

【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1部門第1区分

【発行日】平成26年8月21日(2014.8.21)

【公表番号】特表2013-534140(P2013-534140A)

【公表日】平成25年9月2日(2013.9.2)

【年通号数】公開・登録公報2013-047

【出願番号】特願2013-523311(P2013-523311)

【国際特許分類】

C 12 N 5/10 (2006.01)

C 12 N 5/00 (2006.01)

A 61 L 27/00 (2006.01)

【F I】

C 12 N 5/00 102

C 12 N 5/00 Z N A

A 61 L 27/00 V

【手続補正書】

【提出日】平成26年7月7日(2014.7.7)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

不死化したB細胞から人工多能性幹細胞(iPS細胞)を作製する方法であって、

a) 1つ以上の不死化させるエプスタイン・バーウイルス(EBV)要素により不死化された不死化B細胞を取得することと、

b) 前記不死化B細胞を、該細胞内で外来性リプログラミング因子の発現を起こすことによってリプログラミングし、それによりiPS細胞を作製することと、

を含む、前記方法。

【請求項2】

前記iPS細胞から前記EBV要素を除去することをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記EBV要素を本質的に含まないiPS細胞を単離または濃縮することをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

不死化前の前記B細胞が血液サンプルから取得されており、ここで特に、

前記血液サンプルが約0.01mL～約5mLの容量を有し、とりわけ、

前記血液サンプルが約0.1mL～約0.5mLの容量を有する、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

前記不死化B細胞が、エプスタイン・バーウイルス(EBV)要素を使用してB細胞を不死化することにより取得される、請求項1に記載の方法。

【請求項6】

前記不死化させるEBV要素が、誘導性の外来性リプログラミング発現カセットを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項7】

前記不死化 B 細胞が、樹立リンパ芽球様細胞株から取得される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

リプログラミングは、以下：

i ) 1 つ以上のリプログラミングエピソームベクター要素を前記不死化 B 細胞に導入すること、あるいは

i i ) 前記不死化 B 細胞をフィーダー層の非存在下で培養すること  
を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

リプログラミングは、以下：

i ) 前記不死化 B 細胞と 1 つ以上のシグナル伝達阻害剤を接触させることであって、該シグナル伝達阻害剤には、グリコーゲン合成酵素キナーゼ 3 ( G S K - 3 ) 阻害剤、マイトジエン活性化プロテインキナーゼキナーゼ ( M E K ) 阻害剤、トランスフォーミング成長因子 ( T G F - ) 受容体阻害剤、白血病抑制因子 ( L I F ) 、 p 5 3 阻害剤、 N F - B 阻害剤、またはこれらの組み合わせが含まれる、不死化 B 細胞と 1 つ以上のシグナル伝達阻害剤を接触させること、あるいは

i i ) 前記不死化 B 細胞を線維芽細胞成長因子 ( F G F ) と接触させることをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

リプログラミングは、以下：

i ) P a x - 5 に特異的な阻害性ヌクレオチドを前記不死化 B 細胞に導入することも

i i ) 前記不死化 B 細胞内における外来性 C / E B P の発現  
も含まない、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記 i P S 細胞を心臓細胞、造血細胞、神経細胞、または肝細胞にインピトロで分化されることをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

胚性幹細胞と比較して不完全な B 細胞免疫グロブリン可変領域遺伝子セットを含むゲノムを有するヒト i P S 細胞であって、外来性遺伝的要素を本質的に含まないヒト i P S 細胞。

【請求項 13】

前記ゲノムが、選択された遺伝マーカーを含み、特に、前記選択された遺伝マーカーが、選択された疾患の遺伝マーカーである、請求項 1 2 に記載のヒト i P S 細胞。

【請求項 14】

前記ゲノムが不死化 B 細胞に由来し、特に、前記ヒト i P S 細胞が、正常な核型を有する、請求項 1 2 に記載のヒト i P S 細胞。

【請求項 15】

請求項 1 2 に記載のヒト i P S 細胞に由来する、分化した細胞、組織、または器官。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 4 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 4 5】

