

MODELO DE RESUMEN DE LA NOTIFICACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE DISTINTOS DE LAS PLANTAS SUPERIORES DE ACUERDO CON EL ARTÍCULO 11 DE LA DIRECTIVA 2001/18/CE

A. Información de carácter general:

1. Detalles de la notificación

a) Estado miembro de la notificación:	España
b) Número de la notificación:	B/ES/21/05
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	09/03/2021
d) Título del proyecto:	Estudio clínico CRSP-ONC-003, de título: «Estudio de fase I, sin enmascaramiento, multicéntrico, de aumento gradual de la dosis y ampliación de cohortes sobre la seguridad y la eficacia de los linfocitos T alógenos genomodificados mediante CRISPR-Cas9 (CTX130) en pacientes adultos con carcinoma de células renales (CCR) avanzado, recidivante o resistente al tratamiento con diferenciación de células claras»
e) Período propuesto para la liberación:	Inicio del estudio: junio de 2021 Duración aproximada del estudio: 6 años y 6 meses (incluido un periodo de seguimiento de 5 años desde la infusión de CTX130) Fin del estudio: enero de 2027

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa: CRISPR Therapeutics AG Baarerstrasse 14 CH 6300 Zug, Suiza

3. Definición del OMG

a) Indíquese si el OMG es:	
	Viroide <input type="checkbox"/>
	Virus ARN <input type="checkbox"/>
	Virus ADN <input type="checkbox"/>
	Bacteria <input type="checkbox"/>
	Hongo <input type="checkbox"/>
	Animal <input type="checkbox"/>

- mamíferos (*linfocitos T CAR alogénicos*)
- insectos
- peces
- otro animal especifique el phylum y la clase

Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)

b) Identidad del OMG (género y especie)

Género: Homo; especie: *H. Sapiens* (linfocitos T modificados genéticamente)

El OMG (CTX130) está formado por linfocitos T alogénicos humanos modificados genéticamente *ex vivo* mediante componentes de edición genómica de CRISPR/Cas9 y un vector vírico adenoasociado recombinante (AAVr). El producto farmacéutico está preparado a partir de células monomorfonucleares de sangre periférica (CMSP) de donantes sanos obtenidas mediante un procedimiento de leucaféresis estándar. Las células monomorfonucleares se enriquecen con linfocitos T y se activan con microesferas cubiertas de anticuerpos anti-CD3-CD28, luego se electroporan con complejos ribonucleoproteicos CRISPR/Cas9 formados por Cas9 y ARN monoguía y se transducen con un vector vírico adenoasociado (AAV) recombinante que contiene los genes del receptor quimérico para el antígeno (CAR). Los linfocitos T modificados se expanden en cultivo celular, se purifican y formulan en una suspensión y se crioconservan. El producto se almacenará *in situ* y descongelará justo antes de la administración.

El sistema CRISPR/Cas9, junto con un molde de ADN donador derivado de AAV, se ha usado para crear modificaciones en el genoma de los linfocitos T de donantes sanos. Las modificaciones genéticas incluyen la destrucción de la región constante del receptor α de linfocitos T (TRAC) y de la microglobulina $\beta 2$ (B2M) y la inserción simultánea de un transgén con receptor quimérico para el antígeno (CAR) anti-CD70 en el locus del TRAC. El CAR consta de un fragmento variable monocatenario (scFv) humanizado específico para la CD70, seguido de una región transmembrana y bisagra de la CD8, que se fusiona con el dominio de señalización intracelular de la CD137 (41BB) y la CD3 ζ . Las destrucciones de TRAC y la B2M reducen la probabilidad de padecer enfermedad de injerto contra huésped (EICH) y rechazo de CTX130, respectivamente. La inserción de CAR permite actuar de forma específica en tumores humanos que expresen CD70.

Los linfocitos se usarán únicamente con fines terapéuticos.

c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A:

La integración del casete de expresión CAR en el locus de TRAC y la reparación de la destrucción de los locus de TRAC y de B2M produjeron modificaciones genéticas estables de los linfocitos T alogénicos y, por tanto, presentan modificaciones duraderas para el genoma hospedador.

