



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3532607 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 5/0783 (2010.01)
A61K 35/17 (2015.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2024.04.22
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2024.01.31
(86)	European Application Nr.	17798045.5
(86)	European Filing Date	2017.10.26
(87)	The European Application's Publication Date	2019.09.04
(30)	Priority	2016.10.26, US, 201662413283 P 2016.10.26, US, 201662413387 P 2016.10.31, US, 201662415452 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
	Designated Extension States:	BA; ME
	Designated Validation States:	MA; MD
(73)	Proprietor	Iovance Biotherapeutics, Inc., 825 Industrial Road Suite 400, San Carlos, CA 94070, USA
(72)	Inventor	FRANK, Ian, 8302 Old Town Drive, Tampa FL 33647, USA LOTZE, Michael, T., 5134 Westminster Place, Pittsburgh PA 15232, USA
(74)	Agent or Attorney	Nordic Patent Service A/S, Bredgade 30, 1260 KØBENHAVN K, Danmark

(54) Title **RESTIMULATION OF CRYOPRESERVED TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES**

(56) References
Cited: WO-A1-2015/157636
 WO-A1-2016/096903
 US-A1- 2011 052 530
 JIA HE ET AL: "Ex vivo expansion of tumor-infiltrating lymphocytes from nasopharyngeal
 carcinoma patients for adoptive immunotherapy", CHINESE JOURNAL OF CANCER, vol. 31,
 no. 6, 5 June 2012 (2012-06-05), pages 287-294, XP055132918, ISSN: 1000-467X, DOI:
 10.5732/cjc.011.10376
 S. A. ROSENBERG: "IL-2: The First Effective Immunotherapy for Human Cancer", THE
 JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 192, no. 12, 6 June 2014 (2014-06-06) , pages 5451-5458,
 XP055452257, US ISSN: 0022-1767, DOI: 10.4049/jimmunol.1490019

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 ekspandere tumorinfiltrerende lymfocytter (TIL-er) til en terapeutisk populasjon av TIL-er omfattende:

(i) å oppnå en første populasjon av TIL-er fra en svulst som tidligere er resekert fra en pasient;

(ii) å utføre en første ekspansjon ved å dyrke den første populasjonen av TIL-er i et cellekulturmedium omfattende IL-2 for å fremstille en andre populasjon av TIL-er; og

(iii) å utføre en andre ekspansjon ved å supplere cellekulturmediet til den andre populasjonen av TIL-er med ytterligere IL-2, OKT-3 og antigenpresenterende celler (APC-er), for å fremstille en tredje populasjon av TIL-er, hvori den tredje populasjonen av TIL-er er minst 100 ganger større i antall enn den andre populasjonen av TIL-er, og hvori den andre ekspansjonen utføres i minst 14 dager for å oppnå den tredje populasjonen av TIL-er, hvori den tredje populasjonen av TIL-er er en terapeutisk populasjon av TIL-er som omfatter en økt delpopulasjon av effektor-T-celler og/eller sentralhukommelses-T-celler i forhold til den andre populasjonen av TIL-er.

2. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori fremgangsmåten videre omfatter:

(iv) å utføre en ytterligere andre ekspansjon ved å supplere cellekulturmediet til den tredje populasjonen av TIL-er med ytterligere IL-2, ytterligere OKT-3 og ytterligere APC-er, hvori den ytterligere andre ekspansjonen utføres i minst 14 dager for å oppnå en større terapeutisk populasjon av TIL-er enn oppnådd i trinn (iii), hvori den større terapeutiske populasjonen av TIL-er omfatter en økt delpopulasjon av effektor-T-celler og/eller sentralhukommelses-T-celler i forhold til den tredje populasjonen av TIL-er,

og eventuelt hvori etter trinn (iii), fjernes cellene fra cellekulturen og kryokonserveres i et lagringsmedium før utførelse av trinn (iv), hvori eventuelt cellene tines før utførelse av trinn (iv) og videre eventuelt hvori trinn (iv) gjentas én til fire ganger for å oppnå tilstrekkelige TIL-er i den terapeutiske populasjonen av TIL-er for en terapeutisk effektiv dosering av TIL-ene.

3. Fremgangsmåten ifølge krav 2, hvori trinn (i) til (iii) eller (iv) utføres innen en periode på ca. 40 dager til ca. 50 dager, eller hvori trinn (i) til (iii) eller (iv) utføres innen en periode på ca. 42 dager til ca. 48 dager, eller hvori trinn (i) til (iii) eller (iv) utføres innen en periode på ca. 42 dager til ca. 45 dager,

eller hvori trinn (i) til (iii) eller (iv) utføres innen ca. 44 dager, hvori cellene fra trinn (iii) eller (iv) eventuelt uttrykker CD4, CD8 og TCR α β ved nivåer som tilsvarer nyhøstede celler.

4. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori de antigenpresenterende cellene er perifere mononukleære blodceller (PBMC-er) eller hvori APC-ene er kunstige APC-er (aAPC-er), eventuelt hvori PBMC-ene tilsettes cellekulturen på en hvilken som helst av dagene 9 til 17 i trinn (iii).

5. Fremgangsmåten ifølge krav 2 og 3, hvori effektor-T-cellene og/eller sentralhukommelses-T-cellene i den terapeutiske populasjonen av TIL-er i trinn (iv) viser én eller flere karakteristikk valgt fra gruppen som består av ekspresjon av CD27, ekspresjon av CD28, lengre telomerer, økt CD57-ekspresjon og redusert CD56-ekspresjon, i forhold til effektor-T-celler og/eller sentralhukommelses-T-celler i den tredje populasjonen av celler, hvori effektor-T-cellene og/eller sentralhukommelses-T-cellene eventuelt viser økt CD57-ekspresjon og redusert CD56-ekspresjon.

6. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, videre omfattende trinnet med å transducere den første populasjonen av TIL-er med en ekspresjonsvektor omfattende en nukleinsyre som koder for en høyaffinitets T-cellereseptor, og eventuelt omfatter fremgangsmåten videre trinnet med å transducere den første populasjonen av TIL-er med en ekspresjonsvektor-ekspresjonsvektor omfattende en nukleinsyre som koder for en kimær antigenreseptor (CAR) omfattende et enkeltkjedevariabelt fragmentantistoff fusjonert med minst ett endodomene av et T-cellesignaleringsmolekyl.

7. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori trinn (iii) videre omfatter et trinn med å fjerne cellene fra cellekulturmediet, eventuelt hvori trinn (iii) gjentas én til fire ganger for å oppnå tilstrekkelige TIL-er i den terapeutiske populasjonen av TIL-er for en terapeutisk effektiv dosering av TIL-ene, eventuelt hvori antallet av TIL-er tilstrekkelig for en terapeutisk effektiv dosering er fra ca. $2,3 \times 10^{10}$ til ca. $13,7 \times 10^{10}$.

8. Fremgangsmåte for å vurdere den metabolske aktiviteten til en TIL-cellepopulasjon laget i henhold til fremgangsmåten ifølge krav 1, omfattende:

- i) å oppnå en første populasjon av TIL-er fra en svulst tidligere resekert fra en pasient;
- (ii) å utføre en første ekspansjon ved å dyrke den første populasjonen av TIL-er i et cellekulturmedium omfattende IL-2 for å fremstille en andre populasjon av TIL-er;

(iii) å utføre en andre ekspansjon ved å supplere cellekulturmediet til den andre populasjonen av TIL-er med ytterligere IL-2, OKT-3 og antigenpresenterende celler (APC-er), for å fremstille en tredje populasjon av TIL-er, hvori den tredje populasjonen av TIL-er er minst 100 ganger større i antall enn den andre populasjonen av TIL-er, og hvori den andre ekspansjonen utføres i minst 14 dager for å oppnå den tredje populasjonen av TIL-er, hvori den tredje populasjonen av TIL-er er en terapeutisk populasjon av TIL-er som omfatter en økt delpopulasjon av effektor-T-celler og/eller sentralhukommelses-T-celler i forhold til den andre populasjonen av TIL-er;

iv) å måle den basale glykolysen av cellene;

v) å måle den basale respirasjonen av cellene;

vi) å måle reserverespirasjonskapasiteten (SRC) til cellene; og/eller

vii) å måle den glykolytiske reserven til cellene.

9. Fremgangsmåten ifølge krav 2, hvori cellene fra cellekulturmediet i trinn (iii) fjernes og kryokonserveres i et lagringsmedium før trinn (iv), hvori cellene eventuelt tines før trinn (iv) og/eller hvori trinn (iii) gjentas én til fire ganger for å oppnå tilstrekkelige TIL-er i den terapeutiske populasjonen av TIL-er for en terapeutisk effektiv dosering av TIL-ene, eventuelt hvor antallet av TIL-er tilstrekkelig for en terapeutisk effektiv dosering er fra ca. $2,3 \times 10^{10}$ til ca. $13,7 \times 10^{10}$.

