

【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30年11月22日(2018.11.22)

【公表番号】特表2017-529877(P2017-529877A)

【公表日】平成29年10月12日(2017.10.12)

【年通号数】公開・登録公報2017-039

【出願番号】特願2017-538187(P2017-538187)

【国際特許分類】

C 12 M 1/00 (2006.01)

C 12 Q 1/02 (2006.01)

C 12 N 5/071 (2010.01)

【F I】

C 12 M 1/00 A

C 12 Q 1/02

C 12 N 5/071

【手続補正書】

【提出日】平成30年10月5日(2018.10.5)

【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】

a. 腎臓線維芽細胞および内皮細胞を含む腎臓間質組織の層と、
 b. 尿細管上皮細胞を含む腎臓上皮組織の層であって、人工の三次元生体尿細管モデルを形成するように腎臓間質組織の層と接触している、腎臓上皮組織の層とを含む、人工の三次元生体尿細管モデルであって、
 但し、前記間質組織が間質バイオインクを含み、前記上皮組織が上皮バイオインクを含み、人工の三次元生体尿細管モデルを形成する、
 人工の三次元生体尿細管モデル。

【請求項2】

腎臓間質組織の層が頂端面および側底面を有する、請求項1記載の尿細管モデル。

【請求項3】

腎臓上皮組織の層が腎臓間質組織の層の頂端面と接触している、請求項2記載の尿細管モデル。

【請求項4】

- (a) 腎臓上皮組織の層が尿細管上皮細胞から本質的になる、
- (b) 腎臓上皮組織の層が実質的に単層である、
- (c) 腎臓上皮組織の層が腎臓間質組織の層と途切れることなく接觸している、
- (d) 腎臓上皮組織の層が、腎臓間質組織の層の頂端面と接觸しており、かつそれを50%、70%、もしくは90%以上覆っている、
- (e) 腎臓上皮組織の層にある細胞の少なくとも50%、少なくとも70%、もしくは少なくとも90%が、腎臓上皮組織の層の別の細胞と密着結合を形成している、
- (f) 50~500 μm 厚である、
- (g) 約95:5~約5:95の線維芽細胞:内皮細胞比、約75:25~約25:75の線維芽細胞:内皮細胞比、約60:40~約40:60の線維芽細胞:内皮細胞比、もしくは約50:50の線維芽細胞:内皮細胞比で、線維芽細胞および内皮細胞が腎臓間質組織の層に存在する、

(h) 腎臓間質組織の層もしくは腎臓上皮組織の層のどちらかが、少なくとも30体積%生細胞、少なくとも70体積%生細胞、もしくは少なくとも90体積%生細胞である、または
(i) (a) ~ (h) のいずれか2つ以上の組み合わせである、

請求項1~3のいずれか一項記載の尿細管モデル。

【請求項5】

実質的に平らである、実質的に均一な厚さである、またはその両方である、請求項1~4のいずれか一項記載の尿細管モデル。

【請求項6】

生体適合膜、または孔径が約0.4 μm超の生体適合膜をさらに含む、請求項1~5のいずれか一項記載の尿細管モデル。

【請求項7】

アレイを形成するように構成されている、複数の請求項1~6のいずれか一項記載の尿細管モデル。

【請求項8】

a. 腎臓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タイプを含み、該間質細胞タイプが腎臓線維芽細胞および内皮細胞を含む、工程；腎臓上皮バイオインクを調製する工程であって、該上皮バイオインクが尿細管上皮細胞を含む、工程；

b. 腎臓間質バイオインクの層の少なくとも1つの表面に腎臓上皮バイオインクが層を形成するように、前記腎臓間質バイオインクおよび前記腎臓上皮バイオインクを付着させる工程；ならびに

c. 細胞を密着させて、人工の三次元生体尿細管モデルを形成するように、前記付着されたバイオインクを細胞培養培地で成熟させる工程を含む、人工の三次元生体尿細管モデルを製作する方法。

