



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3034608 B1

NORWAY

(19) NO

(51) Int Cl.

C12N 15/85 (2006.01) C07K 16/18 (2006.01)

A01K 67/027 (2006.01) C07K 16/46 (2006.01)

C07K 16/00 (2006.01) C12N 15/10 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2019.07.01
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2019.01.30
(86)	European Application Nr.	16154526.4
(86)	European Filing Date	2011.06.22
(87)	The European Application's Publication Date	2016.06.22
(30)	Priority	2010.06.22, US, 357314 P 2010.06.22, US, 357317 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
(62)	Divided application	EP2480676, 2011.06.22
(73)	Proprietor	REGENERON PHARMACEUTICALS, INC., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, USA
(72)	Inventor	MACDONALD, Lynn, 16 Gedney Way, White Plains, NY 10605, USA STEVENS, Sean, 355 Berry Street 413, San Francisco, CA 94158, USA GURER, Cagan, 8 Pamela Lane, Valhalla, NY 10595, USA MURPHY, Andrew J., 10 Newton Court, Croton-on-Hudson, NY 10520, USA HOSIAWA, Karolina A., 14 Church Street 2nd Floor, Tarrytown, NY 10591, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Title	MICE EXPRESSING AN IMMUNOGLOBULIN HYBRID LIGHT CHAIN WITH A HUMAN VARIABLE REGION
(56)	References Cited:	US-A1- 2002 026 036, WO-A2-2010/039900, WO-A1-2011/163314, US-A1- 2003 217 373, WO-A1-2011/004192, WO-A2-2009/143472, WO-A1-00/26373, US-A1- 2006 015 957, WO-A2-2008/054606 GORMAN J R ET AL: "THE LGK 3' ENHANCER INFLUENCES THE RATIO OF LGK VERSUS LGL B LYMPHOCYTES", IMMUNITY, CELL PRESS, US, vol. 5, no. 3, September 1996 (1996- 09), pages 241-252, XP000891305, ISSN: 1074-7613, DOI: 10.1016/S1074-7613(00)80319-2

LEFRANC M P: "Nomenclature of the human immunoglobulin lambda (IGL) genes",
EXPERIMENTAL AND CLINICAL IMMUNOGENETICS, S.KARGER, BASEL, CH, vol. 18, no. 4,
2001, - 18 April 2002 (2002-04-18), pages 242-254, XP009096780, ISSN: 0254-9670, DOI:
10.1159/000049203
POPOV A V ET AL: "A HUMAN IMMUNOGLOBULIN L LOCUS IS SIMILARLY WELL
EXPRESSED IN MICE AND HUMANS", THE JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE,
ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS, US, vol. 189, no. 10, 17 May 1999 (1999-05-17) , pages
1611-1619, XP000891331, ISSN: 0022-1007, DOI: 10.1084/JEM.189.10.1611

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:**

et ikke-omarrangert humant gensegment (hV_H) fra en variabel immunglobulin-tungkjede, et ikke-omarrangert humant gensegment (hD_H) fra en mangfoldig
 5 immunglobulin-tungkjede (hD_H) og et ikke-omarrangert humant gensegment (hJ_H) fra en sammenføyende immunglobulin-tungkjede, som er operativt forbundet med et gen av konstant immunglobulin-tungkjede (C_H) fra en mus, og
 et ikke-omarrangert humant gensegment (hV_λ) fra en variabel immunglobulin- λ -
 lettkjede og et humant λ -sammenføyende gensegment (hJ_λ) som er operativt
 10 forbundet med et gen av konstant immunglobulin- κ -lettkjede (C_κ) fra en mus ved et endogent locus av en κ -immunglobulinlettkjede fra en mus, hvori ved locuset opprettholdes det κ -introniske forsterkerelementet oppstrøms for C_κ -gensegmentet (betegnet $E_{\kappa i}$) og 3'- κ -forsterkeren nedstrøms for C_κ -gensegmentet (betegnet $E_{\kappa 3'}$),
 hvor musen uttrykker et antistoff som omfatter en tungkjede som omfatter en
 15 omarrangert human $V_H-D_H-J_H$ -sekvens og en C_H -musesekvens og en lettkjede som omfatter en omarrangert human $V_\lambda-J_\lambda$ -sekvens og en C_κ -musesekvens.

