

【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24年7月12日(2012.7.12)

【公表番号】特表2010-525836(P2010-525836A)

【公表日】平成22年7月29日(2010.7.29)

【年通号数】公開・登録公報2010-030

【出願番号】特願2010-507549(P2010-507549)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/0789 (2010.01)

A 6 1 L 27/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/22 (2006.01)

A 6 1 P 7/00 (2006.01)

A 6 1 P 7/06 (2006.01)

A 6 1 P 5/00 (2006.01)

A 6 1 P 19/08 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/00 2 0 2 Q

A 6 1 L 27/00 V

A 6 1 K 37/24

A 6 1 P 7/00

A 6 1 P 7/06

A 6 1 P 5/00

A 6 1 P 19/08

A 6 1 P 43/00 1 0 7

C 1 2 N 5/00 1 0 2

C 1 2 N 15/00 Z N A A

【手続補正書】

【提出日】平成23年5月2日(2011.5.2)

【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】

造血幹細胞数を増大させる方法であって、単離されたインスリン成長因子結合タンパク質2 (IGFBP-2) およびアンジオポエチン様タンパク質 (Angptl) を含む合成培地中でヒト細胞をインキュベートするステップを含み、該ヒト細胞の少なくとも1つが1つまたは複数の血液細胞型に分化することができる、方法。

【請求項2】

前記単離されたIGFBP-2が約1.0 ng/mLから約5 μg/mLの濃度で存在する、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記単離されたIGFBP-2が組換え産生される、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

前記ヒト細胞が少なくとも5日間培養される、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

前記ヒト細胞が少なくとも10日間インキュベートされる、請求項1に記載の方法。

【請求項6】

前記Angptlが、Angptl3およびAngptl5からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項7】

前記培地が、線維芽細胞成長因子(FGF)、トロンプオエチン(TPO)および幹細胞因子(SCF)からなる群から選択される少なくとも1つの追加の成長因子をさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項8】

前記追加の成長因子が約0.5ng/mLから約5μg/mLの濃度で存在する、請求項7に記載の方法。

【請求項9】

前記ヒト細胞が、骨髄細胞、末梢血細胞、臍帯血細胞および胎児肝細胞からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項10】

CD133を発現する1つまたは複数の初代ヒト細胞を、該ヒト細胞を培養する前に選択するステップをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項11】

CD34を発現する1つまたは複数の初代ヒト細胞を、該ヒト細胞をインキュベートする前に選択するステップをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項12】

請求項1に記載の方法で産生された造血幹細胞。

【請求項13】

ヒト造血幹細胞数を*in vitro*で増大させる方法であって、単離されたインスリン成長因子結合タンパク質2(IGFBP-2)、アンジオポエチン様タンパク質5(Angptl5)、線維芽細胞成長因子1(FGF-1)、トロンプオエチン(TPO)および幹細胞因子(SCF)を含む合成培地中で少なくとも5日間ヒト細胞をインキュベートするステップを含み、該ヒト細胞のうちの少なくとも1つが、CD133およびCD34からなる群から選択される表面マーカーの発現に関して選択されたものであり、該ヒト細胞の少なくとも1つが1つまたは複数の血液細胞型に分化することができる、方法。

【請求項14】

造血幹細胞を含む組成物であって、該造血幹細胞が、単離されたIGFBP-2およびアンジオポエチン様成長因子(Angptl)を含む合成培地中でインキュベートされたヒト細胞であり、ここで、該ヒト細胞は、インキュベーション前に、ドナーから得られたものであり、1つまたは複数の血液細胞型に分化することができる、組成物。

