



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3757206 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12M 3/00 (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)
C12N 7/00 (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)
C12N 15/87 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2024.06.10
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2024.04.10
(86)	European Application Nr.	20176047.7
(86)	European Filing Date	2015.11.04
(87)	The European Application's Publication Date	2020.12.30
(30)	Priority	2014.11.05, US, 201462075801 P 2015.03.05, US, 201562129023 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
(62)	Divided application	EP3215601, 2015.11.04
(73)	Proprietor	Juno Therapeutics, Inc., 400 Dexter Avenue North, Suite 1200, Seattle, WA 98109, USA
(72)	Inventor	CRISMAN, Ryan, L., 400 Dexter Ave. N, Seattle, Washington 98109, USA RAMSBORG, Chris, 400 Dexter Ave. N, Seattle, Washington 98109, USA WOOD, Travis, 400 Dexter Ave. N, Seattle, Washington 98109, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54) Title **METHODS FOR TRANSDUCTION AND CELL PROCESSING**

(56) References

Cited:

EP-A1- 2 594 632, EP-A2- 0 995 802, EP-B1- 0 995 802, US-A- 5 911 983
NAOKI NISHIMURA ET AL: "Enhanced Efficiency by Centrifugal Manipulation of Adenovirus-Mediated Interleukin 12 Gene Transduction into Human Monocyte-Derived Dendritic Cells", HUMAN GENE THERAPY, vol. 12, no. 4, 1 March 2001 (2001-03-01), pages 333-346, XP055244919, US ISSN: 1043-0342, DOI: 10.1089/10430340150503966
BAHNSON ALFRED B ET AL: "Centrifugal enhancement of retroviral mediated gene transfer", JOURNAL OF VIROLOGICAL METHODS, vol. 54, no. 2-3, 1995, pages 131-143, XP055244929, ISSN: 0166-0934, KALOS MICHAEL ET AL: "T Cells with Chimeric Antigen Receptors Have Potent Antitumor Effects and Can Establish Memory in Patients with Advanced Leukemia", 20110810, vol. 3, no. 95, 10 August 2011 (2011-08-10), page 95ra73.1, XP002667262,

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. Transduksjonsfremgangsmåte, omfattende inkubering, i et indre hulrom i et sentrifugalkammer, av en inngangssammensetning omfattende celler og virale partikler som inneholder en rekombinant viral vektor, hvor

10 sentrifugalkammeret er roterbart rundt en rotasjonsakse og hulrommet har variabelt volum, og videre omfatter minst én åpning som er i stand til å tillate inntak av væske i nevnte indre hulrom og utføring av væske fra nevnte hulrom; sentrifugalkammeret roterer rundt rotasjonsaksen under minst en del av inkubasjonen; og fremgangsmåten genererer en utgangssammensetning som omfatter et flertall celler transdusert med den virale vektoren.

15 2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor sentrifugalkammeret omfatter et bevegelig element og det variable volumet oppstår som følge av det bevegelige elementet, hvor nevnte bevegelige element er i stand til å bevege seg inne i kammeret for å variere det indre hulrommets volum, og eventuelt hvor det bevegelige elementet er et stempel og/eller det bevegelige elementet er i stand til å bevege seg aksialt inne i kammeret for å variere hulrommets innvendige volum.

25 3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller krav 2, hvor, under minst en del av inkubasjonen i kammeret eller under rotasjonen av kammeret, inngangssammensetningens væskevolum kun opptar en del av volumet til kammerets innvendige hulrom, hvor hulrommets volum under nevnte minst en del eller under nevnte rotasjon videre omfatter en gass, hvor gassen tas inn i nevnte hulrom via nevnte minst ene åpning, før eller under nevnte inkubasjon.

30 4. Fremgangsmåte ifølge krav 2 eller krav 3 når det er avhengig av krav 2, hvor bevegelse av det bevegelige elementet varierer volumet til kammerets innvendige hulrom, og derigjennom bevirker til inntak eller utføring av væske eller gass til eller fra det indre hulrommet.

5. Fremgangsmåte ifølge ethvert foregående krav, hvor;

35 væskevolumet av inngangssammensetningen tilstede i hulrommet under rotasjon ikke er mer enn 50%, ikke mer enn 40%, ikke mer enn 30%, ikke mer enn 20% eller ikke mer enn 10% av volumet til hulrommets innvendige overflateareal under rotasjon eller av hulrommets maksimale innvendige overflateareal, og hvor resten av volumet er gassen, og eventuelt

3757206

2

- 5 hvor inngangssammensetningens væskevolum under rotasjon ikke er mer enn 100 mL, 90 mL, 80 mL, 70 mL, 60 mL, 50 mL, 40 mL, 30 mL eller 20 mL.

6. Fremgangsmåte ifølge ett av kravene 3 til 5, hvor gassen er luft.

- 10 7. Fremgangsmåte ifølge ethvert foregående krav, hvor sentrifugalkammeret er knyttet til en sensor, hvor sensoren er i stand til å måle:

 sentrifugalkammerets rotasjonshastighet; eller
 volumet inneholdt i det indre hulrommet.

