

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7357978号
(P7357978)

(45)発行日 令和5年10月10日(2023.10.10)

(24)登録日 令和5年9月29日(2023.9.29)

(51)国際特許分類

FI

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/09

Z

請求項の数 8 (全11頁)

(21)出願番号	特願2022-532143(P2022-532143)	(73)特許権者	510273880
(86)(22)出願日	令和2年11月27日(2020.11.27)		コリア ユニバーシティ リサーチ アンド
(65)公表番号	特表2023-505119(P2023-505119 A)		ビジネス ファウンデーション
(43)公表日	令和5年2月8日(2023.2.8)		KOREA UNIVERSITY RE
(86)国際出願番号	PCT/KR2020/017172		SEARCH AND BUSINESS
(87)国際公開番号	WO2021/107715		FOUNDATION
(87)国際公開日	令和3年6月3日(2021.6.3)		大韓民国、0 2 8 4 1 ソウル、ソンブ
審査請求日	令和4年5月30日(2022.5.30)	(74)代理人	クーグ、アナムーロ 1 4 5
(31)優先権主張番号	10-2019-0157361		110000338
(32)優先日	令和1年11月29日(2019.11.29)		弁理士法人 HARA KENZO WOR
(33)優先権主張国・地域又は機関	韓国(KR)		LD PATENT & TRADEMA
		(72)発明者	RK
			キム, ビョン ソ
			大韓民国、0 6 0 0 5 ソウル、カンナ
			ムーグ、アックジョンーロ 2 9ーギル
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 mTOR活性化剤を含む体細胞から誘導万能幹細胞への逆分化効率増進用組成物及びこれを用いた逆分化効率の増進方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

4, 6ージー4ーモルホリニルーNー(4ーニトロフェニル)ー1, 3, 5ートリアジンー2ーアミン及びヒト胎盤由来細胞の条件化培地(placenta-derived cell conditioned medium; PCCM)を含む、体細胞から誘導万能幹細胞(induced pluripotent stem cell; iPS)への逆分化効率増進用組成物。

【請求項2】

前記組成物は、OCT4、SOX2、c-Myc及びKLF4からなる群から選ばれる1種以上のタンパク質をコードする核酸配列をさらに含む、請求項1に記載の体細胞から誘導万能幹細胞への逆分化効率増進用組成物。

【請求項3】

前記体細胞は、ヒト臍帯静脈内皮細胞(Human Umbilical Vein Endothelial Cells; HUVEC)、ヒト線維芽細胞(Human Dermal Fibroblasts; HDF)及びヒト胎盤由来細胞(Human Placenta derived Cells; HPC)からなる群から選ばれる1種以上である、請求項1に記載の体細胞から誘導万能幹細胞への逆分化効率増進用組成物。

【請求項4】

前記組成物は、CXCR2の活性化剤をさらに含む、請求項1に記載の体細胞から誘導万能幹細胞への逆分化効率増進用組成物。

【請求項 5】

次の段階を含む、体細胞から誘導万能幹細胞 (induced Pluripotent Stem cell; iPS) への逆分化効率の増進方法：

体細胞に OCT 4、SOX 2、c-Myc 及び KLF 4 からなる群から選ばれる 1 種以上のタンパク質をコードする核酸配列を形質導入する体細胞形質変換段階；及び

前記形質変換された体細胞に 4, 6-ジ-4-ホルホルニル-N-(4-ニトロフェニル)-1, 3, 5-トリアジン-2-アミン 及びヒト胎盤由来細胞の条件化培地 (placenta-derived cell conditioned medium; PCCM) を処理して培養する培養段階。

【請求項 6】

前記体細胞は、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (Human Umbilical Vein Endothelial Cells; HUVEC)、ヒト線維芽細胞 (Human Dermal Fibroblasts; HDF) 及びヒト胎盤由来細胞 (Human Placenta derived Cells; HPC) からなる群から選ばれる 1 種以上である、請求項 5 に記載の体細胞から誘導万能幹細胞への逆分化効率の増進方法。

