



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2883449 B1

NORWAY

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

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2018.06.25
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2018.02.07
(86)	European Application Nr.	15151655.6
(86)	European Filing Date	2013.03.15
(87)	The European Application's Publication Date	2015.06.17
(30)	Priority	2012.03.16, US, 201261611950 P 2012.12.13, US, 201261736930 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
(73)	Proprietor	Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, US-USA
(72)	Inventor	Mcwhirter, John, 2035 Crescent Drive, Tarrytown, NY 10591, US-USA Macdonald, Lynn, 16 Gedney Way, White Plains, NY 10605, US-USA Murphy, Andrew J., 10 Newton Court, Croton-on-Hudson, NY 10520, US-USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Title	HISTIDINE ENGINEERED LIGHT CHAIN ANTIBODIES AND GENETICALLY MODIFIED RODENTS FOR GENERATING THE SAME
(56)	References Cited:	EP-A1- 2 275 443, WO-A1-92/03918, WO-A1-2011/097603, IGAWA TOMOYUKI ET AL: "Engineering the variable region of therapeutic IgG antibodies", MABS, LANDES BIOSCIENCE, US, vol. 3, no. 3, 1 May 2011 (2011-05-01), pages 243-252, XP009153597, ISSN: 1942-0870, US-A- 5 545 806, JAVIER CHAPARRO-RIGGERS ET AL: "Increasing Serum Half-life and Extending Cholesterol Lowering in Vivo by Engineering Antibody with pH-sensitive Binding to PCSK9", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, US, vol. 287, no. 14, 31 January 2012 (2012-01-31), pages 11090-11097, XP002684539, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/JBC.M111.319764 [retrieved on 2012-01-31], IGAWA T ET AL: "Antibody recycling by engineered pH-dependent antigen binding improves the duration of antigen neutralization", NATURE BIOTECHNOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP, NEW YORK, NY, US, vol. 28, no. 11, 1 November 2010 (2010-11-01), pages 1203-1207, XP009153598, ISSN: 1087-0156, DOI: 10.1038/NBT.1691, WO-A2-

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. Genetisk modifisert gnager som omfatter i sin kimlinje et immunglobulinlettkjedet lokus som omfatter (i) en enkel omorganisert human immunglobulinlettkjedevariabel regiongensekvens som omfatter humane V_L- og J_L-
5 segmentsekvenser og (ii) en immunglobulinlettkjedekonstant regiongensekvens i operativ binding til den enkle, omarrangerte humane immunglobulinlettkjedevariable regiongensekvensen, hvori den enkle omorganiserte humane immunglobulinlettkjedevariable regiongensekvensen omfatter minst én genetisk konstruert innsetting eller
10 substitusjon av et histidinkodon som ikke kodes av tilsvarende humane V_L- og J_L-kimlinjegensekvensene, hvori den enkle omorganiserte humane immunglobulinlettkjedevariable regiongensekvensen koder for en immunglobulinkjede som omfatter et lettkjedet variabelt domene,
15 hvori histidinkodonet er i nukleotidsekvensen som koder for en komplementaritetsbestemmende region (CDR) til det lettkjedevariable domenet, hvori det lettkjedevariable domenet omfatter minst én histidinrest i en aminosyreposisjon kodet av det minst ene innsatte eller substituerte histidinkodonet, og
20 hvori immunglobulinlettkjeden kodet av immunglobulinlettkjedelokuset er i stand til å pare sammen med en flerhet av immunglobulintungkjeder valgt av gnageren, hvori hver av flerheten av immunglobulintungkjeder spesifikt binder forskjellige epitoper når de pares med immunglobulinlettkjeden.

2. Gnageren ifølge krav 1, hvori flerheten av immunglobulintungkjedene omfatter
25 somatiske mutasjoner.

3. Gnageren ifølge krav 1, hvori:
den immunglobulinlettkjedekonstante regiongensekvensen er en ikke-human immunglobulinlettkjedekonstant regiongensekvens, så som en endogen ikke-human immunglobulinlettkjedekonstant regiongensekvens,
30 hvori immunglobulinlettkjedelokuset eventuelt er på en endogen, ikke-human immunglobulinlettkjedelokus.

