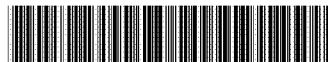




(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO



(21) Broj prijave:

HR P20030974A A2

HR P20030974A A2

(12) PRIJAVA PATENTA

(51) Int. Cl.⁷: **A 61 K 39/12**
C 12 Q 1/70
C 12 N 5/00

(22) Datum podnošenja prijave patenta u HR: 24.11.2003.

(43) Datum objave prijave patenta u HR: 29.02.2004.

(86) Broj međunarodne prijave: PCT/US02/14271

Datum podnošenja međunarodne prijave 03.05.2002.

(87) Broj međunarodne objave: WO 02/091994

Datum međunarodne objave 21.11.2002.

(31) Broj prve prijave: 60/290,096

(32) Datum podnošenja prve prijave: 10.05.2001.

(33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US

(71) Podnositelj prijave:

**WYETH, a corporation of the State of Delaware, Five Giralda Farms,
Madison, 07940 NJ, US**

(72) Izumitelji:

Anne Christine Thomas, 71 Franklin Heights, Rochester, 03867 NH, US
Terry Kaleung Ng, 2027 North 30th Court, Fort Dodge, 50501 IA, US

(74) Punomoćnici:

Dina KORPER ŽEMVA, Zagreb, HR
Zdenko HARAMIJA, Zagreb, HR

(54) Naziv izuma:

**KOMPOZICIJA I POSTUPAK ZA POVEĆANJE STANIČNE GUSTOĆE KOD STANIČNIH
KULTURA INFICIRANIH SA LENTIVIRUSOM**

(57) Sažetak: Kompozicija i postupak za povećavanje staničnog rasta i povećavanje gustoće staničnih kultura koje sadrže stanice domaćina inficirane s lentivirusom obuhvaća dodavanje pogodne količine antibiotika kulturama da bi se uništila štetna bakterija.

HR P20030974A A2

OPIS IZUMA

Prikazani izum se odnosi na nove stanične kulture. Naročito, izum se odnosi na nove stanične kulture inficirane s lentivirusima, kao što je mačji virus imunodeficijencije (feline immunodeficiency virus - FIV), koji sadrži pogodne antibiotike da bi se povećala stanična gustoća i povećao rast kulture. Izum se isto tako odnosi na nove postupke za povećavanje gustoće staničnih kultura korištenjem određenih antibiotika.

Lentivirusi čine klasu virusa koja može voditi do različitih bolesti i kod ljudi i kod životinja. Ovim bolestima često prethodi nekoliko mjeseci ili čak godina inkubacije. Na primjer, patolozi koji su u vezi sa AIDS-om izazvanim ljudskim virusima imunodeficijencije (HIV) ili potječu od kronične progresije bolesti, često puta izazivaju kaheksiju i smrt kod pacijenta nekoliko godina poslije indikacija.

Lentivirusi su isto tako u vezi sa različitim patologijama kod takvih vrsta kao što su čovjekoliki majmuni i majmuni, kao i domaće životinje kao što su konji, magarci, goveda, koze i ovce. Među njima, konjska infektivna anemija (EIA) je bila karakterizirana kao najvažnija infektivna bolest konja koja se javlja u čitavom svijetu. Lentivirusi ovaca su relativno uobičajeni patogeni u mnogim dijelovima svijeta i uključuju 'Maedi-visna' virus i virus progresivne upale pluća kao dva predominantna tipa. Govedi virus imunodeficijencije je važan uzrok bolesti kod goveda.

Ostali lentivirusi su vitalni indikatori patologije životinja kao što su mačke. Virus imunodeficijencije mačaka, strukturno sličan HIV-u, može izazvati smrt kod kućnih mačaka. Povećano je vrijeme koje doktori, veterinari i istraživači posvećuju sredstvima za sprječavanje i liječenje bolesti izazvanih ovim virusima.

