

【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9月12日(2013.9.12)

【公表番号】特表2010-516255(P2010-516255A)

【公表日】平成22年5月20日(2010.5.20)

【年通号数】公開・登録公報2010-020

【出願番号】特願2009-546511(P2009-546511)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/0735 (2010.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/00 2 0 2 C

C 1 2 Q 1/02

【誤訳訂正書】

【提出日】平成25年8月5日(2013.8.5)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

ヒト多能性幹細胞のクローン培養物を生成する方法であって：

培養容器内の塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)含有限定培養培地中の培養物内のヒト多能性幹細胞の培養物を準備する工程；

培養内幹細胞から単個のヒト多能性幹細胞を選ぶ工程；

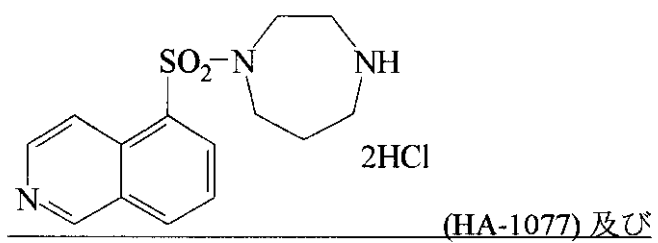
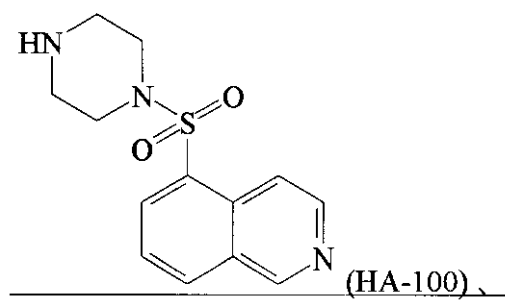
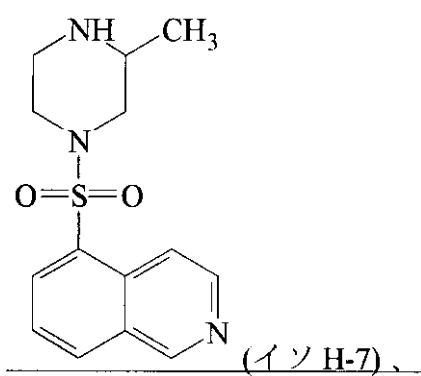
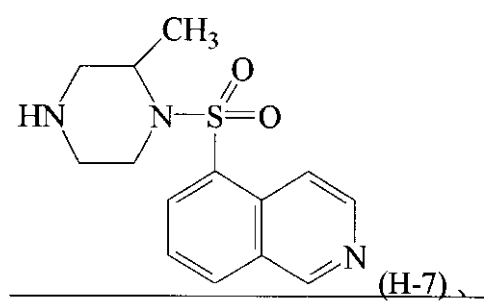
単個のヒト多能性幹細胞を用いて、培養容器内でヒト多能性幹細胞の新規培養を開始する工程であって、

培養容器が、該容器内の表面を被覆するマトリックス、及び、bFGF含有限定培養培地を含み、

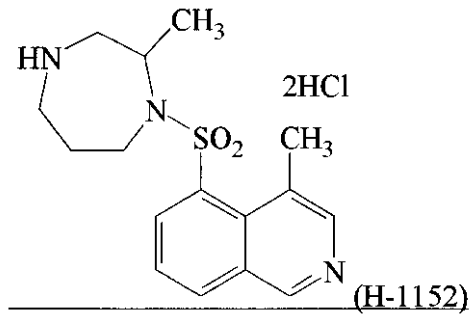
bFGF含有限定培養培地が薬剤を含み、

薬剤は、該薬剤を含まないbFGF含有限定培養培地と比較して、ヒト多能性幹細胞培養のクローニング効率を増加させるために選ばれ、かつ、下記：

【化 1 - 1】



【化 1 - 2】



からなる群より選ばれる式で表される小分子である、前記工程；及び
単個のヒト多能性幹細胞を培養して、ヒト多能性幹細胞のクローン培養物を生成する工
程
 を含む、前記方法。

