



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2752428 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 16/24 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
C07K 16/22 (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2020.03.30
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2019.11.13
(86)	European Application Nr.	14162664.8
(86)	European Filing Date	2009.06.25
(87)	The European Application's Publication Date	2014.07.09
(30)	Priority	2009.06.02, CH, 8322009 2008.06.25, US, 75692 P 2008.06.25, US, 75697 P 2009.02.24, US, 155041 P 2009.02.24, US, 155105 P
(84)	Designated Contracting States:	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 ; SE ; SI ; SK ; TR
(62)	Divided application	EP2307458, 2009.06.25
(73)	Proprietor	NOVARTIS AG, Lichtstrasse 35, 4056 Basel, Sveits
(72)	Inventor	Borras, Leonardo, Bundentalstrasse 1, 8952 Schlieren, Sveits Urech, David, Sonnenblickstr. 8, 8645 Jona, Sveits
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Title	Humanization of rabbit antibodies using a universal antibody framework
(56)	References Cited:	WO-A-2008/006235 WO-A-2008/004834 WO-A2-2008/118356 WO-A2-2007/042809 WO-A2-01/30393 WO-A-2007/001851 WO-A-2007/124610 EP-A- 1 918 302 US-A1- 2005 048 578 WO-A2-2005/035575 WO-A2-2007/042775

WO-A-2007/140371

WO-A2-2004/016740

US-A1- 2005 033 031

US-A1- 2006 216 293

WO-A-2007/047112

WO-A-2006/131013

JUNG S ET AL: "IMPROVING IN VIVO FOLDING AND STABILITY OF A SINGLE-CHAIN FV ANTIBODY FRAGMENT BY LOOP GRAFTING", PROTEIN ENGINEERING, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB, vol. 10, no. 8, 1 January 1997 (1997-01-01), pages 959-966, XP000971779, ISSN: 0269-2139

EWERT S ET AL: "STRUCTURE-BASED IMPROVEMENT OF THE BIOPHYSICAL PROPERTIES OF IMMUNOGLOBULIN VH DOMAINS WITH A GENERALIZABLE APPROACH", BIOCHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, EASTON, PA.; US, vol. 42, no. 6, 18 February 2003 (2003-02-18), pages 1517-1528, XP008052212, ISSN: 0006-2960

POPKOV M ET AL: "Rabbit Immune Repertoires as Sources for Therapeutic Monoclonal Antibodies: The Impact of Kappa Allotype-correlated Variation in Cysteine Content on Antibody Libraries Selected by Phage Display", JOURNAL OF MOLECULAR BIOLOGY, LONDON, GB, vol. 325, no. 2, 10 January 2003 (2003-01-10), pages 325-335, XP004457536, ISSN: 0022-2836

EWERT S ET AL: "Stability improvement of antibodies for extracellular and intracellular applications: CDR grafting to stable frameworks and structure-based framework engineering", METHODS : A COMPANION TO METHODS IN ENZYMOLOGY, ACADEMIC PRESS INC., NEW YORK, NY, US, vol. 34, no. 2, 1 October 2004 (2004-10-01), pages 184-199, XP004526805, ISSN: 1046-2023

KÜGLER MARKUS ET AL: "Stabilization and humanization of a single-chain Fv antibody fragment specific for human lymphocyte antigen CD19 by designed point mutations and CDR-grafting onto a human framework.", PROTEIN ENGINEERING, DESIGN & SELECTION : PEDS MAR 2009, vol. 22, no. 3, March 2009 (2009-03), pages 135-147, XP002575212, ISSN: 1741-0134

FURRER ESTHER ET AL: "Pharmacokinetics and posterior segment biodistribution of ESBA105, an anti-TNF-alpha single-chain antibody, upon topical administration to the rabbit", INVESTIGATIVE OPHTHALMOLOGY & VISUAL SCIENCE, ASSOCIATION FOR RESEARCH IN VISION AND OPHTHALMOLOGY, US, vol. 50, no. 2, 1 February 2009 (2009-02-01), pages 771-778, XP009116264, ISSN: 0146-0404 [retrieved on 2008-08-29]

ROCHA R ET AL: "Rabbit monoclonal antibodies show higher sensitivity than mouse monoclonals for estrogen and progesterone receptor evaluation in breast cancer by immunohistochemistry", PATHOLOGY RESEARCH AND PRACTICE, GUSTAV FISCHER, STUTTGART, DE, vol. 204, no. 9, September 2008 (2008-09), pages 655-662, XP024098831, ISSN: 0344-0338 [retrieved on 2008-06-18]

KNAPPIK A ET AL: "Fully synthetic human combinatorial antibody libraries (HuCAL) based on modular consensus frameworks and CDRs randomized with trinucleotides", JOURNAL OF MOLECULAR BIOLOGY, LONDON, GB, vol. 296, no. 1, 11 February 2000 (2000-02-11), pages 57-86, XP004461525, ISSN: 0022-2836

RADER C ET AL: "THE RABBIT ANTIBODY REPERTOIRE AS A NOVEL SOURCE FOR THE GENERATION OF THERAPEUTIC HUMAN ANTIBODIES", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, US, vol. 275, no. 18, 5 May 2000 (2000-05-05), pages 13668-13676, XP001023515, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/JBC.275.18.13668

