

【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】令和 4 年 9 月 22 日(2022.9.22)

【公開番号】特開 2022-95886(P2022-95886A)

【公開日】令和 4 年 6 月 28 日(2022.6.28)

【年通号数】公開公報(特許)2022-116

【出願番号】特願 2022-66353(P2022-66353)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/071(2010.01)

C 1 2 N 15/09(2006.01)

10

【F I】

C 1 2 N 5/071 Z N A

C 1 2 N 15/09 Z

【手続補正書】

【提出日】令和 4 年 9 月 9 日(2022.9.9)

【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

20

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

a) F G F シグナル伝達経路の活性剤と、W N T シグナル伝達経路の活性剤と、B M P シグナル伝達経路の阻害剤を、胚体内胚葉細胞に接触させることにより、前記胚体内胚葉細胞を前腸スフェロイドに分化させるステップと、

b) ステップ a) の前腸スフェロイドにレチノイン酸を接触させて、後方前腸スフェロイドを形成するステップと、

c 1) ステップ b) の後方前腸スフェロイドに E G F、レチノイン酸、及び B M P シグナル伝達経路の阻害剤を接触させて前庭部組織を含む胃オルガノイドを形成するステップ、又は、

30

c 2) ステップ b) の後方前腸スフェロイドに E G F、レチノイン酸、B M P シグナル伝達経路の阻害剤、及び W N T シグナル伝達経路の活性剤を接触させて胃底部組織を含む胃オルガノイドを形成するステップのいずれか一方と、を含む、インビトロで、胃オルガノイドを形成する方法。

【請求項 2】

前記胚体内胚葉細胞が、多能性幹細胞に由来する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記多能性幹細胞が、胚性幹細胞又は人工多能性幹細胞である、請求項 2 に記載の方法。

40

【請求項 4】

ステップ a) の前記胚体内胚葉細胞を、24 ~ 120 時間接触させる、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

ステップ a) の前記胚体内胚葉細胞を、2 日間接触させる、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

ステップ b) の前記前腸スフェロイドを、1 日間接触させる、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

50

ステップ c 1 ) 又はステップ c 2 ) の前記後方前腸スフェロイドを、3 日間接触させる、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記 F G F シグナル伝達経路の活性剤が F G F 4 である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記 F G F 4 が  $50 \text{ ng/ml} \sim 1500 \text{ ng/ml}$  の濃度で提供される、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記 F G F 4 が  $500 \text{ ng/ml}$  の濃度で提供される、請求項 9 に記載の方法。

10

【請求項 11】

前記 W N T シグナル伝達経路の活性剤が W n t 3 a 又は C H I R 9 9 0 2 1 である、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記 W N T シグナル伝達経路の活性剤が W n t 3 a であり、W n t 3 a が  $50 \text{ ng/ml} \sim 1500 \text{ ng/ml}$  の濃度で提供される、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記 W n t 3 a が  $500 \text{ ng/ml}$  の濃度で提供される、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記 W N T シグナル伝達経路の活性剤が C H I R 9 9 0 2 1 である、請求項 13 に記載の方法。

20

【請求項 15】

前記 C H I R 9 9 0 2 1 が  $2 \mu \text{M}$  の濃度で提供される、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

ステップ a )、ステップ c 1 )、ステップ c 2 ) 又はこれらの任意の組み合わせの B M P シグナル伝達経路の阻害剤がノギンである、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

前記ノギンが、 $50 \text{ ng/ml} \sim 1500 \text{ ng/ml}$  の濃度で提供される、請求項 16 に記載の方法。

30

【請求項 18】

前記ノギンが、 $200 \text{ ng/ml}$  の濃度で提供される、請求項 17 に記載の方法。

40

50