



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2967013 B1

NORWAY

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

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2019.06.11
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2019.01.16
(86)	European Application Nr.	14717331.4
(86)	European Filing Date	2014.03.13
(87)	The European Application's Publication Date	2016.01.20
(30)	Priority	2013.03.13, US, 201313798455
(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, USA
(72)	Inventor	BABB, Robert, 292 Voorhis Avenue, River Edge, NJ 07661, USA MCWHIRTER, John, 2152 Crescent Drive, Tarrytown, NY 10591, USA MACDONALD, Lynn, 16 Franklin Lane, Harrison, NY 10528, USA STEVENS, Sean, 3954 Camino Calma, San Diego, CA 92122, USA DAVIS, Samuel, 332 West 88th Street, Apt. B2, New York, NY 10024, USA BUCKLER, David R., 115 Millard Avenue, Sleepy Hollow, New York 10591, USA MEAGHER, Karolina A., 14 Church Street2nd Floor, Tarrytown, NY 10591, USA MURPHY, Andrew J., 10 Newton Court, Croton-on-Hudson, NY 10520, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Title	MICE EXPRESSING A LIMITED IMMUNOGLOBULIN LIGHT CHAIN REPERTOIRE
(56)	References Cited:	WO-A1-2011/163314 WO-A1-2013/079953 WO-A2-2012/148873 WO-A1-2010/070263 WO-A1-2013/022782 US-A1- 2013 045 492

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 som omfatter i sitt kimbanegenom:**

to humane immunoglobulin-Vk-gensegmenter og fem humane immunoglobulin-Jk-gensegmenter som er operativt forbundet til en mus- eller

- 5 rotteimmunoglobulinlettkjedet konstant regionsekvens, hvori de to humane immunoglobulin-Vk-gensegmentene er et humant Vk1-39 og et humant Vk3-20, og de fem humane immunoglobulin-Jk-gensegmentene er humant Jk1, humant Jk2, humant Jk3, humant Jk4 og humant Jk5; og

- ett eller flere humane immunoglobulin-V_H-gensegmenter, ett eller flere humane
10 immunoglobulin-D_H-gensegmenter og ett eller flere humane immunoglobulin-J_H-gensegmenter operativt forbundet til en mus- eller rotteimmunoglobulinkonstant regionsekvens;

- hvori de humane immunoglobulingensegmentene er i stand til å omarrangere og kode for humane immunoglobulinvariable domener av et antistoff, og videre hvori
15 musen ikke omfatter et endogent immunoglobulin-V_L-gensegment som er i stand til å omarrangere for å danne en immunoglobulinlettkjedet variabel regionsekvens.

2. Musen ifølge krav 1, hvori

- (a) de to humane Vk-gensegmentene og de fem humane Jk-gensegmentene er operativt forbundet til en mus- eller rotteimmunoglobulinlettkjedet konstant
20 regionsekvens som er (i) en Ck-rotterregion eller (ii) en Ck-musregion; og/eller

(b) de to humane Vk-gensegmentene og de fem humane Jk-gensegmentene er til stede i et endogent immunoglobulinlettkjedelokus; og/eller

- (c) det ene eller flere humane V_H-gensegmentene, ene eller flere humane D_H-gensegmentene og ene eller flere humane J_H-gensegmentene er operativt
25 forbundet til en konstant museregionsekvens; og/eller

- (d) de to humane Vk-gensegmentene og de fem humane Jk-gensegmentene er operativt forbundet til en mus- eller rotteimmunoglobulinlettkjedet konstant regionsekvens og er til stede på et lokus som omfatter i rekkefølge: det humane
30 Vk1-39-gensegmentet, det humane Vk3-20-gensegmentet, et humant Jk1, et humant Jk2, et humant Jk3, et humant Jk4 og et humant Jk5; og/eller

