

【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18年1月5日(2006.1.5)

【公表番号】特表2005-503800(P2005-503800A)
 【公表日】平成17年2月10日(2005.2.10)
 【年通号数】公開・登録公報2005-006
 【出願番号】特願2003-529923(P2003-529923)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 5/06 (2006.01)
A 6 1 K 35/28 (2006.01)
A 6 1 K 35/34 (2006.01)
A 6 1 K 35/36 (2006.01)
A 6 1 K 35/44 (2006.01)
A 6 1 K 35/50 (2006.01)
A 6 1 P 9/04 (2006.01)
A 6 1 P 9/10 (2006.01)
A 6 1 P 19/08 (2006.01)
A 6 1 P 21/04 (2006.01)
A 6 1 P 25/00 (2006.01)
A 6 1 P 25/16 (2006.01)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/00 Z N A E
 A 6 1 K 35/28
 A 6 1 K 35/34
 A 6 1 K 35/36
 A 6 1 K 35/44
 A 6 1 K 35/50
 A 6 1 P 9/04
 A 6 1 P 9/10
 A 6 1 P 19/08
 A 6 1 P 21/04
 A 6 1 P 25/00
 A 6 1 P 25/16
 A 6 1 P 35/00
 C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成17年9月14日(2005.9.14)

【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】

CD49c、CD90およびテロメラゼを共発現する実質的に相同な細胞集団。

【請求項2】

テロメラーゼの発現が、 10^6 個の18srRNAの転写産物当たり約1個のテロメラーゼの転写産物～ 10^6 個の18s rRNAの転写産物当たり約10個のテロメラーゼの転写産物よりも多い相対的発現である請求項1記載の細胞集団。 __

【請求項3】

CD49cおよびCD90を共発現し、CD34および/またはCD45を発現しない実質的に相同な細胞集団。

【請求項4】

CD49c、CD90、ならびにBDNF、IL-6、NGFおよびMCP-1からなる群より選ばれる少なくとも1つの栄養因子を共発現する実質的に相同な細胞集団。

【請求項5】

CD49cおよびCD90を共発現するが、骨シアロタンパク質を発現しない実質的に相同な細胞集団。

【請求項6】

細胞がまたテロメラーゼを発現する請求項5記載の細胞集団。

【請求項7】

細胞が約144時間未満、約72時間未満または約48時間未満の倍加時間を有してなる請求項1または5記載の細胞集団。 __

【請求項8】

細胞が予め選択された表現型に分化する潜在力を有してなる請求項1または5記載の細胞集団。

【請求項9】

予め選択された表現型が、軟骨細胞、星状細胞、稀突起膠細胞、ニューロン、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、心筋細胞、膵島細胞、骨格筋、平滑筋、肝細胞および網膜神経節細胞からなる群より選ばれる請求項8記載の細胞集団。

【請求項10】

約20～約50集団の細胞の倍加後にP21またはP53の発現をさらに含み、P53の発現が、 10^6 個の18srRNAの転写産物当たり約3000個のP53の転写産物までの相対的発現であり、P21の発現が、 10^6 個の18s rRNAの転写産物当たり約20,000個のP21の転写産物までの相対的発現である請求項1または5記載の細胞集団。

【請求項11】

細胞が骨髓、皮膚、脂肪、臍帯血、筋肉および胎盤供給源からなる群より選ばれる供給源に由来する請求項1または5記載の細胞集団。

【請求項12】

細胞が骨髓に由来する請求項1または5記載の細胞集団。

【請求項13】

骨髓細胞がヒト骨髓細胞である請求項12記載の細胞集団。

【請求項14】

細胞集団がCD34および/またはCD45を発現しない請求項1または5記載の細胞集団。

【請求項15】

BDNF、IL-6、NGFおよびMCP-1からなる群より選ばれる少なくとも1つの栄養因子を発現する請求項1または5記載の細胞集団。

【請求項16】

a) 低酸素条件下で約100細胞/cm²未満、約50細胞/cm²未満または約30細胞/cm²未満の播種密度で細胞集団の供給源を培養する工程；および
b) 培養した細胞集団の供給源からCD49cおよびCD90を共発現する細胞を選択する工程を含む、CD49cおよびCD90を共発現する実質的に相同な細胞集団の作製方法。 __

【請求項17】

低酸素条件が約15%未満、約10%未満または約5%の酸素である請求項16記載の方法。 __

【請求項18】

培養した供給源から選ばれた細胞がBDNF、IL-6、NGFおよびMCP-1からなる群より選ばれる少なくとも1つの栄養因子を発現する請求項 1 6 記載の方法。

【請求項 1 9】

a) 低酸化ストレス条件下で約100細胞/cm²未満、約50細胞/cm²未満または約30細胞/cm²未満の播種密度で細胞集団の供給源を培養する工程；および

b) 培養した細胞集団の供給源からCD49cおよびCD90を共発現する細胞を選択する工程を含む、CD49cおよびCD90を共発現する実質的に相同な細胞集団の作製方法。 __

