



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3456190 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
A01K 67/027 (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01)
C12N 15/85 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2022.03.28
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2021.11.24
(86)	European Application Nr.	18183980.4
(86)	European Filing Date	2009.06.29
(87)	The European Application's Publication Date	2019.03.20
(30)	Priority	2008.06.27, WO, PCT/NL08/050430
(84)	Designated Contracting States:	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 ; TR
	Designated Extension States:	AL ; BA ; RS
(73)	Proprietor	Merus N.V., Yalelaan 62, 3584 CM Utrecht, Nederland
(72)	Inventor	Houtzager, Erwin, 3702 SC Zeist, Nederland Pinto, Rui Daniel, 3581 JS Utrecht, Nederland Logtenberg, Ton, 3584 CM Utrecht, Nederland Throsby, Mark, 3584 CM Utrecht, Nederland
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54) Title **ANTIBODY PRODUCING TRANSGENIC MURINE ANIMAL**

(56) References
Cited:

WO-A2-2005/068622
EP-A- 1 439 234
WO-A1-2004/106375
WO-A1-02/066630
WO-A2-2006/117699
EP-A2- 0 814 159
Horwitz David A ET AL: "Distinctive Functional Properties of Human Blood L Lymphocytes: A Comparison with T Lymphocytes, B Lymphocytes, and Monocytes", The Journal of immunology (1950), 1 May 1977 (1977-05-01), pages 1712-1721, XP055816820, United States Retrieved from the Internet: URL:<https://www.jimmunol.org/content/jimmunol/118/5/1712.full.pdf> [retrieved on 2021-06-22]

