

【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29年4月20日(2017.4.20)

【公表番号】特表2016-513472(P2016-513472A)

【公表日】平成28年5月16日(2016.5.16)

【年通号数】公開・登録公報2016-029

【出願番号】特願2016-502468(P2016-502468)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/0789 (2010.01)

A 6 1 K 35/28 (2015.01)

A 6 1 K 35/54 (2015.01)

A 6 1 K 35/15 (2015.01)

A 6 1 L 27/00 (2006.01)

A 6 1 P 9/10 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 37/00 (2006.01)

A 6 1 P 7/04 (2006.01)

A 6 1 P 7/06 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/0789

A 6 1 K 35/28

A 6 1 K 35/54

A 6 1 K 35/15 A

A 6 1 L 27/00 V

A 6 1 P 9/10

A 6 1 P 35/02

A 6 1 P 37/00

A 6 1 P 7/04

A 6 1 P 7/06

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00 1 1 1

【手続補正書】

【提出日】平成29年3月14日(2017.3.14)

【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) 約1%～約20%の多糖;及び

(b) 化学的に定義された細胞培養培地

を含み、ウシ胎仔血清を含まない、培養培地。

【請求項2】

前記多糖がデキストランである、請求項1記載の培養培地。

【請求項3】

前記多糖が：

(a)デキストラン-1、デキストラン-10、デキストラン-20、デキストラン-30、及びデキストラン-40からなる群より選択されるデキストラン；又は

(b)デキストラン-40である、

請求項1記載の培養培地。

【請求項4】

前記多糖が、ヒドロキシエチルスターチ(HES)である、請求項1記載の培養培地。

【請求項5】

前記多糖が：

(a)ヘタスターチ、ヘキサスターチ、ペンタスターチ、及びテトラスターチからなる群より選択されるHES；又は

(b)ヘタスターチである、

請求項1記載の培養培地。

【請求項6】

(a)約1%～約5%の多糖；又は

(b)約10%の多糖を含む、

請求項1から5のいずれか一項記載の培養培地。

【請求項7】

約1%～約5%のHSAを含む、請求項1から6のいずれか一項記載の培養培地。

【請求項8】

前記化学的に定義された細胞培養培地が：StemSpan-ACF、StemSpan-H3000、StemSpan-SFEM、Stemline II、StemPro 34、StemXVivo、イスコフ改変ダルベッコ培地(IMDM)、ダルベッコ改変イーグル培地(DMEM)、ロズウェルパーク記念研究所培地(RPMI)1640培地、マッコイ5A培地、最小必須培地 培地(-MEM)、基礎培地イーグル(BME)、フィッシャー培地、培地199、F-12K栄養混合物培地(Kaighn改変、F-12K)、及びX-vivo 20からなる群より選択される、請求項1から7のいずれか一項記載の培養培地。

【請求項9】

前記化学的に定義された細胞培養培地が：

(a)StemSpan-ACF、StemSpan-H3000、及びStemSpan-SFEMからなる群より選択される；又は

(b)StemSpanである、

請求項1から8のいずれか一項記載の培養培地。

【請求項10】

前記化学的に定義された培養培地が：flt3-リガンド(FLT3)；トロンボポイエチン(TPO)、幹細胞因子(SCF)、上皮細胞増殖因子(EGF)、トランスフォーミング増殖因子-(TGF-)、塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)、インターロイキン-3(IL3)、インターロイキン-6(IL6)、及びインターロイキン-9(IL9)からなる群より選択される1つ以上の増殖因子又はサイトカインを含む、請求項1から9のいずれか一項記載の培養培地。

【請求項11】

(a)細胞の集団；及び

(b)請求項1から10のいずれか一項記載の培養培地を含む、組成物。

【請求項12】

前記細胞の集団が：骨髄細胞(BMC)、臍帯血細胞(UCBC)、胎盤血細胞、動員末梢血細胞(mPBC)、造血幹細胞(HSC)、造血前駆細胞(HPC)、及びCD34<sup>+</sup>細胞からなる群より選択される、請求項11記載の組成物。

【請求項13】

前記細胞の集団が：造血幹細胞(HSC)、造血前駆細胞(HPC)、及びCD34<sup>+</sup>細胞のうちの少なくとも1つを含む、請求項11又は12記載の組成物。

【請求項14】

細胞集団を調製する方法であって、細胞集団と請求項1から10記載の培養培地のいずれか1つとを接触させることを包含する、前記方法。

【請求項 15】

前記細胞集団が、凍結保存された細胞を含み、かつ前記方法が、前記培養培地中で該凍結保存された細胞を解凍することをさらに包含する、請求項14記載の方法。

【請求項 16】

前記細胞集団が、前記細胞の集団を前記培養培地と接触させる前に解凍された凍結保存された細胞を含む、請求項14記載の方法。

【請求項 17】

(a) 前記接触させた細胞集団の細胞溶解が、対照の培養培地と接触させた対照の細胞集団の細胞溶解と比較して、約10%、約20%、約30%、約40%又は約50%低下する；

