



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3441458 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
A61P 1/04 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
C12N 5/071 (2010.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2023.10.02
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2023.06.07
(86)	European Application Nr.	18182285.9
(86)	European Filing Date	2010.02.03
(87)	The European Application's Publication Date	2019.02.13
(30)	Priority	2009.02.03, EP, 09151970, 2009.09.30, EP, 09171831 2009.02.03, US, 14962209 P
(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 ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR
	Designated Extension States:	AL ; BA ; RS
(62)	Divided application	EP3061808, 2010.02.03
(73)	Proprietor	Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen, Kloveniersburgwal 29, 1011 JV Amsterdam, Nederland
(72)	Inventor	SATO, Toshiro, Hubrecht Institute Uppsalalaan 8, 3584 CT Utrecht, Nederland CLEVERS, Johannes, Carolus, Ruysdaellaan 7, 3712 AP Huis ter Heide, Nederland HUCH ORTEGA, Meritxell, Willem Barentszstraat 25II, 3572 PB Utrecht, Nederland
(74)	Agent or Attorney	AWA NORWAY AS, Hoffsvæien 1A, 0275 OSLO, Norge

(54)	Title	CULTURE MEDIUM FOR EPITHELIAL STEM CELLS AND ORGANOIDs COMPRISING SAID STEM CELLS
(56)	References Cited:	WO-A-2008/101215, US-A1- 2005 265 980, WO-A2-2007/127454 WANG S ET AL: "Dissecting signaling pathways that govern self-renewal of rabbit embryonic stem cells", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 283, no. 51, 19 December 2008 (2008-12-19), pages 35929-35940, XP002786912, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY INC. US DOI: 10.1074/JBC.M804091200, TOSHIRO SATO ET AL: "Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche", NATURE, vol. 459, no. 7244, 29 March 2009 (2009-03-29), pages 262-265, XP055183787, ISSN: 0028-0836, DOI: 10.1038/nature07935 LIU Y ET AL: "A novel chemical-defined medium with bFGF and N2B27 supplements supports undifferentiated growth in human embryonic stem cells", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 346, no. 1, 21 July 2006 (2006-07-21) , pages 131-139, XP024925297, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL ISSN: 0006-291X, DOI: 10.1016/J.BBRC.2006.05.086 [retrieved on 2006-07-21]

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. Cellekulturmedium for å dyrke epitelstamceller omfattende et basalt kulturmedium og ytterligere omfattende
 - a. en BMP-hemmer,
 - 5 b. en Wnt-agonist valgt fra familien av R-spondiner, og
 - c. mellom 5 og 500 ng/ml av en mitogen vekstfaktor valgt fra epidermal vekstfaktor (EGF), transformerende vekstfaktor-alfa, fibroblastvekstfaktor (FGF), hjerne-avledet neurotrofisk faktor og keratinocytvekstfaktor (KGF).
2. Cellekulturmedium ifølge krav 1, hvor BMP-hemmeren er noggin.
- 10 3. Cellekulturmedium ifølge krav 2, hvor noggin tilsettes til det basale kulturmedium i en konsentrasjon på minst 10 ng/ml, minst 20 ng/ml, minst 50 ng/ml eller minst 100 ng/ml, fortrinnsvis hvor konsentrasjonen av noggin er omtrent 100 ng/ml.
4. Cellekulturmedium ifølge et hvilket som helst av de forutgående krav, hvor
15 Wnt-agonisten valgt fra familien av R-spondiner er hvilket som helst av R-spondin 1, R-spondin 2, R-spondin 3 eller R-spondin 4.
5. Kulturmedium ifølge krav 4, hvor Wnt-agonisten er R-spondin 1, fortrinnsvis tilsatt til det basale kulturmedium i en konsentrasjon på minst 50 ng/ml, minst 100 ng/ml, minst 200 ng/ml, minst 300 ng/ml, minst 500 ng/ml, fortrinnsvis hvor
20 konsentrasjonen er omtrent 500 ng/ml.
6. Cellekulturmedium ifølge et hvilket som helst av de forutgående krav, hvor R-spondin og Wnt-3a begge brukes som Wnt-agonister, valgfritt hvor konsentrasjonen av R-spondin er omtrent 500 ng/ml og hvor konsentrasjonen av Wnt-3a er omtrent 100 ng/ml.
- 25 7. Cellekulturmedium ifølge et hvilket som helst av de forutgående krav, hvor den mitogene vekstfaktor omfatter EGF.
8. Cellekulturmedium ifølge krav 7, hvor EGF-et tilsettes til det basale kulturmedium i en konsentrasjon på omtrent 50 ng/ml.

9. Cellekulturmedium ifølge et hvilket som helst av de forutgående krav, hvor cellekulturmediet omfatter noggin som BMP-hemmer, EGF som mitogen vekstfaktor, og R-spondin 1 som Wnt-agonist, valgfritt hvor cellekulturmediet ytterligere omfatter Wnt3a som Wnt-agonist.
- 5 10. Cellekulturmedium ifølge et hvilket som helst av de forutgående krav, hvor cellekulturmediet ytterligere omfatter:
- a. en Rock-hemmer; eller
 - b. en Notch-agonist, valgfritt DSL-peptid.
- 10 11. Cellekulturmedium ifølge et hvilket som helst av de forutgående krav, hvor det basale kulturmedium omfatter Advanced DMEM/F12 eller Advanced RPMI, valgfritt supplementert med ett eller flere midler valgt fra B27, N-acetylcystein og/eller N2.
12. Cellekulturmedium ifølge et hvilket som helst av de forutgående krav, hvor cellekulturmediet er serumfritt.