- WOODLEY L ET AL: "REGULATION OF ALTERNATIVE PRE-MRNA SPLICING", BRIEFINGS IN FUNCTIONAL GENOMICS AND PROTEOMICS, HENRY STEWART, LONDON, GB, vol. 1, no. 3, 1 October 2002 (2002-10-01), pages 266-277, XP001168605, ISSN: 1473-9550
- L M Carlson ET AL: "Templated insertions in the rearranged chicken IgL V gene segment arise by intrachromosomal gene conversion.", GENES AND DEVELOPMENT., vol. 4, no. 4, 1 April 1990 (1990-04-01), pages 536-547, XP055654273, US ISSN: 0890-9369, DOI: 10.1101/gad.4.4.536
- GOODNOW CHRISTOPHER C ET AL: "Altered immunoglobulin expression and functional silencing of self-reactive B lymphocytes in transgenic mice", NATURE, MACMILLAN JOURNALS LTD., ETC, LONDON, vol. 334, no. 6184, 1 August 1988 (1988-08-01), pages 676-682, XP037103628, ISSN: 0028-0836, DOI: 10.1038/334676A0 [retrieved on 1988-08-01]
- DE KRUIF JOHN ET AL: "Human immunoglobulin repertoires against tetanus toxoid contain a large and diverse fraction of high-affinity promiscuous V(H) genes.", JOURNAL OF MOLECULAR BIOLOGY 3 APR 2009, vol. 387, no. 3, 3 April 2009 (2009-04-03), pages 548-558, XP002556330, ISSN: 1089-8638
- FAUSTINO N. A. ET AL: "Pre-mRNA splicing and human disease", GENES & DEVELOPMENT, vol. 17, no. 4, 15 February 2003 (2003-02-15), pages 419-437, XP055816814, DOI: 10.1101/gad.1048803 Retrieved from the Internet: URL:<http://genesdev.cshlp.org/content/17/4/419.full.pdf>
- JAKOBOVITS AYA ET AL: "From XenoMouse technology to panitumumab, the first fully human antibody product from transgenic mice.", NATURE BIOTECHNOLOGY OCT 2007, vol. 25, no. 10, October 2007 (2007-10), pages 1134-1143, XP002556637, ISSN: 1087-0156
- JUDDE J-G ET AL: "Characterization of the human immunoglobulin kappa gene 3' enhancer: functional importance of three motifs that demonstrate B-cell-specific in vivo footprints", MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY, AMERICAN SOCIETY FOR PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS, US, vol. 12, no. 11, 1 November 1992 (1992-11-01), pages 5206-5216, XP001069601, ISSN: 0270-7306
- SIRAC C ET AL: "Role of the monoclonal k chain V domain and reversibility of renal damage in a transgenic model of acquired Fanconi syndrome", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 108, no. 2, 15 July 2006 (2006-07-15), pages 536-543, XP003030514, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/BLOOD-2005-11-4419
- PRESTA ET AL: "Engineering of therapeutic antibodies to minimize immunogenicity and optimize function", ADVANCED DRUG DELIVERY REVIEWS, ELSEVIER BV, AMSTERDAM, NL, vol. 58, no. 5-6, 7 August 2006 (2006-08-07), pages 640-656, XP024892146, ISSN: 0169-409X [retrieved on 2006-08-07]
- Ivan J. Fuss ET AL: "Isolation of Whole Mononuclear Cells from Peripheral Blood and Cord Blood" In: "Current Protocols in Immunology", 1 May 2001 (2001-05-01), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, XP055072167, ISBN: 978-0-47-114273-7 DOI: 10.1002/0471142735.im0701s85,
- KERSTIN B MEYER ET AL: "The importance of the 3'-enhancer region in immunoglobulin x gene expression", NUCLEIC ACIDS RESEARCH, OXFORD UNIVERSITY PRESS, GB, vol. 18, no. 19, 11 October 1990 (1990-10-11), pages 5609-5615, XP001525496, ISSN: 0305-1048, DOI: 10.1093/NAR/18.19.5609
- CARTEGNI L ET AL: "Listening to silence and understanding nonsense: exonic mutations that affect splicing", NATURE REVIEWS GENETICS, MACMILLAN MAGAZINES, GB, vol. 3, no. 4, 1 April 2002 (2002-04-01), pages 285-298, XP002262849, DOI: 10.1038/NRG775
- PELANDA R ET AL: "A prematurely expressed Ig(kappa) transgene, but not V(kappa)J(kappa) gene segment targeted into the Ig(kappa) locus, can rescue B cell development in lambda5-deficient mice.", IMMUNITY SEP 1996, vol. 5, no. 3, September 1996 (1996-09), pages 229-239, XP002556633, ISSN: 1074-7613
- FATHIMA SHAMILA ET AL: "Comparison of Manual Versus Automated Data Collection Method for Haematological Parameters", BIOMEDICAL JOURNAL OF SCIENTIFIC & TECHNICAL RESEARCH, vol. 15, no. 3, 1 March 2019 (2019-03-01), XP055816823, DOI: 10.26717/BJSTR.2019.15.002702 Retrieved from the Internet: URL:<https://biomedres.us/pdfs/BJSTR.MS.ID.002702.pdf>
- FALKOFF R M ET AL: "T cell enrichment and depletion of human peripheral blood mononuclear cell preparations. Unexpected findings in the study of the functional activities of the separated populations", JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V., AMSTERDAM, NL, vol. 50, no. 1, 16 April 1982 (1982-04-16), pages 39-49,

XP023676462, ISSN: 0022-1759, DOI: 10.1016/0022-1759(82)90302-7 [retrieved on 1982-04-16]

LONBERG NILS: "Human antibodies from transgenic animals", NATURE BIOTECHNOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP, NEW YORK, NY, US, vol. 23, no. 9, 1 September 2005 (2005-09-01), pages 1117-1125, XP002442149, ISSN: 1087-0156

BETZ A G ET AL: "Elements regulating somatic hypermutation of an immunoglobulin @k gene: Critical role for the intron enhancer/matrix attachment region", CELL, ELSEVIER, AMSTERDAM NL, vol. 77, no. 2, 22 April 1994 (1994-04-22) , pages 239-248, XP024245265, ISSN: 0092-8674, DOI: 10.1016/0092-8674(94)90316-6 [retrieved on 1994-04-22]

LARRICK J W ET AL: "Rapid cloning of rearranged immunoglobulin genes from human hybridoma cells using mixed primers and the polymerase chain reaction", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, ELSEVIER, AMSTERDAM NL, vol. 160, no. 3, 15 May 1989 (1989-05-15), pages 1250-1256, XP000293053, ISSN: 0006-291X, DOI: 10.1016/S0006-291X(89)80138-X

WEINER LOUIS M: "Fully human therapeutic monoclonal antibodies", JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, HAGERSTOWN, MD, US, vol. 29, no. 1, 1 January 2006 (2006-01-01), pages 1-9, XP009118693, ISSN: 1524-9557

