



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2949667 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 16/18 (2006.01)
C07K 16/22 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/42 (2006.01)
C12N 15/10 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2020.10.05
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.05.13
(86)	European Application Nr.	15172149.5
(86)	European Filing Date	2013.11.14
(87)	The European Application's Publication Date	2015.12.02
(30)	Priority	2012.11.14, US, 201261726040 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, USA
(72)	Inventor	DESHPANDE, Dipali, 62 Eldorado CourtWhite Plains, Tarrytown, NY 10603, USA CHEN, Gang, 1600 Fox Tail LaneYorktown Heights, Tarrytown, NY 10598, USA BURAKOV, Darya, 10 Ashton Road, Yonkers, NY 10705, USA FANDL, James, 40 Amanda's Way, LaGrangeville, NY 12540, USA ALDRICH, Thomas, 2360 Bunney Court, Yorktown Heights, NY 10598, USA KAMAT, Vishal, 129 Liberty RoadApt. P, Bergenfield, NJ 07621, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Title	RECOMBINANT CELL SURFACE CAPTURE PROTEINS
(56)	References Cited:	EP-A2- 0 107 509 US-A1- 2009 137 416 US-A1- 2010 331 527 WO-A2-02/057423 MANZ R ET AL: "Analysis and sorting of live cells according to secreted molecules, relocated to a cell-surface affinity matrix", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, US, vol. 92, no. 6, 14 March 1995 (1995-03-14) , pages 1921-1925, XP002007404, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/PNAS.92.6.1921

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/>

2949667

Patentkrav

1. Fremgangsmåte for påvisning og isolering av celler som produserer høye nivåer av et heterodimert protein med en første underenhet og en andre underenhet, idet fremgangsmåten omfatter:

- 5 (a) å transfektare celler med en nukleinsyre som koder for et celleoverflate-captureprotein (cell surface capture protein – CSCP), hvilket er et fusjonsprotein som omfatter et antigenbindende protein og et membranankerdomene, hvor cellen uttrykker det heterodimere protein, hvor det heterodimere protein omfatter atskillige underenheter og et første sted på
- 10 det heterodimere protein ligger på en første underenhet som omfatter en tung kjede omfattende et villtype-CH3-domene med en histidinrest på posisjon 95 ifølge IMGT-ekson-nummereringssystemet og en tyrosinrest på posisjon 96 ifølge IMGT-ekson-nummereringssystemet, og et andre sted på det heterodimere protein ligger på en andre underenhet som omfatter en tung
- 15 kjede omfattende et substituert CH3-domene med en argininrest på posisjon 95 ifølge IMGT-ekson-nummereringssystemet og en fenylalaninrest på posisjon 96 ifølge IMGT-ekson-nummereringssystemet, hvor CSCP-et omfatter en ScFv som er i stand til å binde den første underenhet, men ikke den andre underenhet av det heterodimere protein; og hvor (i) CSCP-et
- 20 binder til det første sted på det heterodimere protein for å danne et CSCP-heterodimert proteinkompleks inne i vertscellen, (ii) det CSCP-heterodimere proteinkompleks transporteres gjennom vertscellen, og (iii) vises deretter på overflaten av vertscellen;
- (b) å påvise en celle av (a) som uttrykker CSCP-et i høyt utbytte;
- 25 (c) å isolere og kultivere cellen som uttrykker CSCP-et i høyt utbytte;
- (d) å påvise det heterodimere protein på overflaten av den isolerte og kultiverte celle av trinn (c) med et påvisningsmolekyl som binder det andre sted på det heterodimere protein, hvor påvisningsmolekylet omfatter et rekombinant antigenbindende protein som spesifikt binder det substituerte
- 30 CH3-domene som har en argininrest på posisjon 95 ifølge IMGT-ekson-nummereringssystemet og en fenylalaninrest på posisjon 96 ifølge IMGT-ekson-nummereringssystemet; og

2949667

(e) å isolere den i trinn (d) påviste celle som bærer det påviste heterodimere protein på sin overflate.

- 2.** Fremgangsmåte for påvisning eller isolering av en celle som stabilt uttrykker et heterodimert protein med en første underenhet og en andre underenhet, idet fremgangsmåten omfatter trinnene av:
- (a) å uttrykke i en vertscelle:
 - (i) et celleoverflate-captureprotein (CSCP), som omfatter et antigenbindende protein og et membranankerdomene, og
 - (ii) et heterodimert protein, hvor det heterodimere protein omfatter atskillige underenheter og et første sted på det heterodimere protein ligger på en første underenhet som omfatter en tung kjede omfattende et villtype-CH3-domene med en histidinrest på posisjon 95 ifølge IMGT-ekson-nummereringssystemet og en tyrosinrest på posisjon 96 ifølge IMGT-ekson-nummereringssystemet, og et andre sted på det heterodimere protein ligger på en andre underenhet som omfatter en tung kjede omfattende et substituert CH3-domene med en argininrest på posisjon 95 ifølge IMGT-ekson-nummereringssystemet og en fenylalaninrest på posisjon 96 ifølge IMGT-ekson-nummereringssystemet, hvor CSCP-et omfatter en ScFv som er i stand til å binde den første underenhet, men ikke den andre underenhet av det heterodimere protein, og hvor (i) CSCP-et binder til det første sted på det heterodimere protein for å danne et CSCP-heterodimert proteinkompleks inne i vertscellen, (ii) det CSCP-heterodimere proteinkompleks transporteres gjennom vertscellen, og (iii) vises deretter på overflaten av vertscellen;
 - (b) å bringe vertscellen i kontakt med et påvisningsmolekyl, hvor påvisningsmolekylet binder til det andre sted på det heterodimere protein, hvor påvisningsmolekylet omfatter et rekombinant antigenbindende protein som spesifikt binder det substituerte CH3-domene som har en argininrest på posisjon 95 ifølge IMGT-ekson-nummereringssystemet og en fenylalaninrest på posisjon 96 ifølge IMGT-ekson-nummereringssystemet; og
 - (c) å velge ut vertscellen som binder påvisningsmolekylet.

