

P- 2021/13562

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Re: Expediente No. **NC2021/0007362**

Solicitud de patente a nombre de **IOVANCE BIOTHERAPEUTICS, INC**

Yo, CAROLINA DAZA MONTALVO identificada como aparece al pie de mi firma, domiciliada en la Carrera 11 No. 86-53, obrando como apoderada de la sociedad IOVANCE BIOTHERAPEUTICS, INC., domiciliada en California, Estados Unidos de América, solicitante de la patente de la referencia, en respuesta al oficio No. **17983** notificado electrónicamente el 1 de noviembre de 2023, relacionado con los requerimientos de fondo de la solicitud, atentamente me permito presentar la siguiente información:

1. Título

El examinador afirma que el título de la invención "PROCESOS PARA LA PRODUCCIÓN DE LINFOCITOS INFILTRANTES DE TUMOR Y USOS DE ESTOS EN INMUNOTERAPIA" no se relaciona con el objeto de la solicitud contenida en las reivindicaciones.

Para superar la objeción, el título se modifica de acuerdo con la sugerencia del examinador: "PROCESOS PARA LA EXPANSIÓN DE LINFOCITOS INFILTRANTES DE TUMOR (TILS)".

2. Modificación al capítulo reivindicatorio:

Con fundamento en la facultad que confiere el artículo 34 de la Decisión 486 al solicitante para modificar la solicitud de patente en cualquier momento del trámite, presento junto a este memorial un nuevo capítulo reivindicatorio que consta de sesenta y tres (63) reivindicaciones, el cual reemplaza completamente el documento presentado el 31 de marzo de 2022. Específicamente, se realizaron las siguientes modificaciones:

1.1 Se modificó la reivindicación 1 con el fin de:

- 1.1.1 Aclarar que el método corresponde a un método *in vitro*. Dicha aclaración se sustenta en la página 84 de la descripción.
 - 1.1.2 Eliminar la referencia a la población terapéutica.
 - 1.1.3 Modificar la redacción de modo que algunas características mencionadas en el antiguo paso (a) del método se incluyan como una aclaración en relación con el origen de la muestra.
- 1.2 Se modificó la reivindicación 2, con el fin de:
 - 1.2.1 Aclarar que el método corresponde a un método *in vitro*. Dicha aclaración se sustenta en la página 84 de la descripción.
 - 1.2.2 Eliminar la referencia a la población terapéutica.
 - 1.2.3 eliminar el paso (a) del método e incluir algunas de sus características como una aclaración en relación con el origen de la muestra al final de dicha reivindicación.
 - 1.2.4 Eliminar el término "opcionalmente" del antiguo subpárrafo (b), nuevo subpárrafo (a).
- 1.3 Se modificaron las reivindicaciones 4 y 5, con el fin de:
 - 1.3.1 Aclarar que el método corresponde a un método *in vitro*. Dicha aclaración se sustenta en la página 84 de la descripción.
 - 1.3.2 Eliminar la referencia a la población terapéutica.
- 1.4 Se eliminaron las antiguas reivindicaciones 11, 22, 36 a 38, 55 y 60. Además, se ajustó la numeración del documento.
- 1.5 Se modificó la antigua reivindicación 30 (nueva reivindicación 28), con el fin de eliminar el término "opcionalmente", e integrar la característica de que el medio tiene DMSO del 7% al 10%.
- 1.6 Se modificó la antigua reivindicación 32 (nuevas reivindicaciones 30 y 31) con el fin de:

- 1.6.1 Enlistar los tiempos en los que se puede llevar a cabo la primera expansión con sensibilización a la cosecha.
- 1.6.2 Dividir la característica opcional de manera que ahora sea la reivindicación 31.
- 1.7 Se modificó la antigua reivindicación 33 (nueva reivindicación 32) con el fin de divulgar una composición farmacéutica que contenga el número de TILs allí divulgado.
- 1.8 Se modificó la antigua reivindicación 34 (nueva reivindicación 33), con el fin de aclarar que se refiere a una población aislada. Dicha modificación se sustenta en la página 82 de la descripción.
- 1.9 Se modificó la antigua reivindicación 39 (nueva reivindicación 35) de manera que ahora dependa de la reivindicación 34.
- 1.10 Se eliminó el término "opcionalmente" de la antigua reivindicación 43 (nueva reivindicación 39).
- 1.11 Se eliminó la antigua reivindicación 46 (nueva reivindicación 42) con el fin de eliminar la característica opcional.
- 1.12 Se modificaron las antiguas reivindicaciones 56 y 57 (nueva reivindicación 52) con el fin de:
 - 1.12.1 Aclarar que el método corresponde a un método *in vitro*. Dicha aclaración se sustenta en la página 84 de la descripción.
 - 1.12.2 Eliminar la referencia a la población terapéutica.
 - 1.12.3 Eliminar el pasó (i) del método y se incluyó no como un paso sino como una aclaración en relación con la muestra al final de dicha reivindicación.
- 1.13 Se modificó la antigua reivindicación 59 (nueva reivindicación 54) con el fin de:
 - 1.13.1 Aclarar que el método corresponde a un método *in vitro*. Dicha aclaración se sustenta en la página 84 de la descripción.

1.13.2 Eliminar las referencias a las biopsias de la extracción de la muestra en el paso (i).

- 1.14 Se modificó las antiguas reivindicaciones 61 a 69 (nuevas reivindicaciones 55 a 63) con el fin de eliminar la referencia a "un linfocito infiltrante de tumor (TILs)" y caracterizar solo "La composición de TILs".

Estas modificaciones no amplían de ninguna manera la materia objeto de la presente solicitud, ya que se encuentran sustentadas tanto en la descripción como en el listado de secuencias, y se realizan con el fin de definir la materia reclamada de forma clara y superar las objeciones planteadas por el examinador en su concepto técnico.

3. Pago de tasas

Considerando que el presente memorial se presenta junto con modificaciones a las reivindicaciones, se adjunta recibo por concepto de pago de tasa de modificación a la solicitud, según lo establecido en la **Resolución 59669 de 2020**.

Ahora, en relación con el número de reivindicaciones, atentamente me permito resaltar que junto a la presente respuesta no se realiza el pago de la tasa por concepto de reivindicaciones adicionales, dado que el nuevo capítulo reivindicatorio cuenta con un menor número de cláusulas que el presentado y estudiado anteriormente por su despacho.

Por otra parte, es deseo del solicitante requerir que, si el examinador considera que aún existen motivos que impidan la concesión de la solicitud, proceda a emitir un nuevo examen de patentabilidad, para lo cual se anexa el respectivo pago de la tasa correspondiente a un nuevo examen de patentabilidad de acuerdo con lo establecido en la **Resolución 59669 de 2020**.

4. No es una invención

El examinador señala que las reivindicaciones 34 y 37 y 61 a 69 no pueden ser consideradas como una invención debido a que se relacionan con materia tal como se encuentra en la naturaleza, de conformidad con lo establecido en el Art. 15 literal (b) de la Decisión 486 Esta objeción se relaciona puntualmente con la población de TILs.

En ese sentido, con el fin de contribuir a distinguir la materia reclamada con respecto a la población de linfocitos infiltrantes de tumor como se encuentra en un tejido biológico natural se modificó la redacción para aclarar que la población de la antigua reivindicación 34 (nueva reivindicación 33), corresponde a TILs aislados. De este modo, el solicitante sostiene que la reivindicación hace referencia a la población obtenida y manipulada en el método de la presente invención y no a los linfocitos tal como se encuentran en la naturaleza..

Por otra parte, se eliminó la reivindicación 37, de manera que se pueda dar por superada esta objeción.

Finalmente, se dirigió la materia de las antiguas reivindicaciones 61 a 69 (nuevas reivindicaciones 55 a 63), hacia una composición que comprende las TILs expandidas. Este cambio permite distinguirse de la población natural de TILs, dando así por superada la objeción.

Dadas las modificaciones realizadas por el solicitante, la materia reclamada en el capítulo reivindicatorio es una invención.

5. Excepción de Patentabilidad

El examinador señala que las antiguas reivindicaciones 1 a 33 y 40 a 60 no serían patentables porque hacen referencia a métodos de tratamiento, lo cual corresponde a materia exceptuada de patentabilidad de acuerdo con lo establecido en el Art. 20 literal (d) de la Decisión 486.

En relación con lo anterior, sin estar de acuerdo, pero con el ánimo de contribuir a dar continuidad al proceso, se modificó el preámbulo de dichas reivindicaciones de manera que hagan referencia a métodos *in vitro* de conformidad con las páginas 84, 126, 253 y 407 de la descripción, lo que permite realizar una aclaración y distinción considerable a métodos de tratamiento. Además, se eliminó la antigua reivindicación 55 y se modificó la reivindicación 56 con el fin de eliminar la referencia a biopsias. Si bien, esta referencia no implica que la reivindicación corresponda a un método de tratamiento según la perspectiva del solicitante, fue eliminada del capítulo reivindicatorio para contribuir al proceso y dar claridad al alcance de la invención.

