

【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29年8月17日(2017.8.17)

【公表番号】特表2017-518070(P2017-518070A)

【公表日】平成29年7月6日(2017.7.6)

【年通号数】公開・登録公報2017-025

【出願番号】特願2017-503766(P2017-503766)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/09 (2010.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 1 2 M 1/34 (2006.01)

C 1 2 N 5/071 (2010.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

G 0 1 N 37/00 (2006.01)

G 0 1 N 33/15 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/09

C 1 2 Q 1/02

C 1 2 M 1/34 Z

C 1 2 N 5/071

G 0 1 N 33/50 Z

G 0 1 N 37/00 1 0 3

G 0 1 N 33/15 Z

【手続補正書】

【提出日】平成29年6月5日(2017.6.5)

【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】

以下を含む、三次元の人工的な生物学的乳癌モデル：

- a. ヒト乳腺線維芽細胞、ヒト内皮細胞、およびヒト脂肪細胞を含む、乳房間質組織；ならびに
  - b. 乳癌細胞およびヒト内皮細胞を含み、該三次元の人工的な生物学的乳癌モデルを形成するように全側面を該間質組織によって囲まれている、乳癌腫瘍組織；
- ただし、該間質組織が間質バイオインクからバイオプリントされたものであるか、該腫瘍組織が腫瘍バイオインクからバイオプリントされたものであるか、または該間質組織および該腫瘍組織の両方がそれらの各バイオインクからバイオプリントされたものである。

【請求項2】

以下の工程を含む、三次元の人工的な生物学的乳癌モデルを製造する方法：

- a. 間質バイオインクを調製する工程であって、該間質バイオインクが複数の間質細胞型を含み、該間質細胞型が押出化合物、ヒト乳腺線維芽細胞、ヒト内皮細胞、およびヒト脂肪細胞を含む、工程；
- b. 腫瘍バイオインクを調製する工程であって、該腫瘍バイオインクが押出化合物および1つの乳癌細胞型を含む、工程；
- c. 該腫瘍バイオインクが、該間質バイオインクに埋め込まれかつ全側面で該間質バイオ

インクと接触するように、該間質バイオインクおよび該腫瘍バイオインクを堆積させる工程；ならびに

d. 該押出化合物を除去しかつ細胞を密着させて三次元の人工的な生物学的乳癌モデルを形成させるために、堆積した該バイオインクを細胞培養培地中で成熟させる工程。

【請求項 3】

個体における癌に対する治療剤を同定する方法であって、該方法が、

- a. 複数の間質細胞型を含む間質バイオインクを調製する工程；
- b. 該個体由来の原発性癌細胞を含む腫瘍バイオインクを調製する工程；
- c. 該腫瘍バイオインクが該間質バイオインクに埋め込まれかつ全側面で該間質バイオインクと接触するように、該間質バイオインクおよび該腫瘍バイオインクを堆積させる工程；
- d. 細胞を密着させて三次元の人工的な生物学的構築物を形成させるために、堆積した該バイオインクを細胞培養培地中で成熟させる工程；
- e. 該構築物に治療剤候補を適用する工程；
- f. 該癌細胞の生存率を測定する工程；ならびに
- g. 測定された該癌細胞の生存率に基づいて、該個体に対する治療剤を選択する工程を含み、ただし、該構築物の少なくとも1種の構成要素がバイオプリンティングによって堆積したものである、前記方法。

【請求項 4】

個体における乳癌に対する治療剤を同定する方法であって、該方法が、

- a. 複数の乳房間質細胞型を含む乳房間質バイオインクを調製する工程；
- b. 該個体由来の原発性乳癌細胞を含む乳房腫瘍バイオインクを調製する工程；
- c. 該腫瘍バイオインクが該間質バイオインクに埋め込まれかつ全側面で該間質バイオインクと接触するように、該間質バイオインクおよび該腫瘍バイオインクを堆積させる工程；
- d. 細胞を密着させて三次元の人工的な乳癌腫瘍モデルを形成させるために、堆積した該バイオインクを細胞培養培地中で成熟させる工程；
- e. 該乳癌腫瘍モデルに治療剤候補を適用する工程；
- f. 該乳癌細胞の生存率を測定する工程；ならびに
- g. 測定された該乳癌細胞の生存率に基づいて、該個体に対する治療剤を選択する工程を含み、ただし、該間質バイオインクおよび該腫瘍バイオインクがバイオプリンティングによって堆積したものである、前記方法。