本発明の他の目的、特徴、および利点は、以下の詳細な説明から明らかになる。しかしながら、詳細な説明および特定の実施例は、本発明の好ましい実施形態を示しているが、この詳細な説明から本発明の趣旨および範囲内の様々な変更および改良が当業者に明らかになるため、単なる例示として与えられることを理解されたい。

例えば、本発明は、以下の項目を提供する：

(項目1)

不死化したB細胞から人工多能性幹細胞(iPS細胞)を作製する方法であって、  
a) 1つ以上の不死化させるエプスタイン・バーウイルス(EBV)要素により不死化  
された不死化B細胞を取得することと、  
b) 上記不死化B細胞を、該細胞内で外来性リプログラミング因子の発現を起こすこと  
によってリプログラミングし、それによりiPS細胞を作製することと、  
を含む、上記方法。

(項目2)

上記iPS細胞から上記EBV要素を除去することをさらに含む、項目1に記載の方法  
。

(項目3)

上記EBV要素を本質的に含まないiPS細胞を単離または濃縮することをさらに含む、  
項目1に記載の方法。

(項目4)

不死化前の上記B細胞が血液サンプルから取得されている、項目1に記載の方法。

(項目5)

上記血液サンプルが約0.01mL～約5mLの容量を有する、項目4に記載の方法。

(項目6)

上記血液サンプルが約0.1mL～約0.5mLの容量を有する、項目5に記載の方法  
。

(項目7)

上記不死化B細胞が、エプスタイン・バーウイルス(EBV)要素を使用してB細胞を  
不死化することにより取得される、項目1に記載の方法。

(項目8)

上記不死化させるEBV要素が、誘導性の外来性リプログラミング発現カセットを含む、  
項目1に記載の方法。

(項目9)

上記不死化B細胞が、樹立リンパ芽球様細胞株から取得される、項目1に記載の方法。

(項目10)

リプログラミングは、1つ以上のリプログラミングエピソームベクター要素を上記不死化B細胞に導入することを含む、項目1に記載の方法。

(項目11)

リプログラミングは、上記不死化B細胞をフィーダー層の非存在下で培養することを含む、項目1に記載の方法。

(項目12)

リプログラミングは、上記不死化B細胞と1つ以上のシグナル伝達阻害剤を接触させることをさらに含み、該シグナル伝達阻害剤には、グリコーゲン合成酵素キナーゼ3(GSK-3)阻害剤、マイトジエン活性化プロテインキナーゼキナーゼ(MEK)阻害剤、トランスクォーミング成長因子(TGF-)受容体阻害剤、白血病抑制因子(LIF)、p53阻害剤、NF-B阻害剤、またはこれらの組み合わせが含まれる、項目1に記載の方法。

(項目13)

リプログラミングは、上記不死化B細胞を線維芽細胞成長因子(FGF)と接触させることをさらに含む、項目1に記載の方法。

(項目14)

リプログラミングは、Pax-5に特異的な阻害性ヌクレオチドを上記不死化B細胞に導入することを含まない、項目1に記載の方法。

(項目15)

リプログラミングは、上記不死化B細胞内における外来性C/EBPの発現を含まな

い、項目1に記載の方法。

(項目16)

上記iPS細胞を心臓細胞、造血細胞、神経細胞、または肝細胞にインピトロで分化させることをさらに含む、項目1に記載の方法。

(項目17)

胚性幹細胞と比較して不完全なB細胞免疫グロブリン可変領域遺伝子セットを含むゲノムを有するヒトiPS細胞であって、外来性遺伝的要素を本質的に含まないヒトiPS細胞。

(項目18)

上記ゲノムが、選択された遺伝マーカーを含む、項目17に記載のヒトiPS細胞。

(項目19)

上記選択された遺伝マーカーが、選択された疾患の遺伝マーカーである、項目18に記載のヒトiPS細胞。

(項目20)

上記ゲノムが不死化B細胞に由来する、項目17に記載のヒトiPS細胞。

(項目21)

正常な核型を有する、項目20に記載のヒトiPS細胞。

(項目22)

項目17に記載のヒトiPS細胞に由来する、分化した細胞、組織、または器官。