

請求の範囲

[請求項1] 細胞を含む細胞懸濁液を収容する培養容器を用い、前記培養容器内に配置されたスパージャーから酸素を30体積%以上含むガスを前記細胞懸濁液に放出して細胞を培養することを含み、

前記スパージャーにおけるガス放出部の平均孔径が $1\mu\text{m}$ 以上 $300\mu\text{m}$ 以下であり、

前記スパージャーにおけるガス放出部の表面積 $A\text{ m}^2$ と、前記培養容器内の前記細胞懸濁液の量 $X\text{ m}^3$ と、前記スパージャーから放出される前記ガスの流量 $Q\text{ m}^3/\text{min}$ とが、下記式1-1、下記式1-2及び下記式1-3を満たす

細胞培養方法。

$$\text{式1-1: } 0.004 \leq A/X \leq 0.1$$

$$\text{式1-2: } X \geq 0.5$$

$$\text{式1-3: } 0.001 \leq Q/X \leq 0.1$$

[請求項2] 前記培養容器における前記細胞懸濁液を、 1 g/L のポロキサマー188と、 7 g/L の塩化ナトリウムと、 2 g/L の炭酸水素ナトリウムと、を含む純水である測定用溶液に入れ替え、前記培養における前記 $Q\text{ m}^3/\text{min}$ と同じ流量の空気ガスを、前記スパージャーから前記測定用溶液に送り、前記スパージャーのガス放出口における泡径分布を測定した場合に、前記空気の泡の体積平均泡径 $D_v\mu\text{m}$ が下記式2-1を満たす、請求項1に記載の細胞培養方法。

$$\text{式2-1: } 50 \leq D_v \leq 800$$

[請求項3] 前記培養容器における前記細胞懸濁液を、 1 g/L のポロキサマー188と、 7 g/L の塩化ナトリウムと、 2 g/L の炭酸水素ナトリウムと、を含む純水である測定用溶液に入れ替え、前記培養における前記 $Q\text{ m}^3/\text{min}$ と同じ流量の空気ガスを、前記スパージャーから前記測定用溶液に送り、前記スパージャーのガス放出口における泡径分布を測定した場合に、前記泡径分布において、泡径が $20\mu\text{m}$ 以

上 $500\ \mu\text{m}$ 以下の前記空気の泡の積算体積の割合が、前記泡径分布における泡の全体積の 30 体積%以上である、請求項 1 又は請求項 2 に記載の細胞培養方法。

[請求項4] 前記培養における前記スパージャーによる酸素移動容量係数 $k_L a$ $1/\text{hr}$ が 15 以上である、請求項 1 ～請求項 3 のいずれか 1 項に記載の細胞培養方法。

[請求項5] 前記培養容器における前記細胞懸濁液を、 $1\ \text{g/L}$ のポロキサマー 188 と、 $7\ \text{g/L}$ の塩化ナトリウムと、 $2\ \text{g/L}$ の炭酸水素ナトリウムと、を含む純水である測定用溶液に入れ替え、前記培養における前記 $Q\ \text{m}^3/\text{min}$ と同じ流量の空気ガスを、前記スパージャーから前記測定用溶液に送り、前記スパージャーのガス放出口における泡径分布を測定した場合に、前記 $Q\ \text{m}^3/\text{min}$ と、前記 $A\ \text{m}^2$ と、前記測定用溶液の密度 $\rho_L\ \text{kg/m}^3$ と、前記空気ガスの密度 $\rho_g\ \text{kg/m}^3$ と、前記測定用溶液の粘度 $\mu_L\ \text{kg/m/s}$ と、重力加速度 $g\ \text{m/s}^2$ とが、下記式 3-1 を満たす、請求項 1 ～請求項 4 のいずれか 1 項に記載の細胞培養方法。

$$\text{式 3-1: } 0.1 \leq (Q/A/60) / [\{3 \times 10^{-8} \times (\rho_L - \rho_g) \times g\} / (18 \times \mu_L)] \leq 5$$

[請求項6] 前記培養において、前記 $Q\ \text{m}^3/\text{min}$ と、前記 $A\ \text{m}^2$ とが下記式 4-1 を満たす、請求項 1 ～請求項 5 のいずれか 1 項に記載の細胞培養方法。

$$\text{式 4-1: } 0.1 \leq Q/A \leq 5$$

[請求項7] 前記培養容器における前記細胞懸濁液を、 $1\ \text{g/L}$ のポロキサマー 188 と、 $7\ \text{g/L}$ の塩化ナトリウムと、 $2\ \text{g/L}$ の炭酸水素ナトリウムと、を含む純水である測定用溶液に入れ替え、前記培養における前記 $Q\ \text{m}^3/\text{min}$ と同じ流量の空気ガスを、前記スパージャーから前記測定用溶液に送り、前記スパージャーのガス放出口における泡径分布を測定した場合に、前記培養における前記培養容器の内底面か

ら前記細胞懸濁液の上面までの液面高さ Z_L (m)と、前記培養容器内の培養容器の内底面からスパージャー設置面までの高さ Z_s (m)と、前記泡径分布における泡の体積平均泡径 D_v (μm)と、前記測定用溶液の密度 ρ_L (kg/m^3)と、前記空気ガスの密度 ρ_g (kg/m^3)と、重力加速度 g (m/s^2)と、前記測定用溶液の粘度 μ_L ($\text{kg}/\text{m}/\text{s}$)とが、下記式 5-1 を満たす、請求項 1～請求項 6 のいずれか 1 項に記載の細胞培養方法。

$$\text{式 5-1: } 2 \leq (Z_L - Z_s) / \{D_v^2 \times 10^{-12} \times (\rho_L - \rho_g) \times g / (18 \times \mu_L)\} \leq 300$$

