



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3241435 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
A01K 67/027 (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01)
C07K 16/12 (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
C12N 15/85 (2006.01)
C12N 15/90 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2021.10.11
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2021.05.26
(86)	European Application Nr.	17174426.1
(86)	European Filing Date	2010.07.07
(87)	The European Application's Publication Date	2017.11.08
(30)	Priority	2009.07.08, GB, 0911846 2009.07.28, GB, 0913102 2009.07.08, US, 223960 P 2010.06.17, US, 355666 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 ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR
(73)	Proprietor	Kymab Limited, The Bennet Building (B930) Babraham Research Campus, Cambridge CB22 3AT, Storbritannia
(72)	Inventor	BRADLEY, Allan, c/o Kymab LimitedThe Bennet Building (930)Babraham Research Campus, Cambridge CB22 3AT, Storbritannia LEE, E-Chiang, c/o Kymab LimitedThe Bennet Building (930)Babraham Research Campus, Cambridge CB22 3AT, Storbritannia LIANG, Qi, c/o Kymab LimitedThe Bennet Building (930)Babraham Research Campus, Cambridge CB22 3AT, Storbritannia WANG, Wei, c/o Kymab LimitedThe Bennet Building (930)Babraham Research Campus, Cambridge CB22 3AT, Storbritannia
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54)	Title	ANIMAL MODELS AND THERAPEUTIC MOLECULES
------	-------	--

(56) References

Cited:

US-A1- 2006 015 957

WO-A1-02/066630

WO-A2-2007/117410

JUAN RIVERA ET AL: "Genetic Background and the Dilemma of Translating Mouse Studies to Humans", IMMUNITY., vol. 28, no. 1, 2008, pages 1-4, XP055403880, US ISSN: 1074-7613, DOI: 10.1016/j.immuni.2007.12.008

YOKO TANIMOTO ET AL: "Embryonic Stem Cells Derived from C57BL/6J and C57BL/6N Mice", COMP MED, vol. 58, 2008, pages 347-352, XP055403872,

OBERDOERFFER P ET AL: "Unidirectional Cre-mediated genetic inversion in mice using the mutant loxP pair lox66/lox71", NUCLEIC ACIDS RESEARCH, INFORMATION RETRIEVAL LTD, vol. 31, no. 22, 2003, pages 1-7, XP002992914, ISSN: 0305-1048, DOI: 10.1093/NAR/GNG140

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 hvis genom består av:

(a) den humane IgH VDJ-regionen satt inn oppstrøms for den konstante regionen hos vertsgnageren; og

(b) en eller flere humane Ig-lettkjede kappa V-regioner og en eller flere humane Ig lettkjede kappa J-regioner oppstrøms for kappa-regionen hos vertsgnageren;

hvor gnageren er i stand til å produsere et repertoar av kimære

antistoffer som har en gnagerkonstant region og en humanvariabel region;

hvor genomet omfatter V, D (kun tungkjede) og J gener ved tungkjedelokuset og ett lettkjedelokus, men ikke ved begge lettkjedelokalitetene, og gnagergenomet er homozygot på begge

immunglobulinlokalitetene;

hvor innsettingen av det humane DNA er gjort mellom gnagerkonstantområdet og det siste, 3', gnager J-området hvor genomet er oppnåelig ved

i. innsetting av DNA som danner en initieringskasset i genomet til en celle;

ii. innsetting av et første DNA-fragment i innsettingsstedet, det første DNA-fragmentet omfatter en første del av et humant VDJ DNA-område og en første vektordel som inneholder en første valgbar markør eller genererer en valgbar markør ved innsetting;

iii. fjerning av en del av vektor-DNA;

iv. innsetting av et andre DNA-fragment i vektordelen av det første DNA-fragmentet, det andre DNA-fragmentet inneholder en andre del av humant VDJ-DNA og en andre vektordel, den andre vektordelen inneholder en andre valgbar markør, eller generering av en andre valgbar markør ved innsetting

v. fjerning av hvilket som helst vektor-DNA for å la det første og andre humane DNA-fragmentene danne en sammenhengende sekvens; og

vi. iterasjon av trinnene for innsetting av en del av det humane VDJ-DNA og fjerning av vektor-DNA, etter behov, for å produsere en celle med hele den humane VDJ-regionen, hvor en eller flere innføringshendelser benytter stedsspesifikk rekombinasjon.