4. Tiene previsto el mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad (de acuerdo con el apartado 1 del artículo 6)?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indique el código del país: NL	

5. Ha notificado ese mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:	
- Estado miembro de la notificación:	NL
- Número de la notificación:	B/NL/20/013

6. Ha notificado el mismo notificador u otro la liberación o comercialización de ese mismo OMG fuera de la Comunidad?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:	
- Estado miembro de la notificación:	Canadá, EE. UU. y Australia
- Número de la notificación:	Aún no disponible

7. Resumen del impacto ambiental potencial de la liberación de los OMG

No se prevé ningún impacto ambiental de la administración altamente controlada del producto en investigación (PEI) CTX130 a un número limitado de pacientes en el estudio clínico CRSP-ONC-003.

El OMG/PEI (CTX130) es una inmunoterapia con linfocitos T dirigida a CD70 formada por linfocitos T alogénicos modificados genéticamente *ex vivo* mediante componentes de edición genómica de CRISPR/Cas9 y un vector AAV recombinante que no puede replicarse. Los linfocitos no son viables fuera del cuerpo del paciente. En caso de que los linfocitos se expongan al medio ambiente, por ejemplo, si se liberasen de forma accidental del recipiente que los contiene, no serían viables, ya que solo pueden sobrevivir *ex vivo* en condiciones especiales de cultivo celular en una incubadora de CO₂ a 37 °C en un medio de cultivo.

Por tanto, el riesgo para el medio ambiente que pudiera derivarse de la eliminación inapropiada de residuos o producto no utilizado o la propagación accidental durante su manipulación se considera despreciable. Además, la excreción del producto vivo o de su progenie por parte del paciente es muy poco probable por los mismos motivos.

B. Información sobre el organismo receptor o sobre los organismos parentales de los que se deriva el OMG

1. Identificación del organismo receptor o parental

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es :	
Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input checked="" type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/>
(especifique el phylum y la clase) Humano	
Otros, (especifíquense):	

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): Primates
ii) Género: Homo
iii) Especie: <i>Homo sapiens</i>
iv) Subespecie: <i>Homo sapiens sapiens</i>
v) Cepa: Linfocitos T
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): No procede
vii) Nombre vulgar: Humano

3. Distribución geográfica del organismo

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:
Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>
b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:

i) Sí , los siguientes puntos no se aplican a los linfocitos humanos.

En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:

Atlántico

Mediterráneo

Boreal

Alpino

Continental

Macaronésico

ii) No

iii) No se sabe

c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?

Sí

No No aplicable a linfocitos humanos

d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?

Sí

No No aplicable a linfocitos humanos

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo:

Agua

Suelo, en libertad

Suelo, en simbiosis radiculares de plantas

En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas

En simbiosis con animales

Otros , (especifíquense):

No aplicable a linfocitos humanos

b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual:

5. a) Técnicas de detección

Técnicas comunes de análisis de glóbulos sanguíneos (por ejemplo, citometría de flujo)

5. b) Técnicas de identificación

Técnicas comunes de análisis de glóbulos sanguíneos (por ejemplo, citometría de flujo)

6. Está clasificado el organismo receptor con arreglo a las normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
-----------------------------	--

En caso afirmativo, especifíquese:

7. ¿Es el organismo receptor, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
-----------------------------	--	-------------------------------------

En caso afirmativo

- a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:

humanos

animales

plantas

otros

- b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.

El OMG está preparado a partir de células monomorfonucleares de sangre periférica (CMSP) de donantes sanos obtenidas mediante un procedimiento de leucaféresis estándar. Los linfocitos T no pueden sobrevivir fuera del cuerpo del paciente. A los donantes se les hacen pruebas de ADN y anticuerpos frente a VIH-1 y VIH-2, de ADN y anticuerpos frente al virus de la hepatitis B y C, anticuerpos frente a *Treponema pallidum*, anticuerpos frente a HTLV I y HTLV II y anticuerpos frente a citomegalovirus, ADN del virus del Nilo Occidental, ADN del parásito *Trypanosoma cruzi* y anticuerpos frente al virus de Zika. Quedan excluidos los donantes con factores de riesgo de encefalopatías espongiiformes transmisibles entre humanos, incluida la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.

8. Información sobre reproducción

No aplicable a linfocitos humanos.

