

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 998 023**

51 Int. Cl.:

D01D 5/00 (2006.01)
D01D 5/24 (2006.01)
D01D 5/34 (2006.01)
D01F 8/00 (2006.01)
D01F 8/10 (2006.01)
D01F 1/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.03.2016 PCT/IL2016/050297**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **22.09.2016 WO16147192**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.03.2016 E 16764350 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2024 EP 3271502**

54 Título: **Microfibras de múltiples capas y uso de las mismas**

30 Prioridad:

17.03.2015 US 201562134364 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.02.2025

73 Titular/es:

**NANOSPUN TECHNOLOGIES LTD. (100.00%)
5 Ha'Mada Street
2060000 Yokneam, IL**

72 Inventor/es:

**BEN DROR, OHAD y
DROR, YAEL**

74 Agente/Representante:

MENDIGUTÍA GÓMEZ, María Manuela

ES 2 998 023 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Microfibras de múltiples capas y uso de las mismas

Campo de la invención

La presente invención se dirige a, entre otros, microfibras y/o microtubos electrohilados de múltiples capas, que comprenden células y/o sustancias biológicas. La invención se dirige además a métodos para producir una microfibra de tres capas concéntricas.

Antecedentes de la invención

Publicación de solicitud internacional núm. WO 2008/041183 proporciona microtubos electrohilados y un método para producir un microtubo, que comprende el electrohilado conjunto de dos soluciones poliméricas a través de capilares coaxiales para producir de esta manera el microtubo, en donde una primera solución polimérica de las dos soluciones poliméricas es para formar una carcasa del microtubo y una segunda solución polimérica de las dos soluciones poliméricas es para formar un recubrimiento sobre una superficie interna de la carcasa, la primera solución polimérica se selecciona solidificando más rápido que la segunda solución polimérica y un solvente de la segunda solución polimérica se selecciona incapaz de disolver la primera solución polimérica.

La publicación de solicitud internacional núm. WO 2009/104174 proporciona un método para unir una célula o una partícula recubierta con membrana de interés a un microtubo. La publicación de solicitud internacional núm. WO 2009/104176 proporciona un método para unir una célula o una molécula de interés a un microtubo.

El documento CN 103668485 proporciona una membrana nanofibrosa electrohilada altamente activa de 3 capas coaxial atrapada por electrohilado de nanofibras, en donde: la nanofibra electrohilada es una estructura coaxial de 3 capas, de dentro hacia fuera es secuencialmente activada la capa de liberación inmovilizada, la capa de enzima y una capa de polímero porosa.

Existe la necesidad de mejorar los microtubos y/o microfibras portadoras de células electrohilados con mayor viabilidad y densidad celular.

Resumen de la invención

De acuerdo con un aspecto, la presente invención proporciona una microfibra de múltiples capas concéntricas electrohilada de acuerdo con la reivindicación 1.

De acuerdo con otra modalidad, se proporciona una microfibra de tres capas.

De acuerdo con otra modalidad, dicha microfibra es hueca.

De acuerdo con otra modalidad, dicha capa interna, capa intermedia y/o capa externa son capas sustancialmente porosas.

Los polímeros solubles en agua de dicha capa intermedia se seleccionan de polímeros naturales, polímeros sintéticos o sus combinaciones.

De acuerdo con otra modalidad, dicha capa externa comprende uno o más polímeros organosolubles. De acuerdo con otra modalidad, dicho polímero organosoluble de dicha capa externa se selecciona del grupo que consiste en: poli(fluoruro de vinilideno), poli (ε-caprolactona) (PCL), poliamida, poli(siloxano), poli(silicona), poli(etileno), poli(metacrilato de 2-hidroxietilo), poli(metacrilato de metilo), poli(acetato de vinilo), poli(acrilamida), poli(etileno-co-acetato de vinilo), poli(ácido metacrílico), polilactida, poliglicolida, poli(lactida-co-glicolida), polianhídrido, poliortoéster, poli(carbonato), poli(acrilonitrilo), polianilina, polivinilcarbazol, poliestireno, poli(vinilfenol), hidroxíácido, poli(caprolactona), polianhídrido, polihidroxialcanoato, poliuretano, colágeno, celulosa, y sus combinaciones/copolímeros.

De acuerdo con otra modalidad, dicho polímero organosoluble es poli(fluoruro de vinilideno-co-hexafluoropropileno) (PVDF-HFP).

De acuerdo con otra modalidad, dicha capa externa comprende polímeros solubles en agua. De acuerdo con otra modalidad, dicha capa externa comprende polímeros solubles en agua seleccionados del grupo que consiste en: poli(vinilpirrolidona), poli(N-vinilpirrolidona), poli(vinil alcohol), poli(ácido acrílico), poli(etilenglicol), poli(óxido de etileno), albúmina, alginato, quitosano, almidón, ácido hialurónico, albúmina, alginato, quitosano, almidón, polipéptidos y sus combinaciones/copolímeros.

De acuerdo con otra modalidad, dicha capa externa comprende además agentes antiincrustantes.

Los polímeros solubles en agua de dicha capa intermedia se seleccionan del grupo que consiste en poli(ácido acrílico), poli(vinilpirrolidona), poli(N-vinilpirrolidona), poli(vinil alcohol), poli(ácido acrílico) poli(etilenglicol), poli(ácido metacrílico), poli(óxido de etileno), polihidroxiácido, alginato, almidón, quitosano, dextrano, albúmina, quitosano, ácido hialurónico, polipéptidos y sus combinaciones/copolímeros.

De acuerdo con otra modalidad, dicho polímero sintético soluble en agua se selecciona del grupo que consiste en PVA, PVP, PEO, PAA, sulfonato de poliestireno y sus combinaciones o copolímeros.

El polímero natural soluble en agua se selecciona del grupo que consiste en polisacáridos (por ejemplo, alginato), almidón, ácido hialurónico, alginato, dextrano, quitosano y sus combinaciones o copolímeros.

El oligómero se selecciona del grupo que consiste en derivados oligoméricos de quitosano y oligómeros de sacáridos.

De acuerdo con otra modalidad, la concentración de células dentro de dicha capa interna o núcleo es de al menos 10 OD.

De acuerdo con otra modalidad, dicha capa interna comprende además un medio para mantener y/o soportar dicha viabilidad y/o actividad celular.

De acuerdo con otra modalidad, dichas sustancias biológicas se seleccionan de hormonas, factores de crecimiento, enzimas, nutrientes y moléculas de resistencia a choques.

De acuerdo con otra modalidad, dicha capa externa tiene un grosor de aproximadamente 5 nm a 10 micrómetros.

De acuerdo con otra modalidad, dicha capa intermedia tiene un grosor de aproximadamente 5 nm a 10 micrómetros.

De acuerdo con otra modalidad, dicha capa interna tiene un grosor de aproximadamente 5 nm a 10 micrómetros.

De acuerdo con otra modalidad, dicha capa interna tiene un diámetro de a lo máximo 50 micrómetros.

De acuerdo con otro aspecto, se proporciona un método para producir una microfibrá de tres capas concéntricas de acuerdo con la reivindicación 14.

De acuerdo con otra modalidad, la primera solución polimérica se solidifica más rápido que la segunda solución polimérica.

