

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-321133

(P2004-321133A)

(43) 公開日 平成16年11月18日(2004.11.18)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 5/10	C 1 2 N 5/00	B 4 B 0 2 9
A 6 1 K 35/14	A 6 1 K 35/14	C 4 B 0 6 5
A 6 1 P 7/00	A 6 1 P 7/00	4 C 0 8 7
A 6 1 P 37/04	A 6 1 P 37/04	
C 1 2 M 3/00	C 1 2 M 3/00	Z
審査請求 未請求 請求項の数 13 O L (全 36 頁)		

(21) 出願番号	特願2003-123629 (P2003-123629)	(71) 出願人	501372514 国立国際医療センター総長 東京都新宿区戸山1-21-1
(22) 出願日	平成15年4月28日 (2003.4.28)	(71) 出願人	591009071 株式会社日鉄技術情報センター 東京都千代田区麹町1丁目6番地
		(71) 出願人	503157087 アドジェニック株式会社 東京都中央区京橋2-5-2
		(74) 代理人	100109553 弁理士 工藤 一郎
		(72) 発明者	湯尾 明 東京都地新宿区戸山1-21-1 国立国際医療センター研究所内
最終頁に続く			

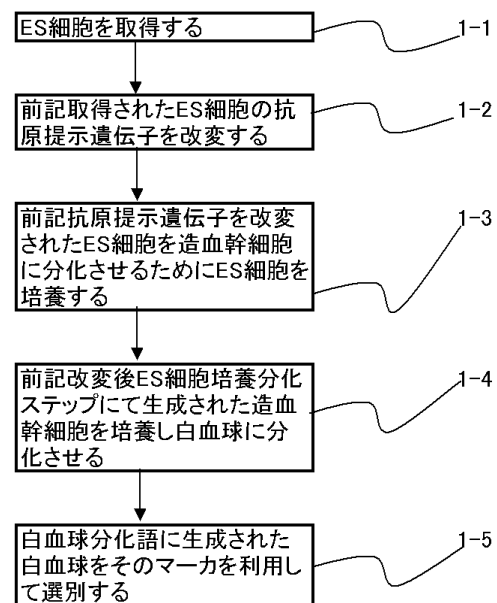
(54) 【発明の名称】 細胞製造装置ならびに細胞製造方法

(57) 【要約】

【課題】 末梢血、骨髄、臍帯血から造血幹細胞を採取するために、感染症をもつドナ - からの採血が混入する。ドナ - との適合性がよくない場合には、拒絶反応が生じる。

【解決手段】 胚性幹細胞の遺伝子を改変し、これを培養分化させて造血幹細胞や白血球を取得するものであり、感染症の心配のない、かつ適合性のよい遺伝子を有する造血幹細胞ないし白血球を製造することができる。これを具現化する装置は、ES細胞を培養し造血幹細胞に分化させるためのES細胞培養槽と、前記ES細胞培養槽と隣接し前記ES細胞培養槽にて生成された造血幹細胞を培養させ白血球に分化させるための造血幹細胞培養槽と、前記造血幹細胞培養槽と隣接し前記造血幹細胞培養槽にて生成された白血球を培養するための白血球培養槽と、を有する細胞製造装置を利用する。

【選択図】 図1



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

胚性幹細胞を取得する胚性幹細胞取得ステップと、前記胚性幹細胞取得ステップにて取得した胚性幹細胞の抗原提示遺伝子を改変する抗原提示遺伝子改変ステップと、前記抗原提示遺伝子改変ステップにて抗原提示遺伝子を改変された胚性幹細胞を培養し、造血幹細胞に分化させる改変後胚性幹細胞培養分化ステップと、前記改変後胚性幹細胞培養分化ステップにて生成された造血幹細胞を培養し白血球に分化させる白血球分化ステップと、前記白血球分化ステップにて生成された白血球をそのマ - カを利用して選別する白血球選別ステップと、を有する細胞製造方法。

**【請求項 2】**

前記白血球分化ステップは、選択されたサイトカインを前記造血幹細胞を含む白血球溶液に注入することで特定の白血球に分化させるサイトカイン注入ステップを含むことを特徴とする請求項 1 に記載の細胞製造方法。

10

**【請求項 3】**

前記白血球選別ステップは、前記マ - カを目標として結合する抗体を磁性化したものである磁性化抗体と、前記マ - カを有する白血球とを結合する磁性抗体結合ステップと、前記磁性抗体結合ステップにて前記磁性抗体と結合した白血球のみを前記白血球分化ステップにて生成された白血球の中から磁界を利用して抽出する抽出ステップと、前記抽出ステップにて抽出された前記白血球から前記磁性化抗体を除去する抗体除去ステップと、を含む請求項 1 又は 2 に記載の細胞製造方法。

20

**【請求項 4】**

前記抗体除去ステップは、前記抽出ステップにて抽出された白血球を所定の温度に昇温する昇温ステップを有する請求項 3 に記載の細胞製造方法。

**【請求項 5】**

前記磁性抗体結合ステップは、3 度摂氏から 5 度摂氏の範囲の温度で行う請求項 3 に記載の細胞製造方法。

**【請求項 6】**

前記所定の温度とは、3 6 度摂氏から 3 8 度摂氏の範囲の温度である請求項 4 に記載の細胞製造方法。

**【請求項 7】**

胚性幹細胞を取得する胚性幹細胞取得ステップと、前記胚性幹細胞取得ステップにて取得した胚性幹細胞の抗原提示遺伝子を改変する抗原提示遺伝子改変ステップと、前記抗原提示遺伝子改変ステップにて抗原提示遺伝子の改変された胚性幹細胞を培養し、白血球に分化させる白血球分化ステップと、前記白血球分化ステップにて生成された白血球をそのマ - カを利用して選別する白血球選別ステップと、を有する細胞製造方法。

30

**【請求項 8】**

胚性幹細胞を培養し、造血幹細胞に分化させるための胚性幹細胞培養槽と、前記胚性幹細胞培養槽と隣接し、前記胚性幹細胞培養槽にて生成された造血幹細胞を培養させ、白血球に分化させるための造血幹細胞培養槽と、前記造血幹細胞培養槽と隣接し、前記造血幹細胞培養槽にて生成された白血球を培養するための白血球培養槽と、を有する細胞製造装置

40

**【請求項 9】**

前記胚性幹細胞培養槽と、前記造血幹細胞培養槽とは、擬似生体膜で区分されている請求項 8 に記載の細胞製造装置。

**【請求項 10】**

前記造血幹細胞培養槽と前記白血球培養槽とは、擬似生体膜で区分されている請求項 9 に記載の細胞製造装置。

**【請求項 11】**

前記白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カを目標として結合する抗体を磁性化した

50

ものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部と、をさらに有する請求項 8 から 10 のいずれか一に記載の細胞製造装置。

【請求項 12】

前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部をさらに有する請求項 11 に記載の細胞製造装置。

【請求項 13】

生体から胚性幹細胞を取得する胚性幹細胞取得ステップと、前記胚性幹細胞取得ステップにて取得した胚性幹細胞の抗原提示遺伝子を改変する抗原提示遺伝子改変ステップと、前記抗原提示遺伝子改変ステップにて抗原提示遺伝子の改変された胚性幹細胞をコラ - ゲンもしくは内皮細胞上にて培養し、造血幹細胞に分化させる改変後胚性幹細胞培養分化ステップと、前記改変後胚性幹細胞培養分化ステップにて生成された造血幹細胞を培養し白血球に分化される白血球分化ステップと、前記白血球分化ステップにて生成された白血球をそのマ - カを利用して選別する白血球選別ステップと、前記白血球選別ステップにて選別された白血球を前記生体に輸血するステップと、を有する体外白血球を利用した治療方法。

10

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明はヒトおよびサルなどの霊長類へ移植もしくは輸血するための白血球の製造に関するものである。

20

【0002】

【従来の技術】

一般に、造血幹細胞は、ドナ - の骨髓、臍帯血もしくは末梢血中から採取されている。これらの部位から得られた造血幹細胞を白血病などによって造血幹細胞から正常な白血球が産生できなくなった患者に対して移植することによって、再び白血球を産生する能力を獲得することができるようになる。

【0003】

また、人間の胚性幹細胞から造血細胞を得る方法として下記公知文献がある。

【特許文献 1】

特表 2003 - 513664 号公報 (第 2 頁 - 第 14 頁)

30

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、前述の如く、造血幹細胞をドナ - から採取する必要があるために、病気、とくに肝炎やエイズなどのようなウイルスに感染したドナ - からの採血が混入した場合には、輸血される患者がこれらの感染症にかかるという被害が発生した。また、ドナ - との適合性がよくない場合には、拒絶反応が起こり、急性もしくは慢性の拒絶反応もしくは死にいたる拒絶反応が生じる場合があった。

【0005】

本発明は、斯かる実情に鑑み、遺伝子を改変した胚性幹細胞 (以下、ES 細胞、と呼ぶ) から採取した造血幹細胞を、感染症の原因となるウイルスなどから守られた衛生的に十分管理された工場生産の体制により製作することによって移植される患者を感染症から守るとともに、拒絶反応の観点から患者に適合性のよい遺伝子を有する造血幹細胞を製作し、これを患者に移植することによって、移植における拒絶反応という上記課題を解決することができる。

40

【0006】

さらに、遺伝子改変されて患者との適合性がよい白血球であれば、患者に対して輸血を実施しても拒絶反応を起こすことなく、白血球自身が有する免疫抵抗力を付与することができる。本発明は、このような課題を解決するために遺伝子改変を行った ES 細胞を培養して、前記遺伝子改変された ES 細胞を培養して分化させた造血幹細胞と前記遺伝子改変 ES 細胞遺伝子を培養して分化された造血幹細胞を培養して分化させた白血球を提供しよう

50

とするものである。

【0007】

【課題を解決するための手段】

このような造血幹細胞と白血球を取得する手段として、(1) E S細胞を取得する E S細胞取得ステップと、前記 E S細胞取得ステップにて取得した E S細胞の抗原提示遺伝子を改変する抗原提示遺伝子改変ステップと、前記抗原提示遺伝子改変ステップにて抗原提示遺伝子の改変された E S細胞を培養し、造血幹細胞に分化させる改変後 E S細胞培養分化ステップと、前記改変後 E S細胞培養分化ステップにて生成された造血幹細胞を培養し白血球に分化させる白血球分化ステップと、前記白血球分化ステップにて生成された白血球をそのマ - カを利用して選別する白血球選別ステップと、を有する細胞製造方法、あるいは、(2) E S細胞を取得する E S細胞取得ステップと、前記 E S細胞取得ステップにて取得した E S細胞の抗原提示遺伝子を改変する抗原提示遺伝子改変ステップと、前記抗原提示遺伝子改変ステップにて抗原提示遺伝子の改変された E S細胞を培養し、白血球に分化させる白血球分化ステップと、前記白血球分化ステップにて生成された白血球をそのマ - カを利用して選別する白血球選別ステップと、を有する細胞製造方法、という手段を考案した。

10

【0008】

また、造血幹細胞と白血球を取得する手段を具現化する装置は、E S細胞を培養し、造血幹細胞に分化させるための E S細胞培養槽と、前記 E S細胞培養槽と隣接し、前記 E S細胞培養槽にて生成された造血幹細胞を培養させ、白血球に分化させるための造血幹細胞培養槽と、前記造血幹細胞培養槽と隣接し、前記造血幹細胞培養槽にて生成された白血球を培養するための白血球培養槽と、を有する細胞製造装置である。

20

【0009】

上記手段によれば、以下のような作用が得られる。(1) 感染症の心配のない造血幹細胞が得られる。(2) 移植もしくは輸血しても拒絶反応が起こらない造血幹細胞および白血球が得られる。

【0010】

【発明の実施の形態】

<<実施形態1>>

【0011】

実施形態1は、請求項1に対応する。実施形態1は、E S細胞取得ステップと、抗原提示遺伝子改変ステップと、改変後 E S細胞培養分化ステップと、白血球分化ステップと、白血球選別ステップと、を有する細胞製造方法である。

30

以下、本発明の実施の形態を図示例と共に説明する。

【0012】

図1は本発明を実施する形態と作動の一例である。図1の1-1の E S細胞取得ステップとは、霊長類の胚盤胞内から内部細胞塊を取り出してこの内部細胞塊を培養して E S細胞を取得するステップである。

