



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3376857 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
A01K 67/027 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2021.07.26
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2021.02.24
(86)	European Application Nr.	16810152.5
(86)	European Filing Date	2016.11.18
(87)	The European Application's Publication Date	2018.09.26
(30)	Priority	2015.11.20, US, 201562258181 P 2016.08.03, US, 201662370430 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	MUJICA, Alexander O., c/o Regeneron Pharmaceuticals Inc. 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, New York 10591, USA BUROVA, Elena, c/o Regeneron Pharmaceuticals Inc. 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, New York 10591, USA MURPHY, Andrew J., c/o Regeneron Pharmaceuticals Inc. 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, New York 10591, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54)	Title	NON-HUMAN ANIMALS HAVING A HUMANIZED LYMPHOCYTE-ACTIVATION GENE 3
(56)	References Cited:	WO-A1-2013/063361, WO-A2-02/36789, WO-A1-2015/196051, WO-A2-2004/078928, Gregory K Pennock ET AL: "The Evolving Role of Immune Checkpoint Inhibitors in Cancer Treatment", The Oncologist, 11 June 2015 (2015-06-11), pages 812-822, XP055320470, DOI: 10.1634/theoncologist.2014- Retrieved from the Internet: URL: http://theoncologist.alphamedpress.org/content/20/7/812.full.pdf#page=1&view=FitH [retrieved on 2016-11-17] VALENZUELA D M ET AL: "High-throughput engineering of the mouse genome coupled with high-resolution expression analysis", NATURE BIOTECHNOLOGY, GALE GROUP INC, US, vol. 21, no. 6, 1 June 2003 (2003-06-01), pages 652-659, XP002735683, ISSN: 1087-0156, DOI: 10.1038/NBT822 [retrieved on 2003-05-05] N. Li ET AL: "Biochemical Analysis of the Regulatory T Cell Protein Lymphocyte Activation

Gene-3 (LAG-3; CD223)", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 173, no. 11, 19 November 2004 (2004-11-19), pages 6806-6812, XP55569410, US ISSN: 0022-1767, DOI: 10.4049/jimmunol.173.11.6806

ELENA BUROVA ET AL: "Combined treatment with anti-LAG-3 and anti-PD-1 fully human monoclonal antibodies inhibits tumor growth in immunocompetent double-humanized LAG-3/PD-1 mice", CANCER RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, vol. 76, no. 14, 1 July 2016 (2016-07-01), XP009193210, ISSN: 0008-5472

RUEA-YEA HUANG ET AL: "LAG3 and PD1 co-inhibitory molecules collaborate to limit CD8 + T cell signaling and dampen antitumor immunity in a murine ovarian cancer model", ONCOTARGET, vol. 6, no. 29, 23 July 2015 (2015-07-23), pages 27359-27377, XP055328187, United States ISSN: 1949-2553, DOI: 10.18632/oncotarget.4751

WORKMAN C J ET AL: "Phenotypic analysis of the murine CD-4 related glycoprotein, CD223 (LAG-3)", EUROPEAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 32, no. 8, 1 August 2002 (2002-08-01), pages 2255-2263, XP003000898, ISSN: 0014-2980, DOI: 10.1002/1521-4141(200208)32:8<2255::AID-IM MU2255>3.0.CO;2-A

ANNY DEVOY ET AL: "Genomically humanized mice: technologies and promises", NATURE REVIEWS GENETICS, vol. 13, 1 January 2012 (2012-01-01), pages 14-20, XP055126260, DOI: 10.1038/nrg3116

S.-R. WOO ET AL: "Immune Inhibitory Molecules LAG-3 and PD-1 Synergistically Regulate T-cell Function to Promote Tumoral Immune Escape", CANCER RESEARCH, vol. 72, no. 4, 20 December 2011 (2011-12-20), pages 917-927, XP055151722, ISSN: 0008-5472, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1620

ELENA BUROVA ET AL: "Abstract 266: Antitumor activity of REGN2810, a fully human anti-PD-1 monoclonal antibody, against MC38.Ova tumors grown in immune-competent humanized PD-1 mice", CANCER RESEARCH, vol. 75, 18 April 2015 (2015-04-18), page 266, XP055211538, DOI: 10.1158/1538-7445.AM2015-266

