

【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 3 部門第 2 区分

【発行日】令和 2 年 7 月 30 日 (2020.7.30)

【公表番号】特表 2019-521113 (P2019-521113A)

【公表日】令和 1 年 7 月 25 日 (2019.7.25)

【年通号数】公開・登録公報 2019-030

【出願番号】特願 2018-564394 (P2018-564394)

【国際特許分類】

A 6 1 K 47/42 (2017.01)

A 6 1 K 9/08 (2006.01)

A 6 1 K 47/26 (2006.01)

A 6 1 K 47/02 (2006.01)

A 6 1 K 47/36 (2006.01)

A 6 1 K 35/545 (2015.01)

A 6 1 K 35/28 (2015.01)

A 6 1 K 35/15 (2015.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/19 (2006.01)

A 6 1 K 38/18 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 19/00 (2006.01)

A 6 1 L 27/38 (2006.01)

A 6 1 L 27/36 (2006.01)

A 6 1 K 35/51 (2015.01)

【F I】

A 6 1 K 47/42

A 6 1 K 9/08

A 6 1 K 47/26

A 6 1 K 47/02

A 6 1 K 47/36

A 6 1 K 35/545

A 6 1 K 35/28

A 6 1 K 35/15 Z

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 38/19

A 6 1 K 38/18

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 19/00

A 6 1 L 27/38 1 1 1

A 6 1 L 27/38 3 0 0

A 6 1 L 27/36 3 1 1

A 6 1 K 35/51

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 6 月 9 日 (2020.6.9)

【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】

第 1 の体積を有する溶液であって、デキストロースを含む低 pH 流体ベースと、アルブミンと、を含む溶液を含み、

前記溶液中のアルブミンの濃度が約 10 mg/ml ～約 150 mg/ml の間である、生体成長に影響する組成物。

【請求項 2】

前記組成物の pH が 5.0 ～ 7.4 の間である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

前記組成物の pH が 4.1 ～ 7.2 の間である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 4】

前記組成物の pH が 4.1 ～ 6.2 の間である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 5】

前記組成物の pH が 5.0 ～ 6.2 の間である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 6】

前記組成物の pH を改変するように構成されるベースをさらに含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 7】

重炭酸ナトリウムをさらに含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 8】

重炭酸カルシウムをさらに含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 9】

前記アルブミンが、市販ヒト血清に由来する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 10】

前記アルブミンが、ドナー由来血清に由来する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 11】

前記アルブミンが、ヒト臍帯血に由来する、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 12】

前記溶液中のアルブミンの濃度が、約 10 mg/ml ～約 120 mg/ml の間である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 13】

前記溶液中のアルブミンの濃度が、約 50 mg/ml ～約 150 mg/ml の間である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 14】

前記溶液中のアルブミンの濃度が、約 50 mg/ml ～約 120 mg/ml の間である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 15】

前記溶液中のアルブミンの濃度が、約 105 mg/ml ～約 150 mg/ml の間である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 16】

前記組成物が、ジメチルスルホキシド (DMSO) を含有しない、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 17】

前記低 pH 流体ベースが、デキストランをさらに含む、請求項 1 ～ 16 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 18】

前記低 pH 流体ベースが、ジメチルスルホキシド (DMSO) をさらに含む、請求項 1 ～ 16 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 19】

前記低 pH 流体ベースが、C r y o G o l d（商標）又はその同等物をさらに含む、請求項 1～16 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 20】

