

【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19年5月24日(2007.5.24)

【公表番号】特表2006-523091(P2006-523091A)

【公表日】平成18年10月12日(2006.10.12)

【年通号数】公開・登録公報2006-040

【出願番号】特願2006-503961(P2006-503961)

【国際特許分類】

C 12 N	5/10	(2006.01)
C 12 N	15/09	(2006.01)
C 12 Q	1/02	(2006.01)
A 61 L	27/00	(2006.01)
A 61 K	35/34	(2006.01)
A 61 P	9/00	(2006.01)
A 01 K	67/027	(2006.01)

【F I】

C 12 N	5/00	Z N A B
C 12 N	15/00	A
C 12 Q	1/02	
A 61 L	27/00	Z
A 61 K	35/34	
A 61 P	9/00	
A 01 K	67/027	

【手続補正書】

【提出日】平成19年3月28日(2007.3.28)

【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】

未分化ヒト胚性幹(hES)細胞から、主に心室細胞の特徴を有する分化心筋細胞への分化を誘導する方法であって、

hES細胞を、臓側内胚葉細胞および/または臓側内胚葉細胞の細胞外培地の存在下で、hES細胞から、主に心室細胞の特徴を有する分化心筋細胞への分化を誘導する条件下で培養するステップを含む方法。

【請求項2】

主に心室細胞の特徴を有する分化心筋細胞のサブ集団を含む細胞の集団を得る方法であって、前記分化心筋細胞が、細胞の集団中の未分化hES細胞に由来するものであり、請求項1に記載の方法で、未分化hES細胞の分化を誘導するステップを含む方法。

【請求項3】

前記臓側内胚葉細胞が、臓側内胚葉組織または臓側内胚葉様組織に由来する、請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

前記臓側内胚葉または臓側内胚葉様組織が、初期原腸形成後胚に由来する、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

前記臓側内胚葉様組織が胚細胞株である、請求項3または4に記載の方法。

【請求項6】

前記胚細胞株がEND-2細胞株である、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

前記臓側内胚葉細胞がマウス胚E7.5に由来する、請求項3～6のいずれかに記載の方法。

【請求項8】

未分化hES細胞から主に心室細胞の特徴を有する分化心筋細胞への分化を誘導する方法であって、

hES細胞を、肝実質細胞および/または肝実質細胞の細胞外培地の存在下で、hES細胞から、主に心室細胞の特徴を有する分化心筋細胞への分化を誘導する条件下で培養するステップを含む方法。

【請求項9】

主に心室細胞の特徴を有する分化心筋細胞のサブ集団を含む細胞の集団を得る方法であって、前記分化心筋細胞が、細胞の集団中の未分化hES細胞に由来するものであり、請求項8に記載の方法で、未分化hES細胞の分化を誘導するステップを含む方法。

【請求項10】

前記肝実質細胞がHepG2である、請求項8または9に記載の方法。

【請求項11】

前記臓側内胚葉細胞を、実質的にコンフルエントな単層にプレ培養するステップと、臓側内胚葉細胞単層および/または臓側内胚葉細胞単層の細胞外培地の存在下でhES細胞を共培養するステップと

を含む、請求項1～10のいずれかに記載の方法。

【請求項12】

前記hES細胞および臓側内胚葉細胞単層が、フィルターまたは細胞マトリックスにより分離されている、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

前記hES細胞が遺伝子改変されている、請求項1～12のいずれかに記載の方法。

【請求項14】

前記分化心筋細胞が心室細胞である、請求項1～13のいずれかに記載の方法。

【請求項15】

前記細胞の集団が心室細胞からなる、請求項2～14のいずれかに記載の方法。

【請求項16】

請求項1～15のいずれかに記載の方法により產生された分化心筋細胞。

【請求項17】

心特異的筋節タンパク質を発現し、心筋細胞に特有な変時応答、イオンチャネルの発現および機能を示す、請求項16に記載の分化心筋細胞

【請求項18】

前記分化心筋細胞が、胎児培養心室細胞の特徴を有する、請求項16または17に記載の分化心筋細胞。

【請求項19】

主に心室細胞の特徴を有する分化心筋細胞のサブ集団を含む、単離された細胞の集団であって、前記分化心筋細胞が、臓側内胚葉細胞および/または臓側内胚葉細胞の細胞外培地の存在下で共培養された細胞の集団中の未分化hES細胞に由来する、細胞の集団。

