



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO

(10) Identifikator
dokumenta:



HR P20200978 T1

HR P20200978 T1

(12) **PRIJEVOD PATENTNIH ZAHTJEVA
EUROPSKOG PATENTA**

(51) MKP:

A61K 35/12 (2015.01)
A61K 35/17 (2015.01)
A61K 38/17 (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)
C12N 5/16 (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)

(46) Datum objave prijevoda patentnih zahtjeva: 16.10.2020.

(21) Broj predmeta: P20200978T

(22) Datum podnošenja zahtjeva u HR: 19.06.2020.

(86) Broj međunarodne prijave: PCT/US2015027518
Datum podnošenja međunarodne prijave: 24.04.2015.

(96) Broj europske prijave patenta: EP 15783117.3
Datum podnošenja europske prijave patenta: 24.04.2015.

(87) Broj međunarodne objave: WO 2015164745
Datum međunarodne objave: 29.10.2015.

(97) Broj objave europske prijave patenta: EP 3134095 A1
Datum objave europske prijave patenta: 01.03.2017.

(97) Broj objave europskog patenta: EP 3134095 B1
Datum objave europskog patenta: 22.04.2020.

(31) Broj prve prijave: 201461984558 P (32) Datum podnošenja prve prijave: 25.04.2014. (33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US

(73) Nositelj patenta:

(72) Izumitelji:

Bluebird Bio, Inc., 60 Binney Street, Cambridge, MA 02142, US
Richard Morgan, PO Box 1254, Center Harbor, NH 03226-1254, US
Kevin Friedman, 4 Clover Circle, Medford, MA 02176, US
Dawn Maier, 29 Crestwood Road, North Reading, MA 01864, US

(74) Zastupnik:

Hraste & Partneri odvjetničko društvo, 10000 Zagreb, HR

(54) Naziv izuma:

POBOLJŠANI POSTUPCI TERAPIJE PROIZVODNJOM ADOPTIVNIH STANICA

HR P20200978 T1

PATENTNI ZAHTEJEVI

1. Postupak proizvodnje *in vitro* terapijskog sredstva na bazi T-stanica, **naznačen time** što se sastoji u:
 - a) osiguravanju populacije ljudskih monocita iz periferne krvi (PBMC) koja sadrži T-stanice i stanice koje predočavaju antigene (APC);
 - b) uzgoju populacije PBMC u trajanju od 16 sati do 32 sata prije transduciranja u mediju za kulturu stanica koji sadrži i) interleukin-2 (IL-2), ii) protutijelo protiv CD3 ili njegov fragment koji se veže na CD3, te iii) protutijelo protiv CD28 ili njegov fragment koji se veže na CD28, B7-1 ili njegov fragment koji se veže na CD28, ili B7-2 ili njegov fragment koji se veže na CD28, gdje kultura aktivira i stimulira T-stanice;
 - c) transduciranju populacije PBMC aktivirana u koraku b) lentivirusnim vektorom koji kodira kimerni antigenski receptor (CAR); i
 - d) uzgoju populacije PBMC u mediju za uzgoj stanica radi povećanja broja transduciranih T-stanica; čime se proizvodi terapijsko sredstvo na bazi T-stanica.
2. Postupak u skladu s patentnim zahtjevom 1, **naznačen time** što:
 - a) prikupljanje ili dobivanje PBMC uključuje leukoferezu; i/ili
 - b) izoliranje PBMC uključuje sedimentiranje; i/ili
 - c) izoliranje PBMC uključuje sedimentiranje, koje se provodi uz pomoć poluautomatizirane protočne centrifuge.
3. Postupak u skladu s patentnim zahtjevom 1, **naznačen time** što medij za kulturu stanica sadrži 250 IU/ml IL-2.
4. Postupak u skladu s patentnim zahtjevom 1, **naznačen time** što je medij za kulturu stanica:
 - a) medij za uzgoj T-stanica (TCGM); ili
 - b) medij za uzgoj T-stanica (TCGM) koji dodatno sadrži jedan ili više dodatnih citokina; ili
 - c) TCGM koji dodatno sadrži jedan ili više dodatnih citokina koje se bira između bilo kojeg od: IL7, IL-15, IL-9, te IL-21.
5. Postupak u skladu s bilo kojim od patentnih zahtjeva 1 do 4, **naznačen time** što postupak dodatno uključuje:
 - a) ispiranje PBMC u puferu ili mediju za kulturu stanica; i/ili
 - b) ispiranje PBMC u mediju za uzgoj T-stanica (TCGM) koji sadrži jedan ili više citokina; i/ili
 - c) ispiranje PBMC u mediju za uzgoj T-stanica (TCGM) koji sadrži jedan ili više citokina koje se bira između bilo kojeg od: IL-2, IL7, IL-15, IL-9, te IL-21; ili
 - d) ispiranje PBMC u mediju za uzgoj T-stanica (TCGM) koji sadrži IL-2; i/ili
 - e) ispiranje PBMC u mediju za uzgoj T-stanica (TCGM) koji sadrži 250 IU/ml IL-2.
6. Postupak u skladu s bilo kojim od patentnih zahtjeva 1 do 5, **naznačen time** što:
 - a) PBMC se uzgaja uz topljivo protutijelo protiv CD3 i topljivo protutijelo protiv CD28; i/ili
 - b) PBMC se uzgaja uz topljivo protutijelo protiv CD3 u koncentraciji od 50 ng/ml i topljivo protutijelo protiv CD28; i/ili
 - c) PBMC se uzgaja uz topljivo protutijelo protiv CD3 i topljivo protutijelo protiv CD28 u koncentraciji od 50 ng/ml.
7. Postupak u skladu s patentnim zahtjevom 1, **naznačen time** što:
 - a) PBMC iz koraka b) se uzgaja u trajanju od najmanje 18 sati prije transduciranja; i/ili
 - b) PBMC iz koraka b) se uzgaja u trajanju od najmanje 24 sata prije transduciranja.
8. Postupak u skladu s patentnim zahtjevom 6 ili patentnim zahtjevom 7, **naznačen time** što se 1×10^9 TU do 2×10^9 TU iz lentivirusnog vektora upotrebljava za transduciranje 1×10^8 zasijanih stanica.
9. Postupak u skladu s bilo kojim od patentnih zahtjeva 1 do 8, **naznačen time** što:
 - a) lentivirusni vektor se razrjeđuje do 20% vol./vol. ukupnog volumena kulture; i/ili
 - b) lentivirusni vektor se razrjeđuje do 40% do 50% vol./vol. ukupnog volumena kulture; i/ili
 - c) PBMC se transducira u trajanju od 18 do 48 sati; i/ili
 - d) PBMC se transducira u trajanju od 18 do 36 sati; i/ili
 - e) PBMC se transducira u trajanju od 24 sata.
10. Postupak u skladu s patentnim zahtjevom 1, **naznačen time** što CAR sadrži:
 - a) izvanstaničnu domenu, koja se veže na antigen kojeg se bira iz skupine koju čine: folatni receptor alfa, 5T4, $\alpha v \beta 6$ integrin, BCMA, B7-H3, B7-H6, CAIX, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD70, CD79a, CD79b, CD123, CD138, CD171, CEA, CSPG4, EGFR, porodica EGFR koja uključuje ErbB2 (HER2), EGFRvIII, EGP2, EGP40, EPCAM, EphA2, EpCAM, FAP, fetal AchR, FRa, GD2, GD3, glipikan-3 (GPC3), HLA-A1+MAGE1, HLA-A2+MAGE1, HLA-A3+MAGE1, HLA-A1+NY-ESO-1, HLA-A2+NY-ESO-1, HLA-A3+NY-ESO-1, IL-11R α , IL-13R α 2, lambda, Lewis-Y, kapa, mezotelin, Muc1, Muc16, NCAM, ligandi NKG2D, NY-ESO-1, PRAME, PSCA, PSMA, ROR1, SSX, survivin, TAG72, TEMs, te VEGFR2;
 - b) transmembransku domenu dobivena iz polipeptida kojeg se bira iz skupine koju čine: CD8 α ; CD4, CD28, CD45, PD1, te CD152;

