

【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 12 N 5/071(2010.01)

10

C 12 N 15/09(2006.01)

【F I】

C 12 N 5/071 Z N A

C 12 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) FGFシグナル伝達経路の活性剤と、WNTシグナル伝達経路の活性剤と、BMP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、

c1) ステップb)の後方前腸スフェロイドにEGF、レチノイン酸、及びBMP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、

c2) ステップb)の後方前腸スフェロイドにEGF、レチノイン酸、BMPシグナル伝達経路の阻害剤、及びWNT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c1)又はステップc2)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FGFシグナル伝達経路の活性剤がFGF4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FGF4が50ng/ml～1500ng/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FGF4が500ng/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WNTシグナル伝達経路の活性剤がWnt3a又はCHIR99021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WNTシグナル伝達経路の活性剤がWnt3aであり、Wnt3aが50ng/ml～1500ng/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Wnt3aが500ng/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WNTシグナル伝達経路の活性剤がCHIR99021である、請求項13に記載の方法。

20

【請求項15】

前記CHIR99021が2μM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c1)、ステップc2)又はこれらの任意の組み合わせのBMP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、50ng/ml～1500ng/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、200ng/mlの濃度で提供される、請求項17に記載の方法。

40

50