

<<1級/バイオ>>

問1.

【背景技術】

抗体産生反応をはじめとする免疫反応は、微生物などの異物を排除するために生体に備わる防御機構である。その一方で免疫反応が自己を傷害しないように、生体には、自己由来の抗原に対する免疫反応を防ぐ免疫寛容の機構も備わっている。免疫寛容には大別して中枢性免疫寛容と末梢性免疫寛容の2つの機構が存在する。自己反応性T細胞はアポトーシスにより胸腺で除去される(中枢性免疫寛容)。しかしながら、一部の自己反応性T細胞は胸腺での除去を免れて末梢に現れる。末梢では制御性T細胞(Regulatory T-cells; Treg)と呼ばれるT細胞が自己反応性T細胞の活性化を抑制することにより、自己免疫反応の惹起を防いでいる(末梢性免疫寛容)(非特許文献1)。

近年、中枢性免疫寛容を回避するために、目的抗原の遺伝子を発現しない遺伝子ノックアウトマウスを免疫動物として用いて抗体作成に成功した例が報告されている(非特許文献2)。しかし、ノックアウトマウスの作製には多大な時間、労力、費用がかかり、また遺伝子によってはノックアウトマウスが胎生致死となるために使用不可能な場合も多い。

[Background Art]

As defense systems in organisms, immune responses such as antibody-producing reaction eliminate foreign substances such as microorganisms. At the same time, another system of immune tolerance, by which immune responses against self-antigens are suppressed, avoids self-injury by the immune responses. The immune tolerance is largely divided into two types of mechanisms: central tolerance and peripheral tolerance. Self-reactive T cells are removed in the thymus by apoptosis (central tolerance). A part of the self-reactive T cells, however, escape removal in the thymus and appear in the peripheral blood. In the peripheral blood, T cells called regulatory T-cells (Tregs) prevent the induction of autoimmune reactions by suppressing activation of the self-reactive T cells (peripheral tolerance) (Non-Patent Document 1).

Recently an example was reported, in which an antibody was successfully produced using, as the immunized animal, a knockout mouse that does not express the gene encoding the aimed antigen in order to escape central tolerance (Non-Patent Document 2). To produce a knockout mouse, however, a lot of time, labor, or expense is needed. Furthermore, many genes cannot be used because the knockout mice of the genes are embryonic lethal.

問 2

【発明を実施するための形態】

次に、第2段階、すなわち、発芽段階において発芽した種子からスプラウトを成長させる段階に入る。この段階においては明条件を用いる。明条件とは、光合成が起こる強度の光を発芽種子およびスプラウトに与える条件である。一般的には2000ルクス以上、好ましくは5000ルクス以上の光を照射する。明条件において光の照射は連続的なものであってもよく、あるいは間欠的なものであってもよい。例えば、屋外でこのスプラウト成長段階を行ってもよい。しかしながら、明条件における光の照射は連続的であることが好ましい。光源は人工的なもの、例えば電気照明であってもよく、太陽光であってもよい。

スプラウト成長段階における水性媒体は、発芽段階からのものをそのまま用いてもよく、新たに成分を変更して調製してもよい。

[Description of Embodiments]

Next, it enters the second stage, in which sprouts are grown from seeds that have germinated in the germination stage. In this stage, a light condition is used. A light condition means a condition in which light is shone on germinating seeds or sprouts at a level by which photosynthesis occurs. Generally, light of 2000 lux or more, preferably 5000 lux or more, is radiated. Under the light condition, the light radiation of may be continuous or intermittent. For example, this sprout-growing stage may be carried out outdoors. It is preferred, however, that the light radiation under the light condition be continuous. The light source may be artificial, like electric light, or may be sunlight.

As an aqueous medium in the sprout growth stage, the same medium as used in the germination stage may be used, or a medium with newly modified ingredients may be prepared.

問 3

【実施例】

シリコセン付L字型試験管（直径 18mm）にて 60 日振とう培養を行った場合、ANI7A 菌株の AN および PHE の分解率は 8% と 21% であった。また、キャップ付ネジ口試験管（直径 18mm）を用いて、34 日振とう培養を行った場合、ANI7A 菌株の PHE の分解率は 22% であった。さらに、後者の培養条件下における ANI7P 菌株の PHE 分解率は 19% であり、ANI7A 菌株とほぼ同程度であった。また、両菌株からなる微生物コンソーシアの PHE 分解率は、後者の培養条件で 23% であり、各単一菌株の分解率と大差はなく、両菌株を組み合わせたコンソーシアによる PHE 分解の促進効果はみられなかった。ANI7A 菌株と ANI7P 菌株はコロニー色調は異なるが、分子系統解析から Sphingomonas 属の同一種とみなされたことから、PHE 分解能にも顕著な差はみられなかったものと推察された。

[Examples]

When ANI7A strain was cultured in a L-shaped test tube with Silicosen (18mm ϕ) by shaking for 60 days to determine degradation ratios of AN and PHE, it showed 8% and 21% respectively. When it was cultured in a test tube with screw cap (18mm ϕ) by shaking for 34 days to determine the degradation ratio of PHE, it showed 22%. Furthermore, when ANI7P strain was cultured in the latter conditions to determine the degradation ratio of PHE, it showed 19%, which was almost the same as that of ANI7A strain. The degradation ratio of PHE by a microbial consortium consisting of both strains was 23% under the latter conditions. There was not much difference compared with those by single strains, and this means that there was no promotion effect of PHE degradation even if the microbial consortia of both strains are used. ANI7A strain and ANI7P strain showed different colony color. However, they were identified as the same species belonging to Sphingomonas by using molecular phylogenetic analysis. Therefore, it was inferred that they did not show any marked difference between their PHE degradation abilities.

問 4

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 再生医療骨組成物 (tissue-engineered bone composition) であって、自己組織化能を有する両親媒性ペプチドを含むことを特徴とする再生医療骨組成物。

【請求項 2】 前記両親媒性ペプチドが、ペプチド水ゲルを形成している請求項 1 記載の再生医療骨組成物。

【請求項 3】 さらに、多血小板血漿 (PRP) 又は成長因子を含む請求項 1 又は 2 記載の再生医療骨組成物。

【請求項 4】 さらに、骨形成能を有する細胞又は間葉系幹細胞 (MSC) を含む請求項 1 から 3 のいずれかに記載の再生医療骨組成物。

【請求項 5】 さらに、細胞外マトリクス (ECM) タンパク質を含む請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の再生医療骨組成物。

【請求項 6】 骨組織又は歯周組織の修復、復元又は再生の用途に使用する請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の再生医療骨組成物。

Claims:

1. A tissue-engineered bone composition comprising an amphiphilic peptide with self-assembled capability.
2. The tissue-engineered bone composition according to Claim 1, wherein said amphiphilic peptide forms peptide hydrogel.
3. The tissue-engineered bone composition according to Claim 1 or 2 further comprising a platelet rich plasma (PRP) or a growth factor.
4. The tissue-engineered bone composition according to any one of Claims 1 to 3 further comprising a cell having osteogenic capability or a mesenchymal stem cell (MSC).
5. The tissue-engineered bone composition according to any one of Claims 1 to 4 further comprising an extracellular matrix (ECM) protein.
6. The tissue-engineered bone composition according to any one of Claims 1 to 5 wherein the composition is used for a purpose selected from the group consisting of recovery, reconstruction and regeneration of a bone tissue or a periodontal tissue.