(b) 前記細胞集団が造血細胞集団を含み、前記培養培地と接触させた該造血細胞集団からのTNCの回収が、対照の培養培地と接触させた対照の造血細胞集団からのTNCの回収と比較して、約10%、約20%、約30%、又は約50%増大する；又は

(c) 前記細胞集団が造血細胞集団を含み、該造血細胞集団がCD34<sup>+</sup>細胞の精製された集団であり、前記培養培地と接触させたCD34<sup>+</sup>細胞の該集団の生存度が、対照の培養培地と接触させた対照の細胞集団のCD34<sup>+</sup>細胞生存度と比較して、約10%、約20%、約30%、約40%又は約50%増大する、請求項14から16のいずれか一項記載の方法。

【請求項 18】

前記細胞集団が、生体外で調節される、請求項14から17のいずれか一項記載の方法。

【請求項 19】

前記調節が、前記細胞集団と:cAMPアナログ又はエンハンサー、G<sub>s</sub>-s活性化因子、及びプロスタグランジン経路アゴニストからなる群より選択される少なくとも1つの作用剤とを接触させることを含む、請求項18記載の方法。

【請求項 20】

前記プロスタグランジン経路アゴニストが

(a) 選択的にPGE2 EP2又はPGE2 EP4受容体に結合する；

(b) PGE2、又はPGE2アナログ又は誘導体を含む；

(c) PGE2、16,16-dmPGE2、15(S)-15-メチルPGE2、20-エチルPGE2、及び8-イソ-16-シクロヘキシル-テトラノールPGE2からなる群より選択される；又は

(d) 16,16-dmPGE2を含む、請求項19記載の方法。

【請求項 21】

前記細胞集団を、前記少なくとも1つの作用剤と約1時間～約24時間接触させる、請求項14から20のいずれか一項記載の方法。

【請求項 22】

前記細胞集団を、前記少なくとも1つの作用剤と約25℃～約37℃の温度で接触させる、請求項14から21のいずれか一項記載の方法。

【請求項 23】

前記細胞集団が、造血細胞を含み、かつ接触させることが、該造血細胞と10 μMの16,16-dmPGE2とを約37℃で、約2時間接触させることを包含する、請求項14から22のいずれか一項記載の方法。

【請求項 24】

(a) CREM、GEM、NR4A2、NR4A3、IL1A、COX2、HEY1、CXCL2、CXCL3、及びULBP2からなる群より選択される少なくとも2つの遺伝子の発現が、対照の調節されていない細胞集団における少なくとも2つの遺伝子の発現と比較して、前記細胞集団中で約20倍増大する；

(b) CREM、GEM、NR4A2、NR4A3、IL1A、COX2、HEY1、CXCL2、CXCL3、及びULBP2からなる群より選択される少なくとも5つの遺伝子の発現が、対照の調節されていない細胞集団における少なくとも5つの遺伝子の発現と比較して、前記細胞集団中で約10倍、約3倍、又は約2倍増大する；又は

(c) 遺伝子CREM、GEM、NR4A2、NR4A3、IL1A、COX2、HAS1、CXCL2、CXCL3、及びCXCR4の

発現が、対照の調節されていない細胞集団における遺伝子の発現と比較して、前記細胞集団中で約3倍又は約2倍増大する、請求項14から23のいずれか一項記載の方法。

【請求項 2 5】

約25 ~ 約37 の温度で約1 ~ 約24時間の間、プロスタグランジン経路を調節する少なくとも1つの作用剤と解凍された全臍帯血サンプルとを接触させることによって調節される該サンプル中で、少なくとも70%のTNCを維持する、請求項1から10のいずれか一項記載の培養培地。

【請求項 2 6】

前記少なくとも1つの作用剤が：

(a) cAMPアナログ又はエンハンサー、G<sub>s</sub>-活性化因子、及びプロスタグランジン経路アゴニスト；

(b) 選択的にPGE<sub>2</sub> EP<sub>2</sub>又はPGE<sub>2</sub> EP<sub>4</sub>受容体に結合する作用剤；

(c) PGE<sub>2</sub>、又はPGE<sub>2</sub>アナログ又は誘導体を含む作用剤；

(d) PGE<sub>2</sub>、16,16-dmPGE<sub>2</sub>、15(S)-15-メチルPGE<sub>2</sub>、20-エチルPGE<sub>2</sub>、及び8-イソ-16-シクロヘキシル-テトラノールPGE<sub>2</sub>からなる群より選択される作用剤；又は

(e) 16,16-dmPGE<sub>2</sub>を含む作用剤である、請求項25記載の培養培地。

【請求項 2 7】

前記サンプルを、前記少なくとも1つの作用剤と、約1時間 ~ 約24時間の間接触させる、請求項25又は26記載の培養培地。

【請求項 2 8】

前記サンプルを、前記少なくとも1つの作用剤と約25 ~ 約37 の温度で接触させる、請求項25から27のいずれか一項記載の培養培地。

【請求項 2 9】

(a) CREM、GEM、NR4A2、NR4A3、IL1A、COX2、HEY1、CXCL2、CXCL3、及びULBP2からなる群より選択される少なくとも2つの遺伝子の発現が、対照の全臍帯血サンプル中の少なくとも2つの遺伝子の発現と比較して、前記接触させたサンプル中で約20倍増大する；

