



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0124317
(43) 공개일자 2024년08월16일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 5/07 (2010.01) C12P 21/02 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C12N 5/06 (2022.05)
C12P 21/02 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7022085
- (22) 출원일자(국제) 2022년12월22일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2024년07월02일
- (86) 국제출원번호 PCT/JP2022/047331
- (87) 국제공개번호 WO 2023/120637
국제공개일자 2023년06월29일
- (30) 우선권주장
JP-P-2021-211122 2021년12월24일 일본(JP)

- (71) 출원인
아지노모토 가부시키키가이샤
일본국 도쿄도 주오구 교바시 1쵸메15만1고
- (72) 발명자
야마이데, 신야
일본 2108681 가나가와켄 가와사키시 가와사키쿠
스즈키쵸 1-1 아지노모토 가부시키키가이샤 내
하라다, 마사시
일본 2108681 가나가와켄 가와사키시 가와사키쿠
스즈키쵸 1-1 아지노모토 가부시키키가이샤 내
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
장수길, 이유리, 이석재

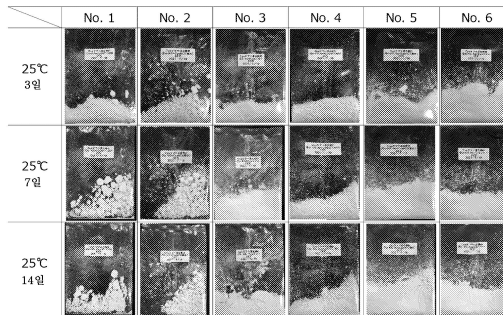
전체 청구항 수 : 총 31 항

(54) 발명의 명칭 동물 세포 배양용의 조성물

(57) 요약

동물 세포 배양용의 조성물 및 그것에 관련되는 기술을 제공한다. 동물 세포 배양용의 조성물이며, 아미노산원 및 α-케토글루탈산을 함유하고, 하기 성질 (A) 및/또는 (B)를 갖는 조성물: (A) 상기 α-케토글루탈산이 α-케토글루탈산의 염이다; (B) 상기 아미노산원이 프리체의 L-시스테인무수화물이다.

대표도



(52) CPC특허분류

C12N 2500/10 (2024.08)

C12N 2500/32 (2013.01)

(72) 발명자

다시로, 아카리

일본 2108681 가나가와켄 가와사키시 가와사키쿠
스즈키쵸 1-1 아지노모토 가부시키키가이샤 내

츠지, 치히로

일본 2108681 가나가와켄 가와사키시 가와사키쿠
스즈키쵸 1-1 아지노모토 가부시키키가이샤 내

히구치, 다쿠야

일본 2108681 가나가와켄 가와사키시 가와사키쿠
스즈키쵸 1-1 아지노모토 가부시키키가이샤 내

오쿠타니, 사토시

일본 2108681 가나가와켄 가와사키시 가와사키쿠
스즈키쵸 1-1 아지노모토 가부시키키가이샤 내

오가타, 후미

일본 2108681 가나가와켄 가와사키시 가와사키쿠
스즈키쵸 1-1 아지노모토 가부시키키가이샤 내

후로미츠, 슌페이

일본 2108681 가나가와켄 가와사키시 가와사키쿠
스즈키쵸 1-1 아지노모토 가부시키키가이샤 내

스기야마, 마사카즈

일본 2108681 가나가와켄 가와사키시 가와사키쿠
스즈키쵸 1-1 아지노모토 가부시키키가이샤 내

명세서

청구범위

청구항 1

동물 세포 배양용의 조성물이며,
아미노산원 및 α -케토글루탈산을 함유하고,
하기 성질 (A) 및/또는 (B)를 갖는 조성물:
(A) 상기 α -케토글루탈산이 α -케토글루탈산의 염이다;
(B) 상기 아미노산원이 프리체의 L-시스테인무수화물이다.

청구항 2

제1항에 있어서, 적어도 상기 성질 (A)를 갖는, 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 분말인, 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 배지 또는 배지 첨가물인, 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 배지가 기초 배지, 유가 배지 또는 관류 배지인, 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 α -케토글루탈산의 염이 α -케토글루탈산의 알칼리 금속염 또는 알칼리 토류 금속염인, 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 α -케토글루탈산의 염이 α -케토글루탈산의 나트륨염 또는 칼륨염인, 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 α -케토글루탈산의 염이 α -케토글루탈산1나트륨 또는 α -케토글루탈산2나트륨인, 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아미노산원이 시스테인, 글리신, 아스파라긴, 글루탐산, 리신, 페닐알라닌, 메티오닌, 오르니틴, 티로신 또는 글리신 함유 디펩티드인, 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 하기 성질 (1) 내지 (10)으로 이루어지는 군에서 선택되는 1개 또는 그 이상의 성질을 갖는, 조성물:

- (1) 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인 또는 L-시스테인염산염이다;
- (2) 상기 글리신이 프리체의 글리신 또는 프리체의 글리실-L-티로신이다;
- (3) 상기 아스파라긴이 프리체의 L-아스파라긴이다;

- (4) 상기 글루탐산이 L-글루탐산1나트륨이다;
- (5) 상기 리신이 L-리신염산염이다;
- (6) 상기 페닐알라닌이 프리체의 L-페닐알라닌이다;
- (7) 상기 메티오닌이 프리체의 L-메티오닌이다;
- (8) 상기 오르니틴이 L-오르니틴염산염이다;
- (9) 상기 티로신이 L-티로신2나트륨이다;
- (10) 상기 글리신 함유 디펩티드가 프리체의 글리실-L-티로신이다.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서, 하기 성질 (1a) 내지 (10a)로 이루어지는 군에서 선택되는 1개 또는 그 이상의 성질을 만족시키는, 조성물:

- (1a) 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인무수화물 또는 L-시스테인염산염1수화물이다;
- (2a) 상기 글리신이 프리체의 글리신 또는 프리체의 글리실-L-티로신이다;
- (3a) 상기 아스파라긴이 프리체의 L-아스파라긴1수화물이다;
- (4a) 상기 글루탐산이 L-글루탐산1나트륨1수화물이다;
- (5a) 상기 리신이 L-리신염산염이다;
- (6a) 상기 페닐알라닌이 프리체의 L-페닐알라닌이다;
- (7a) 상기 메티오닌이 프리체의 L-메티오닌이다;
- (8a) 상기 오르니틴이 L-오르니틴염산염이다;
- (9a) 상기 티로신이 L-티로신2나트륨2수화물이다;
- (10a) 상기 글리신 함유 디펩티드가 프리체의 글리실-L-티로신2수화물이다.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아미노산원이 시스테인인, 조성물.

청구항 13

제9항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인무수화물 또는 L-시스테인염산염1수화물인, 조성물.

청구항 14

제9항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인무수화물인, 조성물.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 α -케토글루탈산의 함유량이 몰비로 상기 아미노산원의 함유량의 1 내지 20배인, 조성물.

청구항 16

목적 물질의 제조 방법이며,

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 기재된 조성물을 사용하여 목적 물질 생산능을 갖는 동물 세포를 배양하는 것; 및

목적 물질을 회수하는 것

을 포함하는, 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 목적 물질이 단백질 또는 바이러스인, 방법.

청구항 18

동물 세포의 배양 방법이며,

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 기재된 조성물을 사용하여 동물 세포를 배양하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 19

α -케토글루탈산의 염의 사용이며,

아미노산원을 함유하는 조성물의 고결을 방지하기 위한, 사용.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 아미노산원이 시스테인, 글리신, 아스파라긴, 글루탐산, 리신, 페닐알라닌, 메티오닌, 오르니틴, 티로신 또는 글리신 함유 디펩티드인, 사용.

청구항 21

제20항에 있어서, 하기 조건 (1) 내지 (10)에서 선택되는 1개 또는 그 이상의 조건을 만족시키는, 사용:

- (1) 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인 또는 L-시스테인염산염이다;
- (2) 상기 글리신이 프리체의 글리신 또는 프리체의 글리실-L-티로신이다;
- (3) 상기 아스파라긴이 프리체의 L-아스파라긴이다;
- (4) 상기 글루탐산이 L-글루탐산나트륨이다;
- (5) 상기 리신이 L-리신염산염이다;
- (6) 상기 페닐알라닌이 프리체의 L-페닐알라닌이다;
- (7) 상기 메티오닌이 프리체의 L-메티오닌이다;
- (8) 상기 오르니틴이 L-오르니틴염산염이다;
- (9) 상기 티로신이 L-티로신나트륨이다;
- (10) 상기 글리신 함유 디펩티드가 프리체의 글리실-L-티로신이다.

청구항 22

제20항 또는 제21항에 있어서, 하기 조건 (1a) 내지 (10a)에서 선택되는 1개 또는 그 이상의 조건을 만족시키는, 사용:

- (1a) 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인무수화물 또는 L-시스테인염산염1수화물이다;
- (2a) 상기 글리신이 프리체의 글리신 또는 프리체의 글리실-L-티로신이다;
- (3a) 상기 아스파라긴이 프리체의 L-아스파라긴1수화물이다;
- (4a) 상기 글루탐산이 L-글루탐산나트륨1수화물이다;
- (5a) 상기 리신이 L-리신염산염이다;
- (6a) 상기 페닐알라닌이 프리체의 L-페닐알라닌이다;
- (7a) 상기 메티오닌이 프리체의 L-메티오닌이다;
- (8a) 상기 오르니틴이 L-오르니틴염산염이다;

(9a) 상기 티로신이 L-티로신2나트륨2수화물이다;

(10a) 상기 글리신 함유 디펩티드가 프리체의 글리실-L-티로신2수화물이다.

청구항 23

제19항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아미노산원이 시스테인인, 사용.

청구항 24

α -케토글루탈산의 염의 사용이며,

시스테인을 함유하는 조성물에 있어서의 시스테인 함유량의 감소를 방지하기 위한, 사용.

청구항 25

제19항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 α -케토글루탈산의 염이 α -케토글루탈산의 알칼리 금속염 또는 알칼리 토류 금속염인, 사용.

청구항 26

제19항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 α -케토글루탈산의 염이 α -케토글루탈산의 나트륨염 또는 칼륨염인, 사용.

청구항 27

제19항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 α -케토글루탈산의 염이 α -케토글루탈산1나트륨 또는 α -케토글루탈산2나트륨인, 사용.

청구항 28

제20항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인무수화물 또는 L-시스테인염산염1수화물인, 사용.

청구항 29

제20항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인무수화물인, 사용.

청구항 30

제19항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 α -케토글루탈산의 염이, 상기 조성물에 있어서의 해당 α -케토글루탈산의 염의 함유량이, 물비로, 상기 조성물에 있어서의 상기 아미노산원 또는 상기 시스테인의 함유량의 1 내지 20배가 되도록 사용되는, 사용.

청구항 31

동물 세포 배양용의 조성물을 제조하는 방법이며,

상기 조성물이 제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 기재된 조성물이며,

상기 아미노산원 및 상기 α -케토글루탈산을 혼합하는 것을 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은, 동물 세포 배양용의 조성물 및 그것에 관련되는 기술에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 동물 세포의 배양에는, 시스테인(Cys) 등의 아미노산을 함유하는 배지가 널리 사용되고 있다. Cys는 배지 중에 서 자연 산화하고, 시스틴((Cys)₂)으로 변환된다. (Cys)₂는 용해도가 낮기 때문에, 액체 배지 중에 석출되기

쉽다. 이로부터, Cys는 액체 배지의 보존 불안정성의 요인이 되고 있다.

[0003] Cys는 피루브산(Pyr)이나 α-케토글루탈산 등의 α-케토산과 축합하여 티아졸리딘 유도체를 형성할 수 있다(비특허문헌 1). α-케토산의 사용에 의해 배지가 안정화되는 것, 및 티아졸리딘 유도체는 동물 세포의 배양에 유효한 것이 보고되어 있다(비특허문헌 1).

선행기술문헌

비특허문헌

[0004] (비특허문헌 0001) Kuschelewski J et al., Antioxidant effect of thiazolidine molecules in cell culture media improves stability and performance. Biotechnol Prog. 2017 May; 33(3): 759-770.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명은, 동물 세포 배양용의 조성물 및 그것에 관련되는 기술을 제공하는 것을 과제로 한다.

과제의 해결 수단

[0006] 본 발명자들은, 특정한 형태의 시스테인 등의 아미노산원과 특정한 형태의 α-케토글루탈산의 혼합 분말에 있어서 고결이나 시스테인 함유량의 감소 등의 문제가 발생하는 것, 및 아미노산원과 α-케토글루탈산의 형태를 조정함으로써 당해 문제를 해소할 수 있는 것을 알아내어, 본 발명을 완성시켰다.

[0007] 즉, 본 발명은 이하와 같이 예시할 수 있다.

[0008] [1]

[0009] 동물 세포 배양용의 조성물이며,

[0010] 아미노산원 및 α-케토글루탈산을 함유하고,

[0011] 하기 성질 (A) 및/또는 (B)를 갖는 조성물:

[0012] (A) 상기 α-케토글루탈산이 α-케토글루탈산의 염이다;

[0013] (B) 상기 아미노산원이 프리체의 L-시스테인무수화물이다.

[0014] [2]

[0015] 적어도 상기 성질 (A)를 갖는 상기 조성물.

[0016] [3]

[0017] 분말인, 상기 조성물.

[0018] [4]

[0019] 배지 또는 배지 첨가물인, 상기 조성물.

[0020] [5]

[0021] 상기 배지가 기초 배지, 유가 배지 또는 관류 배지인, 상기 조성물.

[0022] [6]

[0023] 상기 α-케토글루탈산의 염이 α-케토글루탈산의 알칼리 금속염 또는 알칼리 토류 금속염인, 상기 조성물.

[0024] [7]

[0025] 상기 α-케토글루탈산의 염이 α-케토글루탈산의 나트륨염 또는 칼륨염인, 상기 조성물.

[0026] [8]

- [0027] 상기 α -케토글루탈산의 염이 α -케토글루탈산1나트륨 또는 α -케토글루탈산2나트륨인, 상기 조성물.
- [0028] [9]
- [0029] 상기 아미노산원이 시스테인, 글리신, 아스파라긴, 글루탐산, 리신, 페닐알라닌, 메티오닌, 오르니틴, 티로신 또는 글리신 함유 디펩티드인, 상기 조성물.
- [0030] [10]
- [0031] 하기 성질 (1) 내지 (10)으로 이루어지는 군에서 선택되는 1개 또는 그 이상의 성질을 갖는 상기 조성물:
- [0032] (1) 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인 또는 L-시스테인염산염이다;
- [0033] (2) 상기 글리신이 프리체의 글리신 또는 프리체의 글리실-L-티로신이다;
- [0034] (3) 상기 아스파라긴이 프리체의 L-아스파라긴이다;
- [0035] (4) 상기 글루탐산이 L-글루탐산1나트륨이다;
- [0036] (5) 상기 리신이 L-리신염산염이다;
- [0037] (6) 상기 페닐알라닌이 프리체의 L-페닐알라닌이다;
- [0038] (7) 상기 메티오닌이 프리체의 L-메티오닌이다;
- [0039] (8) 상기 오르니틴이 L-오르니틴염산염이다;
- [0040] (9) 상기 티로신이 L-티로신2나트륨이다;
- [0041] (10) 상기 글리신 함유 디펩티드가 프리체의 글리실-L-티로신이다.
- [0042] [11]
- [0043] 하기 성질 (1a) 내지 (10a)로 이루어지는 군에서 선택되는 1개 또는 그 이상의 성질을 만족시키는, 상기 조성물:
- [0044] (1a) 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인무수화물 또는 L-시스테인염산염1수화물이다;
- [0045] (2a) 상기 글리신이 프리체의 글리신 또는 프리체의 글리실-L-티로신이다;
- [0046] (3a) 상기 아스파라긴이 프리체의 L-아스파라긴1수화물이다;
- [0047] (4a) 상기 글루탐산이 L-글루탐산1나트륨1수화물이다;
- [0048] (5a) 상기 리신이 L-리신염산염이다;
- [0049] (6a) 상기 페닐알라닌이 프리체의 L-페닐알라닌이다;
- [0050] (7a) 상기 메티오닌이 프리체의 L-메티오닌이다;
- [0051] (8a) 상기 오르니틴이 L-오르니틴염산염이다;
- [0052] (9a) 상기 티로신이 L-티로신2나트륨2수화물이다;
- [0053] (10a) 상기 글리신 함유 디펩티드가 프리체의 글리실-L-티로신2수화물이다.
- [0054] [12]
- [0055] 상기 아미노산원이 시스테인인, 상기 조성물.
- [0056] [13]
- [0057] 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인무수화물 또는 L-시스테인염산염1수화물인, 상기 조성물.
- [0058] [14]
- [0059] 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인무수화물인, 상기 조성물.
- [0060] [15]

- [0061] 상기 α -케토글루탈산의 함유량이, 물비로, 상기 아미노산원의 함유량의 1 내지 20배인, 상기 조성물.
- [0062] [16]
- [0063] 목적 물질의 제조 방법이며,
- [0064] 상기 조성물을 사용하여 목적 물질 생산능을 갖는 동물 세포를 배양하는 것; 및
- [0065] 목적 물질을 회수하는 것
- [0066] 을 포함하는, 방법.
- [0067] [17]
- [0068] 상기 목적 물질이 단백질 또는 바이러스인, 상기 방법.
- [0069] [18]
- [0070] 동물 세포의 배양 방법이며,
- [0071] 상기 조성물을 사용하여 동물 세포를 배양하는 것
- [0072] 을 포함하는, 방법.
- [0073] [19]
- [0074] α -케토글루탈산의 염의 사용이며,
- [0075] 아미노산원을 함유하는 조성물의 고결을 방지하기 위한, 사용.
- [0076] [20]
- [0077] 상기 아미노산원이 시스테인, 글리신, 아스파라긴, 글루탐산, 리신, 페닐알라닌, 메티오닌, 오르니틴, 티로신 또는 글리신 함유 디펩티드인, 상기 사용.
- [0078] [21]
- [0079] 하기 조건 (1) 내지 (10)에서 선택되는 1개 또는 그 이상의 조건을 만족시키는, 상기 사용:
- [0080] (1) 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인 또는 L-시스테인염산염이다;
- [0081] (2) 상기 글리신이 프리체의 글리신 또는 프리체의 글리실-L-티로신이다;
- [0082] (3) 상기 아스파라긴이 프리체의 L-아스파라긴이다;
- [0083] (4) 상기 글루탐산이 L-글루탐산1나트륨이다;
- [0084] (5) 상기 리신이 L-리신염산염이다;
- [0085] (6) 상기 페닐알라닌이 프리체의 L-페닐알라닌이다;
- [0086] (7) 상기 메티오닌이 프리체의 L-메티오닌이다;
- [0087] (8) 상기 오르니틴이 L-오르니틴염산염이다;
- [0088] (9) 상기 티로신이 L-티로신2나트륨이다;
- [0089] (10) 상기 글리신 함유 디펩티드가 프리체의 글리실-L-티로신이다.
- [0090] [22]
- [0091] 하기 조건 (1a) 내지 (10a)에서 선택되는 1개 또는 그 이상의 조건을 만족시키는, 상기 사용:
- [0092] (1a) 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인무수화물 또는 L-시스테인염산염1수화물이다;
- [0093] (2a) 상기 글리신이 프리체의 글리신 또는 프리체의 글리실-L-티로신이다;
- [0094] (3a) 상기 아스파라긴이 프리체의 L-아스파라긴1수화물이다;
- [0095] (4a) 상기 글루탐산이 L-글루탐산1나트륨1수화물이다;

- [0096] (5a) 상기 리신이 L-리신염산염이다;
- [0097] (6a) 상기 페닐알라닌이 프리체의 L-페닐알라닌이다;
- [0098] (7a) 상기 메티오닌이 프리체의 L-메티오닌이다;
- [0099] (8a) 상기 오르니틴이 L-오르니틴염산염이다;
- [0100] (9a) 상기 티로신이 L-티로신2나트륨2수화물이다;
- [0101] (10a) 상기 글리신 함유 디펩티드가 프리체의 글리실-L-티로신2수화물이다.
- [0102] [23]
- [0103] 상기 아미노산원이 시스테인인, 상기 사용.
- [0104] [24]
- [0105] α-케토글루탈산의 염의 사용이며,
- [0106] 시스테인을 함유하는 조성물에 있어서의 시스테인 함유량의 감소를 방지하기 위한, 사용.
- [0107] [25]
- [0108] 상기 α-케토글루탈산의 염이 α-케토글루탈산의 알칼리 금속염 또는 알칼리 토류 금속염인, 상기 사용.
- [0109] [26]
- [0110] 상기 α-케토글루탈산의 염이 α-케토글루탈산의 나트륨염 또는 칼륨염인, 상기 사용.
- [0111] [27]
- [0112] 상기 α-케토글루탈산의 염이 α-케토글루탈산1나트륨 또는 α-케토글루탈산2나트륨인, 상기 사용.
- [0113] [28]
- [0114] 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인무수화물 또는 L-시스테인염산염1수화물인, 상기 사용.
- [0115] [29]
- [0116] 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인무수화물인, 상기 사용.
- [0117] [30]
- [0118] 상기 α-케토글루탈산의 염이, 상기 조성물에 있어서의 해당 α-케토글루탈산의 염의 함유량이, 몰비로, 상기 조성물에 있어서의 상기 아미노산원 또는 상기 시스테인의 함유량의 1 내지 20배가 되도록 사용되는, 상기 사용.
- [0119] [31]
- [0120] 동물 세포 배양용의 조성물을 제조하는 방법이며,
- [0121] 상기 조성물이, [1] 내지 [15] 중 어느 것에 기재된 조성물이며,
- [0122] 상기 아미노산원 및 상기 α-케토글루탈산을 혼합하는 것을 포함하는, 방법.