【請求項 5】

三次元の人工的な生物学的乳癌モデルのアレイであって、各乳癌モデルが、

- a. ヒト乳腺線維芽細胞、ヒト内皮細胞、およびヒト脂肪細胞を含む、間質組織；ならびに
- b. 乳癌細胞およびヒト内皮細胞を含み、各三次元の人工的な生物学的乳癌モデルを形成するように全側面を該間質組織によって囲まれている、腫瘍組織を含み、ただし、該間質組織、該腫瘍組織、または該間質組織および該腫瘍組織の両方がバイオプリントされたものであり；ただし、該アレイが、ハイスループットアッセイにおける使用に適している、三次元の人工的な生物学的乳癌モデルのアレイ。

【請求項 6】

a. 間質組織；および

b. 腫瘍組織

を含む、三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルであって、該腫瘍組織が癌細胞を含み、該腫瘍組織が該間質組織と接触して、該三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成しており；

ただし、該間質組織が、分化シグナルに曝露されたヒト前駆脂肪細胞を含む間質バイオインクからバイオプリントされたものであり、かつ該腫瘍組織が腫瘍バイオインクからバイオプリントされたものである、前記三次元の人工的な生物学的腫瘍モデル。

**【請求項 7】**

前記間質組織が、

- a. 内皮細胞、
- b. 線維芽細胞、ならびに
- c. 脂肪細胞、前駆脂肪細胞、または脂肪細胞および前駆脂肪細胞の両方を含む、請求項6に記載の腫瘍モデル。

**【請求項 8】**

- a. 間質組織；および
- b. 腫瘍組織

を含む、三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルであって、該腫瘍組織が癌細胞を含み、該腫瘍組織が該間質組織と接触して、該三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成しており；

ただし、該間質組織が間質バイオインクからバイオプリントされたものであり、かつ該腫瘍組織が腫瘍バイオインクからバイオプリントされたものであり；

ただし、該間質バイオインクおよび該腫瘍バイオインクがそれぞれ、細胞の密着前に該腫瘍モデルの構造を物理的に安定化させるために利用される可逆的に架橋可能な押出化合物を含む、三次元の人工的な生物学的腫瘍モデル。

**【請求項 9】**

前記間質組織が、

- a. 内皮細胞、
- b. 線維芽細胞、ならびに
- c. 脂肪細胞、前駆脂肪細胞、または脂肪細胞および前駆脂肪細胞の両方を含む、請求項8に記載の腫瘍モデル。

**【請求項 10】**

以下の工程を含む、三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを製造する方法：

- a. ヒト前駆脂肪細胞に脂肪細胞分化シグナルを提供する工程；
- b. 間質バイオインクを調製する工程であって、該間質バイオインクが複数の間質細胞型を含み、該間質細胞型が該ヒト前駆脂肪細胞を含む、工程；
- c. 腫瘍バイオインクを調製する工程であって、該腫瘍バイオインクが1つの癌細胞型を含む、工程；
- d. 該腫瘍バイオインクが該間質バイオインクと接触するように、該間質バイオインクおよび該腫瘍バイオインクを堆積させる工程；ならびに
- e. 細胞を密着させて三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成させるために、堆積した該バイオインクを細胞培養培地中で成熟させる工程。

