



(12) Translation of  
European patent specification

(11) NO/EP 2773955 B1

NORWAY

(19) NO  
(51) Int Cl.  
**G01N 33/50 (2006.01)**  
**C12N 5/00 (2006.01)**

**Norwegian Industrial Property Office**

---

|      |                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|------|----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) | Translation Published                                                | 2018.11.19                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| (80) | Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent | 2018.07.18                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| (86) | European Application Nr.                                             | 12787307.3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| (86) | European Filing Date                                                 | 2012.11.05                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| (87) | The European Application's Publication Date                          | 2014.09.10                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| (30) | Priority                                                             | 2011.11.04, US, 201161556133 P<br>2011.11.16, US, 201161560679 P<br>2012.06.01, US, 201261689245 P                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| (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                                                                                                                                                                             |
|      | Designated Extension States:                                         | BA ME                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| (73) | Proprietor                                                           | inRegen, P.O. Box 309 Ugland House South Church Street, George Town Grand Cayman KY1-1104, Cayman-øylene                                                                                                                                                                                                                                                                |
| (72) | Inventor                                                             | BRUCE, Andrew T., 315 Ridge Drive, Lexington, NC 27295, USA<br>KELLEY, Russel W., 742 Hertford Road, Wiston-Salem, NC 27104, USA<br>BERTRAM, Timothy A., Tengion, Inc.3929 Westpoint Blvd Suite G, Winston-Salem, NC 27103, USA<br>CHOUDHURY, Sumana, 611 Palafox Drive, Chapel Hill, NC 27516-1177, USA<br>BASU, Joydeep, 435 Mica Court, Winston-Salem, NC 27103, USA |
| (74) | Agent or Attorney                                                    | ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

---

|      |                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|------|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (54) | Title             | <b>DRUG SCREENING AND POTENCY ASSAYS</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| (56) | References Cited: | WO-A1-2011/060298, LI W ET AL: "Human primary renal cells as a model for toxicity assessment of chemo-therapeutic drugs", TOXICOLOGY IN VITRO, ELSEVIER SCIENCE, GB, vol. 20, no. 5, 1 August 2006 (2006-08-01) , pages 669-676, XP024966227, ISSN: 0887-2333, DOI: 10.1016/J.TIV.2005.09.016 [retrieved on 2006-08-01], WO-A1-2010/056328, WO-A1-2010/150613, PRESNELL SHARON C ET AL: "Isolation, characterization, and expansion methods for defined primary renal cell populations from rodent, canine, and human normal and diseased kidneys", TISSUE ENGINEERING. PART C, METHODS DEC 2008, MARY ANN LIEBERT, INC. PUBLISHERS, US, vol. 17, no. 3, 1 March 2011 (2011-03-01), pages 261-273, XP009150678, ISSN: 1937-3384, WO-A2-2004/059276 |

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/>

**Patentkrav**

**1.** Fremgangsmåte for bestemmelse av et nyretoksisitetsnivå i et testmiddel omfattende

- 5 a) å dyrke en flerhet konsentrasjoner av et testmiddel med en heterogen nyrecellepopulasjon omfattende en B2-cellepopulasjon, og hvori den heterogene nyrecellepopulasjonen er utarmet for en B1-cellepopulasjon; og
- b) å bestemme et toksisitetsnivå i testmiddelet, hvori nærværet av minst én toksisitetsindikator er indikativt for nyretoksisitetsnivået i testmiddelet.

10 **2.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori den heterogene nyrecellepopulasjonen ytterligere omfatter en B4-cellepopulasjon omfattende en eller flere erythropoietin (EPO)-produserende celler, glomerulære celler og vaskulære celler.

15 **3.** Fremgangsmåten ifølge krav 2, hvori den heterogene nyrecellepopulasjonen ytterligere omfatter en B3-cellepopulasjon.

