

【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 7 月 1 日(2024.7.1)

【公開番号】特開 2023-182587(P2023-182587A)
【公開日】令和 5 年 12 月 26 日(2023.12.26)
【年通号数】公開公報(特許)2023-243
【出願番号】特願 2023-144942(P2023-144942)
【国際特許分類】

C 1 2 N 5/0793(2010.01)

10

C 1 2 Q 1/02(2006.01)

C 1 2 Q 1/68(2018.01)

【F I】

C 1 2 N 5/0793

C 1 2 Q 1/02

C 1 2 Q 1/68

【手続補正書】

【提出日】令和 6 年 6 月 17 日(2024.6.17)

【手続補正 1】

20

【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】

a. C D 4 3⁺ヒト造血始原細胞を含むヒト造血始原細胞 (H P C) の集団を提供すること；および

b. ヒト造血始原細胞 (H P C) の集団内の C D 4 3⁺ヒト造血始原細胞を、ミクログリア分化培養培地中でフィーダー細胞の非存在下でヒト造血始原細胞 (H P C) を培養することにより、ヒトミクログリア様細胞 (M G L) の集団に分化させ、ここでミクログリア分化培養培地が、少なくとも 5 n g / m L の濃度で存在する C S F - 1 を含み、それによりヒトミクログリア様細胞 (i M G L) を産生させること、ここでヒトミクログリア様細胞 (i M G L) 集団が、P 2 R Y 1 2、T R E M 2、T M E M 1 1 9、C X 3 C R 1、O L F M L 3、G P R 8 4、I B A - 1、P U 1、A X L、C A B L E S 1、または C D 4 5 を発現する

30

を含む、ヒト C D 4 3⁺造血始原細胞 (H P C) からヒトミクログリア様細胞 (i M G L) を産生する方法。

【請求項 2】

ヒト造血始原細胞 (H P C) の集団が、誘導多能性幹細胞に由来する、請求項 1 に記載の方法。

40

【請求項 3】

ヒト造血始原細胞 (H P C) が、C D 4 1、C D 2 3 5、C D 4 5、またはそれらの任意の組み合わせを発現する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

ヒト造血始原細胞 (H P C) の集団の少なくとも 8 0 % が、C D 4 3⁺ヒト造血始原細胞である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

ヒトミクログリア様細胞 (M G L) の集団の少なくとも 7 0 % が、ヒトミクログリア様細胞 (M G L) である、請求項 1 に記載の方法。

50

【請求項 6】

ヒトミクログリア様細胞 (MGL) の集団中のヒトミクログリア様細胞 (MGL) が、P2RY12、TREM2、OLFML3、GPR84、IBA-1、PU1、AXL、CABLE1、またはCD45を発現する、請求項1に記載の方法。

【請求項 7】

ヒトミクログリア様細胞 (MGL) の集団中のヒトミクログリア様細胞 (MGL) が、TREM119またはCX3CR1を発現する、請求項1に記載の方法。

【請求項 8】

ヒトミクログリア様細胞 (MGL) が、内因性ヒト胎児ミクログリアまたは内因性ヒト成人ミクログリア中のP2RY12のレベルの少なくとも25%であるP2RY12のレベルを発現する、請求項1に記載の方法。

10

【請求項 9】

ミクログリア分化培養培地が、少なくとも25 ng/mLの濃度で存在するCSF-1を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 10】

ミクログリア分化培養培地が、5 ng/mL ~ 50 ng/mLの間の濃度で存在するCSF-1を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 11】

ミクログリア分化培養培地が、さらにTGF-1を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 12】

TGF-1が、少なくとも2.5 ng/mLの濃度で存在する、請求項11に記載の方法。

20

【請求項 13】

TGF-1が、2.5 ng/mL ~ 100 ng/mLの間の濃度で存在する、請求項12に記載の方法。

【請求項 14】

TGF-1が、少なくとも25 ng/mLの濃度で存在する、請求項12に記載の方法。

【請求項 15】

ミクログリア分化培養培地が、さらにIL-34を含む、請求項1に記載の方法。

30

【請求項 16】

IL-34が、少なくとも80 ng/mLの濃度で存在する、請求項15に記載の方法。

【請求項 17】

IL-34が、80 ng/mL ~ 120 ng/mLの間の濃度で存在する、請求項16に記載の方法。

【請求項 18】

ミクログリア分化培養培地が、インスリンをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 19】

インスリンが、少なくとも0.2 mg/mLの濃度で存在する、請求項18に記載の方法。

40

【請求項 20】

CD43⁺ヒト造血始原細胞 (HPC) の集団が、少なくとも12日の期間、ミクログリア分化培養培地に曝露される、請求項1に記載の方法。

【請求項 21】

CD43⁺ヒト造血始原細胞 (HPC) の集団が、ミクログリア分化培養培地に20 ~ 30日の間の期間曝露される、請求項1に記載の方法。

【請求項 22】

ミクログリア分化培養培地が、無血清である、請求項1に記載の方法。

【請求項 23】

多能性幹細胞 (PSC) または誘導多能性幹細胞 (iPSC) の集団を、造血始原細胞分

50

化培地中、フィーダー細胞の非存在下で、 $CD43^{+}$ ヒト造血始原細胞（HPC）の集団に分化させることをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項24】