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/>

3376857

1

Patentkrav

1. Gnager hvis genom omfatter et humanisert *Lag-3* -gen i en endogen *Lag-3* -locus, hvori gnageren uttrykker et humanisert *Lag-3*-polypeptid fra det humaniserte *Lag-3* -genet, det humaniserte *Lag-3*-polypeptidet omfatter: en ekstracellulær del som inneholder de første to N-terminale immunglobulin-(Ig)-lignende domenene av et humant *LAG-3*-polypeptid og de siste to Ig-lignende domenene av et endogent *Lag-3*-polypeptid; transmembrandomenet av det endogene *Lag-3*-polypeptidet; og det intracellulære domenet av det endogene *Lag-3*-polypeptidet; og hvori gnageren er en mus eller en rotte.
2. Gnager hvis genom omfatter et humanisert *Lag-3* -gen ved et endogent *Lag-3* -locus, hvori gnageren uttrykker et humanisert *Lag-3*-polypeptid fra det humaniserte *Lag-3*-genet, det humaniserte *Lag-3*-polypeptidet omfatter de første to N-terminale Ig-lignende domenene av et humant *LAG-3*-polypeptid; hvori det humaniserte *Lag-3* -genet omfatter endogene *Lag-3* -eksoner 1, 5, 6, 7 og 8; og hvori gnageren er en mus eller en rotte.
3. Gnageren ifølge krav 1 eller krav 2, hvori:
 - (a) det humaniserte *Lag-3*-polypeptidet omfatter aminosyrene 29–260 i det humane *LAG-3*-polypeptidet; og/eller
 - (b) gnageren ytterligere uttrykker et humanisert *PD-1*-polypeptid, det humaniserte *PD-1*-polypeptidet omfatter en ekstracellulær del av et humant *PD-1*-polypeptid og en intracellulær del av et endogent *PD-1*-polypeptid, og eventuelt omfatter det humaniserte *PD-1*-polypeptidet ytterligere en transmembran del av det endogene *PD-1*-polypeptidet; og/eller det humaniserte *PD-1*-polypeptidet omfatter aminosyrene 35–145 i det humane *PD-1*-polypeptidet.
4. Gnageren ifølge krav 1 eller krav 2, hvori det humaniserte *Lag-3* -genet er operativt forbundet med en gnager-*Lag-3* -promotor, eventuelt hvori:
 - gnager *Lag-3* -promotoren er en endogen gnager *Lag-3* -promotor; og/eller
 - det humaniserte *Lag-3* -genet omfatter eksonene 2–4 av et humant *LAG-3* -gen.
5. Gnageren ifølge krav 4, hvori genomet til gnageren ytterligere omfatter et humanisert *Pdcd1* -gen som er operativt bundet til en gnager *Pdcd1* -promotor og koder for det humaniserte *PD-1*-polypeptidet, hvori eventuelt:
 - (a) gnager *Pdcd1* -promotoren er en endogen gnager *Pdcd1* -promotor; og/eller

3376857

2

(b) det humaniserte *Pdcd1* -genet omfatter endogene *Pdcd1* -eksoner 1, 4 og 5, og omfatter endogent *Pdcd1* -ekson 3 helt eller delvis.

