



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3117828 B1

NORWAY

(19) NO

(51) Int Cl.

A61K 35/28 (2015.01) A61K 35/16 (2015.01)

A61K 35/12 (2015.01) C12N 5/0775 (2010.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2020.04.27
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.02.12
(86)	European Application Nr.	16182980.9
(86)	European Filing Date	2008.09.10
(87)	The European Application's Publication Date	2017.01.18
(30)	Priority	2007.09.11, JP, 2007235436 2007.09.12, JP, 2007236499 2007.10.12, JP, 2007267211 2007.10.25, JP, 2007278049 2007.10.25, JP, 2007278083
(84)	Designated Contracting States:	AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; SE ; SI ; SK ; TR
(62)	Divided application	EP2194121, 2008.09.10
(73)	Proprietor	Sapporo Medical University, 291, Minami 1-jo Nishi 17-chome, Chuo-ku, Sapporo- shi, Hokkaido 060-0061, Japan
(72)	Inventor	HONMOU, Osamu, c/o Sapporo Medical University 291 Minami 1-jo Nishi 17-chome Chuo-ku, Sapporo-shi, Hokkaido, 060-8556, Japan HOUKIN, Kiyohiro, c/o Sapporo Medical University 291 Minami 1-jo Nishi 17-chome Chuo-ku, Sapporo-shi, Hokkaido, 060-8556, Japan
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54)	Title	CELL PROLIFERATION METHOD, AND PHARMACEUTICAL AGENT FOR REPAIR AND REGENERATION OF TISSUE
------	-------	--

(56)	References Cited:	WO-A1-2007/027156, US-A1- 2006 110 368 LIAN Q ET AL: "Derivation of clinically compliant MSCs from CD105+, CD24-differentiated human ESCs", STEM CELLS, ALPHAMED PRESS, DAYTON, OH, US, vol. 25, no. 2, 1 February 2007 (2007-02-01), pages 425-436, XP002611381, ISSN: 1066-5099, DOI: 10.1634/STEMCELLS.2006-0420 [retrieved on 2006-10-19] MORI ET AL: "Effects of heparin and its 6-O-and 2-O-desulfated derivatives with low anticoagulant activity on proliferation of human neural stem/progenitor cells", JOURNAL OF BIOSCIENCE AND BIOENGINEERING, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 100, no. 1, 1 July 2005 (2005-07-01), pages 54-61, XP005665534, ISSN: 1389-1723, DOI: 10.1263/JBB.100.54
------	----------------------	--

WAGNER W ET AL: "Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood", EXPERIMENTAL HEMATOLOGY, ELSEVIER INC, US, vol. 33, no. 11, 1 November 2005 (2005-11-01), pages 1402-1416, XP027605292, ISSN: 0301-472X [retrieved on 2005-11-01]
A FLYNN ET AL: "UC blood-derived mesenchymal stromal cells: an overview", CYTOTHERAPY, vol. 9, no. 8, 1 January 2007 (2007-01-01) , pages 717-726, XP055125297, ISSN: 1465-3249, DOI: 10.1080/14653240701584578
VOGEL WICHARD ET AL: "Heterogeneity among human bone marrow-derived mesenchymal stem cells and neural progenitor cells", HAEMATOLOGICA, THE HEMATOLOGY JOURNAL : OFFICIAL ORGAN OF THE EUROPEAN HEMATOLOGY ASSOCIATION, FONDAZIONE FERRATA STORTI, IT, vol. 88, no. 2, 1 February 2003 (2003-02-01), pages 126-133, XP002262821, ISSN: 0390-6078