De acuerdo con otra modalidad, la segunda solución polimérica se solidifica más rápido que la tercera solución.

De acuerdo con otra modalidad, la segunda solución polimérica y dicha tercera solución comprenden el mismo solvente.

De acuerdo con otra modalidad, la segunda solución polimérica comprende un solvente que es incapaz de disolver la primera solución polimérica.

Otras modalidades y el alcance completo de la aplicabilidad de la presente invención se harán evidentes a partir de la descripción detallada que se dará a continuación. Sin embargo, debe entenderse que la descripción detallada y los ejemplos específicos, aunque indican las modalidades preferidas de la invención, se dan a modo de ilustración solamente, ya que diversos cambios y modificaciones dentro del alcance de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de esta descripción detallada.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 ilustra una hilera con tres capilares coaxiales.

Las Figuras 2A-C ilustran microfibras y/o microtubos de tres capas de acuerdo con algunas modalidades de la invención.

Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona, en una modalidad, microfibras o microtubos electrohilados de múltiples capas concéntricos que comprenden células y/o cualesquiera elementos biológicos.

En otra modalidad, se proporciona un método para fabricar dichas microfibras.

La presente invención se basa, en parte, en el sorprendente hallazgo de que una microfibra electrohilada de múltiples capas concéntricas permite la incorporación de una concentración extremadamente alta de células viables en la capa interna o núcleo de la microfibra. En una modalidad ilustrativa, se mostró que las microfibras descritas en la presente descripción incorporan células viables a una concentración extremadamente alta de aproximadamente 50 OD (equivalente a aproximadamente 10^{11} células/ml).

Las microfibras electrohiladas de la invención comprenden una capa intermedia que actúa como una barrera entre la capa externa (que comprende, en alguna modalidad, un solvente nocivo para las células u otras sustancias biológicas) y la capa interna que comprende dichas células. La incorporación de una capa intermedia entre la capa externa y la capa interna permite ventajosamente la incorporación de una alta concentración de células viables y/o sustancias biológicas. En algunas modalidades, el solvente seleccionado para formar la capa externa de la microfibra es un solvente a base de orgánico y el solvente seleccionado para formar la capa intermedia y/o interna de la microfibra es un solvente compatible para el crecimiento y la viabilidad de las células.

De acuerdo con otra modalidad, la presente invención proporciona una microfibra o microtubo electrohilado concéntrico de múltiples capas que comprende: (i) una capa externa que comprende uno o más polímeros, (ii) una capa interna o un núcleo, y (iii) una capa intermedia (es decir, media) situada entre la capa externa y la capa interna, dicha capa intermedia comprende uno o más polímeros solubles en agua. En una modalidad, la capa interna comprende una suspensión celular, y/o una suspensión de sustancias biológicas. En otra modalidad, la capa interna comprende uno o más polímeros y/u oligómeros solubles en agua y células y/o sustancias biológicas.

Como se usa en la presente descripción, el término "concéntrico" significa que todas las capas de la microfibra de múltiples capas tienen un centro sustancialmente común, que comparte una orientación coaxial. Como tal, concéntrico indica que los canales intermedios rodean el canal principal y, a su vez, el canal externo rodea los canales intermedios. En una modalidad, todos los canales pueden compartir el mismo centro o eje geométrico.

Como se usa en la presente descripción, "intermedia" indica que una capa se dispone entre la región central y la capa externa. La capa externa abarcará típicamente la totalidad de la región central, al menos en una sección transversal del cuerpo, y la capa o capas intermedias se dispondrán entre la capa externa y la región central.

Se hace referencia ahora a las Figuras. 2A, 2B, y 2C, que ilustra una ilustración simplificada y esquemática de una vista en sección transversal de una porción de una microfibra de múltiples capas de la invención. En otra modalidad, la microfibra es una fibra no hueca, que comprende (o que se compone de) una capa externa 20 (por ejemplo, que comprende polímeros organosolubles), una capa intermedia 20 que comprende opcionalmente polímeros solubles en agua, y una capa interna 40 que encapsula células y/o moléculas de interés 10. La capa interna 40 comprende opcionalmente polímeros solubles en agua, como se describe en la presente descripción.

Se hace referencia a la Figura 2A, que ilustra una ilustración esquemática simplificada de una vista en sección transversal de una porción de una microfibra de tres capas 200, construida y operativa de acuerdo con otra modalidad no limitante de la presente invención.

El término "no hueco", como se usa en la presente, se refiere a una capa interna que llena sustancialmente el diámetro interno de la fibra (es decir, el núcleo de la microfibra). En otra modalidad, dicha microfibra es al menos una microfibra de tres capas. En otra modalidad, dicha microfibra es una microfibra de tres capas.

En alguna modalidad, dichas microfibras son sustancialmente huecas, por ejemplo, que forman microtubos. En una modalidad, se proporciona un microtubo electrohilado concéntrico de múltiples capas. Como se usa en la presente descripción, el término "microtubo" se refiere a un tubo hueco que tiene un diámetro interno de, por ejemplo, a lo máximo 50 μm , que carece de un polímero electrohilado. En otra modalidad, dicho microtubo es al menos un microtubo de tres capas.

En una modalidad, dicho microtubo de múltiples capas comprende una capa externa (por ejemplo, que comprende polímeros organosolubles), una capa intermedia que comprende polímeros solubles en agua y una capa interna que comprende polímeros solubles en agua y células y/o moléculas encapsuladas de interés. Se hace referencia a la Figura 2B, que ilustra una ilustración esquemática simplificada de una vista en sección transversal de una porción de una microfibra de múltiples capas 300, construida y operativa de acuerdo con otra modalidad no limitante de la presente invención. Debe entenderse que, dentro de tal microtubo de múltiples capas, las células pueden quedar atrapadas en la capa interna del microtubo y/o en el lumen interno del tubo.

En una modalidad, dicho microtubo de múltiples capas comprende una capa externa (por ejemplo, que comprende polímeros organosolubles), una capa intermedia que comprende polímeros solubles en agua y una capa interna que comprende células y/o moléculas de interés. Se hace referencia a la Figura 2C, que ilustra una ilustración esquemática simplificada de una vista en sección transversal de una porción de una capa de microfibra de múltiples capas 400, construida y operativa de acuerdo con otra modalidad no limitante de la presente invención. La microfibra de múltiples capas 400 un microtubo hueco de doble capa de la invención que comprende una capa externa 20, y una capa intermedia 30 y una tercera solución interna 40 que comprende células 10 y/o moléculas de interés suspendidas en un líquido 10 (por ejemplo, agua, medio celular, solución salina, etc.), que llena el lumen del tubo sin depositar una capa.

De acuerdo con una modalidad, dicha capa interna comprende células se forma a partir de una solución no hilable. Como se usa en la presente descripción, el término "solución no hilable" se refiere a una solución que no se somete a estiramiento y elongación bajo un proceso de electrohilado. La hilabilidad de una solución puede determinarse por un experto en la técnica, tal como por la viscoelasticidad de la solución (por ejemplo, de acuerdo con la concentración polimérica y/o el peso molecular dentro de la solución).