**4.** Fremgangsmåten ifølge krav 3, hvori den heterogene nyrecellepopulasjonen ytterligere omfatter en B5-cellepopulasjon.

20 **5.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori cellepopulasjonen er dyrket som sfæroider.

25 **6.** Fremgangsmåten ifølge hvilke som helst av de foregående kravene, hvori toksisitetsindikatoren er valgt fra gruppen bestående av redusert GGT-uttrykking, endring i Aquaporin-1-uttrykking i forhold til kontroll, en endring i Aquaporin-2-uttrykking i forhold til kontroll, LDH, og endring i fenotype av cellepopulasjonen i forhold til kontroll.

30 **7.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori bestemmelsen av nyretoksisitetsnivået i testmiddelet omfatter kalkulering av en TC50 for testmiddelet.

**8.** *In vitro*-fremgangsmåte for å identifisere et testmiddel som er egnet for terapeutisk anvendelse hos et menneskelig individ med en nyrelidelse, omfattende

- 35 a) å bringe et testmiddel i kontakt med en heterogen nyrecellepopulasjon omfattende en B2-cellepopulasjon utarmet for en B1-cellepopulasjon som er

**karakterisert ved** en fenotype valgt fra gruppen bestående av uttrykking av en proliferativ markør og en M2-fenotype; og

b) å bestemme om testmiddelet modulerer uttrykkingen av en proliferativ markør og/eller en M2-fenotype av den heterogene nyrecellepopulasjonen i forhold til en kontrollcellepopulasjon som ikke er i kontakt.

**9.** Fremgangsmåten ifølge krav 8, hvori den heterogene nyrecellepopulasjonen ytterligere omfatter en B4-cellepopulasjon omfattende en eller flere erythropoietin (EPO)-produserende celler, glomerulære celler og vaskulære celler.

**10.** Fremgangsmåten ifølge krav 1, 8 eller 9, hvori den heterogene nyrecellepopulasjonen er dyrket på en matriks.

**11.** Fremgangsmåten ifølge krav 10, hvori matriksen er en tredimensjonal (3D) matriks.

**12.** In vitro-fremgangsmåte for å bestemme et regenerativt potensial for en isolert nyrecellepopulasjon omfattende

a) å dyrke den isolerte nyrecellepopulasjonen in vitro i et kultursystem valgt fra et 2D-kultursystem og et 3D-kultursystem; og

b) å detektere nærværet av tubulus- og/eller organoiddannelse i kultursystemet; hvori nærværet av tubulus- og/eller organoiddannelse er indikativt for et regenerativt potensial for den isolerte nyrecellepopulasjonen, og hvori den isolerte nyrecellepopulasjonen omfatter en B2-cellepopulasjon og er utarmet for en B1-cellepopulasjon.

**13.** Fremgangsmåten ifølge krav 12, hvori 3D-kulturen er valgt fra gruppen

a) COL(I)-gel;

b) Matrigel;

c) spinnere, etterfulgt av en COL(I)-gel eller en Matrigel; og

d) COL (IV)-gel.

**14.** Fremgangsmåten ifølge krav 12 eller 13, hvori nyrecellepopulasjonen ytterligere omfatter en B4-cellepopulasjon, en B3-cellepopulasjon eller B3- og B4-cellepopulasjoner.

- 5      **15.** Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av kravene 12–14, hvori tubulus- og/eller organoiddannelsen (i) kvantiteres ved å bestemme det totale antallet tubuli/organoider per felt eller per arealenhet med 2D-celleoverflatevekst eller per volumenhet med 3D-kultur, eller (ii) detekteres ved å farge tubuliene/organoidene med et fluorescerende fargemiddel.
- 10      **16.** Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av kravene 12–14, hvori tubulusen danner gitre og ringer.
- 10      **17.** Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av kravene 12–14, hvori tubulusen og/eller organoidet uttrykker tubulære markører, og hvori de tubulære markørene eventuelt er valgt fra cubulin, cytokeratiner og OAT.