【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】平成26年6月5日(2014.6.5)

【公表番号】特表2013-535186(P2013-535186A)
【公表日】平成25年9月12日(2013.9.12)
【年通号数】公開・登録公報2013-050
【出願番号】特願2013-518833(P2013-518833)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ　5/10　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　1/06　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　35/12　(2006.01)
Ａ６１Ｌ　27/00　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　9/00　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　9/10　(2006.01)
Ａ６１Ｐ　43/00　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/09　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　14/47　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　5/00　１０２
Ｃ１２Ｑ　1/06　ＺＮＡ
Ａ６１Ｋ　35/12
Ａ６１Ｌ　27/00　Ｑ
Ａ６１Ｐ　9/00
Ａ６１Ｐ　9/10
Ａ６１Ｐ　43/00　１０５
Ｃ１２Ｎ　15/00　Ａ
Ｃ０７Ｋ　14/47

【手続補正書】
【提出日】平成26年4月16日(2014.4.16)
【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】
多能性幹細胞のフォワードプログラミング又は体細胞の分化転換により内皮細胞をもたらす方法であって、
該多能性細胞のフォワードプログラミング又は該体細胞の分化転換を引き起こして内皮細胞にすることができる１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子の発現レベルを増加する条件下で該多能性幹細胞又は該体細胞を培養し、それによって該多能性幹細胞をフォワードプログラミングして又は該体細胞を分化転換して内皮細胞にすることにより該内皮細胞もたらすこと
を含む方法。
【請求項２】
内皮細胞が多能性幹細胞のフォワードプログラミングによりもたらされる、請求項１記載の方法。
【請求項３】

多能性幹細胞が誘導多能性幹細胞である、請求項２記載の方法。
【請求項４】
内皮細胞が体細胞の分化転換によりもたらされる、請求項１記載の方法。
【請求項５】
体細胞が不死化体細胞である、請求項４記載の方法。
【請求項６】
多能性幹細胞又は体細胞が少なくとも１つの外因性発現カセットを含み、該外因性発現カセットが１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子を含む、請求項１記載の方法。
【請求項７】
多能性幹細胞又は体細胞を、多能性細胞のフォワードプログラミング又は体細胞の分化転換を引き起こして内皮細胞にするのに十分な量で１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子の遺伝子産物を含む１つ以上の内皮プログラミング因子と接触させることを含む、請求項１記載の方法。
【請求項８】
１つ以上の遺伝子産物が１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子のポリペプチドである、請求項７記載の方法。
【請求項９】
遺伝子産物が１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子のＲＮＡ転写物である、請求項７記載の方法。
【請求項１０】
少なくとも１つの内皮プログラミング因子遺伝子がｖ－ｅｔｓ赤芽球症ウイルスＥ２６腫瘍遺伝子相同体（鳥類）（ＥＲＧ）を含む、請求項１記載の方法。
【請求項１１】
少なくとも１つの内皮プログラミング因子遺伝子がＥＲＧアイソフォーム３を含む、請求項１０記載の方法。
【請求項１２】
少なくとも１つの内皮プログラミング因子遺伝子がｅｔｓ変種２（ＥＴＶ２）を含む、請求項１記載の方法。
【請求項１３】
多能性幹細胞若しくはその子孫細胞又は体細胞若しくはその子孫細胞が、レポーター遺伝子に機能的に結合している内皮細胞特異的転写調節エレメントを含むレポーター発現カセットを更に含む、請求項１記載の方法。
【請求項１４】
内皮細胞が、下記：
（ｉ）１つ以上の内皮細胞マーカーの発現；
（ｉｉ）アセチル化低密度リポタンパク質（ａｃ－ＬＤＬ）を取り込む能力、三次元マトリックスに管様構造を形成する能力、１つ以上の炎症促進性刺激に反応して１つ以上の細胞接着分子の発現を上方制御する能力又はこれらの能力の２つ以上の組み合わせ；或いは
（ｉｉｉ）内皮細胞の形態的特徴
を含む内皮細胞の１つ以上の特徴を含む、請求項１記載の方法。
【請求項１５】
１つ以上の内皮細胞マーカーが、ＣＤ１４４、ＣＤ３１、ＣＤ３４、ＥＳＡＭ、ＣＤ１０２、ＣＤ１４３、ＣＤ９３、ＣＤ１８４、ＣＤ１０５、ＣＤ１４６、フォンウィルブランド因子、ＺＯ－１、ＣＤ３０４及びＤＬＬ４からなる群より選択される、請求項１４記載の方法。
【請求項１６】
１つ以上の炎症促進性刺激がＴＮＦ及びＩＬ－１からなる群より選択され、１つ以上の細胞接着分子がＣＤ５４、ＣＤ６２Ｅ及びＣＤ１０６からなる群より選択される、請求項１４記載の方法。

