

【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26年1月9日(2014.1.9)

【公開番号】特開2013-176400(P2013-176400A)

【公開日】平成25年9月9日(2013.9.9)

【年通号数】公開・登録公報2013-049

【出願番号】特願2013-127052(P2013-127052)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 0 1 K 67/027 (2006.01)

C 1 2 N 5/02 (2006.01)

C 1 2 N 5/0735 (2010.01)

C 1 2 N 5/074 (2010.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/00 1 0 2

A 0 1 K 67/027 Z N A

C 1 2 N 5/02

C 1 2 N 5/00 2 0 2 C

C 1 2 N 5/00 2 0 2 D

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成25年11月18日(2013.11.18)

【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】

多能性ラット細胞と M E K インヒビターおよび G S K 3 インヒビターを含む培養培地とを含む、多能性ラット細胞の培養物であって、該多能性ラット細胞が、ラットキメラの生殖系列に寄与し得る、培養物。

【請求項 2】

胚盤胞から多能性ラット細胞を誘導する方法であって、

(1) 胚盤胞を得る工程；

(2) M E K インヒビターおよび G S K 3 インヒビターの存在下で該胚盤胞を培養して、内部細胞塊を得る工程；

(3) 該内部細胞塊の一次派生物を単離および解離する工程；

(4) 該内部細胞塊の解離した一次派生物から 1 または複数の細胞を単離する工程；および

(5) 該単離した 1 または複数の細胞を、M E K インヒビター、G S K 3 インヒビターおよび F G F レセプターのアンタゴニストの存在下で培養する工程、を含む、方法。

【請求項 3】

前記多能性細胞が、N a n o g、O c t 4、F G F 4、S o x - 2 およびアルカリフォスファターゼのうち 1 つ以上を発現する、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

遺伝子操作ラットを得る方法であって、N a n o g、O c t 4、F G F 4 および S o x - 2 のうち 2 つ以上を発現するラット多能性細胞を遺伝子改変する工程であって、該多能性ラット細胞が、ラットキメラの生殖系列に寄与し得る工程および該多能性細胞をラット胚に導入して遺伝子改変ラットを産生する工程を含み、該ラット多能性細胞が該遺伝子改変ラットの生殖系列に寄与する、方法。

【請求項 5】

前記ラット多能性細胞が、N a n o g、O c t 4 および S o x - 2 を発現する、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記ラット多能性細胞が、さらにアルカリフォスファターゼを発現する、請求項 4 または 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記ラット多能性細胞が、R e x 1、S t e l l a、F G F 4 および S o x - 2 を発現する、請求項 4 から 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 8】

前記多能性細胞が、F G F 5 を発現しない、請求項 4 から 7 のいずれかに記載の方法。

【請求項 9】

前記多能性ラット細胞の子孫が、培養物中で維持された後に、原多能性ラット細胞の特性を保持する、請求項 4 から 8 のいずれかに記載の方法。

【請求項 10】

前記多能性細胞が、3 つの胚葉のすべてから分化した細胞が存在する奇形腫または奇形癌を形成し得る、請求項 4 から 9 のいずれかに記載の方法。

【請求項 11】

前記細胞が、培養物中で単一細胞として増殖および / または繁殖し得る、請求項 4 から 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 12】

前記遺伝子操作哺乳動物が、目的の遺伝子についてのホモ接合性ヌルである、請求項 4 から 11 のいずれかに記載の方法。

【請求項 13】

前記遺伝子改変する工程が、ラットまたは非ヒト哺乳動物中の遺伝子の対応するヒト遺伝子への置換を含む、請求項 4 から 11 のいずれかに記載の方法。

【請求項 14】

前記遺伝子改変する工程が、1 以上の目的の遺伝子のノックアウトを含む、請求項 4 から 12 のいずれかに記載の方法。

【請求項 15】

前記遺伝子改変する工程が、目的の遺伝子の標的挿入を含む、請求項 4 から 14 のいずれかに記載の方法。

【請求項 16】

請求項 4 から 15 のいずれかに記載の方法によって得られる、遺伝子操作ラット。

【請求項 17】

N a n o g、O c t 4、F G F 4 および S o x - 2 のうち 2 つ以上を発現する多能性ラット細胞であって、該多能性ラット細胞が、ラットキメラの生殖系列に寄与し得る、多能性ラット細胞。

【請求項 18】

N a n o g、O c t 4 および S o x - 2 を発現する、請求項 17 に記載の多能性ラット細胞。

【請求項 19】

さらにアルカリフォスファターゼを発現する、請求項 17 または 18 に記載の多能性ラット細胞。

【請求項 20】

R e x 1、S t e l l a、F G F 4 および S o x - 2 を発現する、請求項 1 7 から 1 9 のいずれかに記載の多能性ラット細胞。

【請求項 2 1】

前記多能性細胞が F G F 5 を発現しない、請求項 1 7 から 2 0 のいずれかに記載の多能性ラット細胞。

【請求項 2 2】

前記多能性ラット細胞の子孫が、培養物中で維持された後に、原多能性ラット細胞の特性を保持する、請求項 1 7 から 2 1 のいずれかに記載の多能性ラット細胞。

【請求項 2 3】

前記多能性細胞が、3 つの胚葉のすべてから分化した細胞が存在する奇形腫または奇形癌を形成し得る、請求項 1 7 から 2 2 のいずれかの請求項に記載の多能性ラット細胞。

【請求項 2 4】

前記細胞が、培養物中で単一細胞として増殖および / または繁殖し得る、請求項 1 7 から 2 3 のいずれかに記載の多能性ラット細胞。

【請求項 2 5】

請求項 1 7 から 2 4 のいずれかに記載の多能性ラット細胞の集団。

【請求項 2 6】

細胞の少なくとも 9 5 % が、以下の多能性細胞の特性：

a) キメラを形成する能力；

b) 培養物中で単一細胞として増殖および / または繁殖する能力；

c) R e x 1、S t e l l a、F G F 4 および S o x - 2 の発現；

d) それらが、アクチビンおよび / または F G F の存在下で分化が誘導されるかまたは増殖しない；

e) それらが、アクチビンレセプター遮断によって分化が誘導されないかまたは死滅する；および

f) 該多能性細胞の増殖および / または繁殖が、M E K インヒビター、G S K 3 インヒビターおよび必要に応じて F G F レセプターのアンタゴニストの存在によって支持される；

の 2 つ以上を保持する多能性ラット細胞の集団であって、

該多能性ラット細胞が、ラットキメラの生殖系列に寄与し得る、多能性ラット細胞の集団。

【請求項 2 7】

細胞の少なくとも 9 5 % が N a n o g および / または O c t 4 を発現する、請求項 2 6 に記載の多能性ラット細胞の集団。

【請求項 2 8】

多能性ラット細胞と M E K インヒビター、G S K 3 インヒビターおよび F G F レセプターのアンタゴニストを含む培養培地とを含む、多能性ラット細胞の培養物であって、該多能性ラット細胞が、ラットキメラの生殖系列に寄与し得る、培養物。