 測定を用いて行った。流速は常に 3 ml / 分であり、使用したシリコンホースの内径は 3 mm であり、ホースの外径は 5 mm であった。ホースが螺旋状に巻き付く枠の外径は 63 mm であった（コイル管直径）。ビタミン B12 は 280 nm の波長の紫外光を吸収し、そのため指標として適切であることから、0.25 g / l の濃度を有するビタミン B12 溶液をトレーサー物質として使用した。まず、CFI に蒸留水を流した。時点 k で、ウイルス不活化の入口においてトレーサー溶液に変更し、UV センサの測定シグナルの記録を開始した（図 6 参照）。次に、トレーサー溶液の階段関数を系に適用した。系の出口における UV シグナルがトレーサー溶液の UV シグナルに一致した場合、系はこの時点からトレーサー溶液で完全に満たされ、そのため階段関数に対する系の応答が完全に記録されたため、実験を止め得た。

【0061】

互いと比較可能であるように記録された様々な滞留時間曲線について、測定値は無次元パラメータに対して正規化した。時間は平均滞留時間 τ に対して正規化し；

【数 6】

$$\tau = \frac{V}{\dot{V}}$$

ここで、V は滞留区画のホールドアップ体積であり、

【数 7】

$$\dot{V}$$

は体積流量である。

【0062】

UV シグナル測定値を（0.25 mg / l のビタミン B12 濃度において）記録された最大 UV シグナルに対して正規化することによって、無次元濃度を得た。0.25 mg / l のビタミン B12 濃度は結果的に 1 の無次元濃度を与える。蒸留水の UV シグナルは 0 の無次元濃度をもたらす。

【0063】

測定の結果を図 3 に示す。層流が生じる直管の滞留時間分布を、下記式に従って、分析的に決定した。F (θ) は無次元濃度であり、θ は無次元時間である。

【数 8】

$$F(\theta) = 1 - \frac{1}{4 \cdot \theta^2}$$

層流が生じる直管は、その放物状の流動プロファイルのために、かなり広い滞留時間分布を有する。液体要素は、壁付近の領域よりも、管の中心においてかなりより速く流れる（図 1 参照）。

【0064】

一方、ホースが螺旋状に巻きついている場合、遠心力が半径方向への系の混合をもたらす。この結果、螺旋軸に比較的近いゆっくり流れる液体要素は外側に移動し、内側方向にそこに位置する要素と入れ替わる。屈曲の実行の結果、遠心力によって生じた 2 次流れが

新たに形成され、これが、半径方向の混合に改善をもたらす。図 2 は、流動プロファイルが各々の 90° 屈曲の後にいかに 90° 方向転換するかを示している。図 3 から分かるように、屈曲によって、滞留時間分布を有意に狭めることが達成可能である。

【0065】

実験において達成された最良の結果は、27回屈曲を有するCFIを用いた場合に生じた（より大きな数の屈曲は未検討）。理想的な流管の滞留時間分布への近似が得られた。恐らく、さらなる屈曲は滞留時間分布をさらに狭めるであろう。これらのことから、記載された技術は、継続的なウイルス不活化のためのプロセスとして適切である。

【0066】

本特許出願に繋がった研究は、欧州地域開発基金（European Fund for Regional Development）（EFRE）の枠組みの中で、財政援助協定（financial assistance agreement）“Bio.NRW: MoBiDiK - Modulare Bioproduktion - Disposable und Kontinuierlich”に従って、支援された。

