

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6605504号
(P6605504)

(45) 発行日 令和1年11月13日 (2019. 11. 13)

(24) 登録日 令和1年10月25日 (2019. 10. 25)

(51) Int. Cl.	F I	
BO 1 D 61/28 (2006. 01)	BO 1 D 61/28	
BO 1 D 61/18 (2006. 01)	BO 1 D 61/18	
BO 1 D 61/20 (2006. 01)	BO 1 D 61/20	
BO 1 D 61/32 (2006. 01)	BO 1 D 61/32	
BO 1 D 61/14 (2006. 01)	BO 1 D 61/14	5 0 0
請求項の数 10 (全 17 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2016-569012 (P2016-569012)	(73) 特許権者	516245885
(86) (22) 出願日	平成27年2月13日 (2015. 2. 13)		バイエル、アクチエンゲゼルシャフト
(65) 公表番号	特表2017-511751 (P2017-511751A)		BAYER AKTIENGESELLS
(43) 公表日	平成29年4月27日 (2017. 4. 27)		CHAFT
(86) 国際出願番号	PCT/EP2015/053060		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	W02015/121403		ザー・ビルヘルム・アレー、1
(87) 国際公開日	平成27年8月20日 (2015. 8. 20)	(74) 代理人	100091982
審査請求日	平成29年10月4日 (2017. 10. 4)		弁理士 永井 浩之
(31) 優先権主張番号	14155338.8	(74) 代理人	100091487
(32) 優先日	平成26年2月17日 (2014. 2. 17)		弁理士 中村 行孝
(33) 優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁 (EP)	(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】 タンパク質溶液からバッファーまたは媒体を連続的に交換するための限外ろ過ユニット

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

バイオ医薬および生物学的巨大分子プロダクトを含有するプロダクトストリームの連続的限外ろ過のためのユニットであって、少なくとも1つのキャピラリー限外ろ過モジュールを含むユニットにおいて、

- 少なくとも1つのポンプが、前記プロダクトストリーム（すなわちフィード）を前記限外ろ過モジュールのキャピラリー内に運搬し、

- 容積ポンプが、前記プロダクトストリームを前記キャピラリーから運搬し、

- 少なくとも1つのさらなるポンプが、洗浄流体を前記キャピラリーの外側を通過させ

、

- 前記ユニットが、前記プロダクトストリームおよび前記洗浄流体を前記限外ろ過モジュール内へ循環させる手段を含まず、

- 前記限外ろ過のためのユニットは、準備手順によりフィード側およびジャケット側の双方に気泡がなくなり、前記準備手順では、前記フィード側および前記ジャケット側の双方に、ガス気泡が透析モジュールから出てこなくなるまでバッファー溶液を流し、

- 前記バッファー溶液の流速は、血流速の10%と100%との間に及び、

ことを特徴とするユニット。

【請求項 2】

前記洗浄流体を、使用する前記限外ろ過モジュールから調節して除去する手段を含む、請求項1に記載のユニット。

【請求項 3】

複数のキャピラリー限外ろ過モジュールが直列または並列で結合されることを特徴とする、請求項 1 または 2 に記載のユニット。

【請求項 4】

連続的限外ろ過のためのユニットにおける、バイオ医薬および生物学的巨大分子プロダクトを含有するフィードストリームの連続的限外ろ過のための方法において、前記フィードストリームは、キャピラリー限外ろ過モジュールの少なくとも 1 つのキャピラリー限外ろ過膜を介して洗浄流体で洗浄され、前記フィードストリームはキャピラリー内に運搬されて前記洗浄流体は前記キャピラリーの外側にわたって運搬され、前記フィードストリームおよび前記洗浄流体は、前記限外ろ過モジュール内に連続的に供給され、かつ前記限外ろ過モジュールから連続的に除去され、前記フィードストリームおよび前記洗浄流体は、前記限外ろ過モジュール内に循環されず、濃縮水を含む前記プロダクトストリームの除去は、所望されない純流動が前記キャピラリー内部から前記キャピラリー外部へまたは前記外部から前記内部へ通過できないように制御され、前記限外ろ過モジュールは、準備手順によりフィード側およびジャケット側の双方に気泡がなくなり、前記準備手順では、前記フィード側および前記ジャケット側の双方に、ガス気泡が透析モジュールから出てこなくなるまでバッファー溶液を流し、前記バッファー溶液の流速は、血流速の 10 % と 100 % との間に及ぶ、ことを特徴とする方法。

10

【請求項 5】

前記連続的限外ろ過のためのユニットにおいて、前記フィードストリームのプロダクトが最大で 2 の係数で濃縮され、または 2 の係数で希釈されることを特徴とする、請求項 4 に記載の方法。

20

【請求項 6】

前記洗浄流体が、前記フィードストリームに対して横断流または向流で、好ましくは向流で通過することを特徴とする、請求項 4 または 5 に記載の方法。

【請求項 7】

複数のキャピラリー限外ろ過モジュールが直列または並列であり、前記キャピラリー限外ろ過モジュールの膜間の最大の圧力低下が 1 bar を超えないことを特徴とする、請求項 4 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載のバイオ医薬および生物学的巨大分子プロダクトを含有するプロダクトストリームの連続的限外ろ過のための少なくとも 1 つのユニットを含む製造プラント。

30

【請求項 9】

前記連続的限外ろ過のためのユニットに結合される少なくとも 1 つの濃縮ユニットをさらに含む、請求項 8 に記載の製造プラント。

【請求項 10】

前記濃縮ユニットが、

- 透過水出口を有する 1 つまたは複数の膜モジュールと、濃縮ループ内の循環のためのポンプと、脱気袋と、を含む前記濃縮ループ内に前記プロダクトストリームを運搬するポンプと、

40

- タンパク質含有溶液を前記濃縮ループの外に運搬するポンプと、

- 代替的に、単一使用で単一通過の膜モジュールを通過する流れのためのポンプと、

を含むことを特徴とする、請求項 9 に記載の製造プラント。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、バッファーまたは媒体の連続的な交換のための限外ろ過ユニットと、限外ろ過ユニットにおいてバッファーまたは媒体を連続的に交換する方法と、特にバイオ医薬および生物学的巨大分子プロダクト（詳細にはタンパク質など、例えばモノクローナル抗体

50

やワクチン)の(半)連続生産のためのプラントであって、本発明による限外ろ過ユニットを含むプラントとに関する。

【0002】

本明細書の文脈では、連続操作とは、バイオリアクターへのフィードストリームの供給および生産プラントからのプロダクトストリームの取り出しが絶え間なく起こり、多くの工程が半連続的であり得ることを意味する。