幹細胞をさらに含む、請求項 1～16 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 21】

前記幹細胞が、非増殖細胞集団からなる、請求項 20 に記載の組成物。

【請求項 22】

前記幹細胞が、造血性幹細胞（H S C）を含む、請求項 20 に記載の組成物。

【請求項 23】

前記幹細胞が、間葉系幹細胞（M S C）を含む、請求項 20 に記載の組成物。

【請求項 24】

生単核球をさらに含む、請求項 1～16 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 25】

前記組成物が、1 m l 当たり約 1 0 0, 0 0 0 個～約 7 5 0 0 万個の間の生単核球を含む、請求項 24 に記載の組成物。

【請求項 26】

前記組成物が、1 m l 当たり約 7 5 0, 0 0 0 個～約 3 0 0 0 万個の間の生単核球を含む、請求項 24 に記載の組成物。

【請求項 27】

前記組成物が、1 m l 当たり約 1 0 0 0 万個～約 3 0 0 0 万個の間の生単核球を含む、請求項 24 に記載の組成物。

【請求項 28】

前記組成物が、1 m l 当たり約 1 0 0 0 万個～約 2 0 0 0 万個の間の生単核球を含む、請求項 24 に記載の組成物。

【請求項 29】

前記組成物が、1 m l 当たり約 2 5 0 万個～約 1 0 2 0 万個の間の生単核球を含む、請求項 24 に記載の組成物。

【請求項 30】

前記組成物が、1 m l 当たり約 9 8 0 万個～約 1 0 2 0 万個の間の生単核球を含む、請求項 24 に記載の組成物。

【請求項 31】

前記単核球が、単一ドナーの臍帯血のみに由来する、請求項 24 に記載の組成物。

【請求項 32】

1 つ又は複数の生物活性剤をさらに含む、請求項 1～16 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 33】

1 つ又は複数の前記生物活性剤が、1 つ又は複数のサイトカインを含む、請求項 32 に記載の組成物。

【請求項 34】

1 つ又は複数の前記サイトカインが、マクロファージ炎症タンパク質アルファ（M I P-1 α）、マクロファージ炎症タンパク質ベータ（M I P-1 β）、及びインターフェロングamma誘導性タンパク質 1 0（I P-1 0）を含むケモカイン、インターロイキン 1 ベータ（I L-1 β）、インターロイキン 2（I L-2）、インターロイキン 4（I L-4）、インターロイキン 5（I L-5）、インターロイキン 6（I L-6）、インターロイキン 7（I L-7）、インターロイキン 8（I L-8）、インターロイキン 1 0（I L-1 0）、インターロイキン 1 2（I L-1 2）、及びインターロイキン 1 3（I L-1 3）を含むインターロイキン、インターフェロンアルファ（I N F α）を含むインターフェロン、リンホカイン、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（G M-C S F）、幹細胞因子（K L）、並びに腫瘍壊死因子アルファ（T N F-α）からなる群から選択される、請求項 33 に記載の組成物。

【請求項 35】

1つ又は複数の前記生物活性剤が、1つ又は複数の増殖因子を含む、請求項32に記載の組成物。

【請求項 36】

1つ又は複数の前記増殖因子が、血管内皮増殖因子（VEGF）、神経増殖因子、血小板由来増殖因子（PDGF）、線維芽細胞増殖因子2（FGF-2）を含む線維芽細胞増殖因子（FGF）、上皮増殖因子（EGF）、ケラチノサイト増殖因子、トランスフォーミング増殖因子（TGF）、インスリン様増殖因子、des（1-3）-IGF-I（脳IGF-I）、ニューロトロフィン-3（NT-3）及び脳由来神経栄養因子（BDNF）からなる群から選択される、請求項35に記載の組成物。