【0013】

図1の1-2の抗原提示遺伝子改変ステップとは、自己を提示する抗原に関わる遺伝子に関して、その部分もしくは全部を改変するものであり、この改変において H L A と呼ばれる遺伝子群もしくは、これを含む染色体を、移植もしくは輸血の対象となる患者に適合する遺伝子に改変するステップである。この改変には、遺伝子が発現出来ないようにするために遺伝子の発現を制御する部位を改変するという操作も含まれている。この遺伝子改変の方法には、エレクトロポ - レーションにより直接遺伝子を組み込む方法やレトロウイルスベクター - を用いて逆転写することにより遺伝子を組み込む方法などがある。

40

【0014】

図1の1-3の改変後 E S細胞培養分化ステップとは、前記の抗原提示遺伝子が改変された E S細胞を培養し、造血幹細胞に分化させるステップである。霊長類の場合では、E S細胞はさまざまな臓器の細胞になりえる多分化能を有しているが、一般的に造血系細胞に

50

分化しやすいという特性を有しており、通常の培養条件下では容易に造血系細胞に分化する。

【0015】

図1の1-4の白血球分化ステップとは、前記の造血幹細胞を培養し白血球に分化させるステップである。一般的には図2に示すような白血球と呼ばれる樹状細胞2-2、T細胞2-3、B細胞2-4、形質細胞2-5、NK細胞2-6、肥満細胞2-7、好塩基球2-8、好酸球2-9、マクロファージ2-10、破骨細胞2-11、好中球2-12に分化させる場合に、サイトカインを注入する方が良い。例えば、図2に示す造血幹細胞2-1から好中球2-12へ分化させるためには、SCF, G-CSF, IL-6, TPO, FLT3 ligand, IL-11などのサイトカインを用いて、顆粒球マクロファージ系前駆細胞まで分化させ、G-CSF 2-16と呼ばれるサイトカインを注入することにより好中球2-12へ分化させることができる。

10

【0016】

図1の1-5の白血球選別ステップとは、前期の造血幹細胞から分化生成された白血球のマカを利用して白血球を選別するステップである。たとえば、マクロファージであればマクロファージに特異的なマカであるmac-1に結合するanti-mac-1を磁性化抗体として作り上げて、この磁性化抗体がマクロファージに結合したあとに磁界を用いればマクロファージに分化したものだけを選別することができる。

【0017】

このような細胞製造方法により、生体内と同じような条件で遺伝子改変した細胞を増殖させるだけでなく、白血球への分化まで含めて連続的な細胞製造が可能になる。

20

【0018】

<<実施形態2>>

【0019】

実施形態2は、請求項2に対応する。実施形態2は、ES細胞取得ステップと、抗原提示遺伝子改変ステップと、改変後ES細胞培養分化ステップと、白血球分化ステップと、白血球選別ステップと、を有する細胞製造方法であり、特徴点は前記白血球分化ステップがサイトカイン注入ステップ、を備える点をあげることができる。

【0020】

図3は発明を実施する形態と作動の一例である。実施形態2に特徴的なサイトカイン注入ステップ、について記述する。

30

図3の3-4のサイトカイン注入ステップとは、選択されたサイトカインを、前記造血幹細胞を含む白血球溶液に注入することで特定の白血球に分化させるステップである。一般的には図2に示すような白血球と呼ばれる樹状細胞2-2、T細胞2-3、B細胞2-4、形質細胞2-5、NK細胞2-6、肥満細胞2-7、好塩基球2-8、好酸球2-9、マクロファージ2-10、破骨細胞2-11、好中球2-12に分化させる場合に、サイトカインを注入する。例えば、図2に示す造血幹細胞2-1から好中球2-12へ分化させるためには、SCF, G-CSF, IL-6, TPO, FLT3 ligand, IL-11などのサイトカインを用いて、骨髄系幹細胞2-13、顆粒球マクロファージ系前駆細胞2-14、好中球前駆細胞2-15まで分化させ、G-CSF 2-16

40

【0021】

<<実施形態3>>

【0022】

実施形態3は、請求項3に対応する。実施形態3は、ES細胞取得ステップと、抗原提示遺伝子改変ステップと、改変後ES細胞培養分化ステップと、白血球分化ステップと、白血球選別ステップと、を有する細胞製造方法だが、特徴点は前記白血球選別ステップが、磁性抗体結合ステップと、抽出ステップと、前記抽出ステップにて抽出された前記白血球から前記磁性化抗体を除去する抗体除去ステップ、を備える点をあげることができる。以

50

下、本発明の実施の形態を図示例と共に説明する。

【0023】

図4は発明を実施する形態と作動の一例である。実施形態3に特徴的な磁性抗体結合ステップと、抽出ステップと、前記抽出ステップにて抽出された前記白血球から前記磁性化抗体を除去する抗体除去ステップ、について説明する。

【0024】

図4の4-5の磁性抗体結合ステップは、白血球に特異的なマ-カを目標として結合する抗体を磁性化したものである磁性化抗体と、前記マ-カを有する白血球とを結合するステップである。図2の2-2から2-12に示される白血球は、それぞれの白血球に特異的なマ-カを有している。たとえば、マクロファ-ジに特異的なマ-カはmac-1であり、この抗体を用いることにより、マクロファ-ジのみに磁性化抗体が結合する。

10

【0025】

図4の4-6の抽出ステップは、磁性抗体結合ステップと、前記磁性抗体結合ステップにて前記磁性抗体と結合した白血球のみを前記白血球分化ステップにて生成された白血球の中から磁界を利用して抽出するステップである。この磁界により、磁性化抗体と結合した白血球は磁場によって引き寄せられ、その他の白血球と選別される。このような方法により磁界により吸着され選別された白血球は、たとえば、培養槽などから取り出され別の容器に移される。別の容器の中において磁界の極性を反転させれば、磁石と磁性化抗体と結合した白血球の間には反発力が生じて、磁性化抗体と結合した白血球は容器内に解放される。

20

【0026】

図4の4-7の抗体除去ステップは、前記抽出ステップにて抽出された前記白血球から前記磁性化抗体を除去する抗体除去ステップである。一例として、容器内の温度を特定の温度にすれば、抗体と白血球の間の結合が離れる。この両者の間の結合が離れた時点で、磁界を用いて抗体のみを抽出すれば、容器内には白血球のみが残され、必要とされる白血球が容器内に選別される。

【0027】

前記磁性化抗体を用いて白血球を選別することができるために、複数の種類の白血球が存在する生体内における環境とよく似た環境下での細胞製造が可能である。

【0028】

<<実施形態4-1>>

30

【0029】

実施形態4-1は、請求項4に対応する。実施形態4-1は、ES細胞取得ステップと、抗原提示遺伝子改変ステップと、改変後ES細胞培養分化ステップと、サイトカイン注入ステップを含む白血球分化ステップと、白血球選別ステップ、を有する細胞製造方法であり、特徴点は、抗体除去ステップに昇温ステップ、を備える点をあげることができる。

【0030】

図5は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態4-1に特徴的な昇温ステップについて説明する。図5の5-7は、抗体が結合した白血球を含む培養液を昇温するステップである。昇温後は、一定の温度に保たれる。一定の温度に保つと、抗体が結合した白血球から、抗体が解離する。ここでは、白血球を選別するために樹状細胞2-2、T細胞2-3、B細胞2-4、形質細胞2-5、NK細胞2-6、肥満細胞2-7、好塩基球2-8、好酸球2-9、マクロファ-ジ2-10、破骨細胞2-11、好中球2-12などの白血球のおのおのに特異的な抗体を用いて白血球を選別する場合に、白血球を前記抗体により選別したあとに、抗体を解離するために昇温する方法を示している。

40

【0031】

この昇温によって、抗体と白血球が分離されることによって、治療に必要な白血球のみを選別し取得することが可能となる。

【0032】

<<実施形態4-2>>

50

## 【0033】

実施形態4-2は、請求項3と請求項4に対応する。実施形態4-2は、ES細胞取得ステップと、抗原提示遺伝子改変ステップと、改変後ES細胞培養分化ステップと、白血球分化ステップと、さらに磁性抗体結合ステップと抽出ステップと前記抽出ステップにて抽出された前記白血球から前記磁性化抗体を除去する抗体除去ステップを含む白血球選別ステップを、有する細胞製造方法であり、特徴点は抗体除去ステップに昇温ステップ、を備える点をあげることができる。

## 【0034】

図6は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態4-2に特徴的な昇温ステップについて説明する。図6の6-7は、磁性化抗体が結合した白血球を含む培養液を昇温するステップである。昇温後は、一定の温度に保たれる。一定の温度に保つと、磁性体抗体が結合した白血球から、磁性化抗体が解離するステップである。

10

## 【0035】

この昇温ステップにより、磁性化抗体と白血球が分離されるため、治療に必要な白血球のみを選別し取得することができる。

## 【0036】

<<実施形態5>>

実施形態5は、請求項5に対応する。実施形態5は、ES細胞取得ステップと、抗原提示遺伝子改変ステップと、改変後ES細胞培養分化ステップと、白血球分化ステップと、さらに、磁性抗体結合ステップと、抽出ステップと、前記抽出ステップにて抽出された前記白血球から前記磁性化抗体を除去する抗体除去ステップを含む白血球選別ステップ、を有する細胞製造方法であり、特徴点は、3度摂氏から5度摂氏の範囲の温度で前記磁性抗体結合を行うステップを備える点をあげることができる。

20

## 【0037】

図7は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態5に特徴的な3度摂氏から5度摂氏の範囲の温度で前記磁性抗体結合を行うステップについて説明する。図7の7-5は、磁性化抗体と白血球を混合した培養液を3度摂氏から5度摂氏の範囲の温度に保ち、前記磁性化抗体と前記白血球を結合させるステップである。抗体は、一般的に3度摂氏から5度摂氏の間で抗体と白血球の結合が確実なものになる。ただ、長時間この温度にてしておく細胞が死ぬために、短時間での作業が必要となる。

30

## 【0038】

この温度管理によって、前記磁性化抗体と白血球の結合を確実なものにすることができる。

## 【0039】

<<実施形態6-1>>

## 【0040】

実施形態の6-1は、請求項6に対応する。実施形態6-1は、ES細胞取得ステップと、抗原提示遺伝子改変ステップと、改変後ES細胞培養分化ステップと、サイトカイン注入ステップを含む白血球分化ステップと、抗体除去ステップに昇温ステップを有する白血球選別ステップ、を有する細胞製造方法であり、特徴点は36度摂氏から38度摂氏の間で温度へ昇温する昇温ステップを備える点をあげることができる。

40

## 【0041】

図8は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態6-1に特徴的な昇温ステップについて説明する。図8の8-7は、磁性化抗体が結合した白血球を含む培養液を36度摂氏から38度摂氏の範囲の温度に昇温するステップである。昇温後は、一定の温度に保たれる。36度摂氏から38度摂氏の範囲では、磁性体抗体が結合した白血球から、磁性化抗体が解離するのに最適な温度である。これによって、磁性化抗体と白血球を確実に解離させることができる。

## 【0042】

<<実施形態6-2>>

50

## 【0043】

実施形態6-2は、請求項3と請求項4と請求項6に対応する。実施形態6-2は、ES細胞取得ステップと、抗原提示遺伝子改変ステップと、改変後ES細胞培養分化ステップと、白血球分化ステップと、さらに磁性抗体結合ステップと抽出ステップと前記抽出ステップにて抽出された前記白血球から前記磁性化抗体を除去するための昇温するステップを有した抗体除去ステップを含む白血球選別ステップ、を有する細胞製造方法であり、特徴点は36度摂氏から38度摂氏の間温度へ昇温する昇温ステップを備える点をあげることができる。

## 【0044】

図9は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態6-2に特徴的な昇温ステップについて説明する。図9の9-7は、磁性化抗体が結合した白血球を含む培養液を36度摂氏から38度摂氏の範囲の温度に昇温するステップである。昇温後は、一定の温度に保たれる。一定の温度に保つと、磁性体抗体が結合した白血球から、磁性化抗体が解離するステップである。これによって、磁性化抗体と白血球を確実に解離させることができる。

10

## 【0045】

<<実施形態7>>

## 【0046】

実施形態7は、請求項7に対応する。実施形態7は、ES細胞取得ステップと、抗原提示遺伝子改変ステップと、白血球分化ステップと、白血球選別ステップと、を有する細胞製造方法であり、特徴点は、実施形態1と異なり抗原提示遺伝子改変後のES細胞から造血幹細胞を分化生成させるステップを省くという点をあげることができる。以下、本発明の実施の形態を図示例と共に説明する。

20

## 【0047】

図10は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態7に特徴的な図10の10-3は、前記抗原提示遺伝子改変ステップにて改変されたES細胞を培養し白血球に分化させるステップであり、ES細胞が白血球に分化しやすいという性質を利用している。マウスのES細胞では、サイトカインのLIFを培養液中に入れることによって前記ES細胞の白血球への分化を抑制している。本実施形態は、このES細胞が有する自然的特性を利用して効率的に白血球を培養し産生しようとするものである。