造血始原細胞分化培地が、少なくとも5 ng/mLの濃度で存在するBMP4およびVEGFを含む、請求項23に記載の方法。

【請求項25】

造血始原細胞分化培地が、5 ng/mL ~ 100 ng/mLの間の濃度で存在するBMP4と、5 ng/mL ~ 100 ng/mLの間の濃度で存在するVEGFとを含む、請求項24に記載の方法。

【請求項26】

造血始原細胞分化培地が、FGF2、SCF、IL3、IL6、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項23に記載の方法。

【請求項27】

造血始原細胞分化培地が、BMP4、VEGF、およびFGF2を含む、請求項23に記載の方法。

【請求項28】

FGF2が、少なくとも5 ng/mLの濃度で存在し、BMP4が、少なくとも5 ng/mLの濃度で存在し、およびVEGFが、少なくとも5 ng/mLの濃度で存在する、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

a. FGF2が、5 ng/mL ~ 100 ng/mLの間の濃度で存在する；
b. SCFが、5 ng/mL ~ 100 ng/mLの間の濃度で存在する；
c. IL3が、5 ng/mL ~ 100 ng/mLの間の濃度で存在する；または
d. IL6が、5 ng/mL ~ 100 ng/mLの間の濃度で存在する、
請求項26に記載の方法。

【請求項30】

多能性幹細胞（PSC）または誘導多能性幹細胞（iPSC）の集団が、造血始原細胞分化培地中で少なくとも3日の期間インキュベートされる、請求項23に記載の方法。

【請求項31】

多能性幹細胞（PSC）または誘導多能性幹細胞（iPSC）の集団が、造血始原細胞分化培地中で最大28日の期間インキュベートされる、請求項23に記載の方法。

【請求項32】

ヒトミクログリア様細胞（MGL）の集団を成熟させることをさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項33】

成熟させることが、ヒトミクログリア様細胞（MGL）の集団を少なくとも1日の期間インキュベートすることを含む、請求項32に記載の方法。

【請求項34】

成熟させることが、ヒトミクログリア様細胞（MGL）の集団を1日 ~ 5日の間の期間インキュベートすることを含む、請求項33に記載の方法。

【請求項35】

成熟させることが、ヒトミクログリア様細胞（MGL）の集団を第2の培養培地に接触させることを含み、ここで第2の培養培地がCD200またはCX3CL1を含む、請求項32に記載の方法。

【請求項36】

CD200が、少なくとも80 ng/mLの濃度で存在するか、またはCX3CL1が、少なくとも80 ng/mLの濃度で存在する、請求項35に記載の方法。

【請求項37】

CD200が、80 ng/mL ~ 120 ng/mLの間の濃度で存在するか、またはCX3CL1が、80 ng/mL ~ 120 ng/mLの間の濃度で存在する、請求項36に記載

10

20

30

40

50

載の方法。

【請求項 38】

a. CD43⁺ヒト造血始原細胞を含むヒト造血始原細胞（HPC）の集団を提供すること；および

b. ヒト造血始原細胞（HPC）の集団内のCD43⁺ヒト造血始原細胞を、ミクログリア分化培養培地中でフィーダー細胞の非存在下でヒト造血始原細胞（HPC）を培養することにより、ヒトミクログリア様細胞（MGL）の集団に分化させ、ここでミクログリア分化培養培地が、少なくとも5 ng/mLの濃度で存在するCSF-1を含み、それによりヒトミクログリア様細胞（iMGL）を産生させること

を含む、ヒトCD43⁺造血始原細胞（HPC）からヒトミクログリア様細胞（iMGL）を産生する方法であって、

ヒトミクログリア様細胞（iMGL）の集団が、P2RY12、TREM2、TMEM119、CX3CR1、OLFML3、GPR84、IBA-1、PU1、AXL、CABLES1、またはCD45を発現し、およびCD43⁺ヒト造血始原細胞（HPC）の集団が、12日～30日の間の期間、ミクログリア分化培養培地に曝露される、方法。

10

20

30

40

50