

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2014113641/10, 12.09.2012

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

12.09.2011 US 61/533,757;

12.09.2011 US 61/533,753;

12.09.2011 US 61/533,761

(43) Дата публикации заявки: 20.10.2015 Бюл. № 29

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 14.04.2014

(86) Заявка РСТ:

US 2012/054923 (12.09.2012)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2013/040078 (21.03.2013)

Адрес для переписки:

119019, Москва, Гоголевский бульвар, 11, этаж  
3, "Гоулингз Интернэшнл Инк.", Соболеву А.Ю.

(71) Заявитель(и):

**ОРГАНОВО, ИНК. (US)**

(72) Автор(ы):

**МЕРФИ Кейт (US),****КАТИВАЛА Чираг (US),****ДОРФМАН Скотт (US),****ШЕФЕРД Бенджамин (US),****ПРЕСНЕЛЛ Шэрон (US),****РОББИНС Джастин (US)**(54) **СКОНСТРУИРОВАННЫЕ ТКАНИ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ИССЛЕДОВАНИЯХ IN VITRO,  
ИХ МАССИВЫ И СПОСОБЫ ИХ ИЗГОТОВЛЕНИЯ**

## (57) Формула изобретения

1. Живая трехмерная тканевая конструкция, предназначенная для использования in vitro, содержащая: адгезивные клетки по меньшей мере одного типа, при этом адгезивные клетки по меньшей мере одного типа являются сцепленными и слившимися с формированием живой трехмерной тканевой конструкции, при этом тканевая конструкция имеет многослойную архитектуру, которая не представляет собой сосудистую трубку, при условии, что по меньшей мере один компонент тканевой конструкции напечатан на биопринтере.

2. Тканевая конструкция по п. 1, которая, по существу, не содержит любого предварительно сформированного каркаса во время биопечати или во время использования.

3. Тканевая конструкция по п. 1, которая содержит по меньшей мере один слой, содержащий множество типов клеток, при этом типы клеток пространственно расположены по отношению друг к другу с образованием планарной геометрии.

4. Тканевая конструкция по п. 1, которая содержит множество слоев, при этом, по меньшей мере, один слой композиционно или архитектурно отличается, по меньшей мере, от одного другого слоя с образованием слоистой геометрии.

5. Тканевая конструкция по п. 1, дополнительно содержащая неадгезивные типы

клеток.

6. Тканевая конструкция по п. 1, которая прикреплена к биосовместимой поверхности.

7. Тканевая конструкция по п. 6, где биосовместимая поверхность представляет собой пористую мембрану.

8. Тканевая конструкция по п. 6, где биосовместимая поверхность покрыта одним или более из следующего: биосовместимым гидрогелем, белком, химическим веществом, пептидом, антителами или факторами роста.

9. Тканевая конструкция по п. 6, которую подвергают усилию сдвига, вызванному потоком жидкости, на одной или более сторонах.

10. Тканевая конструкция по п. 1, которая имеет наименьший размер, по меньшей мере, примерно 25 мкм во время биопечати.

11. Тканевая конструкция по п. 10, которая имеет наибольший размер не больше, чем примерно 3 см во время биопечати.

12. Тканевая конструкция по п. 1, предназначенная для использования в анализах *in vitro*.

13. Тканевая конструкция по п. 12, предназначенная для использования в тестировании лекарственных средств.

14. Тканевая конструкция по п. 1, в которой адгезивные клетки представляют собой дифференцированные клетки.

15. Тканевая конструкция по п. 1, в которой адгезивные клетки представляют собой недифференцированные клетки.

16. Тканевая конструкция по п. 1, в которой адгезивные клетки происходят из ткани, выбранной из группы, состоящей из: ткани печени, желудочно-кишечного тракта, поджелудочной железы, почек, легкого, трахеальной ткани, сосудистой ткани, скелетной мышечной ткани, ткани сердца, кожной ткани, гладкомышечной ткани, соединительной ткани, ткани роговицы, ткани мочеполовой системы, ткани молочной железы, ткани репродуктивной системы, эндотелиальной ткани, эпителиальной ткани, фибробластов, нервной ткани, шванновских клеток, жировой ткани, костной ткани, костного мозга, хрящевой ткани, перицитов, мезотелиальной ткани, эндокринной ткани, стромальной ткани, лимфатической ткани, крови, эндодермальной ткани, эктодермальной ткани и мезодермальной ткани.

