【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5年11月14日(2023.11.14)

【国際公開番号】WO2021/100830
【出願番号】特願2021-558458(P2021-558458)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ　5/079(2010.01)
Ｃ１２Ｎ　1/04(2006.01)
Ａ６１Ｐ 25/00(2006.01)
Ａ６１Ｐ 25/16(2006.01)
Ａ６１Ｋ 35/30(2015.01)
Ａ６１Ｋ 35/545(2015.01)
Ａ６１Ｌ 27/38(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　5/079
Ｃ１２Ｎ　1/04
Ａ６１Ｐ 25/00
Ａ６１Ｐ 25/16
Ａ６１Ｋ 35/30
Ａ６１Ｋ 35/545
Ａ６１Ｌ 27/38 １００
Ａ６１Ｌ 27/38 ３００

【手続補正書】
【提出日】令和5年11月6日(2023.11.6)
【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】
以下の工程（１）及び工程（２）を含む、立体構造を有する、神経系細胞を含む細胞凝集体の凍結方法：
（１）　神経系細胞を含む細胞凝集体を、凍結前に0℃以上30℃以下で凍結保存液に浸漬し、凍結保存液に浸された細胞凝集体を調製する工程、及び
（２）　－１５０℃以下の液体窒素容器の気相下で、当該凍結保存液に浸された細胞凝集体を凍結させる工程。
【請求項２】
工程（１）において、細胞凝集体を凍結保存液に、５分間～３６０分間浸漬することを特徴とする、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
工程（１）において、細胞凝集体を凍結保存液に、１５分間～３６０分間浸漬することを特徴とする、請求項２に記載の方法。
【請求項４】
液体窒素容器における気相の体積に対する、当該容器中に含まれる細胞凝集体及び凍結保存液の体積の割合が、５％以下である、請求項１～３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５】
保存液に対する細胞凝集体の充填密度が、１０～５００個／ｍｌである、請求項１～４

のいずれか1項に記載の方法。
【請求項６】
保存液に対する細胞凝集体の充填密度が、５０～５００個／ｍｌである、請求項５に記載の方法。
【請求項７】
細胞凝集体及び凍結保存液を含む容器の大きさが、０．５～５ｍｌである、請求項５又は６に記載の方法。
【請求項８】
神経系細胞を含む細胞凝集体が、多能性幹細胞由来の神経系細胞を含む細胞凝集体である、請求項１～７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９】
神経系細胞を含む細胞凝集体が、６０％以上の神経系細胞を含む、請求項１～８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０】
神経系細胞を含む細胞凝集体が、FOXA2、TH及びNURR1の少なくとも１つが陽性の細胞を含む、請求項１～９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１】
神経系細胞を含む細胞凝集体が、FOXA2陽性かつＬＭＸ１Ａ陽性細胞を含む、請求項１０に記載の方法。
【請求項１２】
神経系細胞を含む細胞凝集体が、FOXA2陽性、ＴＨ陽性かつＮＵＲＲ１陽性の細胞を含む、請求項１０に記載の方法。
【請求項１３】
神経系細胞が、ドパミン産生神経細胞またはその前駆細胞である、請求項１～１２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４】
神経系細胞を含む細胞凝集体が、ドパミン産生神経前駆細胞を６０％以上含む、請求項１～１３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１５】
神経系細胞を含む細胞凝集体が、円相当径１５０μｍ～１０００μｍの細胞凝集体である、請求項１～１４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１６】
細胞凝集体が、５００個～１５００００個の細胞を含む、請求項１５に記載の方法。
【請求項１７】
凍結保存液中に含まれる細胞数が、８００００～５０００００００ｃｅｌｌｓ／ｍＬである、請求項１～１６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１８】
請求項１～１７のいずれかに記載の方法で得られる細胞凝集体を含む容器を、液体窒素容器の気相中又は液相中で保管することを含む、神経系細胞を含む細胞凝集体の長期保存方法。
【請求項１９】
請求項１～１７のいずれか一項に記載の方法で得られる細胞凝集体を有効成分として含有する移植用組成物。
【請求項２０】
ドパミン産生神経前駆細胞を６０％以上含む、円相当径１５０μｍ～１０００μｍの細胞凝集体及び凍結保存液を含み、解凍後に回復のための培養を行うことを要しないことを特徴とする、請求項１９に記載の移植用組成物。
【請求項２１】
細胞数が、８００００～５０００００００ｃｅｌｌｓ／ｍＬである、請求項１９又は２０に記載の移植用組成物。

【請求項２２】
細胞凝集体を１０～５００個／ｍｌ含む、請求項１９～２１のいずれか一項に記載の移植用組成物。
【請求項２３】
細胞凝集体及び凍結保存液が、０．５ｍＬ～１５ｍＬの容器に充填されている、請求項１９～２１のいずれか一項に記載の移植用組成物。
【請求項２４】
請求項１～１７のいずれか一項に記載の方法で、細胞数が８００００～５０００００００ｃｅｌｌｓ／ｍＬであり、ドパミン産生神経前駆細胞を６０％以上含み、円相当径１５０μｍ～１０００μｍの細胞凝集体を凍結することを含む、ドパミン産生神経前駆細胞を有効成分として含有する移植用組成物の製造方法。
【請求項２５】
細胞凝集体及び凍結保存液が、０．５ｍＬ～１５ｍＬの容器に充填されている、請求項２４に記載の移植用組成物の製造方法。
【請求項２６】
３０℃～４０℃において解凍され、患者の線条体領域に移植される、請求項１９～２３のいずれか一項に記載の移植用組成物を含むドパミン神経の再生を必要とする疾患の治療剤。
【請求項２７】
解凍後に、培養を行うことなく、凍結保存液を投与用媒体に置換し、患者の線条体領域に移植される、請求項２６に記載の治療剤。