2. Musen ifølge krav 1, hvori musen mangler eller i det vesentlige mangler et funksjonelt V_κ -gensegment fra en mus og mangler eller i det vesentlige mangler et funksjonelt J_κ -gensegment fra en mus.

20 **3. Musen ifølge krav 1, som omfatter en flerhet av ikke-omarrangerte hV_λ -gensegmenter.**

4. Musen ifølge krav 3, hvori flerheten av ikke-omarrangerte hV_λ -gensegmenter omfatter:

- (a) minst 12 hV_λ -gensegmenter; eller
 25 (b) 13 til 28 eller flere hV_λ -gensegmenter.

5. Musen ifølge krav 4, hvori hV_λ -gensegmentene inkluderer 3-1, 4-3, 2-8, 3-9, 3-10, 2-11 og 3-12.

6. Musen ifølge krav 4, hvori hV_λ -gensegmentene inkluderer 2-14, 3-16, 2-18, 3-19, 3-21, 3-22, 3-23, 3-25 og 3-27.

30 **7. Musen ifølge krav 1, hvori det humane J_λ -gensegmentet er humant $J_{\lambda 1}$.**

8. Musen ifølge krav 1, hvori musen omfatter fire humane J λ -gensegmenter, fortrinnsvis hvori de fire humane J λ -gensegmentene er J λ 1, J λ 2, J λ 3 og J λ 7.

9. Musen ifølge krav 1, hvori det endogene locuset av en λ -lettkjede fra en mus slettes helt eller delvis.

5 **10.** Musen ifølge krav 1, hvori det endogene locuset av en κ -lettkjede fra en mus omfatter

(a) en sammenhengende sekvens av det humane λ -locuset av en lettkjede som spenner fra hV λ 3-12 til hV λ 3-1;

(b) en sammenhengende sekvens av det humane λ -locuset av en lettkjede som
10 spenner fra hV λ 3-27 til hV λ 3-1; eller

(c) en sammenhengende sekvens av det humane λ -locuset av en lettkjede som spenner fra hV λ 5-52 til hV λ 1-40 og en sammenhengende sekvens av det humane λ -locuset av en lettkjede som spenner fra hV λ 3-29 til hV λ 3-1.

11. Isolert celle som uttrykker et antistoff som omfatter en tungkjede som omfatter
15 en omarrangert human V_H-D_H-J_H-sekvens og en C_H-musesekvens og en lettkjede som omfatter en omarrangert human V λ -J λ -sekvens og en C κ -musesekvens, hvori cellen er fra, eller kan oppnås fra, musen ifølge et hvilket som helst av de foregående kravene, og hvori cellen omfatter:

en hV_H, en hD_H og en hJ_H, som er operativt forbundet med et C_H-gen fra en mus,
20 og

et hV λ og et hJ λ , som er operativt forbundet med et C κ -gen fra en mus ved et endogent locus av en κ -immunglobulin-lettkjede fra en mus, hvori ved locuset opprettholdes det κ -introniske forsterkerelementet oppstrøms for C κ -genet (betegnet E κ i) og 3'- κ -forsterkeren nedstrøms for C κ -genet (betegnet E κ 3'),

25 **12.** Den isolerte cellen ifølge krav 11, hvori cellen er en B-celle.

13. Isolert embryonisk stamcelle (ES-celle) fra en mus som omfatter:

et ikke-omarrangert humant gensegment (hV_H) fra en variabel immunglobulin-tungkjede, et ikke-omarrangert humant gensegment (hD_H) fra en mangfoldig immunglobulin-tungkjede (hD_H) og et ikke-omarrangert humant gensegment (hJ_H)
30 fra en sammenføyende immunglobulin-tungkjede, som er operativt forbundet med et gen av konstant immunglobulin-tungkjede (C_H) fra en mus, og

et ikke-omarrangert humant gensegment ($hV\lambda$) fra en variabel immunglobulin- λ -lettkjede og et humant λ -sammenføyende gensegment ($hJ\lambda$) som er operativt forbundet med et gen av en konstant immunglobulin- κ -lettkjede ($C\kappa$) fra en mus ved et endogent locus av en immunglobulin- κ -lettkjede fra en mus, hvori

5 ved locuset opprettholdes det κ -introniske forsterkerelementet oppstrøms for $C\kappa$ -genet (betegnet $E\kappa i$) og 3'- κ -forsterkeren nedstrøms for $C\kappa$ -genet (betegnet $E\kappa 3'$),