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 dyrking av humane mesenkymale stamceller i en prøve prøvetatt fra et levende individ ved dyrking av cellene i et medium, hvor
5 fremgangsmåten omfatter dyrking av cellene, uten vesentlig kontakt med et antikoagulant på noe tidspunkt fra celleinnsamling til hele kulturperioden, i et medium som inneholder humant serum, hvor mengden av antikoagulant tilsatt prøven prøvetatt fra et levende individ er mindre enn 0,2 U/ml med hensyn til volumet av prøven.
10
2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor mengden antikoagulant som er tilstede i mediet under dyrking av cellene i prøven prøvetatt fra et levende individ er mindre enn 0,02 U/ml med hensyn til volumet av mediet.
- 15 3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, hvor det humane serum er bestemt å være negativt for en serumtumormarkør og/eller en smittsom faktor.
4. Fremgangsmåte ifølge krav 3, hvor serumtumormarkøren er en eller flere valgt fra gruppen bestående av ferritin, CEA, AFP, BFP, CA125, CA15-3, CA19-9, CA72-4, STN,
20 DUPAN-2, SLX, ST-439, SPAN-1, SCC, PSA, G-seminoprotein, TPA, CYFRA, PAP, NSE, C-peptid, PIVKA, Pro-GRP, HCG β , elastase, β 2 mikroglobulin, S-NTX, et anti-p53 antistoff og HER2.
5. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvor det humane serum
25 er autoserum.
6. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvor antikoagulanten er heparin eller et heparinderivat.
- 30 7. Fremgangsmåte ifølge krav 6, hvor heparinderivatet er glykosaminoglykan oppnåelig ved avsvovling i stilling 6 av D-glykosamininneholdende heparin.
8. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvor mediet har et seruminnhold på 1 til 20 volum%.

9. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8, hvor prøven er valgt fra menneskelig benmargsvæske eller blod.

5 10. Fremgangsmåte for fremstilling av mesenkymale stamceller omfattende å utføre fremgangsmåten i henhold til et av kravene 1 til 9, og samle de mesenkymale stamcellene fra mediet.

10 11. Mesenkymale stamceller som er avledet fra menneskelig benmargsvæske karakterisert ved å uttrykke de positive CD-celleoverflateantigenene og ikke uttrykke de negative celleoverflateantigenene i følgende tabell

positiv	negativ	
CD9	CD1	CD72
CD29	CD4	CD74
CD44	CD5	CD79
CD47	CD6	CD84
CD58	CD7	CD86
CD59	CD8	CD93
CD63	CD14	CD96
CD73	CD19	CD117
CD81	CD22	CD133
CD97	CD24	CD163
CD99	CD28	CD177
CD 105	CD33	CD180
CD 109	CD34	CD207
CD151	CD37	CD209
CD157	CD38	CD226
CD164	CD45	CD244
CD166	CD48	CD247
CD200	CD53	CD274
CD248	CD68	CD300

positiv	negativ	
	CD69	

12. Farmasøytisk sammensetning for anvendelse i en metode for vevsreparasjon/regenerering, karakterisert ved at den omfatter mesenkymale stamceller ifølge krav 11.

5

13. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 10, hvor cellene er ytterligere kryokonserverte i en kryokonserveringsløsning for humane mesenkymale stamceller, hvor kryokonserveringsløsningen er oppnåelig ved tilsetning av 20,5 ml RPMI sterilisert ved filtrering og 20,5 ml autoserum prøvetatt fra pasienten, 5 ml

10

14. Fremgangsmåte for kryopreservering av humane mesenkymale stamceller, hvor fremgangsmåten omfatter utførelse av fremgangsmåten ifølge et av kravene 1 til 10, suspendering av cellene i en kryokonserveringsløsning for humane mesenkymale stamceller oppnåelig ved tilsetning av 20,5 ml RPMI sterilisert ved filtrering og 20,5 ml autoserum prøvetatt fra pasienten, 5 ml dekstran og 5 ml DMSO og lagre cellene ved -150°C.

15

15. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 10, hvor oppsamlet benmargsvæske omfattende 0,1 U/ml heparin tilsettes et benmargsoppsamlingsmedium i et forhold på 60 ml benmargsfluid til 210 ml benmargsoppsamlingsmedium, hvor nevnte benmargsoppsamlingsmedium er oppnåelig ved tilsetning av 56,8 ml serum avledet fra autologt perifert blod, 5,7 ml av et antibiotikum bestående av 10 000 U/ml penicillin og 10 mg/ml streptomycin og 5,7 ml glutaminoppløsning med en konsentrasjon på 292,3 mg/l til 500 ml av et modulert ørnemedium fra Dulbecco, etterfulgt av sterilisering ved filtrering.

20

25