【背景技術】

【0003】

医薬品を厳しく制御して生産するには、清浄および滅菌したバイオリアクターの準備や、無菌製品の確保のために、多大な時間、技術的労力および人員の労力を要する。多目的プラント内でのプロダクトの交換時または2つのプロダクトロット間での相互汚染を確実に回避するため、洗浄とは別に、かなり労力の要する洗浄による検証が必要であり、この検証は、必要であればプロセスの改変の間に繰り返されなくてはならない。

【0004】

これは、アップストリームプロセス(USP)、すなわち発酵槽での生物由来プロダクトの生成、および、ダウンストリームプロセス(DSP)、すなわち発酵産物の精製の両者にあてはまる。

【0005】

培養の成功に無菌環境が必要なものは、まさしく発酵においてある。バッチ式発酵槽またはフェドバッチ式発酵槽の滅菌では、SIP技術(SIP=定置滅菌)が原則として用いられる。

【0006】

準備手順のためのリアクターの休止時間は、リアクター利用性の大きさの順であり得、特に、短い使用時間および頻度の高いプロダクトの交換の場合である。USPでは、例えば媒体の準備および発酵のプロセス工程といった生物工学的な生産が影響を受け、DSPでは、溶解化、凍結、解凍、pH調節、例えばクロマトグラフィー、沈降または結晶化といった産物の分離、バッファー交換およびウイルス不活性化が影響を受ける。

【0007】

最大限の清潔さおよび無菌性を維持しながら生産プラントに迅速かつ柔軟に再投入するための必要な条件を満たすために、好ましくは使い捨ての技術を伴った連続生産の設計に対する関心が、市場で絶えず大きくなっている。

【0008】

WO2012/078677では、クロマトグラフィーによるバイオ医薬製品の連続的な調製のための方法およびプラント、ならびに、これらを生産プラント、特に使い捨てプラントへ一体化することが開示されている。WO2012/078677でバイオ医薬および生物由来プロダクトの連続生産に対するアプローチが提供されたものの、開示された解決策は実用性が十分ではない。バイオ医薬および生物由来プロダクトの生産のための方法には、通常、次の生産工程が含まれ、これらの工程は一緒に結び付けられる。

【0009】

1. 灌流培養
2. 細胞保持システム、
および、工程1および工程2の代わりにフェドバッチ培養。

【0010】

3. 細胞分離
4. 好ましくは濃縮によるバッファーまたは媒体交換
5. 好ましくは除菌ろ過による生物汚染度の減少
6. 回収クロマトグラフィー

通常はプロダクトストリームのさらなる精製のために追加の工程が実施され、具体的には：

7. ウイルス不活性化

10

20

30

40

50

8 . 中和

9 . 任意でさらに生物汚染度の減少（除菌ろ過）

バイオ医薬品の高品質基準の観点から、通常はこれらに以下の工程も続く：

10 . クロマトグラフィーによる中間および精密な精製

11 . 生物汚染度の減少、例えば除菌ろ過

12 . ウイルスろ過

13 . バッファー交換および好ましくは濃縮

14 . 除菌ろ過

上記の生産プロセスでは、栄養液を有する発酵槽内の細胞が生物由来プロダクトを生産する。この場合の栄養液は、細菌および胞子といった微生物にとって理想的な成長培地でもある。

10

【0011】

したがって、後ろに続くプロセス工程において微生物汚染のリスクを下げるのが課題の1つである。プロセスの時間がかかるほど、特に連続的プロセスでは、この課題を解決することがより重大になる。タンパク質の生産では、少なくとも1つのプロセス工程で、プロダクト溶液のバッファーまたは媒体交換（＝バッファー交換）が実施される。

【0012】

さらに、フィードストリーム／プロダクトストリームの1つまたは複数のパラメーター、具体的には濃度、体積／流速（flow rate）、pHおよび伝導率の、労力を要する調節がプロセス工程の多くで必要となる。特に、クロマトグラフィーの各種工程では、フィードストリームの1つまたは複数のパラメーターの様々な調節を新たに行う必要があり得る。さらに、連続プロセスのために、連続プロセス用の解決策を好ましくは見つけなくてはならない。

20

【0013】

WO2012/078677では、特にクロマトグラフィーユニットの直前でのバッファーもしくは媒体交換またはフィードストリームの調節の詳細が提供されず、その結果、開示される連続プラントの利用可能性が、特に濃度、pHおよび伝導率などの具体的な調節を一切必要としない種類のクロマトグラフィーに限定される。

【0014】

従来技術では、バッファー交換はバッチプロセスにおけるフィードのパラメーターを調節する方法として知られている。通常、限外ろ過膜（ultrafiltration membrane）を用いるバッチ式ダイアフィルトレーションを用いる。この場合、プロダクト溶液はまず始めに容器内に配置される。この溶液を、限外ろ過膜を介して回路内にポンプで送り、ここでプロダクトができる限り膜によって保持される一方で、塩／バッファーが膜を介して透過水（permeate）として除去される。プロダクト容器内の充填レベルは、透過水の体積が洗浄流体（washing fluid）によって置き換えられるため、通常一定に保たれる。次いで、生産中の残渣塩濃度が、理想的には次のように計算される：

30

$C = C_o * exp$ （洗浄の体積／体積プロダクト溶液）、ここで、 C_o は塩の初期濃度である。このプロセスはよく、文献上で間違って連続的ダイアフィルトレーションと呼ばれるが、フィードストリームは容器に連続的に供給されず、プロダクトストリームは容器から連続的に除去されないため、バッチプロセスである。これは、バッチが完全に処理されるまでバッファーを連続的にシステム内に供給するという事実が原因である [Alois Jungbauer, "Continuous downstream processing of biopharmaceuticals", Trends in Bio tech., 2013 (8), 479-492, WO2009017491]。

40

【0015】

限外ろ過モジュールは血液透析、血液ろ過および血液透析ろ過でも用いられる。血液透析は、純粋に拡散性であり、圧力によって行われるプロセスではない点で、他の限外ろ過方法と異なる。しかし、プロセスの技術の観点からは、血液透析は、人体がプロダクト容器としてみなされ得、患者の血液が原則として数時間にわたって洗浄されなくてはならないバッチ方式のプロセスでもある。さらに従来技術では、透析は、タンパク質溶液の脱塩

50

およびバッファー交換に関して、研究所でも知られている。しかし、拡散が遅いと言われており、そのために、透析は実験の体積がより小さいものための方法でしかない [ThermoScientific <http://www.piercenet.com/browse.cfm?fldID=5753AFD9-5056-8A76-4E13-5F9E9B4324DA,CN102703550>]。