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:	
b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado:	
c) Modo de reproducción	
Sexual <input type="checkbox"/>	Asexual <input type="checkbox"/>
d) Factores que afectan a la reproducción:	

9. Capacidad de supervivencia

a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo

- i) endosporas
- ii) quistes
- iii) esclerocios
- iv) esporas asexuales(hongos)
- v) esporas sexuales (hongos)
- vi) huevos
- vii) pupas
- viii) larvas
- ix) otras (especifíquense)

No aplicable a linfocitos humanos.

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

La supervivencia de los linfocitos T humanos requiere una compleja combinación de condiciones de cultivo celular en una incubadora de CO₂ a 37 °C en un medio de cultivo. Las condiciones ambientales *ex vivo* son considerablemente diferentes y no podrán mantener la supervivencia celular (temperatura, pH, UV y un cambio en las condiciones biofísicas y bioquímicas).

10. a) Vías de diseminación

Los linfocitos T humanos solo se pueden transmitir entre las personas mediante inyección. No se espera diseminación en el medio ambiente dada la rápida inactivación y la falta de una vía de entrada natural en el organismo.

10. b) Factores que afectan a la diseminación

No procede. Véase más arriba.

11. Modificaciones genéticas previas del organismo receptor o parental de las que ya se ha notificado la liberación en el país notificador (se darán los números de la notificación)

Ninguna.

C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

- i) Inserción de material genético Inserción del receptor CAR en el locus del TRAC
- ii) Eliminación de material genético
- iii) Sustitución de una base
- iv) Fusión celular

- v) Otro (especifíquese) Destrucción de los locus de la B2M y el TRAC mediante modificación CRISPR/Cas9 (mediante la creación de inserción y eliminación [indel] mediante unión de extremos no homólogos tras rotura de doble cadena [DSB] con Cas9)

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

El sistema CRISPR/Cas9, junto con un molde de ADN derivado del AAV, se ha usado para crear modificaciones en el genoma de los linfocitos T de donantes sanos: destrucción del TRAC, destrucción de la B2M e incorporación sitio-específica de la secuencia de ADN que codifica el CAR dirigido a CD70 en el locus del TRAC. Las destrucciones de TRAC y la B2M reducen la probabilidad de padecer enfermedad de injerto contra huésped (EICH) y rechazo de CTX130, respectivamente. La inserción del CAR permite actuar de forma específica en células tumorales que expresen CD70.

3. a) ¿Se ha usado un vector en el proceso de modificación?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5.	

3. b) En caso afirmativo, ¿está presente el vector, total o parcialmente, en el organismo modificado?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5	

4. Si ha contestado afirmativamente a la pregunta 3 b), aporte la información siguiente

a) Tipo de vector	
plásmido	<input type="checkbox"/>
bacteriófago	<input type="checkbox"/>
virus	<input checked="" type="checkbox"/>
cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense):	
b) Identidad del vector: Vector AAVr sin capacidad de replicación.	
c) Gama de organismos huéspedes del vector: El vector puede transducir una amplia variedad de linfocitos, incluidos los indivisibles.	

d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable

Sí

No

Resistencia a los antibióticos

Otras, (especifíquense)

Los linfocitos transducidos se pueden identificar mediante la detección de la expresión de CAR (es decir, el transgén) mediante citometría de flujo.

Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:

No procede.

e) Fragmentos constituyentes del vector

El genoma del vector contiene la casete de expresión CAR anti-CD70 flanqueado por 2 secuencias de aproximadamente 800 pares de bases, que son homólogas a las secuencias presentes en el locus de la cadena α de TCR, denominadas brazos de homología izquierdo y derecho (LHA de TRAC y RHA de TRAC), respectivamente. Los brazos de homología del vector están flanqueados por repeticiones terminales invertidas izquierdas y derechas del AAV2. El casete de expresión de CAR consta del promotor del factor de elongación 1 α , la secuencia codificante de CAR y una secuencia de señal poli(A) sintética.

