

【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 3 部門第 2 区分

【発行日】平成30年9月6日 (2018.9.6)

【公開番号】特開2018-115207(P2018-115207A)

【公開日】平成30年7月26日 (2018.7.26)

【年通号数】公開・登録公報2018-028

【出願番号】特願2018-73676(P2018-73676)

【国際特許分類】

A 6 1 K 31/7105 (2006.01)

A 6 1 K 31/713 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 9/10 (2006.01)

A 6 1 K 9/127 (2006.01)

A 6 1 K 47/44 (2017.01)

A 6 1 K 47/10 (2006.01)

A 6 1 K 35/12 (2015.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 13/08 (2006.01)

A 6 1 P 1/04 (2006.01)

A 6 1 P 15/00 (2006.01)

A 6 1 P 11/00 (2006.01)

A 6 1 P 17/00 (2006.01)

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

A 6 1 P 1/18 (2006.01)

A 6 1 P 1/16 (2006.01)

A 6 1 P 13/10 (2006.01)

A 6 1 P 19/00 (2006.01)

A 6 1 P 21/00 (2006.01)

A 6 1 P 13/12 (2006.01)

A 6 1 P 9/00 (2006.01)

A 6 1 P 27/02 (2006.01)

A 6 1 P 1/02 (2006.01)

A 6 1 P 11/02 (2006.01)

A 6 1 P 5/14 (2006.01)

A 6 1 P 25/16 (2006.01)

A 6 1 P 25/28 (2006.01)

A 6 1 P 31/00 (2006.01)

A 6 1 P 21/04 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 9/22 (2006.01)

C 1 2 N 15/55 (2006.01)

【 F I 】

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 K 31/713

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 9/10

A 6 1 K 9/127

A 6 1 K 47/44

A 6 1 K	47/10	
A 6 1 K	35/12	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	13/08	
A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	15/00	
A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	1/18	
A 6 1 P	1/16	
A 6 1 P	13/10	
A 6 1 P	19/00	
A 6 1 P	21/00	
A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	27/02	
A 6 1 P	1/02	
A 6 1 P	11/02	
A 6 1 P	5/14	
A 6 1 P	25/16	
A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	31/00	
A 6 1 P	21/04	
C 1 2 N	15/09	Z N A Z
C 1 2 N	9/22	
C 1 2 N	15/55	

## 【手続補正書】

【提出日】平成30年7月5日(2018.7.5)

## 【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】

分化された細胞をより分化されていない状態にリプログラムするための生体外の方法であって、

(a) 分化された細胞を、前記細胞のより分化されていない状態へのリプログラミングを支持する成分を含む培地により培養することと、

(b) 前記分化された細胞に 1 つ以上の合成 RNA 分子を遺伝子導入することであって、前記 1 つ以上の合成 RNA 分子は、1 つ以上のリプログラミング因子をコードする少なくとも 1 つの RNA 分子を含み、前記遺伝子導入により、前記細胞が前記 1 つ以上のリプログラミング因子を発現することと、

(c) 連続 5 日間に少なくとも 2 回 (b) の工程を繰り返すことであって、より後の 1 回以上の遺伝子導入において遺伝子導入された 1 つ以上の合成 RNA 分子の量は、より前の 1 回以上の遺伝子導入において遺伝子導入された量よりも大きく、結果として前記細胞はより分化されていない状態へとリプログラムされることと、を含む、

方法。

**【請求項 2】**

分化された細胞をより分化されていない状態にリプログラムするための生体外の方法であって、

( a ) 分化された細胞を提供することと、

( b ) 前記分化された細胞を培養することと、

( c ) 前記分化された細胞に 1 つ以上の合成 R N A 分子を遺伝子導入することであって、前記 1 つ以上の合成 R N A 分子は、1 つ以上のリプログラミング因子をコードする少なくとも 1 つの R N A 分子を含み、前記遺伝子導入により、前記細胞が前記 1 つ以上のリプログラミング因子を発現することと、

