

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5309657号
(P5309657)

(45) 発行日 平成25年10月9日 (2013. 10. 9)

(24) 登録日 平成25年7月12日 (2013. 7. 12)

(51) Int. Cl.

F 1

C 1 2 M 3/00 (2006. 01)

C 1 2 M 3/00 Z

C 1 2 M 1/00 (2006. 01)

C 1 2 M 1/00 Z

請求項の数 6 (全 12 頁)

(21) 出願番号 特願2008-95556 (P2008-95556)
 (22) 出願日 平成20年4月1日 (2008. 4. 1)
 (65) 公開番号 特開2009-247225 (P2009-247225A)
 (43) 公開日 平成21年10月29日 (2009. 10. 29)
 審査請求日 平成23年3月22日 (2011. 3. 22)

(73) 特許権者 000003768
 東洋製罐グループホールディングス株式会
 社
 東京都品川区東五反田2丁目18番1号
 (74) 代理人 100086759
 弁理士 渡辺 喜平
 (72) 発明者 田中 郷史
 神奈川県横浜市保土ヶ谷区岡沢町2番地
 4 東洋製罐グループ総合研究所内
 (72) 発明者 末永 亮
 神奈川県横浜市保土ヶ谷区岡沢町2番地
 4 東洋製罐グループ総合研究所内
 (72) 発明者 石崎 庸一
 神奈川県横浜市保土ヶ谷区岡沢町2番地
 4 東洋製罐グループ総合研究所内
 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 培養容器

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

細胞と培地を封入して細胞の培養を行うための培養容器であって、
 当該培養容器の収容部が仕切部材により前部と後部に分離され、前部又は後部の一方が
 培養を行うための培養部、他方が前記培養部に対する補充用の培地を収容する培地供給部
 として用いられ、

前記培養部と前記培地供給部とを接続する、少なくとも一の流路を備え、
 前記仕切部材を前記培地供給部側へ移動させることで、前記培地供給部における培地が
 前記流路を介して前記培養部へ供給されることを特徴とする培養容器。

【請求項 2】

請求項 1 記載の培養容器に、培地が充填されていることを特徴とする培養容器。

【請求項 3】

請求項 1 又は 2 記載の培養容器に、細胞、微生物、多細胞生物、組織、器官等が充填さ
 れていることを特徴とする培養容器。

【請求項 4】

前記流路に逆止弁が備えられたことを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の培養
 容器。

【請求項 5】

前記流路が、少なくとも前記培養容器の収容部の一部に、又は、一又は二以上のチュー
 ブにより形成されたことを特徴とする請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の培養容器。

10

20

【請求項 6】

細胞と培地を封入して細胞の培養を行うための培養容器であって、当該培養容器の収容部が仕切部材により、培養を行うための一又は二以上の培養部と、前記培養部に対する補充用の培地を収容する一又は二以上の培地供給部とに分離され、前記培養部と前記培地供給部とをつなぐ、少なくとも一の流路を備え、前記仕切部材を前記培地供給部側へ移動させることで、前記培地供給部における培地が前記流路を介して前記培養部へ供給されることを特徴とする培養容器。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

本発明は、細胞や組織、微生物等を培養するための培養容器に関する。

【背景技術】

【0002】

近年、医薬品の生産や、遺伝子治療、再生医療、免疫療法等の分野において、細胞や組織、微生物などを人工的な環境下で効率良く大量に培養することが求められている。

このような細胞培養においては、細胞の増殖に併せて、細胞の生育に必要な培地を補給する必要がある。

培地の補給にあたり、従来は、細胞が培養容器内で十分に増殖すると、図 1 1 に示すように、より容量の大きな培養容器などに移し替え（植え継ぎ）、これを繰り返すことで、細胞の大量培養が行われていた。

20

【0003】

すなわち、同図に示す通り、まずフラスコ内に培地と細胞を入れて培養し、細胞増殖に併せて培地を追加して培養するとともに植え継ぎを行い、一定量に増殖した時点で、より容量の大きいバックなどに移し替えて、さらに培養と培地の補給、植え継ぎを繰り返し、細胞の大量培養が行われていた。