4. Gnageren ifølge ett foregående krav, hvori:

gnageren ytterligere omfatter i sin kimlinje et immunglobulintungkjedelokus som omfatter en ikke-omorganisert immunglobulintungkjedevariabel regiongensekvens som omfatter humane V_H -, D_H - og J_H -segmenter operativt koblet til en
5 immunglobulintungkjedekonstant regiongensekvens, eventuelt hvori den immunglobulintungkjedekonstante regiongensekvensen er en ikke-human immunglobulintungkjedekonstant regiongensekvens, så som en endogen ikke-human immunglobulinkonstant regiongensekvens,
hvori immunglobulintungkjedelokuset eventuelt er på en endogen, ikke-human
10 immunglobulinlettkjedelokus.

5. Gnageren ifølge ett av de foregående kravene, hvori gnageren mangler en funksjonell ikke-omorganisert immunglobulinlettkjedevariabel region.

**6. Gnageren ifølge ett av de foregående kravene, hvori den genetisk konstruerte innsettingen eller substitusjonen av histidinkodon er i nukleotidsekvensen som
15 koder for en komplementær bestemmende region (CDR) 3, eventuelt hvori histidinkodonet er ett, to, tre eller fire CDR3-kodon(er).**

**7. Gnageren ifølge ett av de foregående kravene, hvori den enkle omorganiserte humane immunglobulinlettekjedevariable regionen avledes fra et humant V_k1 -39- eller V_k3 -20-gensegment, eventuelt hvori den enkle omorganiserte humane
20 immunglobulinlettekjedevariable regionen avledes fra en omorganisert V_k1 -39/ J_k5 - eller V_k3 -20/ J_k1 -gensekvens.**

**8. Gnageren ifølge ett av de foregående kravene, hvori gnageren omfatter en populasjon av B-celler som respons på et antigen av interesse som er anriktet for antistoffer som utviser en reduksjon i dissosiativ halveringstid ($t_{1/2}$) ved en sur pH
25 sammenlignet med en nøytral pH på minst ca. 2 ganger, minst ca. 3 ganger, minst ca. 4 ganger, minst ca. 5 ganger, minst ca. 10 ganger, minst ca. 15 ganger, minst ca. 20 ganger, minst ca. 25 ganger, minst ca. 30 ganger eller eventuelt ca. 30 ganger eller mer.**

**9. Gnageren ifølge ett av de foregående kravene, hvori gnageren uttrykker et
30 antistoff som omfatter et humant immunglobulinlettkjedevariabelt domene med en substitusjon på minst én ikke-histidinrest med en histidinrest i en**

aminosyreposisjon kodet av det genetisk konstruerte histidinkodonet i den enkle omorganiserte immunglobulinlettkjedevariable regionensekvensen som ikke er kodet av humane V_L- og J_L-kimlinjensekvenser.

10. Gnageren ifølge ett av de foregående kravene, hvori den enkle, omorganiserte humane immunglobulinlettkjedevariable regionensekvensen erstatter en endogen ikke-omorganisert lettkjedevariabel regionensekvens.

11. Gnageren ifølge ett av de foregående kravene, hvori gnageren er en rotte.

12. Gnageren ifølge ett av kravene 1 til 10, hvori gnageren er en mus.

13. Gnageren ifølge ett av de foregående kravene, hvori den enkle, omorganiserte humane immunglobulinlettkjedevariable regionensekvensen er operativt forbundet med en immunglobulinlettkjedekonstant regionensekvens valgt fra en immunglobulinlettkjedekonstant regionensekvens til en rotte eller mus, hvori immunglobulinlettkjedelokuset eventuelt er ved en endogen muslettkjedelokus; og hvori gnageren eventuelt videre omfatter i sin kimlinje en immunglobulintungkjedelokus som omfatter en ikke-omorganisert immunglobulintungkjedevariabel regionsekvens som omfatter humane V_H-, D_H- og J_H-segmenter operativt koblet til en immunglobulintungkjedekonstant regionensekvens valgt fra en tungkjedekonstant regionensekvens til en rotte eller en mus; hvori immunglobulintungkjedelokuset eventuelt er ved en endogen musimmunglobulintungkjedelokus.

14. Gnageren ifølge ett av de foregående kravene, hvori gnageren uttrykker en populasjon av antigenspesifikke antistoffer som respons på et antigen av interesse hvori alle antistoffene til populasjonen omfatter:

immunglobulinlettkjedevariable domener avledet fra den samme enkle, omorganiserte humane lettkjedevariable regionensekvensen som omfatter humane V_L- og J_L-segmentsekvenser som omfatter minst ett genetisk konstruert histidinkodon som ikke kodes av tilsvarende humane V_L- og J_L-kimlinjensekvenser, og

immunglobulintungkjeder som omfatter humane tungkjedevariable domener avledet fra et repertoar av humane V-, D- og J-tungkjedeselementer.