

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201900160** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2020.02.28

(22) Дата подачи заявки
2019.04.12

(51) Int. Cl. *C12N 5/077* (2006.01)
C12N 5/0786 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)
C12Q 1/04 (2006.01)
C12R 1/32 (2006.01)

(54) **СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ IN VITRO**

(31) 2018129016/14 (046637)

(32) 2018.08.06

(33) RU

(71) Заявитель:

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
"НОВОСИБИРСКИЙ НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ТУБЕРКУЛЕЗА"
МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (ФГБУ
"ННИИТ" МИНЗДРАВА РОССИИ)
(RU)**

(72) Изобретатель:

**Белгородцев Сергей Николаевич,
Шварц Яков Шмульевич, Краснов
Владимир Александрович (RU)**

(57) Изобретение относится к экспериментальной медицине, а именно к способам моделирования туберкулезной инфекции *in vitro*, и может быть использовано при изучении молекулярных и клеточных механизмов патогенеза туберкулеза, а также для разработки и оценки эффективности новых антибактериальных препаратов и патогенетических методов лечения туберкулезной инфекции. Способ включает в себя получение гранулемоподобных структур из мононуклеарных клеток венозной крови человека или крови/спленоцитов экспериментального животного (в том числе с добавлением клеток иного гистогенетического происхождения) в присутствии микобактерий туберкулеза, культивируемых в трехмерном матриксе, полученном из аутоплазмы: мононуклеарные клетки крови ресуспендируют в аутоплазме крови с добавлением в полученную взвесь микобактерий туберкулеза в соотношении возбудитель:клетка от 3:1 до 1:50, с последующим добавлением 10% CaCl₂ из расчета 150 мкл на 1 мл клеточной суспензии. Способ позволяет избежать использования гетерологичных препаратов, исключая искусственные вмешательства в тонкие механизмы взаимодействия клеток иммунной системы. Технологические особенности способа позволяют формировать сгусток большего объема и с большим количеством клеток, что позволяет существенно расширить решаемые экспериментальные задачи. Время инициации плазматического сгустка - 10-15 мин - позволяет избежать оседания части клеток на дно культуральной посуды, поэтому большее количество клеток участвует в образовании гранулемоподобных структур. Отказ от использования дорогостоящих коммерческих препаратов и аппаратуры позволяет широко использовать указанный метод в научных исследованиях.

A1

201900160

201900160

A1

Способ моделирования туберкулезной инфекции *in vitro*

Изобретение относится к экспериментальной медицине, а именно к способам моделирования туберкулезной инфекции *in vitro*, и может быть использовано при изучении молекулярных и клеточных механизмов патогенеза туберкулеза, эффективности противотуберкулезных препаратов и прочих лекарственных веществ, влияющих на взаимодействие клеток иммунной системы больного человека с микобактерией туберкулеза.

Отличительной чертой туберкулезного процесса является формирование специфических гранул, представляющих собой хорошо организованные динамические структуры, основным составляющим компонентом которых являются клетки иммунной системы находящиеся на разной стадии дифференцировки и в разной функциональной активности. Формирование туберкулезной гранулы начинается сразу после инфицирования человека за счет направленной миграции к очагу макрофагов, Т- и В-лимфоцитов, нейтрофилов и прочих клеток преимущественно из периферической крови. В зависимости от выраженности и направленности иммунных реакций в грануле, микобактерия туберкулеза может элиминироваться, приводя к полному выздоровлению, либо длительно персистировать в грануле (так называемая латентная туберкулезная инфекция), либо активироваться, десиминировать и вызывать активные формы туберкулеза (1). Микобактерии туберкулеза, находясь внутриклеточно в грануле также претерпевают изменения, часто переходя в дормантное состояние и приобретая антибиотикорезистентность (2). Экспериментальные модели туберкулезной инфекции, основанные на использовании экспериментальных животных, из-за значительного отличия функционирования иммунной системы, не способны полностью охватить особенности иммунопатогенеза

туберкулеза у человека (3), поэтому перспективным является использование моделей туберкулезной инфекции *in vitro* (1; 4).

Известно несколько способов моделирования трехмерных гранулематозных структур *in vitro*, используемых для изучения взаимодействий микобактерий туберкулеза и клеток макроорганизма. В способе, предложенном К.А. Birkness и соавт. (5), использовались моноклеарные клетки периферической крови в равных соотношениях с аутологичными макрофагами, к которым добавляли микобактерии туберкулеза. Культивирование клеток проводили на пластике с низкими адгезивными свойствами. В получившихся при этом гранулемах часть клеток все равно прилипала к дну культуральной посуды и сформированные структуры носили смешанный двух-трехмерный характер. Причем агрегаты клеток были небольшими по размеру – до 10-15 клеток, а для получения более крупных структур требовалось добавление цитокинов (IL-2, TNF α или IFN γ), что является дополнительным искусственным фактором и искажает протекающие в физиологических условиях процессы. Обязательное использование специального культурального пластика с низкими адгезивными свойствами делает этот метод довольно дорогостоящим.

