



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3253865 B1

NORWAY

(19) NO

(51) Int Cl.

C12N 5/0783 (2010.01)

C07K 16/28 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

A61K 35/17 (2015.01)

C12N 5/10 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2022.10.24
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2022.06.22
(86)	European Application Nr.	16746922.0
(86)	European Filing Date	2016.02.05
(87)	The European Application's Publication Date	2017.12.13
(30)	Priority	2015.02.06, US, 201562112765 P 2015.03.10, US, 201562130970 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	National University of Singapore, 21 Lower Kent Ridge Road, Singapore 119077, Singapore
(72)	Inventor	CAMPANA, Dario, c/o National University of Singapore Yong Loo Lin School of Medicine Department of Paediatrics 21 Lower Kent Ridge Road, Singapore 119077, Singapore KAMIYA, Takahiro, c/o National University of Singapore Yong Loo Lin School of Medicine Department of Paediatrics 21 Lower Kent Ridge Road, Singapore 119077, Singapore
(74)	Agent or Attorney	AWA NORWAY AS, Hoffsvæien 1A, 0275 OSLO, Norge

(54) Title **METHODS FOR ENHANCING EFFICACY OF THERAPEUTIC IMMUNE CELLS**

(56) References
Cited: WO-A1-2015/150771, WO-A1-2016/055551, WO-A1-2014/124143, WO-A1-2015/075468,
WO-A1-2016/102965, US-A1- 2006 034 834, US-A1- 2007 036 773,
LANITIS, E. ET AL.: 'Chimeric antigen receptor T Cells with dissociated signaling domains
exhibit focused antitumor activity with reduced potential for toxicity in vivo' CANCER
IMMUNOLOGY RESEARCH vol. 1, no. 1, 01 July 2013 - 07 April 2013, pages 43 - 53,
XP055170306 DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0008
SANZ, L. ET AL.: 'Antibodies and gene therapy: teaching old 'magic bullets' new tricks' TRENDS
IN IMMUNOLOGY vol. 25, no. 2, 01 February 2004, pages 85 - 91, XP004487052 DOI:
10.1016/J.IT.2003.12.001
KUDO, K. ET AL.: 'T lymphocytes expressing a CD 16 signaling receptor exert antibody-
dependent cancer cell killing' CANCER RESEARCH vol. 74, 01 January 2014, pages 93 - 103,
XP055222596 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1365
IMAMURA, M. ET AL.: 'Autonomous growth and increased cytotoxicity of natural killer cells
expressing membrane-bound interleukin-15' BLOOD vol. 124, no. 7, 14 August 2014 - 08 July
2014, pages 1081 - 1088, XP055237400 DOI: 10.1182/BLOOD-2014-02-556837

HEGDE, M. ET AL.: 'Combinational targeting offsets antigen escape and enhances effector functions of adoptively transferred T cells in glioblastoma' MOLECULAR THERAPY vol. 21, no. 11, 01 November 2013 - 13 August 2013, pages 2087 - 2101, XP002725708

BÖLDICKE T: "Blocking translocation of cel surface molecules the ER to the cell surface by intracellular antibodies targeted to the ER", J. CELL. MOL. MED., vol. 11, no. 1, 2007, pages 54-70,

KLOSS, C.C. ET AL.: 'Combinatorial antigen recognition with balanced signaling promotes selective tumor eradication by engineered T cells' NATURE BIOTECHNOLOGY vol. 31, no. 1, 01 January 2013 - 16 December 2012, pages 71 - 75, XP055130697

KAMIYA T ET AL: "A novel method to generate T-cell receptor-deficient chimeric antigen receptor T cells", BLOOD ADVANCES, vol. 2, no. 5, 13 March 2018 (2018-03-13), pages 517-528, XP055505570, DOI: 10.1182/bloodadvances.2017012823

LO, A.S.Y. ET AL.: 'Harnessing the tumour-derived cytokine, CSF-1, to co-stimulate T- cell growth and activation' MOLECULAR IMMUNOLOGY vol. 45, no. 5, 01 January 2008 - 24 October 2007, pages 1276 - 1287, XP022402160 DOI: 10.1016/J.MOLIMM.2007.09.010