De acuerdo con algunas modalidades, dicha capa intermedia se forma a partir de una solución no hilable para formar una capa viscosa (es decir, una capa que no experimentó estiramiento y elongación bajo un proceso de electrohilado típico. En otra modalidad, la capa intermedia de la microfibra descrita en la presente descripción está sustancialmente desprovista de células. Una capa intermedia sustancialmente sin células se refiere a, en algunas modalidades, una capa que se hila electrostáticamente mediante el uso de una solución polimérica que no tiene células.

La microfibra de múltiples capas y/o microtubo de la invención se procesan típicamente bajo un proceso de una sola etapa, es decir, una única etapa de electrohilado. En otra modalidad, la microfibra y/o microtubo de múltiples capas de la invención se procesan mediante el electrohilado conjunto de tres o más soluciones a través de capilares triaxiales o multiaxiales, respectivamente. Los métodos de electrohilado de las microfibras de la invención se detallan adicionalmente en la presente descripción.

En una modalidad, dicha capa intermedia permite la difusión de las células a través de ella. En otra modalidad, dicha capa intermedia evita sustancialmente la difusión de las células a través de ella.

En otra modalidad, dicha capa intermedia es sustancialmente porosa y/o no continua. En otra modalidad, dicha capa porosa comprende poros adecuados para la difusión de nutrientes y gases (por ejemplo, oxígeno) hacia y desde las células encapsuladas dentro de la capa interna de dicha microfibra y/o microtubo. En una modalidad, dicha capa porosa comprende poros de aproximadamente 1 nm o más.

Los polímeros de dicha capa intermedia se seleccionan de polímeros naturales, polímeros sintéticos o sus combinaciones. La capa intermedia comprende uno o más polímeros solubles en agua. En otra modalidad, dicha capa intermedia está sustancialmente desprovista de células.

En una modalidad, dichos polímeros de dicha capa externa son sustancialmente biodegradables. En otra modalidad, dichos polímeros de dicha capa externa no son sustancialmente biodegradables.

En otra modalidad, dicha capa externa comprende uno o más polímeros organosolubles. Ejemplos no limitantes de polímeros organosolubles de dicha capa externa incluyen fluoruro de polivinilideno (PVDF), poli (e-caprolactona) (PCL), poliamida, poli(siloxano), poli(silicona), poli(etileno), poli(metacrilato de 2-hidroxietilo), poli(metacrilato de metilo), poli(acetato de vinilo), poli(acrilamida), poli(etileno-co-acetato de vinilo), poli(ácido metacrílico), polilactida, poliglicolida, poli(lactida-coglicolida), polianhídrido, poliortoéster, poli(carbonato), poli(acrilonitrilo), polianilina, polivinilcarbazol, poliestireno, poli(vinilfenol), polihidroxiácido, poli(caprolactona), polianhídrido, polihidroxiacanoato, poliuretano, colágeno, celulosa y sus combinaciones/copolímeros. Un experto en la técnica apreciará que pueden usarse otros polímeros organosolubles para formar los microtubos y/o microfibras de la invención.

En algunas modalidades, se proporciona un polímero seleccionado del grupo que consiste en un polivinilideno de flúor, un copolímero, o un terpolímero de este que contiene una porción principal de vinilideno de flúor. En algunas modalidades, el polímero comprende polivinilideno de flúor y al menos un monómero copolimerizable seleccionado del grupo que consiste en hexafluoropropileno, trifluoroetileno, clorotrifluoroetileno, fluoruro de vinilo y tetrafluoroetileno y cualquier mezcla del homopolímero, copolímero y terpolímero. En algunas modalidades, dicho polímero organosoluble es poli(fluoruro de vinilideno-co-hexafluoropropileno) (PVDF-HFP).

En otra modalidad, dicha capa externa comprende además agentes antiincrustantes.

En otra modalidad, dicha capa externa comprende uno o más polímeros solubles en agua. En otra modalidad, dicha capa interna comprende uno o más polímeros solubles en agua. En otra modalidad, dicha capa intermedia comprende uno o más polímeros solubles en agua.

Ejemplos no limitantes de dichos polímeros solubles en agua incluyen poli(ácido acrílico), poli(vinilpirrolidona), poli(N-vinilpirrolidona), poli(vinil alcohol), poli(ácido acrílico) poli(etilenglicol), poli(ácido metacrílico), poli(óxido de etileno), polihidroxiácido, alginato, almidón, quitosano, dextrano, albúmina, ácido hialurónico, polipéptidos y sus combinaciones y/o copolímeros. Un experto en la técnica apreciará que pueden usarse otros polímeros solubles en agua para formar los microtubos y/o microfibras de la invención.

Los polímeros u oligómeros solubles en agua de dicha capa interna se seleccionan de polímeros naturales, polímeros sintéticos o sus combinaciones.

En otra modalidad, dicho polímero sintético soluble en agua se selecciona del grupo que consiste en poli(vinil alcohol) (PVA), polivinilpirrolidona (PVP), poli(óxido de etileno) (PEO), y poli(ácido acrílico) (PAA).

El polímero natural soluble en agua se selecciona del grupo que consiste en polisacáridos (por ejemplo, alginato, dextrano, almidón, ácido hialurónico), proteínas (por ejemplo, albúmina).

Los oligómeros se seleccionan del grupo que consiste en derivados oligoméricos de quitosano.

En otra modalidad, dicha capa interna comprende suspensión de células y/o partículas recubiertas con membrana (por ejemplo, liposomas) y/o elementos biológicos que incluyen, pero no se limitan a, enzimas, hormonas, factores de crecimiento, sales, nutrientes, moléculas conservantes, medios y/o nutrientes para mantener y/o soportar dicha viabilidad celular.

En otra modalidad, dicha capa interna y/o dicha capa intermedia comprende además uno o más agentes seleccionados de nutrientes, moléculas de resistencia a choques (por ejemplo, glicerol, trehalosa, P, N, sales).

En otra modalidad, dicha capa externa tiene un grosor de aproximadamente 5 nm a uno o más (por ejemplo, 10) micrómetros. En otra modalidad, dicha capa intermedia tiene un grosor de aproximadamente 5 nm a 10 micras. En

otra modalidad, dicha capa interna tiene un grosor de aproximadamente 5 nm a 50 micrómetros. En otra modalidad, dicha capa interna tiene un diámetro de a lo máximo 50 micrómetros.

Células

Como se usa en la presente descripción, el término "célula" se refiere a una célula eucariota o procariota. De acuerdo con algunas modalidades de la invención, la célula comprende una pared celular. Los ejemplos no limitantes de células que comprenden una pared celular y que pueden unirse a la microfibrilla de la invención incluyen células vegetales, bacterias (por ejemplo, bacterias grampositivas y gramnegativas), arqueas, protozoos, hongos (levadura) y algas. En otra modalidad, dicha célula es una célula animal tal como las células humanas.

De acuerdo con algunas modalidades, dicha segunda solución comprende células en una concentración de al menos 15 de densidad óptica, al menos 20 de densidad óptica, al menos 25 de densidad óptica, al menos 30 de densidad óptica, al menos 35 de densidad óptica, al menos 40 de densidad óptica, al menos 45 de densidad óptica o al menos 50 de densidad óptica. De acuerdo con algunas modalidades, dicha tercera solución comprende células en una concentración de al menos 3×10^{10} células/ml.