【請求項9】

腎臓間質組織バイオインクを付着させる工程が、頂端面および側底面を有する腎臓間質組織の層を形成する、請求項8記載の方法。

【請求項10】

腎臓上皮バイオインクが、腎臓間質組織の層の頂端面と接触して付着される、請求項9記載の方法。

【請求項11】

(a) 腎臓上皮バイオインクが尿細管上皮細胞から本質的になる、
(b) 腎臓上皮バイオインクが単層で付着される、
(c) 腎臓上皮組織の層が腎臓間質組織の層と途切れることなく接触して付着される、
(d) 腎臓上皮バイオインクが、腎臓間質組織の層の頂端面を50%、70%、もしくは90%以上覆う層を形成する、
(e) 腎臓上皮層の腎臓上皮細胞の少なくとも50%、70%、もしくは90%が、他の腎臓上皮細胞と密着結合を形成する、
(f) 尿細管モデルが50~500 μm厚である、
(g) 約95:5~約5:95の線維芽細胞:内皮細胞比、約75:25~約25:75の線維芽細胞:内皮細胞比、約60:40~約40:60の線維芽細胞:内皮細胞比、もしくは約50:50の線維芽細胞:内皮細胞比で、線維芽細胞および内皮細胞が腎臓間質バイオインクに存在する、
(h) 腎臓間質バイオインクが、少なくとも30体積%生細胞、少なくとも70体積%生細胞、もしくは少なくとも90体積%生細胞である、
(i) 腎臓間質バイオインクもしくは腎臓上皮バイオインクのいずれかが、付着後に平らな層を形成する、または
(j) (a) ~ (i) のいずれか2つ以上の組み合わせである、

請求項8~10のいずれか一項記載の方法。

【請求項12】

尿細管モデルが、実質的に均一な厚さの尿細管モデルである、請求項8~11のいずれか

一項記載の方法。

【請求項 1 3】

腎臓間質バイオインクを生体適合膜上に付着させる工程、または腎臓間質バイオインクを孔径が0.4μm超の生体適合膜上に付着させる工程をさらに含む、請求項8~12のいずれか一項記載の方法。

【請求項 1 4】

人工の三次元生体尿細管モデルが、アレイを形成するように付着される、請求項8~13のいずれか一項記載の方法。

【請求項 1 5】

a. 腎臓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タイプを含み、該間質細胞タイプが腎臓線維芽細胞および内皮細胞を含む、工程；腎臓上皮バイオインクを調製する工程であって、該上皮バイオインクが尿細管上皮細胞を含む、工程；

b. 間質バイオインクの少なくとも1つの表面に上皮バイオインクが層を形成するように、前記間質バイオインクおよび前記上皮バイオインクを付着させる工程；ならびに

c. 細胞を密着させて、人工の三次元生体尿細管モデルを形成するように、前記付着されたバイオインクを細胞培養培地中で成熟させる工程；

d. 治療剤を構築物と接触させる工程；

e. 尿細管上皮細胞の生存能力または機能を測定する工程；ならびに

f. 尿細管上皮細胞の測定された生存能力または機能に基づいて治療剤の腎毒性を評価する工程

を含む、治療剤の腎毒性を評価する方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0008

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0008】

治療剤の腎毒性を評価する方法であって、腎臓間質バイオインクを調製する工程であって、間質バイオインクが複数の間質細胞タイプを含み、間質細胞タイプが腎臓線維芽細胞および内皮細胞を含む、工程；腎臓上皮バイオインクを調製する工程であって、上皮バイオインクが尿細管上皮細胞を含む、工程；間質バイオインクの層の少なくとも1つの表面に上皮バイオインクが層を形成するように間質バイオインクおよび上皮バイオインクを付着させる工程；ならびに、細胞を密着させて、人工の三次元生体尿細管モデルを形成するように、付着されたバイオインクを細胞培養培地中で成熟させる工程；治療剤を構築物と接触させる工程；尿細管上皮細胞の生存能力または機能を測定する工程；ならびに尿細管上皮細胞の測定された生存能力または機能に基づいて治療剤の腎毒性を評価する工程を含む、方法も本明細書において提供される。ある特定の態様において、間質バイオインクは押し出しバイオプリンティングによって付着される。ある特定の態様において、上皮バイオインクはインクジェットバイオプリンティングによって付着される。ある特定の態様において、間質バイオインクまたは上皮バイオインクのいずれかが治療用分子または治療用物質をさらに含む。

