



(12) Translation of
european patent specification

(11) NO/EP 2568049 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 16/18 (2006.01)
A01K 67/027 (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
C12N 15/10 (2006.01)
C12N 15/85 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2016.08.15
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2016.04.13
(86)	European Application Nr.	12195716.1
(86)	European Filing Date	2011.06.22
(87)	The European Application's Publication Date	2013.03.13
(30)	Priority	2010.06.22, US, 357314 P 2010.06.22, US, 357317 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
(62)	Divided application	EP2480675, med inndato 2011.06.22
(73)	Proprietor	Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, US-USA
(72)	Inventor	Macdonald, Lynn, 16 Gedney Way, White Plains, NY New York 10605, US-USA Stevens, Sean, 355 Berry Street No. 413, San Francisco, CA California 94158, US-USA Gurer, Cagan, 8 Pamela Lane, Valhalla, NY New York 10595, US-USA Murphy, Andrew, J., 10 Newton Court, Croton-on-Hudson, NY New York 10520, US-USA Hosiawa, Karolina A., 14 Church Street, 2nd Floor, Tarrytown, NY New York 10591, US-USA
(74)	Agent or Attorney	Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO, Norge

(54)	Title	Mice expressing an immunoglobulin hybrid light chain with a human variable region
------	-------	--

(56)	References Cited:	WO-A1-00/26373 WO-A1-2011/004192 WO-A2-2008/054606 WO-A2-2009/143472 WO-A2-2010/039900 US-A1- 2002 026 036
------	-------------------	---

US-A1- 2003 217 373

US-A1- 2006 015 957

POPOV A V ET AL: "A HUMAN IMMUNOGLOBULIN L LOCUS IS SIMILARLY WELL EXPRESSED IN MICE AND HUMANS", THE JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE, ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS, US, vol. 189, no. 10, 17 May 1999 (1999-05-17) , pages 1611-1619, XP000891331, ISSN: 0022-1007, DOI: 10.1084/JEM.189.10.1611

GORMAN J R ET AL: "THE LGK 3' ENHANCER INFLUENCES THE RATIO OF LGK VERSUS LGL B LYMPHOCYTES", IMMUNITY, CELL PRESS, US, vol. 5, no. 3, 1 September 1996 (1996-09-01), pages 241-252, XP000891305, ISSN: 1074-7613, DOI: 10.1016/S1074-7613(00)80319-2

LEFRANC M P: "Nomenclature of the human immunoglobulin lambda (IGL) genes", EXPERIMENTAL AND CLINICAL IMMUNOGENETICS, S.KARGER, BASEL, CH, vol. 18, no. 4, 1 January 2001 (2001-01-01), pages 242-254, XP009096780, ISSN: 0254-9670, DOI: 10.1159/000049203

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/>

PATENTKRAV

1. Mus omfattende:
 - (a) en erstatning av ett eller flere tungkjedevariable- (V_H), mangfolds- (D_H) og sammenføynings- (J_H) gensegmenter med ett eller flere humane V_H -, D_H - og J_H -gensegmenter ved en endogen musetungkjedeimmunglobulinloкус; og
 - (b) en endogen λ (lambda) lettkjedeallel omfattende et uomstilt humant lambdavariabelt- ($hV\lambda$) og et uomstilt humant lambdasammenføynings- ($hJ\lambda$) gensegment,
- 10 der musen omfatter en sletting av en første $V\lambda$ - $J\lambda$ - $C\lambda$ -genklynge av den endogene muse- λ -lettkjedeallelen og erstattet, helt eller delvis, av $V\lambda$ - $J\lambda$ -gensegmentene av den andre $V\lambda$ - $J\lambda$ - $C\lambda$ -genklyngen av allelen med de humane $V\lambda$ - og $J\lambda$ -gensegmentene som er operativt knyttet til et intakt muselambdakonstant ($C\lambda$) regionen fra den andre $V\lambda$ - $J\lambda$ - $C\lambda$ -genklyngen slik at musen uttrykker en lettkjede avledet fra et $hV\lambda$ -, et $hJ\lambda$ - og et $C\lambda$ -
- 15 musegen, hvor de endogene forsterkerne Enh 2.4, muselambda-3'-forsterkeren (Enh) og Enh 3.1 holdes intakte i λ -lettkjedeallelen.
2. Musen ifølge krav 1, hvori den endogene λ (lambda) lettkjedeallelen omfatter en pluralitet av humane $V\lambda$ -gensegmenter.
- 20 3. Musen ifølge hvilket som helst av de foregående kravene, hvori den endogene λ (lambda) lettkjedeallelen omfatter:
 - (a) minst 12 uomstilte humane $V\lambda$ -gensegmenter; eller
 - (b) 13 til 28 uomstilte humane $V\lambda$ -gensegmenter.
- 25 4. Musen ifølge krav 3, hvori de humane $V\lambda$ -gensegmentene inkluderer
 - (a) $hV\lambda 3-1$, $hV\lambda 4-3$, $hV\lambda 2-8$, $hV\lambda 3-8$, $hV\lambda 3-10$, $hV\lambda 2-11$, og $hV\lambda 3-12$; eller
 - (b) $hV\lambda 2-14$, $hV\lambda 3-16$, $hV\lambda 2-18$, $hV\lambda 3-19$, $hV\lambda 3-21$, $hV\lambda 3-22$, $hV\lambda 2-23$, $hV\lambda 3-25$, og $hV\lambda 3-27$.
- 30 5. Musen ifølge krav 1, hvori den endogene λ (lambda) lettkjedeallelen omfatter et uomstilt $J\lambda$ -gensegment som er $hJ\lambda 1$.