도면의 간단한 설명

- [0123] 도 1은 L-시스테인 및 α-케토글루탈산의 혼합 분체를 25℃에서 보관했을 때의 고결의 정도를 나타내는 도면(사진).
- 도 2는 L-시스테인 및 α-케토글루탈산의 혼합 분체를 40℃에서 보관했을 때의 고결의 정도를 나타내는 도면(사진).
- 도 3은 각종 아미노산원 및 α-케토글루탈산의 혼합 분체의 조제 직후의 고결의 정도를 나타내는 도면(사진).
- 도 4는 각종 아미노산원 및 α-케토글루탈산의 혼합 분체를 4℃에서 보관했을 때의 고결의 정도를 나타내는 도면(사진).

도 5는 각종 아미노산원 및 α-케토글루탈산의 혼합 분체를 25℃에서 보관했을 때의 고결의 정도를 나타내는 도면(사진).

도 6은 각종 아미노산원 및 α-케토글루탈산의 혼합 분체를 40℃에서 보관했을 때의 고결의 정도를 나타내는 도면(사진).

도 7은 L-시스테인염산염1수화물 및 프리체의 α-케토글루탈산의 혼합 분체를 25℃ 또는 40℃에서 보관했을 때의 L-시스테인 함유량의 추이를 나타내는 도면.

도 8은 프리체의 L-시스테인무수화물 및 프리체의 α-케토글루탈산의 혼합 분체를 25℃ 또는 40℃에서 보관했을 때의 L-시스테인 함유량의 추이를 나타내는 도면.

도 9는 L-시스테인염산염1수화물 및 α-케토글루탈산1나트륨의 혼합 분체를 25℃ 또는 40℃에서 보관했을 때의 L-시스테인 함유량의 추이를 나타내는 도면.

도 10은 프리체의 L-시스테인무수화물 및 α-케토글루탈산1나트륨의 혼합 분체를 25℃ 또는 40℃에서 보관했을 때의 L-시스테인 함유량의 추이를 나타내는 도면.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0124] <1> 본 발명의 조성물
- [0125] 본 발명의 조성물은, 아미노산원 및 α-케토글루탈산을 함유하는 조성물이다.
- [0126] 아미노산원 및 α-케토글루탈산을 총칭하여, 「유효 성분」이라고도 한다.
- [0127] 본 발명의 조성물은, 예를 들어 동물 세포의 배양에 이용할 수 있다. 즉, 본 발명의 조성물은 동물 세포 배양 용의 조성물이면 된다. 본 발명의 조성물은, 구체적으로는 예를 들어, 후술하는 본 발명의 방법에 기재된 양태로 동물 세포의 배양에 이용할 수 있다.
- [0128] 본 발명의 조성물은, 예를 들어 배지이면 된다. 배지로서는, 기초 배지, 유가 배지(feed medium), 관류 배지(perfusion medium)를 들 수 있다. 「기초 배지」란, 배양 개시 시의 배지를 의미해도 된다. 기초 배지를 「초발 배지」라고도 한다. 「유가 배지」란, 유가 배양에 있어서 배양 개시 후에 배양계에 공급되는 배지를 의미해도 된다. 「관류 배지」란, 연속 배양(이것은 관류 배양에 한정되지 않음)에 있어서 배양 개시 후에 배양계에 공급되는 배지를 의미해도 된다.
- [0129] 본 발명의 조성물은, 예를 들어 배지 첨가물이어도 된다. 「배지 첨가물」이란, 배지에 첨가하여 사용되는 조성물을 의미해도 된다. 배지 첨가물이 첨가되는 배지로서는, 기초 배지, 유가 배지, 관류 배지를 들 수 있다.
- [0130] 본 발명의 조성물은, 하기 성질 (A) 및/또는 (B)를 갖는다:
- [0131] (A) 상기 α-케토글루탈산이 α-케토글루탈산의 염이다;
- [0132] (B) 상기 아미노산원이 프리체의 L-시스테인무수화물이다.
- [0133] 본 발명의 조성물은, 성질 (A)와 (B) 중 어느 한쪽만을 갖고 있어도 되고, 성질 (A)와 (B)의 양쪽을 갖고 있어도 된다. 본 발명의 조성물은 특히 적어도 성질 (A)를 갖고 있어도 된다. 본 발명의 조성물은, 더욱 특히는 성질 (A)와 (B)의 양쪽을 갖고 있어도 된다.
- [0134] 본 발명의 조성물이 성질 (A) 및/또는 (B)를 가짐으로써, 본 발명의 조성물 안정성을 향상시킬 수 있는, 즉, 본 발명의 조성물 안정성이 향상되는 효과가 얻어진다. 동 효과를 「안정성 향상 효과」라고도 한다. 구체적으로는, 본 발명의 조성물이 성질 (A) 및/또는 (B)를 가짐으로써, 본 발명의 조성물이 성질 (A) 및/또는 (B)를 갖지 않는 경우와 비교하여, 본 발명의 조성물 안정성을 향상시킬 수 있다.
- [0135] 조성물의 안정성의 향상으로서, 조성물의 고결의 방지를 들 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물이 시스테인을 함유하는 경우(구체적으로는 유효 성분인 아미노산원으로서 시스테인을 선택한 경우), 조성물의 안정성의 향상으로서, 조성물에 있어서의 시스테인 함유량의 감소의 방지도 들 수 있다. 「조성물의 고결의 방지」란, 조성물의 고결의 정도가 저감되는 것을 의미하고, 조성물이 전혀 고결되지 않는 경우도 포함한다. 「조성물에 있어서의 시스테인 함유량의 감소의 방지」란, 조성물에 있어서의 시스테인 함유량의 감소의 정도가 저감되는 것을 의미하고, 조성물에 있어서 시스테인 함유량이 전혀 감소되지 않는 경우도 포함한다. 조성물의 고결을 방지하는 효과를, 「고결의 방지 효과」라고도 한다. 조성물에 있어서의 시스테인 함유량의 감소를 방지하는 효과

를, 「시스테인 감소의 방지 효과」라고도 한다. 즉, 본 발명의 조성물이 성질 (A) 및/또는 (B)를 가짐으로써, 고결의 방지 효과 및/또는 시스테인 감소의 방지 효과가 얻어져도 된다. 즉, 본 발명의 조성물이 성질 (A) 및/또는 (B)를 가짐으로써, 조성물의 고결이 방지되어도 되고, 또한/또는 조성물에 있어서의 시스테인 함유량의 감소가 방지되어도 된다. 구체적으로는, 본 발명의 조성물이 성질 (A) 및/또는 (B)를 가짐으로써, 본 발명의 조성물이 성질 (A) 및/또는 (B)를 갖지 않는 경우와 비교하여, 조성물의 고결이 방지되어도 되고, 또한/또는 조성물에 있어서의 시스테인 함유량의 감소가 방지되어도 된다.

[0136] 예를 들어, 본 발명의 조성물이 성질 (A)와 (B) 중 어느 한쪽만을 가짐으로써, 본 발명의 조성물이 성질 (A)와 (B)를 모두 갖지 않는 경우와 비교하여, 본 발명의 조성물 안정성이 향상되어도 된다. 본 발명의 조성물이 성질 (A)와 (B) 중 어느 한쪽만을 가짐으로써, 본 발명의 조성물이 성질 (A)와 (B)를 모두 갖지 않는 경우와 비교하여, 특히 조성물의 고결이 방지되어도 된다.

[0137] 예를 들어, 본 발명의 조성물이 성질 (A)와 (B)의 양쪽을 가짐으로써, 본 발명의 조성물이 성질 (A)와 (B)를 모두 갖지 않는 경우와 비교하여, 본 발명의 조성물의 안정성이 향상되어도 된다. 본 발명의 조성물이 성질 (A)와 (B)의 양쪽을 가짐으로써, 본 발명의 조성물이 성질 (A)와 (B)를 모두 갖지 않는 경우와 비교하여, 특히 조성물의 고결이 방지되어도 되고, 또한/또는 조성물에 있어서의 시스테인 함유량의 감소가 방지되어도 된다. 본 발명의 조성물이 성질 (A)와 (B)의 양쪽을 가짐으로써, 본 발명의 조성물이 성질 (A)와 (B)를 모두 갖지 않는 경우와 비교하여, 더욱 특히는 조성물의 고결이 방지되어도 되고, 또한 조성물에 있어서의 시스테인 함유량의 감소가 방지되어도 된다.

[0138] 예를 들어, 본 발명의 조성물이 성질 (A)와 (B)의 양쪽을 가짐으로써, 본 발명의 조성물이 성질 (A)와 (B) 중 어느 한쪽만을 갖는 경우와 비교하여, 본 발명의 조성물의 안정성이 향상되어도 된다. 본 발명의 조성물이 성질 (A)와 (B)의 양쪽을 가짐으로써, 본 발명의 조성물이 성질 (A)와 (B) 중 어느 한쪽만을 갖는 경우와 비교하여, 특히 조성물의 고결이 방지되어도 되고, 또한/또는 조성물에 있어서의 시스테인 함유량의 감소가 방지되어도 된다. 본 발명의 조성물이 성질 (A)와 (B)의 양쪽을 가짐으로써, 본 발명의 조성물이 성질 (A)와 (B) 중 어느 한쪽만을 갖는 경우와 비교하여, 더욱 특히는 조성물의 고결이 방지되어도 되고, 또한 조성물에 있어서의 시스테인 함유량의 감소가 방지되어도 된다.

[0139] 본 발명의 조성물이 성질 (A)를 갖지 않는 경우로서는, α -케토글루탈산이 프리체의 α -케토글루탈산인 경우를 들 수 있다. 본 발명의 조성물이 성질 (B)를 갖지 않는 경우로서는, 아미노산원이 프리체의 L-시스테인 이외의 시스테인인 경우를 들 수 있고, 구체적으로는 아미노산원이 L-시스테인염산염1수화물인 경우나 아미노산원이 L-시스테인염산염무수화물인 경우를 들 수 있다.

[0140] 안정성 향상 효과는, 소정의 조건에서 보관 후의 본 발명의 조성물에 있어서의 해당 파라미터를, 본 발명의 조성물이 성질 (A) 및/또는 (B)를 갖는 경우와 갖지 않는 경우에서 비교함으로써 확인할 수 있다.

[0141] 즉, 고결의 방지 효과는, 소정의 조건에서 보관 후의 본 발명의 조성물의 고결의 정도를, 본 발명의 조성물이 성질 (A) 및/또는 (B)를 갖는 경우와 갖지 않는 경우에서 비교함으로써 확인할 수 있다. 고결의 정도는, 예를 들어 육안에 의한 눈으로 보아 확인할 수 있다. 또한, 고결의 정도는, 예를 들어 조성물의 입자경(예를 들어, 평균 입자경 D50)을 지표로 하여 확인할 수 있다. 즉, 조성물의 입자경(예를 들어, 평균 입자경 D50)이 작을수록, 고결의 정도가 낮다고 판단해도 된다. 「평균 입자경 D50」이란, 입경 가적 곡선의 그래프에서 통과 질량 백분율 50%에 상당하는 입자경을 의미해도 된다. 평균 입자경 D50은, 예를 들어 로우탭형 체 진탕기에 의해 측정할 수 있다.

[0142] 또한, 시스테인 감소의 방지 효과는, 소정의 조건에서 보관 후의 본 발명의 조성물에 있어서의 시스테인 함유량의 감소의 정도를, 본 발명의 조성물이 성질 (A) 및/또는 (B)를 갖는 경우와 갖지 않는 경우에서 비교함으로써 확인할 수 있다. 시스테인 함유량의 감소의 정도는, 보관 전후에서의 본 발명의 조성물에 있어서의 시스테인 함유량의 비율을 지표로 하여 확인할 수 있다. 즉, 보관 전의 본 발명의 조성물에 있어서의 시스테인 함유량에 대한 보관 후의 본 발명의 조성물에 있어서의 시스테인 함유량의 비율이 클수록, 시스테인 함유량의 감소의 정도가 낮다고 판단해도 된다. 시스테인 함유량은, 예를 들어 W0201/060517A에 기재된 방법에 의해 측정할 수 있다.

[0143] 상기 보관에 관한 소정의 조건에서서는, 본 발명의 조성물이 성질 (A)와 (B)를 모두 갖지 않는 경우에 고결 및/또는 시스테인 함유량의 감소가 확인되는 조건을 들 수 있다. 상기 보관에 관한 소정의 조건으로서, 구체적으로는 차광 조건에서의, 25℃에서 3일간, 25℃에서 7일간, 25℃에서 14일간, 25℃에서 21일간, 40℃에서 3일간,

40℃에서 7일간, 40℃에서 14일간, 40℃에서 21일간의 보관을 들 수 있다. 보관은, 예를 들어 흡습제의 존재 하에서 실시해도 된다. 흡습제로서는, 실리카겔, 생석회(산화칼슘), 염화칼슘, 제올라이트를 들 수 있다. 흡습제로서는, 특히 실리카겔을 들 수 있다. 또한, 보관은, 예를 들어 흡습 기능을 갖는 포장 재료 내에서 실시해도 된다. 흡습 기능을 갖는 포장 재료로서는, 흡습 필름을 갖는 알루미늄 파우치를 들 수 있다. 즉, 상기 보관에 관한 소정의 조건으로서, 보다 구체적으로는, 흡습제의 존재 하 또는 흡습 기능을 갖는 포장 재료 내에 있어서의, 차광 조건에서의, 25℃에서 3일간, 25℃에서 7일간, 25℃에서 14일간, 25℃에서 21일간, 40℃에서 3일간, 40℃에서 7일간, 40℃에서 14일간, 40℃에서 21일간의 보관을 들 수 있다. 안정성 향상 효과(예를 들어, 고결의 방지 효과 및/또는 시스테인 감소의 방지 효과)는, 예를 들어 상기 예시한 조건에서 선택되는 1개 또는 그 이상의 조건에서 확인되면 된다.

[0144] 「아미노산원」이란, 아미노산 및 그것을 발생하는 화합물의 총칭이다. 아미노산원은, 안정성 향상 효과가 얻어지는 한, 특별히 제한되지 않는다. 아미노산원은, 예를 들어 프리체의 α-케토글루탈산과의 혼합물에 있어서 고결이 발생하는 것이면 된다. 아미노산원과 프리체의 α-케토글루탈산의 혼합물에 있어서 고결이 발생할지 여부는, 소정의 조건에서 보관 후의 당해 혼합물에 있어서의 고결의 유무를 확인함으로써 확인할 수 있다. 당해 보관에 관한 소정의 조건에서서는, 상술한 안정성 향상 효과의 확인에 있어서의 보관에 관한 소정의 조건에 관한 기제를 준용할 수 있다.

[0145] 아미노산원으로서, 글리신원, 알라닌원, 발린원, 류신원, 이소류신원, 시스테인원, 메티오닌원, 페닐알라닌원, 티로신원, 트립토판원, 히스티딘원, 리신원, 아르기닌원, 세린원, 트레오닌원, 아스파르트산원, 글루탐산원, 아스파라긴원, 글루타민원, 프롤린원, 오르니틴원을 들 수 있다. 즉, 아미노산원으로서, 글리신, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 시스테인, 메티오닌, 페닐알라닌, 티로신, 트립토판, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린, 트레오닌, 아스파르트산, 글루탐산, 아스파라긴, 글루타민, 프롤린, 오르니틴을 들 수 있다. 아미노산원으로서, 특히 시스테인원, 글리신원, 아스파라긴원, 글루탐산원, 리신원, 페닐알라닌원, 메티오닌원, 오르니틴원, 티로신원을 들 수 있다. 즉, 아미노산원으로서, 특히 시스테인, 글리신, 아스파라긴, 글루탐산, 리신, 페닐알라닌, 메티오닌, 오르니틴, 티로신을 들 수 있다. 아미노산원으로서, 더욱 특히는 시스테인원, 글리신원, 아스파라긴원, 글루탐산원, 리신원, 페닐알라닌원, 메티오닌원을 들 수 있다. 즉, 아미노산으로서, 더욱 특히는 시스테인, 글리신, 아스파라긴, 글루탐산, 리신, 페닐알라닌, 메티오닌을 들 수 있다. 아미노산으로서, 더욱 특히는 시스테인을 들 수 있다. 아미노산을 발생하는 화합물로서는, 가수 분해에 의해 아미노산을 발생하는 화합물을 들 수 있다. 가수 분해에 의해 아미노산을 발생하는 화합물로서는, 아미노산을 구성 요소로서 포함하는 펩티드를 들 수 있다. 펩티드로서는, 디펩티드나 트리펩티드를 들 수 있다. 펩티드로서는, 특히 글리신을 구성 요소로서 포함하는 디펩티드 등의, 글리신을 구성 요소로서 포함하는 펩티드를 들 수 있다. 글리신을 구성 요소로서 포함하는 펩티드를, 「글리신 함유 펩티드」라고도 한다. 글리신 함유 펩티드에 있어서의 글리신의 위치는, 특별히 제한되지 않는다. 글리신 함유 펩티드에 있어서의 글리신의 위치는, 예를 들어 N 말단, C 말단 또는 그 이외의 위치이면 된다. 글리신 함유 펩티드에 있어서의 글리신의 위치는, 특히 N 말단이면 된다. 글리신 함유 디펩티드로서는, 특히 글리신과 상기 예시한 어느 아미노산의 디펩티드를 들 수 있다. 글리신 함유 디펩티드로서, 더욱 특히는 글리실티로신을 들 수 있다. 글리실티로신은 글리신원의 일례이며, 또한 티로신원의 일례이기도 하다. 아미노산원(이것은, 예를 들어 프리체의 α-케토글루탈산과의 혼합물에 있어서 고결이 발생하는 것이면 됨)으로서, 특히 시스테인, 글리신, 아스파라긴, 글루탐산, 리신, 페닐알라닌, 메티오닌, 오르니틴, 티로신, 글리신 함유 디펩티드를 들 수 있다. 아미노산원(이것은, 예를 들어 프리체의 α-케토글루탈산과의 혼합물에 있어서 고결이 발생하는 것이면 됨)으로서, 더욱 특히는 시스테인, 글리신, 아스파라긴, 글루탐산, 리신, 페닐알라닌, 메티오닌, 글리신 함유 디펩티드를 들 수 있다. 또한, 시스테인 감소의 방지 효과를 얻는 경우, 아미노산원으로서, 특히 시스테인을 들 수 있다.

[0146] 아미노산원으로서, 1종의 아미노산원을 사용해도 되고, 2종 또는 그 이상의 아미노산원을 조합하여 사용해도 된다. 아미노산원으로서, 예를 들어 시스테인원과 다른 1종 또는 그 이상의 아미노산원을 조합하여 사용해도 된다. 아미노산원으로서, 구체적으로는 예를 들어, 시스테인원과, 글리신원, 아스파라긴원, 글루탐산원, 리신원, 페닐알라닌원, 메티오닌원, 오르니틴원 및 티로신원에서 선택되는 1종 또는 그 이상의 아미노산원을 조합하여 사용해도 된다. 아미노산원으로서, 구체적으로는 예를 들어, 시스테인원과, 글리신원, 아스파라긴원, 글루탐산원, 리신원, 페닐알라닌원 및 메티오닌원에서 선택되는 1종 또는 그 이상의 아미노산원을 조합하여 사용해도 된다.

