

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2017110275, 06.10.2015

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
06.10.2014 US 62/060,416;  
30.03.2015 US 62/140,285

(43) Дата публикации заявки: 15.11.2018 Бюл. № 32

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 10.05.2017

(86) Заявка РСТ:  
US 2015/054315 (06.10.2015)(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2016/057571 (14.04.2016)Адрес для переписки:  
190000, Санкт-Петербург, BOX-1125,  
"ПАТЕНТИКА"(71) Заявитель(и):  
ОРГАНОВО, ИНК. (US)(72) Автор(ы):  
НГУЕН Дебора Линн Грин (US),  
КИНГ Шелби Мари (US),  
ПРЕСНЕЛЛ Шэрон К. (US)

RU 2017110275 A

## (54) СКОНСТРУИРОВАННЫЕ ТКАНИ ПОЧКИ, МАТРИЦЫ НА ИХ ОСНОВЕ И СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ

## (57) Формула изобретения

1. Трехмерная сконструированная биологическая модель канальца почки, включающая:

а. слой интерстициальной ткани почки, указанная интерстициальная ткань почки содержит фибробласты и эндотелиальные клетки почки; и

б. слой эпителиальной ткани почки, указанная эпителиальная ткань почки содержит эпителиальные клетки канальцев почки, эпителиальная ткань почки находится в контакте со слоем интерстициальной ткани почки с образованием трехмерной сконструированной биологической модели канальца почки;

при условии, что указанная интерстициальная ткань включает биочернила с интерстициальными клетками, указанная эпителиальная ткань включает биочернила с эпителиальными клетками, и они образуют трехмерную сконструированную биологическую модель канальца почки.

2. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что слой интерстициальной ткани почки имеет апикальную и базолатеральную поверхности.

3. Модель канальца почки по п. 2, отличающаяся тем, что слой эпителиальной ткани почки находится в контакте с апикальной поверхностью слоя интерстициальной ткани почки.

4. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что слой эпителиальной ткани почки по существу состоит из эпителиальных клеток канальцев почки.
5. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что слой эпителиальной ткани почки по существу состоит из первичных эпителиальных клеток канальцев почки.
6. Модель канальца почки по п. 5, отличающаяся тем, что указанные первичные эпителиальные клетки канальцев почки выделены из субъекта, страдающего заболеванием, которое нарушает функцию почек.
7. Модель канальца почки по п. 5, отличающаяся тем, что указанные первичные эпителиальные клетки канальцев почки выделены из субъекта, страдающего поликистозной болезнью почек.
8. Модель канальца почки по п. 5, отличающаяся тем, что указанные первичные клетки канальцев почки выделены из субъекта, страдающего сахарным диабетом II типа.
9. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что слой эпителиальной ткани почки содержит клетки почечноклеточной карциномы.
10. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что слой эпителиальной ткани почки по существу представляет собой монослой.
11. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что слой интерстициальной ткани почки по существу представляет собой монослой.
12. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что слой эпителиальной ткани почки находится в непрерывном контакте со слоем интерстициальной ткани почки.
13. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что слой эпителиальной ткани почки находится в контакте и покрывает на 50% или более апикальную поверхность слоя интерстициальной ткани почки.
14. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что слой эпителиальной ткани почки находится в контакте и покрывает на 70% или более апикальную поверхность слоя интерстициальной ткани почки.
15. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что слой эпителиальной ткани почки находится в контакте и покрывает на 90% или более апикальную поверхность слоя интерстициальной ткани почки.
16. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что по меньшей мере 50% клеток в слое эпителиальной ткани почки образуют плотные контакты с другими клетками слоя эпителиальной ткани почки.
17. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что по меньшей мере 70% клеток в слое эпителиальной ткани почки образуют плотные контакты с другими клетками слоя эпителиальной ткани почки.
18. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что по меньшей мере 90% клеток в слое эпителиальной ткани почки образуют плотные контакты с другими клетками слоя эпителиальной ткани почки.
19. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что толщина модели канальца почки составляет от 50 до 500 мкм.
20. Модель канальца почки по п. 19, отличающаяся тем, что толщина модели канальца почки составляет приблизительно 100 мкм.
21. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что слой эпителиальной ткани почки дополнительно содержит соединение для экструзии.
22. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что указанные фибробласты и эндотелиальные клетки присутствуют в слое интерстициальной ткани почки при соотношении, составляющем от приблизительно 95:5 до приблизительно 5:95 фибробластов к эндотелиальным клеткам.
23. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что указанные фибробласты

