



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3380620 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 15/867 (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2024.08.19
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2024.07.03
(86)	European Application Nr.	16810200.2
(86)	European Filing Date	2016.11.23
(87)	The European Application's Publication Date	2018.10.03
(30)	Priority	2015.11.23, US, 201562258798 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	Novartis AG, Lichtstrasse 35, 4056 Basel, Sveits The Trustees of The University of Pennsylvania, 3600 Civic Center Boulevard, 9th Floor, Philadelphia, PA 19104, USA
(72)	Inventor	SLEPUSHKIN, Vladimir, 19 B Street, Everett, MA 02149, USA LUKASHEV, Dmitriy, Novartis Institutes For Biomedical Research Inc. 64 Sidney Street, Cambridge, MA 02139, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54)	Title	OPTIMIZED LENTIVIRAL TRANSFER VECTORS AND USES THEREOF
------	-------	---

(56)	References Cited:	WO-A2-2015/164759, EP-A1- 0 635 062 L. G. LIMA ET AL: "Malignant transformation in melanocytes is associated with increased production of procoagulant microvesicles", THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS, vol. 106, no. 4, 28 July 2011 (2011-07-28), DE, pages 712 - 723, XP055347175, ISSN: 0340-6245, DOI: 10.1160/TH11-03-0143 MICHAEL C. MILONE ET AL: "Chimeric Receptors Containing CD137 Signal Transduction Domains Mediate Enhanced Survival of T Cells and Increased Antileukemic Efficacy In Vivo", MOLECULAR THERAPY, vol. 17, no. 8, 1 August 2009 (2009-08-01), pages 1453 - 1464, XP055052474, ISSN: 1525-0016, DOI: 10.1038/mt.2009.83 RACHEL M KOLDEJ ET AL: "Refinement of lentiviral vector for improved RNA processing and reduced rates of self inactivation repair", BMC BIOTECHNOLOGY, vol. 9, no. 1, 1 January 2009 (2009-01-01), pages 86 - 86, XP055037080, ISSN: 1472-6750, DOI: 10.1186/1472-6750-9-86 SCHNEIDER R ET AL: "Inactivation of the human immunodeficiency virus type 1 inhibitory elements allows rev-independent expression of gag and gag/protease and particle formation", JOURNAL OF VIROLOGY, THE AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, US, vol. 71, no. 7, 1 July 1997 (1997-07-01), pages 4892 - 4903, XP002137891, ISSN: 0022-538X DULL T ET AL: "A third-generation lentivirus vector with a conditional packaging system", JOURNAL OF VIROLOGY, THE AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, US, vol. 72, no. 11, 1 January 1998 (1998-01-01), pages 8463 - 8471, XP003004712, ISSN: 0022-538X
------	----------------------	---

FEI CHEN ET AL: "Construction of Anti-CD20 Single-Chain Antibody-CD28-CD137-TCR[zeta] Recombinant Genetic Modified T Cells and its Treatment Effect on B Cell Lymphoma", MEDICAL SCIENCE MONITOR, vol. 21, 21 July 2015 (2015-07-21), pages 2110 - 2115, XP055346310, DOI: 10.12659/MSM.893791

