

【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28年5月19日(2016.5.19)

【公開番号】特開2015-165810(P2015-165810A)

【公開日】平成27年9月24日(2015.9.24)

【年通号数】公開・登録公報2015-059

【出願番号】特願2015-94203(P2015-94203)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/00 1 0 2

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 15/00 Z N A

【手続補正書】

【提出日】平成28年3月29日(2016.3.29)

【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】

以下の工程を含む、靈長類の体細胞を再プログラム化する方法：

細胞を再プログラム化するために十分な条件下で、複数の潜在能力決定因子を靈長類の体細胞に暴露する工程であって、ここで前記複数の潜在能力決定因子がOct-4及びSox2と、Nanog及びLin28の少なくとも1つとを含み、前記靈長類体細胞が出生後の個体から得られたものである、前記工程；及び

暴露された細胞を培養して、靈長類の体細胞よりも高い潜在能力を有する再プログラム化細胞入手する工程であって、前記再プログラム化細胞が、前記出生後個体と遺伝的に実質同一である工程。

【請求項2】

靈長類体細胞が幹細胞のin vitro分化によって得られる、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

暴露工程が、1つ以上の潜在能力決定因子をコードするベクターを靈長類体細胞に導入する工程を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

ベクターがウイルス系ベクターである、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

ウイルス系ベクターがレトロウイルスベクターである、請求項4に記載の方法。

【請求項6】

レトロウイルスベクターがレンチウイルスベクターである、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

潜在能力決定因子が再プログラミング配列として体細胞に導入され、前記再プログラミング配列では、潜在能力決定因子をコードする核酸配列が異種プロモータに機能的に連結されてある、請求項1に記載の方法。

【請求項8】

再プログラム化細胞が多能性である、請求項1に記載の方法。

【請求項 9】

再プログラム化細胞が、(i) Oct-4、SSEA3、SSEA4、Tra-1-60及びTra-1-81から成る群から選択される細胞マーカーを発現し；(ii) 多能性細胞に特徴的な形態を示し；さらに(iii) 免疫不全動物に導入したときテラトーマを形成する、請求項1に記載の方法。

【請求項 10】

以下の工程を含む方法にしたがって作製される、靈長類の多能性細胞の濃縮集団：

潜在能力決定因子を発現させるために十分な条件下で、複数の潜在能力決定因子を、出生後の個体から得られた靈長類の体細胞に導入し、それによって体細胞が正倍数性の靈長類多能性細胞を生じるように再プログラム化する工程であって、ここで

前記複数の潜在能力決定因子がOct-4及びSox2と、Nanog及びLin28の少なくとも1つとを含み、

前記正倍数性の靈長類多能性細胞が、前記出生後個体と遺伝的に実質同一である、前記工程。

【請求項 11】

靈長類多能性細胞が、(i) Oct-4、SSEA3、SSEA4、Tra-1-60及びTra-1-81から成る群から選択される細胞表面マーカーを発現し；(ii) 多能性細胞に特徴的な形態を示し；さらに(iii) 免疫不全動物に導入したときテラトーマを形成する、請求項10に記載の細胞濃縮集団。

【請求項 12】

靈長類多能性細胞が集団の少なくとも60%を占める、請求項10に記載の細胞濃縮集団。

【請求項 13】

靈長類多能性細胞が集団の少なくとも80%を占める、請求項10に記載の細胞濃縮集団。

【請求項 14】

靈長類多能性細胞が集団の少なくとも95%を占める、請求項10に記載の細胞濃縮集団。

【請求項 15】

以前に存在していた出生後靈長類個体の分化細胞のゲノムを有する正倍数性多能性細胞を含む細胞培養物であって、該正倍数性多能性細胞が、該正倍数性多能性細胞が誘導された該以前に存在していた出生後靈長類個体の分化細胞と遺伝的に実質同一である、細胞培養物。

【請求項 16】

靈長類がヒトである、請求項15に記載の細胞培養物。

【請求項 17】

細胞が、潜在能力決定因子をコードする複数の導入ポリヌクレオチドをゲノム内に含み、前記潜在能力決定因子がc-Myc及びKlf4を含まない、請求項15に記載の細胞培養物。

【請求項 18】

以下の工程を含む、靈長類の体細胞を再プログラム化する方法：

靈長類の体細胞を再プログラム化するために十分な条件下で、複数の潜在能力決定因子を靈長類の体細胞に暴露する工程であって、ここで前記複数の潜在能力決定因子がOct-4及びSox2を含むが、c-Myc及びKlf4を含まず、前記靈長類体細胞が出生後の個体から得られたものである、前記工程；及び

暴露された細胞を培養して、靈長類の体細胞よりも高い潜在能力を有する再プログラム化細胞入手する工程であって、前記再プログラム化細胞が、前記出生後個体と遺伝的に実質同一である工程。

【請求項 19】

以下の工程を含む、再プログラム化細胞を製造する方法：

靈長類の体細胞を再プログラム化するために十分な条件下で、複数の潜在能力決定因子を靈長類の体細胞に暴露する工程であって、ここで前記複数の潜在能力決定因子がOct-4及びSox2を含むが、c-Myc及びKlf4を含まず、前記靈長類体細胞が出生後の個体から得られたものである、前記工程；及び

暴露された細胞を培養して、靈長類の体細胞よりも高い潜在能力を有する再プログラム化細胞を入手する工程であって、前記再プログラム化細胞が、前記出生後個体と遺伝的に実質同一である工程。

