

【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20年3月13日 (2008.3.13)

【公表番号】特表2008-501320(P2008-501320A)

【公表日】平成20年1月24日 (2008.1.24)

【年通号数】公開・登録公報2008-003

【出願番号】特願2007-513616(P2007-513616)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/06 (2006.01)

A 6 1 K 35/12 (2006.01)

A 6 1 L 27/00 (2006.01)

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

A 6 1 P 9/00 (2006.01)

A 6 1 P 3/10 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 17/02 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/00 E

A 6 1 K 35/12

A 6 1 L 27/00 C

A 6 1 P 25/00

A 6 1 P 9/00

A 6 1 P 3/10

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 P 17/02

【手続補正書】

【提出日】平成20年1月23日 (2008.1.23)

【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】

幹細胞または幹細胞由来の細胞を凍結する方法であって、細胞懸濁液を提供する工程と、前記細胞懸濁液に氷核形成を実施する工程と、前記幹細胞の長期保存を可能にするのに十分に低い温度まで前記氷核形成細胞の懸濁液の温度を下げる工程とを含む方法。

【請求項 2】

前記幹細胞は、胚性幹細胞である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記幹細胞は、ヒト胚性幹細胞である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

解凍したとき、前記細胞は、肝細胞、腎細胞、真皮細胞、心血管細胞、神経細胞、骨細胞、脾細胞および生殖細胞からなる群から選択される細胞型に分化することができる、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

解凍したとき、前記細胞は、腸管上皮細胞、軟骨細胞、骨細胞、心筋細胞様細胞、様細胞、および毛嚢細胞からなる群から選択される細胞型に分化することができる、請求項

1～4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項6】

前記氷核形成工程は、前記細胞懸濁液の温度を、前記低温活性化工程の終わりにおける温度から、約-10～約-12の温度に下げることによって実施される、請求項1～5のいずれか1項に記載の方法。

【請求項7】

前記温度は、約-10.9である、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

前記温度は、約-15/分～約-55/分の速度で急速に下げられる、請求項6または7に記載の方法。

【請求項9】

前記温度は、約-35/分～約-38/分の速度で下げられる、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

前記氷核形成工程は、前記細胞懸濁液の温度を、約-11～約-13の温度に下げることを含む、請求項1～9のいずれか1項に記載の方法。

【請求項11】

前記細胞懸濁液の温度は、約-12.1の温度に下げられる、請求項10に記載の方法。

【請求項12】

前記細胞懸濁液の温度は、約-5/分～約-15/分の速度で下げられる、請求項10または11に記載の方法。

【請求項13】

前記細胞懸濁液は、約-9/分の速度で下げられる、請求項10～12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項14】

前記氷核形成工程の終わりにおける、前記細胞懸濁液の温度は、約-12.1である、請求項10～13のいずれか1項に記載の方法。

【請求項15】

前記細胞懸濁液は、前記細胞における適切なシード又は適切な複数のシードの形成を可能にするため、氷核形成が実施される温度に一定期間維持される、請求項1～14のいずれか1項に記載の方法。

【請求項16】

前記期間は約5分である、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

前記細胞懸濁液は、前記氷核形成工程の前に低温活性化工程に付される、請求項1～16のいずれか1項に記載の方法。

【請求項18】

前記低温活性化工程は、前記細胞懸濁液を、約-4～約-12の温度に冷却することを含む、請求項17に記載の方法。

【請求項19】

前記低温活性化工程は、前記細胞懸濁液を約-8に冷却することを含む、請求項17または18に記載の方法。

【請求項20】

前記低温活性化工程は、約-1/分の速度で前記細胞懸濁液を冷却することを含む、請求項17～19のいずれか1項に記載の方法。

【請求項21】

前記細胞懸濁液は、前記低温活性化工程後および/または前記氷核形成工程前に、浸漬工程に付せられる、請求項1～20のいずれか1項に記載の方法。

【請求項22】

前記浸漬工程は、前記細胞懸濁液を、前記低温活性化工程により達成された最終温度に約 5 ～ 約 10 分間、維持することを含む、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

前記氷核形成工程後、前記細胞懸濁液の温度は、前記核形成点から凝固点に下げられる、請求項 1 ～ 22 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 24】

前記氷核形成工程後に脱水工程を含み、それによって前記細胞懸濁液の温度が約 - 35 ～ 約 - 38 の温度に下げられる、請求項 1 ～ 23 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 25】

前記細胞懸濁液の温度は、約 - 0.8 / 分の速度で下げられる、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記氷核形成工程または脱水工程の後で、前記細胞懸濁液の温度は、約 - 180 の温度に急速に下げられる、請求項 1 ～ 25 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 27】

前記細胞懸濁液は、外因性の生物学的低温防護剤を含まない、請求項 1 ～ 26 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 28】

前記外因性の生物学的低温防護剤は、血清である、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

細胞パラメーターは、解凍後、実質的に変化せず、前記細胞パラメーターは、生存能力および / または適切な刺激を受けて分化する能力を含む、請求項 1 ～ 28 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 30】

解凍したとき、前記細胞懸濁液中の前記細胞集団は、最高 90 % の生存率を有する、請求項 1 ～ 29 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 31】

解凍したとき、前記細胞は、多分化能を保持しおよび / または未分化の表現型を保持する、請求項 1 ～ 30 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 32】

解凍したとき、前記細胞は、非胞性増殖を示す、請求項 1 ～ 31 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 33】

解凍後前記細胞は、Oct-4、TRA1-60、TRA1-81、SSEA-3 および SSEA-4 からなる群より選択されるマーカーを保持する、請求項 1 ～ 32 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 34】

解凍したとき、前記細胞は、ごくわずかなマーカー SSEA-1 の保持を示す、請求項 1 ～ 33 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 35】

解凍したとき、前記細胞は、*in vivo* または *in vitro* で、内胚葉細胞、中胚葉細胞または外胚葉細胞に分化することができる、請求項 1 ～ 34 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 36】

少なくとも 2 ヶ月間、凍結保存された細胞が、多分化能を保持する、請求項 1 ～ 35 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 37】

解凍したとき、前記細胞は、正常な核型を示す、請求項 1 ～ 36 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 38】

解凍したとき、前記細胞は、正常な増殖速度を示す、請求項 1 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 9】

請求項 1 ~ 3 8 のいずれか 1 項による方法で凍結された細胞。

【請求項 4 0】

解凍された細胞であって、請求項 1 ~ 3 9 のいずれか 1 項による方法で予め凍結されていた解凍細胞。

【請求項 4 1】

請求項 4 0 に記載の解凍細胞に由来する細胞。

【請求項 4 2】

前記細胞は、前駆細胞、肝細胞、腎細胞、真皮細胞、心血管細胞、神経細胞、骨細胞、脾細胞および生殖細胞からなる群より選択される、請求項 4 1 に記載の細胞。

【請求項 4 3】

*in vitro*で、器官または組織を成長又は増殖させる方法であって、請求項 3 9 に記載の凍結細胞または請求項 4 0 に記載の解凍細胞を使用することを含む方法。

【請求項 4 4】

薬学的に許容し得る担体と組み合わせて、請求項 3 9 に記載の凍結細胞または請求項 4 0 に記載の解凍細胞を含む、医薬組成物。

【請求項 4 5】

幹細胞移植を必要とする病気の治療または予防の薬剤の調製における、請求項 3 9 に記載の凍結細胞または請求項 4 0 に記載の解凍細胞の使用。

【請求項 4 6】

幹細胞移植の必要性は、神経変性障害、心臓疾患または糖尿病に起因する、請求項 4 5 に記載の使用。