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/>

5 Patentkrav

1. Lentiviral overføringsvektor omfattende følgende trekk i funksjonell forbindelse:

- (a) en cytomegalovirus-(CMV)-promoter som omfatter en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.:52;
- 10 (b) en LTR R-region omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.: 53;
- (c) en LTR U5-region omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.: 54;
- (d) et primerbindingssete omfattende nukleinsyresekvensen med SEKV. ID NR.: 55;
- 15 (e) et pakkesignal (psi) omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.: 56;
- (f) et hoved-spleisedonorsete omfattende en nukleinsyresekvens med SEKV. ID NR.: 57, som befinner seg innenfor pakkesignalet;
- (g) et polynukleotid som koder for minst en andel av et gag-protein, hvor polynukleotidet omfatter en mutert INS1-hemmende sekvens som reduserer begrensning av kjerneeksport
- 20 av RNA i forhold til villtype INS1 fra HIV-1-isolat NL4-3 eller SF3, hvor polynukleotidet er en partiell gag-sekvens omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.:58;
- (h) en partiell env-sekvens omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.:60;
- 25 (i) et Rev-responselement omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.: 62;
- (j) en partiell env-sekvens omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.:64;
- 30 (k) et spleiseakseptorsete omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.: 65, som befinner seg innenfor den partielle env-sekvensen i del (j);
- (l) en sentral polypurinkanal (cPPT) omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.: 67, 92 eller 93;
- (m) et spleiseakseptorsete omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.: 68 eller 94, som befinner seg innenfor den sentrale polypurinkanal;
- 35 (n) en EF1alfa-promoter med minst 95% sekvensidentitet til SEKV. ID NR.:71 eller 95;
- (o) et konstitutivt spleisedonor-(CD)-sete omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.: 72, som befinner seg innenfor EF1alfa-promoter;

- 5 (p) et konstitutivt spleiseakseptor-(CA)-sete omfattende nukleinsyresekvensen med SEKV. ID NR.: 73, som befinner seg innenfor EF1alfa-promoteren;
- (q) en heterolog nukleinsyresekvens som (i) koder for en EGFP og omfatter en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.: 76, og/eller (ii) omfatter en transgensekvens;
- 10 (r) en posttranskripsjonelt regulatorisk element (PRE)-sekvens omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% sekvensidentitet til SEKV. ID NR.: 78 eller 79;
- (s) en partiell nef-sekvens omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% sekvensidentitet til SEKV. ID NR.:83;
- (t) en dU3-sekvens omfattende en nukleinsyresekvensering med minst 95% sekvensidentitet
- 15 til SEKV. ID NR.:84;
- (u) en LTR R-region omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.: 85; og
- (v) en LTR U5-region omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.: 86;
- 20 hvor den lentivirale overføringsvektoren ikke omfatter:
- (1) et polynukleotid som koder for de INS2-, INS3- og INS4-hemmende sekvensene til gag; og
- (2) en SV40-replikasjonsopprinnelse og/eller en f1-replikasjonsopprinnelse.

2. Lentiviral overføringsvektor ifølge krav 1, hvor:

- 25 (i) den partielle gag-sekvensen inkluderer en innsetting som resulterer i et rammeskift og prematur terminering;
- (ii) den partielle gag-sekvensen er tilstøtende eller delvis overlappende med pakkesignalet (psi) og/eller cPPT-sekvensen er fra pol, hvor sekvenser eventuelt stammer fra HIV-1-isolat NL4-3 eller SF3, eventuelt hvor cPPT-sekvensen omfatter omtrent 150-250 (f.eks. 178-181)
- 30 nukleotider og omfatter spleiseakseptor-SA1-sekvens; og/eller
- (iii) vektoren videre omfatter én eller flere restriksjons seter posisjonert mellom elementer i vektoren.

3. Lentiviral overføringsvektor ifølge krav 1 eller 2, hvor det posttranskripsjonelle regulatoriske
- 35 elementet (PRE) er et hepatitt B-virus-PRE (HPRE) omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.: 79, og eventuelt omfattende en inaktiverende mutasjon i en sekvens som koder for et X-protein.

