



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3060670 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
A61K 35/28 (2015.01)
A61K 48/00 (2006.01)
C12N 5/0789 (2010.01)
C12N 7/00 (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)
C12N 15/867 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2019.11.18
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2019.07.10
(86)	European Application Nr.	14806726.7
(86)	European Filing Date	2014.10.24
(87)	The European Application's Publication Date	2016.08.31
(30)	Priority	2013.10.24, GB, 201318830 2014.05.21, GB, 201409067
(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	Ospedale San Raffaele S.r.l., Via Olgettina 60, 20132 Milano, Italia Fondazione Telethon, Via Varese 16B, 00185 Rome, Italia
(72)	Inventor	NALDINI, Luigi, San Raffaele Telethon Institute for Gene TherapyVia Olgettina 58, I- 20132 Milan, Italia GENTNER, Bernhard, Rudolf, San Raffaele Telethon Institute for Gene TherapyVia Olgettina 58, I-20132 Milan, Italia ZONARI, Erika, San Raffaele Telethon Institute for Gene TherapyVia Olgettina 58, I- 20132 Milan, Italia BOCCALATTE, Francesco, San Raffaele Telethon Institute for Gene TherapyVia Olgettina 58, I-20132 Milan, Italia
(74)	Agent or Attorney	TANDBERG INNOVATION AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

(54) Title **METHOD**

(56) References
Cited: WO-A2-01/66150
 WO-A2-2004/072264
 WO-A1-2008/136656
 WO-A1-03/060138
 WO-A2-01/27304

WO-A1-2013/049615

Nancy Dumais ET AL: "Prostaglandin E₂ Up-regulates HIV-1 Long Terminal Repeat-driven Gene Activity in T Cells via NF- κ B-dependent and -Independent Signaling Pathways*", , 1 October 1998 (1998-10-01), XP055162525, Retrieved from the Internet:

URL:<http://www.jbc.org/content/273/42/27306.long> [retrieved on 2015-01-15]

WOLFRAM GOESSLING ET AL: "Prostaglandin E₂ Enhances Human Cord Blood Stem Cell Xenotransplants and Shows Long-Term Safety in Preclinical Nonhuman Primate Transplant Models", CELL STEM CELL, vol. 8, no. 4, 1 April 2011 (2011-04-01), pages 445-458, XP055002056, ISSN: 1934-5909, DOI: 10.1016/j.stem.2011.02.003

JONATHAN HOGGATT ET AL: "Differential stem- and progenitor-cell trafficking by prostaglandin E₂", NATURE, vol. 495, no. 7441, 13 March 2013 (2013-03-13), pages 365-369, XP055162527, ISSN: 0028-0836, DOI: 10.1038/nature11929

HORN P A ET AL: "LENTIVIRUS-MEDIATED GENE TRANSFER INTO HEMATOPOIETIC REPOPULATING CELLS IN BABOONS", GENE THERAPY, NATURE PUBLISHING GROUP, GB, vol. 9, no. 21, 1 November 2002 (2002-11-01), pages 1464-1471, XP001176749, ISSN: 0969-7128, DOI: 10.1038/SJ.GT.3301820

WOODS N-B ET AL: "Lentiviral-mediated gene transfer into haematopoietic stem cells", JOURNAL OF INTERNAL MEDICINE, BLACKWELL PUBLISHING LTD, GB, vol. 249, no. 4, 1 April 2001 (2001-04-01) , pages 339-343, XP002307685, ISSN: 0954-6820, DOI: 10.1046/J.1365-2796.2001.00806.X

