

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年12月12日(12.12.2024)



(10) 国際公開番号

WO 2024/253065 A1

(51) 国際特許分類:

C12P 1/00 (2006.01) *C12M 3/06* (2006.01)
B01D 63/02 (2006.01) *C12N 1/02* (2006.01)
C12M 1/00 (2006.01) *C12P 21/08* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2024/020228

(22) 国際出願日: 2024年6月3日(03.06.2024)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

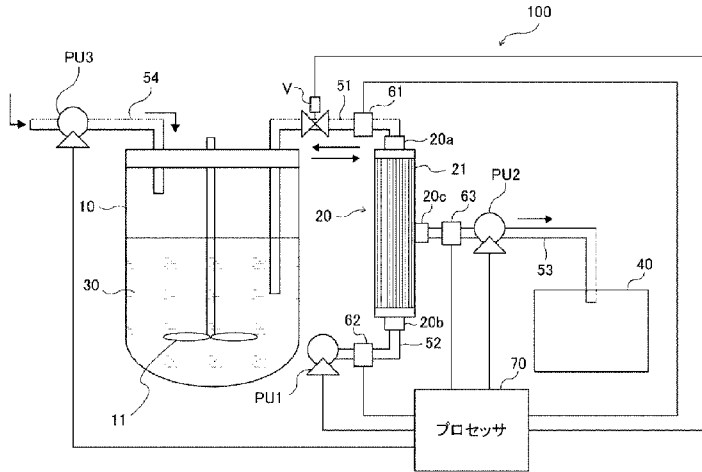
(30) 優先権データ:
特願 2023-095894 2023年6月9日(09.06.2023) JP

(71) 出願人: 富士フイルム株式会社 (FUJIFILM CORPORATION) [JP/JP]; 〒1068620 東京都港区西麻布2丁目26番30号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 引地 直道 (HIKICHI, Naomichi); 〒2588577 神奈川県足柄上郡開成町牛島577番地 富士フイルム株式会社内 Kanagawa (JP). 谷口 幸助(TANIGUCHI, Kosuke); 〒2588577 神奈川県足柄上郡開成町牛島577番地 富士フイルム株式会社内 Kanagawa (JP). 中川 洋亮(NAKAGAWA, Yosuke); 〒2588577 神奈川県足柄上郡開成町牛島577番地 富士フイルム株式会社内 Kanagawa (JP). 稲田 淳史 (INADA, Atsushi); 〒2588577 神奈川県足柄上郡開成町牛島577番地 富士フイルム株式会社内 Kanagawa (JP). 吉田 俊一(YOSHIDA,

(54) Title: PRODUCT PRODUCTION METHOD, HOLLOW FIBER MEMBRANE FILTER AND PRODUCT PRODUCTION DEVICE

(54) 発明の名称: 産生物の製造方法、中空糸膜フィルタ及び産生物の製造装置



70 Processor

(57) Abstract: A product production method according to the present invention comprises: a culturing step for culturing cells in a culture solution which is accommodated in a tank having a capacity of 100 L or more; and a separating step for using a hollow fiber membrane filter, which includes a plurality of hollow fiber membranes each having therein a primary flow path extending in the longitudinal direction and a housing accommodating the plurality of hollow fiber membranes and in which a space outside the hollow fiber membranes in the housing is a

Shunichi); 〒2588577 神奈川県足柄上郡開成町牛島 5 7 7 番地 富士フィルム株式会社内 Kanagawa (JP). 中居 真一(NAKAI, Shinichi); 〒2588577 神奈川県足柄上郡開成町牛島 5 7 7 番地 富士フィルム株式会社内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 弁理士法人太陽国際特許事務所(TAIYO, NAKAJIMA & KATO); 〒1600022 東京都新宿区新宿 4 丁目 3 番 1 7 号 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告 (条約第21条(3))

secondary flow path, to separate cells in the culture solution from a product by sending the culture solution supplied from the tank to the primary flow paths and allowing a permeation liquid including the product to permeate to a secondary flow path. In the separating step, $\Delta P/\mu$ at the time of sending the culture solution is not more than 4.9×10^6 [1/s], where ΔP [Pa] is a pressure difference between both ends of the primary flow path on the supply side and the discharge side at the time of sending the culture solution and μ [Pa·s] is viscosity of the culture solution.

(57) 要約: 産生物の製造方法は、容量が 1 0 0 L 以上のタンクに収容された培養液中で細胞を培養する培養工程と、内部に長手方向に延びる一次流路を有する中空糸膜と、複数本の中空糸膜を収容するハウジングとを有し、ハウジング内における各中空糸膜の外部の空間を二次流路とする中空糸膜フィルタを用い、タンクから供給された培養液を、一次流路に送液し、産生物を含む透過液を二次流路に透過させることにより、培養液中の細胞と産生物とを分離する分離工程とを含み、分離工程において、培養液の送液時における一次流路の供給側と排出側の両端の圧力の差を ΔP [Pa]、培養液の粘度を μ [Pa·s] とした場合に、培養液の送液時の $\Delta P/\mu$ を 4.9×10^6 [1/s] 以下とする。

明 細 書

発明の名称：

産生物の製造方法、中空糸膜フィルタ及び産生物の製造装置

技術分野

[0001] 本開示は、細胞を培養し産生物を得る産生物の製造方法、産生物の製造方法に用いられる中空糸膜フィルタ、及び産生物の製造装置に関する。

背景技術

[0002] バイオ医薬品等の製造のために、細胞培養液に含まれる産生物を濾過により回収する方法が知られている。濾過方法としては、濾過対象の細胞培養液を、濾過膜（分離膜ともいう）の表面に対して平行方向に送液するタンジェンシャルフローフィルタレーション（TFF）方式が提案されている。TFF方式は、濾過膜に対して垂直な方向に細胞培養液を送液する場合と比較して、濾過膜の目詰まりを抑制できるという利点がある。しかし、TFF方式であっても、長期使用により濾過膜の目詰まりは発生する。

[0003] 特表2021-511202号公報には、TFF方式の濾過に使用される濾過膜としての中空糸膜フィルタが開示されている。特表2021-511202号公報には、せん断速度を増加させ、膜壁面における細胞及び細胞残屑のフラッシングを増強するために、内径が0.75mm～13mmである中空糸膜を用いることが提案されている。

[0004] 特開2018-183150号公報には、中空糸膜は、約10000 μ m、約9000 μ m、あるいは約8000 μ mなどの様々な内径、及び約100mm、あるいは約200mmなどの様々な長さの中空糸膜をTFFフィルタとして適用できることが開示されている。

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 産生物の濾過に用いられる濾過膜は、使用しているうちに膜詰まりが進み、徐々に濾過性能が低下するため、耐用期間がある。特表2021-511

202号公報に記載されている中空糸膜を用いた中空糸膜フィルタにも、耐用期間があるが、耐用期間を長くできれば、培養期間を長期化できる。

[0006] 産生物の製造においては、製造効率を向上するため、培養液を循環経路内で循環させながら細胞の培養と産生物の濾過による回収とを並行して連続的に進める連続運転の検討が進められている。この場合、中空糸膜フィルタの耐用期間が短いと、連続運転期間が短くなり、培養産生物の製造効率が低下する。特に培養タンクをスケールアップする場合には、培養液の濾過液量が多くなり問題となる。

[0007] 本開示の技術は、上記に事情に鑑み、細胞を培養し産生物を得る産生物の製造方法、産生物の製造方法に用いられる中空糸膜フィルタ、及び産生物の製造装置において、培養の連続運転期間を長期間化することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0008] 本開示の産生物の製造方法は、細胞を培養し産生物を得る産生物の製造方法であって、

容量が100L以上のタンクに収容された培養液中で細胞を培養する培養工程と、

内部に長手方向に延びる一次流路を有する中空糸膜と、複数本の中空糸膜を収容するハウジングとを有し、ハウジング内における各中空糸膜の外部の空間を二次流路とする中空糸膜フィルタを用い、タンクから供給された培養液を、一次流路に送液し、産生物を含む透過液を二次流路に透過させることにより、培養液中の細胞と産生物とを分離する分離工程とを含み、

分離工程において、培養液の送液時における一次流路の供給側と排出側の両端の圧力の差を ΔP [Pa]、培養液の粘度を μ [Pa・s]とした場合に、培養液の送液時の $\Delta P / \mu$ を 4.9×10^6 [1/s]以下とする。

[0009] 中空糸膜の長さ L と、中空糸膜の内径 d との関係が

$$L / d \leq 290$$

を満たすことが好ましい。

[0010] 中空糸膜フィルタの長さ方向に垂直な断面における一次流路の総断面積 S

1 と、ハウジングの断面積 S_h との関係が、

$$S_1 / S_h \geq 0.28$$

を満たすことが好ましい。

[0011] 中空糸膜の膜抵抗 r が $1250 \text{ psi} / \text{mL} / \text{min}$ 以上であることが好ましい。

[0012] 中空糸膜の一次流路と二次流路との間の圧損係数 k が $5 \times 10^{13} / \text{m}^2$ 以上であることが好ましい。

[0013] 中空糸膜の外径 D と、内径 d との関係が、

$$D / d \geq 1.1$$

を満たすことが好ましい。

[0014] 中空糸膜の一次流路の壁面の表面粗さが $S_a = 8 \mu\text{m}$ 以下であることが好ましい。

[0015] 分離工程において、送液の方向を予め設定されたタイミングで逆転させることが好ましい。

[0016] 産生物が抗体であることが好ましい。

[0017] 本開示の産生物の製造方法は、産生物を回収する工程と、タンクに培地を供給する供給工程と、を含む、灌流培養であることが好ましい。

[0018] 培養液の細胞密度が $30 \times 10^6 \text{ cells} / \text{mL}$ 以上であることが好ましい。

[0019] 産生物の力価が $1.0 \text{ g} / \text{L}$ 以上であることが好ましい。

[0020] 本開示の中空糸膜フィルタは、容量が 100 L 以上のタンクに収容された培養液中で細胞を培養して産生物を得る産生物の製造方法に使用される中空糸膜フィルタであって、

内部に長手方向に延びる一次流路を有する中空糸膜と、

複数本の中空糸膜を収容するハウジングとを有し、

中空糸膜の長さ L と、中空糸膜の内径 d はそれぞれ、

$$L \leq 290 \text{ mm}, d \geq 1 \text{ mm}$$

かつ、両者の関係が、

$$L/d \leq 290$$

である。

[0021] ハウジングの長さ方向に垂直な断面における1平方センチメートル当たりの中空糸膜の本数 N と、中空糸膜の外径 D との積 $N \times D$ が5本・cm/cm²以上であることが好ましい。

[0022] 中空糸膜フィルタの長さ方向に垂直な断面における一次流路の総断面積 S_1 と、ハウジングの断面積 S_h との関係が、

$$S_1/S_h \geq 0.28$$

を満たすことが好ましい。

[0023] 中空糸膜の圧損係数 k が 5×10^{13} /m²以上であることが好ましい。

[0024] 中空糸膜の外径 D と、内径 d との関係が、

$$D/d \geq 1.1$$

を満たすことが好ましい。

[0025] ハウジングに収容されている中空糸膜の本数 M 、ハウジングの内径 D_h 、及び中空糸膜の外径 D を用いた以下の式で表される水力半径 r_{eff} が0.55以下であることが好ましい。

$$r_{eff} = \pi (D_h^2 - M \cdot D^2) / 2\pi (D_h + M \cdot D)$$

中空糸膜の一次流路の壁面の水の接触角が75°以下であることが好ましい。

[0027] 本開示の産生物の製造装置は、培養液中で細胞を培養して産生物を得る産生物の製造方法に使用される産生物の製造装置であって、

培養液を収容する容量が100L以上のタンクと、

中空糸膜フィルタであって、中空糸膜の長さ L と、中空糸膜の内径 d はそれぞれ、

$$L \leq 290 \text{ mm}, d \geq 1 \text{ mm}$$

かつ、両者の関係が、

$$L/d \leq 290$$

である、中空糸膜フィルタと、

培養液を中空糸膜フィルタの一次流路に送液する第1ポンプと、
中空糸膜フィルタの一次流路に沿って培養液を送液させた場合に、中空糸膜フィルタの二次流路に透過する透過液を産生物回収部に送液する第2ポンプとを備えている。

発明の効果

[0028] 本開示の技術によれば、細胞を培養し産生物を得る産生物の製造方法、産生物の製造方法に用いられる中空糸膜フィルタ、及び産生物の製造装置において、培養の連続運転期間を長期間化することができる。

図面の簡単な説明

[0029] [図1]細胞培養装置の全体構成を示す図である。
[図2]中空糸膜フィルタの説明図である。
[図3]図2のⅠⅠⅠーⅠⅠⅠ線断面図である。
[図4]中空糸膜フィルタの一次流路と二次流路を模式的に示す図である。
[図5]分離工程の処理時間と膜間差圧との関係を示すグラフと、処理時間の経過に伴う中空糸膜膜面の状態の変化を示す模式図である。
[図6]簡易実験系の構成を示す模式図である。
[図7]中空糸膜フィルタへの培養液の順送時（a）と、逆送時（b）について中空糸膜22の長さ方向における透過流量を示す図である。
[図8]（A）相対的に長い膜長の中空糸膜を有する中空糸膜フィルタ、及び（B）相対的に短い膜長の中空糸膜を有する中空糸膜フィルタにおける迂回流発生のメカニズムを説明するための図である。

発明を実施するための形態

[0030] 以下、本開示に係る産生物の製造方法について説明する。但し、本開示に係る実施形態は、以下の実施形態に何ら限定されるものではなく、適宜、変更を加えて実施することができる。

[0031] 本開示において「～」を用いて示された数値範囲は、「～」の前後に記載される数値をそれぞれ最小値及び最大値として含む範囲を意味する。

[0032] 本開示に段階的に記載されている数値範囲において、ある数値範囲で記載

された上限値又は下限値は、他の段階的な記載の数値範囲の上限値又は下限値に置き換えてもよい。また、本開示に記載されている数値範囲において、ある数値範囲で記載された上限値又は下限値は、実施例に示されている値に置き換えてもよい。

[0033] 本開示において、「工程」との用語は、独立した工程だけではなく、工程の所期の目的が達成される限りは、他の工程と明確に区別できない工程をも含む。

[0034] 各図面において同一の符号を用いて示される構成要素は、同一の構成要素であることを意味する。

[0035] 本開示に係る産生物の製造方法は、細胞を培養し産生物を得る産生物の製造方法であって、

容量が100L以上のタンクに収容された培養液中で細胞を培養する培養工程と、

内部に長手方向に延びる一次流路を有する中空糸膜と、複数本の中空糸膜を収容するハウジングとを有し、ハウジング内における各中空糸膜の外部の空間を二次流路とする中空糸膜フィルタを用い、タンクから供給された培養液を、一次流路に送液し、産生物を含む透過液を二次流路に透過させることにより、培養液中の細胞と産生物とを分離する分離工程とを含み、