PNG YT ET AL: "Blockade of CD7 expression in T cells for effective chimeric antigen receptor targeting of T-cell malignancies", BLOOD ADVANCES, vol. 1, no. 25, 28 November 2017 (2017-11-28), pages 2348-2360, XP055452690, ISSN: 2473-9529, DOI: 10.1182/bloodadvances.2017009928

ROSSIG, C. ET AL.: 'Genetic modification of T lymphocytes for adoptive immunotherapy' MOLECULAR THERAPY vol. 10, no. 1, 01 July 2004, pages 5 - 18, XP004552176 DOI: 10.1016/J.YMTHE.2004.04.014

DATABASE EMBASE [Online] ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL; 1 May 2018 (2018-05-01), MACIOCIA P M ET AL: "A simple protein-based method for generation of 'off the shelf' allogeneic chimeric antigen receptor T-cells", XP002784541, Database accession no. EMB-623339718 & MACIOCIA P M ET AL: "A simple protein-based method for generation of 'off the shelf' allogeneic chimeric antigen receptor T-cells", MOLECULAR THERAPY 20180501 CELL PRESS NLD, vol. 26, no. 5, Supplement 1, 1 May 2018 (2018-05-01), pages 296 20180516 to 20180519 Chicago, IL-297 CONF, ISSN: 1525-0024

Grimshaw B D et al., BGST Abstracts 2012, #P023

ZHOU, P. ET AL.: 'Cells transfected with a non-neutralizing antibody gene are resistant to HIV infection: targeting the endoplasmic reticulum and trans-Golgi network' THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY vol. 160, no. 3, 01 February 1998, pages 1489 - 1496, XP001155619

ROWLEY, J. ET AL.: 'EXPRESSION OF IL-15RA OR AN IL-15/IL-15RA FUSION ON CD8<+> T CELLS MODIFIES ADOPTIVELY TRANSFERRED T-CELL FUNCTION IN CIS' EUROPEAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY vol. 39, no. 2, 01 February 2009 - 29 January 2009, pages 491 - 506, XP002679900 DOI: 10.1002/EJI.200838594 Retrieved from the Internet: <URL:HTTP://ONLINELIBRARY.WILEY.COM/DOI/10.1002/EJI.200838594/ABSTRACT;JSESSIONID=6293582F6CB0F0006B839185C6BF2100.D03T02>

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. Modifisert immuncelle som omfatter en første nukleinsyre som omfatter en nukleotidsekvens som koder en kimær antigenreseptor (CAR), og en andre
5 nukleinsyre som omfatter en nukleotidsekvens som koder et antistoff som er bundet til et lokaliseringsdomene, der antistoffet binder seg til:
en faktor i et CD3/T-cellereseptor (TCR)-kompleks valgt fra gruppen som består av CD3 ϵ , TCR α , TCR β , TCR7, TCR δ , CD3 δ , CD37 og CD3 ζ ; eller
10 en reseptor som nedregulerer immunrespons valgt fra gruppen som består av programmert celledød-protein 1 (PD-1), cytotoksisk T-lymfocyt-assosiert protein 4 (CTLA-4), T-celleimmunglobulin- og mucin-domene-inneholdende protein 3 (Tim3), drepercellers immunglobulinliknende reseptor (KIR) 2DL1, KIR2DL2/DL3 og NKG2A; og
15 der antistoffet som er bundet til lokaliseringsdomenet, nedregulerer faktorens eller reseptorens celleoverflateuttrykk.
2. Modifisert immuncelle ifølge krav 1, der den modifiserte immuncellen er en modifisert T-celle, en modifisert naturlig dreper (NK)-celle, en modifisert NK/T-
20 celle, en modifisert monocytt, en modifisert makrofag eller en modifisert dendrittisk celle.
3. Modifisert immuncelle ifølge krav 1, der CAR-en er anti-CD19-4-1BB-CD3 ζ -CAR.
25
4. Modifisert immuncelle ifølge krav 1, der antistoffet er et variabelt enkeltkjedefragment (scFv).
5. Modifisert immuncelle ifølge krav 1 eller 4, der antistoffet eller scFv-et som
30 binder CD3 ϵ , omfatter en variabel tung kjede (VH) som omfatter minst 85 % sekvensidentitet med SEKV ID NR: 12, og en variabel lett kjede (VL) som omfatter minst 85 % sekvensidentitet med SEKV ID NR: 13.
6. Modifisert immuncelle ifølge krav 1 eller 4, der antistoffet eller scFv-et som
35 binder NKG2A, omfatter en variabel tung kjede (VH) som omfatter minst 85 % sekvensidentitet med SEKV ID NR: 32, og en variabel lett kjede (VL) som omfatter minst 85 % sekvensidentitet med SEKV ID NR: 33.

