

(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
2015 年 10 月 1 日(01.10.2015)



(10) 国際公開番号
WO 2015/146404 A1

- (51) 国際特許分類:
C12M 1/00 (2006.01) C12N 1/02 (2006.01)
C12M 3/00 (2006.01) C12N 5/078 (2010.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2015/054915
- (22) 国際出願日: 2015 年 2 月 23 日(23.02.2015)
- (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 2014-060980 2014 年 3 月 24 日(24.03.2014) JP
- (71) 出願人: 東レエンジニアリング株式会社(TORAY ENGINEERING CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1030021 東京都中央区日本橋本石町三丁目 3 番 1 6 号 (日本橋室町ビル) Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 津田 雄一郎(TSUDA, Yuichiro); 〒5200842 滋賀県大津市園山 1 丁目 1 番 1 号 東レエンジニアリング株式会社内 Shiga (JP). 元井 昌司(MOTOI, Masashi); 〒5200842 滋賀県大津市園山 1 丁目 1 番 1 号 東レエンジニアリング株式会社内 Shiga (JP). 寺田 豊治(TERADA, Toyoharu); 〒5202141 滋賀県大津市大江一丁目 1 番 4 5 号 東レエンジニアリング株式会社内 Shiga (JP). 野上 義生(NOGAMI, Yoshio); 〒5202141 滋賀県大津市大江一丁目 1 番 4 5 号 東レエンジニ

アリング株式会社内 Shiga (JP). 柴田 和正(SHIBATA, Kazuma); 〒5200842 滋賀県大津市園山 1 丁目 1 番 1 号 東レエンジニアリング株式会社内 Shiga (JP).

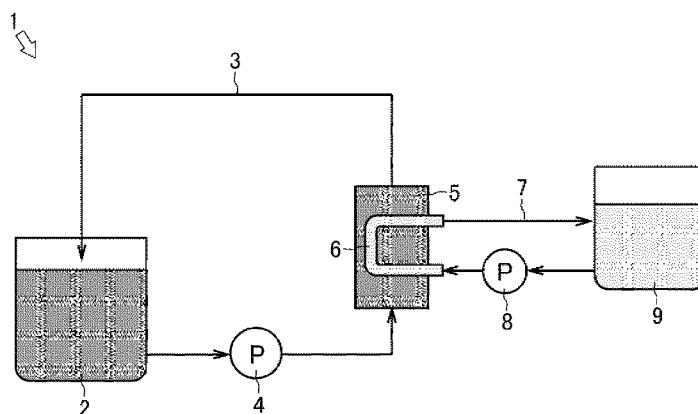
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, 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, UZ, VC, VN, 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, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, 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, 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).

[続葉有]

(54) Title: PLATELET PRODUCTION DEVICE AND PLATELET PRODUCTION METHOD

(54) 発明の名称: 血小板産生装置および血小板産生方法



(57) Abstract: Provided are a platelet production device and a platelet production method, whereby platelets can be efficiently produced. Specifically speaking, the platelet production device comprises: a platelet production chamber (5) that is a container storing a megakaryocyte-containing liquid; a feed pump (4) that is a feeding means feeding a liquid culture medium, said liquid culture medium being the megakaryocyte-containing liquid, to the platelet production chamber (5); a retention member (6) that is a retaining means provided in a part of the platelet production chamber (5) for retaining megakaryocytes; and a recovery pump (8) that is an external force-applying means applying an external force, said external force being generated by the flow of the recovered liquid, to the megakaryocytes retained by the retention member (6) and thus allowing the megakaryocytes to produce platelets.

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2015/146404 A1

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

効率よく血小板を産生することができる血小板産生装置および血小板産生方法を提供する。具体的には、巨核球が含まれる液体を貯留する容器である血小板産生室 5 と、血小板産生室 5 に巨核球が含まれる液体である培養液を供給する供給手段である供給ポンプ 4 と、血小板産生室 5 の一部にもうけられ、巨核球を保持する保持手段である保持部材 6 と、保持部材 6 により保持された巨核球に回収液の流れによる外力を加えて血小板を産生させる外力付与手段である回収ポンプ 8 と、を具備する。

明 細 書

発明の名称：血小板産生装置および血小板産生方法

技術分野

[0001] 本発明は、血小板産生装置および血小板産生方法に関する。詳しくは、i P S細胞から誘導された巨核球から血小板を産生させる装置および方法に関する。

背景技術

[0002] 従来、血小板は、比重の差を利用して分離する遠心分離法によって血液から分離されている。例えば特許文献1の如くである。特許文献1に記載の遠心分離機は、血液が流入された遠心分離機の遠心ボウルが高速回転することで、遠心ボウルの外縁部に形成されている貯血空間内において各血液細胞の比重毎に、血漿層、バフィーコート層および赤血球層に分離される。そして、バフィーコート層から血小板を遠心分離によって分離させる。

[0003] 一方、i P S細胞から誘導された巨核球から血小板を産生させる場合、血小板の産生後に血小板を産生せずに残留した有核細胞である巨核球を除去する必要がある。しかし、巨核球と血小板とは比重が近いため、遠心分離法によって巨核球と血小板とを分離するためには、大きな遠心加速度を付加する必要がある。このため、遠心分離法によって巨核球と血小板とが分離できても、大きな遠心加速度により破壊される血小板の割合が増大して血小板の回収率が低下する問題があった。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特開平9－108594号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 本発明の目的は、効率よく血小板を産生することができる血小板産生装置および血小板産生方法を提供することである。

課題を解決するための手段

- [0006] 本発明の解決しようとする課題は以上の如くであり、次にこの課題を解決するための手段を説明する。
- [0007] 即ち、本発明は、巨核球が含まれる液体を貯留する容器と、容器に巨核球が含まれる液体を供給する供給手段と、容器の一部にもうけられ、巨核球を保持する保持手段と、前記保持手段により保持された巨核球に外力を加えて血小板を産生させる外力付与手段と、を具備するものである。
- [0008] 本発明は、前記保持手段に前記血小板が通過できて前記巨核球が通過できない大きさの開口部が形成され、開口部の一側に巨核球の一部がはまり込むことで巨核球を保持するものである。
- [0009] 本発明は、前記外力付与手段が前記開口部の他側から流体の流れにより前記巨核球に外力を加えるものである。
- [0010] 本発明は、前記外力付与手段が前記開口部の一側と他側との間に圧力差を生じさせることにより前記巨核球に外力を加えるものである。
- [0011] 本発明は、前記外力付与手段が巨核球に帯電している電荷と異なる電荷を前記開口部の他側に生じさせることにより前記巨核球に外力を加えるものである。
- [0012] 本発明は、巨核球を保持し、外部から巨核球に力を加えて、巨核球から血小板を産生させるものである。

発明の効果

- [0013] 本発明の効果として、以下に示すような効果を奏する。
- [0014] 本発明においては、巨核球を保持した状態で血小板が産生されるので巨核球と血小板とを分離する工程が省かれる。これにより、効率よく血小板を産生することができる。
- [0015] 本発明においては、巨核球に加わる力が任意の値に設定されるとともに、保持手段の開口部の他側から血小板が産生される。これにより、効率よく血小板を産生することができる。

図面の簡単な説明

[0016] [図1]本発明の第一実施形態に係る血小板産生装置の全体構成を示す概略図。

[図2] (a) 本発明の第一実施形態に係る血小板産生装置における血小板産生室の構成を示す概念図 (b) 同じく孔が形成されている保持部材を示す部分拡大図 (c) 同じくスリットが形成されている保持部材を示す部分拡大図。

[図3] (a) 本発明の第一実施形態に係る血小板産生装置において巨核球が保持部材に接触した状態を示す模式図 (b) 同じく巨核球が保持部材の開口部に入り込んだ状態を示す模式図 (c) 同じく巨核球が血小板を産生している状態を示す模式図。

[図4]本発明の第二実施形態に係る血小板産生装置の全体構成を示す概略図。

[図5] (a) 本発明の第二実施形態に係る血小板産生装置における血小板産生室の構成を示す概念図 (b) 同じく巨核球が血小板を産生している状態を示す模式図。

[図6]本発明の第三実施形態に係る血小板産生装置の全体構成を示す概略図。

[図7] (a) 本発明の第三実施形態に係る血小板産生装置における血小板産生室の構成を示す概念図 (b) 同じく巨核球が血小板を産生している状態を示す模式図。

[図8]本発明の第四実施形態に係る血小板産生装置の全体構成を示す概略図。

[図9]本発明の第五実施形態に係る血小板産生装置の全体構成を示す概略図。

[図10]本発明の第六実施形態に係る血小板産生装置の全体構成を示す概略図。

[図11]本発明に係る血小板産生装置を含む血小板産生システムの全体構成を示す概略図。

発明を実施するための形態

[0017] まず、図1と図2とを用いて、本発明に係る血小板産生装置の第一実施形態である血小板産生装置1について説明する。なお、以下の各実施形態において、血小板産生装置を構成する各部材は、特に記載がない限り、非反応性ポリマー、生物親和性金属、ガラス等のうち用途や強度から適切な材料によって構成されている。具体的には、非反応性ポリマーとしては、アクリロニ

トリルブタジエンスチレンターポリマー等のアクリロニトリルポリマー、ポリ塩化ビニル等のハロゲン化ポリマー、ポリアミド、ポリイミドポリカーボネート、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン等である。また、生物親和性金属としては、ステンレス鋼、チタン、白金およびこれらの合金、コバルトクロミウム合金等である。

[0018] 図1に示すように、血小板産生装置1は、巨核球から血小板を産生し回収するものである。血小板産生装置1は、巨核球が含まれる液体と血小板が含まれる液体とを共に循環させながら血小板を産生する両循環方式として構成されている。血小板産生装置1は、貯留タンク2、循環流路3、供給ポンプ4、血小板産生室5、保持部材6、回収流路7、回収ポンプ8および回収タンク9を具備している。

