

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

(21)(22) Заявка: 2018111219, 17.08.2017

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
25.08.2016 EP 16185725.5

(43) Дата публикации заявки: 30.09.2019 Бюл. № 28

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 29.03.2018(86) Заявка РСТ:
EP 2017/070881 (17.08.2017)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2018/036910 (01.03.2018)Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр. 3, ООО
"Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"

(71) Заявитель(и):

ФИЛИП MORRIS ПРОДАКТС С.А. (СН)

(72) Автор(ы):

**БОВАР Давид (СН),
ЛЮТТИХ Карста (СН)**(54) **КУЛЬТУРА КЛЕТОК**

(57) Формула изобретения

1. Выделенный 3-мерный сфероид из клеток печени, где сфероид характеризуется увеличенным содержанием АТР по сравнению с 3-мерным сфероидом из клеток печени, культивируемым только в полной среде Вильямса Е;

такой же или увеличенной активностью цитохрома Р450 1А1 и цитохрома Р450 1В1 по сравнению с 3-мерным сфероидом из клеток печени, культивируемым только в полной среде Вильямса Е; и

увеличенной секрецией альбумина по сравнению с 3-мерным сфероидом из клеток печени, культивируемым только в среде Вильямса Е.

2. Выделенный 3-мерный сфероид из клеток печени для применения в 3-мерной системе культивирования нескольких органов, полученный или получаемый посредством способа, включающего

культивирование 3-мерного сфероида из клеток печени в среде для культивирования клеток, содержащей любую из (а) полной среды PneumaCult-ALI; или (b) полной среды В-ALI; или (с) полной среды PneumaCult-ALI и полной среды Вильямса Е, или (d) полной среды В-ALI и полной среды Вильямса Е или состоящей из нее или состоящей по сути из нее, в течение периода времени, достаточного для получения 3-мерного сфероида из клеток печени, в котором:

содержание АТР увеличено по сравнению с 3-мерным сфероидом из клеток печени, культивируемым только в полной среде Вильямса Е;

активность цитохрома P450 1A1 и цитохрома P450 1B1 является такой же или увеличенной по сравнению с 3-мерным сфероидом из клеток печени, культивируемым только в полной среде Вильямса Е; и

секреция альбумина увеличена по сравнению с 3-мерным сфероидом из клеток печени, культивируемым только в полной среде Вильямса Е.

3. Выделенный 3-мерный сфероид из клеток печени по п. 1 или 2, где сфероид представляет собой линию клеток-предшественников печени человека или получен из нее, где сфероид предпочтительно представляет собой клетку НераRG или получен из нее.

4. Выделенный 3-мерный сфероид из клеток печени по п. 1 или 3, где сфероид культивируется в среде для культивирования клеток, содержащей любую из (а) полной среды PneumaCult-ALI или (b) полной среды B-ALI; (с) полной среды PneumaCult-ALI и полной среды Вильямса Е или (d) полной среды B-ALI и полной среды Вильямса Е или состоящей из нее или состоящей по сути из нее.

5. Совместная культура, содержащая 3-мерный сфероид из клеток печени по любому из предыдущих пунктов и 3-мерную клетку легочного эпителия,

где совместная культура предпочтительно поддерживается в среде для культивирования клеток, содержащей любую из (а) полной среды PneumaCult-ALI; или (b) полной среды B-ALI; или (с) полной среды PneumaCult-ALI и полной среды Вильямса Е, или (d) полной среды B-ALI и полной среды Вильямса Е или состоящей из нее или состоящей по сути из нее.

6. 3-мерная система культивирования органа, содержащая выделенный 3-мерный сфероид из клеток печени по любому из пп. 1-4; или 3-мерная система культивирования нескольких органов, содержащая выделенный 3-мерный сфероид из клеток печени по любому из пп. 1-4 и дополнительно содержащая по меньшей мере один другой тип 3-мерных клеток или содержащая совместную культуру по п. 5,

где 3-мерный сфероид из клеток печени предпочтительно погружен в культуральную среду, содержащуюся в системе культивирования; и/или

дополнительно содержащая 3-мерную клетку легочного эпителия, где 3-мерная клетка легочного эпителия предпочтительно находится на границе раздела жидкой и воздушной сред в 3-мерной системе культивирования нескольких органов.

7. 3-мерная система культивирования нескольких органов, содержащая

(а) первый отсек для выращивания органа, содержащий первую полость для органа, приспособленную для погружения 3-мерных клеток первого типа в культуральную среду;

(b) второй отсек для выращивания органа, содержащий вторую полость для органа, приспособленную для культивирования 3-мерных клеток второго типа на границе раздела жидкой и воздушной сред, при этом второй тип 3-мерных клеток представляет собой тип клеток, который отличается от первого типа 3-мерных клеток; и

(с) резервуар для культуральной среды, соединяющий первую полость для органа и вторую полость для органа для обеспечения потока культуральной среды между ними;

где первая полость для органа и вторая полость для органа предпочтительно содержат одну и ту же культуральную среду; и/или

дополнительно содержащая совместную культуру по п. 5; и/или

где указанная система является миниатюризированной; и/или

где указанная система содержит или представляет собой микрофлюидное устройство, где указанная система предпочтительно представляет собой «орган на чипе».

