

【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30年11月15日(2018.11.15)

【公表番号】特表2017-531448(P2017-531448A)

【公表日】平成29年10月26日(2017.10.26)

【年通号数】公開・登録公報2017-041

【出願番号】特願2017-537016(P2017-537016)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/0783 (2010.01)

A 6 1 P 31/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/17 (2015.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/51 (2015.01)

A 6 1 K 35/28 (2015.01)

【F I】

C 1 2 N 5/0783 Z N A

A 6 1 P 31/00

A 6 1 P 37/00

A 6 1 K 35/17 Z

C 1 2 M 1/00 A

A 6 1 K 35/51

A 6 1 K 35/28

【手続補正書】

【提出日】平成30年10月4日(2018.10.4)

【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】

支持体上に固定化された、IgGタンパク質のFc領域に融合されたDelta様-4リガンドの可溶性ドメインであるNotchリガンドの存在下で、ならびに、RGDSおよび/またはCS-1モチーフおよび/またはヘパリン結合ドメインを含むフィブロネクチンの断片の存在下で、培地においてCD34+細胞を曝露する工程を含む、T細胞前駆細胞を生成するためのインビトロの方法。

【請求項2】

CD34+細胞が、成人患者から単離されていることを特徴とする、請求項1記載の方法。

【請求項3】

フィブロネクチンの断片の存在下でのCD34+細胞のNotchリガンドへの曝露時間が、10日未満であることを特徴とする、請求項1および2のいずれか記載の方法。

【請求項4】

前記細胞のNotchリガンドおよびフィブロネクチン断片への曝露時間が、3～8日間であることを特徴とする、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

【請求項5】

IgGタンパク質がIgG2であることを特徴とする、請求項1～4のいずれか一項記載の方法

。

【請求項 6】

フィブロネクチン断片がRGDSモチーフおよび / またはCS-1モチーフおよび / またはヘパリン結合ドメインを含むことを特徴とする、請求項1～5のいずれか一項記載の方法。

【請求項 7】

フィブロネクチン断片がRetronectin（登録商標）であることを特徴とする、請求項1～6のいずれか一項記載の方法。

【請求項 8】

フィブロネクチン断片が培養容器の下面に固定化されているかまたはビーズに結合していることを特徴とする、請求項1～7のいずれか一項記載の方法。

【請求項 9】

培地が、CD34+細胞のNotchリガンドへの曝露時間の少なくとも一部の期間中での該CD34+細胞のトランスフェクションを目的とするウイルスベクターもまた含有することを特徴とする、請求項1～8のいずれか一項記載の方法。

【請求項 10】

培地が、少なくとも15%のFBS、好ましくは少なくとも20%のFBSを含有することを特徴とする、請求項1～9のいずれか一項記載の方法。

【請求項 11】

培地が、インターロイキン7（IL-7）、SCF（幹細胞因子）、トロンボポエチン（TPO）、およびFlt3リガンド（FLT3L）からなる群より選択される少なくとも3種のサイトカインまたは成長因子を含むことを特徴とする、請求項1～10のいずれか一項記載の方法。

【請求項 12】

培地が、インターロイキン7、SCF、トロンボポエチン、およびFlt3リガンドを含むことを特徴とする、請求項1～11のいずれか一項記載の方法。

【請求項 13】

培地が、他のサイトカインまたは成長因子を含まないことを特徴とする、請求項12記載の方法。

【請求項 14】

請求項1～13のいずれか一項記載の方法を実施する工程、および生成されたT細胞前駆細胞を精製する工程を含む、T細胞前駆細胞を調製するための方法。

【請求項 15】

患者への注射のために前記T細胞前駆細胞をバッグにパッケージングする工程もまた含むことを特徴とする、請求項14記載の方法。

【請求項 16】

IgGタンパク質のFc領域に融合された、Delta様-4リガンドの可溶性ドメインであるNotchリガンドと、RGDSモチーフおよび / またはCS-1モチーフおよび / またはヘパリン結合ドメインを含むフィブロネクチンの断片とが、その表面の少なくとも1つに固定化されていることを特徴とする、細胞培養容器。

【請求項 17】

フィブロネクチン断片がRGDSモチーフおよび / またはCS-1モチーフおよび / またはヘパリン結合ドメインを含む、請求項16記載の細胞培養容器。

【請求項 18】

フラスコまたはバッグである、請求項16または請求項17記載の細胞培養容器。

【請求項 19】

IgGタンパク質のFc領域に融合された、Delta様-4リガンドの可溶性ドメインであるNotchリガンドと、RGDSモチーフおよび / またはCS-1モチーフおよび / またはヘパリン結合ドメインを含むフィブロネクチンの断片とが、その表面に固定化されていることを特徴とする、ビーズ。