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

i) transformación

ii) electroporación

iii) macroinyección

iv) microinyección

v) infección

vi) otros, (especifíquense) **transducción con el AAVr**

5. Si las repuestas a C. 3) a) y b) son negativas, ¿qué método se siguió en el proceso de modificación?

i) transformación

ii) microinyección

iii) macroencapsulación

iv) macroinyección

v) otros, (especifíquense)

6. Información sobre el fragmento de inserción:

<p>a) Composición del fragmento de inserción:</p> <p>CTX130 procede de linfocitos T alogénicos, por medio de los cuales se eliminan el receptor de linfocitos T y las proteínas de clase I del complejo principal de histocompatibilidad y se añade el CAR. El CAR consta de un scFv anti-CD70 humanizado, el dominio transmembrana de CD8, un dominio coestimulador de CD28 y un dominio de señalización de la CD3ζ.</p>
<p>b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Secuencias del vector AAV recombinante - Secuencias bisagra y del dominio de unión a la CD70 humanizada - Dominio transmembrana y bisagra, que se fusiona con el dominio de señalización intracelular
<p>c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG</p> <p>La inserción incluye un dominio de unión específico de la CD70, ligado a una región transmembrana y a una región bisagra, que se fusiona con el dominio de señalización intracelular. El dominio de señalización activa la señalización en los linfocitos T tras la unión del CAR para favorecer la supervivencia, la persistencia y la actividad antitumoral de los linfocitos T y los elementos coestimuladores envían una señal coestimuladora adicional. Juntas, las señales producen la activación de los linfocitos T, con proliferación, secreción de citocinas y lisis de linfocitos B normales y malignos que expresan CD70.</p>
<p>d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:</p> <ul style="list-style-type: none"> - en un plásmido libre <input type="checkbox"/> - integrado en el cromosoma <input checked="" type="checkbox"/> - Otros especifíquense):
<p>e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>En caso afirmativo , especifíquese:</p>

D. Información sobre el organismo u organismos de los que se deriva el fragmento de inserción (donante)

1. Indíquese si es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input checked="" type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase): <i>Homo sapiens</i>
Otros (especifíquense)	

2. Nombre completo

La inserción (gen CAR) contiene secuencias humanas (véase el apartado C6(b)).

i) Orden y taxón superior (animales): <i>Primates</i>
ii) Familia (plantas):
iii) Género: <i>Homínidos</i>
iv) Especie: <i>Homo</i>
v) Subespecie: <i>Homo sapiens</i>
vi) Cepa: <i>Linfocitos T</i>
vii) Cultivar/línea de reproducción:
viii) Patovar:
ix) Nombre vulgar: <i>Linfocitos T humanos</i>

3. ¿Es el organismo vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese		

<p>a) ¿para cuál de los organismos siguientes?</p> <p>humanos <input type="checkbox"/></p> <p>animales <input type="checkbox"/></p> <p>plantas <input type="checkbox"/></p> <p>otros <input type="checkbox"/></p>
<p>b) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p>
<p>En caso afirmativo, proporcione la información pertinente de conformidad con la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II del Anexo III A:</p>

4. ¿Está clasificado el organismo donante con arreglo a normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente como, por ejemplo, la Directiva 90/679/ CEE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo , especifíquese:	

5. ¿Intercambian los organismos donante y receptor material genético de forma natural?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
-----------------------------	--	-------------------------------------

E. Información sobre el organismo modificado genéticamente

1. Rasgos genéticos y características fenotípicas del organismo receptor o parental que hayan sufrido algún cambio como resultado de la modificación genética

<p>a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese</p>
<p>b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p>
<p>c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p>

<p>Especifíquese:</p>
<p>d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p>

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

<p>La integración del casete de expresión del CAR en el locus del TRAC y la reparación del ADN tras la destrucción de los locus del TRAC o de la B2M produjeron una modificación genética estable de los linfocitos T alogénicos y, por tanto, presentan modificaciones duraderas para el genoma hospedador.</p>
--

3. ¿Es el OMG, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
<p>En caso afirmativo:</p> <p>a) ¿Para cuál de los organismos humanos siguientes? <input type="checkbox"/></p> <p style="padding-left: 150px;">animales <input type="checkbox"/></p> <p style="padding-left: 150px;">plantas <input type="checkbox"/></p> <p style="padding-left: 150px;">otros <input type="checkbox"/></p>		

- b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A

El OMG está preparado a partir de células monomorfonucleares de sangre periférica (CMSP) de donantes sanos obtenidas mediante un procedimiento de leucaféresis estándar. Los linfocitos T no pueden sobrevivir fuera del cuerpo del paciente. A los donantes se les hacen pruebas de ADN y anticuerpos frente a VIH-1 y VIH-2, de ADN y anticuerpos frente al virus de la hepatitis B y C, anticuerpos frente a *Treponema pallidum*, anticuerpos frente a HTLV I y HTLV II y anticuerpos frente a citomegalovirus, ADN del virus del Nilo Occidental, ADN del parásito *Trypanosoma cruzi* y anticuerpos frente al virus de Zika. Quedan excluidos los donantes con factores de riesgo de encefalopatías espongiiformes transmisibles entre humanos, incluida la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.

