

DEL 1 (ODLOČBA SVETA 2001/813/ES)

PART 1 (COUNCIL DECISION 2002/813/EC)

**OBLIKA POVZETKA INFORMACIJ PRIJAVE ZA SPROŠČANJE GENSKO
SPREMENJENIH ORGANIZMOV, RAZEN VIŠJIH RASTLIN, V SKLADU Z 11.
ČLENOM DIREKTIVE 2001/18/ES**

**SUMMARY NOTIFICATION INFORMATION FORMAT FOR THE RELEASE OF
GENETICALLY MODIFIED ORGANISMS OTHER THAN HIGHER PLANTS IN
ACCORDANCE WITH ARTICLE 11 OF DIRECTIVE 2001/18/EC**

A. Splošne informacije

A. General information

1. Podrobnosti prijave

1. Details of notification

- (a) Država članica prijave Slovenija
Member State of notification ...
- (b) Številka prijave B/SI/24/01
Notification number
- (c) Datum potrditve prijave .././....
Date of acknowledgement of notification .././....
- (d) Naslov projekta Raziskava Faza I/II UMCF-LJU s celicami T z
izraženim himernim antigenim receptorjem, usmerjenim proti CD19 pri odraslih bolnikih s
ponovljeno/neodzivno CD19-pozitivno akutno limfoblastno levkemijo (*ang. Phase I/II Study
of UMCF-LJU anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor T Cells In Adults with
Relapsed/Refractory CD19 Positive Acute Lymphoblastic Leukemia*).
Title of the project ...
- (e) Predvideno obdobje sproščanja Od 2024 do 2034
Proposed period of release From .././.... until .././....
(akutno sproščanje prvi 2 leti, kasneje dolgoročno spremljanje)

2. Prijavitelj

2. Notifier

- Ime ustanove ali podjetja: Univerzitetni klinični center Ljubljana, Klinični oddelek
za hematologijo, Slovenija
Name of institution or company: ...

3. Značilnosti GSO

3. GMO characterisation

- (a) Navedite, ali je GSO:
(a) Indicate whether the GMO is a:

Viroid	(.)	
viroid	(.)	
RNK virus	(.)	
RNA virus	(.)	
DNK virus	(.)	
DNA virus	(.)	
Bakterija	(.)	
bacterium	(.)	
Gliva	(.)	
fungus	(.)	
Žival		
animal		
- sesalec	(X)	Gensko spremenjeni avtologni človeški limfociti T
- mammals	(.)	
- žuželka	(.)	
- insect	(.)	
- riba	(.)	
- fish	(.)	
- ostale živali;	(.)	
- other animal	(.)	
drugo, določite (kraljestvo, vrsto in razred)	...	
specify phylum, class	...	

(b) Identiteta GSO (rod in vrsta)

Rod: *Homo*; Vrsta: *H. Sapiens* (spremenjeni človeški CD3+ limfociti T)

(b) Identity of the GMO (genus and species)

...

(c) Genska stabilnost – glede na Prilogo IIIa, II, A(10)

Za transdukcijo limfocitov T bo uporabljen lentivirusni vektor, ki vsebuje zapis za himerni antigenski receptor, ki prepoznava antigen CD19 (aCD19 CAR). Po lentivirusni transdukciji je zaporedje aCD19 CAR stabilno integrirano v genom transduciranih celic T. Določena bo uspešnost transdukcije in v sklopu kontrole kakovosti s qPCR preverjena tudi odsotnost replikativno kompetentnih virusov v celičnem pripravku.

(c) Genetic stability – according to Annex IIIa, II, A(10)

...

4. Je enako sproščanje GSO predvideno drugod v Skupnosti (skladno s členom 6(1)), istega prijavitelja?

4. Is the same GMO release planned elsewhere in the Community (in conformity with Article 6(1)), by the same notifier?

Da (.) Ne (X)
Yes (.) No (.)

Če da, vstavite kodo(e) držav(e): ...
If yes, insert the country code(s) ...

5. Je bil enak GSO prijavljen za sproščanje drugod v Skupnosti, istega prijavitelja?
5. Has the same GMO been notified for release elsewhere in the Community by the same notifier?

Da (.) Ne (X)
Yes (.) No (.)

Če da:

If yes:

- Država članica prijave ...
- Member State of notification ...
- Številka prijave B/./././...
- Notification number B/./././...

6. Je bil enak GSO prijavljen za sproščanje ali dajanje na trg izven Skupnosti, istega ali drugega prijavitelja?

6. Has the same GMO been notified for release or placing on the market outside the Community by the same or other notifier?

Da (X) Ne (.)
Yes (.) No (.)

Če da:

If yes:

- Država članica prijave ZDA, Rusija, Indija
- Member State of notification ...
- Številka prijave B/./././...
- Notification number B/./././...

7. Povzetek možnih vplivov na okolje zaradi sproščanja GSO

7. Summary of the potential environmental impact of the release of the GMOs.

Ne pričakujemo vpliva na okolje, saj se bo klinično preskušanje izvajalo izključno v nadzorovanem bolnišničnem okolju. Uporabljeni GSO ne predstavljajo nevarnosti za okolje, saj celice nimajo sposobnosti preživetja ali razmnoževanja zunaj specifičnih pogojev gojenja. Ti pogoji vključujejo nadzorovano temperaturo 37 °C, 5% CO2 in obogateno gojišče. GSO pridobi le zapis za aCD19 CAR T in genska sprememba ne vpliva na drugačno preživetje celic izven teh nadzorovanih pogojev. Proizvajalec lentivirusnega vektorja zagotavlja, da vektorski pripravek ne vsebuje replikativno kompetentnih virusnih delcev. V sklopu kontrole kakovosti se odsotnost potrdi tudi v končnem celičnem pripravku z metodo qPCR. Celice CAR T se ne razširjajo iz bolnikovega telesa.

