【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19年3月29日(2007.3.29)

【公表番号】特表2002-536023(P2002-536023A)
【公表日】平成14年10月29日(2002.10.29)
【出願番号】特願2000-598656(P2000-598656)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ　5/06　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　35/30　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　21/00　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　25/08　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　25/16　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　25/18　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　25/24　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　25/28　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　43/00　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　1/02　(2006.01)
Ｇ０１Ｎ　33/53　(2006.01)
Ｇ０１Ｎ　33/577　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　5/00　Ｅ
Ａ６１Ｋ　35/30
Ａ６１Ｐ　21/00
Ａ６１Ｐ　25/08
Ａ６１Ｐ　25/16
Ａ６１Ｐ　25/18
Ａ６１Ｐ　25/24
Ａ６１Ｐ　25/28
Ａ６１Ｐ　43/00　１０５
Ｃ１２Ｑ　1/02
Ｇ０１Ｎ　33/53　Ｙ
Ｇ０１Ｎ　33/577　Ｂ

【手続補正書】
【提出日】平成19年2月7日(2007.2.7)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】特許請求の範囲
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】　ニューロスフェア（ＮＳ－ＩＣ）を開始し得るヒトの中枢神経系の幹細胞（ＣＮＳ－ＳＣ）について富化された集団を産生するための、方法であって、神経細胞または神経に由来する細胞の集団から、モノクローナル抗体ＡＣ１３３に結合する細胞またはモノクローナル抗体５Ｅ１２に結合する細胞またはモノクローナル抗体ＡＣ１３３とモノクローナル抗体５Ｅ１２に結合する細胞を選択する工程を包含する、方法。
【請求項２】　請求項１に記載の方法であって、該方法は、該集団から、ＣＤ４５抗原に結合するモノクローナル抗体およびＣＤ３４抗原に結合するモノクローナル抗体からなる群より選択される第２の抗体に結合する細胞を選択し、その結果、ＡＣ１３３$^{+}$ＣＤ

４５$^-$である細胞またはＡＣ１３３$^+$ＣＤ３４$^-$である細胞、または５Ｅ１２$^+$ＣＤ４５$^-$である細胞、または５Ｅ１２$^+$ＣＤ３４$^-$である細胞が選択される工程をさらに包含する、方法。

【請求項３】　請求項１に記載の方法であって、該方法は、前記集団から、モノクローナル抗体ＡＣ１３３またはモノクローナル抗体５Ｅ１２に結合する細胞を選択する工程をさらに包含し、そして該方法は、ＣＤ４５抗原に結合するモノクローナル抗体またはＣＤ３４抗原に結合するモノクローナル抗体に結合する細胞を選択および排除し、その結果、ＡＣ１３３$^+$５Ｅ１２$^+$ＣＤ４５$^-$である細胞、またはＡＣ１３３$^+$５Ｅ１２$^+$ＣＤ３４$^-$である細胞を選択することによって前記集団をさらに富化する工程、をさらに包含する、方法。

【請求項４】　請求項１に記載の方法であって、該方法は、モノクローナル抗体ＡＣ１３３またはモノクローナル抗体５Ｅ１２に結合する細胞を選択する工程を包含し、そして該方法は、ＣＤ４５抗原に結合するモノクローナル抗体またはＣＤ３４抗原に結合するモノクローナル抗体に結合する細胞を選択および排除し、その結果、ＡＣ１３３$^+$ＣＤ４５$^-$ＣＤ３４$^-$である細胞、または５Ｅ１２$^+$ＣＤ４５$^-$ＣＤ３４$^-$である細胞を選択することによって、前記集団をさらに富化する工程、をさらに包含する、方法。

【請求項５】　請求項１に記載の方法であって、該方法は、モノクローナル抗体ＡＣ１３３とモノクローナル抗体５Ｅ１２に結合する細胞を選択する工程を包含し、そして該方法は、ＣＤ４５抗原に結合するモノクローナル抗体またはＣＤ３４抗原に結合するモノクローナル抗体に結合する細胞を前記集団から選択および排除し、その結果、ＡＣ１３３$^+$５Ｅ１２$^+$ＣＤ４５$^-$ＣＤ３４$^-$である細胞を選択することによって、該集団をさらに富化する工程、をさらに包含する、方法。