14. Museembryo som omfatter, fremstilt av, eller som kan oppnås fra, ES-musecellen ifølge krav 13, hvori museembryoet omfatter:

et ikke-omarrangert humant gensegment (hV_H) fra en variabel immunglobulin-tungkjede, et ikke-omarrangert humant gensegment (hD_H) fra en mangfoldig immunglobulin-tungkjede (hD_H) og et ikke-omarrangert humant gensegment (hJ_H) fra en sammenføyende immunglobulin-tungkjede, som er operativt forbundet med et gen av konstant immunglobulin-tungkjede (C_H) fra en mus, og

10 et ikke-omarrangert humant gensegment ($hV\lambda$) fra en variabel immunglobulin- λ -lettkjede og et humant λ -sammenføyende gensegment ($hJ\lambda$) som er operativt forbundet med et gen av en konstant immunglobulin- κ -lettkjede ($C\kappa$) fra en mus ved et endogent locus av en immunglobulin- κ -lettkjede fra en mus, hvori ved locuset opprettholdes det κ -introniske forsterkerelementet oppstrøms for $C\kappa$ -genet (betegnet $E\kappa i$) og 3'- κ -forsterkeren nedstrøms for $C\kappa$ -genet (betegnet $E\kappa 3'$),

20 **15.** Hybridom som omfatter en omarrangert gensekvens fra en immunglobulin-lettkjede avledet fra musen ifølge krav 1, den omarrangerte sekvensen omfatter et $hV\lambda$ -gensegment, et $hJ\lambda$ -gensegment og et $C\kappa$ -musegen ved et endogent locus av en immunglobulin- κ -lettkjede, hvori ved locuset opprettholdes det κ -introniske forsterkerelementet oppstrøms for $C\kappa$ -genet (betegnet $E\kappa i$) og 3'- κ -forsterkeren nedstrøms for $C\kappa$ -genet (betegnet $E\kappa 3'$), hvor hybridomet uttrykker et antistoff som

25 omfatter en lettkjede som omfatter en omarrangert human $V\lambda$ - $J\lambda$ -sekvens og en $C\kappa$ -musesekvens.

16. Anvendelse av B-cellen ifølge krav 12 for å lage et hybridom som omfatter en omarrangert gensekvens fra en immunglobulin-lettkjede avledet fra musen ifølge

30 krav 1, den omarrangerte sekvensen omfatter et $hV\lambda$ -gensegment, et $hJ\lambda$ -gensegment og et $C\kappa$ -musegen ved et endogent locus av en immunglobulin- κ -lettkjede, hvori ved locuset opprettholdes det κ -introniske forsterkerelementet

oppstrøms for C κ -genet (betegnet E κ i) og 3'- κ -forsterkeren nedstrøms for C κ -genet (betegnet E κ 3'), hvor hybridomet uttrykker et antistoff som omfatter en lettjede som omfatter en omarrangert human V λ -J λ -sekvens og en C κ -musesekvens.

- 5 **17.** Musen ifølge krav 1, hvori musen omfatter: 12 til 40 ikke-omarrangerte humane gensegmenter (hV λ) fra en variabel immunglobulin- λ -lettjede og minst ett humant J λ (hJ λ)-gensegment; og en human V κ -J κ -intergenisk nukleinsyresekvens lokalisert mellom de 12-40 humane gensegmentene fra en variabel immunglobulin-lettjede og den i det minste ene humane J λ -nukleinsyresekvensen.
- 10 **18.** Musen ifølge krav 1, hvori musen omfatter:
 (b) 12 humane V λ -gensegmenter; eller
 (b) 28 eller flere humane V λ -gensegmenter.
- 19.** Fremgangsmåte for fremstilling av et antistoff i en mus, fremgangsmåten omfatter:
- 15 (a) å eksponere musen ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 10 eller 17 for et antigen;
 (b) å tillate musen å utvikle en immunrespons til antigenet; og
 (c) å isolere fra musen i (b) et antistoff som spesifikt gjenkjenner antigenet, eller å isolere fra musen i (b) en celle som omfatter et immunglobulindomene som spesifikt
- 20 gjenkjenner antigenet, hvori antistoffet omfatter en tungjede avledet fra et humant V $_H$ -gensegment, et humant D $_H$ -gensegment, et humant J $_H$ -gensegment og et C $_H$ -musegen og en lettjede avledet fra et humant V λ -gensegment, et humant J λ -gensegment og et C κ -musegen.