[0019] 貯留タンク2は、成熟した巨核球と成熟した巨核球の一部から産生された血小板とが含まれる液体（以下、単に「培養液」と記す）を保持するものである。貯留タンク2は、外部から培養液を供給可能に構成されている。具体的には、貯留タンク2は、後述の培養装置23等に接続され、培養装置23等で製造された培養液が供給されるように構成されている。

[0020] 循環流路3は、培養液を循環させるための流路である。循環流路3は、非反応性ポリマー、生物親和性金属、ガラス等からなる管から構成されている。循環流路3は、供給ポンプ4を介して貯留タンク2と血小板産生室5とを接続するように構成されている。また、循環流路3は、血小板産生室5と貯留タンク2とを接続するように構成されている。すなわち、貯留タンク2内の培養液は、供給ポンプ4によって循環流路3を通じて血小板産生室5に供給されるように構成されている。そして、血小板産生室5に供給された培養液は、循環流路3を通じて再び貯留タンク2に戻されるように構成されている。

[0021] 供給手段である供給ポンプ4は、貯留タンク2内の培養液を循環流路3に供給するものである。供給ポンプ4は、例えばローラーポンプまたは連続シリンジポンプから構成されるがこれに限定するものではない。供給ポンプ4

は、循環流路3の途中部に設けられている。これにより、供給ポンプ4は、貯留タンク2内の培養液を循環流路3に供給することで培養液を貯留タンク2と血小板産生室5との間で循環させるように構成されている。供給ポンプ4は、任意の流量で培養液を循環流路3に供給できるように構成されている。なお、本実施形態において、血小板産生装置1は、供給ポンプ4によって培養液を供給する構成としたがこれに限定されるものではない。

[0022] 容器である血小板産生室5は、巨核球から血小板を産生させる空間を構成するものである。血小板産生室5は、非反応性ポリマーまたは生物親和性金属等から形成される容器である。血小板産生室5は、循環流路3の途中部に設けられている。つまり、血小板産生室5は、循環流路3を通じて貯留タンク2から培養液が供給されるとともに、血小板産生室5内の培養液が貯留タンク2に戻されるように構成されている。

[0023] 保持手段である保持部材6は、巨核球を保持するものである。保持部材6は、非反応性ポリマーまたは生物親和性金属等からなる薄板（もしくはフィルター）の一側面から他側面に連通するように複数の開口部6aが形成されている（図2参照）。保持部材6は、血小板産生室5にその空間の一部を仕切るように設けられている。つまり、保持部材6の一側面は、血小板産生室5の内部に配置され、培養液に含まれている巨核球が開口部6aに接触するように構成されている。また、保持部材6の他側面は、血小板産生室5の内部における回収流路7の一部を構成している。

[0024] 具体的には、図2（a）に示すように、保持部材6は、薄板等を中空の管状に形成して構成されている。保持部材6は、一側面である管の外側と他側面である管の内側とを連通するように開口部6aが形成されている。開口部6aは、例えば、図2（b）に示す孔である場合における直径D1、または図2（c）に示すスリットである場合におけるスリットの幅D2が血小板の通過できる大きさ（3 μ mから4 μ m以上）、かつ巨核球の一部がはまり込んで開口部6aの一側に保持される大きさに構成されている。なお、iPS細胞から誘導される巨核球の大きさは、その培養過程により変化する。し

たがって、そのときの巨核球の大きさに基づいて、孔の直径 D_1 やスリットの幅 D_2 を決定することが望ましい。保持部材6は、血小板産生室5に配置され、その両方の端部に回収流路7が接続されている。

[0025] なお、本実施形態において、保持部材6の断面形状は、円形に限定されるものではなく、例えば、矩形や楕円の断面形状に形成してもよい。また、血小板産生室5に設けられる保持部材6の大きさや数は、血小板産生室5内における培養液の流れを阻害しない程度であれば特に限定されるものではない。例えば、開口部6aで保持する巨核球の数を増やすために、保持部材6の管の大きさをできるだけ大きくしたり複数の保持部材6を血小板産生室5に設けたりして保持部材6の表面積を増大させてもよい。

[0026] 図1と図2とに示すように、回収流路7は、培養液に含まれる血小板と巨核球からすでに産生された血小板とを回収するための液体（以下、単に「回収液」と記す）が流れる流路である。回収流路7は、保持部材6の一方（入口側）の端部と回収タンク9とを接続するように構成されている。また、回収流路7は、保持部材6の他方（出口側）の端部と回収タンク9とを接続するように構成されている。

[0027] 外力付与手段である回収ポンプ8は、回収タンク9内の回収液を回収流路7に供給するものである。供給ポンプ4は、例えばローラーポンプまたは連続シリンジポンプから構成されるがこれに限定するものではない。回収ポンプ8は、保持部材6の一方（入口側）の端部と回収タンク9とを接続する回収流路7の途中部に設けられている。これにより、回収ポンプ8は、回収タンク9内の回収液を回収流路7に供給することで保持部材6と回収タンク9との間で回収液を循環させるように構成されている。回収ポンプ8は、任意の流量で回収液を回収流路7に供給できるように構成されている。なお、本実施形態において、回収ポンプ8によって回収液を供給する構成としたがこれに限定されるものではない。

[0028] このように構成される両循環方式の血小板産生装置1は、貯留タンク2内の培養液が供給ポンプ4によって循環流路3を通じて血小板産生室5に供給

されるように構成されている（図2（a）太矢印参照）。さらに、血小板産生装置1は、血小板産生室5に供給された培養液が循環流路3を通じて貯留タンク2に排出されるように構成されている。すなわち、血小板産生装置1は、貯留タンク2と血小板産生室5との間で培養液が循環するように構成されている。また、血小板産生装置1は、回収タンク9内の回収液が回収ポンプ8によって回収流路7を通じて保持部材6の内部に供給されるように構成されている。さらに、血小板産生装置1は、保持部材6の内部に供給された回収液が回収流路7を通じて回収タンク9に排出されるように構成されている。すなわち、血小板産生装置1は、回収タンク9と保持部材6との間で回収液が循環するように構成されている（図2（a）白塗り矢印参照）。

[0029] 次に、図1と図3とを用いて、血小板産生装置1における血小板産生方法の態様について具体的に説明する。なお、以下の各実施形態において、保持部材6の開口部6aは孔状に形成されているものとして説明する。

[0030] 図1に示すように、血小板産生装置1は、供給ポンプ4によって、貯留タンク2内の培養液を循環流路3に供給する。これにより、培養液に含まれる巨核球と巨核球からすでに産生された血小板とが循環流路3を通じて血小板産生室5に供給される。

[0031] 図3（a）に示すように、培養液とともに血小板産生室5に供給された巨核球は、一部の巨核球Aが保持部材6に接触する。図3（b）に示すように、保持部材6に接触した巨核球Aは、保持部材6に設けられている開口部6aの一側にその一部分がはまり込んで保持部材6に保持される。巨核球の粒径は、開口部6aの直径D1（図2（b）参照）よりも大きいので開口部6aを通過することができない。一方、培養液とともに血小板産生室5に供給された血小板は、一部の血小板が保持部材6の開口部6aに入り込む。血小板の粒径は、開口部6aの直径D1よりも小さいので開口部6aを通過することができる。すなわち、保持部材6に接触した一部の巨核球Aと血小板とのうち、血小板のみが開口部6aから保持部材6の内部に入り込む。

[0032] 培養液に含まれる巨核球のうち、保持部材6に接触しなかった巨核球や保

持部材 6 に接触したが開口部 6 a にはまり込まなかった巨核球 B は、培養液とともに血小板産生室 5 から排出されて貯留タンク 2 内に戻される。同様に、培養液に含まれる血小板のうち、開口部 6 a を通過して保持部材 6 の内部に入り込まなかった血小板は、培養液とともに血小板産生室 5 から排出されて貯留タンク 2 内に戻される。貯留タンク 2 に戻された巨核球と血小板とは、供給ポンプ 4 で他の巨核球と血小板とともに再び循環流路 3 を通じて血小板産生室 5 に供給される。

[0033] 図 3 (b) に示すように、保持部材 6 に保持されている巨核球 A には、開口部 6 a にはまり込んでいる部分に外力付与手段である回収ポンプ 8 によって回収流路 7 内を循環している回収液からその流れ方向に押す力が加わる（図 3 細矢印参照）。この際、血小板産生室 5 内の培養液は常に流れが発生しているので、培養液中の他の巨核球が堆積することによって巨核球 A が保持部材 6 に押し付けられることがない。つまり、保持されている巨核球 A には、回収ポンプ 8 が供給する回収液の流れによる力のみが加わっている。従って、血小板産生装置 1 は、回収ポンプ 8 の流量を制御することで巨核球 A に加わる力を制御することができる。回収液の流れ方向に押された巨核球 A には、回収液の流れによる力が加わっている箇所や開口部 6 a との接触部分にせん断応力が生じる。

[0034] 図 3 (c) に示すように、巨核球 A は、回収液の流れによってせん断応力が発生している箇所を起点として巨核球 A を形成している細胞質の一部分がせん断される。つまり、巨核球 A は、回収液の流れによる力によってその細胞質の一部分が分離して血小板 C が産生される。産生された血小板は、回収液中に混入して回収液とともに回収流路 7 を通じて回収タンク 9 に搬送される。

[0035] 保持部材 6 に保持されている巨核球は、回収液の流れによる力が加わっている間、血小板の産生が続けられる。保持部材 6 から離間した巨核球は、血小板の産生を停止し、培養液とともに血小板産生室 5 から排出されて貯留タンク 2 内に戻される。また、血小板産生室 5 内において他の保持部材 6 に再