30

## 【0048】

ES細胞から直接白血球へ分化させ、白血球の産生ができるので、培養の手順を簡便化することができるというメリットがある。

## 【0049】

<<実施形態8-1>>

## 【0050】

実施形態8は、請求項8に対応する。実施形態8は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、を有する細胞製造装置である。

## 【0051】

図11は発明を実施する形態と作動の一例である。図11の11-2は、ES細胞培養槽である。ES細胞を増殖しつつ同時に造血幹細胞へと分化させる培養槽である。このために、ES細胞培養槽は、造血幹細胞培養槽と隣接しており、細胞間での情報伝達が可能な形にしておく必要がある。ES細胞は固着細胞であるためにこの槽内に足場をつくっておく必要がある。図11の11-6は造血幹細胞とES細胞の境界層である。隔壁を設けることもできるが細胞が情報伝達をしたり行き来したりできるように開口部のある構造となる。また、ES細胞培養層は、コラゲン、ゼラチン、内皮細胞、もしくは異種あるいは同種のストロマ細胞などを基質として用いる。11-1にはこの基質が設置されており、ES細胞培養槽に隣接して設けられている。

40

## 【0052】

図11の11-3は、造血幹細胞培養槽である。造血幹細胞を増殖しつつ同時に白血球へ

50



と分化させる培養槽である。このために、造血幹細胞培養槽は、前記のES細胞培養槽と隣接しているだけでなく、白血球培養槽とも隣接している必要がある。この実施形態ではES細胞が直接白血球に分化する場合は除外しており、ES細胞と白血球が直接隣接することはない。造血幹細胞培養槽は固着細胞である造血幹細胞と浮遊細胞である白血球の混合である。このために固着細胞についてはこの槽内に足場を作っておく必要がある。足場としては、マイクロキャリア-やホロファイバ-などがある。11-7は白血球培養槽との境界層であり、隔壁を設けることも可能である。この境界を通じて、造血幹細胞と白血球が情報伝達できるようにしたり、造血幹細胞が浮遊細胞である白血球に分化した場合に自由に白血球培養槽に移動する。隔壁を設ける場合には、細胞間の情報伝達や移動ができるようにこの隔壁は開口部のある構造となる。また、これらの槽においては、実施形態2

10

#### 【0053】

図11の11-4は、白血球培養槽である。隣接する造血幹細胞を分化させ生成された白血球を培養するための培養槽である。また、この白血球培養槽に特定の白血球に特異的なマ-カに結合する磁性化抗体をふりかけたのち、磁界をかけることによって選別するなどの作業を行う培養槽でもある。もちろん、選別のために作られた別の槽内で同様の操作により選別することも可能である。

こうして、抗原提示遺伝子を改変したES細胞を培養分化させ、前記抗原提示遺伝子を改変したES細胞を分化させて造血幹細胞を生成し培養し、さらに前記造血幹細胞から白血球生成分化させる培養装置が得られる。多層にすることによって、連続的な増殖、分化が可能であり、また隣接させることによって、細胞間の情報伝達を容易にしたり細胞自身の移動を容易にする。また、これをミニチュア化することにより携帯版の培養装置とすることができる。もちろん、手術によりこの装置を体内に埋め込むことも可能である。このためには、培養槽そのものが免疫拒絶反応を生じせしめないように、コラ-ゲンなどの塗膜にて覆うなどの工夫が必要となる。

20

#### 【0054】

<<実施形態8-2>>

#### 【0055】

実施形態8-2は、請求項8に対応する。実施形態8-2は、前記実施形態8-1と異なる形態のものである。この実施形態8-2は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、を有する細胞製造装置である。

30

#### 【0056】

図12は発明を実施する形態と作動の一例である。図12の12-2は、ES細胞培養槽である。ES細胞を増殖しつつ同時に造血幹細胞へと分化させる培養槽である。このために、ES細胞培養槽は、造血幹細胞培養槽と隣接してあり、細胞間での情報伝達が可能な形にしておく必要がある。ES細胞は固着細胞であるためにこの槽内に足場をつくっておく必要がある。図12の12-6は境界層であり、造血幹細胞とES細胞を区分する境界である。隔壁を設けることもできるが細胞が情報伝達をしたり行き来したりできるように開口部のある構造となる。また、ES細胞培養槽は、コラ-ゲン、ゼラチン、内皮細胞、もしくは異種あるいは同種のストロ-マ細胞などを基質として用いる。12-1にはこの基質が設置されており、ES細胞培養槽に隣接して設けられている。

40

図12の12-3は、造血幹細胞培養槽である。造血幹細胞を増殖しつつ同時に白血球へと分化させる培養槽である。このために、造血幹細胞培養槽は、前記のES細胞培養槽と隣接しているだけでなく、白血球培養槽とも隣接している必要がある。この実施形態ではES細胞が直接白血球に分化する場合は除外しており、ES細胞と白血球が直接隣接することはない。造血幹細胞培養槽は固着細胞である造血幹細胞と浮遊細胞である白血球の混合である。このために固着細胞についてはこの槽内に足場を作っておく必要がある。足場としては、マイクロキャリア-やホロファイバ-などがある。12-7は白血球培養槽との境界層であり、隔壁を設けることも可能である。この境界を通じて、造血幹細胞と白血

50

球が情報伝達できるようにしたり、造血幹細胞が浮遊細胞である白血球に分化した場合に自由に白血球培養槽に移動する。隔壁を設ける場合には、細胞間の情報伝達や移動ができるようにこの隔壁は開口部のある構造となる。また、これらの槽においては、請求項2に記述される分化を誘導したり逆に分化を抑制し増殖を刺激するサイトカインなどを溶液中に注入する。

【0057】

図12の12-4は、白血球培養槽である。隣接する造血幹細胞を分化させ生成された白血球を培養するための培養槽である。また、この白血球培養槽に特定の白血球に特異的なマ-カに結合する磁性化抗体をふりかけたのち、磁界をかけることによって選別するなどの作業を行う培養槽でもある。もちろん、選別のために作られた別の槽内で同様の操作により選別することも可能である。

10

こうして、抗原提示遺伝子を改変したES細胞を培養分化させ、前記抗原提示遺伝子を改変したES細胞を分化させて造血幹細胞を生成し培養し、さらに前記造血幹細胞から白血球生成分化させる培養装置が得られる。

【0058】

多層にすることによって、連続的な増殖、分化が可能であり、また隣接させることによって、細胞間の情報伝達を容易にしたり細胞自身の移動を容易にする。また、これをミニチュア化することにより携帯版の培養装置とすることができる。もちろん、手術によりこの装置を体内に埋め込むことも可能である。このためには、培養槽そのものが免疫拒絶反応を生じせしめないように、コラ-ゲンなどの塗膜にて覆うなどの工夫が必要となる。

20

【0059】

<<実施形態8-3>>

【0060】

実施形態8-3は、請求項8に対応する。実施形態8-3は、前記実施形態8-1、8-2と異なる形態である。この実施形態8-3は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、を有する細胞製造装置である。

【0061】

図13は発明を実施する形態と作動の一例である。ES細胞培養槽と造血幹細胞培養槽および基質および白血球培養槽からなる。白血球培養槽に特徴を有し、複数の白血球培養槽があり、それぞれの培養槽に異なるサイトカインを注入することにより白血球培養槽に単一の白血球だけが分化生成されるという特徴を有する細胞製造装置である。

30

【0062】

図13の13-1は、図12に示されるものの一部と同じ構成であり、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽および基質の部分からなる。図12における12-1及び12-2及び12-3が13-1に対応する部分である。あるいは、造血幹細胞培養槽13-2からのみなる。この部分では白血球に分化する前の細胞をあらかじめ別の場所で増殖させる。この13-1を図13のように隔壁13-3にて分割された白血球培養槽13-2に装着し、サイトカイン注入口13-4から、目的とする分化生成させたい白血球に対応するサイトカインを注入し、白血球培養槽13-2内にて目的とする白血球を入手することができる。たとえば、隔壁により分割された白血球培養室のうち、一番左側では、G-CSFなどを注入することによって好中球のみを得ることができ、隣接する白血球培養室ではM-CSFなどを注入することによりマクロファ-ジを得ることができる。また、こうして得られた白血球は、抽出口13-5を通じて抽出することができる。

40

【0063】

このような白血球培養槽は、室毎に品質管理ができるために、実施形態3から実施形態6までの管理を個別に行うことができる。この白血球培養室は単一もしくは複数の室から構成されていてもよい。

【0064】

白血球培養槽とそれ以外の培養槽を分割するメリットは、分化が主たる白血球培養槽と、増殖が主たるそれ以外の培養槽を分離することにより、品質管理が容易になることである

50

。

【0065】

&lt;&lt;実施形態9-1&gt;&gt;

【0066】

実施形態9-1は、請求項9に対応する。実施形態9-1は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、を有する細胞製造装置であり、特徴点は前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜を備える点をあげることができる。

図14は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態9-1に特徴的な前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜について説明する。

【0067】

図14の14-6が前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜の位置を表す。細胞が増殖するためには、足場が必要であり、また特有の培養条件が必要となる。この培養条件を満足させるために、各培養槽がある程度独立している必要があるこのために、実施形態8-1、実施形態8-2、実施形態8-3では隔壁を設けたが、特に、この隔壁において生体膜に似せて足場が作りやすい構造である場合には増殖が容易になる。またこの生体膜に細胞が通り抜けられるような開口部を設けることによって、分化した細胞が隣接する培養槽に移動することを容易にする。この擬似生体膜にはコラゲンを塗布したものがよく、また、それ以外にゼラチンなどを塗布することによって足場の作りやすい膜となり、隔壁となる。

10

【0068】

この膜を作ることを通じて、より生体内に近い環境を構築しようとするものである。

20

【0069】

&lt;&lt;実施形態9-2&gt;&gt;

【0070】

実施形態の9-2は、請求項9に対応する。実施形態9-1とは形態が異なる実施形態9-2について説明する。実施形態9-2は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、を有する細胞製造装置であり、特徴点は前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜を備える点をあげることができる。

【0071】

図15は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態9-2に特徴的な前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜について説明する。

30

【0072】

図15の15-6が前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜の位置を表す。細胞が増殖するためには、足場が必要であり、また特有の培養条件が必要となる。この培養条件を満足させるために、各培養槽がある程度独立している必要があるこのために、実施形態8-1、実施形態8-2、実施形態8-3では隔壁を設けたが、特に、この隔壁において生体膜に似せて足場が作りやすい構造である場合には増殖が容易になる。またこの生体膜に細胞が通り抜けられるような開口部を設けることによって、分化した細胞が隣接する培養槽に移動することを容易にする。この擬似生体膜にはコラゲンを塗布したものがよく、また、それ以外にゼラチンなどを塗布することによって足場の作りやすい膜となり、隔壁となる。このような円形の断面にして断面の直角方向を配管として構築すれば、酸素、栄養、老廃物、あるいはサイトカインなどの増殖因子や分化誘導因子などを流通させる合理的な培養槽の構造体として動作する。

40

このような生体膜を作るメリットは、より生体内の環境に近づけることができることである。

【0073】

&lt;&lt;実施形態10-1&gt;&gt;

【0074】

実施形態10-1は、請求項10に対応する。実施形態10-1は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬

50

似生体膜と、を有する細胞製造装置であり、特徴点は前記造血幹細胞培養槽と前記白血球培養槽とを区分する擬似生体膜を備える点をあげることができる。

【0075】

図16は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態10-1に特徴的な前記造血幹細胞培養槽と前記白血球培養槽とを区分する擬似生体膜について説明する。

【0076】

図16の16-7が前記造血幹細胞培養槽と前記白血球培養槽とを区分する擬似生体膜の位置を表す。細胞が増殖するためには、足場が必要であり、また特有の培養条件が必要となる。この培養条件を満足させるために、各培養槽がある程度独立している必要があるこのために、実施形態8-1、実施形態8-2、実施形態8-3では隔壁を設けたが、特に、この隔壁において生体膜に似せて足場が作りやすい構造である場合には増殖が容易になる。また、前記造血幹細胞から白血球に分化した場合には、細胞は浮遊細胞化するために、この生体膜に細胞が通り抜けられるような開口部を設けることによって、分化した細胞が隣接する培養槽に移動することを容易にする。この擬似生体膜にはコラ-ゲンを塗布したものがよく、また、それ以外にゼラチンなどを塗布することによって足場の作りやすい膜となり、隔壁となる。また、白血球を白血球培養槽に誘導するためには、サイトカインを白血球培養槽に注入すればよく、白血球を誘導する前記サイトカインには、G-CSF、M-CSF、GM-CSF、その他インタ-ロイキンなどがある。

