

【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2区分

【発行日】平成22年4月15日(2010.4.15)

【公表番号】特表2009-529926(P2009-529926A)

【公表日】平成21年8月27日(2009.8.27)

【年通号数】公開・登録公報2009-034

【出願番号】特願2008-557416(P2008-557416)

【国際特許分類】

A 6 1 L	15/58	(2006.01)
A 6 1 K	9/06	(2006.01)
A 6 1 K	35/12	(2006.01)
A 6 1 K	47/36	(2006.01)
A 6 1 K	47/02	(2006.01)
A 6 1 K	47/12	(2006.01)
A 6 1 K	47/18	(2006.01)
A 6 1 K	47/24	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 P	17/02	(2006.01)
A 6 1 K	8/02	(2006.01)
A 6 1 K	8/73	(2006.01)
A 6 1 K	8/19	(2006.01)
A 6 1 Q	19/00	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
A 2 3 L	1/29	(2006.01)

【F I】

A 6 1 L	15/06	
A 6 1 K	9/06	
A 6 1 K	35/12	
A 6 1 K	47/36	
A 6 1 K	47/02	
A 6 1 K	47/12	
A 6 1 K	47/18	
A 6 1 K	47/24	
A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 P	17/02	
A 6 1 K	8/02	
A 6 1 K	8/73	
A 6 1 K	8/19	
A 6 1 Q	19/00	
C 1 2 N	5/00	A
A 2 3 L	1/29	

【手続補正書】

【提出日】平成22年2月23日(2010.2.23)

【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】**

細孔をもちそしてポリマー及びゲル形成のためのゲル形成イオンを含む発泡体を用意し、該イオンとの接触でゲルを形成できるゲル化サイトをもつ可溶性ポリサッカライドを含む液体成分を該発泡体と接触させ、それによって該イオンとの接触で、可溶性ポリサッカライドを含むゲルが該発泡体の細孔内に形成されることを特徴とする複合体の発泡方法。

**【請求項 2】**

発泡体が、アルギン酸塩、ペクチン、カラギーナン、ヒアルロン酸塩、キトサン及びそれらの混合物から選択されたポリサッカライドからなる請求項 1に記載の方法。

**【請求項 3】**

発泡体が、少なくとも一つの細胞付着ペプチド配列をもった変性アルギン酸塩からなる請求項 1に記載の方法。

**【請求項 4】**

ゲル形成イオンが、可溶性ポリサッカライドのゲル部分の少なくとも 10 % に相当するモル量で存在する請求項 1 から 3のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 5】**

発泡体の細孔内にゲルをもつ発泡体からなる複合体であって、該複合体が請求項 1 から 4のいずれか一項に記載の方法によって得られることを特徴とする複合体。

**【請求項 6】**

i ) 発泡体が細孔をもちそして発泡体の少なくとも一部に分布しているゲル形成イオンを含む発泡体；及び i i ) ポリサッカライドを含むゲルであって、ゲルが発泡体の細孔内に位置しそして発泡体と相互作用していることを特徴とする複合体。

**【請求項 7】**

細孔をもつ発泡体からなり、発泡体がゲル形成イオンをもち、ポリサッカライドゲルが細孔の少なくともいくつかに存在する複合体。

**【請求項 8】**

発泡体が、水、生理溶液、可溶性ポリサッカライド溶液からなる群から選択された液体を発泡体重量の 1 から 30 倍の重量で吸収し、そしてポリサッカライド溶液が機能性成分を含む請求項 5 から 7のいずれか一項に記載の複合体。

**【請求項 9】**

請求項 1 から 8のいずれか一項に記載の方法によって複合体を形成することからなると共に液体成分が細胞を含み、該ポリサッカライドが発泡体の細孔内でゲル化し、ゲル形成イオンがストロンチウムイオンを含むことを特徴とする細胞増殖を阻害する方法。

**【請求項 10】**

インヴィトロの組織培養用途又はインヴィヴォの組織工学用途のための細胞固定及び／又は増殖のためのマトリックスとしての請求項 5 から 8のいずれか一項に記載の複合体の使用。

**【請求項 11】**

組織に発泡体を固定し、該発泡体は連続細孔とゲル形成イオンをもち、可溶性ポリサッカライドを含む溶液を加えそしてポリサッカライドをゲル形成イオンと反応させることによって、請求項 5 から 8のいずれか一項に記載の複合体からなる組織へ取り付けるための部材。

