

【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31年1月10日(2019.1.10)

【公表番号】特表2017-536826(P2017-536826A)

【公表日】平成29年12月14日(2017.12.14)

【年通号数】公開・登録公報2017-048

【出願番号】特願2017-527898(P2017-527898)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 5/078 (2010.01)

C 1 2 N 1/00 (2006.01)

C 1 2 N 1/04 (2006.01)

A 6 1 K 35/18 (2015.01)

A 6 1 P 7/00 (2006.01)

A 6 1 P 7/06 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 5/078 Z N A

C 1 2 N 1/00 F

C 1 2 N 1/04

A 6 1 K 35/18 Z

A 6 1 P 7/00

A 6 1 P 7/06

【手続補正書】

【提出日】平成30年11月22日(2018.11.22)

【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】

(i) 幹細胞および/または前駆細胞の集団においてSH2B3を阻害する段階；

(ii) 該幹細胞および/または前駆細胞の集団を、赤血球(RBC)への少なくとも1個の幹細胞または前駆細胞の分化を誘導するのに十分な時間、培養する段階；ならびに

(iii) RBCの集団を回収する段階

を含む、幹細胞および/または前駆細胞の集団からRBCをエキスピボで産生する方法。

【請求項2】

前記阻害する段階が、SH2B3タンパク質レベル、SH2B3 mRNAレベル、SH2B3タンパク質活性、またはそれらの組み合わせを低下させる、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記阻害する段階が、前記幹細胞および/または前駆細胞の集団を、SH2B3遺伝子についての少なくとも1個の幹細胞または前駆細胞からの標的切除のためのゲノム編集物質と接触させることを含む、請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

前記ゲノム編集物質が、ジンクフィンガーヌクレアーゼ(ZFN)、CRISPR(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat)/CRISPR関連(CRISPR associated)(Cas)システム、および転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ(TALEN)からなる群より選択

される、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

前記阻害する段階が、前記幹細胞および/または前駆細胞の集団をSH2B3のアンタゴニストと接触させることを含み、該SH2B3のアンタゴニストが、無機分子、有機分子、核酸、核酸類似体または核酸誘導体、ペプチド、ペプチド模倣体、タンパク質、抗体またはその抗原結合断片、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項1または2に記載の方法。

【請求項6】

前記SH2B3のアンタゴニストが、SH2B3タンパク質のSH2ドメイン、PHドメイン、またはSH2ドメインとPHドメインとの両方に特異的に結合する、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

前記SH2B3のアンタゴニストが、SH2B3の発現を阻害する核酸RNAi物質である、請求項5に記載の方法。

【請求項8】

前記幹細胞および/または前駆細胞の集団が、
(i) 造血幹細胞、造血前駆細胞、多能性幹細胞、人工多能性幹細胞(iPSC)、胚性幹細胞、または
(ii) 前記ドナー対象の末梢血単核細胞、臍帯血、骨髓、臍帯組織、もしくはG-CSF動員末梢血に由来する細胞；または
(iii) iPSCの集団、または
それらの組み合わせ
からなる群より選択される、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項9】

(a) 前記幹細胞および/もしくは前駆細胞の集団由来のRBCの増大を高めるか、RBCの質を向上させるか、またはその両方である、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項10】

前記幹細胞および/または前駆細胞の集団が哺乳動物起源のもの、例えばヒト起源のものである、請求項1～9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項11】

前記幹細胞および/または前駆細胞の集団がドナー対象から得られたものである、請求項1～10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項12】

RBCの集団をそれを必要とする対象に投与する段階をさらに含み、該RBCが、ドナー対象から得られた幹細胞および/または前駆細胞の集団から産生される、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

請求項1～12のいずれか一項に記載の方法に従って産生されたRBCの集団であって、任意で、該RBCの集団が幹細胞および/または前駆細胞の集団を含み、任意で、RBCの集団が低温貯蔵のために調製されているかまたは凍結保存されている、前記RBCの集団。

【請求項14】

幹細胞および/または前駆細胞の集団と、少なくとも1個の幹細胞または前駆細胞から分化した少なくとも1個のRBCと、SH2B3のアンタゴニストとを含む、細胞培養培地。

【請求項15】

輸血を必要とする対象または赤血球の欠乏を有する対象の治療において使用するための、請求項13に記載のRBCの集団。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0036

【補正方法】変更

【補正の内容】

【 0 0 3 6 】

本発明の別の局面は、RBCの有効量を対象に投与する段階を含む、RBCの集団を対象に投与する方法に関し、該RBCはゲノム編集物質の有効量とエキスピボまたはインビトロで接触させた幹細胞および/または前駆細胞の集団から産生され、該ゲノム編集物質は少なくとも1個の幹細胞または前駆細胞からSH2B3遺伝子を切除する。

[本発明1001]

(iv) 幹細胞および/または前駆細胞の集団においてSH2B3を阻害する段階；

(v) 該幹細胞および/または前駆細胞の集団を、赤血球(RBC)への少なくとも1個の幹細胞または前駆細胞の分化を誘導するのに十分な時間培養する段階；ならびに

(vi) RBCの集団を回収する段階

を含む、該幹細胞および/または前駆細胞の集団からRBCをエキスピボで産生する方法。

[本発明1002]

前記阻害する段階が、SH2B3タンパク質レベル、SH2B3 mRNAレベル、SH2B3タンパク質活性、またはそれらの組み合わせを低下させる、本発明1001の方法。

[本発明1003]

前記阻害する段階が、前記幹細胞および/または前駆細胞の集団を、SH2B3遺伝子についての幹細胞または前駆細胞からの標的切除のためのゲノム編集物質と接触させることを含む、本発明1001または1002の方法。

[本発明1004]