**【請求項 11】**

以下の工程を含む、三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを製造する方法：

- a. 可逆的に架橋可能な押出化合物および複数の間質細胞型を含む間質バイオインクを調製する工程；
- b. 可逆的に架橋可能な押出化合物および1つの癌細胞型を含む腫瘍バイオインクを調製する工程；
- c. 該腫瘍バイオインクが該間質バイオインクと接触するように、該間質バイオインクおよび該腫瘍バイオインクを堆積させる工程；
- d. 細胞の密着前に該腫瘍モデルの構造を物理的に安定化させるために、該押出化合物を架橋する工程；ならびに
- e. 該押出化合物を除去しかつ細胞を密着させて三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成させるために、堆積した該バイオインクを細胞培養培地中で成熟させる工程。

**【請求項 12】**

前記間質細胞型が、内皮細胞、線維芽細胞、および脂肪細胞または前駆脂肪細胞を含む、請求項11に記載の方法。

**【請求項 13】**

三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルのアレイであって、各腫瘍モデルが間質組織および腫瘍組織を含み、該腫瘍組織が癌細胞を含み、該腫瘍組織が該間質組織と接触して、各三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成しており；ただし、該間質組織が、分化シグナルに曝露されたヒト前駆脂肪細胞を含む間質バイオインクからバイオプリントされたものであり；ただし、該アレイが、ハイスループットアッセイにおける使用に適している、前記アレイ。

【請求項 14】

三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルのアレイであって、各腫瘍モデルが間質組織および腫瘍組織を含み、該腫瘍組織が癌細胞を含み、該腫瘍組織が該間質組織と接触して、各三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成しており；ただし、該間質組織が、可逆的に架橋可能な押出化合物を含む間質バイオインクからバイオプリントされたものであり、かつ該腫瘍組織が、可逆的に架橋可能な押出化合物を含む腫瘍バイオインクからバイオプリントされたものであり；ただし、該アレイが、ハイスループットアッセイにおける使用に適している、前記アレイ。

【請求項 15】

前記間質組織が、内皮細胞、線維芽細胞、ならびに脂肪細胞、前駆脂肪細胞、または脂肪細胞および前駆脂肪細胞の両方を含む、請求項13または14に記載のアレイ。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0019

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0019】

別の局面において、ヒト癌細胞を含む、三次元の人工的な生物学的腫瘍組織であって；ただし、該細胞が密着して三次元の人工的な生物学的腫瘍組織を形成しており；ただし、該腫瘍組織が、あらかじめ形成された足場を実質的に含んでいない、三次元の人工的な生物学的腫瘍組織が本明細書において開示される。一部の態様において、前記腫瘍組織は、癌細胞バイオインクからバイオプリントされたものである。一部の態様において、前記腫瘍組織は、線維芽細胞、内皮細胞、上皮細胞、脂肪細胞、および免疫細胞のうちの1種または複数種をさらに含む。一部の態様において、前記腫瘍組織は、その最小寸法が約250  $\mu\text{m}$  ~ 約5mmである。一部の態様において、前記腫瘍組織は、前記細胞を形質転換するために発癌物質に曝されたものである。さらなる態様において、疾患を引き起こす作用物質は、ウイルス、細菌、化学的化合物、またはそれらの組み合わせを含む。一部の態様において、細胞の製造後かつ細胞を密着させて腫瘍組織を形成させる前に、腫瘍組織を物理的に安定化させるために、架橋可能な押出化合物が用いられる。

[本発明1001]

以下を含む、三次元の人工的な生物学的乳癌モデル：

a. ヒト乳腺線維芽細胞、ヒト内皮細胞、およびヒト脂肪細胞を含む、乳房間質組織；ならびに

b. 乳癌細胞およびヒト内皮細胞を含み、該三次元の人工的な生物学的乳癌モデルを形成するように全側面を該間質組織によって囲まれている、乳癌腫瘍組織；

ただし、該間質組織が間質バイオインクからバイオプリントされたものであるか、該腫瘍組織が腫瘍バイオインクからバイオプリントされたものであるか、または該間質組織および該腫瘍組織の両方がそれらの各バイオインクからバイオプリントされたものである。

[本発明1002]