【請求項１７】
もたらされる内皮細胞が成熟内皮細胞である、請求項１記載の方法。
【請求項１８】
内皮細胞を選択又は豊富化することを更に含み、選択又は豊富化された内皮細胞が請求項１４記載の内皮細胞の１つ以上の特徴の発現を含む、請求項１４記載の方法。
【請求項１９】
多能性幹細胞又はその子孫細胞が１つ以上の増殖因子を含む培地で培養される、請求項１記載の方法。
【請求項２０】
１つ以上の増殖因子が、塩基性線維芽細胞増殖因子（ＦＧＦ）、血管内皮増殖因子（ＶＥＧＦ）又は両方を含む、請求項１９記載の方法。
【請求項２１】
もたらされる内皮細胞が発現の増加の最大１０日後に得られる、請求項１記載の方法。
【請求項２２】
もたらされる内皮細胞が発現の増加の最大４日後に得られる、請求項１記載の方法。
【請求項２３】
細胞集団を実質的に個別の細胞に分散することを更に含み、分散が発現の増加の少なくとも約２４時間後に実施される、請求項１記載の方法。
【請求項２４】
実質的に個別の細胞をマトリックス成分が被覆された表面で平板培養することを更に含む、請求項２３記載の方法。
【請求項２５】
（ａ）平板培養細胞を少なくとも１２時間培養すること；（ｂ）非結合細胞を除去すること；及び（ｄ）残った結合細胞を培養することを更に含む、請求項２４記載の方法。
【請求項２６】
残った結合細胞が少なくとも２日間培養される、請求項２５記載の方法。
【請求項２７】
もたらされた内皮細胞を造血培養培地で培養して、造血細胞を生じることを更に含む、請求項１記載の方法。
【請求項２８】
もたらされた内皮細胞を間葉培養培地で培養して、間葉細胞を生じることを更に含む、請求項１記載の方法。
【請求項２９】
多能性幹細胞のフォワードプログラミング又は体細胞の分化転換により内皮前駆細胞をもたらす方法であって、
該多能性細胞のフォワードプログラミング又は該体細胞の分化転換を引き起こして該内皮前駆細胞にすることができる１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子の発現レベルを増加する条件下で該多能性幹細胞又は該体細胞を培養し、それによって該多能性幹細胞をフォワードプログラミングして又は該体細胞を分化転換して内皮前駆細胞にすることにより該内皮前駆細胞もたらすこと
を含む方法。
【請求項３０】
内皮細胞への効果について化合物を評価する方法であって、
ａ）請求項１記載の方法に従う方法によりもたらされる内皮細胞を該化合物と接触させること；及び
ｂ）該内皮細胞に対する該化合物の効果をアッセイすること
を含む方法。
【請求項３１】
効果が薬理学的又は毒性効果である、請求項３０記載の方法。
【請求項３２】

請求項１～３１のいずれか１項記載の方法によりもたらされる内皮細胞又は内皮前駆細胞。
【請求項３３】
疾患又は損傷を有する又は発生する危険性のある被験者の治療に使用される、請求項１～３１のいずれか１項記載の方法によりもたらされる内皮細胞又は内皮前駆細胞。
【請求項３４】
疾患が虚血である、請求項３３記載の内皮細胞又は内皮前駆細胞。
【請求項３５】
損傷が、組織損傷又は組織移植片の必要なものである、請求項３３記載の内皮細胞又は内皮前駆細胞。
【請求項３６】
疾患又は損傷が、心血管疾患又は心血管損傷である、請求項３３記載の内皮細胞又は内皮前駆細胞。
【請求項３７】
疾患又は損傷を有する又は発生する危険性のある被験者の治療のための、請求項１～３１のいずれか１項記載の方法によりもたらされる内皮細胞又は内皮前駆細胞を含む組成物。
【請求項３８】
疾患が虚血である、請求項３７記載の組成物。
【請求項３９】
損傷が、組織損傷又は組織移植片の必要なものである、請求項３７記載の組成物。
【請求項４０】
疾患又は損傷が、心血管疾患又は心血管損傷である、請求項３７記載の組成物。
【請求項４１】
少なくとも８０％の内皮細胞が１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子を含む外因性発現カセットを含む、内皮細胞を含む細胞個体群。
【請求項４２】
少なくとも８０％の内皮前駆細胞が１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子を含む外因性発現カセットを含む、内皮前駆細胞を含む細胞個体群。
【請求項４３】
内皮前駆細胞のフォワードプログラミングにより内皮細胞をもたらす方法であって、
該内皮前駆細胞のフォワードプログラミングを引き起こして該内皮細胞にすることができる１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子の発現レベルを増加する条件下で該内皮前駆細胞を培養し、それによって該前駆細胞をフォワードプログラミングして内皮細胞にすることにより該内皮細胞もたらすこと
を含む方法。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００４４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００４４】
本発明の他の目的、特徴及び利点は、以下の詳細な記載によって明白となる。しかし、詳細な記載及び特定の例は、本発明の好ましい実施態様を示しているが、本発明の精神及び範囲内の多様な変更及び改変がこの詳細な記載により当業者に明白であるので、例示のため提示されていることが理解されるべきである。
特定の実施形態では、例えば以下が提供される：
（項目１）
多能性幹細胞のフォワードプログラミング又は体細胞の分化転換により内皮細胞をもたらす方法であって、