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. *In vitro*-fremgangsmåte for å fremstille en terapeutisk cellepopulasjon og en støttecellepopulasjon som er egnet for klinisk anvendelse fra en utgangspopulasjon av celler omfattende hematopoietiske stamceller, idet fremgangsmåten omfatter å separere en populasjon av celler som i det vesentlige ikke uttrykker CD38, men som uttrykker CD34, fra utgangspopulasjonen av celler, og å transdusere den separerte cellepopulasjonen med en vektor for å oppnå den terapeutiske cellepopulasjonen som har CD34⁺CD38⁻-fenotypen, og hvori de separerte CD38-uttrykkende cellene eller del derav beholdes for å danne en støttecellepopulasjon som har CD34⁺CD38^{int1-}, CD34⁺CD38^{int2-} og/eller CD34⁺CD38⁺-fenotypen.
2. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori fremgangsmåten omfatter trinnene:
- a. å separere CD38-uttrykkende celler fra en utgangspopulasjon av celler omfattende hematopoietiske stamceller;
 - b. å separere CD34-uttrykkende celler fra populasjonen av celler oppnådd i trinn (a) som ikke uttrykker CD38;
 - c. å transdusere den CD34-uttrykkende cellepopulasjonen oppnådd i trinn (b) med en vektor for å oppnå den terapeutiske cellepopulasjonen.
3. Fremgangsmåten ifølge krav 1 eller 2, hvori utgangspopulasjonen av celler som omfatter hematopoietiske stamceller oppnås fra mobilisert perifert blod, benmarg eller navlestrengsblod.
4. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvori de CD38-uttrykkende cellene og/eller CD34-uttrykkende cellene separeres ved anvendelse av magnetisk kulebasert separasjon eller strømningscytometri.
5. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvori vektoren er en virusvektor, fortrinnsvis hvori virusvektoren er en lentiviral vektor eller omfatter et nukleotid av interesse.
6. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvori trinnet med å transdusere en populasjon av celler med en vektor omfatter dyrking av cellene i mindre enn 44 timer, fortrinnsvis hvori trinnet med å transdusere en populasjon av celler med en vektor omfatter å dyrke cellene i ca. 12-24 timer.

7. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvori trinnet å transdusere en populasjon av celler med en vektor omfatter å behandle populasjonen av celler med prostaglandin E2, eller et prostaglandin E2-derivat, fortrinnsvis hvori cellene behandles med prostaglandin E2 eller prostaglandin E2-derivat før eksponering av cellene til vektoren.

8. Terapeutisk cellepopulasjon for anvendelse i medisin, hvori den terapeutiske cellepopulasjonen har CD34⁺CD38⁻-fenotypen og fremstilles i henhold til fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst foregående krav, og hvori den terapeutiske cellepopulasjonen administreres i kombinasjon med en støttecellepopulasjon som har CD34⁺CD38^{int1-}, CD34⁺CD38^{int2-} og/eller CD34⁺CD38⁺-fenotypen og fremstilles i henhold til fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst foregående krav.

9. Støttecellepopulasjon for anvendelse i medisin, hvori støttecellepopulasjonen har CD34⁺CD38^{int1-}, CD34⁺CD38^{int2-} og/eller CD34⁺CD38⁺-fenotypen og fremstilles i henhold til fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1-7, og hvori støttecellepopulasjonen administreres i kombinasjon med den terapeutiske cellepopulasjonen som har CD34⁺CD38⁻-fenotypen og fremstilles i henhold til fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1-7.

10. Den terapeutiske eller støttecellepopulasjonen for anvendelse ifølge krav 8 eller 9, hvori antallet CD34⁺-celler administrert til et individ i støttecellepopulasjonen er omtrent 5-15 ganger antallet CD34⁺-celler administrert i den terapeutiske cellepopulasjonen når individet har gjennomgått myeloablative kondisjonering.

11. Den terapeutiske eller støttecellepopulasjonen for anvendelse ifølge et hvilket som helst av kravene 8-10, hvori de terapeutiske og støttecellepopulasjonene administreres som del av en autolog stamcelletransplantasjonsprosedyre eller en allogen stamcelletransplantasjonsprosedyre.

12. Den terapeutiske eller støttecellepopulasjonen for anvendelse ifølge et hvilket som helst av kravene 8-11, hvori den terapeutiske cellepopulasjonen administreres til et individ før administrering av støttecellepopulasjonen, eller hvori den terapeutiske cellepopulasjonen administreres til et individ samtidig med eller simultant med administrering av støttecellepopulasjonen.

13. Hematopoietisk progenitorcellepopulasjon for anvendelse i genterapi, hvori cellene er blitt separert fra en populasjon av celler som omfatter hematopoietiske stam- og

progenitorceller og deretter transduseres med et nukleotid av interesse, hvori den hematopoietiske progenitorcellepopulasjonen har en fenotype valgt fra gruppen som består av $CD34^+CD38^{int}$, $CD34^+CD38^{int1}$, $CD34^+CD38^{int2}$ og $CD34^+CD38^+$, og hvori den transduserte progenitorcellepopulasjonen administreres i kombinasjon med en

5 populasjon av hematopoietiske stamceller.