



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3151672 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 5/0783 (2010.01)
A61P 1/18 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 13/10 (2006.01)
A61P 15/00 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2020.12.14
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.11.04
(86)	European Application Nr.	15802488.5
(86)	European Filing Date	2015.06.05
(87)	The European Application's Publication Date	2017.04.12
(30)	Priority	2014.06.06, US, 201462008957 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	FRIEDMAN, Kevin, 10 Museum Way 1123, Cambridge, Massachusetts 02141, USA
(74)	Agent or Attorney	PROTECTOR IP AS, Pilestredet 33, 0166 OSLO, Norge

(54) Title **IMPROVED T CELL COMPOSITIONS**

(56) References
Cited:

EP-A2- 2 094 837
US-A1- 2014 086 889
US-A1- 2013 309 193
WO-A1-2016/164429
WO-A1-2014/055668
WO-A1-2013/154760

RYAN URAK ET AL: "Ex vivo Akt inhibition promotes the generation of potent CD19CAR T cells for adoptive immunotherapy", JOURNAL FOR IMMUNOTHERAPY OF CANCER, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON, UK, vol. 5, no. 1, 21 March 2017 (2017-03-21), pages 1-13, XP021242928, DOI: 10.1186/S40425-017-0227-4

PERKINS MOLLY R ET AL: "Manufacturing an Enhanced CAR T Cell Product By Inhibition of the PI3K/Akt Pathway During T Cell Expansion Results in Improved In Vivo Efficacy of Anti-BCMA CAR T Cells", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 126, no. 23, 3 December 2015 (2015-12-03), XP009502117, ISSN: 0006-4971

ANNIEK B VAN DER WAART ET AL: "Time to Akt : Superior tumor-reactive T cells for adoptive immunotherapy", ONCOIMMUNOLOGY, vol. 4, no. 5, 4 May 2015 (2015-05-04), page e1003016, XP055432059, ISSN: 2162-4011, DOI: 10.1080/2162402X.2014.1003016

Anniek B Van Der Waart ET AL: "Inhibition of Akt signaling promotes the generation of superior tumor-reactive T cells for adoptive immunotherapy", , 21 October 2014 (2014-10-21), XP055321188, DOI: 10.1182/blood-2014-05-578583 Retrieved from the Internet: URL:http://www.bloodjournal.org/content/bl_oodjournal/124/23/3490.full.pdf [retrieved on 2016-11-21]

EUI HO KIM ET AL: "Role of PI3K/Akt signaling in memory CD8 T cell differentiation", FRONTIERS IN IMMUNOLOGY, vol. 4, 1 February 2013 (2013-02-01), XP055321261, DOI: 10.3389/fimmu.2013.00020

A.B. Waart ET AL: "Akt Signalling Inhibition Promotes The Ex Vivo generation Of Minor Histocompatibility Antigen-Specific CD8+Memory Stem T Cells", Blood, 1 January 2014 (2014-01-01), pages 3490-3500, XP009502144, United States DOI: 10.1182/blood-2014-05-578583 Retrieved from the Internet: URL:http://eolip.internal.epo.org/api/or_ders/196945/pdf

YANHONG WU ET AL: "Over-expressing Akt in T cells to resist tumor immunosuppression and increase anti-tumor activity", BMC CANCER, BIOMED CENTRAL, LONDON, GB, vol. 15, no. 1, 27 August 2015 (2015-08-27), page 603, XP021226911, ISSN: 1471-2407, DOI: 10.1186/S12885-015-1611-4

GATTINONI LUCA ET AL: "Adoptive immunotherapy for cancer: building on success", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, NATURE PUB. GROUP, GB, vol. 6, no. 5, 1 May 2006 (2006-05-01), pages 383-393, XP002540348, ISSN: 1474-1733, DOI: 10.1038/NRI1842