**【請求項 12】**

可溶性アルギン酸塩と水を含む液体成分を、ゲル化した、ゲル形成イオンを取り込んだ、連続細孔のアルギン酸塩発泡体に添加し；そして発泡体が液体を吸収しそれによって細孔内でゲルを形成するときに可溶性アルギン酸塩を該ゲル形成イオンと反応させることからなるアルギン酸塩発泡体の細孔内でのゲル化を誘引させる方法。

**【請求項 13】**

a ) ポリサッカライド、及び発泡剤及び所望による可塑剤、架橋剤及び pH 変性剤の一つ以上を含む水溶液分散物から湿潤発泡体を形成し；b ) 所望により機械攪拌によって、

水溶液分散物から発泡体を混合し；c) i) 発泡体を成形し；そして i i) 発泡体から架橋した発泡体を形成する工程の一つ以上を所望により実施し；d) 連続細孔を含む乾燥発泡体を形成するために発泡体を乾燥し；そして工程 a) から d) の一つ以上に、又は工程 d) の後でゲル形成イオンを添加することを特徴とする、連続細孔ネットワークと細孔をもち引き続き添加されたポリサッカライド溶液をゲル化させるためのゲル形成イオンを含む乾燥吸収発泡体を形成する方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0184

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0184】

本発明の複合体は生物医学用途、例えば、細胞培養媒体及び移植、徐放伝達系、食品用途、工業用途、及び化粧品及び口腔衛生を含むパーソナルケア用途に有用である。また、本発明の複合体は医療用途、例えば創傷処置、組織工学及び組織再生及び細胞固定において使用するのに特に好適である。

以下に、本発明と好ましい態様をまとめて述べる。

1. 細孔をもちそしてポリマー及びゲル形成のためのゲル形成イオンを含む発泡体を用意し、該イオンとの接触でゲルを形成できるゲル化サイトをもつ可溶性ポリサッカライドを含む液体成分を該発泡体と接触させ、それによって該イオンとの接触で、可溶性ポリサッカライドを含むゲルが該発泡体の細孔内に形成されることを特徴とする複合体の発泡方法。

2. 発泡体が殺菌されている上記1記載の方法。

3. ゲル形成イオンの少なくとも一部が、ゲル形成イオンを含む溶液中で発泡体を洗浄するか又は浸漬しそれから過剰の溶液を除去することによって取り込まれる上記1又は2記載の方法。

4. 発泡体がバイオポリマーからなる上記1から3のいずれか一項に記載の方法。

5. 発泡体が、アルギン酸塩、ペクチン、カラギーナン、ヒアルロン酸塩、キトサン及びそれらの混合物から選択されたポリサッカライドからなる上記1から4のいずれか一項に記載の方法。

6. 発泡体が変性アルギン酸塩からなる上記1から5のいずれか一項に記載の方法。

7. 発泡体が、少なくとも一つの細胞付着ペプチド配列をもった変性アルギン酸塩からなる上記1から6のいずれか一項に記載の方法。

8. 発泡体中のポリマーがアルギン酸塩からなりそしてアルギン酸塩の平均分子量が約10kDaから約500kDaである上記1から7のいずれか一項に記載の方法。

9. 発泡体中のアルギネットの平均分子量が約50kDaから約300kDaである上記8記載の方法。

10. 発泡体中のポリマーがアルギン酸塩からなりそしてアルギン酸塩が20%以上のG含量をもつ上記1から9のいずれか一項に記載の方法。

11. ゲル形成イオンが、可溶性ポリサッカライドのゲル部分の少なくとも10%に相当するモル量で存在する上記1から10のいずれか一項に記載の方法。

12. ゲル形成イオンが、可溶性ポリサッカライドのゲル化サイトの5%から250%に相当するモル量で存在する上記1から11のいずれか一項に記載の方法。

13. ゲル形成イオンがカルシウムイオンからなり、そしてゲル化イオンが可溶性ポリサッカライドのゲル化サイトの5%から200%に相当するモル量で存在する上記1から12のいずれか一項に記載の方法。

14. ゲル形成イオンがストロンチウムイオンからなり、そしてゲル化イオンが可溶性ポリサッカライドのゲル化サイトの少なくとも5%から200%に相当するモル量で存在する上記1から13のいずれか一項に記載の方法。

15. ゲル形成イオンがバリウムイオンからなり、そしてゲル化イオンが可溶性ポリサッ

カライトのゲル化サイトの少なくとも 5 % から 2 0 0 % に相当するモル量で存在する上記 1 から 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

1 6 . 可溶性ポリサッカライドが可溶性ポリサッカライドを含む該液体の約 0 . 2 % から 約 1 0 % の重量濃度をもつ上記 1 から 1 5 のいずれか一項に記載の方法。

