

【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3部門第2区分

【発行日】令和1年5月23日(2019.5.23)

【公表番号】特表2018-512440(P2018-512440A)

【公表日】平成30年5月17日(2018.5.17)

【年通号数】公開・登録公報2018-018

【出願番号】特願2017-554388(P2017-554388)

【国際特許分類】

A 6 1 K	36/185	(2006.01)
A 6 1 P	17/02	(2006.01)
A 6 1 K	38/27	(2006.01)
A 6 1 K	8/9789	(2017.01)
A 6 1 K	8/9794	(2017.01)
A 6 1 Q	19/00	(2006.01)
A 6 1 K	36/23	(2006.01)
A 6 1 K	36/9066	(2006.01)
A 6 1 K	36/55	(2006.01)
A 6 1 K	36/87	(2006.01)
A 6 1 K	36/28	(2006.01)
A 6 1 K	36/746	(2006.01)
A 6 1 K	36/30	(2006.01)
A 6 1 K	36/63	(2006.01)
A 6 1 K	36/82	(2006.01)
A 6 1 K	47/10	(2006.01)
A 6 1 K	9/10	(2006.01)
C 1 2 P	21/00	(2006.01)

【F I】

A 6 1 K	36/185
A 6 1 P	17/02
A 6 1 K	38/27
A 6 1 K	8/9789
A 6 1 K	8/9794
A 6 1 Q	19/00
A 6 1 K	36/23
A 6 1 K	36/9066
A 6 1 K	36/55
A 6 1 K	36/87
A 6 1 K	36/28
A 6 1 K	36/746
A 6 1 K	36/30
A 6 1 K	36/63
A 6 1 K	36/82
A 6 1 K	47/10
A 6 1 K	9/10
C 1 2 P	21/00

Z N A A

【手続補正書】

【提出日】平成31年4月10日(2019.4.10)

【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】

脱分化した植物細胞懸濁培地の増殖を先にサポートした無細胞上清または前記無細胞上清の画分を含む皮膚治療のための医薬であって、

前記無細胞上清または前記画分は、4～300アミノ酸長の、ペプチド植物成長因子、植物転写因子、エピジェネティック因子、およびこれらの混合物から選択されるペプチドを含み、

前記無細胞上清または前記画分は、細胞溶解による細胞質性細胞内含有物ならびに膜および/または細胞壁を有していない、医薬。

【請求項2】

前記無細胞上清または前記画分は、5～300アミノ酸長の、ペプチド植物成長因子、植物転写因子、およびこれらの混合物から選択されるペプチドを含み、前記無細胞上清または前記画分は、細胞溶解による細胞質性細胞内含有物ならびに膜および/または細胞壁を有していない、請求項1に記載の医薬。

【請求項3】

皮膚の瘢痕の治療のための、および/または皮膚創傷の治療のための、および/または皮膚の若返りの促進のためのものである、請求項1～2のいずれか一項に記載の医薬。

【請求項4】

前記脱分化した植物細胞培養懸濁液は、ニンジン(*Daucus carota*)、ツボクサ(*Centella asiatica*)、ザクロ(*Punica granatum*)、ワタ(*Gossypium herbaceum*)、*Sarcocapnos crassifolia*、ウコン(*Curcuma longa*)、アマ(*Linum usitatissimum*)、ブドウ(*Vitis vinifera*)、*Lithops pseudotruncatella*、アルニカ(*Arnica montana*)、ヤエヤマアオキ(*Morinda citrifolia*)、ヒレハリソウ(*Symphytum officinale*)、アサ(*Cannabis sativa*)、オリーブ(*Olea europaea*)、およびカメリアシネンシス(*Camellia sinensis*)からなる群から選択される植物由来である、請求項1～3のいずれか一項に記載の医薬。

【請求項5】

前記上清または前記無細胞上清の画分は、ファイトスルフォカイン-<sub>1</sub>(*PSK-1*)、ファイトスルフォカイン-<sub>2</sub>(*PSK-2*)、硫酸化チロシン-1を含む植物ペプチド(*PSY1*)、RALF(*Rapid Alkalinization Factor*)、管状要素分化抑制因子(*TDIF*)、*Clavata-3*(*CLV3*)、CLE(*Clavata-Embryo Surrounding Region-Related*)、*TPD1*(*Tapetum Determinant-1*)、表皮パターン形成因子-1(*EPF1*)、花の器官脱離欠損(*IDA*)、ESR(*Embryo Surrounding Region-Related*)、*Polaris*ペプチド(*PLS*)、根分裂組織成長因子(*RGF*)、EC1(*Egg Cell-Secreted Protein*)、CEP(*C-terminal ly Encoded peptide*)、初期ノジュリン40(*ENOD40*)、システミン、SCR(*S-locus Cystein Rich protein*)、およびこれらの混合物からなる群から選択される植物ペプチド成長因子を含む、請求項1～4のいずれか一項に記載の医薬。