7. Modifisert immuncelle ifølge krav 1 eller 4, der antistoffet eller scFv-et som binder KIR2DL1 og KIR2DL2/DL3, omfatter en variabel tung kjede (VH) som omfatter minst 85 % sekvensidentitet med SEKV ID NR: 36, og en variabel lett kjede (VL) som omfatter minst 85 % sekvensidentitet med SEKV ID NR: 37.

5

8. Modifisert immuncelle ifølge krav 1, der lokaliseringsdomenet omfatter en endoplasmatisk retikulum (ER)- eller golgiretensjonssekvens; en proteosomlokaliserende sekvens; en transmembrandomenesekvens avledet av CD8 α , CD8 β , 4-1BB, CD28, CD34, CD4, Fc ϵ RI γ , CD16, OX40, CD3 ζ , CD3 ϵ , CD3 γ ,
10 CD3 δ , TCR α , CD32, CD64, VEGFR2, FAS eller FGFR2B.

9. Modifisert immuncelle ifølge krav 8, der ER- eller golgiretensjonssekvensen omfatter aminosyresekvensen KDEL (SEKV ID NR: 4), KKXX (SEKV ID NR: 9), KXD/E (SEKV ID NR: 10) eller YQRL (SEKV ID NR: 11), der X er en hvilken som
15 helst aminosyre, eller den proteosomlokaliserende sekvensen omfatter et PEST-motiv.

10. Modifisert immuncelle ifølge krav 1 til bruk for å behandle kreft hos et individ.

20 11. Modifisert immuncelle til bruk ifølge krav 10, der cellen er egnet til å bli administrert til individet ved intravenøs infusjon, intraarteriell infusjon, direkte injeksjon inn i tumor og/eller perfusjon av tumorseng etter kirurgi, implantering på et tumorsted i en kunstig skjelettstruktur, intratekal administrering eller intraokulær administrering.

25

12. Modifisert immuncelle til bruk ifølge krav 10, der kreften er en solid tumor eller en hematologisk malignitet.

30 13. In vitro framgangsmåte for å framstille modifisert immuncelle ifølge krav 1, der framgangsmåten omfatter:

å føre inn i en immuncelle en nukleinsyre som omfatter en nukleotidsekvens som koder en kimær antigenreseptor, og en nukleinsyre som omfatter en nukleotidsekvens som koder et antistoff som er bundet til et lokaliseringsdomene, der antistoffet binder seg til:

35 en faktor i et CD3/T-cellereseptor (TCR)-kompleks valgt fra gruppen som består av CD3 ϵ , TCR α , TCR β , TCR7, TCR δ , CD3 δ , CD37 og CD3 ζ ; eller en reseptor som nedregulerer immunrespons valgt fra gruppen som består av programmert celledød-protein 1 (PD-1), cytotoksisk T-lymfocyt-assosiert protein

4 (CTLA-4), T-celleimmunglobulin- og mucin-domene-inneholdende protein 3
(Tim3), drepercellers immunglobulinliknende reseptor (KIR) 2DL1, KIR2DL2/DL3
og NKG2A; og
der antistoffet som er bundet til lokaliseringsdomenet, nedregulerer faktorens
5 eller reseptorens celleoverflateuttrykk,
slik at det framstilles en modifisert immuncelle.