



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3597037 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
A01K 67/027 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/40 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2021.09.20
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2021.04.28
(86)	European Application Nr.	19190845.8
(86)	European Filing Date	2013.03.07
(87)	The European Application's Publication Date	2020.01.22
(30)	Priority	2012.06.12, US, 201261658466 P 2012.06.22, US, 201261663131 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
(62)	Divided application	EP2858487, 2013.03.07
(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 MCWHIRTHERR, John, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc.777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, USA TU, Naxin, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River RoadTarrytown, NY 10591, USA STEVENS, Sean, 12848 Caminito De Las Olas, Del Mar, CA 92014, USA MURPHY, Andrew J, 10 Newton Court, Croton-on-Hudson, NY 10520, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54)	Title	HUMANIZED NON-HUMAN ANIMALS WITH RESTRICTED IMMUNOGLOBULIN HEAVY CHAIN LOCI
------	-------	--

(56)	References Cited:	US-A1- 2013 096 287 US-A1- 2012 021 409
------	-------------------	--

WO-A1-2013/022782

US-A1- 2012 167 237

WO-A2-2009/097006

WO-A1-2012/141798

CECIL HAN ET AL: "Comprehensive analysis of reproductive ADAMs: relationship of ADAM4 and ADAM6 with an ADAM complex required for fertilization in mice", BIOLOGY OF REPRODUCTION, NEW YORK, NY [U.A.] : ACADEM. PRESS, US, vol. 80, no. 5, 1 May 2009 (2009-05-01), pages 1001-1008, XP002677427, ISSN: 0006-3363, DOI: 10.1095/BIOLREPROD.108.073700 [retrieved on 2009-01-07]

NADINE TUAILLON: "Repertoire analysis in human immunoglobulin heavy chain minilocus transgenic, [mu]MT/[mu]MT mice", MOLECULAR IMMUNOLOGY, vol. 37, no. 5, 1 April 2000 (2000-04-01), pages 221-231, XP055049840, ISSN: 0161-5890, DOI: 10.1016/S0161-5890(00)00044-4

XU JOHN L ET AL: "Diversity in the CDR3 region of VH is sufficient for most antibody specificities", IMMUNITY, CELL PRESS, US, vol. 13, no. 1, 1 July 2000 (2000-07-01), pages 37-45, XP009147376, ISSN: 1074-7613, DOI: 10.1016/S1074-7613(00)00006-6 [retrieved on 2000-09-05]

SUAREZ E ET AL: "Rearrangement of only one human IGHV gene is sufficient to generate a wide repertoire of antigen specific antibody responses in transgenic mice", MOLECULAR IMMUNOLOGY, PERGAMON, GB, vol. 43, no. 11, 1 April 2006 (2006-04-01) , pages 1827-1835, XP027899401, ISSN: 0161-5890 [retrieved on 2006-04-01]

WAGNER S D ET AL: "THE DIVERSITY OF ANTIGEN-SPECIFIC MONOCLONAL ANTIBODIES FROM TRANSGENIC MICE BEARING HUMAN IMMUNOGLOBULIN GENE MINILOCI", EUROPEAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY, WILEY - V C H VERLAG GMBH & CO. KGAA, DE, vol. 24, 1 January 1994 (1994-01-01), pages 2672-2681, XP000944345, ISSN: 0014-2980, DOI: 10.1002/EJL.1830241116

MAGEED R A ET AL: "Rearrangement of the human heavy chain variable region gene V3-23 in transgenic mice generates antibodies reactive with a range of antigens on the basis of VHCDR3 and residues intrinsic to the heavy chain variable region", CLINICAL AND EXPERIMENTAL IMMUNOLOGY, WILEY-BLACKWELL PUBLISHING LTD, GB, vol. 123, no. 1, 1 January 2001 (2001-01-01), pages 1-8, XP002544285, ISSN: 0009-9104, DOI: 10.1046/J.1365-2249.2001.01380.X

ANDREW MURPHY: "BAC-based Modifications of the Mouse Genome: The Big and the Backward", SLIDE PRESENTATION, WELLCOME TRUST ADVANCED COURSE: GENETIC MANIPULATION OF ES CELLS; OCTOBER 26 - NOVEMBER 3, 2009; HINXTON, UK., 3 November 2009 (2009-11-03), pages 1-58, XP002752689,

KAREN FEATHERSTONE ET AL: "The Mouse Immunoglobulin Heavy Chain V-D Intergenic Sequence Contains Insulators That May Regulate Ordered V(D)J Recombination", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, US, vol. 285, no. 13, 26 March 2010 (2010-03-26), pages 9327-9338, XP002677428, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/JBC.M109.098251 [retrieved on 2010-01-25]