c) jednu ili više unutarstaničnih sustimulirajućih signalnih domena, koje se bira iz skupine koju čine: CD28, CD54 (ICAM), CD134 (OX40), CD137 (41BB), CD152 (CTLA4), CD273 (PD-L2), CD274 (PD-L1), te CD278 (ICOS); i

d) signalnu domenu CD8ζ.

5 11. Postupak u skladu s patentnim zahtjevom 10, **naznačen time** što:

a) izvanstanična domena sadrži protutijelo ili antigenski vežući fragment koji se veže na antigen; i/ili

b) transmembransku domenu se dobiva iz CD8α ili CD28; i/ili

c) jedna ili više sustimulirajućih signalnih domena je bilo koja od: CD28, CD 134, te CD 137; i/ili

d) CAR dodatno uključuje polipeptid iz zglobnog područja; i/ili

10 e) CAR dodatno uključuje polipeptid iz zglobnog područja IgG1 ili CD8α; i/ili

f) CAR dodatno uključuje signalni peptid; i/ili

g) CAR dodatno uključuje signalni polipeptid teškog lanca IgG1, ili signalni polipeptid iz CD8α, ili signalni polipeptid iz ljudskog GM-CSF receptora alfa.

12. Postupak u skladu s patentnim zahtjevom 1, **naznačen time** što:

15 a) PBMC u koraku d) se uzgaja radi povećanja broja stanica u trajanju od 5 do 8 dana; i/ili

b) PBMC u koraku d) se uzgaja radi povećanja broja stanica u trajanju od 5 dana do 8 dana u vreći za kulturu stanica; i/ili

c) PBMC u koraku d) se uzgaja radi povećanja broja stanica u trajanju od 5 dana u vreći za kulturu stanica, te zatim uzgaja u trajanju od 3 dana u bioreaktoru; i/ili

20 d) PBMC u koraku d) se uzgaja radi povećanja broja stanica u trajanju od 5 dana do 8 dana u bioreaktoru.

13. Postupak u skladu s patentnim zahtjevom 1, **naznačen time** što:

a) broj T-stanica se povećava najmanje 50-erostruko tijekom uzgoja u koraku d); ili

b) broj T-stanica se povećava najmanje 100-ostruko tijekom uzgoja u koraku d); ili

c) broj T-stanica se povećava najmanje 300-ostruko tijekom uzgoja u koraku d); ili

25 d) broj T-stanica se povećava najmanje 400-ostruko tijekom uzgoja u koraku d); ili

e) broj T-stanica se povećava najmanje 500-ostruko tijekom uzgoja u koraku d); ili

f) broj T-stanica se povećava najmanje 600-ostruko tijekom uzgoja u koraku d).