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 vivo* eller *ex vivo* fremgangsmåte for fremstilling av T-celler, innbefattende:
 - 5 a) aktiverer en populasjon av T-celler og stimulerer populasjonen av T-celler for forøkning, hvor aktiverings- og stimuleringsstrinnene blir utført i nærvær av en PI3K inhibitor;
 - b) transdusere T-cellene med en viral vektor innbefattende en konstruert T-celle reseptor (TCR) eller en kimær antigen reseptor (CAR); og
 - 10 c) kultivere de transduserte T-cellene for forøkning: hvor aktiverings- og stimuleringsstrinnene utført i nærvær av en PI3K inhibitor resulterer i opprettholdelse av forøkning og minskning av differensiering av transduserte T-celler sammenlignet med forøkning og differensiering av transduserte T-celler som ble aktivert og
 - 15 stimulert i fravær av PI3K inhibitoren.
2. Fremgangsmåte i henhold til krav 1, hvor :
 - a) kilden for T-cellene er perifere mononukleære blodceller;
 - b) aktiveringen av T-cellene innbefatter å føre T-cellene i kontakt med
 - 20 T-cellene med en anti-CD3 antistoff eller CD3-bindende fragment derav;
 - c) stimuleringen av T-cellene innbefatter å føre T-cellene i kontakt med et anti-CD28 antistoff eller et CD28-bindende fragment derav, B7-1 eller et CD28-bindende fragment derav, eller et B7-2 eller et
 - 25 CD28-bindende fragment derav:
 - d) T-cellene blir transdusert med den virale vektoren før T-celle forøkning; eller
 - e) T-cellene blir transdusert med den virale vektoren etter T-celle forøkningen.
- 30 3. Fremgangsmåte i henhold til hvilke som helst av kravene 1 til 2, hvor:
 - a) den virale vektoren er en retroviral vektor;
 - b) den virale vektoren er en lentiviral vektor; eller

c) T-cellene innbefatter en CAR.

4. Fremgangsmåte i henhold til krav 3, hvor CAR innbefatter:

- 5 a) et ekstracellulært domene som binder et antigen valgt fra gruppen bestående av BMCA, alfa folat reseptor, 5T4, $\alpha\beta_6$ integrin, 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, EGP2, EGP40, EPCAM, EphA2, EpCAM, FAP, føtal AchR, FR α , GD2, GD3, Glypican-3 (GPC3), HLA-A1+MAGE1, HLA-A2+MAGE1, 10 HLA-A3+MAGE1, HLA-A1+NY-ESO-1, HLA-A2+NY-ESO-1, HLA-A3+NY-ESO-1, IL-11R α , IL-13R α 2, Lambda, Lewis-Y, Kappa, Mesothelin, Mucl, Muc16, NCAM, NKG2D ligander, NY_ESO-1, PRAME, PSCA, PSMA, ROR1, SSX, Survivin, TAG72, TEM'er og VEGFR2;
- 15 b) et transmembran domene avledet fra et polypeptid bestående av: CD8 α ; CD4, CD28, CD45, PD-1 og CD152;
- c) et eller flere intracellulære ko-stimulerende signaliserende domener valgt fra gruppen bestående av: CD28, CD54 (ICAM), CD134 (OX40), CD137 (41BB), CD152 (CTLA4), CD273 (PD-L2), CD274 (PD-L1) og 20 CD278 (ICOS); og
- d) et CD3 ζ signalerende domene.
5. Fremgangsmåte i henhold til krav 4, hvor:
- a) det ekstracellulære domenet innbefatter et antistoff eller et antigen bindende fragment som binder antigene;
- 25 b) transmembran domenet er avledet fra CD8 α eller CD28;
- c) det ene eller flere ko-stimulerende domenet er valgt fra gruppen bestående av: CD28, CD134 og CD137;
- d) CAR innbefatter videre et hengselområde polypeptid;
- e) CAR innbefatter videre et hengselområde polypeptid som 30 innbefatter et hengselområde av IgG1 eller CD8 α ;
- f) CAR innbefatter videre et signalpeptid;
- g) CAR innbefatter videre et signalpeptid som innbefatter et IgG1 tung

kjede signal polypeptid eller et CD8 α signal polypeptid.

6. Fremgangsmåte i henhold til hvilke som helst av kravene 1 til 5, hvor PI3K inhibitoren er:
- 5 a) en pan-PI3K inhibitor valgt fra gruppen bestående av: BEZ235, LY294002 og GDC-0941;
- b) en selektiv PI3K inhibitor valgt fra gruppen bestående av: BYL719, GSK2636771, TGX-221, AS25242, CAL-101 og IPI-145; eller
- c) ZSTK474.
- 10 7. Fremgangsmåte i henhold til hvilke som helst av kravene 1 til 6, hvor populasjonen av T-celler aktivert og stimulert i nærvær av en PI3K inhibitor har et økt antall T-celler som uttrykker en eller flere markører valgt fra gruppen bestående av: CD62L, CCR7, CD28, CD27, CD122 og CDC127 sammenlignet med en populasjon av T-celler aktivert og stimulert i fravær av PI3K inhibitoren.
- 15 8. Fremgangsmåte i henhold til krav 7, hvor populasjonen av T-celler aktivert og stimulert i nærvær av en PI3K inhibitor ikke uttrykker CD57 eller KLRG1 eller uttrykker mindre CD57 eller KLRG1 sammenlignet med en populasjon av T-celler aktivert og stimulert i fravær av PI3K inhibitoren.