このように細胞を大量培養するにあたり植え継ぎを行うのは、培養開始時の細胞密度が低いと、細胞の増殖が抑制されるためである。

【0004】

30

ところが、このような細胞培養においては、植え継ぎのたびに新たなフラスコやバックなどの培養容器に培養細胞の一部を移さなければならず作業が煩雑になるとともに、細胞にダメージを与える可能性がある。また、コンタミネーション（contamination：汚染）のリスクが高いという問題があった。

そこで、植え継ぎを行なうことなく適正な培養環境を維持するための技術が種々提案されている。

【0005】

例えば、特許文献 1 に記載の細胞培養用具によれば、バッグ中の培養液の流通を阻止するための部材を用いて、培養領域を段階的に拡張可能とされている。このため、培養細胞の植え継ぎは必要なく、コンタミネーションのリスクを軽減することが可能となっている。

40

【0006】

また、特許文献 2 に記載の培養容器は、単一のバッグ様密閉室をサブ区画室に分けるための外部区分手段を備えている。

この外部区分手段により、バッグ様密閉室の一部を締め付けることで複数のサブ区画室をつくることができ、培養開始時に適した細胞密度を確保するために十分に小さな規模の出発環境を提供できる。そして、このようなコンタミネーションが発生しない環境で、培養領域を段階的に拡張することができるようになっている。

【0007】

【特許文献 1】特開 2 0 0 0 - 1 2 5 8 4 8 号公報

50

【特許文献2】特許第2981684号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

しかしながら、特許文献1に記載の細胞培養用具を用いる場合は、培養の拡大に合わせて新しい培地を補給する必要がある。その際、手作業での培地の補給はコンタミネーションのリスクを高めることになる。また、培地入りの容器からチューブを介して補給する場合では、コンタミネーションのリスクは低下するが、培養容器とは別に培地入りの容器が必要となり、スペースや容器コストの点でのデメリットがあった。また、培養領域を段階的にしか拡張することができず、連続的に拡張することはできない。

10

また、特許文献2に記載の培養容器を用いる場合、培養領域はサブ区画室ごとに段階的に拡張されるため、細胞密度の連続性を得ることはできず、増殖に最適な細胞密度を維持することは困難である。

さらに、このような培養用具や容器を用いる場合、その構造上、大量培養を自動化して行うことは難しい。

【0009】

本発明は、上記の事情にかんがみなされたものであり、細胞増殖に伴う培地の追加と培養領域の拡張にあたり、最適な培養密度を維持して効率的な培養を実現するとともに、作業性の向上、コンタミネーションリスクの低減、省スペース化を達成することの可能な培養容器に関する。

20

【課題を解決するための手段】

【0010】

上記目的を達成するため、本発明の培養容器は、細胞と培地を封入して細胞の培養を行うための培養容器であって、当該培養容器の収容部の前部と後部とをつなぐ、少なくとも一の流路を備えた構成としてある。

この収容部は、仕切部材により前部と後部に分離され、前部又は後部の一方が培養を行うための培養部、他方が培養部に対する補充用の培地を収容する培地供給部として用いられる。

【0011】

培養容器には、培地が充填され、さらに細胞、微生物、多細胞生物、組織、器官等が充填される。

30

また、流路に逆止弁を備えることで、培地が培養部から培地供給部へ逆流することを防止することができる。培地供給部から培養部へ培地を供給するポンプなどを用いることも好ましい。

また、流路を培養容器の少なくとも収容部の一部に形成することが好ましく、一又は二以上のチューブで形成することも好ましい。

【0012】

また、本発明の培養容器は、仕切部材を培地供給部側へ移動させることで、培地供給部における培地が流路を介して培養部へ供給される。

さらに、本発明の培養容器は、培養容器の収容部が仕切部材により、培養を行うための一又は二以上の培養部と、培養部に対する補充用の培地を収容する一又は二以上の培地供給部とに分離され、培養部と培地供給部とをつなぐ、少なくとも一の流路を備えたものとする。

40

【発明の効果】

【0013】

本発明によれば、単一の培養容器を用いて、培地の追加及び培養領域の連続的な拡張を行うことができる。

このため、最適な培養密度を維持して効率的な培養を行うことができるとともに、細胞へのダメージの低減、作業の効率化、コンタミネーションリスクの低減を実現することが可能となる。

50

【発明を実施するための最良の形態】**【0014】**

以下、本発明の培養容器の好ましい実施形態について、図1及び図2を参照して説明する。図1は、本実施形態の培養容器を示す図である。図2は、本実施形態の培養容器を用いた培養方法を示す図である。