【本発明1001】

a. 腎臓線維芽細胞および内皮細胞を含む腎臓間質組織の層と、
b. 尿細管上皮細胞を含む腎臓上皮組織の層であって、人工の三次元生体尿細管モデルを形成するように腎臓間質組織の層と接触している、腎臓上皮組織の層と
を含む、人工の三次元生体尿細管モデルであって、
但し、前記間質組織が間質バイオインクを含み、前記上皮組織が上皮バイオインクを含み、
人工の三次元生体尿細管モデルを形成する、
人工の三次元生体尿細管モデル。

[本発明1002]

腎臓間質組織の層が頂端面および側底面を有する、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1003]

腎臓上皮組織の層が腎臓間質組織の層の頂端面と接觸している、本発明1002の尿細管モデル。

[本発明1004]

腎臓上皮組織の層が尿細管上皮細胞から本質的になる、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1005]

腎臓上皮組織の層が初代尿細管上皮細胞から本質的になる、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1006]

初代尿細管上皮細胞が、腎機能に影響を及ぼす疾患をもつ対象から単離されている、本発明1005の尿細管モデル。

[本発明1007]

初代尿細管上皮細胞が、多発性囊胞腎をもつ対象から単離されている、本発明1005の尿細管モデル。

[本発明1008]

初代尿細管細胞が、II型糖尿病をもつ対象から単離されている、本発明1005の尿細管モデル。

[本発明1009]

腎臓上皮組織の層が腎細胞癌細胞を含む、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1010]

腎臓上皮組織の層が実質的に単層である、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1011]

腎臓間質組織の層が実質的に単層である、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1012]

腎臓上皮組織の層が腎臓間質組織の層と途切れることなく接觸している、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1013]

腎臓上皮組織の層が、腎臓間質組織の層の頂端面と接觸しており、かつそれを50%以上覆っている、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1014]

腎臓上皮組織の層が、腎臓間質組織の層の頂端面と接觸しており、かつそれを70%以上覆っている、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1015]

腎臓上皮組織の層が、腎臓間質組織の層の頂端面と接觸しており、かつそれを90%以上覆っている、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1016]

腎臓上皮組織の層にある細胞の少なくとも50%が、腎臓上皮組織の層の別の細胞と密着結合を形成している、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1017]

腎臓上皮組織の層にある細胞の少なくとも70%が、腎臓上皮組織の層の別の細胞と密着結合を形成している、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1018]

腎臓上皮組織の層にある細胞の少なくとも90%が、腎臓上皮組織の層の別の細胞と密着結合を形成している、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1019]

50~500 μ m厚である、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1020]

約100 μ m厚である、本発明1019の尿細管モデル。

[本発明1021]

腎臓上皮組織の層が押出材料をさらに含む、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1022]

線維芽細胞および内皮細胞が約95:5～約5:95の線維芽細胞：内皮細胞比で腎臓間質組織の層に存在する、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1023]

線維芽細胞および内皮細胞が約75:25～約25:75の線維芽細胞：内皮細胞比で腎臓間質組織の層に存在する、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1024]

線維芽細胞および内皮細胞が約60:40～約40:60の線維芽細胞：内皮細胞比で腎臓間質組織の層に存在する、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1025]

線維芽細胞および内皮細胞が約50:50の線維芽細胞：内皮細胞比で腎臓間質組織の層に存在する、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1026]

腎臓間質組織の層が分泌細胞をさらに含む、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1027]

腎臓間質組織の層が免疫細胞をさらに含む、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1028]

腎臓間質組織の層が押出材料をさらに含む、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1029]

腎臓間質組織の層が糸球体細胞を含む、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1030]

使用時に、前もって形成されたスキヤフォールドを実質的に伴わない、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1031]

腎臓線維芽細胞、内皮細胞、および尿細管上皮細胞が哺乳動物細胞である、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1032]

腎臓間質組織の層または腎臓上皮組織の層のどちらかが少なくとも30体積%生細胞である、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1033]

腎臓間質組織の層または腎臓上皮組織の層のどちらかが少なくとも70体積%生細胞である、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1034]

腎臓間質組織の層または腎臓上皮組織の層のどちらかが少なくとも90体積%生細胞である、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1035]

実質的に平らである、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1036]

実質的に均一な厚さである、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1037]

バイオプリントされた少なくとも1種類の成分を含む、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1038]

押し出しによってバイオプリントされた少なくとも1種類の成分を含む、本発明1037の尿細管モデル。

[本発明1039]

生体適合膜をさらに含む、本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1040]

