

【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6年8月19日(2024.8.19)

【公開番号】特開2024-75624(P2024-75624A)

【公開日】令和6年6月4日(2024.6.4)

【年通号数】公開公報(特許)2024-102

【出願番号】特願2024-37742(P2024-37742)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/10(2006.01)

C 1 2 N 5/071(2010.01)

C 1 2 N 15/12(2006.01)

C 1 2 N 15/63(2006.01)

C 1 2 N 5/0789(2010.01)

C 1 2 M 1/00(2006.01)

C 1 2 M 3/00(2006.01)

A 6 1 K 35/28(2015.01)

A 6 1 P 7/00(2006.01)

10

【F I】

C 1 2 N 5/10 Z N A

C 1 2 N 5/071

C 1 2 N 15/12

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 5/0789

C 1 2 M 1/00 A

C 1 2 M 3/00 Z

A 6 1 K 35/28

A 6 1 P 7/00

20

【手続補正書】

30

【提出日】令和6年8月7日(2024.8.7)

【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】

内皮ニッチ細胞を生成/改変する方法であって、

内皮細胞において1つまたは複数の転写因子を発現させる工程を含み、

40

1つまたは複数の転写因子が、Etsファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、Soxファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、および核ホルモン受容体ファミリー由来の少なくとも1つの転写因子を含み、

核ホルモン受容体ファミリー由来の転写因子がNR2F2またはRXRAであり、

内皮ニッチ細胞が、Prcp、Cldn11、Tll1、Ctsh、Hexb、Hyal2、Cltc、Ifi30、Glu1、Lyve1、Gpr182、Dab2、Ctsl、Stab2、Npl、Stab1、Snx8、Mrc1、Ap1b1、Pxx1、Sepp1、Lgmn、Man2b2、Sele、Slc16a9またはIl13ra2を含む1つまたは複数の遺伝子を発現し、かつ

内皮細胞が哺乳類である、

方法。

50

## 【請求項 2】

Etsファミリー由来の転写因子が、ヒト転写因子ETV2、FLI1またはETS1であり、かつSoxファミリー由来の転写因子が、ヒト転写因子SOX18またはSOX7であり、かつ核ホルモン受容体ファミリー由来の転写因子が、ヒト転写因子RXRAまたはNR2F2である、請求項1記載の方法。

## 【請求項 3】

Etsファミリー由来の転写因子が、ETV2、FLI1またはETS1であり、かつSoxファミリー由来の転写因子が、SOX18またはSOX7である、請求項1記載の方法。

## 【請求項 4】

転写因子が、少なくとも1つのベクターから発現される、請求項1記載の方法。

10

## 【請求項 5】

ベクターが、1つまたは複数の転写因子をコードする外因性核酸配列を含む、請求項1記載の方法。

## 【請求項 6】

外因性核酸配列が、内皮細胞のゲノムに組み込まれる、請求項1記載の方法。

## 【請求項 7】

1つまたは複数の転写因子をコードする1つまたは複数の外因性核酸配列を含む改変された内皮ニッチ細胞であって、

1つまたは複数の転写因子が、Etsファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、Soxファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、および核ホルモン受容体ファミリー由来の少なくとも1つの転写因子を含み、

20

核ホルモン受容体ファミリー由来の転写因子がNR2F2またはRXRAであり、  
内皮ニッチ細胞が、Prpcp、Cldn11、Tll1、Ctsh、Hexb、Hyal2、Cltc、Ifi30、Glu1、Lyve1、Gpr182、Dab2、Ctsl、Stab2、Npl、Stab1、Snx8、Mrc1、Ap1b1、Pxxk、Sepp1、Lgmn、Man2b2、Sele、Slc16a9またはIl13ra2を含む1つまたは複数の遺伝子を発現し、かつ、  
内皮細胞が哺乳類である、  
 改変された内皮ニッチ細胞。

## 【請求項 8】

請求項7記載の改変された内皮ニッチ細胞を含む、組成物。

30

## 【請求項 9】

治療剤である、または薬学的に許容される担体をさらに含む、請求項8記載の組成物。

## 【請求項 10】

培養皿、3D細胞システムまたは懸濁システムをさらに含む、請求項8記載の組成物。

## 【請求項 11】

スキャホールドを含む、請求項8記載の組成物。

## 【請求項 12】

HSPCを培養するための方法であって、

改変された内皮ニッチ細胞の集団の存在下でHSPCを培養する工程を含み、

改変された内皮ニッチ細胞が、

40

(i) Etsファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、Soxファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、および核ホルモン受容体ファミリー由来の少なくとも1つの転写因子を発現し、ここで、核ホルモン受容体ファミリー由来の転写因子がNR2F2もしくはRXRAである、または

(ii) Etsファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、Soxファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、および核ホルモン受容体ファミリー由来の少なくとも1つの転写因子をコードする1つまたは複数の外因性核酸配列を含み、ここで、核ホルモン受容体ファミリー由来の転写因子がNR2F2またはRXRAであり、

