

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2012년 10월 18일 (18.10.2012)



(10) 국제공개번호
WO 2012/141471 A3

- (51) 국제특허분류:
C12N 5/0735 (2010.01) *C12N 5/02* (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2012/002696
- (22) 국제출원일: 2012년 4월 10일 (10.04.2012)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2011-0033789 2011년 4월 12일 (12.04.2011) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): **차의과학대학교 산학협력단 (COLLEGE OF MEDICINE POCHON CHA UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION)** [KR/KR]; 경기도 포천시 해룡로 120, 차의과학대학교내 (동교동), 487-010 Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자: **김**
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): **황동연 (HWANG, Dong-Youn)** [KR/KR]; 경기도 광주시 오포읍 신현리 e-편한세상아파트 202-1402, 464-895 Gyeonggi-do (KR). **이강인 (LEE, Kang-In)** [KR/KR]; 서울특별시 성북구 정릉 2동 중앙하이츠빌아파트 103-302, 136-779 Seoul (KR).

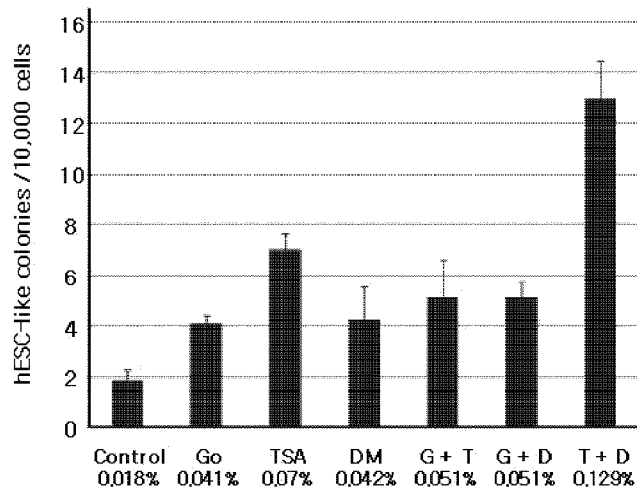
- (74) 대리인: **오국진 (OH, Kook-Jin)**; 서울특별시 서초구 서초동 1708-6 두연빌딩 302호, 137-884 Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[다음 쪽 계속]

(54) Title: METHOD FOR PREPARING INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS USING A DEDIFFERENTIATION ENHANCER

(54) 발명의 명칭 : 역분화-증진제를 이용한 역분화 만능 줄기세포의 제조방법

[Fig. 1]



(57) Abstract: The present invention relates to a method for preparing induced pluripotent stem cells (iPS cells), comprising: (a) culturing human-derived somatic cells, into which genes encoding differentiation-inducing factors are introduced, in a medium containing one or more dedifferentiation enhancers selected from a group consisting of a protein kinase C inhibitor, a histone deacetylase inhibitor, and a bone morphogenetic protein (BMP) pathway blocker; and (b) separating embryonic stem cell-like colonies from the culture obtained in step (a). The method of the present invention may enable the preparation of induced pluripotent stem cells with high efficiency, as well as the preparation of induced pluripotent stem cells under xenopathogen-free and feeder cell-free conditions.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]

WO 2012/141471 A3



공개:

(88) 국제조사보고서 공개일:

2012 년 12 월 6 일

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

본 발명은 (a) 역분화 유도 인자를 코딩하는 유전자가 도입된 인간-유래의 체세포를, 프로틴 키나아제 C 저해제, 히스톤 데아세틸라제 저해제, 및 골 형성 단백질 경로 차단제로 이루어진 군으로부터 1 종 이상 선택된 역분화-증진제를 포함하는 배지 중에서 배양하는 단계; 및 (b) 단계(a)로부터 얻어진 배양물로부터 배아줄기세포-유사 콜로니(embryonic stem cell-like colonies)를 분리하는 단계를 포함하는 역분화 만능 줄기세포(iPS cells)의 제조방법을 제공한다. 본 발명의 제조 방법은 높은 효율로 역분화 만능 줄기세포를 제조할 수 있으며, 또한 무-이종감염물질(xenopathogen-free) 및 무-지지세포(feeder cell-free) 조건하에서 역분화 만능 줄기세포를 제조할 수 있다.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2012/002696**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*****C12N 5/0735(2010.01)i, C12N 5/02(2006.01)i***

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N 5/0735; C12N 5/071

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: iPSC, HDAC, PKC, BMP, inhibitor

