



(12) Translation of new
European patent specification
After opposition procedure

(11) NO/EP 2501817 B2

NORWAY (19) NO
(51) Int Cl.

C12N 15/85 (2006.01)
A01K 67/027 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2016.02.01
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2015.08.26
(45)	Decision of the opposition in EPO	2021.04.21
	Decision of the opposition in NIPO	2021.09.13
(86)	European Application Nr.	11703799.4
(86)	European Filing Date	2011.02.08
(87)	The European Application's Publication Date	2012.09.26
(30)	Priority	2010.02.08, US, 302282 P
(84)	Designated Contracting States:	AL ; AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; RS ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR
	Designated Extension States:	BA ; ME
(73)	Proprietor	REGENERON PHARMACEUTICALS, INC., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, USA
(72)	Inventor	MCWHIRTER, John, 2035 Crescent Drive, Tarrytown, NY 10591, USA MACDONALD, Lynn, 16 Gedney Way, White Plains, NY 10605, USA STEVENS, Sean, 355 Berry Street 413, San Francisco, CA 94158, USA DAVIS, Samuel, 332 West 88th Street, Apt. B2, New York, NY 10024, USA MURPHY, Andrew, J., 10 Newton Court, Croton-On-Hudson, NY 10520, USA BUCKLER, David R., 6 Erick Court, Chester NJ 07930, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54) Title **COMMON LIGHT CHAIN MOUSE**

(56) References
Cited: WO-A2-2004/009618, US-A1- 2003 078 385, US-B2- 6 596 541, US-A- 6 114 598,
WO-A2-2009/157771, WO-A2-98/50431, WO-A1-2009/089004, WO-A1-02/066630,
WO-A1-92/03918, WO-A1-91/00906, US-A1- 2010 331 527, US-A1- 2006 015 957,
KROESEN: "Bispecific antibodies for treatment of cancer in experimental animal models and
man", Advanced Drug Delivery Reviews, vol. 31, 1998, pages 105-129,
Taki et al: Science, vol. 262, 1993, pages 1268-1271,

Janeway et al: "Immunology, the Immune System in Health and Disease", 1999 Fourth vol. Chapters, pages 79-113-195-226,
 Rickert et al: Nature, vol. 376, 1995, pages 352-366,
 Engels et al: Immunity, vol. 3 , pages 39-50,
 Rickert et al: Nucleic Acids Research, vol. 25, no. 6, 1997, pages 1317-1318,
 SCOTT C. T.: "Mice with a human touch", Nature Biotechnology, vol. 25, no. 10, October 2007 (2007-10), pages 1075-1077,
 JOYNER: In: B.D. HAMES: "Gene Targeting. A Practical Approach.", pages 1-194,
 LITTLE: In: "Recombinant antibodies for immunotherapy", 2009
 LONBERG: "Fully human antibodies from transgenic mouse and phage display platforms .", Current Opinion in Immunology, vol. 20, August 2008 (2008-08), pages 450-459,
 SMITH: "A novel, native-format bispecific antibody triggering T- cell killing of B-cells is robustly active in mouse tumor models and cynomolgus monkeys;", Nature Scientific Reports, vol. 5, 2015, page 179431,
 MATSUDA: "The Complete Nucleotide Sequence of the Human Immunoglobulin Heavy Chain Variable Region Locus;", J. Exp. Med., vol. 188, no. 11, 7 December 1998 (1998-12-07), pages 2151-2162,
 Marie-Paule Lefranc ET AL: "Nomenclature of the Human Immunoglobulin Genes" In: "Current Protocols in Immunology", 1 January 2001 (2001-01-01), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, XP055055079, ISBN: 978-0-47-114273-7 DOI: 10.1002/0471142735.ima01ps40,
 DEISENHOFER J: "CRYSTALLOGRAPHIC REFINEMENT AND ATOMIC MODELS OF A HUMAN FC FRAGMENT AND ITS COMPLEX WITH FRAGMENT B OF PROTEIN A FROM STAPHYLOCOCCUS AUREUS AT 2.9- AND 2.8-Å RESOLUTION", BIOCHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, vol. 20, no. 9, 28 April 1981 (1981-04-28) , pages 2361-2370, XP009051337, ISSN: 0006-2960, DOI: 10.1021/BI00512A001
 LINDHOFER H ET AL: "Preferential species-restricted heavy/light chain pairing in rat/mouse quadromas. Implications for a single-step purification of bispecific antibodies", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, THE AMERICAN ASSOCIATION OF IMMUNOLOGISTS, US, vol. 155, no. 1, 1 July 1995 (1995-07-01), pages 219-225, XP002190775, ISSN: 0022-1767
 CARTER PAUL: "Bispecific human IgG by design", JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V.,AMSTERDAM, NL, vol. 248, no. 1-2, 1 January 2001 (2001-01-01), pages 7-15, XP002974199, ISSN: 0022-1759, DOI: DOI:10.1016/S0022-1759(00)00339-2
 MARVIN JONATHAN S ET AL: "Recombinant approaches to IgG-like bispecific antibodies", ACTA PHARMACOLOGICA SINICA, NATURE PUBLISHING GROUP, US, CN, vol. 26, no. 6, 1 June 2005 (2005-06-01), pages 649-658, XP002412036, ISSN: 1671-4083, DOI: DOI:10.1111/J.1745-7254.2005.00119.X
 MERCHANT A MARGARET ET AL: "An efficient route to human bispecific IgG", NATURE BIOTECHNOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP, NEW YORK, NY, US, vol. 16, no. 7, 1 July 1998 (1998-07-01), pages 677-681, XP002141015, ISSN: 1087-0156, DOI: DOI:10.1038/NBT0798-677
 ROLAND E. KONTERMANN: "Dual targeting strategies with bispecific antibodies", mAbs, vol. 4, no. 2, March 2012 (2012-03), pages 182-197,
 NELSON: "Development trends for human monoclonal antibody therapeutics.", Nature Reviews Drug Discovery, vol. 9, 2010, pages 767-774,
 JAKOBOVITS et al.: "From XenoMouse technology to panitumumab, the first fully human antibody product from transgenic mice", Nature Biotechnology, vol. 25, no. 10, 5 October 2007 (2007-10-05), pages 1134-1143,

