

【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7年4月4日(2025.4.4)

【公開番号】特開2025-17371(P2025-17371A)

【公開日】令和7年2月5日(2025.2.5)

【年通号数】公開公報(特許)2025-022

【出願番号】特願2024-191126(P2024-191126)

【国際特許分類】

C 12 N 5/079(2010.01)

10

C 12 N 1/00(2006.01)

C 12 N 5/071(2010.01)

【F I】

C 12 N 5/079 Z N A

C 12 N 1/00 F

C 12 N 5/079

C 12 N 5/071

【手続補正書】

【提出日】令和7年3月25日(2025.3.25)

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】

(i) ヒト条件的不死化ペリサイトを第1の培地に播種して培養するペリサイト培養工程と、

(i i) 前記培養したヒト条件的不死化ペリサイトを第2の培地において分化させるペリサイト分化工程と、

(i i i) ヒト条件的不死化アストロサイトを第3の培地に播種して培養するアストロサイト培養工程と、

(i v) 前記培養したヒト条件的不死化アストロサイトを第4の培地において分化させるアストロサイト分化工程と、

(v) ヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞を第5の培地に播種して、前記播種したヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞を培養する脳微小血管内皮細胞培養工程と

(v i) ヒト条件的不死化ペリサイトおよびヒト条件的不死化アストロサイトを第6の培地中において更に培養する更なる培養工程と

を含み、

前記ペリサイト培養工程(i)および/または前記ペリサイト分化工程(ii)において、ヒト条件的不死化ペリサイトを含む培養物が形成され、

前記アストロサイト培養工程(iii)および/または前記アストロサイト分化工程(iv)において、ヒト条件的不死化アストロサイトを含む培養物が形成され、

前記ペリサイト分化工程(ii)における分化が、前記ペリサイト培養工程(i)における培養温度とは異なる温度で行われ、

前記アストロサイト分化工程(iv)における分化が、前記アストロサイト培養工程(v i)における培養温度とは異なる温度で行われ、

前記工程(ii)および前記工程(iv)の後で、前記脳微小血管内皮細胞培養工程(v)が行われ、

40

50

前記脳微小血管内皮細胞培養工程（v）において、ヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞を含む培養物が形成され、

前記脳微小血管内皮細胞培養工程（v）と前記更なる培養工程（vi）とが共に行われ、

前記ヒト条件的不死化ペリサイトを含む培養物と前記ヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞を含む培養物とが相互作用することが可能なように配置されている、多細胞血液脳関門モデルの製造方法。

【請求項2】

前記第6の培地が、第1の培地、第2の培地、第3の培地、第4の培地および第5の培地のいずれとも異なる、請求項1に記載の製造方法。

10

【請求項3】

前記脳微小血管内皮細胞培養工程（v）における、前記播種されたヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞の培養、ならびに、前記ヒト条件的不死化ペリサイトの更なる培養および前記ヒト条件的不死化アストロサイトの更なる培養が、前記ペリサイト分化工程（ii）における分化および／または前記アストロサイト分化工程（iv）における分化とは異なる温度で行われる、請求項1または2に記載の製造方法。

【請求項4】

前記ペリサイト培養工程（i）における培養が32～34の温度範囲で行われ、前記ペリサイト分化工程（ii）における分化が35～39の温度範囲で行われ、および／または

20

前記アストロサイト培養工程（iii）における培養が32～34の温度範囲で行われ、前記アストロサイト分化工程（iv）における分化が35～39の温度範囲で行われる、請求項1～3のいずれか1項に記載の製造方法。

【請求項5】

前記脳微小血管内皮細胞培養工程（v）における、前記播種されたヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞の培養、ならびに、前記ヒト条件的不死化ペリサイトの更なる培養および前記ヒト条件的不死化アストロサイトの更なる培養が、32～34の温度範囲で行われる、請求項1～4のいずれか1項に記載の製造方法。

【請求項6】

前記ペリサイト培養工程（i）における培養および前記アストロサイト培養工程（ii）における培養が、それぞれ独立して、播種後12～72時間行われる、請求項1～5のいずれか1項に記載の製造方法。

30

【請求項7】

前記ペリサイト分化工程（ii）における分化および前記アストロサイト分化工程（iv）における分化が、それぞれ独立して、12～72時間行われる、請求項1～6のいずれか1項に記載の製造方法。

