

【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20年9月4日(2008.9.4)

【公開番号】特開2007-185189(P2007-185189A)

【公開日】平成19年7月26日(2007.7.26)

【年通号数】公開・登録公報2007-028

【出願番号】特願2006-355330(P2006-355330)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 1 2 Q 1/04 (2006.01)

C 1 2 N 5/06 (2006.01)

C 0 7 K 16/28 (2006.01)

A 6 1 K 35/30 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 P 25/16 (2006.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

G 0 1 N 33/15 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 Q 1/02

C 1 2 Q 1/04

C 1 2 N 5/00 E

C 0 7 K 16/28

A 6 1 K 35/30

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 P 25/16

G 0 1 N 33/50 Z

G 0 1 N 33/15 Z

C 1 2 P 21/08

【手続補正書】

【提出日】平成20年7月22日(2008.7.22)

【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】

以下の(1)～(7)の塩基配列から選択される配列を含む分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞マーカーポリヌクレオチドプローブ。

- (1) 配列番号： 1 の塩基配列に相補的な塩基配列
- (2) 配列番号： 3 記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列に相補的な塩基配列
- (3) 配列番号： 3 のアミノ酸配列において113-135番目のアミノ酸残基からなる膜貫通領域を欠く配列をコードする塩基配列に相補的な塩基配列
- (4) 配列番号： 1 の塩基配列に相補的な配列のポリヌクレオチドに対してストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ中脳において分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞に特異的に発現している塩基配列
- (5) 配列番号： 1 の塩基配列のポリヌクレオチドと 8 0 % 以上の同一性を有し、かつ中脳において分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞に特異的に発現している塩基配列
- (6) 配列番号： 3 のアミノ酸と同一性 8 0 % 以上であり、かつ中脳においてドーパミン産生ニューロン前駆細胞に特異的に発現しているポリペプチドをコードする塩基配列
- (7) 上記 (1) ~ (6) の配列中の少なくとも連続した 1 5 塩基からなる塩基配列

【請求項 2】

分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞を含む細胞集団を選択する方法であって、請求項 1 記載のポリヌクレオチドプローブと分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞を含むと考えられる細胞試料とを接触させる工程を含む方法。

【請求項 3】

以下の工程を含むドーパミン産生ニューロン系列の細胞を選択する方法。

- (1) 請求項 2 記載の分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞を含む細胞集団を選択する方法により分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞を含む細胞集団を選択する工程
- (2) 上記 (1) において選択された細胞集団を培養する工程
- (3) 上記 (2) において培養された細胞集団を、ドーパミン産生ニューロンマーカーを利用してスクリーニングする工程

【請求項 4】

請求項 2 の方法により選択された分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞を含む細胞集団。

【請求項 5】

分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞特異的遺伝子及び前駆細胞を含む細胞集団からドーパミン産生ニューロンへの各成熟段階に特異的な遺伝子の単離方法であって、請求項 4 記載の細胞集団、または該細胞集団から分化、誘導若しくは増殖された細胞集団を用い、該細胞集団において特異的に発現している遺伝子を検出、単離する工程を含む方法。

【請求項 6】

成熟を指標としたドーパミン産生ニューロン系列の細胞の増殖及び/または分化を調節する化合物のスクリーニング方法であり、請求項 4 記載の細胞集団、または該細胞集団から分化、誘導若しくは増殖された細胞に対し、被験物質を接触させる工程、及び接触による細胞集団若しくは細胞集団の変化を検出する工程を含む方法。

【請求項 7】

請求項 4 記載の分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞を含む細胞集団を含む、パーキンソン病を治療するためのキット。

【請求項 8】

分裂停止前のドーパミン産生ニューロン増殖前駆細胞を含む細胞集団を検出または選択する方法であって、以下 (1) ~ (7) のいずれかに記載の塩基配列からなる第一のポリヌクレオチドに対してストリンジェントな条件下で特異的にハイブリダイズする第二のポリヌクレオチドを、分裂停止前のドーパミン産生ニューロン増殖前駆細胞を含む細胞試料に接触させる工程を含む方法。

- (1) 配列番号： 1 に記載の塩基配列
- (2) 配列番号： 3 に記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列に相補的な塩基配列

(3) 配列番号：3 のアミノ酸配列において113-135番目のアミノ酸残基からなる膜貫通領域を欠く配列をコードする塩基配列に相補的な塩基配列

(4) 配列番号：1 の塩基配列に相補的な配列のポリヌクレオチドに対してストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ中脳において分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞に特異的に発現している塩基配列