該多能性細胞のフォワードプログラミング又は該体細胞の分化転換を引き起こして内皮細胞にすることができる１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子の発現レベルを増加する条件下で該多能性幹細胞又は該体細胞を培養し、それによって該多能性幹細胞をフォワードプログラミングして又は該体細胞を分化転換して内皮細胞にすることにより該内皮細胞もたらすこと
を含む方法。
（項目２）
内皮細胞が多能性幹細胞のフォワードプログラミングによりもたらされる、項目１記載の方法。
（項目３）
多能性幹細胞が誘導多能性幹細胞である、項目２記載の方法。
（項目４）
内皮細胞が体細胞の分化転換によりもたらされる、項目１記載の方法。
（項目５）
体細胞が不死化体細胞である、項目４記載の方法。
（項目６）
多能性幹細胞又は体細胞が少なくとも１つの外因性発現カセットを含み、該外因性発現カセットが１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子を含む、項目１記載の方法。
（項目７）
多能性幹細胞又は体細胞を、多能性細胞のフォワードプログラミング又は体細胞の分化転換を引き起こして内皮細胞にするのに十分な量で１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子の遺伝子産物を含む１つ以上の内皮プログラミング因子と接触させることを含む、項目１記載の方法。
（項目８）
１つ以上の遺伝子産物が１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子のポリペプチドである、項目７記載の方法。
（項目９）
遺伝子産物が１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子のＲＮＡ転写物である、項目７記載の方法。
（項目１０）
少なくとも１つの内皮プログラミング因子遺伝子がｖ－ｅｔｓ赤芽球症ウイルスＥ２６腫瘍遺伝子相同体（鳥類）（ＥＲＧ）を含む、項目１記載の方法。
（項目１１）
少なくとも１つの内皮プログラミング因子遺伝子がＥＲＧアイソフォーム３を含む、項目１０記載の方法。
（項目１２）
少なくとも１つの内皮プログラミング因子遺伝子がｅｔｓ変種２（ＥＴＶ２）を含む、項目１記載の方法。
（項目１３）
多能性幹細胞若しくはその子孫細胞又は体細胞若しくはその子孫細胞が、レポーター遺伝子に機能的に結合している内皮細胞特異的転写調節エレメントを含むレポーター発現カセットを更に含む、項目１記載の方法。
（項目１４）
内皮細胞が、下記：
（ｉ）１つ以上の内皮細胞マーカーの発現；
（ｉｉ）アセチル化低密度リポタンパク質（ａｃ－ＬＤＬ）を取り込む能力、三次元マトリックスに管様構造を形成する能力、１つ以上の炎症促進性刺激に反応して１つ以上の細胞接着分子の発現を上方制御する能力又はこれらの能力の２つ以上の組み合わせ；或いは
（ｉｉｉ）内皮細胞の形態的特徴