- 5 4. Lentiviral overføringsvektor ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, hvor:
- (i) de lentivirale komponentene i den lentivirale overføringsvektoren stammer fra HIV-1;
 - (ii) den heterologe nukleinsyresekvensen befinner seg nedstrøms en Kozak-sekvens; og/eller
 - (iii) sekvensen som koder for nevnte minst en andel av gag-proteinet har mindre enn 90% sekvensidentitet til en motsvarende region av gag-protein kodet av pMDLgpRRE-
- 10 pakkeplasmid.
5. Lentiviral overføringsvektor ifølge et hvilket som helst av kravene 1-4, hvor transgenet koder for et protein.
- 15 6. Lentiviral overføringsvektor ifølge krav 5, hvor proteinet omfatter en kimær antigenreseptor (CAR), eventuelt hvor CAR-reseptoren omfatter, i en retning fra N-terminal til C-terminal, et antigenbindende domene, et transmembrandomene og ett eller flere signaleringsdomener.
7. Lentiviral overføringsvektor ifølge krav 6, hvor signaleringsdomenet omfatter ett eller flere
- 20 primære signaleringsdomener og/eller ett eller flere kostimulatoriske signaleringsdomener, eventuelt hvor:
- (i) ett av det ene eller de flere primære signaleringsdomenene omfatter et CD3-zeta-stimulatorisk domene; og/eller
 - (ii) ett eller flere av de kostimulatoriske signaleringsdomenene omfatter et intracellulært
- 25 domene valgt fra et kostimulatorisk protein valgt fra gruppen bestående av CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, GITR, CD30, CD40, ICOS, BAFFR, HVEM, ICAM-1, lymfocytffunksjonsassosiert antigen-1 (LFA-1), CD2, CD7, CD287, LIGHT, NKG2C, NKG2D, SLAMF7, NKp80, NKp30, NKp44, NKp46, CD160, B7-H3, og en ligand som spesifikt binder med CD83, f.eks. omfatter det ene eller de flere av de kostimulatoriske
- 30 signaleringsdomenene det 4-1BB (CD137)-kostimulatoriske domenet og/eller det CD28-kostimulatoriske domenet.
8. Lentiviral overføringsvektor ifølge krav 6 eller 7, hvor:
- (i) det antigenbindende domenet er et scFv;
- 35 (ii) det antigenbindende domenet binder til et antigen valgt fra gruppen bestående av CD19; CD123; CD22; CD30; CD171; CS-1; C-type lektin-liknende molekyl-1, CD33; epidermal vekstfaktor-reseptorvariant III (EGFRvIII); gangliosid G2 (GD2); gangliosid GD3; TNF-reseptorfamiliemedlem B-cellemodning (BCMA); Tn-antigen ((Tn Ag) eller (GaINAc α -

