



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3473707 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 5/0783 (2010.01)
A61K 35/17 (2015.01)
A61K 38/00 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01)
C07K 14/725 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2025.03.17
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2024.12.18
(86)	European Application Nr.	18210258.2
(86)	European Filing Date	2013.05.13
(87)	The European Application's Publication Date	2019.04.24
(30)	Priority	2012.05.25, US, 201261651933 P 2012.09.04, US, 201261696612 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
(62)	Divided application	EP2855667, 2013.05.13
(73)	Proprietor	Cellectis, 8 rue de la Croix Jarry, 75013 Paris, Frankrike
(72)	Inventor	GALETTO, Roman, 12, rue Ernest Cresson, 75014 Paris, Frankrike GOUBLE, Agnes, 41 rue Henri Litolf, 92270 Bois-Colombes, Frankrike GROSSE, Stephanie, 7, rue de Moras, 77750 Saint-Cyr-sur-Morin, Frankrike MANNIOUI, Cécile, 2 bis rue Georges Demesy, 94350 Villiers-sur-Marne, Frankrike POIROT, Laurent, 10, rue de la réunion, 75020 Paris, Frankrike SCHARENBERG, Andrew, 1222, NW Norcross Way, Seattle, WA 98177, USA SMITH, Julianne, 1675 York Avenue Apt. 9K, New York, NY 10128, USA
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54)	Title	METHODS FOR ENGINEERING ALLOGENEIC AND IMMUNOSUPPRESSIVE RESISTANT T CELL FOR IMMUNOTHERAPY
(56)	References Cited:	BIAGIO DE ANGELIS ET AL: "Generation of Epstein-Barr virus-specific cytotoxic T lymphocytes resistant to the immunosuppressive drug tacrolimus (FK506)", 1 January 2009 (2009-01-01), XP055570462, Retrieved from the Internet <URL: http://www.bloodjournal.org/content/bloodjournal/114/23/4784.full.pdf > [retrieved on 20190318], DOI: 10.1182/blood-2009-07- HUMBERT OLIVIER ET AL: "Targeted gene therapies: tools, applications, optimization", CRITICAL REVIEWS IN BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOL, CRC PRESS, BOCA RATON, FL, US, vol. 47, no. 3, 1 May 2012 (2012-05-01), pages 264 - 281, XP009177879,

ISSN: 1040-9238, DOI: 10.3109/10409238.2012.658112

H. TORIKAI ET AL: "A foundation for universal T-cell based immunotherapy: T cells engineered to express a CD19-specific chimeric-antigen-receptor and eliminate expression of endogenous TCR", BLOOD, vol. 119, no. 24, 1 May 2012 (2012-05-01), pages 5697 - 5705, XP055071623, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2012-01-405365

LESLIE E HUYE ET AL: "Combining mTor Inhibitors With Rapamycin-resistant T Cells: A Two-pronged Approach to Tumor Elimination", MOLECULAR THERAPY, vol. 19, no. 12, 30 December 2011 (2011-12-30), US, pages 2239 - 2248, XP055223219, ISSN: 1525-0016, DOI: 10.1038/mt.2011.179

JARED F PURTON ET AL: "Glucocorticoid receptor deficient thymic and peripheral T cells develop normally in adult mice", EUROPEAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY, WILEY-VCH, HOBOKEN, USA, vol. 32, no. 12, 19 November 2002 (2002-11-19), pages 3546 - 3555, XP071221026, ISSN: 0014-2980, DOI: 10.1002/1521-4141(200212)32:12<3546::AID-IMMU3546>3.0.CO;2-S

LAURIE MENDER ET AL: "TALEN-mediated genetic inactivation of the glucocorticoid receptor in cytomegalovirus-specific T cells", BLOOD, 24 December 2015 (2015-12-24), pages 2781 - 2789, XP055738866, Retrieved from the Internet <URL:https://doi.org/10.1182/blood-2015-08-664755> [retrieved on 20201012], DOI: 10.1182/blood-2015-08-

MURANSKI PAWEŁ ET AL: "Increased intensity lymphodepletion and adoptive immunotherapy-how far can we go?", NATURE CLINICAL PRACTICE ONCOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP, US, vol. 3, no. 12, 1 December 2006 (2006-12-01), pages 668 - 681, XP037114967, ISSN: 1743-4254, DOI: 10.1038/NCPONC0666

BOLLARD CATHERINE M. ET AL: "T-cell therapy in the treatment of post-transplant lymphoproliferative disease", NATURE REVIEWS CLINICAL ONCOLOGY, vol. 9, no. 9, 1 September 2013 (2013-09-01), NY, US, pages 510 - 519, XP093119266, ISSN: 1759-4774, Retrieved from the Internet

<URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3743122/pdf/nihms498858.pdf> DOI: 10.1038/nrclinonc.2012.111

ENDERBY CHER ET AL: "An Overview of Immunosuppression in Solid Organ Transplantation", AM J MANAG CARE, 1 January 2015 (2015-01-01), XP093119274, Retrieved from the Internet <URL:https://cdn.sanity.io/files/0vv8moc6/ajmc/63b18d119a78100f896abff5a1f21be5cf2b9b5b.pdf/ACE022_Jan15_Enderby.pdf> [retrieved on 20240115]

ANNE PARKER ET AL: "Diagnosis of post-transplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients - BCSH and BTS Guidelines", BRITISH JOURNAL OF HAEMATOLOGY, JOHN WILEY, HOBOKEN, USA, vol. 149, no. 5, 16 April 2010 (2010-04-16), pages 675 - 692, XP071161951, ISSN: 0007-1048, DOI: 10.1111/J.1365-2141.2010.08161.X

DUPOUY SANDRA ET AL: "Clinical Pharmacology and Determinants of Response to UCART19, an Allogeneic Anti-CD19 CAR-T Cell Product, in Adult B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia", INSTITUT DE RECHERCHES INTERNATIONALES SERVIER, SURESNES, FRANCE., vol. 2, no. 11, 30 November 2022 (2022-11-30), pages 1520 - 1531, XP093066170, Retrieved from the Internet <URL:https://watermark.silverchair.com/crc-22-

0175.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kkhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAA20wggNpBgkqhkiG9w0BBwagggNaMIIDVgIBADCCA08GCSqGSib3DQEHAATeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMvhoCQEv_TsEI_omdAgEQgIIDIG4EXq26pzGb4kZzc93XyMwBX4me-Y9iE4fdQxbD3dlpcnFJAE94c9TKNADxRivtSKbv9sudLUZI08CREoTZwf5h> DOI: 10.1158/2767-9764.CRC-22-0175

BREWER JUDSON A ET AL: "T-cell glucocorticoid receptor is required to suppress COX-2-mediated lethal immune activation", vol. 9, no. 10, 31 August 2003 (2003-08-31), New York, pages 1318 - 1322, XP093024280, ISSN: 1078-8956, Retrieved from the Internet <URL:http://www.nature.com/articles/nm895> DOI: 10.1038/nm895

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.

Fremgangsmåte for å konstruere T-celler, innbefattende modifisering av T-celler ved

5 å inaktivere av minst

- et første gen som koder for et mål for et immunsuppressivt middel, hvor genet koder CD52 eller et glukokortikoid reseptor (GR); og

(b) et andre gen som koder for TCR alfa eller TCR beta.

10 **2.**

Fremgangsmåten i henhold til krav 1, innbefattende følgende trinn:

(i) tilveiebringe en T-celle;

(ii) velge et gen i nevnte T-celle som uttrykker et mål for et immunsuppressivt middel, hvor genet koder for CD52 eller en glukokortikoid reseptor (GR);

15 (iii) innføre i nevnte T-celle sjeldent-skjærende endonukleaser som er i stand til selektivt å inaktivere DNA-spaltning, henholdsvis:

- genet som koder for CD52 eller GR, og

- minst et gen som koder for TCR alfa eller TCR beta;

(iv) ekspandere nevnte celle *in vitro*, eventuelt i nærvær av nevnte

20 immunsuppressive middel.

3.

Fremgangsmåten i henhold til krav 2, hvor de konstruerte T-cellene blir ekspandert *in vitro* i nærvær av nevnte immunsuppressive middel.

25

4.

Fremgangsmåte i henhold til krav 3, hvor målet for det immunsuppressive middelet er CD52, og det immunsuppressive middelet er et antistoff som målretter mot CD52-antigen, slik som Alemtuzumab.

30

5.

Fremgangsmåte i henhold til krav 3, hvor målet for det immunsuppressive middelet er en glukokortikoidreseptor (GR), fortrinnsvis hvor det immunsuppressive middelet er et kortikosteroid, slik som deksametason.

5

6.

Fremgangsmåte i henhold til hvilket som helst av kravene 2 til 5, hvor den sjeldne-skjærende endonukleasen introduseres i cellen i trinn (iii) ved hjelp av RNA-elektroporering.

10

7.

Fremgangsmåte i henhold til hvilket som helst av kravene 2 til 3 og 5 til 6, hvor den sjeldne-skjærende endonukleasen er en TALE-nuklease rettet mot en av gensekvensene til GR valgt fra valgt fra SEQ ID NO:1 til SEQ ID NO:6

15

8.