17. Тканевая конструкция по п. 1, которая представляет собой сегмент сосудистой стенки.

18. Массив живых трехмерных тканевых конструкций, при этом каждая тканевая конструкция содержит: адгезивные клетки по меньшей мере одного типа, при этом адгезивные клетки по меньшей мере одного типа является сцепленными и слившимися с формированием живой трехмерной тканевой конструкции, при этом каждая тканевая конструкция имеет многослойную архитектуру, при этом каждая тканевая конструкция предназначена для использования *in vitro*, при условии, что, по меньшей мере, один компонент каждой тканевой конструкции напечатан на биопринтере.

19. Массив по п. 18, в котором каждая тканевая конструкция, по существу, не содержит любого предварительно сформированного каркаса во время биопечати или во время использования.

20. Массив по п. 18, в котором адгезивные клетки выбраны из группы, состоящей из: клеток печени, клеток желудочно-кишечного тракта, клеток поджелудочной железы, клеток почек, клеток легких, клеток трахеи, сосудистых клеток, клеток скелетных мышц, клеток сердца, клеток кожи, гладкомышечных клеток, клеток соединительной ткани, клеток роговицы, клеток урогенитального тракта, клеток молочной железы, клеток репродуктивной системы, эндотелиальных клеток, эпителиальных клеток, фибробластов, нервных клеток, шванновских клеток, жировых клеток, клеток костей,

клеток костного мозга, клеток хрящей, перицитов, мезотелиальных клеток, клеток, происходящих из эндокринной ткани, стромальных клеток, стволовых клеток, клеток-предшественников, лимфатических клеток, клеток крови, клеток, имеющих эндодермальное происхождение, клеток, имеющих эктодермальное происхождение, клеток, имеющих мезодермальное происхождение, и их комбинаций.

21. Массив по п. 18, в котором все тканевые конструкции в пределах массива являются, по существу, сходными.

22. Массив по п. 18, в котором одна или более тканевых конструкций в пределах массива являются уникальными.

23. Массив по п. 18, в котором одна или более индивидуальных тканей в пределах массива представляют ткани человека, выбранные из группы, состоящей из: кровеносного или лимфатического сосуда, мышечной ткани, ткани матки, нервной ткани, ткани слизистой оболочки, мезотелиальной ткани, ткани сальника, ткани роговицы, кожи, печени, почки, сердца, трахеи, легких, кости, костного мозга, жировой ткани, соединительной ткани, ткани мочевого пузыря, молочной железы, поджелудочной железы, селезенки, мозга, пищевода, желудка, кишечника, толстой кишки, прямой кишки, яичника, предстательной железы, ткани эндокринной железы, эндодермальной, мезодермальной и эктодермальной ткани.

24. Массив по п. 18, в котором каждая тканевая конструкция находится в лунке биосовместимого многолуночного контейнера.

25. Массив по п. 24, в котором лунки покрыты одним или более из следующего: биосовместимым гидрогелем, белком, химическим веществом, пептидом, антителами или факторами роста.

26. Массив по п. 24, в котором каждая тканевая конструкция помещена на пористую биосовместимую мембрану в лунках контейнера.

27. Массив по п. 24, в котором контейнер совместим с автоматизированным или полуавтоматизированным процессом скрининга лекарственного средства.

28. Массив по п. 18, в котором каждая тканевая конструкция прикреплена к биосовместимой поверхности.

29. Массив по п. 28, в котором биосовместимая поверхность представляет собой пористую мембрану.

30. Массив по п. 28, в котором биосовместимая поверхность покрыта одним или более из следующего: биосовместимым гидрогелем, белком, химическим веществом, антителами или факторами роста.

31. Массив по п. 28, в котором каждую тканевую конструкцию подвергают усилию сдвига, вызванному потоком жидкости, на одной или более сторонах.

32. Массив по п. 18, в котором каждая тканевая конструкция в пределах массива поддерживается независимо в культуре.