【請求項６】　請求項１に記載の方法であって、該方法は、前記集団から、ＣＤ４５$^+$である細胞、ＣＤ３４$^+$である細胞、またはＣＤ４５$^+$ＣＤ３４$^+$である細胞を選択および排除することによって、該集団をさらに富化する工程をさらに包含し、該得られた集団は、神経細胞または神経に由来する細胞の集団と比較して、ＮＳ－ＩＣについて富化されている、方法。

【請求項７】　ニューロスフェアを開始することができる（ＮＳ－ＩＣ）ヒト中枢神経系幹細胞（ＣＮＳ－ＣＳ）について富化された集団を生成するための方法であって、神経細胞あｍたは神経に由来する細胞の集団から、ＡＣ１３３$^+$である細胞を選択する工程を包含し、該方法は、モノクローナル抗体５Ｅ１２を結合する細胞についてさらに選択することによって、ＣＮＳ－ＳＣについてさらに富化する工程をさらに包含する、方法。

【請求項８】　集団のニューロスフェアを開始する幹細胞（ＮＳ－ＩＣ）画分について、神経細胞の集団から富化するための方法であって、該神経細胞から、モノクローナル抗体ＡＣ１３３にまたはモノクローナル抗体５Ｅ１２に結合する細胞について選択する工程を包含し、ここで該選択された細胞は、神経細胞の該集団と比較すると、ＮＳ－ＩＣの画分において富化されている、を包含する、方法。