【請求項 7】

前記培養段階は、CXCR 2 の活性化剤の存在下で行われる、請求項 5 に記載の体細胞から誘導万能幹細胞への逆分化効率の増進方法。

【請求項 8】

前記逆分化誘導方法は、培養段階で形成されたコロニーから誘導万能幹細胞を分離する細胞分離段階をさらに含む、請求項 5 に記載の体細胞から誘導万能幹細胞への逆分化効率の増進方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

〔技術分野〕

本特許出願は、2019 年 11 月 29 日に大韓民国特許庁に提出された大韓民国特許出願第 10-2019-0157361 号に対して優先権を主張し、該特許出願の開示事項は本明細書に参照によって組み込まれる。

【0002】

本発明は、mTOR (mammalian target of rapamycin) 活性化剤を含む体細胞から誘導万能幹細胞への逆分化効率増進用組成物及びこれを用いた逆分化効率の増進方法に関し、さらに詳細には、体細胞に OCT 4、SOX 2、c-Myc 及び KLF 4 からなる逆分化因子を形質導入させた後、MHY 1485 (4, 6-ジ-4-ホルホルニル-N-(4-ニトロフェニル)-1, 3, 5-トリアジン-2-アミン) を処理することによって、誘導万能幹細胞への逆分化効率を増加させる方法に関する。

【0003】

〔背景技術〕

幹細胞治療剤は、生産のためには、その供給源となる幹細胞の大量体外培養が必須である。また、幹細胞治療剤は、安全かつ経済的であってこそ、臨床で細胞治療剤として使用できる。しかしながら、現在のヒト全能性幹細胞の増殖培養方法は、動物由来支持細胞を用いるか、又は動物由来産物を含んでいる特殊ゲルを塗布した容器で培養するため、異種蛋白の汚染による安全性に対する懸念が発生し得る。また、高価の特殊ゲルを用いる増殖培養方法は、経済的な面から見れば、大量生産に適していない。

【0004】

一方、mTOR は、容量、時間、抑制の有無又は活性化の有無などの様々な条件及び方法によって、体細胞から誘導万能幹細胞への逆分化に影響を及ぼすことが知られている。例えば、既存の通念は、逆分化因子を体細胞に導入させる前にオートファジーが増加すると、大規模な細胞内再配列が起き、その後、細胞呼吸が減少しながら節約した ATP を逆分化誘導に活用できるということである。

【0005】

しかしながら、逆分化が抑制又は活性化される条件は、未だ明確に定義されずにいる。

【0006】

〔発明の概要〕

〔発明が解決しようとする課題〕

本発明者らは、体細胞にOCT4、SOX2、c-Myc及びKLF4からなる逆分化因子を形質導入させた後にmTOR活性化剤を処理すると、誘導万能幹細胞(induced pluripotent stem cell; iPS)への逆分化(reprogramming)効率が顕著に上昇することを確認した。

【0007】

そこで、本発明の目的は、mTOR活性化剤を含む、体細胞から誘導万能幹細胞への逆分化効率増進用組成物を提供することである。

【0008】

本発明の他の目的は、体細胞にmTOR活性化剤を処理して培養する培養段階を含む、体細胞から誘導万能幹細胞への逆分化効率の増進方法を提供することである。

【0009】

本発明のさらに他の目的は、mTOR活性化剤の体細胞から誘導万能幹細胞への逆分化効率増進の用途に関することである。

【0010】

〔課題を解決するための手段〕

本発明は、mTOR活性化剤を含む、体細胞から誘導万能幹細胞(induced pluripotent stem cell; iPS)への逆分化(reprogramming)効率増進用組成物及びこれを用いた逆分化効率の増進方法に関する。

【0011】

本発明者らは、体細胞にOCT4、SOX2、c-Myc及びKLF4からなる逆分化因子を形質導入させた後、mTOR活性化剤である4, 6-ジ-4-モルホリニル-N-(4-ニトロフェニル)-1, 3, 5-トリアジン-2-アミンを処理すると、誘導万能幹細胞への逆分化効率が顕著に上昇することを確認した。