内皮ニッチ細胞が、Prpcp、Cldn11、Tll1、Ctsh、Hexb、Hyal2、Cltc、Ifi30、Glu1、Lyve1、Gpr182、Dab2、Ctsl、Stab2、Npl、Stab1、Snx8、Mrc1、Ap1b

50

1、Pdk、Sepp1、Lgmn、Man2b2、Sele、Slc16a9またはIl13ra2を含む1つまたは複数の遺伝子を発現し、かつ、  
内皮細胞が哺乳類である、  
 方法。

【請求項13】

インビトロで実施される、請求項12記載の方法。

【請求項14】

改変された内皮ニッチ細胞が、HSPC細胞の成長および/または拡張に影響する因子を分泌する、請求項12記載の方法。

【請求項15】

改変された内皮ニッチ細胞の存在下で培養されるHSPCが、そのような改変された内皮ニッチ細胞の非存在下で培養されるHSPCよりも少なくとも3（例えば、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7）日間長く培養され得る、請求項12記載の方法。

【請求項16】

前記細胞が、生物学的に適合するスキャホールド上で培養される、請求項12記載の方法。

【請求項17】

改変された内皮ニッチ細胞の存在下で培養されたHSPCが、対象に投与されたときに、改変された内皮ニッチ細胞と共に培養されなかった実質的に類似するHSPCの生着と比較して向上した生着を示す、請求項12記載の方法。

【請求項18】

HSPCおよび改変された内皮ニッチ細胞の集団を含む、対象を処置する方法における使用のための組成物であって、

方法が、組成物を対象に移植する工程を含み、

改変された内皮ニッチ細胞が、

(i) Etsファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、Soxファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、および核ホルモン受容体ファミリー由来の少なくとも1つの転写因子を発現し、ここで、核ホルモン受容体ファミリー由来の転写因子がNR2F2もしくはRXRAである、または

(ii) Etsファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、Soxファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、および核ホルモン受容体ファミリー由来の少なくとも1つの転写因子をコードする1つまたは複数の外因性核酸配列を含み、ここで、核ホルモン受容体ファミリー由来の転写因子がNR2F2またはRXRAであり、

内皮ニッチ細胞が、Prpc、Cldn11、Tll1、Ctsh、Hexb、Hyal2、Cltc、Ifi30、Glu1、Lyve1、Gpr182、Dab2、Ctsl、Stab2、Npl、Stab1、Snx8、Mrc1、Ap1b1、Pdk、Sepp1、Lgmn、Man2b2、Sele、Slc16a9またはIl13ra2を含む1つまたは複数の遺伝子を発現し、かつ、

内皮細胞が哺乳類である、

組成物。

【請求項19】

HSPCおよび改変された内皮ニッチ細胞の集団を含む、HSPCの生着を向上させるための方法における使用のための組成物であって、

方法が、組成物をそれを必要とする対象に投与する工程を含み、

改変された内皮ニッチ細胞が、

(i) Etsファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、Soxファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、および核ホルモン受容体ファミリー由来の少なくとも1つの転写因子を発現し、ここで、核ホルモン受容体ファミリー由来の転写因子がNR2F2もしくはRXRAである、または

(ii) Etsファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、Soxファミリー由来の少なく

10

20

30

40

50

とも1つの転写因子、および核ホルモン受容体ファミリー由来の少なくとも1つの転写因子をコードする1つまたは複数の外因性核酸配列を含み、ここで、核ホルモン受容体ファミリー由来の転写因子がNR2F2またはRXRAであり、  
内皮ニッチ細胞が、Prpc、Cldn11、Tll1、Ctsh、Hexb、Hyal2、Cltc、Ifi30、Glu1、Lyve1、Gpr182、Dab2、Ctst、Stab2、Npl、Stab1、Snx8、Mrc1、Ap1b1、Pxxk、Sepp1、Lgmn、Man2b2、Sele、Slc16a9またはIl13ra2を含む1つまたは複数の遺伝子を発現し、かつ、  
内皮細胞が哺乳類である、  
 組成物。

【請求項20】

HSPCの生着が、改変された内皮ニッチ細胞の非存在下での実質的に類似するHSPCの生着と比較して少なくとも10%向上する、請求項19記載の組成物。

【請求項21】

改変された内皮ニッチ細胞およびHSPCを含む、共培養物であって、  
 改変された内皮ニッチ細胞が、

(i) Etsファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、Soxファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、および核ホルモン受容体ファミリー由来の少なくとも1つの転写因子を発現し、ここで、核ホルモン受容体ファミリー由来の転写因子がNR2F2もしくはRXRAである、または