本実施形態の培養容器1は、図1に示すように、培地を充填するための収容部を備えており、かつ、収容部の前後をつなぐ流路を有している。

【0015】

図1(a)の例では、収容部の一方の側部付近に、容器を構成する袋の上面と下面を前後方向(図1(a)において上下方向)に接着する接着部2を形成してある。この接着部2は、袋の前端及び後端までは至っていない。したがって、この接着部2により、袋の一側端に沿って、流路3が形成される。この接着部2は、袋の上面と下面を熱で溶かして圧着し、ヒートシールにより張り合わせたものである。

培養容器1を、このようにすれば、収容部の前部において細胞が増殖し、培地を追加する場合、後述する仕切部材を移動させることなどにより、収容部の後部における培地を、流路3を通じて収容部の前部に供給することができる。

【0016】

また、培養容器1は、図1(a)に示すように、容器外部につながる、2本以上のチューブ4を接続した構成にすることができる。このチューブ4のうち、1本は培養する細胞や培地を外部から培養容器1内に注入するための注入用、他の1本は培養した細胞や培地を培養容器1内から回収するための回収用とすることができる。また、図1のように、チューブ4が3本取り付けられている場合、3本目は培養した細胞や培地をサンプルとして培養容器1内から取り出すためのサンプリング用とすることができる。

【0017】

また、培養容器1は、軟包材を材料として、袋状(バッグ型)に形成したものとすることが好ましい。軟包材を用いることで、培養容器に可撓性・柔軟性を付与することができる。軟包材としては、例えば、特開2002-255277号公報(軟包材フィルムシートを用いた食品包装体及び食品の取り出し方法)や、特開2004-323077号公報(加圧抽出形の袋状容器)に記載されているものなどを用いることができる。

【0018】

また、培養容器1は、細胞培養に必要なガス透過性を有しており、内容物を確認できるように、一部又は全部が透明性を有している。このような条件を満たす培養容器の材料としては、例えばポリオレフィン、エチレン-酢酸ビニル共重合体、スチレン系エラストマー、オレフィン系熱可塑性エラストマー、ポリエステル系熱可塑性エラストマー、シリコン系熱可塑性エラストマー、シリコーンゴム等を挙げることができる。

【0019】

本実施形態の培養容器1は、収容部の前後をつなぐ少なくとも1つの流路を有するものであれば良く、図1(a)の他、例えば図1(b)~(f)のようなバイパスチューブ5を用いた構成にすることも可能である。

すなわち、図1(b)に示された培養容器1は、収容部の前部側縁(培地を回収するチューブ側)と後部側縁(培地を回収するチューブの反対側)がバイパスチューブ5により接続されている。

【0020】

また、チューブ4及びバイパスチューブ5の材料としては、例えば、シリコーンゴム、軟質塩化ビニル樹脂、ポリブタジエン樹脂、エチレン-酢酸ビニル共重合体、塩素化ポリエチレン樹脂、オレフィン系熱可塑性エラストマー、ポリウレタン系熱可塑性エラストマー、ポリエステル系熱可塑性エラストマー、シリコン系熱可塑性エラストマー、スチレン系エラストマー、例えば、SBS(スチレン・ブタジエン・スチレン)、SIS(スチレン・イソブレン・スチレン)、SEBS(スチレン・エチレン・ブチレン・スチレン)、SEPS(スチレン・エチレン・プロピレン・スチレン)等を用いることができる。

【 0 0 2 1 】

また、培養容器 1 を、図 1 (c) に示すように、バイパスチューブ 5 を収容部の後端部から、収容部の前部側縁に接続した構成とすることもできる。

このような構成にすれば、培地を、仕切部材を移動させることなどによって、収容部の後部からバイパスチューブ 5 へより効率的に移動させることが可能となる。

【 0 0 2 2 】

さらに、培養容器 1 を、図 1 (d) に示すように、バイパスチューブ 5 を収容部の後端部から収容部の前部側縁に接続することに加え、バイパスチューブ 5 が接続された収容部の後部の両角をカットして収容部を密閉した構成とすることも好ましい。このようにすれば、仕切部材を移動させることなどによって、培地を収容部の後部からバイパスチューブ 5 へさらに効率的に移動させることが可能となる。