【請求項15】

前記単離されたIGFBP-2が約1.0ng/mLから約5μg/mLの濃度で存在する、請求項14に記載の組成物。

【請求項16】

前記単離されたIGFBP-2が組換え産生される、請求項15に記載の組成物。

【請求項17】

前記Angptlが、Angptl3およびAngptl5からなる群から選択される、請求項14に記載の組成物。

【請求項18】

前記Angptlが組換え産生される、請求項17に記載の組成物。

【請求項19】

前記ヒト細胞が、骨髄細胞、末梢血細胞、臍帯血細胞および胎児肝細胞からなる群から選択される、請求項14に記載の組成物。

【請求項 20】

C D 1 3 3 を発現する 1 つまたは複数の初代ヒト細胞をさらに含む、請求項 1 4 に記載の組成物。

【請求項 21】

C D 3 4 を発現する 1 つまたは複数の初代ヒト細胞をさらに含む、請求項 1 4 に記載の組成物。

【請求項 22】

個体を治療するための組成物であって、I G F B P - 2 および A n g p t 1 を含む組成物。

【請求項 23】

前記 A n g p t 1 が、A n g p t 1 3 および A n g p t 1 5 からなる群から選択される、請求項 2 2 に記載の組成物。

【請求項 24】

ヒト造血幹細胞数を増大させるための培地であって、

- a) 合成造血幹細胞基本培地と、
- b) 単離された I G F B P - 2 と、
- c) A n g p t 1 と

を含む培地。

【請求項 25】

前記 A n g p t 1 が、A n g p t 1 3 および A n g p t 1 5 からなる群から選択される、請求項 2 4 の培地。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0016

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0016】

ここに記載した様々な実施形態は、相補的でありえ、ここに含まれている教示に鑑みて、当業者によって理解される方法で組み合わせるか、または併用することができる。

本発明の好ましい実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目 1)

造血幹細胞数を増大させる方法であって、単離されたインスリン成長因子結合タンパク質 2 (I G F B P - 2) およびアンジオポエチン様タンパク質 (A n g p t 1) を含む合成培地中でヒト細胞をインキュベートするステップを含み、該ヒト細胞の少なくとも 1 つが 1 つまたは複数の血液細胞型に分化することができる、方法。

(項目 2)

前記単離された I G F B P - 2 が約 1 . 0 n g / m L から約 5 μ g / m L の濃度で存在する、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

前記単離された I G F B P - 2 が組換え産生される、項目 1 に記載の方法。

(項目 4)

前記ヒト細胞が少なくとも 5 日間培養される、項目 1 に記載の方法。

(項目 5)

前記ヒト細胞が少なくとも 10 日間インキュベートされる、項目 1 に記載の方法。

(項目 6)

前記 A n g p t 1 が、A n g p t 1 3 および A n g p t 1 5 からなる群から選択される、項目 1 に記載の方法。

(項目 7)

前記培地が、線維芽細胞成長因子 (F G F)、トロンボポエチン (T P O) および幹細胞因子 (S C F) からなる群から選択される少なくとも 1 つの追加の成長因子をさらに含

む、項目 1 に記載の方法。

(項目 8)

前記追加の成長因子が約 0.5 ng/mL から約 5 µg/mL の濃度で存在する、項目 7 に記載の方法。

(項目 9)

前記ヒト細胞が、骨髄細胞、末梢血細胞、臍帯血細胞および胎児肝細胞からなる群から選択される、項目 1 に記載の方法。

(項目 10)

CD133 を発現する 1 つまたは複数の初代ヒト細胞を、該ヒト細胞を培養する前に選択するステップをさらに含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 11)

CD34 を発現する 1 つまたは複数の初代ヒト細胞を、該ヒト細胞をインキュベートする前に選択するステップをさらに含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 12)

項目 1 に記載の方法で産生された造血幹細胞。

(項目 13)

ヒト造血幹細胞数を *in vitro* で増大させる方法であって、単離されたインスリン成長因子結合タンパク質 2 (IGFBP-2)、アンジオポエチン様タンパク質 5 (Angptl5)、線維芽細胞成長因子 1 (FGF-1)、トロンボポエチン (TPO) および幹細胞因子 (SCF) を含む合成培地中で少なくとも 5 日間ヒト細胞をインキュベートするステップを含み、該ヒト細胞のうちの少なくとも 1 つが、CD133 および CD34 からなる群から選択される表面マーカーの発現に関して選択されたものであり、該ヒト細胞の少なくとも 1 つが 1 つまたは複数の血液細胞型に分化することができる、方法。

(項目 14)