び保持された巨核球は、血小板の産生を再開する。血小板産生室 5 から排出されて貯留タンク 2 に戻された巨核球と血小板とは、供給ポンプ 4 で他の巨核球と血小板とともに再び循環流路 3 を通じて血小板産生室 5 に供給される。

[0036] このように構成することで、血小板産生装置 1 は、保持部材 6 に保持されている巨核球に回収液の流れによる力を加えることで血小板を産生させる。さらに、血小板産生装置 1 は、産生された血小板のみが回収液に混入して回収されるので巨核球と血小板とを分離する工程が省かれる。また、血小板産生装置 1 は、回収ポンプ 8 の流量を制御することによって血小板の産生に適切な力が巨核球に加わるように設定される。これにより、血小板産生装置 1 は、効率よく血小板を産生することができる。

[0037] 以下では、図 4 と図 5 とを用いて、本発明に係る血小板産生装置の第二実施形態における血小板産生装置 10 について説明する。なお、以下の実施形態において、既に説明した実施形態と同様の点に関してはその具体的説明を省略し、相違する部分を中心に説明する。

[0038] 図 4 に示すように、血小板産生装置 10 は、巨核球が含まれる液体を循環させながら吸引（圧力差）により血小板を産生する循環吸引方式として構成されている。血小板産生装置 10 は、貯留タンク 2、循環流路 3、供給ポンプ 4、血小板産生室 5、保持部材 11、回収流路 7、吸引ポンプ 12 および回収タンク 9 を具備している。

[0039] 血小板産生装置 10 の培養液を循環させる構成は、前述の第一実施形態にかかる血小板産生装置 1 の構成と同一である。

[0040] 図 4 と図 5（a）とに示すように、保持手段である保持部材 11 は、一方の端部を閉塞させた中空の管状に形成されている。保持部材 11 は、一側面である管の外側と他側面である管の内側とを連通するように開口部 11a が形成されている。保持部材 11 は、血小板産生室 5 に配置される。また、保持部材 11 は、その他方の端部が回収流路 7 を介して回収タンク 9 に接続されている。なお、本実施形態において、貯留タンク 2 内に設けられる保持部

材 1 1 の大きさや数は、特に限定されるものではない。例えば、開口部 1 1 a で保持する巨核球の数を増やすために、保持部材 1 1 の管の大きさをできるだけ大きくしたり複数の保持部材 1 1 を血小板産生室 5 に設けたりして保持部材 1 1 の表面積を増大させてもよい。

[0041] 外力付与手段である吸引ポンプ 1 2 は、回収流路 7 内の圧力を循環流路 3 の圧力よりも低くするものである。吸引ポンプ 1 2 は、例えばローラーポンプまたは連続シリンジポンプから構成されるがこれに限定するものではない。吸引ポンプ 1 2 は、保持部材 1 1 と回収タンク 9 とを接続する回収流路 7 の途中部に設けられている。これにより、吸引ポンプ 1 2 は、回収流路 7 の内部を吸引することで、回収流路 7 に接続されている保持部材 1 1 の内部の圧力を低下させることができる（図 5（a）白塗り矢印参照）。すなわち、血小板産生装置 1 0 は、保持部材 1 1 の内部の圧力と保持部材 1 1 の外部である血小板産生室 5 の圧力とに圧力差を生じさせるように構成されている。吸引ポンプ 1 2 は、その流量を変更することによって回収流路 7 の圧力を任意の圧力に設定することができる。

[0042] このように構成される循環吸引方式の血小板産生装置 1 0 は、貯留タンク 2 と血小板産生室 5 との間で培養液が循環するように構成されている。また、血小板産生装置 1 0 は、吸引ポンプ 1 2 によって保持部材 1 1 の内部の圧力と保持部材 1 1 の外部である血小板産生室 5 の圧力との間に圧力差が生じるように構成されている。

[0043] 次に、図 4 と図 5 とを用いて、血小板産生装置 1 0 における血小板産生方法の態様について具体的に説明する。

[0044] 図 5（a）に示すように、培養液とともに血小板産生室 5 に供給された巨核球と巨核球からすでに産生された血小板とは（太矢印参照）、一部の巨核球と血小板とが保持部材 1 1 に設けられている開口部 1 1 a の一側にその一部分がはまり込んで保持部材 1 1 に保持される。また、図 5（b）に示すように、保持部材 1 1 は、血小板産生室 5 の内部の圧力と回収流路 7 の内部の圧力との圧力差により、開口部 1 1 a に血小板産生室 5 内の培養液を回収流

路 7 内に吸引する力が生じる（細矢印参照）。開口部 1 1 a に生じている吸引力が及ぶ範囲にある巨核球および血小板は、開口部 1 1 a に向かって吸い寄せられる。開口部 1 1 a に吸い寄せられた一部の巨核球 A は、開口部 1 1 a の一側にその一部分がはまり込んで保持部材 1 1 に保持される。開口部 1 1 a に吸い寄せられた一部の血小板は、開口部 1 1 a から保持部材 1 1 の内部に入り込む。

[0045] 保持部材 1 1 に保持されている巨核球 A には、外力付与手段である吸引ポンプ 1 2 によって生じた血小板産生室 5 と回収流路 7 との圧力差により回収流路 7 内に引き込まれる方向の力が加わる。すなわち、巨核球は、保持部材 1 1 の内部に引き込まれる力によって保持部材 1 1 に押し付けられている。この際、巨核球 A には、血小板産生室 5 の内部の圧力と回収流路 7 の内部の圧力との圧力差による力（吸引力）のみが加わっている。従って、血小板産生装置 1 0 は、吸引ポンプ 1 2 の流量を制御することで巨核球に加わる力を制御することができる。保持部材 1 1 の内部に引き込まれた巨核球 A には、吸引力が加わっている箇所や保持部材 1 1 の開口部 1 1 a との接触部分にせん断応力が生じる。巨核球は、吸引力によってその細胞質の一部が分離して血小板 C が産生される。

[0046] このように構成することで、血小板産生装置 1 0 は、保持部材 1 1 に保持されている巨核球に血小板産生室 5 の内部の圧力と回収流路 7 の内部の圧力との圧力差による力を加えることで血小板を産生させる。さらに、血小板産生装置 1 0 は、産生された血小板のみが保持部材 1 1 の開口部 1 1 a を通じて回収液に混入するので巨核球と血小板とを分離する工程が省かれる。また、血小板産生装置 1 0 は、吸引ポンプ 1 2 の流量を制御することによって血小板の産生に適切な力が巨核球に加わるように設定される。これにより、血小板産生装置 1 0 は、効率よく血小板を産生することができる。

[0047] 以下では、図 6 と図 7 とを用いて、本発明に係る血小板産生装置の第三実施形態における血小板産生装置 1 3 について説明する。

[0048] 図 6 に示すように、血小板産生装置 1 3 は、巨核球が含まれる液体を循環

させながら電荷間に発生するクーロン力により血小板を産生する循環電荷方式として構成されている。血小板産生装置 13 は、貯留タンク 2、循環流路 3、供給ポンプ 4、血小板産生室 5、保持部材 14、回収タンク 15 および電荷発生装置 16 を具備している。

[0049] 血小板産生装置 13 の培養液を循環させる構成は、前述の第一実施形態にかかる血小板産生装置 1 の構成と同一である。

[0050] 図 6 と図 7 (a) とに示すように、保持手段である保持部材 14 は、板状に形成されている。保持部材 14 は、一側面と他側面とを連通するように開口部 14 a が形成されている。保持部材 14 は、血小板産生室 5 にその空間を仕切るように設けられている。すなわち、保持部材 14 の一側面は、血小板産生室 5 の内部に配置されて培養液に含まれている巨核球が保持部材 14 の開口部 14 a (一側) に接触するように構成されている。また、保持部材 14 の他側面は、血小板産生室 5 の内部における回収流路 7 の一部を構成している。

[0051] 具体的には、保持部材 14 は、血小板産生室 5 の底部に配置されて、その一側面が血小板産生室 5 の底面を構成している。なお、本実施形態において、血小板産生室 5 内に設けられる保持部材 14 の設置態様は、特に限定されるものではない。例えば、血小板産生室 5 の左右方向の途中部に配置され、血小板産生室 5 を左右に分割してもよい。また、開口部 14 a で保持する巨核球の数を増やすために、複数の保持部材 14 によって血小板産生室 5 を複数の空間に分割するように構成して保持部材 14 の表面積を増大させてもよい。

[0052] 回収タンク 15 は、産生された血小板を回収するものである。回収タンク 15 は、血小板産生室 5 の下方に配置され、血小板産生室 5 の底部を覆うように接続されている。すなわち、回収タンク 15 の上面は、保持部材 14 の他側面から構成されている。これにより、回収タンク 15 は、保持部材 14 を介して血小板産生室 5 に接続されている。さらに、回収タンク 15 は、保持部材 14 の開口部 14 a を介して血小板産生室 5 に連通されている。

[0053] 外力付与手段である電荷発生装置 16 は、プラスの電荷を発生させるものである。電荷発生装置 16 は、電極 16a が回収タンク 15 内の保持部材 14 の近傍に配置されて、保持部材 14 の他側面近傍にプラスの電荷を発生させるように構成されている。電荷発生装置 16 は、任意の量のプラスの電荷を発生できるように構成されている。

[0054] このように構成される循環電荷方式の血小板産生装置 13 は、貯留タンク 2 と血小板産生室 5 との間で培養液が循環するように構成されている。また、血小板産生装置 13 は、電荷発生装置 16 によってプラスの電荷を発生させることでマイナスの電荷を帯電している巨核球との間にクーロン力が生じるように構成されている。