10

【0077】

このような生体膜を作るメリットは、より生体内の環境に近づけることができることである。

20

【0078】

<<実施形態10-2>>

【0079】

実施形態10-2は、請求項10に対応する。また、実施形態10-1とは異なる形態である。実施形態10-2は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜と、を有する細胞製造装置であり、特徴点は前記造血幹細胞培養槽と前記白血球培養槽を区分する擬似生体膜、を備える点をあげることができる。

【0080】

図17は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態10-1に特徴的な前記造血幹細胞培養槽と前記白血球培養槽とを区分する擬似生体膜について説明する。

30

【0081】

図17の17-7が前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜の位置を表す。細胞が増殖するためには、足場が必要であり、また特有の培養条件が必要となる。この培養条件を満足させるために、各培養槽がある程度独立している必要があるこのために、実施形態8-1、実施形態8-2、実施形態8-3では隔壁を設けたが、特に、この隔壁において生体膜に似せて足場が作りやすい構造である場合には増殖が容易になる。また、前記造血幹細胞から白血球に分化した場合には、細胞は浮遊細胞化するために、この生体膜に細胞が通り抜けられるような開口部を設けることによって、分化した細胞が隣接する培養槽に移動することを容易にする。この擬似生体膜にはコラ-ゲンを塗布したものがよく、また、それ以外にゼラチンなどを塗布することによって足場の作りやすい膜となり、隔壁となる。また、白血球を白血球培養槽に誘導するためには、サイトカインを白血球培養槽に注入すればよく、白血球を誘導する前記サイトカインには、G-CSF、M-CSF、GM-CSF、その他インタ-ロイキンなどがある。このような円形の断面にして断面の直角方向を配管として構築すれば、酸素、栄養、老廃物、あるいはサイトカインなどの増殖因子や分化誘導因子などを流通させる合理的な培養槽の構造体として動作する。また、分化し浮遊細胞化した白血球を選別、抽出するためにはこのような管構造の培養槽は適している。このような生体膜を作るメリットは、より生体内の環境に近づけることができることである。

40

50

## 【 0 0 8 2 】

< < 実施形態 1 1 - 1 > >

## 【 0 0 8 3 】

実施形態の 1 1 - 1 は、請求項 1 1 に対応する。実施形態 1 1 は、E S 細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、を有する細胞製造装置であり、特徴点として、白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体を磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部、を備える点をあげることができる。

## 【 0 0 8 4 】

図 1 8 は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態 1 1 - 1 に特徴的な白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体を磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部、について説明する。

図 1 8 の 1 8 - 8 が白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、1 8 - 9 が前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部を表す。

## 【 0 0 8 5 】

このような構造により、磁性化抗体と白血球に関する操作を白血球培養槽とは別の部位で行うことができるために、白血球培養槽の温度を変えずに、白血球保持槽の昇温などの温度調整が個別にできるなどのメリットがある。

## 【 0 0 8 6 】

< < 実施形態 1 1 - 2 > >

## 【 0 0 8 7 】

実施形態の 1 1 - 2 は、請求項 1 1 に対応する。実施形態 1 1 - 1 と実施形態 1 1 - 2 は形態が異なる。実施形態 1 1 - 2 は、E S 細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、を有する細胞製造装置であり、特徴点として、白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体を磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部、を備える点をあげることができる。

## 【 0 0 8 8 】

図 1 9 は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態 1 1 - 2 に特徴的な白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体を磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部、について説明する。

## 【 0 0 8 9 】

図 1 9 の 1 9 - 8 が白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、1 9 - 9 が前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部を表す。

## 【 0 0 9 0 】

このような構造により、磁性化抗体と白血球に関する操作を白血球培養槽とは別の部位で行うことができるために、白血球培養槽の温度を変えずに、白血球保持槽の昇温などの温度調整が個別にできるなどのメリットがある。

## 【 0 0 9 1 】

< < 実施形態 1 1 - 3 > >

## 【 0 0 9 2 】

実施形態の 1 1 - 3 は、請求項 1 1 に対応する。実施形態 1 1 - 3 と実施形態 1 1 - 1 および実施形態 1 1 - 2 は形態が異なる。実施形態 1 1 - 3 は、E S 細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、を有する細胞製造装置であり、特徴点として、白血球培養槽

にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体を磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部、を備える点をあげることができる。

【0093】

図20は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態11-2に特徴的な白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体を磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部、について説明する。

【0094】

図20の20-6が白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、20-7が前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部を表す。実施形態11-3の場合は、白血球の分化を隔壁20-3で隔てられた白血球培養槽20-2のそれぞれにおいて異なる白血球が培養された場合においては、白血球保持槽は単一の白血球の出現頻度が高くなるために、治療に用いる目的とする白血球を取得する確率が高くなる。

【0095】

このような構造により、磁性化抗体と白血球に関する操作を白血球培養槽とは別の部位で行うことができるために、白血球培養槽の温度を変えずに、白血球保持槽の昇温などの温度調整が個別にできるなどのメリットがある。

【0096】

<<実施形態11-4>>

【0097】

実施形態の11-4は、請求項11に対応する。実施形態11-4は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜と、を有する細胞製造装置であり、特徴点として、白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部、を備える点をあげることができる。

【0098】

図21は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態11-4に特徴的な白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体を磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部、について説明する。

図21の21-8が白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、21-9が前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部を表す。

【0099】

このような構造により、磁性化抗体と白血球に関する操作を白血球培養槽とは別の部位で行うことができるために、白血球培養槽の温度を変えずに、白血球保持槽の昇温などの温度調整が個別にできるなどのメリットがある。

【0100】

<<実施形態11-5>>

【0101】

実施形態の11-5は、請求項11に対応する。実施形態11-5は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜と、を有する細胞製造装置であり、特徴点として、白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入する

ための磁性化抗体混入部、を備える点をあげることができる。

【0102】

図22は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態11-5に特徴的な白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ-カ-を目標として結合する抗体を磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部、について説明する。

【0103】

図22の22-8が白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、22-9が前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ-カ-を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部を表す。

10

【0104】

このような構造により、磁性化抗体と白血球に関する操作を白血球培養槽とは別の部位で行うことができるために、白血球培養槽の温度を変えずに、白血球保持槽の昇温などの温度調整が個別にできるなどのメリットがある。

【0105】

<<実施形態11-6>>

【0106】

実施形態の11-6は、請求項11に対応する。実施形態の11-6は、請求項11に対応する。実施形態11-6は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜と、を有する細胞製造装置であり、特徴点として、白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ-カ-を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部、を備える点をあげることができる。

20

【0107】

図23は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態11-6に特徴的な白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ-カ-を目標として結合する抗体を磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部、について説明する。

30

【0108】

図23の23-6が白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、23-7が前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ-カ-を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部を表す。実施形態11-3の場合は、白血球の分化を隔壁23-3で隔てられた白血球培養槽23-2のそれぞれにおいて異なる白血球が培養された場合においては、白血球保持槽は単一の白血球の出現頻度が高くなるために、治療に用いる目的とする白血球を取得する確率が高くなる。

【0109】

このような構造により、磁性化抗体と白血球に関する操作を白血球培養槽とは別の部位で行うことができるために、白血球培養槽の温度を変えずに、白血球保持槽の昇温などの温度調整が個別にできるなどのメリットがある。

40

【0110】

<<実施形態11-7>>

【0111】

実施形態の11-7は、請求項11に対応する。実施形態の11-7は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜と、前記造血幹細胞培養槽と前記白血球培養槽を区分する擬似生体膜と、を有する細胞製造装置であり、特徴点として、白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ-カ-

50

を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部と、を備える点をあげることができる。

【0112】

図24は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態11-7に特徴的な白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ-カ-を目標として結合する抗体を磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部、について説明する。

【0113】

図24の24-8が白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、24-9が前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ-カ-を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部を表す。

10

【0114】

このような構造により、磁性化抗体と白血球に関する操作を白血球培養槽とは別の部位で行うことができるために、白血球培養槽の温度を変えずに、白血球保持槽の昇温などの温度調整が個別にできるなどのメリットがある。

【0115】

<<実施形態11-8>>

【0116】

実施形態の11-8は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜と、前記造血幹細胞培養槽と前記白血球培養槽を区分する擬似生体膜と、を有する細胞製造装置であり、特徴点として、白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ-カ-を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部と、を備える点をあげることができる。

20

【0117】

図25は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態11-8に特徴的な白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ-カ-を目標として結合する抗体を磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部、について説明する。

30

【0118】

図25の25-8が白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、25-9が前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ-カ-を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部を表す。

【0119】

このような構造により、磁性化抗体と白血球に関する操作を白血球培養槽とは別の部位で行うことができるために、白血球培養槽の温度を変えずに、白血球保持槽の昇温などの温度調整が個別にできるなどのメリットがある。

【0120】

<<実施形態11-9>>

【0121】

実施形態の11-9は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜と、前記造血幹細胞培養槽と前記白血球培養槽を区分する擬似生体膜と、を有する細胞製造装置であり、特徴点として、白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ-カ-を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部と、を備える点をあげることができる。

40

【0122】

図26は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態11-9に特徴的

50



な白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体を磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部、について説明する。

【0123】

図26の26-6が白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、26-7が前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部を表す。実施形態11-3の場合は、白血球の分化を隔壁26-3で隔てられた白血球培養槽26-2のそれぞれにおいて異なる白血球が培養された場合においては、白血球保持槽は単一の白血球の出現頻度が高くなるために、治療に用いる目的とする白血球を取得する確率が高くなる。

10

【0124】

このような構造により、磁性化抗体と白血球に関する操作を白血球培養槽とは別の部位で行うことができるために、白血球培養槽の温度を変えずに、白血球保持槽の昇温などの温度調整が個別にできるなどのメリットがある。

【0125】

<<実施形態12-1>>

【0126】

実施形態の12-1は、請求項12に対応する。実施形態12-1は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部とを有する細胞製造装置であり、特徴点として、前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、を備えることをあげることができる。

20

【0127】

図27は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態12-1に特徴的な前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、について説明する。

【0128】

図27の27-11が前記白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽27-8に隣接した白血球抽出部であり、磁界を与えることのできる電磁石あるいは、取り付け取り外しが可能な永久磁石が備え付けられる槽27-10になっており、磁界を発生させることにより磁性抗体と結合した白血球がこの槽に誘引される。

30

【0129】

このように磁界を与える槽を白血球保持槽とは異なる別の槽にすることにより、磁界に誘引され槽内壁面に磁力にて付着した磁性化抗体と、これに結合する白血球を分離し、治療に必要な白血球のみを効率的に取得できるというメリットがある。

【0130】

<<実施形態12-2>>

【0131】

実施形態の12-2は、請求項12に対応する。実施形態の12-2は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部とを有する細胞製造装置であり、特徴点として、前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、を備えることをあげることができる。

40

【0132】

図28は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態12-2に特徴的

50

な前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、について説明する。

【0133】

図28の28-11が前記白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽28-8に隣接した白血球抽出部であり、磁界を与えることのできる電磁石あるいは、取り付け取り外しが可能な永久磁石が備え付けられる槽28-10になっており、磁界を発生させることにより磁性抗体と結合した白血球がこの槽に誘引される。

【0134】

このように磁界を与える槽を白血球保持槽とは異なる別の槽にすることにより、磁界に誘引され槽内壁面に磁力にて付着した磁性抗体と、これに結合する白血球を分離し、治療に必要な白血球のみを効率的に取得できるというメリットがある。 10

【0135】

<<実施形態12-3>>

【0136】

実施形態の12-3は、請求項12に対応する。実施形態の12-3は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ-カ-を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性抗体を混入するための磁性抗体混入部、を有する細胞製造装置であり、特徴点として、前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、を備えることをあげることができる。 20

【0137】

図29は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態12-3に特徴的な前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、について説明する。

図29の29-8が前記白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽29-6に隣接した白血球抽出部であり、磁界を与えることのできる電磁石あるいは、取り付け取り外しが可能な永久磁石が備え付けられる槽29-8になっており、磁界を発生させることにより磁性抗体と結合した白血球がこの槽に誘引される。

【0138】

このように磁界を与える槽を白血球保持槽とは異なる別の槽にすることにより、磁界に誘引され槽内壁面に磁力にて付着した磁性抗体と、これに結合する白血球を分離し、治療に必要な白血球のみを効率的に取得できるというメリットがある。 30