【請求項 37】

前記アルブミンが第1のドナーの臍帯血に由来し、1つ又は複数の生物活性剤が少なくとも第2のドナーに由来する、請求項32に記載の組成物。

【請求項 38】

1つ又は複数の前記生物活性剤が、市販ヒトアルブミン又は市販ヒトアルブミン血清から取得される又は由来する、請求項37に記載の組成物。

【請求項 39】

前記アルブミン及び1つ又は複数の前記生物活性剤が、単一ドナーの臍帯血に由来する、請求項32に記載の組成物。

【請求項 40】

1つ又は複数の前記生物活性剤が、マクロファージ炎症タンパク質アルファ（MIP-1 α ）、マクロファージ炎症タンパク質ベータ（MIP-1 β ）、インターフェロンガンマ誘導性タンパク質10（IP-10）、インターロイキン1ベータ（IL-1 β ）、インターロイキン2（IL-2）、インターロイキン4（IL-4）、インターロイキン5（IL-5）、インターロイキン6（IL-6）、インターロイキン7（IL-7）、インターロイキン8（IL-8）、インターロイキン9（IL-9）、インターロイキン10（IL-10）、インターロイキン12（IL-12）、インターロイキン13（IL-13）、インターロイキン15（IL-15）、インターロイキン17（IL-17）、インターロイキン18（IL-18）、インターロイキン21（IL-21）、インターロイキン22（IL-22）、インターロイキン23（IL-23）、インターロイキン27（IL-27）、インターロイキン31（IL-31）、インターフェロンアルファ（INF α ）、リンホカイン、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）、幹細胞因子（KL）、腫瘍壊死因子アルファ（TNF- α ）、血管内皮増殖因子（VEGF）、神経増殖因子、血小板由来増殖因子（PDGF）、線維芽細胞増殖因子2（FGF-2）、上皮増殖因子（EGF）、ケラチノサイト増殖因子、トランスフォーミング増殖因子（TGF）、インスリン様増殖因子、des（1-3）-IGF-I（脳IGF-I）、ニューロトロフィン-3（NT-3）、脳由来神経栄養因子（BDNF）、エオタキシン、CXCRリガンド1（GRO α ）、インターロイキン1受容体アンタゴニスト（IL-1RA）、インターロイキン1アルファ（IL-1 α ）、白血病抑制因子（LIF）、胎盤増殖因子（PLGF）、ケモカインリガンド5（RANTES）、幹細胞因子（SCF）、ストローマ細胞由来因子（SDF1 α ）、及び腫瘍壊死因子（TNF β ）からなる群から選択される、請求項32に記載の組成物。

【請求項 41】

第1の体積を有する溶液であって、デキストロースを含む低pH流体ベースと、保護剤と、を含む溶液を含み、

pHが4.1～7.2の間である、生体成長に影響する組成物。

【請求項 42】

前記保護剤が、アルブミンを含む、請求項41に記載の組成物。

【請求項 43】

前記保護剤が、ジメチルスルホキシド（DMSO）を含む、請求項41に記載の組成物

。

【請求項 4 4】

前記保護剤が、デキストランを含む、請求項 4 1 に記載の組成物。

【請求項 4 5】

前記保護剤が、デキストラン及びアルブミンを含む、請求項 4 1 に記載の組成物。

【請求項 4 6】

前記保護剤が、C r y o G o l d（商標）又はその同等物を含む、請求項 4 1 に記載の組成物。

【請求項 4 7】

前記組成物が、ジメチルスルホキシド（D M S O）を含有しない、請求項 4 1、4 2、4 4、4 5 又は 4 6 に記載の組成物。

【請求項 4 8】

前記保護剤が、凍結保護特性を有する、請求項 4 1～4 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 4 9】

前記保護剤が、タンパク質保護特性を有する、請求項 4 1～4 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5 0】

前記保護剤及びデキストロースの組み合わせが、タンパク質保護特性を有する、請求項 4 1～4 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5 1】

前記保護剤及びデキストロースの組み合わせが、凍結保護特性を有する、請求項 5 0 に記載の組成物。

【請求項 5 2】

前記アルブミンが、市販ヒト血清に由来する、請求項 4 2 又は 4 5 に記載の組成物。

【請求項 5 3】

前記アルブミンが、ドナー由来血清又はヒト臍帯血に由来する、請求項 4 2 又は 4 5 に記載の組成物。

【請求項 5 4】

前記溶液中のアルブミンの濃度が、約 1 0 m g / m l ～約 1 5 0 m g / m l の間である、請求項 4 2、5 2 又は 5 3 に記載の組成物。

【請求項 5 5】

前記溶液中のアルブミンの濃度が、約 8 0 m g / m l ～約 1 2 0 m g / m l の間である、請求項 5 4 に記載の組成物。

【請求項 5 6】

前記溶液中のアルブミンの濃度が、約 1 0 5 m g / m l ～約 1 5 0 m g / m l の間である、請求項 5 4 に記載の組成物。

【請求項 5 7】

前記溶液中のアルブミンの濃度が、約 1 5 m g / m l ～約 3 0 m g / m l の間である、請求項 5 4 に記載の組成物。

【請求項 5 8】

前記組成物の p H が、4 . 1 ～6 . 2 の間である、請求項 4 1～5 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5 9】