El vector clínico (vector AAV recombinante) que transporta la información genética del CAR usado en la producción del CTX130 se basa en el vector AAV. El AAV se ha detectado en numerosos tejidos diferentes de varias especies animales, incluidos primates y no primates, pero, dado que se no ha detectado que provoque enfermedad en humanos, se considera no patógeno ([Monahan et al., 2002](#); [Tenenbaum et al., 2003](#)). Los vectores AAV pueden transducir una amplia variedad de tipos de células humanas y animales con una baja eficiencia de transducción en general y con diferentes serotipos capaces de demostrar tropismo ante tejidos específicos.

Dados los perfiles de seguridad favorables, la capacidad para transducir células, divisorias o no, y la inmunogenicidad relativamente baja del AAV, actualmente se están desarrollando como vectores para genoterapia.

Los AAV están ampliamente distribuidos entre numerosas especies animales y humanos y se calcula que aproximadamente el 80 % de la población adulta es seropositiva en al menos un serotipo de AAV. A pesar de la distribución ubicua de los AAV y de su alta frecuencia de inmunidad, estos no se han relacionado con ninguna enfermedad patógena en humanos ni en animales ([Monahan et al., 2002](#); [Tenenbaum et al., 2003](#)).

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

- a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG:

Por lo general, el OMG se puede detectar mediante citometría de flujo.

- b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

Citometría de flujo.

F. Información sobre la liberación

1. Finalidad de la liberación (incluido todo beneficio ambiental potencial significativo esperado)

El OMG final se infundirá a los pacientes con carcinoma de células renales (CCR) avanzado, recidivante o resistente al tratamiento. Al añadir el CAR anti-CD70, los linfocitos T modificados se dirigen hacia las células tumorales que expresan CD70, lo que dará como resultado la muerte de las células malignas.

No se prevé ningún impacto ambiental de la administración intravenosa altamente controlada del PEI CTX130 a un número limitado de pacientes en el estudio clínico CRSP-ONC-003.

En caso de que los linfocitos modificados genéticamente se expusiesen al medio ambiente, por ejemplo, si se liberasen de forma accidental de su envase, no serían viables, ya que solo pueden sobrevivir *ex vivo* en condiciones especiales de cultivo en una incubadora de CO₂ a 37 °C en un medio de cultivo.

2. ¿Es diferente el lugar de liberación del hábitat natural o del ecosistema en el que se utiliza, se mantiene o se encuentra regularmente el organismo receptor o parental?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese:	

3. Información relativa a la liberación y a la zona circundante

a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda): Un centro en la Comunidad de Navarra: Clínica Universidad de Navarra, Avda. Pío XII, 36, 31008 Pamplona, Navarra
b) Área del lugar (m ²): No procede i) lugar real de la liberación (m ²): ii) área de liberación más amplia (m ²):
c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados: No procede
d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG: No procede

4. Método y amplitud de la liberación

a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse: El OMG se administrará a los pacientes por vía intravenosa a una concentración de al menos 3×10^7 linfocitos T CAR ⁺ y hasta un máximo de 9×10^8 linfocitos T CAR ⁺ .
b. Duración de la operación: La infusión del OMG se realizará mediante una inyección lenta que no durará más de 20 minutos desde el momento de descongelación.
c. Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación: El OMG se administra al paciente por vía intravenosa y el personal seguirá procedimientos para una administración y manipulación seguras, según se define en el «Manual de recepción, almacenamiento e infusión del producto CTX130». El OMG se preparará en las instalaciones de fabricación con buenas prácticas de fabricación (BPF) y se enviará criopreservado a los centros del estudio clínico en recipientes con nitrógeno seco debidamente precintados. El OMG se almacenará a ≤ -135 °C hasta poco antes de la infusión programada. Dependiendo de los procedimientos de trabajo y las prácticas habituales del centro, el producto se descongelará en el laboratorio de células madre del centro clínico y se llevará de inmediato junto a la cama del paciente para su infusión o se podrá descongelar al lado del paciente para administrárselo justo después de la descongelación. El personal que participa en los procedimientos clínicos cuenta con una dilatada experiencia en la administración de linfocitos T CAR autólogos habituales y seguirá las normas de buena práctica clínica. Todo el material que entre en

contacto con el OMG se eliminará como residuos de riesgo biológico.

