



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3268480 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 15/85 (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01)
C12N 15/09 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2021.07.26
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2021.05.19
(86)	European Application Nr.	16760977.5
(86)	European Filing Date	2016.03.09
(87)	The European Application's Publication Date	2018.01.17
(30)	Priority	2015.03.09, US, 201562130258 P 2015.03.09, US, 201562130270 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	Sinai Health System, 600 University Avenue, Toronto ON M5G 1X5, Canada
(72)	Inventor	NAGY, Andras, 18 St. Raymond Heights, Toronto, Ontario M6G 4C2, Canada MONETTI, Claudio, 100 Quebec Avenue Unit 310, Toronto, Ontario M6P 4B8, Canada LIANG, Qin, 1808 Dufferin Street, Toronto, Ontario M6E 3P6, Canada
(74)	Agent or Attorney	PLOUGMANN VINGTOFT, Postboks 1003 Sentrum, 0104 OSLO, Norge

(54)	Title	TOOLS AND METHODS FOR USING CELL DIVISION LOCI TO CONTROL PROLIFERATION OF CELLS
(56)	References Cited:	WO-A2-2009/139921 JUNG JUYEON ET AL: "Ablation of tumor-derived stem cells transplanted to the central nervous system by genetic modification of embryonic stem cells with a suicide gene", HUMAN GENE THERAPY, LIEBERT, US, vol. 18, no. 12, 14 December 2007 (2007-12-14), pages 1182-1192, XP002559843, ISSN: 1043-0342, DOI: 10.1089/HUM.2007.078 [retrieved on 2007-11-20] SARIN KY ET AL.: 'Conditional telomerase induction causes proliferation of hair follicle stem cells' NATURE vol. 436, 18 August 2005, ISSN 0028-0836 pages 1048 - 1052, XP055311269 RONG Z ET AL.: 'A scalable approach to prevent teratoma formation of human embryonic stem cells' THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY vol. 287, no. 39, 04 August 2012, ISSN 0021-9258 pages 32338 - 32345, XP055311258 TIONG-TI LIM ET AL: "Lentiviral Vector Mediated Thymidine Kinase Expression in Pluripotent Stem Cells Enables Removal of Tumorigenic Cells", PLOS ONE, vol. 8, no. 7, 30 July 2013 (2013-07-30), page e70543, XP055396844, DOI: 10.1371/journal.pone.0070543

KYBA M: 'Enhanced hematopoietic differentiation of embryonic stem cells conditionally expressing Stat5' PNAS vol. 100, 30 September 2003, ISSN 0027-8424 pages 11904 - 11910, XP002274603

MALECKI M: 'Above all, do no harm': safeguarding pluripotent stem cell therapy against iatrogenic tumorigenesis' STEM CELL RESEARCH AND THERAPY vol. 5, no. 3, 03 June 2014, ISSN 1757-6512 XP021208900

WEIQIANG LI ET AL: "Safeguarding clinical translation of pluripotent stem cells with suicide genes", ORGANOGENESIS, vol. 9, no. 1, 1 January 2013 (2013-01-01) , pages 34-39, XP055461402, US ISSN: 1547-6278, DOI: 10.4161/org.24317

HARA A ET AL.: 'Neuron-like differentiation and selective ablation of undifferentiated embryonic stem cells containing suicide gene with Oct-4 promoter'.' STEM CELLS AND DEVELOPMENT vol. 17, no. 4, 2008, ISSN 1547-3287 pages 619 - 628, XP055016439

WANG T ET AL.: 'Identification and characterization of essential genes in the human genome' SCIENCE vol. 350, no. 6264, 27 November 2015, ISSN 0036-8075 pages 1096 - 1101, XP055311281

LEE HAN ET AL: "Induced pluripotent stem cells in regenerative medicine: an argument for continued research on human embryonic stem cells", REGENERATIVE MEDICINE, vol. 4, no. 5, September 2009 (2009-09), pages 759-769, XP009505580,

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 kontrollere proliferering av en dyrecelle, idet fremgangsmåten omfatter:

- a) å modifisere genetisk ett eller flere endogene gener i dyrecellen valgt fra gruppen som består av Cdk1, Top2A, Cenpa, Birc5 og Eef2, idet den genetiske modifiseringen omfatter en DNA-sekvens som koder for en negativ valgbar markør som er transkripsjonsmessig bundet til en DNA-sekvens som koder for hvert av det ene eller de flere genene, slik at den negative valgbare markøren og det ene eller de flere genene også blir uttrykt, og
- b) å kontrollere prolifereringen av den genetisk modifiserte dyrecellen med en induktor for den negative valgbare markøren.

2 Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori den negative valgbare markøren omfatter tymidinkinase fra herpes simplex-virus, cytosindeaminase, karboksylesterase eller iCasp9, hvori den negative valgbare markøren fortrinnsvis er tymidinkinase fra herpes simplex-virus.

3 Fremgangsmåten ifølge krav 2, hvori genet er Cdk1 og den negative valgbare markøren er tymidinkinase fra herpes simplex-virus.

4 Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvori; kontrollen av prolifereringen av den genetisk modifiserte dyrecellen omfatter:

- i) å tillate prolifereringen av cellen ved å opprettholde cellen i fraværet av en inducer for den negative valgbare markøren; eller
- ii) å stoppe eller hemme prolifereringen av cellen ved å eksponere den for induktoren for den negative valgbare markøren.

5 Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvori den genetiske modifiseringen av det ene eller de flere genene omfatter å utføre målrettet modifisering av hvert av det ene eller de flere genene med en DNA-vektor som omfatter DNA som koder for den negative valgbare markøren.