Fremgangsmåte i henhold til hvilket som helst av kravene 2 til 4 og 6, hvor den sjeldne-skjærende endonukleasen er en TALE-nuklease rettet mot en av genmålsekvensene til CD52 valgt fra SEQ ID NO: 40 og SEQ ID NO: 61 til SEQ ID NO: 65.

20

9.

Fremgangsmåte i henhold til hvilket som helst av kravene 1 til 8, hvor fremgangsmåten videre innbefatter genetisk modifisering av T-cellen ved å inaktivere minst ett protein involvert i et immunkontrollpunkt, fortrinnsvis hvor immunkontrollpunktproteinet er PDCD1 og/eller CTLA-4.

25

10.

Fremgangsmåte i henhold til hvilket som helst av kravene 1 til 9, innbefattende innføring i nevnte T-celle en kimær antigenreseptor (CAR).

30

11.

Fremgangsmåte i henhold til hvilket som helst av kravene 1 til 10, hvor nevnte T-celler i trinn a) er avledet fra inflammatoriske T-lymfocytter, cytotoksiske T-lymfocytter.

5

12.

Fremgangsmåte i henhold til hvilket som helst av kravene 1 til 11, hvor nevnte T-celler i trinn a) er avledet fra CD4+ T-lymfocytter og/eller CD8+ T-lymfocytter.

10 **13.**

Fremgangsmåte i henhold til hvilket som helst av kravene 1 til 12, hvor nevnte T-celler er primærceller.

14.

15 En isolert human T-celle i hvilken minst CD52 genet og et gen som koder for TCR alfa eller TCR beta er slått ut.

15.

20 En isolert human T-celle i hvilken minst genet og et gen som koder for TCR alfa eller TCR beta er slått ut.

16.

25 En isolert konstruert human T-celle eller en populasjon av konstruerte humane T-celler som kan erholdes ved fremgangsmåten i henhold til hvilket som helst av kravene 1 til 13.

17.

30 En isolert human T-celle transfektert med (a) en mRNA som koder for en sjeldenkuttende endonuklease rettet mot et gen som koder for CD52 eller et gen som koder glukokortikoid reseptoren (GR); og med (b) et mRNA som koder for en sjeldenkuttende endonuklease rettet mot et gen som koder for TCR alfa eller TCR beta, hvor endonukleasene er i stand til å inaktivere de respektive genene ved DNA kløving.

18.

En isolert human T-celle i henhold til krav 17, hvor den sjelden-kuttende endonukleasen rettet mot et gen som koder for CD52 er en TALE-nuklease rettet mot en polynukleotid sekvens valgt fra: SEQ ID NO:40 og SEQ ID NO: 61 til SEQ ID NO:65.

19.

En isolert human T-celle i henhold til krav 17, hvor den sjelden-kuttende endonukleasen rettet mot et gen som koder for GR er en TALE-nuklease rettet mot en polynukleotid sekvens valgt fra: SEQ ID NO:1 til SEQ ID NO: 6.

20.

En isolert human T-celle i henhold til krav 18 eller 19, hvor den sjelden-kuttende endonukleasen innbefatter et TALE-domene festet til en meganuklease, fortrinnsvis hvor meganukleasen er I-Crel, I-Onul eller en funksjonell variant derav.

21.

En isolert human T-celle i henhold til krav 17, hvor den sjelden-kuttende endonukleasen rettet mot et gen som koder for TCR alfa eller TCR beta er en TALE-nuklease og innbefatter en av polypeptid sekvensene valgt fra SEQ ID NO:41 til SEQ ID NO: 46 og/eller den sjelden-kuttende endonukleasen rettet mot et gen som koder for CD52 er en TALE-nuklease og innbefatter en av polynukleotid sekvensene fra SEQ ID NO: 47 til SEQ ID NO: 48.

22.

En populasjon av transfekterte humane T-celler i henhold til hvilket som helst av kravene 17 til 21.

23.

En isolert human T-celle eller en populasjon av konstruerte humane T-celler i henhold til hvilke som helst av kravene 14 til 16, eller en isolert transfektert human T-celle i henhold til hvilke som helst av kravene 17-21m eller en populasjon av transfekterte human T-celler i henhold til krav 22, hvor T-cellene videre innbefatter et eksogent rekombinant polynukleotid, spesielt ert eksogent rekombinant polynukleotid som

koder for pTalfa eller en funksjonell variant derav, en kimær antigen reseptor (CAR) eller en flerkjedet CAR.