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.** En transgen murin vert som er i stand til å produsere immunglobuliner omfattende en human VL-region, nevnte murine vert omfatter integrert i sin kimlinje en rearrangert nukleinsyre omfattende en human kimlinje V og en human kimlinje J-gensegment som koder for en rearrangert human VL-region og en lettkjede konstant region av en hvilken som helst dyreart, hvori nevnte lettkjedevariable region er i stand til å pare seg med minst to forskjellige tunge kjeder kodet av verten, slik at variasjon i spesifisitet av antistoffer som omfatter nevnte humane VL-region beholdes gjennom rearrangementer og hypermutasjoner i de tunge kjedene.
- 2.** Transgen vert ifølge krav 1, hvori verten er en mus.
- 3.** Transgen vert ifølge krav 1 eller 2, hvori nevnte lettkjede konstant region er en murin-lettkjede konstant region.
- 4.** Transgen vert ifølge hvilket som helst av kravene 1-3, hvori integrasjonen er i en locus som er motstandsdyktig mot lyddemping.
- 5.** Transgen vert ifølge hvilket som helst av kravene 1-3, hvori integrasjonen er i Rosa-locus.
- 6.** Transgen vert ifølge hvilket som helst av kravene 1-5, hvori i den lettkjedevariable regionen som koder for nukleinsyre, er forsynt med et middel som tillater ekspresjon av nevnte nukleinsyre hovedsakelig begrenset til celler av B-celle-avstamning.
- 7.** Transgen vert ifølge krav 6, hvori den variable lettkjederegionen som koder for nukleinsyre er utstyrt med en anordning som tillater ekspresjon av den lettkjedevariable regionen som koder for nukleinsyren hovedsakelig under et visst stadium av utviklingen av B-celler.
- 8.** Transgen vert ifølge krav 7, hvori midlene omfatter en promoter valgt fra gruppen CD19, CD20, μ HC, VpreB1, VpreB2, VpreB3, λ 5, Ig α , Ig β , κ LC, λ LC og BSAP (Pax5).
- 9.** Transgen vert ifølge krav 7 eller 8, hvori midlene omfatter et cre-lox-system.
- 10.** Transgen vert ifølge hvilket som helst av kravene 1-9, hvori nevnte lettkjedevariable region er i stand til å pare seg med minst to verts tunge kjeder.
- 11.** Transgen vert ifølge hvilket som helst av kravene 1-9, hvori nevnte lettkjedevariable region er i stand til å pare seg med minst to humane tunge kjeder.
- 12.** Transgen vert ifølge hvilket som helst av kravene 1-11, hvori minst én av de endogene lociene som koder for en endogen lettkjede, er funksjonelt dempet.
- 13.** Transgen vert ifølge hvilket som helst av kravene 1-12, hvori det endogene κ lettkjede-lokuset er funksjonelt dempet.
- 14.** Transgen vert ifølge hvilket som helst av kravene 1-13, hvori sekvensen til nevnte lettkjedevariable regionen som koder for nukleinsyre, er en human kimlinje-vk-sekvens.
- 15.** Transgen vert ifølge krav 14, hvori kimlinje-vk-sekvensen er basert på 012.
- 16.** Transgen vert ifølge krav 15, hvori kimlinje-vk-sekvensen er IGKV1-39*01 / IGKJ1*01.

17. Fremgangsmåte for å produsere et ønsket antistoff, omfattende å eksponere en vert ifølge hvilket som helst av kravene 1-16 for et antigen slik at en antistoffrespons induseres og å isolere antistoffene spesifikke for antigenet.

18. Fremgangsmåte for å produsere et ønsket antistoff, hvori å eksponere en vert ifølge hvilket som helst av kravene 1-16 for et antigen slik at en antistoffrespons induseres og å isolere celler som produserer slike antistoffer, å dyrke og høste antistoffene.

19. Fremgangsmåte for å produsere et ønsket antistoff, omfattende å eksponere en vert ifølge hvilket som helst av kravene 1-16 for et antigen slik at en antistoffrespons induseres og isolere en nukleinsyre som koder for minst en del av et slikt antistoff, å innsette nevnte nukleinsyre eller en kopi eller et derivat derav i en ekspresjonskassett og ekspresjon av antistoffet i en vertscelle.