Por otra parte, es importante resaltar que la referencia a obtener y/o recibir una primera población de TILs de un tumor extirpado de un sujeto mediante el procesamiento de una muestra de tumor, no hace referencia a métodos de tratamiento, sino que por el contrario da a entender

el origen de la muestra utilizada para la aplicación del método *in vitro*. De ahí que consideramos pertinente resaltar que el uso de este tipo de muestras no es permitido de acuerdo con las directrices actuales, según lo menciona la Guía de patentes de 2014, en la página 67, donde establece:

"los métodos de diagnóstico in vitro, aun cuando requieran muestra biológica, podrán ser elegibles para estudio de patentabilidad."

En ese sentido es posible dar por superada la presente objeción de manera que pueda estudiarse de manera completa el capítulo reivindicatorio.

Además, me permito resaltar las disposiciones que menciona el Manual Andino de Patentes con respecto a los métodos terapéuticos:

"Si el método implica la administración de un producto (compuesto o composición farmacéutica, por ejemplo) a un sujeto humano o animal con el propósito de prevenir, curar o aliviar una enfermedad, o de corregir o reparar las secuelas de esta; entonces la materia reivindicada es un método terapéutico. En la medida que el método no implique la administración de un producto a un sujeto humano o animal, lo solicitado no debe ser considerado un método terapéutico..." (p. 85, MAP, 2022)

Por lo tanto, aunque en las reivindicaciones se utilizan términos relacionados con un tumor, esto se refiere al origen del material de partida, y no se relacionan con un método, ni mucho menos con un método que implique la administración de las células a un ser humano o un animal, por lo que las reivindicaciones no deben ser consideradas como métodos de tratamiento.

En este sentido, el solicitante respetuosamente solicita que la objeción al respecto sea reconsiderada.

6. Claridad y concisión de las reivindicaciones

El solicitante manifiesta que mediante la presentación del nuevo capítulo reivindicatorio quedan subsanadas la totalidad de las objeciones presentadas por el examinador en su concepto técnico, de modo tal que las nuevas reivindicaciones reclaman de manera clara y concisa la invención descrita. Con respecto a las objeciones específicas del examinador, me permito manifestar lo siguiente:

- 4.1** El examinador alega que las reivindicaciones 35, 36, 38 y 39 carecen de claridad y sustento en la descripción debido a que reclaman diversos productos en relación con la población de TILs, sin incluir ninguna característica técnica esencial de dicha población o de la composición que la contiene, sino que por el contrario se reclama con base en el método de producción lo cual no caracteriza el producto obtenido en sí.

En este sentido, el solicitante manifiesta no estar de acuerdo. Sin embargo, únicamente con el interés de dar continuidad al proceso, el solicitante ha decidido eliminar las reivindicaciones 36 y 38.

En relación con la antigua reivindicación 35 (nueva reivindicación 34) se ha modificado para que dependa de la nueva reivindicación 33, la cual hace referencia a una población aislada que fue sometida a un método de expansión. Por lo tanto, una persona versada en la materia podría asumir que la reivindicación se refiere a células cuya modificación y características parten del proceso aplicado a las TILs primarias en lugar de ser solo una población de células extraídas de un sujeto.

Por último, es pertinente tener en cuenta que, contrario a lo señalado por el examinador, la normativa aplicable en materia de patentes en Colombia sí permite la caracterización de un producto por su proceso de fabricación. De este modo, me permito resaltar las disposiciones del numeral 2.6.5.10 de la Guía Para Examen de Solicitudes de Patente de Invención y Modelo de Utilidad emitida por la Superintendencia de Industria y Comercio, que señala:

"2.6.5.10 Producto definido por su proceso de fabricación

Las reivindicaciones de productos definidas en términos de un proceso de fabricación son admisibles, solamente si los productos como tales cumplen los requisitos de patentabilidad, es decir, cuando son nuevos e inventivos, y cuando **no se pueden definir por sus características estructurales**. Un caso típico es de los polímeros. Preferentemente se deben redactar de la forma "Producto X obtenible por el proceso Y". Un producto no se convierte en nuevo, simplemente por el hecho de que se produce mediante un procedimiento nuevo. De manera que el examinador presentará la objeción por falta de novedad del producto y examinará si el procedimiento es nuevo e inventivo. Por ejemplo, si se reivindica un procedimiento para sintetizar un producto conocido como lo es la aspirina, se deberá examinar si dicho procedimiento es nuevo e inventivo; no

obstante, el examinador tendrá en cuenta que la reivindicación de producto (aspirina) no es nueva, aunque el procedimiento sea nuevo e inventivo.

Por lo tanto, dado que no es posible caracterizar las células obtenidas por el proceso de la invención de otra manera, y teniendo en cuenta que las composiciones reclamadas son nuevas e inventivas (como se demostrará más adelante), respetuosamente solicito que se acepte la caracterización del componente activo de la composición reclamada mediante su proceso de obtención.

Por otra parte, respetuosamente solicito se reconsidere la claridad de la antigua reivindicación 39 (nueva reivindicación 35), debido a que la composición se reclama a partir de sus componentes, es decir de la población de TILs ya definida en la reivindicación 33 por ser una población aislada obtenida a partir del método de la invención y un portador farmacéuticamente aceptable. Estos términos no solo son comprensibles por el contexto de la descripción, sino que son comúnmente usados en el campo.

En vista de lo anterior, las objeciones relacionadas con la claridad, la concisión y el soporte en la descripción del capítulo reivindicatorio, han quedado completamente superadas.

7. Novedad

El examinador afirma en su concepto técnico que:

- las antiguas reivindicaciones 35, 36, 38 y 39 no serían nuevas a la luz de las enseñanzas del documento D1 (WO2018182817),
- las reivindicaciones 35, 36 y 39 no serían consideradas nuevas a la luz del documento D2 (WO2018081473) y D3 (Jin J, et al. J Immunother., "Simplified Method of the Growth of Human Tumor Infiltrating Lymphocytes (TIL) in Gas-Permeable Flasks to Numbers Needed for Patient Treatment"), y,
- la reivindicación 35 tampoco sería considerada nueva a la luz del documento D4 (Massaro A F, et al. Cancer Research, "Solid-phase anti-CD3 antibody activation of murine tumor-infiltrating lymphocytes").

En este sentido, quisiera destacar que el artículo 16 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina establece que la invención se considera nueva cuando no está incluida en el estado de la técnica. Es decir, según el espíritu de la norma legal indicada, la invención no se

considera nueva si está "*comprendida*" en el estado de la técnica, dicha norma se refiere, por supuesto, a la invención en su totalidad y no a sus componentes de forma aislada.

A este respecto, considero pertinente subrayar que, para considerar que el objeto de la solicitud no es nuevo, deben tenerse en cuenta al menos los siguientes aspectos:

- El objeto de la invención objeto de estudio debe estar contenido TOTAL y ABSOLUTAMENTE en el documento mencionado anteriormente; y
- La comparación del objeto de la invención en cuestión y el estado de la técnica no debe centrarse ni limitarse a los elementos de esta que se conocen previamente, sino de lo inédito y novedoso que la caracteriza. Esto significa que debe analizarse el valor añadido que aporta la invención con sus nuevas características al campo técnico al que pertenece la solicitud en estudio.

Esto significa que, para que un documento del estado de la técnica afecte a la novedad de una solicitud, debe revelar todas y cada una de las características técnicas que lo definen.

Cabe señalar que el examinador considera que los documento D1 a D4 anticipan el objeto de la presente solicitud porque reclama una composición de linfocitos infiltrantes de tumor que comprende tanto la población de dichos linfocitos como un portador farmacéuticamente aceptable. Además, D1 también menciona una composición con y un medio de crioconservación en donde el medio de crioconservación contiene DMSO al 7- 10%.

En este sentido, el solicitante desea aclarar las diferencias puntuales existentes entre las poblaciones de TILs de dichas composiciones, en donde dicha población representa el componente activo que permite caracterizar cada una de ellas y por ende proporciona la novedad de la presente invención. En ese sentido se puntualiza en los métodos o procesos para la obtención de dicha población de TILs en cada documento del estado del arte, que definen la población obtenida:

- En primer lugar, D1 divulga un proceso de dos partes para la expansión de los TIL en el que la primera expansión se produce durante 3-14 días en un medio de cultivo suplementado con IL-2, seguida de una segunda expansión durante 1-11 días en un medio de cultivo suplementado con IL-2, OKT-3 y APC.

- D2 también divulga un proceso de dos partes para la expansión de TIL, en el que la primera expansión ocurre en presencia de IL-2 y la segunda con IL-2, OKT-3 y APC durante al menos 14 días.
- D3 divulga una expansión inicial de los fragmentos tumorales durante dos semanas, seguida de un cultivo REP suplementado con IL-2, PBMC y anti-CD3 durante aproximadamente 7 días.
- Por último, D4 se refiere a la activación anti-CD3 de las células murinas, ya que no aborda nada con respecto a un proceso de expansión en dos etapas, como se menciona en las reivindicaciones presentadas junto a este memorial.