2. Gnager hvis genom består av:

(a) et antall humane IgH V-regioner, en eller flere humane D-regioner og en eller flere humane J-regioner satt inn oppstrøms for den konstante regionen hos vertsgnageren; og

(b) den humane Ig lettkjeden kappa VJ-regionen oppstrøms for kappa-regionen hos vertsgnageren;

hvor gnageren er i stand til å produsere et repertoar av kimære antistoffer som har en gnagerkonstant region og en human variabel region;

hvor genomet omfatter V, D (kun tungkjede) og J gener ved tungkjedelokuset og ett lettkjedelokus, men ikke ved begge lettkjedelokalitetene, og gnagergenomet er homozygot på begge immunglobulinlokalitetene;

hvor innsettingen av det humane DNA er gjort mellom gnagerkonstantområdet og det siste, 3', gnager J-området hvor genomet er oppnåelig ved

i. innsetting av DNA som danner en initieringskasset i genomet til en celle;

ii. innsetting av et første DNA-fragment i innsettingsstedet, det første DNA-fragmentet omfatter en første del av et humant VJ DNA-område og en første vektordel som inneholder en første valgbar markør eller genererer en valgbar markør ved innsetting;

iii. fjerning av en del av vektor-DNA;

iv. innsetting av et andre DNA-fragment i vektordelen av det første DNA-fragmentet, det andre DNA-fragmentet inneholder en andre del av

humant VJ DNA og en andre vektordel, den andre vektordelen inneholder en andre valgbar markør, eller generering av en andre valgbar markør ved innsetting

- 5 v. fjerning av hvilket som helst vektor-DNA for å la det første og andre humane DNA-fragmentene danne en sammenhengende sekvens; og
- vi. iterasjon av trinnene for innsetting av en del av det humane VJ-DNA og fjerning av vektor-DNA, etter behov, for å produsere en celle med hele den humane kappa VJ-regionen,
- 10 hvor en eller flere innføringshendelser benytter stedsspesifikk rekombinasjon.

3. Gnagercelle hvis genom består av

- (a) den humane IgH VDJ-regionen satt inn oppstrøms for den konstante regionen hos vertsgnageren; og
- 15 (b) en eller flere humane Ig-lettkjede kappa V-regioner og en eller flere humane Ig lettkjede kappa J-regioner oppstrøms for kappa-regionen hos vertsgnageren;
- hvor det innsatte humane DNA er i funksjonelt arrangement med vertsgnagerens konstante region for antistoffkjedeproduksjon;
- 20 hvor genomet omfatter V, D (kun tungkjede) og J gener ved tungkjedelokus og ett lettkjedelokus, men ikke ved begge lette kjedelokaliteter, og cellegenomet er homozygot ved begge immunglobulinlokalitetene;
- og hvor innsettingen av det humane DNA er gjort mellom
- 25 gnagerkonstantområdet og den siste, 3', gnager J-regionen hvor genomet er oppnåelig ved
- i. innsetting av DNA som danner en initieringskassett i genomet til en celle;
- ii. innsetting av et første DNA-fragment i innsettingsstedet, det første
- 30 DNA-fragmentet omfatter en første del av et humant VDJ DNA-område

og en første vektordel som inneholder en første valgbar markør eller genererer en valgbar markør ved innsetting;

iii. fjerning av en del av vektor-DNA;

iv. innsetting av et andre DNA-fragment i vektordelen av det første
5 DNA-fragmentet, det andre DNA-fragmentet inneholder en andre del av
humant VDJ-DNA og en andre vektordel, den andre vektordelen
inneholder en andre valgbar markør, eller generering av en andre
valgbar markør ved innsetting

v. fjerning av hvilket som helst vektor-DNA for å tillate at det første og
10 andre humane DNA-fragmenter danner en sammenhengende sekvens;
og

vi. iterasjon av trinnene for innsetting av en del av det humane VDJ-
DNA og fjerning av vektor-DNA, etter behov, for å produsere en celle
med hele den humane VDJ-regionen,
15 hvor en eller flere innføringshendelser benytter stedsspesifikk
rekombinasjon.

4. Gnagercelle hvis genom består av

(a) et antall humane IgH V-regioner, en eller flere humane D-regioner
20 og en eller flere humane J-regioner satt inn oppstrøms for den
konstante regionen hos vertsgnageren; og

(b) den humane kappa VJ-regionen oppstrøms den konstante kappa-
regionen hos vertsgnageren;

hvor det innsatte humane DNA er i funksjonelt arrangement med
25 vertsgnagerens konstante region for antistoffkjedeproduksjon;

hvor genomet omfatter V, D (kun tungkjede) og J-gener ved
tungkjedelokuset og ett lettkjedelokus, men ikke ved begge
lettkjedelokus, og cellegenomet er homozygot på begge
immunglobulinlokalitetene;

30 og hvor innsettingen av det humane DNA er gjort mellom

gnagerkonstantområdet og den siste, 3', gnager J-regionen hvor genomet er oppnåelig ved

- i. innsetting av DNA som danner en initieringskassett i genomet til en celle
- 5 ii. innsetting av et første DNA-fragment i innsettingsstedet, det første DNA-fragmentet omfatter en første del av et humant VJ DNA-område og en første vektordel som inneholder en første valgbar markør eller genererer en valgbar markør ved innsetting
- 10 iii. fjerning av en del av vektor-DNA;
- iv. innsetting av et andre DNA-fragment i vektordelen av det første DNA-fragmentet, det andre DNA-fragmentet inneholder en andre del av humant VJ-DNA og en andre vektordel, den andre vektordelen inneholder en andre valgbar markør, eller generering av en andre valgbar markør ved innsetting
- 15 v. fjerning av hvilket som helst vektor-DNA for å la det første og andre humane DNA-fragmentene danne en sammenhengende sekvens; og
- vi. iterasjon av trinnene for innsetting av en del av humant VJ DNA og fjerning av vektor-DNA, om nødvendig, for å produsere en celle med hele den humane kappa VJ-regionen,
- 20 hvor en eller flere innføringshendelser benytter stedsspesifikk rekombinasjon.

