

【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26年9月25日(2014.9.25)

【公表番号】特表2013-532492(P2013-532492A)

【公表日】平成25年8月19日(2013.8.19)

【年通号数】公開・登録公報2013-044

【出願番号】特願2013-523366(P2013-523366)

【国際特許分類】

C 12 N 1/00 (2006.01)

C 12 N 5/10 (2006.01)

C 12 N 5/0735 (2010.01)

【F I】

C 12 N 1/00 F

C 12 N 5/00 1 0 2

C 12 N 5/00 2 0 2 C

【手続補正書】

【提出日】平成26年8月5日(2014.8.5)

【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】

定義されたアルブミン不含培地であって、各々、ヒト多能性幹細胞増殖を支持するのに十分な量の、水と、塩類と、アミノ酸と、ビタミン類と、グルコースと、インスリンと、FGFと、セレンと、トランスフェリンと、TGF-及びNODALのうちの1つと、を含む、アルブミン不含培地。

【請求項2】

ヒト多能性幹細胞を培養する方法であって、以下の工程、

マトリクス上にヒト多能性幹細胞を置く工程、及び

前記細胞を、定義されたアルブミン不含培地であって、各々、ヒト多能性幹細胞増殖を支持するのに十分な量の、水と、塩類と、アミノ酸と、ビタミン類と、グルコースと、インスリンと、FGFと、セレンと、トランスフェリンと、TGF-及びNODALのうちの1つとを含むアルブミン不含培地と接触させる工程、

を含む、方法。

【請求項3】

前記マトリクスが、ラミニン又はビトロネクチンを含む、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

前記細胞を低酸素条件下で前記培地と接触させる、請求項2に記載の方法。

【請求項5】

前記ヒト多能性幹細胞が、ヒト胚性幹細胞である、請求項2に記載の方法。

【請求項6】

前記ヒト多能性幹細胞が、ヒト誘導多能性幹細胞である、請求項2に記載の方法。

【請求項7】

ヒト多能性幹細胞をクローン化する方法であって、以下の工程、

ヒト多能性幹細胞を、定義されたアルブミン不含培地であって、各々、ヒト多能性幹細胞のクローン化を支持するのに十分な量の、水と、塩類と、アミノ酸と、ビタミン類と、

グルコースと、インスリンと、FGFと、セレンと、トランスフェリンと、TGF-  
及びNODALのうちの1つとを含むアルブミン不含培地において、クローン化密度で、  
ブレーティングする工程、  
を含むことを特徴とするクローン化する方法。

【請求項8】

前記培地が、ROCK阻害剤を更に含む、請求項7に記載の方法。

【請求項9】

前記ROCK阻害剤が、HAI00及びY27632からなる群から選択される、請求  
項8に記載の方法。

【請求項10】

前記培地が、ブレビスタチンを更に含む、請求項7に記載の方法。

【請求項11】

ヒト多能性幹細胞を凍結保存する方法であって、以下の工程、

前記ヒト多能性幹細胞を、定義されたアルブミン不含培地であって、各々、ヒト多能性  
幹細胞増殖を支持するのに十分な量の、水と、塩類と、アミノ酸と、ビタミン類と、グル  
コースと、インスリンと、FGFと、セレンと、トランスフェリンと、TGF-  
及びN  
ODALのうちの1つとを含むアルブミン不含培地中で凍結させる工程、  
を含む、方法。

【請求項12】

定義された条件下でヒト誘導多能性幹(iPS)細胞を誘導する方法であって、以下の  
工程、

ヒト体細胞を、定義されたアルブミン不含培地であって、各々、ヒトイPS細胞を誘導  
するための体細胞のリプログラミングを支持するのに十分な量の、水と、塩類と、アミノ  
酸と、ビタミン類と、グルコースと、インスリンと、FGFと、セレンと、トランスフェ  
リンと、TGF-  
及びNODALのうちの1つとを含むアルブミン不含培地において、  
リプログラミングさせる工程、  
を含む方法。

【請求項13】

前記リプログラミングさせる工程が、前記細胞をTGF-  
と5~10日間接触させることを含む、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

以下の工程、

前記TGF-  
を5~10日後に除去する工程、及び

前記細胞を、水と、塩類と、アミノ酸と、ビタミン類と、炭素源と、インスリンと、FGFと、  
セレンと、トランスフェリンと、から本質的になる培地と接触させる工程、  
を更に含む、請求項15に記載の方法。

【請求項15】

前記リプログラミングさせる工程が、前記細胞をヒドロコルチゾンと接触させることを  
含む、請求項12に記載の方法。

【請求項16】

前記リプログラミングさせる工程が、前記細胞を酪酸塩と接触させることを含む、請求  
項12に記載の方法。

【請求項17】

前記ヒトイPS細胞が、異種成分を含まない条件下で誘導される、請求項12に記載の  
方法。

【請求項18】

前記ヒト体細胞が、成人ヒト体細胞である、請求項12に記載の方法。

【請求項19】

前記リプログラミングさせる工程が、ウイルスベクターを用いることを含む、請求項1  
2に記載の方法。

**【請求項 2 0】**

前記リプログラミングさせる工程が、エピソームベクターを用いることを含む、請求項12に記載の方法。

**【請求項 2 1】**

水と、塩類と、アミノ酸と、ビタミン類と、グルコースと、インスリンと、FGFと、セレンと、トランスフェリンと、TGF- 及びNODALのうちの1つとから本質的になる、請求項1に記載のアルブミン不含成長培地。

**【請求項 2 2】**

ヒト多能性幹細胞を培養する方法であって、以下の工程、マトリクス上にヒト多能性幹細胞を置く工程、及び前記細胞を、各々、長期のヒト多能性幹細胞培養を支持するのに十分な量の、水と、塩類と、アミノ酸と、ビタミン類と、グルコースと、インスリンと、FGFと、セレンと、トランスフェリンと、TGF- 及びNODALのうちの1つとから本質的になる、定義されたアルブミン不含培地と接触させる工程、を含む、方法。

**【請求項 2 3】**

前記培地が、TGF- を含む、請求項1に記載のアルブミン不含培地。

**【請求項 2 4】**

前記培地が、NODALを含む、請求項1に記載のアルブミン不含培地。

**【請求項 2 5】**

前記培地が、ROCK阻害剤を更に含む、請求項1に記載のアルブミン不含培地。

**【請求項 2 6】**

前記ROCK阻害剤が、HAI00及びY27632からなる群から選択される、請求項25に記載のアルブミン不含培地。

**【請求項 2 7】**

前記培地が、ROCK阻害剤又はプレビスタチンを更に含む、請求項1に記載のアルブミン不含培地。

**【請求項 2 8】**

異種成分を含まない、請求項1に記載のアルブミン不含培地。

**【請求項 2 9】**

水と、塩類と、アミノ酸と、ビタミン類と、グルコースと、インスリンと、FGFと、セレンと、トランスフェリンと、TGF- 及びNODALのうちの1つとからなる、請求項1に記載のアルブミン不含成長培地。