分離工程において、培養液の送液時における一次流路の供給側と排出側の両端の圧力の差を ΔP [Pa]、培養液の粘度を μ [Pa·s]とした場合に、培養液の送液時の $\Delta P / \mu$ を 4.9×10^6 [1/s]以下とする、産生物の製造方法である。

[0036] 培養液には、培地、細胞及び細胞により産生される産生物が含まれる。細胞は、例えば直径が $5 \mu\text{m}$ 以上であり、培養液中の細胞の体積分率は、例えば1%以上である。

[0037] 細胞は、特に限定されないが、動物細胞、植物細胞、酵母などの真核細胞、枯草菌などの原核細胞及び大腸菌などが挙げられる。CHO (Chinese Hamster Ovary cells) 細胞、BHK (Baby Hamster Kidney) - 21 細胞、HE

K (Human Embryonic Kidney) 細胞、C 1 2 7 細胞、N S O 細胞及びS P 2 / O - A g 1 4 細胞などの動物細胞が好ましく、解析が多数行われ、遺伝子工学的な手法が確立している点でC H O 細胞がより好ましい。所望の産生物を細胞が元々産生しない又は産生量が少ない場合であっても、例えば、必要な蛋白質をコードするプラスミドなどの発現ベクターを細胞に導入することで、所望の産生物を効率よく産生させることができる。

[0038] 本開示における産生物は、上記細胞が培養液中に産生する物質であれば、特に限定されず、例えば、アルコール、抗生物質、及び抗体や酵素といったタンパク質などの物質が挙げられる。中でも産生物として、好ましくは、タンパク質であり、より好ましくは抗体である。

[0039] 産生物が例えば抗体である場合、C H O 細胞などの動物細胞に抗体を産生させてもよい。動物細胞に産生させる抗体としては、特に限定されないが、例えば、抗 I L - 6 レセプター抗体、抗 I L - 6 抗体、抗グリピカン-3 抗体、抗C D 3 抗体、抗C D 2 0 抗体、抗G P I I b / I I I a 抗体、抗T N F 抗体、抗C D 2 5 抗体、抗E G F R 抗体、抗H e r 2 / n e u 抗体、抗R S V 抗体、抗C D 3 3 抗体、抗C D 5 2 抗体、抗I g E 抗体、抗C D 1 1 a 抗体、抗V E G F 抗体、及び抗V L A 4 抗体などが挙げられる。抗体としては、ヒト、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、及びサル等の動物由来のモノクローナル抗体だけでなく、キメラ抗体、ヒト化抗体、及び二重特異性抗体 (b i s p e c i f i c 抗体) など人為的に改変した抗体も含まれる。

[0040] 産生物を産生する細胞を培養することにより、目的とする産生物を得ることができる。

[0041] 以下において、本開示の産生物の製造方法と、産生物の製造方法を実現するための産生物の製造装置の一実施形態を説明する。図1 に一例として示す細胞培養装置1 0 0 は、本開示の細胞を培養し産生物を得る産生物の製造装置の一例である。図1 は、細胞培養装置1 0 0 の全体構成を示す図である。

[0042] 図1 に示すように、細胞培養装置1 0 0 は、タンク1 0 と、中空糸膜フィルタ2 0 と、産生物回収部4 0 と、第1 ポンプP U 1 ~ 第3 ポンプP U 3 と

、管路51～54と、プロセッサ70とを備える。

[0043] タンク10は、培養液30を収容し、培養液30中で細胞を培養する培養容器である。タンク10内において培養工程が実施される。タンク10は、100L以上の容量を有する。タンク10の容量は、400L以上が好ましく、1000L以上がより好ましい。また、タンク10の容量は、20000L以下が好ましい。

[0044] タンク10の内部には、攪拌翼11を有する攪拌装置が設けられている。攪拌翼11を回転させることで、タンク10に収容された培養液30が攪拌され、培養液30の均質性が保たれる。

[0045] 中空糸膜フィルタ20は、培養液30中の細胞と産生物とを分離する分離工程で用いられる。図2は、中空糸膜フィルタ20の概略構成を示す側面図であり、図3は図2中の111-111線断面図である。

[0046] 図2に示すように、中空糸膜フィルタ20は、内部に長手方向に延びる一次流路23を有する中空糸膜22と、複数本の中空糸膜22を収容するハウジング21とを有する。中空糸膜22は、多数の孔22h（図1及び後述する図4を参照）を有する多孔質膜22aが筒状に加工されてなる分離膜である。中空糸膜22の中空部が一次流路23を構成する。中空糸膜フィルタ20において、ハウジング21内における各中空糸膜22の外部の空間が二次流路24である（図3参照）。

[0047] ハウジング21は、筒状の外形を有し、その両端にそれぞれ一次流路23に培養液30を流入又は流出させる第1開口部20a、及び第2開口部20bを有する。また、ハウジング21は外周に透過液35（図4参照）を中空糸膜フィルタ20の外部に排出するための排出口20cを備えている。

[0048] 図4は、中空糸膜フィルタ20の一次流路23と二次流路24を模式的に示す図である。図2及び図3に示したとおり、実際には、ハウジング21の内部には、複数本の中空糸膜22が収容されているが、図4では、1本の中空糸膜22の機能をわかりやすく説明するために、ハウジング21に1本の中空糸膜22が収容されている態様を示している。中空糸膜フィルタ20に

において、培地 31、細胞 32 及び抗体 33 を含む培養液 30 が一次流路 23 に送液される。抗体 33 は、細胞 32 が産生する産生物の一例である。中空糸膜 22 は、抗体 33 を含む透過液 35 を二次流路 24 に透過させることにより、培養液 30 中の細胞 32 と抗体 33 とを分離する。

[0049] 中空糸膜 22 において、一次流路 23 を通過する培養液 30 中の成分のうち、多孔質膜 22a の孔 22h（以下において中空糸膜 22 の孔 22h という。）よりも小さい成分が孔 22h を通過し二次流路 24 に移送される。すなわち、中空糸膜 22 の孔 22h よりも小さい成分が中空糸膜 22 を透過する。一方、一次流路 23 を通過する培養液 30 中の成分のうち、孔 22h よりも大きい成分は一次流路 23 に留まる。ここで、孔 22h は、細胞 32 よりも小さく抗体 33 より大きい。中空糸膜 22 の一次流路 23 中を送液される培養液 30 中の抗体 33 は中空糸膜 22 の孔 22h よりも小さいため二次流路 24 側に透過し、一方、細胞 32 は孔 22h よりも大きいため二次流路 24 側に透過されず一次流路 23 に留まる。分離工程においては、このようにして、中空糸膜 22 を用いて細胞 32 と抗体 33 とを分離する。

[0050] 図 1 において、管路 51 は、一端がタンク 10 に接続され、他端が中空糸膜フィルタ 20 の一次流路 23 に連通する第 1 開口部 20a に接続されている。

[0051] 管路 52 は、一端が中空糸膜フィルタ 20 の一次流路 23 に連通する第 2 開口部 20b に接続され、他端が第 1 ポンプ PU1 に接続されている。

[0052] 第 1 ポンプ PU1 は、培養液 30 の吸引機能と吐出機能とを有している。すなわち、第 1 ポンプ PU1 は、タンク 10 から第 1 開口部 20a を通じて中空糸膜フィルタ 20 内に培養液 30 を引き込み、中空糸膜フィルタ 20 を通過し第 2 開口部 20b から排出された培養液 30 を吸引する。加えて、第 1 ポンプ PU1 は、いったん吸引した培養液 30 を吐出し、再び第 2 開口部 20b から中空糸膜フィルタ 20 に供給する。すなわち、第 1 ポンプ PU1 は、培養液 30 の吸引と吐出とを繰り返すことにより、中空糸膜フィルタ 20 内で培養液 30 を順方向と逆方向に往復させる。ここで、中空糸膜フィル

タ 20 内の培養液 30 の送液の方向は、第 1 開口部 20 a から第 2 開口部 20 b に向かう方向を順方向とし、第 2 開口部 20 b から第 1 開口部 20 a に向かう方向を逆方向とする。また、以下において、培養液 30 を順方向に送液する場合を順送、逆方向に送液する場合を逆送という。

[0053] 第 1 ポンプ P U 1 は、一例として、ダイヤフラムポンプであって、ダイヤフラムの移動によって生じた空間に培養液 30 が一時的に貯留される。第 1 ポンプ P U 1 は吸引口と吐出口が兼用となっているため、ダイヤフラムの移動によって往復する流れが形成できるポンプである。

[0054] 第 1 ポンプ P U 1 の作動により、培養液 30 は中空糸膜 22 の一次流路 23 をその長さ方向に送液される。すなわち、培養液 30 は中空糸膜 22 の膜面に沿って送液され、産生物を含む透過液を二次流路に透過させるタンジェンシャルフィルトレーション方式（T F F 方式）による濾過方法が採用されている。第 1 ポンプ P U 1 は、培養液 30 の送液の方向を予め設定されたタイミングで逆転させて、培養液 30 が中空糸膜フィルタ 20 内を往復する流れを形成する。送液の方向を予め設定されたタイミングで逆転させる場合、例えば、送液の方向を所定の時間毎に逆転させてもよい。

[0055] 順送時において、タンク 10 から抜き出された培養液 30 は管路 51 を介して第 1 開口部 20 a から中空糸膜フィルタ 20 の一次流路 23 に供給される。一次流路 23 を通過した培養液 30 は、第 2 開口部 20 b から排出され、管路 52 を介して第 1 ポンプ P U 1 に貯留される。そして、第 1 ポンプ P U 1 に貯留された培養液 30 は、逆送時において、管路 52 を介して第 2 開口部 20 b から中空糸膜フィルタ 20 の一次流路 23 に供給される。一次流路 23 を通過した培養液 30 は、第 1 開口部 20 a から排出され、管路 51 を介してタンク 10 に戻される。

[0056] このように、培養液 30 がタンク 10 から中空糸膜フィルタ 20 に供給される順送の場合、タンク 10 側の第 1 開口部 20 a が供給側であり、第 2 開口部 20 b が排出側である。他方、培養液 30 の流れを逆転させた逆送の場合、第 2 開口部 20 b が供給側、第 1 開口部 20 a が排出側となる。すなわ

ち、第1開口部20aと第2開口部20bとは、流れの向きを切り替える度に供給側と排出側とが切り替わる。

[0057] 一次流路23の第1開口部20a側の一端における送液圧力である第1圧力P1は、管路51の途中に設けられたピンチバルブVと第1開口部20aとの間に設置された圧力計61によって測定することが可能である。また、一次流路23の第2開口部20b側の他端における送液圧力である第2圧力P2は、第1ポンプPU1と第2開口部20bとの間に設置された圧力計62によって測定することが可能である。

[0058] 管路53は、一端が中空糸膜フィルタ20のハウジング21の外周に設けられた排出口20cに接続されており、他端が産生物回収部40に接続されている。管路53は排出口20cを介して中空糸膜フィルタ20の二次流路24と連通している。

[0059] 第2ポンプPU2は、管路53に設けられており、中空糸膜フィルタ20の二次流路24から透過液35を回収し、産生物回収部40に送液する。第2ポンプPU2は、吸引ポンプであり、培養液30の順送時及び逆送時に作動する。第2ポンプPU2が作動することにより、中空糸膜フィルタ20の一次流路23内に供給された培養液30の一部が一次流路23から二次流路24側に吸引される。この吸引により、中空糸膜22を経て二次流路24側に透過した抗体33を含む透過液35は、排出口20cから中空糸膜フィルタ20の外部に排出されて産生物回収部40に回収される。二次流路24の送液圧力である第3圧力P3は、排出口20cと第2ポンプPU2との間に設けられた圧力計63によって測定することが可能である。

[0060] 二次流路24から排出された透過液35に含まれる抗体33は、管路53を介して、回収タンク及び抗体33の精製を行う精製処理部等を含む産生物回収部40に送られる。

[0061] 管路54は、未使用の新鮮な培地である新鮮培地をタンク10に供給するための流路である。第3ポンプPU3は、管路54の途中に設けられ、新鮮培地を図示しない培地収容部からタンク10に送液する。第3ポンプPU3

を作動させることにより、透過液として失われた液体量を補うように、管路54を通じてタンク10内に新鮮培地が添加される。

[0062] プロセッサ70は、細胞培養装置100の全体の動作を制御する。プロセッサ70の構成は特に限定されないが、例えば、プロセッサ70は、CPU (Central Processing Unit) と、NVM (Non-volatile Memory) 及びRAM (Random Access Memory) などのメモリとによって構成される。

[0063] 培養液30の送液時における一次流路23の供給側と排出側の両端の圧力の差である圧力差を ΔP [Pa] とした場合において、プロセッサ70は、例えば、分離工程において、圧力差 ΔP [Pa] が、次の条件式を満足するように制御する。条件は、培養液30の粘度を μ [Pa·s] とした場合、圧力差 ΔP と粘度 μ の比を目標値以下とする条件であり、具体的には、 $\Delta P / \mu \leq 4.9 \times 10^6$ [1/s] である。培養液の粘度 μ の値と、 $\Delta P / \mu$ の目標値（本例では 4.9×10^6 [1/s] 以下）はメモリに予め記憶されている。プロセッサ70は、 $\Delta P / \mu$ を 4.9×10^6 [1/s] 以下となるように、第1ポンプPU1及び第2ポンプPU2の出力、並びにピンチバルブVの開度等を制御する。なお、 $\Delta P / \mu$ は 2.8×10^6 [1/s] 以下とすることがより好ましく、 2.1×10^6 [1/s] 以下とすることがさらに好ましい。なお、粘度 μ が既知であれば、既知の値がメモリに記憶される。一方、培養液30に含まれる細胞32の濃度等の変動要因によって、運転期間中に粘度 μ が変動する場合は、変動要因と粘度 μ との関係式をメモリに記憶しておき、プロセッサ70が、変動要因に応じて粘度 μ を算出してもよい。

[0064] 上述のとおり、第1開口部20a側の送液圧力は第1圧力P1であり、第2開口部20b側の送液圧力は第2圧力P2である。一次流路23の供給側と排出側の両端の圧力は、順送時の場合は、第1圧力P1が供給側の送液圧力であり、第2圧力P2が排出側の送液圧力である。逆送時の場合は、反対に、第2圧力P2が供給側の送液圧力となり、第1圧力Pが排出側の送液圧力となる。したがって、送液方向による符号の変化を考慮して、両端の圧力差 ΔP は、第1圧力P1と第2圧力P2の差の絶対値であり、 $\Delta P = |P1$

ー P 2 | と定義される。第 1 圧力 P 1、第 2 圧力 P 2 はそれぞれ流路、ここでは、第 1 開口部 2 0 a と接続された管路 5 1 あるいは第 2 開口部 2 0 b に接続された管路 5 2、に備えられた圧力計 6 1、6 2 により測定することができる。

[0065] 培養液 3 0 の粘度 μ [Pa · s] は、培養液 3 0 中の培地 3 1 の種類及び細胞の濃度によって変化する。培養液 3 0 の粘度は、例えば、0.5 ~ 5 mPa · s である。培養液 3 0 の粘度は、サンプリングした培養液を 38℃ で温調し、振動式粘度計を用いて測定する。振動式粘度計は、例えば SEKONIC 社製の VM-10A が用いられる。