【請求項8】

前記脳微小血管内皮細胞培養工程（v）が、播種後12～240時間行われる、請求項1～7のいずれか1項に記載の製造方法。

【請求項9】

前記ペリサイト培養工程（i）における培養と前記アストロサイト培養工程（ii）における培養とが、同時に行われる、請求項1～8のいずれか1項に記載の製造方法。

40

【請求項10】

前記ペリサイト分化工程（ii）における分化と前記アストロサイト分化工程（iv）における分化とが、同時に行われる、請求項1～9のいずれか1項に記載の製造方法。

【請求項11】

前記ペリサイト培養工程（i）および／または前記ペリサイト分化工程（ii）において形成されるヒト条件的不死化ペリサイトを含む培養物が層であり、および／または、

前記脳微小血管内皮細胞培養工程（v）において形成されるヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞を含む培養物が層である、請求項1～10のいずれか1項に記載の製造方法。

50

【請求項 1 2】

前記脳微小血管内皮細胞培養工程（v）において形成されるヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞を含む培養物が単層である、請求項1～1 1のいずれか1項に記載の製造方法。

【請求項 1 3】

前記ヒト条件的不死化ペリサイトを含む培養物の一方の側に、前記ヒト条件的不死化アストロサイトを含む培養物が位置し、

前記ヒト条件的不死化ペリサイトを含む培養物の他方の側に、前記ヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞を含む培養物が位置する、請求項1～1 2のいずれか1項に記載の製造方法。

10

【請求項 1 4】

前記ヒト条件的不死化ペリサイトを含む培養物と、前記ヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞を含む培養物とが、多孔性基材のそれぞれの面に形成されていることによって、前記ヒト条件的不死化ペリサイトを含む培養物と、前記ヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞を含む培養物とが相互作用することが可能なように配置されている、請求項1～1 3のいずれか1項に記載の製造方法。

【請求項 1 5】

前記多孔性基材が、細胞外マトリックスを構成する分子によって被覆されている、請求項1 4に記載の製造方法。

20

【請求項 1 6】

前記第3の培地と前記第4の培地とは、前記第3の培地に含まれる血清が前記第4の培地には含まれない点において相違する、請求項1～1 5のいずれか1項に記載の製造方法。

【請求項 1 7】

前記第5の培地は、成長因子を含まない培地である、請求項1～1 6のいずれか1項に記載の製造方法。

【請求項 1 8】

請求項1～1 7のいずれか1項に記載の製造方法によって製造される、多細胞血液脳関門モデル。

30

【請求項 1 9】

(A) ヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞を含む培養物と、
 (B) ヒト条件的不死化ペリサイトを含む培養物と、
 (C) ヒト条件的不死化アストロサイトを含む培養物と、
 (D) 前記ヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞のための培地と、
 (E) 前記ヒト条件的不死化ペリサイトおよび前記ヒト条件的不死化アストロサイトのための培地と

を含む多細胞血液脳関門モデルであって、

前記ヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞を含む培養物（A）と前記ヒト条件的不死化ペリサイトを含む培養物（B）とが相互作用することが可能なように配置されており、

前記ヒト条件的不死化ペリサイトを含む培養物（B）の一方の側に、前記ヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞を含む培養物（A）が位置し、

前記ヒト条件的不死化ペリサイトを含む培養物（B）の他方の側に、前記ヒト条件的不死化アストロサイト（C）を含む培養物が位置し、

前記培地（D）と前記培地（E）とが異なる、多細胞血液脳関門モデル。

40

【請求項 2 0】

前記ヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞を含む培養物（A）が層であり、および／または、

前記ヒト条件的不死化ペリサイトを含む培養物（B）が層である、請求項19に記載の多細胞血液脳関門モデル。

50

【請求項 2 1】

前記ヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞を含む培養物（A）が単層である、請求項19または20に記載の多細胞血液脳関門モデル。

【請求項22】

多孔性基材をさらに含み、

前記ヒト条件的不死化脳微小血管内皮細胞を含む培養物（A）が多孔性基材の一方の面を被覆し、

前記ヒト条件的不死化ペリサイトを含む培養物（B）が多孔性基材の他方の面を被覆し、請求項19～21のいずれか1項に記載の多細胞血液脳関門モデル。

【請求項23】

前記培地（D）が、成長因子を含まない培地であり、

前記培地（E）が、神経細胞用培地である、請求項19～22のいずれか1項に記載の多細胞血液脳関門モデル。

10

20

30

40

50