En vista de lo anterior, ninguna de estas referencias revela todas las características divulgadas en el capítulo reivindicatorio completo, en donde se reclama una primera expansión de cebado durante un período de aproximadamente 1 a 7 u 8 días en medio de cultivo suplementado con IL-2, OKT-3 y APC, seguida de una segunda expansión rápida durante 1-11 días con los mismos factores suplementarios de IL-2, OKT-3 y APC.

De hecho, se reconoce que dichos documentos no divulgan características puntuales como:

- D1 no enseña el medio de cultivo celular para el cultivo inicial de TIL (o primera expansión de cebado) que comprende IL-2, OKT-3 y APC.
- D2 enseña que en la etapa pre-REP, el tejido tumoral o las células del tejido tumoral pueden ser tratadas con células alimentadoras irradiadas y anticuerpos anti-CD3 para lograr un efecto deseado, como el aumento en el número de TILs (párr. [0143] de la PCT).

Por otra parte, la duración del cultivo está en el centro de la actividad inventiva de los procedimientos reivindicados, debido a que el objetivo técnico de cualquier proceso de expansión de TIL es hacer crecer rápidamente una población terapéutica de TIL que pueda ser empleada posteriormente para el tratamiento del cáncer. Con este fin, un proceso que comprenda cualquier característica superior sobre lo que se conoce en la técnica (por ejemplo, mayor crecimiento celular terapéutico, mayor actividad citolítica o cultivo más rápido) abordaría mejor este objetivo técnico y representaría una diferencia sustancial que otorga el carácter novedoso. Al lograrlo con una característica superior, la presente invención también demuestra necesariamente su

carácter inventivo sobre el arte previo como resultado de abordar de manera más completa el problema técnico objetivo.

Además, los primeros pasos de expansión del proceso reivindicado comprenden además una duración de cultivo reducida en comparación con las referencias citadas. En resumen, el protocolo y los reactivos para las presentes reivindicaciones difieren de los de las referencias citadas.

De ahí que el solicitante considera que una persona experta en la materia no estaría motivada como tal sobre la base de las divulgaciones detalladas anteriormente debido, al menos, al momento de los procesos citados en las reivindicaciones y mucho menos derivar una composición como la que reclama la presente solicitud.

Así pues, dado que los documentos D1 a D4 no divulgan de manera TOTAL Y ABSOLUTA las características técnicas esenciales de la materia definida en las reivindicaciones independientes de la presente solicitud, es posible concluir que la presente solicitud cumple el requisito de novedad estipulado en el artículo 16 de la Decisión 486.

8. Conclusión

Con las modificaciones introducidas y los argumentos presentados puede concluirse que:

- i) El nuevo título de la solicitud es claro y se relaciona con el objeto reclamado, cumpliendo así con el literal d) del artículo 27 de la Decisión 486 de 2000;
- ii) El nuevo pliego reivindicatorio se ajusta a las disposiciones del Artículo 34 de la Decisión 486/00;
- iii) La invención de la presente solicitud es clara y cuenta con el debido sustento en el capítulo descriptivo, a la vez que se encuentra divulgada de manera suficientemente completa, cumpliendo así con los requerimientos de los Artículos 30 y 28 de la Decisión 486;
- iv) La presente invención se relaciona con materia susceptible de patentabilidad, cumpliendo así con los requerimientos del Artículo 14 de la Decisión 486;

- v) La invención de la presente solicitud no había sido divulgada previamente en el estado de la técnica cumpliendo así con los requerimientos del Artículo 16 de la Decisión 486.

Por tanto, atentamente me permito solicitar a ese Despacho otorgar el privilegio de patente solicitado a la solicitud en estudio, toda vez que cumple a cabalidad con los requerimientos de la Decisión 486 de 2000.

Asimismo, respetuosamente solicito a ese Despacho pronunciarse en relación con todos los argumentos presentados en este memorial dando estricta aplicación al principio del debido proceso consagrado en el artículo 29 de la Constitución Nacional.

9. Anexos

- Nuevo capítulo reivindicatorio conformado por sesenta y tres (63) reivindicaciones.
- Recibo de pago por concepto de modificaciones a las reivindicaciones y nuevo examen de patentabilidad.

Señora Directora,


CAROLINA DAZA MONTALVO
C.C. 66.783.790 de Palmira Valle
TP-141563 CSJ
notificaciones@clarkemodet.com.co

REIVINDICACIONES

1. Un método *in vitro* para expandir linfocitos infiltrantes de tumor (TILs), en donde el método consiste en:

- (a) realizar una primera expansión con sensibilización mediante el cultivo de la primera población de TILs en un medio de cultivo celular que comprende IL-2, OKT-3 y células presentadoras de antígeno (APCs) para producir una segunda población de TILs, en donde la primera expansión con sensibilización se realiza en un recipiente que comprende una primera área de superficie permeable a los gases, en donde la primera expansión con sensibilización se realiza durante un primer período de aproximadamente 1 a 7/8 días para obtener la segunda población de TILs, en donde la segunda población de TILs es mayor en número que la primera población de TILs;
- (b) realizar una segunda expansión rápida mediante el suplemento al medio de cultivo celular de la segunda población de TILs con IL-2, OKT-3 y APCs adicionales, para producir una tercera población de TILs, en donde el número de APCs añadidas en la segunda expansión rápida es al menos el doble del número de APCs añadidas en la etapa (b), en donde la segunda expansión rápida se realiza durante un segundo período de aproximadamente 1 a 11 días para obtener la tercera población de TILs, en donde la tercera población de TILs es una población terapéutica de TILs, en donde la segunda expansión rápida se realiza en un recipiente que comprende una segunda área de superficie permeable a los gases; y
- (c) cosechar la población terapéutica de TILs que se obtiene en la etapa (c);

en donde, la muestra de TILs es obtenida de un tumor y procesada en múltiples fragmentos de tumor.

2. Un método *in vitro* para expandir linfocitos infiltrantes de tumor (TILs) en donde el método consiste en:

- (a) realizar una primera expansión con sensibilización mediante el cultivo de la primera población de TILs en un medio de cultivo celular que comprende IL-2, OKT-3 y, que comprende células presentadoras de antígeno (APCs), para producir una segunda población de TILs, en donde la primera expansión con sensibilización se realiza durante un primer período de aproximadamente 1

- a 7/8 días para obtener la segunda población de TILs, en donde la segunda población de TILs es mayor en número que la primera población de TILs;
- (b) realizar una segunda expansión rápida al poner en contacto la segunda población de TILs con un medio de cultivo celular que comprende IL-2, OKT-3 y APCs, para producir una tercera población de TILs, en donde la segunda expansión rápida se realiza durante un segundo período de aproximadamente 1 a 11 días para obtener la tercera población de TILs, en donde la tercera población de TILs es una población terapéutica de TILs; y
- (c) cosechar la población terapéutica de TILs que se obtiene en la etapa (b).
3. El método de la reivindicación 2, en donde en la etapa (b) el medio de cultivo celular comprende además células presentadoras de antígeno (APCs), y en donde el número de APCs en el medio de cultivo en la etapa (c) es mayor que el número de APCs en el medio de cultivo en la etapa (b).
4. Un método *in vitro* para expandir linfocitos infiltrantes de tumor (TILs), en donde el método consiste en:
- (a) realizar una primera expansión con sensibilización mediante el cultivo de una primera población de TILs, dicha primera población de TILs se obtiene mediante el procesamiento de una muestra tumoral de un tumor extirpado de un sujeto, en múltiples fragmentos tumorales, en un medio de cultivo celular que comprende IL-2, OKT-3 y células presentadoras de antígeno (APCs) para producir una segunda población de TILs, en donde la primera expansión con sensibilización se realiza en un recipiente que comprende una primera área de superficie permeable a los gases, en donde la primera expansión con sensibilización se realiza durante el primer período de aproximadamente de 1 a 7/8 días para obtener la segunda población de TILs, en donde la segunda población de TILs es mayor en número que la primera población de TILs;
- (b) realizar una segunda expansión rápida poniendo en contacto la segunda población de TILs con un medio de cultivo celular de la segunda población de TILs con IL-2, OKT-3 y APCs adicionales, para producir una tercera población de TILs, en donde el número de APCs en la segunda expansión rápida es al menos el doble del número de APCs en la etapa (a), en donde la segunda expansión rápida se realiza durante un segundo período de aproximadamente 1 a 11 días para obtener la tercera población de TILs, en