[0066] あるいは、中空糸膜 2 2 の膜抵抗を下記式 1 で表される r 、二次流路 2 4 の流路抵抗を下記式 2 で表される R とした場合において、プロセッサ 7 0 は、分離工程において、培養液 3 0 の送液時の ΔP 、 r 、及び R の関係が、 $\Delta P / 2 (r + R) \leq 0.0005 \text{ mL} / \text{min}$ となるように、第 1 ポンプ P U 1 及び第 2 ポンプ P U 2 の出力、並びにピンチバルブ V の開度等を制御してもよい。

$$[0067] \quad r = \mu k \cdot \ln(D/d) / 2\pi L \quad \text{式 1}$$

$$R = 8\mu LM / \pi A (ref f)^2 \quad \text{式 2}$$

ここで、 k は、中空糸膜 2 2 の圧損係数、 D は中空糸膜 2 2 の外径、 d は中空糸膜 2 2 の内径、 L は中空糸膜 2 2 の長さ、 M はハウジング 2 1 に収容されている中空糸膜 2 2 の本数、 $ref f$ は下記式 3 で表される中空糸膜フィルタ 2 0 の水力半径、 A は中空糸膜フィルタ 2 0 の長さ方向に垂直な断面における二次流路 2 4 の断面積である。

$$[0068] \quad ref f = \pi (D_h^2 - M \cdot D^2) / 2\pi (D_h + M \cdot D) \quad \text{式 3}$$

図 4 に示すように、培養液 3 0 を中空糸膜フィルタ 2 0 の一次流路 2 3 に供給し、一次流路 2 3 中を中空糸膜 2 2 の膜面に沿って送液する際に、中空糸膜 2 2 の孔 2 2 h よりも小さい抗体 3 3 は孔 2 2 h を通過して二次流路 2 4 に移送される。第 1 ポンプ P U 1 によって、図 4 中、一次流路 2 3 に沿った矢印で示す一次流路 2 3 の膜面に沿った方向の流れ（以降において接線流

という。)を生じさせる。中空糸膜22の一次流路23においては、一次流路23に沿って培養液30が送液される際に、接線流の方向に対して直交する、壁面に向かう流れが生じ、この流れによって、抗体33は孔22hを通過して二次流路24に移送される。

[0069] 一次流路23において膜面に向かう流れが生じることによって、中空糸膜22の孔22hを通過できないようなサイズの詰まり物質が孔22hに入り込んで詰まりを生じたり、膜面に堆積したりする。詰まり物質は、具体的には、抗体の疎水部が会合及び凝集して生成される抗体凝集物及び死細胞破片などである。以下において、詰まり物質の孔22hへの詰まりである目詰まり及び膜面への堆積を、まとめて「膜詰まり」という。図5は、分離工程の処理時間と、膜間差圧との関係を示すグラフと、処理時間の経過に伴う中空糸膜22の膜面の状態の変化を示す模式図である。

[0070] 膜間差圧とは、一次流路23の平均圧力と二次流路24の送液圧力との差である。一次流路23の平均圧力とは、一次流路23の両端の送液圧力の平均値、すなわち、第1開口部20aにおける第1圧力 P_1 と、第2開口部20bにおける第2圧力 P_2 との平均値であり、平均圧力を P_{12} とすると、 $P_{12} = (P_1 + P_2) / 2$ で定義される。二次流路24の送液圧力とは、排出口20cにおける第3圧力 P_3 である。すなわち、膜間差圧 $= P_{12} - P_3$ である。

[0071] 膜間差圧が大きいほど、一次流路23から二次流路24への透過流が生じにくい状態であること意味する。これは次の理由による。まず、上述のとおり、第2ポンプPU2によって、一次流路23から二次流路24側に培養液30の一部は吸引されている。これを前提に、中空糸膜22に膜詰まりが生じていない状態を考える。膜詰まりが生じていない状態では、中空糸膜22の孔22hを二次流路24側に透過する透過流が受ける抵抗は比較的小さく、スムーズに流れる。そのため、一次流路23側の平均圧力 P_{12} と、二次流路24側の第3圧力 P_3 との差である膜間差圧は小さい。対して、膜詰まりが生じている状態では、中空糸膜22の孔22hを通過する透過流が受け

る抵抗が大きく、透過流が滞留しがちになる。そのため、一次流路 23 側の平均圧力 P_{12} が上昇し、二次流路 24 側の第 3 圧力 P_3 は低下し、膜間差圧は大きくなる。

[0072] 図 5 は膜間差圧の経時変化の一例を示すグラフである。図 5 に示すように、分離工程の初期においては、膜詰まりが生じておらず、膜間差圧は低いが、時間が経つにつれて、徐々に膜間差圧が大きくなっている。時間の経過に伴い、詰まり物質 36 が中空糸膜 22 の孔 22h に詰まる目詰まりが生じ始め、最終的には詰まり物質 36 による目詰まり及び膜面への堆積による膜詰まりが進行する。膜詰まりが進行すると、中空糸膜 22 の分離機能が低下して、耐用期間が終了する。逆に考えれば、膜詰まりの進行を遅らせることができれば、中空糸膜 22 の耐用期間を延ばすことができる。

[0073] 発明者らは、以下のとおり、中空糸膜 22 を通過する培養液 30 の流れ、及び後述する膜詰まりが生じるメカニズムを分析することにより、膜詰まりの進行を遅らせる対策として、次の対策が有効であることを見出した。すなわち、中空糸膜 22 の一次流路 23 から二次流路 24 に透過する透過液のうち、産生物回収部 40 に回収される液体（後述する濾過液）以外の液体（後述する迂回液）の割合を減らすことである。

[0074] まず、上述のとおり、膜詰まりは、一次流路 23 から二次流路 24 へ向かう流れにより孔 22h よりも大きいサイズの詰まり物質が膜面に押し付けられることにより生じる。この詰まり物質を膜面に押し付ける流れは、膜面を透過して一次流路 23 から二次流路 24 へ流れる透過液の流量に比例する。一次流路 23 から二次流路 24 への流れは、主として二次流路 24 に接続されている第 2 ポンプ P_{U2} の作動により二次流路 24 が一次流路 23 に対して負圧になることにより生じる。

[0075] また、中空糸膜フィルタ 20 の一次流路 23 から二次流路 24 に透過する透過液を分析すると、透過液には、濾過液として回収されず二次流路 24 から一次流路 23 に戻る迂回液が含まれていることが分かる。ここで、濾過液とは、一次流路 23 から二次流路 24 に透過した透過液のうち中空糸膜フィ

ルタ 20 の外部に排出され産生物回収部 40 に回収される液体である。以下において、中空糸膜 22 の膜面の単位面積に、単位時間当たりに流れる透過液、濾過液、及び迂回液のそれぞれの流量を、透過流量、濾過流量、及び迂回流量という。

[0076] 上述のとおり、膜詰まりは透過流量が多いほど進行する。透過流量のうち、濾過流量は抗体 33 の回収効率を維持するためには低減することはできないが、迂回流量は、抗体 33 の回収に寄与しない。そのため、迂回流量を抑制することができれば（すなわち、透過液の産生物回収部 40 に回収される液体（後述する濾過液）以外の液体（後述する迂回液）の割合を減らすことができれば）、迂回流量の抑制分だけ時間当たりの透過流量を抑制することができる。そして、時間当たりの透過流量が抑制される結果として、時間当たりの壁面側に押し付けられる詰まり物質の量を抑制でき、膜詰まりの進行を遅らせることができる。これにより、中空糸膜フィルタ 20 の耐用期間の長期間化が図れる。

[0077] 以下において、濾過流量と迂回流量とを含む透過流量に対する迂回流量の比を迂回流量比という。迂回流量を抑制するとは、すなわち、迂回流量比を小さくすることである。

[0078] 上述した圧力差 ΔP と粘度 μ との比の条件式である $\Delta P / \mu \leq 4.9 \times 10^6$ [1/s] は、タンク 10 として容量が 100 L 以上のタンクを用いることを前提として、その容量に見合った中空糸膜フィルタ 20 の耐用期間を得るために実験等を踏まえて導出された条件式である。この条件式を満たすことにより、上記容量に見合った迂回流量比の低減効果が得られる。

[0079] また、 $\Delta P / \mu \leq 4.9 \times 10^6$ [1/s] という条件に代えて又はそれに加えて、次の条件を満たすことによっても、100 L の容量に見合った迂回流量比の低減効果が得られる。すなわち、分離工程において、培養液 30 の送液時において、 $\Delta P / 2 (r + R)$ を 0.0005 mL/min 以下とするという条件である。

[0080] このように、本開示の産生物の製造方法によれば、迂回流量比を低減する

ことにより、中空糸膜フィルタ 20 の耐用期間を延ばすことができ、結果として培養の連続運転を長期間化できる。

[0081] 容量が 100 L 以上のタンク 10 に収容された培養液 30 中で細胞を培養して産生物を得る産生物の製造方法においては、以下のような中空糸膜フィルタ 20 を用いることが好ましい。

[0082] 中空糸膜 22 は、長さ L と、内径 d (図 2 参照) との関係が、

$$L/d \leq 290$$

を満たすことが好ましい。 L/d は 220 以下がより好ましく、200 以下がより好ましく、140 以下がさらに好ましい。 L/d は 50 以上が好ましい。

[0083] L/d を 290 以下とすることで、中空糸膜 22 の一次流路 23 の両端の圧力差 ΔP を小さくすることができ、 $\Delta P/\mu \leq 4.9 \times 10^6 [1/s]$ 、あるいは $\Delta P/2(r+R) \leq 0.0005 \text{ mL/min}$ を実現できる。

[0084] 中空糸膜 22 の長さ L 、内径 d は、一例として、 $L \leq 290 \text{ mm}$ 、 $d \geq 1 \text{ mm}$ である。中空糸膜の長さ L は 290 mm 以下が好ましく、240 mm 以下がより好ましく、200 mm 以下がさらに好ましい。また、中空糸膜の長さ L は、100 mm 以上が好ましく、140 mm 以上がより好ましく、150 mm 以上がさらに好ましい。中空糸膜の内径 d は 1 mm 以上が好ましく、1.2 mm 以上がより好ましく、1.5 mm 以上がさらに好ましく、2 mm 以上がさらに好ましい。また、内径 d は 5 mm 以下が好ましく、4 mm 以下がより好ましく、3 mm 以下がさらに好ましい。

[0085] 中空糸膜フィルタ 20 の長さ方向に垂直な断面における一次流路 23 の総断面積 S_1 と、ハウジング 21 の断面積 S_h との関係が、

$$S_1/S_h \geq 0.28$$

を満たすことが好ましい。ここで、一次流路 23 の総断面積 S_1 とは、1 本の中空糸膜 22 の長さ方向に垂直な断面における断面積 s_1 とハウジング 21 内に収容されている中空糸膜 22 の本数 N との積であり、以下において、単に一次流路断面積 S_1 とする。 S_1/S_h は 0.3 以上がより好ましく、

0.35以上がさらに好ましい。 $S1/S_h$ は0.4以下が好ましい。

[0086] ハウジング21の断面積 S_h は、2000mm²以上が好ましく、2400mm²以上がより好ましく、3000mm²以上がさらに好ましく、5000mm²以上がさらに好ましい。上限は、10000mm²であり、8000mm²がより好ましい。

[0087] $S1/S_h$ を0.28以下とすることで、中空糸膜22の一次流路23の両端の圧力差 ΔP を小さくすることができ、 $\Delta P/\mu \leq 4.9 \times 10^6$ [1/s]、あるいは $\Delta P/2(r+R) \leq 0.0005$ mL/minを実現できる。

[0088] 中空糸膜22の膜抵抗 r が1250psi/mL/min (=8620kPa/mL/min)以上であることが好ましい。

[0089] $r = \mu k \cdot \ln(D/d) 2\pi L$

で表される。ここで、 μ は培養液30の粘度、 k は中空糸膜22の圧損係数である。膜抵抗 r は1600psi/mL/min以上がより好ましく、2500psi/mL/min以上がさらに好ましい。また、 r は8000psi/mL/min以下が好ましい。

[0090] 膜抵抗 r が1250psi/mL/min以上であれば、一次流路23から二次流路24への透過流量を効果的に抑制でき、迂回流量を抑制できる。

[0091] 圧損係数 k は 5×10^{13} /m²以上であることが好ましい。圧損係数 k は中空糸膜22の一次流路23と二次流路24との間の圧力損失に関わる係数であり、中空糸膜22を構成する多孔質膜22aの材料、孔22hの大きさ、及び膜厚に依存する。圧損係数 k は 5×10^{14} /m²以上がより好ましく、 1×10^{15} /m²以上がさらに好ましい。圧損係数 k は 1×10^{16} /m²以下が好ましい。圧損係数 k は、溶媒を一次流路23側から二次流路24側に流した際の圧力損失を測定し、その値を溶媒の粘度と流速で除して算出する。

[0092] 圧損係数 k が小さいほど、一次流路23から二次流路24へ透過液が流れやすくなる。すなわち、圧損係数 k が小さいほど迂回液が生じやすくなる。圧損係数 k が 5×10^{13} /m²以上であれば、透過流量を効果的に抑制でき、

結果として迂回流量を抑制できる。

- [0093] 中空糸膜 22 は、外径 D （図 2 参照）と内径 d との関係が、 $D/d \geq 1.1$ を満たすことが好ましい。 $D/d \geq 1.1$ とは、中空糸膜 22 の膜厚 t （ここで、 $2t = D - d$ ）が内径 d の 5% 以上であることを意味する。 D/d は 1.25 以上がより好ましく、1.4 以上がさらに好ましい。また、 D/d は 3.0 以下が好ましい。
- [0094] 中空糸膜 22 の外径 D は、1.1 mm 以上が好ましく、1.25 mm 以上が好ましい。また、外径 D は 1.4 mm 以下が好ましい。
- [0095] D/d が大きいほど、中空糸膜の膜厚が大きくなるため、膜抵抗 r が大きくなり、一次流路 23 から二次流路 24 への透過流量を効果的に抑制できる。 $D/d \geq 1.1$ であれば、透過流量を効果的に抑制でき、結果として迂回流量を抑制できる。
- [0096] 中空糸膜 22 の一次流路 23 の壁面の表面粗さ S_a は $8 \mu\text{m}$ 以下であることが好ましい。表面粗さ S_a は $7 \mu\text{m}$ 以下がより好ましく、 $6 \mu\text{m}$ 以下がさらに好ましい。表面粗さ S_a は $3 \mu\text{m}$ 以上が好ましい。表面粗さ S_a は、レーザー顕微鏡を用いて測定する。レーザー顕微鏡は例えばキーエンス社製の VK-X3000 を用いる。
- [0097] 一次流路 23 の壁面の表面粗さ S_a が小さいほど、詰まり物質が中空糸膜 22 の壁面に引っ掛かりにくくなり、孔 22h への詰まり及び壁面への堆積を抑制できる。表面粗さ S_a が $8 \mu\text{m}$ 以下であれば、膜詰まりの抑制効果が高い。
- [0098] 中空糸膜フィルタ 20 においては、ハウジング 21 内の中空糸膜 22 の本数は、中空糸膜 22 の外径 D が 2 mm 未満の場合、900 本以上が好ましく、1000 本以上がより好ましい。上限は、50000 本であり、30000 本がより好ましい。中空糸膜 22 を短くする場合でも十分な処理能力を担保するため、本数を多くすることが好ましい。
- なお、中空糸膜の外径 D が 2 mm 以上の場合、中空糸の本数は、100 本以上が好ましく、200 本以上がより好ましい。上限は 10000 本であり、

