



(10) **DE 141 54 967 T1 2014.08.28**

(12)

## Veröffentlichung der Patentansprüche

der europäischen Patentanmeldung mit der  
(97) Veröffentlichungsnummer: **EP 2 738 259**  
in deutscher Übersetzung (Art. II § 2 Abs. 1 IntPatÜG)  
(96) Europäisches Aktenzeichen: **14 15 4967.5**  
(96) Europäischer Anmeldetag: **24.02.2012**  
(97) Veröffentlichungstag  
der europäischen Anmeldung: **04.06.2014**  
(46) Veröffentlichungstag der Patentansprüche  
in deutscher Übersetzung: **28.08.2014**

(51) Int Cl.: **C12N 15/85 (2006.01)**  
**A01K 67/027 (2006.01)**  
**C12N 9/64 (2006.01)**  
**C07K 16/46 (2006.01)**  
**C07K 16/28 (2006.01)**  
**C07K 16/40 (2006.01)**

(30) Unionspriorität:  
**201161446895 P 25.02.2011 US**  
**201161497650 P 16.06.2011 US**  
**201261595200 P 06.02.2012 US**

(74) Vertreter:  
**GRUND Intellectual Property Group, 80802,  
München, DE**

(71) Anmelder:  
**Regeneron Pharmaceuticals, Inc., Tarrytown, N.Y.,  
US**

(72) Erfinder:  
**Macdonald, Lynn, White Plains, NY 10605, US;  
Murphy, Andrew J., Croton-on-Hudson, NY 10520,  
US; Stevens, Sean, San Francisco, CA 94158, US**

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

(54) Bezeichnung: **ADAM6 Mäuse**

(57) Hauptanspruch: Eine Maus, die Antikörper exprimiert, wobei jede schwere Kette eine humane variable Region und eine Maus-konstante Region umfasst, wobei die Maus ebenfalls exprimiert:  
(i) ein Maus-Adam6a-Protein oder Ortholog oder Homolog davon, das in einer männlichen Maus funktionell ist; und  
(ii) ein Maus-Adam6b-Protein oder Ortholog oder Homolog davon, das in einer männlichen Maus funktionell ist, wobei die Adam6a- und Adam6b-Proteine oder Orthologe oder Homologe davon, von einer ektopischen Nukleinsäuresequenz exprimiert werden.

**Patentansprüche**

1. Eine Maus, die Antikörper exprimiert, wobei jede schwere Kette eine humane variable Region und eine Maus-konstante Region umfasst, wobei die Maus ebenfalls exprimiert:

- (i) ein Maus-Adam6a-Protein oder Ortholog oder Homolog davon, das in einer männlichen Maus funktionsell ist; und
- (ii) ein Maus-Adam6b-Protein oder Ortholog oder Homolog davon, das in einer männlichen Maus funktionsell ist,  
wobei die Adam6a- und Adam6b-Proteine oder Orthologe oder Homologe davon, von einer ektopischen Nukleinsäuresequenz exprimiert werden.

2. Die Maus von Anspruch 1, wobei Antikörpern, die von der Maus produziert werden, eine Maus-variable Region fehlt.

3. Die Maus von Anspruch 1, wobei die ektopische Nukleinsäuresequenz in einem endogenen Immunglobulin-Locus vorhanden ist.

4. Die Maus von Anspruch 1, wobei die Maus ein Genom hat, das eine Deletion eines oder mehrerer Immunglobulin-Segments/e der variablen Region und die Insertion eines oder mehrerer Immunglobulin-Segments/e der variablen Region umfasst.

5. Die Maus von Anspruch 4, wobei die Maus-D<sub>H</sub>- und -J<sub>H</sub>-Segmente und wenigstens 3, wenigstens 10, wenigstens 20, wenigstens 40, wenigstens 60 oder wenigstens 80 V<sub>H</sub>-Segmente des Locus der schweren Immunglobulin-Kette durch humane Immunglobulin-Segmente der variablen Region ersetzt sind.