【0012】

以下、本発明をさらに詳細に説明する。

【0013】

本発明の一態様は、mTOR活性化剤を含む、体細胞から誘導万能幹細胞への逆分化効率増進用組成物である。

【0014】

本発明の一具現例において、前記mTOR活性化剤は、4, 6-ジ-4-モルホリニル-N-(4-ニトロフェニル)-1, 3, 5-トリアジン-2-アミン又はその誘導体であるが、これに限定されるものではない。

【0015】

mTOR活性化剤は、逆分化因子の導入後の逆分化機転においてmTORを活性化させる物質を意味する。mTOR活性化剤は、mTORを活性化させる機転によってCXCR2及びcMYCの発現を増加させ、オートファジーの活性を減少させる。前記機転により、mTOR活性化剤は逆分化効率を増進させる効果を呈する。したがって、mTOR活性化剤は、逆分化因子の導入後の逆分化機転においてmTORを活性化させ得る物質であれば、制限なく使用可能である。

【0016】

本発明の一具現例において、前記MHY1485の処理濃度は、0.1~10.0 µg/mL、0.2~10.0 µg/mL、0.5~10.0 µg/mL、0.8~10.0 µg/mL、0.1~5.0 µg/mL、0.2~5.0 µg/mL、0.5~5.0 µg/mL、0.8~5.0 µg/mL、0.1~5.0 µg/mL、0.2~5.0 µg/mL、0.5~5.0 µg/mL、0.8~5.0 µg/mL、0.8~3.0 µg/mL、0.1~3.0 µg/mL、0.2~3.0 µg/mL、0.5~3.0 µg/mL

10

20

30

40

50

L、又は0.8～3.0 ug/mL、例えば、1.0～3.0 ug/mLであるが、これに限定されるものではない。

【0017】

本発明の一具現例において、前記組成物は、OCT4、SOX2、c-Myc及びKLF4からなる群から選ばれる1種以上のタンパク質をコードする核酸配列をさらに含む。前記タンパク質は逆分化因子であって、体細胞に形質導入されて誘導万能幹細胞への逆分化を誘導する機能を果たすことができる。

【0018】

本発明の一具現例において、前記体細胞は、ヒト臍帯静脈内皮細胞(Human Umbilical Vein Endothelial Cells; HUVEC)、ヒト線維芽細胞(Human Dermal Fibroblasts; HDF)及びヒト胎盤由来細胞(Human Placenta derived Cells; HPC)からなる群から選ばれる1種以上である。

10

【0019】

本発明の一具現例において、前記胎盤由来細胞は、ヒト絨毛膜板から分離されて培養された胎盤由来線維様細胞である。

【0020】

本発明の一具現例において、前記組成物はCXCR2の活性化剤をさらに含み、前記活性化剤はリガンド(ligand)であり、前記CXCR2のリガンドは、GRO-α、GRO-β、GRO-γ、GCP-2、NAP-2、ENA-78及びIL-8からなる群から選ばれる1種以上であり、例えば、GRO-α又はIL-8であるが、これに限定されるものではない。

20

【0021】

本発明の一具現例において、前記組成物は、ヒト胎盤由来細胞の条件化培地(Placenta-derived Cells Conditioned Media; PCCM)をさらに含む。

【0022】

本明細書上における用語「ヒト胎盤由来細胞の条件化培地」とは、胎盤由来細胞をゼラチンコートしたウェルプレート上に接種し、細胞培養液を添加して前記胎盤由来細胞を培養した後、培養液だけを回収することによって製造された培地のことを意味する。ヒト胎盤由来支持細胞は、ヒト胚幹細胞の未分化状態を維持するために使用できるものと究明され、その効用が台頭している。

30

【0023】

具体的に、前記PCCM培地は、ヒト胎盤由来細胞を培養液の添加された細胞成長培地で培養する胎盤由来細胞の培養段階；及び、細胞成長培地から培養液を回収する培養液の回収段階を行うことによって提供されてよく、前記培養液は、DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)/F-12であってよく、血清代替剤をさらに含んでよい。PCCM培地にはCXCR2のリガンドが含まれている。