(ii) Etsファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、Soxファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、および核ホルモン受容体ファミリー由来の少なくとも1つの転写因子をコードする1つまたは複数の外因性核酸配列を含み、ここで、核ホルモン受容体ファミリー由来の転写因子がNR2F2またはRXRAであり、  
内皮ニッチ細胞が、Prpc、Cldn11、Tll1、Ctsh、Hexb、Hyal2、Cltc、Ifi30、Glu1、Lyve1、Gpr182、Dab2、Ctst、Stab2、Npl、Stab1、Snx8、Mrc1、Ap1b1、Pxxk、Sepp1、Lgmn、Man2b2、Sele、Slc16a9またはIl13ra2を含む1つまたは複数の遺伝子を発現し、かつ、  
内皮細胞が哺乳類である、  
 共培養物。

【請求項22】

内皮細胞が、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法によって生成される、請求項21記載の共培養物。

【請求項23】

改変された内皮ニッチ細胞の集団、試薬、およびその使用説明書を含む、HSPCを培養するためのキットであって、  
 改変された内皮ニッチ細胞が、

(i) Etsファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、Soxファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、および核ホルモン受容体ファミリー由来の少なくとも1つの転写因子を発現し、ここで、核ホルモン受容体ファミリー由来の転写因子がNR2F2もしくはRXRAである、または

(ii) Etsファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、Soxファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、および核ホルモン受容体ファミリー由来の少なくとも1つの転写因子をコードする1つまたは複数の外因性核酸配列を含み、ここで、核ホルモン受容体ファミリー由来の転写因子がNR2F2またはRXRAであり、  
内皮ニッチ細胞が、Prpc、Cldn11、Tll1、Ctsh、Hexb、Hyal2、Cltc、Ifi30、Glu1、Lyve1、Gpr182、Dab2、Ctst、Stab2、Npl、Stab1、Snx8、Mrc1、Ap1b1、Pxxk、Sepp1、Lgmn、Man2b2、Sele、Slc16a9またはIl13ra2を含む1つまたは複数の遺伝子を発現し、かつ、  
内皮細胞が哺乳類である、  
 HSPCを培養するためのキット。

10

20

30

40

50

## 【請求項 24】

変更された内皮ニッチ細胞を含む、異所性血管ニッチを生成するための方法における使用のための組成物であって、

方法が、組成物をそれを必要とする対象内の標的部位に投与する工程を含み、  
変更された内皮ニッチ細胞が、

(i) Etsファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、Soxファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、および核ホルモン受容体ファミリー由来の少なくとも1つの転写因子を発現し、ここで、核ホルモン受容体ファミリー由来の転写因子がNR2F2もしくはRXRAである、または

(ii) Etsファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、Soxファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、および核ホルモン受容体ファミリー由来の少なくとも1つの転写因子をコードする1つまたは複数の外因性核酸配列を含み、ここで、核ホルモン受容体ファミリー由来の転写因子がNR2F2またはRXRAであり、

内皮ニッチ細胞が、Prpc、Cldn11、Tll1、Ctsh、Hexb、Hyal2、Cltc、Ifi30、Glu1、Lyve1、Gpr182、Dab2、Ctsl、Stab2、Npl、Stab1、Snx8、Mrc1、Ap1b1、Pxxk、Sepp1、Lgmn、Man2b2、Sele、Slc16a9またはIl13ra2を含む1つまたは複数の遺伝子を発現し、かつ、

内皮細胞が哺乳類である、  
組成物。

## 【請求項 25】

変更された内皮ニッチ細胞を含む、骨髄外造血のための方法における使用のための組成物であって、

方法が、組成物を対象における骨髄の外側の部位（例えば、前腕部）に移植し、それによって人工ニッチを作製する工程を含み、

変更された内皮ニッチ細胞が、

(i) Etsファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、Soxファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、および核ホルモン受容体ファミリー由来の少なくとも1つの転写因子を発現し、ここで、核ホルモン受容体ファミリー由来の転写因子がNR2F2もしくはRXRAである、または

(ii) Etsファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、Soxファミリー由来の少なくとも1つの転写因子、および核ホルモン受容体ファミリー由来の少なくとも1つの転写因子をコードする1つまたは複数の外因性核酸配列を含み、ここで、核ホルモン受容体ファミリー由来の転写因子がNR2F2またはRXRAであり、

内皮ニッチ細胞が、Prpc、Cldn11、Tll1、Ctsh、Hexb、Hyal2、Cltc、Ifi30、Glu1、Lyve1、Gpr182、Dab2、Ctsl、Stab2、Npl、Stab1、Snx8、Mrc1、Ap1b1、Pxxk、Sepp1、Lgmn、Man2b2、Sele、Slc16a9またはIl13ra2を含む1つまたは複数の遺伝子を発現し、かつ、

内皮細胞が哺乳類である、  
組成物。

## 【請求項 26】

内皮細胞が、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法によって生成される、請求項25に記載の組成物。

## 【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2024075624000001.xml

10

20

30

40

50