Dio ovih ispitivanja uključuje rast tkiva kultura koje sadrže stanice na primjer limfocite, koje su bile inficirane s jednim ili više poznatih lentivirusa. Limfocitne kulture ili stanice nalik epiteliju zavisne od učvršćivanjima kao što su kulture stanica mačjeg bubrega mogu rasti u T-balonu, rotacionim bocama, balonima koji se okreću i bioreaktorima korištenjem medija kao što je Minimalni esencijalni medij (MEM), Roswell Park Memorial Institute (RPMI), Dulbecco-ov MEM (DMEM) i AIM V (Gibco/LTI, Grand Island, NY) dopunjen s goveđim serumom do oko 20% i do oko 5% albumina goveđeg seruma (BSA). Velike skale kultura mogu biti uzgojene u velikim spinnerima, fermentorima i bioreaktorima u prisustvu kemikalija koje štite protiv smicanja, sredstva za zgušnjavanje, emulgatora ili spojeva kao što su metilceluloza, karboksimetil celuloza i površinski aktivne supstance kao što su Pluronske serije, na pr. PLURONIC®F-68, proizveden od BASF Coporation of Wyandotte, Michigan.

U održavanju kultura tkiva koje sadrže viruse, istraživači teže da unište štetnu bakteriju u okviru kulture tako da stanice koje sadrže virus mogu rasti i razmnožavati se. U isto vrijeme preteći cilj je da se maksimizira rast stanične kulture. Da bi se olakšao rast i uništavanje bakterije, prihvaćena je praksa dodavanja antibiotika, uglavnom njihove kombinacije, staničnoj kulturi. Na primjer, u US 5,958,423 izloženo je da je stanicama stanične kulture Madin-Darby-evog goveđeg bubrega (MDNK-Madin-Darby Bovine Kidney) korišteno do 30 mcg/ml polimiksina B i neomicina i do 2.5 mcg/ml amfotericina B.

Ono što je sada potrebno u stanju tehnike su nove kompozicije staničnih kultura koje sadrže stanice inficirane s lentivirusima. Naročito su potrebne nove stanične kulture u kojima stanični rast može biti maksimiziran i prisustvo štetnih organizama kao što su bakterije može biti istovremeno minimizirano. Isto tako su potrebni novi postupci za uzgajanje staničnih kultura u kojima njihova gustoća može biti povećana kroz pokretanje staničnog rasta. Dalje postoji potreba za novim aditivima koji mogu optimizirati staničnu gustoću u kulturama omogućavajući i pospješujući stanični rast stanica koje čine kulturu.

U jednom izvođenju prikazanog izuma koji se odnosi na stanične kulture mora sadržavati bar jednu stanicu domaćina inficiranu s lentivirusom i količinu antibiotika koja pokreće rast koja se sastoji suštinski od nemicina ili njegove biološki kompatibilne soli.

Izum se isto tako odnosi na staničnu kulturu koja sadrži bar jednu stanicu domaćina inficiranu sa lentivirusom i neomicin ili njegovu biološki kompatibilnu sol, tako što je neomicin prisutan suštinski bez drugog antibiotika u količini koja je učinkovita u sprečavanju bakterijskog rasta i povećavanja gustoće stanične kulture.

Isto tako kao dio izuma osiguran je postupak za povećavanje gustoće stanične kulture u kojoj su stanice inficirane sa lentivirusom, koji uključuje dodavanje antibiotika koji se suštinski sastoji od neomicina ili njegove biološki prihvatljive soli u staničnu kulturu.

Izum isto tako osigurava kompoziciju pogodnu za dodavanje u staničnu kulturu inficiranu sa lentivirusom. Kompozicija sadrži količinu neomicina ili njegove biološki prihvatljive soli koja pospješuje staničnu gustoću, zajedno sa bar jednim dodatkom stanične kulture. Dodatak stanične kulture je poželjno da potječe od goveđeg seruma.

Prethodne i druge karakteristike i prednosti izuma će postati očiglednije iz dolje danog detaljnog opisa poželjnog izvođenja izuma.