B. Informacije o prejemnih ali starševskih organizmih, iz katerih GSO izhajajo

B. Information relating to the recipient or parental organism from which the GMO is derived

1. Značilnosti prejemnega ali starševskega organizma:

1. Recipient or parental organism characterisation:

(a) Navedite, ali je prejemni ali starševski organizem:

(a) Indicate whether the recipient or parental organism is a:

(izberite samo enega)

(select one only)

- | | | |
|-------------------------|-----|-----------------------|
| Viroid | (.) | |
| viroid | (.) | |
| | | |
| RNK virus | (.) | |
| RNA virus | (.) | |
| | | |
| DNK virus | (.) | |
| DNA virus | (.) | |
| | | |
| Bakterija | (.) | |
| bacterium | (.) | |
| | | |
| Gliva | (.) | |
| fungus | (.) | |
| | | |
| Žival | | |
| animal | | |
| - sesalec | (X) | avtologni limfociti T |
| - mammals | (.) | |
| | | |
| - žuželka | (.) | |
| - insect | (.) | |
| | | |
| - riba | (.) | |
| - fish | (.) | |
| | | |
| - ostale živali; | (.) | |
| določite vrsto, razred | | ... |
| - other animal | (.) | |
| (specify phylum, class) | | ... |
| | | |
| drugo, določite | ... | |
| other, specify | ... | |

2. Ime

2. Name

- (i) red in/ali višja sistematska kategorija (za živali) **Primati**
- (i) order and/or higher taxon (for animals) ...
- (ii) rod **Homo**
- (ii) genus ...

- (iii) vrsta *Homo sapiens*
 (iii) species ...
 (iv) podvrsta *Homo sapiens sapiens*
 (iv) subspecies ...
 (v) sev ...
 (v) strain ...
 (vi) patovar (biotip, ekotip, pasma, itd.) ...
 (vi) pathovar (biotype, ecotype, race, etc.) ...
 (vii) domače ime **Človek**
 (vii) common name ...

3. Geografska razširjenost organizma **Vprašanje ni relevantno za predmetno prijavo**

3. Geographical distribution of the organism

(a) Avtohton ali kako drugače dokazan v državi prijave:

(a) Indigenous to, or otherwise established in, the country where the notification is made:

Da	(.)	Ne	(.)	Ni znano	(.)
Yes	(.)	No	(.)	Not known	(.)

(b) Avtohton ali kako drugače dokazan v drugih državah ES:

(b) Indigenous to, or otherwise established in, other EC countries:

(i)	Da	(.)
(i)	Yes	(.)

Če da, navedite tip ekosistema, v katerem se nahaja:

If yes, indicate the type of ecosystem in which it is found:

Atlantski	..
(Atlantic	..)
Sredozemski	..
(Mediterranean	..)
Arktičen	..
(Boreal	..)
Alpski	..
(Alpine	..)
Celinski	..
(Continental	..)
Makaroneški	..
(Macaronesian	..)

(ii)	Ne	(.)
(ii)	No	(.)

(iii)	Ni znano	(.)
(iii)	Not known	(.)

(c) Se pogosto uporablja v državi prijave?

(c) Is it frequently used in the country where the notification is made?

Da	(.)	Ne	(.)
Yes	(.)	No	(.)

(d) Se pogosto goji v državi prijave?

(d) Is it frequently kept in the country where the notification is made?

Da	(.)	Ne	(.)
Yes	(.)	No	(.)

4. *Naravni habitat organizma* Vprašanje ni relevantno za predmetno prijavo. Človeški limfociti T lahko preživijo samo v zelo dobro nadzorovanih pogojih in vitro ali v človeškem organizmu.

4. *Natural habitat of the organism*

(a) Če je organizem mikroorganizem

(a) If the organism is a microorganism

voda(water)	(.)
zemlja, prostoživeči(soil, free-living)	(.)
zemlja, v povezavi z rastlinskimi koreninskimi sistemi(soil in association with plant-root systems)	(.)
v povezavi z rastlinskimi sistemi listov/stebel(in association with plant leaf/stem systems)	(.)
drugo, določite(other, specify) ...	(.)

(b) Če je organizem žival: naravni habitat ali običajen kmetijski ekosistem

(b) If the organism is an animal: natural habitat or usual agroecosystem:

...

5.(a) *Metode odkrivanja*

5.(a) *Detection techniques*

Standardne laboratorijske preiskave krvnih celic.

5.(b) *Metode identifikacije*

5.(b) *Identification techniques*

Standardne laboratorijske preiskave krvnih celic.

6. *Je prejemni organizem uvrščen na osnovi obstoječih pravil Skupnosti glede varovanja zdravja ljudi in/ali okolja?*

6. *Is the recipient organism classified under existing Community rules relating to the protection of human health and/or the environment?*

Da (.) Ne (X)
Yes (.) No (.)

Če da, opredelite: ...
If yes, specify ...

7. Je prejemni organizem značilno patogen ali škodljiv na kakršen koli drug način (vključno z zunajceličnimi produkti), živ ali mrtev?

7. Is the recipient organism significantly pathogenic or harmful in any other way (including its extracellular products), either living or dead?

Da (.) Ne (X) Ni znano (.)
Yes (.) No (.) Not known (.)

Če da:
If yes:

(a) katerim izmed naslednjih organizmov:

(a) to which of the following organisms:

ljudje(humans) (.)
živali(animals) (.)
rastline(plants) (.)
drugo(other) (.)

