



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3116902 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 14/74 (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2020.05.25
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.01.01
(86)	European Application Nr.	15709185.1
(86)	European Filing Date	2015.03.11
(87)	The European Application's Publication Date	2017.01.18
(30)	Priority	2014.03.11, DK, 201470119
(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	Collectis, 8, rue de la Croix Jarry, 75013 Paris, Frankrike
(72)	Inventor	POIROT, Laurent, 10 rue de la réunion, F-75020 Paris, Frankrike SOURDIVE, David, 19 Rue Louise Michel, F-92300 Levallois-Perret, Frankrike DUCHATEAU, Philippe, Bateau Fawen Quai des Dames, F-91210 Draveil, Frankrike CABANIOLS, Jean-Pierre, 17 rue des églantines, F-95320 Saint Lau la Forêt, Frankrike
(74)	Agent or Attorney	Zacco Denmark A/S, Arne Jacobsens Allé 15, 2300 KØBENHAVN S, Danmark

(54) Title **METHOD FOR GENERATING T-CELLS COMPATIBLE FOR ALLOGENIC TRANSPLANTATION**

(56) References Cited:
WO-A2-2014/165825, WO-A1-95/17911, WO-A2-2005/097160, WO-A1-2013/176915, WO-A1-93/02188, WO-A2-2008/102274, WO-A2-2014/165707, US-A1- 2006 222 633, WO-A1-2013/158292, WO-A2-2013/049459
LAURA RIOLOBOS ET AL: "HLA Engineering of Human Pluripotent Stem Cells", MOLECULAR THERAPY, vol. 21, no. 6, 30 April 2013 (2013-04-30) , pages 1232-1241, XP055145726, ISSN: 1525-0016, DOI: 10.1038/mt.2013.59
DAMMEYER P ET AL: "Vaccination with beta(2)-Microglobulin-Deficient Dendritic Cells Protects Against Growth of beta(2)-Microglobulin-Deficient Tumours", SCANDINAVIAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY, BLACKWELL SCIENCE PUBL., OXFORD, GB, vol. 70, no. 1, 25 April 2009 (2009-04-25) , pages 44-52, XP002544734, ISSN: 0300-9475, DOI: 10.1111/J.1365-3083.2009.02270.X [retrieved on 2009-04-25]
SHU SU ET AL: "CRISPR-Cas9 mediated efficient PD-1 disruption on human primary T cells

from cancer patients", SCIENTIFIC REPORTS, vol. 6, 28 January 2016 (2016-01-28), page 20070, XP055267477, DOI: 10.1038/srep20070

Y. MATSUNAGA ET AL: "Activation of Antigen-Specific Cytotoxic T Lymphocytes by 2-Microglobulin or TAP1 Gene Disruption and the Introduction of Recipient-Matched MHC Class I Gene in Allogeneic Embryonic Stem Cell-Derived Dendritic Cells", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 181, no. 9, 20 October 2008 (2008-10-20), pages 6635-6643, XP055145645, ISSN: 0022-1767, DOI: 10.4049/jimmunol.181.9.6635

MELISA A. SOLAND ET AL: "Modulation of Human Mesenchymal Stem Cell Immunogenicity through Forced Expression of Human Cytomegalovirus US Proteins", PLOS ONE, vol. 7, no. 5, 30 May 2012 (2012-05-30), page e36163, XP055187588, DOI: 10.1371/journal.pone.0036163

HOLLING T M ET AL: "Epigenetic silencing of MHC2TA transcription in cancer", BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY, ELSEVIER, US, vol. 72, no. 11, 30 November 2006 (2006-11-30), pages 1570-1576, XP027905310, ISSN: 0006-2952 [retrieved on 2006-11-30]

GAJ THOMAS ET AL: "ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering", TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, ELSEVIER PUBLICATIONS, CAMBRIDGE, GB, vol. 31, no. 7, 9 May 2013 (2013-05-09), pages 397-405, XP028571313, ISSN: 0167-7799, DOI: 10.1016/J.TIBTECH.2013.04.004

P. HOGLUND ET AL: "Recognition of beta 2-microglobulin-negative (beta 2m-) T-cell blasts by natural killer cells from normal but not from beta 2m- mice: nonresponsiveness controlled by beta 2m- bone marrow in chimeric mice.", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 88, no. 22, 15 November 1991 (1991-11-15), pages 10332-10336, XP055145720, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.88.22.10332