- donde la tercera población de TILs es una población terapéutica de TILs, en donde la segunda expansión rápida se realiza en un recipiente que comprende una segunda área de superficie permeable a los gases; y
- (c) cosechar la población terapéutica de TILs que se obtiene en la etapa (b).
5. Un método *in vitro* para expandir linfocitos infiltrantes de tumor (TILs), en donde el método consiste en:
- (a) realizar una primera expansión con sensibilización mediante el cultivo de una primera población de TILs en un medio de cultivo celular que comprende IL-2, opcionalmente OKT-3 y, opcionalmente, que comprende células presentadoras de antígeno (APCs), para producir una segunda población de TILs, en donde la primera expansión con sensibilización se realiza durante un primer período de aproximadamente 1 a 7/8 días para obtener la segunda población de TILs, en donde la segunda población de TILs es mayor en número que la primera población de TILs;
 - (b) realizar una segunda expansión rápida poniendo en contacto la segunda población de TILs con un medio de cultivo celular que comprende IL-2, OKT-3 y APCs, para producir una tercera población de TILs, en donde la segunda expansión rápida se realiza durante un segundo período de aproximadamente 1 a 11 días para obtener la tercera población de TILs, en donde la tercera población de TILs es una población terapéutica de TILs; y
 - (c) cosechar la población terapéutica de TILs que se obtiene en la etapa (b).
6. El método de la reivindicación 5, en donde en la etapa (a) el medio de cultivo celular comprende además células presentadoras de antígeno (APCs), y en donde el número de APCs en el medio de cultivo en la etapa (b) es mayor que el número de APCs en el medio de cultivo en la etapa (a).
7. El método de la reivindicación 1 o 3 o 6, en donde la relación del número de APCs en la segunda expansión rápida y el número de APCs en la primera expansión con sensibilización está en un intervalo de aproximadamente 1,5:1 a aproximadamente 20:1, de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 5:1 o de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 3:1, en donde opcionalmente la relación del número de APCs en la segunda expansión rápida y el número de APCs en la primera expansión con sensibilización está en un intervalo de aproximadamente 1,5:1 a aproximadamente 10:1, en donde opcionalmente la relación del número de APCs en la segunda

expansión rápida y el número de APCs en la primera expansión con sensibilización es aproximadamente 2:1.

8. El método de la reivindicación 1 o 3 o 6, en donde el número de APCs en la primera expansión con sensibilización está en un intervalo de aproximadamente $1,0 \times 10^6$ APCs/cm² a aproximadamente $4,5 \times 10^6$ APCs/cm², y en donde el número de APCs en la segunda expansión rápida está en un intervalo de aproximadamente $2,5 \times 10^6$ APCs/cm² a aproximadamente $7,5 \times 10^6$ APCs/cm² o el número de APCs en la primera expansión con sensibilización está en un intervalo de aproximadamente $1,5 \times 10^6$ APCs/cm² a aproximadamente $3,5 \times 10^6$ APCs/cm², y en donde el número de APCs en la segunda expansión rápida está en un intervalo de aproximadamente $3,5 \times 10^6$ APCs/cm² a aproximadamente $6,0 \times 10^6$ APCs/cm², en donde opcionalmente el número de APCs en la primera expansión con sensibilización está en un intervalo de aproximadamente $2,0 \times 10^6$ APCs/cm² a aproximadamente $3,0 \times 10^6$ APCs/cm², y en donde el número de APCs en la segunda expansión rápida está en un intervalo de aproximadamente $4,0 \times 10^6$ APCs/cm² a aproximadamente $5,5 \times 10^6$ APCs/cm² o el número de APCs en la primera expansión con sensibilización está en un intervalo de aproximadamente 1×10^8 APCs a aproximadamente $3,5 \times 10^8$ APCs, y en donde el número de APCs en la segunda expansión rápida está en un intervalo de aproximadamente $3,5 \times 10^8$ APCs a aproximadamente 1×10^9 APCs, opcionalmente en donde el número de APCs en la primera expansión con sensibilización está en un intervalo de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ APCs a aproximadamente 3×10^8 APCs, y en donde el número de APCs en la segunda expansión rápida está en el intervalo de aproximadamente 4×10^8 APCs a aproximadamente $7,5 \times 10^8$ APCs, o en donde el número de APCs en la primera expansión con sensibilización está en un intervalo de aproximadamente 2×10^8 APCs a aproximadamente $2,5 \times 10^8$ APCs, y en donde el número de APCs en la segunda expansión rápida está en un intervalo de aproximadamente $4,5 \times 10^8$ APCs a aproximadamente $5,5 \times 10^8$ APCs.
9. El método de la reivindicación 1 o 3 o 6, en donde aproximadamente $2,5 \times 10^8$ APCs se añaden a la primera expansión con sensibilización y 5×10^8 APCs se añaden a la segunda expansión rápida, en el que la segunda población de TILs es al menos 50 veces mayor en número que la primera población de TILs.
10. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde la relación del número de TILs en la segunda población de TILs y el número de TILs en la primera población de TILs es de aproximadamente 1,5:1 a aproximadamente 100:1, en donde la

relación del número de TILs en la segunda población de TILs y el número de TILs en la primera población de TILs es de aproximadamente 50:1, alrededor de 25:1, alrededor de 20:1 o alrededor de 10:1.

11. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde los múltiples fragmentos tumorales se distribuyen en una pluralidad de recipientes separados cada uno comprendiendo una primera área de superficie permeable a los gases, en cada uno de los cuales se obtiene la segunda población de TILs a partir de la primera población de TILs en la etapa de primera expansión con sensibilización, y la tercera población de TILs se obtiene de la segunda población de TILs en la etapa de la segunda expansión rápida, y en donde la población terapéutica de TILs que se obtiene de la tercera población de TILs se recolecta de cada uno de la pluralidad de recipientes y se combina para producir la población de TILs cosechada, en donde opcionalmente la pluralidad de recipientes separados comprende al menos dos recipientes separados y/o la pluralidad de recipientes separados comprende de dos a veinte recipientes separados, en donde opcionalmente la pluralidad de recipientes separados comprende de dos a diez recipientes separados o la pluralidad de recipientes separados comprende de dos a cinco recipientes separados, y además en donde opcionalmente cada uno de los recipientes separados comprende una primera área de superficie permeable a los gases.
12. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde los múltiples fragmentos tumorales se distribuyen en un recipiente único, en donde el recipiente único comprende una primera área de superficie permeable a los gases, opcionalmente en donde en la etapa de la primera expansión con sensibilización, las APCs se disponen en capas sobre la primera área de superficie permeable a los gases con un espesor promedio de aproximadamente 1,5 capas celulares a aproximadamente 2,5 capas celulares, o en donde en la etapa de la primera expansión con sensibilización, las APCs se disponen en capas sobre la primera área de superficie permeable a los gases con un espesor promedio de aproximadamente 2 capas celulares.
13. El método de la reivindicación 11 o 12, en donde en la etapa de cebado de la primera expansión, el medio de cultivo celular comprende células presentadoras de antígeno (APCs) y las APCs se colocan en capas sobre la primera área de superficie permeable al gas del recipiente único o la primera área de superficie permeable al

gas de cada uno de la pluralidad de recipientes separados con un espesor medio de aproximadamente una capa de celdas a aproximadamente tres capas de células.

14. El método de la reivindicación 12 o 13, en donde en la etapa de la segunda expansión rápida, las APCs se disponen en capas sobre la primera área de superficie permeable a los gases del recipiente único o la primera área de superficie permeable a los gases de cada uno de la pluralidad de recipientes separados con un espesor de aproximadamente 3 capas celulares a aproximadamente 5 capas celulares, en donde opcionalmente en la etapa de la segunda expansión rápida, las APCs se disponen en capas sobre la primera área de superficie permeable a los gases del recipiente único o la primera área de superficie permeable a los gases de cada uno de la pluralidad de recipientes separados con un espesor de aproximadamente 3,5 capas de células a aproximadamente 4,5 capas de células o en el paso de la segunda expansión rápida, las APCs se superponen en capas sobre el primer recipiente único o la primera área de superficie permeable a los gases o la primera área de superficie permeable al gas de cada uno de la pluralidad de recipientes separados con un espesor de aproximadamente 4 capas celulares.
15. El método de cualquiera de las reivindicaciones 2-10, en donde en la etapa de la primera expansión con sensibilización, la primera expansión con sensibilización se realiza en un primer recipiente que comprende una primera área de superficie permeable a los gases y en la etapa de la segunda expansión rápida la segunda expansión rápida se realiza en un segundo recipiente que comprende una segunda superficie permeable a los gases, en donde opcionalmente el segundo recipiente es más grande que el primer recipiente o en la etapa de la primera expansión con sensibilización, el medio de cultivo celular comprende células presentadoras de antígeno (APCs) y las APCs se disponen en capas sobre la primera área de superficie permeable a los gases con un espesor promedio de aproximadamente una capa celular a aproximadamente tres capas celulares, en donde opcionalmente en la etapa de la primera expansión con sensibilización, las APCs se disponen en capas sobre la primera área de superficie permeable a los gases con un espesor promedio de aproximadamente 1,5 capas celulares a aproximadamente 2,5 capas celulares, o en la etapa de la primera expansión con sensibilización, las APCs se disponen en capas sobre la primera área de superficie permeable a los gases con un espesor promedio de aproximadamente 2 capas celulares.