1 7 . 可溶性ポリサッカライドが可溶性ポリサッカライドを含む該液体の約 0 . 5 % から 約 5 % の重量濃度をもつ上記 1 から 1 6 のいずれか一項に記載の方法。

1 8 . 液体成分中のポリサッカライドがアルギン酸塩、キトサン、カラギーナン、ヒアルロン酸塩及びペクチン及びそれらの混合物から選択されたものである上記 1 から 1 7 のいずれか一項に記載の方法。

1 9 . ポリサッカライドがアルギン酸塩からなる上記 1 8 記載の方法。

2 0 . もし人体内に移植される発泡体 / ゲル複合体用に使用されるときは、アルギン酸塩が 1 0 0 E U / g 以下のエンドトキシン含量をもつ上記 1 9 記載の方法。

2 1 . 可溶性ポリサッカライドが、約 4 0 0 0 ダルトンから 5 0 0 0 0 ダルトンの平均分子量をもったアルギン酸塩からなる上記 1 から 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

2 2 . 液体成分中のポリマーがアルギン酸塩からなりそしてアルギン酸塩が約 2 0 % から 約 8 0 % の G 含量をもつ上記 1 から 2 1 のいずれか一項に記載の方法。

2 3 . 液体成分中のポリマーがアルギン酸塩からなりそしてアルギン酸塩が少なくとも 2 0 % の M 含量をもつ上記 1 から 2 2 のいずれか一項に記載の方法。

2 4 . 該液体成分が約 2 m P a s から約 5 0 0 m P a s の粘度をもつ上記 1 から 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

2 5 . 液体成分が約 1 0 m P a s から約 2 0 0 m P a s の粘度をもつ上記 2 4 記載の方法。

。

2 6 . 該液体成分がさらに機能性成分を含む上記 1 から 2 5 のいずれか一項に記載の方法

。

2 7 . 機能性成分が風味剤、芳香剤、粒子、細胞、多細胞集合体、治療剤、組織再生剤、成長因子、及び機能性食品からなる群から選択される上記 2 6 記載の方法。

2 8 . 該液体成分が機能性成分に対して不活性であるか機能性成分を安定化させる上記 2 7 記載の方法。

2 9 . ポリサッカライドが細胞付着ペプチド配列を含んでいる上記 1 から 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

3 0 . 発泡体の細孔内にゲルをもつ発泡体からなる複合体であって、該複合体が上記 1 から 2 9 のいずれか一項に記載の方法によって得られることを特徴とする複合体。

3 1 . i ) 発泡体が細孔をもちそして発泡体の少なくとも一部に分布しているゲル形成イオンを含む発泡体；及び i i ) ポリサッカライドを含むゲルであって、ゲルが発泡体の細孔内に位置しそして発泡体と相互作用していることを特徴とする複合体。

3 2 . 細孔をもつ発泡体からなり、発泡体がゲル形成イオンをもち、ポリサッカライドゲルが細孔の少なくともいくつかに存在する複合体。

3 3 . 発泡体が、水、生理溶液、可溶性ポリサッカライド溶液からなる群から選択された液体を発泡体重量の 1 から 3 0 倍の重量で吸収し、そしてポリサッカライド溶液が機能性成分を含む上記 3 0 から 3 2 のいずれか一項に記載の複合体。

3 4 . 複合体の弾性率が 0 . 1 k P a から 1 0 0 0 k P a である上記 3 0 から 3 3 のいずれか一項に記載の複合体。

3 5 . 発泡体及び / 又はポリサッカライドが低含有量のエンドトキシンをもつ超高純度のポリサッカライドからなる上記 3 0 から 3 4 のいずれか一項に記載の複合体。

3 6 . ポリサッカライドゲルがさらに機能性成分を含む上記 3 0 から 3 5 のいずれか一項に記載の複合体。

3 7 . 機能性成分が風味剤、芳香剤、粒子、細胞、多細胞集合体、治療剤、組織再生剤、成長因子、及び機能性食品からなる群から選択される上記 3 6 記載の複合体。

3 8 . 機能性成分が細胞からなる上記 3 7 記載の複合体。

3 9 . ゲル形成イオンがバリウムイオン、ストロンチウムイオン、又はそれらの混合物を

含む上記 3 8 記載の複合体からなる細胞増殖阻害用の複合体。

4 0 . ゲル形成イオンがカルシウムイオンを含む上記 3 7 から 3 9 のいずれか一項に記載の複合体からなる細胞増殖阻促進用の複合体。

4 1 . 発泡体がアルギン酸塩からなり、発泡体がさらに薬学活性剤及び / 又は抗粘着剤から選択された機能性成分を含む上記 1 から 2 9 のいずれか一項に記載の方法によって製造された複合体。

