

【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1年9月5日(2019.9.5)

【公表番号】特表2018-533363(P2018-533363A)  
 【公表日】平成30年11月15日(2018.11.15)  
 【年通号数】公開・登録公報2018-044  
 【出願番号】特願2018-521543(P2018-521543)  
 【国際特許分類】

C 1 2 N 5/10 (2006.01)  
 C 1 2 N 15/90 (2006.01)  
 C 0 7 K 14/47 (2006.01)  
 C 1 2 N 5/0783 (2010.01)  
 C 1 2 N 5/0786 (2010.01)  
 C 0 7 K 16/28 (2006.01)  
 A 6 1 P 39/06 (2006.01)  
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)  
 A 6 1 P 7/00 (2006.01)  
 A 6 1 P 31/18 (2006.01)  
 A 6 1 P 31/12 (2006.01)  
 A 6 1 P 31/22 (2006.01)  
 A 6 1 K 35/545 (2015.01)  
 A 6 1 P 35/02 (2006.01)  
 G 0 1 N 33/53 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/10  
 C 1 2 N 15/90  
 C 0 7 K 14/47  
 C 1 2 N 5/0783  
 C 1 2 N 5/0786  
 C 0 7 K 16/28  
 A 6 1 P 39/06  
 A 6 1 P 35/00  
 A 6 1 P 7/00  
 A 6 1 P 31/18  
 A 6 1 P 31/12  
 A 6 1 P 31/22  
 A 6 1 K 35/545  
 A 6 1 P 35/02  
 G 0 1 N 33/53 Y

【手続補正書】  
 【提出日】令和1年7月23日(2019.7.23)  
 【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】

増強された治療特性を有する造血系細胞を作製する方法であって、

a) 1または複数の導入された遺伝的インプリントを含む誘導万能性幹細胞 (iPSC)を得ること；

b) iPSCを造血系細胞に分化誘導すること、  
を含み、前記分化誘導することは、

(i) iPSCを、BMP経路活性化剤および所望によりbFGFを含む組成物と接触させることにより、中胚葉細胞を得ること；並びに

(ii) 前記中胚葉細胞を、BMP経路活性化剤、bFGF、およびWNT経路活性化剤を含む組成物と接触させることで、造血系細胞を与えることが可能な、運命確定造血内皮(HE)分化能を有する中胚葉細胞を得ること、  
を含み；

中胚葉細胞および運命確定HE分化能を有する中胚葉細胞が段階(i)および(ii)において胚様体形成段階無しで得られ；

前記造血系細胞は運命確定造血内皮細胞、造血幹細胞・前駆細胞(HSC)、造血性多能性前駆細胞(MPP)、プレT細胞前駆細胞、プレNK細胞前駆細胞、T細胞前駆細胞、NK細胞前駆細胞、T細胞、NK細胞、NKT細胞、またはB細胞を含み；且つ、

前記造血系細胞は前記iPSCに導入されて含まれていた前記遺伝的インプリントを保持する、  
方法。

#### 【請求項2】

(I) 段階a)の1もしくは複数の導入された遺伝的インプリントを含むiPSCを得ることが：

a) 非万能性細胞からiPSCへの再プログラム化の間または後のゲノム編集によって、1もしくは複数の遺伝的インプリントをiPSCに導入することであって、前記遺伝的インプリントは前記iPSCのゲノムにおけるゲノム内挿入、ゲノム内欠失もしくはゲノム内置換を通じて得られた1もしくは複数の遺伝子改変されたモダリティを含む；もしくは

b) 1もしくは複数の遺伝的インプリントを以下によってiPSCに導入すること：

i. ドナー特異的、疾患特異的、もしくは治療応答特異的であり、且つ、保持可能な治療特性を示す、供給源特異的免疫細胞を得ること；および

ii. 前記供給源特異的免疫細胞を、前記保持可能な治療特性と関連付けられる導入された遺伝的インプリントを含むiPSCに再プログラム化すること；並びに所望により、

iii. 前記供給源特異的免疫細胞からiPSCへの再プログラム化の間もしくは後の遺伝子編集によって、追加の遺伝的インプリントを段階(ii)のiPSCに導入すること

をさらに含むか、または、

(II) 段階b)のiPSCを造血系細胞に分化誘導することが：

a) 前記運命確定HE分化能を有する中胚葉細胞をbFGFおよびROCK阻害剤を含む組成物と接触させることで、運命確定HE細胞を得ること、並びに所望により、

b) 前記運命確定HE細胞を、

i. BMP活性化剤、および所望により、ROCK阻害剤、およびTPO、IL3、GM-CSF、EPO、bFGF、VEGF、SCF、IL6、Flt3LおよびIL11からなる群から選択される1もしくは複数の増殖因子およびサイトカインを含む組成物と接触させることで、造血性多能性前駆細胞(MPP)を得ること、もしくは、

ii. SCF、Flt3L、およびIL7からなる群から選択される1もしくは複数の増殖因子およびサイトカイン、および所望により、BMP活性化剤、ROCK阻害剤、TPO、VEGFおよびbFGFのうちの1もしくは複数を含む組成物と接触させることで、プレT細胞前駆細胞、T細胞前駆細胞、および/もしくはT細胞を得ること、もしくは、

i i i . S C F、F l t 3 L、T P O、I L 7 および I L 1 5 からなる群から選択される 1 もしくは複数の増殖因子およびサイトカイン、および所望により、B M P 活性化剤、R O C K 阻害剤、V E G F および b F G F のうちの 1 もしくは複数を含む組成物と接触させることで、プレNK細胞前駆細胞、NK細胞前駆細胞、および / もしくはNK細胞を得ること

をさらに含むか、または、

( I I I ) 段階 b ) の前に、万能性幹細胞を、M E K 阻害剤、G S K 3 阻害剤、および R O C K 阻害剤を含む組成物と接触させて、細胞を播種および増殖すること

をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 3】**

前記遺伝子改変されたモダリティが、

( a ) セーフティ・スイッチタンパク質、標的化モダリティ、受容体、シグナル伝達分子、転写因子、薬剂的に活性なタンパク質およびペプチド、薬物標的候補 ; もしくは、i P S C もしくはその派生細胞の生着、輸送、ホーミング、生存度、自己複製、残留性、免疫応答の制御および調節、並びに / もしくは生存を促進するタンパク質のうちの 1 もしくは複数を含む、または、

( b ) ( i ) B 2 M、T A P 1、T A P 2、タバシン、N L R C 5、P D 1、L A G 3、T I M 3、R F X A N K、C I T T A、R F X 5、もしくは R F X A P の発現の欠失もしくは減少 ; ( i i ) H L A - E、H L A - G、H A C D 1 6、4 1 B B L、C D 3、C D 4、C D 8、C D 4 7、C D 1 3 7、C D 8 0、P D L 1、A<sub>2</sub>A R、C A R、T C R、もしくは二重特異性もしくは多重特異性エンゲージャーに対する表面上誘発受容体の発現の導入もしくは増加、のうちの 1 もしくは複数を含むものであって、