[0055] 次に、図 7 (b) を用いて、血小板産生装置 13 における血小板産生方法の態様について具体的に説明する。

[0056] 図 7 (b) に示すように、培養液とともに血小板産生室 5 に供給された巨核球と巨核球からすでに産生された血小板とは、一部の巨核球 A と血小板とが保持部材 14 に設けられている開口部 14a の一側にその一部分がはまり込んで保持部材 14 に保持される。一方、培養液とともに血小板産生室 5 に供給された血小板は、一部の血小板が保持部材 14 の開口部 14a に入り込む。

[0057] 巨核球は、常にマイナスの電荷を帯びている。つまり、保持部材 14 に保持されている巨核球 A には、外力付与手段である電荷発生装置 16 によって回収タンク 15 内で発生されたプラスの電荷との間で生じるクーロン力により回収タンク 15 内に引き込まれる方向の力が加わる（細矢印参照）。すなわち、巨核球 A は、回収タンク 15 内に引き込まれる力によって保持部材 14 に押し付けられている。この際、巨核球には、クーロン力により回収タンク 15 内に引き込まれる方向の力のみが加わっている。従って、血小板産生装置 13 は、電荷発生装置 16 の電荷発生量を制御することで巨核球に加わる力を制御することができる。巨核球は、クーロン力が加わっている箇所や保持部材 14 の開口部 14a との接触部分にせん断応力が生じる。

[0058] 回収タンク 15 に引き込まれた巨核球には、クーロン力によってせん断力が発生している箇所を起点として巨核球を形成している細胞質の一部がせん断される。巨核球は、クーロン力によってその細胞質の一部が分離して血小板 C が産生される。産生された血小板 C は、回収タンク 15 内の回収液中に混入して巨核球と分離された状態で回収される。

[0059] このように構成することで、血小板産生装置 13 は、保持部材 14 に保持されている巨核球に回収タンク 15 内に引き込まれる方向のクーロン力を加えることで血小板を産生させる。さらに、血小板産生装置 13 は、産生された血小板のみが保持部材 14 の開口部 14 a を通じて回収されるので巨核球と血小板とを分離する工程が省かれる。また、血小板産生装置 13 は、電荷発生装置 16 の電荷発生量を制御することによって血小板の産生に適切な力が巨核球に加わるように設定される。これにより、血小板産生装置 13 は、効率よく血小板を産生することができる。

[0060] 以下では、図 8 を用いて、本発明に係る血小板産生装置の第四実施形態における血小板産生装置 17 について説明する。

[0061] 図 8 に示すように、血小板産生装置 17 は、巨核球が含まれる液体を拡販させながら回収液を循環させて血小板を産生する攪拌循環方式として構成されている。血小板産生装置 17 は、貯留タンク 2、供給流路 18、供給ポンプ 4、血小板産生室 19、保持部材 6、回収流路 7、回収ポンプ 8 および回収タンク 9 を具備している。

[0062] 供給流路 18 は、培養液を供給するための流路である。供給流路 18 は、非反応性ポリマー、生物親和性金属、ガラス等からなる配管から構成されている。供給流路 18 は、供給ポンプ 4 を介して貯留タンク 2 と血小板産生室 19 とを接続するように構成されている。すなわち、貯留タンク 2 内の培養液は、供給流路 18 の途中部に設けられている供給ポンプ 4 によって供給流路 18 を通じて血小板産生室 19 に供給されるように構成されている。

[0063] 血小板産生室 19 は、巨核球から血小板を産生させる空間を構成するものである。血小板産生室 19 は、非反応性ポリマーまたは生物親和性金属等か

ら形成される容器である。血小板産生室 19 は、供給流路 18 を通じて貯留タンク 2 に接続されている。つまり、血小板産生室 19 は、供給流路 18 を通じて貯留タンク 2 から培養液が供給されるように構成されている。血小板産生室 19 には、供給された培養液を攪拌するための攪拌装置 19 a が設けられている。

[0064] このように構成される攪拌循環方式の血小板産生装置 17 は、貯留タンク 2 内の培養液が供給ポンプ 4 によって供給流路 18 を通じて血小板産生室 19 に供給されるように構成されている。さらに、血小板産生装置 17 は、血小板産生室 19 内の培養液を攪拌装置 19 a によって攪拌できるように構成されている。また、血小板産生装置 17 は、回収タンク 9 内の回収液が回収ポンプ 8 によって回収流路 7 を通じて保持部材 6 の内部に供給されるように構成されている。さらに、血小板産生装置 1 は、保持部材 6 の内部に供給された回収液が回収流路 7 を通じて回収タンク 9 に排出されるように構成されている。すなわち、血小板産生装置 17 は、回収タンク 9 と保持部材 6 との間で回収液が循環するように構成されている。

[0065] 次に、図 3 と図 8 とを用いて、血小板産生装置 17 における血小板産生方法の態様について具体的に説明する。

[0066] 図 3 と図 8 に示すように、第一実施形態における血小板産生方法の態様と同様に、培養液とともに血小板産生室 19 に供給された巨核球と巨核球からすでに産生された血小板とは、血小板産生室 19 において一部の巨核球と血小板とが保持部材 6 に接触する。保持部材 6 に接触した一部の巨核球は、保持部材 6 に設けられている開口部 6 a の一側にその一部分がはまり込んで保持部材 6 に保持される。保持されている巨核球には、回収ポンプ 8 が供給する回収液の流れによる力が加わっている。回収液の流れ方向に押された巨核球には、回収液の流れによる力が加わっている箇所や保持部材 6 の開口部 6 a との接触部分にせん断応力が生じる。巨核球は、回収液の流れによる力によってその細胞質の一部分が分離して血小板が産生される。

[0067] 培養液に含まれる巨核球のうち、保持部材 6 に接触しなかった巨核球や保

持部材 6 に接触したが開口部 6 a にはまり込まなかった巨核球は、血小板產生室 1 9 の攪拌装置 1 9 a によって攪拌されている培養液の流れにより保持部材 6 に接触する方向に移動される（細矢印参照）。

[0068] このように構成することで、血小板產生装置 1 7 は、保持部材 6 に保持されている巨核球に回収液の流れによる力を加えることで血小板を產生させる。さらに、血小板產生装置 1 7 は、產生された血小板のみが回収液に混入して回収されるので巨核球と血小板とを分離する工程が省かれる。また、血小板產生装置 1 7 は、回収ポンプ 8 の流量を変更することで巨核球に加わる力が血小板の產生に適切な値になるように設定される。これにより、血小板產生装置 1 7 は、効率よく血小板を產生することができる。

[0069] 以下では、図 9 を用いて、本発明に係る血小板產生装置の第五実施形態における血小板產生装置 2 0 について説明する。

[0070] 図 9 に示すように、血小板產生装置 2 0 は、前述の第二実施形態にかかる血小板產生装置 1 0 の培養液を供給ポンプ 4 で循環させる構成を攪拌装置 1 9 a で攪拌させる構成とし、吸引（圧力差）により血小板を產生させる攪拌吸引方式として構成されている。攪拌吸引方式の血小板產生装置 2 0 は、貯留タンク 2、供給流路 1 8、供給ポンプ 4、血小板產生室 1 9、保持部材 1 1、回収流路 7、吸引ポンプ 1 2 および回収タンク 9 を具備している。

[0071] 血小板產生装置 2 0 の血小板產生室 1 9 において培養液を攪拌させる構成は、前述の第四実施形態における血小板產生装置 1 7 の構成と同一である。

[0072] 血小板產生装置 2 0 の保持部材 1 1 に保持された巨核球に吸引（圧力差）による力を加える構成は、前述の第二実施形態における血小板產生装置 1 0 の構成と同一である。

[0073] このように構成される攪拌吸引方式の血小板產生装置 2 0 は、貯留タンク 2 内の培養液が供給ポンプ 4 によって供給流路 1 8 を通じて血小板產生室 1 9 に供給されるように構成されている。さらに、血小板產生装置 2 0 は、血小板產生室 1 9 内の培養液を攪拌装置 1 9 a で攪拌できるように構成されている。また、血小板產生装置 2 0 は、吸引ポンプ 1 2 によって保持部材 1 1

の内部の圧力と保持部材 11 の外部である血小板産生室 19 の内部の圧力との間に圧力差が生じるように構成されている。

[0074] このように構成することで、血小板産生装置 20 は、保持部材 11 に保持されている巨核球に血小板産生室 19 と回収流路 7 との圧力差による力を加えることで血小板を産生させる。さらに、血小板産生装置 20 は、産生された血小板のみが保持部材 11 の開口部 11a を通じて回収されるので巨核球と血小板とを分離する工程が省かれる。また、血小板産生装置 20 は、吸引ポンプ 12 の流量を制御することによって血小板の産生に適切な力が巨核球に加わるように設定される。これにより、血小板産生装置 20 は、効率よく血小板を産生することができる。

[0075] 以下では、図 10 を用いて、本発明に係る血小板産生装置の第六実施形態における血小板産生装置 21 について説明する。

[0076] 図 10 に示すように、血小板産生装置 21 は、前述の第三実施形態にかかる血小板産生装置 13 の培養液を供給ポンプ 4 で循環させる構成を攪拌装置 19a で攪拌させる構成とし、電荷間に発生するクーロン力により血小板を産生する攪拌電荷方式として構成されている。攪拌電荷方式の血小板産生装置 21 は、貯留タンク 2、供給流路 18、供給ポンプ 4、血小板産生室 19、保持部材 14、回収タンク 15 および電荷発生装置 16 を具備している。