10

また、収容部の前部側縁におけるバイパスチューブ 5 を接続した部分の向かい側の角をカットして収容部を密閉した構成とすることにより収容部の前部の培養面積の拡大の制御がより正確に可能となり、培養効率を高く保つことが可能となる。

【 0 0 2 3 】

また、培養容器 1 を、図 1 (e) , (f) に示すように、バイパスチューブ 5 を収容部の後端部から、収容部の前部側縁に、左右対称に接続した構成とすることも好ましい。このようにすれば、仕切部材を移動させることなどによって、収容部の前部へ培地を供給する際、培地を左右均等に行きわたらせることができるため、培養効率を一層向上させることが可能となる。

20

さらに、培養容器 1 に、図 1 (a) に示すような流路 3 と、図 1 (b) ~ (f) に示すようなバイパスチューブ 5 を合わせ持つ構成とすることも可能である。

【 0 0 2 4 】

なお、図 1 (b) に示す培養容器 1 のバイパスチューブ 5 にはバルブ 6 を設けてあり、図 1 (c) に示す培養容器 1 のバイパスチューブ 5 にはポンプ 7 を設けてある。これらは一例であって、図 1 (a) ~ (f) のいずれかの例において、バルブ又はポンプを設けるか否かは自由に選択可能である。

【 0 0 2 5 】

次に、本実施形態の培養容器 1 を用いた培養方法について、図 2 を参照して説明する。

図 2 (a) は、図 1 (a) に示した培養容器を用いた例であり、培養容器 1 の収容部を、仕切部材 8 を用いて前部と後部に区分けし、前部を培養を行うための培養部 1 1、後部を補充用の培地を収容する培地供給部 1 2 とした構成が示されている。

30

【 0 0 2 6 】

接着部 2 により形成された流路 3 の中央部には、図示していないが、クリップやバルブあるいはポンプ等が取り付けられ、培養部 1 1 側と培地供給部 1 2 側が分離及び連通可能に接続されている。

仕切部材 8 としては、培養容器 1 を培養部 1 1 側と培地供給部 1 2 側に分離して、これらの間の培地の移動を遮断することができるものであれば、特に限定されないが、例えばローラなどを用いることができる。

【 0 0 2 7 】

40

培養部 1 1 において細胞が増殖し、培地供給部 1 2 から培養部 1 1 に培地を追加する場合は、流路 3 のクリップをはずし、又はバルブを開けることなどにより、仕切部材 8 を収容部の後端に向けて移動させる。このバルブとしては、逆止弁などを用いることができる。

このようにすると、培地供給部 1 2 の内圧が高くなって、培地が流路 3 を経由して、培養部 1 1 に追加される。追加した後は、バルブを閉じて培養部 1 1 と培地供給部 1 2 の間を遮断する。

【 0 0 2 8 】

また、本実施形態の培養容器 1 によれば、このように仕切部材 8 とバルブ等を用いることで、移動する培地の量を連続的に調整することが可能である。

50

さらに、細胞の増殖速度に合わせて、仕切部材 8 を収容部の後端に向けて移動させるとともに、ポンプを用いて能動的に一定量の培地を培養部 11 に送り出すことで、常時連続的に培地の供給を行うことも可能である。

このように、本実施形態の培養容器 1 によれば、移動する培地の量を連続的に調整することが可能であり、培養する細胞の密度を培養に最適な範囲に維持することができる。

【0029】

ここで、細胞培養において、細胞密度が増殖にどのような影響を与えるのかを図 3 ~ 図 6 を用いて説明する。図 3 は、培養に最適な細胞密度の範囲を確認するための実験条件を示す図である。図 4 は、各種細胞密度ごとの培養時間に対する増殖倍率を示す図である。図 5 は、各種細胞密度ごとの培養時間に対する増殖倍率を示す図の一部を拡大した図である。図 6 は、細胞培養における最適細胞密度依存性を示す図である。

10

【0030】

まず、図 3 に示すような条件で、4000、10,000、40,000、120,000、200,000 (cells/ml) の各細胞密度に調整した培養バックを準備した。培養バックは、LLDPE 製バック (厚み 100 μ m)、バックサイズ 50 $\times$ 80 (mm) を用いた。培地は、RPMI 1640 (invitrogen) 50 ml を用い、播種細胞は、Jurkat E6.1 株 (ヒト白血病Tリンパ腫) を用いた。