1000本以下が好ましく、800本以下がより好ましい。

[0099] 中空糸膜フィルタ20においては、ハウジング21の長さ方向に垂直な断面（図3参照）における1平方センチメートル当たりの中空糸膜22の本数 N と、中空糸膜22の外径 D との積 $N \times D$ が5本・cm/cm²以上であることが好ましい。1平方センチメートル当たりの中空糸膜22の本数 N は、ハウジング21の断面積 S_h とハウジング21に收容されている中空糸膜22の本数 M とから算出される。 $N \times D$ は6.5本・cm/cm²以上がより好ましく、8本・cm/cm²以上がさらに好ましい。 $N \times D$ は15本・cm/cm²以下が好ましい。

[0100] 中空糸膜22が密になるほど、ハウジング21の断面積に対する二次流路24の断面積が小さくなり、一次流路23から二次流路24への透過流量を抑制できる。 $N \times D \geq 5$ 本・cm/cm²であれば、透過流量を効果的に抑制でき、結果として迂回流量比を抑制できる。

[0101] 中空糸膜22の一次流路23の壁面の水の接触角が75°以下であることが好ましい。すなわち中空糸膜22は親水性であることが好ましい。水の接触角が75°以下であれば、疎水性の詰まり物質が膜面に付着しにくくなり、詰まり及び壁面への堆積を抑制できる。水の接触角は、中空糸膜を切り開いて平膜とし、その表面に1μLの水滴を滴下して測定する。接触角は装置により $\theta/2$ 法で自動算出された値を用いる。装置としては例えば、協和界面科学社製のDropMaster DMS-401を用いる。

[0102] なお、培養液30の送液の方向を予め設定されたタイミングで逆転させることにより、中空糸膜22の壁面に付着した詰まり物質等の付着物に対するフラッシング効果を得ることができる。

[0103] 本開示に係る産生物の製造方法においては、前述した産生物を産生する細胞を培養する工程と、培養液中の細胞と産生物とを分離する分離工程とに加え、産生物を回収する工程と、タンクに新鮮な培地を供給する供給工程とを含む、灌流培養を用いることが好ましい。

[0104] 灌流培養は、新鮮な培地を添加し、同時に使用済み培地を除去する培養法

である。灌流培養によれば、 $100 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ を超える高い細胞密度を達成することが可能である。また、灌流培養の利点は、目的とする産生物が産生される培養が、バッチ培養法又はフェドバッチ培養よりも長期間維持されることである。

[0105] 本実施形態の産生物の製造方法において、培養液の細胞密度は、好ましくは $30 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 以上である。培養液の細胞密度は、 $50 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 以上がより好ましく、 $80 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 以上がより好ましく、 $120 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 以上がより好ましく、 $150 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 以上がさらに好ましい。また、培養液の細胞濃密度、好ましくは $400 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 以下であり、より好ましくは $250 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 以下である。

[0106] $30 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 以上のような細胞密度が高い場合には、膜詰まりが生じやすいため、本開示の技術による効果が高い。

[0107] 細胞密度は、細胞数を常法により測定し、細胞数を培養液量で割ることにより求めることができる。

[0108] 本実施形態の産生物の製造方法において、産生物の力価は 1.0 g/L 以上であることが好ましい。産生物の力価は、 1.4 g/L 以上がより好ましく、 1.8 g/L 以上がさらに好ましい。

[0109] 産生物の力価は、培養液を $0.2 \mu\text{m}$ のシリンジフィルターを通して細胞等の粗大物を取り除き、代謝測定装置を用いて測定する。代謝測定装置としては、Roche社製のCedexbioを用いる。

「簡易実験系による実験」

発明者らは、簡易実験系を作製し、中空糸膜の膜詰まりを遅らせて中空糸膜フィルタ20の耐用期間を長期間化することが可能な中空糸膜フィルタ20の構成について検討した。図6は、簡易実験系102の構成を示す模式図である。

[0110] 簡易実験系102は、詰まり物質を含む濾過対象液130を収容する容器110と、簡易フィルタ120と、第1ポンプPU11、第2ポンプPU1

2、第3ポンプPU13と、管路151～154を備える。

[0111] 簡易フィルタ120は、中空糸膜フィルタ20に用いられる中空糸膜122を1本と、その1本の中空糸膜122を収容するポリプロピレン製のチューブ121とから作製した。図6に示すように、チューブ121の両端には第1開口部120a及び第2開口部120bが備えられている。第1開口部120aは容器110から簡易フィルタ120に濾過対象液130を送液するための管路151と接続されている。第2開口部120bは簡易フィルタ120からポンプPU11に濾過対象液130を送液するための管路152に接続されている。この第1開口部120a及び第2開口部120bにより中空糸膜122の中空部から構成される一次流路123に濾過対象液130の流入出が可能に構成されている。また、チューブ121の外周には、二次流路124中の透過液をチューブ121の外部に排出させるための管路153が接続される排出口120cが備えられている。

[0112] 第1ポンプPU11は、第1開口部120aから簡易フィルタ120に濾過対象液130を流入させ、第2開口部120bから排出させる順送と、第2開口部120bから簡易フィルタ120に濾過対象液130を流入させ、第1開口部120aから排出させる逆送との往復流を生じさせる。

[0113] 第2ポンプPU12は、管路153と接続されており、排出口120cを介して二次流路124中の透過液を回収するポンプである。

[0114] 第3ポンプPU13は、管路154と接続されており、管路154を介して容器110に濾過対象液130を供給するポンプである。

[0115] 管路151、152、153にはそれぞれ圧力計161～163が備えられている。管路151に備えられている圧力計161により、一次流路123の一端の送液圧力である第1圧力P1が測定される。管路152に備えられている圧力計162により、一次流路123の他端の送液圧力である第2圧力P2が測定される。そして、管路153に備えられている圧力計163により、二次流路124の送液圧力である第3圧力P3が測定される。

[0116] 上記簡易実験系102において、中空糸膜122の長さを変化させた場合

の膜詰まりの発生について調べた。濾過対象液 130 として、培養液上清を用いた。培養液上清は、培養液を遠心分離することにより細胞を沈殿させた場合の上部の液体部分であり、抗体及び詰まり物質となる抗体の凝集物を含む。

[0117] 中空糸膜 122 を透過する透過液の流量を実際の産生物の製造における流量の略 20 倍となるように、各ポンプ PU11、PU12 及び PU13 を作動させた。

[0118] 中空糸膜 22 の長さである膜長が 43 cm、22 cm 及び 14 cm の中空糸膜について、膜面積当たりの濾過液量 $[m^3/m^2]$ に対する膜間差圧 $[psi]$ の変化を調べた。なお、1 psi は、6894.76 Pa である。

[0119] 膜長が長いほど、少ない濾過液量で膜間差圧が増加した。具体的には、膜長が長いほど、所定の膜間差圧（例えば、4.0 psi）に至るまでの膜面積当たりの濾過液量が少なく、膜長が短いほどは膜間差圧が 4.0 psi に至るまでの膜面積当たりの濾過液量が多くなった。すなわち、膜長が短いほど中空糸膜フィルタの耐用期間を長期間化できることがわかった。

[0120] 次に、各膜長についての最大迂回流量を算出した。最大迂回流量とは、中空糸膜長手方向の端部における迂回流量である。膜面積当たりの濾過液量を一定とした条件下で、1 時間当たりの膜面積当たりの迂回流量を算出した。その結果、膜長が短いほど迂回流量を少なくできることがわかった。具体的には、膜長が 43 cm、22 cm 及び 14 cm を比較すると、膜長 43 cm の場合と比較すると、膜長 22 cm の場合には最大迂回流量は半分以下となり、膜長 14 cm の場合には最大迂回流量は 1/3 以下となった。

[0121] 簡易実験系による膜詰まりについての結果と、最大迂回流量の計算結果とから、迂回流が大きいほど膜詰まりが早く生じ、迂回流を抑制することで膜詰まりを遅らせることができることが明らかになった。

[0122] 図 7 は、中空糸膜フィルタ 20 に接続されたダイアフラムポンプ（図 1 における第 1 ポンプ PU1 に相当）を作動させ、中空糸膜フィルタ 20 にタンク 10 から培養液を送液する順送時（a）と、中空糸膜フィルタ 20 からタ

ンク 10 へ培養液を送液する逆送時 (b) の場合についての、中空糸膜 22 の長さ方向における透過流量の変化を示す。図 7 は、数理モデルによる計算結果である。数理モデルにおいて中空糸膜 22 の長さ L は 520 mm とし、培養液の細胞密度は $120 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ とした。

[0123] 図 7 において、中空糸膜 22 の長さ方向の位置は、中空糸膜フィルタ 20 の中空糸膜 22 のタンク 10 側の一端を基準位置として、基準位置からの距離 (図 7 中において入口からの距離) で示している。透過流量は、上述のとおり、中空糸膜 22 の一次流路 23 から二次流路 24 へ、単位面積当たり、単位時間当たりに透過する透過液の量である。

[0124] 図 7 に示すように、中空糸膜 22 の供給側の一端において透過流量は最大となる。この透過流量と中空糸膜 22 の膜面への詰まり物質の堆積量には相関があり、透過流量が大きいほど堆積層厚さが大きくなる。

[0125] 以上の簡易実験及び数理モデル等の結果から中空糸膜フィルタに生じる迂回流と膜詰まりの発生のメカニズムは以下のように推察される。

[0126] 図 8 は、(A) 相対的に長い膜長 L_1 の中空糸膜を有する中空糸膜フィルタ 120A の場合と (B) 相対的に短い膜長 L_2 の中空糸膜を有する中空糸膜フィルタ 120B の場合についての迂回流発生のメカニズムを説明するための図である。膜面積当たりの濾過流量を同一とする場合、膜長が長いほど、一次流路 23 の両端間の圧力差 ΔP が大きくなる。すなわち、中空糸膜フィルタ 120A、120B において膜面積当たりの濾過流量を同一とする場合、図 8 の (A) に示すように、中空糸膜フィルタ 120A の一次流路 23 の両端間の圧力差 ΔP_A は、中空糸膜フィルタ 120B の一次流路 23 の両端間の圧力差 ΔP_B と比較して大きくなる。そのため、中空糸膜フィルタ 120A の一次流路 23 では、供給側において壁面に向かう流れが生じやすく、迂回流量が多くなり、膜詰まりが進行し易くなる。これに対し、図 8 の (B) 中の中空糸膜フィルタ 120B の一次流路 23 においては、両端間の圧力差 ΔP が中空糸膜フィルタ 120A と比較して小さいので、供給側における壁面に向かう流れが相対的に少なくなる。それに伴い、迂回流量も相対的

に小さくなり、結果として膜詰まりの進行速度を遅くできる。

[0127] タンク容量（すなわち培養液量）が大きくなると、回収する濾過液の量も比例して増える。使用する中空糸膜 22 の膜面積と送液する培養液量との関係を、膜面積／培養液量＝一定、としてスケールアップする場合、膜面積当たりの透過液の量は変化しないので、膜面積自体を増やす必要がある。このようにスケールアップして中空糸膜 22 の膜面積を大面積化する場合、一般には中空糸膜の長さを長くすることで、膜面積を増やす。しかしながら、上述の検討によれば、単純に中空糸膜を長くした場合、長いほど両端間の差圧が大きくなり、迂回流が増加するため、耐用期間が短くなることが明らかである。そのため、容量が 100 L 以上のようなタンク 10 を用いた培養を行う産生物の製造方法において、培養液の送液時における中空糸膜 22 の一次流路 23 の両端の圧力差 ΔP を小さくすること、具体的には、 $\Delta P / \mu$ を 4.9×10^6 [1 / s] 以下とすることによる耐用期間の長期間化が有効である。

[0128] なお、製造された産生物は、例えばバイオ医薬品及び再生医療等において用いることができる。

[0129] なお、上記実施形態においては、中空糸膜フィルタ 20 を、培養液中の細胞と産生物を分離するために用いられる例について説明したが、中空糸膜フィルタ 20 は、細胞と産生物の分離に限らず、固体粒子を分離する処理に適用することもできる。固体粒子は、その最大長さが $1 \mu\text{m}$ 以上であり、 $2 \mu\text{m}$ 以上が好ましく、 $5 \mu\text{m}$ 以上がより好ましい。最大長さは、 $100 \mu\text{m}$ 以下が好ましく、 $50 \mu\text{m}$ 以下がより好ましく、 $10 \mu\text{m}$ 以下がより好ましい。

[0130] また、上記実施形態において、プロセッサのハードウェア的な構造としては、下記に示す各種のプロセッサ (Processor) を用いることができる。各種プロセッサとしては、ソフトウェア (プログラム) を実行して各種の処理部として機能する汎用的なプロセッサである CPU に加えて、FPGA (Field - Programmable Gate Array) などの製造後に回路構成を変更可能な PLD (

Programmable Logic Device)、及びASIC (Application Specific Integrated Circuit) などの特定の処理を実行させるために専用に設計された回路構成を有するプロセッサである専用電気回路などが含まれる。

[0131] また、上述の処理を、これらの各種のプロセッサのうちの1つで実行してもよいし、同種又は異種の2つ以上のプロセッサの組み合わせ（例えば、複数のFPGA、及びCPUとFPGAとの組み合わせなど）で実行してもよい。また、複数の処理部を1つのプロセッサで構成してもよい。複数の処理部を1つのプロセッサで構成する例としては、システムオンチップ (System On Chip: SOC) などのように、複数の処理部を含むシステム全体の機能を1つのIC (Integrated Circuit) チップで実現するプロセッサを使用する形態がある。

[0132] さらに、これらのプロセッサのハードウェア的な構造としては、より具体的には、半導体素子などの回路素子を組み合わせた電気回路 (Circuitry) を用いることができる。

[0133] また、本開示の技術は、分析装置の作動プログラムに加えて、分析装置の作動プログラムを非一時的に記憶するコンピュータで読み取り可能な記憶媒体 (USBメモリ又はDVD (Digital Versatile Disc) - ROM (Read Only Memory) など) にもおよぶ。

実施例

[0134] 以下、実施例により本開示の実施形態を更に具体的に説明する。

[0135] 図1に示す細胞培養装置と略同等の構成の装置を用いて比較例1及び比較例2の産生物の製造方法により産生物を製造した。また、実施例1～8の産生物の製造方法について、シミュレーションを実施した。目標の連続運転期間は34日間である。