(c) posredujte ustrezne informacije, navedene v Prilogi III A, točka II. (A)(1)(d) Direktive 2001/18/EC

GSO je pripravljen iz limfocitov T, pridobljenih iz levkaferoznega pripravka. Levkaferozni pripravek se testira na prisotnost virusa humane imunske pomanjkljivosti 1 in 2 (ang. human immunodeficiency virus; HIV), virusa hepatitisa B (ang. Hepatitis B virus; HBV), virusa hepatitisa C (ang. Hepatitis C virus; HCV) in sifilisa ter patogenih bakterij.

8. Informacije o razmnoževanju

8. Information concerning reproduction

Ni relevantno za človeške celice T.

(a) Generacijski čas v naravnih ekosistemih:

(a) Generation time in natural ecosystems:

...

(b) Generacijski čas v ekosistemih, kjer se bo izvajalo sproščanje

(b) Generation time in the ecosystem where the release will take place:

...

(c) Način razmnoževanja: Spolno .. Nespolono ..
(c) Way of reproduction: Sexual .. Asexual ..

(d) Dejavniki, ki vplivajo na razmnoževanje

(c) Factors affecting reproduction:

...

9. Sposobnost preživetja

9. Survivability

(a) sposobnost tvorbe struktur, ki povečujejo možnosti preživetja ali mirovanja:

(a) ability to form structures enhancing survival or dormancy:

- (i) endospore(endospores) (.)
- (ii) ciste (cysts) (.)
- (iii) sklerociji (sclerotia) (.)
- (iv) nespolne spore (glive) (asexual spores (fungi)) (.)
- (v) spolne spore (glive) (sexual spores (funghi)) (.)
- (vi) jajčeca (eggs) (.)
- (vii) bube (pupae) (.)
- (viii) ličinke (larvae) (.)
- (ix) drugo, določite (other, specify) Ni relevantno za človeške celice T.

(b) pomembni dejavniki, ki vplivajo na sposobnost preživetja:

(b) relevant factors affecting survivability:

Preživetje človeških T celic ex vivo zahteva posebne pogoje gojenja celic v inkubatorju s CO₂ pri 37°C in v gojišču z fiziološkim pH in dodatkom citokinov.

10(a) Načini razširjanja

(a) Ways of dissemination

Transducirani limfociti T se ne morejo prenašati med posamezniki in ne morejo preživeti izven človeškega telesa ali laboratorijskih pogojev, kar onemogoča njihovo razširjanje. Ker GSO ne bomo sproščali v okolico in zaradi izredne občutljivosti celic T ne pričakujemo razširjanja v okolju.

(b) Dejavniki, ki vplivajo na razširjanje

(b) Factors affecting dissemination

V primeru prenosa GSO na neciljano osebo, bi imunski sistem posameznika tuje celice najverjetneje uničil. Človeške krvne celice ne morejo preživeti izven človeškega telesa, če niso zagotovljeni specifični laboratorijski pogoji in rastni mediji.

11. Predhodne genske spremembe prejemnika ali starševskega organizma, ki so že prijavljene za sproščanje v državi prijave (navedite številko prijave) Ne obstajajo, B/./././...

11. Previous genetic modifications of the recipient or parental organism already notified for release in the country where the notification is made (give notification numbers)

..., B/./././...

C. Informacije o genskem spreminjanju

C. Information relating to the genetic modification

1. Vrsta genske spremembe

1. Type of the genetic modification

- (i) vnos genetskega materiala (insertion of genetic material) (X)
- (ii) odstranitev genetskega materiala (deletion of genetic materia) (.)
- (iii) zamenjava baz (base substitution) (.)
- (iv) fuzija celic (cell fusion) (.)
- (v) drugo, določite (others, specify) ...

2. Predviden rezultat genske spremembe

2. Intended outcome of the genetic modification

Limfociti T bodo z gensko spremembo pridobili le zapis za receptor aCD19 CAR. Pričakujemo, da bodo aCD19 CAR T v telesu posameznika specifično prepoznavale antigen CD19 na površini celic B in sodelovale v signalni kaskadi, ki bo privedla v odstranitev malignih celic pri bolnikih s CD19-pozitivno akutno limfoblastno levkemijo.

3 (a) Je bil v procesu spreminjanja uporabljen vektor?

3.(a) Has a vector been used in the process of modification?

- | | |
|--|-----------------------------|
| Da <input checked="" type="checkbox"/> | Ne <input type="checkbox"/> |
| Yes <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> |

Če ne, pojdite k vprašanju 5.

If no, go straight to question 5.

3(b) Če da, je vektor v spremenjenem organizmu prisoten v celoti ali delno?

3 (b) If yes, is the vector wholly or partially present in the modified organism?

- | | |
|--|-----------------------------|
| Da <input checked="" type="checkbox"/> | Ne <input type="checkbox"/> |
| Yes <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> |

Če ne, pojdite k vprašanju 5.

If no, go straight to question 5.

4. Če je odgovor na vprašanje 3(b) pritrdilen, posredujte naslednje informacije

4. If the answer to 3(b) is yes, supply the following information

(a) Vrsta vektorja

(a) Type of vect

- plazmid (plasmid) (.)
- bakteriofag (bacteriophage) (.)
- virus (virus) (X)
- kozmid (cosmid) (.)
- transpozicijski element(transposable element) (.)
- drugo, opredelite (others, specify) ...

(b) Identiteta vektorja

(b) Identity of the vector

Lentivirusni vektor tretje generacije, ki nosi zapis za aCD19 CAR. Lentivirusni vektor je osnovan na podlagi sekvence HIV-1, ki pa je, zaradi več delecij v pomožnih genih HIV, replikativno inkompetenten.