前記ゲノム編集物質が、ジンクフィンガーヌクレアーゼ(ZFN)、CRISPR(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat)/CRISPR関連(CRISPR associated)(Cas)システム、および転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ(TALEN)からなる群より選択される、本発明1003の方法。

[本発明1005]

前記ゲノム編集物質がベクター内に存在する、本発明1003または1004の方法。

[本発明1006]

前記阻害する段階が、前記幹細胞および/または前駆細胞の集団をSH2B3のアンタゴニストと接触させることを含む、本発明1001または1002の方法。

[本発明1007]

前記SH2B3のアンタゴニストが、無機分子、有機分子、核酸、核酸類似体または核酸誘導体、ペプチド、ペプチド模倣体、タンパク質、抗体またはその抗原結合断片、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、本発明1006の方法。

[本発明1008]

前記SH2B3のアンタゴニストが、SH2B3タンパク質のSH2ドメイン、PHドメイン、またはSH2ドメインとPHドメインとの両方に特異的に結合する、本発明1006または1007の方法。

[本発明1009]

前記SH2B3のアンタゴニストが、SH2B3の発現を阻害するRNAi物質である、本発明1006～1008のいずれかの方法。

[本発明1010]

前記RNAi物質が、SH2B3 mRNAにハイブリダイズするmiRNA、siRNA、shRNA、dsRNAである、本発明1009の方法。

[本発明1011]

前記幹細胞および/または前駆細胞の集団が、造血幹細胞、造血前駆細胞、多能性幹細胞、人工多能性幹細胞(iPSC)、胚性幹細胞、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、本発明1001～1010のいずれかの方法。

[本発明1012]

前記幹細胞および/または前駆細胞の集団由来のRBCの増大を高める、本発明1001～1011のいずれかの方法。

[本発明1013]

RBCの質を向上させる、本発明1001～1012のいずれかの方法。

[本発明1014]

前記幹細胞および/または前駆細胞の集団が哺乳動物起源のものである、本発明1001～1013のいずれかの方法。

[本発明1015]

前記幹細胞および/または前駆細胞の集団がヒト起源のものである、本発明1014の方法。

[本発明1016]

前記RBCが白血球濾過またはフローサイトメトリー選別によって単離される、本発明1001～1015のいずれかの方法。

[本発明1017]

前記幹細胞および/または前駆細胞の集団がドナー対象から得られる、本発明1001～1016のいずれかの方法。

[本発明1018]

前記幹細胞および/または前駆細胞の集団が、前記ドナー対象の末梢血単核細胞、臍帯血、骨髄、臍帯組織、またはG-CSF動員末梢血に由来する、本発明1017の方法。

[本発明1019]

それを必要とする対象にRBCの集団を投与する段階をさらに含み、
該RBCが、ドナー対象から得られた幹細胞および/または前駆細胞の集団から産生される、
本発明1017または1018の方法。

[本発明1020]

前記幹細胞の集団がiPSCである、本発明1019の方法。

[本発明1021]

本発明1001～1019のいずれかの方法に従って産生されたRBCの集団。

[本発明1022]

RBCの集団と幹細胞および/または前駆細胞の集団とを含む混合物であって、該RBCが、
本発明1001～1019のいずれかの方法に従って産生されている、混合物。

[本発明1023]

本発明1021のRBCの集団を含む血液バンク。

[本発明1024]

RBCの複数の集団が低温貯蔵のために調製されている、本発明1023の血液バンク。

[本発明1025]

幹細胞および/または前駆細胞の集団と、少なくとも1個の幹細胞または前駆細胞から分化した少なくとも1個のRBCと、SH2B3のアンタゴニストとを含む、細胞培養培地。

[本発明1026]

(iii) 幹細胞および/または前駆細胞の集団をSH2B3のアンタゴニストと接触させ、かつ、
該幹細胞および/または前駆細胞の集団を、赤血球(RBC)への少なくとも1個の幹細胞または前駆細胞の分化を誘導するのに十分な時間培養する段階であって、該SH2B3のアンタゴニストが、SH2B3タンパク質の活性を低下させるか、またはSH2B3 mRNAもしくはSH2B3タンパク質のレベルを低下させる、段階；ならびに

(iv) RBCの集団を回収する段階
を含む、該幹細胞および/または前駆細胞の集団をRBCに分化するように誘導する方法。

[本発明1027]

(iii) 幹細胞および/または前駆細胞の集団をゲノム編集物質と接触させ、かつ、該幹細胞および/または前駆細胞の集団を、赤血球(RBC)への少なくとも1個の幹細胞または前駆細胞の分化を誘導するのに十分な時間培養する段階であって、該ゲノム編集物質が、少なくとも1個の幹細胞または前駆細胞からSH2B3遺伝子を切除する、段階；ならびに

(iv) RBCの集団を回収する段階
を含む、該幹細胞および/または前駆細胞の集団をRBCに分化するように誘導する方法。

[本発明1028]

RBCの有効量を対象に投与する段階を含む、RBCの集団を該対象に投与する方法であって、該RBCが、SH2B3のアンタゴニストの有効量とエキスピボまたはインピトロで接触したことがあり、該SH2B3のアンタゴニストが、SH2B3タンパク質の活性を低下させるか、またはSH2B3 mRNAもしくはSH2B3タンパク質のレベルを低下させる、方法。

[本発明1029]

RBCの有効量を対象に投与する段階を含む、RBCの集団を該対象に投与する方法であって、該RBCが、ゲノム編集物質の有効量とエキスピボまたはインピトロで接触したことがある幹細胞および/または前駆細胞の集団から産生されており、該ゲノム編集物質が、少なくとも1個の幹細胞または前駆細胞からSH2B3遺伝子を切除する、方法。