



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 4023059 B1

NORWAY

(19) NO

(51) Int Cl.

A01K 67/027 (2024.01)

C07K 14/705 (2006.01)

C12N 5/10 (2006.01)

C12N 5/12 (2006.01)

C12N 15/85 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2025.01.20
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2024.11.06
(86)	European Application Nr.	21213824.2
(86)	European Filing Date	2019.06.14
(87)	The European Application's Publication Date	2022.07.06
(30)	Priority	2018.06.14, US, 201862685203 P 2018.07.23, US, 201862702206 P 2019.03.01, US, 201962812580 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	EP3629720, 2019.06.14
(73)	Proprietor	Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, USA
(72)	Inventor	MURPHY, Andrew J, Tarrytown, NY 10591, USA MACDONALD, Lynn, Tarrytown, NY 10591, USA GUO, Chunguang, Tarrytown, NY 10591, USA MCWHIRTER, John, Sanremo IM, 18038, Italia VORONINA, Vera, North Bethesda, MD, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54)	Title	NON-HUMAN ANIMALS CAPABLE OF DH-DH REARRANGEMENT IN THE IMMUNOGLOBULIN HEAVY CHAIN CODING SEQUENCES
(56)	References Cited:	JUNG D. ET AL.: "Mechanism and control of V(D)J recombination at the immunoglobulin heavy chain locus", ANNU. REV. IMMUNOL., vol. 24, 16 January 2006 (2006-01-16), pages 541 - 570, XP002794627 TUAILLON N & CAPRA J.D.: "VHD rearrangements in human immunoglobulin heavy chain minilocus transgenic mice", EUR. J. IMMUNOL., vol. 30, 2000, pages 2998 - 3005, XP002794629 MEEK K.D., HASEMAN C.A. & CAPRA J.D.: "Novel rearrangements at the immunoglobulin D locus.", J. EXP. MED., vol. 170, July 1989 (1989-07-01), pages 39 - 57, XP002794630 KOKUBU F ET AL: "Diverse organization of immunoglobulin VH gene loci in a primitive vertebrate", THE EMBO JOURNAL, vol. 7, no. 11, November 1988 (1988-11-01), pages 3413 - 3422, XP002794628 TAYLOR L.D. ET AL: "A transgenic mouse that expresses a diversity of human sequence heavy and light chain immunoglobulins", NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 20, no. 23, 11 December 1992 (1992-12-11), pages 6287 - 6295, XP002041128

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/>

4023059

1

Patentkrav

1. Gnager, som omfatter i sitt kimbanegenom, på et endogent locus av den tunge kjede, en manipulert region av immunglobulin-diversiteten (D_H) ("manipulert D_H -region"), omfattende:

5 (i) et D_H -gensegment, som er umiddelbart naboliggende en 23-mer-RSS ("manipulert D_H -gensegment"); og

(ii) et ikke-rearrangert D_H -gensegment, flankert på sin 5'-ende av en første 12-mer-RSS og på sin 3'-ende av en andre 12-mer-RSS ("ikke-rearrangert D_H -gensegment"),

10 hvor (i) det manipulererte D_H -gensegment og (ii) det ikke-rearrangerte D_H -gensegment er operabelt koblet slik at (i) det manipulererte D_H -gensegment og (ii) det ikke-rearrangerte D_H -gensegment er i stand til å forbinde seg i en D_H - D_H -rekombinasjonshendelse ifølge 12/23-regelen, og

valgfritt hvor den manipulererte D_H -region omfatter kun humane D_H -gensegmenter.

15

2. Gnager ifølge krav 1, hvor det endogene locus av den tunge kjede videre omfatter:

(a) i det minste ett ikke-rearrangert variabelt gensegment av den tunge immunglobulinkjede (V_H), som er oppstrøms av og operabelt koblet til den
20 manipulererte D_H -region;

(b) i det minste ett ikke-rearrangert forbindende gensegment av den tunge immunglobulinkjede (J_H), som er nedstrøms av og operabelt koblet til den manipulererte D_H -region; eller

(c) en kombinasjon av (a) og (b).

25

3. Gnager ifølge krav 2, hvor:

(a) det i det minste ene ikke-rearrangerte V_H -gensegment omfatter et ikke-rearrangert humant V_{H6-1} -gensegment, det i det minste ene ikke-rearrangerte J_H -

gensegment omfatter et ikke-rearrangert humant J_H6-gensegment, eller en kombinasjon derav;

(b) det i det minste ene ikke-rearrangerte J_H-gensegment omfatter et ikke-rearrangert humant J_H4-gensegment, et ikke-rearrangert J_H5-gensegment og et
5 ikke-rearrangert humant J_H6-gensegment;

(c) det i det minste ene ikke-rearrangerte J_H-gensegment omfatter et ikke-rearrangert humant J_H1-gensegment, et ikke-rearrangert humant J_H2-gensegment, et ikke-rearrangert humant J_H3-gensegment, et ikke-rearrangert humant J_H4-gensegment, et ikke-rearrangert humant J_H5-gensegment og et ikke-rearrangert
10 humant J_H6-gensegment, valgfritt hvor det ikke-rearrangerte humane J_H1-gensegment, det ikke-rearrangerte humane J_H2-gensegment, det ikke-rearrangerte humane J_H3-gensegment, det ikke-rearrangerte humane J_H4-gensegment, det ikke-rearrangerte humane J_H5-gensegment og det ikke-rearrangerte humane J_H6-gensegment er i kimbanekonfigurasjon; og/eller