16. El método de la reivindicación 15, en donde en la etapa de la segunda expansión rápida, las APCs se disponen en capas sobre la segunda área de superficie permeable a los gases con un espesor promedio de aproximadamente 3 capas celulares a aproximadamente 5 capas celulares, en donde opcionalmente en la etapa de la segunda expansión rápida, las APCs se disponen en capas sobre la segunda área de superficie permeable a los gases con un espesor promedio de aproximadamente 3,5 capas celulares a aproximadamente 4,5 capas celulares, o en donde en la etapa de la segunda expansión rápida, las APCs se disponen en capas sobre la segunda área de superficie permeable a los gases con un espesor promedio de aproximadamente 4 capas celulares.
17. El método de cualquiera de las reivindicaciones 2-14, en donde para cada recipiente en el que se realiza la primera expansión con sensibilización en una primera población de TILs, la segunda expansión rápida se realiza en el mismo recipiente en la segunda población de TILs producida a partir de dicha primera población de TILs, en donde opcionalmente cada recipiente comprende una primera área de superficie permeable a los gases, en donde opcionalmente en la etapa de la primera expansión con sensibilización, el medio de cultivo celular comprende células presentadoras de antígeno (APCs) y las APCs se disponen en capas sobre la primera área de superficie permeable a los gases con un espesor promedio de aproximadamente una capa celular a aproximadamente tres capas celulares, en donde opcionalmente en la etapa de la primera expansión con sensibilización, las APCs se disponen en capas sobre la primera área de superficie permeable a los gases con un espesor promedio de aproximadamente 1,5 capas celulares a aproximadamente 2,5 capas celulares.
18. El método de la reivindicación 17, en donde en la etapa de la primera expansión con sensibilización, las APCs se disponen en capas sobre la primera área de superficie permeable a los gases con un espesor promedio de aproximadamente 2 capas celulares, en donde opcionalmente en la etapa de la segunda expansión rápida, las APCs se disponen en capas sobre la primera área de superficie permeable a los gases con un espesor promedio de aproximadamente 3 capas celulares a aproximadamente 5 capas celulares, en donde opcionalmente en la etapa de la segunda expansión rápida, las APCs se disponen en capas sobre la primera área de superficie permeable a los gases con un espesor promedio de aproximadamente 3,5 capas celulares a aproximadamente 4,5 capas celulares, o en donde en la etapa de la segunda expansión rápida, las APCs se disponen en

capas sobre la primera área de superficie permeable a los gases con un espesor promedio de aproximadamente 4 capas celulares.

19. El método de cualquiera de las reivindicaciones 2-12, 15 y 17, en donde para cada recipiente en el que se realiza la primera expansión con sensibilización en una primera población de TILs en la etapa de la primera expansión con sensibilización, el recipiente comprende una primera área de superficie permeable a los gases, el medio de cultivo celular comprende células presentadoras de antígeno (APCs), y las APCs se disponen en capas sobre la primera área de superficie permeable a los gases, y en donde la relación del número promedio de capas de APCs dispuestas en capas en la etapa de la primera expansión con sensibilización y el número promedio de capas de APCs dispuestas en capas en la etapa de la segunda expansión rápida está en un intervalo de aproximadamente 1:1,1 a aproximadamente 1:10, en donde opcionalmente la relación del número promedio de capas de APCs dispuestas en capas en la etapa de la primera expansión con sensibilización y el número promedio de capas de las APCs dispuestas en capas en la etapa de la segunda expansión rápida está en un intervalo de aproximadamente 1:1,2 a aproximadamente 1:8, de aproximadamente 1:1,3 a aproximadamente 1:7, de aproximadamente 1:1,4 a aproximadamente 1:6, de aproximadamente 1:1,5 a aproximadamente 1:5, de aproximadamente 1:1,6 a aproximadamente 1:4, de aproximadamente 1:1,7 a aproximadamente 1:3,5, de aproximadamente 1:1,8 a aproximadamente 1:3, de aproximadamente 1:1,9 a aproximadamente 1:2,5, opcionalmente en donde la relación del número promedio de capas de las APCs dispuestas en capas en la etapa de la primera expansión con sensibilización y el número promedio de capas de las APCs dispuestas en capas en la etapa de la segunda expansión rápida es de aproximadamente 1:2.
20. El método de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde después de 2 a 3 días en la etapa de la segunda expansión rápida, el medio de cultivo celular se suplementa con IL-2 adicional, que comprende además crioconservar la población de TILs cosechada en la etapa de cosechar la población terapéutica de TILs mediante el uso de un proceso de crioconservación.
21. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde las células presentadoras de antígeno son células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) o las células presentadoras de antígenos son células

presentadoras de antígenos artificiales, en las que opcionalmente, en donde las PBMCs se irradian y son alogénicas.

22. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde en la etapa de la primera expansión con sensibilización, el medio de cultivo celular comprende células mononucleares de sangre periférica (PBMCs), y en donde el número total de PBMCs añadidas al medio de cultivo celular en la etapa de la primera expansión con sensibilización es de aproximadamente $2,5 \times 10^8$ y/o en donde en la etapa de la segunda expansión rápida, las células presentadoras de antígeno (APCs) en el medio de cultivo celular son células mononucleares de sangre periférica (PBMCs), y en donde el número total de PBMCs añadidas al medio de cultivo celular en la etapa de la segunda expansión rápida es de aproximadamente 5×10^8 .
23. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la cosecha en la etapa de cosechar la población terapéutica de TILs se realiza mediante el uso de un sistema de procesamiento celular basado en membranas, en donde opcionalmente en la etapa de cosecha la cosecha de la población terapéutica de TILs se realiza mediante el uso de un sistema de procesamiento de células LOVO.
24. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde los fragmentos múltiples comprenden aproximadamente 60 fragmentos por recipiente en la etapa de la primera expansión con sensibilización, en donde cada fragmento tiene un volumen de aproximadamente 27 mm^3 , en donde opcionalmente los fragmentos múltiples comprenden de aproximadamente 30 a aproximadamente 60 fragmentos con un volumen total de aproximadamente 1300 mm^3 a aproximadamente 1500 mm^3 o los fragmentos múltiples comprenden aproximadamente 50 fragmentos con un volumen total de aproximadamente 1350 mm^3 , en donde opcionalmente los fragmentos múltiples comprenden aproximadamente 50 fragmentos con una masa total de aproximadamente 1 gramo a aproximadamente 1,5 gramos.
25. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el medio de cultivo celular se proporciona en un recipiente seleccionado del grupo que consiste en un recipiente G y una bolsa de células Xuri.

26. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la concentración de IL-2 es de aproximadamente 10 000 UI/ml a aproximadamente 5000 UI/ml, en donde opcionalmente la concentración de IL-2 es de aproximadamente 6000 UI/ml.
27. El método de acuerdo con la reivindicación 1 u 11, en donde la bolsa de infusión en la etapa de transferir la población terapéutica de TILs cosechada a una bolsa de infusión es una bolsa de infusión que contiene HypoThermosol.
28. El método de acuerdo con la reivindicación 21, en donde el medio de crioconservación comprende dimetilsulfóxido (DMSO), del 7 % al 10 %.
29. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la primera expansión con sensibilización y la segunda expansión rápida se realizan cada uno individualmente dentro de un período de 5 días, 6 días o 7 días, en donde opcionalmente la primera expansión con sensibilización se realiza dentro de un período de 5 días, 6 días o 7 días y/o la segunda expansión rápida se realiza dentro de un período de 7 días, 8 días o 9 días.
30. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-28, en donde la etapa de la primera expansión con sensibilización y la etapa de la segunda expansión rápida se realizan cada uno individualmente dentro de un período de 7 días, en donde opcionalmente las etapas de la primera expansión con sensibilización a la cosecha de la población terapéutica de TILs se realizan dentro de un período de:
 - a. aproximadamente 14 días a aproximadamente 16 días,
 - b. aproximadamente 15 días a aproximadamente 16 días,
 - c. Dentro de un período de aproximadamente 14 días,
 - d. Dentro de un periodo de aproximadamente 15 días, o
 - e. Dentro de un periodo de aproximadamente 16 días.
31. El método de conformidad con la reivindicación 30, en donde el método comprende además la etapa de crioconservar la población terapéutica de TILs cosechada mediante el uso de un proceso de crioconservación, en donde las etapas de la primera expansión con sensibilización a la cosecha de la población terapéutica de TILs y crioconservación se realizan en 16 días o menos.