孔径が約0.4 μm超の生体適合膜をさらに含む、本発明1039の尿細管モデル。

[本発明1041]

孔径が約1μmの生体適合膜をさらに含む、本発明1039の尿細管モデル。

[本発明1042]

アレイを形成するように構成されている、複数の本発明1001の尿細管モデル。

[本発明1043]

それぞれの尿細管モデルの間に約20μm～約100μmのスペースをとるように構成されている、本発明1042の複数の尿細管モデル。

[本発明1044]

a. 腎臓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タイプを含み、該間質細胞タイプが腎臓線維芽細胞および内皮細胞を含む、工程；腎臓上皮バイオインクを調製する工程であって、該上皮バイオインクが尿細管上皮細胞を含む、工程；

b. 腎臓間質バイオインクの層の少なくとも1つの表面に腎臓上皮バイオインクが層を形成するように、前記腎臓間質バイオインクおよび前記腎臓上皮バイオインクを付着させる工程；ならびに

c. 細胞を密着させて、人工の三次元生体尿細管モデルを形成するように、前記付着されたバイオインクを細胞培養培地中で成熟させる工程

を含む、人工の三次元生体尿細管モデルを製作する方法。

[本発明1045]

腎臓間質組織バイオインクを付着させる工程が、頂端面および側底面を有する腎臓間質組織の層を形成する、本発明1044の方法。

[本発明1046]

腎臓上皮バイオインクが、腎臓間質組織の層の頂端面と接觸して付着される、本発明1044の方法。

[本発明1047]

腎臓上皮バイオインクが尿細管上皮細胞から本質的になる、本発明1044の方法。

[本発明1048]

腎臓上皮バイオインクが初代尿細管上皮細胞から本質的になる、本発明1044の方法。

[本発明1049]

初代尿細管上皮細胞が、腎機能に影響を及ぼす疾患をもつ対象から単離されている、本発明1048の方法。

[本発明1050]

初代尿細管上皮細胞が、多発性囊胞腎をもつ対象から単離されている、本発明1048の方法。

[本発明1051]

初代尿細管上皮細胞が、II型糖尿病をもつ対象から単離されている、本発明1048の方法。

。

[本発明1052]

腎臓上皮バイオインクが腎細胞癌細胞を含む、本発明1044の方法。

[本発明1053]

腎臓上皮バイオインクが単層で付着される、本発明1044の方法。

[本発明1054]

腎臓間質組織バイオインクが単層で付着される、本発明1044の方法。

[本発明1055]

腎臓上皮組織の層が腎臓間質組織の層と途切れることなく接觸して付着される、本発明1044の方法。

[本発明1056]

腎臓上皮バイオインクが、腎臓間質組織の層の頂端面を50%以上覆う層を形成する、本発明1044の方法。

[本発明1057]

腎臓上皮バイオインクが、腎臓間質組織の層の頂端面を70%以上覆う層を形成する、本発明1044の方法。

[本発明1058]

腎臓上皮バイオインクが、腎臓間質組織の層の頂端面を90%以上覆う層を形成する、本発明1044の方法。

[本発明1059]

腎臓上皮層の腎臓上皮細胞の少なくとも50%が、他の腎臓上皮細胞と密着結合を形成する、本発明1044の方法。

[本発明1060]

腎臓上皮層の腎臓上皮細胞の少なくとも70%が、他の腎臓上皮細胞と密着結合を形成する、本発明1044の方法。

[本発明1061]

腎臓上皮層の腎臓上皮細胞の少なくとも90%が、他の腎臓上皮細胞と密着結合を形成する、本発明1044の方法。

[本発明1062]

尿細管モデルが50～500 μm厚である、本発明1044の方法。

[本発明1063]

尿細管モデルが約100 μm厚である、本発明1044の方法。

[本発明1064]

腎臓上皮バイオインクが押出材料をさらに含む、本発明1044の方法。

[本発明1065]

線維芽細胞および内皮細胞が約95:5～約5:95の線維芽細胞:内皮細胞比で腎臓間質バイオインクに存在する、本発明1044の方法。

[本発明1066]

線維芽細胞および内皮細胞が約75:25～約25:75の線維芽細胞:内皮細胞比で腎臓間質バイオインクに存在する、本発明1044の方法。

[本発明1067]

