(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2007 年8 月9 日 (09.08.2007)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2007/088874 A1

(51) 国際特許分類:
C12N 5/00 (2006.01) *C12N 5/06* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2007/051563

(22) 国際出願日: 2007 年1 月31 日 (31.01.2007)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2006-023770 2006 年1 月31 日 (31.01.2006) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): アスビオファーマ株式会社 (ASUBIO PHARMA CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1078541 東京都港区赤坂二丁目９番１１号 Tokyo (JP). 学校法人慶應義塾 (KEIO UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒1080073 東京都港区三田二丁目１５番４５号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 服部 文幸 (HATTORI, Fumiyuki) [JP/JP]; 〒1810012 東京都三鷹市上連雀１丁目２５番２２ Tokyo (JP). 福田 恵一 (FUKUDA, Keiichi) [JP/JP]; 〒1760006 東京都練馬区栄町３番２号 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 社本 一夫, 外 (SHAMOTO, Ichio et al.); 〒1000004 東京都千代田区大手町二丁目２番１号 新大手町ビル２０６区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

２文字コード及び他の略語については、定期発行される各*PCT*ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) **Title:** METHOD FOR PURIFYING CARDIAC MYOCYTE AND PRESUMPTIVE CARDIAC MYOCYTE DERIVED FROM STEM CELL AND FETUS

(54) 発明の名称: 幹細胞及び胎児由来の心筋細胞及び予定心筋細胞の精製方法

(57) **Abstract:** An object of the invention is to develop a method for purifying a cardiac myocyte to a high degree and at a high yield from a cell mixture containing the cardiac myocyte derived from a fetus and a stem cell using various characteristics which were not assumed to be used for the purpose of cardiac myocyte purification in the past or various characteristics which were newly found without undergoing genetic modification and adding a special protein or a biologically active substance. The inventors of the invention found that a cardiac myocyte can be efficiently selected and purified to a high degree by culturing a cardiac myocyte derived from an embryonic stem cell in a culture medium in a low serum condition, a low sugar condition, a low nutrient condition, a low calcium condition, a slightly acidic pH condition, a condition where lactic acid is added, a condition where aspartic acid/glutamic acid are added and/or a condition where pyruvic acid is added. Further, they found that the method found by using an embryonic stem cell can be applied to the selection/purification of a cardiac myocyte derived from a fetus and the selection/purification of a cardiac myocyte derived from an adult stem cell.

(57) 要約: 本発明は、従来は心筋細胞を精製する目的に用いることが想定できなかった諸性質や新たに見出した諸性質を用いて、遺伝子改変を経ず、特別なタンパク質及び生理活性物質の添加を行わず、胎児及び幹細胞由来に由来する心筋細胞を含む細胞混合物から、心筋細胞を高度にかつ高収率で精製する方法を開発することを課題とする。 本発明の発明者らは、低血清条件、低糖条件、低栄養条件、低カルシウム条件、弱酸性pH条件、乳酸添加条件、アスパラギン酸・グルタミン酸添加条件、および／またはピルビン酸添加条件の培養液中で胚性幹細胞由来の心筋細胞を培養することにより、効率的且つ高度に心筋細胞を選択・精製できることを見いだした。更に、胚性幹細胞で見出した方法が、胎児由来の心筋細胞の選択・精製や、成体幹細胞由来の心筋細胞の選択・精製に応用可能であることを見出した。

WO 2007/088874 A1