【請求項6】

前記無細胞上清またはその画分は、

(a) 液体栄養培養培地で脆いカルス由来の脱分化した植物細胞を5～15日間

増殖させ、前記脱分化した植物細胞の増殖をサポートする馴化培地を得ることと、

(b) 前記細胞を溶解させることなく前記馴化培地から植物細胞全体を取り除き、4~300アミノ酸長の、ペプチド植物成長因子、植物転写因子、エピジェネティック因子、およびそれらの混合物から選択されるペプチドを含む無細胞上清を得ることと、

(c) 場合により、クロマトグラフィー、ろ過、限外ろ過、タンパク質沈殿、およびこれらの組み合わせからなる群から選択される分離技術を用いてタンパク質分離プロセスを実行し、前記無細胞上清の画分を得ることと、を含む方法によって得ることができる、請求項1~5のいずれか一項に記載の医薬。

#### 【請求項7】

前記無細胞上清またはその画分は、ステップ(b)の後に前記無細胞上清を凍結乾燥して、凍結乾燥上清を得ることを含む方法によって得ることができる、請求項6に記載の医薬。

#### 【請求項8】

前記無細胞上清またはその画分は、前記得られた凍結乾燥無細胞上清をさらに100~500倍濃縮することによって得ることができる、請求項7に記載の医薬。

#### 【請求項9】

前記脱分化した植物細胞懸濁培地は、 $1 \times 10^5$ 細胞/懸濁培地mL~ $1 \times 10^7$ 細胞/懸濁培地mLの、懸濁培地の体積単位あたりの細胞数として表される細胞密度で培養される、請求項1~8のいずれか一項に記載の医薬。

#### 【請求項10】

前記脱分化した植物細胞懸濁培地は、誘導プロセスを用いることによりストレス条件に供される、請求項1~9のいずれか一項に記載の医薬。

#### 【請求項11】

ニンジン(*Daucus carota*)、ツボクサ(*Centella asiatica*)、ザクロ(*Punica granatum*)、ワタ(*Gossypium herbaceum*)、*Sarcocapnos crassifolia*、ウコン(*Curcuma longa*)、アマ(*Linum usitatissimum*)、ブドウ(*Vitis vinifera*)、*Lithops pseudotruncatella*、アルニカ(*Arnica montana*)、ヤエヤマアオキ(*Morinda citrifolia*)、ヒレハリソウ(*Symphytum officinale*)、アサ(*Cannabis sativa*)、オリーブ(*Olea europaea*)、およびカメリアシネンシス(*Camellia sinensis*)からなる群から選択される植物由来の脱分化した植物細胞培養懸濁培地の増殖を先にサポートした無細胞上清の画分であって、

- 4~300アミノ酸長の、ペプチド植物成長因子、植物転写因子、エピジェネティック因子、およびこれらの混合物から選択されるペプチドを含み、前記画分は細胞溶解による細胞質性細胞内含有物ならびに膜および/または細胞壁を有しておらず、

(a) 液体栄養培養培地中で脆いカルス由来の前記脱分化した植物細胞を5~15日間増殖させ、前記脱分化した植物細胞の増殖をサポートする馴化培地を得ることと、

(b) 前記細胞を溶解させることなく前記馴化培地から植物細胞全体を取り除き、4~300アミノ酸長のペプチドを含む無細胞上清を得ることと、

(c) 固相抽出クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、ろ過、限外ろ過、タンパク質沈殿、およびこれらの組み合わせからなる群から選択される分離技術を用いてタンパク質分離プロセスを実行し、前記無細胞上清の画分を得ることと、を含む方法によって得ることができる、画分。

#### 【請求項12】

前記画分は、

- 5~300アミノ酸長の、ペプチド植物成長因子、植物転写因子、およびこれらの混合物から選択されるペプチドを含み、前記画分は細胞溶解による細胞質性細胞内含有物ならびに膜および/または細胞壁を有しておらず、

(a) 液体栄養培養培地で脆いカルス由来の前記脱分化した植物細胞を5~15日間増殖させ、前記脱分化した植物細胞の増殖をサポートする馴化培地を得ることと、

(b) 前記細胞を溶解させることなく前記馴化培地から植物細胞全体を取り除き、5~300アミノ酸長のペプチドを含む無細胞上清を得ることと、

(c) 固相抽出クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、ろ過、限外ろ過、タンパク質沈殿、およびこれらの組み合わせからなる群から選択される分離技術を用いてタンパク質分離プロセスを実行し、前記無細胞上清の画分を得ることと、を含む方法によって得ることができる、請求項11に記載の無細胞画分。

【請求項13】

ステップ(c)は固相抽出クロマトグラフィーによって実行される、請求項11~12のいずれか一項に記載の無細胞画分。

【請求項14】

請求項11~13のいずれか一項に定義される脱分化した植物細胞懸濁培地の上清の無細胞画分の有効量と、1つまたは複数の適切な局所用の薬学的にまたは美容的に許容される賦形剤または担体とを一緒に含む、皮膚局所用組成物。

【請求項15】

局所用の薬学的にまたは美容的に許容される賦形剤のうち少なくとも1つとしてグリセリンを含む、請求項14に記載の皮膚局所用組成物。