Prikazani izum se odnosi na stanične kulture. One koje su razmatrane ovdje su one pogodne za upotrebu u istraživanjima i ispitivanja koja su sposobna da uzgajaju lentiviruse i dozvoljavaju njegov rast. Takve stanične kulture će prema tome uključiti limfocite i druge tipove stanica koje mogu biti inficirane sa jednim ili više lentivirusa. Druge pogodne stanične kulture će uključivati mačje limfocite, stanice slične fibroblastu i epitelijumu kao što su stanice mačjeg bubrega, Crandell Feline Kidney ili CRFK stanice, FL6, FL72 i FL74 (mačji limfociti) stanice. T-stanice limfocita mogu ovdje biti poželjne ovdje za upotrebu, kao i IL-2 nezavisni Fet-J i FL6 limfociti.

Izraz 'lentivirusi' se ovdje koristi da obuhvati sve poznate i kao i one lentiviruse koje tek treba otkriti, uključujući ali bez ograničenja virus konjske infektivne anemije, 'Maedi-visna' virus, virus progresivne upale pluća, virus kozjeg artritisa-encefalitisa, mačji virus imunodeficiencije (FIV), majmunski virusi imunodeficiencije koji inficiraju vrste kao što su makaki, afrički majmuni i babuni, i humani virusi imunodeficiencije (HIV) tipa I i II. Izraz 'lentivirusi' isto tako uključuju analoge, derivate i peptidne sekvence bilo koje od prethodnih. Ovdje poželjni za upotrebu su nehumani lentivirusi i naročito, mačji virusi imunodeficiencije (FIV).

Stanične kulture prema izumu mogu biti kultivirane korištenjem postupaka poznatih u stanju tehnike. Na primjer, stanice domaćina kao što su limfociti mogu biti kronično inficirane s jednom ili više prethodno navedenih lentivirusa korištenjem prihvatljivih postupaka i zatim rasta u pogodnom mediju. Poželjno, medij je suštinski tekući medij. Još poželjnije, medij je inicijalno osiguran kao suštinski medij bez seruma. Stanična gustoća kultivirane stanične kulture može varirati prema osobinama stanica domaćina, medija i komore za rast, ali može biti u obimu od oko 1×10^4 do oko 1×10^6 pogodnih stanica po mililitru (ml) stanične kulture (uključujući medij). Poželjnije, gustoća stanica je oko 2×10^5 do oko 5×10^5 stanica po mililitru.

Kao daljnji dio izuma, stanične kulture sadrže pogodni antibiotik koji utječe na inhibiciju rasta bakterije u okviru kulture, dok u isto vrijeme povećava rast stanica i na taj način povećavanja gustoću stanične kulture. Antibiotik poželjan ovdje za upotrebu je neomicin, koji će uključivati sve njegove biološki kompatibilne soli i derivate, kao što je neomicin sulfat. Pod 'biološki kompatibilnim' se misli da njegove soli ili derivati nemaju suštinski neželjeni biološki efekt na stanice.

Količina neomicina uključena u staničnu kulturu može varirati prema potrebama osobe iz struke, ali tipično uključena je u količinu koja će povećati gustoću stanične kulture. Uglavnom je poželjna količina neomicina u okviru opsega od oko 5 mikrograma/ml stanične kulture do oko 60 mikrograma/ml stanične kulture (uključujući medij). U poželjnijem izvođenju, neomicin je uključen u staničnu kulturu u količini od bar oko 10 mikrograma/ml i poželjnije od oko bar 20 mikrograma/ml. Čak poželjnije, količina neomicina će biti između oko 30 mikrograma/ml do oko 60 mikrograma/ml.

Poželjno je korištenje neomicina da bi se poboljšao rast stanica kulture i gustoća bez uključivanja drugih antibiotika kao što je na primjer polimiksin B i gentamicin. Polimiksin B može poticati od polimiksina B₁ i B₂, koji su dobiveni rastom *Bacillus polymyxa* (Prazmowski) Migula (Farm. Bacillaceae). Sada je otkriveno da, kada su uključena oba, i neomicin i polimiksin B u staničnoj kulturi, na mnogo načina, dolazi do značajno manjeg porasta rasta stanica u usporedbi sa upotrebom samo neomicina.