(c) Gostiteljsko območje za vektor

(c) Host range of the vector

Lentivirusni vektor je psevdotipiziran s heterologno beljakovino ovojnice virusa vezikularnega stomatitisa-glikoproteinom G (VSV-G), ki omogoča transdukcijo različnih vrst delečih in nedelečih sesalskih celic. Za namen te raziskave bodo transducirane samo avtologne človeške celice T, in sicer v laboratorijskem obratu, ki omogoča delo 2. stopnje biološke varnosti in ob upoštevanju varnostnih protokolov.

(e) Prisotnost zaporedij v vektorju, ki mu dajejo selekcijski ali identifikacijski fenotip

(d) Presence in the vector of sequences giving a selectable or identifiable phenotype

Da (X)	Ne (.)
Yes (.)	No (.)

odpornost na antibiotike (.)
antibiotic resistance

drugo, določite (others, specify)

Transducirane celice lahko identificiramo s qPCR ali z detekcijo izražanja CAR na površini celic s pomočjo pretočne citometrije.

Navedite kateri gen odpornosti na antibiotike je vnesen

Indication of which antibiotic resistance gene is inserted

Ne pride do vnosa gena, ki bi kodiral za odpornost proti antibiotikom.

(e) Sestavni deli vektorja

(e) Constituent fragments of the vector

- 5'LTR
- Ψ pakirni signal
- gag
- rev odzivni element (ang. Rev response element; RRE)
- centralni polipurinski trakt (ang. central Polypurine Tract; cPPT)
- CMV promotor
- VSV-G
- EF-1α promotor
- CAR: anti-CD19:4-1BB:CD3
- 3'LTR

(f) Metoda vnosa vektorja v prejemni organizem

(f) Method for introducing the vector into the recipient organism

(i) transformacija (transformation)	(.)
(ii) elektroporacija (electroporation)	(.)
(iii) makroinjiciranje (macroinjection)	(.)
(iv) mikroinjiciranje (microinjection)	(.)
(v) infekcija (infection)	(.)
(vi) drugo, opredelite (others, specify)	transdukcija z lentivirusnim vektorjem

5. Če je odgovor na vprašanji B.3(a) in (b) nikalen, katera metoda je bila uporabljena v procesu spreminjanja

5. If the answer to question B.3(a) and (b) is no, what was the method used in the process of modification?

- (i) transformacija (transformation) (.)
- (ii) mikroinjiciranje (microinjection) (.)
- (iii) mikroinkapsulacija (microencapsulation) (.)
- (iv) makroinjiciranje (microinjection) (.)
- (v) drugo, opredelite (others, specify) ...

6. Sestava vključka

6. Composition of the insert

(a) Sestava vključka

(a) Composition of the insert

CAR je sestavljen iz vodilnega peptida GM-CSF-R alfa, scFv aCD19, vmesne povezovalne verige CD8, transmembranske domene člana 19 iz superdružine receptorjev TNF (TNFRSF19), kostimulacijske domene 4-1BB in aktivacijske domene CD3ζ. Izražanje CAR je pod promotorjem EF-1a.

(b) Izvor vsakega sestavnega dela vključka

(b) Source of each constituent part of the insert

Vse sekvence znotraj transgena CAR so človeškega izvora, razen scFv, ki je pridobljen iz mišjega monoklonskega protitelesa in je usmerjen proti CD19.

(c) Nameravana funkcija vsakega sestavnega dela vključka v GSO

(c) Intended function of each constituent part of the insert in the GMO

- Signalni peptid (ang. leader) GM-CSF-R alpha: Vodilni peptid omogoči ekspresijo proteina CAR na T-celični membrani po sekreciji iz Golgijevega kompleksa

- scFv aCD19: Lahka in težka veriga variabilnega fragmenta protitelesa aCD19 sta zunajcelični domeni, ki prepoznata in vežeta antigen CD19.

- Vmesnik CD8: Vmesnik je zunajcelična povezovalna veriga, ki povezuje zunajcelični verigi scFv aCD19 s transmembransko domeno TNFRSF 19.

- TNFRSF 19 TM: Transmembranska domena povezuje zunajcelični in znotrajcelični del aCD19 CAR ter prispeva k njegovi stabilnosti. Domena je vstavljena v fosfolipidni dvosloj in je sestavljena in hidrofobnih aminokislin

- 4-1BB: Kostimulacijska domena 4-1BB je znotrajcelična domena CAR, ki spodbudi aktivacijo, proliferacijo in diferenciacijo limfocitov T ter sintezo citokinov.

- CD3ζ: Signalna domena CD3ζ je znotrajcelična domena CAR in vsebuje zaporedja za rekrutiranje signalnih elementov, katerih naloga je posredovanje signala iz receptorja, kar posledično vodi v aktivacijo limfocitov T.

(d) Lokacija vključka v gostiteljskem organizmu

(d) Location of the insert in the host organism

- na prostem plazmidu (.)
- on a free plasmid
- vključen v kromosom (X)
- integrated in the chromosome
- drugo, določite (others, specify) ...

(e) Ali vključek vsebuje dele, katerih produkti ali delovanje so nepoznani?

(e) Does the insert contain parts whose product or function are not known?

- | | |
|---------|--------|
| Da (.) | Ne (X) |
| Yes (.) | No (.) |

Če da, opredelite

If yes, specify

...

