

【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20年6月19日(2008.6.19)

【公表番号】特表2008-503203(P2008-503203A)

【公表日】平成20年2月7日(2008.2.7)

【年通号数】公開・登録公報2008-005

【出願番号】特願2007-510879(P2007-510879)

【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 Q	1/02	(2006.01)
C 1 2 N	1/15	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(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	Z N A B
C 1 2 Q	1/02	
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/00	A
C 1 2 N	15/00	A

【手続補正書】

【提出日】平成20年4月24日(2008.4.24)

【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】

P D X 1 陽性内胚葉細胞を作製する方法であって、

外因性 T G F スーパーファミリー増殖因子の存在下で、多分化能ヒト細胞の集団を培養する工程；

該細胞集団から外因性 T G F スーパーファミリー増殖因子を取り除く工程；およびレチノイドの存在下で該細胞集団を連続培養し、多分化能 P D X 1 陽性内胚葉細胞を作製する工程、

を包含する、方法。

【請求項2】

前記細胞集団を連続培養する工程が、 F G F ファミリー増殖因子を該細胞集団に供給する工程を包含する、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記 F G F ファミリー増殖因子は、前記レチノイドとほぼ同時に供給される請求項2に記載の方法。

【請求項4】

前記 F G F ファミリー増殖因子が F G F - 1 0 を含む、請求項2または3に記載の方法。

【請求項 5】

前記細胞集団の少なくとも 25% が PDX1 を発現する、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

定量ポリメラーゼ連鎖反応によって決定される場合、前記 PDX1 陽性内胚葉細胞において、PDX1 の発現が、-フェトプロテイン (AFP)、SOX7、SOX1、ZIC1 および NFM からなる群から選択されるマーカーの発現より高い請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

前記 PDX1 の発現が、免疫細胞化学により決定される請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記レチノイドは、レチノイン酸 (RA) である請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

RA は、0.01 μM から約 50 μM までの範囲の濃度で供給される請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

RA は、0.1 μM から約 10 μM までの範囲の濃度で供給される請求項 8 に記載の方法。

【請求項 11】

前記外因性 TGF スーパーファミリー増殖因子がアクチビン A を含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

ヒト細胞の少なくとも約 10% が PDX1 陽性内胚葉細胞である、ヒト細胞を含むインビトロ細胞培養物。

【請求項 13】

前記ヒト細胞の少なくとも約 25% が、PDX1 陽性内胚葉細胞である請求項 12 に記載の細胞培養物。

【請求項 14】

レチノイドをさらに含む請求項 12 または 13 に記載の細胞培養物。

【請求項 15】

前記レチノイドがレチノイン酸 (RA) を含む、請求項 14 に記載の細胞培養物。

【請求項 16】

FGF ファミリー増殖因子をさらに含む、請求項 12 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の細胞培養物。

【請求項 17】

前記 FGF ファミリー増殖因子が FGF-10 を含む、請求項 16 に記載の細胞培養物。

【請求項 18】

前記ヒト PDX1 陽性内胚葉細胞が非組換え細胞である、請求項 12 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の細胞培養物。