【0024】

本発明の他の態様は、次の段階を含む、体細胞から誘導万能幹細胞への逆分化効率の増進方法である：

40

体細胞にOCT4、SOX2、c-Myc及びKLF4からなる群から選ばれる1種以上のタンパク質をコードする核酸配列を形質導入する体細胞の形質変換段階；及び

前記形質変換された体細胞にmTOR活性化剤を処理して培養する培養段階。

【0025】

本発明の一具現例において、前記mTOR活性化剤は、4,6-ジ-4-モルホリニル-N-(4-ニトロフェニル)-1,3,5-トリアジン-2-アミン又はその誘導体であるが、これに限定されるものではない。

【0026】

本発明の一具現例において、前記培養段階は、前記形質変換段階の後に行われる。

50

【0027】

本発明の一具現例において、前記MHY1485の処理濃度は、0.1~10.0ug/mL、0.2~10.0ug/mL、0.5~10.0ug/mL、0.8~10.0ug/mL、0.1~5.0ug/mL、0.2~5.0ug/mL、0.5~5.0ug/mL、0.8~5.0ug/mL、0.1~5.0ug/mL、0.2~5.0ug/mL、0.5~5.0ug/mL、0.8~5.0ug/mL、0.8~3.0ug/mL、0.1~3.0ug/mL、0.2~3.0ug/mL、0.5~3.0ug/mL、又は0.8~3.0ug/mL、例えば、1.0~3.0ug/mLであるが、これに限定されるものではない。

【0028】

本発明の一具現例において、前記体細胞は、ヒト臍帯静脈内皮細胞、ヒト線維芽細胞及びヒト胎盤由来細胞からなる群から選ばれる1種以上である。

【0029】

本発明の一具現例において、前記胎盤由来細胞は、ヒト絨毛膜板から分離されて培養された胎盤由来線維様細胞である。

【0030】

本発明の一具現例において、前記培養段階は、CXCR2の活性化剤の存在下で行われ、前記活性化剤はリガンド (ligand) であり、前記CXCR2のリガンドは、GRO- α 、GRO- β 、GRO- γ 、GCP-2、NAP-2、ENA-78及びIL-8からなる群から選ばれる1種以上であり、例えば、GRO- α 又はIL-8であるが、これに限定されるものではない。

【0031】

本発明の一具現例において、前記培養段階は、ヒト胎盤由来細胞の条件化培地で行われる。

【0032】

本発明の一具現例において、前記逆分化誘導方法は、体細胞の培養段階で形成されたコロニーから幹細胞を分離する幹細胞の分離段階をさらに含む。

【0033】

本発明の実施例によれば、体細胞に逆分化因子を形質導入させた後にmTOR活性化剤 (MHY1485) を処理すると、体細胞から誘導万能幹細胞への逆分化効率が増加する効果がある。特に、mTOR活性化剤は、PCCM培地を共に使用する場合に、最も優れた逆分化効率の増進効果を呈した。

【0034】

〔発明の効果〕

本発明は、mTOR活性化剤を含む、体細胞から誘導万能幹細胞への逆分化 (reprogramming) 効率増進用組成物及びこれを用いた逆分化効率の増進方法に関する。前記方法は、体細胞にOCT4、SOX2、c-Myc及びKLF4からなる逆分化因子を形質導入させた後にmTOR活性化剤を処理することによって、誘導万能幹細胞への逆分化効率を顕著に上昇させる効果がある。したがって、前記組成物及び方法は、効率よく体細胞から誘導万能幹細胞への逆分化の誘導に用いることができる。

【0035】

〔図面の簡単な説明〕

〔図1A〕体細胞に逆分化 (reprogramming) 因子を形質導入させ、4,6-ジ-4-ホルニル-N-(4-ニトロフェニル)-1,3,5-トリアジン-2-アミンを処理しながら培養する過程を示す模式図である。