D. Informacije o organizmu(-ih), iz katerega(ih) vključek izhaja

D. Information on the organism(s) from which the insert is derived

1. Navedite, ali je:

1. Indicate whether it is a:

- | | |
|--|-----|
| Viroid (viroid) | (.) |
| RNK virus (RNA virus) | (.) |
| DNK virus (DNA virus) | (.) |
| Bakterija (bacterium) | (.) |
| Gliva (fungus) | (.) |
| Žival (animal) | |
| - sesalec (mammals) | (X) |
| - žuželka (insect) | (.) |
| - riba (fish) | (.) |
| - druga žival (other animal) | (.) |
| določite vrsto, razred (specify phylum, class) | |
| Drugo, določite (others, specify) | ... |

Homo sapiens

2. Popolno ime

2. Complete name

(i) red in/ali višja sistematska kategorija (za živali) **Primati**

(ii) order and/or higher taxon (for animals) ...

(ii) družina (za rastline) ...

(ii) family name for plants ...

(iii) rod **Homo**

(iii) genus ...

(iv) vrsta **Homo sapiens**

(iv) species ...

(v) podvrsta **Homo sapiens sapiens**

(v) subspecies ...

(vi) sev ...

(vi) strain ...

(vii) sorta/linija križanja ...

(vii) cultivar/breeding line ...

(viii) patovar (biotip, ekotip, pasma, itd.) ...

(viii) pathovar (biotype, ecotype, race, etc.) ...

(ix) domače ime **Človek**

(ix) common name ...

3. Je organizem značilno patogen ali škodljiv na kakršen koli drug način (vključno z zunajceličnimi produkti), živ ali mrtev?

3. Is the organism significantly pathogenic or harmful in any other way (including its extracellular products), either living or dead?

Da	(.)	Ne	(X)	Ni znano	(.)
Yes	(.)	No	(.)	Not known	(.)

Če je, opredelite naslednje

If yes, specify the following:

(a) katerim izmed naslednjih organizmov:

(a) to which of the following organisms:

ljudje (humans)	(.)
živali (animals)	(.)
rastline (plants)	(.)
drugo (other)	(.)

(b) so darovana zaporedja kakor koli vključena v patogene ali škodljive lastnosti organizma?

(b) are the donated sequences involved in any way to the pathogenic or harmful properties of the organism

Da	(.)	Ne	(X)	Ni znano	(.)
Yes	(.)	No	(.)	Not known	(.)

Če da, posredujte ustrezne informacije v skladu s Prilogo III A, točka II (A)(11)(d):

If yes, give the relevant information under Annex III A, point II(A)(11)(d):

...

4. Je donorski organizem razvrščen na osnovi obstoječih pravil Skupnosti glede varovanja zdravja ljudi in okolja, kot je Direktiva 90/679/EEC o varovanju delavcev pred tveganji zaradi izpostavljenosti biološkimi dejavniki pri delu?

4. Is the donor organism classified under existing Community rules relating to the protection of human health and the environment, such as Directive 90/679/EEC on the protection of workers from risks to exposure to biological agents at work?

Da	(X)	Ne	(.)
Yes	(.)	No	(.)

Če da, opredelite

If yes, specify

BSL2

5. Si donorski in prejemni organizem izmenjujeta genski material po naravni poti?

5. Do the donor and recipient organism exchange genetic material naturally?

Da	(.)	Ne	(X)	Ni znano	(.)
----	-----	----	-----	----------	-----

Yes (.) No (.) Not known (.)

E. Informacije o gensko spremenjenem organizmu

E. Information relating to the genetically modified organism

1. *Genske lastnosti in fenotipske značilnosti prejemnega ali starševskega organizma, ki so bile spremenjene kot rezultat genske spremembe*

1. *Genetic traits and phenotypic characteristics of the recipient or parental organism which have been changed as a result of the genetic modification*

(a) se GSO razlikuje od prejemnika glede sposobnosti preživetja?

(a) is the GMO different from the recipient as far as survivability is concerned?

Da (.) Ne (X) Ni znano (.)
Yes (.) No (.) Not known (.)

Opreделите

Specify

...

(b) se GSO kakor koli razlikuje od prejemnika, glede načina in/ali hitrosti razmnoževanja?

(b) is the GMO in any way different from the recipient as far as mode and/or rate of reproduction is concerned?

Da (.) Ne (X) Ni znano (.)
Yes (.) No (.) Not known (.)

Opreделите

Specify

...

(c) se GSO razlikuje od prejemnika, glede razširjanja?

(c) is the GMO in any way different from the recipient as far as dissemination is concerned?

Da (.) Ne (X) Ni znano (.)
Yes (.) No (.) Not known (.)

Opreделите

Specify

...

(d) se GSO razlikuje od prejemnika, glede patogenosti?

(d) is the GMO in any way different from the recipient as far as pathogenicity is concerned?

Da (.) Ne (X) Ni znano (.)
Yes (.) No (.) Not known (.)

Opreделите
Specify

...

2. Genska stabilnost gensko spremenjenega organizma

2. Genetic stability of the genetically modified organism

Po lentivirusni transdukciji je zaporedje aCD19 stabilno integrirano v genom transduciranih celic T.

3. Je GSO značilno patogen ali škodljiv na kakršen koli način (vključno z zunajceličnimi produkti), živ ali mrtev?

3. Is the GMO significantly pathogenic or harmful in any way (including its extracellular products), either living or dead?

Da	(.)	Ne	(X)	Ni znano	(.)
Yes	(.)	No	(.)	Not known	(.)

(a) katerim izmed naslednjih organizmov:

(a) to which of the following organisms:

ljudje (humans)	(.)
živali (animals)	(.)
rastline (plants)	(.)
drugo (other)	(.)

