



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2770821 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 14/74 (2006.01)
A01K 67/027 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2018.02.12
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2017.09.13
(86)	European Application Nr.	12787255.4
(86)	European Filing Date	2012.10.26
(87)	The European Application's Publication Date	2014.09.03
(30)	Priority	2011.10.28, US, 201161552582 P 2011.10.28, US, 201161552587 P 2012.09.14, US, 201261700908 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, US-USA
(72)	Inventor	MACDONALD, Lynn, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc. 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, US-USA MURPHY, Andrew, J., c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc. 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, US-USA GURER, Cagan, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc. 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, US-USA MCWHIRTER, John, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc. 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, US-USA VORONINA, Vera, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc. 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, US-USA HARRIS, Faith, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc. 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, US-USA STEVENS, Sean, 12848 Caminito De Las Olas, Del Mar, CA 92014, US-USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Title	GENETICALLY MODIFIED MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX MICE
(56)	References Cited:	WO-A1-03/006639, WO-A2-2005/004592, ULRICH KALINKE ET AL: "Strong xenogeneic HLA response in transgenic mice after introducing an [alpha]3 domain into HLAB27", NATURE, vol.

348, no. 6302, 13 December 1990 (1990-12-13), pages 642-644, XP055052576, ISSN: 0028-0836, DOI: 10.1038/348642a0, VITIELLO A ET AL: "ANALYSIS OF THE HLA-RESTRICTED INFLUENZA-SPECIFIC CYTOTOXIC T LYMPHOCYTE RESPONSE IN TRANSGENIC MICE CARRYING A CHIMERIC HUMAN-MOUSE CLASS I MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX", THE JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE, ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS, US, vol. 173, no. 4, 1 April 1991 (1991-04-01), pages 1007-1015, XP000940536, ISSN: 0022-1007, DOI: 10.1084/JEM.173.4.1007, KAPLAN B L F ET AL: "A new murine tumor model for studying HLA-A2-restricted anti-tumor immunity", CANCER LETTERS, NEW YORK, NY, US, vol. 224, no. 1, 16 June 2005 (2005-06-16), pages 153-166, XP027608047, ISSN: 0304-3835 [retrieved on 2005-06-16], BERND ARNOLD ET AL: "MHC Class-I Transgenic Mice", ANNUAL REVIEW OF IMMUNOLOGY, vol. 9, no. 1, 1 April 1991 (1991-04-01), pages 297-322, XP055052580, ISSN: 0732-0582, DOI: 10.1146/annurev.iy.09.040191.001501, PASCOLO STEVE ET AL: "HLA-A2.1-restricted education and cytolytic activity of CD8+ T lymphocytes from beta-2 microglobulin (beta-2m) HLA-A2.1 monochain transgenic H-2D-b beta-2m double knockout mice", THE JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE, ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS, US, vol. 185, no. 12, 1 January 1997 (1997-01-01), pages 2043-2051, XP002469861, ISSN: 0022-1007, DOI: 10.1084/JEM.185.12.2043, REND ET AL: "Construction of bioactive chimeric MHC class I tetramer by expression and purification of human-murine chimeric MHC heavy chain and beta2m as a fusion protein in Escherichia coli", PROTEIN EXPRESSION AND PURIFICATION, ACADEMIC PRESS, SAN DIEGO, CA, vol. 50, no. 2, 1 December 2006 (2006-12-01), pages 171-178, XP024908840, ISSN: 1046-5928, DOI: 10.1016/J.PEP.2006.08.001 [retrieved on 2006-12-01], LIJ ET AL: "Mamu-A*01/K*02 transgenic and MHC Class I knockout mice as a tool for HIV vaccine development", VIROLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 387, no. 1, 25 April 2009 (2009-04-25), pages 16-28, XP026067221, ISSN: 0042-6822, DOI: 10.1016/J.VIROL.2009.01.041 [retrieved on 2009-02-27], CHAMBERLAIN: "Tissue-specific and cell surface expression of human major histocompatibility complex class I heavy (HLA-B7) and light (beta 2-microglobulin) chain genes in transgenic mice", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 85, no. 20, 1 January 1988 (1988-01-01), page 7690, XP055052661, ISSN: 0027-8424, GUESSOW D ET AL: "THE HUMAN BETA2-MICROGLOBULIN GENE PRIMARY STRUCTURE AND DEFINITION OF THE TRANSCRIPTIONAL UNIT", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, THE AMERICAN ASSOCIATION OF IMMUNOLOGISTS, US, vol. 139, no. 9, 1 November 1987 (1987-11-01), pages 3132-3138, XP000995147, ISSN: 0022-1767