[請求項8] 前記 X (m^3)、前記培養容器の内底面から前記細胞懸濁液の上面までの液面高さ Z_L (m)、前記培養容器内の培養容器の内底面からスパージャー設置面までの高さ Z_s (m)において、下記式 6-1、及び、式 6-2 を満たす、請求項 1～請求項 7 のいずれか 1 項に記載の細胞培養方法。

$$\text{式 6-1: } Z_s / Z_L \leq 0.5$$

$$\text{式 6-2: } 0.5 \leq Z_L / (4 \times X / Z_L / 3.14)^{0.5} \leq 4$$

[請求項9] 前記細胞懸濁液内の細胞濃度が 4×10^7 cells/mL 以上である、請求項 1～請求項 8 のいずれか 1 項に記載の細胞培養方法。

[請求項10] 細胞を培養する方法が灌流培養である、請求項 1～請求項 9 のいずれか 1 項に記載の細胞培養方法。

[請求項11] 前記培養容器がシングルユース培養槽である、請求項 1～請求項 10 のいずれか 1 項に記載の細胞培養方法。

[請求項12] 前記スパージャーが金属焼結スパージャーである、請求項 1～請求項 11 のいずれか 1 項に記載の細胞培養方法。

[請求項13] 前記スパージャーのガス放出部の形状が、円型の平面形状、多角形の平面形状、又は、円柱形状である、請求項 1～請求項 12 のいずれか 1 項に記載の細胞培養方法。

- [請求項14] 前記スパージャーとして複数のスパージャーを含む、請求項1～請求項13のいずれか1項に記載の細胞培養方法。
- [請求項15] 前記スパージャーが、1以上のスパージャーを含むユニットを複数含む構成であり、前記各ユニット毎に前記ガスの流量を調整する、請求項1～請求項13のいずれか1項に記載の細胞培養方法。
- [請求項16] 請求項1～請求項15のいずれか1項に記載の細胞培養方法により細胞を培養すること、及び、培養された細胞により生産された生産物を得ることを含む
生産物の製造方法。
- [請求項17] 前記生産物が抗体である、請求項16に記載の生産物の製造方法。
- [請求項18] 細胞を含む細胞懸濁液を収容し、細胞を培養する培養容器、及び、前記培養容器内に前記細胞懸濁液中に酸素を30体積%以上含むガスを放出するためのスパージャーを備え、
前記スパージャーの平均孔径が1 μm 以上300 μm 以下であり、
前記スパージャーの面積 $A \text{ m}^2$ 、前記培養容器内に最大に充填できる前記細胞懸濁液量 $X_{\text{max}} \text{ m}^3$ が下記式7-1及び式7-2を満たす
細胞培養装置。
式7-1: $0.004 \leq A / X_{\text{max}} \leq 0.1$
式7-2: $X_{\text{max}} \geq 0.5$
- [請求項19] 前記培養容器の内底面から前記培養容器内に前記細胞懸濁液を最大に充填したときの前記細胞懸濁液の上面までの液面高さ $Z_{\text{Lmax}} \text{ m}$ と、前記培養容器内の培養容器の内底面からスパージャー設置面までの高さ $Z_s \text{ m}$ において、下記式8-1を満たす、請求項18に記載の細胞培養装置。
式8-1: $2 \leq (Z_{\text{Lmax}} - Z_s) / 0.02 \leq 300$
- [請求項20] 前記 $X_{\text{max}} \text{ m}^3$ 、前記培養容器の内底面から前記培養容器内に前記細胞懸濁液を最大に充填したときの前記細胞懸濁液の上面までの

液面高さ Z_{Lmax} m、前記培養容器内の培養容器の内底面からスパージャー設置面までの高さ Z_s mが、下記式 9-1 及び式 9-2 を満たす、請求項 18 又は請求項 19 に記載の細胞培養装置。

$$\text{式 9-1 : } Z_s / Z_{Lmax} \leq 0.5$$

$$\text{式 9-2 : } 0.5 \leq Z_{Lmax} / \{ (4 \times X_{max} / Z_{Lmax} / 3.14)^{0.5} \} \leq 4$$

- [請求項21] 前記培養容器がシングルユース培養槽である、請求項 18～請求項 20 のいずれか 1 項に記載の細胞培養装置。
- [請求項22] 前記スパージャーが金属焼結スパージャーである、請求項 18～請求項 21 のいずれか 1 項に記載の細胞培養装置。
- [請求項23] 前記スパージャーのガス放出部の形状が円型の平面形状、多角形の平面形状、又は、円柱形状である、請求項 18～請求項 22 のいずれか 1 項に記載の細胞培養装置。
- [請求項24] 前記スパージャーとして複数のスパージャーを含む、請求項 18～請求項 23 のいずれか 1 項に記載の細胞培養装置。
- [請求項25] 前記スパージャーが、1 以上のスパージャーを含むユニットを複数含む構成であり、前記各ユニット毎に前記ガスの流量を調整可能である、請求項 18～請求項 23 のいずれか 1 項に記載の細胞培養装置。
- [請求項26] 灌流細胞培養装置である、請求項 18～請求項 25 のいずれか 1 項に記載の細胞培養装置。