10. Fremgangsmåte for å analysere TIL-er, omfattende:

(i) å oppnå en første populasjon av TIL-er;

(ii) å utføre en første ekspansjon ved å dyrke den første populasjonen av TIL-er i et cellekulturmedium omfattende IL-2 for å fremstille en andre populasjon av TIL-er; og

(iii) å utføre en andre ekspansjon ved å supplere cellekulturmediet til den andre populasjonen av TIL-er med ytterligere IL-2, OKT-3 og antigenpresenterende celler (APC-er), for å fremstille en tredje populasjon av TIL-er, hvori den tredje populasjonen av TIL-er er minst 50 ganger større i antall enn den andre populasjonen av TIL-er; og hvori den andre ekspansjonen utføres i minst 14 dager for å oppnå den tredje populasjonen av TIL-er, hvori den tredje populasjonen av TIL-er er en terapeutisk populasjon av TIL-er som omfatter en økt delpopulasjon av effektor-T-celler og/eller sentralhukommelses-T-celler i forhold til den andre populasjonen av TIL-er;

(iv) å høste, vaske og kryokonservere den tredje populasjonen av TIL-er;

(v) å lagre de kryokonserverte TIL-ene ved en kryogen temperatur;

(vi) å tine den tredje populasjonen av TIL-er for å tilveiebringe en tint tredje populasjon av TIL-er; og

(vii) å utføre en ytterligere andre utvidelse av en del av den tinte tredje populasjonen av TIL-er ved å supplere cellekulturmediet til den tredje populasjonen med IL-2, OKT-3 og APC-er i en reREP-periode på minst 3 dager, hvori den tredje utvidelsen utføres for å oppnå en fjerde populasjon av TIL-er, hvori antallet av TIL-er i den fjerde populasjonen av TIL-er sammenlignes med antallet av TIL-er i den tredje populasjonen av TIL-er for å oppnå et forhold;

(viii) å bestemme basert på forholdet i trinn (vii) om den tinte populasjonen av TIL-er er egnet for administrering til en pasient;

hvori en terapeutisk effektiv dosering av den tinte tredje populasjonen av TIL-er er for administrering til pasienten når forholdet mellom antallet av TIL-er i den fjerde populasjonen av TIL-er og antallet av TIL-er i den tredje populasjonen av TIL-er bestemmes til å være større enn 5:1 i trinn (viii), hvori reREP-perioden eventuelt utføres inntil forholdet mellom antallet av TIL-er i den fjerde populasjonen av TIL-er og antallet av TIL-er i den tredje populasjonen av TIL-er er større enn 50:1, eventuelt hvori antallet av TIL-er tilstrekkelig for en terapeutisk effektiv dosering er fra ca. $2,3 \times 10^{10}$ til ca. $13,7 \times 10^{10}$, og/eller hvori trinn (i) til (vii) utføres innen en periode på ca. 40 dager til ca. 50 dager, eller hvori trinn (i) til (vii) utføres innen en periode på ca. 42 dager til ca. 48 dager, eller hvori trinn (i) til (vii) utføres innen en periode på ca. 42 dager til ca. 45 dager, eller hvori trinn (i) til (vii) utføres innen ca. 44 dager.

11. Fremgangsmåten ifølge krav 10, hvori cellene fra trinn (iii) eller (vii) uttrykker CD4, CD8 og TCR α β ved nivåer som tilsvarer nyhøstede celler, hvori de antigenpresenterende cellene er perifere mononukleære blodceller (PBMC-er) eller kunstige APC-er (aAPC-er), hvori PBMC-ene eventuelt tilsettes cellekulturen på en hvilken som helst av dagene 9 til og med 17 i trinn (iii), eventuelt hvori effektor-T-cellene og/eller sentralhukommelses-T-cellene i den større populasjonen av TIL-er i trinn (iii) eller (vii) viser én eller flere karakteristikk valgt fra gruppen som består av ekspresjon av CD27, ekspresjon av CD28, lengre telomerer, økt CD57-ekspresjon og redusert CD56-ekspresjon, i forhold til effektor-T-celler, og/eller sentralhukommelses-T-celler i den tredje populasjonen av celler og/eller hvori effektor-T-cellene og/eller sentralhukommelses-T-cellene viser økt CD57-ekspresjon og redusert CD56-ekspresjon.

12. Fremgangsmåten ifølge krav 10 og 11, videre omfattende trinnet å transdukere den første populasjonen av TIL-er med en ekspresjonsvektor omfattende en nukleinsyre som koder for en høyaffinitets T-cellerreseptor, eller hvori trinnet med å transdukere den første populasjonen av

TIL-er med en ekspresjonsvektor omfattende en nukleinsyre koder for en kimær antigenreseptor (CAR) omfattende et enkeltkjedevariabelt fragmentantistoff fusjonert med minst ett endodomene til et T-cellessignaleringsmolekyl, eventuelt hvori trinnet med transdusering skjer før trinn (i), eventuelt hvori TIL-ene analyseres for levedyktighet etter trinn (vii).