【請求項９】　ニューロスフェアを開始することができる（ＮＳ－ＩＣ）ヒト中枢神経系幹細胞（ＣＮＳ－ＳＣ）について富化された集団を生成するための方法であって、以下：

（ａ）神経細胞または神経に由来する細胞を、モノクローナル抗体８Ｇ１と接触させる工程；

（ｂ）モノクローナル抗体８Ｇ１に結合する該神経細胞または神経に由来する細胞を選択する工程；

（ｃ）該結合した細胞を除去する工程であって、該集団中の残っている細胞は、ヒトＣＮＳ－ＳＣについて富化されている工程、

を包含し、該方法はさらに、

（ｄ）該残っている細胞を、モノクローナル抗体ＡＣ１３３およびモノクローナル抗体５Ｅ１２からなる群より選択される第２のモノクローナル抗体を接触させる工程；および

（ｅ）該第２のモノクローナル抗体に結合する細胞を選択して、ＣＮＳ－ＳＣについて

富化された集団を生成する工程、
を包含する、方法。
【請求項１０】　ニューロスフェアを開始することができる（ＮＳ－ＩＣ）ヒト中枢神経系幹細胞（ＣＮＳ－ＳＣ）について富化された集団を生成するための方法であって、神経細胞または神経に由来する細胞の集団から、ＣＤ２４$^{mid/hi}$である細胞を除去する工程を包含し、該方法は、神経細胞または神経に由来する細胞の残っている集団から、モノクローナル抗体ＡＣ１３３に結合する細胞、モノクローナル抗体５Ｅ１２に結合する細胞またはモノクローナル抗体ＡＣ１３３とモノクローナル抗体５Ｅ１２とに結合する細胞について選択することによって、ＣＮＳ－ＳＣについて該集団をさらに富化する工程をさらに包含する、方法。
【請求項１１】　ニューロスフェアを開始する幹細胞（ＮＳ－ＩＣ）画分について、神経細胞の集団から富化するための方法であって、該神経細胞から、モノクローナル抗体８Ｇ１に結合する細胞について選択する工程、および該集団から該細胞を除去する工程であって、ここで残っている細胞は、神経細胞の該集団と比較すると、ＮＳ－ＩＣの画分において富化されている、工程を包含し、該方法は、モノクローナル抗体ＡＣ１３３に結合する細胞およびモノクローナル抗体５Ｅ１２に結合する細胞について、該残っている細胞から選択することによって、ＮＳ－ＩＣの画分についてさらに富化する工程をさらに包含する、方法。
【請求項１２】　ニューロスフェアを開始することができる（ＮＳ－ＩＣ）ヒト中枢神経系幹細胞（ＣＮＳ－ＳＣ）を富化するための方法であって、
（ａ）神経細胞または神経に由来する細胞の集団を、ＣＤ２４抗原に結合する抗体と混合する工程；および
（ｂ）該ＣＤ２４抗原に結合しない細胞について選択する工程であって、ここで該選択された細胞は、ＣＮＳ－ＳＣについて富化されている、工程、
を包含し、該方法は、神経細胞または神経に由来する細胞の残っている集団から、モノクローナル抗体ＡＣ１３３に結合する細胞、モノクローナル抗体５Ｅ１２に結合する細胞またはモノクローナル抗体ＡＣ１３３とモノクローナル抗体５Ｅ１２とに結合する細胞について選択することによって、ＣＮＳ－ＳＣについて該集団をさらに富化する工程をさらに包含する、方法。
【請求項１３】　前記モノクローナル抗体のうちの少なくとも１つが蛍光色素を結合されているかまたは磁気粒子に対して結合されている、請求項１～１２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１４】　前記選択工程がフローサイトメトリーによるか、蛍光活性化細胞選別によるか、高勾配磁気選択によるか、または固相への接着および固相からの脱接着による、請求項１～１３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１５】　前記神経細胞または神経に由来する細胞の集団が、神経細胞培養物から得られる、請求項１～１４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１６】　前記神経細胞または神経に由来する細胞の集団が、ニューロスフェア培養物または付着性の単層から得られる、請求項１～１４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１７】　前記神経細胞または神経に由来する細胞の集団が、神経組織である、請求項１～１４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１８】　前記神経細胞または神経に由来する細胞の集団が、神経組織から得られるかまたは神経組織を生じる任意の組織から得られる、請求項１～１４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１９】　前記神経細胞または神経に由来する細胞の集団が、神経組織から解離されているか、または神経組織を生じる任意の組織から解離されている、請求項１～１４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２０】　前記方法が、前記集団から、モノクローナル抗体８Ｇ１に結合する細胞を排除することによって、ＣＮＳ－ＳＣについて集団をさらに富化する工程をさらに