前記組成物の p H が、5 . 0 ～7 . 2 の間である、請求項 4 1～5 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6 0】

幹細胞をさらに含む、請求項 4 1～5 9 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6 1】

前記幹細胞が、非増殖細胞集団からなる、請求項 6 0 に記載の組成物。

【請求項 6 2】

前記幹細胞が、造血性幹細胞（HSC）を含む、請求項 6 0 に記載の組成物。

【請求項 6 3】

前記幹細胞が、間葉系幹細胞（MSC）を含む、請求項 6 0 に記載の組成物。

【請求項 6 4】

前記組成物が、生単核球を含む、請求項 4 1 ～ 6 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6 5】

前記組成物が、1 ml 当たり約 250 万個～約 1020 万個の間の生単核球を含む、請求項 6 4 に記載の組成物。

【請求項 6 6】

前記組成物が、1 ml 当たり約 980 万個～約 1020 万個の間の生単核球を含む、請求項 6 4 に記載の組成物。

【請求項 6 7】

1 つ又は複数の生物活性剤をさらに含む、請求項 4 1 ～ 6 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6 8】

1 つ又は複数の前記生物活性剤が、1 つ又は複数のサイトカインを含む、請求項 6 7 に記載の組成物。

【請求項 6 9】

1 つ又は複数の前記サイトカインが、マクロファージ炎症タンパク質アルファ（MIP-1 α ）、マクロファージ炎症タンパク質ベータ（MIP-1 β ）、及びインターフェロングamma誘導性タンパク質 10（IP-10）を含むケモカイン、インターロイキン 1 ベータ（IL-1 β ）、インターロイキン 2（IL-2）、インターロイキン 4（IL-4）、インターロイキン 5（IL-5）、インターロイキン 6（IL-6）、インターロイキン 7（IL-7）、インターロイキン 8（IL-8）、インターロイキン 10（IL-10）、インターロイキン 12（IL-12）、及びインターロイキン 13（IL-13）を含むインターロイキン、インターフェロンアルファ（INF α ）を含むインターフェロン、リンホカイン、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）、幹細胞因子（KL）、並びに腫瘍壊死因子アルファ（TNF- α ）からなる群から選択される、請求項 6 8 に記載の組成物。

【請求項 7 0】

1 つ又は複数の前記生物活性剤が、1 つ又は複数の増殖因子を含む、請求項 6 7 に記載の組成物。

【請求項 7 1】

1 つ又は複数の前記増殖因子が、血管内皮増殖因子（VEGF）、神経増殖因子、血小板由来増殖因子（PDGF）、線維芽細胞増殖因子 2（FGF-2）を含む線維芽細胞増殖因子（FGF）、上皮増殖因子（EGF）、ケラチノサイト増殖因子、トランスフォーミング増殖因子（TGF）、インスリン様増殖因子、des（1-3）-IGF-I（IGF-I）、ニューロトロフィン-3（NT-3）及び脳由来神経栄養因子（BDNF）からなる群から選択される、請求項 7 0 に記載の組成物。

【請求項 7 2】

アルブミンが第 1 のドナーの臍帯血に由来し、1 つ又は複数の生物活性剤が少なくとも第 2 のドナーに由来する、請求項 6 7 ～ 7 1 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7 3】

1 つ又は複数の前記生物活性剤が、市販ヒトアルブミン又は市販ヒトアルブミン血清から取得される又は由来する、請求項 7 2 に記載の組成物。

【請求項 7 4】

アルブミン及び 1 つ又は複数の前記生物活性剤が、単一ドナーの臍帯血に由来する、請求項 6 7 ～ 7 1 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7 5】

前記単核球が、単一ドナーの臍帯血のみに由来する、請求項 64～66 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 76】

前記低 pH 流体ベースが、LMD（デキストラン 40）又はその同等化合物を含む、請求項 41～75 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 77】

前記低 pH 流体ベースが、LMD（デキストラン 40）からなる、請求項 41～75 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 78】