【0016】

機能的透析は、透析の速度および効率を高めるために、流体力学を利用する。サンプルおよび/または透析液 (dialysate) の循環によって、透析時間を著しく短くするために、可能な限り最も高い濃度勾配を得る。付随して生じる流れには、膜汚染が予防され、一方で多くの場合、圧力差が生じるということ他の利点もある。この追加的な駆動力は、半透膜を超える低浸透圧の質量移動の速度を増やし、透析手順の間のサンプルの濃縮を可能にする。適用方法によって、2つの基本的な方法があり、透析液ストリームおよびサンプルが静止状態か流れている状態のいずれかであり得る。これらの方法は、機能的透析において、様々な理由および様々な目的で使用される。サンプルが流れる場合、従来技術では、プロダクトの容器を含む循環システムで運搬される (convey) [<http://de.spectrumlabs.com/dialysis/Dynamic.html>]。この方法もバッチ式の方法である。

10

【0017】

本明細書の文脈では、連続的ダイアフィルトレーション (diafiltration) とは、フィードストリームおよび洗浄ストリームが限外ろ過ユニット内に連続的に供給されることを意味する。本明細書の文脈では、半連続的操作とは、ロットまたはバッチ式精製として一般的に理解されることを意味し、すなわち、1つまたは複数の容器から出たタンパク質溶液の1つまたは複数のロットが限外ろ過ユニットに連続的に供給され、ここで洗浄流体も連続的に供給されることを意味する。

20

【0018】

実際の連続的ダイアフィルトレーションは、従来技術では複数のダイアフィルトレーション段階を、並流または向流で結合することで効果を示す。しかし、このための装備コストはそれに応じて大きい [Alois Jungbauer, "Continuous processing of biopharmaceuticals", Trends in Biotech., 2013 (8), 479-492]。

【0019】

フィードのパラメーターの調節、および特にプロダクトストリームのバッファー交換のための、単純で連続的な解決策は未だ知られていない。

30

【0020】

US 4963264 A は、抗体の精製に使用され得る透析ユニットおよび方法を開示している。中空繊維モジュールが使用される。プロダクトおよび洗浄溶液は向流の方法で供給され、溶液は循環されない。アフィニティ吸着材によって、ターゲットとなる種が膜の反対側に抽出され、こうして、透過水にて取り出される。具体的な実施形態では、US 4963264 A には、いくつかの実験に関して、対圧手段を様々な圧力を設定するために用いたことを記述されているが、さらなる詳細はなかった。

【0021】

US 3582488 A は、透析、バッファー交換および/または生物学種 (biological species)、例えばタンパク質の濃縮のためのユニットおよび方法を開示している。この場合、平膜モジュールが使用され、流動は、キャピラリーとしても見なされ得る小さなチャンネルで運搬される。このユニットは、向流の方法で操作される。出口の圧力デバイスとして、US 3582488 A は、純流動 (net flow) を生じさせることでプロダクトの濃縮を達成するが、バッファー交換の改善は達成しないクランプを開示している。

40

【0022】

KURNIK et al. は、純流動を調節する出口流動の制御を行わずに、直列に結合された複数の中空繊維膜モジュールを使用する向流透析を利用したタンパク質のバッファー交換を開示している。100倍の濃縮が達成され得る (KURNIK RONALD T ET AL: "Buffer exchange using size exclusion chromatography, countercurrent dialysis, and tangential flow filtration: Models, development, and industrial application", BIOTECHNOLOG

50

Y AND BIOENGINEERING - COMBINATORIAL CHEMISTRY, WILEY, NEW YORK, NY, US, Vol. 45, No. 2, 1st January 1995 (1995-01-01), pages 149-157, XP002311649)。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0023】

したがって、第1の課題は、プロダクトストリームの調節、特に連続的プロダクトストリームの濃度、pHおよび/または伝導率の調節をバッファー交換によって可能にする解決策の提供にあった。特に、解決策は柔軟なものであるべきであり、プロダクトストリームを1つまたは複数の異なるクロマトグラフィーの精製工程の要件に調節するのを可能にするべきである。

10

【発明を実施するための形態】

【0024】

この課題は、並流、向流または横断流、好ましくは向流で操作される少なくとも1つの中空繊維限外ろ過モジュール(=キャピラリー限外ろ過モジュール)の使用、好ましくは、プロダクトストリーム(=フィードストリーム)および洗浄流体(=透析液)が流れており、中空繊維限外ろ過モジュール内のプロダクトストリームおよび洗浄流体の循環がなくともバッファー交換が実行される、限外ろ過ユニット内にある血液透析モジュールの使用によって解決された。

【0025】

本明細書では、キャピラリーに運搬されるプロダクトストリームは、膜技術で従来の通り、フィードストリームまたはフィードとも呼ばれる。本明細書では、キャピラリーから外に運搬されるプロダクトストリームは、膜技術で従来の通り、濃縮水(retentate)とも呼ばれる。

20

【0026】

本明細書では、キャピラリーに運搬される洗浄流体は、膜技術で従来の通り、透析液、透析バッファーまたは透過水とも呼ばれる。キャピラリーから外に運搬される洗浄流体は、本明細書では、排気ストリームとも呼ばれる。

【0027】

市販の中空繊維限外ろ過モジュール/キャピラリー限外ろ過モジュールを通常用いる。ここで、限外ろ過膜の分画分子量(MWCO)は、膜が、収率損失が90%、好ましくは30%および特に好ましくは10%を超えないように中空繊維/キャピラリー内にターゲットとなるプロダクトを維持するように選択されるべきである。同時に、より小さな分子およびイオンは、膜によって維持されない。収率損失とは、フィードストリーム中のプロダクトと比較して膜を透過したプロダクトの損失を意味し、例えばクロマトグラフィー的な方法、ELISA等といった公知の方法のうち1つを用いたサンプルの測定によって測定または分析される。

30

【0028】

キャピラリー限外ろ過モジュールは、医薬産業の要件に応じて、市販の蒸気滅菌またはガンマ滅菌されたものであることが効果的である。例えば、1つの試験用プラントでは、ポリアリールエーテルスルホン(PAES)およびポリビニルピロリドン(PVP)のポリマー混合物の、内部直径190μmおよび壁厚35μmであるキャピラリーを含んでなる血液透析モジュール、レバクリア300キャピラリーダイアライザー(ガンプロ社)を用いた(<http://www.gambro.com/PageFiles/21256/Revaclear%20White%20Paper.pdf?epsLanguage=en>)。代替的に、GEヘルスケア社のプロセススケール限外ろ過中空繊維カートリッジ(Process Scale Ultrafiltration Hollow Fiber Cartridge)(UFP-750-E-55A)といった中空繊維モジュールも使用可能である。

40

【0029】

本発明によれば、フィードストリームは、限外ろ過モジュールの中空繊維/キャピラリー内に制御された方法で運搬され、洗浄流体はジャケット側に制御された方法で運搬される。濃縮水は、中空繊維/キャピラリーから外に制御された方法で運搬され、プラント内