5 Ser/Thr)); prostataspesifikt membran-antigen (PSMA); reseptortyrosinkinase-liknende orfan
 reseptor 1 (ROR1); Fms-liknende tyrosinkinase 3 (FLT3); tumor-assosiert glykoprotein 72
 (TAG72); CD38; CD44v6; karsinoembryonalt antigen (CEA); epitelcelle-adhesjonsmolekyl
 (EPCAM); B7H3 (CD276); KIT (CD117); Interleukin-13-reseptor-underenhet alfa-2; mesotelin;
 10 Interleukin 11-reseptor alfa (IL-11Ra); prostatastamcelleantigen (PSCA); serionprotease 21;
 vaskulær endotelial vekstfaktor-reseptor 2 (VEGFR2); Lewis(Y)-antigen; CD24;
 blodplateavledet vekstfaktor-reseptor beta (PDGFR-beta); stadiespesifikt embryonisk
 antigen-4 (SSEA-4); CD20; Folat-reseptor alfa; reseptortyrosin-proteinkinase ERBB2
 (Her2/neu); Mucin 1, celleoverflateassosiert (MUC1); epidermal vekstfaktorreseptor (EGFR);
 nevrallcelle-adhesjonsmolekyl (NCAM); Prostase; prostata-syrefosfatase (PAP);
 15 forlengelsesfaktor 2 mutert (ELF2M); Efrin B2; fibroblast-aktiveringsprotein alfa (FAP);
 insulin-liknende vekstfaktor 1-reseptor (IGF-I reseptor), karboanhydrase IX (CAIX); Proteasom
 (Prosom, Macropain)-underenhet, Beta-type, 9 (LMP2); glykoprotein 100 (gp100); onkogen-
 fusjonsprotein bestående av BCR (Breakpoint Cluster Region) og Abelson-murin-leukemi-
 viral-onkogen-homolog 1 (Abl) (bcr-abl); tyrosinase; efrin type-A reseptor 2 (EphA2); Fukosyl
 20 GM1; sialyl-Lewis-adhesjonsmolekyl (sLe); gangliosid GM3; transglutaminase 5 (TGS5); høy
 molekylvekt-melanomassosiert antigen (HMWMAA); o-acetyl-GD2-gangliosid (OAcGD2);
 Folat-reseptor beta; tumor-endotelmarkør 1 (TEM1/CD248); tumor-endotelmarkør 7-relatert
 (TEM7R); claudin 6 (CLDN6); skjoldbruskkjertelstimulerende hormonreseptor (TSHR); G-
 protein-koblet reseptorklasse C gruppe 5, element D (GPRC5D); X-kromosom-åpen
 25 leseramme 61 (CXORF61); CD97; CD179a; anaplastisk lymfomkinase (ALK); polysialsyre;
 placenta-spesifikk 1 (PLAC1); heksasakkarid-andel av globoH glykoceramid (GloboH);
 brystkjertel-differensieringsantigen (NY-BR-1); uroplakin 2 (UPK2); Hepatitt A-virus cellulær
 reseptor 1 (HAVCR1); adrenoseptor beta 3 (ADRB3); panneksin 3 (PANX3); G-protein-koblet
 reseptor 20 (GPR20); lymfocyttantigen 6-kompleks, lokus K 9 (LY6K); Olfaktorisk reseptor
 30 51E2 (OR51E2); TCR-Gamma Alternate Reading Frame Protein (TARP); Wilms tumorprotein
 (WT1); kreft/testis-antigen 1 (NY-ESO-1); kreft/testis-antigen 2 (LAGE-1a); Melanom-assosiert
 antigen 1 (MAGE-A1); ETS-translokasjon-variant gen 6, lokalisert på kromosom 12p (ETV6-
 AML); spermprotein 17 (SPA17); X-antigenfamilie, medlem 1A (XAGE1);
 angiopoietinbindende celleoverflate-reseptor 2 (Tie 2); melanom-kreft-testis-antigen-1
 35 (MAD-CT-1); melanom-kreft-testis-antigen-2 (MAD-CT-2); Fosrelatert antigen 1;
 tumorprotein p53 (p53); p53-mutant; prostein; surviving; telomerase; prostatakarsinom-
 tumorantigen-1, melanom-antigen gjenkjent av T-celler 1; rottesarkom-(Ras)-mutant; human
 telomerase-revers-transkriptase (hTERT); sarkom-translokasjon-breakpoints;

- 5 melanomhemmer av apoptose (ML-IAP); ERG (transmembranprotease, serin 2 (TMPRSS2) ETS-fusjonsgen); N-Acetyl-glukosaminyl-transferase V (NA17); paret boksprotein Pax-3 (PAX3); Androgen-reseptor; Cyclin B1; MYCN (v-myc avian myelocytomatosis viral oncogene neuroblastoma derived homolog); Ras-homolog-familiemedlem C (RhoC); tyrosinaserelatert protein 2 (TRP-2); Cytokrom P450 1B1 (CYP1B1); CCCTC-bindingsfaktor (sinkfingerprotein)-
- 10 liknende, plateepitelcellekarsinom-antigen gjenkjent av T-celler 3 (SART3); paret boksprotein Pax-5 (PAX5); proakrosin-bindende protein sp32 (OY-TES1); lymfocytt-spesifikk proteintyrosinkinase (LCK); A-kinase-ankerprotein 4 (AKAP-4); synovialt sarkom, X-breakpoint 2 (SSX2); RAGE-1 (Receptor for Advanced Glycation Endproducts); Renal Ubiquitous 1 (RU1); Renal Ubiquitous 2 (RU2); legumain; humant papillomavirus E6 (HPV E6); humant
- 15 papillomavirus E7 (HPV E7); intestinal karboksylesterase; varmesjokkprotein 70-2 mutert (mut hsp70-2); CD79a; CD79b; CD72; Leukocyt-assosiert immunoglobulin-liknende reseptor 1 (LAIR1); Fc-fragment av IgA-reseptor (FCAR eller CD89); Leukocyt-immunoglobulin-liknende reseptor-underfamilie A medlem 2 (LILRA2); CD300 molekyl-liknende familiemedlem f (CD300LF); C-type lektindomenefamilie 12 medlem A (CLEC12A); beinmarg-
- 20 stromacelle-antigen 2 (BST2); EGF-liknende modul-inneholdende mucin-liknende hormonreseptor-liknende 2 (EMR2); lymfocyt-antigen 75 (LY75); Glypican-3 (GPC3); Fc-reseptor-liknende 5 (FCRL5); og immunoglobulin lambda-liknende polypeptid 1 (IGLL1), f.eks. hvor det antigenbindende domenet binder til CD19, mesotelin eller CD123; og/eller
- 25 (iii) CAR-reseptoren omfatter et anti-CD19-antistoff eller et fragment derav, et 4-1BB (CD137)-transmembrandomene og et CD3-zeta-signaleringsdomene.

