

【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 3 部門第 3 区分

【発行日】平成 19 年 6 月 14 日 (2007.6.14)

【公表番号】特表 2002-542326 (P2002-542326A)

【公表日】平成 14 年 12 月 10 日 (2002.12.10)

【出願番号】特願 2000-611603 (P2000-611603)

【国際特許分類】

**C 0 8 J 9/16 (2006.01)**

**A 6 1 K 47/36 (2006.01)**

C 0 8 L 101/00 (2006.01)

【F I】

C 0 8 J 9/16 C F J

A 6 1 K 47/36

C 0 8 L 101:00

【手続補正書】

【提出日】平成 19 年 4 月 3 日 (2007.4.3)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 a) ハイドロゲル形成物質、界面活性剤および所望によりガス産生成分の溶液を提供し、該溶液はガスの存在下混合され、溶液中にガスを取り込み、安定な泡を形成する溶液である；

b) 溶液をガスの存在下で混合することによるおよび / または、ガス産生成分が存在する場合、溶液をガス産生成分からのガスの産生をもたらす条件または薬剤に付すことによって安定な泡を形成し；

c) 安定な泡を、ハイドロゲル形成物質のゲル化をもたらし、ガス泡をその中に含むハイドロゲルを形成する条件および / または薬剤に曝露し；

d) ハイドロゲルからガス泡を放出させ、マクロ多孔性開口孔多孔性を有するハイドロゲル物質を形成する；

ことを含む、マクロ多孔性開口孔多孔性を有するハイドロゲル物質の製造法。

【請求項 2】 ハイドロゲルがアルギネートハイドロゲルである、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】 ハイドロゲル形成物質がアルギネート溶液、界面活性剤が B S A、重炭酸ナトリウムであるガス産生成分を使用し、塩化カルシウムおよび酢酸の水溶液を各々ゲル化剤およびガス産生成分からのガスの産生のための薬剤として使用する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】 アルギネート溶液が 3 から 5 % w:w アルギン酸ナトリウム溶液であり、B S A が水中 1.0 から 10 重量 % 溶液として提供され、重炭酸ナトリウムが 1.0 M から 2.0 M 溶液として提供され、B S A 溶液と重炭酸ナトリウム溶液を、B S A 溶液対重炭酸ナトリウム溶液 2 : 1 から 1 : 1 の重量比で混合し、塩化カルシウムと酢酸の水溶液は 0.1 から 1.0 M の塩化カルシウム濃度および約 10 容量 % の酢酸を有する、請求項 3 記載の方法。

【請求項 5】 アルギネートが 1000 から 80,000 ダルトンの減少した分子量を有するアルギネートである、請求項 2 記載の方法。

【請求項 6】 界面活性剤が B S A、プルロニック界面活性剤またはプロピレングリ

コールアルギネート界面活性剤である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 7】 溶液がガス産生成分を含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 8】 安定泡を、シリンジ開口を通したゲル化溶液への滴加によりハイドロゲル形成物質のゲル化をもたらし、ミクロビーズを形成する条件および/または薬剤に曝す、請求項 1 記載の方法。

【請求項 9】 安定泡を、シリンジ開口部を通したゲル化溶液への滴加によりハイドロゲル形成物質のゲル化をもたらし、ミクロビーズを形成する条件および/または薬剤に曝す、請求項 3 記載の方法。

【請求項 10】 滴加をシリンジポンプにより行う、請求項 8 記載の方法。

【請求項 11】 安定泡の形成のために混合する溶液が 3 - 10 重量%アルギネート、0.05 - 1.0 重量%BSAおよび0.5から5.0重量%重炭酸ナトリウムを含む、請求項 3 記載の方法。

