

【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 PDX 1 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 PDX 1 陽性内胚葉細胞において、PDX 1 の発現が、 α -フェトプロテイン (AFP)、SOX 7、SOX 1、ZIC 1 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 PDX 1 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、 $0.01 \mu\text{M}$ から約 $50 \mu\text{M}$ 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、 $0.1 \mu\text{M}$ から約 $10 \mu\text{M}$ 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 β 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 PDX 1 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、PDX 1 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 PDX 1 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。