



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2785359 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
A61K 35/28 (2015.01)
A61K 35/30 (2015.01)
A61K 35/34 (2015.01)
A61K 35/36 (2015.01)
A61K 35/39 (2015.01)
A61K 35/407 (2015.01)
C12N 5/071 (2010.01)
C12N 5/077 (2010.01)
C12N 5/0775 (2010.01)
C12N 5/0789 (2010.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2018.10.29
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2018.08.29
(86)	European Application Nr.	12854438.4
(86)	European Filing Date	2012.11.30
(87)	The European Application's Publication Date	2014.10.08
(30)	Priority	2011.11.30, US, 201161565358 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
(73)	Proprietor	Astellas Institute for Regenerative Medicine, 33 Locke Drive, Marlborough, MA 01752, USA
(72)	Inventor	LANZA, Robert, 35 South Meadow Road, Clinton, Massachusetts 01510, USA KIMBREL, Erin, Anne, 72 Austin Road, Sudbury, Massachusetts 01776, USA CHU, Jianlin, 27 LibertyRoad, Bedford, Massachusetts 01730, USA KOURIS, Nicholas, Arthur, 35 School St.Unit A, Hudson, Massachusetts 01749, USA
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54) Title **MESENCHYMAL STROMAL CELLS AND USES RELATED THERETO**

(56) References Cited: WO-A1-2009/104825, MERVIN C YODER: "A Bipotent Mesoderm Subset Identified via Colony-Forming Assay", CELL STEM CELL, vol. 7, no. 6, 3 December 2010 (2010-12-03), pages 643-644, XP028211779, ISSN: 1934-5909, DOI: 10.1016/J.STEM.2010.11.022 [retrieved on 2010-11-22], US-A1- 2012 087 933, LU S-J ET AL: "Generation of functional hemangioblasts from human embryonic stem cells", NATURE METHODS, NATURE PUBLISHING GROUP, GB, vol.

4, no. 6, 1 June 2007 (2007-06-01), pages 501-509, XP008133153, ISSN: 1548-7091, DOI: 10.1038/NMETH1041 [retrieved on 2007-05-07], TAN ZHOU ET AL: "Immunomodulative effects of mesenchymal stem cells derived from human embryonic stem cells in vivo and in vitro", JOURNAL OF ZHEJIANG UNIVERSITY-SCIENCE B, vol. 12, no. 1, January 2011 (2011-01), pages 18-27, XP002744077, ISSN: 1673-1581, WO-A2-2009/137629, US-A1- 2011 123 498, KERN SUSANNE ET AL: "Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue", STEM CELLS, ALPHAMED PRESS, DAYTON, OH, US, vol. 24, no. 5, 1 May 2006 (2006-05-01), pages 1294-1301, XP002432657, ISSN: 1066-5099, XIN FU ET AL: "Comparison of Immunological Characteristics of Mesenchymal Stem Cells Derived from Human Embryonic Stem Cells and Bone Marrow", TISSUE ENGINEERING PART A, vol. 21, no. 3-4, 1 February 2015 (2015-02-01), pages 616-626, XP055191852, ISSN: 1937-3341, DOI: 10.1089/ten.tea.2013.0651, LU SHI-JIANG ET AL: "Robust generation of hemangioblastic progenitors from human embryonic stem cells", REGENERATIVE MEDICINE, vol. 3, no. 5, September 2008 (2008-09), pages 693-704, XP002744078, ISSN: 1746-0751, WO-A2-2011/097242, US-A1- 2011 129 918, BARBERI T ET AL: "Derivation of multipotent mesenchymal precursors from human embryonic stem cells", PLOS MEDICINE, PUBLIC LIBRARY OF SCIENCE, US, vol. 2, 28 June 2005 (2005-06-28), pages 554-560, XP002404210, ISSN: 1549-1676, DOI: 10.1371/JOURNAL.PMED.0020161, ERIN A. KIMBREL ET AL: "Mesenchymal Stem Cell Population Derived from Human Pluripotent Stem Cells Displays Potent Immunomodulatory and Therapeutic Properties", STEM CELLS AND DEVELOPMENT, vol. 23, no. 14, 15 July 2014 (2014-07-15) , pages 1611-1624, XP055191836, ISSN: 1547-3287, DOI: 10.1089/scd.2013.0554, KSIAZEK KRZYSZTOF: "A comprehensive review on mesenchymal stem cell growth and senescence.", REJUVENATION RESEARCH APR 2009, vol. 12, no. 2, April 2009 (2009-04), pages 105-116, XP002744079, ISSN: 1557-8577, KR-A-20070 114 449, US-A1- 2011 195 054, WOLFGANG WAGNER ET AL: "Replicative Senescence of Mesenchymal Stem Cells: A Continuous and Organized Process", PLOS ONE, PUBLIC LIBRARY OF SCIENCE, US, vol. 3, no. 5, 21 May 2008 (2008-05-21), pages E2213-1, XP002686801, ISSN: 1932-6203, DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0002213, MAXIM A VODYANIK ET AL: "A mesoderm-derived precursor for mesenchymal stem and endothelial cells", CELL STEM CELL, ELSEVIER, CELL PRESS, AMSTERDAM, NL, vol. 7, no. 6, 3 December 2010 (2010-12-03), pages 718-729, XP0028211788, ISSN: 1934-5909, DOI: 10.1016/J.STEM.2010.11.011 [retrieved on 2010-12-02], WO-A2-2007/120811, US-A1- 2009 232 777, PASCALE V. GUILLOT ET AL: "Human First-Trimester Fetal MSC Express Pluripotency Markers and Grow Faster and Have Longer Telomeres Than Adult MSC", STEM CELLS, vol. 25, no. 3, 22 March 2007 (2007-03-22) , pages 646-654, XP055192288, ISSN: 1066-5099, DOI: 10.1634/stemcells.2006-0208, HEMATTI PEIMAN: "Human embryonic stem cell-derived mesenchymal progenitors: an overview", METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, HUMANA PRESS, INC, US, vol. 690, 1 January 2011 (2011-01-01), pages 163-174, XP009161182, ISSN: 1940-6029, US-A1- 2009 010 896