(b) posredujte ustrezne informacije, navedene v Prilogi III A, točka II (A)(II)(d) in II(C)(2)(i)

(b) give the relevant information specified under Annex III A, point II(A)(11)(d) and II(C)(2)(i)

...

4. Opis metod identifikacije in odkrivanja

4. Description of identification and detection methods

(a) Uporabljene tehnike za odkrivanje GSO v okolju

(a) Techniques used to detect the GMO in the environment

GSO se ne sprošča direktno v okolje. Pričakuje se, da bodo celice aCD19 CAR T prisotne le v telesu bolnikov, kjer jih je mogoče detektirati s pretočno citometrijo.

(b) Uporabljene tehnike za identifikacijo GSO

(b) Techniques used to identify the GMO

Pretočna citometrija in qPCR.

F. Informacije o sproščanju

F. Information relating to the release

1. Namen sproščanja (vključno s pomembnejšimi možnimi ugodnostmi za okolje, ki se lahko pričakujejo)

1. Purpose of the release (including any significant potential environmental benefits that may be expected)

Namen je klinična študija z naslovom *Raziskava Faza I/II UMCF-LJU s celicami T z izraženim himernim antigenskim receptorjem, usmerjenim proti CD19 pri odraslih bolnikih s ponovljeno/neodzivno CD19-pozitivno akutno limfoblastno levkemijo*. GSO se ne sprošča direktno v okolje. Avtologne celice bodo intravensko aplicirane preskušancem v kliničnem preskušanju pod nadzorovanimi pogoji. V tej študiji ne pričakujemo vpliva na okolje.

2. Se mesto sproščanja razlikuje od naravnega habitata ali od ekosistema, v katerem se prejemni ali starševski organizem redno uporablja, goji ali nahaja?

2. Is the site of the release different from the natural habitat or from the ecosystem in which the recipient or parental organism is regularly used, kept or found?

Da	(.)	Ne	(X)
Yes	(.)	No	(.)

Če da, opredelite
Specify

...

3. Informacije o sproščanju in bližnji okolici

3. Information concerning the release and the surrounding area

(a) Geografska lokacija (upravna regija in, kjer je to primerno, geografske koordinate):

(a) Geographical location (administrative region and where appropriate grid reference):

Aplikacija bo potekala v zaprtem sistemu za delo z GSO 2. varnostnega razreda v UKCL na Kliničnem oddelku za hematologijo - Bolniška soba 31

Univerzitetni klinični center Ljubljana,

Zaloška cesta 2,

1000 Ljubljana,

Slovenija

(b) Velikost mesta (Size of the site)(m²):

Ni relevantno m²

(i) Dejansko mesto sproščanja (actual release site) (m²):

... m²

(ii) Širše območje sproščanja (wider release site) (m²):

... m²

(c) Neposredna bližina mednarodno priznanih biotopov ali zavarovanih območij (vključno z nahajališči pitne vode), ki so lahko prizadeti:

(c) Proximity to internationally recognised biotopes or protected areas (including drinking water reservoirs), which could be affected:

Ni relevantno

(d) Rastlinstvo in živalstvo, vključno s poljščinami, živino in selivskimi vrstami, ki lahko pridejo v stik z GSO

(d) Flora and fauna including crops, livestock and migratory species which may potentially interact with the GMO

Ni relevantno

4. Način in obseg sproščanja

4. Method and amount of release

(a) Količine GSO, ki se bodo sproščale:

(a) Quantities of GMOs to be released:

Celični pripravek vsebuje do 2×10^6 aCD19 CAR T celic na kilogram telesne mase bolnika v 100 mL puferskega medija v infuzijski vrečki. Pripravljen je iz bolniku lastnih celic.

(b) Trajanje projekta:

(b) Duration of the operation:

Postopek intravenozne aplikacije aCD19 CAR T traja približno 10-20 minut.

(c) Metode in postopki za preprečevanje in/ali zmanjšanje na najmanjšo možno mero širjenja GSO izven mesta sproščanja

(c) Methods and procedures to avoid and/or minimise the spread of the GMOs beyond the site of the release
Intravenozna aplikacija celičnega pripravka bo potekala po navodilih in pod nadzorom zdravnika, ki ima izkušnje ter je usposobljen za apliciranje CAR T terapije. Pri delu se upošteva smernice dobre klinične prakse in sledi SOP-jem. Aplikacija se bo izvajala v bolniški sobi, ki je registrirana za delo z GSO in upošteva zadrževalne ukrepe stopnje 2. Zdravstveni delavci morajo pri rokovanju s celičnim pripravkom upoštevati potrebne varnostne ukrepe. Ob standardni zaščitni obleki osebje uporabljati še dodatno osebno varovalno opremo (debelejše rokavice, maska, zaščitni plašč in zaščita za oči). Ti ukrepi so vpeljani za preprečevanje neželenega prenosa GSO in za zaščito delavcev pred neposrednim stikom z GSO. Ves material, ki je prišel v neposredni stik z GSO, bo najprej deaktiviran, in nato odstranjen kot biološko nevaren odpadek.

5. Kratek opis povprečnih pogojev v okolju (vreme, temperatura, itd.)

5. Short description of average environmental conditions (weather, temperature, etc.)

Ni relevantno.

6. Pomembni podatki o morebitnih predhodnih sproščanjih enakega GSO, če so, posebej o možnih vplivih na okolje in zdravje ljudi zaradi sproščanja.

6. Relevant data regarding previous releases carried out with the same GMO, if any, specially related to

the potential environmental and human health impacts from the release.

Ni podatkov.