【0036】

〔図1B〕MHY1485の処理有無によるヒト臍帯静脈内皮細胞 (Primary Umbilical Vein Endothelial Cells, HUVEC)、ヒト線維芽細胞 (Primary Dermal Fibroblasts, HDF) 及びヒト胎盤由来細胞 (Human Placenta derived Cells, HPC)

10

20

30

40

50

におけるタンパク質の発現量を示すウェスタンブロットの分析結果である。

【0037】

〔図1C〕HUV EC、HDF及びHPC細胞に対してMHY1485を処理した場合、オートファジーの抑制されたか否かを確認した免疫蛍光法（Immunofluorescence Assay）の分析結果を示す写真である。

【0038】

〔図2A〕HUV EC細胞に対して、MHY1485の処理有無及びヒト胎盤由来細胞の条件化培地（Placenta-derived Cells Conditioned Media；PCCM）の使用有無による逆分化（reprogramming）効率の差を比較した写真である。

10

【0039】

〔図2B〕HDF細胞に対してMHY1485の処理有無及びヒト胎盤由来細胞の条件化培地（Placenta-derived Cells Conditioned Media；PCCM）の使用有無による逆分化（reprogramming）効率の差を比較した写真である。

【0040】

〔図2C〕HPC細胞に対してMHY1485の処理有無及びヒト胎盤由来細胞の条件化培地（Placenta-derived Cells Conditioned Media；PCCM）の使用有無による逆分化（reprogramming）効率の差を比較した写真である。

20

【0041】

〔図3〕HUV EC、HDF及びHPC細胞に対して、MHY1485の処理有無及びPCCM培地の使用有無による逆分化効率の差を比較したフラフである。

【0042】

〔図4〕HUV EC、HDF及びHPC細胞に対して、MHY1485を処理した場合とPCCM培地を使用した場合における逆分化効率の差を相互比較したグラフである。

【0043】

〔発明を実施するための形態〕

以下、本発明を下記の実施例を用いてより詳細に説明する。ただし、これらの実施例は、本発明を例示するためのもので、本発明の範囲を限定するためのものではない。

30

【0044】

本明細書全般において、特定物質の濃度を示すために使用される「%」は、特記しない限り、固体／固体は（重量／重量）%、固体／液体は（重量／体積）%、そして液体／液体は（体積／体積）%である。

【0045】

＜実施例1：MHY1485による逆分化効率増進の有無の確認＞

mTOR（mammalian target of rapamycin）活性化剤である4，6-ジ-4-モルホリニル-N-（4-ニトロフェニル）-1，3，5-トリアジン-2-アミン（MHY1485、CAS Number 326914-06-1）が逆分化（reprogramming）効率に影響を及ぼすか否かを確認するため、図1Aのように、ヒト臍帯静脈内皮細胞（Primary Umbilical Vein Endothelial Cells，HUV EC、ATCC#PCS-100-010）、ヒト線維芽細胞（Primary Dermal Fibroblasts，HDF、ATCC#PCS-201-012）及びヒト胎盤由来細胞（Human Placenta derived Cells，HPC）にセンダイウイルス（Sendai virus；SeV）システムを用いて逆分化因子（OCT4、SOX2、c-Myc、KLF4；OSKM）を形質導入した。

40

【0046】

その24時間後に、ヒト胎盤由来細胞の条件化培地（Placenta-derived Cells Conditioned Media；PCCM）又は成長培地（Gro

50

w t h M e d i u m ; G M) で、M H Y 1 4 8 5 2 u g / m L を 2 4 時 間 毎 に 1 回 ず つ 3 週 間 処 理 し て 1 週 間 培 養 し た 後、マトリゲル (M a t r i g e l) コートの培養ディッシュ上に、M H Y 1 4 8 5 と 共 に m T e S R 培 地 を 用 い て 一 般 の 万 能 幹 細 胞 培 養 条 件 で 2 週 間 逆 分 化 を 誘 導 し た。