【0031】

そして、それぞれの培養バックを 37 - 5% CO₂ 雰囲気下で 5 日間培養し、24、48、72、及び 144 時間後におけるそれぞれの細胞数を測定した。その結果を図 4 ~ 図 6 に示す。図 5 は、図 4 における囲み部分を拡大したものである。

20

図 5 に示される通り、培養開始時から 24 時間後における、細胞密度が小さい培養バック (4000、10,000 cells/ml) の増殖倍率は、細胞密度が大きい培養バック (120,000、200,000 cells/ml) の増殖倍率に比較して、1/2 以下となっている。

【0032】

これは、培養初期において、細胞密度が小さいと増殖効率が低いことを示している。一方、細胞密度が大きい場合には、時間の経過とともに、培地が劣化 (酸素不足、乳酸過多、老廃物蓄積) して、増殖効率が低下する。したがって、これらのことから、細胞の培養を行うにあたり、細胞の増殖効率が最も良い細胞密度範囲が存在することが分かる。図 6 は、このような細胞培養における最適細胞密度依存性をまとめたものである。

30

【0033】

以上説明したように、本実施形態の培養容器によれば、一つの培養容器を用いて、培地の追加及び培養領域の連続的な拡張を行うことができる。

このため、最適な培養密度を維持して効率的な培養を行うことができるとともに、細胞へのダメージの低減、作業の効率化、コンタミネーションリスクの低減を実現することが可能となる。

また、仕切部材の移動及び流路のバルブやポンプ等を制御することで、細胞培養を容易に自動化することが可能である。

【実施例】

40

【0034】

(実施例 1)

図 1 (b) に示す、培地を補充するための流路を構成するバイパスチューブ 5 を備えた培養容器 1 を用いて、細胞培養を行った。培養容器 1 としては、LLDPE 製バック (厚み 100 μ m、サイズ 145 $\times$ 295 mm) を、バイパスチューブ 5 としては、シリコンチューブ (TYGON 3355 L: 内径 4 mm) を用いた。培地には、RPMI 1640 (invitrogen) を使用し、播種細胞として Jurkat E6.1 株 (ヒト白血病Tリンパ腫) を 1.0×10^7 cells 播種した。そして、培養部面積を 170 cm² から 430 cm² まで拡張し、細胞密度が $1.0 \times 10^5 \sim 8.6 \times 10^5$ cells/ml になるように培地量を 100 ~ 500 ml に拡大した。以上の培養条件を図 7 に示す。

50

【0035】

本実施例1では、初期培養面積を 170 cm^2 とし、培地量を 100 ml とすることで、初期培養密度を比較的高く設定している。そして、培養部面積を図8及び図9に示すように、少しずつ段階的に増加させることで、培地の追加に伴う細胞密度の大幅な低下を防止している。

このようにして120時間培養を行い、培養された細胞を回収した。回収された細胞数は、 $4.3 \times 10^8\text{ cells}$ であった。この結果を図10に示す。

【0036】

(比較例1)

流路を備えていない従来の培養容器を、仕切部材等を用いることなくそのまま使用して、細胞培養を行った。培養容器、培地、及び播種細胞としては、実施例1と同様のものを使用した。そして、実施例1と同量の細胞数を播種し、培養部面積を 430 cm^2 、培地量を 500 ml の一定に固定したまま120時間培養を行い、培養された細胞を回収した。回収された細胞数は、 $3.3 \times 10^8\text{ cells}$ であった。この培養条件を図7に、培養部面積の変化を図8及び図9に、実験結果を図10に示す。

【0037】

図10に示される通り、実施例1と比較例1における播種した細胞数は $1.0 \times 10^7\text{ cells}$ で同一であるが、回収細胞数は、実施例1が $4.3 \times 10^8\text{ cells}$ 、比較例1が $3.3 \times 10^8\text{ cells}$ と、実施例1の方が比較例1に対して3割程度多くなっている。

【0038】

このことから、実施例1のように、細胞の増殖にあわせて少量ずつ培養部を拡大するとともに、培地の追加を繰り返し、細胞密度を培養開始時から培養終了時まで大きく変化させることなく培養を行うことで、培養環境をできるだけ最適な状態で均一に保つことができ、細胞の培養速度を速めることができることが確認された。

また、比較例1のように、開始時の培養密度が低い場合には、細胞の増殖に適した環境になるまでに一定の時間が必要となることから、開始時の培養密度がより高い場合に比較して、細胞の培養速度が遅くなることが確認された。