[0077] 血小板産生装置 21 の血小板産生室 19 において培養液を攪拌させる構成は、前述の第四実施形態における血小板産生装置 17 の構成と同一である。

[0078] 血小板産生装置 21 の保持部材 11 に保持された巨核球に帯電した電荷を利用してクーロン力を加える構成は、前述の第三実施形態における血小板産生装置 13 の構成と同一である。

[0079] このように構成される攪拌吸引方式の血小板産生装置 21 は、貯留タンク 2 内の培養液が供給ポンプ 4 によって供給流路 18 を通じて血小板産生室 19 に供給されるように構成されている。さらに、血小板産生装置 21 は、血小板産生室 19 内の培養液を攪拌装置 19a によって攪拌できるように構成されている。また、血小板産生装置 21 は、電荷発生装置 16 によってプラ

スの電荷を発生させることでマイナスの電荷を帯電している巨核球との間にクーロン力が生じるように構成されている。

[0080] このように構成することで、血小板産生装置 21 は、保持部材 14 に保持されている巨核球に回収タンク 15 内に引き込まれる方向のクーロン力を加えることで血小板を産生させる。さらに、血小板産生装置 21 は、産生された血小板のみが保持部材 14 の開口部 11a を通じて回収されるので巨核球と血小板とを分離する工程が省かれる。また、血小板産生装置 21 は、電荷発生装置 16 の電荷発生量を制御することによって血小板の産生に適切な力が巨核球に加わるように設定される。これにより、血小板産生装置 21 は、効率よく血小板を産生することができる。

[0081] なお、前述の第一実施形態から第六実施形態に係る血小板産生装置において、血小板の産生時に血小板と合わせて回収される培養液の不足分を補うため、血小板産生装置 1 と血小板産生装置 10 とにおける血小板産生室 5 と回収タンク 9 との間、血小板産生装置 13 における血小板産生室 5 と回収タンク 15 との間、血小板産生装置 17 と血小板産生装置 20 とにおける血小板産生室 19 と回収タンク 9 との間、および血小板産生装置 21 における血小板産生室 19 と回収タンク 15 との間で回収液を循環させる構成や生理食塩水等を所定のタイミングで貯留タンク 2 や血小板産生室 5・19 に供給する構成としてもよい。

[0082] また、前述の第一実施形態から第六実施形態における巨核球に力を加える態様を組み合わせることで複数の力を巨核球に加えてもよい。例えば、前述の第一実施形態から第三実施形態に係る血小板産生装置 1、血小板産生装置 10 および血小板産生装置 13 において、供給ポンプ 4 を外力付与手段として、循環流路 3 に供給されている培養液の流れによって巨核球に力を加えてもよい。血小板産生装置 1、血小板産生装置 10 および血小板産生装置 13 は、更に供給ポンプ 4 の流量を制御することによって血小板の産生に適切な力が巨核球に加わるように設定される。これにより、血小板産生装置 10 は、効率よく血小板を産生することができる。

[0083] また、前述の第一実施形態に係る血小板産生装置 1 と第四実施形態に係る血小板産生装置 17 との回収流路 7 の構成において、回収ポンプ 8 を保持部材 6 の下流側に設けるとともに、保持部材 6 の上流側の回収流路 7 に絞り設けることで保持部材 11 の内部の圧力を低下させて、保持部材 11 の内部の圧力と血小板産生室 10 の内部の圧力とに圧力差を生じさせてもよい。これにより、保持部材 6 に保持されている巨核球には、開口部 6a にはまり込んでいる部分に回収流路 7 内を流れている回収液からその流れ方向に押す力が加わるとともに、血小板産生室 5 または血小板産生室 19 と回収流路 7 との圧力差による回収流路 7 内に引き込まれる方向の力が加わる。この際、巨核球には、回収ポンプ 8 が供給する回収液の流れによる力と吸引ポンプ 12 の吸引力とが加わっている。従って、血小板産生装置 21 は、供給ポンプ 4 と吸引ポンプ 12 との流量を制御することで巨核球に加わる力を制御することができる。

[0084] 加えて、巨核球に帯電しているマイナスの電荷と電荷発生装置 16 によって発生されたプラスの電荷との間で生じるクーロン力により保持部材 6 の内部に引き込まれる方向の力を生じさせてもよい。従って、血小板産生装置 21 は、供給ポンプ 4 と回収ポンプ 8 との流量および電荷発生装置 16 の電荷発生量を制御することで巨核球に加わる力を制御することができる。

[0085] また、第一実施形態から第六実施形態における保持部材 6、保持部材 11 および保持部材 14 は、有核細胞である巨核球の捕捉能が高い有核細胞捕捉材によって形成して巨核球を保持する構成でもよい。捕捉材として、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、アクリル樹脂、ナイロン、ポリエステル、ポリカーボネート、ポリアクリルアミド、ポリウレタン等の合成高分子、アガロース、セルロース、酢酸セルロース、キチン、キトサン、アルギン酸塩等の天然高分子、ハイドロキシアパタイト、ガラス、アルミナ、チタニア等の無機材料、ステンレス、チタン、アルミニウム等の金属があげられる。また、これらの捕捉材はこのままでも用いることができるが、血小板通過性を高める、あるいは細胞の選択的捕捉を行う等の必要に応じ、表面

改質を施したものでよい。例えば、血小板通過性を高めるにはWO 87 / 0 5 8 1 2 公報で提案されている非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基を有するポリマーのコートによる方法等があげられる。

[0086] 図 1 1 に示すように、前述の第一実施形態から第六実施形態にかかる血小板産生装置は、i P S 細胞から誘導された巨核球前駆細胞を所定の条件で培養し、成熟した巨核球を製造する培養装置 2 3、培養液中の巨核球量を検出するための液中パーティクルカウンター等から構成される検出装置 2 4、回収液から巨核球の核やDNAを除去するごみ分離装置 2 5 および回収した血小板を濃縮する濃縮装置 2 6 を具備する血小板産生システム 2 2 として構成してもよい。このように構成することで、i P S 細胞から誘導された巨核球前駆細胞から血小板製剤を連続的に製造することができる。

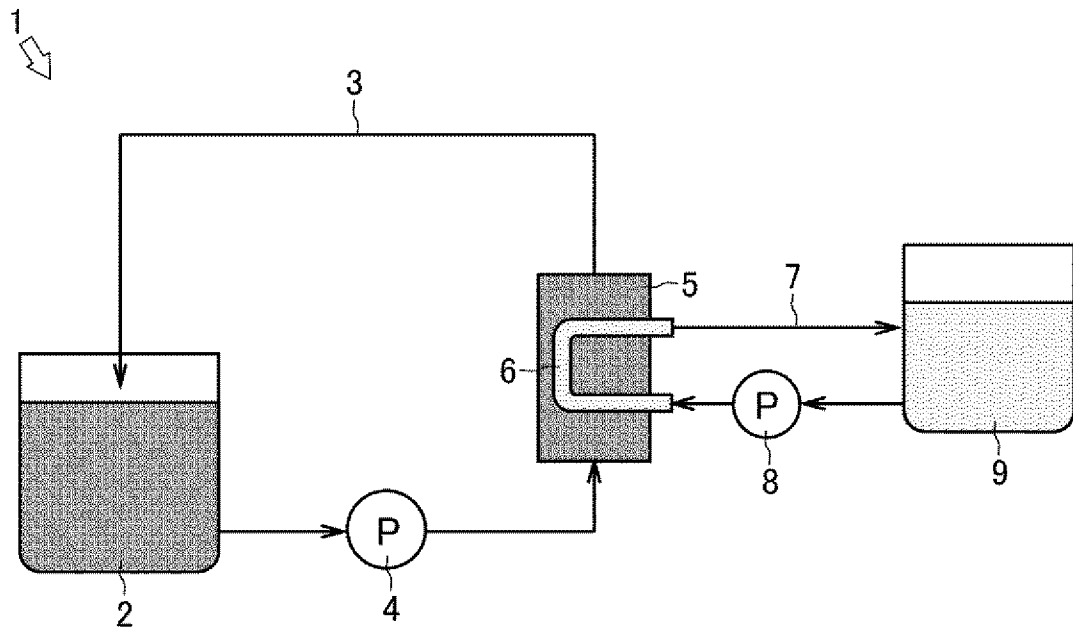
符号の説明

[0087] 1 血小板産生装置
 4 供給ポンプ
 5 血小板産生室
 6 保持部材
 8 回収ポンプ

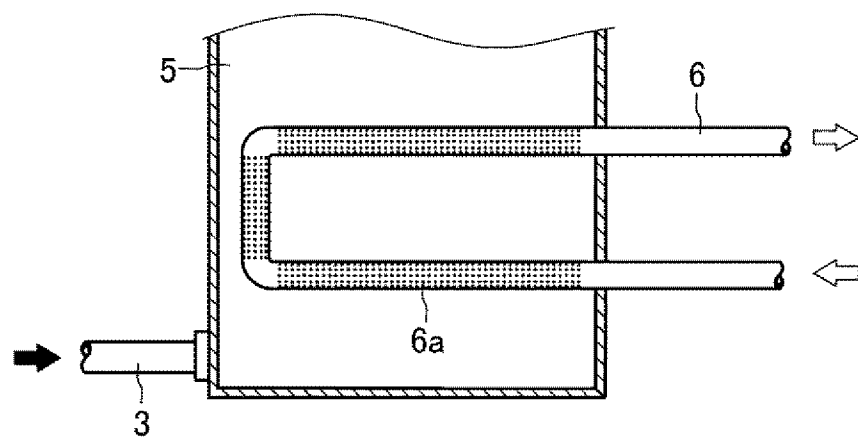
請求の範囲

- [請求項1] 巨核球が含まれる液体を貯留する容器と、
容器に巨核球が含まれる液体を供給する供給手段と、
容器の一部にもうけられ、巨核球を保持する保持手段と、
前記保持手段により保持された巨核球に外力を加えて血小板を產生させる外力付与手段と、を具備する血小板產生装置。
- [請求項2] 前記保持手段に前記血小板が通過できて前記巨核球が通過できない大きさの開口部が形成され、開口部の一側に巨核球の一部分がはまり込むことで巨核球を保持する請求項1に記載の血小板產生装置。
- [請求項3] 前記外力付与手段が前記開口部の他側から流体の流れにより前記巨核球に外力を加える請求項1または請求項2に記載の血小板產生装置。
- [請求項4] 前記外力付与手段が前記開口部の一側と他側との間に圧力差を生じさせることにより前記巨核球に外力を加える請求項1から請求項3のいずれか一項に記載の血小板產生装置。
- [請求項5] 前記外力付与手段が巨核球に帯電している電荷と異なる電荷を前記開口部の他側に生じさせることにより前記巨核球に外力を加える請求項1から請求項4のいずれか一項に記載の血小板產生装置。
- [請求項6] 巨核球を保持し、外部から巨核球に力を加えて、巨核球から血小板を產生させる血小板產生方法。