[0136] 「比較例1」

まず、タンクに培地を44L入れ37℃で保持し、タンク10上面から空気およびCO₂を通気し1日間放置した。次に、細胞をタンク内の細胞密度が5.0×10⁵ cells/mL、タンク内の液量が45Lになるように播種

した。播種から2日後からポンプによる培養液の連続的な抜き出し及び細胞と産生物との分離（分離工程）、及び新鮮培地の供給（新鮮培地を供給する工程）を27 L／日の割合で行った。また、播種から5日後からはポンプによる培養液の連続的な抜き出し及び細胞と産生物との分離（分離工程）、及び新鮮培地の供給（新鮮培地を供給する工程）を54 L／日の割合で行った。なお、分離工程において、二次流路に透過しなかった培養液はタンクに戻し、二次流路に透過した透過液を回収することにより、産生物としての抗体を回収した（回収工程）。培養した細胞は、抗体を産生するCHO細胞である。培地は、特表2000-517188の表2の交換培地を参考にして調整した培地を使用した。

[0137] 分離工程を開始した日を1日目として、所定の膜詰まり状態に至るまで、もしくは、60日間、上記分離工程、新鮮培地を供給する工程及び回収工程を続けた。

[0138] 中空糸膜フィルタとして、内径 $D_h = 53.2 \text{ mm}$ のハウジングを備え、ハウジング内には、中空糸膜を $M = 830$ 本収容した中空糸膜フィルタを用いた。中空糸膜は、膜長 $L = 295 \text{ mm}$ 、内径 $d = 1 \text{ mm}$ 、外径 $D = 1.26 \text{ mm}$ 、膜厚 $(D - d) / 2 = 0.13 \text{ mm}$ であった。この場合、 $L / d = 295$ であり、 $D / d = 1.26$ である。また、中空糸膜フィルタの長さ方向に垂直な断面積において、ハウジング断面積 $S_h = \pi D_h^2 = 2222.9 \text{ mm}^2$ 、一次流路断面積 $S_1 = M \times \pi (d / 2)^2 = 651.9 \text{ mm}^2$ 、二次流路断面積 $A = S_h - M \times \pi (D / 2)^2 = 1187.9 \text{ mm}^2$ 、ハウジング断面積 S_h に対する一次流路断面積 S_1 は $S_1 / S_h = 0.29$ であり、 1 cm^2 当たりの中空糸膜の本数 $N = M / S_h = 37.34$ である。また、水力半径 $r_{eff} = \pi (D_h^2 - M \cdot D^2) / 2 \pi (D_h + M \cdot D) = 0.688$ である。なお、中空糸膜の圧損係数 $k = 5.548 \times 10^{14} / \text{m}^2$ であり、膜面の表面粗さ $S_a = 7.9 \text{ mm}$ 、接触角は 70° であった。

[0139] 送液する培養液の粘度 μ は $2.0 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ であり、送液時における一次流路23の両端間の圧力差 ΔP を 1.44 psi とした。すなわち、 $\Delta P /$

$\mu = 4.96$ とした。

[0140] なお、この場合、中空糸膜抵抗 $r = \mu k \cdot \ln(D/d) / 2\pi L = 1203.9 \text{ psi/mL/min}$ 、二次流路の流抵抗 $R = 8\mu LM / \pi A (r_{eff})^2 = 19.3 \text{ psi/mL/min}$ 、 $\Delta P / 2(r+R) = 0.00059 \text{ mL/min}$ であった。

「比較例2」

中空糸膜フィルタとして、内径 $D_h = 16.3 \text{ mm}$ のハウジングを備え、ハウジング内には、中空糸膜を $M = 75$ 本収容した中空糸膜フィルタを用いた。中空糸膜は、膜長 $L = 558.5 \text{ mm}$ 、内径 $d = 1 \text{ mm}$ 、外径 $D = 1.26 \text{ mm}$ 、膜厚 $(D-d)/2 = 0.13 \text{ mm}$ であった。この場合、 $L/D = 558.5$ であり、 $D/d = 1.26$ である。また、中空糸膜フィルタの長さ方向に垂直な断面積において、ハウジング断面積 $S_h = 208.7 \text{ mm}^2$ 、一次流路断面積 $S_1 = 158.9 \text{ mm}^2$ 、二次流路断面積 $A = 115.2 \text{ mm}^2$ 、ハウジング断面積 S_h に対する一次流路断面積 S_1 は $S_1/S_h = 0.28$ であり、 1 cm^2 当たりの中空糸膜の本数 $N = 35.94$ である。また、水力半径 $r_{eff} = 0.662$ である。なお、中空糸膜の素材及び膜厚は比較例1と同じであるため、圧損係数 k 、膜面の表面粗さ S_a 、接触角は比較例1と同一である。なお、送液する培養液も比較例1と同一とした。

[0141] 送液時における一次流路の両端間の圧力差 ΔP を 3.51 psi とした。すなわち、 $\Delta P/\mu = 12.10$ とした。

[0142] なお、この場合、中空糸膜抵抗 $r = 635.9 \text{ psi/mL/min}$ 、二次流路の流抵抗 $R = 36.8 \text{ psi/mL/min}$ 、 $\Delta P / 2(r+R) = 0.00261 \text{ mL/min}$ であった。

<膜詰まり評価>

比較例1及び比較例2について、分離工程を開始した日から、中空糸膜フィルタの詰まり具合を毎日同時刻に測定し、 $TMP = 1.5 \text{ psi}$ となるまでの日数、及び $\Delta P_{in} = 4 \text{ psi}$ となるまでの日数を調べた。ここで、 T

MPは一次流路23と二次流路24との間の膜間差圧であり、膜詰まりのうち多孔質膜の孔の詰まりが増加するほど大きくなるため、膜詰まりのうち孔の詰まり具合（目詰まり）を評価する指標とした。また、 ΔP_{in} は一次流路の第1ポンプPU1側の端部における送液圧力（第2圧力P2）の初期値からの増加量である。 ΔP_{in} は、一次流路23が閉塞するほど大きくなるため、膜詰まりのうち、膜面への堆積状態を評価する指標とした。

[0143] 第1圧力P1、第2圧力P2及び第3圧力P3を測定し、 $TMP = (P1_{avg} + P2_{avg}) / 2 - P3_{avg}$ とした。ここで、 $P1_{avg} = (P1_{max} + P1_{min}) / 2$ であり、 $P1_{max}$ 、 $P1_{min}$ はそれぞれ、培養液が中空糸膜内を5往復する内の第1圧力P1の最大値、最小値の圧力を示す。 $P2_{avg}$ 、 $P3_{avg}$ についても同様である。

[0144] $\Delta P_{in} = (P2_{max} - P2_{min}) - (P2_{i_{max}} - P2_{i_{min}})$ とした。ここで、 $P2_i$ はP2の初期値（分離工程を開始した日の第2圧力）である。

「実施例1～実施例8」

実施例1～実施例8において、中空糸膜フィルタの構成を表1に示す通りとして、膜詰まりについて評価した。

[0145] 表1に示す通り、例えば、実施例1は、中空糸膜フィルタとして、内径 $D_h = 53.2\text{ mm}$ のハウジングを備え、ハウジング内には、中空糸膜を $M = 1000$ 本収容した中空糸膜フィルタを用いた。そして、中空糸膜は、膜長 $L = 220\text{ mm}$ 、内径 $d = 1\text{ mm}$ 、外径 $D = 1.26\text{ mm}$ 、膜厚 $(D - d) / 2 = 0.13\text{ mm}$ とした。この場合、 $L / D = 220$ であり、 $D / d = 1.26$ である。また、中空糸膜フィルタの長さ方向に垂直な断面積において、ハウジング断面積 $S_h = 2222.9\text{ mm}^2$ 、一次流路断面積 $S_1 = 785.4\text{ mm}^2$ 、二次流路断面積 $A = 976\text{ mm}^2$ 、ハウジング断面積 S_h に対する一次流路断面積 S_1 は $S_1 / S_h = 0.353$ であり、 1 cm^2 当たりの中空糸膜の本数 $N = 44.99$ である。また、水力半径 $r_{eff} = 0.473$ である。なお、中空糸膜の素材及び膜厚は比較例1と同一とした。また、送

液する培養液も比較例 1 と同一とした。

[0146] そして、送液時における一次流路の両端間の圧力差 ΔP を 0.8 psi とした。すなわち、 $\Delta P / \mu = 2.76$ とした。

[0147] なお、この場合、中空糸膜抵抗 $r = 1614.4 \text{ psi/mL/min}$ 、二次流路の流抵抗 $R = 44.6 \text{ psi/mL/min}$ 、 $\Delta P / 2(r + R) = 0.00024 \text{ mL/min}$ であった。

実施例 1 ～ 実施例 8 についても、効果は、 $\text{TMP} = 1.5 \text{ psi}$ となるまでの日数、及び $\Delta P_{in} = 4 \text{ psi}$ となるまでの日数で評価した。

[0148] 比較例 1 ～ 2 及び実施例 1 ～ 8 について、中空糸膜フィルタ構成、送液時条件及び効果としての膜詰まり評価の結果を表 1 にまとめて示す。なお、表 1 において、 $\Delta P_{in} = 4 \text{ psi}$ となるまでの日数における「発生なし」とは、60 日目において、 ΔP_{in} が 4 psi に到達していなかったことを意味する。

[0149]

[表1]

	単位	実施例 1	実施例 2	実施例 3	実施例 4	実施例 5	実施例 6	実施例 7	実施例 8	比較例 1	比較例 2
中空糸膜膜長 L	mm	220	140	220	220	220	220	220	220	295	558.5
中空糸膜内径 d	mm	1	1	2	4	1	1	1	1	1	1
中空糸膜外径 D	mm	1.26	1.26	2.52	5.04	1.4	1.6	1.26	1.26	1.26	1.26
中空糸膜膜厚	mm	0.13	0.13	0.26	0.52	0.2	0.3	0.13	0.13	0.13	0.13
中空糸膜本数 M	本	1000	1000	512	238	1000	1000	1200	1500	830	75
ハウジング内径 Dh	mm	53.2	53.2	67.3	85.2	57.8	59	53.2	60	53.2	16.3
L/d	-	220	140	110	55	220	220	220	220	295	558.5
一次流路断面積 S1	mm ²	785.4	785.4	1608.5	2990.8	785.4	785.4	942.5	1178.1	651.9	58.9
二次流路断面積 A	mm ²	976.0	976.0	1003.6	953.0	1084.5	723.4	726.6	957.1	1187.9	115.2
ハウジング断面積 Sh	mm ²	2222.9	2222.9	3557.3	5701.2	2623.9	2734.0	2222.9	2827.4	2222.9	208.7
S1/Sh	-	0.353	0.353	0.452	0.525	0.299	0.287	0.424	0.417	0.29	0.28
N	本/ cm ²	44.99	44.99	14.39	4.17	38.11	36.58	53.98	53.05	37.34	35.94
D/d	-	1.26	1.26	1.26	1.26	1.4	1.6	1.26	1.26	1.26	1.26
水力半径 reff	mm	0.473	0.473	0.471	0.472	0.474	0.278	0.296	0.312	0.688	0.662
中空糸膜の圧損係数 k	×10 ⁻¹⁴ /m ²	5.548	5.548	5.548	5.548	5.548	5.548	5.548	5.548	5.548	5.548
表面粗さ Sa	μm	7.9	7.9	7.9	7.9	7.9	7.9	7.9	7.9	7.9	7.9
接触角	°	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70
培養液の粘度 μ	mPa・s	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
一次流路面端の圧力差 ΔP	psi	0.8	0.6	0.4	0.2	0.8	0.8	0.7	0.6	1.44	3.51
ΔP/μ	×10 ⁶ [1/s]	2.76	2.07	1.38	0.69	2.76	2.76	2.41	2.07	4.96	12.10
中空糸膜抵抗 r	psi/mL/min	1614.4	2536.9	1614.4	1614.4	2350.3	3283.1	1614.4	1614.4	1203.9	635.9
二次流路の流路抵抗 R	psi/mL/min	44.6	28.4	22.5	10.9	40.1	174.9	184.4	156.5	19.3	36.8
ΔP/2(r+R)	mL/min	0.00024	0.00012	0.00012	0.00006	0.00017	0.00012	0.00019	0.00017	0.00059	0.00261
効 果	TMP=1.5psiとなるまでの日数	40	50	55	60	42	42	45	45	27	22
果	Δpin=4psiとなるまでの日数	発生なし	発生なし	発生なし	発生なし	発生なし	発生なし	発生なし	発生なし	発生なし	28

表 1 に示されるとおり、培養液の送液時の $\Delta P / \mu$ が 4.9×10^6 [1/s] 以下を満たしている実施例 1 ～ 実施例 8 においては、詰まり具合を示す

ΔP_{in} は60日を超えても4 psiにならず、TMPが1.5 psiとなるまでの日数も目標とする34日を超えた。一方、 $\Delta P / \mu$ が 4.9×10^6 [1/s]以下を満たしていない比較例1、2は、TMPが1.5 psiとなるまでの日数が34日に満たなかった。比較例1については、60日を超えても ΔP_{in} は4 psiを超えていないが、60日の時点では大幅に効率が低下しているものと推測される。

[0150] 実施例1～4の比較から L/d が小さいほど膜詰まりまでの期間（耐用期間）を長期間化することが分かる。実施例1～4の結果から、 L/d は220以下が好ましく、140以下がより好ましく、110以下がさらに好ましいといえる。

[0151] 実施例1～8はいずれも $S1/S_h \geq 0.28$ を満たす。実施例1、3及び4の比較から $S1/S_h$ が大きいほど耐用期間を長期間化できることがわかる。

[0152] 実施例1、5及び6の比較から、 D/d が大きいほど耐用期間を長期間化できることがわかる。

[0153] 実施例1、7及び8の比較から、水力半径 r_{eff} は0.55以下において小さいほど耐用期間を長期間化できることがわかる。

[0154] なお、以上に示した記載内容および図示内容は、本開示の技術に係る部分についての詳細な説明であり、本開示の技術の一例に過ぎない。例えば、上記の構成、機能、作用、および効果に関する説明は、本開示の技術に係る部分の構成、機能、作用、および効果の一例に関する説明である。よって、本開示の技術の主旨を逸脱しない範囲内において、以上に示した記載内容および図示内容に対して、不要な部分を削除したり、新たな要素を追加したり、置き換えたりしてもよいことはいうまでもない。また、錯綜を回避し、本開示の技術に係る部分の理解を容易にするために、以上に示した記載内容および図示内容では、本開示の技術の実施を可能にする上で特に説明を要しない技術常識などに関する説明は省略されている。

[0155] なお、2023年6月9日に出願された日本国特許出願2023-095

894の開示は、その全体が参照により本明細書に取り込まれる。

本明細書に記載された全ての文献、特許出願及び技術規格は、個々の文献、特許出願及び技術規格が参照により取り込まれることが具体的かつ個々に記された場合と同程度に、本明細書中に参照により取り込まれる。