[0147] 아미노산은, 예를 들어 L체이면 된다. 즉, 예를 들어 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 시스테인, 메티오닌, 페

닐알라닌, 티로신, 트립토판, 히스티딘, 리신, 아르기닌, 세린, 트레오닌, 아스파르트산, 글루탐산, 아스파라긴, 글루타민, 프롤린 및 오르니틴은, 각각 L-알라닌, L-발린, L-류신, L-이소류신, L-시스테인, L-메티오닌, L-페닐알라닌, L-티로신, L-트립토판, L-히스티딘, L-리신, L-아르기닌, L-세린, L-트레오닌, L-아스파르트산, L-글루탐산, L-아스파라긴, L-글루타민, L-프롤린 및 L-오르니틴이면 된다. 또한, 예를 들어 글리실티로신은 글리실-L-티로신이면 된다.

[0148] 아미노산원이 염을 형성할 수 있는 경우, 아미노산원은 프리체로서 사용되어도 되고, 염으로서 사용되어도 되고, 그들의 조합으로서 사용되어도 된다. 즉, 「아미노산원」이라는 용어는, 특기하지 않는 한, 프리체의 아미노산원, 혹은 그의 염 또는 그들의 조합을 의미해도 된다. 예를 들어, 「시스테인」이라는 용어는, 특기하지 않는 한, 프리체의 시스테인, 혹은 그의 염 또는 그들의 조합을 의미해도 된다. 「프리체」란, 염을 형성하지 않은 형태를 의미한다. 염은, 동물 세포의 배양에 이용할 수 있는 것이면, 특별히 제한되지 않는다. 예를 들어, 카르복실기 등의 산성기에 대한 염으로서, 암모늄염, 나트륨, 칼륨 등의 알칼리 금속과의 염, 칼슘, 마그네슘 등의 알칼리 토류 금속과의 염, 알루미늄염, 아연염, 트리에틸아민, 에탄올아민, 모르폴린, 피롤리딘, 피페리딘, 피페라진, 디시클로헥실아민 등의 유기 아민과의 염, 아르기닌, 리신 등의 염기성 아미노산과의 염을 들 수 있다. 또한, 아미노기 등의 염기성기에 대한 염으로서, 염산, 황산, 인산, 질산, 브롬화수소산 등의 무기산과의 염, 아세트산, 시트르산, 벤조산, 말레산, 푸마르산, 타르타르산, 숙신산, 탄닌산, 부티르산, 히벤즈산, 파모산, 에난트산, 데칸산, 테오클산, 살리실산, 락트산, 옥살산, 만델산, 말산 등의 유기 카르복실산과의 염, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 등의 유기 술폰산과의 염을 들 수 있다. 염으로서, 1종의 염을 사용해도 되고, 2종 또는 그 이상의 염을 조합하여 사용해도 된다. 예를 들어, 시스테인, 리신 또는 오르니틴의 염으로서, 특히 무기산과의 염을 들 수 있다. 시스테인, 리신 또는 오르니틴의 염으로서, 더욱 특히는 염산염을 들 수 있다. 또한, 예를 들어 티로신 또는 글루탐산의 염으로서, 특히 알칼리 금속과의 염을 들 수 있다. 티로신 또는 글루탐산의 염으로서, 더욱 특히는 나트륨염을 들 수 있다. 티로신의 나트륨염으로서, 2나트륨염을 들 수 있다. 글루탐산의 나트륨염으로서, 1나트륨염을 들 수 있다. 또한, 아미노산원이 염을 형성할 수 있는 경우, 아미노산원은 무수화물로서 사용되어도 되고, 수화물로서 사용되어도 되고, 그들의 조합으로서 사용되어도 된다. 즉, 「아미노산원」이라는 용어(예를 들어, 「프리체의 아미노산원」이나 「아미노산원의 염」)는 특기하지 않는 한, 무수화물 및 수화물을 포함해도 된다. 예를 들어, 「시스테인」이라는 용어(예를 들어, 「프리체의 시스테인」이나 「시스테인의 염」)는 특기하지 않는 한, 무수화물 및 수화물을 포함해도 된다. 예를 들어, 시스테인, 아스파라긴 또는 글루탐산의 수화물로서, 1수화물을 들 수 있다. 또한, 예를 들어 글리실티로신의 수화물로서, 2수화물을 들 수 있다. 아미노산원은 본 발명의 조성물 사용 시(예를 들어, 동물 세포의 배양 시)에는 이온 등의 사용 양태에 따른 형태를 취하고 있어도 된다.

[0149] 시스테인원(구체적으로는 시스테인)으로서, 특히 L-시스테인을 들 수 있다. L-시스테인으로서, 특히 프리체의 L-시스테인이나 L-시스테인염산염을 들 수 있다. 프리체의 L-시스테인으로서, 특히 프리체의 L-시스테인무수화물을 들 수 있다. L-시스테인염산염으로서, 특히 L-시스테인염산염1수화물을 들 수 있다. 즉, 시스테인원으로서, 더욱 특히는 프리체의 L-시스테인무수화물이나 L-시스테인염산염1수화물을 들 수 있다. 시스테인원으로서, 더욱 특히는 프리체의 L-시스테인무수화물을 들 수 있다. 또한, 성질 (B)를 선택한 경우, 시스테인원은 프리체의 L-시스테인무수화물이다.

[0150] 글리신원(구체적으로는 글리신 또는 그것을 구성 요소로서 포함하는 디펩티드)으로서, 특히 글리신이나 글리실-L-티로신을 들 수 있다. 글리신으로서, 특히 프리체의 글리신을 들 수 있다. 글리실-L-티로신으로서, 특히 프리체의 글리실-L-티로신을 들 수 있다. 프리체의 글리실-L-티로신으로서, 특히 프리체의 글리실-L-티로신2수화물을 들 수 있다.

[0151] 아스파라긴원(구체적으로는 아스파라긴)으로서, 특히 L-아스파라긴을 들 수 있다. L-아스파라긴으로서, 특히 프리체의 L-아스파라긴을 들 수 있다. 프리체의 L-아스파라긴으로서, 특히 프리체의 L-아스파라긴1수화물을 들 수 있다.

[0152] 글루탐산원(구체적으로는 글루탐산)으로서, 특히 L-글루탐산을 들 수 있다. L-글루탐산으로서, 특히 L-글루탐산1나트륨염을 들 수 있다. L-글루탐산1나트륨으로서, 특히 L-글루탐산1나트륨1수화물을 들 수 있다.

[0153] 리신원(구체적으로는 리신)으로서, 특히 L-리신을 들 수 있다. L-리신으로서, 특히 L-리신염산염을 들 수 있다.

[0154] 페닐알라닌원(구체적으로는 페닐알라닌)으로서, 특히 L-페닐알라닌을 들 수 있다. L-페닐알라닌으로서, 특히 프리체의 L-페닐알라닌을 들 수 있다.

- [0155] 메티오닌원(구체적으로는 메티오닌)으로서는, 특히 L-메티오닌을 들 수 있다. L-메티오닌으로서는, 특히 프리체의 L-메티오닌을 들 수 있다.
- [0156] 오르니틴원(구체적으로는 오르니틴)으로서는, 특히 L-오르니틴을 들 수 있다. L-오르니틴으로서는, 특히 L-오르니틴염산염을 들 수 있다.
- [0157] 티로신원(구체적으로는 티로신 또는 그것을 구성 요소로서 포함하는 디펩티드)으로서는, 특히 L-티로신이나 글리실-L-티로신을 들 수 있다. L-티로신으로서는, 특히 프리체의 L-티로신이나 L-티로신2나트륨을 들 수 있다. L-티로신2나트륨으로서는, 특히 L-티로신2나트륨2수화물을 들 수 있다. 글리실-L-티로신으로서는, 특히 프리체의 글리실-L-티로신을 들 수 있다. 프리체의 글리실-L-티로신으로서는, 특히 프리체의 글리실-L-티로신2수화물을 들 수 있다.
- [0158] 즉, 본 발명의 조성물은, 예를 들어 하기 성질 (1) 내지 (10)으로 이루어지는 군에서 선택되는 1개 또는 그 이상의 성질을 가져도 된다:
- [0159] (1) 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인 또는 L-시스테인염산염이다;
- [0160] (2) 상기 글리신이 프리체의 글리신 또는 프리체의 글리실-L-티로신이다;
- [0161] (3) 상기 아스파라긴이 프리체의 L-아스파라긴이다;
- [0162] (4) 상기 글루탐산이 L-글루탐산1나트륨이다;
- [0163] (5) 상기 리신이 L-리신염산염이다;
- [0164] (6) 상기 페닐알라닌이 프리체의 L-페닐알라닌이다;
- [0165] (7) 상기 메티오닌이 프리체의 L-메티오닌이다;
- [0166] (8) 상기 오르니틴이 L-오르니틴염산염이다;
- [0167] (9) 상기 티로신이 L-티로신2나트륨이다;
- [0168] (10) 상기 글리신 함유 디펩티드가 프리체의 글리실-L-티로신이다.
- [0169] 또한, 본 발명의 조성물은, 예를 들어 하기 성질 (1a) 내지 (10a)로 이루어지는 군에서 선택되는 1개 또는 그 이상의 성질을 가져도 된다:
- [0170] (1a) 상기 시스테인이 프리체의 L-시스테인무수화물 또는 L-시스테인염산염1수화물이다;
- [0171] (2a) 상기 글리신이 프리체의 글리신 또는 프리체의 글리실-L-티로신이다;
- [0172] (3a) 상기 아스파라긴이 프리체의 L-아스파라긴1수화물이다;
- [0173] (4a) 상기 글루탐산이 L-글루탐산1나트륨1수화물이다;
- [0174] (5a) 상기 리신이 L-리신염산염이다;
- [0175] (6a) 상기 페닐알라닌이 프리체의 L-페닐알라닌이다;
- [0176] (7a) 상기 메티오닌이 프리체의 L-메티오닌이다;
- [0177] (8a) 상기 오르니틴이 L-오르니틴염산염이다;
- [0178] (9a) 상기 티로신이 L-티로신2나트륨2수화물이다;
- [0179] (10a) 상기 글리신 함유 디펩티드가 프리체의 글리실-L-티로신2수화물이다.
- [0180] 상기 성질 (1a) 내지 (10a)는 각각, 상기 (1) 내지 (10)의 일례일 수 있다.
- [0181] 아미노산원으로서, 시판품을 사용해도 되고, 적절히 제조하여 취득한 것을 사용해도 된다. 아미노산원의 제조 방법은 특별히 제한되지 않는다. 아미노산원은, 예를 들어 화학 합성, 효소 반응, 발효법, 추출법 또는 그들의 조합에 의해 제조할 수 있다. 아미노산원은, 구체적으로는 예를 들어, 아미노산원의 생산능을 갖는 미생물을 배양하고, 배양액 또는 균체로 아미노산원을 회수함으로써 제조할 수 있다. 아미노산원은 원하는 정도로 정제되어 있어도 되고, 그렇지 않아도 된다. 즉, 아미노산원으로서, 정제품을 사용해도 되고, 아미노산원을 함유하는 소재를 사용해도 된다. 아미노산원으로서, 예를 들어 아미노산원의 함유량이 1%(w/w) 이상, 5%

(w/w) 이상, 10%(w/w) 이상, 30%(w/w) 이상, 50%(w/w) 이상, 70%(w/w) 이상, 90%(w/w) 이상 또는 95%(w/w) 이상인 소재를 사용해도 된다.

[0182] α-케토글루탈산은 프리체로서 사용되어도 되고, 염으로서 사용되어도 되고, 그들의 조합으로서 사용되어도 된다. 즉, 「α-케토글루탈산」이라는 용어는, 특기하지 않는 한, 프리체의 α-케토글루탈산, 혹은 그의 염 또는 그들의 조합을 의미해도 된다. α-케토글루탈산의 염에 대해서는, 아미노산원의 염에 있어서의 산성기에 대한 염에 관한 기재를 준용할 수 있다. α-케토글루탈산의 염으로서, 특히 알칼리 금속과의 염이나 알칼리 토류 금속과의 염을 들 수 있다. α-케토글루탈산의 염으로서, 더욱 특히는 나트륨염이나 칼륨염 등의 알칼리 금속과의 염을 들 수 있다. α-케토글루탈산의 염으로서, 더욱 특히는 나트륨염을 들 수 있다. α-케토글루탈산의 나트륨염으로서, 1나트륨염이나 2나트륨염을 들 수 있다. α-케토글루탈산의 나트륨염으로서, 특히 1나트륨염을 들 수 있다. α-케토글루탈산의 칼륨염으로서, 1칼륨염이나 2칼륨염을 들 수 있다. 또한, α-케토글루탈산은, 무수화물로서 사용되어도 되고, 수화물로서 사용되어도 되고, 그들의 조합으로서 사용되어도 된다. 즉, 「α-케토글루탈산」이라는 용어(예를 들어, 「프리체의 α-케토글루탈산」이나 「α-케토글루탈산의 염」)는 특기하지 않는 한, 무수화물 및 수화물을 포함해도 된다. α-케토글루탈산의 수화물로서, 1수화물이나 2수화물을 들 수 있다. α-케토글루탈산(특히 α-케토글루탈산의 염)으로서, 구체적으로는 α-케토글루탈산1나트륨 무수화물이나 α-케토글루탈산2나트륨2수화물을 들 수 있다. 또한, 성질 (A)를 선택한 경우, α-케토글루탈산은 α-케토글루탈산의 염이다. α-케토글루탈산은, 본 발명의 조성물 사용 시(예를 들어, 동물 세포의 배양시)에는 이온 등의 사용 양태에 따른 형태를 취하고 있어도 된다.

[0183] α-케토글루탈산으로서, 시판품을 사용해도 되고, 적절히 제조하여 취득한 것을 사용해도 된다. α-케토글루탈산의 제조 방법은 특별히 제한되지 않는다. α-케토글루탈산은, 예를 들어 화학 합성, 효소 반응, 발효법, 추출법 또는 그들의 조합에 의해 제조할 수 있다. α-케토글루탈산은, 구체적으로는 예를 들어 α-케토글루탈산의 생산능을 갖는 미생물을 배양하여, 배양액 또는 균체로 α-케토글루탈산을 회수함으로써 제조할 수 있다. α-케토글루탈산은 원하는 정도로 정제되어 있어도 되고, 그렇지 않아도 된다. 즉, α-케토글루탈산으로서, 정제품을 사용해도 되고, α-케토글루탈산을 함유하는 소재를 사용해도 된다. α-케토글루탈산으로서, 예를 들어 α-케토글루탈산의 함유량이 1%(w/w) 이상, 5%(w/w) 이상, 10%(w/w) 이상, 30%(w/w) 이상, 50%(w/w) 이상, 70%(w/w) 이상, 90%(w/w) 이상 또는 95%(w/w) 이상의 소재를 사용해도 된다.

[0184] 본 발명의 조성물은 유효 성분을 포함하는 것이어도 되고, 유효 성분 이외의 성분을 함유하고 있어도 된다. 유효 성분 이외의 성분, 「추가 성분」이라고도 한다.

[0185] 추가 성분은, 본 발명의 목적을 손상시키지 않는 한, 특별히 제한되지 않는다. 추가 성분은, 예를 들어 동물 세포의 종류나 본 발명의 조성물의 사용 양태 등의 여러 조건에 따라서 적절히 선택할 수 있다. 추가 성분으로서, 배지 성분을 들 수 있다.

[0186] 배지 성분으로서, 탄소원, 아미노산원, 비타민, 무기 성분, pH 완충제, 성장 인자, 혈청, 혈청 알부민, 선택 약제, 유전자 발현 유도제를 들 수 있다. 탄소원으로서, 글루코오스 등의 당류를 들 수 있다. 아미노산원에 대해서는, 상술한 바와 같다. 추가 성분인 아미노산원은, 예를 들어 프리체의 α-케토글루탈산과의 혼합물에 있어서 고결이 발생하는 것이어도 되고, 그렇지 않아도 된다. 추가 성분인 아미노산원으로서, 유효 성분인 아미노산원으로서 선택되지 않은 것을 선택해도 된다. 예를 들어, 유효 성분인 아미노산원으로서 시스테인을 선택한 경우에, 추가 성분으로서 시스테인 이외의 1종 또는 그 이상의 아미노산원을 선택해도 된다. 추가 성분인 아미노산원으로서, 특히 티로신원을 들 수 있다. 비타민으로서, 비타민 A, 비타민 B1, 비타민 B2, 비타민 B3, 비타민 B5, 비타민 B6, 비타민 B7, 비타민 B9, 비타민 B12, 비타민 C, 비타민 D, 비타민 E 및 비타민 K 나 그들의 전구체를 들 수 있다. 무기 성분으로서, 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘, 인, 각종 미량 원소(예를 들어, Co, Cu, F, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, Si, Ni, Bi, V 및 Zn)를 들 수 있다. pH 완충제로서, 탄산수소나트륨, 인산염, HEPES를 들 수 있다. 성장 인자로서, 인슐린, IGF-1, FGF를 들 수 있다.

[0187] 추가 성분이 염을 형성할 수 있는 경우, 추가 성분은 프리체로서 사용되어도 되고, 염으로서 사용되어도 되고, 그들의 조합으로서 사용되어도 된다. 즉, 「추가 성분」이라는 용어는, 특기하지 않는 한, 프리체의 추가 성분, 혹은 그의 염 또는 그들의 조합을 의미해도 된다. 추가 성분의 염에 대해서는, 아미노산원의 염이나 α-케토글루탈산의 염에 관한 기재를 준용할 수 있다. 또한, 추가 성분이 수화물을 형성할 수 있는 경우, 추가 성분은 무수화물로서 사용되어도 되고, 수화물로서 사용되어도 되고, 그들의 조합으로서 사용되어도 된다. 즉, 「추가 성분」이라는 용어(예를 들어, 「프리체의 추가 성분」이나 「추가 성분의 염」)는 특기하지 않는 한, 무수화물 및 수화물을 포함해도 된다. 추가 성분의 수화물에 대해서는, 아미노산원의 수화물이나 α-케토글루

탈산의 수화물에 관한 기재를 준용할 수 있다. 추가 성분은, 사용 시에는 이온 등의 사용 양태에 따른 형태를 취하고 있어도 된다.