【0139】

<<実施形態12-4>>

【0140】

実施形態の12-4は、請求項12に対応する。実施形態の12-4は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜と、白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ-カ-を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性抗体を混入するための磁性抗体混入部、を有する細胞製造装置であり、特徴点として、前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、を備える点をあげることができる。 40

【0141】

図30は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態12-4に特徴的な前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、について説明する。

【0142】

図30の30-11が前記白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽30-8に隣接した白血球抽出部であり、磁界を与えることのできる電磁石ある 50

いは、取り付け取り外しが可能な永久磁石が備え付けられる槽 30 - 10 になっており、磁界を発生させることにより磁性抗体と結合した白血球がこの槽に誘引される。

【0143】

このように磁界を与える槽を白血球保持槽とは異なる別の槽にすることにより、磁界に誘引され槽内壁面に磁力にて付着した磁性化抗体と、これに結合する白血球を分離し、治療に必要な白血球のみを効率的に取得できるというメリットがある。

【0144】

<<実施形態 12 - 5 >>

【0145】

実施形態の 12 - 5 は、請求項 12 に対応する。実施形態の 12 - 5 は、ES 細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、前記 ES 細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜と、白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部、を有する細胞製造装置であり、特徴点として、前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、を備える点をあげることができる。

【0146】

図 31 は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態 12 - 5 に特徴的な前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、について説明する。

【0147】

図 31 の 31 - 11 が前記白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽 31 - 8 に隣接した白血球抽出部であり、磁界を与えることのできる電磁石あるいは、取り付け取り外しが可能な永久磁石が備え付けられる槽 31 - 10 になっており、磁界を発生させることにより磁性抗体と結合した白血球がこの槽に誘引される。

【0148】

このように磁界を与える槽を白血球保持槽とは異なる別の槽にすることにより、磁界に誘引され槽内壁面に磁力にて付着した磁性化抗体と、これに結合する白血球を分離し、治療に必要な白血球のみを効率的に取得できるというメリットがある。

【0149】

<<実施形態 12 - 6 >>

【0150】

実施形態の 12 - 6 は、請求項 12 に対応する。実施形態の 12 - 6 は、ES 細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、前記 ES 細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜と、白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部、を有する細胞製造装置であり、特徴点として、前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、を備える点をあげることができる。

【0151】

図 32 は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態 12 - 6 に特徴的な前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、について説明する。

図 32 の 32 - 8 が前記白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽 32 - 6 に隣接した白血球抽出部であり、磁界を与えることのできる電磁石あるいは、取り付け取り外しが可能な永久磁石が備え付けられる槽 32 - 8 になっており、磁界を発生させることにより磁性抗体と結合した白血球がこの槽に誘引される。

【0152】

このように磁界を与える槽を白血球保持槽とは異なる別の槽にすることにより、磁界に誘引され槽内壁面に磁力にて付着した磁性化抗体と、これに結合する白血球を分離

し、治療に必要な白血球のみを効率的に取得できるというメリットがある。

【0153】

<<実施形態12-7>>

【0154】

実施形態の12-7は、請求項12に対応する。実施形態の12-7は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜と、前記造血幹細胞培養槽と前記白血球培養槽を区分する擬似生体膜と、白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ-カ-を目標として結合する抗体を磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部と、を有する細胞製造装置であり、特徴点として、前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、をさらに有する。

10

【0155】

図33は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態12-7に特徴的な前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、について説明する。

【0156】

図33の33-11が前記白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽33-8に隣接した白血球抽出部であり、磁界を与えることのできる電磁石あるいは、取り付け取り外しが可能な永久磁石が備え付けられる槽33-10になっており、磁界を発生させることにより磁性抗体と結合した白血球がこの槽に誘引される。

20

【0157】

このように磁界を与える槽を白血球保持槽とは異なる別の槽にすることにより、磁界に誘引され槽内壁面に磁力にて付着した磁性化抗体と、これに結合する白血球を分離し、治療に必要な白血球のみを効率的に取得できるというメリットがある。

【0158】

<<実施形態12-8>>

【0159】

実施形態の12-8は、請求項12に対応する。実施形態の12-8は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜と、前記造血幹細胞培養槽と前記白血球培養槽を区分する擬似生体膜と、白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ-カ-を目標として結合する抗体を磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部と、を有する細胞製造装置であり、特徴点として、前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、をさらに有する。

30

【0160】

図34は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態12-8に特徴的な前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、について説明する。

40

【0161】

図34の34-11が前記白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽34-8に隣接した白血球抽出部であり、磁界を与えることのできる電磁石あるいは、取り付け取り外しが可能な永久磁石が備え付けられる槽34-10になっており、磁界を発生させることにより磁性抗体と結合した白血球がこの槽に誘引される。

【0162】

このように磁界を与える槽を白血球保持槽とは異なる別の槽にすることにより、磁界に誘引され槽内壁面に磁力にて付着した磁性化抗体と、これに結合する白血球を分離し、治療に必要な白血球のみを効率的に取得できるというメリットがある。

【0163】

50

## &lt;&lt; 実施形態 12 - 9 &gt;&gt;

## 【0164】

実施形態の12 - 9は、請求項12に対応する。実施形態の12 - 9は、ES細胞培養槽、造血幹細胞培養槽、白血球培養槽と、前記ES細胞槽と前記造血幹細胞培養槽を区分する擬似生体膜と、前記造血幹細胞培養槽と前記白血球培養槽を区分する擬似生体膜と、白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽と、前記白血球保持槽にその白血球保持槽の白血球のマ - カ - を目標として結合する抗体を磁性化したものである磁性化抗体を混入するための磁性化抗体混入部と、を有する細胞製造装置であり、特徴点として、前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、をさらに有する。

10

## 【0165】

図35は発明を実施する形態と作動の一例である。ここでは、実施形態12 - 9に特徴的な前記磁性抗体混入部にて混入された磁性抗体と結合した白血球を磁界を利用して抽出する白血球抽出部、について説明する。

## 【0166】

図35の35 - 9が前記白血球培養槽にて培養された白血球を取り出して保持する白血球保持槽35 - 6に隣接した白血球抽出部であり、磁界を与えることのできる電磁石あるいは、取り付け取り外しが可能な永久磁石が備え付けられる槽35 - 9になっており、磁界を発生させることにより磁性抗体と結合した白血球がこの槽に誘引される。

## 【0167】

このように磁界を与える槽を白血球保持槽とは異なる別の槽にすることにより、磁界に誘引され槽内壁面に磁力にて付着した磁性化抗体と、これに結合する白血球を分離し、治療に必要な白血球のみを効率的に取得できるというメリットがある。

20

## 【0168】

## &lt;&lt; 実施形態 13 &gt;&gt;

## 【0169】

実施形態の13は、請求項13に対応する。実施形態13は、ES細胞取得ステップと、抗原提示遺伝子改変ステップと、改変後ES細胞培養分化ステップと、白血球分化ステップと、白血球選別ステップと、輸血するステップと、を有する体外白血球を利用した治療方法である。

30

## 【0170】

図36は発明を実施する形態と作動の一例である。

図36の36 - 1のES細胞取得ステップとは、霊長類の胚盤胞内から内部細胞塊を取り出してこの内部細胞塊を培養してES細胞を取得するステップである。

## 【0171】

図36の36 - 2の抗原提示遺伝子改変ステップとは、自己を提示する抗原に関わる遺伝子に関して、その部分もしくは全部を改変するものであり、この改変においてHLAと呼ばれる遺伝子群もしくは、これを含む染色体を、移植もしくは輸血の対象となる患者に適合する遺伝子に改変するステップである。この改変には、遺伝子が発現出来ないようにするために遺伝子を発現を制御する部位を改変するという操作も含まれている。この遺伝子改変の方法には、エレクトロポ - レーションにより直接遺伝子を組み込む方法やレトロウイルスベクター - を用いて逆転写することにより遺伝子を組み込む方法などがある。

40

## 【0172】

図36の36 - 3の改変後ES細胞培養分化ステップとは、前記の抗原提示遺伝子が改変されたES細胞を培養し、造血幹細胞に分化させるステップである。霊長類の場合では、ES細胞はさまざまな臓器の細胞になりえる多分化能を有しているが、一般的に造血系細胞に分化しやすいという特性を有しており、通常の培養条件下では容易に造血系細胞に分化する。このステップにおける特徴点は、培養するために内皮細胞上にて培養する、ことをあげることができる。

## 【0173】

50

図36の36-4の白血球分化ステップとは、前記の造血幹細胞を培養し白血球に分化させるステップである。一般的には図2に示すような白血球と呼ばれる樹状細胞2-2、T細胞2-3、B細胞2-4、形質細胞2-5、NK細胞2-6、肥満細胞2-7、好塩基球2-8、好酸球2-9、マクロファージ2-10、破骨細胞2-11、好中球2-12に分化させる場合に、サイトカインを注入する方が良い。例えば、図2に示す造血幹細胞2-1から好中球2-12へ分化させるためには、SCF, G-CSF, IL-6, TPO, FLT3 ligand, IL-11などのサイトカインを用いて、顆粒球マクロファージ系前駆細胞まで分化させ、G-CSF 2-16と呼ばれるサイトカインを注入することにより好中球2-12へ分化させることができる。

【0174】

10

図36の36-5の白血球選別ステップとは、前期の造血幹細胞から分化生成された白血球のマカを利用して白血球を選別するステップである。たとえば、マクロファージであればマクロファージに特異的なマカであるmac-1に結合するanti-mac-1を磁性化抗体として作り上げて、この磁性化抗体がマクロファージに結合したあとに磁界を用いればマクロファージに分化したのだけを選別することができる。

【0175】

図36の36-6は、輸血ステップである。前記白血球選別ステップにて選別された白血球を前記生体に輸血するステップである。ただし、抗原提示遺伝子の改変を通じて、前記生体だけでなく、前記とは異なる生体に輸血することも可能となる。

【0176】

20

このような治療方法により、免疫的に拒絶反応が生じないような輸血が可能になる。

【0177】

尚、これまであげた本発明の造血幹細胞と白血球をES細胞から生成させる培養方法と装置は、上述の図示例にのみ限定されるものではなく、本発明の要旨を逸脱しない範囲内において種々変更を加え得ることは勿論である。

【0178】

【発明の効果】

以上、説明したように本発明の請求項1~13記載の方法および装置によれば、(1) 遺伝子を改変したES細胞から採取した造血幹細胞を、感染症の原因となるウイルスなどから守られた衛生的に十分管理された工場生産の体制により製作することによって移植される患者を感染症から守るとともに、拒絶反応の観点から患者に適合性のよい遺伝子を有する造血幹細胞を製作し、これを患者に移植することによって、移植における拒絶反応という課題を解決することができる、

30

(2) さらに、遺伝子改変されて患者との適合性がよい白血球であれば、患者に対して輸血を実施しても拒絶反応を起こすことなく、白血球自身が有する免疫抵抗力を付与することができる、などのという優れた効果を奏し得る。

【0179】

【図面の簡単な説明】

【図1】実施形態1のフローの一例を示す図

【図2】造血幹細胞から白血球への分化の図

40

【図3】実施形態2のフローの一例を示す図

【図4】実施形態3のフローの一例を示す図

【図5】実施形態4-1のフローの一例を示す図

【図6】実施形態4-2のフローの一例を示す図

【図7】実施形態5のフローの一例を示す図

【図8】実施形態6-1のフローの一例を示す図

【図9】実施形態6-2のフローの一例を示す図

【図10】実施形態7のフローの一例を示す図

【図11】実施形態8-1の構成の一例を示す図

【図12】実施形態8-2の構成の一例を示す図

50

【図 1 3】	実施形態 8 - 3 の構成の一例を示す図	
【図 1 4】	実施形態 9 - 1 の構成の一例を示す図	
【図 1 5】	実施形態 9 - 2 の構成の一例を示す図	
【図 1 6】	実施形態 10 - 1 の構成の一例を示す図	
【図 1 7】	実施形態 10 - 2 の構成の一例を示す図	
【図 1 8】	実施形態 11 - 1 の構成の一例を示す図	
【図 1 9】	実施形態 11 - 2 の構成の一例を示す図	
【図 2 0】	実施形態 11 - 3 の構成の一例を示す図	
【図 2 1】	実施形態 11 - 4 の構成の一例を示す図	
【図 2 2】	実施形態 11 - 5 の構成の一例を示す図	10
【図 2 3】	実施形態 11 - 6 の構成の一例を示す図	
【図 2 4】	実施形態 11 - 7 の構成の一例を示す図	
【図 2 5】	実施形態 11 - 8 の構成の一例を示す図	
【図 2 6】	実施形態 11 - 9 の構成の一例を示す図	
【図 2 7】	実施形態 12 - 1 の構成の一例を示す図	
【図 2 8】	実施形態 12 - 2 の構成の一例を示す図	
【図 2 9】	実施形態 12 - 3 の構成の一例を示す図	
【図 3 0】	実施形態 12 - 4 の構成の一例を示す図	
【図 3 1】	実施形態 12 - 5 の構成の一例を示す図	
【図 3 2】	実施形態 12 - 6 の構成の一例を示す図	20
【図 3 3】	実施形態 12 - 7 の構成の一例を示す図	
【図 3 4】	実施形態 12 - 8 の構成の一例を示す図	
【図 3 5】	実施形態 12 - 9 の構成の一例を示す図	
【図 3 6】	実施形態 13 のフローの一例を示す図	
【符号の説明】		
1 - 1	E S 細胞取得ステップ	
1 - 2	抗原提示遺伝子改変ステップ	
1 - 3	改変後 E S 細胞培養分化ステップ	
1 - 4	白血球分化ステップ	
1 - 5	白血球選別ステップ	30
2 - 1	造血幹細胞	
2 - 2	樹状細胞	
2 - 3	T 細胞	
2 - 4	B 細胞	
2 - 5	形質細胞	
2 - 6	N K 細胞	
2 - 7	肥満細胞	
2 - 8	好塩基球	
2 - 9	好酸球	
2 - 10	マクロファージ	40
2 - 11	破骨細胞	
2 - 12	好中球	
2 - 13	骨髄系幹細胞	
2 - 14	顆粒球マクロファージ系前駆細胞	
2 - 15	好中球前駆細胞	
2 - 16	G - C S F	
3 - 1	E S 細胞取得ステップ	
3 - 2	抗原提示遺伝子改変ステップ	
3 - 3	改変後 E S 細胞培養分化ステップ	
3 - 4	サイトカイン注入ステップ	50