[0156] 上記実施形態に関し、更に以下の付記を開示する。

<付記1>

細胞を培養し産生物を得る産生物の製造方法であって、

容量が100L以上のタンクに収容された培養液中で細胞を培養する培養工程と、

内部に長手方向に延びる一次流路を有する中空糸膜と、複数本の中空糸膜を収容するハウジングとを有し、ハウジング内における各中空糸膜の外部の空間を二次流路とする中空糸膜フィルタを用い、タンクから供給された培養液を、一次流路に送液し、産生物を含む透過液を二次流路に透過させることにより、培養液中の細胞と産生物とを分離する分離工程とを含み、

分離工程において、培養液の送液時における一次流路の供給側と排出側の両端の圧力の差を ΔP [Pa]、培養液の粘度を μ [Pa・s]とした場合に、培養液の送液時の $\Delta P / \mu$ を 4.9×10^6 [1/s]以下とする、産生物の製造方法。

<付記2>

中空糸膜の長さ L と、中空糸膜の内径 d との関係が

$$L / d \leq 290$$

を満たす、付記1に記載の産生物の製造方法。

<付記3>

中空糸膜フィルタの長さ方向に垂直な断面における一次流路の総断面積 S_1 と、ハウジングの断面積 S_h との関係が、

$$S_1 / S_h \geq 0.28$$

を満たす、付記1又は付記2に記載の産生物の製造方法。

<付記4>

中空糸膜の膜抵抗 r が $1250 \text{ psi} / \text{mL} / \text{min}$ 以上である、付記 1 から付記 3 のいずれか 1 つに記載の産生物の製造方法。

<付記 5>

中空糸膜の一次流路と二次流路との間の圧損係数 k が $5 \times 10^{13} / \text{m}^2$ 以上である、付記 1 から付記 4 のいずれか 1 つに記載の産生物の製造方法。

<付記 6>

中空糸膜の外径 D と、内径 d との関係が、

$$D / d \geq 1.1$$

を満たす、付記 1 から付記 5 のいずれか 1 つに記載の産生物の製造方法。

<付記 7>

中空糸膜の一次流路の壁面の表面粗さが $S_a = 8 \mu\text{m}$ 以下である、付記 1 から付記 6 のいずれか 1 つに記載の産生物の製造方法。

<付記 8>

分離工程において、送液の方向を予め設定されたタイミングで逆転させる、付記 1 から付記 7 のいずれか 1 つに記載の産生物の製造方法。

<付記 9>

産生物が抗体である、付記 1 から付記 8 のいずれか 1 つに記載の製造方法。

<付記 10>

産生物を回収する工程と、

タンクに培地を供給する供給工程と、

を含む、灌流培養である、付記 1 から付記 9 のいずれか 1 つに記載の産生物の製造方法。

<付記 11>

培養液の細胞密度が $100 \times 10^6 \text{ cells} / \text{mL}$ 以上である、付記 1 から付記 10 のいずれか 1 項に記載の産生物の製造方法。

<付記 12>

産生物の力価が $1.0 \text{ g} / \text{L}$ 以上である、付記 1 から付記 11 のいずれか

1 つに記載の産生物の製造方法。

<付記 1 3>

容量が 1 0 0 L 以上のタンクに収容された培養液中で細胞を培養して産生物を得る産生物の製造方法に使用される中空糸膜フィルタであって、

内部に長手方向に延びる一次流路を有する中空糸膜と、

複数本の中空糸膜を収容するハウジングとを有し、

中空糸膜の長さ L と、中空糸膜の内径 d はそれぞれ、

$L \leq 290 \text{ mm}$ 、 $d \geq 1 \text{ mm}$ であり、

かつ、両者の関係が、

$L/d \leq 290$

である、中空糸膜フィルタ。

<付記 1 4>

ハウジングの長さ方向に垂直な断面における 1 平方センチメートル当たりの中空糸膜の本数 N と、中空糸膜の外径 D との積 $N \times D$ が $5 \text{ 本} \cdot \text{cm} / \text{cm}^2$ 以上である、付記 1 3 に記載の中空糸膜フィルタ。

<付記 1 5>

中空糸膜フィルタの長さ方向に垂直な断面における一次流路の総断面積 S_1 と、ハウジングの断面積 S_h との関係が、

$S_1 / S_h \geq 0.28$

を満たす、付記 1 3 又は付記 1 4 に記載の中空糸膜フィルタ。

<付記 1 6>

中空糸膜の圧損係数 k が $5 \times 10^{13} / \text{m}^2$ 以上である、付記 1 3 から付記 1 5 のいずれか 1 つに記載の中空糸膜フィルタ。

<付記 1 7>

中空糸膜の外径 D と、内径 d との関係が、

$D/d \geq 1.1$

を満たす、付記 1 3 から付記 1 6 のいずれか 1 つに記載の中空糸膜フィルタ

。

<付記 18>

ハウジングに收容されている中空糸膜の本数 M 、ハウジングの内径 D_h 、及び中空糸膜の外径 D を用いた以下の式で表される水力半径 r_{eff} が 0.5 以下である、

$$r_{eff} = \pi (D_h^2 - M \cdot D^2) / 2 \pi (D_h + M \cdot D)$$

付記 13 から付記 17 のいずれか 1 つに記載の中空糸膜フィルタ。

<付記 19>

中空糸膜の一次流路の壁面の水の接触角が 75° 以下である、
付記 13 から付記 18 のいずれか 1 つに記載の中空糸膜フィルタ。

<付記 20>

培養液中で細胞を培養して産生物を得る産生物の製造方法に使用される産生物の製造装置であって、

培養液を收容する容量が 100 L 以上のタンクと、

中空糸膜フィルタであって、内部に長手方向に延びる一次流路を有する中空糸膜と、複数本の中空糸膜を收容するハウジングとを有し、中空糸膜の長さ L と、中空糸膜の内径 d はそれぞれ、

$$L \leq 290\text{ mm}, d \geq 1\text{ mm} \text{ であり、}$$

かつ、両者の関係が、

$$L / d \leq 290$$

である、中空糸膜フィルタと、

培養液を中空糸膜フィルタの一次流路に送液する第 1 ポンプと、

中空糸膜フィルタの一次流路に沿って培養液を送液させた場合に、中空糸膜フィルタの二次流路に透過する透過液を産生物回収部に送液する第 2 ポンプとを備えた、産生物の製造装置。

符号の説明

[0157] 10 : タンク

11 : 攪拌翼

20 : 中空糸膜フィルタ

2 0 a : 第 1 開口部
2 0 b : 第 2 開口部
2 0 c : 排出口
2 1 : ハウジング
2 2 : 中空糸膜
2 2 a : 多孔質膜
2 2 h : 孔
2 3 : 一次流路
2 4 : 二次流路
3 0 : 培養液
3 1 : 培地
3 2 : 細胞
3 3 : 産生物（抗体）
3 5 : 透過液
3 6 : 詰まり物質
4 0 : 産生物回収部
5 1 ～ 5 4 : 流路
6 1 ～ 6 3 : 圧力計
7 0 : プロセッサ
1 0 0 : 細胞培養装置
1 0 2 : 簡易実験系
1 1 0 : 容器
1 2 0 : 簡易フィルタ
1 2 0 A : 中空糸膜フィルタ
1 2 0 B : 中空糸膜フィルタ
1 2 0 a : 第 1 開口部
1 2 0 b : 第 2 開口部
1 2 0 c : 排出口

1 2 1 : チューブ

1 2 2 : 中空糸膜

1 2 3 : 一次流路

1 2 4 : 二次流路

1 3 0 : 濾過対象液

1 5 1 ~ 1 5 4 : 管路

1 6 1 ~ 1 6 3 : 圧力計

d : 中空糸膜の内径

D : 中空糸膜の外径

L : 中空糸膜の長さ (膜長)

P U 1、P U 1 1 : 第 1 ポンプ

P U 2、P U 1 2 : 第 2 ポンプ

P U 3、P U 1 3 : 第 3 ポンプ

請求の範囲

- [請求項1] 細胞を培養し産生物を得る産生物の製造方法であって、
容量が100L以上のタンクに収容された培養液中で前記細胞を培養する培養工程と、
内部に長手方向に延びる一次流路を有する中空糸膜と、複数本の前記中空糸膜を収容するハウジングとを有し、前記ハウジング内における各中空糸膜の外部の空間を二次流路とする中空糸膜フィルタを用い、前記タンクから供給された前記培養液を、前記一次流路に送液し、前記産生物を含む透過液を前記二次流路に透過させることにより、前記培養液中の前記細胞と前記産生物とを分離する分離工程とを含み、
前記分離工程において、前記培養液の送液時における前記一次流路の供給側と排出側の両端の圧力の差を ΔP [Pa]、前記培養液の粘度を μ [Pa・s]とした場合に、前記培養液の送液時の $\Delta P / \mu$ を 4.9×10^6 [1/s]以下とする、
産生物の製造方法。
- [請求項2] 前記中空糸膜の長さ L と、前記中空糸膜の内径 d との関係が $L / d \leq 290$
を満たす、請求項1に記載の産生物の製造方法。
- [請求項3] 前記中空糸膜フィルタの長さ方向に垂直な断面における前記一次流路の総断面積 S_1 と、前記ハウジングの断面積 S_h との関係が、 $S_1 / S_h \geq 0.28$
を満たす、請求項1に記載の産生物の製造方法。
- [請求項4] 前記中空糸膜の膜抵抗 r が $1250 \text{ psi} / \text{mL} / \text{min}$ 以上である、請求項1に記載の産生物の製造方法。
- [請求項5] 前記中空糸膜の前記一次流路と前記二次流路との間の圧損係数 k が $5 \times 10^{13} / \text{m}^2$ 以上である、請求項1に記載の産生物の製造方法。
- [請求項6] 前記中空糸膜の外径 D と、内径 d との関係が、 $D / d \geq 1.1$

を満たす、請求項1に記載の産生物の製造方法。

[請求項7] 前記中空糸膜の前記一次流路の壁面の表面粗さが $S_a = 8 \mu m$ 以下である、

請求項1に記載の産生物の製造方法。

[請求項8] 前記分離工程において、前記送液の方向を予め設定されたタイミングで逆転させる、請求項1から7のいずれか1項に記載の産生物の製造方法。

[請求項9] 前記産生物が抗体である、請求項1から7のいずれか1項に記載の産生物の製造方法。

[請求項10] 前記産生物を回収する工程と、
前記タンクに培地を供給する供給工程と、
を含む、灌流培養である、請求項1から7のいずれか1項に記載の産生物の製造方法。

[請求項11] 前記培養液の細胞密度が $3.0 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 以上である、請求項1から7のいずれか1項に記載の産生物の製造方法。

[請求項12] 前記産生物の力価が 1.0 g/L 以上である、請求項1から7のいずれか1項に記載の産生物の製造方法。

[請求項13] 容量が 100 L 以上のタンクに収容された培養液中で細胞を培養して産生物を得る産生物の製造方法に使用される中空糸膜フィルタであって、

内部に長手方向に延びる一次流路を有する中空糸膜と、
複数本の前記中空糸膜を収容するハウジングとを有し、
前記中空糸膜の長さ L と、前記中空糸膜の内径 d はそれぞれ、
 $L \leq 290 \text{ mm}$ 、 $d \geq 1 \text{ mm}$ であり、

かつ、両者の関係が、

$$L/d \leq 290$$

である、中空糸膜フィルタ。

[請求項14] 前記ハウジングの長さ方向に垂直な断面における 1 cm^2 以下の断面積を有する中空糸膜フィルタの製造方法。

トル当たりの前記中空糸膜の本数 N と、前記中空糸膜の外径 D との積 $N \times D$ が $5 \text{ 本} \cdot \text{cm} / \text{cm}^2$ 以上である、請求項13に記載の中空糸膜フィルタ。

[請求項15] 前記中空糸膜フィルタの長さ方向に垂直な断面における前記一次流路の総断面積 S_1 と、前記ハウジングの断面積 S_h との関係が、

$$S_1 / S_h \geq 0.28$$

を満たす、請求項13に記載の中空糸膜フィルタ。

[請求項16] 前記中空糸膜の圧損係数 k が $5 \times 10^{13} / \text{m}^2$ 以上である、請求項13に記載の中空糸膜フィルタ。

[請求項17] 前記中空糸膜の外径 D と、内径 d との関係が、

$$D / d \geq 1.1$$

を満たす、請求項13に記載の中空糸膜フィルタ。

[請求項18] 前記ハウジングに収容されている前記中空糸膜の本数 M 、前記ハウジングの内径 D_h 、及び前記中空糸膜の外径 D を用いた以下の式で表される水力半径 r_{eff} が 0.55 以下である、