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ZHU et al., "Reprogramming of human primary somatic cells by Oct4 and chemical compounds"	1-4,6-9,11
A	Cell Stem Cell, Vol. 7, pages 651-655 (03 December 2010) See the entire document, especially page 651, figure 1, Supplementary Information	5
X	HUANGFU et al., "Induction of pluripotent stem cells by defined factors is greatly improved by small-molecule compounds"	1-4,6-9,11
A	Nature Biotechnology, Vol. 26, No.7, pages 795-797 (22 June 2008) See the entire document, especially figure 1	5
X	DUTTA et al., "Self-renewal versus lineage commitment of embryonic stem cells: protein kinase C signaling shifts the balance"	1-4,6-9,11
A	Stem Cells, Vol. 29, pages 618-628 (03 February 2011) See the entire document, especially abstract, pages 620, 626, figures 1-2, 6	5



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 SEPTEMBER 2012 (12.09.2012)

Date of mailing of the international search report

14 SEPTEMBER 2012 (14.09.2012)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2012/002696

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: **10**
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
Since claim 10 refers to its own claim, what is being claimed in the claims is unclear(PCT Article 6).

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2012/002696

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ZHOU et al., "High-efficiency induction of neural conversion in human ESCs and human induced pluripotent stem cells with a single chemical inhibitor of transforming growth factor beta superfamily receptors" Stem Cells, Vol. 28, pages 1741-1750 (23 August 2010) See the entire document	1-9,11
A	US 2010/0173414 A1 (TUROVETS et al.) 08 July 2010 See the entire document	1-9,11
A	HAO et al., "Dorsomorphin, a selective small molecule inhibitor of BMP signaling, promotes cardiomyogenesis in embryonic stem cells" PLoS one, Vol. 3, Issue 8, e2904, pages 1-8 (06 August 2008) See the entire document	1-9,11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2012/002696

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 2010-0173414 A1	08.07.2010	AU 2009-322398 A1	30.06.2011
		AU 2009-322398 A2	15.12.2011
		CA 2745742 A1	10.06.2010
		CN 102307990 A	04.01.2012
		EP 2367931 A1	28.09.2011
		IL 213260 D0	31.07.2011
		WO 2010-065679 A1	10.06.2010

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) C12N 5/0735(2010.01)i, C12N 5/02(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) C12N 5/0735; C12N 5/071 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: iPSC, HDAC, PKC, BMP, inhibitor		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	ZHU 외, 'Reprogramming of human primary somatic cells by Oct4 and chemical compounds' Cell Stem Cell, Vol.7, pp.651-655 (2010.12.03)	1-4,6-9,11
A	전체 문헌, 특히 p.651, figure 1, Supplementary Information 참조	5
X	HUANGFU 외, 'Induction of pluripotent stem cells by defined factors is greatly improved by small-molecule compounds' Nature Biotechnology, Vol.26, No.7, pp.795-797 (2008.06.22)	1-4,6-9,11
A	전체 문헌, 특히 figure 1 참조	5
X	DUTTA 외, 'Self-renewal versus lineage commitment of embryonic stem cells: protein kinase C signaling shifts the balance' Stem Cells, Vol.29, pp.618-628 (2011.02.03)	1-4,6-9,11
A	전체 문헌, 특히 요약, pp.620, 626, figures 1-2, 6 참조	5
☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신구성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2012년 09월 12일 (12.09.2012)		국제조사보고서 발송일 2012년 09월 14일 (14.09.2012)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소  대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 82-42-472-7140		심사관 김승범 전화번호 82-42-481-8746 

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☐ 청구항:
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
2. ☒ 청구항: 10
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
청구항 10은 자기 자신의 항을 인용하고 있어 청구하고자 하는 것이 명확하게 기재되어 있지 않습니다(PCT Article 6).
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- ☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- ☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- ☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

C (계속). 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	ZHOU 외, ‘High-efficiency induction of neural conversion in human ESCs and human induced pluripotent stem cells with a single chemical inhibitor of transforming growth factor beta superfamily receptors’ Stem Cells, Vol.28, pp.1741-1750 (2010.08.23) 전체 문헌 참조	1-9,11
A	US 2010/0173414 A1 (TUROVETS 외) 2010.07.08 전체 문헌 참조	1-9,11
A	HAO 외, ‘Dorsomorphin, a selective small molecule inhibitor of BMP signaling, promotes cardiomyogenesis in embryonic stem cells’ PLoS one, Vol. 3, Issue 8, e2904, pp.1-8 (2008.08.06) 전체 문헌 참조	1-9,11

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 2010-0173414 A1	2010.07.08	AU 2009-322398 A1	2011.06.30
		AU 2009-322398 A2	2011.12.15
		CA 2745742 A1	2010.06.10
		CN 102307990 A	2012.01.04
		EP 2367931 A1	2011.09.28
		IL 213260 D0	2011.07.31
		WO 2010-065679 A1	2010.06.10