и эндотелиальные клетки присутствуют в слое интерстициальной ткани почки при соотношении, составляющем от приблизительно 75:25 до приблизительно 25:75 фибробластов к эндотелиальным клеткам.

24. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что указанные фибробласты и эндотелиальные клетки присутствуют в слое интерстициальной ткани почки при соотношении, составляющем от приблизительно 60:40 до приблизительно 40:60 фибробластов к эндотелиальным клеткам.

25. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что указанные фибробласты и эндотелиальные клетки присутствуют в слое интерстициальной ткани почки при соотношении, составляющем приблизительно 50:50 фибробластов к эндотелиальным клеткам.

26. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что слой интерстициальной ткани почки дополнительно содержит секреторные клетки.

27. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что слой интерстициальной ткани почки дополнительно содержит иммунные клетки.

28. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что слой интерстициальной ткани почки дополнительно содержит соединение для экструзии.

29. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что слой интерстициальной ткани почки содержит клубочковые клетки.

30. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что модель по существу не имеет заранее сформированного каркаса на момент применения.

31. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что указанные фибробласты почки, эндотелиальные клетки и эпителиальные клетки канальцев почки представляют собой клетки млекопитающих.

32. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что любой из слоев интерстициальной ткани почки или эпителиальной ткани почки содержит по меньшей мере 30% живых клеток по объему.

33. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что любой из слоев интерстициальной ткани почки или эпителиальной ткани почки содержит по меньшей мере 70% живых клеток по объему.

34. Модель канальца почки по п. 1, отличающаяся тем, что любой из слоев интерстициальной ткани почки или эпителиальной ткани почки содержит по меньшей мере 90% живых клеток по объему.

35. Модель канальца почки по п. 1, по существу являющаяся плоской.

36. Модель канальца почки по п. 1, которая по существу имеет однородную толщину.

37. Модель канальца почки по п. 1, содержащая по меньшей мере один компонент, который напечатан на биопринтере.

38. Модель канальца почки по п. 37, содержащая по меньшей мере один компонент, который напечатан на биопринтере путем экструзии.

39. Модель канальца почки по п. 1, дополнительно содержащая биосовместимую мембрану.

40. Модель канальца почки по п. 39, дополнительно содержащая биосовместимую мембрану с размером пор, большим чем приблизительно 0,4 мкм.

41. Модель канальца почки по п. 39, дополнительно содержащая биосовместимую мембрану с размером пор, составляющим приблизительно 1 мкм.

42. Множество моделей канальца почки по п. 1, сконфигурированные с получением матрицы.

43. Множество моделей канальца почки по п. 42, сконфигурированные таким образом, чтобы обеспечить пространство от приблизительно 20 мкм до приблизительно 100 мкм между каждой моделью канальца почки.

44. Способ производства трехмерной сконструированной биологической модели канальца почки, указанный способ включает:

а. получение биочернил с интерстициальными клетками почки, указанные биочернила с интерстициальными клетками содержат множество клеток интерстициального типа, указанные клетки интерстициального типа включают фибробласти и эндотелиальные клетки почки; получение биочернил с эпителиальными клетками почки, указанные биочернила с эпителиальными клетками содержат эпителиальные клетки канальцев почки;

б. нанесение биочернил с интерстициальными клетками почки и биочернил с эпителиальными клетками почки таким образом, что указанные биочернила с эпителиальными клетками почки образуют слой на по меньшей мере одной поверхности слоя биочернил с интерстициальными клетками почки; и

с. выдерживание нанесенных биочернил в средах для культуры клеток, чтобы позволить клеткам срастись с получением трехмерной сконструированной биологической модели канальца почки.