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. Gnager, omfattende på et endogent
5 hovedhistokompatibilitetskompleks I (MHC I)-sted en nukleotidsekvens som koder for et kimært menneske-/gnager-MHC I-polypeptid,
hvor den menneskelige delen av det kimære polypeptidet omfatter $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ - og $\alpha 3$ -domener av et menneskelig MHC I-polypeptid,
hvor gnagerdelen av det kimære polypeptidet omfatter transmembrane
10 og cytoplasmiske domener av et endogent gnager-MHC I-polypeptid, og
hvor gnageren uttrykker det kimære menneske/gnager-MHC I-polypeptidet.
2. Gnageren ifølge krav 1, hvor gnageren ikke uttrykker $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ - og $\alpha 3$ -
15 domener av et endogent gnager-MHC I-polypeptid fra et endogent gnager-MHC I-sted.
3. Gnageren ifølge krav 1 eller krav 2, hvor nukleotidsekvensen er operativt
20 knyttet til endogene gnagerregulatoriske elementer.
4. Gnageren ifølge et av de forutgående kravene, hvor den menneskelige
delen av det kimære polypeptidet omfatter en menneskelig ledersekvens.
5. Gnageren ifølge hvilket som helst av de forutgående kravene, hvor det
25 menneskelige MHC I-polypeptidet er valgt fra gruppen bestående av HLA-A, HLA-B og HLA-C.
6. Gnageren ifølge hvilket som helst av de forutgående kravene, hvor
30 gnageren er en mus.
7. Musen ifølge krav 6, hvor det endogene stedet er et mus-H-2K-sted.
8. Musen ifølge krav 7, hvor det endogene gnager-MHC I-polypeptidet er H-
35 2K.
9. Musen ifølge krav 6, omfattende på et endogent H-2K-sted en
nukleotidsekvens som koder for et kimært menneske/mus MHC I-polypeptid,

hvor den menneskelige delen av det kimære polypeptidet omfatter $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ - og $\alpha 3$ -domener av et menneskelig HLA-A2-polypeptid, og musedelen omfatter transmembrane og cytoplasmiske domener av et mus-H-2K-polypeptid, og

5

hvor musen uttrykker det kimære HLA-A2/H-2K-polypeptidet.

10. Musen ifølge krav 9, hvor musen ikke uttrykker $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ - og $\alpha 3$ -domener av mus-H-2K-polypeptidet fra et endogent H-2K-sted.

10

11. Musen ifølge krav 9 eller 10, hvor den menneskelige delen av det kimære polypeptidet omfatter en menneskelig ledersekvens.

12. Musen ifølge hvilket som helst av krav 9-11, hvor nukleotidsekvensen er operativt knyttet til endogene museregulatoriske elementer.

15

13. Musen ifølge hvilket som helst av krav 9-12, hvor det menneskelige HLA-A2-polypeptidet er et HLA-A2.1-polypeptid.

20

14. Musen ifølge hvilket som helst av krav 9-13, hvor mus-H-2K-stedet er et H-2Kb-sted.

15. Fremgangsmåte for å modifisere et MHC I-sted hos en mus for å uttrykke et kimært menneske/mus-MHC I-polypeptid, hvor fremgangsmåten omfatter å erstatte på det endogene MHC I-stedet en nukleotidsekvens som koder for $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ - og $\alpha 3$ -domener av et mus-MHC I-polypeptid, med en nukleotidsekvens som koder for $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ - og $\alpha 3$ -domener av et menneskelig MHC I-polypeptid, hvor musen uttrykker transmembrane og cytoplasmiske domener av mus-MHC I-polypeptidet.

25

30

16. Fremgangsmåten ifølge krav 15, hvor musen ikke uttrykker $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ - og $\alpha 3$ -domener av mus-MHC I-polypeptidet fra et endogent mus-MHC I-sted.

17. Fremgangsmåten ifølge krav 15 eller krav 16, hvor mus-MHC I-stedet er et H-2K-sted, og mus-MHC I-polypeptidet er et H-2K-polypeptid.