【請求項 2 0】

a) 低酸化ストレス条件下で約75,000細胞/cm²未満の播種密度で細胞集団の供給源を培養し、接着細胞集団を生成する工程；

b) 低酸化ストレス条件下で約100細胞/cm²未満の播種密度で接着細胞集団を培養する工程；および

c) 培養した接着細胞集団からCD49cおよびCD90を共発現する細胞を選択する工程を含む、CD49cおよびCD90を共発現する実質的に相同な細胞集団の作製方法。 __

【請求項 2 1】

a) 低酸素条件下で約75,000細胞/cm²未満の播種密度で細胞集団の供給源を培養し、接着細胞集団を生成する工程；

b) 低酸素条件下で約100細胞/cm²未満の播種密度で接着細胞集団を培養する工程；および

c) 培養した接着細胞集団からCD49cおよびCD90を共発現する細胞を選択する工程を含む、CD49cおよびCD90を共発現する実質的に相同な細胞集団の作製方法。

【請求項 2 2】

細胞集団の供給源が骨髄である請求項 1 6、1 9または2 1記載の方法。

【請求項 2 3】

骨髄がヒト骨髄である請求項 2 2記載の方法。

【請求項 2 4】

低酸素条件が約5%の酸素である請求項 2 1記載の方法。

【請求項 2 5】

骨髄を培養する前に骨髄を溶解すること、または骨髄を分画することをさらに含む請求項 1 6または2 1記載の方法。 __

【請求項 2 6】

骨髄が、密度勾配を通過することにより、NH₂Cl溶解により、蛍光活性化分類により、または磁性分類により分画される請求項 2 5記載の方法。 __

【請求項 2 7】

CD49cおよびCD90を共発現する細胞がCD34および/またはCD45を発現しない請求項 1 6または2 1記載の方法。

【請求項 2 8】

培養した供給源から選択された細胞がBDNF、IL-6およびMCP-1からなる群より選ばれる少なくとも1つの栄養因子を発現する請求項 1 6または2 1記載の方法。 __

【請求項 2 9】

a) 細胞集団の供給源を培養する工程；

b) 培養した細胞集団の供給源からCD49cおよびCD90を共発現する細胞を選択する工程；および

c) CD49cおよびCD90を共発現する細胞を改変して運命づけられた前駆細胞にする工程を含む、運命づけられた前駆細胞の作製方法。

【請求項 3 0】

CD49cおよびCD90を共発現する細胞が、低酸素条件により培養した細胞集団の供給源から選択される請求項 2 9記載の方法。

【請求項 3 1】

低酸素条件が約5%酸素である請求項 3 0記載の方法。

【請求項 3 2】

細胞集団の供給源が骨髄である請求項 2 9 記載の方法。

【請求項 3 3】

骨髄がヒト骨髄である請求項 3 2 記載の方法。 __

【請求項 3 4】

CD49cおよびCD90を共発現する実質的に相同な細胞集団を含有してなる医薬組成物。

【請求項 3 5】

CD49cおよびCD90を共発現する実質的に相同な細胞集団が少なくとも約 10^5 個または少なくとも約 10^6 個の細胞を有してなる請求項 3 4 記載の医薬組成物。 __