包含する、請求項１～８または請求項１３～１７のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２１】　前記排除は、前記細胞の集団をモノクローナル抗体８Ｇ１と接触させること、およびモノクローナル抗体８Ｇ１に結合する細胞を除去することによって達成される、請求項２０に記載の方法。
【請求項２２】　ニューロスフェアを開始する幹細胞（ＮＳ－ＩＣ）を単離するための方法であって、以下：
（ａ）神経細胞または神経に由来する細胞の集団から、モノクローナル抗体ＡＣ１３３に結合する細胞またはモノクローナル抗体５Ｅ１２に結合する細胞またはモノクローナル抗体ＡＣ１３３とモノクローナル抗体５Ｅ１２とに結合する細胞のうちの少なくとも１つの選択された細胞について選択する工程；
（ｂ）白血球阻害因子（ＬＩＦ）、上皮増殖因子（ＥＧＦ）、塩基性線維芽細胞増殖因子（ＦＧＦ－２）、およびそれらの組合せからなる群より選択される１種以上の増殖因子を含む無血清培養培地に該少なくとも１つの選択された細胞を導入する工程；および
（ｃ）該培養培地中で該少なくとも１つの選択された細胞を増殖させる工程、
を包含する、方法。
【請求項２３】　ニューロスフェアを開始する幹細胞（ＮＳ－ＩＣ）を単離するための方法であって、以下：
（ａ）神経細胞または神経に由来する細胞の集団から、ＣＤ２４$^{mid/hi}$である細胞について選択する工程；
（ｂ）該集団から該ＣＤ２４$^{mid/hi}$細胞を排除する工程；
（ｃ）該残っている集団から、モノクローナル抗体ＡＣ１３３に結合する細胞またはモノクローナル抗体５Ｅ１２に結合する細胞またはモノクローナル抗体ＡＣ１３３とモノクローナル抗体５Ｅ１２とに結合する細胞のうちの少なくとも１つの選択された細胞について選択する工程；
（ｄ）ＬＩＦ、ＥＧＦ、ｂＦＧＦ、およびそれらの組合せからなる群より選択される１種以上の増殖因子を含む無血清培養培地に該少なくとも１つの選択された細胞を導入する工程；および
（ｅ）該培養培地中で該少なくとも１つの選択された細胞を増殖させる工程、
を包含する、方法。
【請求項２４】　ニューロスフェアを開始する幹細胞（ＮＳ－ＩＣ）を単離するための方法であって、以下：
（ａ）ＮＳ－ＩＣの画分を含む、神経細胞または神経に由来する細胞を含有する集団を、モノクローナル抗体ＡＣ１３３またはモノクローナル抗体５Ｅ１２またはその両方のモノクローナル抗体と混合する工程；
（ｂ）モノクローナル抗体ＡＣ１３３に結合する細胞、モノクローナル抗体５Ｅ１２に結合する細胞、またはモノクローナル抗体ＡＣ１３３とモノクローナル抗体５Ｅ１２とに結合する細胞を選択する工程であって、ここで、該選択された細胞は、該神経細胞の集団と比較した場合に、該ＮＳ－ＩＣの画分において富化される、工程；
（ｃ）工程（ｂ）において得られた該富化された画分と、ＣＤ４５抗原に結合するモノクローナル抗体またはＣＤ３４抗原に結合するモノクローナル抗体またはその両方のモノクローナル抗体と混合する工程；
（ｄ）ＣＤ４５$^{+}$細胞、ＣＤ３４$^{+}$細胞、またはＣＤ４５$^{+}$ＣＤ３４$^{+}$細胞を選択および排除する工程であって、ここで該残っている細胞は、工程（ｂ）において得られた該富化された画分と比較した場合、ＮＳ－ＩＣの画分においてさらに富化されている、工程；
（ｅ）ＮＳ－ＩＣの増殖を支持し得る培養培地に、工程（ｄ）において得られた該富化された画分に由来する少なくとも１つの細胞を導入する工程；および
（ｆ）該培養培地中で該導入された細胞を増殖させる工程、
を包含する、方法。
【請求項２５】　前記ＮＳ－ＩＣの増殖を支持し得る培養培地が、さらに、白血球阻害因子（ＬＩＦ）、上皮増殖因子（ＥＧＦ）、塩基性線維芽細胞増殖因子（ＦＧＦ－２）

、およびそれらの組合せからなる群より選択される増殖因子を含む、請求項２４に記載の方法。

【請求項２６】　前記ＮＳ－ＩＣの増殖を支持し得る培養培地が、神経生存因子（ＮＳＦ）をさらに含む、請求項２５に記載の方法。

【請求項２７】　前記神経細胞または神経に由来する細胞の集団が、ニューロスフェア培養物または付着性の単層培養物から得られる、請求項２２～２６のいずれか１項に記載の方法。

【請求項２８】　以下を含む組成物：

（ａ）以下の（１）および（２）

（１）ＮＳ－ＩＣの画分を含む、神経細胞または神経に由来する細胞を含有する集団を、モノクローナル抗体ＡＣ１３３またはモノクローナル抗体５Ｅ１２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－９９４）と混合する工程；

（２）モノクローナル抗体ＡＣ１３３に結合する細胞、またはモノクローナル抗体５Ｅ１２に結合する細胞を選択および単離し、それによって神経細胞または神経に由来する細胞の集団と比較した場合に、該ＮＳ－ＩＣについて富化されている細胞の集団を生成する工程、

によって生成されるニューロスフェアを開始する幹細胞（ＮＳ－ＩＣ）について富化された神経細胞の集団；ならびに

（ｂ）モノクローナル抗体ＡＣ１３３およびモノクローナル抗体５Ｅ１２からなる群より選択される少なくとも１種のモノクローナル抗体であって、分離を容易にするために標識と結合されている、少なくとも１種のモノクローナル抗体。

【請求項２９】　以下を含有する、インビトロでの細胞培養組成物：

（ａ）ＮＳ－ＩＣにおいて富化されている神経細胞の集団であって、ここで該ＮＳ－ＩＣは、モノクローナル抗体ＡＣ１３３に結合するかまたはモノクローナル抗体５Ｅ１２に結合し、かつＣＤ４５⁻細胞である、集団；