- [0188] 일 양태에 있어서, 본 발명의 조성물이 성질 (A)를 가짐으로써, 아미노산원 등의 추가 성분의 존재에서 기인하여 발생할 수 있는 본 발명의 조성물의 고결이 방지되어도 된다.
- [0189] 추가 성분으로서, 1종의 성분을 사용해도 되고, 2종 또는 그 이상의 성분을 조합하여 사용해도 된다.
- [0190] 본 발명의 조성물은, 예를 들어 유효 성분 및 임의로 추가 성분을 적절히 혼합함으로써 제조할 수 있다. 즉, 본 발명의 조성물의 제조 방법으로서, 유효 성분을 혼합하는(즉, 아미노산원 및 α -케토글루탈산을 혼합하는) 것을 포함하는, 본 발명의 조성물의 제조 방법을 들 수 있다. 각 유효 성분은, 다른 유효 성분과의 혼합 전에, 미리 추가 성분과 혼합되어 있어도 되고, 되지 않아도 된다. 즉, 「유효 성분을 혼합한다」는 표현에 있어서의 각 유효 성분은, 미리 추가 성분과 혼합된 것이어도 된다. 또한, 유효 성분의 혼합 후에, 추가 성분이 더 혼합되어도 된다.
- [0191] 본 발명의 조성물은, 예를 들어 적절히 제제화되어 있어도 된다. 제제화 시에는, 첨가제를 적절히 사용해도 된다. 첨가제로서는, 부형제, 결합제, 붕괴제, 활택제, 안정제, 교미 교취제, 희석제, 계면 활성제를 들 수 있다. 첨가제는, 예를 들어 본 발명의 조성물 형상 등의 여러 조건에 따라서, 적절히 선택할 수 있다.
- [0192] 본 발명의 조성물은, 예를 들어 분말, 플레이크, 정제 등의 고체 형상이면 된다. 본 발명의 조성물은 특히 분말이면 된다. 예를 들어, 적어도 고결 방지 효과를 얻는 경우에는, 본 발명의 조성물은 분말이면 된다.
- [0193] 본 발명의 조성물에 있어서의 각 성분(즉, 유효 성분 및 임의로 추가 성분)의 함유량이나 함유량비는, 안정성 향상 효과가 얻어지는 한, 특별히 제한되지 않는다. 본 발명의 조성물에 있어서의 각 성분의 함유량이나 함유량비는, 동물 세포의 종류나 본 발명의 조성물의 사용 양태 등의 여러 조건에 따라서 적절히 설정할 수 있다.
- [0194] 본 발명의 조성물에 있어서의 유효 성분의 총 함유량은, 0%(w/w)보다 많고, 또한 100%(w/w) 이하이다. 본 발명의 조성물에 있어서의 유효 성분의 총 함유량은, 예를 들어 1%(w/w) 이상, 2%(w/w) 이상, 5%(w/w) 이상, 10%(w/w) 이상, 20%(w/w) 이상, 30%(w/w) 이상, 50%(w/w) 이상 또는 70%(w/w) 이상이어도 되고, 100%(w/w) 이하, 99.9%(w/w) 이하, 90%(w/w) 이하, 70%(w/w) 이하, 50%(w/w) 이하, 30%(w/w) 이하, 20%(w/w) 이하, 10%(w/w) 이하 또는 5%(w/w) 이하여도 되고, 그들의 모순되지 않는 조합이어도 된다. 본 발명의 조성물에 있어서의 유효 성분의 총 함유량은, 구체적으로는 예를 들어, 1 내지 10%(w/w), 10 내지 30%(w/w), 30 내지 50%(w/w), 50 내지 70%(w/w), 70 내지 90%(w/w) 또는 70 내지 100%(w/w)여도 된다. 본 발명의 조성물에 있어서의 유효 성분의 총 함유량은, 구체적으로는 예를 들어, 1 내지 100%(w/w), 5 내지 90%(w/w) 또는 10 내지 70%(w/w)여도 된다.
- [0195] 본 발명의 조성물에 있어서의 α -케토글루탈산의 함유량은, 예를 들어 몰비로, 본 발명의 조성물에 있어서의 아미노산원(예를 들어 시스테인)의 함유량의, 0.5배 이상, 1배 이상, 1.5배 이상, 2배 이상, 2.5배 이상, 3배 이상, 3.5배 이상, 4배 이상, 4.5배 이상, 5배 이상, 5.5배 이상, 6배 이상, 6.5배 이상, 7배 이상, 7.5배 이상, 8배 이상, 8.5배 이상, 9배 이상, 9.5배 이상 또는 10배 이상이어도 되고, 20배 이하, 15배 이하, 12배 이하, 10배 이하, 9.5배 이하, 9배 이하, 8.5배 이하, 8배 이하, 7.5배 이하, 7배 이하, 6.5배 이하, 6배 이하, 5.5배 이하, 5배 이하, 4.5배 이하, 4배 이하, 3.5배 이하, 3배 이하, 2.5배 이하 또는 2배 이하여도 되고, 그들의 모순되지 않는 조합이어도 된다. 본 발명의 조성물에 있어서의 α -케토글루탈산의 함유량은, 구체적으로는 예를 들어, 몰비로, 본 발명의 조성물에 있어서의 아미노산원(예를 들어 시스테인)의 함유량의, 0.5 내지 2배, 1 내지 2배, 1.5 내지 2배, 2 내지 2.5배, 2.5 내지 3배, 3 내지 3.5배, 3.5 내지 4배, 4 내지 4.5배, 4.5 내지 5배, 5 내지 5.5배, 5.5 내지 6배, 6 내지 6.5배, 6.5 내지 7배, 7 내지 7.5배, 7.5 내지 8배, 8 내지 8.5배, 8.5 내지 9배, 9 내지 9.5배, 9.5 내지 10배, 10 내지 12배, 10 내지 15배, 또는 10 내지 20배여도 된다. 본 발명의 조성물에 있어서의 α -케토글루탈산의 함유량은, 구체적으로는 예를 들어, 몰비로, 본 발명의 조성물에 있어서의 아미노산원(예를 들어 시스테인)의 함유량의, 1 내지 20배, 2 내지 15배, 3 내지 10배, 또는 4 내지 7배여도 된다. 또한, 유효 성분으로서 2종 또는 그 이상의 아미노산원을 사용하는 경우, 여기에서 말하는 「아미노산원의 함유량」이란, 이들 아미노산원의 함유량의 총량을 의미한다. 그러나, 유효 성분으로서 2종 또는 그 이상의 아미노산원을 사용하는 경우, 본 발명의 조성물에 있어서의 α -케토글루탈산의 함유량은, 이들 아미노산원의 함유량에 대하여 각각 독립적으로, 상기 예시한 α -케토글루탈산의 함유량의 범위로 설정할 수도 있다.
- [0196] 본 발명의 조성물에 있어서의 각 유효 성분의 함유량은, 예를 들어 상술한 본 발명의 조성물에 있어서의 유효

성분의 총 함유량과 유효 성분의 함유량비가 얻어지도록 설정할 수 있다.

[0197] 본 발명의 조성물에 있어서의 각 성분(즉, 유효 성분 및 임의로 추가 성분)의 함유량은, 예를 들어 후술하는 본 발명의 방법에 있어서의 배지 중의 각 성분의 농도가 얻어지도록 설정할 수 있다.

[0198] 유효 성분은 서로 혼합된 상태로 본 발명의 조성물에 함유된다. 추가 성분은 유효 성분과 혼합되어 본 발명의 조성물에 함유되어 있어도 되고, 유효 성분과는 별개로 본 발명의 조성물에 함유되어 있어도 된다. 본 발명의 조성물이 2종 또는 그 이상의 추가 성분을 함유하는 경우, 이들 추가 성분은 서로 혼합되어 본 발명의 조성물에 함유되어 있어도 되고, 각각 별개로, 혹은 임의의 조합으로 별개로, 본 발명의 조성물에 함유되어 있어도 된다. 예를 들어, 본 발명의 조성물은 유효 성분의 패키지와 추가 성분의 패키지 세트로서 제공되어도 된다. 이러한 경우, 세트에 포함되는 성분은 사용 시에 적절히 병용할 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물은 패키지 내(구체적으로는 적어도 유효 성분의 패키지 내)에 흡습제를 봉입한 형태로 제공되어도 된다. 또한, 본 발명의 조성물(구체적으로는 적어도 유효 성분)은 흡습 기능을 갖는 포장 재료에 봉입한 형태로 제공되어도 된다.

[0199] 또한, 유효 성분의 양(예를 들어 함유량(농도)이나 사용량)은, 유효 성분을 함유하는 소재를 사용하는 경우에 있어서는, 당해 소재 중의 유효 성분 그 자체의 양에 기초하여 산출되는 것으로 한다. 또한, 유효 성분의 양(예를 들어 함유량(농도)이나 사용량)은, 유효 성분이 염 또는 수화물을 형성하고 있는 경우에 있어서는, 염 또는 수화물의 질량을 등물의 프리체의 무수화물의 질량으로 환산한 값에 기초하여 산출되는 것으로 한다.

[0200] <2> 본 발명의 방법

[0201] 본 발명의 방법은, 본 발명의 조성물을 이용하는 것을 포함하는 방법이다.

[0202] 본 발명의 조성물은, 예를 들어 동물 세포의 배양에 이용할 수 있다. 즉, 본 발명의 방법은 동물 세포의 배양 방법이며, 본 발명의 조성물을 사용하여 동물 세포를 배양하는 것을 포함하는 방법이면 된다.

[0203] 일 양태에 있어서는, 동물 세포의 배양에 의해 목적 물질이 제조되어도 된다. 즉, 동물 세포가 목적 물질 생산능을 갖는 경우, 동 세포의 배양에 의해 목적 물질을 제조할 수 있다. 즉, 본 발명의 방법(구체적으로는 동물 세포의 배양 방법)의 일 양태는, 목적 물질의 제조 방법이며, 본 발명의 조성물을 사용하여 목적 물질 생산능을 갖는 동물 세포를 배양하는 것, 및 목적 물질을 회수하는 것을 포함하는 방법이어도 된다.

[0204] 목적 물질은, 동물 세포에 의해 제조할 수 있는 것이면, 특별히 제한되지 않는다. 목적 물질로서는, 단백질이나 바이러스를 들 수 있다. 목적 물질로서 제조되는 단백질을, 「목적 단백질」이라고도 한다. 목적 물질로서 제조되는 바이러스를, 「목적 바이러스」라고도 한다.

[0205] 동물 세포는 특별히 제한되지 않는다. 동물 세포는, 예를 들어 동물 세포의 용도 등의 여러 조건에 따라서 적절히 선택할 수 있다. 예를 들어, 동물 세포를 목적 단백질의 제조에 이용하는 경우, 동물 세포는, 목적 단백질을 발현할 수 있는 것이면, 특별히 제한되지 않는다. 동물 세포를 「숙주」, 「발현 숙주」 또는 「숙주 세포」라고도 한다. 동물로서는, 포유류, 조류, 양서류, 곤충을 들 수 있다. 동물로서는, 특히 포유류를 들 수 있다. 포유류로서는, 설치류, 영장류, 기타 각종 포유류를 들 수 있다. 설치류로서는, 햄스터, 마우스, 래트, 모르모트를 들 수 있다. 햄스터로서는, 차이니즈 햄스터를 들 수 있다. 영장류로서는, 인간, 원숭이, 침팬지를 들 수 있다. 원숭이로서는, 아프리카 녹색원숭이를 들 수 있다. 기타 포유류로서는, 개를 들 수 있다. 조류로서는, 닭을 들 수 있다. 양서류로서는, 아프리카 발톱개구리를 들 수 있다. 곤충으로서는, 열대거세미나방(*Spodoptera frugiperda*)을 들 수 있다. 또한, 동물 세포가 유래하는 조직 또는 세포는, 특별히 제한되지 않는다. 동물 세포가 유래하는 조직 또는 세포로서는, 난소, 신장, 부신, 혀 상피, 코 상피, 송과체, 갑상선, 멜라노사이트, 피부, 비장, 간장, 폐, 췌장, 자궁, 위, 결장, 소장, 대장, 방광, 전립선, 정소, 흉선, 근육, 결합조직, 뼈, 연골, 혈관 조직, 혈액(제대혈을 포함함), 골수, 심장, 눈, 뇌, 신경 조직을 들 수 있다. 동물 세포는 분화되어 있어도 되고, 되어 있지 않아도 된다. 동물 세포로서, 구체적으로는 생식 세포, 체세포, 줄기세포, 전구 세포를 들 수 있다. 생식 세포로서는, 정자나 난자를 들 수 있다. 체세포로서는, 섬유아세포, 골수 세포, B 림프구, T 림프구, 호중구, 적혈구, 혈소판, 마크로파지, 단구, 뼈 세포, 주피 세포, 수지상 세포, 지방 세포, 간엽 세포, 상피 세포, 표피 세포(예를 들어, 각화 세포(케라티노사이트), 각질 세포 등), 내피 세포, 혈관 내피 세포, 간질질 세포, 연골 세포, 난구(卵丘) 세포, 신경 세포, 글리아 세포, 올리고덴드로사이트(회돌기 교세포), 마이크로글리아(소교세포), 아스트로사이트(성상 교세포), 심장 세포, 식도 세포, 근육 세포(예를 들어, 평활근 세포, 골격근 세포), 췌장 베타 세포, 멜라닌 세포, 단핵 세포를 들 수 있다. 줄기세포로서는, 조혈 줄기세포, 위성 세포, 신경 줄기세포, 간엽계 줄기세포, 유선 줄기세포, 후점막 줄기세포, 신경관 줄기세포, 간 줄기세포, 췌장 줄기세포, 근 줄기세포, 생식 줄기세포, 장관 줄기세포, 모모 줄기세포 등의

성체 줄기세포; 배성 줄기세포(ES 세포), 배성 종양 세포, 배성 생식 줄기세포, 인공 다능성 줄기세포(iPS 세포) 등의 다능성 줄기세포; 암 줄기세포를 들 수 있다. 전구 세포로서는, 위성 세포, 척장 전구 세포, 혈관 전구 세포, 혈관 내피 전구 세포, 조혈 전구 세포(제대혈 유래의 CD34 양성 세포 등)를 들 수 있다. 차이나이즈 햄스터의 세포로서는, 차이나이즈 햄스터 난소 유래 세포주(CHO)를 들 수 있다. CHO로서, 구체적으로는 CHO-DG44, CHO-K1, CHO DUX(DHFR-), CHO-S, CHO-MK를 들 수 있다. 마우스의 세포로서는, 마우스 골수종 유래의 NS0 세포를 들 수 있다. 인간의 세포로서는, 인간 태아 신장 세포 유래 세포주(HEK)를 들 수 있다. HEK로서, 구체적으로는 HEK293이나 HEK293T를 들 수 있다. 개 세포로서는, 개 신장 유래의 MDCK 세포를 들 수 있다. 아프리카 녹색원숭이의 세포로서는, 아프리카 녹색원숭이 신장 세포 유래 세포주(COS)를 들 수 있다. COS로서, 구체적으로는 COS-1을 들 수 있다. 아프리카 발톱개구리의 세포로서는, 아프리카 발톱개구리 난모 세포를 들 수 있다. 열대거세미나방의 세포로서는, 열대거세미나방 난소 유래의 Sf9 세포, Sf21 세포, Sf+ 세포를 들 수 있다.

[0206] 「목적 물질 생산능을 갖는 동물 세포」란, 목적 물질을 생산하는 능력을 갖는 동물 세포를 의미한다. 「목적 물질 생산능을 갖는 동물 세포」란, 구체적으로는 배지에서 배양했을 때, 목적 물질을 생성(예를 들어, 목적 단백질을 발현)하고, 회수할 수 있을 정도로 배양물 중에 축적하는 능력을 갖는 동물 세포를 의미해도 된다. 「배양물 중에서의 축적」이란, 구체적으로는 배지 중, 세포 표층, 세포 내 또는 그들의 조합에의 축적을 의미해도 된다. 또한, 목적 물질이 세포 외(예를 들어, 배지 중 또는 세포 표층)에 축적되는 경우를, 목적 물질의 「분비」 또는 「분비 생산」이라고도 한다. 즉, 동물 세포는 목적 물질의 분비 생산능(목적 물질을 분비 생산하는 능력)을 갖고 있어도 된다. 목적 물질의 축적량은, 예를 들어 배양물 중에서의 축적량으로서, 10 µg/L 이상, 1mg/L 이상, 100mg/L 이상 또는 1g/L 이상이어도 된다. 동물 세포는 1종의 목적 물질의 생산능을 갖고 있어도 되고, 2종 또는 그 이상의 목적 물질의 생산능을 갖고 있어도 된다.

[0207] 동물 세포는 본래적으로 목적 물질 생산능을 갖는 것이어도 되고, 목적 물질 생산능을 갖도록 개변된 것이어도 된다. 또한, 동물 세포는, 본래적으로 갖는 목적 물질 생산능이 증강되도록 개변된 것이어도 된다. 목적 물질 생산능을 갖는 동물 세포는, 예를 들어 상기와 같은 동물 세포에 목적 물질 생산능을 부여함으로써, 또는 상기와 같은 동물 세포의 목적 물질 생산능을 증강시킴으로써, 취득할 수 있다. 예를 들어, 목적 단백질 생산능은, 목적 단백질을 코딩하는 유전자의 도입에 의해, 부여 또는 증강시킬 수 있다. 목적 단백질을 코딩하는 유전자를, 「목적 단백질 유전자」라고도 한다. 또한, 예를 들어 목적 바이러스 생산능은, 동물 세포에 목적 바이러스를 감염시킴으로써 부여할 수 있다.

[0208] 목적 단백질은, 동물 세포를 숙주로 하여 발현 가능한 것이면, 특별히 제한되지 않는다. 단백질은 숙주 유래의 단백질이어도 되고, 이종 단백질(heterologous protein)이어도 된다. 「이종 단백질(heterologous protein)」이란, 동 단백질 생산하는 숙주(즉, 목적 단백질 생산능을 갖는 동물 세포)에 있어서 외래성(exogenous)인 단백질을 말한다. 목적 단백질은, 예를 들어 천연에 존재하는 단백질이어도 되고, 그들을 개변한 단백질이어도 되고, 인공적으로 아미노산 서열을 디자인한 단백질이어도 된다. 목적 단백질은, 예를 들어 미생물 유래의 단백질이어도 되고, 식물 유래의 단백질이어도 되고, 동물 유래의 단백질이어도 되고, 바이러스 유래의 단백질이어도 된다. 목적 단백질은 특히 인간 유래의 단백질이어도 된다. 목적 단백질은 단량체 단백질이어도 되고, 다량체 단백질이어도 된다. 목적 단백질은 분비성 단백질이어도 되고, 비분비성 단백질이어도 된다. 또한, 「단백질」에는, 올리고펩티드나 폴리펩티드 등의, 펩티드라고 불리는 것도 포함된다.

[0209] 목적 단백질로서, 구체적으로는 효소, 생리 활성 단백질, 리셉터 단백질, 항원 단백질, 기타 단백질을 들 수 있다.

[0210] 효소로서는, 셀룰라아제, 크실라나제, 트랜스글루타미나아제, 프로테인글루타미나아제, 프로테인아스파라기나아제, 이소말토텍스트라나제, 프로테아제, 엔도펩티다아제, 엑소펩티다아제, 아미노펩티다아제, 카르복시펩티다아제, 콜라게나아제, 키티나제, γ-글루타밀발린 합성 효소, 글루탐산-시스테인 리가아제, 글루타티온 합성 효소를 들 수 있다.

[0211] 생리 활성 단백질로서는, 성장 인자(증식 인자), 호르몬, 사이토카인, 항체 관련 분자, 항체 미메틱을 들 수 있다.

[0212] 성장 인자(증식 인자)로서는, 상피 성장 인자(Epidermal growth factor; EGF), 인슐린형 성장 인자-1(Insulin-like growth factor-1; IGF-1), 트랜스 포밍 성장 인자(Transforming growth factor; TGF), 신경 성장 인자(Nerve growth factor; NGF), 뇌 유래 신경 영양 인자(Brain-derived neurotrophic factor; BDNF), 혈관 내피 세포 증식 인자(Vascular endothelial growth factor; VEGF), 과립구 콜로니 자극 인자(Granulocyte-colony

stimulating factor; G-CSF), 과립구 마크로파지 콜로니 자극 인자(Granulocyte-macrophage-colony stimulating factor; GM-CSF), 혈소판 유래 성장 인자(Platelet-derived growth factor; PDGF), 에리트로포이에틴(Erythropoietin; EPO), 트롬보포이에틴(Thrombopoietin; TPO), 산성 섬유아세포 증식 인자(Acidic fibroblast growth factor; aFGF 또는 FGF1), 염기성 섬유아세포 증식 인자(Basic fibroblast growth factor; bFGF 또는 FGF2), 섬유아세포 증식 인자(Fibroblast growth factor; FGF-4), 각질 세포 증식 인자(Keratinocyte growth factor; KGF-1 또는 FGF7이나, KGF-2 또는 FGF10), 간세포 증식 인자(Hepatocyte growth factor; HGF), 줄기세포 인자(Stem Cell Factor; SCF), 액티빈(Activin)을 들 수 있다. 액티빈으로서는, 액티빈 A, C, E를 들 수 있다.

[0213] 호르몬으로서는, 인슐린, 글루카곤, 소마토스타틴(somatostatin), 인간 성장 호르몬(human growth hormone; hGH), 부갑상선 호르몬(parathyroid hormone; PTH), 칼시토닌(calcitonin), 엑세나티드(exenatide)를 들 수 있다.

[0214] 사이토카인으로는, 인터류킨, 인터페론, 종양 괴사 인자(Tumor Necrosis Factor; TNF)를 들 수 있다.

[0215] 또한, 생리 활성 단백질은 단백질 전체여도 되고, 그 일부여도 된다. 단백질의 일부로서는, 예를 들어 생리 활성을 갖는 부분을 들 수 있다. 생리 활성을 갖는 부분으로서, 구체적으로는 예를 들어, 부갑상선 호르몬(parathyroid hormone; PTH)의 성숙체의 N 말단 34아미노산 잔기를 포함하는 생리 활성 펩티드 테리파라타이드(Teriparatide)를 들 수 있다.

