



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2687847 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
G01N 33/53 (2006.01)
C07K 14/435 (2006.01)
C12N 5/071 (2010.01)
C12N 9/02 (2006.01)
C12N 9/50 (2006.01)
C12N 9/52 (2006.01)
C12N 15/09 (2006.01)
G01N 33/569 (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2019.06.11
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2019.03.06
(86)	European Application Nr.	12758377.1
(86)	European Filing Date	2012.03.15
(87)	The European Application's Publication Date	2014.01.22
(30)	Priority	2011.03.16, JP, 2011058080
(84)	Designated Contracting States:	AL ; AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; RS ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR
(73)	Proprietor	Tohoku University, 1-1 Katahira 2-chome, Aoba-kuSendai-shiMiyagi 980-8577, Japan Meiji Seika Pharma Co., Ltd., 4-16, Kyobashi 2-chome Chuo-ku, Tokyo 104-8002, Japan
(72)	Inventor	YAMAGATA, Youhei, c/o TOHOKU UNIVERSITY1-1 Katahira 2-chomeAoba-ku, Sendai-shiMiyagi 980-8577, Japan GOTO, Masafumi, c/o TOHOKU UNIVERSITY1-1 Katahira 2-chomeAoba-ku, Sendai-shiMiyagi 980-8577, Japan WATANABE, Kimiko, c/o TOHOKU UNIVERSITY1-1 Katahira 2-chomeAoba-ku, Sendai-shiMiyagi 980-8577, Japan
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54)	Title	PROBE FOR ANALYZING BIOLOGICAL TISSUE AND METHOD FOR UTILIZING SAME
(56)	References Cited:	WO-A1-2010/058707 WO-A1-98/24889 JP-A- 2006 145 545

JP-A- 2005 521 408

JP-A- 2002 159 297

JP-A- 2009 077 714

BRANDHORST D ET AL: "Adjustment of the Ratio Between Collagenase Class II and I Improves Islet Isolation Outcome", TRANSPLANTATION PROCEEDINGS, ELSEVIER INC, ORLANDO, FL; US, vol. 37, no. 8, 1 October 2005 (2005-10-01), pages 3450-3451, XP027612451, ISSN: 0041-1345 [retrieved on 2005-10-01]

Greetje H Vos-Scheperkeuter ET AL: "PI1 SO963-6897(97)00009-2 Original Contribution HISTOCHEMICAL ANALYSIS OF THE ROLE OF CLASS I AND CLASS II CLOSTRIDZUM HZSTOLYTZCUM COLLAGENASE IN THE DEGRADATION OF RAT PANCREATIC EXTRACELLULAR MATRIX FOR ISLET ISOLATION", Cell Transplantation, 1 January 1997 (1997-01-01), pages 403-412, XP055191217, Retrieved from the Internet: URL: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963689797000092/pdf?md5=40496_03507e47c2c68e1e3adc9726472&pid=1-s2.0-S0963689797000092-main.pdf [retrieved on 2015-05-22]

MEYER T ET AL: "Expression pattern of extracellular matrix proteins in the pancreas of various domestic pig breeds, the Goettingen Minipig and the Wild Boar.", ANNALS OF TRANSPLANTATION : QUARTERLY OF THE POLISH TRANSPLANTATION SOCIETY 1997, vol. 2, no. 3, 1997, pages 17-26, XP055161398, ISSN: 1425-9524

ROBERT C. MCCARTHY ET AL: "Tissue Dissociation Enzymes for Isolating Human Islets for Transplantation: Factors to Consider in Setting Enzyme Acceptance Criteria", TRANSPLANTATION, vol. 91, no. 2, 1 January 2011 (2011-01-01), pages 137-145, XP055191164, ISSN: 0041-1337, DOI: 10.1097/TP.0b013e3181ffff7d

STEPHEN J. HUGHES ET AL: "Characterisation of Collagen VI within the Islet-Exocrine Interface of the Human Pancreas: Implications for Clinical Islet Isolation?", TRANSPLANTATION, vol. 81, no. 3, 1 February 2006 (2006-02-01), pages 423-426, XP055161400, ISSN: 0041-1337, DOI: 10.1097/01.tp.0000197482.91227.df

KRAHN KATY NASH ET AL.: 'Fluorescently labeled collagen binding proteins allow specific visualization of collagen in tissues and live cell culture' ANAL BIOCHEM vol. 350, no. 2, 2006, pages 177 - 185, XP005312692

VAN SUYLICHEM PAUL T R ET AL: "Amount and distribution of collagen in pancreatic tissue of different species in the perspective of islet isolation procedures", CELL TRANSPLANTATION, vol. 4, no. 6, 1995, pages 609-614, XP055161403, ISSN: 0963-6897

S. YOSHIDA ET AL: "The Influence of Collagen III Expression on the Efficiency of Cell Isolation With the Use of Collagenase H", TRANSPLANTATION PROCEEDINGS, vol. 46, no. 6, 1 July 2014 (2014-07-01), pages 1942-1944, XP055161406, ISSN: 0041-1345, DOI: 10.1016/j.transproceed.2014.06.007

AKIFUMI GOTO ET AL.: 'Suito Bunri-yo Kosozai no Kassei Hyoka System no Kochiku' SUI ? SUITO ISHOKU KENKYUKAI PROGRAM - SHOROKUSHU vol. 37TH, 2010, page 53, XP008172170