50

に移動する。驚くことに、バッファ交換が、プロダクトストリームの循環なしで上手く実施され得ることが分かった。これは、単一の限外ろ過モジュールの使用で既に起こる。しかし、複数の限外ろ過モジュールを、直列または並列で結合するのが効果的であり得る。この方法では、洗浄流体は、並流、横断流または向流、好ましくは横断流、特に好ましくは向流のいずれかでフィードストリームにポンプで送り出される。プロダクトストリーム（例えばバッファ A 中のタンパク質溶液）が下方から限外ろ過モジュールの中空繊維 / キャピラリーを通して上方に流れる一方でジャケット側の洗浄流体（バッファ S）は通常上方から中空繊維 / キャピラリーを過ぎて下方に通過する、向流の操作は、より少ない洗浄流体でより高い純度（バッファ交換効率）を可能にする。同様に、プロダクトストリームは、血液透析モジュールのキャピラリーを通して上方から下方に流れ得る一方で、ジャケット側の洗浄流体は下方からキャピラリーを過ぎて上方に通過する。驚くことに、この単純な解決策は、連続的な操作でも、効率的なプロダクトストリームのバッファ交換を可能にすることが分かった。

10

【0030】

各場合でプロダクトストリーム（＝フィードストリーム）および洗浄流体（＝透過水）を運搬するために、ポンプが 1 つ使用される。キャピラリー（＝濃縮水）からプロダクトストリームを調節して除去するために、さらにもう 1 つポンプまたは制御弁が、プロダクトストリームを調節して除去する手段として使用される。濃縮水の調節された除去のためのポンプ（＝濃縮水ポンプ）の使用によって、濃縮水の除去の調節は簡潔になる。正確には、滅菌の使い捨て技術の利用では、より低い流速（100 ml / 分）を確実に測定する適切な流動センサー（flow sensor）がないため、低い流速で特に効果的である。特に好ましくは、ぜん動ポンプが用いられ得、使い捨てぜん動ポンプが市販されており、よって滅菌性および使い捨て技術も利用可能であるという利点を伴う。

20

【0031】

ポンプが 3 つ、すなわち、フィードストリーム（＝フィードポンプ）および透過水（＝透過水ポンプ）を運搬するためのポンプ 2 つならびに濃縮水ポンプしか使用しない場合、第 4 のストリームは調節されない。3 つのポンプのうち 1 つのポンプで起こりうる不具合は気づかれないままであり得る。したがって、好ましくは、洗浄流体の調節された除去のために、キャピラリーおよびジャケット側（＝外側）間の圧力比を調節する。また、これは通常、洗浄流体除去のためのポンプまたは制御弁を、洗浄流体を調節して除去する手段としてさらに使用することで達成される。キャピラリー限外ろ過モジュールを含む本発明による限外ろ過ユニットが、図 1 および 2 の例によってこれらに限定することなく示されている。

30

【0032】

フィードストリームおよび洗浄流体の流れ（＝透析バッファ）は、ポンプによって作り出される。濃縮水の流れは好ましくは、ぜん動ポンプといった容積ポンプ（positive displacement pump）（図 1）、または代替的に制御弁および流量調節（実施形態は示されず）によって作り出される。

【0033】

好ましくは、入口の流量（図 1、フィードおよび透析バッファ）の圧力の比は、一方の膜側からもう一方の膜側への短絡フローを避けるために、調節される。このため、図 1 で示すように、透過水の出口において追加された 4 つ目のポンプが用いられ得（図 1）、または、好ましくは透過水の出口を、弁または静水圧によって絞める（図 2）。

40

【0034】

ポンプ 4 つでの実施形態では、フィードストリームおよび洗浄流体（＝透過水ポンプ）を運搬するためのポンプ 2 つならびに濃縮水ポンプの 3 つのポンプは好ましくは制御下で操作され、一方で洗浄流体を調節して除去するポンプ（＝廃棄ポンプ）は圧力センサーによって調節される。より正確には、廃棄ポンプは、血液透析モジュールでの圧力が、透過水側で測定された時に例えば 200 mbar に調節されるように、作動される。この圧力で調節される廃棄ポンプは、次いで、フィードポンプの体積流量（volume flow）/ 流速

50

を正確に運搬しなくてはならない。流速が低い時は、内向きの運搬ポンプであるフィードもしくは透過水ポンプのうち1つ、または、外向きの運搬ポンプ（濃縮水もしくは廃棄ポンプ）のうち1つに欠陥がある。この方法で、流れを測定せずに、ポンプが全て正しく動いているかをモニターすることが可能である。

【0035】

好ましくは、弁または静水圧が透過水出口の圧力調節のために使用され得る。

【0036】

限外ろ過ユニットのさらなる実施形態が、これに限定はされないが、図3に図式で示されている。ポンプM0303は、ある体積流量を、1つまたは複数の血液透析モジュール（DFモジュール）に流す。好ましくは、1つまたは複数の血液透析モジュールが直列で結合されている。プレッシャーセンサーP0303は、好ましくは、限外ろ過ユニットのフィード圧力をモニターする。フィード圧力が最大圧力を超えた場合は、この段階は遮断される。限外ろ過ユニットのあとに、ポンプM0304は、好ましくは、血液透析モジュールのプロダクト濃度の変化および膜上のゲル層の形成を防止するために、M0303と全く同じ速度で送り出す。ポンプM0304は、透析された濃縮水を中間袋（intermediate bag）B0302内に運搬する。洗浄流体を、ポンプM0305によって、M0303よりも早い流速で血液透析モジュールの透過水側（＝キャピラリーのジャケット側）へ送り出す。ここで、ポンプM0303の流速は、濃縮水のバッファーが所望する濃度に到達するのに十分な高さで設定される。使用した洗浄流体は袋B0304で回収される。

【0037】

本明細書の第1の主題は、バイオ医薬（biopharmaceutical）および生物学的巨大分子プロダクト（biological macromolecular product）を含有するプロダクトストリームの連続的限外ろ過のためのユニットであって、少なくとも1つのキャピラリー限外ろ過モジュールを含むユニットにおいて、

- 少なくとも1つのポンプが、プロダクトストリームを限外ろ過モジュールのキャピラリー内に運搬し、
- ポンプが、プロダクトストリームをキャピラリーから運搬し、
- 少なくとも1つのさらなるポンプが、洗浄流体をキャピラリーの外側を通過させ、
- 限外ろ過モジュール全体でプロダクトストリームおよび洗浄流体を循環する手段（measure）を一切有さない、