前記供給源特異的免疫細胞の治療特性が、( i ) 抗原標的受容体の発現 ; ( i i ) H L A の提示またはその欠如 ; ( i i i ) 腫瘍内微小環境に対する耐性 ; ( i v ) 傍観者免疫細胞および免疫調節の誘導 ; ( i v ) 腫瘍外効果の減少に伴う、対標的特異性の向上 ; ( v ) 化学療法等の治療に対する耐性 ; 並びに ( v i ) ホーミング、残留性、および細胞毒性の向上、のうちの 1 または複数を含む、請求項 2 に記載の方法。

**【請求項 4】**

( i ) 前記表面上誘発受容体が T 細胞、NK 細胞、N K T 細胞、マクロファージ、および好中球を含む造血系細胞において普遍的であるか、または、

( i i ) 前記二重特異性もしくは多重特異性エンゲージャーが、普遍的表面上誘発受容体に対して特異的であり、且つ、腫瘍細胞の表面上の 1 もしくは複数の腫瘍特異的抗原に対して特異的である、請求項 3 に記載の方法。

**【請求項 5】**

( i ) 前記普遍的表面上誘発受容体が抗エピトープおよび共刺激ドメインを含み、並びに所望により前記共刺激ドメインが I L 2 を含むか、または、

( i i ) 前記抗エピトープが前記二重特異性もしくは多重特異性エンゲージャーに特異的であるか、または、

( i i i ) 前記腫瘍特異的抗原が C D 1 9、C D 2 0、C D 3 0、E G F R、H E R 2 / E R B B 2 / n e u、E P C A M、E p h A 2 および C E A のうちの 1 もしくは複数を含む、請求項 4 に記載の方法。

**【請求項 6】**

増強された治療特性を有し、且つ、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載のインビトロの分化誘導を通じて、派生前の万能性幹細胞に含まれていた遺伝的インプリントを含む造血系細胞であって、

前記万能性幹細胞の遺伝的インプリントは、

a ) 非万能性細胞から i P S C への再プログラム化の間もしくは後の、万能性細胞のゲノムにおけるゲノム内挿入、ゲノム内欠失もしくはゲノム内置換を通じて得られた、1 もしくは複数の遺伝子改変されたモダリティ ; または

b ) ドナー特異的、疾患特異的、もしくは治療応答特異的な供給源特異的免疫細胞の 1

または複数の保持可能な治療特性、を含み、  
前記万能性細胞は前記供給源特異的免疫細胞から再プログラム化される、  
造血系細胞。

【請求項 7】

( a ) 前記供給源特異的免疫細胞の治療特性が、( i ) 抗原標的受容体の発現；( i i ) H L A の提示もしくははその欠如；( i i i ) 腫瘍内微小環境に対する耐性；( i v ) 傍観者免疫細胞および免疫調節の誘導；( i v ) 腫瘍外効果の減少に伴う、対標的特異性の向上；( v ) 化学療法等の治療に対する耐性；並びに( v i ) ホーミング、残留性、および細胞毒性の向上、のうちの 1 もしくは複数を含むか、または、

( b ) 運命確定造血内皮細胞、造血幹細胞・前駆細胞( H S C )、造血性多能性前駆細胞( M P P )、プレ T 細胞前駆細胞、プレ N K 細胞前駆細胞、T 細胞前駆細胞、N K 細胞前駆細胞、T 細胞、N K 細胞、N K T 細胞、B 細胞、マクロファージ、もしくはは好中球を含む、請求項 6 に記載の造血系細胞。

【請求項 8】

( a ) 前記 T 細胞が制御性 T 細胞( T r e g )、セントラルメモリー T 細胞( T c m )、幹細胞メモリー T 細胞( T s c m )、および/もしくははエフェクターメモリー T 細胞( T e m )を含むか、または、

( b ) 前記 N K 細胞が獲得 N K 細胞を含む、請求項 7 に記載の造血系細胞。

【請求項 9】

請求項 6 ~ 8 のいずれか一項に記載の造血系細胞を含む組成物。

【請求項 10】

請求項 6 ~ 8 のいずれか一項に記載の造血系細胞のうちの 1 または複数および薬剂的に許容できる培地を含む、医薬組成物。

【請求項 11】

組成物を養子細胞療法に適した対象に導入することによる請求項 9 または 10 に記載の組成物の治療用途であって、前記対象は自己免疫障害；造血器腫瘍；固形腫瘍；がん、または、H I V、R S V、E B V、C M V、アデノウイルス、もしくは B K ポリオーマウイルスと関連した感染症を有する、治療用途。

【請求項 12】

細胞治療を必要としている対象を治療する方法であって、

請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の誘導万能性幹細胞( i P S C )分化から生じた治療上十分な数のT 細胞または T 細胞前駆細胞を投与すること、を含む方法。

【請求項 13】

前記対象が、

( i ) 骨髄移植もしくは幹細胞移植の候補であるか、前記対象が化学療法もしくは放射線療法を受けたことがある；

( i i ) 骨髄破壊的もしくは骨髄非破壊的( non-myeolablative )な化学療法もしくは放射線療法を受けたことがある；

( i i i ) 造血系の過剰増殖性疾患もしくはがんを有する；

( i v ) 固形腫瘍を有する；または、

( v ) ウイルス感染もしくはウイルス感染と関連した疾患を有し；

インビボにおいて、投与された前記 T 細胞または T 細胞前駆細胞が胸腺を活性化させて T 細胞を再構成する、  
請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

以下から選択される少なくとも 1 つのマーカーに対して特異的な 1 または複数の抗体を含む抗体組成物であって：C C R 10、C D 164、C D 95、C D 144、C D 166、リンフォトキシン 受容体、C D 252、C D 55、C D 40、C D 46、C D 340、C D 119、C D 106、C D 66 a / c / e、C D 49 d、C D 45 R B、D L L 4

、CD107a、CD116、CD324、CD123、CD49f、CD200、CD71、CD172a、CD21、CD184、CD263、CD221、Notch4、MSC、CD97、CD319、CD69、CD338、ポドブラニン、CD111、CD304、CD326、CD257、CD100、CD32、CD253、CD79b、CD33、CD83、GARP、CD183、CD357、CD31、CD165、CD102、CD146、CD49c、CD13、CD58、インテグリン 9 1、CD51、CD10、CD202b、CD141、CD49a、CD9、CD201、CD47、CD262、CD109、CD39、CD317、CD143、インテグリン 5、CD105、CD155、SSEA-4およびCD93；前記マーカーは運命確定造血内皮を同定するためのものである、抗体組成物。

【請求項15】

組成物が、CD93に対して特異的な抗体を含み；CD93に対して特異的な前記抗体と結合した細胞が、CD34+表現型、CD43-表現型、CD73-表現型、CXCR4-表現型、およびCD73-CXCR4-表現型のうちの1または複数を有する、請求項14に記載の抗体組成物。