3 - 5	白血球分化ステップ	
3 - 6	白血球選別ステップ	
4 - 1	E S 細胞取得ステップ	
4 - 2	抗原提示遺伝子改変ステップ	
4 - 3	改変後 E S 細胞培養分化ステップ	
4 - 4	白血球分化ステップ	
4 - 5	磁性抗体結合ステップ	
4 - 6	抽出ステップ	
4 - 7	抗体除去ステップ	
5 - 1	E S 細胞取得ステップ	10
5 - 2	抗原提示遺伝子改変ステップ	
5 - 3	改変後 E S 細胞培養分化ステップ	
5 - 4	サイトカイン注入ステップ	
5 - 5	白血球分化ステップ	
5 - 6	白血球選別ステップ	
5 - 7	昇温ステップ	
6 - 1	E S 細胞取得ステップ	
6 - 2	抗原提示遺伝子改変ステップ	
6 - 3	改変後 E S 細胞培養分化ステップ	
6 - 4	白血球分化ステップ	20
6 - 5	磁性抗体結合ステップ	
6 - 6	抽出ステップ	
6 - 7	昇温ステップ	
6 - 8	抗体除去ステップ	
7 - 1	E S 細胞取得ステップ	
7 - 2	抗原提示遺伝子改変ステップ	
7 - 3	改変後 E S 細胞培養分化ステップ	
7 - 4	白血球分化ステップ	
7 - 5	磁性抗体結合ステップ	
7 - 6	抽出ステップ	30
7 - 7	抗体除去ステップ	
8 - 1	E S 細胞取得ステップ	
8 - 2	抗原提示遺伝子改変ステップ	
8 - 3	改変後 E S 細胞培養分化ステップ	
8 - 4	サイトカイン注入ステップ	
8 - 5	白血球分化ステップ	
8 - 6	白血球選別ステップ	
8 - 7	昇温ステップ	
9 - 1	E S 細胞取得ステップ	
9 - 2	抗原提示遺伝子改変ステップ	40
9 - 3	改変後 E S 細胞培養分化ステップ	
9 - 4	白血球分化ステップ	
9 - 5	磁性抗体結合ステップ	
9 - 6	抽出ステップ	
9 - 7	昇温ステップ	
9 - 8	抗体除去ステップ	
10 - 1	E S 細胞取得ステップ	
10 - 2	抗原提示遺伝子改変ステップ	
10 - 3	白血球分化ステップ	
10 - 4	白血球選別ステップ	50



1 1 - 1	基質	
1 1 - 2	E S 細胞培養槽	
1 1 - 3	造血幹細胞培養槽	
1 1 - 4	白血球培養槽	
1 1 - 5	隔壁	
1 1 - 6	隔壁	
1 1 - 7	隔壁	
1 2 - 1	基質	
1 2 - 2	E S 細胞培養槽	
1 2 - 3	造血幹細胞培養槽	10
1 2 - 4	白血球培養槽	
1 2 - 5	隔壁	
1 2 - 6	隔壁	
1 2 - 7	隔壁	
1 3 - 1	幹細胞供給槽	
1 3 - 2	白血球培養槽	
1 3 - 3	隔壁	
1 3 - 4	サイトカイン注入口	
1 3 - 5	白血球抽出口	
1 4 - 1	基質	20
1 4 - 2	E S 細胞培養槽	
1 4 - 3	造血幹細胞培養槽	
1 4 - 4	白血球培養槽	
1 4 - 5	隔壁	
1 4 - 6	擬似生体膜	
1 4 - 7	隔壁	
1 5 - 1	基質	
1 5 - 2	E S 細胞培養槽	
1 5 - 3	造血幹細胞培養槽	
1 5 - 4	白血球培養槽	30
1 5 - 5	隔壁	
1 5 - 6	擬似生体膜	
1 5 - 7	隔壁	
1 6 - 1	基質	
1 6 - 2	E S 細胞培養槽	
1 6 - 3	造血幹細胞培養槽	
1 6 - 4	白血球培養槽	
1 6 - 5	隔壁	
1 6 - 6	擬似生体膜	
1 6 - 7	擬似生体膜	40
1 7 - 1	基質	
1 7 - 2	E S 細胞培養槽	
1 7 - 3	造血幹細胞培養槽	
1 7 - 4	白血球培養槽	
1 7 - 5	隔壁	
1 7 - 6	擬似生体膜	
1 7 - 7	擬似生体膜	
1 8 - 1	基質	
1 8 - 2	E S 細胞培養槽	
1 8 - 3	造血幹細胞培養槽	50

1 8 - 4	白血球培養槽	
1 8 - 5	隔壁	
1 8 - 6	隔壁	
1 8 - 7	隔壁	
1 8 - 8	白血球保持槽	
1 8 - 9	磁性化抗体混入部	
1 9 - 1	基質	
1 9 - 2	E S 細胞培養槽	
1 9 - 3	造血幹細胞培養槽	
1 9 - 4	白血球培養槽	10
1 9 - 5	隔壁	
1 9 - 6	隔壁	
1 9 - 7	隔壁	
1 9 - 8	白血球保持槽	
1 9 - 9	磁性化抗体混入部	
2 0 - 1	幹細胞供給槽	
2 0 - 2	白血球培養槽	
2 0 - 3	隔壁	
2 0 - 4	サイトカイン注入口	
2 0 - 5	白血球抽出口	20
2 0 - 6	白血球保持槽	
2 0 - 7	磁性化抗体混入部	
2 1 - 1	基質	
2 1 - 2	E S 細胞培養槽	
2 1 - 3	造血幹細胞培養槽	
2 1 - 4	白血球培養槽	
2 1 - 5	隔壁	
2 1 - 6	擬似生体膜	
2 1 - 7	隔壁	
2 1 - 8	白血球保持槽	30
2 1 - 9	磁性化抗体混入部	
2 2 - 1	基質	
2 2 - 2	E S 細胞培養槽	
2 2 - 3	造血幹細胞培養槽	
2 2 - 4	白血球培養槽	
2 2 - 5	隔壁	
2 2 - 6	擬似生体膜	
2 2 - 7	隔壁	
2 2 - 8	白血球保持槽	
2 2 - 9	磁性化抗体混入部	40
2 3 - 1	幹細胞供給槽	
2 3 - 2	白血球培養槽	
2 3 - 3	隔壁	
2 3 - 4	サイトカイン注入口	
2 3 - 5	白血球抽出口	
2 3 - 6	白血球保持槽	
2 3 - 7	磁性化抗体混入部	
2 4 - 1	基質	
2 4 - 2	E S 細胞培養槽	
2 4 - 3	造血幹細胞培養槽	50

2 4 - 4	白血球培養槽	
2 4 - 5	隔壁	
2 4 - 6	擬似生体膜	
2 4 - 7	擬似生体膜	
2 4 - 8	白血球保持槽	
2 4 - 9	磁性化抗体混入部	
2 5 - 1	基質	
2 5 - 2	E S 細胞培養槽	
2 5 - 3	造血幹細胞培養槽	
2 5 - 4	白血球培養槽	10
2 5 - 5	隔壁	
2 5 - 6	擬似生体膜	
2 5 - 7	擬似生体膜	
2 5 - 8	白血球保持槽	
2 5 - 9	磁性化抗体混入部	
2 6 - 1	幹細胞供給槽	
2 6 - 2	白血球培養槽	
2 6 - 3	隔壁	
2 6 - 4	サイトカイン注入口	
2 6 - 5	白血球抽出口	20
2 6 - 6	白血球保持槽	
2 6 - 7	磁性化抗体混入部	
2 7 - 1	基質	
2 7 - 2	E S 細胞培養槽	
2 7 - 3	造血幹細胞培養槽	
2 7 - 4	白血球培養槽	
2 7 - 5	隔壁	
2 7 - 6	隔壁	
2 7 - 7	隔壁	
2 7 - 8	白血球保持槽	30
2 7 - 9	磁性化抗体混入部	
2 7 - 1 0	磁石設置箇所	
2 7 - 1 1	白血球抽出部	
2 8 - 1	基質	
2 8 - 2	E S 細胞培養槽	
2 8 - 3	造血幹細胞培養槽	
2 8 - 4	白血球培養槽	
2 8 - 5	隔壁	
2 8 - 6	隔壁	
2 8 - 7	隔壁	40
2 8 - 8	白血球保持槽	
2 8 - 9	磁性化抗体混入部	
2 8 - 1 0	磁石設置箇所	
2 8 - 1 1	白血球抽出部	
2 9 - 1	幹細胞供給槽	
2 9 - 2	白血球培養槽	
2 9 - 3	隔壁	
2 9 - 4	サイトカイン注入口	
2 9 - 5	白血球抽出口	
2 9 - 6	白血球保持槽	50

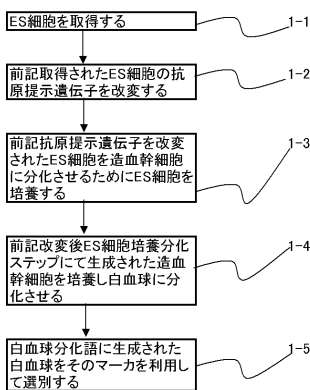
2 9 - 7	磁性化抗体混入	
2 9 - 8	磁石設置箇所	
2 9 - 9	白血球抽出部	
3 0 - 1	基質	
3 0 - 2	E S 細胞培養槽	
3 0 - 3	造血幹細胞培養槽	
3 0 - 4	白血球培養槽	
3 0 - 5	隔壁	
3 0 - 6	擬似生体膜	
3 0 - 7	隔壁	10
3 0 - 8	白血球保持槽	
3 0 - 9	磁性化抗体混入部	
3 0 - 1 0	磁石設置箇所	
3 0 - 1 1	白血球抽出部	
3 1 - 1	基質	
3 1 - 2	E S 細胞培養槽	
3 1 - 3	造血幹細胞培養槽	
3 1 - 4	白血球培養槽	
3 1 - 5	隔壁	
3 1 - 6	擬似生体膜	20
3 1 - 7	隔壁	
3 1 - 8	白血球保持槽	
3 1 - 9	磁性化抗体混入部	
3 1 - 1 0	磁石設置箇所	
3 1 - 1 1	白血球抽出部	
3 2 - 1	幹細胞供給槽	
3 2 - 2	白血球培養槽	
3 2 - 3	隔壁	
3 2 - 4	サイトカイン注入口	
3 2 - 5	白血球抽出口	30
3 2 - 6	白血球保持槽	
3 2 - 7	磁性化抗体混入部	
3 2 - 8	磁石設置箇所	
3 2 - 9	白血球抽出部	
3 3 - 1	基質	
3 3 - 2	E S 細胞培養槽	
3 3 - 3	造血幹細胞培養槽	
3 3 - 4	白血球培養槽	
3 3 - 5	隔壁	
3 3 - 6	擬似生体膜	40
3 3 - 7	擬似生体膜	
3 3 - 8	白血球保持槽	
3 3 - 9	磁性化抗体混入部	
3 3 - 1 0	磁石設置箇所	
3 3 - 1 1	白血球抽出部	
3 4 - 1	基質	
3 4 - 2	E S 細胞培養槽	
3 4 - 3	造血幹細胞培養槽	
3 4 - 4	白血球培養槽	
3 4 - 5	隔壁	50