Druge komponente stanične kulture izuma će tipično uključivati bar jedan dodatak stanične kulture. Dodatak stanične kulture može biti govedeg porijekla, kao što je govede serum i može uključivati govede serum i albumin govedeg seruma (BSA). Dodatak kulture može biti uključen u količini od oko 0.1 do oko 10% volumena krajnje stanične kulture.

Upotreba neomicina kao što je ovdje opisana može povećati gustoću stanica bar oko 20% i još poželjnije bar oko 33 1/3% u odnosu na identičnu staničnu kulturu stanica domaćina inficiranih sa lentivirusom koje ne sadrže ni jedan antibiotik. Stanična gustoća je bila procjenjivana prihvatljivim postupcima, uključujući upotrebu ekskluzije tripan plavog na hemacitometru.

Slijedeći primjeri su osigurani da ilustriraju jedan poželjan aspekt izuma, ali ne trebaju ograničavati njegov obim.

PRIMJER

U ovom primjeru, Fet-J stanice kronično inficirane sa mačjim virusom imunodeficijencije (FIV) su uzgajane u mediju bez seruma kao što je modificirani DMEM:F12Medij ili AIM V medij, obogaćeni sa 2.5 mg/ml ALBUMAX®, koji potječe od BSA. Stanice su uzgajane u suspenziji u erlenmajeru na rotacionoj miješalici pri 150 obrtaja u minuti na 37°C. Stanice su zasadane pri staničnoj gustoći od 3×10^5 živih stanica/ml. Stanične gustoće su određene ekskluzijom tripan plavog na hemacitometru. Gp 120 espresijsko određivanje je ostvareno testom enzimski vezanog imunosorbenta (ELISA) korišćenjem anti-FIV Gp monoklonalnih antitijela. Procjenjivani antibiotici na FIV uključuju dodavanje gentamicina, neomicina i polimiksina B. U medij su dodani odgovarajući antibiotici pri koncentracijom od 30 mikrograma/ml. Stanične gustoće su određene na osnovu 24 sata gore opisanim postupkom. Rezultati su prikazani u TABELI 1

Tabela 1

Eksperimentalna grupa	Koncentracija antibiotika (mikrograma /ml)	Dan 0 (stanica /ml)	Dan 1	Dan 2	Dan 3	Dan 4	Dan 5
Kontrola	N/A	3.0×10^5	3.6×10^5	5.5×10^5	1.0×10^6	1.2×10^6	1.2x
Gentamicin	30 µg/ml	3.0×10^5	2.4×10^5	3.2×10^5	6.5×10^5	1.1×10^6	1.1x
Neomicin	30 µg/ml	3.0×10^5	4.7×10^5	7.8×10^5	1.2×10^6	1.3×10^6	1.8x
Polimiksin B	30 µg/ml	3.0×10^5	2.9×10^5	4.6×10^5	5.8×10^5	6.6×10^5	6.6x
Polimiksin B +Neomicin	30 µg/ml + 30 µg/ml	3.0×10^5	2.9×10^5	5.0×10^5	7.0×10^5	7.7×10^5	7.8x

Rezultati iz Tabele 1 pokazuju da suspenzija stanične kulture obogaćena s neomicinom ima najbolji cjelokupni rast i povećanje stanične gustoće. Gentamicin nema značajni efekt, sa dnevnim staničnim gustoćama koje su bile suštinski iste kao kontrole. Kulture obogaćene s polimiksinom B ili neomicinom zajedno sa polimiksinom B u stvari suzbijaju staničnu gustoću u usporedbi s korištenim kulturama u kojima nema antibiotika i prema tome isto tako mnogo su manje gustoće nego gdje je samo neomicin bio korišten.

Mada je izum bio opisan sa referencom na određena njegova izvođenja, smatra se da mnoge izmjene i modifikacije mogu biti napravljene bez odstupanja od biti ili obima izuma. Prema tome, izum se ne smatra da je ograničen gore iznijetim opisom, nego samo obimom dodatih patentnih zahtjeva.