De acuerdo con algunas modalidades de la invención, la célula y/o sustancia biológica es una partícula recubierta de membrana de interés tal como un liposoma o micelas.

De acuerdo con algunas modalidades de la invención, la célula comprende una dermis (por ejemplo, células de insectos).

De acuerdo con algunas modalidades de la invención, la célula tiene un diámetro de aproximadamente 500 nanómetros a aproximadamente 50 micras, por ejemplo, de aproximadamente 1-10 micras.

Ejemplos no limitantes de células incluyen *Chromobacterium violaceum*, *Pseudomonas maltophilia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Spirulina planensis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*.

Típicamente, las células pueden unirse al(a los) polímero(s) comprendido(s) en la microfibrilla mediante unión covalente o no covalente (por ejemplo, mediante un enlace electrostático, un enlace de hidrógeno, una interacción de van der Waals) para obtener una célula absorbida, incorporada o inmovilizada en la capa interna de la microfibrilla de la invención.

De acuerdo con algunas modalidades de la invención, la unión covalente de la célula puede ser a través de grupos funcionales tales como grupos SH, grupos amino, grupos carboxilo que se añaden al(a los) polímero(s) que forma(n) la microfibrilla.

De acuerdo con algunas modalidades de la invención, las células se adhieren a la capa interna de la microfibrilla mediante el uso de promotores de adhesión celular tales como la fibronectina.

Uso de las microfibrillas

En una modalidad, las microfibrillas y microtubos o composiciones que los comprenden se usan en diversas aplicaciones que incluyen, pero no se limitan a, la purificación del agua, la desintoxicación, las fermentaciones de bioquímicos, el enriquecimiento mineral, los injertos de tejido y la terapia basada en células.

De acuerdo con un aspecto de algunas modalidades que no están de acuerdo con la invención, se proporciona un método de biorremediación, el método comprende poner en contacto una solución que contiene un contaminante con la microfibrilla o microtubo de algunas modalidades de la invención, en donde la célula, una porción de la célula o es capaz de degradar o asimilar el contaminante.

De acuerdo con un aspecto de algunas modalidades que no están de acuerdo con la invención se proporciona un método para agotar una molécula de una solución, que comprende poner en contacto la solución con el microfibrilla o microtubo de algunas modalidades de la invención, en donde la molécula es capaz de unirse a o procesarse por la célula, de esta manera agotar la molécula de la solución.

De acuerdo con un aspecto de algunas modalidades no de acuerdo con la invención se proporciona un método para aislar una molécula de una solución, que comprende: (a) poner en contacto la solución con la microfibrilla o el microtubo de algunas modalidades de la invención en condiciones que permiten la unión de la molécula a la célula, y; (b) eluir la molécula de la microfibrilla o el microtubo; aislar de esta manera la molécula de la solución.

5 De acuerdo con un aspecto de algunas modalidades no de acuerdo con la invención se proporciona un método para detectar una presencia de una molécula en una muestra, que comprende: (a) poner en contacto la muestra con la microfibrilla o microtubo de algunas modalidades de la invención, en donde la célula es capaz de unirse a o procesar la molécula, y; (b) detectar la unión o el procesamiento; de esta manera detectar la presencia de la molécula en la muestra.

10 La purificación del agua generalmente implica la eliminación de químicos tóxicos tales como mercurio, compuestos mercuriales y cadmio o elementos tales como tolueno, cloroformo, benceno, pesticidas y herbicidas. En una modalidad, dicha célula es *Pseudomonas*. En otra modalidad, dichos *Pseudomonas* se usan para degradar tolueno, benceno, fenol, naftaleno, atrazina y/o ciertos hidrocarburos del petróleo.

En otra modalidad, las microfibrillas o composiciones que las comprenden se usan en sistemas de agua para la
15 eliminación de metales pesados tóxicos tales como cadmio y mercurio. Los ejemplos no limitantes de cepas bacterianas útiles para tal aplicación incluyen *Chromobacterium violaceum*, *Pseudomonas maltophilia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Spirulina planensis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*.

De acuerdo con un aspecto de algunas modalidades que no están de acuerdo con la invención se proporciona un mecanismo de liberación controlada, tal como que cada capa de dicho microtubo o microfibrilla proporciona una fase
20 separada de liberación sostenida.

En otra modalidad, las microfibrillas o composiciones que las comprenden se usan en métodos de fermentación.

Métodos de producción

De acuerdo con otro aspecto, se proporciona un método para producir las microfibrillas o microtubos de la invención, el método comprende el electrohilado conjunto de tres soluciones a través de capilares triaxiales.

25 Se hace referencia a la Figura 1, que ilustra un capilar triaxial (por ejemplo, una hilera con tres capilares coaxiales) usado para el procedimiento de electrohilado conjunto triaxial para formar una microfibrilla o microtubo electrohilado de tres capas concéntricas de la invención.

De acuerdo con algunas modalidades, se proporciona un método para producir una microfibrilla de tres capas concéntricas, el método que comprende proporcionar una primera solución polimérica para formar una capa externa
30 de la microfibrilla, una segunda solución polimérica para formar una capa intermedia de la microfibrilla, y una tercera solución para formar una capa interna o un núcleo de la microfibrilla, dicha tercera solución comprende células; y electrohilar conjuntamente la primera solución polimérica, la segunda solución polimérica y la tercera solución a través de unos capilares triaxiales, de esta manera se produce la microfibrilla de tres capas concéntricas.

De acuerdo con algunas modalidades de la invención, la microfibrilla o microtubo de múltiples capas comprende una
35 capa externa que se forma de una primera solución polimérica, una capa intermedia que se forma de una segunda solución polimérica, y/o una capa interna que se forma de una tercera solución (una solución polimérica o una solución desprovista de polímeros).

En otra modalidad, dicha primera solución polimérica se solidifica más rápido que dicha segunda solución polimérica. En otra modalidad, dicha segunda solución polimérica se solidifica más rápido que dicha tercera solución
40 polimérica.

En algunas modalidades, el solvente seleccionado para formar la capa externa de la microfibrilla es un solvente a base de orgánico y el solvente seleccionado para formar la capa intermedia y/o interna de la microfibrilla es un solvente compatible para el crecimiento y la viabilidad de las células.

Como se usa en la presente descripción, un "solvente orgánico" se refiere a una clase química de compuestos que se usan rutinariamente en las industrias comerciales, que típicamente comparten una estructura común (al menos 1 átomo de carbono y 1 átomo de hidrógeno), peso molecular bajo, lipofilia y volatilidad, y que existen en forma líquida a temperatura ambiente. En algunas modalidades, los solventes orgánicos son compuestos de cadena alifática, tales como n-hexano. En otras modalidades, los solventes orgánicos son compuestos aromáticos con un anillo de 6 carbonos, tales como benceno o xileno. Los alifáticos y aromáticos pueden contener un elemento halógeno sustituido y pueden denominarse hidrocarburos halogenados, tales como percloroetileno (PCE o PER), tricloroetileno (TCE) y tetracloruro de carbono. Los alcoholes, cetonas, glicoles, ésteres, éteres, aldehídos y piridinas son sustituciones para un grupo de hidrógeno.

