

【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30年2月8日 (2018.2.8)

【公表番号】特表2017-500893(P2017-500893A)

【公表日】平成29年1月12日 (2017.1.12)

【年通号数】公開・登録公報2017-002

【出願番号】特願2016-560860(P2016-560860)

【国際特許分類】

C 1 2 N 1/00 (2006.01)

C 1 2 N 1/04 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 1/00 F

C 1 2 N 1/00 G

C 1 2 N 1/04

C 1 2 N 1/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成29年12月19日 (2017.12.19)

【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】

細胞懸濁液または付着性培養物中で細胞と共に使用するための培地であって、
基本生理学的緩衝液ミックスと、

(a) コレステロール、ホスファチジルコリン及び脂肪酸を含むリボソームであって、細胞懸濁液もしくは付着性培養物中のコレステロールの最終濃度が $1 \text{ mg/L} \sim 20 \text{ mg/L}$ であり、細胞懸濁液もしくは付着性培養物中のホスファチジルコリンの最終濃度が $100 \text{ mg/L} \sim 1000 \text{ mg/L}$ である量のリボソーム；または

(b) ペクチン；または

(a) 及び (b) と

を含み、

血清代替物、完全培地、培地添加物または凍結保存培地であってもよい前記培地。

【請求項 2】

前記リボソームは、リノレン酸、リノール酸、ミリスチン酸及びオレイン酸からなる群から選択される 1 種以上の脂肪酸を含み、

前記リボソームはエタノールアミン及びポリソルベートをさらに含むか又は含まない、請求項 1 に記載の培地。

【請求項 3】

前記基本生理学的緩衝液ミックスは、1 種以上の有機塩、無機塩、緩衝剤、鉄源または鉄輸送体、グリセロール、アミノ酸、ビタミン、糖、抗酸化剤及び微量元素を含み、

細胞懸濁液または付着性培養物中のグリセロールの最終濃度は $2 \mu\text{L/L} \sim 0.5 \text{ mL/L}$ であってもよく、

前記鉄源または鉄輸送体は、トランスフェリン、ラクトフェリン、硫酸第一鉄、クエン酸第一鉄、クエン酸第二鉄、硝酸第二鉄、硫酸第二鉄、クエン酸第二鉄アンモニウム、シュウ酸第二鉄アンモニウム、フマル酸第二鉄アンモニウム、リンゴ酸第二鉄アンモニウム及びコハク酸第二鉄アンモニウムからなる群から選択されるか又は前記群から選択されず

、
グリシン、L - アラニン、L - アルギニン、L - アスパラギン、L - アスパラギン酸、
L - L - シトルリン、L - システイン塩酸塩、L - シスチン、L - グルタミン酸、L -
グルタミン、L - ヒスチジン、L - イソロイシン、L - ロイシン、L - リシン、L - メチ
オニン、L - オルニチン、L - フェニルアラニン、L - プロリン、L - セリン、L - トレ
オニン、L - トリプトファン、L - チロシン及びL - バリンからなる群から選択される 1
種以上のアミノ酸を含むか又は含まず、

リン酸カリウム、塩化カルシウム（無水）、硫酸銅、硝酸第二鉄、硫酸第二鉄、塩化マ
グネシウム（無水）、硫酸マグネシウム（無水）、塩化カリウム、重炭酸ナトリウム、塩
化ナトリウム、リン酸ナトリウム二塩基性無水物、リン酸ナトリウム一塩基性、塩化スズ
、硫酸亜鉛及び重炭酸ナトリウムからなる群から選択される 1 種以上の塩を含むか又は含
まず、

ビオチン、塩化コリン、D - パントテン酸カルシウム、葉酸、ナイアシンアミド、塩酸
ピリドキシン、ビボフラビン、塩酸チアミン、ビタミン B 1 2、及び i - イノシトールか
らなる群から選択される 1 種以上のビタミンを含むか又は含まず、

