



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2994528 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 5/071 (2010.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2024.03.18
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2023.11.08
(86)	European Application Nr.	14730323.4
(86)	European Filing Date	2014.05.08
(87)	The European Application's Publication Date	2016.03.16
(30)	Priority	2013.05.08, US, 201361855146 P 2013.05.09, US, 201361855152 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	ProKidney, 10 Market Street 688 Camana Bay, Grand Cayman KY1-9006, Cayman- øylene
(72)	Inventor	BASU, Joydeep, 3929 Westpoint Blvd. G, Winston-Salem, NC 27103, USA BRUCE, Andrew, 3929 Westpoint Blvd. G, Winston-Salem, NC 27103, USA KELLEY, Rusty, 3929 Westpoint Blvd. G, Winston-Salem, NC 27103, USA GUTHRIE, Kelly, 3929 Westpoint Blvd. G, Winston-Salem, NC 27103, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54) Title **ORGANOIDS COMPRISING ISOLATED RENAL CELLS AND USES THEREOF**

(56) References

Cited:

US-A1- 2011 117 162, WO-A2-2012/168930, US-A1- 2012 301 958, WO-A1-2013/063588,
WO-A1-2012/064369, WO-A1-2011/143499
ANNA I ASTASHKINA ET AL: "A 3-D organoid kidney culture model engineered for high-
throughput nephrotoxicity assays", BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV.,
BARKING, GB, vol. 33, no. 18, 29 February 2012 (2012-02-29), pages 4700-4711,
XP028411045, ISSN: 0142-9612, DOI: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2012.02.063 [retrieved on
2012-03-03]
XINARIS CHRISTODOULOS ET AL: "In vivo maturation of functional renal organoids formed
from embryonic cell suspensions.", JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF
NEPHROLOGY : JASN NOV 2012, vol. 23, no. 11, November 2012 (2012-11), pages 1857-
1868, XP055144963, ISSN: 1533-3450
ANNA I ASTASHKINA ET AL: "Comparing predictive drug nephrotoxicity biomarkers in kidney 3-
D primary organoid culture and immortalized cell lines", BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE
PUBLISHERS BV., BARKING, GB, vol. 33, no. 18, 3 March 2012 (2012-03-03) , pages 4712-
4721, XP028411046, ISSN: 0142-9612, DOI: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2012.03.001 [retrieved
on 2012-03-15]
JORAKU A ET AL: "In vitro generation of three-dimensional renal structures", METHODS,
ACADEMIC PRESS, vol. 47, no. 2, 1 February 2009 (2009-02-01), pages 129-133,
XP025860131, ISSN: 1046-2023, DOI: 10.1016/J.YMETH.2008.09.005 [retrieved on 2009-01-
02]

SONG JEREMY J ET AL: "Regeneration and experimental orthotopic transplantation of a bioengineered kidney.", NATURE MEDICINE MAY 2013, vol. 19, no. 5, 14 April 2013 (2013-04-14) , pages 646-651, XP002730726, ISSN: 1546-170X
GANEVA VERONIKA ET AL: "An improved kidney dissociation and reaggregation culture system results in nephrons arranged organotypically around a single collecting duct system.", ORGANOGENESIS 2011 APR-JUN, vol. 7, no. 2, April 2011 (2011-04), pages 83-87, XP055144964, ISSN: 1555-8592

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. Et organoid som omfatter en heterogen nyrecellepopulasjon og en ikke-renal bioaktiv cellepopulasjon,
5 hvor den heterogene nyrecellepopulasjonen er avledet fra en utgangsnyrecellepopulasjon;
hvor den heterogene nyrecellepopulasjonen omfatter en større prosentdel av renale tubulære celler enn utgangsnnyrecellepopulasjonen,
hvor utgangsnnyrecellepopulasjonen er nyrebiopsiprøve, helt nyrevev eller en *in vitro* kultur av celler etablert fra enten nyrebiopsiprøve eller helt
10 nyrevev, og
hvor den heterogene nyrecellepopulasjonen videre omfatter å høste kanalepitelceller,
hvor den ikke-renale bioaktive cellepopulasjonen er en ikke-renal endotel cellepopulasjon, en ikke-renal endotel progenitorcellepopulasjon, en ikke-
15 renal mesenkymal stamcellepopulasjon, eller en ikke-renal fettavledet progenitorcellepopulasjon, og
hvor organoidet er dyrket som en klynge av celler i media i suspensjon uten feste til et stillas.
- 20 2. Organoidet ifølge krav 1, hvor den ikke-renale bioaktive cellepopulasjonen er en ikke-renal endotelcellepopulasjon.
3. Organoidet ifølge krav 1, hvor den ikke-renale bioaktive cellepopulasjonen er en mesenkymal stamcellepopulasjon.
25
4. Organoidet ifølge krav 1, hvor den ikke-renale bioaktive cellepopulasjonen er en fellavledet progenitorcellepopulasjon.
5. Organoidet ifølge krav 2, hvor den ikke-renale endotelcellepopulasjonen er
30 en cellelinje eller omfatter humane navlevene-endotelceller.
6. Organoidet ifølge hvilket som helst av krav 1-5, hvor celler av den heterogene nyrecellepopulasjonen er hypoksi-resistente.

