

【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22年3月4日 (2010.3.4)

【公表番号】特表2009-528066(P2009-528066A)

【公表日】平成21年8月6日 (2009.8.6)

【年通号数】公開・登録公報2009-031

【出願番号】特願2008-557431(P2008-557431)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/07 (2010.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

G 0 1 N 33/48 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 21/78 (2006.01)

C 0 7 K 16/28 (2006.01)

A 6 1 K 35/39 (2006.01)

A 6 1 P 3/10 (2006.01)

G 0 1 N 33/543 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/00 E

C 1 2 N 5/00 B

C 1 2 Q 1/68 A

G 0 1 N 33/48 P

G 0 1 N 33/53 Y

G 0 1 N 21/78 C

C 0 7 K 16/28

A 6 1 K 35/39

A 6 1 P 3/10

G 0 1 N 33/543 5 9 7

【手続補正書】

【提出日】平成22年1月13日 (2010.1.13)

【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】

ヒト細胞を含む *in vitro* 細胞培養物であって、該ヒト細胞の少なくとも 5 % が、ニューロゲニン 3 (NEUROG3)、ペアードボックス 4 (PAX4) 及び NKX2 転写因子関連遺伝子座 2 (NKX2.2) から成る群から選択されるマーカーを発現するヒト内分泌前駆細胞である、細胞培養物。

【請求項 2】

前記ヒト内分泌前駆細胞が、ニューロゲニン 3 (NEUROG3)、ペアードボックス 4 (PAX4) 及び NKX2 転写因子関連遺伝子座 2 (NKX2.2) を発現する、請求項 1 に記載の *in vitro* 細胞培養物。

【請求項 3】

前記ヒト細胞の少なくとも約 10 % が内分泌前駆細胞である、請求項 1 に記載の *in*

*in vitro*細胞培養物。

【請求項 4】

前記ヒト細胞の少なくとも約 50% が内分泌前駆細胞である、請求項 1 に記載の *in vitro*細胞培養物。

【請求項 5】

前記内分泌前駆細胞が、グレリン、インスリン、ソマトスタチン及びグルカゴンからなる群から選択される膵島ホルモンを実質的に発現しない、請求項 1 ~ 4 の何れか 1 項に記載の *in vitro*細胞培養物。

【請求項 6】

前記内分泌前駆細胞が非組み換え細胞である、請求項 1 ~ 5 の何れか 1 項に記載の *in vitro*細胞培養物。

【請求項 7】

更に、レチノイドを含有する、請求項 1 ~ 6 の何れか 1 項に記載の *in vitro*細胞培養物。

【請求項 8】

(a) ヒト多能性細胞を有する細胞集団を得る工程と、
(b) 前記 TGF- β スーパーファミリーの増殖因子を前記細胞集団に供給し、それにより胚体内胚葉細胞を産生する工程と、
(c) 前記細胞集団から TGF- β スーパーファミリーを回収する工程と、
(d) レチノイドを前記集団に供給し、それによりヒト PDX 1 陽性膵臓内胚葉細胞を産生する工程と、
(e) ニューロゲニン 3 (NEUROG3) を発現するヒト内分泌前駆細胞が形成されるのに十分な時間、培養培地で前記細胞集団をインキュベートする工程を含む、内分泌前駆細胞を製造する方法。

【請求項 9】

前記内分泌前駆細胞が、ニューロゲニン 3 (NEUROG3)、ペアードボックス 4 (PAX4) 及び NKX2 転写因子関連遺伝子座 2 (NKX2.2) を発現することを特徴とする、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

工程 (c) が、更に前記細胞集団に FGF を供給する方法を含む、請求項 8 または請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記レチノイドがレチノイン酸を含有することを特徴とする請求項 8 ~ 10 の何れか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

前記多能性ヒト細胞は非組み換え細胞であることを特徴とする請求項 8 ~ 11 の何れか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

工程 (e) が更に前記細胞集団にガンマ - セクレターゼ阻害剤を供給することを含む請求項 8 ~ 12 の何れか 1 項に記載の方法。

【請求項 14】

工程 (b) が更に、ウィングレス型 MMTV 組込部位ファミリー成員 3A (Wnt3A) を前記細胞集団に供給することを含む請求項 8 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。