幹細胞の中の生存細胞のパーセンテージが、70%より多い、請求項 60～63 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 79】

幹細胞の中の生存細胞のパーセンテージが、85%より多い、請求項 60～63 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 80】

幹細胞の中の生存細胞のパーセンテージが、95%より多い、請求項 60～63 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 81】

対象への移植のために構成される、生体成長に影響する組成物を作製する方法であって、

ヒト臍帯血を含み、第 1 の体積 V_{UC} を有する試料であって、ヒト臍帯血が赤血球、赤血球以外の細胞、及び非細胞物質を含む試料を得るステップと、

ヒト臍帯血を含む前記試料を、体積 V_{PC} を有する、ある量の PrepaCyt-CB 又はその同等物と組み合わせるステップであって、上清が形成されるように、 V_{UC}/V_{PC} 比が約 0.60～約 1.75 の間であるステップと、

容器内で、上清の少なくとも一部を、単核球を単離するために構成される試薬の層に積層するステップであって、前記上清の少なくとも一部が体積 V_S を有し、前記試薬の前記層が体積 V_R を有し、前記試薬の前記層の前記体積 V_R が、前記上清の少なくとも一部の前記体積 V_S の少なくとも 67%であるステップと、

前記容器の内容物に十分な遠心力をかけるステップであって、カベクトルを前記容器の閉鎖端に向けて、単核球を実質的に含む少なくとも 1 つの新しい層を形成させるステップと、

単核球を実質的に含む前記層の少なくとも一部を、乳酸加リンゲル液又はその同等物と組み合わせて、単核球溶液を作り出すステップと、

前記単核球溶液の少なくとも一部中の生細胞の総数 N_L を決定するステップであって、前記単核球溶液の少なくとも一部が体積 V_M を有するステップと、

デキストロース溶液中の体積 V_D の低分子量デキストランを、前記単核球溶液の少なくとも一部に添加するステップであって、前記体積 V_D が、生細胞の総数 N_L に少なくとも部分的に基づく、ステップと、
を含む方法。

【請求項 82】

アルブミンを添加するステップを更に含む、請求項 81 に記載の方法。

【請求項 83】

前記添加するステップにより、生単核球の濃度が 1 ml 当たり 100,000 個～7500 万個の間となる、請求項 81 に記載の方法。

【請求項 84】

前記添加するステップにより、生単核球の濃度が 1 ml 当たり 750,000 個～3000 万個の間となる、請求項 81 に記載の方法。

【請求項 85】

前記添加するステップにより、生単核球の濃度が 1 ml 当たり 1000 万個～3000

万個の間となる、請求項 8 1 に記載の方法。

【請求項 8 6】

前記添加するステップにより、生単核球の濃度が 1 m l 当たり 1 0 0 0 万個～2 0 0 0 万個の間となる、請求項 8 1 に記載の方法。

【請求項 8 7】

前記組成物の p H を決定するステップをさらに含む、請求項 8 1 ～8 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8 8】

前記組成物の p H を、4 . 1 ～8 . 5 の間であるように調整するステップをさらに含む、請求項 8 7 に記載の方法。

【請求項 8 9】

積層する前記ステップにおける前記試薬の前記層の前記体積 V_R が、前記上清の少なくとも一部の前記体積 V_S の少なくとも 7 5 % である、請求項 8 1 ～8 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 0】

積層する前記ステップにおける前記試薬の前記層の前記体積 V_R が、前記上清の少なくとも一部の前記体積 V_S の少なくとも 8 5 % である、請求項 8 1 ～8 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 1】

前記試料を組み合わせる前記ステップにおける V_{UC} / V_{PC} 比が、約 0 . 7 5 ～約 1 . 2 5 の間である、請求項 8 1 ～8 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 2】

前記試料を組み合わせる前記ステップにおける V_{UC} / V_{PC} 比が、約 0 . 6 0 ～約 1 . 1 0 の間である、請求項 8 1 ～8 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 3】

前記試料を組み合わせる前記ステップにおける V_{UC} / V_{PC} 比が、約 1 . 2 5 ～約 1 . 7 5 の間である、請求項 8 1 ～8 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 4】