5. Celle ifølge krav 3 eller 4, eller gnageren ifølge krav 1 eller 2, hvor celle- eller pattedyrgenomet er modifisert for å forhindre eller redusere ekspresjon av helt vertsspesifikke antistoffer.

6. Celle ifølge krav 5, hvor modifikasjonen kan oppnås ved innsetting av ett eller flere stedsspesifikke rekombinaseseter i genomet og deretter bruk av disse stedene i rekombinasemediert eksisjon av hele eller en del av gnager-Ig-stedet.

7. Celle eller gnager ifølge krav 5, hvor gnagergenomet er modifisert ved inversjon av hele eller deler av gnager-VDJ-regionen eller VJ-regionen.

5 8. Celle ifølge et hvilket som helst av kravene 3-7, hvor gnagergenomet som DNA settes inn i omfatter endogene V (D) J-regioner som ikke er blitt slettet, og hvor cellen er en ES-celle, hematopoietisk stamcelle eller annen celle å utvikle seg til en gnager som er i stand til å produsere et repertoar av antistoffer eller antistoffkjeder som er
10 kimære, nevnte kimære antistoffer eller kjeder som har en gnagerkonstant region og en human variabel region.

9. Gnager ifølge et hvilket som helst av kravene 1, 2 og 5-7, hvor gnagergenomet som DNA settes inn i omfatter endogene V (D) J-regioner som ikke er blitt slettet; eller
15 en gnager ifølge krav 1 eller 2, oppnåelig fra en celle ifølge krav 6, hvor gnagergenomet som DNA settes inn i omfatter endogene V (D) J-regioner som ikke er blitt slettet.

20 10. Celle ifølge et hvilket som helst av kravene 3 - 8 som er udødeliggjort.

11. Celle ifølge hvilket som helst av kravene 3-8 og 10, hvor cellen er en ES-celle eller er avledet fra en ES-celle, hvor ES-cellen er avledet fra
25 mus C57BL/6N, C57BL/6J, 129S5 eller 129Sv-stamme, eller gnageren ifølge et hvilket som helst av kravene 1, 2, 5, 7 eller 9, hvor gnageren er generert fra en ES-celle, hvor ES-cellen er avledet fra mus C57BL/6N, C57BL/6J, 129S5 eller 129Sv-stamme.

30 12. Cellelinje som er dyrket fra eller på annen måte avledet fra celler ifølge et hvilket som helst av kravene 3-8 og 10-11, omfattende

innsatte humane V-, D- eller J-gener, enten i kimlinjekonfigurasjon eller etter omorganisering etter in vivo-modning, for å tilveiebringe en antistoffproduserende cellelinje.

5 13. Fremgangsmåte for å produsere et antistoff eller antistoff tung- eller lettkjede spesifikt for et ønsket antigen, hvilken fremgangsmåte omfatter immunisering av gnageren ifølge et hvilket som helst av kravene 1,2, 5, 7 eller 9 med ønsket antigen og gjenvinning av antistoffet eller antistoffkjeden eller gjenvinne en celle som produserer
10 antistoffet eller den tunge eller lette kjeden.

14. Fremgangsmåte for fremstilling av et fullstendig humanisert antistoff eller antistoffkjede omfattende immunisering av en gnager ifølge fremgangsmåten i krav 13 og deretter erstatning av den
15 gnagerkonstantregionen til et antistoff spesifikt reaktiv med antigenet med et humant konstant område, passende ved konstruksjon av nukleinsyren som koder for antistoffet.

15. Fremgangsmåte for å produsere et antistoff, hvilken fremgangsmåte
20 omfatter å produsere antistoffet fra cellelinjen ifølge krav 12.

16. Fremgangsmåte ifølge krav 14, hvor fremgangsmåten videre omfatter fremstilling av et farmasøytisk preparat ved å kombinere antistoffet med en farmasøytisk akseptabel bærer eller annen
25 hjelpestoff for å produsere sammensetningen.

17. Fremgangsmåte ifølge krav 13 eller 14, videre omfattende dyrking eller avledning av en antistoffproduserende celle eller cellelinje fra cellen som produserer antistoffet, eventuelt hvor antistoffcellen eller
30 cellelinjen immortaliseres enten ved fusjon til en tumorcelle for å

tilveiebringe et antistoff. produserer celle og cellelinje, eller ved direkte cellulær udødeliggjøring.