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/>

3597037

1

Patentkrav

1. Fremgangsmåte for oppnåelse av en human sekvens av en tung kjede av den variable region av et immunglobulin fra en mus, hvor den humane sekvens av en tung kjede av den variable region av et immunglobulin fra en mus, er avledet fra et humant V_H1-69-gensegment eller et humant V_H1-2-gensegment, hvor fremgangsmåten omfatter:
- (a) å immunisere en mus med et antigen av interesse, hvor musen omfatter i sitt genom:
- (i) en ikke-rearrangert human genomsekvens som omfatter et enkelt humant V_H-gensegment, ett eller flere humane D_H-gensegmenter og ett eller flere humane J_H-gensegmenter, hvor det enkelte humane V_H-gensegment, ett eller flere humane D_H-gensegmenter og ett eller flere humane J_H-gensegmenter er operativt forbundet med et mus-immunglobulingen av den konstante region av den tunge kjede, og hvor det enkelte humane V_H-gensegment er V_H1-2, V_H1-69 eller en polymorf variant derav; og
- (ii) en sekvens som koder et mus-ADAM6a-protein eller et funksjonelt fragment derav, og en sekvens som koder et mus-ADAM6b-protein eller et funksjonelt fragment derav, hvor mus-ADAM6a-proteinet eller funksjonelt fragment derav og mus-ADAM6b-proteinet eller funksjonelt fragment derav, er funksjonelle i en hannmus, hvor nevnte kodende sekvenser befinner seg på en posisjon som er forskjellig fra et ADAM6-locus av en villtype-mus; og hvor musen ikke er i stand til å danne en sekvens av en tung kjede av den variable region av et immunglobulin som ikke er avledet fra et humant V_H1-69-gensegment eller et humant V_H1-2-gensegment;
- (b) å muliggjøre at musen utløser en immunrespons i forhold til antigenet av interesse; og
- (c) å identifisere eller isolere en human sekvens av en tung kjede av den variable region av et immunglobulin fra musen, hvor den humane sekvens av en tung kjede av den variable region av et immunglobulin koder et humant antistoffdomene av en tung kjede av et variabelt domene av et immunglobulin som binder til antigenet av interesse.

3597037

2

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor musen videre omfatter i sitt genom:
en ikke-rearrangert human genomsekvens som omfatter ett eller flere humane V_L-
5 gensegmenter og ett eller flere humane J_L-gensegmenter som er operativt forbundet
med et mus-immunglobulingen av den konstante region av den lette kjede.
3. Fremgangsmåte for å genere et fullstendig humant antistoff som er spesifikt mot
et antigen av interesse, omfattende å immunisere et antigen av interesse,
10 omfattende å immunisere en mus som definert ifølge krav 2 med nevnte antigen, å
isolere minst én celle fra musen, idet det dannes et revers-kimært mus-human-
antistoff som er spesifikt mot antigenet, å generere minst én celle som danner et
fullstendig humant antistoff som er avledet fra det revers-kimære mus-human-
antistoff som er spesifikt mot antigenet, å dyrke minst én celle som danner det
15 fullstendig humane antistoff, og å oppnå nevnte fullstendige humane antistoff.
4. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, hvor det enkelte
humane V_H-gensegment er en polymorf variant av V_H1-2 eller V_H1-69.
- 20 5. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-4, hvor sekvensen som
koder mus-ADAM6a-proteinet eller et funksjonelt fragment derav, og sekvensen
som koder mus-ADAM6b-proteinet eller et funksjonelt fragment derav, er:
(i) til stede på en posisjon i musegenomet annet enn på et endogent mus-
immunglobulin-tungkjede-locus; eller
25 (ii) plassert ved siden av eller tilgrensende den ikke-rearrangerte humane
genomsekvens.
6. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor den ikke-
rearrangerte humane genomsekvens som omfatter det enkelte humane V_H-
30 gensegment, ett eller flere D_H-gensegmenter og ett eller flere humane J_H-
gensegmenter, er til stede på et endogent mus-immunglobulin-tungkjede-locus.
7. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor:

3597037

3

den ikke-rearrangerte humane genomsekvens som omfatter det enkelte humane V_H -gensegment, ett eller flere D_H -gensegmenter og ett eller flere humane J_H -gensegmenter, er til stede på et endogent mus-immunglobulin-tungkjede-locus, og

5 sekvensen som koder mus-ADAM6a-proteinet eller et funksjonelt fragment derav, og sekvensen som koder mus-ADAM6b-proteinet eller et funksjonelt fragment derav, er til stede på en posisjon i musegenomet annet enn på et endogent immunglobulin-locus av den tunge kjede.

10

8. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor musen omfatter en deleksjon av alle funksjonelle endogene V_H -gensegmenter.

9. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor mus-immunglobulingenet av den konstante region av den tunge kjede er på et endogent mus-immunglobulin-tungkjede-locus.

10. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor det enkelte humane V_H -gensegment er V_{H1-69} .

20

11. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-9, hvor det enkelte humane V_H -gensegment er V_{H1-2} .

12. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor:

25 (i) den ikke-rearrangerte humane genomsekvens som omfatter det enkelte humane V_H -gensegment, ett eller flere humane D_H -gensegmenter og ett eller flere humane J_H -gensegmenter, omfatter det humane V_{H1-69} -gensegment, tjuesju humane D_H -gensegmenter og seks humane J_H -gensegmenter; eller
 (ii) den ikke-rearrangerte humane genomsekvens som omfatter det enkelte
 30 humane V_H -gensegment, ett eller flere humane D_H -gensegmenter og ett eller flere humane J_H -gensegmenter, omfatter det humane V_{H1-2} -gensegment, tjuesju humane D_H -gensegmenter og seks humane J_H -gensegmenter.

3597037

4

13. Fremgangsmåte ifølge krav 12, hvor det ene eller de flere humane V_L-gensegmenter og ett eller flere humane J_L-gensegmenter er ett eller flere humane
5 V_k-gensegmenter og ett eller flere humane J_k-gensegmenter.

14. Fremgangsmåte ifølge krav 13, hvor det ene eller de flere humane V_k-gensegmenter og ett eller flere humane J_k-gensegmenter er til stede på et endogent
10 mus-immunglobulin-lettkjede-locus.

15. Fremgangsmåte ifølge krav 3 eller et hvilket som helst av kravene 4-14 i
avhengighet av krav 3, hvor den i det minste ene celle som er isolert fra musen som
danner et revers-kimært mus-human-antistoff som er spesifikt mot antigenet, er en
splenocyt eller en B-celle.