10

【図 1】

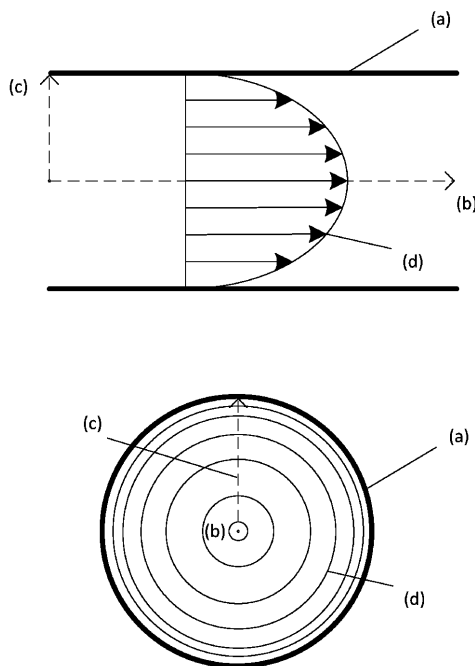


Fig. 1

【図 2】

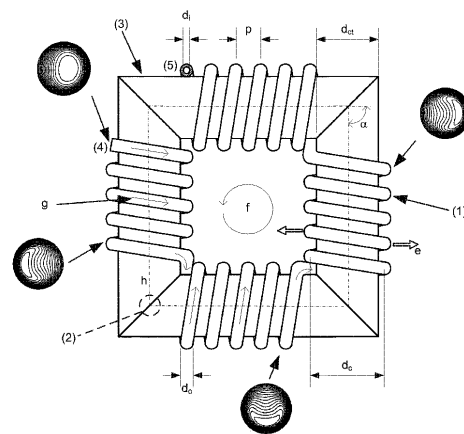
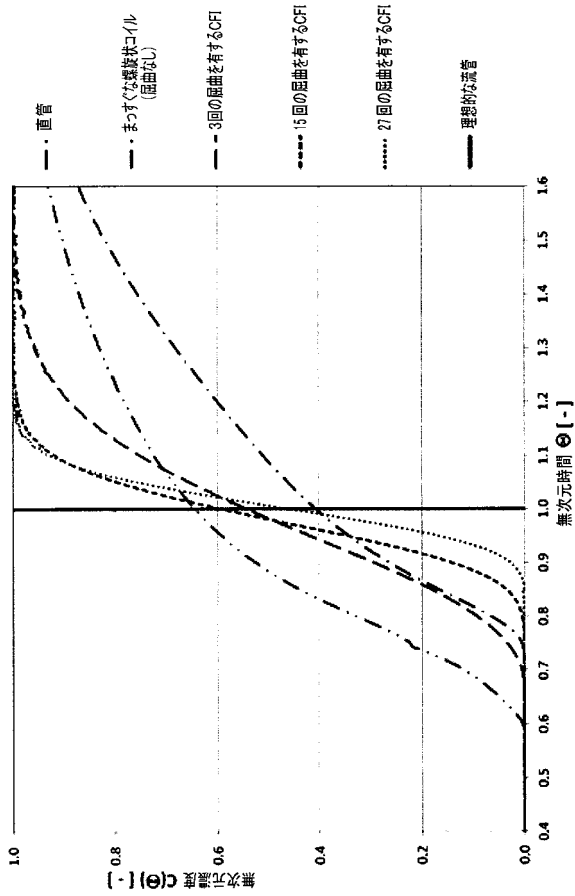


Fig. 2

【図 3】



【図 5】

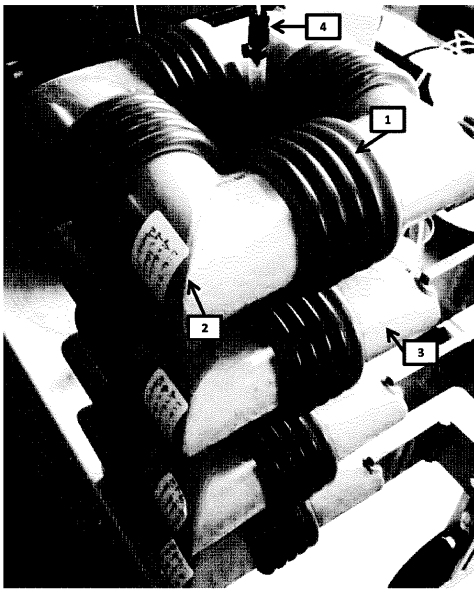
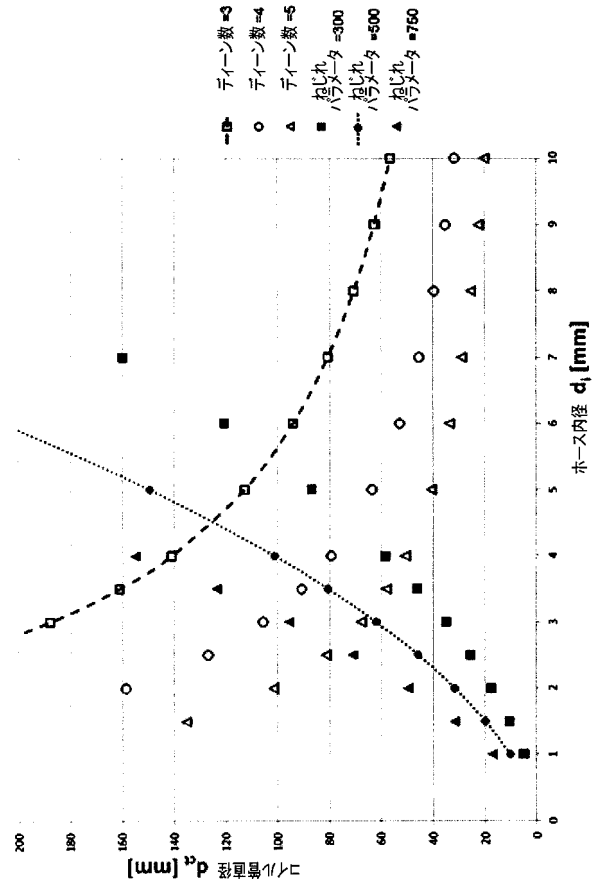