G. Medsebojna učinkovanja GSO z okoljem in možen vpliv na okolje, če se značilno razlikuje od prejemnega ali starševskega organizma

G. Interactions of the GMO with the environment and potential impact on the environment, if significantly different from the recipient or parent organism

1. Imena ciljnih organizmov (če je primerno)

1. Name of target organism (if applicable)

(i) red in/ali višja sistematska kategorija (za živali) **Primati**

(ii)order and/or higher taxon (for animals) ...

(ii)družina (za rastline) ...

(ii)family name for plants ...

(iii)rod **Homo**

(iii)genus ...

(iv)vrsta **Homo sapiens**

(iv)species ...

(v)podvrsta **Homo sapiens sapiens**

(v)subspecies ...

(vi)sev ...

(vi)strain ...

(vii) sorta/linija križanja ...

(vii) cultivar/breeding line ...

(viii)patovar (biotip, ekotip, pasma, itd.) ...

(viii)pathovar (biotype, ecotype, race, etc.) ...

(ix)domače ime **Človek**

(ix)common name ...

2. Predviden mehanizem in rezultati medsebojnega učinkovanja med sproščenim GSO in ciljnim organizmom (če je primerno)

2. Anticipated mechanism and result of interaction between the released GMOs and the target organism (if applicable)

Celice aCD19 CAR T (GSO) bodo intravenozno aplicirane bolnikom v sklopu kliničnega preskušanja. Pričakujemo, da se bodo celice v človeškem telesu množile in ob vezavi na tarčni antigen CD19 posredovale uničenje CD19 pozitivnih malignih celic B.

3. Kakršna koli druga morebitna značilna medsebojna učinkovanja z drugimi organizmi v okolju

3. Any other potentially significant interactions with other organisms in the environment

Ne.

4. Se utegne po sproščanju pojaviti selekcija, kot je na primer povečana kompetitivnost ali povečana invazivnost GSO?

4. Is post-release selection such as increased competitiveness, increased invasiveness for the GMO likely to occur?

Da	(.)	Ne	(X)	Ni znano	(.)
Yes	(.)	No	(.)	Not known	(.)

Navedite podrobnosti

Give details Človeški limfociti T, ki so bili transducirani z lentivirusnimi vektorji, niso sposobni preživetja zunaj zaprtega in zelo natančno nadzorovanega okolja.

5. Vrste ekosistemov, v katere se lahko GSO razširijo in naselijo iz mesta sproščanja

5. Types of ecosystems to which the GMO could be disseminated from the site of release and in which it could become established

Človeški limfociti T, ki so bili transducirani z lentivirusnimi vektorji, niso sposobni preživetja zunaj zaprtega in zelo natančno nadzorovanega okolja.

6. Popolno ime neciljnih organizmov, katerim lahko (če upoštevamo vrsto prejemnega okolja) nenamerno sproščanje GSO značilno škoduje

6. Complete name of non-target organisms which (taking into account the nature of the receiving environment) may be unintentionally significantly harmed by the release of the GMO

Ni relevantno.

(i) red in/ali višja sistematska kategorija (za živali) ...

(ii)order and/or higher taxon (for animals) ...

(ii)družina (za rastline) ...

(ii)family name for plants ...

(iii)rod ...

(iii)genus ...

(iv)vrsta ...

(iv)species ...

(v)podvrsta ...

(v)subspecies ...

(vi)sev ...

(vi)strain ...

(vii) sorta/linija križanja ...

(vii) cultivar/breeding line ...

(viii)patovar (biotip, ekotip, pasma, itd.) ...

(viii)pathovar (biotype, ecotype, race, etc.) ...

(ix)domače ime ...

(ix)common name ...

7. Verjetnost genske izmenjave in »vivo«

7. Likelihood of genetic exchange in vivo

(a) iz GSO v druge organizme v ekosistemu sproščanja

(a) from the GMO to other organisms in the release ecosystem:

Ni pričakovano.

(b) iz drugih organizmov v GSO:

(b) from other organisms to the GMO:

Ni pričakovano.

(c) možne posledice prenosa gena:

(d) likely consequences of gene transfer:

Ni pričakovano. Zaporedje v lentivirusnem vektorju je okrnjeno do te mere, da v celicah aCD19 CAR T po administraciji onemogoča homologno rekombinacijo med vstavljenim provirusom in divjim tipom HIV, kakor tudi s človeškimi endogenimi retrovirusi.

8. Podajte reference k ustreznim rezultatom (če so na voljo) študij odzivov in lastnosti GSO in njegovega ekološkega vpliva, ki so bile opravljene v simuliranem naravnem okolju (na primer mikrokozmos, itd.):

8. Give references to relevant results (if available) from studies of the behaviour and characteristics of the GMO and its ecological impact carried out in stimulated natural environments (e.g. microcosms, etc.):

Ni relevantno.

9. Možna okoljsko značilna medsebojna učinkovanja z biogeokemijskimi procesi (če se razlikujejo od prejemnega ali starševskega organizma)

9. Possible environmentally significant interactions with biogeochemical processes (if different from the recipient or parental organism)

Ni pričakovano.

H. Informacije o spremljanju (monitoringu)

H. Information relating to monitoring

1. Načini spremljanja GSO

1. Methods for monitoring the GMOs

Po prejemu celičnega pripravka bodo preskušanci opravili načrtovane klinične preglede, med katerimi bodo odvzeti vzorci krvi. Prisotnost celic CAR T v njihovi krvi bo določena s pomočjo metode pretočne citometrije. Prav tako bo ob različnih časovnih točkah spremljana obstojnost vključka aCD19 CAR.

2. Načini spremljanja učinkov na ekosistem

2. Methods for monitoring ecosystem effects

Ni relevantno.