Como se usa en la presente descripción, un "solvente compatible para el crecimiento y la viabilidad de las células" se refiere a un solvente que es sustancialmente no tóxico para una célula. Los ejemplos no limitantes de tales solventes incluyen agua, soluciones a base de glicerol y medios de cultivo celular.

En otra modalidad, un solvente de dicha segunda solución polimérica es incapaz de disolver dicha primera solución polimérica. En otra modalidad, un solvente de dicha tercera solución polimérica es incapaz de disolver dicha segunda solución polimérica. En otra modalidad, la segunda solución polimérica y dicha tercera solución comprenden el mismo solvente.

Como se usa en la presente descripción, la frase "electrohilado conjunto" se refiere a un proceso en el que al menos tres soluciones (de las cuales al menos dos son soluciones poliméricas) se electrohilan a partir de capilares coaxiales (es decir, al menos tres dispensadores capilares en donde un capilar se coloca dentro de un capilar intermedio que se coloca dentro de un tercer capilar mientras se comparte una orientación coaxial) que forma la hilera. El capilar puede ser, por ejemplo, una jeringa con una aguja metálica o un baño que se proporciona con una o más aberturas capilares desde las cuales las soluciones poliméricas pueden extruirse, por ejemplo, bajo la acción de presión hidrostática, presión mecánica, presión de aire y/o alta tensión.

El recolector sirve para recoger el elemento electrohilado (por ejemplo, la microfibra electrohilada) en el mismo. Tal recolector puede ser un recolector giratorio o un recolector estático (no giratorio). Cuando se usa un colector giratorio, tal colector puede tener una forma cilíndrica (por ejemplo, un tambor), sin embargo, el colector giratorio también puede tener una geometría plana (por ejemplo, un disco horizontal). La hilera se conecta típicamente a una fuente de alta tensión, tal como de polaridad positiva, mientras que el recolector se conecta a tierra, formando así un campo electrostático entre el capilar de dispensado (dispensador) y el recolector. Alternativamente, la hilera puede estar conectada a tierra mientras el colector está conectado a una fuente de alta tensión, tal como con polaridad negativa. Como apreciará un experto en la técnica, cualquiera de las configuraciones anteriores establece el movimiento de un chorro con carga positiva desde la hilera a la recolectora. También se contempla la polaridad inversa para establecer los movimientos de un chorro cargado negativamente desde la hilera hasta el colector.

Para el electrohilado, la primera solución polimérica se inyecta en el capilar externo de los capilares coaxiales, la segunda solución polimérica se inyecta en el capilar intermedio de los capilares coaxiales, mientras que la tercera solución se inyecta en el capilar interno de los capilares coaxiales. En una modalidad, tal como para formar un microtubo (es decir, una estructura hueca), la primera solución polimérica (que es para formar la capa externa de la microfibra) se solidifica más rápido que la segunda solución polimérica (para formar la capa media/intermedia de la microfibra), que, a su vez, se solidifica más rápido que la tercera solución polimérica (para formar la capa interna de la microfibra). En otra modalidad, la tercera solución polimérica (para formar la capa interna) no es una solución polimérica. En una modalidad, la capa interna se forma al electrohilado de una suspensión de células y/o moléculas de interés.

En otra modalidad, la formación de una microfibrila también requiere que el solvente de la segunda solución polimérica sea incapaz de disolver la primera solución polimérica. En otra modalidad, el solvente de la tercera solución polimérica es similar o idéntico al solvente de la segunda solución polimérica. En otra modalidad, el solvente de la tercera solución polimérica es incapaz de disolver la segunda solución polimérica. Las tasas de solidificación de la primera, segunda y tercera soluciones poliméricas pueden ser críticas para formar la microfibrila. Por ejemplo, para un microtubo de aproximadamente 100 μm , la solidificación del primer polímero (de la primera solución polimérica) puede ser dentro de aproximadamente 30 milisegundos (ms), la solidificación del segundo polímero (de la segunda solución polimérica) puede ser dentro de aproximadamente 10-20 segundos, mientras que la solidificación del tercer polímero (de la tercera solución polimérica) puede ser sustancialmente más larga que el segundo polímero. La solidificación puede ser el resultado de la velocidad de polimerización y/o la velocidad de evaporación.

Como se usa en la presente descripción, la frase "solución polimérica" se refiere a un polímero soluble, es decir, un medio líquido que contiene uno o más polímeros, copolímeros o mezclas de polímeros disueltos en un solvente o mezcla de solventes. El polímero usado por la invención puede ser un polímero natural, sintético, biocompatible y/o biodegradable.

La frase "polímero sintético" se refiere a polímeros que no se encuentran en la naturaleza, incluso si los polímeros se fabrican a partir de materiales de biomasa de origen natural. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, poliésteres alifáticos, poli(aminoácidos), copoli(éter-ésteres), polialquilenos, oxalatos, poliamidas, policarbonatos derivados de tirosina, poli(iminocarbonatos), poliortoésteres, polioxaésteres, poliamidoésteres, polioxaésteres que contienen grupos amina, poli(anhídridos), polifosfacenos, y sus combinaciones.

Los polímeros sintéticos adecuados para su uso por la invención también pueden incluir polímeros biosintéticos basados en secuencias que se encuentran en proteínas de origen natural tales como las de colágeno, elastina, trombina, fibronectina, o derivados mutantes o sintéticos de las mismas o, almidones, poli(aminoácidos), poli(fumarato de propileno), gelatina, alginato, pectina, fibrina, celulosa oxidada, quitina, quitosano, tropoelastina, ácido hialurónico, polietileno, tereftalato de polietileno, poli(tetrafluoroetileno), policarbonato, polipropileno y poli(vinil alcohol), ácidos ribonucleicos, ácidos desoxirribonucleicos, polipéptidos, proteínas, polisacáridos, polinucleótidos y sus combinaciones.

La frase "polímero natural" se refiere a polímeros de origen natural. Los ejemplos no limitantes de tales polímeros incluyen, seda, materiales a base de colágeno, quitosano, ácido hialurónico, albúmina, fibrinógeno y alginato.

Como se usa en la presente descripción, la frase "copolímero" se refiere a un polímero de al menos dos monómeros químicamente distintos. Los ejemplos no limitantes de copolímeros incluyen, ácido poliláctico (PLA)-polietilenglicol (PEG), tereftalato de polietileno (PEGT) / tereftalato de polibutileno (PBT), ácido poliglicólico (PGA)-PLA, PEG-policaprolactona (PCL) y PCL-PLA.

Como se usa en la presente descripción, la frase "mezclas de polímeros" se refiere al resultado de mezclar dos o más polímeros entre sí para crear una nueva solución/composición con diferentes propiedades físicas.

La frase "polímero biocompatible" se refiere a cualquier polímero (sintético o natural) que cuando está en contacto con células, tejidos o fluidos corporales de un organismo no induce efectos adversos tales como reacciones inmunológicas y/o rechazos, muerte celular, y similares. Un polímero biocompatible también puede ser un polímero biodegradable.

De acuerdo con algunas modalidades de la invención, la primera, la segunda y/o la tercera solución poliméricas son biocompatibles.