【 0 0 4 7 】

その後、ウェスタンブロットにて C X C R 2、m T O R 及 び c M Y C の 発 現 を 確 認 し、幹細胞の標識マーカーに特異的な T r a - 6 0 にて染色し、オートファジー (a u t o p h a g i c f l u x) の 活 性 を 確 認 し た。

【 0 0 4 8 】

図 1 B から、M H Y 1 4 8 5 を 処 理 し た と き、体細胞で C X C R 2、m T O R、c M Y C の 発 現 が 増 加 し た 反 面、L C 3 a / b の 発 現 は 減 少 し、p 6 2 の 発 現 が 増 加 し た こ と か ら、オートファジーが非活性化されたことが確認できた。

【 0 0 4 9 】

図 1 C から確認できるように、免疫蛍光法 (I m m u n o f l u o r e s c e n c e A s s a y) を 行 い、m T O R 抑 制 剤 で あ る ラ マ パ イ シ ン (R a p a m y c i n) を 対 照 群 として M H Y 1 4 8 5 を 処 理 し た と き、体細胞において L C 3 a / b の 発 現 が 減 少 し た こ と か ら、オートファジーが抑制されたことを検証した。

【 0 0 5 0 】

< 実施例 2 : 逆分化効率の増進効果における M H Y 1 4 8 5 と C X C R 2 刺 激 の 相 関 関 係 の 確 認 >

図 2 A ~ 図 2 C から確認できるように、M H Y 1 4 8 5 を 処 理 し た 場 合 に、処 理 し な か っ た 場 合 に 比 べ て 全 て の 細 胞 に お け る 逆 分 化 効 率 が 増 加 し た。また、逆分化効率は、G M に 比 べ て P C C M に お い て よ り 優 勢 で あ っ た。

【 0 0 5 1 】

したがって、M H Y 1 4 8 5 の 処 理 に よ り オ ー ト フ ァ ジ ー が 非 活 性 化 さ れ、逆分化効率が 増 加 す る こ と を 確 認 し た。

【 0 0 5 2 】

図 3 及 び 表 1 から確認できるように、M H Y 1 4 8 5 を 処 理 し て い な い 群 に 比 べ て 処 理 し た 群 に お い て 逆 分 化 効 率 が 有 意 に 高 く 示 さ れ た。

【 0 0 5 3 】

【 表 1 】

逆分化効率 (%)	GM -MHY1485	GM +MHY1485	hPCCM -MHY1485	hPCCM +MHY1485
HPC	0.08	0.35	0.30	0.92
HDF	0.01	0.04	0.02	0.07
HUVEC	0.05	0.13	0.10	0.39

【 0 0 5 4 】

図 4 及 び 表 2 から確認できるように、H U V E C、H D F 及 び H P C 細 胞 に 対 し て、M H Y 1 4 8 5 を 処 理 し た 群 及 び P C C M 培 地 で 逆 分 化 を 誘 導 し た 群 を、3 種 の 細 胞 に お い て それぞれ 3 つ の ディッシュ (d i s h) ず つ 確 認 し、合 計 n 数 9 個 で 比 較 し た 結 果、M H Y 1 4 8 5 を 処 理 し た 群 に お い て 逆 分 化 効 率 が 有 意 に 高 く 示 さ れ た。

【 0 0 5 5 】

10

20

30

40

50

【表 2】

	GM +MHY1485	hPCCM -MHY1485
逆分化効率 (%)	0.17	0.14

【0056】

したがって、前記結果は、PCCM培地を用いて得られる逆分化効率の増加効果に比しても、MHY1485を処理することによって得られる逆分化効率の上昇効果が有意に高いことを示す。

【図面の簡単な説明】

【0057】

【図1A】体細胞に逆分化（reprogramming）因子を形質導入させ、4，6-ジ-4-ホルニル-N-（4-ニトロフェニル）-1，3，5-トリアジン-2-アミンを処理しながら培養する過程を示す模式図である。