PATENTNI ZAHTEJEVI

1. Stanična kultura, **naznačena time**, što sadrži bar jednu stanicu domaćina inficiranu sa lentivirusom i količinu antibiotika koja pospješuje rast koja se suštinski sastoji od neomicina ili njegove biološki kompatibilne soli ili derivata.
2. Stanična kultura prema zahtjevu 1, **naznačena time**, što je neomicin prisutan u količini do oko 60 mikrograma/ml spomenute kulture.
3. Stanična kultura prema zahtjevu 1, **naznačena time**, što spomenuta stanica domaćin je inficirana sa bar jednim lentivirusom izabranom iz grupe koju čini virus konjske infektivne anemije, 'Maedi-visna' virus, virus progresivne upale pluća, kozji virus artritis-encefalitisa, mačji virus imunodeficijencije (FIV), majmunski virus imunodeficijencije i humani virusu imunodeficijencije (HIV) Tipa I i II.
4. Stanična kultura prema zahtjevu 3, **naznačena time**, što spomenuti virus je izabran iz grupe koju čine mačji virus imunodeficijencije (FIV), majmunski virus imunodeficijencije i humani virus imunodeficijencije (HIV) tipa I i II.
5. Stanična kultura prema zahtjevu 4, **naznačena time**, što spomenuti virus je virus mačije imunodeficijencije (FIV).
6. Stanična kultura prema zahtjevu 1, **naznačena time**, što spomenuta stanica domaćin je bar jedan od članova izabran iz grupe koju čine limfociti.
7. Stanična kultura prema zahtjevu 6, **naznačena time**, što spomenuti limfociti su limfociti T-stanica.
8. Stanična kultura prema zahtjevu 7, **naznačena time**, što spomenuti limfociti su izabrani iz grupe koju čine IL-2 nezavisni Fet-J i FL6 limfociti.
9. Stanična kultura prema zahtjevu 1, **naznačena time**, što spomenuti neomicin je prisutan u količini od oko 5 mikrograma/ml.
10. Stanična kultura prema zahtjevu 9, **naznačena time**, što spomenuti neomicin je učinkovit u povećavanju gustoće spomenute stanične kulture.
11. Stanična kultura prema zahtjevu 10, **naznačena time**, što spomenuta količina neomicina je učinkovita u inhibiciji bakterijskog rasta u spomenutoj staničnoj kulturi.