前記単核球溶液が幹細胞を含む、請求項 8 1 ～9 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 5】

前記組成物を低温貯蔵するステップを更に含む、請求項 8 1 ～9 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 6】

デキストロス溶液中の前記低分子量デキストランが、LMD（デキストラン 4 0）を含む、請求項 8 1 ～9 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 7】

前記組成物が 1 又は複数の生物活性剤を含む、請求項 8 1 ～9 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9 8】

1 つ又は複数の生物活性剤が、1 つ又は複数のサイトカインを含む、請求項 9 7 に記載の方法。

【請求項 9 9】

1 つ又は複数の生物活性剤が、1 つ又は複数の増殖因子を含む、請求項 9 7 に記載の方法。

【請求項 1 0 0】

1 つ又は複数の前記生物活性剤が、ヒト臍帯血を含む試料に由来する、請求項 9 7 に記載の方法。

【請求項 1 0 1】

1 つ又は複数の前記生物活性剤が、ヒト臍帯血を含む試料ではないヒト臍帯血に由来する、請求項 9 7 に記載の方法。

【請求項 102】

1つ又は複数の生物活性剤が、市販ヒトアルブミン又は市販ヒトアルブミン血清に由来する、請求項97に記載の方法。

【請求項 103】

対象への移植のために構成される、生体成長に影響する組成物を作製する方法であって、

ヒト臍帯血を含み、第1の体積 V_{UC} を有する試料であって、ヒト臍帯血が赤血球、赤血球以外の細胞、及び非細胞物質を含む試料を得るステップと、

ヒト臍帯血を含む前記試料を、第1のフレキシブル容器において体積 V_{PC} を有する、ある量のPrepaCyte-CB又はその同等物と混合するステップであり、 V_{UC}/V_{PC} 比が約0.60～約1.75の間であるステップと、

混合物を前記第1のフレキシブル容器において、上清が形成されるまで少なくとも20分間残存させるステップと、

上清の少なくとも一部を、前記第1のフレキシブル容器から第2のフレキシブル容器へと、前記第1のフレキシブル容器と前記第2のフレキシブル容器を連結するコンジットを介して進めるステップと、

前記第2のフレキシブル容器の内容物に十分な遠心力をかけるステップであって、単核球を実質的に含む少なくとも1つの新しい層を形成させるステップと、

単核球を実質的に含む前記層の少なくとも一部を、試薬と組み合わせて、単核球溶液を作り出すステップと、

前記単核球溶液の少なくとも一部中の生細胞の総数 N_L を決定するステップであり、前記単核球溶液の少なくとも一部が体積 V_M を有するステップと、

組み合わせた組成物にアルブミンを添加するステップと、を含む方法。

【請求項 104】

デキストロース溶液中の体積 V_D の低分子量デキストランを、前記単核球溶液の少なくとも一部に添加するステップであり、前記体積 V_D が、生細胞の総数 N_L に少なくとも部分的に基づいて、1ml当たり100,000個～7500万個の間の生単核球の濃度を有する調整組成物を作り出すステップをさらに含む、請求項103に記載の方法。

【請求項 105】

デキストロース溶液中の体積 V_D の低分子量デキストランを、前記単核球溶液の少なくとも一部に添加するステップであり、前記体積 V_D が、生細胞の総数 N_L に少なくとも部分的に基づいて、1ml当たり750,000個～3000万個の間の生単核球の濃度を有する調整組成物を作り出すステップをさらに含む、請求項103に記載の方法。

【請求項 106】

デキストロース溶液中の体積 V_D の低分子量デキストランを、前記単核球溶液の少なくとも一部に添加するステップであり、前記体積 V_D が、生細胞の総数 N_L に少なくとも部分的に基づいて、1ml当たり1000万個～3000万個の間の生単核球の濃度を有する調整組成物を作り出すステップをさらに含む、請求項103に記載の方法。

【請求項 107】

デキストロース溶液中の体積 V_D の低分子量デキストランを、前記単核球溶液の少なくとも一部に添加するステップであり、前記体積 V_D が、生細胞の総数 N_L に少なくとも部分的に基づいて、1ml当たり1000万個～2000万個の間の生単核球の濃度を有する調整組成物を作り出すステップをさらに含む、請求項103に記載の方法。