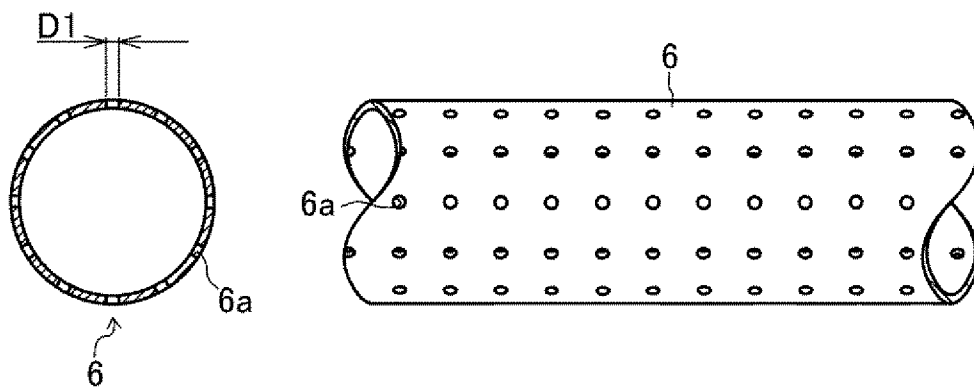
[図1]



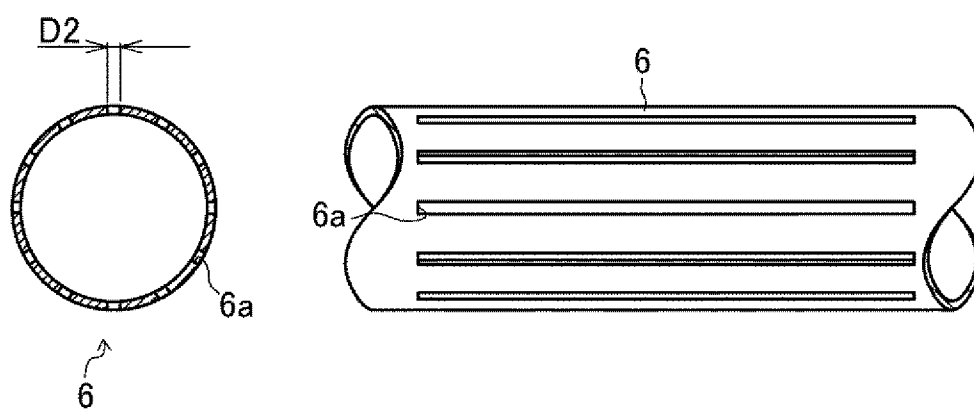
[図2]



(a)

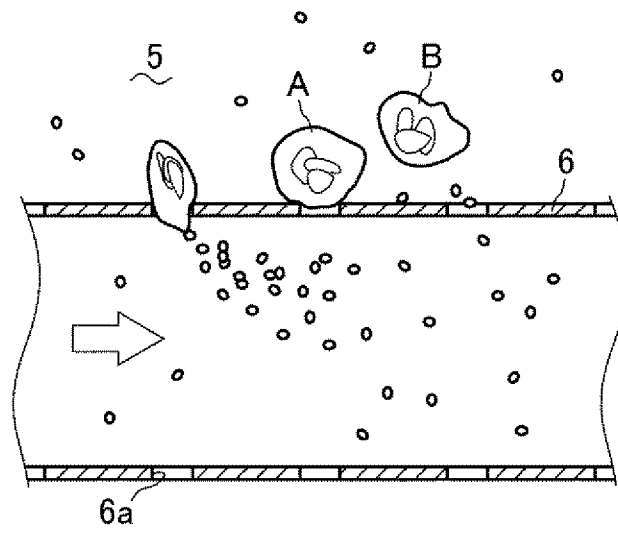


(b)

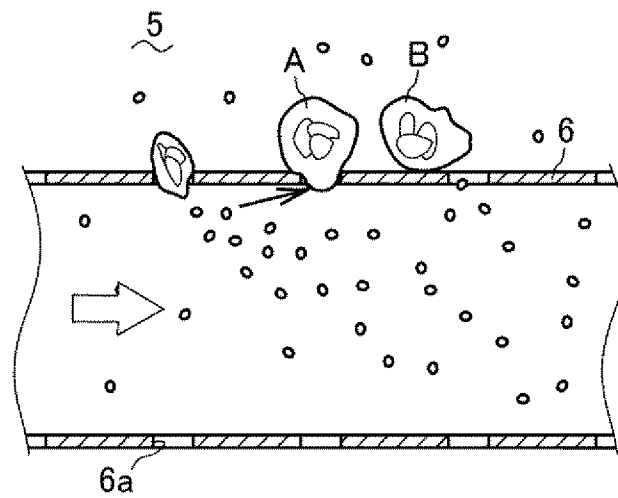


(c)

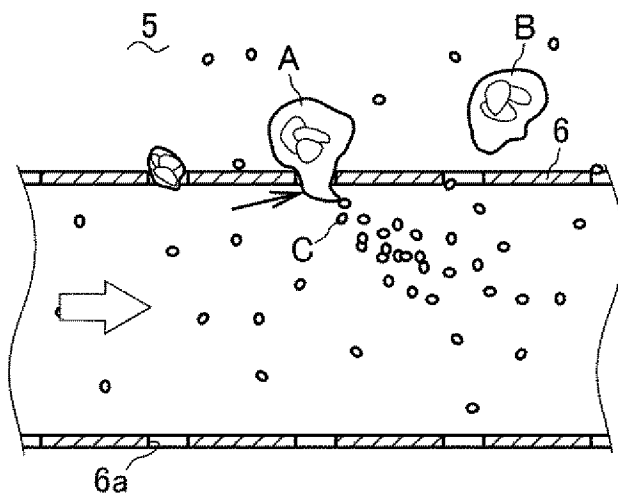
[図3]



(a)

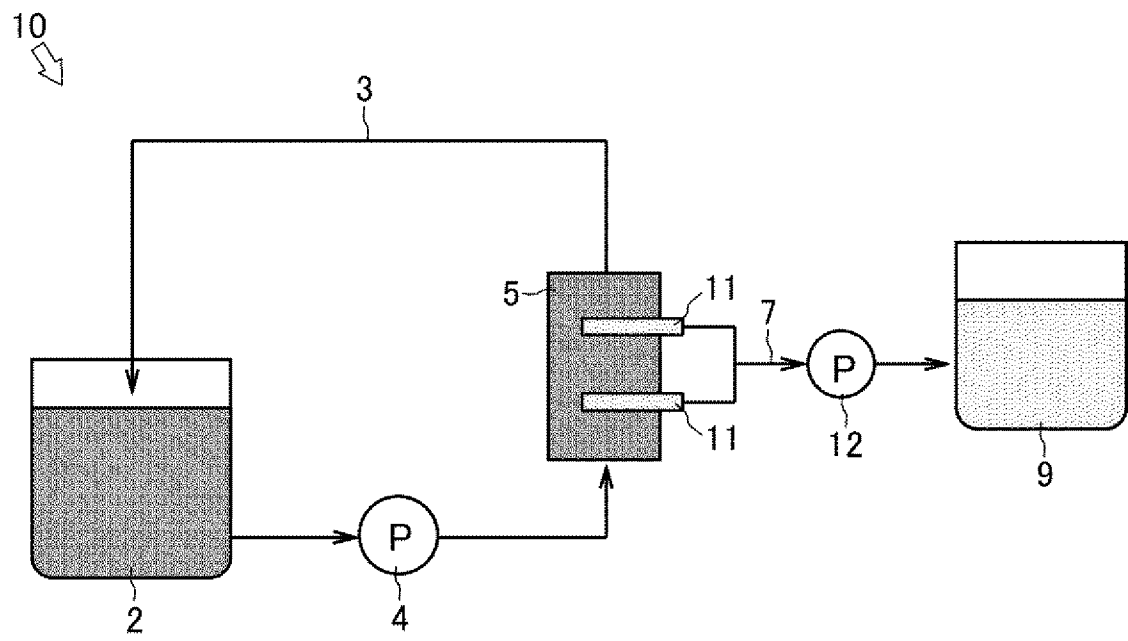


(b)

