【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6年10月18日(2024.10.18)

【公開番号】特開2023-56591(P2023-56591A)
【公開日】令和5年4月20日(2023.4.20)
【年通号数】公開公報(特許)2023-074
【出願番号】特願2021-165888(P2021-165888)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ　5/071(2010.01)
Ｃ１２Ｎ　5/077(2010.01)
Ｃ１２Ｑ　1/02(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　5/071
Ｃ１２Ｎ　5/077
Ｃ１２Ｑ　1/02

【手続補正書】
【提出日】令和6年9月25日(2024.9.25)
【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】
上皮系細胞及び間葉系細胞を播種すること、及び、前記上皮系細胞及び前記間葉系細胞の共培養を行って毛髪再生能を有する細胞凝集塊を形成することを含み、
前記共培養は、Ｉ型コラーゲンが分散された全体として流動性を維持する３０℃以上、４５℃以下の温度の培養液中で前記上皮系細胞及び前記間葉系細胞を保持するマトリックス処理を含む、
細胞凝集塊の製造方法。
【請求項２】
上皮系細胞及び間葉系細胞を播種すること、及び、前記上皮系細胞及び前記間葉系細胞の共培養を行って毛髪再生能を有する細胞凝集塊を形成することを含み、
前記共培養は、Ｉ型コラーゲンが４２０μｇ／ｍＬ以下の濃度で分散された培養液中で前記上皮系細胞及び前記間葉系細胞を保持するマトリックス処理を含む、
細胞凝集塊の製造方法。
【請求項３】
上皮系細胞及び間葉系細胞を播種すること、及び、前記上皮系細胞及び前記間葉系細胞の共培養を行って毛髪再生能を有する細胞凝集塊を形成することを含み、
前記共培養は、フィブロネクチンが分散された全体として流動性を維持する３０℃以上、４５℃以下の温度の培養液であってＩ型コラーゲンの含有量、前記フィブロネクチンの含有量、ラミニンの含有量、エンタクチンの含有量及びＩＶ型コラーゲンの含有量の合計に対する前記フィブロネクチンの含有量の重量割合が５０重量％以上である培養液中で前記上皮系細胞及び前記間葉系細胞を保持するマトリックス処理を含む、
細胞凝集塊の製造方法。
【請求項４】
前記Ｉ型コラーゲン又はフィブロネクチンが分散された培養液は、前記共培養において前記培養液が全体として流動性を維持する範囲内の濃度でI型コラーゲン又はフィブロネ

クチンを含む、
請求項１乃至３のいずれかに記載の細胞凝集塊の製造方法。
【請求項５】
前記マトリックス処理において、Ｉ型コラーゲンが４２０μｇ／ｍＬ未満の濃度で分散された前記培養液中で前記上皮系細胞及び前記間葉系細胞を保持する、
請求項１に記載の細胞凝集塊の製造方法。
【請求項６】
前記共培養を行って、その表面に毛様組織を形成する能力を有する前記細胞凝集塊を形成する、
請求項１乃至５のいずれかに記載の細胞凝集塊の製造方法。
【請求項７】
前記共培養を行って、その表面に毛様組織を有する前記細胞凝集塊を形成する、
請求項１乃至６のいずれかに記載の細胞凝集塊の製造方法。
【請求項８】
前記共培養により形成された前記細胞凝集塊を、生体への移植のために回収することをさらに含む、
請求項１乃至７のいずれかに記載の細胞凝集塊の製造方法。
【請求項９】
前記共培養により形成された、その表面に毛様組織を形成する能力を有し且つその表面に未だ毛様組織が形成されていない前記細胞凝集塊を、生体への移植のために回収する、
請求項８に記載の細胞凝集塊の製造方法。
【請求項１０】
前記共培養を行って、前記Ｉ型コラーゲン又はフィブロネクチンが分散された培養液に代えてＩ型コラーゲン及びフィブロネクチンが分散されていない培養液を用いたこと以外は同一の条件で形成される細胞凝集塊に比べて、１以上の発毛関連遺伝子の発現量が２倍以上大きい細胞凝集塊を形成する、
請求項１乃至９のいずれかに記載の細胞凝集塊の製造方法。
【請求項１１】
前記共培養は、
前記上皮系細胞及び前記間葉系細胞の浮遊培養を行って、細胞凝集塊を形成すること、及び、
前記浮遊培養により形成された細胞凝集塊をハイドロゲル中に包埋してさらに培養すること、
を含む、請求項１乃至１０のいずれかに記載の細胞凝集塊の製造方法。
【請求項１２】
上皮系細胞及び間葉系細胞を播種すること、及び、前記上皮系細胞及び前記間葉系細胞の共培養を行って毛髪再生能を有する細胞凝集塊を形成することを含む、前記細胞凝集塊の製造において、
（ａ）Ｉ型コラーゲンが分散された全体として流動性を維持する３０℃以上、４５℃以下の温度の培養液中；、
（ｂ）Ｉ型コラーゲンが４２０μｇ／ｍＬ以下の濃度で分散された培養液中；又は
（ｃ）フィブロネクチンが分散された全体として流動性を維持する３０℃以上、４５℃以下の温度の培養液であってＩ型コラーゲンの含有量、前記フィブロネクチンの含有量、ラミニンの含有量、エンタクチンの含有量及びＩＶ型コラーゲンの含有量の合計に対する前記フィブロネクチンの含有量の重量割合が５０重量％以上である培養液中；
で前記上皮系細胞及び前記間葉系細胞を保持するマトリックス処理を実施することにより、前記細胞凝集塊の毛髪再生能を向上させる方法。
【請求項１３】
上皮系細胞及び間葉系細胞を播種すること、及び、前記上皮系細胞及び前記間葉系細胞の共培養を行って毛髪再生能を有する細胞凝集塊を形成することを含む、前記細胞凝集塊

の製造において、
（ａ）Ｉ型コラーゲンが分散された全体として流動性を維持する３０℃以上、４５℃以下の温度の培養液中；、
（ｂ）Ｉ型コラーゲンが４２０μｇ／ｍＬ以下の濃度で分散された培養液中；又は
（ｃ）フィブロネクチンが分散された全体として流動性を維持する３０℃以上、４５℃以下の温度の培養液であってＩ型コラーゲンの含有量、前記フィブロネクチンの含有量、ラミニンの含有量、エンタクチンの含有量及びＩＶ型コラーゲンの含有量の合計に対する前記フィブロネクチンの含有量の重量割合が５０重量％以上である培養液中；
で前記上皮系細胞及び前記間葉系細胞を保持するマトリックス処理を実施することを含む、Ｉ型コラーゲン又はフィブロネクチンの前記細胞凝集塊の毛髪再生能の向上のための使用。