5. Descripción resumida de las condiciones ambientales medias (clima, temperatura, etc.)

No procede.

6. 6. Datos pertinentes sobre liberaciones anteriores del mismo OMG. si los hubiera, específicamente relacionados a las repercusiones potenciales de la liberación en el medio ambiente y la salud humana

No procede.

G. Interacciones del OMG con el medio ambiente y repercusiones potenciales sobre este, si es apreciablemente diferente del organismo receptor o parental

La interacción de los linfocitos modificados con el receptor es similar a las interacciones de los linfocitos no modificados.

1. Nombre del organismo diana (si procede)

i) Orden y taxón superior (animales):	Primates
ii) Familia (plantas):	No procede
iii) Género:	Homo
iv) Especie:	<i>Homo sapiens</i>
v) Subespecies:	<i>Homo sapiens sapiens</i>
vi) Cepa:	No procede
vii) Cultivar/Línea de reproducción:	No procede
viii) Patovar:	No procede
ix) Nombre vulgar:	No procede

2. Mecanismo previsto y resultado de la interacción entre los OMG liberados y el organismo diana (si procede)

Los linfocitos T CAR (OMG) se infundirán a pacientes con carcinoma de células renales (CCR) recidivante o resistente al tratamiento con diferenciación de células claras (CRSP-ONC-003). Las modificaciones del genoma están destinadas a reducir la probabilidad de padecer EICH, mejorar la persistencia al reducir la probabilidad de rechazo por parte del hospedador, aumentar la salud y la actividad de CTX130 y dirigir los linfocitos T modificados a las células tumorales que expresen CD70.

3. Otras interacciones potencialmente significativas con otros organismos en el medio ambiente

Ninguna.

4. ¿Es probable que se dé una selección posterior a la liberación del OMG como, por ejemplo, una competencia mayor un carácter más invasivo, etc.?

Sí	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe
Especifíquese: Los linfocitos presentes en CTX130 no son viables en el medio ambiente fuera del receptor previsto y solo pueden sobrevivir <i>ex vivo</i> en determinadas condiciones de cultivo celular.		

5. Tipos de ecosistemas a los que puede extenderse el OMG desde el lugar de liberación y en los cuales puede quedar establecido

Los linfocitos presentes en CTX130 no son viables en el medio ambiente fuera del

receptor previsto y solo pueden sobrevivir *ex vivo* en determinadas condiciones de cultivo celular.

6. Nombre completo de los organismos que no son el organismo diana, pero que (teniendo en cuenta la naturaleza del medio ambiente receptor) pueden sufrir accidentalmente daños importantes por la liberación del OMG

Ninguna. Este apartado no procede.

i) Orden y taxón superior (animales):
ii) Familia (plantas):
iii) Género:
iv) Especie:
v) Subespecie:
vi) Cepa:
vii) Cultivar/línea de reproducción:
viii) Patovar
ix) Nombre vulgar:

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación: No se prevé.
b) De otros organismos al OMG: No se prevé.
c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: Activación del sistema inmunitario.

8. Referencias de los resultados pertinentes (si los hay) de estudios sobre el comportamiento y las características del OMG sobre su repercusión ecológica llevados a cabo en ambientes naturales simulados (por ejemplo, microcosmos, etc.)

Ninguna.

9. Posibles interacciones ambientalmente significativas con procesos biogeoquímicos (si son diferentes del organismo receptor o parental)

No se prevé.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

Tras la infusión, se hará a los pacientes análisis de farmacocinética de los linfocitos T CAR (OMG), según el calendario de procedimientos definido en el protocolo, así como otras evaluaciones de la seguridad y la eficacia.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

No procede.