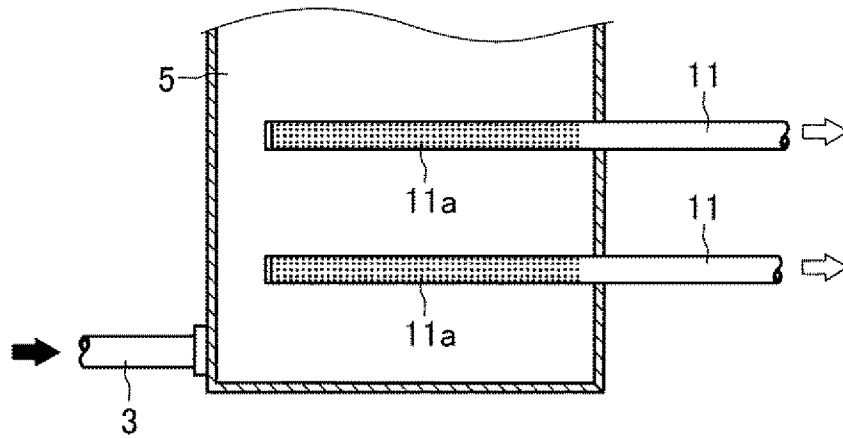


(c)

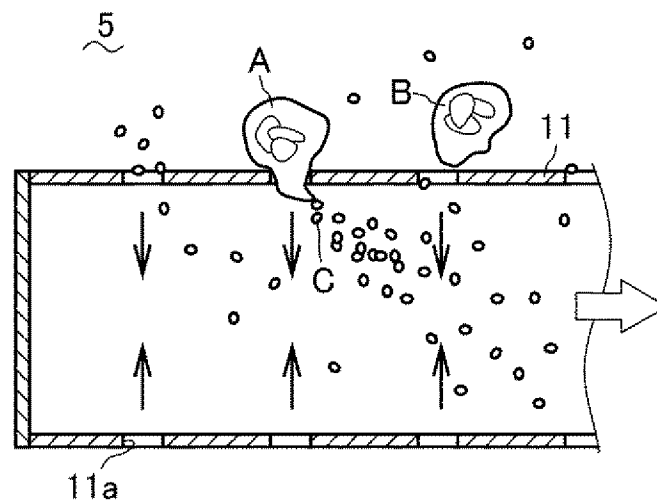
[図4]



[図5]

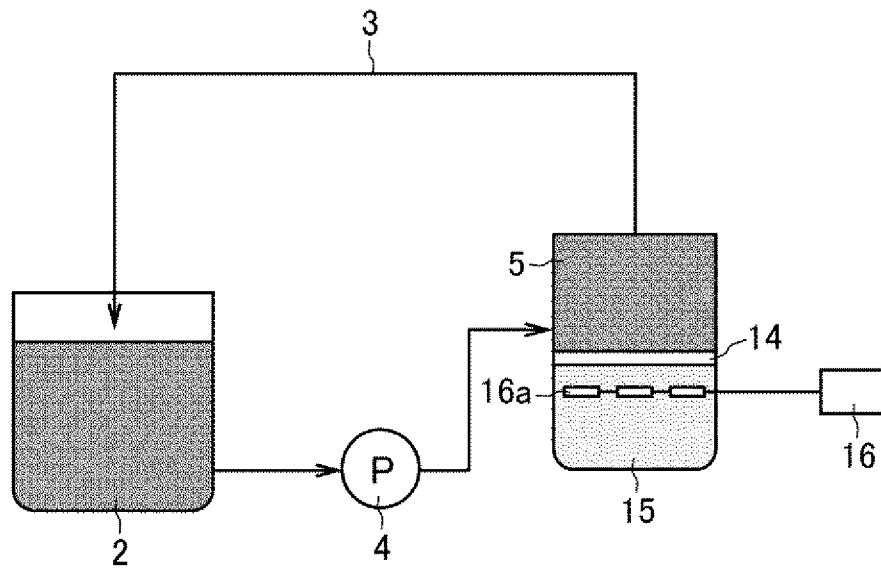


(a)

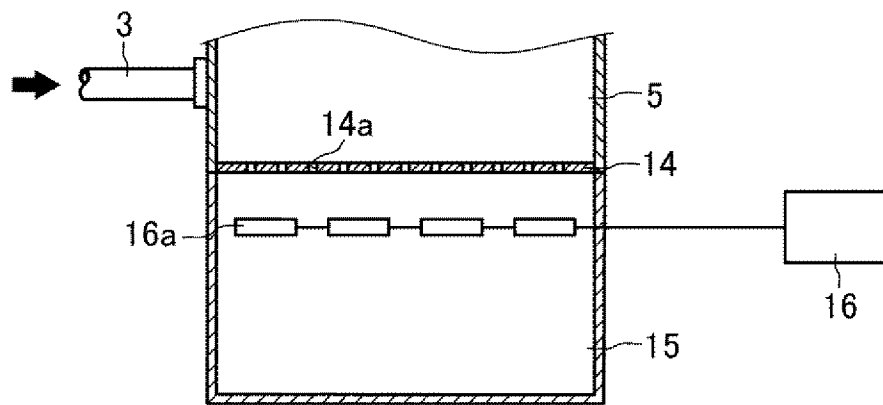


(b)

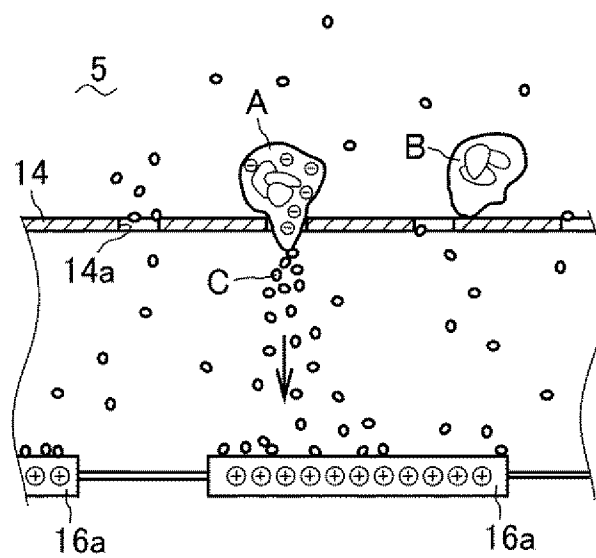
[図6]

13
↓

[図7]

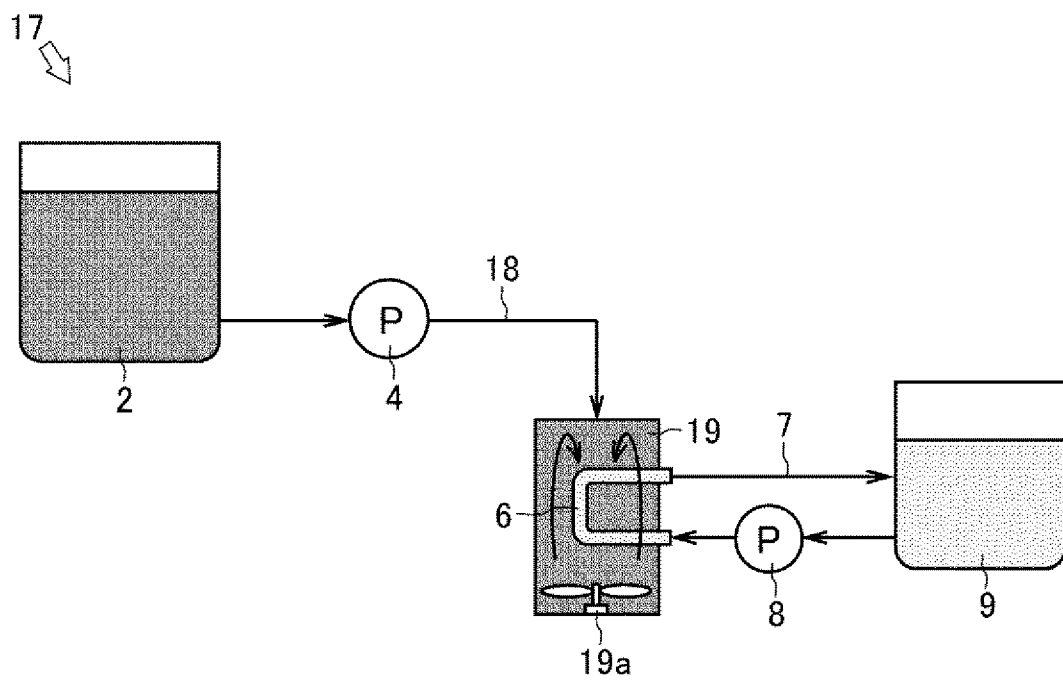


(a)

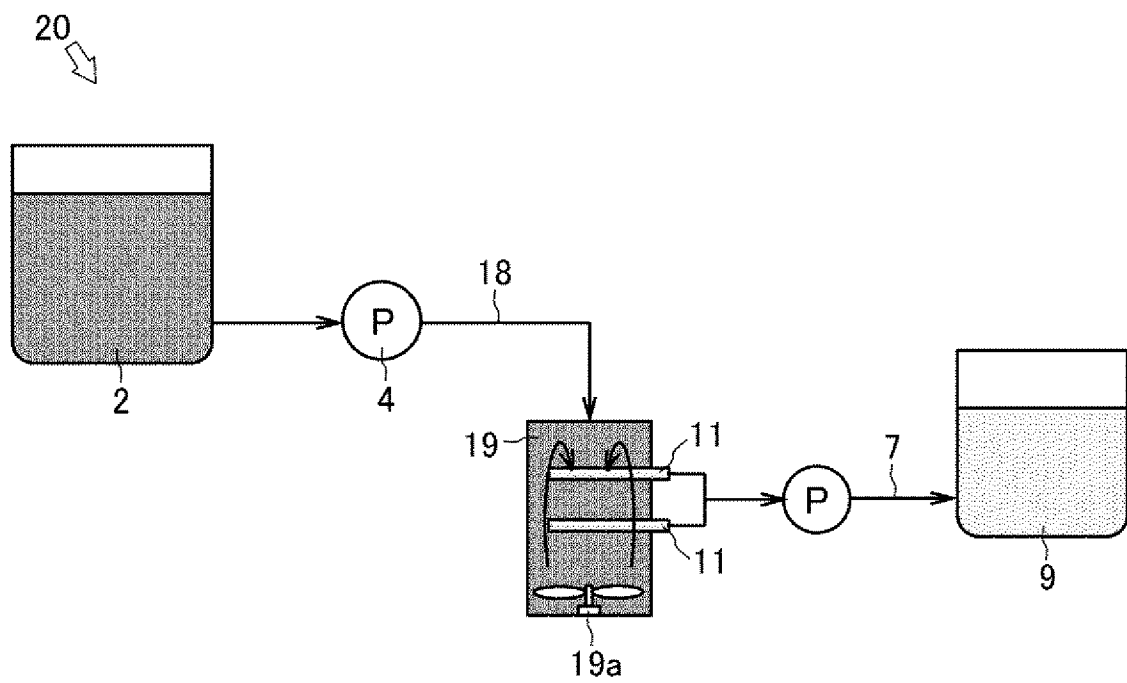


(b)