Известен также способ (6), при котором предлагается использовать агарозный гель, которым предварительно покрывают лунки 96-луночного культурального планшета. Суспензия моноклеарных клеток в культуральной среде на основе питательной среды RPMI помещается поверх застывшего агарозного геля. Дальнейшее культивирование осуществляется при избегании малейших механических воздействий – условие, которое надо соблюдать и при смене культуральной среды, иначе гранулемы не формируются. Выполнить это условие довольно сложно, что делает метод малонадежным. Использование в качестве матрикса линейного полисахарида агарозы нежелательно, так как она взаимодействует с рецепторами на

поверхности макрофагов, меняя реактивность этих гранулем-образующих клеток. Кроме того, агароза – довольно дорогой по стоимости субстрат.

Описан способ (7), в котором трехразмерные туберкулезные гранулемы *in vitro* получали из мононуклеаров периферической крови, используя микрошарики сефарозы, покрытые микобактериальными антигенами, либо инфицированные микобактериями. Недостатком способа является необходимость использования инородного материала и, таким образом, существенные отличия структуры гранулем от тех, которые формируются при реальном заболевании.

Наиболее близким к заявленному является способ формирования гранулем в коллагеновом матриксе (8), заключающийся в выделении мононуклеарных клеток периферической крови на градиенте плотности фиколла с последующим их суспендированием в растворе, состоящем из коллагена 95%, фибронектина 4% и NaOH 1%. При этом для формирования гранулемоподобных структур к 50 мкл раствора добавляется 50000 мононуклеарных клеток, микобактерии туберкулеза добавляются к клеткам в соотношении 1:10. Формирование трехмерной структуры происходит в течение 45 минут при температуре 37⁰ С.

Указанный способ имеет несколько недостатков:

1. В качестве веществ для формирования трехмерного матрикса используются коммерческие препараты коллаген и фибронектин, которые обладают иммуногенными свойствами и могут оказывать влияние на взаимодействие мононуклеарных клеток крови.

2. Технические особенности способа не позволяют использовать объем трехмерной структуры более 50 мкл с 50000 мононуклеарных клеток, что создает неудобства для манипуляций и накопления необходимого материала для исследований.

3. Авторы указывают, что при других соотношениях микобактерий и мононуклеарных клеток, кроме как 1 : 10, гранулемы не формируются

4. Длительное время формирования матрикса приводит к тому, что большая часть клеток оседает на дно и не участвует в формировании трехмерной гранулемоподобной структуры.

Предлагаемый способ моделирования туберкулезной инфекции *in vitro* путем получения гранулемоподобных структур из мононуклеарных клеток венозной крови в присутствии микобактерий туберкулеза, культивируемых в трехмерном матриксе, отличающийся тем, что мононуклеарные клетки крови ресуспендируют в аутоплазме крови с добавлением в полученную взвесь микобактерий туберкулеза в соотношении возбудитель : клетка от 3:1 до 1:50, с последующим добавлением 10% CaCl₂ из расчета 150 мкл на 1 мл клеточной суспензии, что позволяет более полно отобразить особенности иммунопагеноза туберкулезной инфекции у человека за счет использования аутологичных тканей, расширить возможности использования этой модели в эксперименте, за счет использования более широкого спектра соотношений микобактерия/клетка и привлечения других, участвующих в граунклемогенезе типов клеток, а также отказаться от использования дорогостоящих коммерческих реактивов и специфической аппаратуры. Кроме того, активация факторов свертывания крови наступает сразу после добавления CaCl₂, плазматической сгусток формируется через 10-15 минут, при этом клетки не успевают осесть на дно культурального планшета и оказываются в фибриновой сети, которая, тем не менее, не мешает их направленной миграции. Использование в качестве матрикса аутологичной плазмы исключает искусственные воздействия, связанные с использованием гетерологичных материалов. При использовании указанного способа, мы наблюдали формирование гранул при добавлении микобактерий туберкулеза в соотношении к мононуклеарным клеткам от 3:1 до 1:50, что позволяет существенно расширить решаемые

экспериментальные задачи. Еще одним преимуществом заявляемого способа является возможность его осуществления без применения дорогостоящих реактивов, что позволяет широко использовать его в практике научных исследований иммунопатологических механизмов гранулемогенеза при развитии туберкулезного процесса, изучении иммунологических механизмов, регулирующих процессы образования и эволюции гранул при инфекционных гранулематозных воспалительных процессах, при поиске, разработке и изучении новых противотуберкулезных препаратов.