【請求項 108】

前記組成物のpHを決定するステップをさらに含む、請求項103～107のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 109】

前記組成物のpHを、4.1～8.5の間であるように調整するステップをさらに含む、請求項108に記載の方法。

【請求項 110】

前記 pH が、4.1～7.2の間である、請求項 109 に記載の方法。

【請求項 111】

前記 pH が、5.0～6.2の間である、請求項 110 に記載の方法。

【請求項 112】

前記試料を混合する前記ステップにおける V_{UC} / V_{PC} 比が、約 0.75～約 1.25の間である、請求項 103～107 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 113】

前記試料を混合する前記ステップにおける V_{UC} / V_{PC} 比が、約 0.60～約 1.10の間である、請求項 103～107 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 114】

前記試料を混合する前記ステップにおける V_{UC} / V_{PC} 比が、約 1.25～約 1.75の間である、請求項 103～107 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 115】

対象への移植のために構成される、生体成長に影響する組成物を作製する方法であって、

ヒト臍帯血を含み、第 1 の体積 V_{UC} を有する試料であって、ヒト臍帯血が赤血球、赤血球以外の細胞、及び非細胞物質を含む試料を得るステップと、

ヒト臍帯血を含む前記試料を、体積 V_{PC} を有する、ある量の PrepaCyt-CB 又はその同等物と組み合わせるステップであり、上清が形成されるように、 V_{UC} / V_{PC} 比が約 0.60～約 1.75の間であるステップと、

容器内で、上清の少なくとも一部を、単核球を単離するために構成される試薬の層に積層するステップであり、前記上清の少なくとも一部がカラム高 CH_S を有し、前記試薬の前記層がカラム高 CH_R を有し、カラム高 CH_R が、前記上清の少なくとも一部のカラム高 CH_S の少なくとも 67% であるステップと、

前記容器の内容物に十分な遠心力をかけるステップであって、カベクトルを前記容器の閉鎖端に向けて、単核球を実質的に含む少なくとも 1 つの新しい層を形成させるステップと、

単核球を実質的に含む前記層の少なくとも一部を、乳酸加リンゲル液又はその同等物と組み合わせて、単核球溶液を作り出すステップと、

前記単核球溶液の少なくとも一部中の生細胞の総数 N_L を決定するステップであり、前記単核球溶液の少なくとも一部が体積 V_M を有するステップと、

デキストロス溶液中の体積 V_D の低分子量デキストランを、前記単核球溶液の少なくとも一部に添加するステップであって、前記体積 V_D が、生細胞の総数 N_L に少なくとも部分的に基づく、ステップと、を含む方法。

【請求項 116】

アルブミンを添加するステップを更に含む、請求項 115 に記載の方法。

【請求項 117】

前記添加するステップにより、生単核球の濃度が 1 ml 当たり 100,000 個～7500 万個の間となる、請求項 115 に記載の方法。

【請求項 118】

前記添加するステップにより、生単核球の濃度が 1 ml 当たり 750,000 個～3000 万個の間となる、請求項 115 に記載の方法。

【請求項 119】

前記添加するステップにより、生単核球の濃度が 1 ml 当たり 1000 万個～3000 万個の間となる、請求項 115 に記載の方法。

【請求項 120】

前記添加するステップにより、生単核球の濃度が 1 ml 当たり 1000 万個～2000 万個の間となる、請求項 115 に記載の方法。

【請求項 1 2 1】

前記組成物の pH を決定するステップをさらに含む、請求項 1 1 5 ～ 1 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 2】

前記組成物の pH を、4. 1 ～ 8. 5 の間であるように調整するステップをさらに含む、請求項 1 2 1 に記載の方法。

【請求項 1 2 3】

カラム高 CH_R が、前記上清の少なくとも一部のカラム高 CH_S の少なくとも 75 % である、請求項 1 1 5 ～ 1 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 4】

