

請求の範囲

- [請求項1] 肺上皮細胞又は肺がん細胞を含む試料を培養培地中で培養することを含む、肺上皮細胞又は肺がん細胞からオルガノイドを製造する方法であって、
前記培養培地は、0～10% v/vの細胞外マトリクスを含み、及び
ケラチノサイト成長因子（KGF）、線維芽細胞増殖因子（FGF）10及び肝細胞成長因子（HGF）からなる群より選択される少なくとも1種と、骨形成タンパク質（BMP）阻害剤と、TGFβ阻害剤との組合せを含み、並びに
前記培養培地はフィーダー細胞を実質的に含まない、方法。
- [請求項2] 前記組合せが、Wntシグナル活性化剤及びRhoキナーゼ（ROCK）阻害剤のいずれか一方又は両方をさらに含む、請求項1に記載の方法。
- [請求項3] 前記組合せが、
KGFと、BMP阻害剤と、TGFβ阻害剤との組合せ；
KGFと、Wntシグナル活性化剤と、BMP阻害剤と、TGFβ阻害剤との組合せ；
FGF10と、BMP阻害剤と、TGFβ阻害剤との組合せ；
FGF10と、Wntシグナル活性化剤と、BMP阻害剤と、TGFβ阻害剤との組合せ；
HGFと、BMP阻害剤と、TGFβ阻害剤との組合せ；
HGFと、Wntシグナル活性化剤と、BMP阻害剤と、TGFβ阻害剤との組合せ；
KGFと、FGF10と、HGFと、BMP阻害剤と、TGFβ阻害剤との組合せ；
KGFと、FGF10と、HGFと、Wntシグナル活性化剤と、BMP阻害剤と、TGFβ阻害剤との組合せ；

ROCK阻害剤と、KGFと、FGF10と、HGFと、BMP阻害剤と、TGF β 阻害剤との組合せ；又は

ROCK阻害剤と、KGFと、FGF10と、HGFと、Wntシグナル活性化剤と、BMP阻害剤と、TGF β 阻害剤との組合せである、請求項2に記載の方法。

[請求項4] 前記BMP阻害剤が、Nogginであり、及び／又は
前記TGF β 阻害剤が、SB431542である、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

[請求項5] 前記Wntシグナル活性化剤が、CHIR99021であり、及び／又は
前記ROCK阻害剤が、Y-27632である、請求項2～4のいずれか一項に記載の方法。

[請求項6] 前記試料に含まれる肺上皮幹細胞が、基底細胞、クラブ細胞、気管支肺胞上皮幹細胞及び肺胞上皮細胞からなる群から選択される少なくとも1つの細胞種を含む、請求項1～5のいずれか一項に記載の方法。

[請求項7] 前記試料を前記培養培地中で培養する前に、クラブ細胞-1、AT2細胞及びクラブ細胞-11それぞれについて表Aに列記された細胞マーカー並びにそれらのホモログの少なくとも1種に基づいて、前記試料からクラブ細胞-1、AT2細胞又はクラブ細胞-11を選択することを含む、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法：

表A

クラブ細胞－I	AT2細胞	クラブ細胞－II
Cbr2	Lamp3	Tff2
Hp	Ly2	Reg3g
Cyp2f2	Napsa	Bpifb1
Prdx6	Slc34a2	Muc5b
Scgb1a1	Ly2	Sul1d1
Ldhb	Rnase4	Fxyd3
Ces1d	Hc	Scgb3a1
Cckar	Cd74	Lypd2
Selenbp1	Scd1	Chad
Gstm2	Sftpc	S100a6
Scnn1b	Lgi3	Pglyrp1
Scgb1c1	Cldn18	Aldh3a1
Plpp3	Etv5	Bpifa1
Ephx1	Cxcl15	Gsto1
Dcxr	S100g	Lgals3
Alas1	Elovl1	Pigr
Retnla	Fas	Scgb3a2
Sec14l3	H2-Aa	Ltf
Ptgr1	Fabp5	Qsox1
Krtap17-1	Rn4.5s	Cyp2a5
		Cpd
		Ly6a
		Perp
		Kcne3
		Il13ra1
		Slc15a2
		Cd14

[請求項8] 請求項1～7のいずれか一項に記載の方法で製造された肺上皮細胞又は肺がん細胞由来のオルガノイド。

[請求項9] 内腔、及び前記内腔に面する細胞層を含む、肺上皮細胞由来のオルガノイドであって、

前記肺上皮細胞が、肺胞細胞であり、

前記細胞層が、

AT2細胞から本質的になり；

AT2細胞と、AT2細胞マーカー及び気管支上皮マーカーを発現する細胞との組合せから本質的になり；又は

気管支上皮マーカーを発現する細胞から本質的になり；或いは

前記肺上皮細胞が気道細胞であり、前記細胞層が基底細胞と、基底

細胞マーカー及び気管支上皮マーカーを発現する細胞との組合せから本質的になる、オルガノイド。

[請求項10] 前記肺上皮細胞が肺胞細胞であり、前記細胞層がA T 2細胞から本質的になり、前記A T 2細胞がH T 2－2 8 0及びS F T P Cのいずれか一方又は両方を発現し、及び前記H T 2－2 8 0が前記A T 2細胞において前記内腔に面する細胞膜に若しくはその近傍に局在している、請求項9に記載のオルガノイド。

[請求項11] 前記A T 2細胞マーカーがH T 2－2 8 0及びS F T P Cのいずれか一方又は両方であり、
前記気管支上皮マーカーがS O X 2であり、及び／又は
前記基底細胞マーカーがK R T 5である、請求項9に記載のオルガノイド。

[請求項12] 請求項1～7のいずれか一項に記載の方法で製造された肺上皮細胞由来のオルガノイド、請求項9～11のいずれか一項に記載の肺上皮細胞由来のオルガノイド、及び／又は、前記オルガノイドの細胞を含む、再生医療用組成物。

[請求項13] 肺がんを処置するための物質をスクリーニングする方法であって、
請求項1～7のいずれか一項に記載の方法で製造された肺がん細胞由来のオルガノイドと、被験物質とを接触させること、
前記被験物質との接触後のオルガノイドを測定すること、及び
前記被験物質との接触後のオルガノイドの測定値と対照値とを比較することを含む、方法。