

【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】令和2年3月5日(2020.3.5)

【公開番号】特開2019-103521(P2019-103521A)
 【公開日】令和1年6月27日(2019.6.27)
 【年通号数】公開・登録公報2019-025
 【出願番号】特願2019-71292(P2019-71292)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 5/078 (2010.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/078

C 1 2 M 1/00 C

【手続補正書】

【提出日】令和2年1月22日(2020.1.22)

【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】

ヒト多能性幹細胞由来のナチュラルキラー(NK)系細胞を生成する方法であって、該方法は、

(i) ヒト多能性幹細胞を、BMP活性化因子を含む組成物と接触させて細胞分化および拡大させて、ヒト多能性幹細胞由来の中胚葉細胞を得るステップと、

(ii) 該ヒト多能性幹細胞由来の中胚葉細胞を、BMP活性化因子、bFGF、およびGSK3阻害剤を含む組成物と接触させて細胞分化および拡大させるステップであって、該組成物が、TGF受容体阻害剤を含まない、ステップと、

(iii) ステップ(ii)の接触された細胞を、ROCK阻害剤とbFGF、VEGF、SCF、IL6およびIL11からなる群から選択される1または複数の増殖因子およびサイトカインを含む組成物と接触させて細胞分化および拡大させて、ヒト多能性幹細胞由来の二次造血内皮を得るステップであって、該組成物が、TGF受容体阻害剤を含まない、ステップと、

(iv) 該ヒト多能性幹細胞由来の二次造血内皮を、SCF、Flt3L、IL3、IL7、およびIL15からなる群から選択される1または複数の増殖因子およびサイトカインを含む組成物と接触させて、該ヒト多能性幹細胞由来のNK系細胞を生成するステップであって、該組成物が、VEGF、bFGF、BMP活性化因子およびROCK阻害剤のうちの1つまたは複数を含まないか、または実質的に含まない、ステップとを含む、方法。

【請求項2】

前記ヒト多能性幹細胞と接触させる組成物が、bFGFをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記方法が、
 播種されたヒト多能性幹細胞、多能性幹細胞由来の中胚葉細胞、および/または二次造血内皮を、約2%~約10%の低酸素圧下に置くステップ;あるいは
 ステップ(i)の前に、ヒト多能性幹細胞をMEK阻害剤、GSK3阻害剤、およびR

OCCK阻害剤を含む組成物と接触させて、該細胞を播種し、拡大するステップであって、該組成物が、TGF受容体阻害剤を含まないか、またはヒト多能性幹細胞由来のNK系細胞を生成することが、胚様体の発生を欠く；単層培養下にある；フィーダーフリー条件下にある；および/または間質フリー条件下にあるか、または

該ヒト多能性幹細胞が、人工多能性幹細胞(iPSC)またはナイーブiPSCである、

ステップと

をさらに含む、請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

前記ヒト多能性幹細胞由来のNK系細胞が、多能性幹細胞由来のプレNK細胞前駆体、NK細胞前駆体、またはNK細胞を含む、請求項3記載の方法。

【請求項5】

前記ヒト多能性幹細胞が、iPSCまたはナイーブiPSCである、請求項1に記載の方法。

【請求項6】

前記GSK3阻害剤がCHIR99021を含むか、または前記BMP活性化因子がBMP4を含むか、または前記ROCK阻害剤がチアゾピピンまたはY-27632を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項7】

ヒト多能性幹細胞由来のNK細胞を生成するための分化プラットフォームであって、該分化プラットフォームは、

(i) BMP活性化因子を含む培養培地であって、該培地は、ヒト多能性幹細胞由来の中胚葉細胞をヒト多能性幹細胞から分化および拡大させるのに適している、培地と、

(ii) BMP活性化因子、bFGF、およびGSK3阻害剤を含み、TGF受容体阻害剤を含まない培養培地と、

(iii) ROCK阻害剤とbFGF、VEGF、SCF、IL6およびIL11からなる群から選択される1または複数の増殖因子およびサイトカインを含み、TGF受容体阻害剤を含まない培養培地であって、該培地が、ヒト多能性幹細胞由来の二次造血内皮を(ii)における培養培地と接触させられた細胞から分化させるのに適している、培地と、

(iv) SCF、Flt3L、IL3、IL7、およびIL15からなる群から選択される1または複数の増殖因子およびサイトカインを含む培養培地であって、該培地が、VEGF、bFGF、BMP活性化因子およびROCK阻害剤のうちの1つまたは複数を含まず、ヒト多能性幹細胞由来の二次造血内皮をヒト多能性幹細胞由来のNK細胞前駆体またはNK細胞へと分化させるのに適している、培地と

を含む、分化プラットフォーム。

【請求項8】

(i)における培養培地がbFGFをさらに含む、請求項7に記載の分化プラットフォーム。

【請求項9】

(a)(v) MEK阻害剤、GSK3阻害剤、およびROCK阻害剤を含み、TGF受容体阻害剤を含まない培養培地であって、該培地が、ヒト多能性幹細胞を播種および拡大するのに適している、培地をさらに含む、

(b) 該ヒト多能性幹細胞がiPSCまたはナイーブiPSCである、請求項7に記載の分化プラットフォーム。