【請求項 3 6】

細胞集団がCD34および / またはCD45を発現しない請求項 3 4 記載の医薬組成物。

【請求項 3 7】

細胞集団がBDNF、IL-6、NGFおよびMCP-1からなる群より選ばれる少なくとも1つの栄養因子を発現する請求項 3 4 記載の医薬組成物。

【請求項 3 8】

CD49c、CD90およびテロメラーゼを共発現する実質的に相同な細胞集団を含有してなる医薬組成物。 __

【請求項 3 9】

CD49c、CD90および少なくとも1つの心臓関連転写因子を共発現する実質的に相同な細胞集団。

【請求項 4 0】

テロメラーゼの共発現をさらに含む請求項 3 9 記載の実質的に相同な細胞集団。

【請求項 4 1】

細胞がヒト骨髄細胞に由来する請求項 3 9 記載の実質的に相同な細胞集団。 __

【請求項 4 2】

標識をさらに含有してなる請求項 3 9 記載の実質的に相同な細胞集団。

【請求項 4 3】

細胞集団が心筋細胞に分化する請求項 3 9 記載の実質的に相同な細胞集団。

【請求項 4 4】

細胞がIL-6、VEGF、MCP1およびBDNFからなる群より選ばれる少なくとも1つの栄養因子を発現する請求項 3 9 記載の実質的に相同な細胞集団。

【請求項 4 5】

CD49c、CD90、および少なくとも1つの心臓関連転写因子を共発現するが、骨シアロタンパク質を発現しない実質的に相同な細胞集団。

【請求項 4 6】

心臓関連転写因子がGATA4、Irx4およびNkx2.5からなる群より選ばれる請求項 3 9 または 4 5 記載の実質的に相同な細胞集団。

【請求項 4 7】

CD49c、CD90、GATA4、Irx4およびNkx2.5を共発現する実質的に相同な細胞集団。

【請求項 4 8】

CD49c、CD90、テロメラーゼ、GATA4、Irx4およびNkx2.5を共発現する実質的に相同な細胞集団。

【請求項 4 9】

a) 低酸素条件下で細胞集団の供給源を培養する工程 ; および
b) 培養した細胞集団の供給源をプロテインキナーゼCインヒビターおよびDNAメチル化インヒビターで処置する工程
を含む、CD49c、CD90および少なくとも心臓関連転写因子を共発現する実質的に相同な細胞集団の作製方法。 __

【請求項 5 0】

処理した細胞集団がGATA4、Irx4およびNkx2.5からなる群より選ばれる心臓関連転写因

子を共発現する請求項 4 9 記載の方法。

【請求項 5 1】

a) 低酸素条件下で細胞集団の供給源を培養する工程；および
b) 培養した細胞集団の供給源をプロテインキナーゼCインヒビターおよびDNAメチル化インヒビターで処理する工程
を含むCD49c、CD90、テロメラーゼおよび少なくとも1つの心臓関連転写因子を共発現する実質的に相同な細胞集団の作製方法。

【請求項 5 2】

a) 低酸素条件下で細胞集団の供給源を培養する工程；および
b) 培養した細胞集団の供給源をプロテインキナーゼCインヒビターおよびDNAメチル化インヒビターで処理する工程
を含むCD49c、CD90、テロメラーゼ、GATA4、Irx4およびNkx2.5を共発現する実質的に相同な細胞集団の作製方法。

【請求項 5 3】

細胞集団の供給源が骨髄供給源を含む請求項 4 9 または 5 2 記載の方法。

【請求項 5 4】

プロテインキナーゼCインヒビターがセレリチリンである請求項 4 9 または 5 2 記載の方法。

【請求項 5 5】

DNAメチル化インヒビターが5-アザシチジンである請求項 5 4 記載の方法。

【請求項 5 6】

a) 低酸素条件下で細胞集団の供給源を培養する工程；および
b) 培養した細胞集団の供給源をプロテインキナーゼAインヒビターおよびDNAメチル化インヒビターで処理する工程
を含む、CD49c、CD90、GATA4、Irx4およびNkx2.5を共発現する実質的に相同な細胞集団の作製方法。

【請求項 5 7】

CD49cおよびCD90を共発現する細胞集団をプロテインキナーゼCインヒビターおよびDNAメチル化インヒビターで処理する工程を含む、CD49c、CD90および少なくとも1つの候補関連転写因子を共発現する実質的に相同な細胞集団の作製方法。

【請求項 5 8】

CD49c、CD90およびテロメラーゼを共発現する細胞集団をプロテインキナーゼCインヒビターおよびDNAメチル化インヒビターで処理する工程を含む、CD49c、CD90、テロメラーゼおよび少なくとも1つの心臓関連転写因子を共発現する実質的に相同な細胞集団の作製方法。

【請求項 5 9】

CD49c、CD90およびテロメラーゼを共発現する細胞集団をプロテインキナーゼCインヒビターおよびDNAメチル化インヒビターで処理する工程を含む、CD49c、CD90、テロメラーゼ、GATA4、Irx4およびNkx2.5を共発現する実質的に相同な細胞集団の作製方法。 __

【請求項 6 0】

CD49cおよびCD90を共発現する細胞の実質的に相同な集団と少なくとも1つの運命づけられた前駆細胞型を含む細胞の集団とを合わせる工程を含む、運命づけられた前駆細胞型の形成方法。

【請求項 6 1】

前記細胞の集団が、神経細胞の集団および心筋細胞の集団からなる群より選ばれる請求項 6 0 記載の方法。

【請求項 6 2】

細胞の集団がテロメラーゼを発現する請求項 6 0 記載の方法。

【請求項 6 3】

CD49c、CD90を共発現し、低酸素条件下で培養した場合、約144時間未満、約72時間未満

、約65時間未満、約48時間未満または約35時間未満の倍加時間を有してなる実質的に相同な細胞集団。 __

【請求項64】

低酸素条件が約5%未満の酸素である請求項63記載の実質的に相同な細胞集団。

【請求項65】

CD49c、CD90を共発現し、低酸素条件下で培養した場合、約144時間未満の倍加時間を有してなり、低酸素条件下で約100細胞/cm²の播種密度で細胞集団供給源を培養する工程を含む方法により形成される、実質的に相同な細胞集団。

【請求項66】

請求項39、40、47または48記載の細胞集団を含有してなる医薬組成物。