【請求項 2】

薬剤が、キナーゼ阻害剤である、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

薬剤が、Rho関連キナーゼ (ROCK) 阻害剤である、請求項1に記載の方法。

【請求項 4】

ヒト多能性幹細胞が、ヒト胚幹細胞又はヒト誘導多能性幹細胞である、請求項1に記載
の方法。

【請求項 5】

bFGF含有限定培養培地が、フィーダー細胞又は血清のない未分化の多能性幹細胞の増殖
と維持を支持する、請求項1に記載の方法。

【請求項 6】

ヒト多能性幹細胞のクローン培養物を生成する方法であって：

培養容器内にbFGF含有限定培養培地中の培養内ヒト多能性幹細胞の培養物を準備する工
 程；

培養内幹細胞から単個のヒト多能性幹細胞を選ぶ工程；

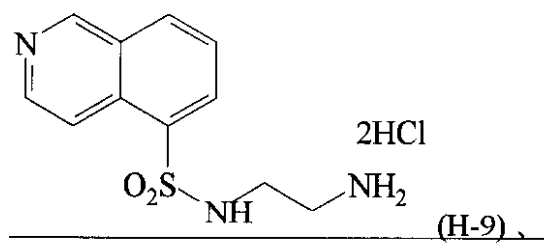
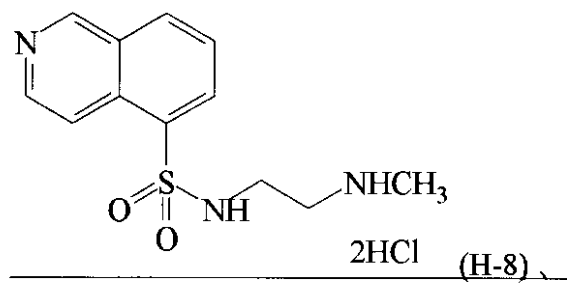
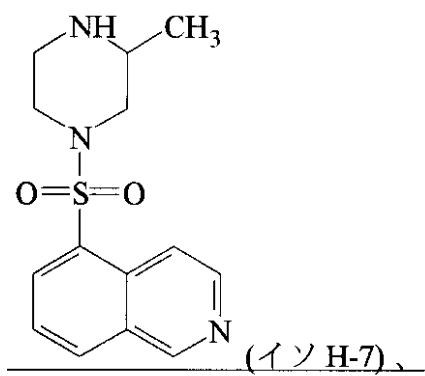
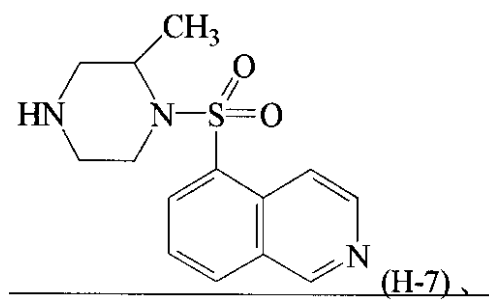
単個のヒト多能性幹細胞を用いて、培養容器内でヒト多能性幹細胞の新規培養を開始す
る工程であって、

培養容器が、bFGF含有限定培養培地を含み、

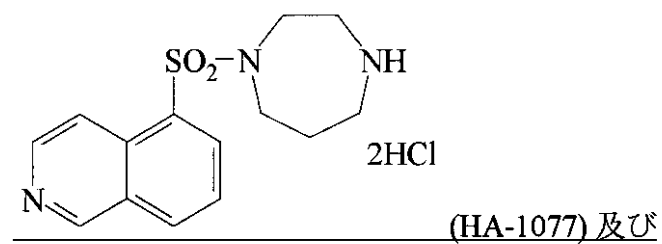
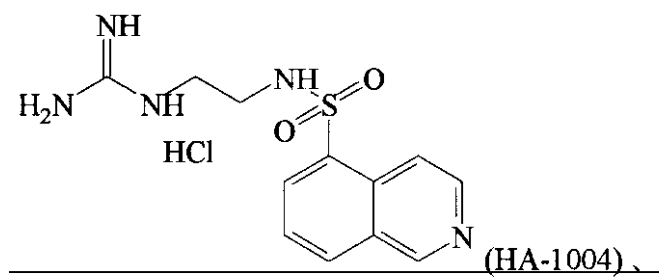
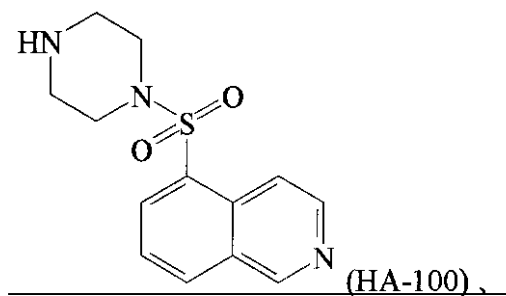
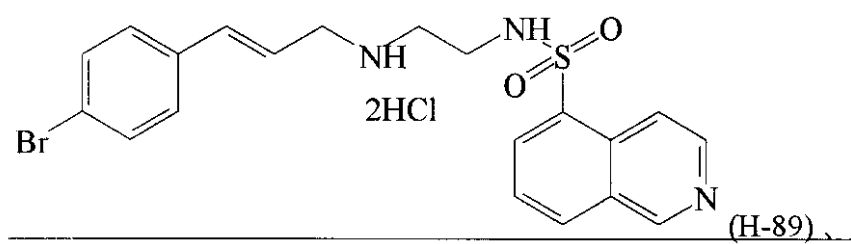
bFGF含有限定培養培地が薬剤を含み、