6. Gnageren ifølge krav 5, hvori den humane delen av det humaniserte *Pdcd1* -genet omfatter ekson 2 av et humant *PDCD1* -gen, eventuelt hvori det humaniserte *Pdcd1* -genet ytterligere omfatter et humant *PDCD1* -ekson 3 helt eller delvis.
7. Humanisert Lag-3-polypeptid fremstilt av en gnager ifølge et hvilket som helst av kravene 1–6.
8. Isolert celle eller vev til gnageren ifølge et hvilket som helst av kravene 1–6.
9. Embryostamcelle (ES-celle) fra en gnager hvis genom omfatter et humanisert *Lag-3* -gen i en endogen *Lag-3* -locus som koder for et humanisert Lag-3-polypeptid, det humaniserte Lag-3-polypeptidet omfatter: en ekstracellulær del som inneholder de første to N-terminale Ig-lignende domenene av et humant LAG-3-polypeptid og de siste to Ig-lignende domenene av et endogent Lag-3-polypeptid; transmembrandomenet av det endogene Lag-3-polypeptidet; og det intracellulære domenet av det endogene gnager-Lag-3-polypeptidet; hvori det humaniserte *Lag-3* -genet er operativt bundet til en gnager *Lag-3*-promotor, og hvori ES-cellen fra gnageren er en ES-celle fra en mus eller rotte.
10. Embryostamcelle (ES-celle) fra en gnager hvis genom omfatter et humanisert *Lag-3* -gen ved et endogent *Lag-3* -locus som koder for et humanisert Lag-3-polypeptid, det humaniserte Lag-3-polypeptidet omfatter: de første to N-terminale Ig-lignende domenene av et humant LAG-3-polypeptid; hvori det humaniserte *Lag-3* -genet omfatter endogene *Lag-3* -eksoner 1, 5, 6, 7 og 8; hvori det humaniserte *Lag-3* -genet er operativt bundet til en gnager *Lag-3* -promotor; og hvori ES-cellen fra gnageren er en ES-celle fra en mus eller en rotte.
11. Gnagerembryo generert fra ES-cellen ifølge krav 9 eller krav 10.
12. Fremgangsmåte for å fremstille en gnager omfattende:
 - modifisere genomet fra en gnager slik at det omfatter et humanisert *Lag-3* -gen i en endogen *Lag-3* -locus der det humaniserte genet er operativt bundet til en gnager *Lag-3* -promotor, og derved fremstille gnageren, hvori gnageren uttrykker et humanisert Lag-3-polypeptid fra det humaniserte *Lag-3* -gen, det humaniserte Lag-3-polypeptidet omfatter: en ekstracellulær del som inneholder de første to N-terminale Ig-lignende domenene av et humant LAG-3-polypeptid og de siste to Ig-lignende domenene av et endogent Lag-3-polypeptid; transmembrandomenet til det endogene Lag-3-polypeptidet; og det intracellulære domenet til det endogene Lag-3-polypeptidet; og hvori gnageren er en mus eller en rotte.

3376857

3

13. Fremgangsmåte for å fremstille en gnager omfattende:

modifisere genomet til en gnager slik at det omfatter et humanisert *Lag-3* -gen på et endogent *Lag-3* -locus idet det humaniserte genet er operativt bundet til en gnager *Lag-3* -promotor, og derved fremstille gnageren, hvori gnageren uttrykker et humanisert *Lag-3*-polypeptid fra det humaniserte *Lag-3* -genet, det humaniserte *Lag-3*-polypeptidet omfatter:

5

de første to N-terminale Ig-lignende domenene til et humant LAG-3-polypeptid; og hvori det humaniserte *Lag-3* -genet omfatter endogene *Lag-3* -eksoner 1, 5, 6, 7 og 8; og hvori gnageren er en mus eller en rotte.

14. Fremgangsmåten ifølge krav 12 eller krav 13, hvori gnager *Lag-3* -promotoren er en endogen gnager *Lag-3* -promotor.

10

15. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 12–14, hvori fremgangsmåten omfatter:

- a) integrere et genomisk fragment i et endogent *Lag-3* -gen i en ES-celle fra en gnager, det genomiske fragmentet omfattende en nukleotidsekvens som koder for de første to N-terminale Ig-lignende domenene til det humane LAG-3-polypeptidet, for derved å oppnå en genetisk modifisert embryostamcelle fra en gnager; og
- b) danne en gnager ved hjelp av den genmodifiserte ES-cellen fra gnageren i (a).

15

16. Fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 12–15, hvori:

- (a) det humaniserte *Lag-3* -genet omfatter eksонene 2–4 fra et humant LAG-3 -gen; eller det humaniserte *Lag-3* -genet koder for minst aminosyrene 29–260 til det humane LAG-3-polypeptidet; og/eller
- (b) fremgangsmåten ytterligere omfatter å modifisere genomet til gnageren slik at det omfatter et humanisert *Pdcd1*-gen som koder for et humanisert PD-1-polypeptid omfattende en ekstracellulær del av et humant PD-1-polypeptid og en intracellulær del av et endogent PD-1-polypeptid.

20

25

17. Fremgangsmåte for å vurdere anti-tumoreffekten eller de farmakokinetiske egenskapene til et legemiddel som retter seg mot humant LAG-3, fremgangsmåten omfattende trinnene:

administrere legemidlet til en gnager ifølge et hvilket som helst av kravene 1–6; og utføre en analyse for å bestemme én eller flere anti-tumoregenskaper til legemidlet som retter seg mot humant LAG-3, hvori eventuelt:

30

- (a) legemidlet som retter seg mot humant LAG-3 er et anti-Lag-3-antistoff; og/eller
- (b) legemidlet som retter seg mot humant LAG-3 administreres til gnageren intravenøst, intraperitonealt eller subkutan.