

【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】

前記組織試料が骨髄から得られる、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(FFF)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、骨髓穿刺液、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】

MSC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(MSC)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、螢光励起細胞選別機(FACS)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(MSC)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^{1°W}LNGFR⁺、CD45^{1°W}D7-FIB⁺LNGFR⁺またはCD45^{1°W}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(MSC)。

【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(MSC)。

【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(MSC)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（M S C）を富化するためのキット。

【請求項 2 2】

（a）間充織幹細胞（M S C）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（M S C）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（M S C）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（M S C）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（M S C）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（M S C）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。