【請求項16】

請求項14または15の抗体組成物を用いて、万能性幹細胞の分化において運命確定造血内皮を特定する方法であって、

(i) 分化中である細胞集団を得ること；

(ii) 前記細胞集団にCD93特異的抗体を導入すること；および

(iii) CD93発現レベルが1%未満である細胞集団を特定すること、を含む方法。

【請求項17】

段階(i)が、

前記分化中である細胞集団からCD34+細胞を単離すること；または、

前記分化中である細胞集団からCD34+CD43-細胞を単離すること、

をさらに含む、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

万能性幹細胞由来運命確定造血内皮を作製する方法であって、

運命確定造血内皮(HE)分化能を有する万能性幹細胞由来中胚葉細胞を、Wnt経路アゴニストを含む培地中で培養することで、運命確定HE細胞を得ること、を含み；

Wnt経路活性化剤無しでの培養との比較において、得られた前記運命確定HE細胞が

(i) 細胞集団内の数および割合を増加させている、

(ii) 分化能が増加している；且つ/または、

(iii) HE細胞性を向上させている、

方法。

【請求項19】

(i) 前記培地が、ROCK阻害剤と、bFGF、VEGF、SCF、IGF、EPO、IL6、およびIL11からなる群から選択される1または複数の増殖因子およびサイトカインとをさらに含むという特性、並びに、

(ii) 万能性幹細胞が、(a) iPSC、(b) ナイーブ型 iPSC、および/または分化後に保持可能な1もしくは複数の遺伝的インプリントを含む iPSC を含むという特性

のうちの少なくとも1つを有する、請求項18記載の方法。

【請求項20】

抗原特異的な誘導万能性幹細胞(iPSC)および派生造血系細胞を作製する方法であって、

a) ドナー特異的、疾患特異的、または治療応答特異的である選択された供給源から初代抗原特異的T細胞を単離すること；

b) 前記初代抗原特異的 T 細胞を再プログラム化して万能性幹細胞を得ること；および

c) 段階 b) の前記万能性幹細胞を造血系細胞に分化誘導すること、  
を含み、分化誘導することが、

(i) 前記万能性幹細胞を、BMP 経路活性化剤および所望により bFGF を含む組成物と接触させることで、中胚葉細胞を得ること；並びに、

(ii) 前記中胚葉細胞を、BMP 経路活性化剤、bFGF、および WNT 経路活性化剤を含む組成物と接触させることで、運命確定造血内皮 (HE) 分化能を有する中胚葉細胞を得ること、

を含み；

中胚葉細胞および運命確定 HE 分化能を有する中胚葉細胞が段階 (i) および (ii) において胚様体形成段階無しで得られる、  
方法。

【請求項 21】

前記初代抗原特異的 T 細胞の単離が、

(i) 前記初代抗原特異的 T 細胞を、(a) 目的の抗原を発現する腫瘍細胞；(b) 目的の抗原を発現する非形質転換細胞；もしくは (c) 目的の抗原を発現する、樹状細胞、胸腺上皮細胞、内皮細胞もしくは人工抗原提示細胞、血漿内の粒子もしくはペプチドと共に培養することで、細胞によって発現された目的の抗原を認識する抗原特異的な T 細胞のより速い増殖を可能にすること；または、

(ii) 目的の抗原に特異的な T 細胞受容体特異的結合剤を用いて、前記初代抗原特異的 T 細胞を選別すること、

によって前記初代抗原特異的 T 細胞を濃縮して、

目的の抗原を認識する、濃縮された、初代抗原特異的 T 細胞を得ることをさらに含むものであって、所望により、前記初代抗原特異的 T 細胞または濃縮された初代抗原特異的 T 細胞は、転写因子または小分子がさらに接触することで、細胞を若返らせる、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

段階 (b) が、

再プログラム化の間または後の遺伝子編集によって、1 または複数の遺伝的インプリントを前記万能性幹細胞に導入すること、をさらに含み、前記遺伝的インプリントは前記万能性幹細胞のゲノムにおけるゲノム内挿入、ゲノム内欠失またはゲノム内置換を通じて得られる 1 または複数の遺伝子改変されたモダリティを含む、  
請求項 20 に記載の方法。

【請求項 23】

前記遺伝子改変されたモダリティが、

(I) セーフティ・スイッチタンパク質、標的化モダリティ、受容体、シグナル伝達分子、転写因子、薬剤的に活性なタンパク質およびペプチド、薬物標的候補；第二もしくは第三の抗原特異性を伝達する細胞表面タンパク質；もしくは、iPSC もしくはその派生細胞の生着、輸送、ホーミング、生存度、自己複製、残留性、免疫応答の制御および調節、並びに / もしくは生存を促進するタンパク質；

(II) B2M、TAP1、TAP2、タバシン、NLRC5、PD1、LAG3、TIM3、RFXANK、CITTA、RFX5、もしくは RFXAP の発現の欠失もしくは減少；または、

(III) HLA-E、HLA-G、HACD16、41BBL、CD3、CD4、CD8、CD47、CD137、CD80、PDL1、A<sub>2A</sub>R、CAR、TCR、もしくは二重特異性もしくは多重特異性エンゲージャーに対する表面上誘発受容体の発現の導入もしくは増加、

のうちの 1 または複数を含む、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

前記表面上誘発受容体が、

( i ) 造血系細胞において普遍的であるという特性；

( i i ) 抗エピトープおよび共刺激ドメインを含み、前記抗エピトープが前記二重特異性または多重特異性エンゲージャーに特異的であり、また所望により共刺激ドメインが I L 2 を含むという特性；

( i i i ) 前記二重特異性または多重特異性エンゲージャーが腫瘍細胞の表面上の 1 または複数の腫瘍特異的抗原に対して特異的であり、前記腫瘍特異的抗原が所望により C D 1 9、C D 2 0、C D 3 0、E G F R、H E R 2 / E R B B 2 / n e u、E P C A M、E p h A 2 および C E A のうちの 1 または複数を含むという特性；並びに

( i v ) 前記二重特異性または多重特異性エンゲージャーが、

( a ) 造血系細胞型に対して特異的であり、また所望により当該エンゲージャーが C D 3、C D 1 6、C D 6 4、もしくは C D 8 9 を含む表面受容体に対して特異的である；

( b ) 造血系細胞型に対して非依存的であり、前記造血系細胞型が普遍的表面上誘発受容体を含み、前記エンゲージャーが前記普遍的表面上誘発受容体に対して特異的である；または、

( c ) 腫瘍細胞の表面上の 1 もしくは複数の腫瘍特異的抗原に特異的であり、また所望により前記腫瘍特異的抗原が C D 1 9、C D 2 0、C D 3 0、E G F R、H E R 2 / E R B B 2 / n e u、E P C A M、E p h A 2 および C E A のうちの 1 もしくは複数を含むという特性