Способ осуществляется следующим образом: проводится забор периферической крови в стерильную одноразовую пробирку с хелатором двухвалентных катионов (ЭДТА или цитрат натрия). Выделение мононуклеарных клеток крови проводится центрифугированием на градиенте плотности, например, с использованием фиколла с плотностью $1,077 \text{ г/см}^3$. После центрифугирования плазма крови собирается в отдельную пробирку и стерилизуется фильтрованием через фильтр с диаметром пор $0,22 \text{ мкм}$. Полученные мононуклеарные клетки дважды отмываются от фиколла в культуральной среде или солевом буферном растворе, не содержащем кальция и магния. Далее мононуклеарные клетки ресуспендируются в аутоплазме в соотношении 1 млн клеток на 1 мл плазмы. К суспензии клеток добавляются микобактерии туберкулеза в соотношении микобактерия/клетка от 3:1 до 1:50 в зависимости от задач эксперимента. Суспензия мононуклеарных клеток и микобактерий туберкулеза в аутоплазме перемещается в лунки 96-луночного планшета в объеме 150 мкл. Активация образования плазматического сгустка, содержащего клетки и микобактерии, осуществляется добавлением 10% CaCl_2 в количестве 150 мкл на 1 мл суспензии. Затем планшет инкубируется в течение 30 минут при 37°C , 5% CO_2 и 96% влажности, и далее в лунки добавляется культуральная среда типа IMDM или RPMI-1640 в количестве 100 мкл. Смена среды выполняется через 24 часа и затем каждые 3-4 суток. При этом более 95% клеток сохраняют

свою жизнеспособность на сроках 7 и 10 дней. Через 24 часа можно наблюдать формирование трехмерных структур, состоящих из мононуклеарных клеток периферической крови (моноциты и лимфоциты) размерами от 10 до 200 клеток – процесс, в основе которого лежит хемотаксис лимфоцитов к фагоцитировавшим микобактерии туберкулеза моноцитам. При наблюдении в более поздние сроки, клеточные структуры увеличиваются в размерах за счет привлечения новых клеток, моноциты подвергаются дифференцировке в макрофаги и, в дальнейшем, в эпителиоидные клетки – процесс во многом напоминающий таковой при развитии туберкулезной инфекции у человека. При окраске с нитросиним тетразолием видно, что моноциты-макрофаги, расположенные в толще гранулемы, активируются с образованием активных форм кислорода, сами гранулемы состоят из моноцитов, макрофагов и лимфоцитов без примеси нейтрофилов и эритроцитов. Трехмерные гранулемоподобные структуры формируются также при добавлении к суспензии мононуклеарных клеток крови клеток иного гистогенетического происхождения (мезенхимальные стромальные клетки), лекарственных препаратов (рифампицин), а также при использовании мононуклеарных клеток лабораторного животного (спленоциты мыши).

Пример 1. Вакуумную пробирку BD Vacutainer® СРТ™ для выделения моноцитов и лимфоцитов, содержащую цитрат натрия и разделительную систему гель/Ficoll™, заполняют кровью из локтевой вены человека, аккуратно тщательно перемешивают, центрифугируют при 1500 g 20 мин, затем плазму, находящуюся над поверхностью полученного мононуклеарного клеточного слоя отбирают пипеткой, переносят в отдельную пробирку и стерилизуют фильтрованием через фильтр с диаметром пор 0,22 мкм, мононуклеары переносят в другую пробирку и отмывают от фиколла и плазмы, для чего добавляют 10 мл раствора Хэнкса без ионов кальция и магния, центрифугируют 10 мин при 1500 g и супернатант осторожно декантируют; последнюю процедуру повторяют еще

раз. Далее подсчитывают число выделенных клеток, ресуспендируют их в плазме в соотношении 1 млн клеток на 1 мл плазмы, к суспензии мононуклеарных клеток добавляют микобактерии туберкулеза в различных пропорциях микобактерия/клетка – от 3:1 до 1:50, перемешивают и переносят в лунки 96-луночного планшета в объеме по 150 мкл. Затем в лунки раскапывают по 15 мкл 10% раствора кальция хлорида, планшет помещают в CO₂-инкубатор при 37°C, 5% CO₂ и 96% влажности, и через 30 минут инкубации в лунки добавляют культуральную питательную среду RPMI-1640 в количестве 100 мкл. Через 24 часа в составе сгустка наблюдаются гранулематозные очаги размером 10-200 клеток в количестве от 10 до 30 гранул на лунку.