【請求項 20】

フィブロネクチン断片がRGDSモチーフおよび / またはCS-1モチーフおよび / またはヘパリン結合ドメインを含む、請求項19記載のビーズ。

【請求項 2 1】

前記Notchリガンドおよび前記フィブロネクチン断片を含む溶液で細胞培養容器を覆う工程を含む、請求項15～18のいずれか一項記載の細胞培養容器を得るための方法。

【請求項 2 2】

請求項1～15のいずれか一項記載の方法により取得することが可能なT細胞前駆細胞。

【請求項 2 3】

形質転換された、または関心対象の遺伝子をT細胞前駆細胞に導入するためにトランスフェクションされた、請求項22記載のT細胞前駆細胞。

【請求項 2 4】

請求項22または23記載のT細胞前駆細胞を含む、免疫抑制された患者の処置に使用するための組成物。

【請求項 2 5】

免疫抑制された患者が、遺伝性免疫不全、白血病のための化学療法、コンディショニング、幹細胞のみを含有する移植、GVH（移植片対宿主疾患）のための移植後の予防的処置、レシピエントの年齢、感染タイプの合併症、または骨髄移植前の治療に続くその免疫細胞の枯渇に起因する免疫不全を呈する、請求項24記載のT細胞前駆細胞を含む組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 3 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 3 8】

本発明による方法は、容器（細胞培養ディッシュ（ペトリディッシュ、24ウェルプレートなど））中でNotchリガンドが固定化されている下壁の上で、インビトロで実施される。Notchリガンドはまた、反応培地中に存在する任意の他の支持体上に、特にマイクロビーズの表面に固定化することもできる。Notchリガンドの固定化の目的は、本質的には、Notch受容体を活性化させるようにリガンドを安定化することである。

[本発明1001]

支持体上に固定化された、IgGタンパク質のFc領域に融合されたDelta様-4リガンドの可溶性ドメインであるNotchリガンドの存在下で、ならびに、RGDSおよびCS-1モチーフとヘパリン結合ドメインとを含むフィブロネクチンの断片の存在下で、培地においてCD34+細胞を曝露する工程を含む、T細胞前駆細胞を生成するためのインビトロの方法。

[本発明1002]

CD34+細胞が、成人患者から単離されていることを特徴とする、本発明1001の方法。

[本発明1003]

フィブロネクチンの断片の存在下でのCD34+細胞のNotchリガンドへの曝露時間が、10日未満であることを特徴とする、本発明1001および1002のいずれかの方法。

[本発明1004]

前記細胞のNotchリガンドおよびフィブロネクチン断片への曝露時間が、3～8日間であることを特徴とする、本発明1001～1003のいずれかの方法。

[本発明1005]

IgGタンパク質がIgG2であることを特徴とする、本発明1001～1004のいずれかの方法。

[本発明1006]

フィブロネクチン断片がRetronectin（登録商標）であることを特徴とする、本発明1001～1005のいずれかの方法。

[本発明1007]

フィブロネクチン断片が培養容器の下面に固定化されていることを特徴とする、本発明1001～1006のいずれかの方法。

[本発明1008]

培地が、CD34+細胞のNotchリガンドへの曝露時間の少なくとも一部の期間中での該CD34

+細胞のトランスフェクションを目的とするウイルスベクターもまた含有することを特徴とする、本発明1001～1007のいずれかの方法。

[本発明1009]

培地が、少なくとも15%のFBS、好ましくは少なくとも20%のFBSを含有することを特徴とする、本発明1001～1008のいずれかの方法。

[本発明1010]

培地が、インターロイキン7 (IL-7)、SCF (幹細胞因子)、トロンプオエチン (TPO)、およびFlt3リガンド (FLT3L) からなる群より選択される少なくとも3種のサイトカインまたは成長因子を含むことを特徴とする、本発明1001～1009のいずれかの方法。

[本発明1011]

培地が、インターロイキン7、SCF、トロンプオエチン、およびFlt3リガンドを含むことを特徴とする、本発明1001～1009のいずれかの方法。

[本発明1012]

培地が、他のサイトカインまたは成長因子を含まないことを特徴とする、本発明1011の方法。

[本発明1013]

本発明1001～1012のいずれかの方法を実施する工程、および生成されたT細胞前駆細胞を精製する工程を含む、T細胞前駆細胞を調製するための方法。

[本発明1014]

患者への注射のために前記T細胞前駆細胞をバッグにパッケージングする工程もまた含むことを特徴とする、本発明1013の方法。

[本発明1015]

IgGタンパク質のFc領域に融合された、Delta様-4リガンドの可溶性ドメインであるNotchリガンド、ならびに、RGDSおよびCS-1モチーフとヘパリン結合ドメインとを含むフィブロネクチンの断片が、その表面の少なくとも1つに固定化されていることを特徴とする、細胞培養容器。