- (e) musen omfatter et lettkjedelokus som omfatter i rekkefølge: det humane Vk1-39-gensegmentet, det humane Vk3-20-gensegmentet, et humant Jk1, et humant Jk2, et humant Jk3, et humant Jk4 og et humant Jk5, og hvori lettkjedelokuset omfatter en hVk/hJk/mCk-skjøtsekvens valgt fra SEQ ID NO: 38-49; og/eller
- 5 (f) musen er blitt immunisert.
- 3.** Musen ifølge krav 1 eller 2, hvori musen omfatter et funksjonelt eller ikke-funksjonelt λ -lettkjedelokus.
- 4.** Isolert celle av musen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, hvori:
- 10 (a) cellen er en embryonisk stamcelle (ES-celle); eller
- (b) cellen er en B-celle.
- 5.** Museembryo som omfatter ES-cellen ifølge krav 4(a).
- 6.** Hybridom laget med B-cellen ifølge krav 4(b).
- 7.** Anvendelse av en mus ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3 for:
- 15 (a) å generere et antistoff; og/eller
- (b) å identifisere en nukleinsyresekvens som koder for et humant immunoglobulintungkjedet variabelt domene; og/eller
- (c) å lage et humant bispesifikt antistoff; og/eller
- (d) å velge et humant immunoglobulintungkjedet variabelt regiongensegment.
- 20 **8.** Fremgangsmåte for fremstilling av et antistoff som binder et antigen av interesse som omfatter immunisering av en mus ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3 med et antigen av interesse, å oppnå en variabel immunoglobulinregionsekvens fra musen og benytte den variable immunoglobulinregionsekvensen for å fremstille et antistoff som binder antigenet,
- 25 fortrinnsvis hvori fremgangsmåten videre omfatter:
- å uttrykke i en enkeltcelle:
- (a) en første human immunoglobulintungkjedet variabel regionsekvens av musen ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, som er blitt immunisert, hvori den

humane immunoglobulintungkjedevariable regionsekvensen fusjonerer med en human C_H-gensekvens; og

- (b) en human immunoglobulinlettekjedet variabel regionsekvens, hvori den humane immunoglobulinlettekjedevariable regionsekvensen fusjonerer med en human immunoglobulinlettekjedet konstant regionsekvens;

å opprettholde cellen under forhold som er tilstrekkelige til å uttrykke et fullt humant antistoff; og

å isolere antistoffet fra cellen.

- 9.** Fremgangsmåten ifølge krav 8, hvori cellen omfatter en andre human immunoglobulintungkjedet variabel regionsekvens av en mus ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3 som er blitt immunisert, hvori den andre humane immunoglobulintungkjedevariable regionsekvensen fusjonerer med en human immunoglobulintungkjedekonstant regionsekvens, hvori den første humane immunoglobulintungkjedevariable regionsekvensen koder for et første humant immunoglobulintungkjedet variabelt domene som gjenkjenner en første epitop, og den andre humane immunoglobulintungkjedevariable regionsekvensen koder for et andre humant immunoglobulintungkjedet variabelt domene som gjenkjenner en andre epitop, hvori den første epitopen og den andre epitopen ikke er identiske, og hvori de første og de andre humane immunoglobulintungkjedevariable domenene interagerer med det humane immunoglobulinlettekjedevariable domenet kodet av den humane immunoglobulinlettekjedevariable regionsekvensen.

- 10.** Fremgangsmåte for fremstilling av et humant bispesifikt antistoff, hvori fremgangsmåten omfatter immunisering av en mus ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3 og fremstilling av det bispesifikke antistoffet ved anvendelse av humane immunoglobulinvariable regionsekvenser av B-celler fra musen, fortrinnsvis hvori fremgangsmåten videre omfatter:

- (a) å identifisere en klonalt valgt lymfocytt av musen ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvori musen er blitt immunisert og tillatt å utvikle en immunrespons til et antigen av interesse, hvori lymfocytten uttrykker et antistoff som spesifikt binder antigenet av interesse;

(b) å oppnå fra lymfocytten eller antistoffet en nukleotidsekvens som koder for et humant immunoglobulintungkjedet variabelt domene som spesifikt binder antigenet av interesse; og

(c) å benytte nukleotidsekvensen ifølge (b) ved fremstilling av et bispesifikt antistoff.