- 3 4 - 6 擬似生体膜
- 3 4 - 7 擬似生体膜
- 3 4 - 8 白血球保持槽
- 3 4 - 9 磁性化抗体混入部
- 3 4 - 1 0 磁石設置箇所
- 3 4 - 1 1 白血球抽出部
- 3 5 - 1 幹細胞供給槽
- 3 5 - 2 白血球培養槽
- 3 5 - 3 隔壁
- 3 5 - 4 サイトカイン注入口
- 3 5 - 5 白血球抽出口
- 3 5 - 6 白血球保持槽
- 3 5 - 7 磁性化抗体混入部
- 3 5 - 8 磁石設置箇所
- 3 5 - 9 白血球抽出部
- 3 6 - 1 E S 細胞取得ステップ
- 3 6 - 2 抗原提示遺伝子改変ステップ
- 3 6 - 3 改変後 E S 細胞培養分化ステップ
- 3 6 - 4 白血球分化ステップ
- 3 6 - 5 白血球選別ステップ
- 3 6 - 6 輸血ステップ

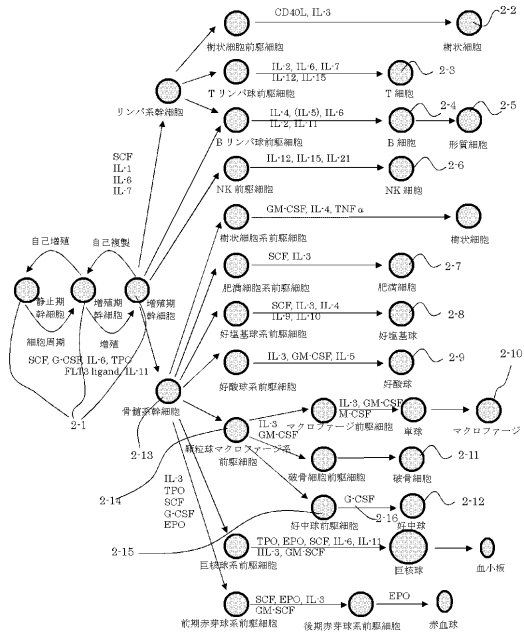
10

20

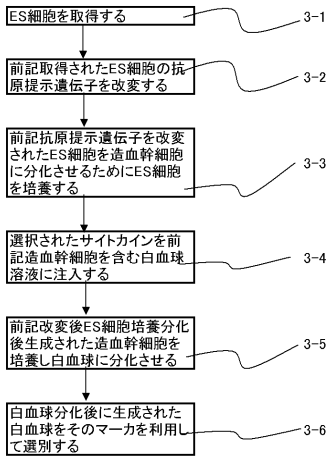
【 図 1 】



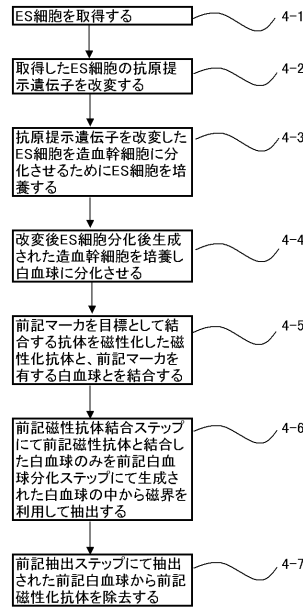
【 図 2 】



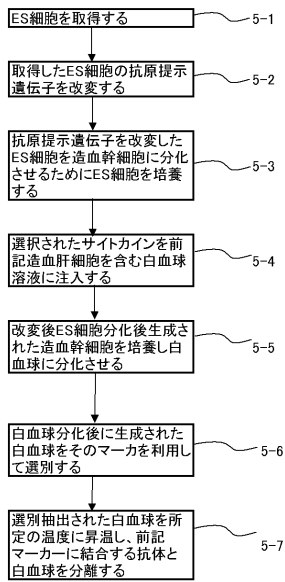
【 図 3 】



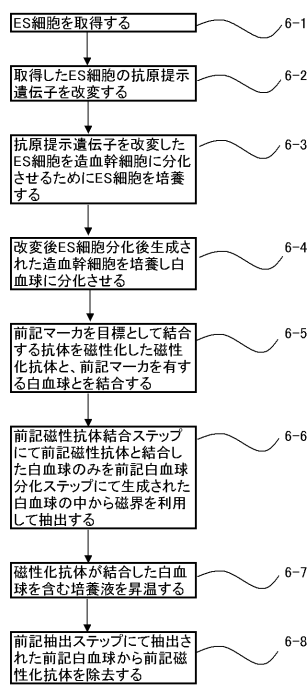
【 図 4 】



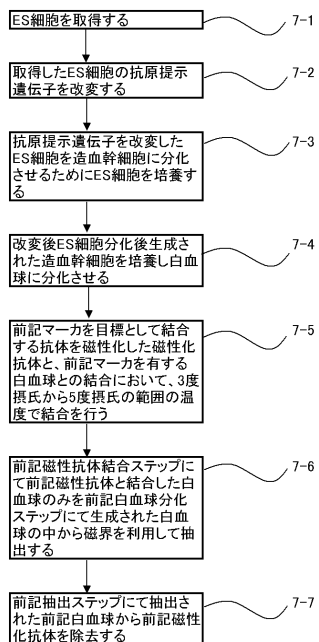
【 図 5 】



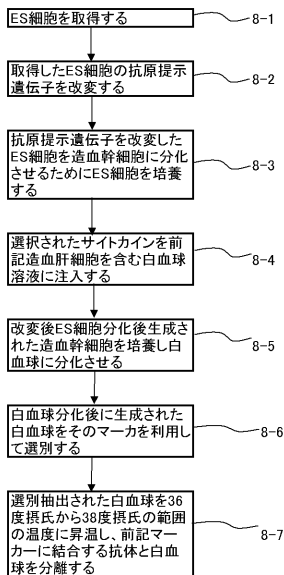
【 図 6 】



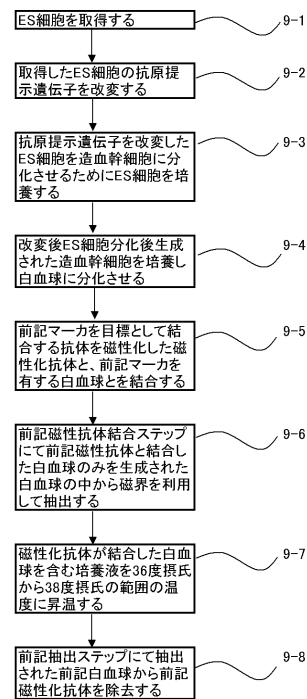
【 図 7 】



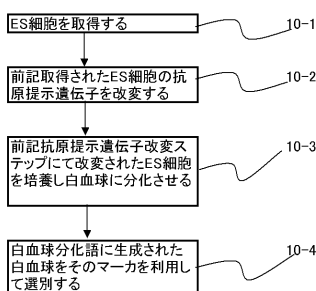
【 図 8 】



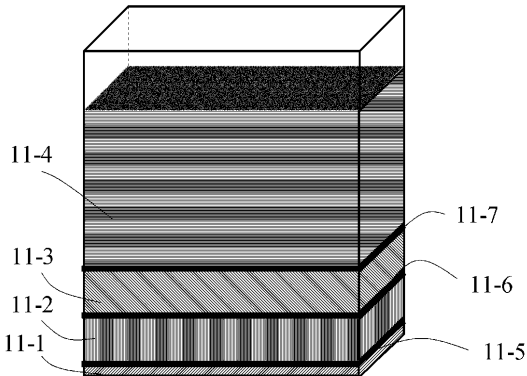
【 図 9 】



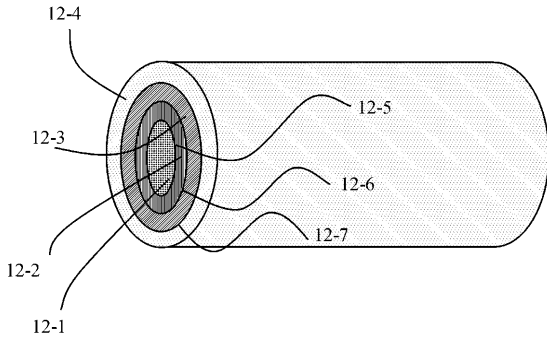
【 図 10 】



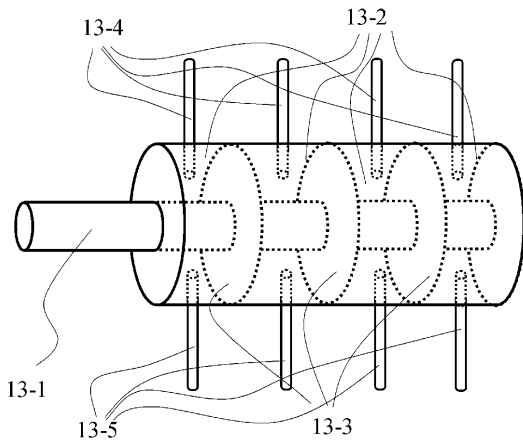
【 図 11 】



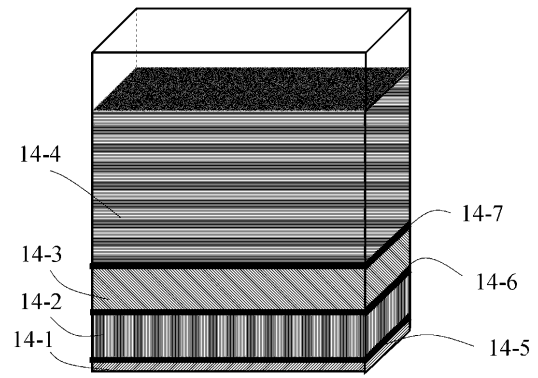
【 図 1 2 】



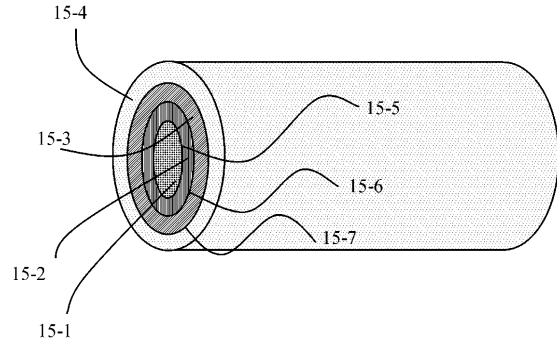
【 図 1 3 】



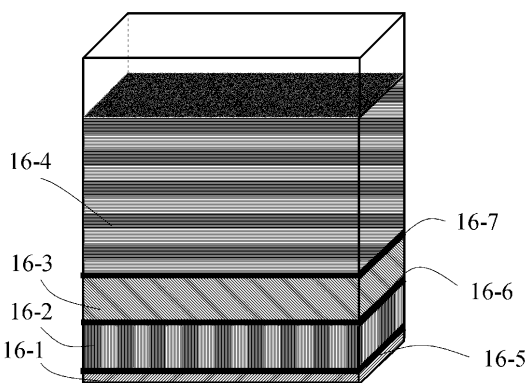
【 図 1 4 】



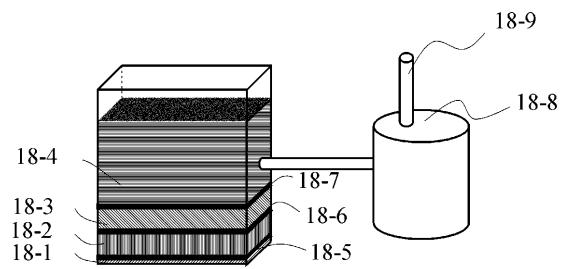
【 図 1 5 】



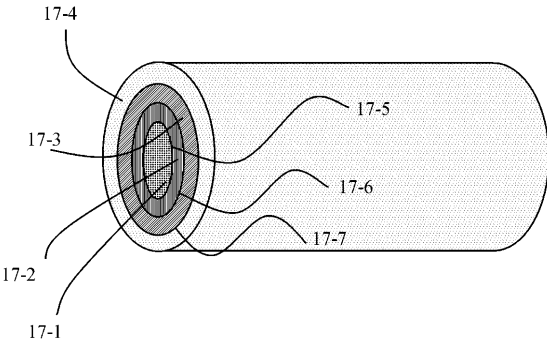
【 図 1 6 】



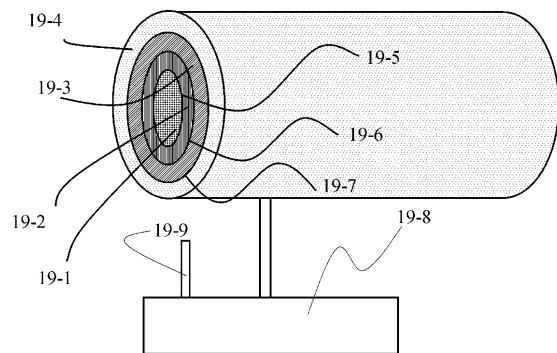