【請求項 12】 請求項 1 に従って製造したマクロ多孔性、開口孔ハイドロゲル物質。

【請求項 13】 ミクロビーズの形の、請求項 12 のマクロ多孔性、開口孔ハイドロゲル物質。

【請求項 14】 アルギネートが1,000から50,000ダルトンの減少した分子量を有するアルギネートである、請求項 2 記載の方法。

【請求項 15】 界面活性剤がブルロニック界面活性剤である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 16】 界面活性剤がブルロニック界面活性剤である、請求項 14 記載の方法。

【請求項 17】 少なくとも1 $\mu$ m幅であり、35から75%の総多孔性である、マクロ多孔性、相互連結開口孔多孔性を有する、ビーズ形のハイドロゲル物質。

【請求項 18】 10から1000 $\mu$ m幅の孔を有する、請求項 17 記載のビーズの形のハイドロゲル物質。

【請求項 19】 更にその孔中に包含された生存可能細胞を含む、請求項 17 記載のビーズの形のハイドロゲル物質。

【請求項 20】 更にその孔中に包含された生存可能細胞を含む、請求項 12 記載のハイドロゲル物質。

【請求項 21】 アルギネート物質である、請求項 17 記載のハイドロゲル物質。

【請求項 22】 アルギネート物質である、請求項 19 記載のハイドロゲル物質。

【請求項 23】 アルギネート物質である、請求項 20 記載のハイドロゲル物質。

【請求項 24】 少なくとも1 $\mu$ m幅であり、30 - 80%の表面接近可能、相互連結多孔性であるマクロ多孔性、相互連結開口孔多孔性を有するビーズ形のハイドロゲル物質。

【請求項 25】 ガス泡の放出、段階(d)をハイドロゲルを真空中に曝すことにより行う、請求項 1 記載の方法。

【請求項 26】 ガス産生成分が重炭酸ナトリウムである、請求項 7 記載の方法。

【請求項 27】 段階b)およびc)を実質的に同時に行う、請求項 1 記載の方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0005

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0005】

本明細書に記載の方法は、Gotoh et al.法の相当な改良であり、そこに記載の範囲外の条件で行う。本発明の目的は、孔がその中への細胞性輸送を可能にするのに十分に開口され、大きさを有する、十分なマクロ多孔性および開口孔構造を有する、生体適合性ハイドロゲル物質、例えばアルギネート物質の提供である。これは、組織工学適用に使用した時

、血管新生および周りの組織との構造的統合を促進する。したがって、マクロ多孔性ハイドロゲルは好ましくは少なくとも  $1\ \mu\text{m}$ 、特に  $10$  から  $1000\ \mu\text{m}$  の孔を有する。限定はしないが、総多孔性は好ましくは  $30$  から  $90\%$ 、より好ましくは  $35$  から  $75\%$  である。全表面接近可能相互連結多孔性は、好ましくは  $30 - 80\%$ 、より好ましくは  $35 - 70\%$  である。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0076

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0076】

実施例 16：これらのビーズの多孔性をまた実施例 4 および 5 に記載の様に試験した。更に、環境制御型走査電子顕微鏡 (ESEM) を使用し、アルギネートビーズの多孔性に関する情報を獲得した。サンプルを水蒸気の飽和蒸気圧で湿潤試験した。ESEM データをサンプルの表面および断面から得た。更に、総多孔性を試験した。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0087

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0087】

最終法を使用して、ビーズの総多孔性または全体的空隙容量 ( ) を、多孔性ビーズと固体ビーズの重量の比較により測定した。実験的に産生した多孔性ビーズを測定して、その半径 (  $r$  ) を測定し、続いて乾燥させてその質量 (  $m_p$  ) を測定した。次ぎに、同じ直径の固体ビーズの理論的質量 (  $m_s$  ) を、測定したビーズ半径 (  $V = 4 / 3 \cdot r^3$  ) および、ゲルが  $90\%$  水より大きいという理由に基づいた理論的密度である  $1\ \text{g/ml}$  の複合密度を使用して測定した。空隙容量を式 (3) を使用して計算した。

【数 3】

$$\varepsilon = \frac{(m_s - m_p)}{m_s} \times 100 \quad \% \quad (3)$$