あらかじめ形成された足場を実質的に含んでいない、本発明1001の乳癌モデル。

[本発明1003]

前記乳癌細胞が乳癌細胞株に由来する、本発明1001の乳癌モデル。

[本発明1004]

前記乳癌細胞が、患者腫瘍由来の原発性癌細胞である、本発明1001の乳癌モデル。

[本発明1005]

前記乳癌腫瘍組織が、前記三次元の人工的な生物学的乳癌モデルを形成するように全側面を前記乳房間質組織によって完全に囲まれている、本発明1001の乳癌モデル。

[本発明1006]

以下の工程を含む、三次元の人工的な生物学的乳癌モデルを製造する方法：

- a. 間質バイオインクを調製する工程であって、該間質バイオインクが複数の間質細胞型を含み、該間質細胞型が押出化合物、ヒト乳腺線維芽細胞、ヒト内皮細胞、およびヒト脂肪細胞を含む、工程；
- b. 腫瘍バイオインクを調製する工程であって、該腫瘍バイオインクが押出化合物および1つの乳癌細胞型を含む、工程；
- c. 該腫瘍バイオインクが、該間質バイオインクに埋め込まれかつ全側面で該間質バイオインクと接触するように、該間質バイオインクおよび該腫瘍バイオインクを堆積させる工程；ならびに
- d. 該押出化合物を除去しかつ細胞を密着させて三次元の人工的な生物学的乳癌モデルを形成させるために、堆積した該バイオインクを細胞培養培地中で成熟させる工程。

[本発明1007]

前記バイオインクが、バイオプリンティングによって堆積する、本発明1006の方法。

[本発明1008]

前記乳癌細胞型が乳癌細胞株を含む、本発明1006の方法。

[本発明1009]

前記癌細胞型が、患者腫瘍由来の原発性乳癌細胞を含む、本発明1006の方法。

[本発明1010]

前記細胞培養培地が、ヒト線維芽細胞、ヒト内皮細胞、脂肪細胞、および癌細胞の増殖または維持を支持する可溶性構成要素を含む、本発明1006の方法。

[本発明1011]

前記間質バイオインクおよび前記腫瘍バイオインクを堆積させる工程が、

- a. 表面上に間質バイオインクの第一のシートを堆積させる工程；
  - b. 一つの側面で開いている区画を規定するために間質バイオインクの第一のシート上に間質バイオインクの連続的な境界を堆積させる工程；
  - c. 該区画内に腫瘍バイオインクの節（node）を堆積させる工程；および
  - d. 該区画の開いた側面を閉じるために間質バイオインクの第二のシートを堆積させる工程
- をさらに含む、本発明1006の方法。

[本発明1012]

個体における癌に対する治療剤を同定する方法であって、該方法が、

- a. 複数の間質細胞型を含む間質バイオインクを調製する工程；
  - b. 該個体由来の原発性癌細胞を含む腫瘍バイオインクを調製する工程；
  - c. 該腫瘍バイオインクが該間質バイオインクに埋め込まれかつ全側面で該間質バイオインクと接触するように、該間質バイオインクおよび該腫瘍バイオインクを堆積させる工程；
  - d. 細胞を密着させて三次元の人工的な生物学的構築物を形成させるために、堆積した該バイオインクを細胞培養培地中で成熟させる工程；
  - e. 該構築物に治療剤候補を適用する工程；
  - f. 該癌細胞の生存率を測定する工程；ならびに
  - g. 測定された該癌細胞の生存率に基づいて、該個体に対する治療剤を選択する工程
- を含み、ただし、該構築物の少なくとも1種の構成要素がバイオプリンティングによって堆積したものである、前記方法。

[本発明1013]

前記間質バイオインクおよび前記腫瘍バイオインクが、バイオプリンティングによって堆積する、本発明1012の方法。

[本発明1014]

前記間質細胞型が、内皮細胞、線維芽細胞、および脂肪細胞を含む、本発明1012の方法  
。

[本発明1015]

