

【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25年4月18日 (2013.4.18)

【公表番号】特表2011-519580(P2011-519580A)

【公表日】平成23年7月14日 (2011.7.14)

【年通号数】公開・登録公報2011-028

【出願番号】特願2011-509585(P2011-509585)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/0735 (2010.01)

A 6 1 L 27/00 (2006.01)

A 6 1 P 1/16 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 11/00 (2006.01)

A 6 1 P 13/12 (2006.01)

A 6 1 P 1/18 (2006.01)

A 6 1 P 17/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/12 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/00 2 0 2 C

A 6 1 L 27/00 Z

A 6 1 P 1/16

A 6 1 P 43/00 1 0 1

A 6 1 P 11/00

A 6 1 P 13/12

A 6 1 P 1/18

A 6 1 P 17/00

A 6 1 K 35/12

【手続補正書】

【提出日】平成24年3月29日 (2012.3.29)

【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】

ヒト皮膚線維芽細胞培養物中の多分化能幹細胞を増殖させる方法であって、ここで該方法は、以下の工程：

- a) 羊水増殖培地 (A F M) を含む培地中で、ヒト皮膚線維芽細胞サンプルの細胞を増殖させる工程；および、
- b) 該培地中で少なくとも 3 回継代させることによって該細胞を増殖させる工程、を含む、上記方法。

【請求項 2】

前記培養物中の幹細胞の数を決定する工程をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

各継代を行った後に培養物中の幹細胞の数を決定する、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

培養物中の C D 1 1 7⁺ 幹細胞の数を決定することにより、前記培養物中の幹細胞の数

を決定する、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 5】

前記細胞が、培養物中で少なくとも 4、5、6、7 または 8 回の継代を受ける、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

所望の数の幹細胞が得られるまで A F M 中で継代を続けることによりヒト皮膚線維芽細胞培養物を維持する工程をさらに含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 7】

幹細胞の数が少なくとも約 85% に達する、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記増殖させた幹細胞が、さらに 3 種の胚葉のいずれかの細胞に分化する能力を持つ、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記増殖させた幹細胞が、適切な条件下で、脂肪、肝臓、筋肉、または神経細胞に分化できる、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

工程 (b) の後で細胞が凍結保存される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記増殖培地がさらに E S - F B S (ES 細胞用ウシ胎児血清) を含有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

請求項 1 に記載の方法で得られた、単離された多分化能幹細胞、または単離された多分化能幹細胞のコレクション若しくは培養物。

【請求項 13】

前記多分化能幹細胞が C D 1 1 7 + 多分化能幹細胞である、請求項 12 に記載の細胞、または細胞のコレクション若しくは培養物。

【請求項 14】

多分化能性細胞を分化させる方法であって、ここで該方法は：

a) 請求項 1 に記載の方法によって生産される 1 以上の幹細胞を得て、

b) 該 1 以上の幹細胞を、適切な条件下で、3 種の胚葉のいずれかの細胞に分化させる工程を含む、上記方法。

【請求項 15】

前記 1 以上の幹細胞が脂肪、肝臓、筋肉、または神経細胞に分化する、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記幹細胞が C D 1 1 7 + 多分化能幹細胞である、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 17】

請求項 14 に記載の方法で得られた、単離された分化した細胞、または単離された分化した細胞のコレクション若しくは培養物。

【請求項 18】

前記細胞が脂肪、肝臓、筋肉、または神経細胞である、請求項 17 に記載の細胞、または細胞のコレクション若しくは培養物。

【請求項 19】

請求項 1 または請求項 14 に記載の方法で得られた細胞を含む移植片。

【請求項 20】

肝臓、腎臓、膵臓、心臓、皮膚、肺、骨、骨格のマトリックス、腸、または内分泌腺の移植片である、請求項 19 に記載の移植片。

【請求項 21】

研究を行うための方法であって、ここで該方法は：

a) 請求項 1 に記載の方法によって生産される 1 以上の幹細胞を得て；

b) 該 1 以上の幹細胞を研究プロトコールに供する工程を含む、上記方法。

【請求項 2 2】

前記研究プロトコールが、幹細胞の分化の過程の検討、分化した幹細胞の分子的キャラクタリゼーション、分化する間の分子の変遷の検討、インビトロの遺伝子経路の評価であって、例えば細胞分化の間中のそれらの影響を含む評価、多分化能幹細胞の増殖を促進する培地／因子の検討、繊維芽細胞サンプルの幹細胞の多能性の程度の検討、および移植片または移植体における分化した幹細胞の挙動の検討である、請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 3】

1 以上の潜在的な治療上の遺伝子標的をスクリーニングする方法であって、ここで該方法は、以下の工程：

a) 請求項 1 に記載の方法によって生産される 1 以上の幹細胞を得る工程；

b) 該 1 以上の幹細胞を、適切な条件下で、3 種の胚葉のいずれかの細胞に分化させる工程；

c) 細胞が分化する前または分化の最中の様々な段階で、前記細胞の 1 以上の遺伝子発現プロファイルを決定する工程；

d) 前記様々な段階での遺伝子発現の差異を同定する工程；

e) 前記差異を用いて、1 以上の潜在的な治療上の遺伝子標的を同定する工程を含む、上記方法。

【請求項 2 4】

前記工程（e）で使用される差異が、未分化の細胞と比較して少なくとも 2 倍である、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記幹細胞が脂肪、肝臓、筋肉、または神経細胞に分化する、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 6】

潜在的な治療上の遺伝子標的が表 3 または表 4 から選択される、請求項 2 3 に記載の方法。