のうちの少なくとも 1 つを有し、

前記造血系細胞が、運命確定造血内皮細胞、造血幹細胞・前駆細胞 ( H S C )、造血性多能性前駆細胞 ( M P P )、プレ T 細胞前駆細胞、プレ N K 細胞前駆細胞、T 細胞前駆細胞、N K 細胞前駆細胞、T 細胞、N K 細胞、N K T 細胞、B 細胞、マクロファージ、または好中球を含む、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

請求項 2 0 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の方法を用いての、抗原特異的な誘導万能性幹細胞 ( i P S C ) または派生造血系細胞。

【請求項 2 6】

請求項 2 5 に記載の抗原特異的な誘導万能性幹細胞 ( i P S C ) または派生造血系細胞を含む、組成物。

【請求項 2 7】

請求項 2 5 に記載の誘導万能性幹細胞 ( i P S C ) または派生造血系細胞、および薬的に許容できる培地、および所望により造血系細胞の表面受容体との結合のための 1 または複数の二重特異性または多重特異性エンゲージャーを含む、医薬組成物。

【請求項 2 8】

組成物を養子細胞療法に適した対象に導入することによる請求項 2 7 に記載の医薬組成物の治療用途であって、前記対象は自己免疫障害；造血器腫瘍；固形腫瘍；がん、または、H I V、R S V、E B V、C M V、アデノウイルス、もしくは B K ポリオーマウイルスと関連した感染症を有する、治療用途。

【請求項 2 9】

誘導万能性幹細胞およびその派生細胞のクローン性を決定する方法であって、

a ) 成熟した供給源 T 細胞または B 細胞を再プログラム化して、誘導万能性幹細胞 ( i P S C ) を得ること；並びに所望により、

b ) 段階 a ) の万能性幹細胞を造血系細胞に分化誘導すること；

並びに、

c ) 前記 i P S C および造血系細胞を得るための前記成熟した供給源 T 細胞または B 細胞に含まれていたものと同一の、特定の V ( D ) J 遺伝子再構成の存在を、前記 i P S C または前記造血系細胞において検出することを含む、

所望により

( i ) 再プログラム化のための成熟した供給源 T 細胞もしくは B 細胞を得ること、およ

び、前記成熟した供給源 T 細胞もしくは B 細胞に対して特異的な免疫グロブリン ( I g )  
もしくは T 細胞受容体 ( T C R ) に含まれる V ( D ) J 遺伝子再構成を決定すること、並  
びに / または、

( i i ) 派生元の前記成熟した供給源 T 細胞もしくは B 細胞のものと同じの V ( D ) J  
遺伝子再構成を含む i P S C もしくは造血系細胞を単離すること、  
をさらに含む、方法。

【請求項 3 0】

インビボで養子細胞を追跡する方法であって、

特定の V ( D ) J 遺伝子再構成を含む成熟した供給源 T 細胞または B 細胞から再プログ  
ラム化された万能性幹細胞に由来する、治療用の養子細胞を与えられている対象から、血  
液、組織、または腫瘍の生検試料を得ること；

該試料からエフェクター細胞を単離すること；

前記エフェクター細胞における V ( D ) J 遺伝子再構成を決定すること； を含み、

前記成熟した供給源 T 細胞または B 細胞のものと同じの V ( D ) J 遺伝子再構成の存在  
によって、養子細胞のホーミング、残留性および / または増殖が示される、方法。

【請求項 3 1】

万能性幹細胞を造血系細胞に分化誘導するための方法であって、( i ) 前記万能性幹細  
胞を、B M P 経路活性化剤、および所望により b F G F を含む組成物と接触させることで  
、中胚葉細胞を得ること；並びに、( i i ) 前記中胚葉細胞を、B M P 経路活性化剤、b  
F G F、および W N T 経路活性化剤を含む組成物と接触させることで、運命確定造血内皮  
( H E ) 分化能を有する中胚葉細胞を得ること、 を含み、運命確定造血内皮 ( H E ) 分化  
能を有する前記中胚葉細胞は、造血幹細胞・前駆細胞 ( H S C )、造血性多能性前駆細胞  
( M P P )、プレ T 細胞前駆細胞、プレ N K 細胞前駆細胞、T 細胞前駆細胞、N K 細胞前  
駆細胞、T 細胞、N K 細胞、N K T 細胞、または B 細胞を含む造血系細胞を与えることが  
可能であり；中胚葉細胞および運命確定 H E 分化能を有する中胚葉細胞が段階 ( i ) およ  
び ( i i ) において胚様体形成段階無しで得られる、方法。

【請求項 3 2】

( i i i ) 運命確定 H E 分化能を有する前記中胚葉細胞を、b F G F および R O C K 阻  
害剤、並びに所望により W n t 経路活性化剤、I G F および E P O のうちの 1 または複数  
を含む組成物と接触させることで、運命確定 H E 細胞を得ること、 をさらに含むものであ  
って、前記万能性幹細胞、前記中胚葉細胞、および / または運命確定造血内皮への分化能  
を有する中胚葉細胞を、所望により約 2 % ~ 約 1 0 % の低酸素分圧下に曝して、段階 ( i  
) の前に、所望により前記万能性幹細胞を、M E K 阻害剤、G S K 3 阻害剤、および R O  
C K 阻害剤を含む組成物と接触させることで、細胞を播種および増殖する、請求項 3 1 に  
記載の方法。

【請求項 3 3】

( a ) 前記運命確定 H E 細胞を、B M P 活性化剤、並びに所望により R O C K 阻害剤、  
並びに、T P O、I L 3、G M C S F、E P O、b F G F、V E G F、S C F、I L 6、  
F l t 3 L および I L 1 1 からなる群から選択される 1 または複数の増殖因子およびサイ  
トカインを含む組成物と接触させることで、造血性多能性前駆細胞 ( M P P ) を得ること  
、

( b ) 前記運命確定 H E 細胞を、S C F、F l t 3 L、T P O、および I L 7 からなる  
群から選択される 1 または複数の増殖因子およびサイトカイン；並びに所望により、B M  
P 活性化剤、R O C K 阻害剤、V E G F および b F G F のうちの 1 または複数を含む組成  
物と接触させることで、プレ T 細胞前駆細胞、T 細胞前駆細胞、および / または T 細胞を  
得ること、

( c ) 前記運命確定 H E 細胞を、S C F、F l t 3 L、T P O、I L 3、I L 7 および  
I L 1 5 からなる群から選択される 1 または複数の増殖因子およびサイトカイン、並びに  
所望により、B M P 活性化剤、R O C K 阻害剤、V E G F および b F G F のうちの 1 また  
は複数を含む組成物と接触させることで、プレ N K 細胞前駆細胞、N K 細胞前駆細胞、お

よび / または N K 細胞を得ること、  
のうちの 1 つをさらに含む、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 4】