【図1B】MHY1485の処理有無によるヒト臍帯静脈内皮細胞（Primary Umbilical Vein Endothelial Cells, HUVEC）、ヒト線維芽細胞（Primary Dermal Fibroblasts, HDF）及びヒト胎盤由来細胞（Human Placenta derived Cells, HPC）におけるタンパク質の発現量を示すウェスタンブロットの分析結果である。

【図1C】HUVEC、HDF及びHPC細胞に対してMHY1485を処理した場合、オートファジーの抑制されたか否かを確認した免疫蛍光法（Immunofluorescence Assay）の分析結果を示す写真である。

【図2A】HUVEC細胞に対して、MHY1485の処理有無及びヒト胎盤由来細胞の条件化培地（Placenta-derived Cells Conditioned Media; PCCM）の使用有無による逆分化（reprogramming）効率の差を比較した写真である。

【図2B】HDF細胞に対してMHY1485の処理有無及びヒト胎盤由来細胞の条件化培地（Placenta-derived Cells Conditioned Media; PCCM）の使用有無による逆分化（reprogramming）効率の差を比較した写真である。

【図2C】HPC細胞に対してMHY1485の処理有無及びヒト胎盤由来細胞の条件化培地（Placenta-derived Cells Conditioned Media; PCCM）の使用有無による逆分化（reprogramming）効率の差を比較した写真である。