**【請求項 20】**

靈長類体細胞が幹細胞の *in vitro* 分化によって得られる、請求項18又は19に記載の方法。

**【請求項 21】**

暴露工程が、1つ以上の潜在能力決定因子をコードするベクターを靈長類体細胞に導入する工程を含む、請求項18又は19に記載の方法。

**【請求項 22】**

ベクターがウイルス系ベクターである、請求項21に記載の方法。

**【請求項 23】**

ウイルス系ベクターがレトロウイルスベクターである、請求項22に記載の方法。

**【請求項 24】**

レトロウイルスベクターがレンチウイルスベクターである、請求項23に記載の方法。

**【請求項 25】**

潜在能力決定因子が再プログラミング配列として体細胞に導入され、前記再プログラミング配列では、潜在能力決定因子をコードする核酸配列が異種プロモータに機能的に連結されてある、請求項18又は19に記載の方法。

**【請求項 26】**

再プログラム化細胞が多能性である、請求項18又は19に記載の方法。

**【請求項 27】**

再プログラム化細胞が、(i) Oct-4、SSEA3、SSEA4、Tra-1-60 及び Tra-1-81 から成る群から選択される細胞マーカーを発現し；(ii) 多能性細胞に特徴的な形態を示し；さらに (iii) 免疫不全動物に導入したときテラトーマを形成する、請求項18又は19に記載の方法。

**【請求項 28】**

以下の工程を含む、間葉細胞を再プログラム化する方法：

間葉細胞を再プログラム化するために十分な条件下で、複数の潜在能力決定因子を間葉細胞に暴露する工程であって、ここで前記複数の潜在能力決定因子が Oct-4 及び Sox2 を含むが、c-Myc 及び Klf4 は含まれない工程、及び

暴露された細胞を培養して、再プログラム化細胞を入手する工程。

**【請求項 29】**

以下の工程を含む、再プログラム化細胞を製造する方法：

間葉細胞を再プログラム化するために十分な条件下で、複数の潜在能力決定因子を間葉細胞に暴露する工程であって、ここで前記複数の潜在能力決定因子が Oct-4 及び Sox2 を含むが、c-Myc 及び Klf4 は含まれない工程、及び

暴露された細胞を培養して、再プログラム化細胞を入手する工程。

**【請求項 30】**

以下の工程を含む、間葉細胞を再プログラム化する方法：

間葉細胞を再プログラム化するために十分な条件下で、複数の潜在能力決定因子を間葉細胞に暴露する工程であって、ここで前記複数の潜在能力決定因子が Oct-4、Sox2 及び Nanog を含む工程、及び

暴露された細胞を培養して、再プログラム化細胞を入手する工程。

**【請求項 31】**

以下の工程を含む、再プログラム化細胞を製造する方法：

間葉細胞を再プログラム化するために十分な条件下で、複数の潜在能力決定因子を間葉細胞に暴露する工程であって、ここで前記複数の潜在能力決定因子が Oct-4、Sox2 及び Nanog を含む工程、及び

暴露された細胞を培養して、再プログラム化細胞を入手する工程。

**【請求項 3 2】**

以下の工程を含む、間葉細胞を再プログラム化する方法：

間葉細胞を再プログラム化するために十分な条件下で、複数の潜在能力決定因子を間葉細胞に暴露する工程であって、ここで前記複数の潜在能力決定因子がOct-4、Sox2及びLin28を含む工程、及び

暴露された細胞を培養して、再プログラム化細胞を入手する工程。

**【請求項 3 3】**

以下の工程を含む、再プログラム化細胞を製造する方法：

間葉細胞を再プログラム化するために十分な条件下で、複数の潜在能力決定因子を間葉細胞に暴露する工程であって、ここで前記複数の潜在能力決定因子がOct-4、Sox2及びLin28を含む工程、及び

暴露された細胞を培養して、再プログラム化細胞を入手する工程。

**【請求項 3 4】**

以下の工程を含む、線維芽細胞を再プログラム化する方法：

線維芽細胞を再プログラム化するために十分な条件下で、複数の潜在能力決定因子を線維芽細胞に暴露する工程であって、ここで前記複数の潜在能力決定因子がOct-4及びSox2を含むが、c-Myc及びKlf4は含まない工程、及び

暴露された細胞を培養して、再プログラム化細胞を入手する工程。

**【請求項 3 5】**

以下の工程を含む、再プログラム化細胞を製造する方法：

線維芽細胞を再プログラム化するために十分な条件下で、複数の潜在能力決定因子を線維芽細胞に暴露する工程であって、ここで前記複数の潜在能力決定因子がOct-4及びSox2を含むが、c-Myc及びKlf4は含まない工程、及び

暴露された細胞を培養して、再プログラム化細胞を入手する工程。

**【請求項 3 6】**

以下の工程を含む、線維芽細胞を再プログラム化する方法：

線維芽細胞を再プログラム化するために十分な条件下で、複数の潜在能力決定因子を線維芽細胞に暴露する工程であって、ここで前記複数の潜在能力決定因子がOct-4、Sox2及びNanogを含む工程、及び

暴露された細胞を培養して、再プログラム化細胞を入手する工程。

**【請求項 3 7】**

以下の工程を含む、再プログラム化細胞を製造する方法：

線維芽細胞を再プログラム化するために十分な条件下で、複数の潜在能力決定因子を線維芽細胞に暴露する工程であって、ここで前記複数の潜在能力決定因子がOct-4、Sox2及びNanogを含む工程、及び

暴露された細胞を培養して、再プログラム化細胞を入手する工程。