前記細胞培養培地が、ヒト線維芽細胞、ヒト内皮細胞、脂肪細胞、および癌細胞の増殖  
または維持を支持する可溶性構成要素を含む、本発明1012の方法。

[本発明1016]

前記間質バイオインクおよび前記腫瘍バイオインクを堆積させる工程が、  
a. 表面上に間質バイオインクの第一のシートを堆積させる工程；  
b. 一つの側面で開いている区画を規定するために間質バイオインクの第一のシート上に  
間質バイオインクの連続的な境界を堆積させる工程；  
c. 該区画内に腫瘍バイオインクの節を堆積させる工程；および  
d. 該区画の開いた側面を閉じるために間質バイオインクの第二のシートを堆積させる工  
程  
をさらに含む、本発明1012の方法。

[本発明1017]

個体における乳癌に対する治療剤を同定する方法であって、該方法が、  
a. 複数の乳房間質細胞型を含む乳房間質バイオインクを調製する工程；  
b. 該個体由来の原発性乳癌細胞を含む乳房腫瘍バイオインクを調製する工程；  
c. 該腫瘍バイオインクが該間質バイオインクに埋め込まれかつ全側面で該間質バイオイ  
ンクと接触するように、該間質バイオインクおよび該腫瘍バイオインクを堆積させる工程  
；  
d. 細胞を密着させて三次元の人工的な乳癌腫瘍モデルを形成させるために、堆積した該  
バイオインクを細胞培養培地中で成熟させる工程；  
e. 該乳癌腫瘍モデルに治療剤候補を適用する工程；  
f. 該乳癌細胞の生存率を測定する工程；ならびに  
g. 測定された該乳癌細胞の生存率に基づいて、該個体に対する治療剤を選択する工程  
を含み、ただし、該間質バイオインクおよび該腫瘍バイオインクがバイオプリンティング  
によって堆積したものである、前記方法。

[本発明1018]

前記間質細胞型が、内皮細胞、線維芽細胞、および脂肪細胞を含む、本発明1017の方法  
。

[本発明1019]

前記細胞培養培地が、ヒト線維芽細胞、ヒト内皮細胞、脂肪細胞、および癌細胞の増殖  
または維持を支持する可溶性構成要素を含む、本発明1017の方法。

[本発明1020]

前記間質バイオインクおよび前記腫瘍バイオインクを堆積させる工程が、  
a. 表面上に間質バイオインクの第一のシートを堆積させる工程；  
b. 一つの側面で開いている区画を規定するために間質バイオインクの第一のシート上に  
間質バイオインクの連続的な境界を堆積させる工程；  
c. 該区画内に腫瘍バイオインクの節を堆積させる工程；および  
d. 該区画の開いた側面を閉じるために間質バイオインクの第二のシートを堆積させる工  
程  
をさらに含む、本発明1017の方法。

[本発明1021]

三次元の人工的な生物学的乳癌モデルのアレイであって、各乳癌モデルが、  
a. ヒト乳腺線維芽細胞、ヒト内皮細胞、およびヒト脂肪細胞を含む、間質組織；ならび  
に  
b. 乳癌細胞およびヒト内皮細胞を含み、各三次元の人工的な生物学的乳癌モデルを形成  
するように全側面を該間質組織によって囲まれている、腫瘍組織

を含み、ただし、該間質組織、該腫瘍組織、または該間質組織および該腫瘍組織の両方がバイオプリントされたものであり；ただし、該アレイが、ハイスループットアッセイにおける使用に適している、三次元の人工的な生物学的乳癌モデルのアレイ。

[本発明1022]

各乳癌モデルが、あらかじめ形成された足場を実質的に含んでいない、本発明1021のアレイ。

[本発明1023]

各乳癌モデルが、マルチウェルプレートのウェル内にある、本発明1021のアレイ。

[本発明1024]

前記乳癌細胞が、患者の腫瘍由来の原発性癌細胞である、本発明1021のアレイ。

[本発明1025]