32. Una composición farmacéutica, en donde la composición farmacéutica comprende una población terapéutica de TILs cosechada en el paso de cosecha del método de la reivindicación 31, en donde el número de TILs es de $2,3 \times 10^{10}$ a $13,7 \times 10^{10}$.
33. La población aislada de linfocitos infiltrantes de tumor (TILs) elaborada mediante el método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 31.
34. Una composición de linfocitos infiltrantes de tumor (TILs) que comprende la población terapéutica de TILs de la reivindicación 33 y un portador farmacéuticamente aceptable.
35. Una preparación crioconservada de la composición de TILs de la reivindicación 34.
36. Un método *in vitro* para expandir células T que consiste en:
 - (a) realizar una primera expansión con sensibilización de una primera población de células T, mediante el cultivo de la primera población de células T, para efectuar el crecimiento y sensibilizar una activación de la primera población de células T;
 - (b) después que la activación de la primera población de células T sensibilizadas en la etapa (a) comience a decaer, realizar una segunda expansión rápida de la primera población de células T mediante el cultivo de la primera población de células T para lograr el crecimiento y estimular la activación de la primera población de células T para obtener una segunda población de células T; y
 - (c) cosechar la segunda población de células T.
37. El método de la reivindicación 36, en donde la primera expansión con sensibilización de la etapa (a) se realiza durante un período de hasta 7 días o hasta 8 días y/o la segunda expansión rápida de la etapa (b) se realiza durante un período de hasta 11 días, en donde opcionalmente la segunda expansión rápida de la etapa (b) se realiza durante un período de hasta 9 días O hasta 8 días.
38. El método de la reivindicación 36 o la reivindicación 37, en donde la primera expansión con sensibilización de la etapa (a) se realiza durante un período de 7 días y la segunda expansión rápida de la etapa (b) se realiza durante un período de 9 días, o en donde la primera expansión con sensibilización de la etapa (a) se

realiza durante un período de 8 días y la segunda expansión rápida de la etapa (b) se realiza durante un período de 8 días.

39. El método de cualquiera de las reivindicaciones 36-38, en donde en la etapa (a) la primera población de células T se cultiva en un primer medio de cultivo que comprende OKT-3 e IL-2, en donde el primer medio de cultivo comprende OKT-3, IL-2 y células presentadoras de antígeno (APCs).
40. El método de cualquiera de las reivindicaciones 36-39, en donde en la etapa (b) la primera población de células T se cultiva en un segundo medio de cultivo que comprende OKT-3, IL-2 y células presentadoras de antígeno (APCs), en donde opcionalmente en la etapa (a) la primera población de células T se cultiva en un primer medio de cultivo en un recipiente que comprende una primera superficie permeable a los gases, en donde el primer medio de cultivo comprende opcionalmente OKT-3, IL-2 y, opcionalmente, una primera población de células presentadoras de antígeno (APCs), en donde la primera población de APCs es exógena con respecto al donante de la primera población de células T y la primera población de APCs se dispone en capas sobre la primera superficie permeable a los gases, en donde en la etapa (b) la primera población de células T se cultiva en un segundo medio de cultivo en el recipiente, en donde el segundo medio de cultivo comprende OKT-3, IL-2 y una segunda población de APCs, en donde la segunda población de APCs es exógena con respecto al donante de la primera población de células T y la segunda población de APCs se dispone en capas sobre la primera superficie permeable a los gases, y en donde la segunda población de APCs es mayor que la primera población de APCs.
41. El método de la reivindicación 40, en donde la relación del número de APCs en la segunda población de APCs y el número de APCs en la primera población de APCs es de aproximadamente 2:1 el número de APCs en la primera población de APCs es aproximadamente $2,5 \times 10^8$ y el número de APCs en la segunda población de APCs es aproximadamente 5×10^8 , en donde opcionalmente en la etapa (a) la primera población de APCs se dispone en capas sobre la primera superficie permeable a los gases con un espesor promedio de 2 capas de APCs, y/o en la etapa (b) la segunda población de APCs se dispone en capas sobre la primera superficie permeable a los gases con un espesor promedio en un intervalo de 4 a 8 capas de APCs.

42. El método de la reivindicación 40 o 41, en donde la relación del número promedio de capas de las APCs dispuestas en capas sobre la primera superficie permeable a los gases en la etapa (b) y el número promedio de capas de las APCs dispuestas en capas sobre la primera superficie permeable a los gases en la etapa (a) es 2:1, en donde opcionalmente las APCs son células mononucleares de sangre periférica (PBMCs).
43. El método de cualquiera de las reivindicaciones 40-42, en donde las células T son linfocitos infiltrantes de tumor (TILs), en donde las células T son linfocitos infiltrantes de la médula (MILs) o linfocitos de sangre periférica (PBLs).
44. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-32 o 36-43, en donde el medio de cultivo celular es un medio definido y/o un medio libre de suero, en donde opcionalmente el medio definido comprende transferrina (opcionalmente recombinante), insulina (opcionalmente recombinante) y albúmina (opcionalmente recombinante) o el medio libre de suero o definido comprende un medio de cultivo de células basales y un suplemento de suero y/o un sustituto de suero, en donde opcionalmente el suplemento de suero o el reemplazo de suero se selecciona del grupo que consiste en el suplemento de suero de expansión de células T CTS™ OpTmizer y el reemplazo de suero de células inmunitarias CTS™ o el medio de cultivo de células basales se selecciona del grupo que consiste en medio basal para la expansión de células T CTS™ OpTmizer™, SFM para la expansión de células T CTS™ OpTmizer™, medio AIM-V CTS™, SFM AIM-V CTS™, medio libre de compuestos xenogénicos para la expansión de células T LymphoONE™, medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), medio esencial mínimo (MEM), medio basal de Eagle (BME), RPMI 1640, F-10, F-12, medio esencial mínimo (αMEM), medio esencial mínimo de Glasgow (G-MEM), medio de crecimiento RPMI y medio de Dulbecco modificado por Iscove.
45. El método de la reivindicación 44, en donde el medio de cultivo celular comprende
- una o más albúminas o sustitutos de albúmina.
 - una o más vitaminas, una o más transferrinas o sustitutos de transferrina.
 - uno o más antioxidantes, una o más insulinas o sustitutos de insulina.
 - uno o más precursores de colágeno, uno o más antibióticos y uno o más oligoelementos,

en donde el medio de cultivo celular comprende uno o más aminoácidos o el medio de cultivo celular comprende albúmina.

46. El método de cualquiera de las reivindicaciones 44 o 45, en donde el medio de cultivo celular comprende albúmina y uno o más ingredientes seleccionados del grupo que consiste en glicina, L-histidina, L-isoleucina, L-metionina, L-fenilalanina, L-prolina, L-hidroxiprolina, L-serina, L-treonina, L-triptófano, L-tirosina, L-valina, tiamina, glutatión reducido, ácido L-ascórbico-2-fosfato, transferrina saturada de hierro, insulina y compuestos que contienen las porciones de oligoelementos Ag^+ , Al^{3+} , Ba^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Ge^{4+} , Se^{4+} , Br , T , Mn^{2+} , P , Si^{4+} , V^{5+} , Mo^{6+} , Ni^{2+} , Rb^+ , Sn^{2+} y Zr^{4+} 47-52, en donde el medio de cultivo celular comprende además L-glutamina, bicarbonato de sodio y/o 2-mercaptoetanol.
47. El método de cualquiera de las reivindicaciones 44-46, en donde el medio de cultivo celular comprende una concentración del sustituto de suero total (% en volumen) de aproximadamente 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 %, 10 %, 11 %, 12 %, 13 %, 14 %, 15 %, 16 %, 17 %, 18 %, 19 % o 20 % en volumen del medio de cultivo celular, en donde opcionalmente el medio de cultivo celular comprende una concentración del sustituto de suero total de aproximadamente el 3 %, aproximadamente el 5 % o aproximadamente el 10 % del volumen total del medio de cultivo celular.
48. El método de cualquiera de las reivindicaciones 44-47, en donde el medio de cultivo celular comprende además glutamina (es decir, GlutaMAX®) a una concentración de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 10 mM, 0,5 mM a aproximadamente 9 mM, 1 mM a aproximadamente 8 mM, 2 mM a aproximadamente 7 mM, 3 mM a aproximadamente 6 mM, o 4 mM a aproximadamente 5 mM y/o en donde el medio de cultivo celular comprende además 2-mercaptoetanol a una concentración de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 150 mM, de 10 mM a aproximadamente 140 mM, de 15 mM a aproximadamente 130 mM, de 20 mM a aproximadamente 120 mM, de 25 mM a aproximadamente 110 mM, de 30 mM a aproximadamente 100 mM, de 35 mM a aproximadamente 95 mM, de 40 mM a aproximadamente 90 mM, de 45 mM a aproximadamente 85 mM, de 50 mM a aproximadamente 80 mM, de 55 mM a aproximadamente 75 mM, de 60 mM a aproximadamente 70 mM o aproximadamente 65 mM, en donde opcionalmente el medio de cultivo celular comprende además glutamina (es decir, GlutaMAX®) a una concentración de

aproximadamente 2 mM y/o el medio de cultivo celular comprende además 2-mercaptoetanol a una concentración de aproximadamente 55 mM.