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 å generere mesenkymale stromaceller omfattende dyrking av hemangioblaster under betingelser hvor cellene differensierer for å produsere mesenkymale stromaceller.
5
2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor de mesenkymale stromacellene er definert ved ekspresjon av AIRE-1, IL-11, CD10, CD24, ANG-1 og CXCL1.
- 10 3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, hvor hemangioblaster dyrkes i tilførselsfrie forhold.
4. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1-3, hvor de mesenkymale stromacellene er humane celler.
15
5. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1-4, hvor hemangioblastene er belagt på en matrise.
6. Fremgangsmåte ifølge krav 5, hvor matrisen omfatter en eller flere transformeringsvekstfaktor beta (TGF-beta), epidermal vekstfaktor (EGF), insulinlignende vekstfaktor 1, bovin fibroblastvekstfaktor (bFGF) og/eller blodplateavledet vekstfaktor (PDGF).
20
7. Fremgangsmåte ifølge krav 5 eller 6, hvor matrisen er valgt fra gruppen bestående av:
25 laminin, fibronektin, vitronektin, proteoglykan, entaktin, kollagen, kollagen I, kollagen IV, heparansulfat, et oppløselig preparat fra Engelbreth-Holm-Swarm (EHS)-musesarkomceller, et humant basalmembranekstrakt, og hvilken som helst kombinasjon derav.
30
8. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 5-7, hvor hemangioblastene dyrkes på matrisen i minst omtrent 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, eller 30 dager.
- 35 9. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1-8, hvor hemangioblastene dyrkes i et medium omfattende α MEM.

10. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1-9, hvor hemangioblastene dyrkes i et medium omfattende serum eller en serumerstatning.

5 11. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-10, hvor hemangioblastene differensieres fra pluripotente celler.

12. Fremgangsmåte ifølge krav 11, hvor hemangioblastene differensieres fra pluripotente celler ved hjelp av en fremgangsmåte som omfattende dyrkning av nevnte pluripotente celler for å fremstille celleklynger.

10

13. Fremgangsmåte ifølge krav 12, hvor de pluripotente cellene dyrkes i nærvær av vaskulær endotelvekstfaktor (VEGF) og/eller benmorfogent protein 4 (BMP-4).

15

14. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1-13, hvor fremgangsmåten resulterer i at minst 80, 85, 90, 95, 100, 125, eller 150 millioner mesenkymale stromaceller genereres fra omtrent 200.000 hemangioblaste innen omtrent 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, eller 35 dager med dyrking.

20

15. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-14, hvor de mesenkymale stromacellene uttrykker lave nivåer av minst én av CD31, CD34, CD45, CD133, FGFR2, CD271, Stro-1, CXCR4 og TLR3.