ことを特徴とするユニットである。

【0038】

好ましくは、限外ろ過モジュールから洗浄流体を調節して除去する手段を用いる。

【0039】

本明細書のさらなる主題は、連続的限外ろ過に関する本発明によるユニットにおける、バイオ医薬および生物学的巨大分子プロダクトを含有するフィードストリームの連続的限外ろ過のための方法において、フィードストリームは、キャピラリー限外ろ過モジュールの少なくとも1つのキャピラリー限外ろ過膜を介して洗浄流体で洗浄され、フィードストリームはキャピラリーの内部に運搬されて洗浄流体はキャピラリーの外側を通過し、フィードストリームは、限外ろ過モジュール内に連続的に供給され、洗浄流体は、限外ろ過モジュールに連続的に供給および限外ろ過モジュールから連続的に除去され、フィードストリームおよび洗浄流体は、限外ろ過モジュールを介して循環されない、ことを特徴とする方法である。

【0040】

膜の両側間での小分子およびイオンの交換を効率的に達成するために、透析方法のように移動ができる限り拡散によって起こるよう、膜を超える実体積流量を出来るだけ小さくする。拡散による移動は、非透過性物質の希釈および濃縮が、最大1～5の係数（factor）、好ましくは1～2の係数、特に好ましくは1の係数で起こるときに特に達成される。

【0041】

本発明によれば、いくつかの限外ろ過モジュールは直列または並列で結合（connect）

し得る。ここで、直列の限外ろ過モジュールの数は、限外ろ過モジュール全体にわたる全体の圧力の損失が1 barを超えないように選択されるべきである。並列に結合された限外ろ過モジュールの数は、キャピラリー内へのフィードストリームが、製造者が推奨する最大流速を超えないように選択されるべきであり；推奨される流速の0.1～15%の流速、特に、推奨される流速の0.1～5%が好ましい。

【0042】

例えば、試験用プラントでは、ガンプロ社の血液透析モジュール、レバクリア300キャピラリーダイアライザー (Revaclear 300 Capillary Dialyzer) を用いた。これらのモジュールでは、フィードストリームは、モジュールごとに、500 ml / 分、好ましくは75 ml / 分、さらに好ましくは25 ml / 分を超えるべきではない。モジュールの入口と出口の間の全体的な圧力差 (= キャピラリー限外ろ過モジュールの膜を隔てた圧力の損失) が推奨される1 barの流速を超えないように、モジュールは直列で結合され得る。

10

【0043】

濃縮水中の不純物の除去を出来るだけ多く達成するために、フィードストリームに対する洗浄流体 (= 透析液ストリーム) の流量の比は、通常、できるだけ高く選択される。この比の正確なレベルは、必要とされる最小除去量および分子の拡散比次第である。同時に、1つのモジュール内の透析液ストリームは、製造者が推奨する最大流量を超えるべきでない。経済的な観点からも、透析液ストリームを制限することが賢明である。バッチ方式で操作されるダイアフィルトレーションプロセスでは、洗浄流体体積のフィード液体積に対する比を3～6、時には10の比に設定するのが通常行われる設定である。本発明による方法では、フィードストリームに対する透析液ストリームの比が3～6である比較可能な設定を第1のアプローチとして選択し得、原則、プロダクトの特質によって実験的に適合させる。

20

【0044】

透析モジュールの準備 (洗浄および脱気によるスタートアップ) が、洗浄の質に対して決定的であることが予期せず発見され、なぜなら、そうでなければキャピラリーが全て完全に使用されるわけではないからである。好ましい低流速のため、具体的な難点は、キャピラリー側およびジャケット側で透析モジュールを脱気することである。

【0045】

本発明に従って、全ての透析モジュールをスタートアップする前に、フィード側およびジャケット側の双方に、製造者が推奨する血流速の少なくとも10%～100%、好ましくは15～100%、および特に好ましくは30～100%で、ガス気泡が透析モジュールから出てこなくなるまで、バッファ溶液を流す。この場合、フィード側およびジャケット側の双方に気泡がないことが不可欠である。

30

【0046】

本発明によれば、フィードおよび透析液ストリームは、これらの流量が明確に定義され、すなわち、所望されない純流動がフィードスペース (= キャピラリー内部) から透析液スペース (= キャピラリー外部 / ジャケット側) に、またはその逆の方向に、一切起こり得ないように、調節される。このため、次の手法を取り得る。

【0047】

- オフライン / オンライン信号であるUV、伝導率、pH、流量測定、または、HPLC、ELISAなどといった製品の品質を決定するオフライン測定による、プロダクトストリームのモニタリング。

40

【0048】

- ジャケット側 (= 透析液スペース) またはフィード側 (= フィードスペース) に圧力をかけるのも効果的であり得る。この目的で、ポンプまたは弁のいずれかである、各流体を調節して除去する手段を、関連する出口で使用し得る。

【0049】

本発明によれば、連続限外ろ過のための本発明のユニットは、製造プラント、特に、1つまたは複数の前述した製造工程を連続的または半連続的に実行するための製造プラント

50

に組込まれる。

【 0 0 5 0 】

したがって、本明細書のさらなる主題は、バイオ医薬および生物学的巨大分子プロダクトを含有するプロダクトストリームの連続限外ろ過のための、本発明による少なくとも1つのユニットを含む製造プラントである。

【 0 0 5 1 】

さらに、バイオ医薬および生物由来プロダクトの製造に関する前述の製造工程の多くで、プロダクトストリームの一連の希釈および濃縮が生じ、これは、連続プロセス操作に関して困難なものである。

【 0 0 5 2 】

好ましくは、本発明による製造プラントは、プロダクトストリームを連続的限外ろ過するユニットのうち1つのユニットの前後に、プロダクトストリームを濃縮するためのユニット（濃縮ユニットとも呼ぶ）を含む。好ましくは、製造プラントの連続限外ろ過のための本発明のユニットは、濃縮ユニットの出口のパイプに結合している。

【 0 0 5 3 】

本発明によれば、例として挙げる図3に示す通り、濃縮ユニットは、再循環ループ（＝濃縮ループ）を含み、かつ、濃縮ループにおいて、透過水出口を有する1つまたは複数の膜モジュールと、濃縮ループで循環の流量を調節するためのポンプM0302と、脱気袋（deaeration bag）（番号付けなし）とを含む。濃縮ループでは、プロダクトストリームは連続的に濃縮される。ポンプM0301は、プロダクトストリームを、通常、保持袋から濃縮ループ内へ運搬する。膜モジュールとして、1つまたは複数のCFF限外ろ過モジュール（クロスフローろ過）または代替的にATF（交互タンジェンシャルフロー）限外ろ過モジュールが通常用いられるが、好ましくは1つのCFFモジュールである。例えば、試験用プラントでは、GEヘルスケアライフサイエンス社のCFFモジュール、RTPUFP-30-C-5Sを用いる。