3. Métodos de detección de la transferencia del material genético donado del OMG a otros organismos

No procede.

4. Tamaño del área de seguimiento (m²)

No procede.

5. Duración del seguimiento

Se someterá a los pacientes a un seguimiento durante un máximo de 15 años tras el tratamiento.

6. Frecuencia del seguimiento

CRPS-ONC-003: Los pacientes estarán hospitalizados durante al menos 7 días tras la infusión de CTX130. De acuerdo con el protocolo, las visitas están programadas para los días 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 22 y 28 y los meses 2, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 y 60. Luego, los pacientes entrarán en un protocolo de seguimiento a largo plazo con visitas anuales durante 10 años. En total, los pacientes estarán supervisados durante 15 años tras el tratamiento.

I. Información sobre el tratamiento posliberación y el tratamiento de residuos

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

El OMG se administra al paciente por vía intravenosa mediante un sistema de administración intravenosa cerrado sin aguja. Se usará un desinfectante aprobado para hospitales para la desinfección periódica de las superficies de trabajo y el material que pueda entrar en contacto con el OMG, de acuerdo con los procedimientos de descontaminación y gestión del material de riesgo biológico del centro. Todos los residuos se eliminan como residuos de riesgo biológico.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

El producto en investigación se infunde al paciente como tratamiento terapéutico.

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

En el centro de administración del OMG al paciente se generan residuos como: viales con restos de los linfocitos T humanos modificados genéticamente, tubos, guantes, papel absorbente, agujas, jeringas, torundas de algodón, adhesivos secos y prendas desechables. Los objetos punzantes (como agujas) se almacenarán en recipientes específicos diferentes debidamente etiquetados. Los residuos generados durante la manipulación del producto en investigación son mínimos y serán los habituales para este tipo de procedimiento. Todos los residuos se eliminan como

residuos de riesgo biológico.

3. (b) Tratamiento de residuos

Todos los residuos se eliminan como residuos de riesgo biológico.

J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia

1. Métodos y procedimientos de control de la diseminación del OMG o de los OMG en caso de dispersión imprevista

El OMG no puede diseminarse en el medio ambiente, ya que las condiciones ambientales fuera del hospedador (el cuerpo) son considerablemente diferentes y no podrán mantener la supervivencia celular (temperatura, pH, UV y un cambio en las condiciones biofísicas y bioquímicas). No es posible la propagación en el medio ambiente dada la rápida inactivación y la falta de una vía de entrada natural en el organismo. Las posibles liberaciones accidentales del producto CTX130 (derrames, contacto con la piel o los ojos y pinchazos accidentales) se gestionarán de acuerdo con el protocolo del hospital para la exposición a agentes biológicos en clínica y laboratorio. La administración se realizará en la Unidad de Trasplante Hematopoyético del centro con acceso restringido al personal. El personal del centro responsable de la infusión del producto farmacéutico tendrá experiencia con las mejores prácticas de administración de terapias celulares. Durante la preparación y la infusión del fármaco en estudio, los equipos de protección personal constarán de mascarilla, bata y guantes estériles. Dadas las condiciones de administración y las medidas adoptadas durante ésta, el riesgo de liberación accidental se considera despreciable.

2. Métodos de eliminación del OMG o de los OMG de las áreas potencialmente afectadas

En caso de derrame accidental de linfocitos CTX130, se aplicarán los procedimientos de limpieza y descontaminación hospitalarios. Todos los residuos se eliminan como residuos de riesgo biológico.

3. Métodos de eliminación o saneamiento de plantas, animales, suelos, etc. que pudieran ser expuestos al organismo durante la dispersión o después de la misma

No procede.

4. Planes de protección de la salud humana y del medio ambiente en caso de que se produzca un efecto no deseable

Los pacientes se supervisan durante 60 meses tras la infusión de CTX130 de acuerdo con el protocolo clínico. Tras finalizar este estudio con tratamiento, los pacientes participarán en un estudio de seguimiento a largo plazo independiente durante un total de 15 años de supervisión tras el tratamiento. Además, los linfocitos presentes en CTX130 solo pueden sobrevivir *ex vivo* en determinadas condiciones de cultivo celular. Por tanto, no se prevén efectos no deseables para el medio ambiente.