Fig. 5

【図 4】



【図 6】

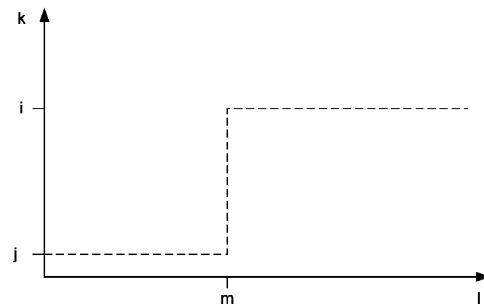


Fig. 6

【図 7】

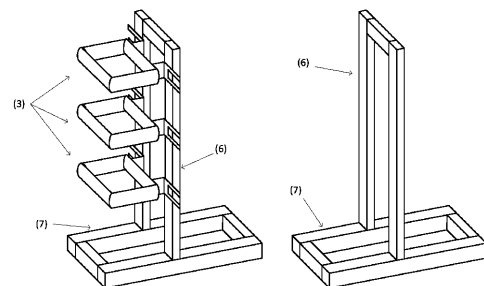
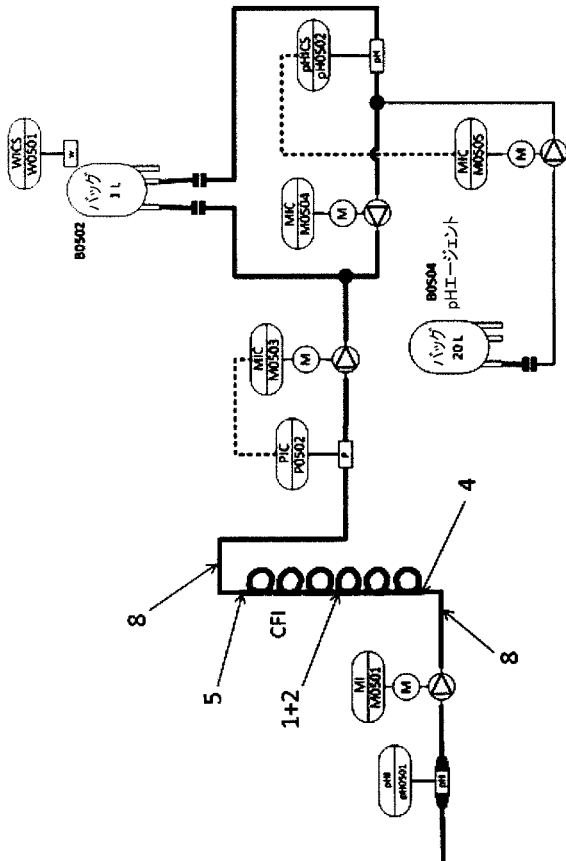


Fig. 7

【図 8】



【図 9】

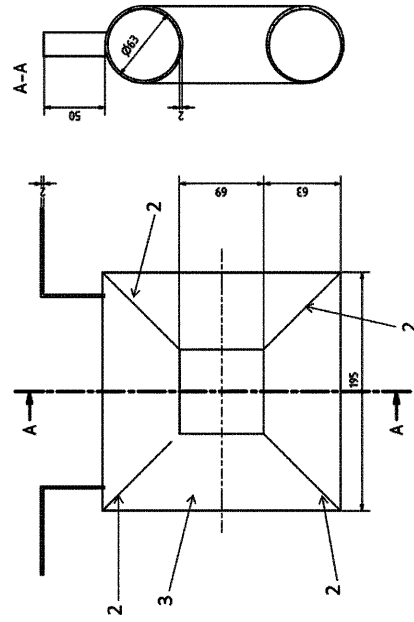


Fig. 9

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/054698

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61L2/10 B01J3/04 C02F1/32
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61L B01J C02F