$$r_{eff} = \pi (D_h^2 - M \cdot D^2) / 2 \pi (D_h + M \cdot D)$$

請求項13に記載の中空糸膜フィルタ。

[請求項19] 前記中空糸膜の前記一次流路の壁面の水の接触角が 75° 以下である、

請求項13に記載の中空糸膜フィルタ。

[請求項20] 培養液中で細胞を培養して産生物を得る産生物の製造方法に使用される産生物の製造装置であって、

前記培養液を収容する、容量が 100 L 以上のタンクと、

中空糸膜フィルタであって、内部に長手方向に延びる一次流路を有する中空糸膜と、複数本の前記中空糸膜を収容するハウジングとを有し、

前記中空糸膜の長さ L と、前記中空糸膜の内径 d はそれぞれ、

$$L \leq 290 \text{ mm}, d \geq 1 \text{ mm}$$
であり、

かつ、両者の関係が、

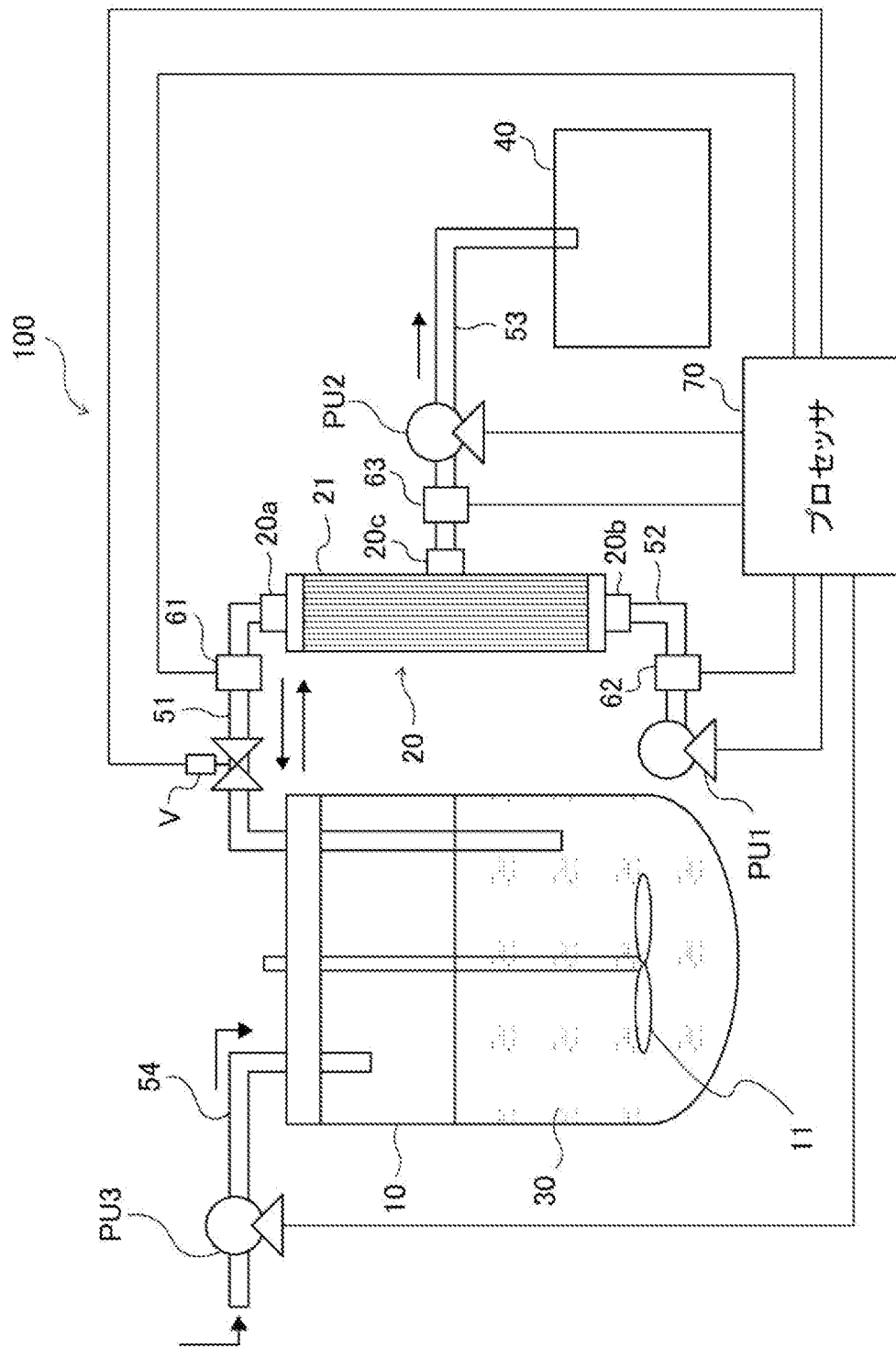
$$L/d \leq 290$$

である、中空糸膜フィルタと、

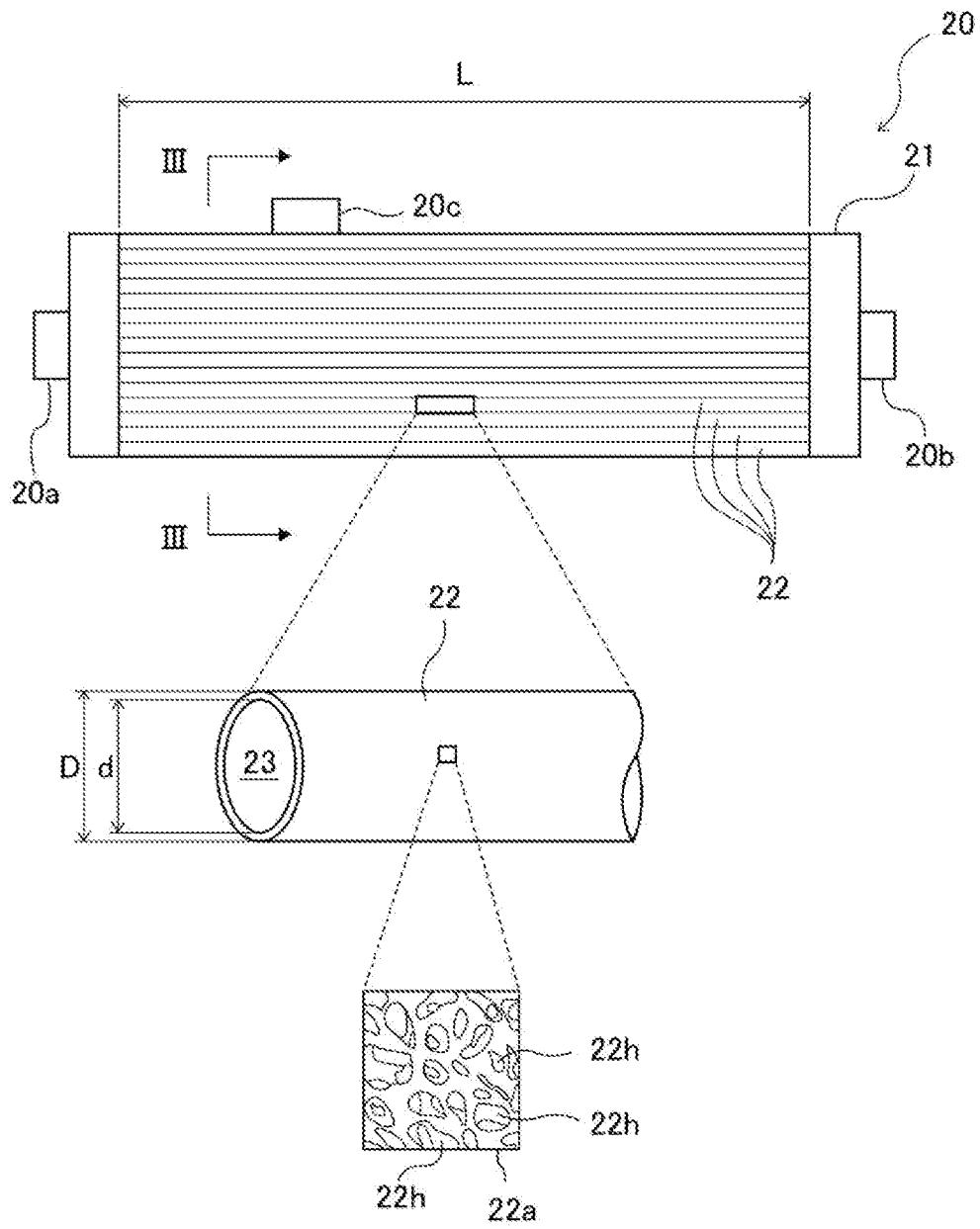
前記培養液を前記中空糸膜フィルタの前記一次流路に送液する第1ポンプと、

前記中空糸膜フィルタの前記一次流路に沿って前記培養液を送液させた場合に、前記中空糸膜フィルタの二次流路に透過する透過液を産生物回収部に送液する第2ポンプとを備えた、産生物の製造装置。

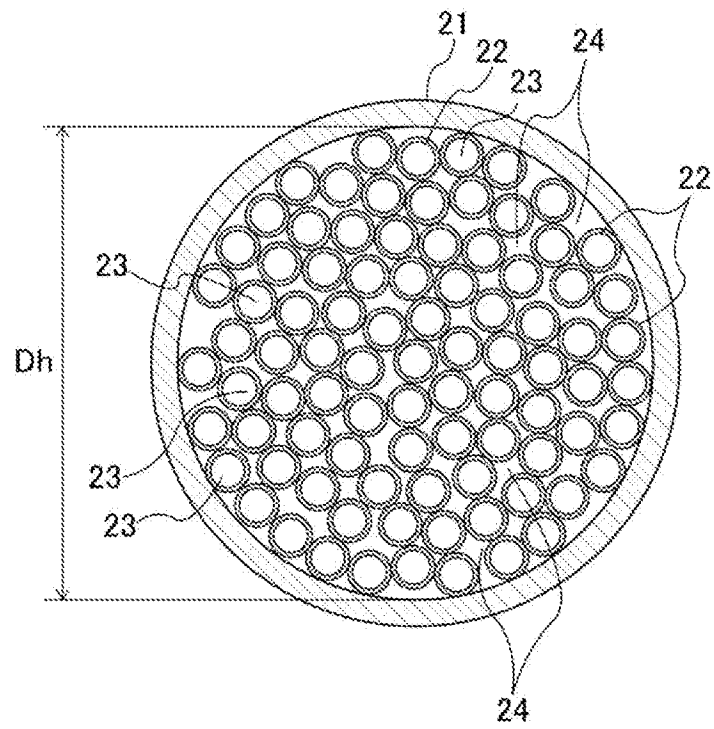
[図1]



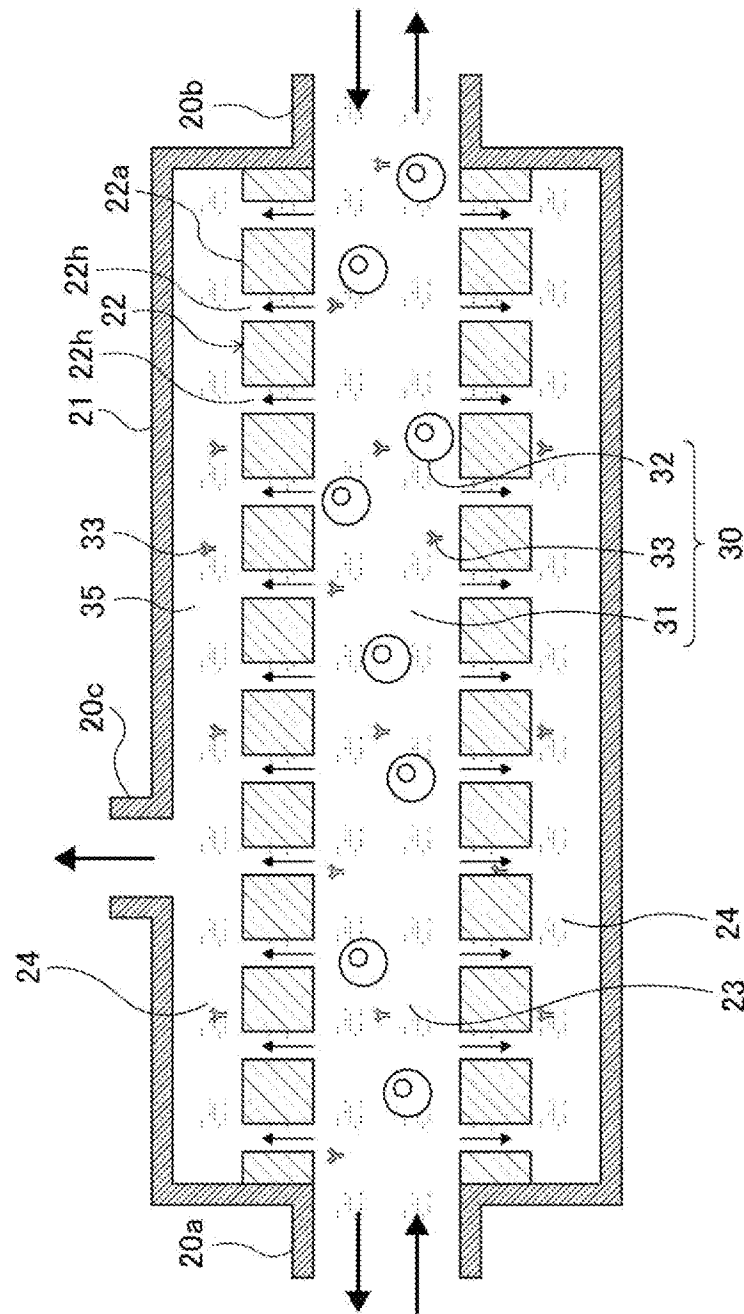
[図2]



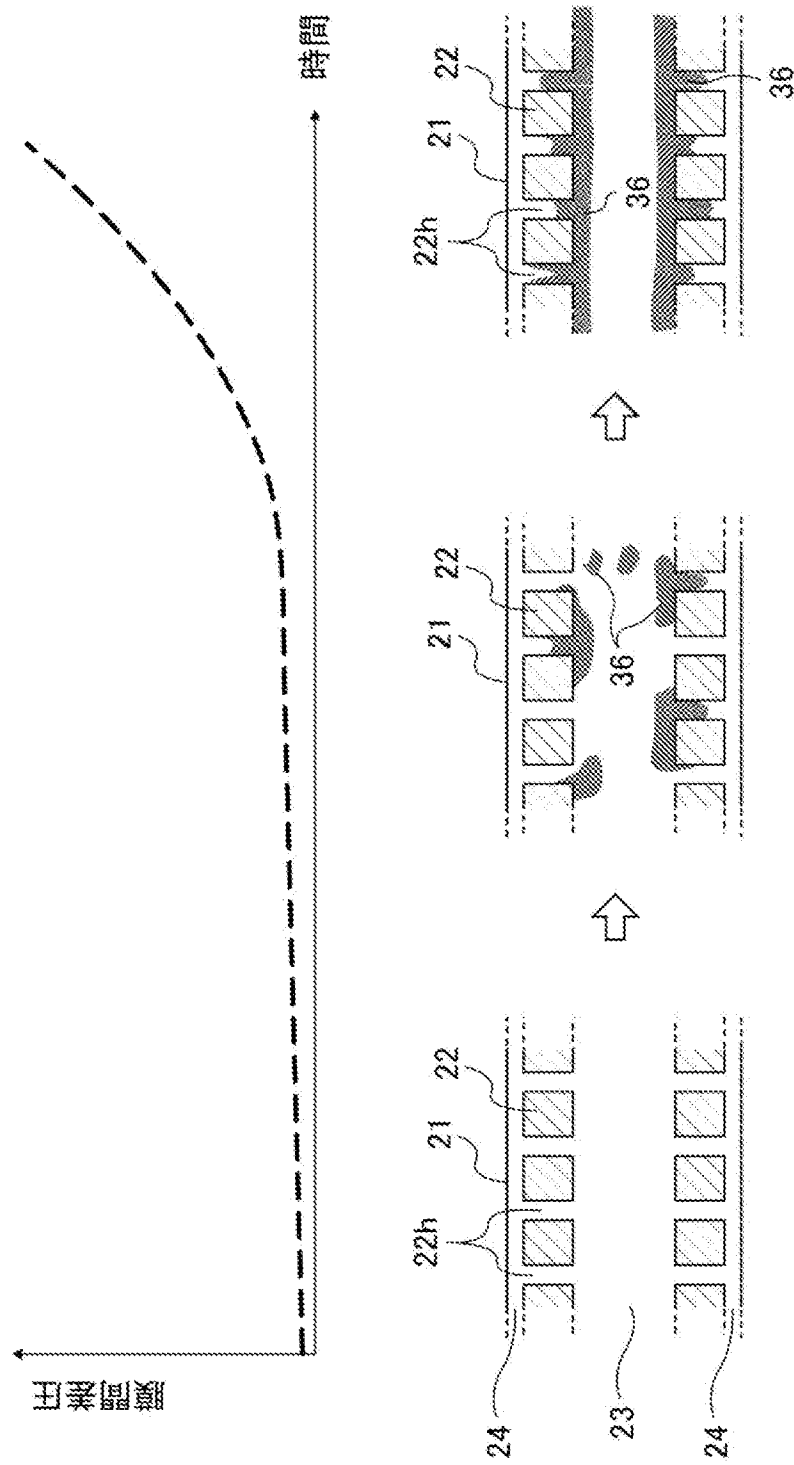
[図3]