(d) det i det minste ene ikke-rearrangerte V_H-gensegment omfatter det fullstendige repertoar av funksjonelle ikke-rearrangerte humane V_H-gensegmenter som strekker seg mellom og innbefatter et ikke-rearrangert humant V_H3-74-gensegment og et ikke-rearrangert humant V_H1-6-gensegment ("fullstendig repertoar av funksjonelle ikke-rearrangerte humane V_H-gensegmenter"), valgfritt hvor det fullstendige
20 repertoar av funksjonelle ikke-rearrangerte humane V_H-gensegmenter er i kimbanekonfigurasjon.

4. Gnager ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor:

(a) gnagerens kimbanegenom omfatter ett eller flere funksjonelle gnager-Adam6-gener, valgfritt hvor det ene eller de flere funksjonelle gnager-Adam6-gener befinner seg mellom et humant V_H1-2-gensegment og et humant V_H6-1-gensegment og/eller erstatter et humant Adam6-gen;
25

(b) det manipulerede D_H-gensegment omfatter 23-mer-RSS-en umiddelbart naboliggende 5'-enden av D_H-gensegmentet;

4023059

3

(c) det manipulerede D_H -gensegment omfatter 23-mer-RSS-en umiddelbart naboliggende 3'-enden av D_H -gensegmentet;

(d) den manipulerede D_H -genregion omfatter:

(i) et humant D_H3-3 -gensegment umiddelbart naboliggende 23-mer-RSS-en,
5 valgfritt hvor 23-mer-RSS-en er umiddelbart naboliggende 5'-enden av D_H3-3 -gensegmentet;

(ii) et humant D_H2-2 -gensegment umiddelbart naboliggende 23-mer-RSS-en, valgfritt hvor 23-mer-RSS-en er umiddelbart naboliggende 3'-enden av D_H2-2 -gensegmentet;

10 (iii) et humant D_H2-8 -gensegment umiddelbart naboliggende 23-mer-RSS-en, valgfritt hvor 23-mer-RSS-en er umiddelbart naboliggende 3'-enden av D_H2-8 -gensegmentet;

(iv) et humant D_H2-15 -gensegment umiddelbart naboliggende 23-mer-RSS-en, valgfritt hvor 23-mer-RSS-en er umiddelbart naboliggende 3'-enden av D_H2-15 -gensegmentet; eller
15

(v) en hvilken som helst kombinasjon av (i)-(iv);

(e) gnagerens kimbanegenom omfatter nukleotidsekvensen ifølge SEQ ID NO:52 eller omfatter nukleotidsekvensen ifølge SEQ ID NO:61;

(f) gnagerens kimbanegenom omfatter nukleotidsekvensen ifølge SEQ ID NO:70;

20 (g) gnagerens kimbanegenom omfatter nukleotidsekvensen ifølge SEQ ID NO:71; og/eller

(h) gnagerens kimbanegenom omfatter nukleotidsekvensen ifølge SEQ ID NO:72.

5. Gnager ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor gnagerens kimbanegenom omfatter, på det endogene locus av den tunge kjede og i operabel kobling fra 5' til 3':
25

(a) i det minste ett ikke-rearrangert humant V_H -gensegment;

4023059

4

(b) den manipulerede D_H -region, hvor det manipulerede D_H -gensegment omfatter et humant D_{H3-3} -gensegment umiddelbart naboliggende 23-mer-RSS-en, hvor 23-mer-RSS-en er umiddelbart naboliggende 5'-enden av det humane D_{H3-3} -gensegment; og

5 (c) i det minste ett ikke-rearrangert humant J_H -gensegment.

6. Gnager ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor gnagerens kimbanegenom omfatter, på det endogene locus av den tunge kjede og i operabel kobling fra 5' til 3':

10 (a) i det minste ett ikke-rearrangert humant V_H -gensegment;

(b) den manipulerede D_H -region, hvor det manipulerede D_H -gensegment omfatter et humant D_{H2} -gensegment umiddelbart naboliggende 23-mer-RSS-en, hvor 23-mer-RSS-en er umiddelbart naboliggende 3'-enden av det humane D_{H2} -gensegment, valgfritt hvor:

15 (i) det manipulerede D_H -gensegment omfatter et humant D_{H2-2} -gensegment umiddelbart naboliggende 23-mer-RSS;

(ii) det manipulerede D_H -gensegment omfatter et humant D_{H2-8} -gensegment umiddelbart naboliggende 23-mer-RSS;

(iii) det manipulerede D_H -gensegment omfatter et humant D_{H2-15} -gensegment
20 umiddelbart naboliggende 23-mer-RSS; eller

(iv) en hvilken som helst kombinasjon av (i)-(iii); og

(c) i det minste ett ikke-rearrangert humant J_H -gensegment.