6. Musen ifølge krav 1, hvori den endogene λ (lambda) lettkjedeallelen omfatter fire uomstilte humane J λ -gensegmenter.
7. Musen ifølge krav 6, hvori de fire uomstilte humane J λ -gensegmentene er J λ 1,
5 J λ 2, J λ 3 og J λ 7.
8. Musen ifølge krav 1, hvori den endogene λ (lambda) lettkjedeallelen mangler et endogent V λ -gensegment.
- 10 9. Musen ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 3, 5 og 8, hvori den endogene κ (kappa) lettkjedeallelen er slettet.
10. Musen ifølge krav 1, hvori den endogene muse- λ -lettkjedeallelen omfatter:
 - (a) en sammenhengende sekvens av den humane λ -lettkjedelokusen som
15 strekker seg fra V λ 3-12 til V λ 3-1;
 - (b) en sammenhengende sekvens av det humane λ -lettkjedelokuset som strekker seg fra V λ 3-29 til V λ 3-1; eller
 - (c) en sammenhengende sekvens av det humane λ -lettkjedelokuset som strekker seg fra V λ 3-29 til V λ 3-1 og en sammenhengende sekvens av det humane λ -
20 lettkjedelokuset som strekker seg fra V λ 5-52 til V λ 1-40.
11. Isolert celle som uttrykker en lettkjede avledet fra et hV λ -, et hJ λ - og et muse-C λ -gen, hvori cellen er fra, eller oppnåelig fra, musen ifølge hvilket som helst av de foregående kravene, og hvori cellen omfatter:
 - 25 (a) en erstatning av ett eller flere tungkjedevariable- (V_H), mangfolds- (D_H) og sammenføynings- (J_H) gensegmenter med ett eller flere humane V_H-, D_H- og J_H-gensegmenter ved en endogen musetungkjedeimmunglobulinlokus; og
 - (b) en endogen λ (lambda) lettkjedeallel omfattende et omstilt humant lambdavariabelt (hV λ)- og et omstilt humant lambdasammenføynings-(hJ λ)-gensegment,
30 og en sletting av en første V λ -J λ -C λ -genklynge av den endogene muse- λ -lettkjedeallelen og erstatning, helt eller delvis, av V λ -J λ -gensegmentene av den andre V λ -J λ -C λ -genklyngen av allelet med de humane V λ - og J λ -gensegmentene som er operativt knyttet til et intakt muse-C λ -konstant regionen av den andre V λ -J λ -C λ -genklyngen, og hvori de

endogene forsterkerne Enh 2.4, muselambda-3'-forsterkeren (Enh) og Enh 3.1 holdes intakte i λ -lettkjedeallelen.

12. Den isolerte cellen ifølge krav 11, hvori cellen er en B-celle.
- 5
13. Isolert museembryonal stam (ES) celle omfattende:
 - (a) en erstatning av ett eller flere tungkjedevariable- (V_H), mangfolds- (D_H) og sammenføynings (J_H) gensegmenter med ett eller flere humane V_H -, D_H - og J_H -gensegmenter ved en endogen musetungkjedeimmunglobulinlokus; og
 - 10 (b) en endogen λ (lambda) lettkjedeallel omfattende et uomstilt humant lambdavariabelt ($hV\lambda$)- og et uomstilt humant lambdasammenføynings- ($hJ\lambda$)-gensegment, og en sletting av en første $V\lambda$ - $J\lambda$ - $C\lambda$ -genklynge av den endogene muse- λ -lettkjedeallelen og en erstatning, helt eller delvis, av $V\lambda$ - $J\lambda$ -gensegmentene av den andre $V\lambda$ - $J\lambda$ - $C\lambda$ -genklyngen av allelen med de humane $V\lambda$ - og $J\lambda$ -gensegmentene som er operativt knyttet til et intakt muse- $C\lambda$ -konstant regionen som er operativt knyttet til et intakt muse- $C\lambda$ -konstant regionen av den andre $V\lambda$ - $J\lambda$ - $C\lambda$ -genklyngen, hvor de endogene forsterkerne Enh 2.4, muselambda-3'-forsterkeren (Enh) og Enh 3.1 holdes intakte i λ -lettkjedeallelen.
- 15
14. Museembryo omfattende, laget av, eller som kan oppnås fra, muse-ES-cellen ifølge krav 13, hvori museembryoet omfatter:
 - (a) en erstatning av ett eller flere tungkjedevariable- (V_H), mangfolds- (D_H) og sammenføynings- (J_H) gensegmenter med ett eller flere humane V_H -, D_H - og J_H -gensegmenter ved en endogen musetungkjedeimmunglobulinlokus; og
 - 25 (b) en endogen λ (lambda) lettkjedeallel omfattende et uomstilt humant lambdavariabelt ($hV\lambda$)- og et uomstilt humant lambdasammenføynings- ($hJ\lambda$)-gensegment, og en sletting av en første $V\lambda$ - $J\lambda$ - $C\lambda$ -genklynge av den endogene muse- λ -lettkjedeallelen og en erstatning, helt eller delvis, av $V\lambda$ - $J\lambda$ -gensegmentene av den andre $V\lambda$ - $J\lambda$ - $C\lambda$ -genklyngen av allelen med de humane $V\lambda$ - og $J\lambda$ -gensegmentene som er operativt knyttet til et intakt muse- $C\lambda$ -konstant regionen av den andre $V\lambda$ - $J\lambda$ - $C\lambda$ -genklyngen, hvor de endogene forsterkerne Enh 2.4, muselambda-3'-forsterkeren (Enh) og Enh 3.1 holdes intakte i λ -lettkjedeallelen.
- 30