薬剤は、該薬剤を含まない多能性幹細胞培養培地と比較して、ヒト多能性幹細胞培養の
クローニング効率を増加させるために選ばれ、かつ、下記：

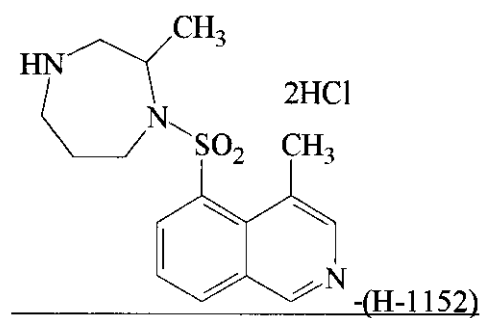
【化 2 - 1】



【化 2 - 2】



【化 2 - 3】



からなる群より選ばれる式で表される、前記工程；及び

単個のヒト多能性幹細胞を培養して、ヒト多能性幹細胞のクローン培養物を生成する工程

を含む、前記方法。

【請求項 7】

多能性幹細胞が、胚幹細胞又は誘導多能性幹細胞である、請求項6に記載の方法。

【請求項 8】

培養容器；

容器内に含有する、bFGF含有限定培養培地；

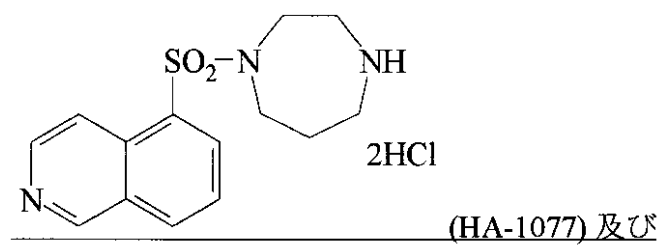
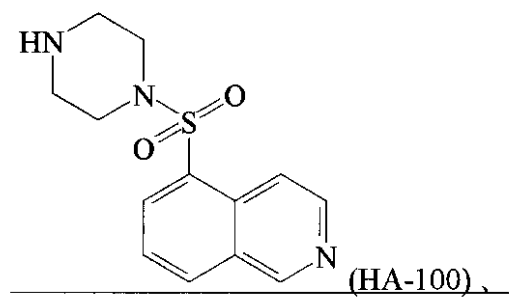
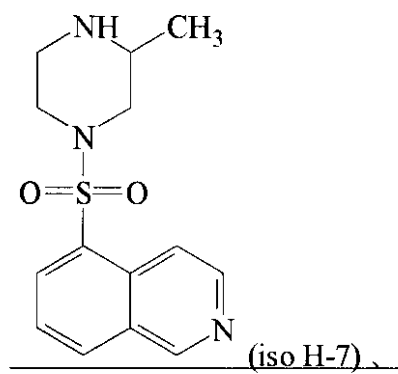
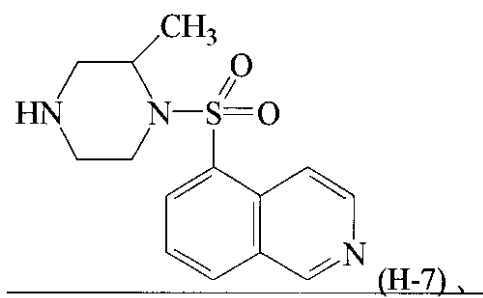
bFGF含有限定培養培地中で増殖するヒト多能性幹細胞；及び