4 2 . 上記 3 7 から 4 0 のいずれか一項に記載の複合体を、生体細胞に中性な浸透圧に調節したゲル形成イオンを含む溶液で洗浄することを特徴とする複合体中で細胞増殖を促進する方法。

4 3 . 洗浄工程が複合体の機械的性質を変性するように、ゲル形成イオンが選択される上記 4 2 記載の方法。

4 4 . 複合体を洗浄するために使用される溶液が、約 5 mM から約 2 0 0 mM の濃度で、カルシウム塩、バリウム塩及びストロンチウム塩から選択された塩を含む上記 4 2 又は 4 3 記載の方法。

4 5 . 上記 1 から 2 9 のいずれか一項に記載の方法によって複合体を形成することからなると共に液体成分が細胞を含み、該ポリサッカライドが発泡体の細孔内でゲル化し、ゲル形成イオンがストロンチウムイオンを含むことを特徴とする細胞増殖を阻害する方法。

4 6 . 回収剤を含む水溶液を、可溶性サッカライドを含むゲルと接触させ、そこで該水溶液が生体細胞に中性な浸透圧を与えるように調節されていることを特徴とする上記 3 8 記載の複合体から細胞を回収する方法。

4 7 . 回収剤がクエン酸ナトリウム又はその他のクエン酸の可溶性塩、EDTA ナトリウム又はその他の EDTA 可溶性塩、又はヘキサメタfosfate を含む上記 4 6 記載の方法。

4 8 . インヴィトロの組織培養用途又はインヴィヴォの組織工学用途のための細胞固定及び / 又は増殖のためのマトリックスとしての上記 3 0 から 4 1 のいずれか一項に記載の複合体の使用。

4 9 . 複合体が、人や動物の身体に活性剤のインヴィヴォ徐放性を与えるための治療剤をさらに含む上記 3 0 から 4 1 のいずれか一項に記載の複合体の使用。

5 0 . 複合体が、インヴィヴォの創傷処置を与えるための創傷処置に使用するための成分をさらに含む上記 3 0 から 4 1 のいずれか一項に記載の複合体の使用。

5 1 . 組織に発泡体を固定し、該発泡体は連続細孔とゲル形成イオンをもち、可溶性ポリサッカライドを含む溶液を加えそしてポリサッカライドをゲル形成イオンと反応させることによって、上記 3 0 から 4 1 のいずれか一項に記載の複合体を該組織へ取り付けるための方法。

5 2 . 縫合によって複合体を組織に取り付けることからなる上記 3 0 から 4 1 のいずれか一項に記載の複合体の該組織への取り付け方法。

5 3 . 上記 1 から 2 9 のいずれか一項に記載の方法によって製造される複合体を移植しそして、発泡体が細胞成長を確立させる目的で人又は動物の身体内にアルギン酸塩を含むことを特徴とする細胞成長の促進方法。

5 4 . 可溶性アルギン酸塩と水を含む液体成分を、ゲル化した、ゲル形成イオンを取り込んだ、連続細孔のアルギン酸塩発泡体に添加し；そして発泡体が液体を吸収しそれによって細孔内でゲルを形成するときに可溶性アルギン酸塩を該ゲル形成イオンと反応させることからなるアルギン酸塩発泡体の細孔内のインシッゲル化を誘引させる方法。

5 5 . 組織と隣接した組織間に障壁を与えるように上記 3 0 から 4 1 のいずれか一項に記載の複合体を組織に適用することからなる、隣接した組織への組織の付着を防止する方法。

5 6 . a ) ポリサッカライド、及び発泡剤及び所望による可塑剤、架橋剤及び pH 変性剤の一つ以上を含む水溶液分散物から湿潤発泡体を形成し； b ) 所望により機械攪拌によって、水溶液分散物から発泡体を混合し； c ) i ) 発泡体を成形し；そして i i ) 発泡体から架橋した発泡体を形成する工程の一つ以上を所望により実施し； d ) 連続細孔を含む乾

燥発泡体を形成するために発泡体を乾燥し；そして工程 a ) から d ) の一つ以上に、又は工程 d ) の後でゲル形成イオンを添加することを特徴とする、連続細孔ネットワークと細孔をもち引き続き添加されたポリサッカライド溶液をゲル化させるためのゲル形成イオンを含む乾燥吸収発泡体を形成する方法。

57. ポリサッカライドがヒアルロン酸塩を含む上記 56 記載の方法。