[0216] 「항체 관련 분자」란, 완전 항체를 구성하는 도메인에서 선택되는 단일의 도메인 또는 2 혹은 그 이상의 도메인 조합을 포함하는 분자종을 포함하는 단백질을 의미해도 된다. 완전 항체를 구성하는 도메인으로는, 중쇄의 도메인인 VH, CH1, CH2 및 CH3, 그리고 경쇄의 도메인인 VL 및 CL을 들 수 있다. 항체 관련 분자는 상술한 분자종을 포함하는 한, 단량체 단백질이어도 되고, 다량체 단백질이어도 된다. 또한, 항체 관련 분자가 다량체 단백질인 경우에는, 단일 종류의 서브유닛을 포함하는 호모 다량체여도 되고, 2 또는 그 이상의 종류의 서브유닛을 포함하는 헤테로 다량체여도 된다. 항체 관련 분자로서, 구체적으로는 완전 항체, Fab, F(ab'), F(ab')₂, Fc, 중쇄(H쇄)와 경쇄(L쇄)를 포함하는 이량체, Fc 융합 단백질, 중쇄(H쇄), 경쇄(L쇄), 단쇄 Fv(scFv), sc(Fv)₂, 디슬피드 결합 Fv(sdFv), 디아바디(Diabody), VHH 프래그먼트(nanobody(등록 상표))를 들 수 있다. 항체 관련 분자로서, 보다 구체적으로는 트라스투주맙(Trastuzumab), 아달리무맙(Adalimumab), 니볼루맙(Nivolumab), VHH 항체 N15, VHH 항체 9g8을 들 수 있다. Fc 융합 단백질로서는, 본 명세서에 예시하는 각종 목적 단백질과 Fc 영역의 융합 단백질을 들 수 있다. Fc 융합 단백질로서, 구체적으로는 후술하는 Notch 리간드와 Fc 영역의 융합 단백질을 들 수 있다. Notch 리간드와 Fc 영역의 융합 단백질로서는, DLL4-Fc(즉, DLL4와 Fc 영역의 융합 단백질)를 들 수 있다.

[0217] 「항체 미메틱」이란, 항원과 특이적으로 결합할 수 있지만, 항체와는 구조적으로 관련되지 않는 유기 화합물을 의미해도 된다. 항체 미메틱으로서, 구체적으로는 단백질 A의 Z 도메인(Affibody)을 들 수 있다. 항체 미메틱으로서, 보다 구체적으로는 ZHER2 어피바디(affibody)를 들 수 있다.

[0218] 리셉터 단백질로서는, 생리 활성 단백질이나 기타 생리 활성 물질에 대한 리셉터 단백질을 들 수 있다. 기타 생리 활성 물질로서는, 도파민 등의 신경 전달 물질을 들 수 있다. 또한, 리셉터 단백질은, 대응하는 리간드가 알려져 있지 않은 오픈 수용체여도 된다.

[0219] 항원 단백질은, 면역 응답을 야기할 수 있는 것이면, 특별히 제한되지 않는다. 항원 단백질은, 예를 들어 상정하는 면역 응답의 대상에 따라서 적절히 선택할 수 있다. 항원 단백질은, 예를 들어 백신으로서 사용할 수 있다.

[0220] 기타 단백질로서는, 간형 지방산 결합 단백질(Liver-type fatty acid-binding protein)(LFABP), 형광 단백질, 이뮤노글로불린 결합 단백질, 알부민, 피브로인형 단백질, 세포 외 단백질을 들 수 있다. 형광 단백질로서는, 녹색 형광 단백질(Green Fluorescent Protein)(GFP)을 들 수 있다. 이뮤노글로불린 결합 단백질로서는, Protein A, Protein G, Protein L을 들 수 있다. 알부민으로서는, 인간 혈청 알부민을 들 수 있다. Notch 리간드로서는, DLL1, DLL3, DLL4, Jagged-1, Jagged-2를 들 수 있다. Notch 리간드는, 예를 들어 Fc 영역의 융합 단백질로서 구성되어 있어도 된다. 피브로인형 단백질로서는, W02017/090665나 W02017/171001에 개시된 것을 들 수 있다.

[0221] 세포 외 단백질로서는, 피브로넥틴, 비트로넥틴, 콜라겐, 오스테오폰틴, 라미닌, 그들의 부분 서열을 들 수 있다

다. 라미닌은, α 쇄, β 쇄 및 γ 쇄를 포함하는 헤테로 3량체 구조를 갖는 단백질이다. 라미닌으로서는, 포유류의 라미닌을 들 수 있다. 라미닌의 서브유닛쇄(즉, α 쇄, β 쇄 및 γ 쇄)로서는, 5종의 α 쇄($\alpha 1$ 내지 $\alpha 5$), 3종의 β 쇄($\beta 1$ 내지 $\beta 3$), 3종의 γ 쇄($\gamma 1$ 내지 $\gamma 3$)를 들 수 있다. 라미닌은 이들 서브유닛쇄의 조합에 의해 각종 아이소폼을 구성한다. 라미닌으로서, 구체적으로는 예를 들어, 라미닌 111, 라미닌 121, 라미닌 211, 라미닌 213, 라미닌 221, 라미닌 311, 라미닌 321, 라미닌 332, 라미닌 411, 라미닌 421, 라미닌 423, 라미닌 511, 라미닌 521, 라미닌 523을 들 수 있다. 라미닌의 부분 서열로서는, 라미닌의 E8 단편인 라미닌 E8을 들 수 있다. 라미닌 E8은, 구체적으로는 α 쇄의 E8 단편(α 쇄 E8), β 쇄의 E8 단편(β 쇄 E8) 및 γ 쇄의 E8 단편(γ 쇄 E8)을 포함하는 헤테로 3량체 구조를 갖는 단백질이다. 라미닌 E8의 서브유닛쇄(즉, α 쇄 E8, β 쇄 E8 및 γ 쇄 E8)를 총칭하여, 「E8 서브유닛쇄」라고도 한다. E8 서브유닛쇄로서는, 상기 예시한 라미닌 서브유닛쇄의 E8 단편을 들 수 있다. 라미닌 E8은 이들 E8 서브유닛쇄의 조합에 의해 각종 아이소폼을 구성한다. 라미닌 E8로서, 구체적으로는 예를 들어, 라미닌 111E8, 라미닌 121E8, 라미닌 211E8, 라미닌 221E8, 라미닌 332E8, 라미닌 421E8, 라미닌 411E8, 라미닌 511E8, 라미닌 521E8을 들 수 있다. 라미닌 E8의 명칭 중의 숫자는, 좌측으로부터 α 쇄, β 쇄 및 γ 쇄의 종류를 나타낸다. 즉, 예를 들어 「라미닌 511E8」이란, 라미닌 511의 E8 단편을 의미하고, 구체적으로는 $\alpha 5$ 쇄의 E8 단편($\alpha 5$ 쇄 E8), $\beta 1$ 쇄의 E8 단편($\beta 1$ 쇄 E8), 및 $\gamma 1$ 쇄의 E8 단편($\gamma 1$ 쇄 E8)을 포함하는 헤테로 3량체 구조를 갖는 단백질을 의미한다.

[0222] 「 α 쇄 E8」이란, α 쇄의 C 말단 부근의 영역을 의미해도 되고, 구체적으로는 α 쇄의 구상 도메인 4 및 5를 제외한 C 말단 단편을 의미해도 되고, 보다 구체적으로는, α 쇄의 구상 도메인 4 및 5를 제외한 C 말단의 780 내지 830(예를 들어 790 내지 800)아미노산 잔기의 단편을 의미해도 된다. 「 β 쇄 E8」이란, β 쇄의 C 말단 단편을 의미해도 되고, 구체적으로는 β 쇄의 C 말단의 220 내지 230아미노산 잔기의 단편을 의미해도 된다. 「 γ 쇄 E8」이란, γ 쇄의 C 말단 단편을 의미해도 되고, 구체적으로는 γ 쇄의 C 말단의 240 내지 250아미노산 잔기의 단편을 의미해도 된다. 인간의 $\alpha 5$ 쇄 E8로서는, GenBank Accession No. NP_005551의 아미노산 번호 2534 내지 3327의 부위를 들 수 있다. 인간의 $\beta 1$ 쇄 E8로서는, GenBank Accession No. NP_002282의 아미노산 번호 1561 내지 1786의 부위를 들 수 있다. 인간의 $\gamma 1$ 쇄 E8로서는, GenBank Accession No. NP_002284의 아미노산 번호 1364 내지 1609의 부위를 들 수 있다.

[0223] 목적 단백질은, 예를 들어 상기와 같은 단백질의 공지 또는 천연의 아미노산 서열을 갖는 단백질이면 된다. 또한, 목적 단백질은, 예를 들어 상기와 같은 단백질의 공지 또는 천연의 아미노산 서열을 갖는 단백질의 배리언트여도 된다. 배리언트로서는, 공지 또는 천연의 아미노산 서열에 있어서, 1 혹은 수개의 위치에서의 1 또는 수개의 아미노산이 치환, 결실, 삽입 또는 부가된 아미노산 서열을 갖는 단백질을 들 수 있다. 「1 또는 수개」란, 구체적으로는 예를 들어, 1 내지 50개, 1 내지 40개, 1 내지 30개, 바람직하게는 1 내지 20개, 보다 바람직하게는 1 내지 10개, 더욱 바람직하게는 1 내지 5개, 특히 바람직하게는 1 내지 3개를 의미해도 된다. 배리언트로서는, 공지 또는 천연의 아미노산 서열 전체에 대하여, 예를 들어 50% 이상, 65% 이상, 80% 이상, 바람직하게는 90% 이상, 보다 바람직하게는 95% 이상, 더욱 바람직하게는 97% 이상, 특히 바람직하게는 99% 이상의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 단백질도 들 수 있다. 또한, 유래하는 생물종에서 특정되는 단백질은, 당해 생물종에 있어서 발견되는 단백질 그 자체에 한정되지 않고, 당해 생물종에 있어서 발견되는 단백질의 아미노산 서열을 갖는 단백질 및 그들의 배리언트를 포함하는 것으로 한다. 배리언트는 당해 생물종에 있어서 발견되어도 되고, 발견되지 않아도 된다. 즉, 예를 들어 「인간 유래 단백질」이란, 인간에 있어서 발견되는 단백질 그 자체에 한정되지 않고, 인간에 있어서 발견되는 단백질의 아미노산 서열을 갖는 단백질 및 그들의 배리언트를 포함하는 것으로 한다.

[0224] 또한, 아미노산 서열간의 「동일성」이란, blastp에 의해 디폴트 설정의 Scoring Parameters(Matrix: BLOSUM62; Gap Costs: Existence=11, Extension=1; Compositional Adjustments: Conditional compositional score matrix adjustment)를 사용하여 산출되는 아미노산 서열간의 동일성을 의미한다.

[0225] 목적 단백질 유전자는, 상기와 같은 목적 단백질을 코딩하는 것이면, 특별히 제한되지 않는다. 목적 단백질 유전자는, 예를 들어 상기와 같은 단백질을 코딩하는 유전자의 공지 또는 천연의 염기 서열을 갖는 유전자이면 된다. 또한, 목적 단백질 유전자는, 예를 들어 상기와 같은 단백질을 코딩하는 유전자의 공지 또는 천연의 염기 서열을 갖는 유전자의 배리언트여도 된다. 목적 단백질 유전자는, 예를 들어 상기 예시한 배리언트 서열을 갖는 단백질을 코딩하도록 개변되어도 된다. 목적 단백질 유전자는 임의의 코돈을 그것과 등가의 코돈으로 치환한 것이어도 된다. 목적 단백질 유전자는, 예를 들어 숙주 세포의 코돈 사용 빈도에 따라서 최적의 코돈을 갖도록 개변되어 있어도 된다.

[0226] 또한, 본 발명에 있어서, 「유전자」라는 용어는, 대응하는 발현 산물을 코딩하는 한, DNA에 한정되지 않고, 임

의의 폴리뉴클레오티드를 포함해도 된다. 즉, 「목적 단백질 유전자」란, 목적 단백질을 코딩하는 임의의 폴리뉴클레오티드를 의미해도 된다. 목적 단백질 유전자는 DNA여도 되고, RNA여도 되고, 그 조합이어도 된다. 목적 단백질 유전자는 단일쇄여도 되고, 이중쇄여도 된다. 목적 단백질 유전자는 단일쇄 DNA여도 되고, 단일쇄 RNA여도 된다. 목적 단백질 유전자는 이중쇄 DNA여도 되고, 이중쇄 RNA여도 되고, DNA쇄와 RNA쇄를 포함하는 하이브리드쇄여도 된다. 목적 단백질 유전자는, 단일의 폴리뉴클레오티드쇄 중에, DNA 잔기와 RNA 잔기의 양쪽을 포함하고 있어도 된다. 목적 단백질 유전자는 인트론을 포함하고 있어도 되고, 포함하고 있지 않아도 된다. 목적 단백질 유전자의 양태는 목적 단백질의 발현 수단 등의 여러 조건에 따라서 적절히 선택할 수 있다.

[0227] 「(아미노산 또는 염기) 서열을 갖는다」는 표현은, 특기하지 않는 한, 당해 「(아미노산 또는 염기) 서열을 포함한다」는 것을 의미하고, 당해 「(아미노산 또는 염기)서열로 이루어진다」는 경우도 포함한다.

[0228] 목적 단백질은 목적 단백질 유전자로부터 발현한다. 즉, 목적 단백질 생산능을 갖는 동물 세포는, 목적 단백질 유전자를 갖는다. 목적 단백질 생산능을 갖는 동물 세포는, 구체적으로는 목적 단백질을 발현 가능하게 갖는다. 또한, 목적 단백질 생산능을 갖는 동물 세포는, 원하는 정도로 목적 단백질을 발현할 때까지 목적 단백질 유전자를 갖고 있으면 충분하다. 즉, 목적 단백질 생산능을 갖는 동물 세포는, 목적 단백질의 발현 후에는, 목적 단백질 유전자를 갖고 있어도 되고, 없어도 된다. 또한, 「목적 단백질 유전자의 발현」과 「목적 단백질의 발현」은 동일한 의미로 사용되어도 된다.

[0229] 목적 단백질 유전자는, 목적 단백질을 유전자를 갖는 생물로부터의 클로닝에 의해 취득할 수 있다. 클로닝에는, 동 유전자를 포함하는 게놈 DNA나 cDNA 등의 핵산을 이용할 수 있다. 또한, 목적 단백질 유전자는 화학 합성에 의해서도 취득할 수 있다(Gene, 60(1), 115-127(1987)).

[0230] 취득한 목적 단백질 유전자는 그대로, 혹은 적절히 개변하여 이용할 수 있다. 즉, 목적 단백질 유전자를 개변함으로써, 그 배리언트를 취득할 수 있다. 유전자의 개변은 공지된 방법에 의해 행할 수 있다. 예를 들어, 부위 특이적 변이법에 의해, DNA의 목적 부위에 목적으로 하는 변이를 도입할 수 있다. 부위 특이적 변이법으로서, PCR을 사용하는 방법(Higuchi, R., 61, in PCR technology, Erlich, H. A. Eds., Stockton press(1989); Carter, P., Meth. in Enzymol., 154, 382(1987))이나, 파지를 사용하는 방법(Kramer, W. and Frits, H. J., Meth. in Enzymol., 154, 350(1987); Kunkel, T. A. et al., Meth. in Enzymol., 154, 367(1987))을 들 수 있다. 또한, 목적 단백질 유전자의 배리언트를 화학 합성에 의해 직접 취득해도 된다.

[0231] 목적 단백질 유전자를 숙주 세포에 도입하는 형태는 특별히 제한되지 않는다. 목적 단백질 유전자는 발현 가능하게 숙주 세포에 유지되어 있으면 된다. 구체적으로는, 예를 들어 목적 단백질을 유전자를 DNA 등의 전사를 요하는 형태로 도입하는 경우, 숙주 세포에 있어서, 목적 단백질 유전자는, 당해 숙주 세포에서 기능하는 프로모터의 제어 하에 발현 가능하게 유지되어 있으면 된다. 숙주 세포에 있어서, 목적 단백질 유전자는, 염색체 외에 존재하고 있어도 되고, 염색체 상에 도입되어 있어도 된다. 2개 또는 그 이상의 유전자를 도입하는 경우, 각 유전자가 발현 가능하게 숙주 세포에 유지되어 있으면 된다.

[0232] 목적 단백질을 유전자를 발현시키기 위한 프로모터는, 숙주 세포에 있어서 기능하는 것이면 특별히 제한되지 않는다. 「숙주 세포에 있어서 기능하는 프로모터」란, 숙주 세포에 있어서 프로모터 활성을 갖는 프로모터를 말한다. 프로모터는 숙주 세포 유래의 프로모터여도 되고, 이종 유래의 프로모터여도 된다. 프로모터는 목적 단백질 유전자의 고유한 프로모터여도 되고, 다른 유전자의 프로모터여도 된다. 프로모터는, 목적 단백질 유전자와 고유한 프로모터보다도 강력한 프로모터여도 된다. 동물 세포에 있어서 기능하는 프로모터로서는, SV40 프로모터, EF1a 프로모터, RSV 프로모터, CMV 프로모터, SRalpha 프로모터를 들 수 있다. 또한, 프로모터로서는, 각종 리포터 유전자를 사용함으로써, 재래(在來)의 프로모터 고효율성의 것을 취득하여 이용해도 된다. 프로모터의 강도의 평가법 및 강력한 프로모터의 예는, Goldstein 등의 논문(Prokaryotic promoters in biotechnology. Biotechnol. Annu. Rev., 1, 105-128(1995)) 등에 기재되어 있다.

[0233] 목적 단백질 유전자는, 예를 들어 동 유전자를 포함하는 벡터를 사용하여 숙주 세포에 도입할 수 있다. 목적 단백질을 유전자를 포함하는 벡터를, 「목적 단백질 유전자의 발현 벡터」라고도 한다. 목적 단백질을 유전자의 발현 벡터는, 예를 들어 목적 단백질을 유전자를 포함하는 DNA 단편을 벡터와 연결함으로써, 구축할 수 있다. 목적 단백질을 유전자의 발현 벡터를 숙주 세포에 도입함으로써, 동 유전자를 숙주 세포에 도입할 수 있다. 벡터는 약제 내성 유전자 등의 마커를 구비하고 있어도 된다. 또한, 벡터는, 삽입된 유전자를 발현하기 위한 프로모터 등의 발현 조절 서열을 구비하고 있어도 된다. 벡터는, 숙주 세포의 종류나 목적 단백질을 유전자의 도입 형태 등의 여러 조건에 따라서 적절히 선택할 수 있다. 동물 세포에의 유전자 도입에 사용할 수 있는 벡터로서는, 플라스미드 벡터나 바이러스 벡터를 들 수 있다. 바이러스 벡터로서는, 예를 들어 레트로바이러스 벡터나 아데

노바이러스 벡터를 들 수 있다. 플라스미드 벡터로서는, 예를 들어 pcDNA 시리즈 벡터(pcDNA3.1 등; Thermo Fisher Scientific), pBApo-CMV 시리즈 벡터(다카라 바이오), pCI-neo(Promega)를 들 수 있다. 또한, 벡터의 종류나 구성에 따라서는, 벡터는 숙주 세포의 염색체에 도입될 수 있고, 숙주 세포의 염색체 외에서 자율 복제할 수 있고, 혹은 숙주 세포의 염색체 외에 일시적으로 유지될 수 있다. 예를 들어, SV40 복제 기점 등의 바이러스의 복제 기점을 갖는 벡터는, 동물 세포의 염색체 외에서 자율 복제할 수 있다. 구체적으로는, 예를 들어 pcDNA 시리즈 벡터는 SV40 복제 기점을 갖고 있고, SV40의 라지 T 항원을 발현하는 숙주 세포(COS-1이나 HEK293T 등)에 있어서 염색체 외에서 자율 복제할 수 있다.

[0234] 또한, 목적 단백질 유전자는, 예를 들어 동 유전자를 포함하는 핵산 단편을 숙주 세포에 도입함으로써, 숙주 세포에 도입할 수 있다. 그러한 핵산 단편으로서, 직쇄상 DNA나 직쇄상 RNA를 들 수 있다. 직쇄상 RNA로서는, 예를 들어 mRNA나 cRNA를 들 수 있다.