( i ) 前記万能性幹細胞の造血系細胞への分化が、T G F 受容体 / A L K 阻害剤を含まない、または本質的に含まず、

( i i ) 前記万能性幹細胞の造血系細胞への分化が無フィーダー条件下であり、

( i i i ) 前記万能性幹細胞の造血系細胞への分化が無間質条件下であり、

( i v ) 前記万能性幹細胞が誘導万能性幹細胞 ( i P S C )、ナイーブ型 i P S C、および / または、それから分化した前記造血系細胞において保持される 1 もしくは複数の遺伝的インプリントを有する i P S C を含む、

( v ) 前記 W N T 経路活性化剤が G S K 3 阻害剤であり、所望により前記 G S K 3 阻害剤が C H I R 9 9 0 2 1 であり、

( v i ) 前記 B M P 経路活性化剤が B M P 4 である、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 5】

万能性幹細胞由来 T 系細胞を作製するための方法であって、

万能性幹細胞由来プレ T 細胞前駆細胞を、S C F、F l t 3 L、および I L 7 からなる群から選択される 1 または複数の増殖因子およびサイトカインを含み、V E G F、b F G F、T P O、B M P 活性化剤および R O C K 阻害剤のうちの 1 または複数を含まない組成物と接触させることで、万能性幹細胞由来の T 細胞前駆細胞または T 細胞を得ること、を含み；

前記万能性幹細胞由来プレ T 細胞前駆細胞は、万能性幹細胞由来運命確定造血内皮を、R O C K 阻害剤、並びに V E G F、b F G F、S C F、F l t 3 L、T P O、および I L 7 からなる群から選択される 1 または複数の増殖因子およびサイトカインを含む組成物と接触させて、細胞分化および増殖させることによって得られ；

前記万能性幹細胞由来運命確定造血内皮は、万能性幹細胞由来の運命確定 H E 分化能を有する中胚葉細胞を、R O C K 阻害剤；b F G F、V E G F、S C F、I L 6 および I L 1 1 からなる群から選択される 1 または複数の増殖因子およびサイトカイン；並びに所望により、W n t 経路活性化剤、I G F、および E P O のうちの 1 または複数を含み、T G F 受容体 / A L K 阻害剤を含まない、組成物と接触させて、細胞分化および増殖させることによって得られ；

前記万能性幹細胞由来の運命確定 H E 分化能を有する中胚葉細胞は、万能性幹細胞由来中胚葉細胞を、B M P 活性化剤、b F G F、および G S K 3 阻害剤を含み、T G F 受容体 / A L K 阻害剤を含まない、組成物と接触させて、細胞分化および増殖させることによって得られ、

前記万能性幹細胞由来中胚葉細胞は、万能性幹細胞を、B M P 活性化剤、および所望により b F G F を含む組成物と接触させて、細胞分化および増殖させることによって得られる、  
方法。

【請求項 3 6】

万能性幹細胞を、M E K 阻害剤、G S K 3 阻害剤、および R O C K 阻害剤を含み、T G F 受容体 / A L K 阻害剤を含まない、組成物と接触させて、前記万能性幹細胞を播種および増殖させることをさらに含む、

所望により ( a ) 万能性幹細胞由来 T 系細胞の発生が、( i ) 胚様体発生段階無し；( i i ) 単層培養下；( i i i ) 無フィーダー条件下；および / または ( i v ) 無間質条件下であり；

( b ) 前記万能性幹細胞が i P S C、ナイーブ型 i P S C、および / または、それから派生した T 系細胞において保持される 1 または複数の遺伝的インプリントを有する i P S C である、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

万能性幹細胞由来 N K 系細胞を作製するための方法であって、

万能性幹細胞由来プレNK細胞前駆細胞を、SCF、Flt3L、IL3、IL7、およびIL15からなる群から選択される1または複数の増殖因子およびサイトカインを含み、VEGF、bFGF、TPO、BMP活性化剤およびROCK阻害剤のうちの1または複数を含まない組成物と接触させることで、万能性幹細胞由来のNK細胞前駆細胞またはNK細胞を得ること；を含み、

前記万能性幹細胞由来プレNK細胞前駆細胞は、万能性幹細胞由来運命確定造血内皮を、ROCK阻害剤；VEGF、bFGF、SCF、Flt3L、TPO、IL3、IL7、およびIL15からなる群から選択される1または複数の増殖因子およびサイトカイン；並びに所望により、BMP活性化剤、を含む組成物と接触させて、細胞分化および増殖させることによって得られ；

万能性幹細胞由来運命確定造血内皮は、万能性幹細胞由来の運命確定HE分化能を有する中胚葉細胞を、ROCK阻害剤；bFGF、VEGF、SCF、IL6およびIL11からなる群から選択される1または複数の増殖因子およびサイトカイン；並びに所望によりWnt経路活性化剤、IGFおよびEPOのうちの1または複数を含み、TGF受容体/A L K阻害剤を所望により含まない、組成物と接触させて、細胞分化および増殖させることによって得られ；

前記万能性幹細胞由来の運命確定HE分化能を有する中胚葉細胞は、万能性幹細胞由来中胚葉細胞を、BMP活性化剤、bFGF、およびGSK3阻害剤を含み、TGF受容体/A L K阻害剤を所望により含まない、組成物と接触させて、細胞分化および増殖させることによって得られ、

前記万能性幹細胞由来中胚葉細胞は、万能性幹細胞を、BMP活性化剤、および所望によりbFGFを含む組成物と接触させて、細胞分化および増殖させることによって得られる、  
方法。

【請求項38】

(i) 播種された万能性幹細胞、万能性幹細胞由来中胚葉細胞、造血内皮分化能を有する中胚葉細胞、および/または運命確定造血内皮を、約2%～約10%の低酸素分圧下に曝すこと、

(ii) 万能性幹細胞を、MEK阻害剤、GSK3阻害剤、およびROCK阻害剤を含み、TGF受容体/A L K阻害剤を含まない、組成物と接触させて、細胞を播種および増殖させること

のうちの1つまたは複数をさらに含むものであって、所望により

(a) 万能性幹細胞由来NK系細胞の発生が、(1)胚様体発生無し；(2)単層培養下；(3)無フィーダー条件下；および/もしくは(4)無間質条件下であるか、または

(b) 前記万能性幹細胞がiPSC、ナイーブ型iPSC、および/もしくは、それから派生したNK系細胞において保持される1もしくは複数の遺伝的インプリントを有するiPSCを含む、

請求項37に記載の方法。

【請求項39】

万能性幹細胞由来運命確定造血内皮を作製するための方法であって、

万能性幹細胞由来の運命確定HE分化能を有する中胚葉細胞を、ROCK阻害剤；bFGF、VEGF、SCF、IL6およびIL11からなる群から選択される1または複数の増殖因子およびサイトカイン；並びに所望により、1または複数またはWnt経路活性化剤、IGFおよびEPOを含み、TGF受容体/A L K阻害剤を所望により含まない、組成物と接触させることで、万能性幹細胞由来運命確定造血内皮を得ること；を含み、