Enclosed is a translation of the patent claims in Norwegian. Please note that as per the Norwegian Patents Acts, section 66i the patent will receive protection in Norway only as far as there is agreement between the translation and the language of the application/patent granted at the EPO. In matters concerning the validity of the patent, language of the application/patent granted at the EPO will be used as the basis for the decision. The patent documents published by the EPO are available through Espacenet (<http://worldwide.espacenet.com>) or via the search engine on our website here: <https://search.patentstyret.no/>

2501817

1

Patentkrav**1. Mus, omfattende:**

(a) en erstatning i den endogene variable regionlokusen til den lette κ -kjeden av det murine immunglobulinet av alle gensegmenter for den endogene variable regionen til den lette κ -kjeden av det murine immunglobulinet med et enkelt omgruppert humant V κ 1-39/J κ -gensegment eller et enkelt omgruppert humant V κ 3-20/Jx-gensegment, der det humane gensegmentet er operativt koblet til et endogent murint konstant κ -gen og der musen mangler en variabel regionloкус for den lette κ -kjeden av det endogene murine immunglobulinet som er i stand til å omgruppere og danne et gen som koder for en variabel murin κ -region; og,

(b) en erstatning av den endogene murine genlokusen for den variable regionen av den tunge kjeden med flere humane gensegmenter for den variable regionen av den tunge kjeden, der gensegmentene for den humane variable regionen av den tunge kjeden er operativt koblet til et endogent murint gen for den konstante tunge kjeden, og de humane gensegmentene for den variable regionen av den tunge kjeden er i stand til å omgruppere og danne et omgruppert humant/murint kimært tungkjedegen.

2. Musen ifølge krav 1, der:

(a) musen også omfatter en intronisk murin κ -forsterker 5' for den murine konstante regionen av den lette kjeden; eller

(b) musen også omfatter en 3'-forsterker for murint κ .

