



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3134095 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
A61K 35/12 (2015.01)
A61K 35/17 (2015.01)
A61K 38/17 (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)
C12N 5/16 (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2020.07.06
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.04.22
(86)	European Application Nr.	15783117.3
(86)	European Filing Date	2015.04.24
(87)	The European Application's Publication Date	2017.03.01
(30)	Priority	2014.04.25, US, 201461984558 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	Bluebird Bio, Inc., 60 Binney Street, Cambridge, MA 02142, USA
(72)	Inventor	MORGAN, Richard, PO Box 1254, Center Harbor NH 03226-1254, USA FRIEDMAN, Kevin, 4 Clover Circle, Medford, Massachusetts 02176, USA MAIER, Dawn, 29 Crestwood Road, North Reading, Massachusetts 01864, USA
(74)	Agent or Attorney	PROTECTOR IP AS, Pilestredet 33, 0166 OSLO, Norge

(54)	Title	IMPROVED METHODS FOR MANUFACTURING ADOPTIVE CELL THERAPIES
(56)	References Cited:	US-B2- 7 977 095, WO-A1-2013/126712, WO-A1-2012/140130, WO-A1-2014/039523, US-B2- 7 754 482 ZHONG ET AL.: 'Retroviral Transduction of T- cell Receptors in Mouse T-cells' JOURNAL OF VISUALIZED EXPERIMENTS vol. 44, 22 October 2010, page 2307, XP055232196 ADAM P CRIBBS ET AL: "Simplified production and concentration of lentiviral vectors to achieve high transduction in primary human T cells", BMC BIOTECHNOLOGY, BIOMED CENTRAL LTD. LONDON, GB, vol. 13, no. 1, 12 November 2013 (2013-11-12), page 98, XP021167925, ISSN: 1472-6750, DOI: 10.1186/1472-6750-13-98 DAWN MAIER: "Development of a Simple and Robust Closed System Manufacturing Platform for T Cells Engineered With Chimeric Antigen Receptor (CAR) for Adoptive Immunotherapy", MOLECULAR THERAPY -SUPPLEMENT 1, vol. 22, 1 May 2014 (2014-05-01), page S284, XP055396203,

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 in vitro fremgangsmåte for fremstilling av en T-celle terapi innbefattende:
 - a) tilveiebringe en populasjon av humant periferisk blod mononukleære celler (PBMC'er) som innbefatter T-celler og antigenpresenterende celler (APC'er);
 - b) kultivere populasjonen av PBMC'er i 16 timer til 32 timer før transduksjon i et cellekultur-medium innbefattende i) interleukin-2 (IL-2), ii) et anti-CD3 antistoff eller CD3-bindende fragment derav, og iii) et anti-CD28 antistoff eller et anti-CD28 bindende fragment derav, B7-1 eller et CD28-bindende fragment derav, eller B7-2 eller et CD28-bindende fragment derav, hvor kulturen aktiverer og stimulerer T-cellene;
 - c) transudere populasjonen av PBMC'er aktiver i trinn b) med en lentiviral vektor som koder en kimær antigen reseptor (CAR); og
 - d) kultivere populasjonen av PBMC'er i et cellevekst-medium for å ekspandere de transduserte T-cellene;og derved fremstille T-celle terapeutikumet.
2. Fremgangsmåte i henhold til krav 1, hvor:
 - a) innhøsting og erholdelse av PBMC'ene innbefatter leukaferese; og/eller
 - b) isolere av PBMC'ene innbefatter sedimentering; og/eller
 - c) isolering av PBMC'ene innbefatter sedimentering utført ved bruk av en halvautomatisk gjennomstrømningssentrifuge.
3. Fremgangsmåte i henhold til krav 1, hvor cellekultur-mediet innbefatter 250 IU/ml IL-2.
4. Fremgangsmåte i henhold til krav 1, hvor cellekultur-mediet;
 - a) er et T-celle vekstmedium (TCGM); eller
 - b) er T-celle vekstmedium (TCGM) videre innbefattende et eller flere ytterligere cytokiner; eller
 - c) er TCGM videre innbefattende et eller flere ytterligere cytokiner valgt fra enhver av: IL7, IL-15, IL-9 og IL-21.