【図3】HUVEC、HDF及びHPC細胞に対して、MHY1485の処理有無及びPCCM培地の使用有無による逆分化効率の差を比較したフラフである。

【図4】HUVEC、HDF及びHPC細胞に対して、MHY1485を処理した場合とPCCM培地を使用した場合における逆分化効率の差を相互比較したグラフである。

10

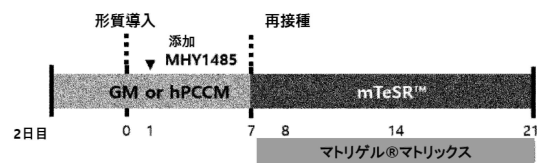
20

30

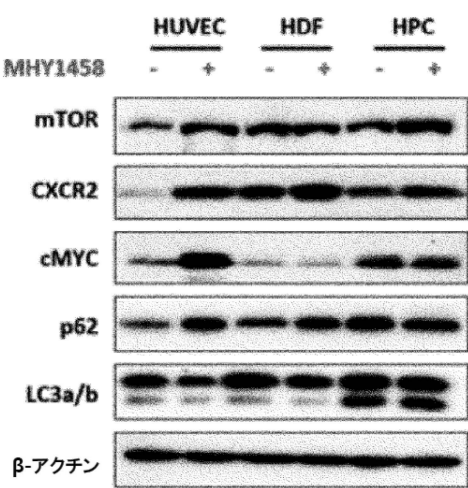
40

50

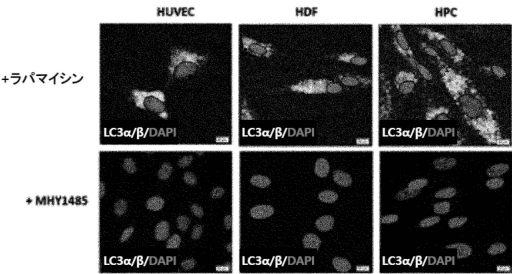
【図面】
【図 1 A】



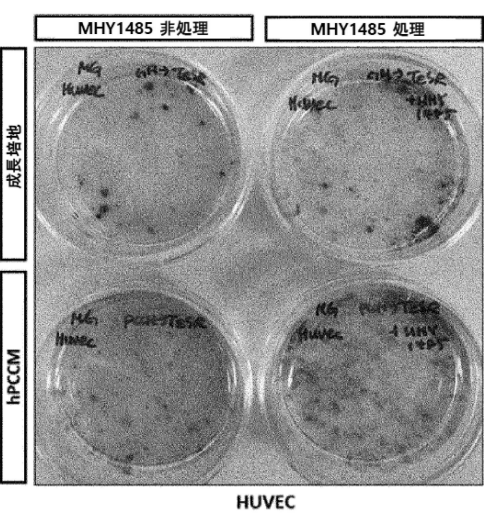
【図 1 B】



【図 1 C】



【図 2 A】



10

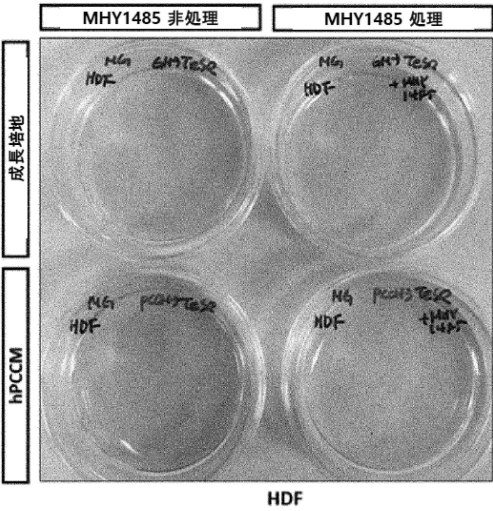
20

30

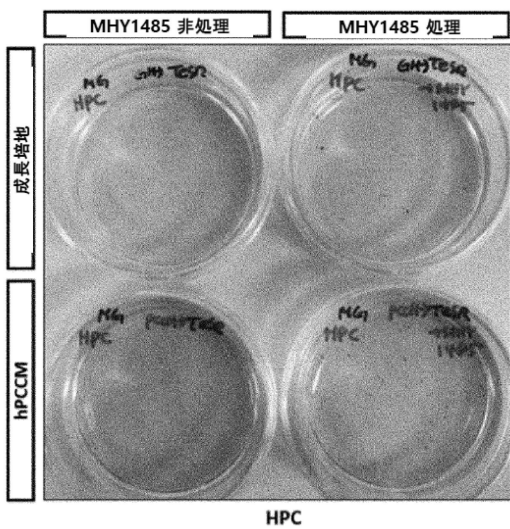
40

50

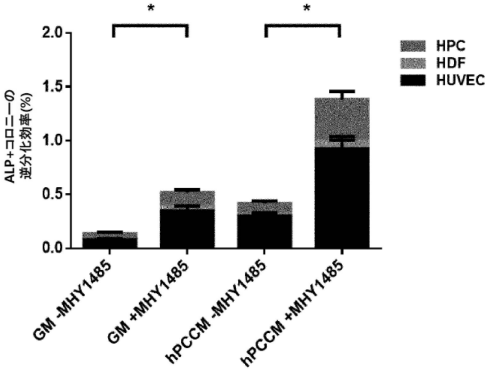
【図 2 B】



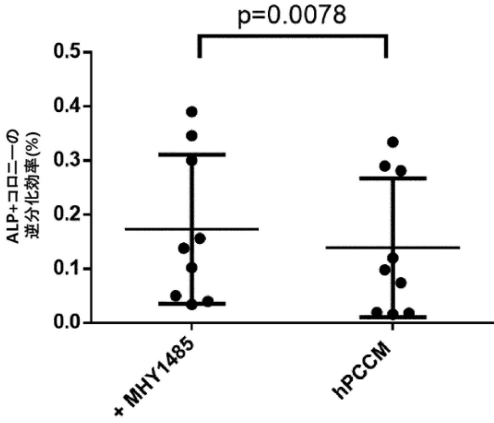
【図 2 C】



【図 3】



【図 4】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

69, 201-603

(72)発明者 イ, ソン ジン

大韓民国, 03414 ソウル, ウンピョング, ヨンソーロ 11-ギル 32-9, 106

審査官 西村 亜希子

(56)参考文献 特表2016-502839 (JP, A)

国際公開第2012/074117 (WO, A1)

特表2019-527068 (JP, A)

Nat. Biotechnol., 2008年, Vol.26, No.7, pp.795-797

STEM CELLS AND DEVELOPMENT, 2016年, Vol.25, No.13, pp.1006-1019

Frontiers in Neuroscience, 2019年09月, Vol.13, Article867

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C12N 5/10

C12N 15/09

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)