11. Fremgangsmåten ifølge krav 10, hvori trinnene (a) til (c) utføres en første gang for et første antigen av interesse for å generere en første human immunoglobulintungkjedet variabel regionsekvens, og trinnene (a) til (c) utføres en andre gang for et andre antigen av interesse for å generere en andre human immunoglobulintungkjedet variabel regionsekvens, og hvori den første humane immunoglobulintungkjededevariable regionsekvensen uttrykkes med en første human immunoglobulintungkjedet konstant regionsekvens for å danne en første human immunoglobulintungkjede, den andre humane immunoglobulintungkjededevariable regionsekvensen uttrykkes med en andre human immunoglobulintungkjedet konstant regionsekvens for å danne en andre human immunoglobulintungkjede, hvori de første og de andre humane immunoglobulintungkjedene uttrykkes i nærvær av en enkelt human immunoglobulinlettkjede som omfatter en human V_L-region avledet fra en omarrangert human lettkjedesevens som omfatter et humant Vk1-39-gensegment eller et humant Vk3-20-gensegment.

12. Fremgangsmåten ifølge krav 11, hvori fremgangsmåten omfatter:

(a) å klonere humane immunoglobulintungkjededevariable regionsekvenser fra B-celler fra:

(i) musen ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3 som er blitt immunisert med et første immunogen; og

(ii) den samme musen, eller en annen mus som er genetisk den samme, som er blitt immunisert med et andre immunogen;

(b) å uttrykke i en celle den humane immunoglobulintungkjededevariable regionsekvensen av (a) med en human immunoglobulintungkjedet konstant regionsekvens og den samme immunoglobulinlettkjeden for å lage et bispesifikt antistoff, fortrinnsvis hvori den første humane immunoglobulintungkjeden omfatter

en modifikasjon som eliminerer eller vesentlig reduserer affiniteten til den første humane immunoglobulintungkjeden til protein A, og den andre humane immunoglobulintungkjeden beholder evnen til å binde protein A, hvori modifikasjonen som eliminerer eller vesentlig reduserer affiniteten til den første humane immunoglobulintungkjeden til protein A er valgt fra: 95R (EU 435R), 96F (EU 436F) og en kombinasjon derav.

13. Fremgangsmåte for å fremstille et antistoff som omfatter immunisering av en mus ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3 med et antigen og oppnå en human immunoglobulintungkjedet variabelomeneaminyresekvens eller kode for nukleotidsekvens, fra et resulterende antistoff fremstilt av musen mot antigenet og benytte den humane immunoglobulintungkjedevariable domeneaminyresekvensen eller den kodede nukleinsyresekvensen ved fremstilling av et antistoff, fortrinnsvis hvori fremgangsmåten videre omfatter:

- (a) å identifisere den humane immunoglobulintungkjedevariable domeneaminyresekvensen eller den kodede nukleotidsekvensen, fra to forskjellige antistoffer mot forskjellige epitoper av antigenet som musen er blitt immunisert med; eller
- (b) å immunisere den samme musen, eller en ytterligere mus ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, med et annet antigen, deretter identifisere en human immunoglobulintungkjedet variabelomeneaminyresekvens eller den kodede nukleotidsekvensen, fra et antistoff fremstilt av musen som er spesifikk for det forskjellige antigenet,

hvori fremgangsmåten videre omfatter å anvende de to forskjellige humane immunoglobulintungkjedevariable domeneaminyresekvensene eller kode for nukleotidsekvensene, for å generere et bispesifikt antistoff.

14. Fremgangsmåten ifølge krav 13, hvori fremgangsmåten videre omfatter

- (a) å identifisere den humane immunoglobulinlettkjedevariable domeneaminyresekvensen eller den kodede nukleotidsekvensen, fra antistoffet eller to antistoffer; og/eller
- (b) å benytte den humane immunoglobulinlettkjedevariable domeneaminyresekvensen og/eller de humane

immunoglobulintungkjedevariable domeneaminoesyresekvensene identifisert i antistoffet fremstilt av fremgangsmåten for å generere et bispesifikt antistoff.