

【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30年3月29日 (2018.3.29)

【公表番号】特表2017-500013(P2017-500013A)

【公表日】平成29年1月5日 (2017.1.5)

【年通号数】公開・登録公報2017-001

【出願番号】特願2016-527450(P2016-527450)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/071 (2010.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 6 1 K 35/545 (2015.01)

A 6 1 K 35/51 (2015.01)

A 6 1 K 35/54 (2015.01)

A 6 1 P 1/18 (2006.01)

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

A 6 1 P 9/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 5/071

C 1 2 N 5/10

A 6 1 K 35/545

A 6 1 K 35/51

A 6 1 K 35/54

A 6 1 P 1/18

A 6 1 P 25/00

A 6 1 P 9/00

A 6 1 P 43/00 1 0 5

【手続補正書】

【提出日】平成30年2月9日 (2018.2.9)

【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】

三次元の細胞集団を産生する方法であって、

a. 多能性幹細胞をキレート剤または酵素で処理して、平面接着培養から細胞凝集体を放出させることと、

b. 多能性幹細胞の前記集団を、前記平面接着培養から動的懸濁液へ移植することと、

c. 細胞凝集体の前記懸濁液を増殖させて、細胞集団を生成することと、

を含み、前記細胞集団が多能性を維持している、方法。

【請求項 2】

前記多能性幹細胞が中性プロテアーゼまたは A c c u t a s e から選択される酵素で処理される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記酵素が中性プロテアーゼである、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記多能性幹細胞が、誘導型多能性幹細胞、ヒト臍帯組織由来細胞、単為生殖生物、ヒト胚性幹細胞（hES）、及び羊水由来細胞からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

前記細胞がH1 hESである、請求項4に記載の方法。

【請求項6】

前記幹細胞集団が、CD9、SSEA4、TRA-1-60、及びTRA-1-81を発現し、CXCR4の発現を欠いている、請求項1に記載の方法。

【請求項7】

前記多能性幹細胞がキレート剤で処理される、請求項1に記載の方法。

【請求項8】

前記キレート剤がエチレンジアミン四酢酸である、請求項7に記載の方法。

【請求項9】

前記細胞集団を、動的攪拌されている懸濁培養系内で分化させて、臍臓前駆細胞集団、神経前駆細胞集団、又は心筋前駆細胞集団を生成することをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項10】

前記増殖させることが、約0.1%～約2%のウシ血清アルブミンを含む環境を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項11】

前記増殖させることが、Rhキナーゼ阻害剤を含む環境を含む、請求項1または10に記載の方法。

【請求項12】

工程aの前記処理が、前記細胞を単一の細胞懸濁液に完全には脱凝集させない、請求項1に記載の方法。

【請求項13】

前記処理が、前記細胞を、群体の縁部が丸まって持ち上がり始めるまでであるが前記培養表面から群体が完全に剥離する前に、前記酵素またはキレート剤と共にインキュベートすることを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項14】

前記酵素またはキレート剤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15】

多能性細胞の懸濁培養を平面または接着培養から開始するための非酵素的方法であって、

平面培養下の前記多能性細胞をキレート剤で処理することと、
前記細胞を集団として懸濁培養へと移植することと、
を含み、前記移植された細胞の多能性が維持されている、方法。

【請求項16】

前記キレート剤がエチレンジアミン四酢酸である、請求項15に記載の方法。