カラム高 CH_R が、前記上清の少なくとも一部のカラム高 CH_S の少なくとも 85 % である、請求項 1 1 5 ～ 1 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 5】

前記試料を組み合わせるステップにおける V_{UC} / V_{PC} 比が、約 0. 75 ～ 約 1. 25 の間である、請求項 1 1 5 ～ 1 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 6】

前記試料を組み合わせるステップにおける V_{UC} / V_{PC} 比が、約 0. 60 ～ 約 1. 10 の間である、請求項 1 1 5 ～ 1 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 7】

前記試料を組み合わせるステップにおける V_{UC} / V_{PC} 比が、約 1. 25 ～ 約 1. 75 の間である、請求項 1 1 5 ～ 1 2 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 8】

前記単核球溶液が幹細胞を含む、請求項 1 1 5 ～ 1 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2 9】

前記組成物を低温貯蔵するステップを更に含む、請求項 1 1 5 ～ 1 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3 0】

デキストロース溶液中の前記低分子量デキストランが、LMD（デキストラン 40）を含む、請求項 1 1 5 ～ 1 2 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3 1】

前記組成物が 1 又は複数の生物活性剤を含む、請求項 1 1 5 ～ 1 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3 2】

1 つ又は複数の生物活性剤が、1 つ又は複数のサイトカインを含む、請求項 1 3 1 に記載の方法。

【請求項 1 3 3】

1 つ又は複数の生物活性剤が、1 つ又は複数の増殖因子を含む、請求項 1 3 1 に記載の方法。

【請求項 1 3 4】

1 つ又は複数の前記生物活性剤が、ヒト臍帯血を含む試料に由来する、請求項 1 3 1 に記載の方法。

【請求項 1 3 5】

1 つ又は複数の前記生物活性剤が、ヒト臍帯血を含む試料ではないヒト臍帯血に由来する、請求項 1 3 1 に記載の方法。

【請求項 1 3 6】

1 つ又は複数の生物活性剤が、市販ヒトアルブミン又は市販ヒトアルブミン血清に由来する、請求項 1 3 1 に記載の方法。

【請求項 1 3 7】

前記 pH を調整するステップの後に、pH が 4. 1 ～ 7. 2 の間である、請求項 8 8、1 0 9、又は 1 2 2 に記載の方法。

【請求項 138】

前記 pH を調整するステップの後に、pH が 4.1 ～ 6.2 の間である、請求項 88、109、又は 122 に記載の方法。

【請求項 139】

前記 pH を調整するステップが、重炭酸ナトリウム粉末を添加するステップを含む、請求項 88、109、又は 122 に記載の方法。

【請求項 140】

前記アルブミンを添加するステップが、約 10 mg ～ 約 150 mg の間のアルブミンを、組み合わせた組成物の 1 ml 当たり添加するステップを含む、請求項 82、103、又は 116 に記載の方法。

【請求項 141】

前記アルブミンを添加するステップが、約 15 mg ～ 約 30 mg の間のアルブミンを、組み合わせた組成物の 1 ml 当たり添加するステップを含む、請求項 140 に記載の方法。

【請求項 142】

前記アルブミンを添加するステップが、約 80 mg ～ 約 150 mg の間のアルブミンを、組み合わせた組成物の 1 ml 当たり添加するステップを含む、請求項 140 に記載の方法。

【請求項 143】

ジメチルスルホキシド (DMSO) が、前記組成物に添加されない、請求項 81 ～ 142 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 144】

かける前記ステップが、遠心分離で回転させるステップを含む、請求項 81 ～ 143 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 145】

前記遠心力をかけるステップが、海面での重力加速度の少なくとも約 350 倍を前記内容物にかけるステップを含む、請求項 81 ～ 144 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 146】

単核球を単離するために構成される試薬が、Ficoll-Paque PREMIUM Centrifugation Media を含む、請求項 81 ～ 102 及び 115 ～ 136 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 147】

前記単核球溶液が、非増殖細胞集団を実質的に含む、請求項 81 ～ 143 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 148】

前記単核球溶液が、非ブール細胞集団を実質的に含む、請求項 81 ～ 143 及び 147 のいずれか一項に記載の方法。