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SAXENA A K ET AL: "Coiled Configuration for Flow Inversion and Its Effect on Residence Time Distribution", AICHE JOURNAL, JOHN WILEY & SONS, INC, US, vol. 30, no. 3, 1 May 1984 (1984-05-01), pages 363-368, XP002505094, ISSN: 0001-1541, DOI: 10.1002/AIC.690300303 figure 1d	1-10
X	----- US 2006/162912 A1 (PRASAD NIGAM KRISHNA D [IN] NIGAM KRISHNA DEO PRASAD [IN]) 27 July 2006 (2006-07-27) figure 1D	1-10
X	----- WO 98/26236 A2 (RTI INC [US]) 18 June 1998 (1998-06-18) figure 6 ----- -/-	1-10

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 March 2015

Date of mailing of the international search report

07/04/2015

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Fischer, Michael

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/054698

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 378 716 A1 (TUCKER ROBERT E TUCKER ROBERT E [US]) 25 July 1990 (1990-07-25) abstract; figure 1 -----	1-4
X	US 2 530 648 A (CAHENZLI JR MARTIN T ET AL) 21 November 1950 (1950-11-21) figures 2,3 -----	1-4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/054698

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2006162912	A1	27-07-2006	NONE
WO 9826236	A2	18-06-1998	AU 7849498 A 03-07-1998
			US 5832739 A 10-11-1998
			US 5992171 A 30-11-1999
			WO 9826236 A2 18-06-1998
EP 0378716	A1	25-07-1990	CA 1320813 C 03-08-1993
			EP 0378716 A1 25-07-1990
			ES 2048772 T3 01-04-1994
			US 4798702 A 17-01-1989
US 2530648	A	21-11-1950	NONE

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2015/054698

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

INV. A61L2/10 B01J3/04 C02F1/32
ADD.

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
A61L B01J C02F

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	SAXENA A K ET AL: "Coiled Configuration for Flow Inversion and Its Effect on Residence Time Distribution", AICHE JOURNAL, JOHN WILEY & SONS, INC. US, Bd. 30, Nr. 3, 1. Mai 1984 (1984-05-01), Seiten 363-368, XP002505094, ISSN: 0001-1541, DOI: 10.1002/AIC.690300303 Abbildung 1d	1-10
X	----- US 2006/162912 A1 (PRASAD NIGAM KRISHNA D [IN] NIGAM KRISHNA DEO PRASAD [IN]) 27. Juli 2006 (2006-07-27) Abbildung 1D	1-10
X	----- WO 98/26236 A2 (RTI INC [US]) 18. Juni 1998 (1998-06-18) Abbildung 6 ----- -/-	1-10

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen ☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

26. März 2015

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

07/04/2015

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Fischer, Michael

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2015/054698

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 0 378 716 A1 (TUCKER ROBERT E TUCKER ROBERT E [US]) 25. Juli 1990 (1990-07-25) Zusammenfassung; Abbildung 1 -----	1-4
X	US 2 530 648 A (CAHENZLI JR MARTIN T ET AL) 21. November 1950 (1950-11-21) Abbildungen 2,3 -----	1-4

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2015/054698

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 2006162912	A1	27-07-2006	KEINE	

WO 9826236	A2	18-06-1998	AU	7849498 A 03-07-1998
			US	5832739 A 10-11-1998
			US	5992171 A 30-11-1999
			WO	9826236 A2 18-06-1998

EP 0378716	A1	25-07-1990	CA	1320813 C 03-08-1993
			EP	0378716 A1 25-07-1990
			ES	2048772 T3 01-04-1994
			US	4798702 A 17-01-1989

US 2530648	A	21-11-1950	KEINE	

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(74)代理人 100126099

弁理士 反町 洋

(74)代理人 100124372

弁理士 山ノ井 傑

(72)発明者 マルティン、ロベダン

ドイツ連邦共和国ケルン、ドルフハイデシュトラッセ、32アー

(72)発明者 シュテファン、クルツ

ドイツ連邦共和国レーバークーゼン、ルーカスシュトラッセ、2アー

(72)発明者 ザファ、クトゥプ、クルト

ドイツ連邦共和国ドルトムント、イム、グルーベンフェルト、20

Fターム(参考) 4B029 AA27 BB13 BB17 CC01 DG04

4B065 AA95X BD08 BD13 CA44

4C076 AA12 FF11 FF67 GG43