5. Fremgangsmåte i henhold til hvilke som helst av kravene 1 til 4, hvor fremgangsmåten videre innbefatter:
- a) vaske PBMC'ene i en buffer eller cellekultur-medium; og/eller
 - b) vaske PBMC'ene i et T-celle vekstmedium (TCGM) inneholdende en eller flere cytokiner; og/eller
 - c) vaske PBMC'ene i et T-celle vekstmedium (TCGM) inneholdende en eller flere cytokiner valgt fra enhver av: IL-2, IL7, IL-15, IL-9 og IL21; eller
 - d) vaske PBMC'ene i et T-celle vekstmedium (TCGM) inneholdende IL-2; og/eller
 - e) vaske PBMC'ene i et T-celle vekstmedium (TCGM) inneholdende 250 IU/ml IL-2.
6. Fremgangsmåte i henhold til hvilke som helst av kravene 1 til 5, hvor:
- a) PBMC'ene blir kultivert med et løselig ant'CD3 antistoff eller et løselig anti-CD28 antistoff; og/eller
 - b) PBMC'ene blir kultivert med et løselig anti-CD3 antistoff ved en konsentrasjon på 50 ng/ml og et løselig anti-CD28 antistoff; og/eller
 - c) PBMC'ene blir kultivert med et løselig anti-CD3 antistoff og et løselig anti CD28 antistoff ved en konsentrasjon på 30 ng/ml.
7. Fremgangsmåte i henhold til krav 1, hvor:
- a) PBMC'ene i trinn b) blir kultivert i minst 18 timer før transduksjon; og/eller
 - b) PBMC'ene i trinn b) blir kultivert i minst 24 timer før transduksjon.
8. Fremgangsmåte i henhold til krav 6 eller 7, hvor 1×10^9 TU til 2×10^9 TU av den lentivirale vektoren blir brukt til å transdusere de 1×10^8 seedede cellene.
9. Fremgangsmåte i henhold til hvilke som helst av kravene 1 til 8, hvor
- a) den lentivirale vektoren er fortynnet til 20 masse-% av det totale kulturvolumet; og/eller
 - b) den lentivirale vektoren er fortynnet 40 til 50 masse.% av det totale kulturvolumet; og/eler

- c) PBMC'ene er transdusert i 18 til 48 timer; og/eller
- d) PBMC'ene er transdusert i 18 til 36 timer; og/eller
- e) PBMC'ene er transdusert i 24 timer.

10. Fremgangsmåte i henhold til krav 1, hvor CAR innbefatter
- 5 a) et ekstracellulært domene som binder et antigen valgt fra gruppen bestående av: alfa folat reseptor, 5T4, $\alpha\beta 6$ integrin, BCMA, B7-H3, B7-H6, CAIX, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD70, CD79a, Cd79b, CD123, CD138, CD171, CEA, CSPG4, EGFR, EGFR familie inkludert ErbB2 (HER2), EGFRvIII,
- 10 EGP2, EGP40, EPCAM, EphA2, EpCAM, FAP, føtal AchR, FR α , GD2, GD3, 'Glypican-3 (GPC3), HLA-A1+ MAGE1, HLA-A2+MAGE1, HLA-A3+MAGE1, HLA-A1+NY-ESO-1, HLA-A2+NY-ESO-1, HLA-A3+NY-ESO-1, IL-11R α , IL-13R $\alpha 2$, Lambda, Lewis-Y, Kappa, Mesothelin, Muc1, Muc16, NCAM, NKG2D ligander, NY-ESO-1,
- 15 PRAME, PSCA, PSMA, ROR1, SSX, Survivin, TAG72, TEM'er og VEGFR2;
- b) et transmembran domene avledet fra et polypeptid valgt fra gruppen bestående av: CD8 α , CD4, CD28, CD45, PD1 og CD152;
- c) et eller flere intracellulære signaleringsdomener valgt fra gruppen
- 20 bestående av: CD28, CD54 (ICAM), CD134 (OX40), CD137 (41BB), CD152 (CTLA4), CD273 (PD-L2), CD274 (PD-L1) og CD278 (ICOS); og
- d) et CD3 ζ signalerende domene.
11. Fremgangsmåte i henhold til krav 10, hvor:
- 25 a) det ekstracellulære domenet innbefatter et antistoff eller antigenbindende fragment som binder antigenet; og/eller
- b) transmembran domenet er avledet fra CD8 α eller CD28; og/eller
- c) det ene eller flere ko-stimulerende signaleringsdomenet er enhver av: CD28, CD134 og CD137; og/eller
- 30 d) CAR videre innbefatter et hengselområde polypeptid; og/eller
- e) CAR videre innbefatter at IgG1 eller CD8 α hengselområde polypeptid; og/eller

- f) CAR videre innbefatter et signalpeptid; og/eller
- g) CAR videre innbefatter et IgG1 tung kjede signal polypeptid, eller et CD8 α signal polypeptid, eller et humant GM-CSF reseptor alfa signal polypeptid.

- 5 12. Fremgangsmåte i henhold til krav 1, hvor:
- a) PBMC'ene i trinn d) blir kultivert for ekspansjon i 5 til 8 dager; og/eller
 - b) PBMC'ene i trinn d) blir kultivert for ekspansjon i 5 dager til 8 dager i en cellekultur-pose; og/eller
 - 10 c) PBMC'ene i trinn d) blir kultivert for ekspansjon i 5 dager i en cellekultur-pose og blir deretter kultivert i 3 dager i en bioreaktor; og/eller
 - d) PBMC'ene i trinn d) blir kultivert for ekspansjon i 5 dager til 8 dager i en bioreaktor.
- 15 13. Fremgangsmåte i henhold til krav 1, hvor:
- a) antallet T-celler blir ekspander minst 50 ganger under kultiveringstrinnet d), eller
 - b) antallet T-celler blir ekspander minst 100 ganger under kultiveringstrinnet d); eller
 - 20 c) antallet T-celler blir ekspander minst 300 ganger under kultiveringstrinnet d); eller
 - d) antallet T-celler blir ekspander minst 400 ganger under kultiveringstrinnet d); eller
 - e) antallet T-celler blir ekspander minst 500 ganger under kultiveringstrinnet d); eller
 - 25 f) antallet T-celler blir ekspander minst 600 ganger under kultiveringstrinnet d).