3. Metode za odkrivanje prenosa donorskega genskega materiala iz GSO v druge organizme

3. Methods for detecting transfer of the donated genetic material from the GMO to other organisms

Ni relevantno.

4. *Velikost območja spremljanja (m²)*

4. *Size of the monitoring area (m²)*

Ni relevantno.

m²

5. *Trajanje spremljanja*

5. *Duration of the monitoring*

V okviru klinične študije je vključeno dolgoročno spremljanje. To bo trajalo 15 let, z namenom zaznavanja morebitnih neželenih učinkov, ki bi lahko bili povezani z zdravljenjem s celicami aCD19 CAR T.

6. *Pogostost spremljanja*

6. *Frequency of the monitoring*

V prvih dveh letih bodo bolniki redno spremljani v skladu z načrtom kliničnega preskušanja. Kasneje, od tretjega do petnajstega leta po prejemu terapije, bodo na letni ravni izvedeni standardni in laboratorijski pregledi preskušancev.

I. Informacije o ravnanju po sproščanju in ravnanju z odpadki

I. Information on post-release and waste treatment

1. *Ravnanje z mestom po sproščanju*

1. *Post-release treatment of the site*

Celice aCD19 CAR T bodo preskušancem aplicirane intravensko v skladu s protokolom. Po odpustu pacienta iz bolniške sobe bo prostor, skupaj z vso opremo, skrbno očiščen. V zaprtem sistemu so vse površine (talne obloge, vrata, police) in oprema (postelja, stojalo) gladki in narejeni iz materialov, ki so pralni, odporni na čistila in vodo.

2. *Ravnanje z GSO po sproščanju*

2. *Post-release treatment of the GMOs*

Po aplikaciji ne bo nadaljnjega ravnanja z GSO, saj celice CAR T niso sposobne razširjanja in preživetja izven pacientovega telesa.

3. (a) *Vrsta in količina nastalih odpadkov*

3. (a) *Type and amount of waste generated*

Odpadki, ki nastanejo pri posamezni aplikaciji celičnega pripravka vključujejo infuzijsko vrečko z intravenskim sistemom, rokavice in druge medicinske pripomočke za enkratno uporabo.

3. (b) *Ravnanje z odpadki*

3. (b) *Treatment of waste*

Vsi odpadki, ki nastanejo pri delu z GSO in so bili v direktnem stiku s CAR T celicami (infuzijska vrečka z intravenskim sistemom za infundiranje, rokavice ali drugi material) se pred odstranitvijo v ustrezni odpadni zbiralnik kemično inaktivirajo. Takoj po koncu dela se inaktivirane odpadke hermetično zapre v plastični zabojnik iz trde plastike z možnostjo enkratnega hermetičnega zapiranja, ki je označen z znakom za biološko nevarnost. V nadaljevanju se oddajo pooblaščenemu zbiralcu odpadkov, ki dnevno vrši odvoz odpadkov in poskrbi za njihovo varno odstranitev in uničenje.

J. Informacije o načrtih ukrepov za primer nesreče

J. Information on emergency response plans

1. Metode in postopki za nadziranje širjenja GSO v primeru nepričakovanega razširjanja

1. Methods and procedures for controlling the dissemination of the GMO(s) in case of unexpected spread

Izvajanje avtologne aplikacije celičnega pripravka bo potekalo v bolniški sobi, ki je registrirana kot zaprti sistem za delo z GSO v 2. varnostnem razredu in izpolnjuje ustrezne zadrževalne ukrepe. Pacienti bodo v bolniški sobi zadržani vsaj 24 ur po prejem celične terapije, oziroma glede na njihovo zdravstveno stanje. V primeru nepričakovanega razlitja GSO je potrebno takoj oceniti obseg dogodka, omejiti dostop in preprečiti širjenje GSO. Oseba, ki je prva prisotna na kraju nesreče uporablja ustrezno varovalno opremo. Manjše razlitje takoj prekrije z razkužilom za površine, pri čemer spoštuje predpisani kontaktni čas. Čistih površin se izogiba in zamenja rokavice. Po intervenciji obvesti za GSO odpadke usposobljeno čistilko za končno čiščenje.

2. Načini za odstranjevanje GSO iz potencialno prizadetih območij

2. Methods for removal of the GMO(s) of the areas potentially affected

Verjetnost nenamernega sproščanja GSO v okolje je izredno majhna. V kolikor bi to tega prišlo, človeški limfociti T, ki so bili transducirani z lentivirusnimi vektorji, niso sposobni preživetja zunaj zaprtega in zelo natančno nadzorovanega okolja.

3. Načini odstranjevanja ali sanitacije rastlin, živali, zemlje, itd., ki bi lahko bili izpostavljeni med ali po širjenju

3. Methods for disposal or sanitation of plants, animals, soils, etc. that could be exposed during or after the spread

Ni relevantno.

4. Načrti za varovanje zdravja ljudi in okolja v primeru nezaželenih učinkov

4. Plans for protecting human health and the environment in the event of an undesirable effect

Zaradi doslednega upoštevanja vseh opisanih varovalnih ukrepov in načel dobre klinične prakse ter izredne občutljivosti uporabljenih GSO, ki izven vzdrževanih optimalnih pogojev niso zmožni preživeti, predvidevamo, da je verjetnost pojava škodljivih učinkov na zdrave ljudi in okolje izredno majhna. Vsi preskušanci bodo vključeni v dolgoročno spremljanje. To bo trajalo 15 let, z namenom odkrivanja morebitnih neželenih učinkov, ki bi lahko bili povezani s celičnim pripravkom aCD19 CAR T. Za zagotovitev bolnikove varnosti so postavljena stroga merila za prekinitev študije.