



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3318627 B1

NORWAY

(19) NO

(51) Int Cl.

A61P 1/04 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

C12N 5/00 (2006.01)

A61P 1/10 (2006.01)

A61P 13/08 (2006.01)

C12N 5/071 (2010.01)

A61P 1/16 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2024.02.19	
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2023.10.25	
(86)	European Application Nr.	17189470.2	
(86)	European Filing Date	2012.06.11	
(87)	The European Application's Publication Date	2018.05.09	
(30)	Priority	2011.06.30, GB, 201111244 2011.06.10, US, 201161520569 P 2011.06.30, US, 201161571663 P	2011.07.29, US, 201113194866 2011.07.29, US, 201161513461 P 2012.02.02, US, 201261594295 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	
(62)	Divided application	EP2718422, 2012.06.11	
(73)	Proprietor	Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW), Hubrecht Institute Uppsalalaan 8, 3584 CT Utrecht, Nederland	
(72)	Inventor	CLEVERS, Johannes Carolus, c/o Hubrecht Institute Uppsalalaan 8, 3584 CT Utrecht, Nederland SATO, Toshiro, c/o Hubrecht Institue Uppsalalaan 8, 3584 CT Utrecht, Nederland HUCH ORTEGA, Meritxell, c/o Hubrecht Institute Uppsalalaan 8, 3584 CT Utrecht, Nederland KARTHAUS, Wouter Richard, c/o Hubrecht Institute Uppsalalaan 8, 3584 CT Utrecht, Nederland	
(74)	Agent or Attorney	AWA NORWAY AS, Postboks 1052 Hoff, 0218 OSLO, Norge	

(54) Title **CULTURE MEDIA FOR STEM CELLS**

(56) References

Cited:

WO-A2-2010/090513, WO-A2-2012/014076,
TOSHIRO SATO ET AL: "Long-term Expansion of Epithelial Organoids From Human Colon, Adenoma, Adenocarcinoma, and Barrett's Epithelium", GASTROENTEROLOGY, ELSEVIER, PHILADELPHIA, PA, vol. 141, no. 5, 27 July 2011 (2011-07-27) , pages 1762-1772, XP028325676, ISSN: 0016-5085, DOI: 10.1053/J.GASTRO.2011.07.050 [retrieved on 2011-09-02]
SAIYONG ZHU ET AL: "Chemical Strategies for Stem Cell Biology and Regenerative Medicine", ANNUAL REVIEW OF BIOMEDICAL ENGINEERING, vol. 13, no. 1, 20 April 2011 (2011-04-20) , pages 73-90, XP055047409, ISSN: 1523-9829, DOI: 10.1146/annurev-bioeng-071910-124715

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 kulturmedium for å utvide en populasjon av adulte epitelstamceller, der nevnte kulturmedium omfatter:
 - i. en hvilken som helst av Rspondin 1-4; og
 - 5 ii. en eller flere TGF-beta-hemmere, der hemmeren er en TGF-beta-hemmer hvis den kan hemme TGF-beta signalering i en cellulær analyse hvor celler er stabilt transfektert med et reporterkonstrukt som omfatter den humane PAI-1 promoteren.
2. Et kulturmedium for å utvide en populasjon med adulte epitelstamceller, der
10 nevnte kulturmedium omfatter:
 - i. en agonist av Lgr5; og
 - ii. en eller flere TGF-beta-hemmere, der hemmeren er en TGF-beta-hemmer hvis den kan hemme TGF-beta singalering i en cellulær analyse hvor celler er stabilt transfektert med et reporterkonstrukt omfattende den humane PAI-1 promoteren.
- 15 3. Kulturmediet ifølge krav 1 eller krav 2, der den ene eller flere TGF-beta-hemmere binder til og reduserer aktiviteten til ALK5, ALK4 og/eller ALK7.
4. Kulturmediet ifølge hvilket som helst av de foregående kravene, der den ene eller flere TGF-beta-hemmere er valgt fra gruppen bestående av A83-01, SB-
20 431542, SB-505124, SB-5625334, SD-208, LY-36494 og SJN-2511.
5. Kulturmediet ifølge hvilket som helst av de foregående kravene, der kulturmediet omfatter én eller flere tilleggskomponenter valgt fra: en Wnt agonist, en reseptor tyrosin kinase ligand, nikotinamid, en p38-hemmer, en Rock-hemmer,
25 gastrin, RANKL, en GSK3-hemmer, en aktivator av prostaglandin-signalveien og testosteron.
6. En sammensetning omfattende et kulturmedium ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 5 og en ekstracellulær matriks eller en 3D-matriks som etterligner den
30 ekstracellulære matriksen ved dens interaksjon med de cellulære