( d ) 連続 5 日間に少なくとも 2 回 ( c ) の工程を繰り返すことであって、より後の 1 回以上の遺伝子導入において遺伝子導入された 1 つ以上の合成 R N A 分子の量は、より前の 1 回以上の遺伝子導入において遺伝子導入された量よりも大きく、結果として前記細胞はより分化されていない状態へとリプログラムされることと、を含み、

( c ) の工程及び ( d ) の工程は、前記分化された細胞のより分化されていない状態へのリプログラミングを支持する成分を含む培地の存在下で行われる、

方法。

**【請求項 3】**

前記 1 つ以上のリプログラミング因子が、O c t 4 タンパク質、S o x 2 タンパク質、K l f 4 タンパク質、c - M y c タンパク質、及び L i n 2 8 タンパク質から成る群から選択される、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

**【請求項 4】**

分化された細胞をより分化されていない状態にリプログラムするための生体外の方法であって、

( a ) 分化された細胞を提供することと、

( b ) 前記分化された細胞を培養することと、

( c ) 前記分化された細胞に合成 R N A 分子を遺伝子導入することであって、前記合成 R N A 分子は、O c t 4 タンパク質、S o x 2 タンパク質、K l f 4 タンパク質、c - M y c タンパク質、及び L i n 2 8 タンパク質から成る群から選択される 1 つ以上のリプログラミング因子をコードし、前記遺伝子導入により、前記細胞が前記 1 つ以上のリプログラミング因子を発現し、それにより前記細胞をより分化されていない状態にリプログラムし、( c ) の工程は、前記細胞のより分化されていない状態へのリプログラミングを支持する成分を含む培地の存在下で行われることと、を含む、

方法。

**【請求項 5】**

分化された細胞をより分化されていない状態にリプログラムするための生体外の方法であって、

( a ) 分化された細胞を提供することと、

( b ) 分化された細胞を、前記細胞のより分化されていない状態へのリプログラミングを支持する成分を含む培地において培養することと、

( c ) 前記分化された細胞に合成 R N A 分子を遺伝子導入することであって、前記合成 R N A 分子は、O c t 4 タンパク質、S o x 2 タンパク質、K l f 4 タンパク質、c - M y c タンパク質、及び L i n 2 8 タンパク質から成る群から選択される 1 つ以上のリプログラミング因子をコードし、前記遺伝子導入により、前記細胞が前記 1 つ以上のリプログラミング因子を発現し、それにより前記細胞をより分化されていない状態にリプログラムすることと、を含む、

方法。

**【請求項 6】**

前記分化された細胞が皮膚細胞である、請求項 1 から 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 7】**

前記皮膚細胞が線維芽細胞である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記分化された細胞が人間の被験者から採取される、請求項 1 から 7 のいずれかに記載の方法。

【請求項 9】

前記分化された細胞が生検試料に由来する、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記生検試料が皮膚パンチ生検である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記細胞が、細胞接着分子とさらに接触させられる、請求項 1 から 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

前記細胞接着分子が、フィブロネクチン及びビトロネクチンの 1 つ以上から選択される、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記細胞接着分子が組換え体である、請求項 11 又は 12 に記載の方法。

【請求項 14】

リプログラミングを支持する材料を含む前記培地が、免疫抑制剤を実質的に含まない、請求項 1 から 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 15】

前記細胞を造血細胞に分化することをさらに含む、請求項 1 から 14 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 16】

前記造血細胞が白血球細胞である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

リプログラミングを支持する成分を含む前記培地が、DNA を含まない、フィーダーを含まない、免疫抑制剤を含まない、及び条件付けを含まない、培地のうちの 1 つ以上である、請求項 1 から 16 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 18】

前記合成 RNA 分子が、少なくとも 1 つの非標準ヌクレオチドを含む、請求項 1 から 17 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 19】

前記非標準ヌクレオチドが、5 - カルボキシシチジン、5 - ホルミルシチジン、5 - ヒドロキシメチルシチジン、5 - メチルシチジン、5 - メチルプソイドウリジン、5 - メチルウリジン、7 - デアザグアノシン、又はプソイドウリジンの群から選択される少なくとも一つのメンバーを含む、請求項 18 に記載の方法。