[0235] 벡터나 핵산 단편 등의 핵산을 숙주 세포에 도입하는 방법은, 숙주 세포의 종류 등의 여러 조건에 따라서 적절히 선택할 수 있다. 동물 세포에 벡터나 핵산 단편 등의 핵산을 도입하는 방법으로서, DEAE 텍스트란법, 인산칼슘법, 리포펙션법, 일렉트로포레이션법, 미세주입법을 들 수 있다. 또한, 벡터가 바이러스 벡터인 경우에는, 동 벡터(바이러스)를 숙주 세포에 감염시킴으로써, 숙주 세포에 동 벡터를 도입할 수 있다.

[0236] 또한, 본래적으로 목적 단백질 유전자를 갖는 세포를, 목적 단백질 유전자의 발현이 증대되도록 개변하여 사용해도 된다. 「유전자의 발현이 증대된다」란, 동 유전자의 세포당 발현량이 비개변 세포와 비교하여 증대되는 것을 의미한다. 여기에서 말하는 「비개변 세포」란, 표적의 유전자의 발현이 증대되도록 개변되지 않은 대조 세포를 의미한다. 비개변 세포로서는, 야생형의 세포나 개변원의 세포를 들 수 있다. 목적 단백질 유전자의 발현을 증대시키는 방법으로서, 목적 단백질 유전자의 카피수를 증가시키는 것이나 목적 단백질 유전자의 전사 효율이나 번역 효율을 향상시키는 것을 들 수 있다. 목적 단백질 유전자의 카피수의 증가는, 목적 단백질 유전자를 숙주 세포에 도입함으로써 달성할 수 있다. 목적 단백질 유전자의 도입은 상술한 바와 같이 실시할 수 있다. 또한, 도입되는 목적 단백질 유전자는, 숙주 세포 유래여도 되고, 이종 유래여도 된다. 목적 단백질 유전자의 전사 효율이나 번역 효율의 향상은, 프로모터 등의 유전자의 발현 조절 서열의 개변에 의해 달성할 수 있다. 예를 들어, 목적 단백질 유전자의 전사 효율의 향상은, 목적 단백질 유전자의 프로모터를 보다 강력한 프로모터로 치환함으로써 달성할 수 있다.

[0237] 동물 세포의 배양 방법에 있어서는, 본 발명의 조성물을 사용하여 동물 세포를 배양한다. 즉, 동물 세포의 배양은 본 발명의 조성물을 사용하여 실시된다. 본 발명의 조성물은, 예를 들어 배지로서 동물 세포의 배양에 사용해도 된다. 즉, 예를 들어 본 발명의 조성물이 배지인 경우, 본 발명의 조성물(즉, 배지)에서 동물 세포를 배양해도 된다. 즉, 「본 발명의 조성물을 사용하여 동물 세포를 배양한다」란, 예를 들어 배지인 본 발명의 조성물에서 동물 세포를 배양하는 것을 의미해도 된다. 또한, 본 발명의 조성물은, 예를 들어 배지 첨가물로서 동물 세포의 배양에 사용해도 된다. 즉, 예를 들어 본 발명의 조성물이 배지 첨가물인 경우, 본 발명의 조성물(즉, 배지 첨가물)을 배지에 첨가하고, 본 발명의 조성물을 첨가한 배지에서 동물 세포를 배양해도 된다. 즉, 「본 발명의 조성물을 사용하여 동물 세포를 배양한다」란, 예를 들어 배지 첨가물인 본 발명의 조성물을 배지에 첨가하고, 본 발명의 조성물을 첨가한 배지에서 동물 세포를 배양하는 것을 의미해도 된다.

[0238] 「동물 세포의 배양」에는, 동물 세포의 증식을 목적으로 하는 것에 한정되지 않고, 동물 세포의 유지나 동물 세포에 의한 목적 물질의 제조 등의, 동물 세포의 증식을 목적으로 하지 않는 것도 포함되어도 된다.

[0239] 배지 조성이나 배양 조건은, 배양이 본 발명의 조성물을 사용하여 실시되는 것 이외에는, 동물 세포의 배양 목적을 달성 가능한 한, 특별히 제한되지 않는다. 예를 들어, 동물 세포의 증식을 목적으로 하는 경우, 배지 조성이나 배양 조건은, 동물 세포가 증식하도록 구성할 수 있다. 또한, 예를 들어 동물 세포의 유지를 목적으로 하는 경우, 배지 조성이나 배양 조건은, 동물 세포가 유지되도록(즉, 동물 세포가 생존하도록) 구성할 수 있다. 또한, 예를 들어 목적 단백질 등의 목적 물질의 생산을 목적으로 하는 경우, 배지 조성이나 배양 조건은, 목적 물질이 생산되도록(예를 들어, 목적 물질이 목적 단백질인 경우에는 목적 단백질이 발현하도록) 구성할 수 있다. 동물 세포의 증식을 목적으로 하지 않는 경우, 배양 시에, 동물 세포는 증식해도 되고, 하지 않아도 된다. 동물 세포의 증식을 목적으로 하지 않는 경우에도, 전형적으로는 배양 시에, 동물 세포는 증식해도 된다. 배지 조성이나 배양 조건은, 예를 들어 동물 세포의 종류 등의 여러 조건에 따라서, 적절히 설정할 수 있다. 배양은, 본 발명의 조성물을 사용하여 실시되는 것 이외에는, 예를 들어 동물 세포의 배양에 이용되는 통상의 배지 및 통상의 조건을 그대로, 혹은 적절히 개변하여 사용하여 실시할 수 있다.

[0240] 배양은 종배양과 본배양으로 나누어 실시해도 된다. 배양이 종배양과 본배양으로 나누어 실시되는 경우, 본 발

명의 조성물은 종배양과 본배양 중 어느 한쪽 또는 양쪽에서 사용해도 된다. 배양이 종배양과 본배양으로 나누어 실시되는 경우, 본 발명의 조성물은 특히 적어도 본배양에서 사용해도 된다. 배양이 종배양과 본배양으로 나누어 실시되는 경우, 배양에 관한 기재(예를 들어, 「배양 기간(배양의 기간)」이나 「배양 개시」)는 특기하지 않는 한, 종배양과 본배양 중 어느 것에 적용해도 된다. 종배양과 본배양의 배양 조건은 동일해도 되고, 그렇지 않아도 된다. 또한, 목적 단백질 등의 목적 물질의 생산을 목적으로 하는 경우, 목적 물질은 적어도 본배양의 기간에 생산되면 된다. 예를 들어, 종배양에 의해 동물 세포를 충분히 증식시키고 나서, 본배양에 의해 목적 단백질 등의 목적 물질을 제조해도 된다.

[0241] 배양은 회분 배양(batch culture), 유가 배양(Fed-batch culture), 연속 배양(continuous culture) 또는 그들의 조합에 의해 실시할 수 있다. 연속 배양으로서는, 관류 배양(perfusion culture)이나 케모스태트 배양(chemostat culture)을 들 수 있다. 또한, 배양 개시 시의 배지를, 「초발 배지」 또는 「기초 배지」라고도 한다. 또한, 유가 배양에 있어서 배양계(예를 들어, 초발 배지)에 공급되는 배지를, 「유가 배지(feed medium)」라고도 한다. 또한, 연속 배양(이것은 관류 배양에 한정되지 않음)에 있어서 배양계(예를 들어, 초발 배지)에 공급되는 배지를, 「관류 배지(perfusion medium)」라고도 한다. 또한, 유가 배양 또는 연속 배양에 있어서 배양계에 유가 배지 또는 관류 배지를 공급하는 것을, 간단히 「배지 공급」이라고도 한다. 배지 공급은 배양의 전체 기간을 통하여 실시되어도 되고, 배양의 일부 기간에 있어서만 실시되어도 된다. 또한, 배지 공급은 연속적으로 실시되어도 되고, 간헐적으로 실시되어도 된다. 배양(특히, 관류 배양 등의 연속 배양) 시에는, 배양액의 인발이 실시되어도 된다. 배양액의 인발은 배양의 전체 기간을 통하여 실시되어도 되고, 배양의 일부 기간에 있어서만 실시되어도 된다. 배양액의 인발은 연속적으로 실시되어도 되고, 간헐적으로 실시되어도 된다. 배양액의 인발과 배지 공급은 동시에 실시되어도 되고, 그렇지 않아도 된다. 또한, 배양이 종배양과 본배양으로 나누어 실시되는 경우, 종배양과 본배양의 배양 형태는 동일해도 되고, 그렇지 않아도 된다.

[0242] 배양은, 예를 들어 액체 배지를 사용하여 실시할 수 있다.

[0243] 배양에 사용하는 배지는, 예를 들어 기초 배지, 유가 배지 및 관류 배지에 대해서 각각 독립적으로 선택할 수 있다.

[0244] 배양에 사용하는 배지는, 시판되고 있는 배지여도 되고, 적절히 조제한 배지여도 된다. 시판되고 있는 배지로서는, D-MEM(둘베코의 수정 이글 배지(Dulbecco's Modified Eagle Medium)), CELLiST Basal Media BASAL3, BASAL4P, BASAL10(아지노모토 가부시키키가이샤), Opti-MEM(Thermo Fisher Scientific), RPMI 1640(Thermo Fisher Scientific), CD293(Thermo Fisher Scientific), CHO-S-SFMII(Thermo Fisher Scientific), CHO-SF(Sigma-Aldrich), EX-CELL CD CHO(Sigma-Aldrich), EX-CELLTM302(Sigma-Aldrich), IS CHO-CD(Irvine Scientific), IS CHO-CDXP(Irvine Scientific) 등의 동물 세포 배양용의 배지를 들 수 있다.

[0245] 또한, 배양에 사용하는 배지는, 예를 들어 본 발명의 조성물(구체적으로는 배지인 본 발명의 조성물)이면 된다. 즉, 본 발명의 조성물이 배지인 경우, 본 발명의 조성물을 그대로 혹은 적시에, 원하는 조성의 액체 배지로서 조제하여, 배양에 사용해도 된다. 예를 들어, 본 발명의 조성물을 물이나 수성 완충액 등의 수성 매체로 희석하여 액체 배지로서 조제하여, 배양에 사용해도 된다. 본 발명의 조성물은 기초 배지, 유가 배지 및 관류 배지에서 선택되는 1종 또는 그 이상의 배지로서 사용되어도 된다. 즉, 예를 들어 유가 배양의 경우, 본 발명의 조성물은 기초 배지 및 유가 배지 중 한쪽 또는 양쪽으로서 사용되어도 된다. 또한, 예를 들어 연속 배양의 경우, 본 발명의 조성물은 기초 배지 및 관류 배지 중 한쪽 또는 양쪽으로서 사용되어도 된다.

[0246] 또한, 배양에 사용하는 배지는, 예를 들어 본 발명의 조성물(구체적으로는 배지 첨가물인 본 발명의 조성물)이 첨가된 배지여도 된다. 본 발명의 조성물이 첨가되는 배지는, 시판되고 있는 배지여도 되고, 적절히 조제한 배지여도 된다. 본 발명의 조성물은 기초 배지, 유가 배지 및 관류 배지에서 선택되는 1종 또는 그 이상의 배지에 첨가하여 사용되어도 된다. 즉, 예를 들어 유가 배양의 경우, 본 발명의 조성물은 기초 배지 및 유가 배지 중 한쪽 또는 양쪽에 첨가하여 사용되어도 된다. 또한, 예를 들어 연속 배양의 경우, 본 발명의 조성물은 기초 배지 및 관류 배지 중 한쪽 또는 양쪽에 첨가하여 사용되어도 된다.

[0247] 배양에 사용하는 배지는, 예를 들어 아미노산원 및/또는 α -케토글루탈산을 함유하고 있어도 된다. 예를 들어, 배양에 사용하는 배지가 본 발명의 조성물인 경우, 또는 배양에 사용하는 배지가 본 발명의 조성물이 첨가된 배지인 경우에는, 배양에 사용하는 배지는 아미노산원 및 α -케토글루탈산을 함유한다. 또한, 배양에 사용하는 배지는, 예를 들어 각종 배지 성분을 함유하고 있어도 된다. 배지 성분에는 대해서는, 본 발명의 조성물 설명에 있어서 상술한 바와 같다. 상기 예시한 것과 같은 배지는, 예를 들어 적절히, 아미노산원, α -케토글루탈산, 각종 배지 성분 등의 성분을 첨가하고 나서, 배양에 사용해도 된다.

[0248] 아미노산원, α-케토글루탈산, 배지 성분 등의 각종 성분은 모두, 초발 배지, 유가 배지, 관류 배지 또는 그들의 조합에 함유되어 있어도 된다. 즉, 배양의 과정에 있어서, 아미노산원 등의 각종 성분을 단독으로, 혹은 임의의 조합으로 배지에 공급해도 된다. 이들 성분은 모두 1회 또는 복수회 공급되어도 되고, 연속적으로 공급되어도 된다. 초발 배지, 유가 배지 및 관류 배지의 조성(예를 들어, 함유하는 성분의 종류 및/또는 농도)는 동일해도 되고, 그렇지 않아도 된다. 즉, 초발 배지에 함유되는 성분의 종류는, 유가 배지 또는 관류 배지에 함유되는 성분의 종류와 동일해도 되고, 그렇지 않아도 된다. 또한, 초발 배지에 함유되는 각 성분의 농도는, 유가 배지 또는 관류 배지에 함유되는 각 성분의 농도와 동일해도 되고, 그렇지 않아도 된다. 예를 들어, 유가 배지가 관류 배양에 사용되는 경우에, 초발 배지와 유가 배지의 조성은 동일해도 된다. 또한, 조성(예를 들어, 함유하는 성분의 종류 및/또는 농도)이 다른 2종 또는 그 이상의 유가 배지 또는 관류 배지를 사용해도 된다. 예를 들어, 복수회의 유가 배지 또는 관류 배지의 공급이 간헐적으로 실시되는 경우, 유가 배지 또는 관류 배지의 조성은, 각 회에서 동일해도 되고, 그렇지 않아도 된다. 또한, 아미노산원 등의 각종 성분은 모두, 분말 등의, 유가 배지 또는 관류 배지에 함유되지 않은 형태로, 배지에 공급해도 된다. 예를 들어, 아미노산원 등의 각종 성분은 모두, 본 발명의 조성물의 첨가에 의해 배지에 공급해도 된다.

[0249] 배양 개시 시의 동물 세포의 과중량은, 예를 들어 생세포수로 환산하여, 1×10^3 cells/mL 이상, 1×10^4 cells/mL 이상, 1×10^5 cells/mL 이상, 1×10^6 cells/mL 이상 또는 1×10^7 cells/mL 이상이어도 되고, 1×10^8 cells/mL 이하, 1×10^7 cells/mL 이하, 1×10^6 cells/mL 이하, 1×10^5 cells/mL 이하 또는 1×10^4 cells/mL 이하여도 되고, 그들의 모순되지 않는 조합이어도 된다. 배양 개시 시의 동물 세포의 과중량은, 구체적으로는 예를 들어, 생세포수로 환산하여, 1×10^3 내지 1×10^4 cells/mL, 1×10^4 내지 1×10^5 cells/mL, 1×10^5 내지 1×10^6 cells/mL, 1×10^6 내지 1×10^7 cells/mL 또는 1×10^7 내지 1×10^8 cells/mL여도 된다. 배양 개시 시의 동물 세포의 과중량은, 구체적으로는 예를 들어, 생세포수로 환산하여, 1×10^3 내지 1×10^8 cells/mL, 1×10^4 내지 1×10^7 cells/mL 또는 1×10^5 내지 1×10^6 cells/mL여도 된다. 생세포수는, 예를 들어 생사 세포 오토애널라이저 Vi-CELL™ XR(벤크만·콜터사)를 사용하여 측정할 수 있다.

[0250] 배양은, 예를 들어 5 내지 15% CO₂ 등의 CO₂ 함유 분위기 하에서 실시해도 된다. 배지의 pH는, 예를 들어 중성 부근이면 된다. 「중성 부근」이란, 예를 들어 pH 6 내지 8, pH 6.5 내지 7.5 또는 pH 6.8 내지 7.2를 의미해도 된다. 배양 중, 필요에 따라서 배지의 pH를 조정할 수 있다. 배지의 pH는, 암모니아 가스, 암모니아수, 탄산나트륨, 중탄산나트륨, 탄산칼륨, 중탄산칼륨, 탄산마그네슘, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화칼슘, 수산화마그네슘 등의 각종 알칼리성 또는 산성 물질을 사용하여 조정할 수 있다. 배양 온도는, 예를 들어 30 내지 38 °C여도 된다. 배양 기간은, 예를 들어 0.5일 이상, 1일 이상, 2일 이상, 3일 이상, 4일 이상, 5일 이상, 6일 이상, 7일 이상, 8일 이상, 9일 이상, 10일 이상, 12일 이상, 15일 이상 또는 20일 이상이어도 되고, 60일 이하, 50일 이하, 40일 이하, 30일 이하, 25일 이하, 20일 이하, 15일 이하, 12일 이하, 10일 이하, 9일 이하, 8일 이하 또는 7일 이하여도 되고, 그들의 모순되지 않는 조합이어도 된다. 배양 기간은, 구체적으로는 예를 들어, 1 내지 60일, 3 내지 25일 또는 5 내지 20일이어도 된다. 배양 시에는, 적절히 목적 단백질 유전자 등의 유전자의 발현을 유도해도 된다.

[0251] 배지 중의 아미노산원 농도는, 예를 들어 0.1mM 이상, 0.3mM 이상, 0.5mM 이상, 0.7mM 이상, 1mM 이상, 1.5mM 이상, 2mM 이상, 3mM 이상, 4mM 이상 또는 5mM 이상이어도 되고, 30mM 이하, 25mM 이하, 20mM 이하, 15mM 이하, 10mM 이하, 7mM 이하, 5mM 이하, 4mM 이하, 3mM 이하, 2mM 이하, 1.5mM 이하 또는 1mM 이하여도 되고, 그들의 모순되지 않는 조합이어도 된다. 배지 중의 아미노산원 농도는, 구체적으로는 예를 들어, 0.1 내지 1mM, 0.3 내지 1mM, 0.5 내지 1mM, 0.7 내지 1mM, 1 내지 1.5mM, 1.5 내지 2mM, 2 내지 3mM, 3 내지 4mM, 4 내지 5mM, 5 내지 7mM, 5 내지 10mM, 5 내지 15mM, 5 내지 20mM, 5 내지 25mM, 또는 5 내지 30mM이어도 된다. 배지 중의 아미노산원 농도는, 구체적으로는 예를 들어, 0.1 내지 10mM, 0.3 내지 5mM, 0.5 내지 3mM, 또는 1 내지 2mM이어도 되고, 0.1 내지 30mM, 0.3 내지 25mM, 또는 0.5 내지 20mM이어도 된다. 또한, 유효 성분으로서 2종 또는 그 이상의 아미노산원을 사용하는 경우, 여기에서 말하는 「아미노산원 농도」란, 이들 아미노산원의 농도의 총량을 의미한다. 그러나, 유효 성분으로서 2종 또는 그 이상의 아미노산원을 사용하는 경우, 이들 아미노산원의 농도는 각각 독립적으로 상기 예시한 아미노산원 농도의 범위로 설정할 수도 있다. 또한, 상기 예시한 아미노산원 농도에 관한 기재는, 추가 성분인 아미노산원의 농도에도 준용할 수 있다. 구체적으로는, 예를 들어 배지 중의 시스테인원 농도는 0.1 내지 10mM, 0.3 내지 5mM, 0.5 내지 3mM, 또는 1 내지 2mM이어도 된다. 또한, 구체적으로는 예를 들어, 배지 중의 티로신원 농도는 0.1 내지 30mM, 0.3 내지 25mM, 또는 0.5 내지 20mM이어도 된다.

지 20mM이어도 된다.

[0252] 배지 중의 α-케토글루탈산 농도는, 예를 들어 0.1mM 이상, 0.3mM 이상, 0.5mM 이상, 0.7mM 이상, 1mM 이상, 1.5mM 이상, 2mM 이상, 3mM 이상, 4mM 이상, 5mM 이상, 7mM 이상 또는 10mM 이상이어도 되고, 50mM 이하, 30mM 이하, 20mM 이하, 15mM 이하, 10mM 이하, 7mM 이하, 5mM 이하, 4mM 이하, 3mM 이하, 2mM 이하, 1.5mM 이하 또는 1mM 이하이어도 되고, 그들의 모순되지 않는 조합이어도 된다. 배지 중의 α-케토글루탈산 농도는, 구체적으로는 예를 들어, 0.1 내지 1mM, 0.3 내지 1mM, 0.5 내지 1mM, 0.7 내지 1mM, 1 내지 1.5mM, 1.5 내지 2mM, 2 내지 3mM, 3 내지 4mM, 4 내지 5mM, 5 내지 7mM, 7 내지 10mM, 10 내지 15mM, 10 내지 20mM, 10 내지 30mM, 또는 10 내지 50mM이어도 된다. 배지 중의 α-케토글루탈산 농도는, 구체적으로는 예를 들어, 0.1 내지 30mM, 0.3 내지 20mM, 0.5 내지 15mM, 또는 1 내지 10mM이어도 된다.