前記万能性幹細胞由来の運命確定HE分化能を有する中胚葉細胞は、万能性幹細胞由来中胚葉細胞を、BMP活性化剤、bFGF、およびGSK3阻害剤を含み、TGF受容体/A L K阻害剤を所望により含まない、組成物と接触させて、細胞分化および増殖させることによって得られ、

前記万能性幹細胞由来中胚葉細胞は、万能性幹細胞を、BMP活性化剤、および所望によりbFGFを含む組成物と接触させて、細胞分化および増殖させることによって得られる、方法。

【請求項40】

万能性幹細胞を、MEK阻害剤、GSK3阻害剤、およびROCK阻害剤を含み、TGF受容体/ALK阻害剤を含まない、組成物と接触させて、前記万能性幹細胞を播種および増殖させること、並びに/または、

播種された万能性幹細胞、万能性幹細胞由来中胚葉細胞、運命確定造血内皮への分化能を有する中胚葉細胞、および/もしくは運命確定造血内皮を、約2%~約10%の低酸素分圧下に曝すことをさらに含み、所望により、

(a) 万能性幹細胞由来運命確定造血内皮の発生が、(i) 胚様体発生段階無し；(ii) 単層培養下；(iii) 無フィーダー条件下；および/または(iv) 無間質条件下であり；(b) 前記万能性幹細胞がiPSC、ナイーブ型iPSC、および/または、それから派生した運命確定造血内皮において保持される1もしくは複数の遺伝的インプリントを有するiPSCを含む、請求項39に記載の方法。

【請求項41】

万能性幹細胞由来造血性多能性前駆細胞を作製するための方法であって、

万能性幹細胞由来プレHSCを、BMP活性化剤、並びにTPO、IL3、GMCSF、EPO、bFGF、VEGF、SCF、IL6およびIL11からなる群から選択される1または複数の増殖因子およびサイトカインを含み、ROCK阻害剤を含まない、組成物と接触させることで、万能性幹細胞由来造血性多能性前駆細胞を得ること、を含み；

前記万能性幹細胞由来プレHSCは、万能性幹細胞由来運命確定造血内皮を、BMP活性化剤、ROCK阻害剤、並びにTPO、IL3、GMCSF、EPO、bFGF、VEGF、SCF、IL6、Flt3LおよびIL11からなる群から選択される1または複数の増殖因子およびサイトカインを含む組成物と接触させて、細胞分化および増殖させることによって得られ；

前記万能性幹細胞由来運命確定造血内皮は、万能性幹細胞由来の運命確定HE分化能を有する中胚葉細胞を、ROCK阻害剤；bFGF、VEGF、SCF、IGF、EPO、IL6、およびIL11からなる群から選択される1または複数の増殖因子およびサイトカイン；並びに所望により、Wnt経路活性化剤を含み、TGF受容体/ALK阻害剤を含まない、組成物と接触させて、細胞分化および増殖させることによって得られ；

前記万能性幹細胞由来の運命確定HE分化能を有する中胚葉細胞は、万能性幹細胞由来中胚葉細胞を、BMP活性化剤、bFGF、およびGSK3阻害剤を含み、TGF受容体/ALK阻害剤を含まない、組成物と接触させて、細胞分化および増殖させることによって得られ；

前記万能性幹細胞由来中胚葉細胞は、万能性幹細胞由来中胚葉細胞を、BMP活性化剤、bFGF、およびGSK3阻害剤を含み、TGF受容体/ALK阻害剤を含まない、組成物と接触させて、細胞分化および増殖させることによって得られ；

前記万能性幹細胞由来中胚葉細胞の接触は、万能性幹細胞を、BMP活性化剤、および所望によりbFGFを含む組成物と接触させて、細胞分化および増殖させることによって得られる、

方法。

【請求項42】

万能性幹細胞を、MEK阻害剤、GSK3阻害剤、およびROCK阻害剤を含み、TGF受容体/ALK阻害剤を含まない、組成物と接触させて、前記万能性幹細胞を播種および増殖させること、並びに/または、

播種された万能性幹細胞、万能性幹細胞由来中胚葉細胞、運命確定造血内皮への分化能を有する中胚葉細胞、および/もしくは運命確定造血内皮を、約2%~約10%の低酸素分圧下に曝すことをさらに含み、所望により、

( a ) 前記万能性幹細胞由来造血性多能性前駆細胞の発生が、( i ) 胚様体発生段階無し；( i i ) 単層培養下；( i i i ) 無フィーダー条件下；および/もしくは( i v ) 無間質条件下である；並びに/または、

( b ) 前記万能性幹細胞が i P S C、ナイーブ型 i P S C、および/もしくは、それから派生した多能性前駆細胞において保持される1もしくは複数の遺伝的インプリントを有する i P S Cを含む、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 4 3】

請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の方法を用いて作製された細胞集団、細胞株またはクローン細胞のうち1または複数を含む組成物を用いて養子細胞療法を促進する方法であって、前記細胞集団、細胞株またはクローン細胞は以下から選択される：

( i ) C D 3 4 +、且つ、C D 4 3 -、C D 9 3 -、C X C R 4 -、C D 7 3 -、および C X C R 4 - C D 7 3 - のうちの少なくとも1つである、万能性幹細胞由来運命確定造血内皮 ( i H E ) ；

( i i ) C D 3 4 + C D 4 5 + である、万能性幹細胞由来多能性前駆細胞；

( i i i ) C D 3 4 + C D 4 5 + C D 7 + または C D 3 4 - C D 4 5 + C D 7 + である、万能性幹細胞由来 T 細胞前駆細胞；

( i v ) C D 4 5 + C D 3 + C D 4 + または C D 4 5 + C D 3 + C D 8 + である、万能性幹細胞由来 T 細胞；

( v ) C D 3 - C D 4 5 + C D 5 6 + C D 7 + である、万能性幹細胞由来 N K 細胞前駆細胞；

( v i ) C D 3 - C D 4 5 + C D 5 6 + であり、且つ、所望により N K p 4 6 +、C D 5 7 +、および C D 1 6 + をさらなる特徴とする、万能性幹細胞由来 N K 細胞；

( v i i ) C D 4 5 + V \_\_ 2 4 J \_\_ 1 8 + C D 3 + である、万能性幹細胞由来 N K T 細胞；並びに、

( v i i i ) C D 4 5 + C D 1 9 + である、万能性幹細胞由来 B 細胞。

【請求項 4 4】

請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の方法を用いて作製された前記細胞集団、細胞株またはクローン細胞が、前記細胞集団、細胞株またはクローン細胞の派生元の 万能性細胞 に含まれていた遺伝的インプリントを含む、請求項 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 5】