15. Anvendelse av B-cellen ifølge krav 12 for å fremstille et hybridom som uttrykker en lettkjede avledet fra et hV λ -, et hJ λ - og et muse-C λ -gen, hvori hybridomet er fra, eller oppnåelig fra, musen ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 10, hvori cellen omfatter:
- 5 (a) en erstatning av ett eller flere tungkjedevariable- (V_H), mangfolds- (D_H) og sammenføynings- (J_H) gensegmenter med ett eller flere humane V_H-, D_H- og J_H-gensegmenter ved en endogen musetungkjedeimmunglobulinlokus; og
- (b) en endogen λ lambda (lettkjedeallel) omfattende et omstilt humant lambdavariabelt (hV λ)- og et omstilt humant lambdasammenføynings-(hJ λ)-
- 10 gensegment, og en sletting av en første V λ -J λ -C λ -genklynge av den endogene muse- λ -lettkjedeallelen og erstattet, helt eller delvis, av V λ -J λ -gensegmentene av den andre V λ -J λ -C λ -genklyngen av allelen med de humane V λ - og J λ -gensegmentene som er operativt bundet til et intakt muse-C λ -konstant regionen fra den andre V λ -J λ -C λ -genklyngen og hvori de endogene forsterkerne Enh 2.4,
- 15 muselambda-3'-forsterkeren (Enh) og Enh 3.1 holdes intakte i λ -lettkjedeallelen.
16. Hybridomcelle som uttrykker en lettkjede avledet fra et hV λ -, et hJ λ - og et muse-C λ -gen, hvori hybridomet er fra, eller oppnåelig fra, musen ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 10, hvori cellen omfatter:
- 20 (a) en erstatning av ett eller flere tungkjedevariable- (V_H), mangfolds- (D_H) og sammenføynings- (J_H) gensegmenter med ett eller flere humane V_H-, D_H- og J_H-gensegmenter ved en endogen musetungkjedeimmunglobulinlokus; og
- (b) en endogen λ (lambda) lettkjedeallel omfattende et omstilt humant lambdavariabelt (hV λ)- og et omstilt humant lambdasammenføynings-(hJ λ)-
- 25 gensegment, og en sletting av en første V λ -J λ -C λ -genklynge av den endogene muse- λ -lettkjedeallelen og erstatning, helt eller delvis, av V λ -J λ -gensegmentene av den andre V λ -J λ -C λ -genklyngen av allelet med de humane V λ - og J λ -gensegmentene som er operativt knyttet til et intakt muse-C λ -konstant regionen av den andre V λ -J λ -C λ -genklyngen, og hvori de endogene forsterkerne Enh 2.4,
- 30 muselambda-3'-forsterkeren (Enh) og Enh 3.1 holdes intakte i λ -lettkjedeallelen.
17. Fremgangsmåte for fremstilling av et antistoff i en mus, omfattende:
- (a) å eksponere en mus ifølge krav 1 for et antigen;

- (b) å la musen utvikle en immunrespons til antigenet; og
 - (c) å isolere fra musen i (b) et antistoff som spesifikt gjenkjenner antigenet, eller isolere fra musen i (b) en celle omfattende et immunglobulindomene som spesifikt gjenkjenner antigenet, eller å identifisere i musen i (b) en nukleinsyresekvens som koder
- 5 for et tung- og/eller lettkjedevariabelt domene som binder antigenet, hvori antistoffet omfatter en lettkjede avledet fra et hV λ -, et hJ λ - og et muse-C λ -gen.