前記腫瘍組織が、各三次元の人工的な生物学的乳癌モデルを形成するように全側面を間質組織によって完全に囲まれている、本発明1021のアレイ。

[本発明1026]

a. 間質組織；および

b. 腫瘍組織

を含む、三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルであって、該腫瘍組織が癌細胞を含み、該腫瘍組織が該間質組織と接触して、該三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成しており；

ただし、該間質組織が、分化シグナルに曝露されたヒト前駆脂肪細胞を含む間質バイオインクからバイオプリントされたものであり、かつ該腫瘍組織が腫瘍バイオインクからバイオプリントされたものである、前記三次元の人工的な生物学的腫瘍モデル。

[本発明1027]

前記腫瘍組織が、三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成するように全側面を前記間質組織によって囲まれている、本発明1001の腫瘍モデル。

[本発明1028]

前記腫瘍組織が、三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成するように全側面を前記間質組織によって完全に囲まれている、本発明1002の腫瘍モデル。

[本発明1029]

あらかじめ形成された足場を実質的に含んでいない、本発明1001の腫瘍モデル。

[本発明1030]

前記間質組織が、

a. 内皮細胞、

b. 線維芽細胞、ならびに

c. 脂肪細胞、前駆脂肪細胞、または脂肪細胞および前駆脂肪細胞の両方

を含む、本発明1001の腫瘍モデル。

[本発明1031]

前記腫瘍組織が内皮細胞を含む、本発明1001の腫瘍モデル。

[本発明1032]

前記腫瘍モデルがヒト乳癌モデルであり、前記間質組織が、ヒト乳腺線維芽細胞、ヒト内皮細胞、およびヒト脂肪細胞を含むヒト乳房間質であり、かつ前記腫瘍組織がヒト乳房腫瘍である、本発明1001の腫瘍モデル。

[本発明1033]

a. 間質組織；および

b. 腫瘍組織

を含む、三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルであって、該腫瘍組織が癌細胞を含み、該腫瘍組織が該間質組織と接触して、該三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成しており；

ただし、該間質組織が間質バイオインクからバイオプリントされたものであり、かつ該腫瘍組織が腫瘍バイオインクからバイオプリントされたものであり；

ただし、該間質バイオインクおよび該腫瘍バイオインクがそれぞれ、細胞の密着前に該腫瘍モデルの構造を物理的に安定化させるために利用される可逆的に架橋可能な押出化合物を含む、三次元の人工的な生物学的腫瘍モデル。

[本発明1034]

前記腫瘍組織が、前記三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成するように全側面を前記間質組織によって囲まれている、本発明1008の腫瘍モデル。

[本発明1035]

前記腫瘍組織が、前記三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成するように全側面を前記間質組織によって完全に囲まれている、本発明1009の腫瘍モデル。

[本発明1036]

あらかじめ形成された足場を実質的に含んでいない、本発明1008の腫瘍モデル。

[本発明1037]

前記間質組織が、

a．内皮細胞、

b．線維芽細胞、ならびに

c．脂肪細胞、前駆脂肪細胞、または脂肪細胞および前駆脂肪細胞の両方を含む、本発明1008の腫瘍モデル。

[本発明1038]

前記腫瘍組織が内皮細胞を含む、本発明1008の腫瘍モデル。

[本発明1039]

前記腫瘍モデルがヒト乳癌モデルであり、前記間質組織が、ヒト乳腺線維芽細胞、ヒト内皮細胞、およびヒト脂肪細胞を含むヒト乳房間質であり、かつ前記腫瘍組織がヒト乳房腫瘍である、本発明1008の腫瘍モデル。

[本発明1040]

