

【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27年6月18日 (2015.6.18)

【公表番号】特表2014-513545(P2014-513545A)
 【公表日】平成26年6月5日 (2014.6.5)
 【年通号数】公開・登録公報2014-029
 【出願番号】特願2014-510762(P2014-510762)
 【国際特許分類】

C 1 2 P 21/02 (2006.01)

C 0 7 K 14/755 (2006.01)

【F I】

C 1 2 P 21/02 C

C 0 7 K 14/755

【手続補正書】
 【提出日】平成27年4月23日 (2015.4.23)
 【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】

少なくとも $3 \text{ W} / \text{m}^3$ の動力密度を加えることにより真核細胞懸濁液に機械的手段によるせん断応力を生じさせる条件下で前記真核細胞懸濁液を培養することを特徴とする、 $500 \mu\text{M}$ 以下の CaCl_2 と、少なくとも非イオン性界面活性剤と、細胞増殖および組換え第 V I I I 因子 (r F V I I I) の生産に必要な他の栄養成分とを含む培地中での前記真核細胞懸濁液の培養時に、前記真核細胞懸濁液中で生産される r F V I I I の生産性を向上させる方法。

【請求項 2】

前記動力密度が、前記真核細胞懸濁液の機械的運動により前記培地中に導入される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記真核細胞懸濁液の機械的運動が、接線濾過膜を介して前記真核細胞懸濁液をポンピングすることにより行われる、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記真核細胞懸濁液の機械的運動が回転部品により行われる、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 r F V I I I が B ドメイン欠失 r F V I I I である、請求項 1 ~ 請求項 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記真核細胞が H E K 2 9 3 細胞である、請求項 1 ~ 請求項 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記 r F V I I I の分子が、H E K 2 9 3 細胞中で生産されて H E K 2 9 3 細胞に結合している、請求項 1 ~ 請求項 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記非イオン性界面活性剤が、プルロニック F 6 8、T w e e n 2 0、および T w e e n 8 0 から選択される、請求項 1 ~ 請求項 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記非イオン性界面活性剤の濃度が、 $0.00001 \text{ wt} \% \sim 1 \text{ wt} \%$ である、請求項 1～請求項 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記培地中の CaCl_2 濃度を低く維持し且つせん断を増大することで培養環境から前記真核細胞への CaCl_2 の輸送を増大させることにより、細胞凝集が最小限に抑えられている、請求項 1～請求項 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

インペラを備えた培養容器または前記真核細胞懸濁液中にせん断応力を生じさせる地球の重力中で動く培養容器により前記真核細胞懸濁液の機械的運動が開始されるか、または静的ミキサーまたは濾過装置を介して前記真核細胞懸濁液をポンピングすることにより前記真核細胞懸濁液の容器中のせん断応力が引き起こされる、請求項 1～請求項 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

せん断応力を導入するために前記真核細胞懸濁液に加えられる前記動力密度が最大 $2000 \text{ W} / \text{m}^3$ である、請求項 1～請求項 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

せん断応力を導入するために前記真核細胞懸濁液に加えられる前記動力密度が $3 \text{ W} / \text{m}^3 \sim 2000 \text{ W} / \text{m}^3$ である、請求項 1～請求項 12 のいずれか一項に記載の方法。