薬剤を含有するbFGF含有限定培養培地であって、

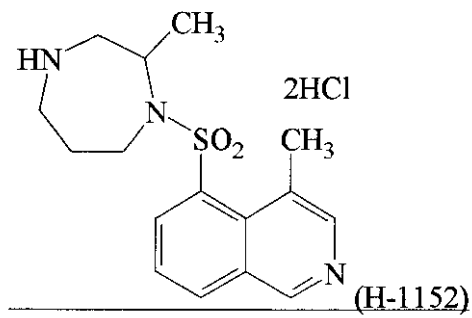
薬剤は、該薬剤を含まないbFGF含有限定培養培地と比較して、ヒト多能性幹細胞培養のクローニング効率を増加させるために選ばれ、

薬剤が、下記：

【化 3 - 1】



【化 3 - 2】



からなる群より選ばれる式で表される、キナーゼ阻害剤である、前記培養培地を含む、ヒト多能性幹細胞培養物。

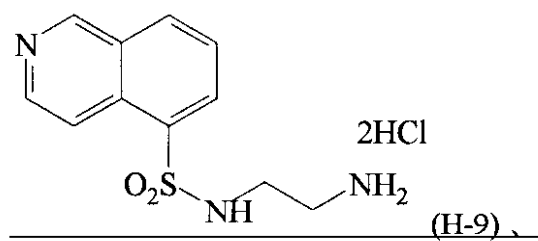
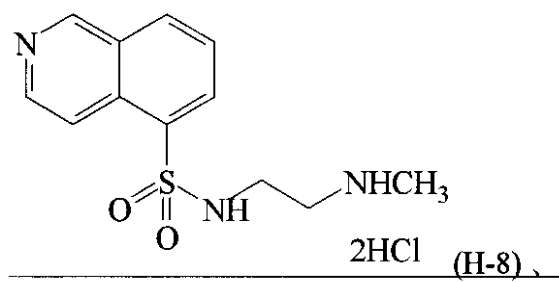
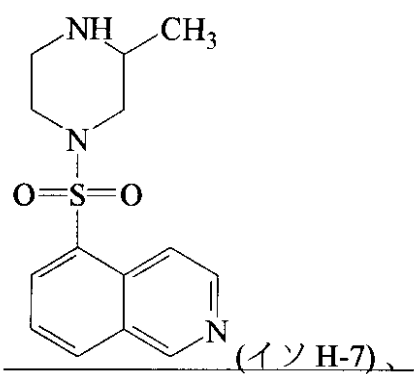
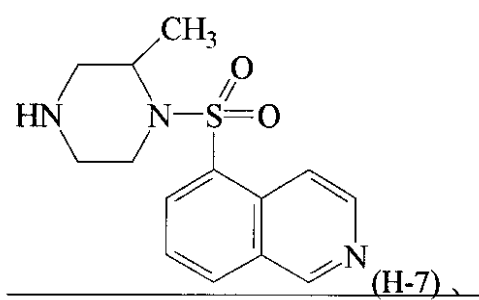
【請求項 9】