35

18. Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av krav 15–17, hvori det menneskelige MHC I-polypeptidet er et HLA-A-polypeptid.
- 5 19. Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av krav 15–18, hvori erstatningen foretas i en enkelt ES-celle, og den enkelte ES-cellen føres inn i et museembryo for å lage en mus.
- 10 20. Gnager ifølge hvilket som helst av krav 1–14, ytterligere omfattende på et endogent gnager- β 2-mikroglobulinsted en nukleotidsekvens som koder for et polypeptid som omfatter en menneskelig β 2-mikroglobulinaminoesyresekvens, hvori gnageren uttrykker et menneskelig eller humanisert β 2-mikroglobulinpolypeptid.
- 15 21. Gnageren ifølge krav 20, hvori gnageren ikke uttrykker et funksjonelt endogent gnager- β 2-mikroglobulinpolypeptid fra et endogent gnager- β 2-mikroglobulinsted.
- 20 22. Gnageren ifølge krav 20 eller krav 21, hvori nukleotidsekvensen er operativt knyttet til endogene gnager- β 2-mikroglobulinregulatoriske elementer.
- 25 23. Gnageren ifølge hvilket som helst av krav 20–22, hvori nukleotidsekvensen omfatter en nukleotidsekvens som er angitt i ekson 2 til ekson 4 av et menneskelig β 2-mikroglobulin-gen.
- 30 24. Gnageren ifølge hvilket som helst av krav 20–23, hvori nukleotidsekvensen omfatter nukleotidsekvenser som er angitt i ekson 2, 3 og 4 av et menneskelig β 2-mikroglobulin-gen.
- 35 25. Gnageren ifølge hvilket som helst av krav 20–24, hvori nukleotidsekvensen ytterligere omfatter en nukleotidsekvens som er angitt i ekson 1 av et gnager- β 2-mikroglobulin-gen.
26. Gnageren ifølge hvilket som helst av krav 20–25, hvorav gnageren er en mus.
27. Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av krav 15–19, hvori fremgangsmåten ytterligere omfatter å modifisere et β 2-mikroglobulinsted hos

en mus for å uttrykke et menneskelig eller humanisert β 2-mikroglobulinpolypeptid ved å erstatte på det endogene mus- β 2-mikroglobulinstedet en nukleotidsekvens som koder for et mus- β 2-mikroglobulinpolypeptid, med en nukleotidsekvens som koder for et menneskelig eller humanisert β 2-mikroglobulinpolypeptid.

28. Fremgangsmåten ifølge krav 27, hvori musen ikke uttrykker et funksjonelt mus- β 2-mikroglobulinpolypeptid fra et endogent β 2-mikroglobulinsted.

29. Fremgangsmåten ifølge krav 27 eller krav 28, hvori nukleotidsekvensen som koder for det menneskelige eller humaniserte β 2-mikroglobulinpolypeptidet, omfatter en nukleotidsekvens som er angitt i ekson 2 til ekson 4 av et menneskelig β 2-mikroglobulin-gen.

30. Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av krav 27–29, hvori nukleotidsekvensen som koder for det menneskelige eller humaniserte β 2-mikroglobulinpolypeptidet, omfatter nukleotidsekvenser som er angitt i ekson 2, 3 og 4 av et menneskelig β 2-mikroglobulin-gen.

31. Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av krav 27–30, hvori det modifiserte stedet beholder en nukleotidsekvens av ekson 1 av et mus- β 2-mikroglobulin-gen.

32. Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av krav 27–31, hvori erstatningen foretas i en enkelt ES-celle, og den enkelte ES-cellen føres inn i et museembryo for å lage en mus.

33. Musen ifølge krav 9, omfattende i sitt genom:

en første nukleotidsekvens som koder for et kimært menneske/mus-MHC I-polypeptid, hvori en menneskelig del av det kimære polypeptidet omfatter α 1-, α 2- og α 3-domener av et menneskelig HLA-A2, og en musedel omfatter transmembrane og cytoplasmiske domener av et mus-H-2K; og

en andre nukleotidsekvens som koder for et menneskelig eller humanisert β 2-mikroglobulinpolypeptid,

hvor den første nukleotidsekvensen befinner seg på et endogent H-2K-sted og den andre nukleotidsekvensen befinner seg på et endogent mus-β2-mikroglobulinsted, og

5

hvor musen uttrykker det kimære menneske/mus-MHC I-polyeptidet og det menneskelige eller humaniserte β2-mikroglobulinpolyeptidet.

10

34. Musen ifølge krav 33, hvor musen ikke uttrykker endogene mus-H-2K- og β2-mikroglobulinpolyeptider fra deres endogene steder.

15

35. Musen ifølge krav 33 og 34, hvor den første nukleotidsekvensen er operativt knyttet til endogene mus-H-2K-regulatoriske elementer, og den andre nukleotidsekvensen er operativt knyttet til endogene mus-β2-mikroglobulinregulatoriske elementer.

20

36. Musen ifølge hvilket som helst av krav 33–35, hvor den andre nukleotidsekvensen omfatter en nukleotidsekvens som er angitt i ekson 2 til ekson 4 av et menneskelig β2-mikroglobulin-gen.

25

37. Musen ifølge hvilket som helst av krav 33–36, hvor den andre nukleotidsekvensen omfatter nukleotidsekvenser som er angitt i ekson 2, 3 og 4 av et menneskelig β2-mikroglobulin-gen.

30

38. Musen ifølge hvilket som helst av krav 33–37, hvor ekspresjonen av det menneskelige eller humaniserte β2-mikroglobulinpolyeptidet øker ekspresjonen av det kimære menneske/mus-MHC I-polyeptidet, sammenlignet med ekspresjonen av det kimære menneske/mus-MHC I-polyeptidet i fravær av ekspresjon av menneskelig eller humanisert β2-mikroglobulinpolyeptid.