45. Способ по п. 44, отличающийся тем, что нанесение биочернил с интерстициальной тканью почки образует слой интерстициальной ткани почки с апикальной и базолатеральной поверхностями.

46. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с эпителиальными клетками почки наносят таким образом, что они контактируют с апикальной поверхностью указанного слоя интерстициальной ткани почки.

47. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с эпителиальными клетками почки по существу состоят из эпителиальных клеток канальцев почки.

48. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с эпителиальными клетками почки по существу состоят из первичных эпителиальных клеток канальцев почки.

49. Способ по п. 48, отличающийся тем, что указанные первичные эпителиальные клетки канальцев почки выделены из субъекта, страдающего заболеванием, которое нарушает функцию почек.

50. Способ по п. 48, отличающийся тем, что указанные первичные эпителиальные клетки канальцев почки выделены из субъекта, страдающего поликистозной болезнью почек.

51. Способ по п. 48, отличающийся тем, что указанные первичные эпителиальные клетки канальцев почки выделены из субъекта, страдающего сахарным диабетом II типа.

52. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с эпителиальными клетками почки содержат клетки почечноклеточной карциномы.

53. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с эпителиальными клетками почки наносят в виде монослоя.

54. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с интерстициальной тканью почки наносят в виде монослоя.

55. Способ по п. 44, отличающийся тем, что слой эпителиальной ткани почки наносят таким образом, чтобы он находился в непрерывном контакте со слоем интерстициальной ткани почки.

56. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с эпителиальными клетками почки образуют слой, который покрывает на 50% или более апикальную поверхность слоя интерстициальной ткани почки.

57. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с эпителиальными клетками почки образуют слой, который покрывает на 70% или более апикальную поверхность слоя интерстициальной ткани почки.

58. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с эпителиальными клетками

почки образуют слой, который покрывает на 90% или более апикальную поверхность слоя интерстициальной ткани почки.

59. Способ по п. 44, отличающийся тем, что по меньшей мере 50% эпителиальных клеток почки эпителиального слоя почки образуют плотные контакты с другими эпителиальными клетками почки.

60. Способ по п. 44, отличающийся тем, что по меньшей мере 70% эпителиальных клеток почки эпителиального слоя почки образуют плотные контакты с другими эпителиальными клетками почки.

61. Способ по п. 44, отличающийся тем, что по меньшей мере 90% эпителиальных клеток почки эпителиального слоя почки образуют плотные контакты с другими эпителиальными клетками почки.

62. Способ по п. 44, отличающийся тем, что толщина модели канальца почки составляет от 50 до 500 мкм.

63. Способ по п. 44, отличающийся тем, что толщина модели канальца почки составляет приблизительно 100 мкм.

64. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с эпителиальными клетками почки дополнительно содержат соединение для экструзии.

65. Способ по п. 44, отличающийся тем, что указанные фибробласты и эндотелиальные клетки присутствуют в биочернилах с интерстициальными клетками почки при соотношении, составляющем от приблизительно 95:5 до приблизительно 5:95 фибробластов к эндотелиальным клеткам.

66. Способ по п. 44, отличающийся тем, что указанные фибробласты и эндотелиальные клетки присутствуют в биочернилах с интерстициальными клетками почки при соотношении, составляющем от приблизительно 75:25 до приблизительно 25:75 фибробластов к эндотелиальным клеткам.

67. Способ по п. 44, отличающийся тем, что указанные фибробласты и эндотелиальные клетки присутствуют в биочернилах с интерстициальными клетками почки при соотношении, составляющем от приблизительно 60:40 до приблизительно 40:60 фибробластов к эндотелиальным клеткам.

68. Способ по п. 44, отличающийся тем, что указанные фибробласты и эндотелиальные клетки присутствуют в биочернилах с интерстициальными клетками почки при соотношении, составляющем приблизительно 50:50 фибробластов к эндотелиальным клеткам.

69. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с интерстициальными клетками почки дополнительно содержат секреторные клетки.

70. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с интерстициальными клетками почки дополнительно содержат иммунные клетки.

71. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с интерстициальными клетками почки дополнительно содержат соединение для экструзии.

72. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с интерстициальными клетками почки содержат клубочковые клетки.

73. Способ по п. 44, отличающийся тем, что модель производят по существу не имеющей заранее сформированного каркаса.

74. Способ по п. 44, отличающийся тем, что указанные фибробласты почки, эндотелиальные клетки и эпителиальные клетки канальцев почки представляют собой клетки млекопитающих.

75. Способ по п. 44, отличающийся тем, что любые из биочернил с интерстициальными клетками почки или биочернил с эпителиальными клетками почки образуют плоский слой после нанесения.

76. Способ по п. 44, отличающийся тем, что модель канальца почки по существу

имеет равномерную толщину.

77. Способ по п. 44, дополнительно включающий нанесение биочернил с интерстициальными клетками почки на биосовместимую мембрану.

78. Способ по п. 44, дополнительно включающий нанесение биочернил с интерстициальными клетками почки на биосовместимую мембрану с размером пор, большим чем 0,4 мкм.

79. Способ по п. 44, дополнительно включающий нанесение биочернил с интерстициальными клетками почки на биосовместимую мембрану с размером пор, составляющим приблизительно 1 мкм.

80. Способ по п. 44, отличающийся тем, что трехмерные сконструированные биологические модели канальца почки нанесены таким образом, что они образуют матрицу.

81. Способ по п. 44, отличающийся тем, что трехмерные сконструированные биологические модели канальца почки нанесены таким образом, что они образуют матрицу, сконфигурированную таким образом, чтобы обеспечить пространство от приблизительно 20 мкм до приблизительно 100 мкм между каждой моделью канальца почки.

82. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с интерстициальными клетками почки содержат по меньшей мере 30% живых клеток по объему.

83. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с интерстициальными клетками почки содержат по меньшей мере 70% живых клеток по объему.

84. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с интерстициальными клетками почки содержат по меньшей мере 90% живых клеток по объему.

85. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с интерстициальными клетками почки наносят путем экструзионной биопечати.

86. Способ по п. 44, отличающийся тем, что биочернила с эпителиальными клетками почки наносят путем струйной биопечати.

87. Способ по п. 44, отличающийся тем, что любой слой из модели канальца почки остается жизнеспособным в культуре *in vitro* после культивирования в течение 3 дней.

88. Способ по п. 44, отличающийся тем, что любой слой из модели канальца почки остается жизнеспособным в культуре *in vitro* после культивирования в течение 10 дней.

89. Способ оценки почечной токсичности терапевтического агента, указанный способ включает:

а. получение биочернил с интерстициальными клетками почки, указанные биочернила с интерстициальными клетками содержат множество клеток интерстициального типа, указанные клетки интерстициального типа включают фибробласты и эндотелиальные клетки почки; получение биочернил с эпителиальными клетками почки, указанные биочернила с эпителиальными клетками содержат эпителиальные клетки канальцев почки;

б. нанесение биочернил с интерстициальными клетками и биочернил с эпителиальными клетками таким образом, что биочернила с эпителиальными клетками образуют слой на по меньшей мере одной поверхности биочернил с интерстициальными клетками; и

с. выдерживание нанесенных биочернил в средах для культуры клеток, чтобы позволить клеткам срастись с получением трехмерной сконструированной биологической модели канальца почки;

д. осуществление контакта терапевтического агента с указанной конструкцией;

е. измерение жизнеспособности или функционирования эпителиальных клеток канальцев почки; и

ф. оценку почечной токсичности терапевтического агента на основании измеренных жизнеспособности или функционирования эпителиальных клеток канальцев почки.

90. Способ по п. 89, отличающийся тем, что биочернила с интерстициальными клетками наносят путем экструзионной биопечати.

91. Способ по п. 89, отличающийся тем, что биочернила с эпителиальными клетками наносят путем струйной биопечати.

92. Способ по п. 89, отличающийся тем, что либо биочернила с интерстициальными клетками, либо биочернила с эпителиальными клетками дополнительно содержат терапевтическую молекулу или вещество.