を含む内皮細胞の１つ以上の特徴を含む、項目１記載の方法。
（項目１５）
１つ以上の内皮細胞マーカーが、ＣＤ１４４、ＣＤ３１、ＣＤ３４、ＥＳＡＭ、ＣＤ１０２、ＣＤ１４３、ＣＤ９３、ＣＤ１８４、ＣＤ１０５、ＣＤ１４６、フォンウィルブランド因子、ＺＯ－１、ＣＤ３０４及びＤＬＬ４からなる群より選択される、項目１４記載の方法。
（項目１６）
１つ以上の炎症促進性刺激がＴＮＦ及びＩＬ－１からなる群より選択され、１つ以上の細胞接着分子がＣＤ５４、ＣＤ６２Ｅ及びＣＤ１０６からなる群より選択される、項目１４記載の方法。
（項目１７）
もたらされる内皮細胞が成熟内皮細胞である、項目１記載の方法。
（項目１８）
内皮細胞を選択又は豊富化することを更に含み、選択又は豊富化された内皮細胞が項目１４記載の内皮細胞の１つ以上の特徴の発現を含む、項目１４記載の方法。
（項目１９）
多能性幹細胞又はその子孫細胞が１つ以上の増殖因子を含む培地で培養される、項目１記載の方法。
（項目２０）
１つ以上の増殖因子が、塩基性線維芽細胞増殖因子（ＦＧＦ）、血管内皮増殖因子（ＶＥＧＦ）又は両方を含む、項目１９記載の方法。
（項目２１）
もたらされる内皮細胞が発現の増加の最大１０日後に得られる、項目１記載の方法。
（項目２２）
もたらされる内皮細胞が発現の増加の最大４日後に得られる、項目１記載の方法。
（項目２３）
細胞集団を実質的に個別の細胞に分散することを更に含み、分散が発現の増加の少なくとも約２４時間後に実施される、項目１記載の方法。
（項目２４）
実質的に個別の細胞をマトリックス成分が被覆された表面で平板培養することを更に含む、項目２３記載の方法。
（項目２５）
（ａ）平板培養細胞を少なくとも１２時間培養すること；（ｂ）非結合細胞を除去すること；及び（ｄ）残った結合細胞を培養することを更に含む、項目２４記載の方法。
（項目２６）
残った結合細胞が少なくとも２日間培養される、項目２５記載の方法。
（項目２７）
もたらされた内皮細胞を造血培養培地で培養して、造血細胞を生じることを更に含む、項目１記載の方法。
（項目２８）
もたらされた内皮細胞を間葉培養培地で培養して、間葉細胞を生じることを更に含む、項目１記載の方法。
（項目２９）
多能性幹細胞のフォワードプログラミング又は体細胞の分化転換により内皮前駆細胞をもたらす方法であって、
該多能性細胞のフォワードプログラミング又は該体細胞の分化転換を引き起こして該内皮前駆細胞にすることができる１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子の発現レベルを増加する条件下で該多能性幹細胞又は該体細胞を培養し、それによって該多能性幹細胞をフォワードプログラミングして又は該体細胞を分化転換して内皮前駆細胞にすることにより該内皮前駆細胞もたらすこと

を含む方法。
（項目３０）
内皮細胞への効果について化合物を評価する方法であって、
ａ）項目１記載の方法に従う方法によりもたらされる内皮細胞を該化合物と接触させること；及び
ｂ）該内皮細胞に対する該化合物の効果をアッセイすること
を含む方法。
（項目３１）
効果が薬理学的又は毒性効果である、項目３０記載の方法。
（項目３２）
項目１～３１のいずれか１項記載の方法によりもたらされる内皮細胞又は内皮前駆細胞。
（項目３３）
疾患又は損傷を有する又は発生する危険性のある被験者の治療に使用される、項目１～３１のいずれか１項記載の方法によりもたらされる内皮細胞又は内皮前駆細胞。
（項目３４）
疾患が虚血である、項目３３記載の内皮細胞又は内皮前駆細胞。
（項目３５）
損傷が、組織損傷又は組織移植片の必要なものである、項目３３記載の内皮細胞又は内皮前駆細胞。
（項目３６）
疾患又は損傷が、心血管疾患又は心血管損傷である、項目３３記載の内皮細胞又は内皮前駆細胞。
（項目３７）
疾患又は損傷を有する又は発生する危険性のある被験者の治療のための薬剤の調製における、項目１～３１のいずれか１項記載の方法によりもたらされる内皮細胞又は内皮前駆細胞の使用。
（項目３８）
疾患が虚血である、項目３７記載の使用。
（項目３９）
損傷が、組織損傷又は組織移植片の必要なものである、項目３７記載の使用。
（項目４０）
疾患又は損傷が、心血管疾患又は心血管損傷である、項目３７記載の使用。
（項目４１）
少なくとも８０％の内皮細胞が１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子を含む外因性発現カセットを含む、内皮細胞を含む細胞個体群。
（項目４２）
少なくとも８０％の内皮前駆細胞が１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子を含む外因性発現カセットを含む、内皮前駆細胞を含む細胞個体群。
（項目４３）
内皮前駆細胞のフォワードプログラミングにより内皮細胞をもたらす方法であって、
該内皮前駆細胞のフォワードプログラミングを引き起こして該内皮細胞にすることができる１つ以上の内皮プログラミング因子遺伝子の発現レベルを増加する条件下で該内皮前駆細胞を培養し、それによって該前駆細胞をフォワードプログラミングして内皮細胞にすることにより該内皮細胞もたらすこと
を含む方法。