(5) 配列番号：1 の塩基配列のポリヌクレオチドと80%以上の同一性を有し、かつ中脳において分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞に特異的に発現している塩基配列

(6) 配列番号：3 のアミノ酸と同一性80%以上であり、かつ中脳においてドーパミン産生ニューロン前駆細胞に特異的に発現しているポリペプチドをコードする塩基配列

(7) 上記(1)～(6)の配列中少なくとも連続した15塩基からなる塩基配列

【請求項9】

第二のポリヌクレオチドが、少なくとも連続した15塩基長からなる、請求項8記載の方法。

【請求項10】

請求項8または9に記載の方法により選択された分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞集団。

【請求項11】

以下の(1)～(7)のいずれかに記載の塩基配列からなる第一のポリヌクレオチドに対してストリンジェントな条件下で特異的にハイブリダイズする第二のポリヌクレオチドを有効成分として含有する、分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞を識別するための試薬。

(1) 配列番号：1 に記載の塩基配列

(2) 配列番号：3 に記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列に相補的な塩基配列

(3) 配列番号：3 のアミノ酸配列において113-135番目のアミノ酸残基からなる膜貫通領域を欠く配列をコードする塩基配列に相補的な塩基配列

(4) 配列番号：1 の塩基配列に相補的な配列のポリヌクレオチドに対してストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ中脳において分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞に特異的に発現している塩基配列

(5) 配列番号：1 の塩基配列のポリヌクレオチドと80%以上の同一性を有し、かつ中脳において分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞に特異的に発現している塩基配列

(6) 配列番号：3 のアミノ酸と同一性80%以上であり、かつ中脳においてドーパミン産生ニューロン前駆細胞に特異的に発現しているポリペプチドをコードする塩基配列

(7) 上記(1)～(6)の配列中少なくとも連続した15塩基からなる塩基配列

【請求項12】

第二のポリヌクレオチドが、少なくとも連続した15塩基長からなる、請求項11に記載の試薬。

【請求項13】

以下の(1)～(3)の工程を含む、分裂停止後のドーパミン産生ニューロン前駆細胞を含む細胞集団を製造する方法。

(1) 請求項8または9に記載の方法により分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞を含む細胞集団を選択する工程、

(2) 工程(1)において選択された細胞集団を培養する工程、

(3) 工程(2)において培養された細胞集団から分裂停止後のドーパミン産生ニューロン前駆細胞を含む細胞集団を選択する工程

【請求項14】

以下の(1)～(2)の工程を含む、ドーパミン産生ニューロンを製造する方法。

(1) 請求項8または9に記載の方法により分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞を含む細胞集団を選択する工程、

(2) 工程(1)において選択された細胞集団を培養する工程

【請求項15】

(3) 工程(2)において培養された細胞集団からドーパミン産生ニューロンを選択する工程

をさらに含む、請求項14に記載の方法。

【請求項16】

以下の細胞からなる群から選択される少なくとも一つの細胞を含む、神経変性疾患を治療するためのキット。

(1) 請求項10に記載の分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞集団

(2) 請求項14に記載の方法により製造されたドーパミン産生ニューロン

(3) 請求項15に記載の方法により製造されたドーパミン産生ニューロン

【請求項17】

神経変性疾患が、パーキンソン病である、請求項16に記載のキット。

【請求項18】

細胞試料が、ES細胞から分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞へ分化させる処理を行ったものである、請求項8または9に記載の方法。

【請求項19】

分化させる処理が、SDIA法によるものである、請求項18に記載の方法。

【請求項20】

細胞試料が、ES細胞から分裂停止前のドーパミン産生ニューロン増殖前駆細胞へ分化させる処理を行ったものである、請求項13、14または15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項21】

分化させる処理が、SDIA法によるものである、請求項20に記載の方法。

【請求項22】

ES細胞を分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞に分化させる処理を行い、分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞を含む細胞試料を得る工程をさらに含む、請求項8または9に記載の方法。

【請求項23】

分化させる処理が、SDIA法によるものである、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

ES細胞を分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞に分化させる処理を行い、分裂停止前のドーパミン産生ニューロン前駆細胞を含む細胞試料を得る工程をさらに含む、請求項13、14または15に記載の方法。

【請求項25】

分化させる処理が、SDIA法によるものである、請求項24に記載の方法。

【請求項26】

以下の細胞からなる群から選択される少なくとも一つの細胞を含む、神経変性疾患を治療するためのキット。

(1) 請求項20または21に記載の方法により製造された細胞集団

(2) 請求項24または25に記載の方法により製造された細胞集団

【請求項27】

神経変性疾患が、パーキンソン病である、請求項26に記載のキット。