3. Musen ifølge krav 2, der:

(a) de flere gensegmentene for den variable regionen av den humane tunge kjeden omfatter et segment valgt fra gruppen som består av de humane gensegmentene for variabel immunglobulinregion 1-2, 1-8, 1-24, 2-5, 3-7,

2501817

2

3-9, 3-11, 3-13, 3-15, 3-20, 3-23, 3-30, 3-33, 3-48, 4-31, 4-39, 4-59, 5-51, og 6-1, og en kombinasjon av disse;

(b) de flere gensegmentene for den variable regionen av den humane tunge kjeden omfatter et segment valgt fra gruppen som består av gensegmentene D1-7, D1-26, D3-3, D3-10, D3-16, D3-22, D5-5, D5-12, D6-6, D6-13 og D7-27, og en kombinasjon av disse;

(c) musen omfatter en B-celle som omfatter en omgruppert gensekvens for den variable regionen av den tunge kjeden i immunglobulinet, som er omfattende et gen for den variable regionen av den tunge kjeden som stammer fra et VH-gensegment valgt fra gruppen som består av VH2-5, VH3-23, VH3-30, VH4-39, VH4-59, og VH5-51, og som stammer fra et D-gensegment valgt fra gruppen som består av D1-7, D1-26, D3-3, D3-16, D3-10, D3-22, D5-5, D5-12, D6-6, D6-13, og D7-27; eller

(d) musen omfatter en B-celle som omfatter en omgruppert gensekvens for den variable regionen av den tunge kjeden av immunglobulin, som er omfattende et VH-, JH- og DH-gensegment valgt fra gruppen som består av VH2-5 + JH1 + D6-6, VH3-23 + JH4 + D3, VH3-23 + JH4 + D3-10, VH3-30 + JH1 + D6-6, VH3-30 + JH3 + D6-6, VH3-30 + JH4 + D1-7, VH3-30 + JH4 + D5-12, VH3-30 + JH4 + D6-13, VH3-30 + JH4 + D6-6, VH3-30 + JH4 + D7-27, VH3-30 + JH5 + D3-22, VH3-30 + JH5 + D6-6, VH3-30 + JH5 + D7-27, VH4-39 + JH3 + D1-26, VH4-59 + JH3 + D3-16, VH4-59 + JH3 + D3-22, VH4-59 + JH4 + D3-16, VH5-51 + JH3 + D5-5, VH5-51 + JH5 + D6-13, og VH5-51 + JH6 + D3-16.

4. Musen ifølge krav 1, der:

(a) det humane V κ 1-39-gensegmentet er til stede i en omgruppering med et humant J κ 5-gensegment; eller

(b) det humane V κ 3-20-gensegmentet er til stede i en omgruppering med et humant J κ 1-gensegment.

2501817

3

5. Celle isolert fra en genetisk modifisert mus ifølge hvilket som helst av de foregående kravene, der cellen omfatter:

(a) en erstatning i den endogene variable regionlokusen til den lette κ -kjeden av det murine immunglobulinet av alle gensegmenter for den endogene variable regionen til den lette κ -kjeden av det murine immunglobulinet med et enkelt humant $V_{\kappa}1-39/J_{\kappa}$ -gensegment eller et enkelt humant $V_{\kappa}3-20/J_{\kappa}$ -gensegment, der det humane gensegmentet er operativt koblet til et endogent murint konstant κ -gen og der cellen mangler en variabel regionloкус for den lette κ -kjeden av det endogene murine immunglobulinet som er i stand til å omgruppere og danne et gen som koder for en variabel murin κ -region; og,

(b) en erstatning av den endogene murine genlokusen for den variable regionen av den tunge kjeden med flere humane gensegmenter for den variable regionen av den tunge kjeden, der gensegmentene for den humane variable regionen av den tunge kjeden er operativt koblet til et endogent murint gen for den konstante tunge kjeden, og de humane gensegmentene for den variable regionen av den tunge kjeden er i stand til å omgruppere og danne et omgruppert humant/murint kimært tungkjedegen.

6. Ikke-terapeutisk fremgangsmåte for fremstilling av et antistoff som binder et antigen av interesse, som er omfattende å immunisere en mus ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 4 med et antigen av interesse, å oppnå en gensekvens for den variable regionen av immunglobulin fra musen og benytte gensekvensen for den variable regionen av immunglobulinet til å fremstille et antistoff som binder antigenet.