【請求項20】

前記分化心筋細胞のサブ集団が、前記細胞の集団中の5%より多い、請求項19に記載の単離された細胞の集団。

【請求項21】

前記サブ集団が心室細胞からなる、請求項19または20に記載の単離された細胞の集団。

【請求項 2 2】

請求項 2 ~ 1 5 のいずれかに記載の方法により調製された、単離された細胞の集団。

【請求項 2 3】

請求項 1 ~ 1 5 のいずれかに記載の方法により調製された、単離された胎児心室細胞。

【請求項 2 4】

患者の心疾患または心状態の処置または予防に用いられるための、請求項 1 9 ~ 2 2 のいずれかに記載の単離された細胞の集団。

【請求項 2 5】

前記心疾患または心状態が、心筋梗塞または心臓肥大を含む群から選択される、請求項 2 4 に記載の単離された細胞の集団。

【請求項 2 6】

損傷した心組織の修復に用いられるための、請求項 1 9 ~ 2 3 のいずれかに記載の単離された細胞の集団。

【請求項 2 7】

前記損傷した心組織が、心虚血に由来する、請求項 2 6 に記載の単離された細胞の集団。

【請求項 2 8】

主に心室細胞の特徴を有する分化心筋細胞が心臓移植に適しているか試験するための動物モデルであって、

心機能の測定可能なパラメータを有する免疫不全動物であって、請求項 1 ~ 1 5 のいずれかに記載の方法により産生された主に心室細胞の特徴を有する分化心筋細胞を移植により受け入れることができる動物と、

前記心筋細胞の移植の前後で動物の心機能を決定する手段と
を含むモデル。

【請求項 2 9】

前記免疫不全動物が、梗塞後の心筋変性のモデルとして作られた、請求項 2 8 に記載のモデル。

【請求項 3 0】

前記心機能のパラメータが収縮機能である、請求項 2 8 または 2 9 に記載のモデル。

【請求項 3 1】

主に心室細胞の特徴を有する分化心筋細胞が移植に適しているか試験する方法に用いるための、請求項 1 ~ 1 5 のいずれかに記載された方法により賛成された分化心筋細胞であって、前記分化心筋細胞が、測定可能な心機能を有する非ヒト免疫不全動物に移植され、前記心筋細胞の移植の前後に前記心機能が測定される、細胞。

【請求項 3 2】

分化心筋細胞が心臓の心室へ移植するのに適しているか試験するための動物モデルであって、

心室機能の測定可能なパラメータを有する免疫不全動物であって、請求項 1 ~ 1 5 のいずれかに記載の方法により調製された分化心筋細胞を移植により受け入れることができる動物と、

前記細胞の移植の前後に前記動物の心室機能を決定する手段と
を有する、モデル。

【請求項 3 3】

前記免疫不全動物が、梗塞後の心筋変性のモデルとして作られた、請求項 3 2 に記載のモデル。

【請求項 3 4】

前記心室機能を決定する手段が、立ち上がり速度の測定である、請求項 3 2 または 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

主に心室細胞の特徴を有する分化心筋細胞が心臓の心室への移植に適しているか試験す

る方法に用いるための、請求項 1 ~ 15 のいずれかに記載の方法により產生された分化心筋細胞であって、前記分化心筋細胞が、測定可能な心室機能を有する非ヒト免疫不全動物の心臓の心室に移植され、前記心筋細胞の移植の前後に前記心室機能が測定される、分化心筋細胞。