

【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 8 月 15 日 (2019.8.15)

【公表番号】特表 2018-506984 (P2018-506984A)

【公表日】平成 30 年 3 月 15 日 (2018.3.15)

【年通号数】公開・登録公報 2018-010

【出願番号】特願 2017-546061 (P2017-546061)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/873 (2010.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 0 1 K 67/027 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 K

C 1 2 N 5/10 Z N A

A 0 1 K 67/027

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 7 月 1 日 (2019.7.1)

【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】

非ヒト動物細胞または胚盤胞が機能的 ETV2 タンパク質を欠くように、ゲノムが、ETV2 遺伝子の両方のアリルに変異を有する、該非ヒト動物細胞または胚盤胞。

【請求項 2】

変異が ETV2 遺伝子の欠失である、請求項 1 に記載の非ヒト動物細胞または胚盤胞。

【請求項 3】

ブタ、ウシ、ウマまたはヤギである、請求項 1 または 2 に記載の非ヒト動物細胞または胚盤胞。

【請求項 4】

キメラ非ヒト動物または胚盤胞であって、ヒト ETV2 を発現し、かつ該非ヒト動物 ETV2 の発現を欠く、該キメラ非ヒト動物または胚盤胞。

【請求項 5】

非ヒト動物が、白血球、赤血球、血小板またはそれらの組み合わせからなる群から選択されるヒト血液細胞を生じる、請求項 4 に記載のキメラ非ヒト動物。

【請求項 6】

ヒト内皮を生じる、請求項 4 に記載のキメラ非ヒト動物。

【請求項 7】

非ヒト動物がブタ、ウシ、ウマまたはヤギである、請求項 4～6 のいずれか一項に記載のキメラ非ヒト動物。

【請求項 8】

以下の段階を含む、ヒト ETV2 遺伝子を発現するキメラ非ヒト動物を産生するための方法

；

(a) ETV2 ヌル非ヒト動物細胞を生成する段階であって、非ヒト ETV2 遺伝子の両方のコピーが、該非ヒト動物において機能的 ETV2 タンパク質の産生を妨害する変異を有する、段階

；

(b) (a) のETV2ヌル非ヒト動物細胞由来の核を、除核された非ヒト卵母細胞へ融合させること、および該卵母細胞を活性化させてETV2ヌル非ヒト胚盤胞を形成するように分裂させることを含む体細胞核移植により、ETV2ヌル非ヒト胚盤胞を創出する段階；

(c) ヒト幹細胞を (b) のETV2ヌル非ヒト胚盤胞に導入する段階；ならびに

(d) (c) の胚盤胞を偽妊娠中の代理母非ヒト動物に移植して、ヒトETV2を発現するキメラ非ヒト動物を生成する段階。

【請求項 9】

以下の段階を含む、ヒトのおよび／またはヒト化された血液細胞または血管を非ヒト動物において産生する方法：

(a) ETV2ヌル非ヒト動物細胞を生成する段階であって、非ヒトETV2遺伝子の両方のアリルが、機能的ETV2タンパク質の産生を妨害する変異を有する、段階；

(b) (a) のETV2ヌル非ヒト動物細胞由来の核を、除核された非ヒト卵母細胞へ融合させること、および該卵母細胞を活性化させてETV2ヌル非ヒト胚盤胞を形成するように分裂させることを含む体細胞核移植により、ETV2ヌル非ヒト胚盤胞または桑実胚を創出する段階；

(c) ヒトドナー幹細胞を (b) のETV2ヌル非ヒト胚盤胞または桑実胚に導入する段階；ならびに

(d) ヒトのおよび／またはヒト化された血液細胞または血管を生じる非ヒト動物を生成するように、(c) の胚盤胞または桑実胚を偽妊娠中の代理母非ヒト動物に移植する段階。

【請求項 10】

非ヒト動物がブタ、ウシ、ウマまたはヤギである、請求項8または9に記載の方法。

【請求項 11】

ヒトドナー幹細胞が組織特異的幹細胞、多能性幹細胞、多分化能成体幹細胞、人工多能性幹細胞、またはさい帯血幹細胞 (UCBSC) である、請求項8～10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

幹細胞を提供するドナーが、産生されたヒト化組織または器官のレシピエントである、請求項9～11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

ヒト人工多能性幹細胞が繊維芽細胞から形成されたものである、請求項11に記載の方法。

【請求項 14】

請求項8～13のいずれか一項に記載の方法によって産生された非ヒト動物。

【請求項 15】

請求項8～13のいずれか一項に記載の方法により生成された2体の非ヒト動物の交配から産生された子孫非ヒト動物であって、該子孫非ヒト動物がヒトETV2を発現し、該子孫非ヒト動物のゲノムが該非ヒト動物ETV2遺伝子のホモ接合性欠失を有する、子孫非ヒト動物。

【請求項 16】

非ヒト動物がブタ、ウシ、ウマまたはヤギである、請求項15に記載の子孫非ヒト動物。

【請求項 17】

前記血液細胞が、ヒト人工多能性幹細胞またはヒトさい帯血幹細胞に由来する白血球、赤血球、および／または血小板である、請求項9に記載の方法。

【請求項 18】

以下の段階を含むプロセスによって作製されたキメラ血液：

(a) ETV2ヌル非ヒト動物細胞を生成する段階であって、非ヒトETV2遺伝子の両方のアリルが、機能的ETV2タンパク質の産生を妨害する変異を有する、段階；

(b) (a) のETV2ヌル非ヒト動物細胞由来の核を、除核された非ヒト卵母細胞へ融合させること、および該卵母細胞を活性化させてETV2ヌル非ヒト胚盤胞を形成するように分裂させることを含む体細胞核移植により、ETV2ヌル非ヒト胚盤胞または桑実胚を創出する段階；

；

(c) ヒトドナー幹細胞を (b) のETV2ヌル非ヒト胚盤胞または桑実胚に導入する段階 ;
ならびに

(d) キメラ血液を発現する非ヒト動物を生成するように、(c) の胚盤胞または桑実胚を
偽妊娠中の代理母非ヒト動物に移植する段階。

【請求項 19】

非ヒト動物がブタである、請求項18に記載のキメラ血液。