

【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2年7月9日(2020.7.9)

【公開番号】特開2020-78309(P2020-78309A)

【公開日】令和2年5月28日(2020.5.28)

【年通号数】公開・登録公報2020-021

【出願番号】特願2020-2977(P2020-2977)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 1 2 N 5/071 (2010.01)

C 1 2 N 15/11 (2006.01)

A 6 1 K 47/62 (2017.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/02

C 1 2 N 5/071

C 1 2 N 15/11 Z N A Z

A 6 1 K 47/62

【手続補正書】

【提出日】令和2年5月26日(2020.5.26)

【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】

細管形成促進剤または抗細管形成剤のスクリーニング方法であって、

ヒドロゲル組成物を製造すること、ここで、該ヒドロゲル組成物は、8-アーム, 20 kDa のノルボルネンで官能化されたポリエチレングリコール、架橋ペプチド、および0.25 mM ~1 mMの細胞接着ペプチドを含み、

該細胞接着ペプチドが、CRGDS(配列番号：2)、アセチル化GCYGRGDSPG(配列番号：31)、環状RGD[Fd]C(配列番号：33)、CRGD-(G)₁₃-PHSRN(配列番号：29)、CPHSRN-(SG)₅-RGD(配列番号：30)、RKRLQVQLSIRT(配列番号：37)、IKVAV(配列番号：38)、YIGSR(配列番号：39)、KRTGQYKL(配列番号：40)、TYRSRKY(配列番号：41)、KRTGQYKLGSKTGPQK(配列番号：42)、QAKHKQRKRLKSSC(配列番号：43)、およびSPKHHSQRARKKKKNKNC(配列番号：44)からなる群から選ばれるアミノ酸配列を含み；

細管形成を促進または減少させると思われる作用剤を提供すること；

細胞を、該ヒドロゲル組成物および該作用剤に接触させること；および

細胞を分析すること；

を含む方法。

【請求項2】

該作用剤が該ヒドロゲル組成物にカップリングする、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

該作用剤が細胞培養培地内に含まれ、細胞培養培地が該ヒドロゲル組成物に接触する、請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

架橋ペプチドが、KCGGPQGIWGQGCK(配列番号：27)およびKCGGPQGIAGQGCK(配列番号：28)からなる群から選ばれるアミノ酸配列を含む、請求項1～3のいずれかに記載の方法。

【請求項 5】

細胞が、胚性幹細胞、胚性幹細胞由来の神経細胞、胚性幹細胞由来の神経前駆細胞、胚性幹細胞由来の星状膠細胞、胚性幹細胞由来の小膠細胞、胚性幹細胞由来の内皮細胞、胚性幹細胞由来の網膜色素上皮細胞、誘導多能性幹細胞、誘導多能性幹細胞由来の神経前駆細胞、誘導多能性幹細胞由来の星状膠細胞、誘導多能性幹細胞由来の小膠細胞、誘導多能性幹細胞由来の内皮細胞、誘導多能性幹細胞由来の網膜色素上皮細胞、間葉系幹細胞、臍帯静脈内皮細胞、NIH 3T3線維芽細胞、皮膚線維芽細胞、線維肉腫細胞、弁間質細胞、心筋細胞、誘導多能性幹細胞由来の心筋細胞、内皮前駆細胞、循環脈管形成細胞、神経細胞、周皮細胞、癌細胞、肝細胞、膵臓β細胞、膵島細胞およびその組合せからなる群から選ばれる、請求項 1～4 のいずれかに記載の方法。

【請求項 6】

細管形成を促進する方法であって、

ヒドロゲル組成物を製造すること、ここで、該ヒドロゲル組成物は、8-アーム, 20 kDa のノルボルネンで官能化されたポリエチレングリコール、架橋ペプチド、および0.25 mM～1 mMの細胞接着ペプチドを含み、