AGNIESZKA WIECZOREK ET AL: "Genetically Modified T Cells for the Treatment of Malignant Disease", TRANSFUSION MEDICINE AND HEMOTHERAPY, vol. 40, no. 6, 29 November 2013 (2013-11-29), pages 388-402, XP055145975, ISSN: 1660-3796, DOI: 10.1159/000357163

V. TRICHET ET AL: "Complex Interplay of Activating and Inhibitory Signals Received by V 9V 2 T Cells Revealed by Target Cell 2-Microglobulin Knockdown", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 177, no. 9, 18 October 2006 (2006-10-18), pages 6129-6136, XP055145651, ISSN: 0022-1767, DOI: 10.4049/jimmunol.177.9.6129

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/>

[EP3116902]

1

Patentkrav

1. Fremgangsmåte for å fremstille en konstruert T-celle omfattende trinnene:

5 a) å inhibere ekspresjonen av 2-mikroglobulin (B2M) og/eller klasse II hovedhistokompatibilitetskomplekstransaktivator (CIITA) i en T-celle som er tilveiebrakt; og

b) å aktivere minst ett gen som koder for en bestanddel av T-cellereseptoren (TCR) i T-cellen; og

10 c) å føre inn i T-cellen et eksogen nukleinsyremolekyl omfattende en nukleotidsekvens som koder for en kimær antigenreseptor (CAR) rettet mot minst ett antigen uttrykt på overflaten av en ondartet eller infisert celle.

2. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori ekspresjonen av B2M og/eller CIITA inhiberes ved å anvende en rare-cutting endonuklease som er i stand til selektivt
15 å inaktivere genet som koder for B2M og/eller CIITA, ved DNA-spalting.

3. Fremgangsmåten ifølge krav 1 eller 2, hvori inaktiveringen av det minst ene genet som koder for en bestanddel av T cellereseptoren (TCR), utføres ved å anvende en rare-cutting endonuklease som er i stand til selektivt å inaktivere
20 genet som koder for TCR-bestanddelen, ved DNA-spalting.

4. Fremgangsmåten ifølge krav 2 eller 3, hvori rare-cutting endonukleasen er en TAL-nuklease, meganuklease, sink-fingernuklease (ZFN) eller RNA-styrt endonuklease.
25

5. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, ytterligere omfattende et trinn med å avbryte PD1 (programmert celledød-protein 1).

6. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, ytterligere
30 omfattende trinnet med å uttrykke i T-cellen minst ett ikke-endogent immunsuppressivt polypeptid.

[EP3116902]

2

7. Fremgangsmåten ifølge krav 6, hvori det ikke-endogene immunsuppressive polypeptidet er en viral MHC-homolog eller en NKG2D-ligand.

5 **8.** Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvori T-cellen er en cytotoxisk T-lymfocyt.

10 **9.** Konstruert isolert T-celle som uttrykker en kimær antigenreseptor (CAR) rettet mot minst ett antigen uttrykt på overflaten av en ondartet eller infisert celle, der T-cellen er ytterligere **karakterisert ved at** i) ekspresjonen av beta 2-mikroglobulin (B2M) og/eller klasse II hovedhistokompatibilitetskompleks (CIITA) inhiberes; og ii) minst ett gen som koder for en bestanddel av T-celle-reseptoren (TCR) er aktivert.

15 **10.** Den konstruerte T-cellen ifølge krav 9, hvori genet som koder for B2M, er inaktivert gjennom ekspresjonen i T-cellen av en rare-cutting endonuklease som er i stand til selektivt å inaktivere genet som koder for B2M, ved DNA-spalting.

20 **11.** Den konstruerte T-cellen ifølge krav 9 eller 10, ytterligere **karakterisert ved at** PD1 er avbrutt.

12. Den konstruerte T-cellen ifølge krav 9, hvori T-cellen har fenotypen [b2m]⁻ [TCR]⁻[PD1]⁻[CAR]⁺.

25 **13.** Den konstruerte T-cellen ifølge et hvilket som helst av kravene 9 til 12, hvori T-cellen uttrykker minst ett ikke-endogent immunsuppressivt polypeptid.

14. Den konstruerte T-cellen ifølge krav 13, hvori det ikke-endogene immunsuppressive polypeptidet er en viral MHC-homolog eller en NKG2D-ligand.

30 **15.** Den konstruerte T-cellen ifølge et hvilket som helst av kravene 9 til 14, hvori T-cellen er en cytotoxisk T-lymfocyt.

[EP3116902]

3

16. Den konstruerte T-cellen ifølge et hvilket som helst av kravene 9 til 15 for anvendelse som medikament.

17. Sammensetning omfattende minst én konstruert T-celle ifølge et hvilket som helst av kravene 9 til 15.

5