33. Массив по п. 18, в котором две или более индивидуальных тканевых конструкции в пределах массива обмениваются растворимыми факторами.

34. Массив по п. 18, предназначенный для использования в анализах *in vitro*.

35. Массив по п. 34, предназначенный для использования в тестировании лекарственных средств.

36. Массив по п. 18, в котором, по меньшей мере, одна ткань в пределах массива представляет собой сегмент сосудистой стенки.

37. Живая трехмерная тканевая конструкция, содержащая: один или более слоев, при этом каждый слой содержит один или более типов клеток, при этом один или более слоев являются сцепленными с образованием живой трехмерной тканевой конструкции, при этом тканевая конструкция характеризуется тем, что содержит, по меньшей мере, одно из следующего:

а. по меньшей мере, один слой, содержащий множество типов клеток, при этом типы клеток пространственно расположены по отношению друг к другу с образованием планарной геометрии; и

б. множество слоев, при этом, по меньшей мере, один слой композиционно или архитектурно отличается, по меньшей мере, от одного другого слоя с образованием слоистой геометрии.

38. Тканевая конструкция по п. 37, в которой, по меньшей мере, один компонент тканевой конструкции напечатан на биопринтере.

39. Тканевая конструкция по п. 38, которая, по существу, не содержит любого предварительно сформированного каркаса во время биопечати или во время использования.

40. Тканевая конструкция по п. 37, предназначенная для использования в анализах *in vitro*.

41. Тканевая конструкция по п. 40, предназначенная для использования в тестировании лекарственных средств.

42. Способ конструирования живой трехмерной тканевой конструкции, включающий следующие стадии:

а. биопечать биочернил, содержащих, по меньшей мере, один тип адгезивных клеток внутрь или на поверхность формы; и

б. слияние биочернил в живую трехмерную тканевую конструкцию;  
при условии, что тканевая конструкция предназначена для использования *in vitro* и не представляет собой сосудистую трубку.

43. Способ по п. 42, в котором тканевая конструкция не содержит любого предварительно сформированного каркаса во время биопечати или во время использования.

44. Способ по п. 42, в котором форма напечатана на биопринтере.

45. Способ по п. 44, в котором форма напечатана на биопринтере, по существу, одновременно с биочернилами.

46. Способ по п. 42, дополнительно включающий стадию растворения формы.

47. Способ конструирования живой трехмерной тканевой конструкции, включающий следующие стадии:

а. приготовление одного или более сцепленных многоклеточных агрегатов, содержащих клетки млекопитающего;

б. помещение указанного одного или более сцепленных многоклеточных агрегатов на подложку с формированием, по меньшей мере, одного из следующего:

i. по меньшей мере, одного слоя, содержащего множество типов клеток, при этом типы клеток пространственно расположены по отношению друг к другу с образованием планарной геометрии; и

ii. множества слоев, при этом, по меньшей мере, один слой композиционно или архитектурно отличается, по меньшей мере, от одного другого слоя с образованием слоистой геометрии;

с. инкубацию указанного одного или более многоклеточных агрегатов для обеспечения их сцепления и формирования живой трехмерной тканевой конструкции.

48. Способ по п. 47, в котором, по меньшей мере, один компонент тканевой конструкции напечатан на биопринтере.

49. Способ по п. 48, в котором тканевая конструкция не содержит любого предварительно сформированного каркаса во время биопечати или во время использования.

50. Способ конструирования массива живых трехмерных тканевых конструкций, включающий следующие стадии:

а. приготовление сцепленных многоклеточных агрегатов, содержащих клетки млекопитающего;

б. помещение указанных сцепленных многоклеточных агрегатов на биосовместимую подложку;

при этом указанные агрегаты пространственно расположены в форму, пригодную для массива ткани; и

с. инкубацию указанных многоклеточных агрегатов для обеспечения их сцепления и формирования живых трехмерных тканевых конструкций.

51. Способ по п. 50, в котором, по меньшей мере, один компонент каждой тканевой конструкции напечатан на биопринтере.

52. Способ по п. 51, в котором каждая тканевая конструкция, по существу, не содержит любого предварительно сформированного каркаса во время биопечати или во время использования.