7. Fremgangsmåten ifølge krav 6, videre omfattende:

- å uttrykke i en enkelt celle: (a) en første gensekvens (V_H) for den variable regionen av den tunge kjeden til musen ifølge hvilket som helst av kravene

2501817

4

1 til 4 som er blitt immunisert, hvor V_H -gensekvensen er fusjonert med en gensekvens for den konstante regionen av en human tung kjede (C_H); og (b) en gensekvens for den variable regionen av den lette kjeden (V_L) til musen ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 4 som er blitt immunisert, hvor V_L -gensekvensen er fusjonert med en gensekvens for den konstante regionen av en human lett kjede (C_L);

- å opprettholde cellen under forhold som er tilstrekkelige til å uttrykke et helt humant antistoff; og

- å isolere antistoffet.

8. Fremgangsmåten ifølge krav 7, hvor cellen omfatter en andre V_H -gensekvens av en mus ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 4 som er blitt immunisert, hvor V_H -gensekvensen er fusjonert med en human C_H -gensekvens, hvor den første V_H -gensekvensen koder for et V_H -domene som gjenkjenner en første epitop, og den andre V_H -gensekvensen koder for et V_H -domene som gjenkjenner en andre epitop, hvor den første epitopen og den andre epitopen ikke er identiske.

9. Ikke-terapeutisk fremgangsmåte for fremstilling av et humant bispesifikt antistoff, der fremgangsmåten omfatter å immunisere en mus ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 4, og å fremstille det bispesifikke antistoffet ved hjelp av gensekvenser for det humane variable området i B-celler fra musen.

10. Fremgangsmåten ifølge krav 9, der fremgangsmåten omfatter:

(a) å identifisere en klonalt valgt lymfocytt fra musen ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 4, der musen som er blitt immunisert og har fått utvikle en immunrespons mot et antigen av interesse, der lymfocytten uttrykker et antistoff som spesifikt binder antigenet av interesse;

(b) å oppnå en nukleotidsekvens fra lymfocytten eller antistoffet som koder for den variable regionen av den humane tunge kjeden til antistoffet som spesifikt binder antigenet av interesse; og

2501817

5

(c) å benytte nukleotidsekvensen i (b) til å fremstille et bispesifikt antistoff.

11. Fremgangsmåten ifølge krav 10, der trinnene (a) til (c) utføres en første gang for et første antigen av interesse for å generere en første sekvens for den variable regionen av en human tung kjede, og trinnene (a) til (c) utføres en andre gang for et andre antigen av interesse for å generere en andre sekvens for den variable regionen av en human tung kjede, og der den første sekvensen for den variable regionen av en human tung kjede uttrykkes fusjonert med en første konstant region av en human tung kjede for å danne en første human tung kjede, den andre sekvensen for den variable regionen av en human tung kjede uttrykkes fusjonert med en andre konstant region av en human tung kjede for å danne en andre human tung kjede, der den første og den andre humane tunge kjeden uttrykkes i nærvær av en enkel human lett kjede uttrykt fra et V κ 1-39- eller et V κ 3-20-gensegment.

12. Fremgangsmåten ifølge krav 10, der fremgangsmåten omfatter:

(a) å klonere sekvensene for de variable regionene av humane tunge kjeder fra B-celler fra:

- musen ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 4 som er blitt immunisert med et første antigen av interesse; og

- den samme musen eller en annen mus som genetisk er den samme, som er blitt immunisert med et andre antigen av interesse;

(b) å uttrykke sekvensene for den variable regionen av den humane tunge kjeden i (a) med den konstante regionen av den samme tunge kjeden og den samme lette kjeden, i en celle, for å fremstille et bispesifikt antistoff.

25

13. Fremgangsmåten ifølge krav 11 eller krav 12, der den første humane tunge kjeden omfatter en modifikasjon som eliminerer eller i vesentlig grad reduserer affiniteten til den første humane tunge kjeden for protein A, og den andre humane

2501817

6

tunge kjeden beholder evnen til å binde protein A, der modifikasjonen som eliminerer eller i vesentlig grad reduserer affiniteten til den første humane tunge kjeden for protein A velges blant en 95R (EU-435R), en 96F (EU-436F), og en kombinasjon av disse.

5

14. Anvendelse av en mus ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 4 til å velge et variabelt domene eller gensegment for den tunge kjeden av humant immunglobulin.