Пример 2. Все процедуры идентичны таковым в Примере 1, за исключением того, что суспензию клеток в концентрации 1 млн на 1 мл получают не из мононуклеарных клеток крови человека, а из спленоцитов лабораторной мыши и используют аутоплазму кроми. В данном примере, предназначенном для демонстрации возможности формирования гранулем не из мононуклеаров крови, а из сложной смеси мононуклеаров и других клеток лабораторных животных, взвесь спленоцитов получали стандартным методом из селезенки мыши, а кровь – из ретроорбитального синуса. После 24-часовой инкубации в сгустках наблюдали сформированные гранулемы, состоящие из 5-15 клеток в количестве 15-30 гранул на лунку.

Пример 3. Получают суспензию мононуклеаров в аутоплазме точно так же, как в Примере 1, но затем к суспензии мононуклеарных клеток добавляют клетки иного гистогенеза. В данном примере, предназначенном для демонстрации возможности изменения клеточной композиции гранулем, готовили суспензию, состоящую из 750 тыс. мононуклеаров крови и 250 тыс мезенхимальных стромальных клеток человека костно-мозгового происхождения, предварительно меченых флуоресцентным красителем CFSE. В результате через 24 часа инкубации в сгустке выявляются

гранулемы, состоящие из 10-20 клеток в количестве 10-30 гранулам на лунку, причем в составе гранулам обнаруживаются CFSE-меченые клетки.

Пример 4. Все процедуры идентичны таковым в Примере 1, но при смене культуральной среды в лунках планшета с гранулемами добавляли антибактериальный препарат рифампицин. После окончания культивирования через 10 при конфокальной микроскопии фиксированного плазматического сгустка наблюдали уменьшение количества микобактерий в гранулемах как вне-, так и внутриклеточно. Уменьшение микобактериальной нагрузки подтвердилось последующими микробиологическими методами при посеве гомогенизированного плазматического сгустка на твердые питательные среды. Аналогично, при смене культуральной среды использовали не рифампицин, а иммуномодулирующий препарат полудан, добавление которого приводило к увеличению клеточности трехмерных гранулемоподобных структур, уменьшению микобактериальной нагрузки.

Способ опробован в экспериментальной лаборатории ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза» Минздрава России. Общий объем экспериментальной работы представлен в таблице:

№ п/п	Использованный вариант метода	Количество образцов
1	Формирование трехмерных гранулам с соотношением микобактерия : клетка от 3 : 1 до 1 : 50	3 серии по 5-8 образцов
2	Формирование трехмерных гранулам с добавлением мезенхимальных стромальных клеток	3 образца
3	Формирование трехмерных гранулам с исследованием антибактериальной активности рифампицина	5 образцов
4	Формирование трехмерных гранулам из спленоцитов мыши	2 серии по 10-12 образцов

При использовании указанного метода трехмерные гранулемоподобные структуры получали при спектре соотношений микобактерия/клетка от 3:1 до 1:50. Аналогичный результат получали при использовании спленоцитов лабораторной мыши. При добавлении к суспензии моноклеарных клеток крови мезенхимальных клеток костного мозга происхождения отмечали включение последних в состав гранул с изменением клеточного состава гранул и количества в них микобактерий. В серии экспериментов с добавлением антибактериального препарата отмечали изменение клеточности гранул и микобактериальной нагрузки.

Таким образом, указанный метод позволяет стабильно получать трехмерные туберкулезные гранулемы *in vitro* без использования гетерологичных коммерческих препаратов, что позволяет исключить атрифициальные воздействия на тонкие механизмы взаимодействия клеток иммунной системы *in vitro*. Технологические особенности формирования трехмерного матрикса из аутоплазмы позволяют формировать плазматический сгусток объемом до 200 мкл, что в совокупности с более широким спектром соотношений клетка/микобактерия позволяет расширять спектр решаемых экспериментальных задач, в частности добавлять к клеточной суспензии клетки иного генеза, изучать эффективность и механизмы действия антибактериальных и иммуномодулирующих препаратов. Сокращение времени формирования трехмерного матрикса с 40 до 10-15 минут приводит к тому, что большая часть клеток остается в суспензии и сформированные гранулемы носят характер истинных трехмерных структур. Отказ от дорогостоящих коммерческих реактивов также позволяет широко использовать его в практике научных исследований иммунопатологических механизмов гранулемогенеза при развитии туберкулезного процесса, изучении иммунологических механизмов, регулирующих процессы образования и эволюции гранул при инфекционных гранулематозных воспалительных процессах, при поиске, разработке и изучении новых противотуберкулезных препаратов.