【 0 0 5 4 】

M0302からの流速は少なくとも、膜の製造者が示す最小の超流速に設定する。例えば、モジュールRTPUFP-30-C-5Sに関しては、少なくとも21/分が設定される。

【 0 0 5 5 】

ポンプM0303は、濃縮ループの外にプロダクトストリームを運搬する。ここで、ポンプM0303の流速は、ポンプM301の流速に関連して設定する。この比は、所望する濃縮係数に対応する。この場合、圧力をプレッシャーセンサーP0301およびP0302で設定し、これによって液体は濃縮ループから膜を介して透過するが、この間に、出来る限り多くの生物由来プロダクトが保持される。通常、生物由来プロダクトの少なくとも90%、好ましくは90~95%、特に好ましくは95~100%を保持する膜が使用される。開示する設計では、膜ではなくポンプを介して液体を流さずに供給圧力も保持できるポンプを用いる。ぜん動ポンプがここで好ましくは用いられる。代替手段として、透過水の流れを調節する調節弁と流量計の組合せも使用され得る。

【 0 0 5 6 】

膜モジュールの膜を通過する透過水は、容器B0304の透過水の出口を介して回収される。ポンプM0301と濃縮ループとモニターとの間にあるプレッシャーセンサーP0301は、膜モジュールの前の圧力をモニターし、最大圧力を超える場合はM0302の遮断を導き得る。この場合、膜モジュールを交換しなければいけない。この場合では好ましくは、濃縮ループ全体を、滅菌した新しいもので取り替える。しかし、膜カセットの使用において、カセットを並列で操作することは完全に普通のことである。膜カセットは、直列または並列で配置され得、好ましくは並列で配置され得る。通常、プレッシャーセンサーP0302は、濃縮ループの後の圧力を測定し、これによって、膜間の圧力を決定し得る。通常、流量センサーF0301（図示されず）は、濃縮ループの体積流量を測定する。M0301の流速に対して固定された比で、ポンプM0303は、濃縮ループから限

10

20

30

40

50

外ろ過ユニットへ体積流量を運搬する。

【 0 0 5 7 】

無菌性の維持は、さら（半）連続的製造プラントでは困難および問題をさらにもたす。本発明による製造プラントでは、要素は全てチューブ、特に使い捨てチューブと一緒に結合されている。例えば、生物適合性のチューブである P h a r m e d B P T（登録商標）（耐熱シリコンチューブ）を用いる。プラントの他の要素も、好ましくは使い捨て要素であり；具体的には、使い捨てリアクター、使い捨てる過要素、使い捨て弁、使い捨てセンサー（流量、pH、伝導率、UV、圧力）、使い捨て細胞保持システム、使い捨てチューブ、使い捨て膜、使い捨てコネクター、使い捨てクロマトグラフィーカラム、使い捨て容器および使い捨てサンプリングシステムの群から選択される要素である。液体を運搬する手段、特にポンプも、好ましくは使い捨てポンプである。

10

【 0 0 5 8 】

膜モジュールおよび／または限外ろ過モジュールを交換するために、プロダクトストリームは通常遮断され、暫定袋（図3の保持袋 B 0 3 0 1）が交換されている間に代わりを務める。

【 0 0 5 9 】

さらなる生物汚染度の減少のために除菌ろ過用のユニットを使用することで、特定のモジュールの寿命が改善され得、その結果、交換の間に暫定袋でプロダクトストリームが遮断および捕獲（＝保管）されることが正当化される。

【 0 0 6 0 】

濃縮ループに代わって、ボール社の C a d e n c e（商標）シングルパスタンジェンシャルフロー（Single-Pass Tangential Flow）ろ過カセットを1つまたは複数で、プロダクトストリームを濃縮するユニットとして用い得る（US 7.682.511 B2, <http://www.pall.com/main/biopharmaceuticals/product.page?id=52742>）。

20

【 0 0 6 1 】

濃縮工程によって、体積流量は顕著に減少し、プロダクトの濃度は増大する。

【 0 0 6 2 】

実施例および試験用プラント：

本発明による発酵プロセスからのプロダクトストリームのバッファー交換のための解決策の有用性を調べるために、図3による試験用プラントを例として建設した。試験用プラントのチューブとして、内径が3.2 mmである P h a r m e d B P T（登録商標）チューブを用いた。図3の要素に加え、試験用プラントは、試験用プロダクトストリームとして、細胞を含まない発酵プロセスを充填した10 Lの容器を含んでいた。容器（図示されず）にチューブによって結合された第1のポンプ（M 0 3 0 1）は、第1に、図3で示す通り、プロダクトストリームを濃縮ユニット内へ運搬した。試験用分子として、免疫グロブリンG抗体（I g G抗体）を選択した。

30

【 0 0 6 3 】

濃縮ユニットは、濃縮ループ内への循環／流れのためのポンプ M 0 3 0 2、濃縮ループにチューブおよび手動のピンチ弁 A B 0 3 0 1、A B 0 3 0 2 および A B 0 3 0 3 によって結合されている脱気袋（番号付けなし）、ならびに、膜モジュール（UFモジュール3.1）を含んでなった。膜モジュールとして、例として、GEヘルスケアライフサイエンス社の C F F 限外ろ過モジュール、R T P U F P - 3 0 - C - 5 Sを用いた。

40

【 0 0 6 4 】

M 0 3 0 2 の流速は、膜製造者が示す最小の超流速に設定した。例えば、モジュール R T P U F P - 3 0 - C - 5 S に関しては、少なくとも2 l / 分を設定した。実際に濃縮する前に、A B 0 3 0 1 および A B 0 3 0 3 および A B 0 3 0 2 を部分的に開放することで、濃縮ループをまず脱気する。濃縮ループに気泡がなくなったら、A B 0 3 0 2 を完全に開放し、A B 0 3 0 1 および A B 0 3 0 3 を閉じる。

【 0 0 6 5 】

ポンプ M 0 3 0 3 は、濃縮ループからプロダクトストリームを運搬した。同時に、ポン

50

プ M 0 3 0 3 の流速は、所望する濃縮係数に対応した、ポンプ M 0 3 0 1 の流速に対する比で設定した。プレッシャーセンサー P 0 3 0 1 および P 0 3 0 2 で、液体が濃縮ループから膜を介して透過することを引き起こす圧力を確定したが、この間に、出来る限り多くの生物由来プロダクトを保持した。