49. El método de cualquiera de las reivindicaciones 44-48, en donde el medio de cultivo celular comprende glicina en el intervalo de aproximadamente 5-200 mg/L, L-histidina en el intervalo de aproximadamente 5-250 mg/L, L-isoleucina en el intervalo de aproximadamente 5-300 mg/L, L-metionina en el intervalo de aproximadamente 5-200 mg/L, L-fenilalanina en el intervalo de aproximadamente 5-400 mg/L, L-prolina en el intervalo de aproximadamente 1-1000 mg/L, L-hidroxiprolina en el intervalo de aproximadamente 1-45 mg/L, L-serina en el intervalo de aproximadamente 1-250 mg/L, L-treonina en el intervalo de aproximadamente 10-500 mg/L, L-triptófano en el intervalo de aproximadamente 2-110 mg/L, L-tirosina en el intervalo de aproximadamente 3-175 mg/L, L-valina en el intervalo de aproximadamente 5-500 mg/L, tiamina en el intervalo de aproximadamente 1-20 mg/L, glutatión reducido en el intervalo de aproximadamente 1-20 mg/L, ácido L-ascórbico-2-fosfato en el intervalo de aproximadamente 1-200 mg/L, transferrina saturada con hierro en el intervalo de aproximadamente 1-50 mg/L, insulina en el intervalo de aproximadamente 1-100 mg/L, selenito de sodio en el intervalo de aproximadamente 0,000001-0,0001 mg/L, y/o albúmina (por ejemplo, AlbuMAX® I) en el intervalo de aproximadamente 5000-50 000 mg/L, en donde opcionalmente el medio de cultivo celular comprende uno o más de los ingredientes sin porción de oligoelemento en los intervalos de concentración enumerados en la columna con el título "Intervalo de concentración en medio 1X" en la Tabla A proporcionada en la presente descripción, y/o en donde la osmolaridad del medio de cultivo celular está entre aproximadamente 260 y 350 mOsmol, en donde opcionalmente el medio de cultivo celular comprende además bicarbonato de sodio a aproximadamente 3,7 g/L, o aproximadamente 2,2 g/L.
50. El método de cualquiera de las reivindicaciones 44-49, en donde el medio de cultivo celular comprende además L-glutamina (concentración final de aproximadamente 2 mM), uno o más antibióticos, aminoácidos no esenciales (NEAA; concentración final de aproximadamente 100 μ M), y/o 2-mercaptoetanol (concentración final de aproximadamente 100 μ M), y/o en donde el medio de cultivo celular en el primer y/o segundo recipiente permeable a los gases carece de beta-mercaptoetanol (BME o β ME; también conocido como 2-mercaptoetanol, CAS 60-24-2), en donde opcionalmente el medio de cultivo celular comprende SFM para la expansión de células T CTS OpTmizer, sustituto de suero de células

inmunitarias CTS al 3 %, BME 55 mM y opcionalmente glutamina o el medio de cultivo celular comprende medio basal de expansión de células T CTS™ OpTmizer™ suplementado con suplemento de expansión de células T CTS™ OpTmizer™ (26 ml/L) y SR de células inmunitarias CTS™ al 3 % y Glutamax 2 mM, que opcionalmente comprende además 6000 UI/ml de IL-2, en donde opcionalmente el medio de cultivo celular comprende medio basal de expansión de células T CTS™ OpTmizer™ suplementado con suplemento de expansión de células T CTS™ OpTmizer™ (26 ml/L) y SR de células inmunitarias CTS™ al 3 %, Glutamax 2 mM y, opcionalmente, que comprende además 3000 UI/ml de IL-2.

51. Un método *in vitro* para expandir linfocitos infiltrantes de tumor (TILs) en donde el método consiste en:

(i) realizar una primera expansión con sensibilización mediante el cultivo de la primera población de TILs en un segundo medio de cultivo celular que comprende IL-2, OKT-3 y células presentadoras de antígeno (APCs) para producir una segunda población de TILs, en donde la primera expansión con sensibilización se realiza en un recipiente que comprende una primera área de superficie permeable a los gases, en donde la primera expansión con sensibilización se realiza durante un primer período de aproximadamente 7 u 8 días para obtener la segunda población de TILs, en donde la segunda población de TILs es mayor en número que la primera población de TILs;

(ii) realizar una segunda expansión rápida mediante la suplementación del segundo medio de cultivo celular de la segunda población de TILs con IL-2, OKT-3 y APCs adicionales, para producir una tercera población de TILs, en donde el número de APCs añadidas en la segunda expansión rápida es al menos el doble del número de APCs añadidas en la etapa (ii), en donde la segunda expansión rápida se realiza durante un segundo período de aproximadamente 11 días para obtener la tercera población de TILs, en donde la tercera población de TILs es una población terapéutica de TILs, en donde la segunda expansión rápida se realiza en un recipiente que comprende una segunda área de superficie permeable a los gases; y

(iii) cosechar la población terapéutica de TILs que se obtiene en la etapa (ii);

En donde la muestra de TILs se obtiene de un tumor y se cultiva la muestra de tumor en un primer medio de cultivo celular que comprende IL-2 durante aproximadamente 3 días.

52. Un método *in vitro* para expandir linfocitos infiltrantes de tumor (TILs), en donde el método consiste en:
- (i) realizar una primera expansión con sensibilización mediante el cultivo de la primera población de TILs en un segundo medio de cultivo celular que comprende IL-2, OKT-3 y células presentadoras de antígeno (APCs) para producir una segunda población de TILs, en donde la primera expansión con sensibilización se realiza durante un primer período de aproximadamente 7 u 8 días para obtener la segunda población de TILs, en donde la segunda población de TILs es mayor en número que la primera población de TILs;
 - (ii) realizar una segunda expansión rápida al poner en contacto la segunda población de TILs con un tercer medio de cultivo celular que comprende IL-2, OKT-3 y APCs, para producir una tercera población de TILs, en donde la segunda expansión rápida se realiza durante un segundo período de aproximadamente 11 días para obtener la tercera población de TILs, en donde la tercera población de TILs es una población terapéutica de TILs; y
 - (iii) cosechar la población terapéutica de TILs que se obtiene en la etapa (ii);

En donde la muestra de TILs se obtiene de un tumor y se cultiva la muestra de tumor en un primer medio de cultivo celular que comprende IL-2 durante aproximadamente 3 días.

53. El método de la reivindicación 51 o 52, en donde después del día 5 del segundo período el cultivo se divide en 2 o más subcultivos y cada subcultivo se suplementa con cuarto medio de cultivo que comprende IL-2 y se cultiva durante aproximadamente 6 días, en donde opcionalmente después del día 5 del segundo período, el cultivo se divide en hasta 5 subcultivos y/o todas las etapas del método se completan en aproximadamente 22 días.
54. Un método *in vitro* para expandir células T, en donde el método consiste en:
- (i) realizar una primera expansión con sensibilización de una primera población de células T de una muestra de tumor mediante el cultivo de la primera población de células T para efectuar el crecimiento y estimular una activación de la primera población de células T;
 - (ii) después que la activación de la primera población de células T estimuladas en la etapa (i) comienza a decaer, realizar una segunda expansión rápida de la primera población de células T mediante el cultivo de la primera población de

células T para efectuar el crecimiento y reforzar la activación de la primera población de células T para obtener una segunda población de células T; y
(iii) cosechar la segunda población de células T.

55. Una composición de linfocitos infiltrantes de tumor (TILs) expandidos que comprende:
- i) una población de linfocitos infiltrantes de tumor (TILs), y
 - ii) medio definido o medio libre de suero que comprende opcionalmente transferrina (opcionalmente recombinante), insulina (opcionalmente recombinante) y albúmina (opcionalmente recombinante).
56. La composición de TILs expandidos de la reivindicación 55, en donde el medio definido o medio libre de suero comprende transferrina (opcionalmente recombinante), insulina (opcionalmente recombinante) y albúmina (opcionalmente recombinante), en donde opcionalmente el medio definido o medio libre de suero comprende un medio de células basales y un suplemento de suero y/o un sustituto de suero.
57. La composición de TILs expandidos de la reivindicación 55, en donde el medio de células basales incluye, pero no se limita a, medio basal de expansión de células T CTS™ OpTmizer™, SFM para la expansión de células T CTS™ OpTmizer™, medio AIM-V CTS™, SFM AIM-V CTS™, medio libre de compuestos xenogénicos para la expansión de células T LymphoONE™, medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), medio esencial mínimo (MEM), medio basal de Eagle (BME), RPMI 1640, F-10, F-12, medio esencial mínimo (α MEM), medio esencial mínimo de Glasgow (G-MEM), medio de crecimiento RPMI y medio de Dulbecco modificado por Iscove, en donde opcionalmente el suplemento de suero o el sustituto de suero se selecciona del grupo que consiste en el suplemento de suero de expansión de células T CTS™ OpTmizer y el sustituto de suero de células inmunitarias CTS™ y/o el medio definido o medio libre de suero comprende una o más albúminas o sustitutos de albúmina, uno o más aminoácidos, una o más vitaminas, una o más transferrinas o sustitutos de transferrina, uno o más antioxidantes, una o más insulinas o sustitutos de insulina, uno o más precursores de colágeno, uno o más antibióticos y uno o más oligoelementos, en donde opcionalmente el medio definido o medio libre de suero comprende albúmina.