【 図 1 8 】



【 図 1 7 】

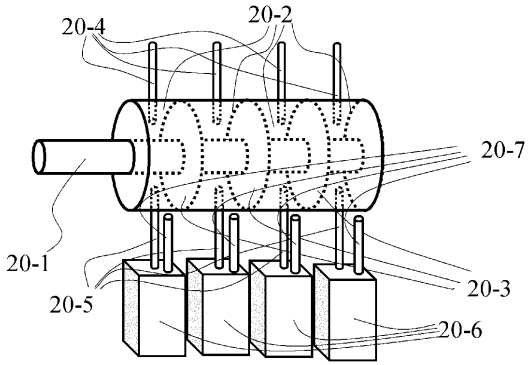


【 図 1 9 】

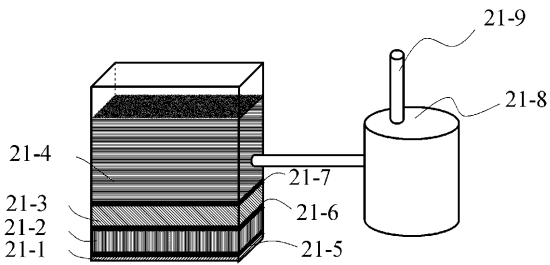




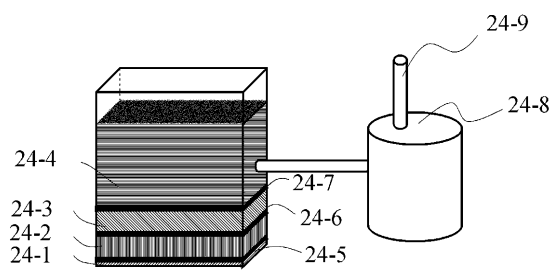
【 図 2 0 】



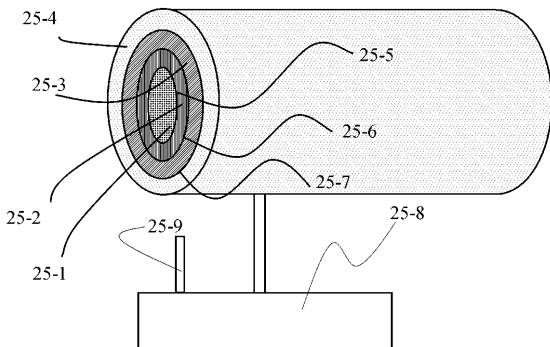
【 図 2 1 】



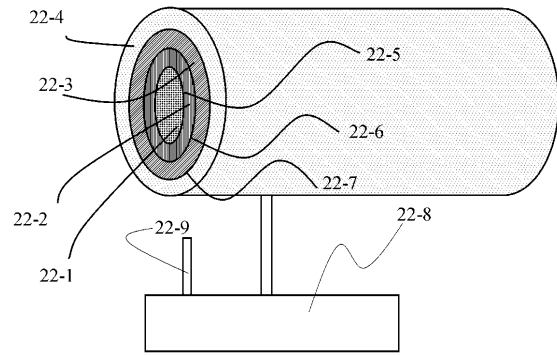
【 図 2 4 】



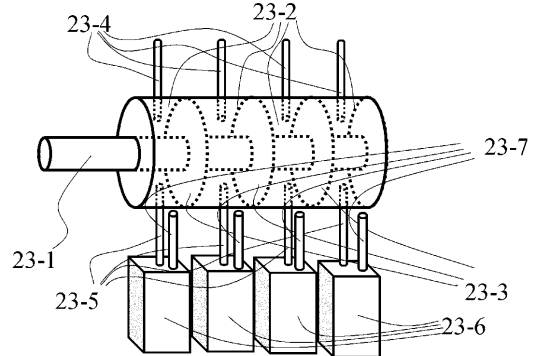
【 図 2 5 】



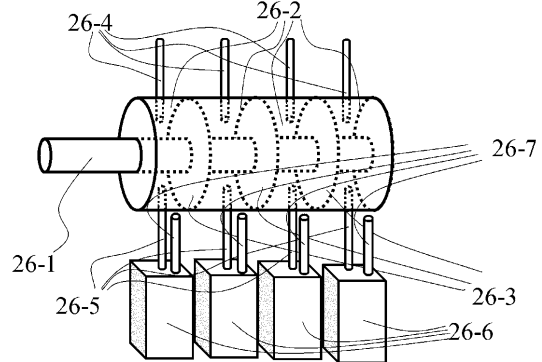
【 図 2 2 】



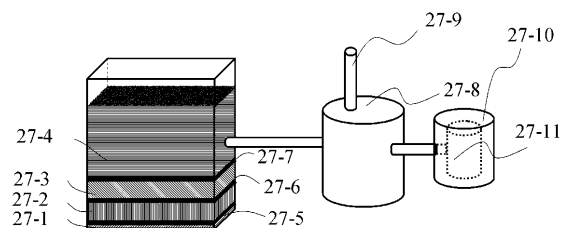
【 図 2 3 】



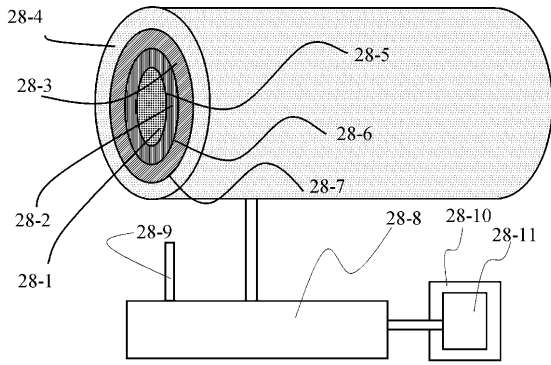
【 図 2 6 】



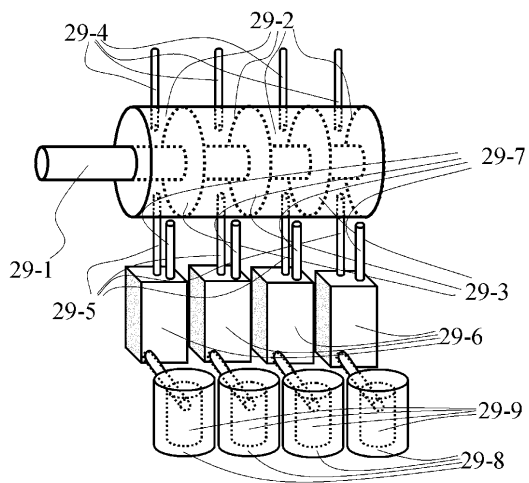
【 図 2 7 】



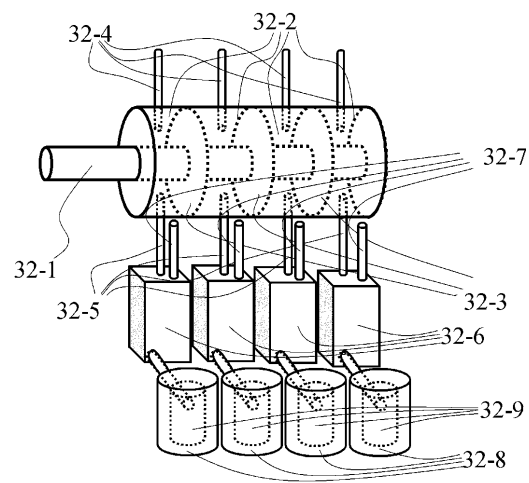
【 図 2 8 】



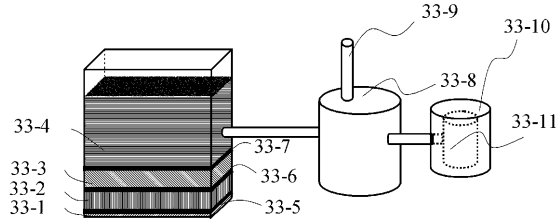
【 図 2 9 】



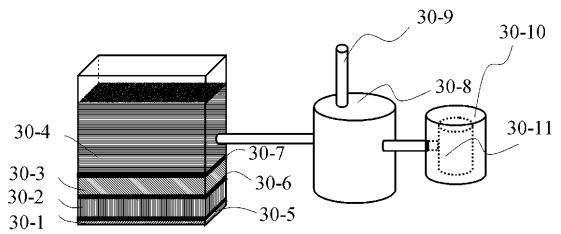
【 図 3 2 】



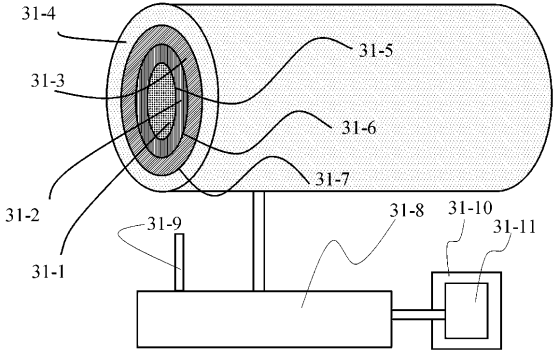
【 図 3 3 】



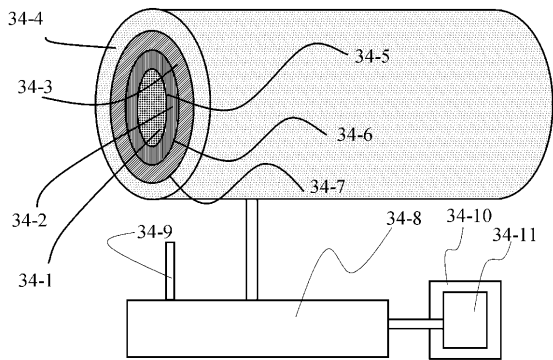
【 図 3 0 】



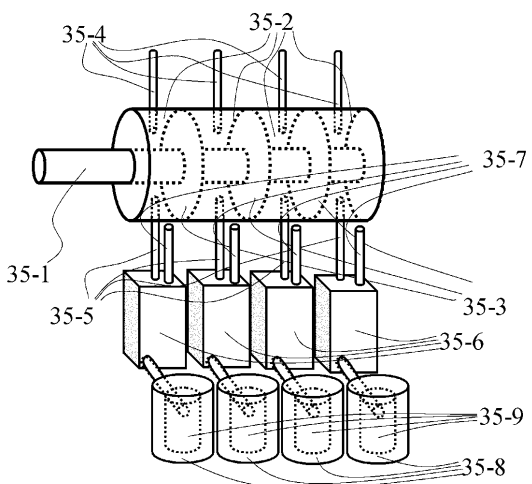
【 図 3 1 】



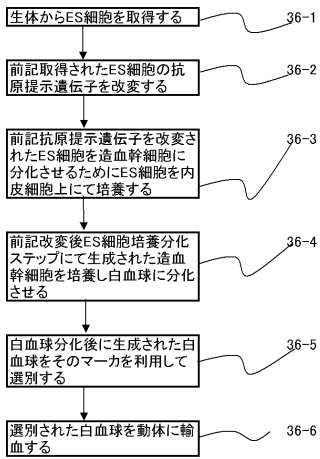
【 図 3 4 】



【 図 3 5 】



【 図 3 6 】



---

フロントページの続き

- (72)発明者 佐伯 久美子  
東京都地新宿区戸山 1 - 2 1 - 1 国立国際医療センター研究所内
- (72)発明者 張 弘  
東京都地新宿区戸山 1 - 2 1 - 1 国立国際医療センター研究所内
- (72)発明者 杉田 州男  
東京都千代田区麹町 1 丁目 6 番地 株式会社日鉄技術情報センター内
- (72)発明者 佐々木 道夫  
東京都中央区京橋 2 - 5 - 2 アドジェニック株式会社内
- F ターム(参考) 4B029 AA02 BB11 CC01 GB04  
4B065 AA90 AB01 BC18 BC50 BD50 CA44  
4C087 AA01 AA03 BB37 DA03 DA04 DA18 NA14 ZA51 ZB09