membranproteinene slik som integriner, for eksempel, en laminin-inneholdende ekstracellulær matriks.

7. En hermetisk forseglet beholder som inneholder et kulturmedium eller
5 sammensetning ifølge hvilket som helst av de foregående kravene.

8. Anvendelse av et kulturmedium ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 5 for
å utvide en adult epitel stamcelle, populasjon av adulte epitelstamceller,
vevsfragment eller organoid.

10

9. En fremgangsmåte for å utvide en enkelt adult stamcelle, en populasjon av
adulte epitelstamceller eller et vevsfragment, fortrinnsvis for å oppnå et organoid,
der fremgangsmåten omfatter å dyrke den enkelte adulte stamcellen eller
populasjonen av adulte epitelstamceller i et kulturmedium ifølge hvilket som helst
15 av kravene 1 til 5.

10. En fremgangsmåte ifølge krav 9, der fremgangsmåten omfatter å bringe den
adulte stamcellen, populasjonen av adulte epitelstamceller eller det isolerte
vevsfragmentet og kulturmediet i kontakt med en ekstracellulær matriks eller en
20 3D-matriks som etterligner den ekstracellulære matriksen ved dets interaksjon med
de cellulære membranproteinene slik som integriner, for eksempel en laminin-
inneholdende ekstracellulær matriks.

11. En fremgangsmåte ifølge krav 9 eller krav 10 omfattende:
25 å dyrke den adulte stamcellen, populasjon av adulte epitelstamceller eller
vevsfragmenter i et første ekspansjonsmedium ifølge hvilket som helst av kravene
1 til 5; og

å fortsette å dyrke den adulte stamcellen, populasjon av adulte epitelstamceller
eller vevsfragmenter og å etterfylle mediet med et differensieringsmedium, der
30 differensieringsmediet ikke omfatter en eller flere av, fortrinnsvis alle faktorene
valgt fra: en TGF-beta-hemmer, en p38-hemmer, nikotinamid og Wnt.

12. En organoid eller populasjon av celler oppnåelig ved fremgangsmåten til
hvilket som helst av kravene 9 til 11.

13. En sammensetning omfattende:

i) en eller flere organoider eller populasjon av celler ifølge krav 12; og

ii) et kulturmedium ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 5 og/eller en ekstracellulær matriks.

5 14. Anvendelse av en organoid ex vivo ifølge krav 12 eller en populasjon av celler ifølge krav 12 eller en sammensetning ifølge krav 6 eller krav 13 for medikamentscreening, målvalidering, måloppdagelse, toksikologi, toksikologisk screening, diagnostiske celler/organmodeller, for eksempel til bruk som en sykdomsmodell.

10

15. Et organoid ifølge krav 12 eller en populasjon av celler ifølge krav 12 eller en sammensetning ifølge krav 6 eller krav 13 til anvendelse i medisin, valgfritt der medisinen er persontilpasset medisin eller regenerativ medisin.

15 16. En fremgangsmåte for screening for et terapeutisk eller profylaktisk medikament eller kosmetikk, der fremgangsmåten omfatter:

å dyrke en organoid eller populasjon av celler ifølge krav 12, for eksempel med et kulturmedium ifølge kravene 1 til 5;

20 å eksponere nevnte organoid eller populasjon av celler for ett eller et bibliotek av kandidatmolekyler; å evaluere nevnte organoid eller populasjon av celler for enhver effekt, for eksempel enhver endring i en celle, slik som en reduksjon i eller tap av proliferasjon, en morfologisk endring og/eller celledød; og

å identifisere kandidatmolekylet som forårsaker nevnte effekter som et potensielt medikament eller kosmetikk.