幹細胞が、胚幹細胞又は誘導多能性幹細胞である、請求項8に記載のヒト多能性幹細胞培養物。

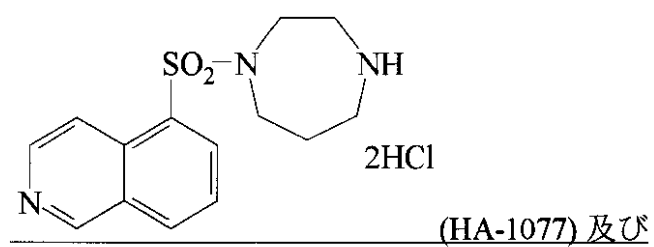
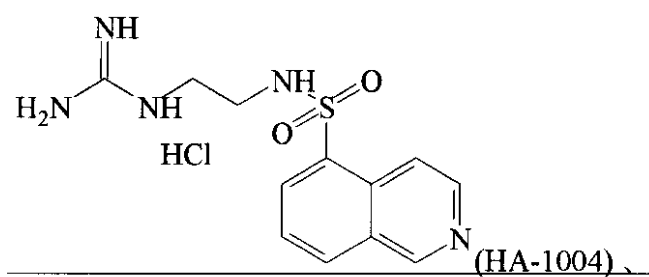
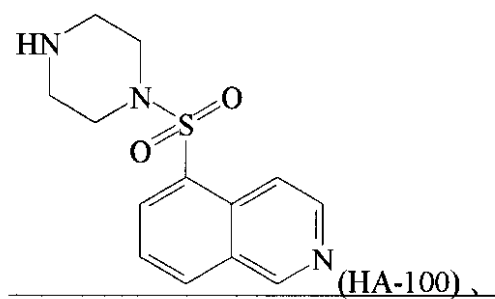
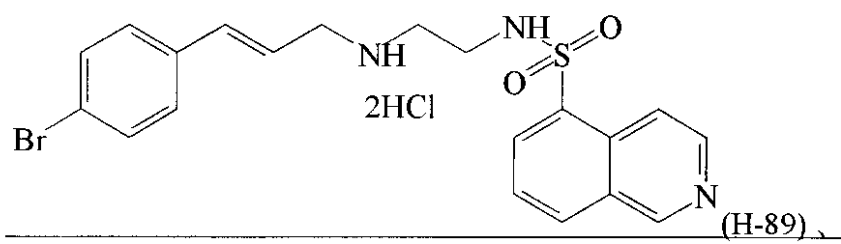
【請求項 10】

ヒト多能性幹細胞を培養するための限定培地であって、ヒト多能性幹細胞培養のクローニング効率を増加させるために選ばれる薬剤を含み、薬剤が、下記：

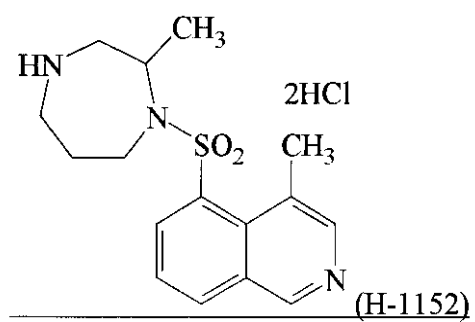
【化 4 - 1】



【化 4 - 2】



【化 4 - 3】



からなる群より選ばれる式で表される、前記培地。

【誤訳訂正2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0003

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0003】

第一態様において、本発明は、多能性幹細胞培養物をクローン化する方法であって、培養容器内の限定培養培地中の培養物内の多能性幹細胞の培養物を準備する工程；培養物中の幹細胞から単個細胞を選ぶ工程；及び単個細胞を有する培養容器内で培養培地中の幹細胞の新規培養を開始する工程を含み、培養培地が幹細胞培養のクローニング効率を増加させるために選ばれる薬剤を含み、薬剤が幹細胞培養のクローニング効率を増加させる小分子である、前記方法としてまとめられる。“限定培養培地（defined culture medium）”又は“限定培地（defined medium）”とは、培地がすべての成分の量が既知であることを意味する。典型的には、細胞培養のための培養培地に通常添加される血清は、例えば、既知の量の血清成分、例えば、アルブミン、インスリン、トランスフェリン、おそらく特定の増殖因子（即ち、塩基性線維芽細胞増殖因子、トランスフォーミング増殖因子又は血小板由来増殖因子）で置き換えられる。

第二態様において、本発明は、培養容器を含む多能性幹細胞培養；容器内に含有される限定培養培地；培養培地中で増殖する幹細胞；及び幹細胞培養のクローニング効率を増加させるために選ばれる培養培地中の薬剤を含む多能性幹細胞培養としてまとめられる。

いずれの態様の一部の実施態様においても、薬剤は、キナーゼ阻害剤である。いずれの態様の他の実施態様においても、薬剤は、プロテインキナーゼA阻害剤、プロテインキナーゼC阻害剤、プロテインキナーゼG阻害剤又はRho関連キナーゼ阻害剤である。いずれの態様の更に他の実施態様においても、薬剤は、H-7、イソH-7、H-8、H-9、H-89、HA-100、HA-1004、HA-1077、H-1152又はY-27632より選ばれる。