Способ моделирования туберкулезной инфекции *in vitro*

Формула изобретения

п.1. Способ моделирования туберкулезной инфекции *in vitro* путем получения гранулемоподобных структур из мононуклеарных клеток венозной крови в присутствии микобактерий туберкулеза, культивируемых в трехмерном матриксе, отличающийся тем, что мононуклеарные клетки крови ресуспендируют в аутоплазме крови с добавлением в полученную взвесь микобактерий туберкулеза в соотношении возбудитель : клетка от 3:1 до 1:50, с последующим добавлением 10% CaCl_2 из расчета 150 мкл на 1 мл клеточной суспензии

п.2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что в качестве клеток для формирования гранулемы используют не мононуклеарные клетки крови, а спленоциты лабораторного животного.

п.3. Способ по п. 1., отличающийся тем, что к суспензии мононуклеарных клеток добавляют клетки иного происхождения, например, полученные из костного мозга мезенхимальные стромальные клетки.

п.4. Способ по п. 1., отличающийся тем, что к сформированному плазматическому сгустку с гранулемами добавляют тестируемые антибактериальные препараты и другие лекарственные средства.

ЕВРАЗИЙСКОЕ ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ
ПОИСКЕ(статья 15(3) ЕАПК и правило 42
Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

201900160

Дата подачи: 12 апреля 2019 (12.04.2019) | Дата испрашиваемого приоритета: 06 августа 2018 (06.08.2018)

Название изобретения: СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ IN VITRO

Заявитель: ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ "НОВОСИБИРСКИЙ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ТУБЕРКУЛЕЗА" МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (ФГБУ "ННИИТ" МИНЗДРАВА РОССИИ) Некоторые пункты формулы не подлежат поиску (см. раздел I дополнительного листа) Единство изобретения не соблюдено (см. раздел II дополнительного листа)

А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

МПК:	C12N 5/077	(2010.01)	СПК:	C12N 5/0645	(2013-01)
	C12N 5/0786	(2010.01)		C12N 5/0663	(2013-01)
	C12N 1/20	(2006.01)		C12N 1/20	(2016-05)
	C12Q 1/04	(2006.01)		C12Q 1/04	(2017-08)
	C12R 1/32	(2006.01)		C12R 1/32	(2013-01)

Согласно Международной патентной классификации (МПК) или национальной классификации и МПК

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Минимум просмотренной документации (система классификации и индексы МПК)

C12N 5/077, 5/0786, 1/20, C12Q 1/04, C12R 1/32

Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в область поиска:

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	RU 2491551 C1 (ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ "САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ" МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ) 27.08.2013, реферат, формула	1-4
A	RU 2428484 C2 (ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ НЕЧЕРНОЗЕМНОЙ ЗОНЫ РФ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК) 10.09.2011, реферат, формула	1-4

 последующие документы указаны в продолжении графы В данные о патентах-аналогах указаны в приложении

* Особые категории ссылочных документов:

"А" документ, определяющий общий уровень техники

"Е" более ранний документ, но опубликованный на дату
подачи евразийской заявки или после нее"О" документ, относящийся к устному раскрытию, экспони-
рованию и т.д."Р" документ, опубликованный до даты подачи евразийской
заявки, но после даты испрашиваемого приоритета

"D" документ, приведенный в евразийской заявке

"Т" более поздний документ, опубликованный после даты

приоритета и приведенный для понимания изобретения

"Х" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету
поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень,
взятый в отдельности"У" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету
поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с
другими документами той же категории

"&" документ, являющийся патентом-аналогом

"L" документ, приведенный в других целях

Дата действительного завершения патентного поиска: 23 декабря 2019 (23.12.2019)

Наименование и адрес Международного поискового органа:

Федеральный институт

промышленной собственности

РФ, 125993, Москва, Г-59, ГСП-3, Бережковская наб.,
д. 30-1. Факс: (499) 243-3337, телетайп: 114818 ПОДАЧА

Уполномоченное лицо:



А.Н. Банченко

Телефон № (499) 531-64-81

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ

ЕАПВ/ОП-2

Номер евразийской заявки:
201900160

ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ (продолжение графы В)		
Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	US 2013/0040829 A1 (UNIVERSITY OF CENTRAL FLORIDA RESEARCH FOUNDATION, INC.) 14.02.2013, реферат, формула	1-4
A	WO 2018/076404 A1 (GUANGZHOU DEAOU MEDICAL DIAGNOSIS CO., LTD.) 03.05.2018, реферат	1-4