12. Stanična kultura prema zahtjevu 11, **naznačena time**, što spomenuti neomicin je prisutan u količini od oko 20 mikrograma/ml.
13. Stanična kultura prema zahtjevu 12, **naznačeni time**, što spomenuti neomicin je prisutan u količini od oko 30 mikrograma/ml.
- 5 14. Stanična kultura prema zahtjevu 5, **naznačena time**, što spomenuta stanična kultura je prisutna u mediju bez seruma.
15. Stanična kultura prema zahtjevu 12, **naznačena time**, što stanice spomenute stanične kulture su zasade pri gustoći koja je u opsegu oko 1×10^5 do oko 5×10^5 živih stanica/ml stanične kulture.
16. Stanična kultura prema zahtjevu 15, **naznačena time**, što stanice spomenute stanične kulture su zasade pri
10 gustoći od oko 3×10^5 živih stanica/ml.
17. Stanična kultura, **naznačena time**, što sadrži bar jednu stanicu domaćina inficiranu lentivirusom i neomicin, gdje spomenuti neomicin je prisutan suštinski bez drugog antibiotika u količini koja je učinkovita u inhibiciji bakterijskog rasta i povećanja gustoće spomenutih staničnih kultura.
18. Stanična kultura prema zahtjevu 17, **naznačena time**, što spomenuta stanična kultura je suštinski bez gentamicina ili polimiksina B.
15
19. Stanična kultura prema zahtjevu 17, **naznačena time**, što spomenuti neomicin je prisutan u staničnoj kulturi u količini koja je u opsegu od oko 5 mikrograma/ml spomenute stanične kulture.
20. Stanična kultura prema zahtjevu 19, **naznačena time**, što spomenuti neomicin je prisutan u spomenutoj staničnoj kulturi u količini od bar oko 20 mikrograma/ml.
- 20 21. Stanična kultura prema zahtjevu 20, **naznačena time**, što spomenuti neomicin je prisutan u spomenutoj staničnoj kulturi u količini od bar oko 30 mikrograma/ml.
22. Stanična kultura prema zahtjevu 17, **naznačena time**, što spomenuti lentivirus je bar jedan član izabran iz grupe koju čine virus konjske infektivne anemije, 'Maedi-visna' virus, virus progresivne upale pluća, kozji virus artritisa-encefalitisa, mačji virus imunodeficijencije (FIV), majmunski virus imunodeficijencije i humani virus imunodeficijencije (HIV) tipa I i II.
25
23. Stanična kultura prema zahtjevu 22, **naznačena time**, što spomenuti virus je izabran iz grupe koju čine mačji virus imunodeficijencije (FIV), majmunski virus imunodeficijencije i humani virus imunodeficijencije (HIV) tipa I i II.
24. Stanična kultura prema zahtjevu 23, **naznačena time**, što spomenuti virus je mačji virus imunodeficijencije (FIV).
25. Stanična kultura prema zahtjevu 17, **naznačena time**, što spomenuta stanica domaćin je bar jedan član izabran iz
30 grupe koju čine limfociti.
26. Stanična kultura prema zahtjevu 25, **naznačena time**, što spomenuta stanica domaćin je T-limfocit.
27. Stanična kultura prema zahtjevu 26, **naznačena time**, što spomenuta stanica domaćin je bar jedan član izabran iz grupe koju čine IL-2 nezavisni Fet-J i FL6T-limfociti.
28. Stanična kultura prema zahtjevu 17, **naznačena time**, što stanice spomenute stanične kulture su zasade pri
35 gustoći u opsegu od oko 1×10^5 do oko 5×10^5 živih stanica/ml.
29. Stanična kultura prema zahtjevu 28, **naznačena time**, što stanice spomenute stanične kulture su zasade pri gustoći od oko 3×10^5 živih stanica/ml.
30. Postupak za povećavanje gustoće stanične kulture u kojoj su stanice koje su bile inficirane sa lentivirusom, **naznačen time**, što se sastoji od dodavanja antibiotika koji se suštinski sastoji od neomicina u spomenutu staničnu kulturu.
40
31. Postupak prema zahtjevu 30, **naznačen time**, što spomenuti neomicin je dodat u količini od oko 5 mikrograma/ml do oko 60 mikrograma/ml stanične kulture.
32. Postupak prema zahtjevu 31, **naznačen time**, što spomenuti neomicin je dodat u količini u kojoj je učinkovit u inhibiciji bakterijskog rasta u spomenutoj staničnoj kulturi.
- 45 33. Postupak prema zahtjevu 32, **naznačen time**, što spomenuti neomicin je dodan u količini od bar oko 20 mikrograma/ml.
34. Postupak prema zahtjevu 33, **naznačen time**, što spomenuti neomicin je dodan u količini od bar oko 30 mikrograma/ml.
35. Postupak prema zahtjevu 30, **naznačen time**, što se dalje sastoji u zasađivanju spomenutih staničnih kultura u opsegu od oko 1×10^5 do oko 5×10^5 živih stanica/ml.
50
36. Postupak prema zahtjevu 35, **naznačen time**, što spomenute stanične kulture su zasade pri gustoći od oko 3×10^5 živih stanica/ml.
37. Postupak prema zahtjevu 30, **naznačen time**, što se dalje sastoji od dodavanja bar jednog dodatka kulture u spomenutu staničnu kulturu.
- 55 38. Postupak prema zahtjevu 37, **naznačen time**, što spomenuti dodatak stanične kulture je albumin goveđeg seruma (BSA).
39. Postupak prema zahtjevu 30, **naznačen time**, što spomenuti neomicin je učinkovit u povećavanju stanične gustoće od bar oko 20%.
40. Postupak prema zahtjevu 39, **naznačen time**, što spomenuti neomicin je učinkovit u povećavanju stanične gustoće bar oko 33 1/3%.
60
41. Postupak prema zahtjevu 40, **naznačen time**, što spomenuti neomicin je djelotvoran u povećavanju stanične gustoće bar oko 50%.