以下の工程を含む、三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを製造する方法：

a．ヒト前駆脂肪細胞に脂肪細胞分化シグナルを提供する工程；

b．間質バイオインクを調製する工程であって、該間質バイオインクが複数の間質細胞型を含み、該間質細胞型が該ヒト前駆脂肪細胞を含む、工程；

c．腫瘍バイオインクを調製する工程であって、該腫瘍バイオインクが1つの癌細胞型を含む、工程；

d．該腫瘍バイオインクが該間質バイオインクと接触するように、該間質バイオインクおよび該腫瘍バイオインクを堆積させる工程；ならびに

e．細胞を密着させて三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成させるために、堆積した該バイオインクを細胞培養培地中で成熟させる工程。

[本発明1041]

前記腫瘍組織が、全側面を間質組織によって囲まれる、本発明1015の方法。

[本発明1042]

前記腫瘍組織が、全側面を間質組織によって完全に囲まれる、本発明1016の方法。

[本発明1043]

前記バイオインクが、バイオプリンティングによって堆積する、本発明1015の方法。

[本発明1044]

前記間質細胞型が、内皮細胞、線維芽細胞、および脂肪細胞をさらに含む、本発明1015の方法。

[本発明1045]

前記腫瘍バイオインクが内皮細胞をさらに含む、本発明1015の方法。

[本発明1046]

前記間質バイオインクが、1mLあたり5000万個～3億個の細胞を含む、本発明1015の方法

。

[本発明1047]

前記腫瘍バイオインクが、1mLあたり5000万個～3億個の細胞を含む、本発明1015の方法



。

[本発明1048]

前記細胞培養培地が、ヒト線維芽細胞、ヒト内皮細胞、脂肪細胞、および癌細胞の増殖、維持、または分化を支持する可溶性構成要素を含む、本発明1015の方法。

[本発明1049]

前記腫瘍モデルがヒト乳癌モデルであり、前記間質バイオインクが、ヒト乳腺線維芽細胞、ヒト内皮細胞、およびヒト脂肪細胞を含むヒト乳房間質バイオインクであり、かつ前記腫瘍バイオインクがヒト乳房腫瘍バイオインクである、本発明1015の方法。

[本発明1050]

以下の工程を含む、三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを製造する方法：

- a. 可逆的に架橋可能な押出化合物および複数の間質細胞型を含む間質バイオインクを調製する工程；
- b. 可逆的に架橋可能な押出化合物および1つの癌細胞型を含む腫瘍バイオインクを調製する工程；
- c. 該腫瘍バイオインクが該間質バイオインクと接触するように、該間質バイオインクおよび該腫瘍バイオインクを堆積させる工程；
- d. 細胞の密着前に該腫瘍モデルの構造を物理的に安定化させるために、該押出化合物を架橋する工程；ならびに
- e. 該押出化合物を除去しかつ細胞を密着させて三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成させるために、堆積した該バイオインクを細胞培養培地中で成熟させる工程。

[本発明1051]

前記腫瘍組織が、全側面を前記間質組織によって囲まれる、本発明1025の方法。

[本発明1052]

前記腫瘍組織が、全側面を前記間質組織によって完全に囲まれる、本発明1026の方法。

[本発明1053]

前記バイオインクがバイオプリンティングによって堆積する、本発明1025の方法。

[本発明1054]

前記押出化合物がアルギネートを含む、本発明1025の方法。

[本発明1055]

前記押出化合物が酵素消化によって除去可能である、本発明1025の方法。

[本発明1056]

細胞の密着後に、架橋された前記押出化合物を酵素分解によって除去する工程をさらに含む、本発明1030の方法。

[本発明1057]

前記間質細胞型が、内皮細胞、線維芽細胞、および脂肪細胞または前駆脂肪細胞を含む、本発明1025の方法。

[本発明1058]

前記腫瘍バイオインクが内皮細胞をさらに含む、本発明1025の方法。

[本発明1059]

前記間質バイオインクが、1mLあたり5000万個～3億個の細胞を含む、本発明1025の方法

。

[本発明1060]

前記腫瘍バイオインクが、1mLあたり5000万個～3億個の細胞を含む、本発明1025の方法

。

[本発明1061]