[0253] 아미노산원 등의 각종 성분은 모두, 배양의 전체 기간에 있어서 배지에 함유되어 있어도 되고, 배양의 일부 기간에만 배지에 함유되어 있어도 된다. 즉, 「배양이 어떤 성분을 함유하는 배지에서 실시된다」란, 당해 성분이 배양의 적어도 일부 기간에 있어서 배지에 함유되어 있으면 충분하고, 당해 성분이 배양의 전체 기간에 있어서 배지에 함유되어 있을 것을 요하지 않는다. 아미노산원 등의 각종 성분은 모두, 예를 들어 배양 개시 시에 배지에 함유되어 있어도 되고, 배양 개시 후에 배지에 공급되어도 된다. 또한, 아미노산원 등의 각종 성분은 모두, 예를 들어 배양 개시 시에 배지에 함유되고, 또한 배양 개시 후(예를 들어, 유효 성분의 소비 후)에 배지에 추가로 공급되어도 된다.

[0254] 아미노산원 등의 각종 성분은 모두, 예를 들어 배양의 전체 기간에 있어서 상기 예시한 농도로 배지에 함유되어 있어도 되고, 배양의 일부 기간에만 상기 예시한 농도로 배지에 함유되어 있어도 된다. 즉, 「배양이 어떤 성분을 어떤 농도로 함유하는 배지에서 실시된다」란, 배지 중의 당해 성분의 농도가 배양의 적어도 일부 기간에 있어서 당해 농도의 범위 내에 있으면 충분하고, 배지 중의 당해 성분의 농도가 배양의 전체 기간에 있어서 당해 농도의 범위 내에 있을 것을 요하지 않는다. 아미노산원 등의 각종 성분은 모두, 예를 들어 배양 개시 시에 상기 예시한 농도로 배지에 함유되어 있어도 되고, 배양 개시 후에 상기 예시한 농도가 되도록 배지에 공급되어도 된다. 또한, 아미노산원 등의 각종 성분은 모두, 예를 들어 배양 개시 시에 상기 예시한 농도로 배지에 함유되고, 또한 배양 개시 후(예를 들어, 당해 성분의 소비 후)에 상기 예시한 농도가 되도록 배지에 추가로 공급되어도 된다.

[0255] 「배양의 일부 기간」의 길이는, 동물 세포를 배양 가능한 한, 특별히 제한되지 않는다. 「배양의 일부 기간」의 길이는, 성분의 종류, 동물 세포의 종류, 배양 기간의 길이, 원하는 목적 물질 생산량 등의 여러 조건에 따라서 적절히 설정할 수 있다. 「일부 기간」은, 예를 들어 배양의 전체 기간의 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 97% 이상 또는 99% 이상의 기간이면 된다. 또한, 「일부 기간」은, 예를 들어 0.5일 이상, 1일 이상, 2일 이상, 3일 이상, 4일 이상, 5일 이상, 6일 이상, 7일 이상, 8일 이상, 9일 이상, 10일 이상, 12일 이상 또는 15일 이상의 기간이어도 된다.

[0256] 또한, 배지 중의 아미노산원 등의 각종 성분의 농도는 모두, 예를 들어 배양 중의 특정한 기간을 통한 평균값으로서, 상기 예시한 농도로 설정되어도 된다. 즉, 「배양이 어떤 성분을 어떤 농도로 함유하는 배지에서 실시된다」란, 배양 중의 특정한 기간을 통한 배지 중의 당해 성분의 농도의 평균값이 당해 농도의 범위 내에 있는 것을 의미해도 된다. 「배양 중의 특정한 기간을 통한 배지 중의 어떤 성분의 농도의 평균값」이란, 배양 중의 특정한 기간에 있어서의 당해 성분의 농도의 변동을 파악할 수 있는 것이면 특별히 제한되지 않지만, 예를 들어 배양 중의 특정한 기간을 통하여 60분마다, 30분마다, 20분마다 또는 10분마다 측정된 배지 중의 당해 성분의 농도의 평균값을 의미해도 된다. 「배양 중의 특정한 기간」으로서, 배양의 전체 기간이나 배양의 일부 기간을 들 수 있다. 「배양의 일부 기간」에 대해서는, 상술한 바와 같다.

[0257] 아미노산원 등의 각종 성분은 모두, 배양의 전체 기간을 통하여 배지에 공급되어도 되고, 배양의 일부 기간에 있어서만 배지에 공급되어도 된다. 「배양의 일부 기간」에 대해서는, 상술한 바와 같다. 아미노산원 등의 각종 성분은 모두, 예를 들어 연속적으로 배지에 공급되어도 되고, 간헐적으로 배지에 공급되어도 된다. 아미노산원 등의 각종 성분은 모두, 예를 들어 매일 배지에 공급되어도 되고, 수일 간격에 배지에 공급되어도 된다.

[0258] 유가 배지 또는 관류 배지 중의 아미노산원 등의 각종 성분의 농도는 모두, 예를 들어 상기 예시한 배지 중의 당해 성분의 농도 범위이면 된다. 또한, 유가 배지 또는 관류 배지 중의 아미노산원 등의 각종 성분의 농도는, 예를 들어 상기 예시한 배지 중의 당해 성분의 농도의 1배 이상, 1.1배 이상, 1.3배 이상, 1.5배 이상, 2배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 7배 이상, 10배 이상, 15배 이상 또는 20배 이상의 농도여도 되고, 100배 이하, 70배

이하, 50배 이하, 30배 이하, 20배 이하, 15배 이하, 10배 이하, 7배 이하, 5배 이하, 3배 이하, 2배 이하의 농도여도 되고, 그들의 모순되지 않는 조합이어도 된다. 유가 배지 또는 관류 배지 중의 아미노산원 등의 각종 성분의 농도는, 구체적으로는 예를 들어, 상기 예시한 배지 중의 당해 성분의 농도의 1 내지 2배 1.1 내지 2배 1.3 내지 2배 1.5 내지 2배 2 내지 3배 3 내지 5배 5 내지 7배 7 내지 10배, 10 내지 15배, 15 내지 20배, 20 내지 30배, 20 내지 50배, 20 내지 70배, 또는 20 내지 100배여도 된다. 유가 배지 또는 관류 배지 중의 아미노산원 등의 각종 성분의 농도는, 구체적으로는 예를 들어, 상기 예시한 배지 중의 당해 성분의 농도의 1 내지 100배, 2 내지 50배, 또는 5 내지 20배여도 된다. 또한, 유가 배지 또는 관류 배지 중의 아미노산원 농도(예를 들어 시스테인 농도)는, 예를 들어 1mM 이상, 2mM 이상, 5mM 이상, 10mM 이상, 15mM 이상, 20mM 이상, 30mM 이상, 40mM 이상, 50mM 이상 또는 60mM 이상이어도 되고, 포화 농도 이하, 100mM 이하, 90mM 이하, 80mM 이하, 70mM 이하, 60mM 이하, 50mM 이하, 40mM 이하, 30mM 이하 또는 20mM 이하여도 되고, 그들의 모순되지 않는 조합이어도 된다. 유가 배지 또는 관류 배지 중의 아미노산원 농도(예를 들어 시스테인 농도)는, 구체적으로는 예를 들어 1 내지 20mM, 2 내지 20mM, 5 내지 20mM, 10 내지 20mM, 15 내지 20mM, 20 내지 30mM, 30 내지 40mM, 40 내지 50mM, 50 내지 60mM, 60 내지 70mM, 60 내지 80mM, 60 내지 90mM, 60 내지 100mM, 또는 60mM 내지 포화 농도여도 된다. 유가 배지 또는 관류 배지 중의 아미노산원 농도(예를 들어 시스테인 농도)는, 구체적으로는 예를 들어 5 내지 100mM, 10 내지 90mM, 또는 20 내지 80mM이어도 된다. 또한, 유효 성분으로서 2종 또는 그 이상의 아미노산원을 사용하는 경우, 여기에서 말하는 「아미노산원 농도」란, 그들 아미노산원의 농도의 총량을 의미한다. 그러나, 유효 성분으로서 2종 또는 그 이상의 아미노산원을 사용하는 경우, 그들 아미노산원의 농도는 각각 독립적으로 상기 예시한 아미노산원 농도의 범위로 설정할 수도 있다. 또한, 상기 예시한 아미노산원 농도에 관한 기재는, 추가 성분인 아미노산원의 농도에도 준용할 수 있다.

- [0259] 아미노산원 등의 각종 성분의 농도는 모두, 예를 들어 화합물의 검출 또는 동정에 사용되는 공지된 방법에 의해 측정할 수 있다. 그러한 방법으로서, 예를 들어 HPLC, UPLC, LC/MS, GC/MS, NMR을 들 수 있다. 이들 방법은, 목적 물질이 생성된 것의 확인에도 이용할 수 있다. 이들 방법은 1종을 단독으로 사용해도 되고, 2종 또는 그 이상을 적절히 조합하여 사용해도 된다.
- [0260] 상기와 같이 하여 동물 세포를 배양할 수 있다. 동물 세포가 목적 단백질 생산능 등의 목적 물질 생산능을 갖는 경우, 상기와 같이 하여 동물 세포를 배양함으로써, 목적 물질이 생성(예를 들어, 목적 단백질이 발현)되고, 이로써 목적 물질을 함유하는 배양물이 얻어진다. 목적 단백질 등의 목적 물질은, 구체적으로는 배지 중, 세포 표층, 세포 내 또는 그들의 조합에 축적해도 된다.
- [0261] 이하, 특히 목적 단백질을 제조하는 경우를 참조하여 목적 단백질의 생성 확인, 회수, 정제 등의 조작에 대하여 설명하지만, 목적 단백질 이외의 목적 물질에 대해서도, 적절히 그러한 조작을 실시할 수 있다.
- [0262] 목적 단백질이 생성된 것은, 단백질의 검출 또는 동정에 사용되는 공지된 방법에 의해 확인할 수 있다. 그러한 방법으로서, 예를 들어 SDS-PAGE, Western blotting, 질량 분석, N말 아미노산 서열 해석, 효소 활성 측정을 들 수 있다. 이들 방법은 1종을 단독으로 사용해도 되고, 2종 또는 그 이상을 적절히 조합하여 사용해도 된다.
- [0263] 목적 단백질은 적절히 회수할 수 있다. 목적 단백질은, 구체적으로는 목적 단백질을 함유하는 적당한 분획으로서 회수할 수 있다. 그러한 분획으로서, 예를 들어 배양물, 배양 상청, 배양 세포, 배양 세포의 처리물(파쇄물, 용해물, 추출물(무세포 추출액) 등)을 들 수 있다. 배양 세포는, 예를 들어 아크릴아미드나 카라기난 등의 담체로 고정화한 고정화 세포의 형태로 취득되어도 된다.
- [0264] 목적 단백질은 원하는 정도로 더 정제되어도 된다.
- [0265] 배지 중에 목적 단백질이 축적되는 경우, 목적 단백질은, 예를 들어 세포 등의 고형분을 원심 분리 등에 의해 배양물로부터 제거한 후, 상청으로부터 정제할 수 있다.
- [0266] 세포 내에 목적 단백질이 축적되는 경우, 목적 단백질은, 예를 들어 세포를 파쇄, 용해 또는 추출 등의 처리에 제공한 후, 처리물로 정제할 수 있다. 세포는 원심 분리 등에 의해 배양물로부터 회수할 수 있다. 세포의 파쇄, 용해 또는 추출 등의 처리는, 공지된 방법에 의해 행할 수 있다. 그러한 방법으로서, 예를 들어 초음파 파쇄법, 다이노밀법, 비즈 파쇄, 프렌치 프레스 파쇄, 리소자임 처리를 들 수 있다. 이들 방법은 1종을 단독으로 사용해도 되고, 2종 또는 그 이상을 적절히 조합하여 사용해도 된다.
- [0267] 세포 표층에 목적 단백질이 축적되는 경우, 목적 단백질은, 예를 들어 가용화한 후, 가용화물로 정제할 수 있다. 가용화는 공지된 방법에 의해 행할 수 있다. 그러한 방법으로서, 예를 들어 염 농도의 상승이나 계면활성제의 사용을 들 수 있다. 이들 방법은 1종을 단독으로 사용해도 되고, 2종 또는 그 이상을 적절히 조합하

여 사용해도 된다.

- [0268] 목적 단백질의 정제(예를 들어, 상기와 같은 상청, 처리물 또는 가용화물로의 정제)는, 단백질의 정제에 사용되는 공지된 방법에 의해 행할 수 있다. 그러한 방법으로서, 예를 들어 황산암모늄 분획, 이온 교환 크로마토그래피, 소수 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피, 겔 여과 크로마토그래피, 등전점 침전을 들 수 있다. 이들 방법은 1종을 단독으로 사용해도 되고, 2종 또는 그 이상을 적절히 조합하여 사용해도 된다.
- [0269] 목적 단백질은 유리의 상태로 취득되어도 되고, 수지 등의 고상에 고정화된 고정화 효소의 상태로 취득되어도 된다.
- [0270] 회수한 목적 단백질은 적절히 제제화해도 된다. 제형은 특별히 제한되지 않고, 목적 단백질의 사용 용도 등의 여러 조건에 따라서 적절히 설정할 수 있다. 제형으로서, 예를 들어 액제, 현탁제, 산제, 정제, 환제, 캡슐제를 들 수 있다. 제제화 시에는, 예를 들어 부형제, 결합제, 붕괴제, 활택제, 안정화제, 교미제, 교취제, 향료, 희석제, 계면 활성제 등의 약리학적으로 허용되는 첨가제를 사용할 수 있다.
- [0271] <4> 유효 성분의 사용
- [0272] 또한, 본 발명은 상기 예시한 용도에서의 유효 성분의 사용을 개시한다. 즉, 본 발명은, 예를 들어 조성물의 안정성을 향상시키기 위한 유효 성분의 사용이나, 동물 세포 배양용의 조성물의 제조에 있어서의 유효 성분의 사용을 개시한다. 바꾸어 말하면, 본 발명은, 유효 성분을 사용하여 상기 예시한 용도를 실현하는 방법을 개시한다. 즉, 본 발명은, 예를 들어 유효 성분을 혼합하는 것을 포함하는, 조성물의 안정성을 향상시키는 방법이나, 유효 성분을 혼합하는 것을 포함하는, 동물 세포 배양용의 조성물을 제조하는 방법을 개시한다.
- [0273] 또한, 본 발명은, 상기 예시한 용도에 사용하기 위한 유효 성분을 개시한다. 즉, 본 발명은, 예를 들어 조성물의 안정성의 향상에 사용하기 위한 유효 성분이나, 동물 세포 배양용의 조성물의 제조에 사용하기 위한 유효 성분을 개시한다.
- [0274] 또한, 본 발명은, 다른 유효 성분과 병용하기 위한 각 유효 성분의 사용을 개시한다. 각 유효 성분은, 상기 예시한 용도를 위해서, 다른 유효 성분과 병용되어도 된다. 즉, 본 발명은, 예를 들어 아미노산원(예를 들어 시스테인)을 함유하는 조성물의 안정성을 향상시키기 위한 α -케토글루탈산의 염의 사용이나, α -케토글루탈산을 함유하는 조성물의 안정성을 향상시키기 위한 프리체의 L-시스테인무수화물의 사용을 개시한다. 아미노산원(예를 들어 시스테인)을 함유하는 조성물의 안정성을 향상시키기 위한 α -케토글루탈산의 염의 사용으로서, 특히 아미노산원(예를 들어 시스테인)을 함유하는 조성물의 고결을 방지하기 위한 α -케토글루탈산의 염의 사용이나, 시스테인을 함유하는 조성물에 있어서의 시스테인 함유량의 감소를 방지하기 위한 α -케토글루탈산의 염의 사용을 들 수 있다. α -케토글루탈산을 함유하는 조성물의 안정성을 향상시키기 위한 프리체의 L-시스테인무수화물의 사용으로서, 특히 α -케토글루탈산을 함유하는 조성물의 고결을 방지하기 위한 프리체의 L-시스테인무수화물의 사용을 들 수 있다. 바꾸어 말하면, 본 발명은, 각 유효 성분을 다른 유효 성분과 병용하여 상기 예시한 용도를 실현하는 방법을 개시한다. 즉, 본 발명은, 예를 들어 α -케토글루탈산의 염을 아미노산원(예를 들어 시스테인)과 혼합하는 것을 포함하는, 아미노산원(예를 들어 시스테인)을 함유하는 조성물의 안정성을 향상시키는 방법이나, 프리체의 L-시스테인무수화물을 α -케토글루탈산혼합하는 것을 포함하는, α -케토글루탈산을 함유하는 조성물의 안정성을 향상시키는 방법을 개시한다. 아미노산원(예를 들어 시스테인)을 함유하는 조성물의 안정성을 향상시키는 방법으로서, 특히 아미노산원(예를 들어 시스테인)을 함유하는 조성물의 고결을 방지하는 방법이나, 시스테인을 함유하는 조성물에 있어서의 시스테인 함유량의 감소를 방지하는 방법을 들 수 있다. α -케토글루탈산을 함유하는 조성물의 안정성을 향상시키는 방법으로서, 특히 α -케토글루탈산을 함유하는 조성물의 고결을 방지하는 방법을 들 수 있다.
- [0275] **실시예**
- [0276] 이하, 비한정적인 실시예를 참조하여, 본 발명을 더욱 구체적으로 설명한다.
- [0277] 실시예 1: 조성물의 고결의 방지
- [0278] 본 실시예에서는, L-시스테인과 α -케토글루탈산의 혼합 분체에 대해서, L-시스테인 및/또는 α -케토글루탈산의 형태를 변경했을 때의 분체의 성상에 대한 영향을 평가하였다.
- [0279] (1) 혼합 분체의 조제
- [0280] 표 1에 기재된 각 형태의 L-시스테인과 α -케토글루탈산을 몰비로 1:5.8이 되도록 혼합하여 혼합 분체를

얻었다. 어느 혼합 분체도, 백색의 보슬보슬한 분체로서 조제되었다.

[0281] (2) 평가 실험

[0282] 각 혼합 분체 및 실리카겔(신에츠 가가쿠 고교사제)을 25℃ 또는 40℃로 온도를 제어한 인큐베이터(Espec사제; CSH-122HG)에서 차광 조건에서 보관하고, 3일, 7일 또는 14일 보관 후의 분체의 고결성을 눈으로 보아 평가하였다. 표 중, 「-」는 고결이 확인되지 않은 것을 나타낸다. 표 중 「+」 내지 「+++」는 고결이 확인된 것을 나타내고, 「+」가 많을수록 고결의 정도가 큰 것을 나타낸다. 구체적인 평가 기준은, 이하와 같다.

[0283] -: 혼합 분체 중에 고결물(고결된 덩어리)이 존재하지 않는다.

[0284] +: 혼합 분체 전량 중에 고결물(고결된 덩어리)이 1 내지 9개 존재한다.

[0285] ++: 혼합 분체 전량 중에 고결물(고결된 덩어리)이 10개 이상 존재하고, 명백하게 고결되어 있는 것을 알 수 있다.

[0286] +++: 혼합 분체가 전체적으로 고결되어 있어 가루의 형상이 담보되지 않는다.

[0287] (3) 평가 결과

[0288] 결과를 표 1 및 도 1 내지 2에 나타낸다. L-시스테인염산염1수화물과 프리체의 α-케토글루탈산의 혼합 분체, 및 L-시스테인염산염1수화물을 L-시스테인염산염무수화물로 변경한 혼합 분체에서는, 25℃, 3일 이상의 보관에서 고결이 확인되었다. 그것에 대하여, L-시스테인염산염1수화물을 프리체의 L-시스테인무수화물로 변경하고, 또한/또는 프리체의 α-케토글루탈산을 α-케토글루탈산1나트륨으로 변경한 혼합 분체에서는, 25℃, 3일 이상의 보관에서 고결이 확인되지 않았다. 또한, L-시스테인염산염1수화물을 프리체의 L-시스테인무수화물로 변경하고, 또한 프리체의 α-케토글루탈산을 α-케토글루탈산1나트륨으로 변경한 혼합 분체에서는, 다른 혼합 분체에서 고결이 확인된 40℃, 3일 이상의 보관에서도 고결이 확인되지 않았다.

