



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3429603 B1

NORWAY

(19) NO

(51) Int Cl.

A61P 1/04 (2006.01)

A61K 35/28 (2015.01)

A61P 1/12 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 5/00 (2006.01)

A61P 7/00 (2006.01)

A61P 7/04 (2006.01)

A61P 7/06 (2006.01)

A61P 13/02 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

A61P 17/14 (2006.01)

A61P 19/08 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

C12N 5/0789 (2010.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2022.05.16
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2021.12.29
(86)	European Application Nr.	17767443.9
(86)	European Filing Date	2017.03.15
(87)	The European Application's Publication Date	2019.01.23
(30)	Priority	2016.03.15, US, 201662308324 P 2016.03.16, US, 201662309140 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	Children's Medical Center Corporation, 55 Shattuck Street, Boston, MA 02115, USA
(72)	Inventor	ROSSI, Derrick J., 36 Madoc Street, Newton, Massachusetts 02459, USA EBINA, Wataru, 304 E 41st St Apt 804A, New York, NY 10017, USA
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54)	Title	METHODS AND COMPOSITIONS RELATING TO HEMATOPOIETIC STEM CELL EXPANSION
------	-------	---

(56)	References Cited:	WO-A2-2014/153069 WO-A1-2016/210292 US-A1- 2012 028 351 WO-A2-2014/153115 WO-A1-2015/148716
------	----------------------	---

FARES et al.: "Small molecule regulation of normal and leukemic stem cells", *Curr Opin Hematol*, vol. 22, no. 4, 1 July 2015 (2015-07-01), pages 309-316, XP055578294,

NG et al.: "Genome-wide lineage-specific transcriptional networks underscore Ikaros-dependent lymphoid priming in hematopoietic stem cells", *Immunity*, vol. 30, no. 4, 2 April 2009 (2009-04-02), pages 493-507, XP055422980,

FARES et al.: "Cord blood expansion. Pyrimidoindole derivatives are agonists of human hematopoietic stem cell self-renewal", *Science*, vol. 345, no. 6203, 19 September 2014 (2014-09-19), pages 1509-1512, XP055370388,

VERHELLE et al.: "Lenalidomide and CC-4047 inhibit the proliferation of malignant B cells while expanding normal CD 34+ progenitor cells", *Cancer Research*, vol. 67, no. 2, 15 January 2007 (2007-01-15), pages 746-755, XP055422983,

Wataru Ebina ET AL: "Combinatorial Pathway Modulation toward Ex Vivo Maintenance and Propagation of Hematopoietic Stem Cells", Harvard University, 1 March 2016 (2016-03-01), XP055611673, ISBN: 978-0-355-03038-9 Retrieved from the Internet:
URL:<https://dash.harvard.edu/bitstream/handle/1/33493367/EBINA-DISSERTATION-2016.pdf?sequence=4&isAllowed=y> [retrieved on 2019-08-08]

LAURE A. MOUTOUH-DE PARSEVAL ET AL: "Pomalidomide and lenalidomide regulate erythropoiesis and fetal hemoglobin production in human CD34+ cells", *JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION*, vol. 118, no. 1, 2 January 2008 (2008-01-02), pages 248-258, XP055611665, GB ISSN: 0021-9738, DOI: 10.1172/JCI32322

GAO et al.: "The CUL4-DDB1 ubiquitin ligase complex controls adult and embryonic stem cell differentiation and homeostasis", *Elife*, vol. 4, no. e07539, 27 November 2015 (2015-11-27), pages 1-21, XP055422986,

MALINGE et al.: "Ikaros inhibits megakaryopoiesis through functional interaction with GATA-1 and NOTCH signaling", *Blood*, vol. 121, no. 13, 18 January 2013 (2013-01-18), pages 2440-2451, XP055422988,

YOSHIDA TOSHIMI ET AL: "Ikaros fingers on lymphocyte differentiation", *INTERNATIONAL JOURNAL OF HEMATOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, NL*, vol. 100, no. 3, 2 August 2014 (2014-08-02), pages 220-229, XP035387771, ISSN: 0925-5710, DOI: 10.1007/S12185-014-1644-5 [retrieved on 2014-08-02]

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. En fremgangsmåte for å produsere en utvidet populasjon av hematopoietiske stamceller *ex vivo*, nevnte fremgangsmåte omfatter å kontakte en populasjon av hematopoietiske stamceller med:

- (i) ett eller flere midler som reduserer nivået av en ikaros-familiemedlems transkripsjonsfaktor i en celle, hvori den ene eller flere midler er valgt fra gruppen bestående av pomalidomid og lenalidomid, og
- (ii) ett eller flere midler som hemmer TGF β -signalerings, hvori ett eller flere midler som hemmer TGF β -signalerings omfatter en TGF β -reseptorinhibitor, og hvori nevnte TGF β -reseptorinhibitor er valgt fra gruppen bestående av ALK5-inhibitor II, LY364947, DMH1, og A83-01,

hvori det ene eller flere midler er tilstede i mengder som er tilstrekkelig til å produsere en utvidet populasjon av hematopoietiske stamceller.

2. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori:

- (i) nevnte ett eller flere midler er tilstede i mengder som er tilstrekkelig til å produsere en populasjon av celler beriket med hematopoietiske stamceller, opprettholde det hematopoietiske stamcellefunksjonspotensialet til de hematopoietiske stamcellene, og/eller øke ekspresjonen av et Notch-målgen i populasjonen av hematopoietiske stamceller i forhold til en kontrollpopulasjon av hematopoietiske stamceller dyrket under de samme betingelser og i samme tid som nevnte første populasjon av hematopoietiske stamceller, men ikke i kontakt med nevnte ett eller flere midler; eller
- ii) nevnte ett eller flere midler er tilstede i mengder som er tilstrekkelig til å produsere en populasjon av celler beriket med hematopoietiske stamceller, opprettholde det hematopoietiske stamcellefunksjonelle potensialet til de hematopoietiske stamcellene, og/eller øke ekspresjonen av et Notch-målgen i nevnte populasjon av hematopoietiske stamceller i forhold til en kontrollpopulasjon av hematopoietiske stamceller dyrket under de samme betingelser og i samme tid som nevnte første populasjon av hematopoietiske stamceller, men ikke kontaktet med nevnte ett eller flere midler, og hvori nevnte Notch-målgen er valgt fra gruppen bestående av Hes1 og Myc.

3. Fremgangsmåten ifølge krav 1 eller krav 2, hvori nevnte ikaros-familiemedlems transkripsjonsfaktor er valgt fra gruppen bestående av ikaros, aiolos og helios.

4. Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av kravene 1-3, hvor fremgangsmåten videre omfatter å bringe populasjonen av hematopoietiske stamceller i kontakt med én eller flere forbindelser valgt fra UM171 og forbindelsene oppført i tabell 1.

5. Fremgangsmåten ifølge krav 4, hvori det ene eller flere midler som reduserer nivået av en ikaros-familiemedlemstranskripsjonsfaktor i en celle omfatter pomalidomid, det ene eller flere midler som hemmer TGF β -signalerings omfatter A83-01, og den ene eller flere forbindelser som er valgt fra UM171 og forbindelsene oppført i tabell 1 omfatter UM171.

6. Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av kravene 1-5, hvor fremgangsmåten videre omfatter å kontakte populasjonen av hematopoietiske stamceller med ett eller flere midler som modulerer histonmetylering, hvori nevnte ett eller flere midler som modulerer histonmetylering omfatter en histondemetylaseinhibitor, hvori histondemetylaseinhibitoren er en LSD1-inhibitor og hvori nevnte LSD1-inhibitor er valgt

fra gruppen som består av LSD1-inhibitor IV RN-1, LSD1-inhibitor II S2101, LSD1-inhibitor LSD1-C76, LSD1-inhibitor III CBB1007, LSD1-inhibitor I og Tranylcypromin.

7. Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av kravene 1-6, nevnte fremgangsmåte videre omfatter å bringe populasjonen av hematopoietiske stamceller i kontakt med ett eller flere midler som modulerer histonacetylering, hvori nevnte ett eller flere midler som modulerer histonacetylering omfatter en histondeacetyleringshemmer valgt fra gruppe bestående av trichostatin A, valproinsyre, butyrylhydroksamsyre og istodax.

8. Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av kravene 1-7, nevnte fremgangsmåte videre omfattende å kontakte populasjonen av hematopoietiske stamceller med ett eller flere midler som viser en eller flere aktiviteter valgt fra gruppen bestående av:

- a. å inhibere p38-signalering, hvori det ene eller flere midler er valgt fra gruppen bestående av SB203580 og SB202190; og
- b. å aktivere kanonisk Wnt-signalering, hvor den ene eller flere midler er valgt fra gruppen bestående av CHIR99021 og litiumklorid.

9. Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av kravene 1-8, nevnte fremgangsmåte videre omfattende å bringe populasjonen av hematopoietiske stamceller i kontakt med ett eller flere midler som hemmer arylhydrokarbonreseptorsignalering, hvori nevnte ett eller flere midler som inhiberer arylhydrokarbonreseptorsignalering omfatter SRI.

10. Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av kravene 1-9, hvori det ene eller flere midler er tilstede i et cellekulturmedium med populasjonen av hematopoietiske stamceller.