【0039】

本発明は、以上の実施形態に限定されるものではなく、本発明の範囲内において、種々の変更実施が可能であることは言うまでもない。

例えば、培養部の面積を所定時間ごとに段階的に拡大するのではなく、仕切部材8を培養開始から培養終了時まで自動的に微量ずつ連続的に移動させたり、あるいは、二以上の仕切部材を用いて、培養容器を二以上の培養部又は培地供給部を備えた構成とするなど適宜変更することが可能である。

【産業上の利用可能性】

【0040】

本発明は、大量の細胞を培養する必要のあるバイオ医薬や再生医療、免疫療法等の分野において、好適に利用することが可能である。

【図面の簡単な説明】

【0041】

【図1】本発明の実施形態の培養容器を示す図である。

【図2】本発明の実施形態の培養容器を用いた培養方法を示す図である。

【図3】培養に最適な細胞密度の範囲を確認するための実験条件を示す図である。

【図4】各種細胞密度ごとの培養時間に対する増殖倍率を示す図である。

【図5】各種細胞密度ごとの培養時間に対する増殖倍率を示す図の一部を拡大した図である。

【図6】細胞培養における最適細胞密度依存性を示す図である。

【図7】本発明の実施例1及び比較例1の実験条件を示す図である。

【図8】本発明の実施例1及び比較例1の培養部面積の変化を示す図である。

10

20

30

40

50

【図 9】本発明の実施例 1 及び比較例 1 の実験条件を示す概念図である。

【図 10】本発明の実施例 1 及び比較例 1 の実験結果を示す図である。

【図 11】従来の細胞培養方法を示す図である。

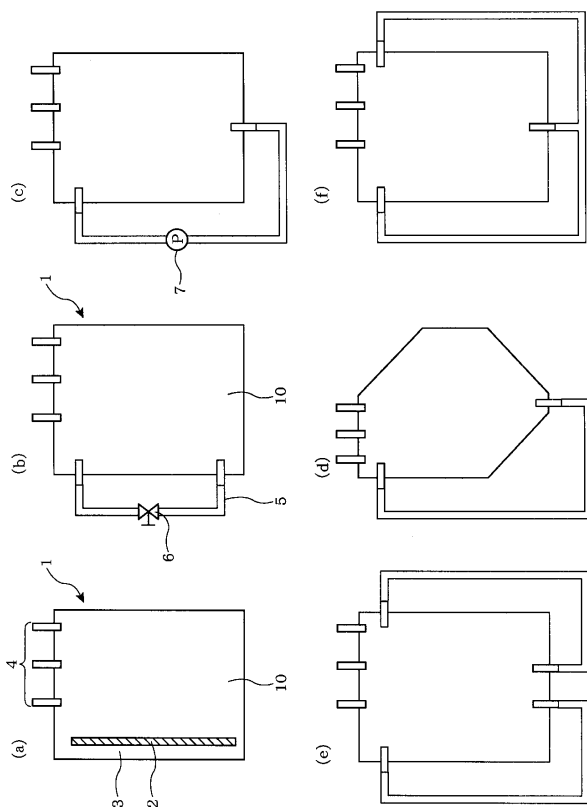
【符号の説明】

【 0 0 4 2 】

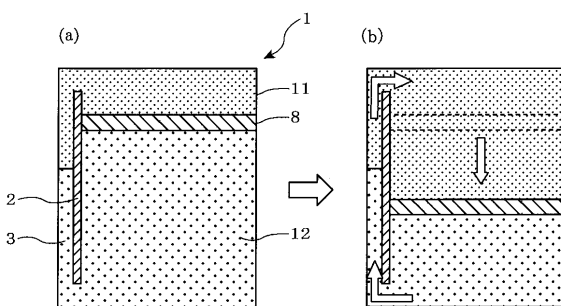
- 1 培養容器
- 2 接着部
- 3 流路
- 4 チューブ
- 5 バイパスチューブ
- 6 バルブ
- 7 ポンプ
- 8 仕切部材
- 10 培地
- 11 培養部
- 12 培地供給部

