

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2018128383, 06.03.2013

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
07.03.2012 US 61/607,706(62) Номер и дата подачи первоначальной заявки,  
из которой данная заявка выделена:  
2014140371 06.10.2014(43) Дата публикации заявки: 14.03.2019 Бюл. №  
08

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, строение 3,  
ООО "Юридическая фирма Городисский и  
Партнеры"

(71) Заявитель(и):

**ЯНССЕН БАЙОТЕК, ИНК. (US)**

(72) Автор(ы):

**РЕЗАНИА Алиреза (US)**(54) **СРЕДА ОПРЕДЕЛЕННОГО СОСТАВА ДЛЯ РАЗМНОЖЕНИЯ И ОБНОВЛЕНИЯ  
ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК**

## (57) Формула изобретения

1. Определенный состав культивирования клеток для культивирования, обновления и размножения плюрипотентных стволовых клеток, где определенный состав культивирования клеток содержит базовую среду MCDB-131, дополненную инсулином, трансферрином, селеном, свободным от жирных кислот альбумином, лигандом TGF- $\beta$ , bFGF, аскорбиновой кислотой, следовыми количествами элементов С, 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислотой, хлоридом лития, глюкозой, липидами определенного состава и дипептидом L- аланил-L-глутамином;

где следовые количества элементов С состоят из  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{Ba}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$ ,  $\text{KBr}$ ,  $\text{CdCl}_2$ ,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CrCl}_3$  (безводного),  $\text{NaF}$ ,  $\text{GeO}_2$ ,  $\text{KI}$ ,  $\text{RbCl}$ , и  $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ , и

где липиды определенного состава состоят из этилового спирта, арахиононовой кислоты, холестерина, DL-альфа-токоферола ацетата, линолевой кислоты, линоленовой кислоты, миристиновой кислоты, олеиновой кислоты, пальмитиновой кислоты, пальмитоолеиновой кислоты, Pluronic F-68, стеариновой кислоты и Tween 80®; и

где культивирование стволовых клеток в определенном составе культивирования клеток обеспечивает сохранение плюрипотентности и кариотипической стабильности клеток в течение по меньшей мере 10 пассажей.

2. Определенный состав культивирования клеток по п. 1, где следовые количества элементов С состоят из 1,20 мг/л  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0,17 мг/л  $\text{AgNO}_3$ , 2,55 мг/л  $\text{Ba}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$ , 0,12 мг/л  $\text{KBr}$ , 2,28 мг/л  $\text{CdCl}_2$ , 2,38 мг/л  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0,32 мг/л  $\text{CrCl}_3$  (безводного), 4,20 мг/л  $\text{NaF}$ , 0,53 мг/л  $\text{GeO}_2$ , 0,17 мг/л  $\text{KI}$ , 1,21 мг/л  $\text{RbCl}$  и 3,22 мг/л  $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ .

3. Определенный состав культивирования клеток по п.1, где липиды определенного состава состоят из 100,0 мл/л этилового спирта (200 градусов, 2 мг/мл арахидоновой кислоты, 220 мг/л холестерина, 70 мг/л DL-альфа-токоферола ацетата, 10 мг/л линолевой кислоты, 10 мг/л линоленовой кислоты, 10 мг/л миристиновой кислоты, 10 мг/л олеиновой кислоты, 10 мг/л пальмитиновой кислоты, 10 мг/л пальмитоолеиновой кислоты, 90000 мг/л Pluronic F-68, 10 мг/л стеариновой кислоты и 2200 мг/л Tween 80®.

4. Определенный состав культивирования клеток по п.1, где bFGF присутствует в составе культивирования клеток в количестве от 50 нг/мл до 100 нг/мл.

5. Определенный состав культивирования клеток по п.1, где аскорбиновая кислота присутствует в составе культивирования клеток в количестве от 0,2 мМ до 0,3 мМ.

6. Определенный состав культивирования клеток по любому из пп. 1-5, где лиганд TGF- $\beta$  представляет собой TGF- $\beta$ 1.

7. Определенный состав культивирования клеток по п.6, где TGF- $\beta$ 1 присутствует в составе культивирования клеток в количестве от 0,5 нг/мл до 10 нг/мл.

8. Определенный состав культивирования клеток по п.1, где среда MCDB-131 дополнена инсулином, трансферрином, селеном, свободным от жирных кислот альбумином, от 0,5 нг/мл до 10 нг/мл TGF- $\beta$ 1, от 50 нг/мл до 100 нг/мл bFGF, от 0.2 мМ до 0,3 мМ аскорбиновой кислоты, следовыми количествами элементов C, 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислотой, хлоридом лития, глюкозой, липидами определенного состава и дипептидом L- аланил-L-глутамином.

9. Определенный состав культивирования клеток по п.1, где состав состоит из базовой среды MCDB-131, дополненной инсулином, трансферрином, селеном, свободным от жирных кислот альбумином, лигандом TGF- $\beta$ , bFGF, аскорбиновой кислотой, следовыми количествами элементов C, 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислотой, хлоридом лития, глюкозой, липидами определенного состава и дипептидом L- аланил-L-глутамином.

10. Способ размножения человеческих плюрипотентных стволовых клеток, включающий культивирование человеческих плюрипотентных стволовых клеток на матриксе без питающих клеток в определенном составе культивирования клеток по любому из пп. 1-9.

11. Способ по п. 10, где человеческие плюрипотентные стволовые клетки представляют собой индуцибельные плюрипотентные клетки, перепрограммированные плюрипотентные клетки или клетки установленных линий человеческих эмбриональных стволовых клеток или человеческих эмбриональных зародышевых клеток.