



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3880802 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
A61K 38/00 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01)
C07K 14/725 (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45) Translation Published 2022.11.21

(80) Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent 2022.09.07

(86) European Application Nr. 19821337.3

(86) European Filing Date 2019.11.15

(87) The European Application's Publication Date 2021.09.22

(30) Priority 2018.11.16, US, 201862768579 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 Celgene Corporation, 86 Morris Avenue, Summit, NJ 07901, USA

(72) Inventor BRIEVA, Thomas, A., 14 Country Lane, Manalapan, NJ 07726, USA
HSIUNG, David, 201 Montgomery Street, Apt. 638, Jersey City, NJ 07302, USA
JONES, Seth, 318 Stratford Place, Bound Brook, NJ 08805, USA
MISTRY, Shiv, 106 Penobscot Street, Clifton, NJ 07013, USA
RAJAEI, Nayyereh, 191 Lindsey Court, Franklin Park, NJ 08823, USA

(74) Agent or Attorney AWA NORWAY AS, Hoffsvveien 1A, 0275 OSLO, Norge

(54) Title **IMPROVED T CELL MANUFACTURING PROCESS**

(56) References Cited:
US-A1- 2017 313 968
WO-A1-2015/164745
WENDY E. BROWN ET AL: "Ammonium-Chloride-Potassium Lysing Buffer Treatment of Fully Differentiated Cells Increases Cell Purity and Resulting Neotissue Functional Properties", TISSUE ENGINEERING. PART C, METHODS DEC 2008, vol. 22, no. 9, 1 September 2016 (2016-09-01), pages 895-903, XP055669524, US ISSN: 1937-3384, DOI: 10.1089/ten.tec.2016.0184
XIUYAN WANG ET AL: "Clinical manufacturing of CAR T cells: foundation of a promising therapy", MOLECULAR THERAPY - ONCOLYTICS, vol. 3, 1 January 2016 (2016-01-01), page 16015, XP055396211, ISSN: 2372-7705, DOI: 10.1038/mto.2016.15

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 ved fremstilling av kimære antigenrecepto (CAR)-uttrykkende T-celler (CAR-T-celler) fra mononukleære celler fra perifert blod (PBMC'er) fra et individ som en blodprøve er hentet fra, omfattende trinnene å:
 - 5 a. hente PBMC'er fra blodprøven;
 - b. isolere PBMC'ene som er hentet fra blodprøven, ved bruk av et membranfiltreringssystem og ammonium-klorid-kalium (ACK)-buffer;
 - c. vaske PBMC'ene ved sentrifugering;
 - d. vaske PBMC'ene ved bruk av et membranfiltreringssystem;
 - 10 e. fremstille CAR-T-cellene fra PBMC'ene fra trinn (d); og
 - f. vaske CAR-T-cellene fra trinn e ved bruk av et membranfiltreringssystem.

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor fremgangsmåten ytterligere omfatter å kryokonservere PBMC'ene fra trinn (c).

- 15 3. Fremgangsmåte ifølge krav 2, hvor fremgangsmåten ytterligere omfatter å tinte de kryokonserverte PBMC'er.

4. Fremgangsmåte ved fremstilling av kimære antigenreceptor (CAR)-uttrykkende T-celler (CAR-T-celler) fra mononukleære celler fra perifert blod (PBMC'er) fra en leukaferesert blodprøve fra et individ, omfattende trinnene å:
 - 20 a. isolere PBMC'ene fra den leukafereserte blodprøve ved bruk av et membranfiltreringssystem og ammonium-klorid-kalium (ACK)-buffer;
 - b. kryokonservere PBMC'ene fra trinn (a);
 - c. tinte PBMC'ene fra trinn (b);
 - d. vaske de tinte PBMC'er fra trinn (c) ved bruk av et spinnende
25 membranfiltreringssystem;
 - e. fremstille CAR-T-cellene fra PBMC'ene fra trinn (d); og
 - f. vaske CAR-T-cellene fra trinn (e) ved bruk av et membranfiltreringssystem.

5. Fremgangsmåte ved fremstilling av kimære antigenreceptor (CAR)-
30 uttrykkende T-celler (CAR-T-celler) fra mononukleære celler fra perifert blod (PBMC'er) fra en blodprøve fra et individ, omfattende trinnene å:

- a. isolere PBMC'ene fra blodprøven ved bruk av et membranfiltreringssystem og ammonium-klorid-kalium (ACK)-buffer;
 - b. kryokonservere og tine PBMC'ene fra trinn (a);
 - c. vaske de tinte PBMC'er fra trinn (b) ved bruk av et membranfiltreringssystem;
 - d. fremstille CAR-T-cellene fra PBMC'ene; og
 - e. vaske CAR-T-cellene ved bruk av et spinnende membranfiltreringssystem.
- 5
6. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvor et eller alle membranfiltreringssystemene er et spinnende membranfiltreringssystem.
- 10
7. Fremgangsmåte ifølge krav 6, hvor det spinnende membranfiltreringssystem er et «LOVO Automated Cell Processing System».
8. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvor ACK-bufferen omfatter 50-300 mM ammoniumklorid, 10 mM kaliumkarbonat og 0,1 mM natrium-EDTA.
- 15
9. Fremgangsmåte ifølge krav 8, hvor ACK-bufferen omfatter 150 mM ammoniumklorid, 10 mM kaliumkarbonat og 0,1 mM natrium-EDTA.
10. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 9, hvor fremgangsmåten forbedrer reduksjonen av blodplater og røde blodceller fra PBMC'ene med 18-36% sammenlignet med samme fremgangsmåte ved bruk av tetthetsgradientsentrifugering i stedet for hver bruk av membranfiltrering.
- 20
11. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 10, hvor fremgangsmåten forbedrer utvinningen av CAR-T-celler etter CAR-T-cellefremstilling med 17-36% sammenlignet med samme metode ved bruk av tetthetsgradientsentrifugering i stedet for hver bruk av membranfiltrering.