[0289] 이상으로부터, L-시스테인과 α-케토글루탈산의 혼합 분체에 대해서, L-시스테인으로서 프리체의 L-시스테인무수화물을 사용하고, 또한/또는 α-케토글루탈산으로서 α-케토글루탈산1나트륨을 사용함으로써, 혼합 분체의 안정성(구체적으로는 고결 내성)이 향상되는 것이 명백해졌다. 특히, 프리체의 L-시스테인무수화물과 α-케토글루탈산1나트륨을 사용함으로써, 혼합 분체의 안정성(구체적으로는 고결 내성)이 현저하게 향상되는 것이 명백해졌다.

표 1

평가 결과

No.	혼합물	25℃			40℃		
		3 일	7 일	14 일	3 일	7 일	14 일
No. 1	L-시스테인염산염1수화물 + 프리체의 α-케토글루탐산	+	++	++	++	+++	+++
No. 2	L-시스테인염산염무수화물 + 프리체의 α-케토글루탐산	+	++	++	++	+++	+++
No. 3	프리체의 L-시스테인무수화물 + 프리체의 α-케토글루탐산	-	-	-	++	++	+++
No. 4	L-시스테인염산염1수화물 + α-케토글루탐산1나트륨	-	-	-	+	++	++
No. 5	L-시스테인염산염무수화물 + α-케토글루탐산1나트륨	-	-	-	+	++	++
No. 6	프리체의 L-시스테인무수화물 + α-케토글루탐산1나트륨	-	-	-	-	-	-

[0290]

[0291]

실시예 2: 조성물의 고결의 방지

[0292]

본 실시예에서는, 각종 아미노산원과 α-케토글루탐산의 혼합 분체에 대해서, α-케토글루탐산의 형태를 변경했을 때의 분체의 성상에 대한 영향을 평가하였다.

[0293]

(1) 분체의 조정

[0294]

각종 아미노산원과 α-케토글루탐산(프리체의 α-케토글루탐산 또는 α-케토글루탐산1나트륨)을 몰비로 1:1.5가 되도록 혼합하여 혼합 분체를 얻었다. 글리실-L-티로신2수화물과 프리체의 α-케토글루탐산의 혼합 분체, 및 L-리신염산염과 프리체의 α-케토글루탐산의 혼합 분체는, 조제 직후부터 고결이 보였다. 그것들 이외에는, 어느 혼합 분체도, 백색의 보슬보슬한 분체로서 조제되었다. 조제 직후의 혼합 분체의 사진을 도 3에 나타낸다.

[0295]

(2) 평가 실험

[0296]

각 혼합 분체 및 실리카겔(신에츠 가가쿠 고교사제)을 4℃, 25℃ 또는 40℃로 온도를 제어한 인큐베이터(Espec 사제; CSH-122HG)에서 차광 조건에서 보관하고, 3일, 7일 또는 14일 보관 후의 분체의 고결성을 눈으로 보아 평가하였다. 표 중, 「-」는 고결이 확인되지 않은 것을 나타낸다. 표 중 「+」 내지 「+++」는 고결이 확인된 것을 나타내고, 「+」가 많을수록 고결의 정도가 큰 것을 나타낸다. 구체적인 평가 기준은, 이하와 같다.

[0297]

-: 혼합 분체 중에 고결물(고결된 덩어리)이 존재하지 않는다.

[0298]

+: 혼합 분체 전량 중에 고결물(고결된 덩어리)이 1 내지 9개 존재한다.

[0299]

++: 혼합 분체 전량 중에 고결물(고결된 덩어리)이 10개 이상 존재하고, 명백하게 고결되어 있는 것을 알 수 있다.

[0300]

+++: 혼합 분체가 전체적으로 고결되어 있어 가루의 형상이 담보되지 않는다.

[0301]

(3) 평가 결과

[0302] 결과를 표 2 내지 3 및 도 4 내지 6에 나타낸다. 많은 아미노산원에 대해서, 프리체의 α-케토글루탐산을 α-케토글루탐산1나트륨으로 변경함으로써, 혼합 분체의 고결이 방지되었다. 특히, 프리체의 글리실-L-티로신2수화물, 프리체의 L-페닐알라닌, L-리신염산염, 프리체의 L-메티오닌, 프리체의 글리신, 프리체의 L-아스파라긴1수화물, L-시스테인염산염무수화물, 프리체의 L-시스테인무수화물에 대해서, 프리체의 α-케토글루탐산을 α-케토글루탐산1나트륨으로 변경함으로써, 혼합 분체의 고결이 방지되었다.

[0303] 이상으로부터, L-시스테인과 α-케토글루탐산의 혼합 분체에 한정되지 않고, 많은 아미노산원과 α-케토글루탐산의 혼합 분체에 대해서, α-케토글루탐산으로서 α-케토글루탐산1나트륨을 사용함으로써, 혼합 분체의 안정성(구체적으로는 고결 내성)이 향상되는 것이 명백해졌다.

표 2

평가 결과

	혼합물	4℃			25℃			40℃		
		3 일	7 일	14 일	3 일	7 일	14 일	3 일	7 일	14 일
No. 7	프리체의 L-티로신 + 프리체의 α-케토글루탐산	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 8	프리체의 L-티로신 + α-케토글루탐산1나트륨	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 9	L-티로신2나트륨2수화물 + 프리체의 α-케토글루탐산	-	-	-	-	-	-	-	+	+
No. 10	L-티로신2나트륨2수화물 + α-케토글루탐산1나트륨	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 11	프리체의 글리실-L-티로신2수화물 + 프리체의 α-케토글루탐산	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
No. 12	프리체의 글리실-L-티로신2수화물 + α-케토글루탐산1나트륨	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 13	프리체의 L-페닐알라닌 + 프리체의 α-케토글루탐산	-	-	-	+	+	+	+++	+++	+++
No. 14	프리체의 L-페닐알라닌 + α-케토글루탐산1나트륨	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 15	L-리신염산염 + 프리체의 α-케토글루탐산	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
No. 16	L-리신염산염 + α-케토글루탐산1나트륨	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 17	프리체의 L-메티오닌 + 프리체의 α-케토글루탐산	+	+	+	+	+	+	++	+++	+++
No. 18	프리체의 L-메티오닌 + α-케토글루탐산1나트륨	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 19	프리체의 글리신 + 프리체의 α-케토글루탐산	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
No. 20	프리체의 글리신 + α-케토글루탐산1나트륨	-	-	-	-	-	-	-	-	-

[0304]

표 3

평가 결과

No.	혼합물	4℃			25℃			40℃		
		3 일	7 일	14 일	3 일	7 일	14 일	3 일	7 일	14 일
No. 21	프리체의 L-아스파라긴1수화물 + α-케토글루탈산	-	-	-	+	++	++	+++	+++	+++
No. 22	프리체의 L-아스파라긴1수화물 + α-케토글루탈산1나트륨	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 23	L-글루탐산1나트륨1수화물 + α-케토글루탈산	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
No. 24	L-글루탐산1나트륨1수화물 + α-케토글루탈산1나트륨	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 25	L-오르니틴염산염 + α-케토글루탈산	-	-	-	+	+	+	+	+	+
No. 26	L-오르니틴염산염 + α-케토글루탈산1나트륨	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 27	프리체의 L-트립토판 + α-케토글루탈산	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 28	프리체의 L-트립토판 + α-케토글루탈산1나트륨	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 29	L-시스테인염산염1수화물 + α-케토글루탈산	-	-	-	++	++	+++	+++	+++	+++
No. 30	L-시스테인염산염1수화물 + α-케토글루탈산1나트륨	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++
No. 31	L-시스테인염산염무수화물 + α-케토글루탈산	-	-	-	++	++	++	++	+++	+++
No. 32	L-시스테인염산염무수화물 + α-케토글루탈산1나트륨	/	/	/	-	-	-	+++	+++	+++
No. 33	프리체의 L-시스테인무수화물 + α-케토글루탈산	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++
No. 34	프리체의 L-시스테인무수화물 + α-케토글루탈산1나트륨	-	-	-	-	-	-	-	-	-

[0305]

[0306]

실시에 3: 조성물에 있어서의 L-시스테인 함유량의 감소의 방지

[0307]

본 실험예에서는, L-시스테인과 α-케토글루탈산의 혼합 분체에 대해서, L-시스테인 및/또는 α-케토글루탈산의 형태를 변경했을 때의 분체 중의 L-시스테인 함량의 추이에 대한 영향을 평가하였다.

[0308]

(1) 분체의 조정

[0309]

L-시스테인(L-시스테인염산염1수화물 또는 프리체의 L-시스테인무수화물)과 α-케토글루탈산(프리체의 α-케토글루탈산 또는 α-케토글루탈산1나트륨)을 몰비로 1:4.9가 되도록 혼합하여 혼합 분체를 얻었다. 어느 혼합 분체도, 백색의 보슬보슬한 분체로서 조제되었다.

[0310]

(2) 평가 실험

[0311]

각 혼합 분체 및 실리카겔(신에츠 가가쿠 고교사제)을 25℃ 또는 40℃로 온도를 제어한 인큐베이터(Espec사제; CSH-122HG)에서 차광 조건에서 보관하고, W02021/060517A의 방법에 따라서 혼합 분체 중의 L-시스테인 함유량을 경시적으로 분석하였다.

[0312]

(3) 평가 결과

[0313]

결과를 도 7 내지 10에 나타낸다. 프리체의 α-케토글루탈산을 함유하는 혼합 분체에서는, L-시스테인이 L-시스테인염산염1수화물 또는 프리체의 L-시스테인무수화물 중 어느 경우에도, 25℃ 또는 40℃에서의 보관에서 L-시스테인 함유량의 감소가 확인되고, 40℃, 7일 이상의 보관에서 L-시스테인을 검출할 수 없게 되었다. 한편, 프리체의 L-시스테인과 α-케토글루탈산1나트륨을 함유하는 혼합 분체에서는, L-시스테인 함유량의 감소가 대폭

개선되었다.

[0314] 이상으로부터, L-시스테인과 α -케토글루탈산의 혼합 분체에 대해서, L-시스테인으로서 프리체의 L-시스테인무수화물을 사용하고, 또한 α -케토글루탈산으로서 α -케토글루탈산1나트륨을 사용함으로써, 혼합 분체의 안정성(구체적으로는 L-시스테인의 안정성)이 향상되는 것이 명백해졌다.

산업상 이용가능성

[0315] 본 발명에 따르면, 아미노산 및 α -케토글루탈산을 함유하는 조성물의 안정성을 향상시킬 수 있다. 또한, 본 발명에 따르면, 당해 조성물을 이용하여 동물 세포를 배양할 수 있다.

도면

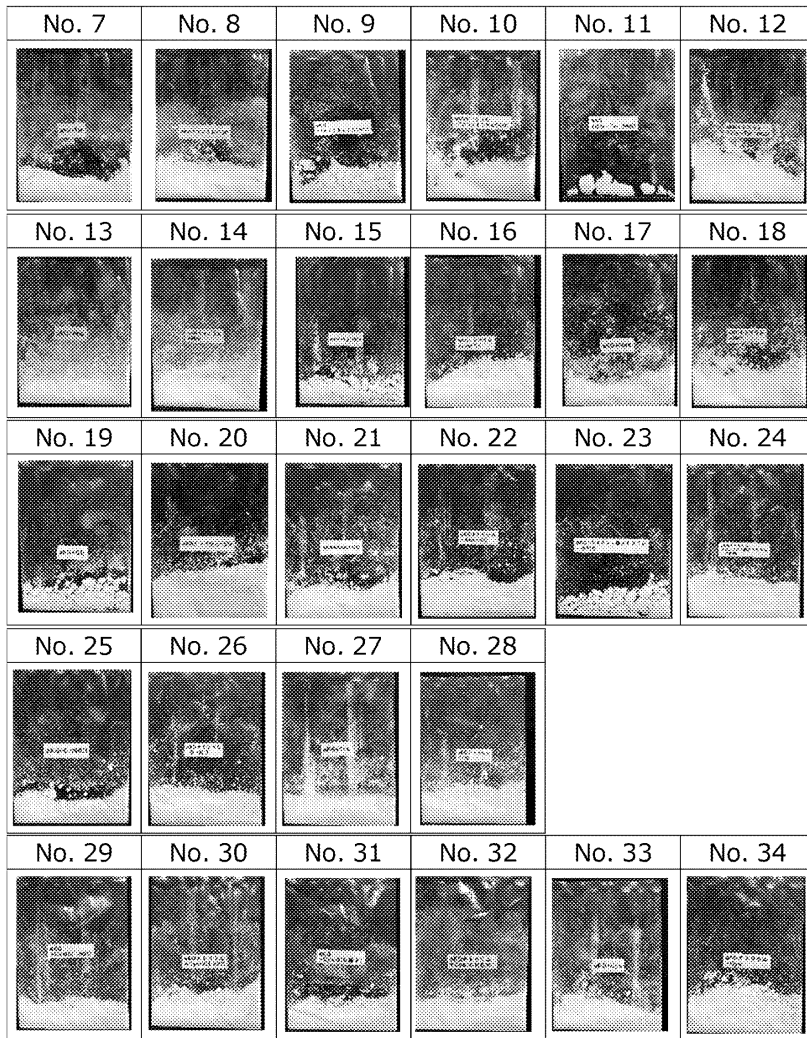
도면1

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
25°C 3일						
25°C 7일						
25°C 14일						

도면2

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
40°C 3일						
40°C 7일						
40°C 14일						

도면3



도면4

	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10	No. 11	No. 12	No. 13	No. 14	No. 15	No. 16	No. 17	No. 18
4℃ 1일												
4℃ 3일												
4℃ 7일												
4℃ 14일												
4℃ 21일												

	No. 19	No. 20	No. 21	No. 22	No. 23	No. 24	No. 25	No. 26	No. 27	No. 28
4℃ 1일										
4℃ 3일										
4℃ 7일										
4℃ 14일										

	No. 29	No. 30	No. 31	No. 32	No. 33	No. 34
4℃ 1일						
4℃ 3일						
4℃ 7일						
4℃ 14일						

도면5

	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10	No. 11	No. 12	No. 13	No. 14	No. 15	No. 16	No. 17	No. 18
25℃ 1일												
25℃ 3일												
25℃ 7일												
25℃ 14일												
25℃ 21일												
	No. 19	No. 20	No. 21	No. 22	No. 23	No. 24	No. 25	No. 26	No. 27	No. 28		
25℃ 1일												
25℃ 3일												
25℃ 7일												
25℃ 14일												
	No. 29	No. 30	No. 31	No. 32	No. 33	No. 34						
25℃ 1일												
25℃ 3일												
25℃ 7일												
25℃ 14일												

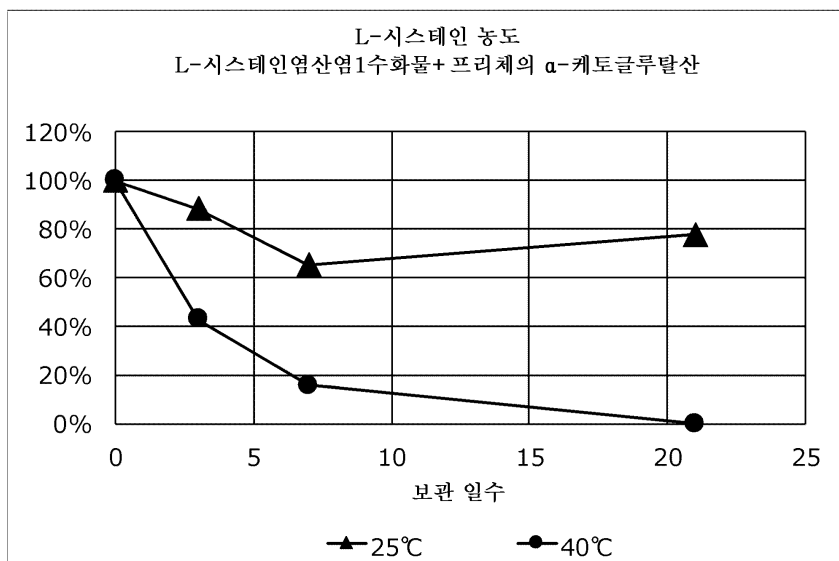
도면6

	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10	No. 11	No. 12	No. 13	No. 14	No. 15	No. 16	No. 17	No. 18
40°C 1일												
40°C 3일												
40°C 7일												
40°C 14일												
40°C 21일												

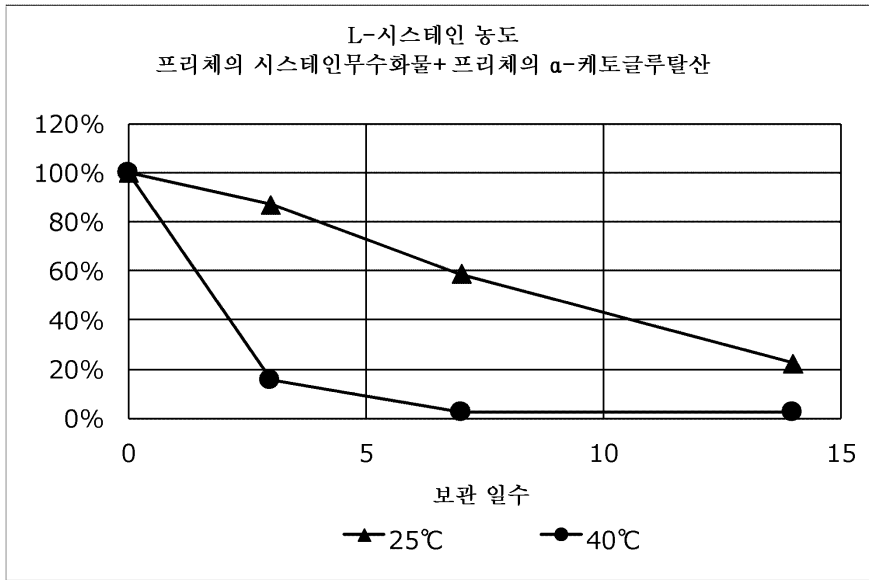
	No. 19	No. 20	No. 21	No. 22	No. 23	No. 24	No. 25	No. 26	No. 27	No. 28
40°C 1일										
40°C 3일										
40°C 7일										
40°C 14일										

	No. 29	No. 30	No. 31	No. 32	No. 33	No. 34
40°C 1일						
40°C 3일						
40°C 7일						
40°C 14일						

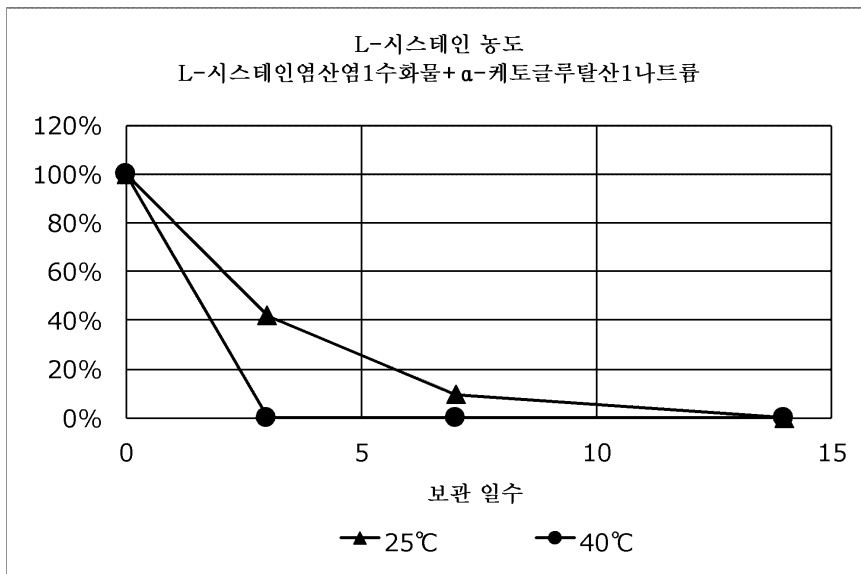
도면7



도면8



도면9



도면10