Ejemplos no limitantes de polímeros biocompatibles incluyen poliésteres (PE), PCL, PLA, PGA, PEG, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, politetrafluoroetileno (PTFE, teflón), polipropileno (PP), cloruro de polivinilo (PVC),

polimetilmetacrilato (PMMA), poliamidas, poliuretano segmentado, policarbonato-uretano y poliéter uretano termoplástico, silicona-poliéter-uretano, silicona-policarbonato-uretano colágeno, PEG-DMA, alginato, hidroxiapatita y quitosano, sus mezclas y copolímeros.

La frase "polímero biodegradable" se refiere a un polímero sintético o natural que puede degradarse (es decir, descomponerse) en un entorno fisiológico tal como por proteasas u otras enzimas producidas por organismos vivos tales como bacterias, hongos, plantas y animales. La biodegradabilidad depende de la disponibilidad de sustratos de degradación (es decir, materiales biológicos o porción de los mismos que son parte del polímero), la presencia de materiales biodegradables (por ejemplo, microorganismos, enzimas, proteínas) y la disponibilidad de oxígeno (para organismos aeróbicos, microorganismos o porción de los mismos), la falta de oxígeno (para organismos anaeróbicos, microorganismos o porción de los mismos) y/u otros nutrientes.

Ejemplos de polímeros/materiales biodegradables incluyen, pero no se limitan a, colágeno (por ejemplo, colágeno I o IV), fibrina, ácido hialurónico, ácido poliláctico (PLA), ácido poliglicólico (PGA), policaprolactona (PCL), polidioxanona (PDO), carbonato de trimetileno (TMC), polietilenglicol (PEG), colágeno, PEG-DMA, alginato, copolímeros de quitosano o sus mezclas.

De acuerdo con algunas modalidades, la solución polimérica puede estar hecha de uno o más polímeros, cada uno puede ser un polímero o un copolímero tal como se describió anteriormente en la presente descripción.

De acuerdo con algunas modalidades de la invención, la solución polimérica es una mezcla de al menos un polímero biocompatible y un copolímero (biodegradable o no biodegradable).

Para ciertas aplicaciones, una o más capas de la microfibras pueden comprender poros, lo que crea un tubo "de respiración". Los métodos para formar microtubos "de respiración" (es decir, microtubos con poros en la cubierta de los mismos) se describen en el documento PCT/IB2007/054001 de Zussman E., y otros. Brevemente, las fibras y/o tubos "de respiración" pueden formarse mediante la inclusión de un alto por ciento (por ejemplo, al menos 80 %) de un componente volátil tal como tetrahidrofurano (THF), cloroformo, acetona o trifluoroetanol (TFE) en la primera solución polimérica, y/o mediante la inclusión de un polímero soluble en agua tal como polietilenglicol (PEG) en la primera solución polimérica de manera que la primera solución polimérica comprende una mezcla de polímeros en la que uno es soluble en agua y el otro es insoluble en agua (por ejemplo, una mezcla de PEG y PCL).

Alternativamente, los microtubos "de respiración" pueden formarse al inducir poros en una o más capas de la microfibras, después de la terminación del proceso de electrohilado, esencialmente como se describió en el documento PCT WO 2006/106506, tal como al pasar una chispa eléctrica o un elemento de perforación calentado a través de la microfibras electrohilada, o al usar un haz de láser pulsado o continuo a través de la microfibras electrohilada.

De acuerdo con algunas modalidades de la invención, la primera solución polimérica comprende PEG para inducir poros en la capa externa de la microfibras. Por ejemplo, para generar poros mayores (>) que 150 nm de diámetro, la primera solución polimérica puede incluir aproximadamente 4 % de PEG MW 35 kDa. De manera similar, para generar poros más pequeños (<) 150 nm de diámetro, la primera solución polimérica puede incluir aproximadamente 2 % de PEG MW 6 kDa o menos.

La microfibras puede diseñarse para el paso selectivo de ciertas moléculas o partículas. El paso a través de los poros de la capa externa depende del tamaño y/o la carga eléctrica de las moléculas/partículas con respecto a la geometría (longitud y radio), la energía superficial, la carga eléctrica de los poros de la cubierta, y la viscosidad y la tensión superficial del líquido que contiene las moléculas/partículas.

De acuerdo con algunas modalidades de la invención, la porosidad (es decir, la relación del volumen de los poros al volumen de la masa) y el tamaño de los poros pueden controlar la liberación de la célula/moléculas de la microfibras. Por ejemplo, una capa con poros de más de 1 μm de diámetro (por ejemplo, aproximadamente 1-2 μm) puede

permitir la liberación de una célula a través de ella. Además, una mayor porosidad puede resultar en una mayor velocidad de liberación a través de los poros.

Alternativamente, la microfibra puede fabricarse de manera que impida la difusión o el paso de la célula, o cualquier molécula a través de ella (por ejemplo, sustancialmente sin poros, o con poros que tienen un diámetro que es menor que la célula, o que exhiben una geometría que impide el paso de células o partículas recubiertas con membrana a través de ella).

Ejemplos

Generalmente, la nomenclatura usada en la presente descripción y los procedimientos de laboratorio utilizados en la presente invención incluyen técnicas moleculares, bioquímicas, microbiológicas y de ADN recombinante. Tales técnicas se explican a fondo en la bibliografía. Ver, por ejemplo, "Clonación Molecular: A laboratory Manual" Sambrook y otros, (1989); "Current Protocols in Molecular Biology" Volúmenes I-III Ausubel, R. M., ed. (1994); Ausubel y otros, "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley and Sons, Baltimore, Maryland (1989); Perbal, "A Practical Guide to Molecular Cloning", John Wiley & Sons, Nueva York (1988); Watson y otros, "Recombinant DNA", Scientific American Books, Nueva York; Birren y otros (eds) "Genome Analysis: A Laboratory Manual Series", Vols. 1-4, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Nueva York (1998); metodologías como se establece en Patente de Estados Unidos. núms. 4,666,828; 4,683,202; 4,801,531; 5,192,659 y 5,272,057; "Cell Biology: A Laboratory Handbook", Volúmenes I-III Cellis, J. E., ed. (1994); "Culture of Animal Cells - A Manual of Basic Technique" de Freshney, Wiley-Liss, N. Y. (1994), tercera edición; "Current Protocols in Immunology" volúmenes I-III Coligan J. E., ed. (1994); Stites y otros (eds), "Basic and Clinical Immunology" (8va Edición), Appleton & Lange, Norwalk, CT (1994); Mishell and Shiigi (eds), "Selected Methods in Cellular Immunology", W. H. Freeman and Co., Nueva York (1980); los inmunoensayos disponibles se describen extensamente en la bibliografía de patentes y científica, ver, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos. núm. 3,791,932; 3,839,153; 3,850,752; 3,850,578; 3,853,987; 3,867,517; 3,879,262; 3,901,654; 3,935,074; 3,984,533; 3,996,345; 4,034,074; 4,098,876; 4,879,219; 5,011,771 y 5,281,521; "Oligonucleotide Synthesis" Gait, M. J., ed. (1984); "Nucleic Acid Hybridization" Hames, B. D., and Higgins S. J., eds. (1985); "Transcription and Translation" Hames, B. D., and Higgins S. J., eds. (1984); "Animal Cell Culture" Freshney, R. I., ed. (1986); "Immobilized Cells and Enzymes" IRL Press, (1986); "A Practical Guide to Molecular Cloning" Perbal, B., (1984) y "Methods in Enzymology" Vol. 1-317, Academic Press; "PCR Protocols: A Guide To Methods And Applications", Academic Press, San Diego, CA (1990); Marshak y otros, "Strategies for Protein Purification and Characterization - A Laboratory Course Manual" CSHL Press (1996).