7. Gnager ifølge krav 5 eller krav 6, hvor:

25 (a) det i det minste ene ikke-rearrangerte humane V_H -gensegment omfatter fra 5' til 3' et ikke-rearrangert humant V_{H1-2} -gensegment og et ikke-rearrangert humant V_{H6-1} -gensegment, hvor kimbanegenomet videre omfatter ett eller flere funksjonelle gnager-Adam6-gener mellom det ikke-rearrangerte humane V_{H1-2} -gensegment og

det ikke-rearrangerte humane V_{H6-1} -gensegment, og hvor det ikke-rearrangerte humane V_{H1-2} -gensegment, det ene eller de flere funksjonelle gnager-Adam6-gener og det ikke-rearrangerte humane V_{H6-1} -gensegment er sammenhengende;

(b) det i det minste ene ikke-rearrangerte humane V_H -gensegment omfatter det fullstendige repertoar av funksjonelle ikke-rearrangerte humane V_H -gensegmenter, valgfritt hvor det fullstendige repertoar av funksjonelle ikke-rearrangerte humane V_H -gensegmenter er i kimbanekonfigurasjon; og/eller

(c) det i det minste ene ikke-rearrangerte humane J_H -gensegment omfatter et ikke-rearrangert humant J_{H6} -gensegment, valgfritt hvor:

(i) det i det minste ene ikke-rearrangerte humane J_H -gensegment omfatter et ikke-rearrangert humant J_{H4} -gensegment, et ikke-rearrangert J_{H5} -gensegment og det ikke-rearrangerte humane J_{H6} -gensegment; og/eller

(ii) det i det minste ene ikke-rearrangerte humane J_H -gensegment omfatter et ikke-rearrangert humant J_{H1} -gensegment, et ikke-rearrangert humant J_{H2} -gensegment, et ikke-rearrangert humant J_{H3} -gensegment, et ikke-rearrangert humant J_{H4} -gensegment, et ikke-rearrangert humant J_{H5} -gensegment og et ikke-rearrangert humant J_{H6} -gensegment, videre valgfritt hvor det ikke-rearrangerte humane J_{H1} -gensegment, det ikke-rearrangerte J_{H2} -gensegment, det ikke-rearrangerte J_{H3} -gensegment, det ikke-rearrangerte J_{H4} -gensegment, det ikke-rearrangerte J_{H5} -gensegment og det ikke-rearrangerte J_{H6} -gensegment er i kimbanekonfigurasjon.

8. Gnager ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor gnagerens kimbanegenom videre omfatter, operabelt koblet til den manipulererte D_H -region:

(a) et konstant regionen av den tunge immunglobulinkjede (C_H) eller et avsnitt derav;

(b) et gnager- C_H -regionen eller et avsnitt derav;

(c) et gnager- C_H -regionen eller et avsnitt derav, omfattende en intronisk gnager-forsterkerregion og et gnager-IgM-gen; og/eller

4023059

6

(d) en legemiddelutvalgskasset som befinner seg oppstrøms av det manipulerede D_H -gensegment, valgfritt hvor legemiddelutvalgskassetten er flankert av ett eller flere stedsspesifikke rekombinasjonssteder.

- 5 9. Gnager ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor gnageren er homozygot for den manipulerede D_H -region.

10. Gnager ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor gnageren omfatter:

- 10 (a) i det minste ett ikke-rearrangert humant variabelt gensegment av den tunge immunglobulinkjede (V_H) som er oppstrøms av og operabelt koblet til den manipulerede D_H -region;

(b) den manipulerede D_H -region, hvor det manipulerede D_H -gensegment og det ikke-rearrangerte D_H -gensegment er humane; og

- 15 (c) i det minste ett ikke-rearrangert humant forbindende gensegment av den tunge immunglobulinkjede (J_H) som er nedstrøms av og operabelt koblet til den manipulerede D_H -region,

hvor (a), (b) og (c) er operabelt koblet til et gen for en konstant region av den tunge immunglobulinkjede av gnageren på det endogene locus av den tunge kjede.

20

11. Gnager ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, hvor gnageren er en rotte.

12. Gnager ifølge et hvilket som helst av kravene 1-10, hvor gnageren er en mus.

25

13. Fremgangsmåte for fremstilling av et antistoff eller oppnåelse av en nukleinsyre som koder for det samme, idet fremgangsmåten omfatter

4023059

7

å immunisere en gnager ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 12 med et antigen; og

å tillate at gnageren danner en immunrespons på antigenet, innbefattende et antistoff som binder til antigenet, eller en nukleinsyre som koder for det samme.

5

14. Fremgangsmåte ifølge krav 13, som videre omfatter å gjenvinne antistoffet, eller nukleinsyren som koder for det samme, fra gnageren.

10 15. Fremgangsmåte ifølge krav 13 eller 14, hvor nukleinsyren omfatter kodende sekvenser for en ikke-rearrangert tung kjede $V_H(D_HA-D_HB)J_H$, som koder et variabelt domene av den tunge immunglobulinkjede.