

【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】令和 1 年 7 月 11 日 (2019.7.11)

【公開番号】特開 2018-148933 (P2018-148933A)

【公開日】平成 30 年 9 月 27 日 (2018.9.27)

【年通号数】公開・登録公報 2018-037

【出願番号】特願 2018-128583 (P2018-128583)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/0735 (2010.01)

C 1 2 N 5/071 (2010.01)

【F I】

C 1 2 N 5/0735

C 1 2 N 5/071

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 6 月 7 日 (2019.6.7)

【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】

懸濁液中の h E S - 由来の細胞集合体を含むバイオリアクタであって、
懸濁液中の h E S - 由来の細胞集合体が、以下の工程を含む方法により発生させたものである、バイオリアクタ。

(a) 未分化の接着性の霊長類多能性幹細胞培養物を提供すること；

(b) (a) の接着性の霊長類多能性幹細胞培養物を霊長類多能性幹単独細胞の懸濁液内に解離すること；

(c) 霊長類多能性幹細胞の未分化成長を支持する定義された培地中に霊長類多能性幹単独細胞懸濁液をシードし、それにより霊長類多能性幹単独細胞懸濁液培養物を形成すること；

(d) 霊長類多能性幹単独細胞懸濁液培養物を低せん断応力で攪拌し、該懸濁液中の h E S 単独細胞に実質的に均一な霊長類多能性幹細胞集合体を形成させること；

(e) 懸濁液中の霊長類多能性幹細胞集合体を分化培養条件に接触させ、懸濁液中の h E S 細胞集合体に、懸濁液中の霊長類多能性幹由来の細胞集合体を形成させる；

それにより、懸濁液中の霊長類多能性幹由来の細胞集合体を発生させること。

【請求項 2】

前記分化培養条件が、線維芽細胞増殖因子、表皮細胞増殖因子ファミリー、成長および分化因子 (G D F) ファミリーアンタゴニスト、レチノイン酸、アポトーシス阻害剤、T T N P B、R h o - キナーゼ阻害剤、T G F - ファミリー成長因子インヒビター、T G F - ファミリー成長因子、W N T 因子ファミリーのメンバーからなる群から選ばれる 1 つ以上の成分を含む、請求項 1 に記載のバイオリアクタ。

【請求項 3】

前記霊長類多能性幹細胞集合体が、

a) フィーダー、マトリックス、及び、接着成長培養のない環境で分化したものである、又は、

b) 約 6 0 r p m から 1 6 0 r p m で回転されたものである、

請求項 1 又は 2 に記載のバイオリアクタ。

【請求項 4】

前記霊長類多能性幹単独細胞懸濁液の撈拌が、回転培養からなる、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載のバイオリアクタ。

【請求項 5】

前記接着性の霊長類多能性幹細胞が、ヒト胚性幹細胞である、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載のバイオリアクタ。

【請求項 6】

前記バイオリアクタが、

a) スケールアップシステムである、又は、

b) サイズ、形もしくはその両者において実質的に均一である霊長類多能性幹由来の細胞集合体を含む、又は、

c) 前記霊長類多能性幹由来の細胞集合体が懸濁された流体栄養培地を含む容器を含む、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載のバイオリアクタ。

【請求項 7】

前記霊長類多能性幹由来の細胞集合体が生理的に許容可能な培地に懸濁された、請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載のバイオリアクタ。

【請求項 8】

前記培地が、インスリン、IGF-1、又はその両者を実施的に含まない、請求項 7 記載のバイオリアクタ。

【請求項 9】

前記霊長類多能性幹由来の細胞集合体が、

a) ブラキリ、SOX17、FOXA2、HNF1、PDX1、NKX6.1、NKX2.2、INS、GCG、SST、SOX7、及びPTF1Aからなる群から選ばれる 1 つ以上のマーカーを発現する、または、

b) 内胚葉、外胚葉、及び、中胚葉からなる群から選ばれる細胞である、又は、

c) 胚体内胚葉細胞集合体、前腸内胚葉細胞集合体、及びPDX1陽性内胚葉細胞集合体からなる群から選ばれる細胞集合体である、又は、

d) パッチフィードされる、

請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載のバイオリアクタ。

【請求項 10】

環境条件の少なくとも一つを調節する手段を含む、請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載のバイオリアクタ。