9. Lentiviral overføringsvektor ifølge krav 1, hvor:

(i) vektoren omfatter, fra 5' til 3', følgende elementer i funksjonell forbindelse:

- CMV-promoter, 30
- LTR R-regionen omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.: 53,
- LTR U5-regionen omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV. ID NR.: 54,
- primerbindingssetet (PBS),
- 35 pakkesignalet (psi) omfattende et hoved-spleisedonorsete (SD),
- den partielle gag-sekvensen,
- den partielle env-sekvensen,
- Rev-responselementet (RRE),

- 5 den partielle env-sekvensen omfattende spleiseakseptorsete (SA7),
den sentrale polypurinkanalen (cPPT) omfattende et spleiseakseptorsete (SA1),
EF1a-promoteren,
den heterologe nukleinsyresekvensen,
det posttranskripsjonelle regulatoriske elementet,
10 LTR R-regionen omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til SEKV.
ID NR.: 85,
LTR U5-regionen omfattende en nukleinsyresekvens med minst 95% identitet til
SEKV. ID NR.: 86,
og ett eller flere av følgende elementer:
- 15 en SV40-polyA-hale,
et kanamycin-resistensgen (nptII), og
en pUC-replikasjonsopprinnelse; og/eller
(ii) transgenet koder for en kimær antigenreseptor (CAR), eventuelt hvor CAR-reseptoren
omfatter et anti-CD19-antistoff eller et fragment derav, et 4-1BB (CD137)-
20 transmembrandomene og et CD3-zeta-signaleringsdomene.

10. Vertscelle omfattende den lentivirale overføringsvektoren ifølge et hvilket som helst av kravene 1-9.

- 25 11. Vertscelle ifølge krav 10, hvor vertscellen:
(i) er en 293T-celle, en Jurkat T-celle eller en primær human T-celle; og/eller
(ii) videre omfatter én eller flere lentivirale pakkevektorer.

12. Sammensetning omfattende en lentiviral overføringsvektor ifølge et hvilket som helst av kravene
30 1-9 og én eller flere pakkevektorer.

13. Fremgangsmåte ved fremstilling av et lentivirus i stand til å uttrykke en heterolog
nukleinsyresekvens, hvor fremgangsmåten omfatter å:

- (a) innføre inn i en celle, f.eks. en 293T-celle, en Jurkat T-celle eller en primær human T-celle:
- 35 (i) den lentivirale overføringsvektoren ifølge et hvilket som helst av kravene 1-9, og
(ii) én eller flere lentivirale pakkevektorer; og

- 5 (b) uttrykke virale proteiner kodet av den lentivirale overføringsvektoren og/eller pakkevektoren i cellen, og derigjennom frembringe et lentivirus omfattende den heterologe nukleinsyresekvensen til den lentivirale overføringsvektoren.