

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(10) 国际公布号
WO 2020/207151 A1

(43) 国际公布日
2020 年 10 月 15 日 (15.10.2020) **WIPO | PCT**

- (51) 国际专利分类号:
A01N 1/02 (2006.01) *A01N 1/00* (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2020/077473
- (22) 国际申请日: 2020 年 3 月 2 日 (02.03.2020)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201910281978.2 2019 年 4 月 9 日 (09.04.2019) CN
201910281986.7 2019 年 4 月 9 日 (09.04.2019) CN

(71) 申请人: 北京大学第三医院 (北京大学第三临床医学院) (PEKING UNIVERSITY THIRD HOSPITAL) [CN/CN]; 中国北京市海淀区花园北路 49 号, Beijing 100191 (CN)。中国科学院化学研究所 (INSTITUTE OF CHEMISTRY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) [CN/CN]; 中国北京市海淀区中关村北一街 2 号, Beijing 100190 (CN)。

(72) 发明人: 严杰 (YAN, Jie); 中国北京市海淀区花园北路 49 号, Beijing 100191 (CN)。乔杰 (QIAO, Jie); 中国北京市海淀区花园北路 49 号, Beijing 100191 (CN)。闫丽盈 (YAN, Liying); 中国北京市海淀区花园北路 49 号, Beijing 100191 (CN)。李蓉 (LI, Rong); 中国北京市海淀区花园北路 49 号, Beijing 100191 (CN)。王健君 (WANG, Jianjun); 中国北京市海淀区中关村北一街 2 号, Beijing 100190 (CN)。金晟琳 (JIN, Shenglin); 中国北

京市海淀区中关村北一街 2 号, Beijing 100190 (CN)。吕健勇 (LV, Jianyong); 中国北京市海淀区中关村北一街 2 号, Beijing 100190 (CN)。

(74) 代理人: 北京知元同创知识产权代理事务所 (普通合伙) (BEIJING ORIGINTELLIGENCE IP LAW FIRM); 中国北京市海淀区上地三街 9 号嘉华大厦 E 座 1004 室黄越, 焦健, Beijing 100085 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

(54) Title: CRYOPRESERVATION SOLUTION WITHOUT DMSO, PREPARATION METHOD THEREFOR AND APPLICATION THEREOF

(54) 发明名称: 一种无 DMSO 的冷冻保存液及其制备方法与应用

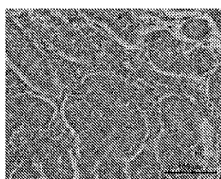


图 1

(57) Abstract: Disclosed by the present invention is a cryopreservation liquid without DMSO. On the basis of a volume of every 100 mL, the cryopreservation solution contains 0.01-50.0 g of bionic ice control materials, 5.0-30 mL of polyols, 1-30 g of water-soluble sugar, and 0-30 mL of serum, the rest being a buffer solution. The bionic ice control materials are selected from PVA and/or amino acid bionic ice control materials. The cryopreservation solution according to the present invention and a freezing balancing solution do not contain DMSO. When being used for the cryopreservation of mouse oocytes and embryos, the described solution may achieve the same or an even higher cell and tissue survival rate and functional expression stability as or than a commercial cryopreservation solution (containing 15% DMSO), and has high preservation efficiency. The cryopreservation solution without DMSO or serum further solves the problems wherein parasitic biological contaminants may be introduced and stability is poor due to the commercial cryopreservation solution currently commonly used in clinical practice containing serum. The cryopreservation solution according to the present invention has a simple composition, a convenient source of raw materials and is low-cost, and may be widely applied in the cryopreservation of various types of cells.

[见续页]

WO 2020/207151 A1

本国际公布：

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(57) 摘要：本发明公开了一种无DMSO的冷冻保存液。所述冷冻保存液以每100mL体积计，含有仿生控冰材料0.01-50.0g，多元醇5.0-30mL，水溶性糖1-30g，血清0-30mL，余量为缓冲液，所述仿生控冰材料选自PVA和/或氨基酸类仿生控冰材料。本发明的冷冻保存液和冷冻平衡液不含有DMSO，在用于冷冻保存小鼠卵母细胞、胚胎时，能达到与商业化冷冻保存液（含有15%DMSO）同等甚至更高的细胞、组织存活率和功能表达稳定性，具有较高的保存效率。其中，既无DMSO也无血清的冷冻保存液，进一步解决了目前临床普遍使用的商业化冷冻保存液因含有血清而造成的稳定性差，可带入寄生性生物污染物质等问题。本发明的冷冻保存液组成简单，且原料来源方便，成本低廉，可广泛应用于各类细胞冷冻保存。