以下を含む組成物：

( a ) T G F 受容体 / A L K 阻害剤を所望により含まない培地；並びに、

( b ) 以下の、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の方法から作製された1または複数の細胞集団：

( i ) C D 3 4 +、且つ、C D 4 3 -、C D 9 3 -、C X C R 4 -、C D 7 3 -、および C X C R 4 - C D 7 3 - のうちの少なくとも1つである、万能性幹細胞由来運命確定造血内皮 ( i H E ) ；

( i i ) C D 3 4 + C D 4 5 + である、万能性幹細胞由来運命確定 H S C ；

( i i i ) C D 3 4 + C D 4 5 + である、万能性幹細胞由来多能性前駆細胞；

( i v ) C D 3 4 + C D 4 5 + C D 7 + または C D 3 4 - C D 4 5 + C D 7 + である、万能性幹細胞由来 T 細胞前駆細胞；

( v ) C D 4 5 + C D 3 + C D 4 + または C D 4 5 + C D 3 + C D 8 + である、万能性幹細胞由来 T 細胞；

( v i ) C D 4 5 + C D 5 6 + C D 7 + である、万能性幹細胞由来 N K 細胞前駆細胞；および

( v i i ) C D 3 - C D 4 5 + C D 5 6 +、且つ所望により、N K p 4 6 +、C D 5 7 +、および C D 1 6 + をさらなる特徴とする、万能性幹細胞由来 N K 細胞、

( v i i i ) C D 4 5 + V \_\_ 2 4 J \_\_ 1 8 + C D 3 + である、万能性幹細胞由来 N K T 細胞；並びに、

( i x ) C D 4 5 + C D 1 9 + である、万能性幹細胞由来 B 細胞。

## 【請求項 4 6】

請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の方法から作製された 1 または複数の細胞集団が、前記 1 または複数の細胞集団の派生元の万能性細胞に含まれていた遺伝的インプリントを含む、請求項 4 5 に記載の組成物。

## 【請求項 4 7】

以下からなる群から選択される万能性幹細胞由来造血系細胞および 1 または複数の培地を含む組成物であって、

( i ) CD 3 4 + HE 細胞 ( i CD 3 4 )、並びに、i CD 3 4 - C、i MPP - A、i TC - A 2、i TC - B 2、i NK - A 2、および i NK - B 2 から選択される 1 または複数の培地；

( i i ) 運命確定造血内皮 ( i HE )、並びに、i CD 3 4 - C、i MPP - A、i TC - A 2、i TC - B 2、i NK - A 2、および i NK - B 2 から選択される 1 または複数の培地；

( i i i ) 運命確定 HSC、並びに、i MPP - A、i TC - A 2、i TC - B 2、i NK - A 2、および i NK - B 2 から選択される 1 または複数の培地；

( i v ) 多能性前駆細胞 ( i MPP )、および i MPP - A；

( v ) T 細胞前駆細胞 ( i pro - T )、並びに、i TC - A 2、および i TC - B 2 から選択される 1 または複数の培地；

( v i ) T 細胞 ( i TC )、および i TC - B 2；

( v i i ) NK 細胞前駆細胞 ( i pro - NK )、並びに、i NK - A 2、および i NK - B 2 から選択される 1 または複数の培地；並びに、( v i i i ) NK 細胞 ( i NK )、および i NK - B 2、

i CD 3 4 - C は、ROCK 阻害剤；bFGF、VEGF、SCF、IGF、EPO、IL 6、および IL 1 1 からなる群から選択される 1 または複数の増殖因子およびサイトカイン；並びに所望により、Wnt 経路活性化剤を含み；

i MPP - A は、BMP 活性化剤、ROCK 阻害剤、並びに TPO、IL 3、GMCSF、EPO、bFGF、VEGF、SCF、IL 6、Flt 3 L および IL 1 1 からなる群から選択される 1 または複数の増殖因子およびサイトカインを含み；

i TC - A 2 は、ROCK 阻害剤；VEGF、bFGF、SCF、Flt 3 L、TPO、および IL 7 からなる群から選択される 1 または複数の増殖因子およびサイトカイン；並びに所望により、BMP 活性化剤を含み；

i TC - B 2 は、SCF、Flt 3 L、および IL 7 からなる群から選択される 1 または複数の増殖因子およびサイトカインを含み；

i NK - A 2 は、ROCK 阻害剤；VEGF、および bFGF、SCF、Flt 3 L、TPO、IL 3、IL 7、IL 1 5 からなる群から選択される 1 または複数の増殖因子およびサイトカイン；並びに所望により、BMP 活性化剤を含み、

i NK - B 2 は、SCF、Flt 3 L、IL 3、IL 7 および IL 1 5 からなる群から選択される 1 または複数の増殖因子およびサイトカインを含む、組成物。

## 【請求項 4 8】

( i ) i CD 3 4 - C が TGF 受容体 / ALK 阻害剤を含まず；i TC - A 2 および i NK - A 2 が BMP 活性化剤を含まず；且つ / もしくは、i TC - B 2 および i NK - B 2 が VEGF、bFGF、BMP 活性化剤、および ROCK 阻害剤のうちの 1 もしくは複数を含まない、並びに / または、

( i i ) 前記万能性幹細胞が iPSC、ナイーブ型 iPSC、および / もしくは、それから派生した造血系細胞において保持されている 1 もしくは複数の遺伝的インプリントを有する iPSC を含む、請求項 4 7 に記載の組成物。

## 【請求項 4 9】

請求項 3 1 ~ 4 2 のいずれか一項により作製された万能性細胞由来造血系細胞および薬剤的に許容できる培地を含む、医薬組成物。

## 【請求項 50】

組成物を養子細胞療法に適した対象に導入することによる請求項 49 に記載の医薬組成物の治療用途であって、前記対象は自己免疫障害；造血器腫瘍；固形腫瘍；がん、または、HIV、RSV、EBV、CMV、アデノウイルス、もしくはBKポリオマウイルスと関連した感染症を有する、治療用途。

## 【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0038

【補正方法】変更

【補正の内容】

## 【0038】

本発明のさらなる態様は、本明細書で開示される培養プラットフォームから作製される 1 または複数の細胞集団を含む組成物を提供するものである：(i) 多能性前駆細胞、T 細胞前駆細胞、NK 細胞前駆細胞、T 細胞、NK 細胞、NKT 細胞および B 細胞への分化能を有し、且つ、CD34 + CD43 - である、万能性幹細胞由来 CD34 + 運命確定造血内皮 (iCD34)；(ii) CD34 + であり、且つ、CD43 -、CD93 -、CXCR4 -、CD73 -、および CXCR4 - CD73 - のうちの少なくとも 1 つである、万能性幹細胞由来運命確定造血内皮 (iHE)；(iii) CD34 + CD45 + である、万能性幹細胞由来運命確定 HSC；(iv) CD34 + CD45 + である、万能性幹細胞由来造血性多能性前駆細胞；(v) CD34 + CD45 + CD7 + または CD34 - CD45 + CD7 + である、万能性幹細胞由来 T 細胞前駆細胞；(vi) CD45 + CD3 + CD4 + または CD45 + CD3 + CD8 + である、T 細胞；(vii) CD45 + CD56 + CD7 + である、万能性幹細胞由来 NK 細胞前駆細胞；(viii) CD3 - CD45 + CD56 + であり、且つ、所望により NKp46 +、CD57 +、および CD16 + をさらなる特徴とする、万能性幹細胞由来 NK 細胞；(ix) CD45 + V<sub>24</sub>J<sub>18</sub> + CD3 + である、万能性幹細胞由来 NKT 細胞；並びに、(x) CD45 + CD19 + である、万能性幹細胞由来 B 細胞。