2949667

- 3.** Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, hvor det heterodimere protein omfatter et bispesifikt antistoff, et Fc-inneholdende fusjonsprotein eller et TCR-Fc.
- 4.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor CSCP-et
5 omfatter et rekombinant antigenbindende protein som binder et humant IgG1-Fc-domene, et humant IgG2-Fc-domene eller et humant IgG4-Fc-domene.
- 5.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor fremgangsmåten omfatter å bringe cellen i kontakt med et blokkeringsmolekyl, hvor
10 blokkeringsmolekylet binder til CSCP som ikke er bundet til det heterodimere protein, men binder ikke til det CSCP-heterodimere proteinkompleks.
- 6.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor cellen påvises og utvelges gjennom fluorescensaktivert cellesortering.
15
- 7.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor påvisningsmolekylet (DM) omfatter et merket rekombinant antigenbindende protein som binder et humant IgG1-Fc-domene, et humant IgG2-Fc-domene eller et humant IgG4-Fc-domene, hvor Fc-domenet omfatter en argininrest på posisjon 95 ifølge
20 IMGT-ekson-nummereringssystemet og en fenylalaninrest på posisjon 96 ifølge IMGT-ekson-nummereringssystemet.
- 8.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6, hvor:
- (a) det antigenbindende protein omfatter et antistoff eller ScFv som binder et
25 polypeptid omfattende en aminosyresekvens av SEQ ID NO:42;
- (b) det antigenbindende protein omfatter et antistoff eller ScFv som binder et polypeptid omfattende en aminosyresekvens av SEQ ID NO:42 med en K_D på mindre enn cirka 60 nM som målt i et overflateplasmonresonansassay; eller
- 30 (c) det antigenbindende protein er et antistoff eller ScFv som binder til den samme epitop på det substituerte CH3-polypeptid som et antistoff som omfatter en tung kjede CDR-1 (HCDR1) som har aminosyresekvensen av SEQ ID NO:32, en HCDR-2 som har aminosyresekvensen av SEQ ID NO:33,

2949667

en HCDR-3 som har aminosyresekvensen av SEQ ID NO:34, en lett kjede CDR-1 (LCDR-1) som har aminosyresekvensen av SEQ ID NO:35, en LCDR-2 som har aminosyresekvensen av SEQ ID NO:36, og en LCDR-3 som har aminosyresekvensen av SEQ ID NO:37.

5

9. Fremgangsmåte ifølge krav 8, hvor:

(a) påvisningsmolekylets antigenbindende protein omfatter én eller flere komplementaritetsbestemmende regioner (CDR-er) av en tungkjedevariabel region (HCVR) som har en aminosyresekvens som er i det minste 95% identisk med SEQ ID NO:38, eller av en lettkjedevariabel region (LCVR) som har en aminosyresekvens som er i det minste 95% identisk med SEQ ID NO:39;

(b) påvisningsmolekylets antigenbindende protein omfatter en tung kjede CDR-1 (HCDR-1) som har aminosyresekvensen av SEQ ID NO:32, en HCDR-2 som har aminosyresekvensen av SEQ ID NO:33, en HCDR-3 som har aminosyresekvensen av SEQ ID NO:34, en lett kjede CDR-1 (LCDR-1) som har aminosyresekvensen av SEQ ID NO:35, en LCDR-2 som har aminosyresekvensen av SEQ ID NO:36, og en LCDR-3 som har aminosyresekvensen av SEQ ID NO:37;

(c) påvisningsmolekylets antigenbindende protein omfatter en HCVR som har en aminosyresekvens som er i det minste 95% identisk med SEQ ID NO:38, og en LCVR som har en aminosyresekvens som er i det minste 95% identisk med SEQ ID NO:39; eller

(d) påvisningsmolekylets antigenbindende protein omfatter en HCVR som har en aminosyresekvens av SEQ ID NO:38, og en LCVR som har en aminosyresekvens av SEQ ID NO:39;

(e) påvisningsmolekylets antigenbindende protein er et antistoff som omfatter en tung kjede som omfatter en aminosyresekvens som er i det minste 95% identisk med SEQ ID NO:40, og en lett kjede som omfatter en aminosyresekvens som er i det minste 95% identisk med SEQ ID NO:41; eller

(f) påvisningsmolekylets rekombinante antigenbindende protein er et antistoff som omfatter en tung kjede som har en aminosyresekvens som er identisk

2949667

med SEQ ID NO:40, og en lett kjede som har en aminosyresekvens som er identisk med SEQ ID NO:41.

- 10.** Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor
- 5 påvisningsmolekylets antigenbindende protein er et ScFv-fusjonsprotein som omfatter:
- (a) (i) et tungkjedevariabelt domene som omfatter en aminosyresekvens som er i det minste 95% identisk med SEQ ID NO:38; (ii) et lettkjedevariabelt domene som omfatter en aminosyresekvens som er i det minste 95% identisk
- 10 med SEQ ID NO:39, og (iii) et membranankerdomene;
- (b) et tungkjedevariabelt domene som har en aminosyresekvens identisk med SEQ ID NO: 38, og et lettkjedevariabelt domene som har en aminosyresekvens identisk med SEQ ID NO: 39; eller
- (c) aminosyresekvensen av SEQ ID NO:43.