Materiales y métodos:

Los polímeros PVDF-HFP (Mw=400 000 Da), PVP (Mw= 1 300 000 Da) y PEG (Mw=6000 Da) y los solventes dimetilformamida (DMF) y tetrahidrofurano (THF) se adquirieron de Sigma y se usaron sin purificación adicional. El glicerol se adquirió de BioLab y se esterilizó antes de su uso. Se usó agua desionizada con una conductividad de < 19 uS para las soluciones acuosas. Las soluciones para el electrohilado se prepararon mediante una simple mezcla durante varias horas. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente y con una humedad relativa del 50-60 %. Las tasas de flujo de todas las soluciones se controlaron mediante bombas de jeringa.

La Tabla 1, representa diferentes composiciones usadas para fabricar las fibras electrohiladas mediante el uso de hilas triaxiales.

Tabla 1. Composiciones de fibras

Carcasa	Capa intermedia	Capa interna / núcleo
PVDF-HFP al 15 % en DMF: THF en DMF: THF (1:2 v/v) + PEG al 2 %	PVP al 15 % en agua	Levadura en agua (150 mg/ml)
PVDF-HFP al 15 % en DMF: THF en DMF: THF (1:2 v/v) + PEG al 4 %	PVP al 15 % en agua	Levadura en agua (150 mg/ml)
PVDF-HFP al 15 % en DMF: THF en DMF: THF	PVP al 15 % en agua	Levadura en agua (150 mg/ml)

(1:2 v/v) + PEG al 6 %		
PVDF-HFP al 15 % en DMF: THF en DMF: THF (1:2 v/v) + PEG al 8 %	PVP al 15 % en agua	Levadura en agua (150 mg/ml)

La encapsulación con éxito de la levadura en fibras mediante el uso de todas las composiciones y parámetros de hilado dados en la tabla anterior. La levadura encapsulada permaneció viva, activa y se proliferó dentro de las fibras utilizando el espacio interno de la fibra/tubo y se expandió hasta que todo el espacio se ocupó con células densamente empaquetadas.

El uso de la hilera triaxial permitió introducir una mayor cantidad de células (aproximadamente 10 veces más) durante el proceso de electrohilado. Esto acortó el período de recuperación posterior al hilado y las fibras se sometieron al medio real antes.

Las descripciones de las modalidades de la invención en la presente solicitud se proporcionan a manera de ejemplo y no pretenden limitar el alcance de la invención. Las modalidades descritas comprenden diferentes características, no todas las cuales se requieren en todas las modalidades de la invención. Algunas modalidades utilizan solo algunas de las características o posibles combinaciones de las características. Las variaciones de las modalidades de la invención descritas, y las modalidades de la invención que comprenden diferentes combinaciones de características indicadas en las modalidades descritas, serán evidentes para los expertos en la técnica. El alcance de la invención se limita solo por las reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Una microfibrila electrohilada de múltiples capas concéntricas que comprende una capa externa, una capa interna, y una capa intermedia que reside entre la capa externa y la capa interna, dicha capa intermedia comprende uno o más polímeros solubles en agua seleccionados de polímeros naturales, polímeros sintéticos o sus combinaciones, y dicha capa interna comprende (i) polímeros u oligómeros solubles en agua, los polímeros solubles en agua se seleccionan de poli(ácido acrílico), poli(vinilpirrolidona), poli(N-vinilpirrolidona), poli(vinil alcohol), poli(ácido acrílico), poli(etilenglicol), poli(ácido metacrílico), poli(óxido de etileno), polihidroxiácido, alginato, almidón, quitosano, dextrano, albúmina, ácido hialurónico, polipéptidos y sus combinaciones y/o copolímeros, y el oligómero se selecciona del grupo que consiste en derivados oligoméricos de quitosano y oligómeros de sacáridos, y (ii) células y/o sustancias biológicas.
2. La microfibrila electrohilada de múltiples capas concéntricas de acuerdo con la reivindicación 1, en donde una cualquiera de la capa intermedia y la capa interna se forma a partir de una solución no hilable.
3. La microfibrila de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que es una microfibrila de tres capas.
4. La microfibrila de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde dicha microfibrila se selecciona de una cualquiera de (i) una microfibrila hueca, o (ii) una microfibrila en donde dicha capa interna, capa intermedia y/o capa interna son capas porosas que comprenden poros de 1 nm o más.
5. La microfibrila de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde dicha capa externa comprende uno o más polímeros organosolubles.
6. La microfibrila de acuerdo con la reivindicación 5, en donde dicho polímero organosoluble de dicha capa externa se selecciona del grupo que consiste en: poli(fluoruro de vinilideno), poli (ε-caprolactona) (PCL), poliamida, poli(siloxano), poli(silicona), poli(etileno), poli(metacrilato de 2-hidroxietilo), poli(metacrilato de metilo), poli(acetato de vinilo), poli(acrilamida), poli(etileno-co-acetato de vinilo), poli(ácido metacrílico), polilactida, poliglicolida, poli(lactida-co-glicolida), polianhídrido, poliortoéster, poli(carbonato), poli(acrilonitrilo), polianilina, polivinilcarbazol, poliestireno, poli(vinilfenol), polihidroxiácido, poli(caprolactona), polianhídrido, polihidroxiálcanoato, poliuretano, colágeno, celulosa, y sus combinaciones/copolímeros.
7. La microfibrila de acuerdo con la reivindicación 5, en donde dicho polímero organosoluble es poli(fluoruro de vinilideno-co-hexafluoropropileno) (PVDF-HFP).
8. La microfibrila de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde dicha capa externa comprende uno cualquiera de polímeros solubles en agua y agentes antiincrustantes.
9. La microfibrila de acuerdo con la reivindicación 8, en donde dicha capa externa comprende polímeros solubles en agua seleccionados del grupo que consiste en: poli(vinilpirrolidona), poli(vinil alcohol), poli(ácido acrílico), poli(etilenglicol), poli(óxido de etileno), albúmina, alginato, quitosano, almidón, ácido hialurónico, polipéptidos y sus combinaciones/copolímeros.

10. La microfibrilla de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde dichos polímeros solubles en agua de dicha capa intermedia se seleccionan del grupo que consiste en poli(ácido acrílico), poli(vinilpirrolidona), poli(vinil alcohol), poli(etilenglicol), poli(ácido metacrílico), poli(óxido de etileno), polihidroxiácido, alginato, almidón, quitosano, dextrano, albúmina, ácido hialurónico, polipéptidos y sus combinaciones/copolímeros.

- 5 11. La microfibrilla de acuerdo con la reivindicación 1, en donde uno cualquiera de: (i) dicho polímero sintético soluble en agua se selecciona del grupo que consiste en PVA, PVP, PEO, PAA, sulfonato de poliestireno y sus combinaciones o copolímeros; y (ii) dicho polímero natural soluble en agua se selecciona del grupo que consiste en polisacáridos (por ejemplo, alginato), almidón, ácido hialurónico, alginato, dextrano, quitosano y sus combinaciones o copolímeros.