【 0 0 6 6 】

膜モジュールの膜を通過した透過水は、容器 B 0 3 0 4 を介して回収された。ポンプ M 0 3 0 1 と濃縮ループとの間にあるプレッシャーセンサー P 0 3 0 1 は、膜モジュールの前の圧力をモニターし、最大圧力を超えた場合は M 0 3 0 2 の遮断を導き得た。この場合、膜モジュールを交換しなければいけなかった。プレッシャーセンサー P 0 3 0 2 は、濃縮ループの後の圧力を測定し、これによって、膜間の圧力を決定し得た。流量センサー F 0 3 0 1 (図示されず) は、濃縮ループの体積流量を測定した。

10

【 0 0 6 7 】

ポンプ M 0 3 0 3 は、M 0 3 0 1 からの流速に対して固定された比で、濃縮ループから次に続く限外ろ過ユニットへ体積流量を運搬した。

【 0 0 6 8 】

試験用プラントでは、図 3 で示す通り、限外ろ過ユニットは、ポリアリールエーテルスルホン (P A E S) およびポリビニルピロリドン (P V P) のポリマー混合物の、内部直径 1 9 0 μ m および壁厚 3 5 μ m であるキャピラリーを含有する血液透析モジュール (透析モジュール)、レバクリア 3 0 0 キャピラリーダイアライザー (ガンプロ社) を含んでなった (<http://www.gambro.com/PageFiles/21256/Revaclear%20White%20Paper.pdf?epsLanguage=en>) 。

20

【 0 0 6 9 】

ポンプ M 0 3 0 3 は、ある体積流量を、血液透析モジュールに運搬した。プレッシャーセンサー P 0 3 0 3 は、限外ろ過ユニットのフィード圧力をモニターした。

【 0 0 7 0 】

血液透析モジュールのスタートアップの前に、フィード側およびジャケット側の双方を、ガス気泡がモジュールから出てこなくなるまで、バッファー溶液 (洗浄流体) で、8 0 ~ 1 0 0 m l / 分の血流速度で洗浄した (準備) 。ここで、フィード側およびジャケット側の双方に気泡がないことが不可欠であった。

【 0 0 7 1 】

30

プロダクトストリームのバッファー交換に関して、次いで、フィードストリームをモジュールごとに 3 m l / 分に設定した。

【 0 0 7 2 】

ポンプ M 0 3 0 5 を用いて、フィードストリームに対して向流で、透析バッファー (洗浄流体) を、3 m l / 分または 6 m l / 分の流速で、M 0 3 0 3 同様に、血液透析モジュール (複数可) の透過水側へ送り出した。ここで、M 0 3 0 3 の流速は、プロダクト中のバッファーが所望する濃度に到達するのに十分な高さで設定された。使用した洗浄流体は袋 B 0 3 0 4 で回収された。

【 0 0 7 3 】

フィードおよび透析液ストリームは、これらの流量が明確に定義され、すなわち、所望されない純流動がフィードスペース (キャピラリー内部) から透析スペース (キャピラリー外部) に、または透析スペースからフィードスペースに、一切起こり得ないように、調節 / 制御された。このため、次の手法を取った。

40

【 0 0 7 4 】

UV、伝導率、pH、流量測定といったオフライン / オンライン信号、または、HPLC もしくは E l i s a といった製品の品質を決定するオフライン測定による、プロダクトストリームのモニタリング。

【 0 0 7 5 】

限外ろ過ユニットの後で、透析モジュールのプロダクト濃度の変化および膜上のゲル層の形成を防止するために、ポンプ M 0 3 0 4 は、M 0 3 0 3 と全く同じ速度で、濃縮およ

50

び透析されたプロダクトストリームを暫定袋 B 0 3 0 2 内に運搬し、その充填を、検量セル W 0 3 0 2 でモニターした。

【 0 0 7 6 】

プロダクトストリームの収率損失および成功したバッファー交換を、プロダクト、グルコースおよび塩の濃度を決定して確認した。

【 0 0 7 7 】

第 1 の実験では、イオン交換を、生物由来プロダクトを一切含有しないプロダクトストリームで試験した。

【 0 0 7 8 】

表 A は、フィード（フィード伝導率）および濃縮水（濃縮水伝導率）の伝導率の測定を、各ポンプのそれぞれのターゲット流速と一緒に示している。

【表 1】

表A 生物由来プロダクトを含まないイオン交換

フィード：0.1モルアセテート、pH7.5 (HCl) / 洗浄流体：完全に脱イオンした水						
操作時間	フィード伝導率	濃縮水伝導率	洗浄	フィード	濃縮水	透過水
時間	$\mu\text{S}/\text{cm}$	$\mu\text{S}/\text{cm}$	ターゲット g / 分	g / 分	g / 分	g / 分
	伝導率3	伝導率4				
0.00						
0.25	7200	3.1	2.8	2.8	3.1	3.1
0.33	7200	1.5	3	3	3.4	3.2
0.67	7200	1.5	3	3	3.1	3.0
1.03	7200	1.5	3	3	3.2	3.1
流速の増加						
0.05	7200	394	20	20	28.7	31.7
0.17	7200	1000	30	30	31.3	32.3
0.33	7200	1193	30	30	31.7	32.5
0.67	7200	1233	30	30	30.8	31.8
0.90	7200	1233	30	30	31.3	32.1
0.1モルアセテート、pH7.5 (HCl) / 洗浄流体：完全に脱イオンした水						
操作時間	フィード伝導率	濃縮水伝導率	洗浄	フィード	濃縮水	透過水
時間	$\mu\text{S}/\text{cm}$	$\mu\text{S}/\text{cm}$	ターゲット g / 分	ターゲット g / 分	g / 分	g / 分
	伝導率3	伝導率4				
0.03	10230	423	30.0	15.0	33.0	66.5
0.17	10230	65	60.0	30.0	30.6	64.4
0.50	10230	52	60.0	30.0	30.9	65.2
0.67	10230	51	60.0	30.0	30.9	66.6
流速の増加						
0.03	10230	10	40.0	45.0	32.0	88.5
0.25	10230	9	80.0	25.4	31.1	89.5
0.50	10230	9	80.0	30.0	31.3	89.8
0.67	10230	9	80.0	30.0	31.0	89.7