セレン、モリブデネート、クロム、コバルト、ニッケル、亜鉛、銅、マンガン、バリウ
ム、ガリウム、リチウム、スズ、チタン、臭素、ヨウ素、バナジウム、ゲルマニウム、モ
リブデン、ケイ素、鉄、フッ素、銀、ルビジウム、ジルコニウム、カドミウム、及びアル
ミニウムからなる群から選択される 1 種以上の微量元素を含むか又は含まない、

請求項 1 または請求項 2 に記載の培地。

【請求項 4】

ホスファチジルコリン、エタノールアミン、リノレン酸、リノール酸、コレステロール
、及びポリソルベートを含むリポソームと、

少なくとも 1 種の無機塩、少なくとも 1 種の糖、グリセロール及び少なくとも 1 種の微
量元素を含む基本液ミックスとを含み、

コレステロールの最終濃度が約 1 0 m g / L ~ 2 0 0 m g / L 且つホスファチジルコリ
ンの最終濃度が約 1 0 0 0 m g / L ~ 1 0 g / L であってもよく、

前記リポソームは、細胞懸濁液または付着性培養物中のコレステロールの最終濃度を 1
m g / L ~ 2 0 m g / L とし且つ細胞懸濁液または付着性培養物中のホスファチジルコリ
ンの最終濃度が 1 0 0 m g / L ~ 1 0 0 0 m g / L とする量であってもよい、

血清代替物、完全培地または培地添加物。

【請求項 5】

前記基本液ミックスは、P l u r o n i c - 6 8、F 6 8 P a s t i l l e、P l u
 r o n i c - 1 2 8、ソルビタン、ポリソルベート、及びブロックコポリマーからなる群
 から選択される 1 種以上の非イオン性界面活性剤を含む、請求項 4 に記載の血清代替物、
 完全培地または培地添加物。

【請求項 6】

コレステロールの濃度は、約 1 m g / L ~ 2 0 m g / L であり、ホスファチジルコリン
の濃度は、約 1 0 0 m g / L ~ 1 0 0 0 m g / L である、請求項 4 又は請求項 5 に記載の
完全培地。

【請求項 7】

コレステロールの濃度は、約 1 0 0 m g / L ~ 2 0 0 0 m g / L であり、ホスファチジ
ルコリンの濃度は、約 1 0 g / L ~ 1 0 0 g / L である、請求項 4 又は請求項 5 に記載の
培地添加物。

【請求項 8】

ペクチンをさらに含む、請求項 4 ~ 請求項 7 のいずれか一項に記載の血清代替物、完全
 培地または培地添加物。

【請求項 9】

前記リポソームは、ナノ粒子である、請求項 1 ~ 請求項 8 のいずれか一項に記載の培地
 、血清代替物、完全培地または培地添加物。

【請求項 10】

請求項 1 ～ 請求項 9 のいずれか一項に記載の血清代替物、完全培地または培地添加物を含有する培地中で細胞を培養することを含む、細胞を培養する方法。

【請求項 11】

リボソームと、基本生理学的緩衝液ミックスとを含み、
コレステロールの最終濃度は、約 10 mg / L ～ 200 mg / L であり、ホスファチジルコリンの最終濃度は、約 1000 mg / L ～ 10 g / L であり、
ペクチンをさらに含むか又は含まず、
グリセロールをさらに含むか又は含まず、
4 % 未満の濃度でジメチルスルホキシド (D M S O) をさらに含むか又は含まず、
ポリリシンをさらに含むか又は含まない、
凍結保存培地。

【請求項 12】

細胞懸濁液中のペクチンの最終濃度は、約 50 mg / L ～ 5 g / L である、請求項 11 に記載の凍結保存培地。

【請求項 13】

請求項 1、請求項 2、請求項 3、請求項 11 又は請求項 12 に記載の凍結保存培地中に細胞を懸濁させることと、前記細胞を 8 未満の環境内に入れることとを含む、細胞を凍結保存する方法。

【請求項 14】

前記細胞を解凍することと、それらを請求項 1 ～ 請求項 9 のいずれか一項に記載の培地中に入れることとをさらに含む、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記細胞の少なくとも 30 % は、解凍後に生存したままである、請求項 13 又は請求項 14 に記載の方法。