

【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 12 N 5/0793(2010.01)

10

C 12 Q 1/02(2006.01)

C 12 Q 1/68(2018.01)

【F I】

C 12 N 5/0793

C 12 Q 1/02

C 12 Q 1/68

【手続補正書】

【提出日】令和6年6月17日(2024.6.17)

20

【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】

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内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

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80%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70%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、P乌1、AXL、CABLES1、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、TMEM119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10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。

【請求項 9】

ミクログリア分化培養培地が、少なくとも25ng/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、5ng/mL～50ng/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2.5ng/mLの濃度で存在する、請求項11に記載の方法。

【請求項 13】

TGF-1が、2.5ng/mL～100ng/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25ng/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。

【請求項 16】

IL-34が、少なくとも80ng/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、80ng/mL～120ng/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0.2mg/mLの濃度で存在する、請求項18に記載の方法。

【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10

化培地中、フィーダー細胞の非存在下で、C D 4 3⁺ヒト造血始原細胞（H P C）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5n g / m Lの濃度で存在するB M P 4およびV E G F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、5n g / m L ~ 1 0 0 n g / m Lの間の濃度で存在するB M P 4と、5n g / m L ~ 1 0 0 n g / m Lの間の濃度で存在するV E G F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、F G F 2、S C F、I L 3、I L 6、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、B M P 4、V E G F、およびF G F 2を含む、請求項23に記載の方法。

【請求項28】

F G F 2が、少なくとも5n g / m Lの濃度で存在し、B M P 4が、少なくとも5n g / m Lの濃度で存在し、およびV E G Fが、少なくとも5n g / m Lの濃度で存在する、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

- a . F G F 2が、5n g / m L ~ 1 0 0 n g / m Lの間の濃度で存在する；
- b . S C Fが、5n g / m L ~ 1 0 0 n g / m Lの間の濃度で存在する；
- c . I L 3が、5n g / m L ~ 1 0 0 n g / m Lの間の濃度で存在する；または
- d . I L 6が、5n g / m L ~ 1 0 0 n g / m L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（P S C）または誘導多能性幹細胞（i P S C）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（P S C）または誘導多能性幹細胞（i P S C）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（M G L）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（M G L）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（M G L）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（M G L）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C D 2 0 0またはC X 3 C L 1を含む、請求項32に記載の方法。

【請求項36】

C D 2 0 0が、少なくとも8 0 n g / m Lの濃度で存在するか、またはC X 3 C L 1が、少なくとも8 0 n g / m Lの濃度で存在する、請求項35に記載の方法。

【請求項37】

C D 2 0 0が、8 0 n g / m L ~ 1 2 0 n g / m Lの間の濃度で存在するか、またはC X 3 C L 1が、8 0 n g / m L ~ 1 2 0 n g / m Lの間の濃度で存在する、請求項36に記

10

20

30

40

50

載の方法。

【請求項 3 8】

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の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

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）を産生する方法であって、 10

ヒトミクログリア様細胞（i M G L）の集団が、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を発現し、およびC D 4 3⁺ヒト造血始原細胞（H P C）の集団が、1 2 日～3 0 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。