12. La microfibrilla de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde uno cualquiera de: (i) la concentración de células dentro de dicha capa interna es de al menos 10 OD, (ii) dicha capa interna comprende además medios para mantener y/o soportar dicha viabilidad y/o actividad celular, o (iii) dichas sustancias biológicas se seleccionan de hormonas, factores de crecimiento, enzimas, nutrientes y moléculas de resistencia a choques.

13. La microfibrilla de acuerdo con la reivindicación 1, en donde una cualquiera de dicha capa externa, capa intermedia, o capa interna tiene un grosor de aproximadamente 5 nm a 10 micrómetros, opcionalmente en donde dicha capa interna tiene un diámetro de a lo máximo 50 micrómetros.

14. Un método para producir una microfibrilla de tres capas concéntricas, el método comprende: proporcionar una primera solución polimérica para formar una capa externa de la microfibrilla, una segunda solución polimérica para formar una capa intermedia de la microfibrilla, y una tercera solución para formar una capa interna o un núcleo de la microfibrilla, dicha tercera solución comprende (i) polímeros u oligómeros solubles en agua, los polímeros solubles en agua se seleccionan de poli(ácido acrílico), poli(vinilpirrolidona), poli(N-vinilpirrolidona), poli(vinil alcohol), poli(ácido acrílico), poli(etilenglicol), poli(ácido metacrílico), poli(óxido de etileno), polihidroxiácido, alginato, almidón, quitosano, dextrano, albúmina, ácido hialurónico, polipéptidos y sus combinaciones y/o copolímeros, y el oligómero se selecciona del grupo que consiste en derivados oligoméricos de quitosano, y oligómeros de sacáridos, y (ii) células y/o sustancias biológicas; y electrohilar conjuntamente la primera solución polimérica, la segunda solución polimérica y la tercera solución a través de unos capilares triaxiales, para producir de esta manera la microfibrilla de tres capas concéntricas, opcionalmente en donde una cualquiera de (i) la primera solución polimérica se solidifica más rápido que la segunda solución polimérica; (ii) la segunda solución polimérica se solidifica más rápido que la tercera solución; (iii) la segunda solución polimérica y dicha tercera solución comprenden el mismo solvente; (iv) la segunda solución polimérica comprende un solvente que es incapaz de disolver la primera solución polimérica.

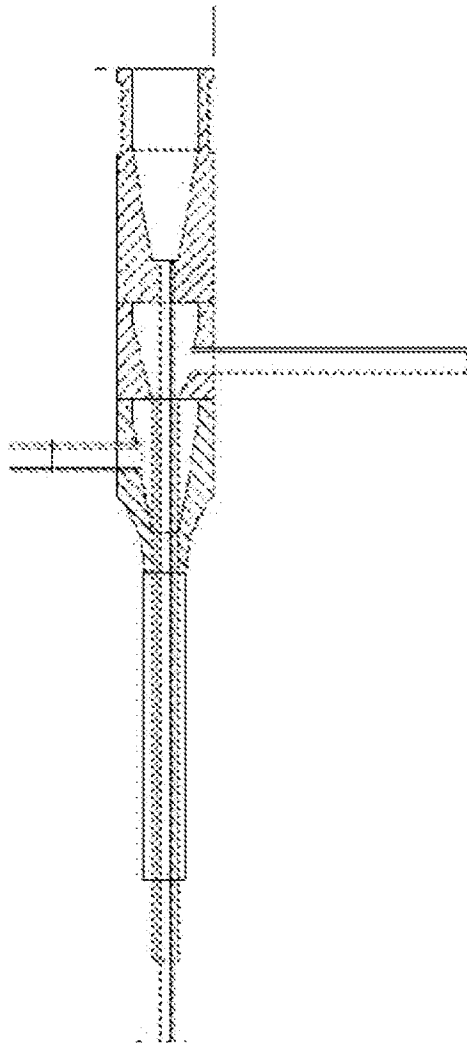


FIGURA 1

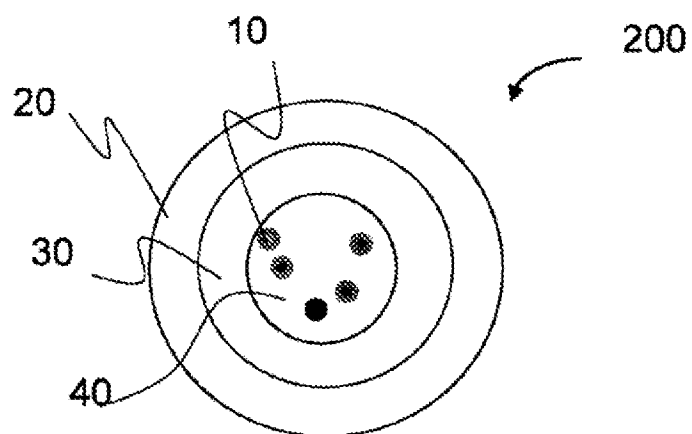


FIGURA 2A

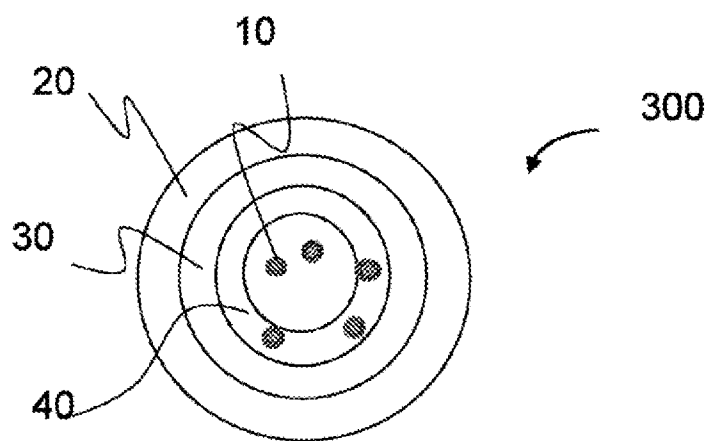


FIGURA 2B

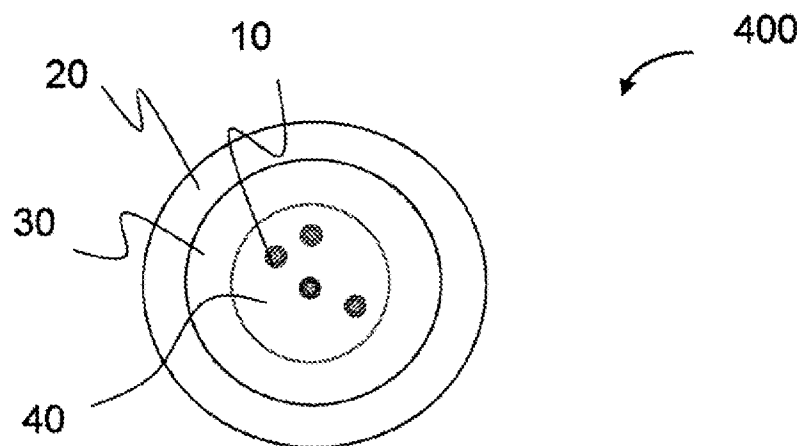


FIGURA 2C