（ｂ）該細胞の増殖を支持し得る培地；および

（ｃ）モノクローナル抗体ＡＣ１３３およびモノクローナル抗体５Ｅ１２からなる群より選択される少なくとも１種のモノクローナル抗体であって、分離を容易にするために標識と結合されている、少なくとも１種のモノクローナル抗体。

【請求項３０】　以下を含有する、インビトロでの細胞培養組成物：

（ａ）ＮＳ－ＩＣにおいて富化されている神経細胞の集団であって、ここで該ＮＳ－ＩＣは、モノクローナル抗体ＡＣ１３３に結合するかまたはモノクローナル抗体５Ｅ１２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－９９４）に結合し、かつＣＤ４５⁻ＣＤ３４⁻細胞である集団；

（ｂ）該細胞の増殖を支持し得る培地；および

（ｃ）モノクローナル抗体ＡＣ１３３およびモノクローナル抗体５Ｅ１２からなる群より選択される少なくとも１種のモノクローナル抗体であって、分離を容易にするために標識と結合されている、少なくとも１種のモノクローナル抗体。

【請求項３１】　以下を含有する、インビトロでの細胞培養組成物：

（ａ）ＮＳ－ＩＣにおいて富化されている神経細胞の集団であって、ここで該ＮＳ－ＩＣは、モノクローナル抗体ＡＣ１３３に結合するかまたはモノクローナル抗体５Ｅ１２（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－９９４）に結合し、かつＣＤ２４⁻細胞である集団；

（ｂ）該細胞の増殖を支持し得る培地；および

（ｃ）モノクローナル抗体ＡＣ１３３およびモノクローナル抗体５Ｅ１２からなる群より選択される少なくとも１種のモノクローナル抗体であって、分離を容易にするために標識と結合されている、少なくとも１種のモノクローナル抗体。

【請求項３２】　前記細胞が付着される固体支持体をさらに含有する、請求項２８～３１のいずれか１項に記載の組成物。

【請求項３３】　前記細胞の集団が、少なくとも７０％のモノクローナル抗体ＡＣ１３３またはモノクローナル抗体５Ｅ１２に結合する細胞を有する、請求項２８～３１のいずれか１項に記載の組成物。

【請求項３４】　前記細胞の集団が、少なくとも９０％のモノクローナル抗体ＡＣ１３３またはモノクローナル抗体５Ｅ１２に結合する細胞を有する、請求項２８～３１のいずれか１項に記載の組成物。

【請求項３５】　前記モノクローナル抗体ＡＣ１３３またはモノクローナル抗体５Ｅ１２に結合する細胞の集団が、実質的に純粋な集団である、請求項２８～３１のいずれか１項に記載の組成物。

【請求項３６】　前記培地が、多能性の神経幹細胞の増殖を誘導するために有効な、１つ以上の増殖因子を含有する無血清培地を含む、請求項２８～３１のいずれか１項に記載の組成物。

【請求項３７】　前記培地が、白血球阻害因子（ＬＩＦ）、上皮増殖因子（ＥＧＦ）、塩基性線維芽細胞増殖因子（ＦＧＦ－２）、およびそれらの組合せからなる群より選択される増殖因子を含む、請求項２８～３１のいずれか１項に記載の組成物。

【請求項３８】　前記培地が、神経生存因子ＮＳＦを含む、請求項２８～３１のいずれか１項に記載の組成物。

【請求項３９】　前記神経細胞がヒト神経細胞である、請求項２８～３１のいずれか１項に記載の組成物。

【請求項４０】　前記標識は、磁性ビーズ、磁性試薬、超常磁性微粒子、ビオチン、蛍光色素、およびハプテンからなる群より選択される、請求項２８～３１のいずれか１項に記載の組成物。

【請求項４１】　神経変性性の疾患、急性脳損傷、およびＣＮＳ機能不全からなる群から選択される中枢神経系障害の処置のための医薬品の製造における、請求項１～２１のいずれか１項に記載の方法に従って得ることができる細胞の集団の、使用。