10

【図 1】



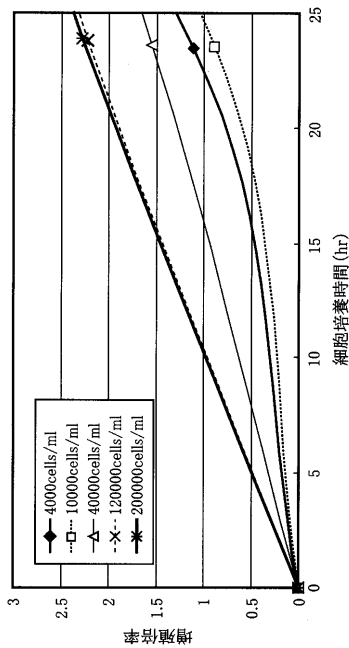
【図 2】



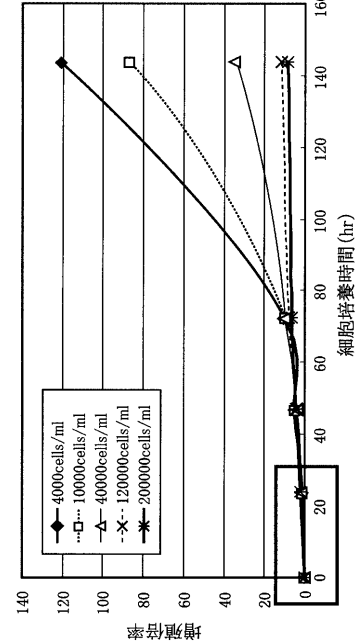
【図 3】

培養バッグ	LLDPE 製バッグ (厚み 100 μm)
バッグサイズ (mm)	50 × 80
培地量 (ml)	50
培地	RPMI 1640 (invitrogen)
播種細胞	Jurkat E6.1 株 (ヒト白血病 Tリンパ腫)
播種密度 (cells/ml)	4,000 10,000 40,000 120,000 200,000

【図 5】



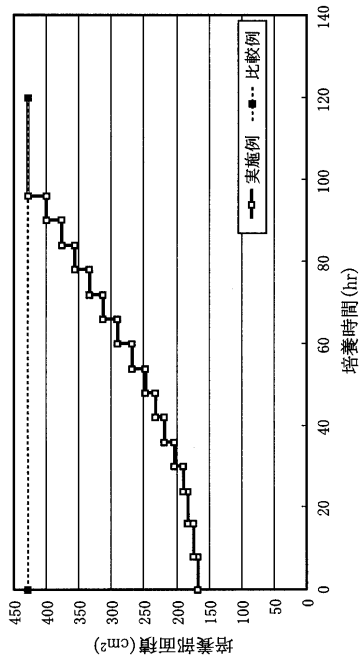
【図 4】



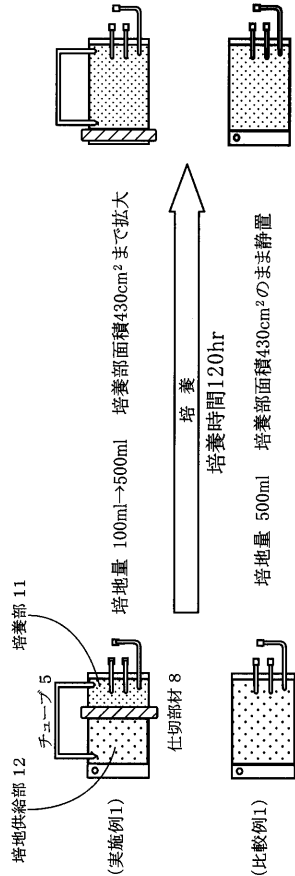
【図 7】

実施例1		比較例1
培養バッグ	LLDPE 製バッグ (厚み100 μm)	
流路	シリコンチューブ (TYGON3355L: 内径 4mm)	なし
バッグサイズ (mm)	145 × 295	
培養部面積 (cm ²)	170 ⇒ 430 (拡大)	430 (固定)
培地量 (ml)	100 ⇒ 500 (拡大)	500 (固定)
培地	RPMI 1640 (invitrogen)	
播種細胞	Jurkat E6.1 株 (ヒト白血病 Tリンパ腫)	
播種細胞数 (cells)	1.0 × 10 ⁷	

