

【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21年10月22日(2009.10.22)

【公表番号】特表2005-525803(P2005-525803A)

【公表日】平成17年9月2日(2005.9.2)

【年通号数】公開・登録公報2005-034

【出願番号】特願2003-574808(P2003-574808)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/06 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/00 E

C 1 2 N 5/00 A

C 1 2 N 15/00 A

【誤訳訂正書】

【提出日】平成21年9月4日(2009.9.4)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0090

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0090】

実施例9：非付着細胞の確立

幹細胞は、連続継代の間、細菌学用の皿へ直接高密度で接種することにより、数継代後にその基質から剥離するようになり、そして懸濁液中、小型の規則的な凝集体の形態で増殖する胚性細胞を得ることが可能になる。この増殖は単なる希釈、機械的解離により、そしてタンパク質溶解酵素を用いることなく、数継代にわたって促される。培養の攪拌は、一般に行われるが、非付着性細胞を得るための特徴的な要因ではない。付着性細胞と同様に、これらの細胞は幹細胞の特徴的な形態、すなわち小型のサイズ、核原形質比率が大きく、明確に見える少なくとも1つの核小体を有する核および非常に小型の原形質を有する。これらの細胞は多かれ少なかれ緻密な小型の凝集体の形態で成長する特徴がある。これらの非付着性細胞は、Painら(1996)にて前記したように、多くの抗体と交差反応を呈する。これらの細胞はまた内因性テロメラーゼ活性に関して陽性である(EB1、EB4およびEB5細胞に関して実施例10に示すように。)非付着相では、細胞破異なる培地中で高増殖性を呈する。初期接種密度および非常に規則的な新鮮培地の供給はmlあたり 1×10^6 細胞を越える範囲の高密度を提供する。表5は数個の単離体の主要な特徴をまとめている(親細胞、懸濁液に作製する初期継代、懸濁液中の培養を維持する日数、維持の自発的な停止の前に得られた継代および世代の数)。従って、懸濁液にするための継代は単離体毎(単離体EB1およびEB14参照)および増殖速度(単離体EB3およびEB14参照)によって変動し得る。