【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】平成26年8月14日(2014.8.14)

【公表番号】特表2013-535961(P2013-535961A)
【公表日】平成25年9月19日(2013.9.19)
【年通号数】公開・登録公報2013-051
【出願番号】特願2013-518758(P2013-518758)
【国際特許分類】
*Ｃ１２Ｎ　5/071　(2010.01)*
*Ｃ１２Ｎ　5/074　(2010.01)*
*Ｃ１２Ｎ　5/0775　(2010.01)*
*Ｃ１２Ｎ　5/09　(2010.01)*
*Ｃ１２Ｎ　7/00　(2006.01)*
*Ｃ１２Ｎ　5/0735　(2010.01)*
*Ｃ１２Ｎ　5/10　(2006.01)*
*Ｃ１２Ｐ　21/02　(2006.01)*
*Ｃ１２Ｑ　1/02　(2006.01)*
*Ａ６１Ｌ　27/00　(2006.01)*
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　5/00　２０２Ａ
Ｃ１２Ｎ　5/00　２０２Ｄ
Ｃ１２Ｎ　5/00　２０２Ｈ
Ｃ１２Ｎ　5/00　２０２Ｕ
Ｃ１２Ｎ　7/00
Ｃ１２Ｎ　5/00　２０２Ｃ
Ｃ１２Ｎ　5/00　１０２
Ｃ１２Ｐ　21/02　Ａ
Ｃ１２Ｑ　1/02
Ａ６１Ｌ　27/00　Ｖ

【手続補正書】
【提出日】平成26年6月25日(2014.6.25)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
生体組織からのバイオマトリックス足場の製造方法であって、
a)第1培地で生体組織を灌流するかまたは生体組織をホモジナイズし、ここで前記第1培地の重量オスモル濃度は約250mOsm/kg～約350mOsm/kgであり、前記第1培地は無血清かつ中性pHであり;
b)前記第1培地にリパーゼおよび/または洗浄剤を含む脱脂緩衝液で段階(a)の生体組織を灌流するかまたは段階(a)のホモジネートを抽出し;
c)中性pHかつ約2.0M NaCl～約5.0NaClの塩濃度であって、生体組織内で同定されるコラーゲンを不溶性に保つように選択された塩濃度を含む緩衝液で段階(b)の組織を灌流するかまたは段階(b)のホモジネートを抽出し;
d)緩衝液中、RNアーゼおよびDNアーゼで段階(c)の組織を灌流するかまたは段階(c)のホモ

ジネートを抽出し;
e)中性pHかつ無血清であり、約250mOsm/kg～約350mOsm/kgの重量オスモル濃度を有する第2培地で段階(d)の組織またはホモジネートをリンスする段階;
を含み、それによって生体組織から、無傷のまたはホモジナイズしたバイオマトリックス足場であって、コラーゲンの少なくとも95%および生体組織のコラーゲン結合性マトリックス成分およびマトリックス結合性増殖因子、ホルモンおよびサイトカインの大部分を含む前記足場を製造する前記方法。
【請求項２】
第1培地が、塩、ミネラル、アミノ酸、ビタミンおよび糖を含む、請求項1に記載の方法。
【請求項３】
第1培地が基礎培地である、請求項1に記載の方法。
【請求項４】
基礎培地が、RPMI 1640、DME/F12、DME、F12、ウェイマウスおよびウィリアム培地からなる群から選択される、請求項3に記載の方法。
【請求項５】
第2培地が、間質液に存在する成分の少なくとも1つを含む、請求項1に記載の方法。
【請求項６】
段階(b)の脱脂緩衝液が、第1培地に約20単位/L～約50単位/Lのホスホリパーゼ A2および約1%のデオキシコール酸ナトリウムを含む、請求項1に記載の方法。
【請求項７】
段階(c)の緩衝液の塩濃度が、成人肝臓からの足場製造に用いる場合、約3.4M NaCl～約3.5M NaClであり、胎児肝臓からの足場製造に用いる場合、約4.0M NaCl～約4.5M NaClである、請求項1に記載の方法。
【請求項８】
段階(c)の緩衝液がプロテアーゼインヒビターをさらに含む、請求項1に記載の方法。
【請求項９】
プロテアーゼインヒビターが大豆トリプシンインヒビターである、請求項8に記載の方法。
【請求項１０】
段階(d)の緩衝液がプロテアーゼインヒビターをさらに含む、請求項1に記載の方法。
【請求項１１】
プロテアーゼインヒビターが大豆トリプシンインヒビターである、請求項10に記載の方法。
【請求項１２】
段階(a)～(e)のすべての培地および緩衝液が、細胞外マトリックス成分を分解する酵素の検出可能な量を含まない、請求項1に記載の方法。
【請求項１３】
バイオマトリックス足場を滅菌することをさらに含む、請求項1に記載の方法。
【請求項１４】
滅菌段階がバイオマトリックス足場のγ線照射を含む、請求項13に記載の方法。
【請求項１５】
生体組織が肝臓組織、肺組織、膵臓組織、甲状腺組織、腸管組織、皮膚組織、血管組織、膀胱組織、心臓組織および腎組織からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。
【請求項１６】
生体組織が哺乳動物由来である、請求項1に記載の方法。
【請求項１７】
請求項1～16のいずれかに記載の方法によって製造されるバイオマトリックス足場。
【請求項１８】
細胞培養物の製造方法であって、

a)請求項1～16のいずれかに記載の方法によってバイオマトリックス足場を製造し;
b)段階(a)のバイオマトリックス足場と細胞培養培地を培養装置内で接触させ;
c)段階(b)のバイオマトリックス足場に細胞を播種すること;
を含み、それによって細胞培養物を製造する前記方法。
【請求項１９】
細胞培養培地が、間質液に存在する成分の少なくとも1つを含み、前記培地の重量オスモル濃度が約250mOsm/kg～約350mOsm/kgであり、前記培地が無血清である、請求項18に記載の方法。
【請求項２０】
培地がRPMI-1640である、請求項19に記載の方法。
【請求項２１】
細胞が、バイオマトリックス足場の製造に用いられる生体組織の細胞と同じ型である、請求項18～20のいずれかに記載の方法。
【請求項２２】
細胞が、胚性幹(ES)細胞、人工多能性幹(iPS)細胞、決定された幹細胞、周産期幹細胞、羊水由来幹細胞(AFSC)、任意の起源の間葉系幹細胞(MSC)、任意の組織型の、分化方向を決定された前駆細胞または成人細胞、成熟細胞、正常細胞、罹患細胞、腫瘍細胞およびそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、請求項18～20のいずれかに記載の方法。
【請求項２３】
細胞が、肝臓細胞、実質細胞、星細胞、内皮細胞、肝細胞、胆管細胞、胆管細胞ではない胆樹細胞および膵臓細胞からなる群から選択される、請求項18～20のいずれかに記載の方法。