該細胞接着ペプチドが、CRGDS(配列番号：2)、アセチル化GCYGRGDSPG(配列番号：31)、環状RGD[Fd]C(配列番号：33)、CRGD-(G)₁₃-PHSRN(配列番号：29)、CPHSRN-(SG)₅-RGD(配列番号：30)、RKRLQVQLSIRT(配列番号：37)、IKVAV(配列番号：38)、YIGSR(配列番号：39)、KRTGQYKL(配列番号：40)、TYRSRKY(配列番号：41)、KRTGQYKLGSKTGPQK(配列番号：42)、QAKHKQRKRLKSSC(配列番号：43)、およびSPKHHSQRARKKKKNKNC(配列番号：44)からなる群から選ばれるアミノ酸配列を含み、

該ヒドロゲル組成物に接触している培養培地を提供すること；

該ヒドロゲル組成物に接触している培養培地に、細胞を接触させること；および細胞を分析すること；

を含む方法。

【請求項 7】

架橋ペプチドが、KCGGPQGIWGQGCK(配列番号：27)およびKCGGPQGIAGQGCK(配列番号：28)からなる群から選ばれるアミノ酸配列を含む、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

細胞が、胚性幹細胞、胚性幹細胞由来の神経細胞、胚性幹細胞由来の神経前駆細胞、胚性幹細胞由来の星状膠細胞、胚性幹細胞由来の小膠細胞、胚性幹細胞由来の内皮細胞、胚性幹細胞由来の網膜色素上皮細胞、誘導多能性幹細胞、誘導多能性幹細胞由来の神経前駆細胞、誘導多能性幹細胞由来の星状膠細胞、誘導多能性幹細胞由来の小膠細胞、誘導多能性幹細胞由来の内皮細胞、誘導多能性幹細胞由来の網膜色素上皮細胞、間葉系幹細胞、臍帯静脈内皮細胞、NIH 3T3線維芽細胞、皮膚線維芽細胞、線維肉腫細胞、弁間質細胞、心筋細胞、誘導多能性幹細胞由来の心筋細胞、内皮前駆細胞、循環脈管形成細胞、神経細胞、周皮細胞、癌細胞、肝細胞、膵臓β細胞、膵島細胞およびその組合せからなる群から選ばれる、請求項 6 または 7 のいずれかに記載の方法。

【請求項 9】

細管形成が、内皮細胞細管ネットワーク形成を含む、請求項 6～8 のいずれかに記載の方法。

【請求項 10】

8-アーム, 20 kDa のノルボルネンで官能化されたポリエチレングリコール、架橋ペプチド、および0.25 mM～1 mMの細胞接着ペプチドを含むヒドロゲル組成物であって、

該細胞接着ペプチドが、CRGDS(配列番号：2)、アセチル化GCYGRGDSPG(配列番号：31)、環状RGD[Fd]C(配列番号：33)、CRGD-(G)₁₃-PHSRN(配列番号：29)、CPHSRN-(SG)₅-RGD(配列番号：30)、RKRLQVQLSIRT(配列番号：37)、IKVAV(配列番号：38)、YIGSR(配列番号：39)、KRTGQYKL(配列番号：40)、TYRSRKY(配列番号：41)、KRTGQYKLGSKTGPQK(配列番号：42)、QAKHKQRKRLKSSC(配列番号：43)、およびSPKHHSQRARKKKKNKNC(配列番号：44)からなる群から選ばれるアミノ酸配列を含む、

ヒドロゲル組成物。

【請求項 1 1】

0.1 kPa～300 kPaの範囲の弾性率を有する、請求項 1 0 に記載のヒドロゲル組成物。

【請求項 1 2】

ポリエチレングリコールの濃度が、36 mg/mL～70 mg/mLである、請求項 1 0 または 1 1 に記載のヒドロゲル組成物。

【請求項 1 3】

30%～70%の架橋を含む、請求項 1 0 ～ 1 2 のいずれかに記載のヒドロゲル組成物。