(b) CREM、GEM、NR4A2、NR4A3、IL1A、COX2、HEY1、CXCL2、CXCL3、及びULBP2からなる群より選択される少なくとも5つの遺伝子の発現が、対照の全臍帯血サンプル中の少なくとも5つの遺伝子の発現と比較して、前記接触させたサンプル中で約10倍、約3倍、又は約2倍増大する；又は

(c) 前記遺伝子CREM、GEM、NR4A2、NR4A3、IL1A、COX2、HEY1、CXCL2、CXCL3、及びULBP2の発現が、対照の全臍帯血サンプル中の遺伝子の発現と比較して、前記接触させたサンプル中で約10倍、約5倍、約3倍、又は約2倍増大する、請求項25から28のいずれか一項記載の培養培地。

【請求項 3 0】

前記化学的に定義された細胞培養培地が、イスコフ改変ダルベッコ培地(IMDM)、ウシ血清アルブミン、インスリン、トランスフェリン、及びビタミン類を含む、請求項1記載の培養培地。

【請求項 3 1】

前記培養培地がさらに：無水塩化カルシウム；硫酸銅；硝酸第二鉄；硫酸第二鉄；塩化カリウム；塩化マグネシウム；硫酸マグネシウム；塩化ナトリウム；炭酸水素ナトリウム；第一リン酸ナトリウム；第二リン酸ナトリウム；硫酸亜鉛；D-グルコース(デキストロース)；フェノールレッド；4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸(HEPES)；ヒポキサンチンナトリウム；リノール酸；DL-68-チオクト酸；ブトレシンナトリウム；ブトレシン8亜セレン酸ナトリウム；ビルビン酸ナトリウム；アラニン；アルギニン；アスパラギン；アスパラギン酸；システイン；システイン；グルタミン酸；グルタミン；グリシン；ヒスチジン；イソロイシン；ロイシン；リジン；メチオニン；フェニルアラニン；プロリン；セリン；トレオニン；トリプトファン；チロシン；バリン；ピオチン；D-パントテン酸カルシウム；塩化コリン；葉酸；L-イノシトール；ナイアシンアミド；ピリドキシン；リボフラビン；チアミン；チミジン；及びビタミンB12を含む、請求項1記載

の培養培地。

【請求項32】

前記培養培地がさらに：無水塩化カルシウム；硫酸銅 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ；0.0751mg/L 硝酸第二鉄 $9\text{H}_2\text{O}$ ；0.0209mg/L 硫酸第二鉄 $(\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$ ；306.969 mg/L 塩化カリウム；14.418mg/L 塩化マグネシウム；63.237mg/L 硫酸マグネシウム；5021.73mg/L 塩化ナトリウム；1100mg/L 炭酸水素ナトリウム；93.964mg/L 第一リン酸ナトリウム；35.753mg/L 第二リン酸ナトリウム $(\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$ ；0.217mg/L 硫酸亜鉛 $(\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$ ；3836.3mg/L D-グルコース(デキストロース)；8.127mg/L フェノールレッド；3099.505mg/L HEPES；1.203mg/L ヒポキサンチンNa；0.0211mg/L リノール酸；0.0528mg/L DL-68-チオクト酸；0.0407mg/L プトレシンナトリウム $2\text{HCl}$ ； $2.5 \times 10^{-6}$ mg/L プトレシン8亜セレン酸ナトリウム；40.1885mg/L ピルビン酸ナトリウム；3.24mg/L アラニン；116.255mg/L アルギニン $\text{HCl}$ ；4.19mg/L アスパラギン；3.347mg/L アスパラギン酸；9.445mg/L システイン $\text{H}_2\text{O}$ ；15.752mg/L システイン $2\text{HCl}$ ；3.7mg/L グルタミン酸；293.55mg/L グルタミン；24.439mg/L グリシン；36.847mg/L ヒスチジン $\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ ；79.921mg/L イソロイシン；82.227mg/L ロイシン；118.937mg/L リジン $\text{HCl}$ ；23.679mg/L メチオニン；50.861mg/L フェニルアラニン；12.564mg/L プロリン；34.214mg/L セリン；74.408mg/L トレオニン；12.54mg/L トリプトファン；64.086mg/L チロシン $2\text{Na}+2\text{H}_2\text{O}$ ；73.606mg/L バリン；0.00176mg/L ビオチン；3.127mg/L D-パントテン酸カルシウム；6.52mg/L 塩化コリン；3.334mg/L 葉酸；9.904mg/L i-イノシトール；3.079mg/L ナイアシンアミド；3.022mg/L ピリドキシン $\text{HCl}$ ；0.31mg/L リボフラビン；3.092mg/L チアミン $\text{HCl}$ ；0.183mg/L チミジン；及び0.512mg/L ビタミンB12を含む、請求項1記載の培養培地。