58. La composición de TILs expandidos de cualquiera de las reivindicaciones 55-57, en donde el medio definido o medio libre de suero comprende albúmina y uno o más ingredientes seleccionados del grupo que consiste en glicina, L-histidina, L-isoleucina, L-metionina, L-fenilalanina, L-prolina, L-hidroxiprolina, L-serina, L-treonina, L-triptófano, L-tirosina, L-valina, tiamina, glutatión reducido, ácido L-ascórbico-2-fosfato, transferrina saturada de hierro, insulina y compuestos que contienen porciones de oligoelementos Ag^+ , Al^{3+} , Ba^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Ge^{4+} , Se^{4+} , Br , T , Mn^{2+} , P , Si^{4+} , V^{5+} , Mo^{6+} , Ni^{2+} , Rb^+ , Sn^{2+} y Zr^{4+} , en donde opcionalmente el medio definido o medio libre de suero comprende además L-glutamina, bicarbonato de sodio y/o 2-mercaptoetanol, en donde opcionalmente además el medio definido o medio libre de suero comprende una concentración del sustituto de suero total (% en volumen) de aproximadamente 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 %, 10 %, 11 %, 12 %, 13 %, 14 %, 15 %, 16 %, 17 %, 18 %, 19 % o 20 % en volumen del medio de cultivo celular, en donde opcionalmente el medio definido o medio libre de suero comprende una concentración del sustituto de suero total de aproximadamente 3 %, aproximadamente 5 % o aproximadamente 10 % del volumen total del medio de cultivo celular.
59. La composición de TILs expandidos de cualquiera de las reivindicaciones 55-58, en donde el medio definido o medio libre de suero comprende además glutamina (es decir, GlutaMAX®) en una concentración de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 10 mM, 0,5 mM a aproximadamente 9 mM, 1 mM a aproximadamente 8 mM, 2 mM a aproximadamente 7 mM, 3 mM a aproximadamente 6 mM o 4 mM a aproximadamente 5 mM, en donde opcionalmente el medio definido o medio libre de suero comprende además glutamina (es decir, GlutaMAX®) a una concentración de aproximadamente 2 mM, en donde opcionalmente además el medio definido o medio libre de suero comprende además 2-mercaptoetanol a una concentración de aproximadamente 5 mM a aproximadamente 150 mM, 10 mM a aproximadamente 140 mM, 15 mM a aproximadamente 130 mM, 20 mM a aproximadamente 120 mM, 25 mM a aproximadamente 110 mM, 30 mM a aproximadamente 100 mM, 35 mM a aproximadamente 95 mM, 40 mM a aproximadamente 90 mM, 45 mM a aproximadamente 85 mM, 50 mM a aproximadamente 80 mM, 55 mM a aproximadamente 75 mM, 60 mM a, en donde opcionalmente el medio definido o medio libre de suero comprende además 2-mercaptoetanol a una concentración de aproximadamente 55 mM.

60. La composición de TILs expandidos de cualquiera de las reivindicaciones 55-59, en donde el medio definido o medio libre de suero comprende glicina en el intervalo de aproximadamente 5-200 mg/L, L-histidina en el intervalo de aproximadamente 5-250 mg/L, L-isoleucina en el intervalo de aproximadamente 5-300 mg/L, L-metionina en el intervalo de aproximadamente 5-200 mg/L, L-fenilalanina en el intervalo de aproximadamente 5-400 mg/L, L-prolina en el intervalo de aproximadamente 1-1000 mg/L, L-hidroxiprolina en el intervalo de aproximadamente 1-45 mg/L, L-serina en el intervalo de aproximadamente 1-250 mg/L, L-treonina en el intervalo de aproximadamente 10-500 mg/L, L-triptófano en el intervalo de aproximadamente 2-110 mg/L, L-tirosina en el intervalo de aproximadamente 3-175 mg/L, L-valina en el intervalo de aproximadamente 5-500 mg/L, tiamina en el intervalo de aproximadamente 1-20 mg/L, glutatión reducido en el intervalo de aproximadamente 1-20 mg/L, ácido L-ascórbico-2-fosfato en el intervalo de aproximadamente 1-200 mg/L, transferrina saturada con hierro en el intervalo de aproximadamente 1-50 mg/L, insulina en el intervalo de aproximadamente 1-100 mg/L, selenito de sodio en el intervalo de aproximadamente 0,000001-0,0001 mg/L y/o albúmina (por ejemplo, AlbuMAX® I) en el intervalo de aproximadamente 5000-50 000 mg/L, en donde opcionalmente el medio definido o medio libre de suero comprende uno o más de los ingredientes sin porción de oligoelemento en los intervalos de concentración enumerados en la columna con el título "Intervalo de concentración en medio 1X" en la Tabla A proporcionada en la presente descripción.
61. La composición de TILs expandidos de cualquiera de las reivindicaciones 55-60, en donde la osmolaridad del medio definido o medio libre de suero está entre aproximadamente 260 y 350 mOsmol y/o el medio definido o medio libre de suero comprende además bicarbonato de sodio a aproximadamente 3,7 g/L, o aproximadamente 2,2 g/L, en donde opcionalmente el medio definido o medio libre de suero comprende además L-glutamina (concentración final de aproximadamente 2 mM), uno o más antibióticos, aminoácidos no esenciales (NEAA; concentración final de aproximadamente 100 µM) y/o 2-mercaptoetanol (concentración final de aproximadamente 100 µM) y/o el medio definido o medio libre de suero en el primer y/o segundo recipiente permeable a los gases carece de beta-mercaptoetanol (BME o βME; también conocido como 2-mercaptoetanol, CAS 60 -24-2).

62. La composición de TILs expandidos de cualquiera de las reivindicaciones 55-61, en donde el medio de cultivo celular comprende SFM para la expansión de células T CTS OpTmizer, sustituto de suero de células inmunitarias CTS al 3 %, BME 55 mM y opcionalmente glutamina o el medio de cultivo celular comprende medio basal de expansión de células T CTS™ OpTmizer™ suplementado con suplemento de expansión de células T CTS™ OpTmizer™ (26 ml/L) y SR de células inmunitarias CTS™ al 3 % y Glutamax 2 mM, que opcionalmente comprende además 6000 UI/ml de IL-2, en donde opcionalmente el medio de cultivo celular comprende medio basal de expansión de células T CTS™ OpTmizer™ suplementado con suplemento de expansión de células T CTS™ OpTmizer™ (26 ml/L) y SR de células inmunitarias CTS™ al 3 %, glutamax 2 mM y, opcionalmente, comprende además 3000 UI/ml de IL-2.
63. La composición de TILs expandidos de cualquiera de las reivindicaciones 55-62, en donde la población de TILs es una población terapéutica de TILs, en donde opcionalmente la población terapéutica de TILs presenta un aumento del IFN-γ en suero, en donde el aumento de IFN-γ es mayor que 200 pg/ml, mayor que 250 pg/ml, mayor que 300 pg/ml, mayor que 350 pg/ml, mayor que 400 pg/ml, mayor que 450 pg/ml, mayor que 500 pg/ml, mayor que 550 pg/ml, mayor que 600 pg/ml, mayor que 650 pg/ml, mayor que 700 pg/ml, mayor que 750 pg/ml, mayor que 800 pg/ml, mayor que 850 pg/ml, mayor que 900 pg/ml, mayor que 950 pg/ml, o mayor que 1000 pg/ml.



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT: 800.176.089-2

COMPROBANTE DE RECAUDO SISTEMA SIPI

Radicado: NC2021/0007362
Recibo: 24-18093
Fecha: 12/03/2024

CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO
CC: 66.783.790
Pago PSE No: 940926
CUS: 509607400

Patente PCT
PROCESOS PARA LA PRODUCCIÓN DE LINFOCITOS INFILTRANTES DE TUMOR Y USOS DE ESTOS EN
INMUNOTERAPIA

Detalle del pago

Id.	Rentístico	Concepto y Servicio	Cant.	Val. Unit.	Subtotal
1	50005-01-03	Modificaciones / Correcciones al registro Patente PCT (DESCUENTO INTERNET)	1	\$ 215,000	\$ 215,000
2	50005-01-01	Solicitud examen de patentabilidad Patente PCT (DESCUENTO INTERNET)	1	\$ 1,451,000	\$ 1,451,000
TOTAL					\$ 1,666,000