線維芽細胞および内皮細胞が約60:40～約40:60の線維芽細胞:内皮細胞比で腎臓間質バイオインクに存在する、本発明1044の方法。

[本発明1068]

線維芽細胞および内皮細胞が約50:50の線維芽細胞:内皮細胞比で腎臓間質バイオインクに存在する、本発明1044の方法。

[本発明1069]

腎臓間質バイオインクが分泌細胞をさらに含む、本発明1044の方法。

[本発明1070]

腎臓間質バイオインクが免疫細胞をさらに含む、本発明1044の方法。

[本発明1071]

腎臓間質バイオインクが押出材料をさらに含む、本発明1044の方法。

[本発明1072]

腎臓間質バイオインクが糸球体細胞を含む、本発明1044の方法。

[本発明1073]

前もって形成されたスキヤフォールドを実質的に伴わずに前記モデルが製作される、本発明1044の方法。

[本発明1074]

腎臓線維芽細胞、内皮細胞、および尿細管上皮細胞が哺乳動物細胞である、本発明1044の方法。

[本発明1075]

腎臓間質バイオインクまたは腎臓上皮バイオインクのいずれかが、付着後に平らな層を形成する、本発明1044の方法。

[本発明1076]

尿細管モデルが、実質的に均一な厚さの尿細管モデルである、本発明1044の方法。

[本発明1077]

腎臓間質バイオインクを生体適合膜上に付着させる工程をさらに含む、本発明1044の方法。

[本発明1078]

腎臓間質バイオインクを、孔径が $0.4\text{ }\mu\text{m}$ 超の生体適合膜上に付着させる工程をさらに含む、本発明1044の方法。

[本発明1079]

腎臓間質バイオインクを、孔径が約 $1\text{ }\mu\text{m}$ の生体適合膜上に付着させる工程をさらに含む、本発明1044の方法。

[本発明1080]

人工の三次元生体尿細管モデルが、アレイを形成するように付着される、本発明1044の方法。

[本発明1081]

人工の三次元生体尿細管モデルが、それぞれの尿細管モデルの間に約 $20\text{ }\mu\text{m}$ ～約 $100\text{ }\mu\text{m}$ のスペースをとるように構成されているアレイを形成するように付着される、本発明1044の方法。

[本発明1082]

腎臓間質バイオインクが少なくとも30体積%生細胞である、本発明1044の方法。

[本発明1083]

腎臓間質バイオインクが少なくとも70体積%生細胞である、本発明1044の方法。

[本発明1084]

腎臓間質バイオインクが少なくとも90体積%生細胞である、本発明1044の方法。

[本発明1085]

腎臓間質バイオインクが押し出しバイオプリンティングによって付着される、本発明1044の方法。

[本発明1086]

腎臓上皮バイオインクがインクジェットバイオプリンティングによって付着される、本発明1044の方法。

[本発明1087]

尿細管モデルのどの層もインビトロ培養で3日後に生存可能である、本発明1044の方法。

。

[本発明1088]

尿細管モデルのどの層もインビトロ培養で10日後に生存可能である、本発明1044の方法。

。

[本発明1089]

a. 腎臓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タイプを含み、該間質細胞タイプが腎臓線維芽細胞および内皮細胞を含む、工程；腎臓上皮バイオインクを調製する工程であって、該上皮バイオインクが尿細管上皮細胞を含む、工程；

b. 間質バイオインクの少なくとも1つの表面に上皮バイオインクが層を形成するように、前記間質バイオインクおよび前記上皮バイオインクを付着させる工程；ならびに

c. 細胞を密着させて、人工の三次元生体尿細管モデルを形成するように、前記付着されたバイオインクを細胞培養培地中で成熟させる工程；

d. 治療剤を構築物と接触させる工程；

e. 尿細管上皮細胞の生存能力または機能を測定する工程；ならびに

f. 尿細管上皮細胞の測定された生存能力または機能に基づいて治療剤の腎毒性を評価する工程

を含む、治療剤の腎毒性を評価する方法。

[本発明1090]

間質バイオインクが押し出しバイオプリンティングによって付着される、本発明1089の方法。

[本発明1091]

上皮バイオインクがインクジェットバイオプリンティングによって付着される、本発明1089の方法。

[本発明1092]

間質バイオインクまたは上皮バイオインクのいずれかが治療用分子または治療用物質をさらに含む、本発明1089の方法。