HONEGGER A ET AL: "Yet Another Numbering Scheme for Immunoglobulin Variable Domains: An Automatic Modeling and Analysis Tool", JOURNAL OF MOLECULAR BIOLOGY, LONDON, GB, vol. 309, no. 3, 8 June 2001 (2001-06-08), pages 657-670, XP004626893, ISSN: 0022-2836

OTTIGER MICHAEL ET AL: "Efficient intraocular penetration of topical anti-TNF-alpha single-chain antibody (ESBA105) to anterior and posterior segment without penetration enhancer", INVESTIGATIVE OPHTHALMOLOGY & VISUAL SCIENCE, ASSOCIATION FOR RESEARCH IN VISION AND OPHTHALMOLOGY, US, vol. 50, no. 2, 1 February 2009 (2009-02-01), pages 779-786, XP009116265, ISSN: 0146-0404

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. Antistoff eller antigenbindende fragment derav omfattende:

(i) lettkjede CDR1, CDR2 og CDR3 fra et lagomorf donor-antistoff eller antigenbindende fragment derav og tungkjede CDR1, CDR2 og CDR3 fra et lagomorf donor-antistoff eller antigenbindende fragment derav;

(ii) en variabel human lettkjede-struktur omfattende en aminosyresekvens som er minst 85 % identisk med sekvensen ifølge SEQ ID NO: 2; og

(iii) en variabel human tungkjede-struktur, hvori aminosyresekvensen til variabel tungkjede-strukturen er minst 85 % identisk med sekvensen ifølge SEQ ID NO: 4 og omfatter minst fire av følgende aminosyrer: treonin (T) i posisjon 24, alanin (A) eller glysin (G) i posisjon 56, treonin (T) i posisjon 84, valin (V) i posisjon 89 og arginin (R) i posisjon 108 (AHo-nummerering).

2. Antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav ifølge krav 1, hvori variabel tungkjede-strukturen omfatter:

(a) treonin (T) i posisjon 24 (AHo-nummerering);

(b) treonin (T) i posisjon 84 (AHo-nummerering); eller

(c) valin (V) i posisjon 89 (AHo-nummerering).

3. Antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav ifølge krav 1, hvori variabel tungkjede-strukturen ytterligere omfatter minst én av følgende aminosyrer: Serin (S) i posisjon 12; Serin (S) eller treonin (T) i posisjon 103; og Serin (S) eller treonin (T) i posisjon 144 (AHo-nummerering).

4. Antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav ifølge krav 1, hvori variabel tungkjede-strukturen ytterligere omfatter glysin (G) i posisjon 141 (AHo-nummerering).

5. Antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav ifølge krav 1, hvori variabel tungkjede-strukturen omfatter en aminosyresekvens som er valgt fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 4 og SEQ ID NO: 6.

6. Antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav ifølge krav 1, hvori variabel lettkjede-strukturen omfatter SEQ ID NO. 2.

7. Antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav ifølge krav 1, hvori variabel lettkjede-strukturen omfatter treonin (T) i posisjon 87 (AHo-nummerering).

5 **8.** Antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav ifølge krav 7, hvori variabel lettkjede-strukturen omfatter SEQ ID No. 9.

10 **9.** Antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav ifølge krav 1, hvori variabel tungkjede-strukturen og variabel lettkjede-strukturen er forbundet via en linkersekvens som omfatter SEQ ID NO.8.

15 **10.** Antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav ifølge krav 1 omfattende en aminosyresekvens som er minst 85 % identisk med sekvensen ifølge SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5 eller SEQ ID NO: 7.

11. Antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav ifølge krav 10, omfattende en aminosyresekvens valgt fra gruppen bestående av SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5 eller SEQ ID NO: 7.

20 **12.** Antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav ifølge krav 1, hvori variabel lettkjede-strukturen ytterligere omfatter minst én av følgende aminosyrer: glutaminsyre (E) i posisjon 1, valin (V) i posisjon 3, leucin (L) i posisjon 4, serin (S) i posisjon 10, arginin (R) i posisjon 47, serin (S) i posisjon 57, fenylalanin (F) i posisjon 91 og valin (V) i posisjon 103 (AHo-nummerering).

25 **13.** Antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav ifølge krav 1, hvori antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav er et scFv.

30 **14.** Farmasøytisk sammensetning omfattende antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav ifølge et hvilket som helst av kravene 1-13 og en farmasøytisk akseptabel eksipient.

35 **15.** Antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav ifølge krav 1, der variabel human tungkjede-strukturen ytterligere omfatter et valin (V) i posisjon 25 og/eller et lysin (K) i posisjon 82 (AHo-nummerering).

16. Bispesifikt molekyl omfattende antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 13 eller 15.

5

17. Det bispesifikke molekylet ifølge krav 16, som binder til minst to ulike bindingssteder eller målmolekyler.

10

18. Det bispesifikke molekylet ifølge krav 16 eller 17, hvori antistoffet eller det antigenbindende fragmentet derav er bundet til et antistoff, antistofffragment (inkludert et Fab, Fab', F(ab')₂, Fv eller enkeltkjedet Fv), tumorspesifikke eller patogenspesifikke antigener, peptid eller et bindende mimetikum.