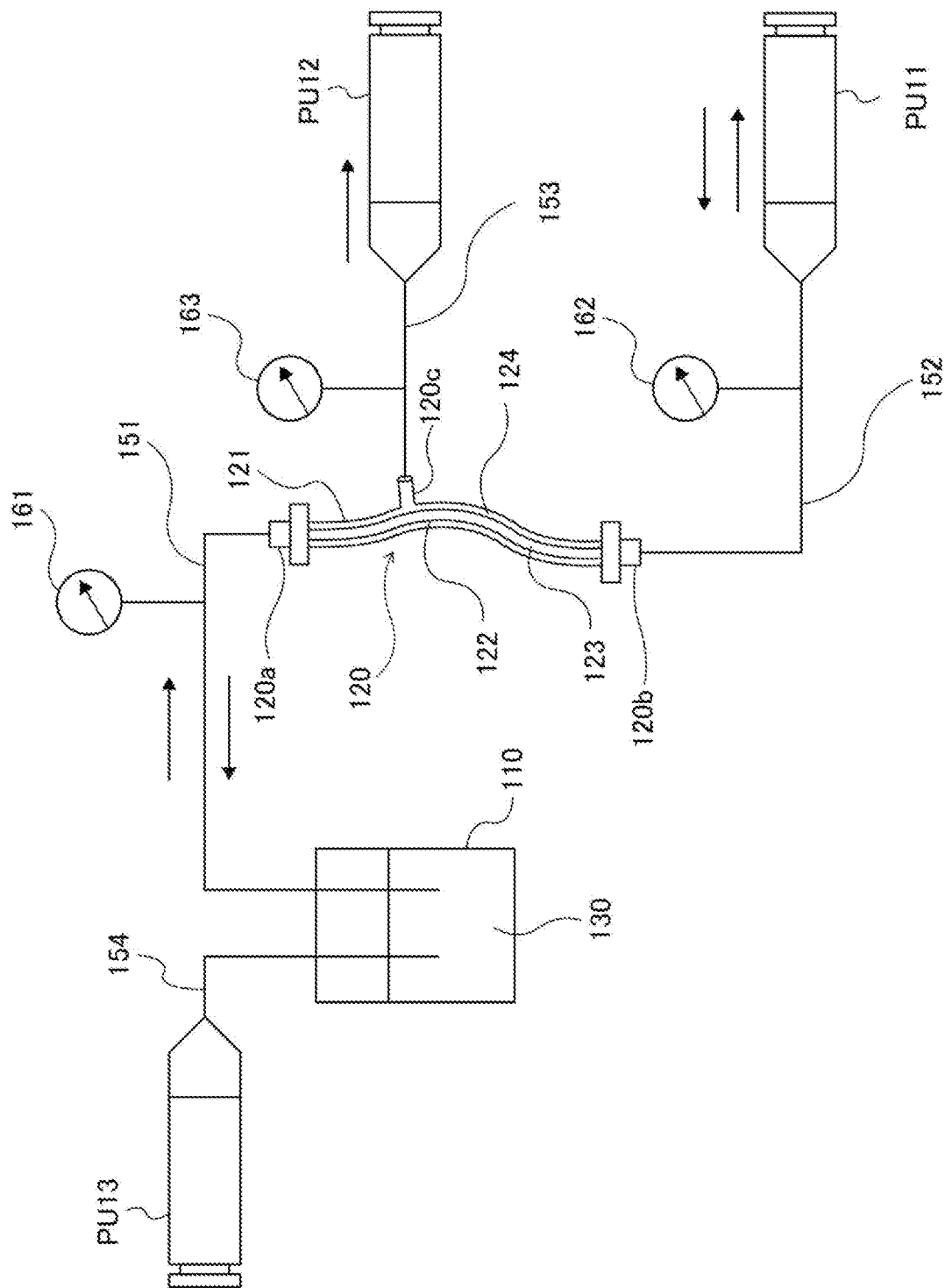
[図4]



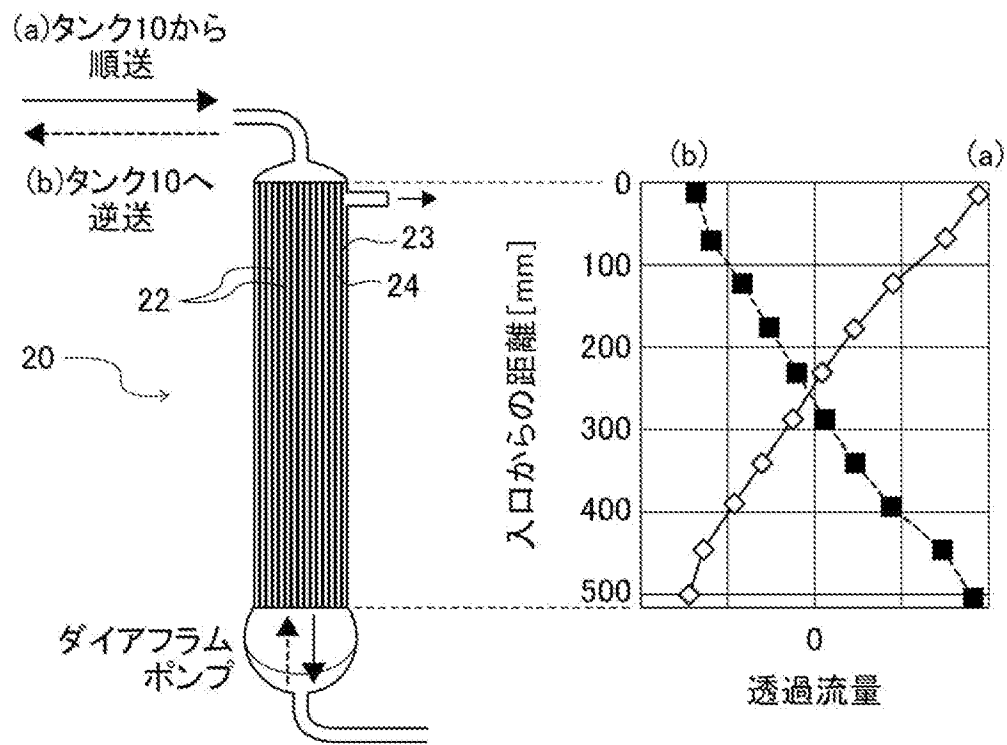
[図5]



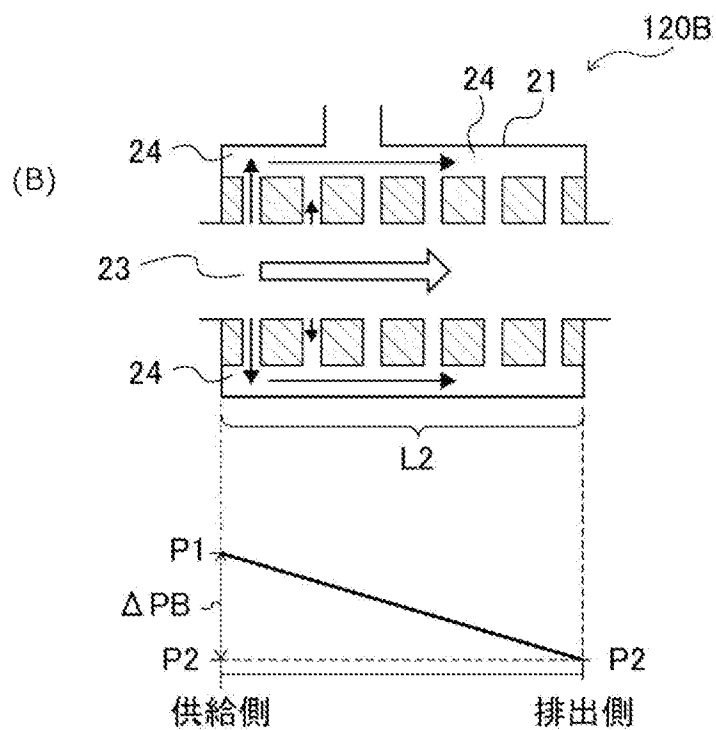
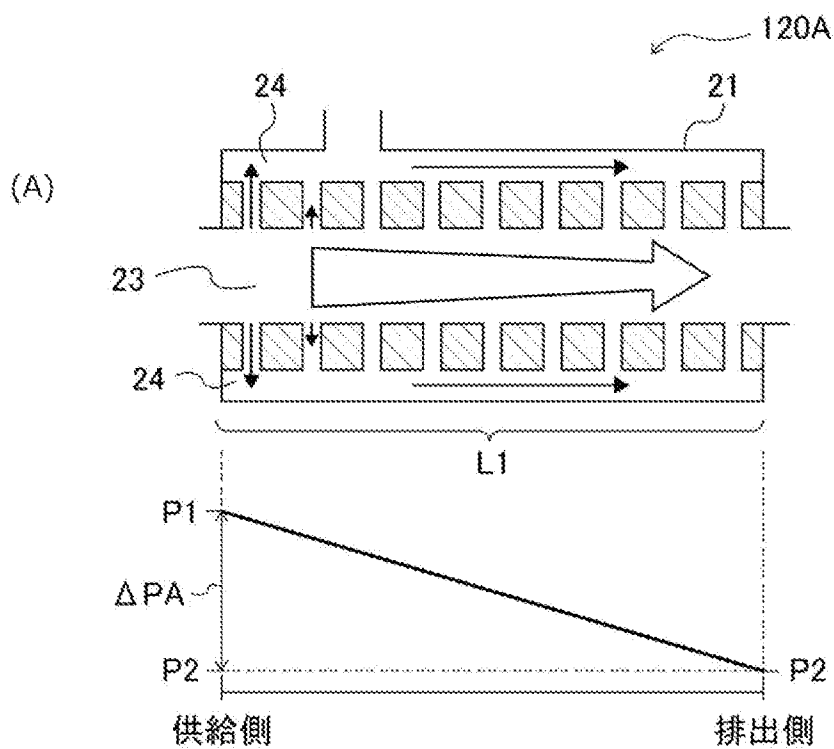
[図6]



[図7]



[図8]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/020228

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12P 1/00(2006.01)i; **B01D 63/02**(2006.01)i; **C12M 1/00**(2006.01)i; **C12M 3/06**(2006.01)i; **C12N 1/02**(2006.01)i;
C12P 21/08(2006.01)i
FI: C12P1/00 Z; C12M1/00 D; C12M3/06; C12P21/08; B01D63/02; C12N1/02

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)

C12P1/00; B01D63/02; C12M1/00; C12M3/06; C12N1/02; C12P21/08; B01D63/02

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

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2024
Registered utility model specifications of Japan 1996-2024
Published registered utility model applications of Japan 1994-2024

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2012/090863 A1 (TORAY INDUSTRIES, INC.) 05 July 2012 (2012-07-05) reference example 3	13-20
A	entire text	1-12
A	JP 2011-16116 A (ASAHI KASEI CHEMICALS CORPORATION) 27 January 2011 (2011-01-27) entire text	1-20
A	WO 2009/054226 A1 (ASAHI KASEI CHEMICALS CORPORATION) 30 April 2009 (2009-04-30) entire text	1-20
A	JP 2023-33334 A (TORAY INDUSTRIES, INC.) 10 March 2023 (2023-03-10) entire text	1-20
P, A	WO 2024/024337 A1 (DAICEL CORP.) 01 February 2024 (2024-02-01) entire text	1-20



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
“D” document cited by the applicant in the international application
“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

22 July 2024

Date of mailing of the international search report

06 August 2024

Name and mailing address of the ISA/JP

Japan Patent Office (ISA/JP)
3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915
Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/020228

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, A	WO 2024/106442 A1 (ASAHI KASEI MEDICAL CO., LTD.) 23 May 2024 (2024-05-23) entire text	1-20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2024/020228

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)
WO	2012/090863	A1	05 July 2012	US	2013/0280767	A1
				reference example 3		
				EP	2659957	A1
				CN	103282109	A
				KR	10-2014-0032949	A
				TW	201231153	A

JP	2011-16116	A	27 January 2011	(Family: none)		

WO	2009/054226	A1	30 April 2009	US	2010/0228010	A1
				entire text		
				US	2012/0322983	A1
				EP	2226331	A1
				EP	2719705	A1
				AU	2008315124	A
				KR	10-2010-0043243	A
				CA	2703086	A
				CN	101835791	A
				TW	200932330	A
				TW	201350183	A

JP	2023-33334	A	10 March 2023	US	2023/0256394	A1
				entire text		
				EP	4173698	A1
				CN	115996788	A

WO	2024/024337	A1	01 February 2024	(Family: none)		

WO	2024/106442	A1	23 May 2024	(Family: none)		

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

C12P 1/00(2006.01)i; B01D 63/02(2006.01)i; C12M 1/00(2006.01)i; C12M 3/06(2006.01)i;
C12N 1/02(2006.01)i; C12P 21/08(2006.01)i
FI: C12P1/00 Z; C12M1/00 D; C12M3/06; C12P21/08; B01D63/02; C12N1/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））

C12P1/00; B01D63/02; C12M1/00; C12M3/06; C12N1/02; C12P21/08; B01D63/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年
日本国公開実用新案公報 1971-2024年
日本国実用新案登録公報 1996-2024年
日本国登録実用新案公報 1994-2024年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	WO 2012/090863 A1（東レ株式会社）05.07.2012（2012-07-05） 参考例 3	13-20
A	全文	1-12
A	JP 2011-16116 A（旭化成ケミカルズ株式会社）27.01.2011（2011-01-27） 全文	1-20
A	WO 2009/054226 A1（旭化成ケミカルズ株式会社）30.04.2009（2009-04-30） 全文	1-20
A	JP 2023-33334 A（東レ株式会社）10.03.2023（2023-03-10） 全文	1-20
P, A	WO 2024/024337 A1（株式会社ダイセル）01.02.2024（2024-02-01） 全文	1-20
P, A	WO 2024/106442 A1（旭化成メディカル株式会社）23.05.2024（2024-05-23） 全文	1-20

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技术水準を示すもの

“D” 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献

“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）

“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献

“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日
22.07.2024

国際調査報告の発送日
06.08.2024

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

権限のある職員（特許庁審査官）

▲高▼ 美葉子 4N 9839

電話番号 03-3581-1101 内線 3891

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2024/020228

引用文献			公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO	2012/090863	A1	05.07.2012	US 2013/0280767 A1 参考例 3 EP 2659957 A1 CN 103282109 A KR 10-2014-0032949 A TW 201231153 A	
JP	2011-16116	A	27.01.2011	(ファミリーなし)	
WO	2009/054226	A1	30.04.2009	US 2010/0228010 A1 全文 US 2012/0322983 A1 EP 2226331 A1 EP 2719705 A1 AU 2008315124 A KR 10-2010-0043243 A CA 2703086 A CN 101835791 A TW 200932330 A TW 201350183 A	
JP	2023-33334	A	10.03.2023	US 2023/0256394 A1 全文 EP 4173698 A1 CN 115996788 A	
WO	2024/024337	A1	01.02.2024	(ファミリーなし)	
WO	2024/106442	A1	23.05.2024	(ファミリーなし)	