【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17年12月22日(2005.12.22)

【公表番号】特表2004-535199(P2004-535199A)
【公表日】平成16年11月25日(2004.11.25)
【年通号数】公開・登録公報2004-046
【出願番号】特願2003-512669(P2003-512669)
【国際特許分類第７版】
　Ｃ１２Ｎ　5/06
　Ａ６１Ｋ　35/28
　Ａ６１Ｋ　35/34
　Ａ６１Ｐ　9/00
　Ｃ１２Ｎ　5/10
　Ｃ１２Ｑ　1/02
// Ｃ１２Ｎ　15/09
【ＦＩ】
　Ｃ１２Ｎ　5/00　E
　Ａ６１Ｋ　35/28
　Ａ６１Ｋ　35/34
　Ａ６１Ｐ　9/00
　Ｃ１２Ｑ　1/02
　Ｃ１２Ｎ　5/00　B
　Ｃ１２Ｎ　15/00　A

【手続補正書】
【提出日】平成17年2月2日(2005.2.2)
【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】
単離された分化細胞集団であって、集団内の少なくとも約5%の細胞が、霊長動物多能性幹（pPS）細胞系と同じゲノムを有し、かつ内因性遺伝子由来のマーカーである、心臓トロポニンI（cTnI）、心臓トロポニンT（cTnT）、または心房性ナトリウム利尿因子（ANF）のうち、少なくとも1つを発現することを特徴とする、集団。
【請求項２】
集団内の少なくとも約5%の細胞が霊長動物多能性幹（pPS）細胞系と同じゲノムを有し、かつ自発的な周期的収縮活性を有することを特徴とする、単離された分化細胞集団。
【請求項３】
請求項1または2記載の分化細胞集団；および
産生された分化細胞が由来する、pPS細胞系
を含む、心筋細胞系統の細胞を産生する系。
【請求項４】
以下の特徴のうちの1つまたは複数を有する、請求項1～3のいずれか一項記載の分化細胞集団：
少なくとも約20%の細胞が、cTnI、cTNT、筋節ミオシン重鎖（MHC）、GATA-4、Nkx2.5、N-カドヘリン、β1-アドレナリン受容体（β1-AR）、MEF-2A、MEF-2B、MEF-2C、MEF-2D、

クレアチンキナーゼMB（CK-MB）、ミオグロビン、および心房性ナトリウム利尿因子（ANF）から選択される少なくとも3つのマーカーを発現すること；ならびに
少なくとも約60%の増殖細胞が、心臓特異的ミオシン重鎖を発現すること。
【請求項５】
マーカーまたは収縮活性を維持すると同時に、インビトロ培養において増殖することができる、請求項1～4のいずれか一項記載の分化細胞集団。
【請求項６】
pPS細胞を心筋細胞系統細胞に分化させる方法であって、以下の段階を含む方法：
a) ヒト胚盤胞から産生されたpPS細胞を得る段階；
b) 胚盤葉下層の機能を提供するモルフォゲンである第1因子、および内胚葉の機能を提供する増殖因子である第2因子と共に、細胞を培養する段階；ならびに
c) 心筋細胞系統細胞に分化した細胞集団を培養物から回収する段階であって、少なくとも約5%の細胞が、内因性遺伝子由来の心臓トロポニンI（cTnI）、心臓トロポニンT（cTnT）、または心房性ナトリウム利尿因子（ANF）を発現することを特徴とする段階。
【請求項７】
第1増殖因子がアクチビンであり、第2増殖因子がTGFβファミリーのメンバーである、請求項6記載の方法。
【請求項８】
細胞をアクチビンAおよびBMP-4と共に培養する、請求項7記載の方法。
【請求項９】
上記因子と共に培養する前に胚様体を形成させることにより、pPS細胞の分化を開始させる段階を含む、請求項6～8のいずれか一項記載の方法。
【請求項１０】
DNAメチル化に影響を及ぼすヌクレオチド類似体（5-アザ-デオキシ-シチジン等）、高エネルギーリン酸結合を形成できる化合物（クレアチン等）、アシル基担体分子（カルニチン等）、または、心筋細胞カルシウムチャネル修飾因子（タウリン等）と共に細胞を培養する段階を含む、請求項6～9のいずれか一項記載の方法。
【請求項１１】
密度に基づいて集団内の細胞を分配すること、および、約1.05 g/mL～約1.075 g/mLの間の密度において細胞を回収すること等により、MHCを発現する細胞または自発的に収縮する細胞を、集団内の他の細胞から物理的に分離する段階をさらに含む、請求項6～10のいずれか一項記載の方法。
【請求項１２】
化合物を請求項1～5のいずれか一項記載の分化細胞集団と混合する段階、および、集団内の細胞の収縮活性に及ぼす影響等の、化合物に起因する心筋細胞の任意の毒性または変調を判定する段階を含む、心筋細胞の毒性または変調について化合物をスクリーニングする方法。
【請求項１３】
ヒト投与に適した薬学的賦形剤中に、または、心臓の筋系内もしくはその周囲に細胞集団を投与するために適合化された装置内に、請求項1～5のいずれか一項記載の分化細胞集団または請求項6～11のいずれか一項記載の方法によって産生される細胞集団を含む、薬剤。
【請求項１４】
心臓の症状を治療するための薬剤の調製における、請求項1～5のいずれか一項記載の分化細胞集団または請求項6～11のいずれか一項記載の方法によって産生される細胞集団の使用。
【請求項１５】
pPS細胞がヒト胚幹細胞である、請求項1～14のいずれか一項記載の産物、方法、または使用。