【0079】

さらなる実験では、イオン交換を、IgG抗体を含有するプロダクトストリームで試験した (HPLC Prot Aで測定)。

【0080】

表Bは、HPLC Prot Aで測定した、関連ポンプの様々なターゲット流速での濃縮水の伝導率 (濃縮水伝導率) および濃縮水中のIgG抗体の濃度の測定を示す。

【0081】

透過水でも、高い流速で組合せたサンプルにおけるIgGの濃縮が、前述した収率損失の計算方法で決定された。これによれば、透過水の収率損失は1.4%であった。

【 0 0 8 2 】

イオンクロマトグラフィーによる酢酸ナトリウムの濃縮の測定は、成功したプロダクトストリームのバッファ交換を示す。

【表 2】

表B 抗体での透析実験

フィード：1136mg/lの抗体IgGおよび128mMのNaAcを含有するIgG発酵槽プロセス							
洗浄バッファー：50mMイミダゾール/50mMのNaCl、pH7、伝導率7.6 mS/cm							
操作時間	濃縮水伝導率	解析	含有量mM	洗浄ターゲット	フィードターゲット	濃縮水	透過水
時間	mS/cm	mg/l		g/分	g/分	g/分	g/分
	伝導率4	ProtA	NaAc				
伝導率							
	mS/cm						
0.00	0.40						
0.08	5.55			3	3	3.00	3.20
0.17	6.40			3	3	3.20	3.40
0.25	6.93			3	3	3.20	3.20
0.33	7.12			3	3	3.00	3.20
0.42	7.22			3	3	3.00	1.40
0.50	7.26			3	3	3.20	5.20
0.67	7.26			3	3	3.00	3.10
0.83	7.22			3	3	3.00	3.40
1.00	7.17	987.57	3.30	3	3	3.00	3.20
洗浄バッファーの流量増加							
0.17	7.31			3	6	3.10	6.50
0.33	7.59			3	6	3.10	6.40
0.50	7.65			3	6	3.10	6.50
0.67	7.66			3	6	3.10	6.50
1.50	7.67	1067.82	<0.3	3	6	3.12	6.46
	透過水	7.71					

【 0 0 8 3 】

本明細書につながった研究は、欧州地域開発ファンド（ERDF）による「Bio.NRW: MoBiDiK- Modular Bioproduction - Disposable and Continuous」の経済援助の同意に従って支援された。

【図面の簡単な説明】

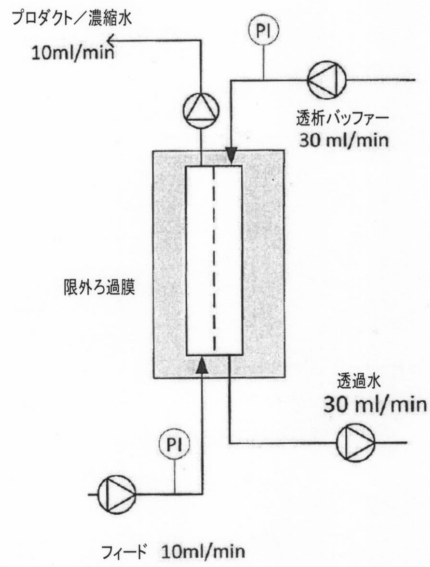
【 0 0 8 4 】

【図1】キャピラリー限外ろ過モジュールを含む本発明による限外ろ過ユニットの例を示す図である。

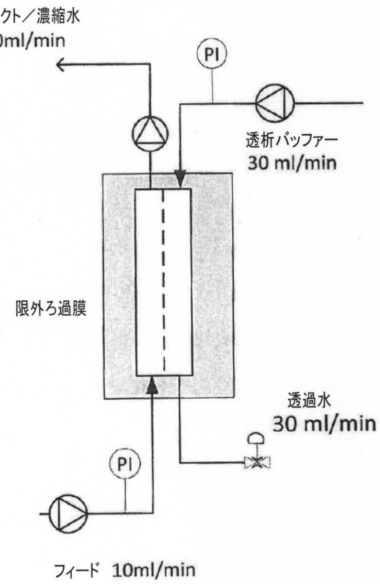
【図2】キャピラリー限外ろ過モジュールを含む本発明による限外ろ過ユニットの例を示す図である。

【図3】限外ろ過ユニットのさらなる実施形態を示す図である。

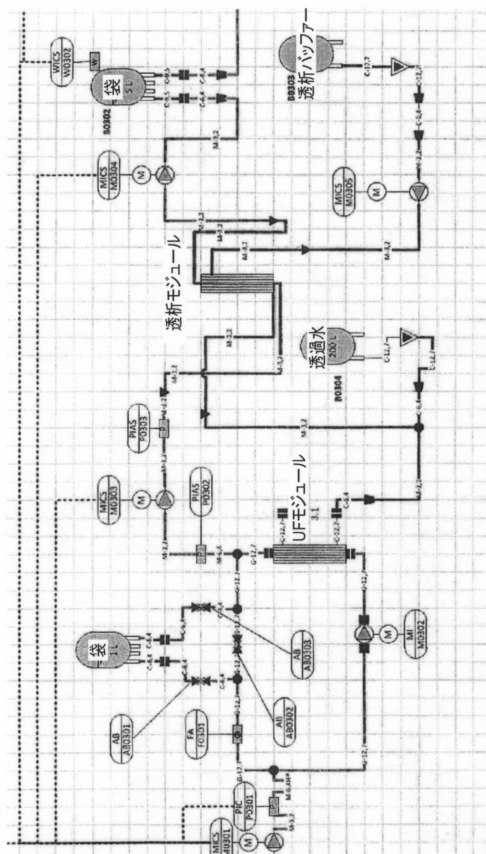
【図 1】



【図 2】



【図 3】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
B 0 1 D 61/58 (2006.01)		B 0 1 D 61/58	
B 0 1 D 63/02 (2006.01)		B 0 1 D 63/02	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)		A 6 1 K 39/395	K
A 6 1 K 35/14 (2015.01)		A 6 1 K 39/395	M
A 6 1 P 7/08 (2006.01)		A 6 1 K 39/395	J
		A 6 1 K 35/14	Z
		A 6 1 P 7/08	

(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 ペーター、シュバン

ドイツ連邦共和国レーパークーゼン、カール-ルンブフ、シュトラッセ、7 5

(72)発明者 ルッツ - ペーター、レンツ

ドイツ連邦共和国ゾーリンゲン、リヒャルト - バグナー、シュトラッセ、8 4

(72)発明者 ケルスティン、パウマース

ドイツ連邦共和国ブッパータール、グレフラーター、シュトラッセ、3 1

(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、3 2 アー

審査官 高 美葉子

(56)参考文献 特開昭 6 3 - 0 3 1 5 0 5 (J P , A)

特表 2 0 0 4 - 5 2 4 0 6 8 (J P , A)

特表 2 0 0 1 - 5 2 0 1 0 1 (J P , A)

米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 0 6 8 2 1 9 (U S , A 1)

特表平 0 8 - 5 0 5 4 6 7 (J P , A)

特表 2 0 0 2 - 5 4 2 9 0 0 (J P , A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

B 0 1 D 5 3 / 2 2

B 0 1 D 6 1 / 0 0 - 7 1 / 8 2

C 0 2 F 1 / 4 4

A 6 1 K 3 9 / 0 0

A 6 1 K 4 9 / 0 0 - 5 1 / 0 0

A 6 1 K 3 5 / 0 0

A 6 1 K 3 6 / 0 6