造血幹細胞を個体に投与する方法であって、

a) 該個体またはドナーからヒト細胞を得るステップであって、該ヒト細胞の少なくとも 1 つが 1 つまたは複数の血液細胞型に分化することができる、ステップと、

b) 単離された IGFBP-2 およびアンジオポエチン様成長因子 (Angptl) を含む合成培地中で該ヒト細胞をインキュベートするステップと、

c) 該培養された細胞を該個体に移植するステップと

を含む、方法。

(項目 15)

前記単離された IGFBP-2 が約 1.0 ng/mL から約 5 µg/mL の濃度で存在する、項目 14 に記載の方法。

(項目 16)

前記単離された IGFBP-2 が組換え産生される、項目 15 に記載の方法。

(項目 17)

前記 Angptl が、Angptl3 および Angptl5 からなる群から選択される、項目 4 に記載の方法。

(項目 18)

前記 Angptl が組換え産生される、項目 17 に記載の方法。

(項目 19)

前記ヒト細胞が、骨髄細胞、末梢血細胞、臍帯血細胞および胎児肝細胞からなる群から選択される、項目 14 に記載の方法。

(項目 20)

CD133 を発現する 1 つまたは複数の初代ヒト細胞を、該初代ヒト細胞をインキュベートする前に選択するステップをさらに含む、項目 14 に記載の方法。

(項目 21)

CD34 を発現する 1 つまたは複数の初代ヒト細胞を、該ヒト細胞をインキュベートする前に選択するステップをさらに含む、項目 14 に記載の方法。

(項目22)

個体を治療する方法であって、該個体に I G F B P - 2 および A n g p t 1 を投与するステップを含む方法。

(項目23)

前記 A n g p t 1 が、A n g p t 1 3 および A n g p t 1 5 からなる群から選択される、項目22に記載の方法。

(項目24)

ヒト造血幹細胞数を増大させるための培地であって、
a) 合成造血幹細胞基本培地と、
b) 単離された I G F B P - 2 と、
c) A n g p t 1 と
を含む培地。

(項目25)

前記 A n g p t 1 が、A n g p t 1 3 および A n g p t 1 5 からなる群から選択される、項目24の培地。

(項目26)

培養中の造血幹細胞の増殖を促進する方法であって、細胞の集団を、アンジオポエチン2を含む培地中で、該細胞の増殖に十分な条件下で培養するステップを含む、方法。

(項目27)

前記アンジオポエチン2がヒトアンジオポエチン2である、項目26に記載の方法。

(項目28)

前記細胞が10日間培養される、項目26に記載の方法。

(項目29)

前記培地が無血清培地である、項目26に記載の方法。

(項目30)

前記培地が、インスリン成長因子 (I G F)、線維芽細胞成長因子 (F G F)、トロンボポエチン (T P O) および幹細胞因子 (S C F) からなる群から選択される少なくとも1つの追加の因子をさらに含む、項目29に記載の方法。

(項目31)

前記細胞が C D 4 5 ⁺、S c a - 1 ⁺ 骨髄細胞である、項目26に記載の方法。

(項目32)

前記細胞がサイドポピュレーション細胞 (s i d e p o p u l a t i o n c e l l) である、項目26に記載の方法。

(項目33)

造血幹細胞を i n v i t r o で増殖させるのに適した培地であって、無血清培地およびアンジオポエチン2を含む、培地。

(項目34)

前記アンジオポエチン2がヒトアンジオポエチン2である、項目33に記載の培地。

(項目35)

前記培地が、インスリン成長因子 (I G F)、線維芽細胞成長因子 (F G F)、トロンボポエチン (T P O) および幹細胞因子 (S C F) からなる群から選択される少なくとも1つの追加の因子をさらに含む、項目33に記載の培地。

(項目36)

インスリン成長因子 (I G F)、線維芽細胞成長因子 (F G F)、トロンボポエチン (T P O) および幹細胞因子 (S C F) からなる群から選択される少なくとも2つの追加の因子を含む、項目33に記載の培地。

(項目37)

前記 I G F が I G F - 2 である、項目35に記載の培地。

(項目38)

前記 F G F が F G F - 1 である、項目35に記載の培地。

(項目 3 9)

I G F - 2、 F G F - 1、 S C F および T P O をさらに含む、項目 3 5 に記載の培地。