6 Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvori den genetiske modifiseringen er homozygot, heterozygot, hemizygot eller sammensatt heterozygot.

7 Fremgangsmåten ifølge krav 2, hvori:

- i) den negative valgbare markøren omfatter tymidinkinase fra herpes simplex-virus og induktoren omfatter ganciklovir;

- ii) den negative valgbare markøren omfatter cytosindeaminase og induktoren omfatter 5-fluorcytosin;
- iii) den negative valgbare markøren omfatter karboksylesterase og induktoren omfatter irinotekan; eller
- iv) den negative valgbare markøren omfatter iCasp9 og induktoren omfatter AP1903.

8 Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvori:

- a) dyrecellen er en pattedyrceelle valgt fra gruppen som består av menneske, mus, rotte, hamster, marsvin, katt, hund, ku, hest, hjort, elg, bison, okser, kamel, lama, kanin, gris, geit, sau og ikke-humane primatceller eller er en fuglecelle; eller
- b) dyrecellen er eller stammer fra en pluripotent stamcelle, en multipotent celle eller en monopotent progenitorcelle, eller er en terminalt differensiert celle.

9 Fremgangsmåte for å kontrollere proliferering av en dyrecellepopulasjon etter fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8.

10 Isolert, genetisk modifisert dyrecelle som omfatter en genetisk modifisering av ett eller flere endogene gener valgt fra gruppen som består av Cdk1, Top2A, Cenpa, Birc5 og Eef2, idet den genetiske modifiseringen omfatter en DNA-sekvens som koder for en negativ valgbar markør som er transkripsjonsmessig bundet til en DNA-sekvens som koder for hvert av det ene eller de flere genene slik at den negative valgbare markøren og det ene eller de flere genene også blir uttrykt, og hvori, idet cellen blir drept eller prolifereringen av den blir hemmet i nærværet av en induktor for den negative valgbare markøren.

11 Den isolerte, genetisk modifiserte dyrecellen ifølge krav 10, hvori den negative valgbare markøren omfatter tymidinkinase fra herpes simplex-virus, cytosindeaminase, karboksylesterase eller iCasp9, hvori den negative valgbare markøren fortrinnsvis er tymidinkinase fra herpes simplex-virus.

12 Isolert, genetisk modifisert dyrecelle ifølge krav 11, hvori det essensielle genet er Cdk1 og den negative valgbare markøren er tymidinkinase fra herpes simplex-virus.

13 Den isolerte, genetisk modifiserte dyrecellen ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 12, hvori den genetiske modifiseringen av det ene eller de flere genene ble utført med en DNA-vektor som omfatter DNA som koder for den

negative valgbare markøren.

14 Den isolerte, genetisk modifiserte dyrecellen ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 14, hvori den genetiske modifiseringen er homozygot, heterozygot, hemizygot eller sammensatt heterozygot.

15 Den isolerte, genetisk modifiserte dyrecellen ifølge krav 11, hvori:

- i) den negative valgbare markøren omfatter tymidinkinase fra herpes simplex-virus og induktoren omfatter ganciklovir;
- ii) den negative valgbare markøren omfatter cytosindeaminase og induktoren omfatter 5-fluorcytosin;
- iii) den negative valgbare markøren omfatter karboksylesterase og induktoren omfatter irinotekan; eller
- iv) den negative valgbare markøren omfatter iCasp9 og induktoren omfatter AP1903.

16 Den isolerte, genetisk modifiserte dyrecellen ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 15, hvori:

- a) dyrecellen er en pattedyrceile valgt fra gruppen som består av en menneske-, mus-, rotte-, hamster-, marsvin-, katt-, hund-, ku-, hest-, hjort-, elg-, bison-, okse-, kamel-, lama-, kanin-, gris-, geit-, sau- og ikke-human primatcelle eller er en fuglecelle; eller
- b) dyrecellen er eller stammer fra en pluripotent stamcelle, en multipotent celle eller en monopotent progenitorcelle, eller er en terminalt differensiert celle.

17 DNA-vektor for å modifisere uttrykking av et endogent gen valgt fra gruppen som består av Cdk1, Top2A, Cenpa, Birc5 og Eef2 i en dyrecelle, som omfatter en DNA-sekvens som koder for en negativ valgbare markør som er transkripsjonsmessig bundet til en DNA-sekvens som koder for genet, hvori integrasjon av DNA-sekvensen som koder for den negative selekterbare markøren som er transkripsjonsmessig bundet til en DNA-sekvens som koder genet i én eller flere vertsceller fremmer død for prolifererende vertsceller ved eksponering av vertscellene for en induktor av den negative valgbare markøren.

18 DNA-vektoren ifølge krav 17, hvori den negative valgbare markøren omfatter tymidinkinase fra herpes simplex-virus, cytosindeaminase, karboksylesterase eller iCasp9, hvori den negative valgbare markøren fortrinnsvis er tymidinkinase fra herpes simplex-virus.

19 DNA-vektoren ifølge krav 18, hvori genet er Cdk1 og den negative valgbare

markøren er tymidinkinase fra herpes simplex-virus.

20 DNA-vektoren ifølge krav 18, hvori:

- i) den negative valgbare markøren omfatter tymidinkinase fra herpes simplex-virus og induktoren omfatter ganciklovir;
- ii) den negative valgbare markøren omfatter cytosindeaminase og induktoren omfatter 5-fluorcytosin;
- iii) den negative valgbare markøren omfatter karboksylesterase og induktoren omfatter irinotekan; eller
- iv) den negative valgbare markøren omfatter iCasp9 og induktoren omfatter AP1903.

21 Dyrecellen ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 16, til anvendelse i medisin.