

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2021年3月11日(11.03.2021)



(10) 国際公開番号

WO 2021/045217 A1

(51) 国際特許分類:
A61P 25/00 (2006.01) C12Q 1/04 (2006.01)
C12N 5/0797 (2010.01) A61K 35/30 (2015.01)
C12Q 1/02 (2006.01) A61K 35/545 (2015.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2020/033677

(22) 国際出願日: 2020年9月4日(04.09.2020)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2019-163452 2019年9月6日(06.09.2019) JP

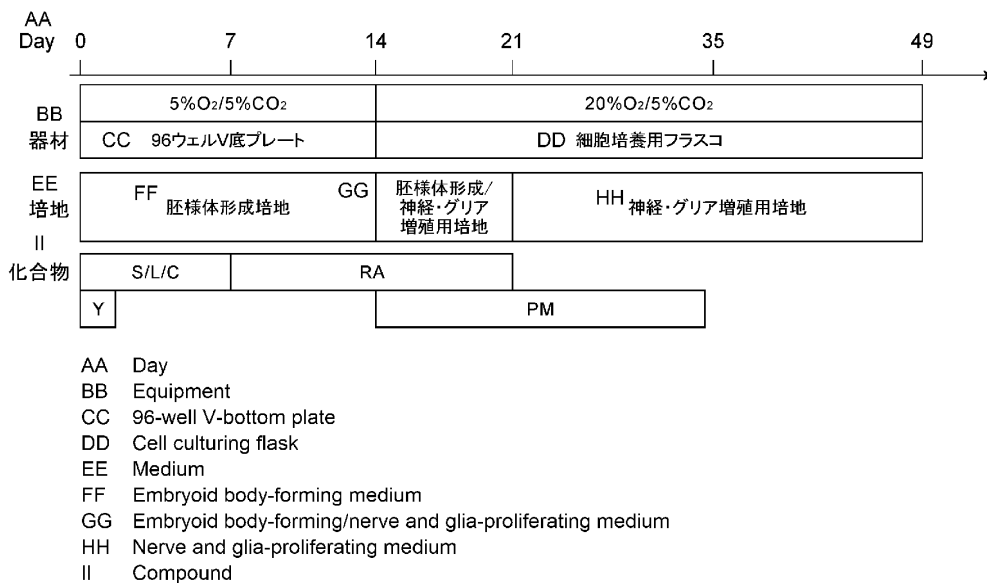
(71) 出願人: 学校法人慶應義塾(KEIO UNIVERSITY)
[JP/JP]; 〒1088345 東京都港区三田二丁目 1
5 番 4 5 号 Tokyo (JP). 大日本住友製薬株式

会社(SUMITOMO DAINIPPON PHARMA CO., LTD.) [JP/JP]; 〒5418524 大阪府大阪市中央区道修町 2 丁目 6 番 8 号 Osaka (JP).

(72) 発明者: 神山 淳(KOHYAMA Jun); 〒1608582 東京都新宿区信濃町 3 5 番地 慶應義塾大学 医学部内 Tokyo (JP). 鎌田 泰裕(KAMATA Yasuhiro); 〒1608582 東京都新宿区信濃町 3 5 番地 慶應義塾大学 医学部内 Tokyo (JP). 中村 雅也(NAKAMURA Masaya); 〒1608582 東京都新宿区信濃町 3 5 番地 慶應義塾大学 医学部内 Tokyo (JP). 岡野 栄之(OKANO Hideyuki); 〒1608582 東京都新宿区信濃町 3 5 番地 慶應義塾大学 医学部内 Tokyo (JP). 齊藤 美帆(SAITO Miho); 〒6500047 兵庫県神戸市中央区港島南町 1 - 5

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING CELL AGGREGATE INCLUDING GLIAL PROGENITOR CELLS

(54) 発明の名称: グリア前駆細胞を含む細胞凝集体の製造方法



(57) Abstract: This method for producing a cell aggregate including glial progenitor cells comprises: (1) a step for forming a cell aggregate by subjecting pluripotent stem cells to a suspension culture for 5-10 days in an embryoid body-forming medium containing at least one SMAD signaling inhibitor and at least one Wnt signaling activator, in the absence of feeder cells; (2) a step for subjecting the cell aggregate obtained in (1) to a suspension culture in an embryoid body-forming medium containing retinoic acid; (3) a step for subjecting the cell aggregate obtained in (2) to a suspension culture in an embryoid body-forming medium or nerve and glia-proliferating medium, which contains retinoic acid and at least one

[続葉有]

WO 2021/045217 A1

ー 2 神戸キメックセンタービル 5 F 大日本住友製薬株式会社内 Hyogo (JP). 井上 満博(INOUE Mitsuhiro); 〒6500047 兵庫県神戸市中央区港島南町 1-5-2 神戸キメックセンタービル 5 F 大日本住友製薬株式会社内 Hyogo (JP).

(74) 代理人: 長谷川 芳樹, 外(HASEGAWA Yoshiki et al.); 〒1000005 東京都千代田区丸の内二丁目 1 番 1 号丸の内 M Y P L A Z A (明治安田生命ビル) 9 階 創英国際特許法律事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- ー 国際調査報告 (条約第21条(3))
- ー 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則5.2(a))

SHH signaling activator; and (4) a step for subjecting the cell aggregate obtained in (3) to a suspension culture in a nerve and glia-proliferating medium which does not contain retinoic acid and contains at least one SHH signaling activator.

(57) 要約: 本発明に係るグリア前駆細胞を含む細胞凝集体の製造方法は、以下の工程を含む: (1) 1 以上の S M A D シグナル伝達阻害剤及び 1 以上の W n t シグナル伝達活性化剤を含む胚様体形成培地中で、フィーダー細胞非存在下、多能性幹細胞を 5 日間~10 日間浮遊培養することにより、細胞凝集体を形成させる工程、(2) (1) で得られた細胞凝集体を、レチノイン酸を含む胚様体形成培地中で、浮遊培養する工程、(3) (2) で得られた細胞凝集体を、レチノイン酸及び 1 以上の S H H シグナル伝達活性化剤を含む胚様体形成培地又は神経・グリア増殖用培地中で、浮遊培養する工程、並びに (4) (3) で得られた細胞凝集体を、レチノイン酸を含まず、1 以上の S H H シグナル伝達活性化剤を含む神経・グリア増殖用培地中で、浮遊培養する工程。