前記細胞培養培地が、ヒト線維芽細胞、ヒト内皮細胞、脂肪細胞、および癌細胞の増殖、維持、または分化を支持する可溶性構成要素を含む、本発明1025の方法。

[本発明1062]

前記腫瘍モデルがヒト乳癌モデルであり、前記間質バイオインクが、ヒト乳腺線維芽細胞、ヒト内皮細胞、およびヒト脂肪細胞を含むヒト乳房間質バイオインクであり、かつ前

記腫瘍バイオインクがヒト乳房腫瘍バイオインクである、本発明1025の方法。

[本発明1063]

三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルのアレイであって、各腫瘍モデルが間質組織および腫瘍組織を含み、該腫瘍組織が癌細胞を含み、該腫瘍組織が該間質組織と接触して、各三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成しており；ただし、該間質組織が、分化シグナルに曝露されたヒト前駆脂肪細胞を含む間質バイオインクからバイオプリントされたものであり；ただし、該アレイが、ハイスループットアッセイにおける使用に適している、前記アレイ。

[本発明1064]

前記腫瘍組織が、各三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成するように全側面を前記間質組織によって囲まれている、本発明1038のアレイ。

[本発明1065]

前記腫瘍組織が、各三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成するように全側面を前記間質組織によって完全に囲まれている、本発明1039のアレイ。

[本発明1066]

各腫瘍モデルが、あらかじめ形成された足場を実質的に含んでいない、本発明1038のアレイ。

[本発明1067]

各腫瘍モデルが、マルチウェルプレートのウェル内にある、本発明1038のアレイ。

[本発明1068]

前記間質組織が、内皮細胞、線維芽細胞、ならびに脂肪細胞、前駆脂肪細胞、または脂肪細胞および前駆脂肪細胞の両方を含む、本発明1038のアレイ。

[本発明1069]

前記腫瘍組織が内皮細胞を含む、本発明1038のアレイ。

[本発明1070]

各腫瘍モデルがヒト乳癌モデルであり、前記間質組織が、ヒト乳腺線維芽細胞、ヒト内皮細胞、およびヒト脂肪細胞を含むヒト乳房間質であり、かつ前記腫瘍組織がヒト乳房腫瘍である、本発明1038のアレイ。

[本発明1071]

三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルのアレイであって、各腫瘍モデルが間質組織および腫瘍組織を含み、該腫瘍組織が癌細胞を含み、該腫瘍組織が該間質組織と接触して、各三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成しており；ただし、該間質組織が、可逆的に架橋可能な押出化合物を含む間質バイオインクからバイオプリントされたものであり、かつ該腫瘍組織が、可逆的に架橋可能な押出化合物を含む腫瘍バイオインクからバイオプリントされたものであり；ただし、該アレイが、ハイスループットアッセイにおける使用に適している、前記アレイ。

[本発明1072]

前記腫瘍組織が、各三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成するように全側面を前記間質組織によって囲まれている、本発明1046のアレイ。

[本発明1073]

前記腫瘍組織が、各三次元の人工的な生物学的腫瘍モデルを形成するように全側面を前記間質組織によって完全に囲まれている、本発明1047のアレイ。

[本発明1074]

各腫瘍モデルが、あらかじめ形成された足場を実質的に含んでいない、本発明1046のアレイ。

[本発明1075]

各腫瘍モデルが、マルチウェルプレートのウェル内にある、本発明1046のアレイ。

[本発明1076]

前記間質組織が、内皮細胞、線維芽細胞、ならびに脂肪細胞、前駆脂肪細胞、または脂肪細胞および前駆脂肪細胞の両方を含む、本発明1046のアレイ。

[本発明1077]

前記腫瘍組織が内皮細胞を含む、本発明1046のアレイ。

[本発明1078]

各腫瘍モデルがヒト乳癌モデルであり、前記間質組織が、ヒト乳腺線維芽細胞、ヒト内皮細胞、およびヒト脂肪細胞を含むヒト乳房間質であり、かつ前記腫瘍組織がヒト乳房腫瘍である、本発明1046のアレイ。