【 図 8 】



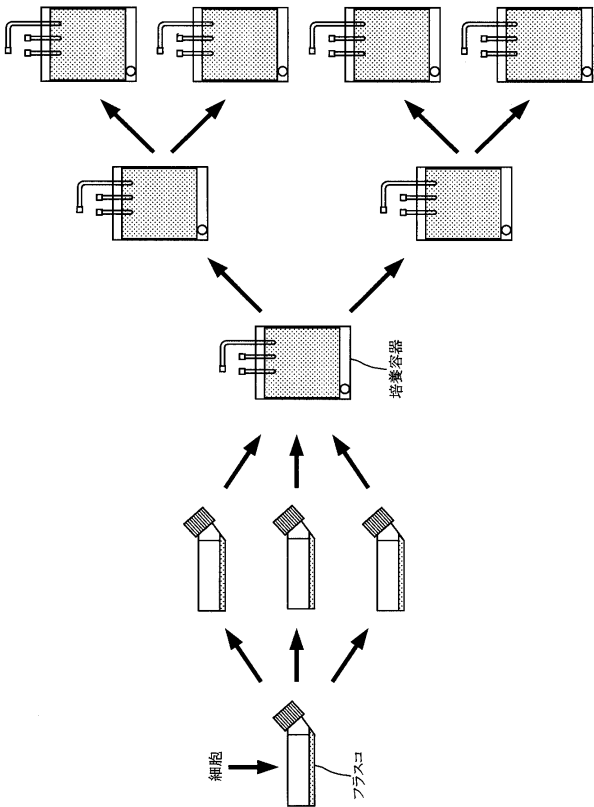
【 図 9 】



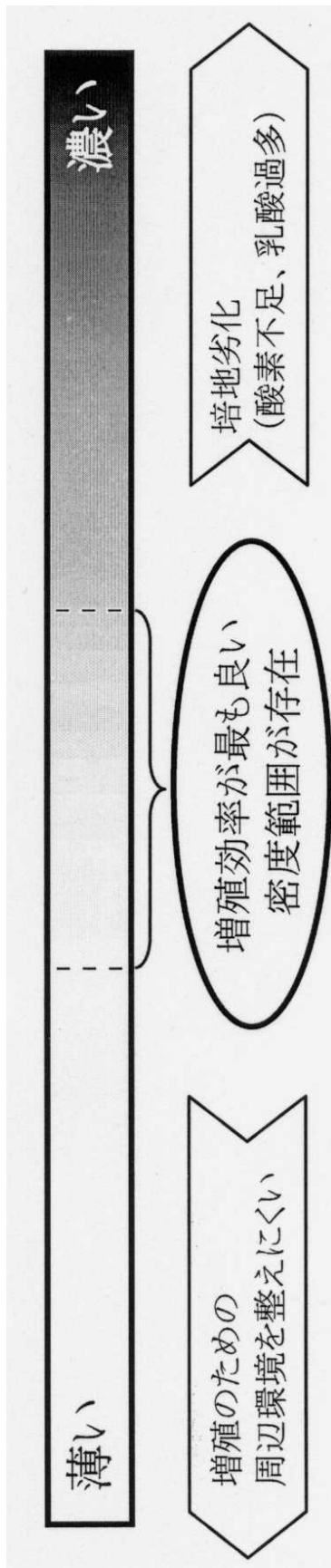
【 図 10 】

	実施例1	比較例1
初期細胞数 (cells)	1.0×10^7	1.0×10^7
初期培地量 (ml)	100	500
初期細胞密度 (cells/ml)	1.0×10^5	2.0×10^4
回収細胞数 (120hr 後) (cells)	4.3×10^8	3.3×10^8

【 図 11 】



【図 6】



フロントページの続き

(72)発明者 時田 偉子

神奈川県横浜市保土ヶ谷区岡沢町 2 2 番地 4 東洋製罐グループ総合研究所内

審査官 伊達 利奈

(56)参考文献 特表平 0 3 - 5 0 5 1 6 4 (J P , A)
特開 2 0 0 0 - 1 2 5 8 4 8 (J P , A)
特開 2 0 0 4 - 0 8 9 1 3 6 (J P , A)
特開 2 0 0 4 - 0 9 7 0 4 7 (J P , A)
実開平 0 6 - 0 1 3 4 9 9 (J P , U)
特表 2 0 0 5 - 5 0 0 8 6 0 (J P , A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C 1 2 M 1 / 0 0 - 1 / 4 2

C 1 2 M 3 / 0 0 - 3 / 1 0

P u b M e d