CARTER JEFFREY D ET AL: "A Practical Guide to Rodent Islet Isolation and Assessment", BIOLOGICAL PROCEDURES ONLINE, BIOLOGICAL PROCEDURES ONLINE, WATERLOO, CA, vol. 11, no. 1, 3 December 2009 (2009-12-03), page 9021, XP021088912, ISSN: 1480-9222, DOI: 10.1007/S12575-009-9021-0

WOLTERS GERRIT H J ET AL: "Different Roles of Class I and Class II Clostridium Histolyticum Collagenase in Rat Pancreatic Islet Isolation", DIABETES, AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, vol. 44, no. 2, 1 January 1995 (1995-01-01), pages 227-233, XP009181886, ISSN: 0012-1797

ATSUSHI FUJIO ET AL: "Collagenase H Is Crucial for Isolation of Rat Pancreatic Islets", CELL TRANSPLANTATION, vol. 23, no. 10, 17 October 2014 (2014-10-17), pages 1187-1198, XP055161407, ISSN: 0963-6897, DOI: 10.3727/096368913X668654

Enclosed is a translation of the patent claims in Norwegian. Please note that as per the Norwegian Patents Acts, section 66i the patent will receive protection in Norway only as far as there is agreement between the translation and the language of the application/patent granted at the EPO. In matters concerning the validity of the patent, language of the application/patent granted at the EPO will be used as the basis for the decision. The patent documents published by the EPO are available through Espacenet (<http://worldwide.espacenet.com>) or via the search engine on our website here: <https://search.patentstyret.no/>

P A T E N T K R A V

1. Fremgangsmåte for å analysere et biologisk vev, omfattende:
å påføre to eller flere sonder / prober respektivt, idet hver inneholder et substrat-
5 bindende domene av en protease gjennom hvilket proteasen binder til intercellulare
matriseproteiner av en forutbestemt biologisk komponent, til et isolert biologisk vev, og å
analysere bindingsmengder av sondene til det biologiske vevet;
hvor sondene er merket med et visualiseringsmolekyl.
- 10 2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor hver av sondene er merket med et visualise-
ringsmolekyl valgt fra fluorescerende molekyler, luminescerende molekyler og radio-
isotoper innbefattende et positronnuklide, og fortrinnsvis hvor visualiseringsmolekylet er
et lysende protein og/eller et fluorescerende molekyl valgt fra gruppen bestående av
GFP, EGFP, YFP, BFP, CFP, DsRED, tdTomato og RFP.
- 15 3. Fremgangsmåte ifølge krav 2, hvor hvert av de substratbindende domenene og
visualiseringsmolekylet danner et fusjonsprotein.
4. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av krav 1 til 3, hvor hvert av de
20 substratbindende domenene omfatter et kollagenbindende domene av en protease.
5. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av krav 1 til 4, omfattende: å påføre
de to eller flere sondene separat eller samtidig til et biologisk vev, og å måle bindings-
mengder av sondene separat eller samtidig.
- 25 6. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av krav 1 til 5, omfattende: å påføre
de to eller flere sondene samtidig til et biologisk vev, og å måle bindingsmengder av
sondene samtidig.
- 30 7. Fremgangsmåte for separering av celler eller cellepopulasjoner fra et biologisk
vev, omfattende: å analysere det biologiske vevet ved hjelp av fremgangsmåten ifølge et
hvilket som helst av krav 1 til 6, å bestemme et kvantitativt forhold av proteaser basert
på resultater av analysen, og å påføre proteasene i det kvantitative forholdet til det bio-
logiske vevet for å separere cellene eller cellepopulasjonene.
- 35 8. Sondesett som er egnet for analyse av et biologisk vev, omfattende to eller flere
sonder / prober respektivt, idet hver inneholder et substratbindende domene av en

protease gjennom hvilket proteasen binder til intercellulare matriseproteiner av en forutbestemt biologisk komponent, hvor sondene er merket med gjensidig forskjellige visualiseringsmolekyler valgt fra fluorescerende molekyler, luminescerende molekyler og radioisotoper innbefattende et positronnuklide.

5

9. Sondesett ifølge krav 8, hvor visualiseringsmolekylene er lysende protein(er) og/eller fluorescerende molekyler valgt fra gruppen bestående av GFP, EGFP, YFP, BFP, CFP, DsRED, tdTomato og RFP, og fortrinnsvis hvor det lysende proteinet har en toppbølgelengde og luminescerende intensitet forskjellig fra en villtype lysgiver /

10

luciferase.

10. Sondesett ifølge et hvilket som helst av krav 8 til 9, hvor hvert av de substratbindende domenene og hvert av visualiseringsmolekylene danner et fusjonsprotein.

15

11. Sondesett ifølge et hvilket som helst av krav 8 til 10, hvor de substratbindende domenene er kollagenbindende domener av en protease.

12. Sondesett ifølge krav 11, hvor de kollagenbindende domenene er kollagenbindende domener av kollagenase valgt fra kollagenaser avledet fra genusen klostridier / Clostridium.

20

13. Sondesett ifølge krav 12, hvor de kollagenbindende domenene er kollagenbindende domener av kollagenase G og kollagenase H avledet fra klostridier histolytisk / Clostridium histolyticum.

25

14. Sondesett ifølge krav 13, hvor hver av de kollagenbindende domenene omfatter en aminosyresekvens representert ved SEQ ID NO: 1, en aminosyresekvens representert ved SEQ ID NO: 2, eller delsekvenser derav.