

【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22年3月4日 (2010.3.4)

【公表番号】特表2009-523438(P2009-523438A)

【公表日】平成21年6月25日 (2009.6.25)

【年通号数】公開・登録公報2009-025

【出願番号】特願2008-550832(P2008-550832)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/07 (2010.01)

A 6 1 K 35/12 (2006.01)

A 6 1 P 19/08 (2006.01)

A 6 1 P 19/04 (2006.01)

A 6 1 P 9/04 (2006.01)

A 6 1 P 25/16 (2006.01)

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/06 (2006.01)

A 6 1 P 29/00 (2006.01)

A 6 1 P 19/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/00 E

A 6 1 K 35/12

A 6 1 P 19/08

A 6 1 P 19/04

A 6 1 P 9/04

A 6 1 P 25/16

A 6 1 P 25/00 1 0 1

A 6 1 P 37/06

A 6 1 P 29/00 1 0 1

A 6 1 P 19/10

【手続補正書】

【提出日】平成22年1月18日 (2010.1.18)

【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】

(a) 細胞と細胞外マトリックスとを含む組織試料を、液体培地中で細胞外マトリックスから間充織幹細胞 (MSC) を遊離させるのに十分な量のコラゲナーゼで処理する工程、および

(b) 間充織幹細胞 (MSC) を含む培地のフラクションを分離する工程を含む、間充織幹細胞 (MSC) を分離し、富化する方法。

【請求項 2】

前記組織試料が骨髓から得られる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記試料が、胎盤、胸骨または大腿骨からのパンチ生検である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記組織試料が浮遊脂肪フラクション（ F F F ）を含む、請求項 1 から 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 5】

前記組織試料が、骨髄穿刺液、滑膜および脂肪体を含む群より選択された組織から得られる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記試料を、0.25% コラゲナーゼを含む緩衝液中に入れる、請求項 1 から 5 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 7】

前記試料をコラゲナーゼで 3 ~ 4 時間の間処理する、請求項 1 から 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 8】

M S C を含む前記フラクションが、単一細胞を含むフラクションを分離するために、固体を除去し、そして、液体培地を遠心分離することによって得られる、請求項 1 から 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 9】

工程（ a ）が 2 回の別々のコラゲナーゼ消化を含む、請求項 1 から 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 10】

工程（ a ）がヒアルロニダーゼ消化をさらに含む、請求項 1 から 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 11】

前記組織試料が骨であり、前記間充織幹細胞（ M S C ）が骨修復用である、請求項 9 または 10 に記載の方法。

【請求項 12】

工程（ b ）が、さらなる富化工程をさらに含む、請求項 1 から 11 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 13】

前記さらなる富化工程が磁気ビーズを使用する、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記さらなる富化工程が、蛍光励起細胞選別機（ F A C S ）による選別を含む、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 15】

前記さらなる富化工程が、表 1 で特定されたマーカーのうちの 1 つによって特徴づけられる表現型を有する間充織幹細胞（ M S C ）を分離することに基づく、請求項 12 から 14 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 16】

前記表現型が、 $CD45^{low}LNGFR^{+}$ 、 $CD45^{low}D7-FIB^{+}LNGFR^{+}$ または $CD45^{low}D7-FIB^{+}$ である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

請求項 1 ~ 16 のいずれか 1 つによって特定された方法に従って富化された分離間充織幹細胞（ M S C ）。

【請求項 18】

薬剤としての使用のための、請求項 17 に記載の分離間充織幹細胞（ M S C ）。

【請求項 19】

細胞療法における使用のための、請求項 18 に記載の薬剤。

【請求項 20】

前記間充織幹細胞（ M S C ）が、遺伝子治療における使用のために遺伝的に操作されている、請求項 18 または 19 に記載の薬剤。

【請求項 2 1】

コラゲナーゼを含む間充織幹細胞（MSC）を富化するためのキット。

【請求項 2 2】

（a）間充織幹細胞（MSC）と細胞外マトリックスとを含む組織試料を被験者から得る工程、

（b）前記組織試料を、液体培地中で細胞外マトリックスから間充織幹細胞（MSC）を遊離させるのに十分な量のコラゲナーゼで処理する工程、

（c）間充織幹細胞（MSC）を含む培地のフラクションを分離する工程、および

（d）細胞療法から利益を得ることを可能にする身体部位で前記フラクションを前記被験者に再導入する工程

を含む、治療を必要とする被験者に細胞療法を実施する方法。

【請求項 2 3】

（a）間充織幹細胞（MSC）と細胞外マトリックスとを含む組織試料を死体またはドナーから得る工程、

（b）前記組織試料を、液体培地中で細胞外マトリックスから間充織幹細胞（MSC）を遊離させるのに十分な量のコラゲナーゼで処理する工程、

（c）間充織幹細胞（MSC）を含む培地のフラクションを分離する工程、および

（d）細胞療法から利益を得ることを可能にする身体部位で前記フラクションを前記被験者に導入する工程

を含む、治療を必要とする被験者に細胞療法を実施する方法。