7. En fremgangsmåte for å danne et organoid som omfatter en heterogen nyrecellepopulasjon og en ikke-renal bioaktiv cellepopulasjon, hvor nevnte fremgangsmåte omfatter:

5 å supensjonsdyrke den heterogene nyrecellepopulasjonen og den ikke-renal bioaktive cellepopulasjonen i cellekulturmedier i et 3D-kultursystem inntil organoidet dannes,
hvor 3D-kultursystemet omfatter en spinnerflaske og mangler et eksogent stillas som celler av den heterogene nyrecellepopulasjonen og den ikke-renal bioaktive cellepopulasjonen fester seg til,
10 hvor den heterogene nyrecellepopulasjonen er avledet fra en utgangsnayrecellepopulasjon,
hvor den heterogene nyrecellepopulasjonen omfatter en større prosentdel av renale tubulære celler enn utgangsnayrecellepopulasjonen,
hvor utgangsnayrecellepopulasjonen er en nyrebiopsiprøve, helt nyrevev
15 eller en *in vitro* kultur av celler etablert fra enten en nyrebiopsiprøve eller helt nyrevev, og
hvor den heterogene nyrecellepopulasjonen videre omfatter å høste kanal-epitelceller, og
hvor den ikke-renal bioaktive cellepopulasjonen er en ikke-renal endotelcellepopulasjon, en ikke-renal endotel progenitorcellepopulasjon, en ikke-renal mesenkymal stamcellepopulasjon, eller en ikke-renal fellavledet progenitorpopulasjon.
20

25 **8.** Fremgangsmåten ifølge krav 7, hvor cellene i den heterogene nyrecellepopulasjonen er hypoksi-resistente.

9. Fremgangsmåten ifølge krav 7, hvor den ikke-renal bioaktive cellepopulasjonen er en endotelcellepopulasjon.

30 **10.** Fremgangsmåten ifølge krav 9, hvor endotelcellepopulasjonen er en cellelinje eller omfatter humane navlevene-endotelceller.

11. Fremgangsmåten ifølge krav 7, hvor den heterogene nyrecellepopulasjonen og den ikke-renal bioaktive cellepopulasjonen er xenogene, syngene, allogene,
35 eller autologe.

12. Fremgangsmåten ifølge krav 7, hvor den heterogene nyrecellepopulasjonen og den ikke-renale bioaktive cellepopulasjonen blir dyrket separat i en første tidsperiode, deretter kombinert og dyrket i en andre tidsperiode.

5

13. Fremgangsmåten ifølge krav 12, hvor den andre tidsperioden er minst 24 timer eller er 24 timer til 72 timer.

14. Fremgangsmåten ifølge krav 7, hvor den heterogene nyrecellepopulasjonen og den ikke-renale bioaktive cellepopulasjonen er i et forhold på 1:1 eller er suspendert i dyrkningsmedium.

10

15. Et organoid laget i henhold til fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av krav 7 til 14.

15

16. En injiserbar formulering som omfatter minst ett organoid ifølge et hvilket som helst av krav 1 til 5 og et flytende medium.

17. Formuleringen ifølge krav 16, hvor det flytende mediet er valgt fra et celledyrkningsmedium, Dulbeccos fosfatbufret saltvann og kombinasjoner derav.

20

18. Formuleringen ifølge krav 16, hvor organoidet er suspendert i det flytende mediet.

19. En injiserbar formulering som omfatter minst ett organoid ifølge et hvilket som helst av krav 1 til 5 og et temperatursensitivt celle-stabiliserende biomateriale som opprettholder

25

- (i) en hovedsakelig fast tilstand ved omtrent 8°C eller lavere, og
- (ii) en hovedsakelig flytende tilstand ved omtrent omgivelsestemperatur eller høyere.

30

20. Formuleringen ifølge krav 19, hvor (i) biomaterialet omfatter en fast-til-væske overgangstilstand mellom omtrent 8 °C og omtrent omgivelsestemperatur eller høyere, (ii) den hovedsakelige faste tilstanden er en gel tilstand, eller (iii) det celle-stabiliserende biomaterialet omfatter en hydrogel.

35

- 21.** Formuleringen ifølge krav 20, hvor hydrogelen omfatter gelatin.
- 22.** Formuleringen ifølge krav 21, hvor gelatinet er til stede i formuleringen ved omtrent 0,5 % til omtrent 1 % (vekt/volum) eller er til stede i formuleringen ved omtrent 0,75 % (vekt/volum).
- 23.** Et organoid ifølge et hvilket som helst av krav 1 til 5 for anvendelse i en fremgangsmåte for å behandle nyresykdom i et individ med behov, hvor fremgangsmåten omfatter å administrere minst ett nevnte organoid.
- 24.** En injiserbar formulering i henhold til et hvilket som helst av krav 19 til 22 for anvendelse i en fremgangsmåte for å behandle nyresykdom i et individ med behov, hvor fremgangsmåten omfatter å administrere nevnte injiserbare formulering.
- 25.** Den organoide eller injiserbare formuleringen for anvendelse i henhold til krav 23 eller 24, hvor individet er et pattedyr.
- 26.** Den organoide eller injiserbare formuleringen for anvendelse i henhold til krav 25, hvor pattedyret er et menneske.
- 27.** Den organoide eller injiserbare formuleringen for anvendelse i henhold til krav 23 eller 24, hvor individet har en nyresykdom.
- 28.** Den organoide eller injiserbare formuleringen for anvendelse i henhold til krav 23 eller 24, hvor en forbedring i én av de følgende målingene for anemi (Hct, Hgb, RBC), inflammasjon (WBC), urinkonsentrasjon (spGrav) og azotemi (BUN) er observert.