8. Среда для культивирования клеток, содержащая (а) смесь полной среды PneumaCult-ALI и полной среды Вильямса Е или (b) смесь полной среды B-ALI и полной среды

Вильямса Е или состоящая из нее или состоящая по сути из нее; предпочтительно дополнительно содержащая 3-мерный сфероид из клеток печени по любому из пп. 1-4 или совместную культуру по п. 5.

9. 3-мерная система культивирования нескольких органов, содержащая культуральную среду, при этом указанная культуральная среда выбрана из группы, состоящей из культуральной среды, содержащей любую из (а) полной среды PneumaCult-ALI; или (b) полной среды B-ALI; или (с) полной среды PneumaCult-ALI и полной среды Вильямса Е, или (d) полной среды B-ALI и полной среды Вильямса Е или комбинации двух или более из них или состоящей из нее или состоящей по сути из нее.

10. Способ получения 3-мерного сфероида из клеток печени для применения в 3-мерной системе культивирования органа, включающий

(i) получение 3-мерного сфероида из клеток печени;

(ii) приведение 3-мерного сфероида из клеток печени в контакт с культуральной средой, содержащей любую из (а) полной среды PneumaCult-ALI; или (b) полной среды B-ALI; или (с) полной среды PneumaCult-ALI и полной среды Вильямса Е, или (d) полной среды B-ALI и полной среды Вильямса Е или состоящей из нее или состоящей по сути из нее;

(iii) и получение 3-мерного сфероида из клеток печени для применения в 3-мерной системе культивирования органа.

11. Способ получения совместной культуры, содержащей 3-мерный сфероид из клеток печени и 3-мерную клетку легочного эпителия или состоящей из них или состоящей по сути из них, для применения в 3-мерной системе культивирования нескольких органов, включающий

(i) получение 3-мерного сфероида из клеток печени и 3-мерной клетки легочного эпителия;

(ii) приведение 3-мерного сфероида из клеток печени и 3-мерной клетки легочного эпителия в контакт с культуральной средой, содержащей любую из (а) полной среды PneumaCult-ALI; или (b) полной среды B-ALI; или (с) полной среды PneumaCult-ALI и полной среды Вильямса Е, или (d) полной среды B-ALI и полной среды Вильямса Е или состоящей из нее или состоящей по сути из нее; и

(iii) получение совместной культуры 3-мерного сфероида из клеток печени и 3-мерной клетки легочного эпителия.

12. Способ *in vitro* оценки реакции 3-мерного сфероида из клеток печени на средство, при этом способ включает

(i) приведение 3-мерного сфероида из клеток печени по любому из пп. 1-4, или совместной культуры по п. 5, или 3-мерной системы культивирования органа по п. 6, или 3-мерной системы культивирования нескольких органов по п. 7 или п. 9 в контакт по меньшей мере с одним средством и

(ii) измерение одной или нескольких реакций 3-мерного сфероида из клеток печени, или совместной культуры, или 3-мерной системы культивирования органа, или 3-мерной системы культивирования нескольких органов после контакта по меньшей мере с одним средством;

где различие в одной или нескольких реакциях до и после контакта по меньшей мере с одним средством свидетельствует о том, что средство модулирует реакцию клетки.

13. Способ *in vitro* оценки реакции 3-мерного сфероида из клеток печени и 3-мерной клетки легочного эпителия на средство, при этом способ включает

(i) приведение совместной культуры по п. 5, или 3-мерной системы культивирования органа по п. 6, или 3-мерной системы культивирования нескольких органов по любому из п. 7 или п. 9 в контакт по меньшей мере с одним средством и

(ii) измерение одной или нескольких реакций совместной культуры, или 3-мерной

системы культивирования органа, или 3-мерной системы культивирования нескольких органов после контакта по меньшей мере с одним средством;

где различие в одной или нескольких реакциях до и после контакта по меньшей мере с одним средством свидетельствует о том, что средство модулирует реакцию клетки;

где этап (ii) предпочтительно включает измерение проникновения по меньшей мере одного средства в 3-мерную клетку легочного эпителия; и/или

включает дополнительный этап (iii) измерения биоактивации по меньшей мере одного средства в 3-мерном сфероиде из клеток печени; где измерения на этапах (ii) и (iii) проводят одновременно, или где измерение на этапе (iii) проводят после измерения на этапе (ii); и/или

где средство представляет собой аэрозоль, где аэрозоль предпочтительно представляет собой дым, предпочтительно сигаретный дым, или получен из него.

14. Применение среды для культивирования клеток, содержащей любую из (a) полной среды PneumaCult-ALI; или (b) полной среды B-ALI; или (c) полной среды PneumaCult-ALI и полной среды Вильямса Е, или (d) полной среды B-ALI и полной среды Вильямса Е или состоящей из нее или состоящей по сути из нее, для культивирования 3-мерного сфероида из клеток печени или 3-мерной клетки легочного эпителия или для совместного культивирования 3-мерного сфероида из клеток печени и 3-мерной клетки легочного эпителия.

15. Применение 3-мерной системы культивирования органа по п. 6 или 3-мерной системы культивирования нескольких органов по п. 7 или 9 для токсикологического тестирования, или для изыскания новых лекарственных средств, или для определения проникновения средства в клетки легкого, и/или для определения биоактивации средства в клетках печени, где средство предпочтительно представляет собой аэрозоль.