42. Postupak za kultiviranje stanične kulture stanica inficiranih sa lentivirusom, **naznačen time**, što se sastoji od dodavanja neomicina suštinski bez polimiksina B ili gentamicina u spomenutu kulturu.
43. Postupak prema zahtjevu 42, **naznačen time**, što spomenuti neomicin je dodan u količini u okviru opsega od oko 5 mikrograma/ml do oko 60 mikrograma/ml stanične kulture.
- 5 44. Postupak prema zahtjevu 43, **naznačen time**, što spomenuta količina neomicina je učinkovita pri inhibiciji bakterijskog rasta u spomenutoj staničnoj kulturi.
45. Postupak prema zahtjevu 43, **naznačen time**, što spomenuta količina neomicina je bar oko 20 mikrograma/ml stanične kulture.
- 10 46. Postupak prema zahtjevu 45, **naznačen time**, što spomenuta količina neomicina je bar oko 30 mikrograma/ml stanične kulture.
47. Postupak prema zahtjevu 42, **naznačen time**, što se dalje sastoji od dodavanja djelotvorne količine bar jednog dodatka stanične kulture u spomenutu kulturu.
48. Postupak prema zahtjevu 47, **naznačen time**, što spomenuti dodatak stanične kulture je albumin govedeg seruma (BSA).
- 15 49. Postupak prema zahtjevu 42, **naznačen time**, što spomenuti lentivirus je bar jedan član izabran iz grupe koje čini virus konjske infektivne anemije, 'Medi-visna' virus, virus progresivne upale pluća, kozji virus artritis-encefalitisa, mačji virus imunodeficijencije (FIV), majmunski virus imunodeficijencije i humani virus imunodeficijencije (HIV) tipa I i II i dalje gdje spomenuta stanična kultura sadrži stanice limfocita.
- 20 50. Postupak prema zahtjevu 49, **naznačen time**, što spomenuti virus je izabran iz grupe koju čine mačji virus imunodeficijencije (FIV), majmunski virus imunodeficijencije i humani virus imunodeficijencije (HIV) tipa I i II.
51. Kompozicija pogodna za staničnu kulturu inficiranu sa lentivirusom, **naznačena time**, što se sastoji od:
- a) količine antibiotika, koji se suštinski sastoji od neomicina, koja povećava staničnu gustoću; i
 - b) bar jednog dodatka stanične kulture.
52. Kompozicija prema zahtjevu 51, **naznačena time**, što spomenuta količina je u okviru opsega od oko 5 mikrograma/ml do oko 60 mikrograma/ml spomenute stanične kulture.
- 25 53. Kompozicija prema zahtjevu 52, **naznačena time**, što spomenuti dodatak stanične kulture potječe od govedeg seruma.
54. Kompozicija prema zahtjevu 53, **naznačen time**, što spomenuti dodatak stanične kulture je albumin govedeg seruma.
- 30 55. Kompozicija stanične kulture, **naznačena time**, što sadrži
- a) od oko 1×10^5 do oko 5×10^5 živih stanica/ml Fet-J stanica kronično inficiranih s mačjim virusom imunodeficijencije;
 - b) bar oko 10 mikrograma/ml antibiotika koji se suštinski sastoji od neomicina ili njegove biološki kompatibilne soli ili derivata.
- 35

SAŽETAK

- 40 Kompozicija i postupak za povećavanje staničnog rasta i povećavanje gustoće staničnih kultura koje sadrže stanice domaćina inficirane s lentivirusom obuhvaća dodavanje pogodne količine antibiotika kulturama da bi se uništila štetna bakterija.