- 15 8. Fremgangsmåte ifølge krav 2 eller ethvert krav som er avhengig av krav 2, hvor sentrifugalkammeret er forbundet med en sensor, hvor sensoren er i stand til å måle det bevegelige elementets posisjon.

9. Fremgangsmåte ifølge krav 7 eller krav 8, hvor informasjonen fra sensoren mottas av styrekretser
20 og, basert på informasjonen, styrekretsene er innrettet for å bevirke til en endring av den målte parameteren.

 10. Fremgangsmåte ifølge ethvert foregående krav, hvor kammeret eller hulrommet er i det vesentlige stivt.

- 25 11. Fremgangsmåte ifølge ethvert foregående krav, hvor cellene i inngangssammensetningen er T-celler, og eventuelt T-cellene er: ufraksjonerte T-celler, isolerte CD4+-T-celler og/eller isolerte CD8+-T-celler.

- 30 12. Fremgangsmåte ifølge ethvert foregående krav, hvor cellene i inngangssammensetningen er T-celler og hvor, før innledning av prosessene for transduksjon, T-cellene aktiveres.

13. Fremgangsmåte ifølge ethvert av de foregående krav, hvor den rekombinante virale vektoren koder for en rekombinant reseptor, som derved uttrykkes av celler i utgangssammensetningen, og
35 eventuelt
 hvor den rekombinante reseptoren er en kimær antigenreseptor (CAR) eller en transgen T-cellereseptor (TCR).

3757206

3

- 5 14. Fremgangsmåte ifølge ethvert av de foregående krav, hvor den rekombinante virale vektoren er en rekombinant lentiviral vektor eller en rekombinant retroviral vektor.
15. Fremgangsmåte ifølge ethvert av de foregående krav, hvor inngangssammensetningen videre omfatter ett eller flere ytterligere midler for å fremme transduksjonseffektivitet, og eventuelt
- 10 hvor det ene eller de flere ytterligere midlene er et polykation, heksadimetribromid eller CH-296, og videre eventuelt hvor polykationen er protaminsulfat og/eller hvor konsentrasjonen av polykationen er fra 1 µg/mL til 100 µg/mL.
- 15 16. Fremgangsmåte ifølge ethvert av kravene 3-14, hvor inntaket av gass bevirkes ved å tillate eller bevirke til strøm av gassen fra en steril lukket beholder som inneholder gassen, en ytre omgivelse gjennom et mikrobielt filter eller en sprøyte som inneholder gassen.
17. Fremgangsmåte ifølge ethvert foregående krav, hvor sentrifugalkammeret er integrert i et lukket
- 20 system, hvor det lukkede systemet omfatter kammeret og minst én rørledning operativt knyttet til den minst ene åpningen via minst én kobling, hvorigjennom væske og gass tillates å bevege seg mellom nevnte hulrom og den minst ene rørledningen i minst én konfigurasjon av nevnte system.
18. Fremgangsmåte ifølge krav 17, hvor det lukkede systemet videre omfatter et sterilt filter.
- 25 19. Fremgangsmåte ifølge ethvert foregående krav, hvor inkubasjonen utføres i sentrifugalkammerets hulrom og antallet celler i nevnte inngangssammensetning er lik eller omtrent lik antallet av nevnte celler som er tilstrekkelig til å danne et mono-lag eller et bi-lag på innerflaten i nevnte hulrom under nevnte rotasjon.
- 30 20. Fremgangsmåte ifølge ethvert av de foregående krav, hvor antallet celler i hulrommet under inkubasjonen er lik eller omtrent lik eller minst omtrent 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 eller 5×10^8 celler.
- 35 21. Fremgangsmåte ifølge ethvert av de foregående krav, hvor rotasjonen varer mer enn 5 minutter, mer enn eller omtrent 10 minutter, mer enn eller omtrent 15 minutter, mer enn eller omtrent 20 minutter, mer enn eller omtrent 30 minutter,

- 5 mer enn eller omtrent 45 minutter, mer enn eller omtrent 60 minutter, mer enn eller omtrent 90 minutter eller mer enn eller omtrent 120 minutter; og eventuelt hvor rotasjonen varer mer enn 5 minutter, men ikke mer enn 60 minutter, ikke mer enn 45 minutter, ikke mer enn 30 minutter eller ikke mer enn 15 minutter.
- 10 22. Fremgangsmåte ifølge ethvert foregående krav, hvor fremgangsmåten er en del av en prosess som videre omfatter ett eller flere ytterligere cellebehandlingstrinn som utføres i sentrifugalkammerets innvendige hulrom, hvor behandlingstrinnet/-trinnene er valgt fra gruppen bestående av:
- 15 cellevasking;
- cellefortynning;
- celleutvelgelse;
- celleisolasjon;
- celleseparasjon;
- cellekultivering;
- 20 cellestimulering;
- celleinnpakking; og
- celleformulering.