

【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 12 N 1/00 (2006.01)

C 12 N 1/04 (2006.01)

【F I】

C 12 N 1/00 F

C 12 N 1/00 G

C 12 N 1/04

C 12 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ポソームであって、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1mg/L～20mg/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100mg/L～1000mg/Lである量のリポソーム；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】

前記リポソームは、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、

前記リポ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2μL/L～0.5mL/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、シユ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-시스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す。

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す。

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B12、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す。

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10mg/L～200mg/L且つホスファチジルコリンの最終濃度が約1000mg/L～10g/Lであってもよい、

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1mg/L～20mg/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100mg/L～1000mg/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、Pluronic-68、F68 Pastille、Pluronic-128、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1mg/L～20mg/Lであり、ホスファチジルコリンの濃度は、約100mg/L～1000mg/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100mg/L～2000mg/Lであり、ホスファチジルコリンの濃度は、約10g/L～100g/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】

リポソームと、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 m g / L ~ 200 m g / L であり、ホスファチジルコリンの最終濃度は、約 1000 m g / 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 (DMSO) 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 m g / 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。