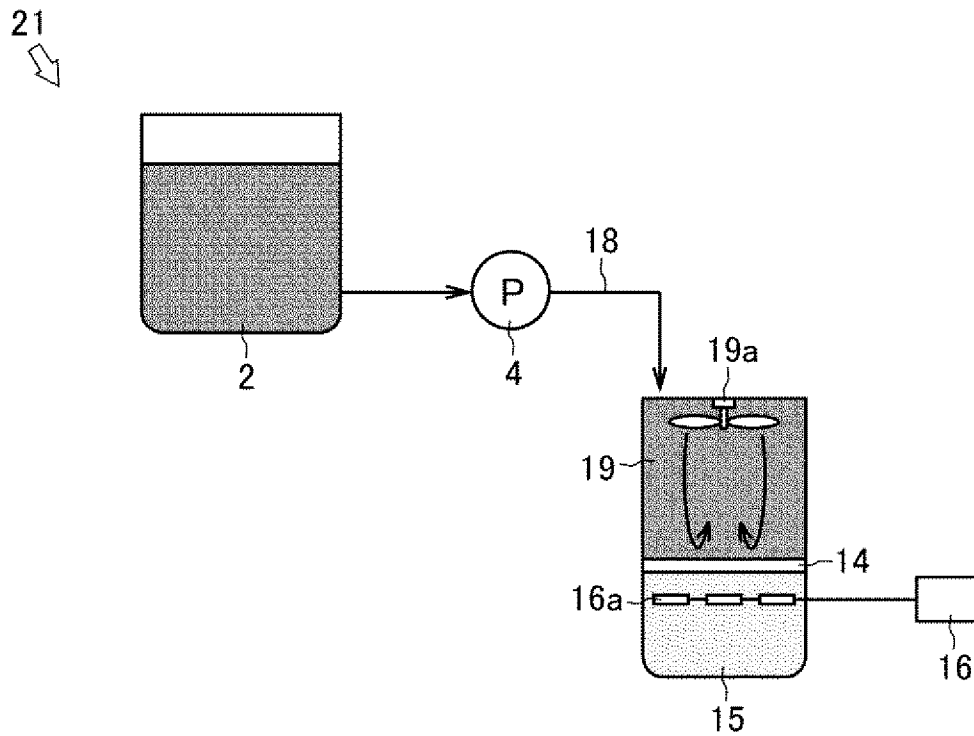
[図8]



[図9]

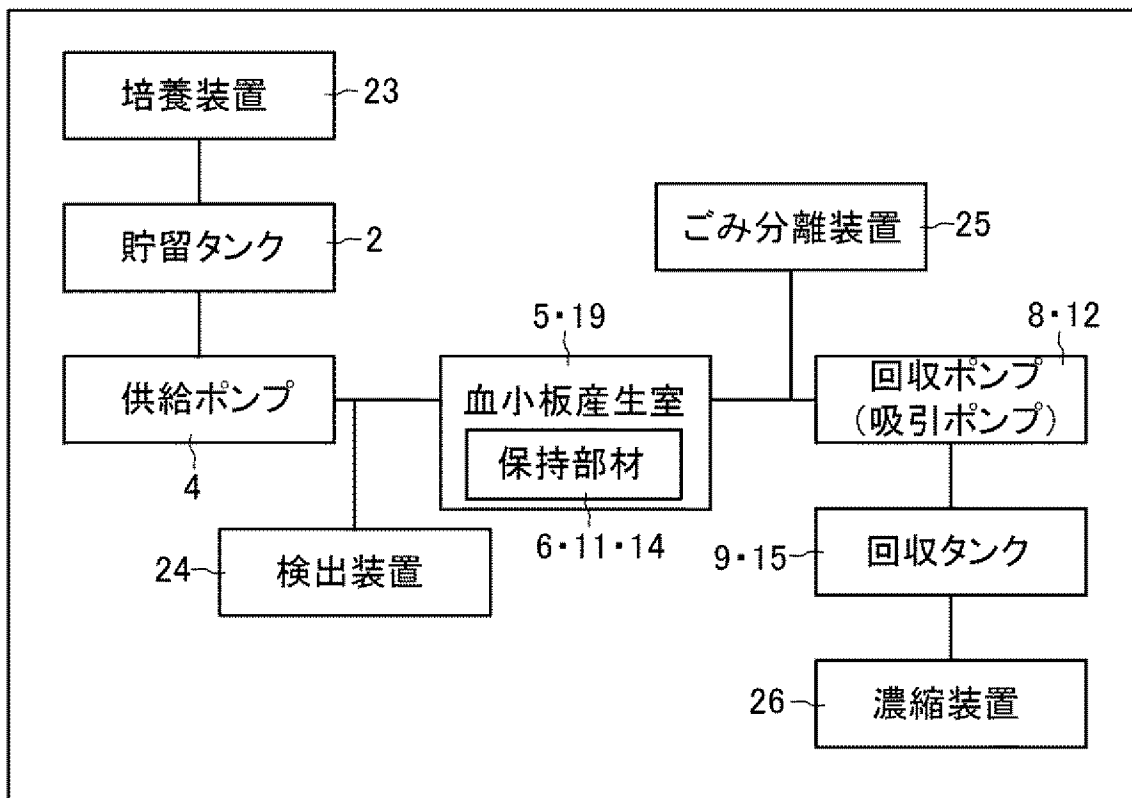


[図10]



[図11]

22



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/054915

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12M1/00(2006.01)i, C12M3/00(2006.01)i, C12N1/02(2006.01)i, C12N5/078(2010.01)i

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)

C12M1/00, C12M3/00, C12N1/02, C12N5/078

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2015
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2015	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2015

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

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN),
JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580 (JDreamIII), PubMed

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/Y	JP 2013-031428 A (The University of Tokyo), 14 February 2013 (14.02.2013), claims; examples; drawings; paragraphs [0033], [0039], [0058] (Family: none)	1-4, 6/5
X/Y	NAKAGAWA Y et al., Two differential flows in a bioreactor promoted platelet generation from human pluripotent stem cell-derived megakaryocytes, Experimental Hematology, 2013, Vol.41, p.742-748	1-4, 6/5
Y	JP 2011-257241 A (Kanagawa Academy of Science and Technology), 22 December 2011 (22.12.2011), claims; paragraph [0035] (Family: none)	1-6

☒ 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
18 May 2015 (18.05.15)

Date of mailing of the international search report
26 May 2015 (26.05.15)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/054915

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2012-510063 A (Illumina, Inc.), 26 April 2012 (26.04.2012), claim 41; paragraphs [0023], [0024] & EP 2362930 A2 & CN 102308090 A	1-6
Y	JP 2002-153260 A (Japan Science and Technology Corp.), 28 May 2002 (28.05.2002), paragraph [0042] (Family: none)	1-6
Y	SHIN JW et al., Myosin-II inhibition and soft 2D matrix maximize multinucleation and cellular projections typical of platelet-producing megakaryocytes, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, Vol.108, p.11458-11463	1-6

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. C12M1/00(2006.01)i, C12M3/00(2006.01)i, C12N1/02(2006.01)i, C12N5/078(2010.01)i

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（I P C））

Int.Cl. C12M1/00, C12M3/00, C12N1/02, C12N5/078

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	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 5 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 5 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 5 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）

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), PubMed

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/Y	JP 2013-031428 A（国立大学法人 東京大学）2013.02.14, 特許請求の範囲、実施例、図面、[0033]、[0039]、[0058]（ファミリーなし）	1-4, 6/5
X/Y	NAKAGAWA Y et al., Two differential flows in a bioreactor promoted platelet generation from human pluripotent stem cell-derived megakaryocytes, Experimental Hematology, 2013, Vol.41, p.742-748	1-4, 6/5

☒ 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、一般的技術水準を示すもの
「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矛盾するものではなく、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

1 8 . 0 5 . 2 0 1 5

国際調査報告の発送日

2 6 . 0 5 . 2 0 1 5

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）
郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

北田 祐介

4 N

4 8 6 8

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 8 8

C (続き) . 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
Y	JP 2011-257241 A (財団法人神奈川科学技術アカデミー) 2011.12.22, 特許請求の範囲、[0035] (ファミリーなし)	1-6
Y	JP 2012-510063 A (イルミナ インコーポレイテッド) 2012.04.26, 請求項41、[0023]、[0024] & EP 2362930 A2 & CN 102308090 A	1-6
Y	JP 2002-153260 A (科学技術振興事業団) 2002.05.28, [0042] (ファミリーなし)	1-6
Y	SHIN JW et al., Myosin-II inhibition and soft 2D matrix maximize multinucleation and cellular projections typical of platelet-producing megakaryocytes, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, Vol.108, p.11458-11463	1-6