## 【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0039

【補正方法】変更

【補正の内容】

## 【0039】

本発明のさらに別の態様は、本明細書で開示される方法を用いて作製される 1 または複数の細胞株、またはクローン細胞を提供するものである：(i) 多能性前駆細胞、T 細胞前駆細胞、NK 細胞前駆細胞、T 細胞、NK 細胞、および NKT 細胞への分化能を有し、且つ、CD34 + CD43 - である、万能性幹細胞由来 CD34 + 運命確定造血内皮 (iCD34)；(ii) CD34 + であり、且つ、CD43 -、CD93 -、CXCR4 -、CD73 -、および CXCR4 - CD73 - のうちの少なくとも 1 つである、万能性幹細胞由来運命確定造血内皮 (iHE)；(iii) CD34 + CD45 + である、万能性幹細胞由来運命確定 HSC；(iv) CD34 + CD45 + である、万能性幹細胞由来造血性多能性前駆細胞 (iMPP)；(v) CD34 + CD45 + CD7 + または CD34 - CD45 + CD7 + である、万能性幹細胞由来 T 細胞前駆細胞；(vi) CD45 + CD3 + CD4 + または CD45 + CD3 + CD8 + である、T 細胞；(vii) CD45 + CD56 + CD7 + である、万能性幹細胞由来 NK 細胞前駆細胞；(viii) CD3 - CD45 + CD56 + であり、且つ、所望により NKp46 +、CD57 +、および CD16 + をさらなる特徴とする、万能性幹細胞由来 NK 細胞；(ix) CD45 + V<sub>24</sub>J<sub>18</sub> + CD3 + である、万能性幹細胞由来 NKT 細胞；並びに、(x) CD45 + CD19 + である、万能性幹細胞由来 B 細胞。

## 【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0040

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0040】

本発明の別の態様は、開示の方法を用いて作製される細胞集団、細胞株またはクローン細胞のうちの1または複数を用いて、造血系の自己複製、再構成および生着を促進する方法を提供するものである：(i)多能性前駆細胞、T細胞前駆細胞、NK細胞前駆細胞、T細胞、NK細胞、およびNK T細胞への分化能を有し、且つ、CD34+CD43-である、万能性幹細胞由来CD34+運命確定造血内皮(iCD34)；(ii)CD34+であり、且つ、CD43-、CD93-、CXCR4-、CD73-、およびCXCR4-CD73-のうちの少なくとも1つである、万能性幹細胞由来運命確定造血内皮(iHE)；(iii)CD34+CD45+である、万能性幹細胞由来運命確定HSC；(iv)CD34+CD45+である、万能性幹細胞由来造血性多能性前駆細胞；(v)CD34+CD45+CD7+またはCD34-CD45+CD7+である、万能性幹細胞由来T細胞前駆細胞；(vi)CD45+CD3+CD4+またはCD45+CD3+CD8+である、T細胞；(vii)CD45+CD56+CD7+である、万能性幹細胞由来NK細胞前駆細胞；(viii)CD3-CD45+CD56+であり、且つ、所望によりNKp46+、CD57+、およびCD16+をさらなる特徴とする、万能性幹細胞由来NK細胞；(ix)CD45+V $\alpha$ 24J $\beta$ 18+CD3+である、万能性幹細胞由来NK T細胞；並びに、(x)CD45+CD19+である、万能性幹細胞由来B細胞。

。

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	<a href="#">JP2018533363A5</a>	公开(公告)日	2019-09-05
申请号	JP2018521543	申请日	2016-07-26
[标]申请(专利权)人(译)	菲特治疗公司		
申请(专利权)人(译)	命运Therapeutics公司		
当前申请(专利权)人(译)	命运Therapeutics公司		
[标]发明人	バラマールバーラム クラークレイダン ビョーダールリャン		
发明人	バラマール,バーラム クラーク,レイダン ビョーダール,リャン		
IPC分类号	C12N5/10 C12N15/90 C07K14/47 C12N5/0783 C12N5/0786 C07K16/28 A61P39/06 A61P35/00 A61P7/00 A61P31/18 A61P31/12 A61P31/22 A61K35/545 A61P35/02 G01N33/53		
CPC分类号	C12N5/0647 A61K35/28 A61K35/545 A61K39/0011 A61K2039/5158 C12N2501/115 C12N2501/125 C12N2501/14 C12N2501/145 C12N2501/155 C12N2501/165 C12N2501/22 C12N2501/2302 C12N2501/2303 C12N2501/2306 C12N2501/2311 C12N2501/235 C12N2501/415 C12N2501/727 C12N2501/999 C12N2506/45 C12N2510/00 C12N2533/90 G01N33/5073 Y02A50/467		
FI分类号	C12N5/10 C12N15/90 C07K14/47 C12N5/0783 C12N5/0786 C07K16/28 A61P39/06 A61P35/00 A61P7/00 A61P31/18 A61P31/12 A61P31/22 A61K35/545 A61P35/02 G01N33/53.Y		
F-TERM分类号	4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/BA30 4B065/BB04 4B065/BB19 4B065/BD14 4B065/CA44 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BB65 4C087/MA55 4C087/MA66 4C087/NA14 4C087/ZA51 4C087/ZB08 4C087/ZB26 4C087/ZB27 4C087/ZB33 4C087/ZC55 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/CA40 4H045/DA50 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA50 4H045/EA60 4H045/FA74		
优先权	62/251016 2015-11-04 US PCT/US2016/014918 2016-01-26 WO 62/337093 2016-05-16 US		
其他公开文献	JP2018533363A		

#### 摘要(译)

本发明提供了用于将多能细胞分化为造血细胞的培养平台，细胞培养基和方法。本发明进一步提供了使用本文所述的培养平台和方法制备的多能干细胞来源的造血细胞，其允许无饲养层的单层培养而没有EB形成。特别地，本发明的多能干细胞来源的造血细胞包括iHSC，命运决定的造血红细胞，造血多能祖细胞，T细胞祖细胞，NK细胞祖细胞，T细胞，NK细胞，NKT细胞和B. 单元格包括但不限于。[选择图]无