6. Die Maus von Anspruch 4, wobei alle Maus-D<sub>H</sub>, -J<sub>H</sub>- und -V<sub>H</sub>-Segmente des Locus der schweren Immunglobulin-Kette durch humane Immunglobulin-Segmente der variablen Region ersetzt sind.

7. Die Maus von Anspruch 6, wobei jene ektopische Nukleinsäuresequenz:  
 (a) unmittelbar angrenzend am 3'-Ende der humanen V<sub>H</sub>-Segmente;  
 (b) zwischen zwei humanen V<sub>H</sub>-Segmenten; oder  
 (c) zwischen zwei V<sub>H</sub>-Segmenten innerhalb von etwa 20 kb bis etwa 40 kb des 3'-Terminus der insertierten humanen V<sub>H</sub>-Segmente,  
 liegt.

8. Die Maus von Anspruch 6, wobei der Austausch humane V<sub>H</sub>-Segmente V<sub>H</sub>1-2 und V<sub>H</sub>6-1 umfasst und jene ektopische Nukleinsäuresequenz stromab des V<sub>H</sub>1-2-Segments und stromauf des V<sub>H</sub>6-1-Segments liegt.

9. Die Maus von Anspruch 4, wobei die ektopische Nukleinsäuresequenz an die humanen Immunglobulin-Segmente der variablen Region grenzt.

10. Die Maus von Anspruch 9, wobei die ektopische Nukleinsäuresequenz auf demselben Chromosom wie die humanen Immunglobulin-Segmente der variablen Region ist.

11. Die Maus von Anspruch 10, wobei das Chromosom ein Chromosom ist, das in einer Wildtyp-Maus gefunden wird und das Chromosom einen humanisierten Locus der variablen Region der schweren Immunglobulin-Kette umfasst.

12. Eine isolierte Zelle oder ein isoliertes Gewebe aus einer Maus gemäß irgendeinem der Ansprüche 1–11.

13. Verwendung einer Maus gemäß irgendeinem der Ansprüche 1–11 zur Erzeugung

- (i) eines chimären Antikörpers, der eine humane variable Region und eine Maus-konstante Region umfasst,
- (ii) eines vollhumanen Antikörpers,
- (iii) eines vollhumanen Fab-Fragments, und/oder
- (iv) eines vollhumanen F(ab)<sub>2</sub>-Fragments.

14. Ein Verfahren zur Erzeugung eines chimären Antikörpers, der spezifisch gegen ein Antigen ist, umfassend der Schritte:

- (a) Immunisieren einer Maus gemäß irgendeinem der Ansprüche 1–11 mit dem Antigen;
- (b) Isolieren wenigstens einer Zelle von der Maus, die einen chimären Antikörper, der spezifisch gegen das Antigen ist, produziert, deren chimärer Antikörper eine humane variable Region und eine Maus-konstante Region umfasst; und
- (c) Kultivieren wenigstens einer Zelle, die den chimären Antikörper von Schritt (b) produziert und erhalten des Antikörpers,  
wobei vorzugsweise das Kultivieren in Schritt (c) an wenigstens einer Hybridom-Zelle durchgeführt wird, die aus der wenigstens einen Zelle erzeugt wurde, die in Schritt b) erhalten wurde.

15. Ein Verfahren zur Erzeugung eines vollhumanen Antikörpers, der spezifisch gegen ein Antigen ist, umfassend der Schritte:

- (a) Immunisieren einer Maus gemäß irgendeinem der Ansprüche 1–11 mit dem Antigen;
- (b) Isolieren wenigstens einer Zelle aus der Maus, die einen chimären Antikörper, der spezifisch gegen das Antigen ist, produziert, deren chimärer Antikörper eine humane variable Region und eine Maus-konstante Region umfasst;
- (c) Erzeugen wenigstens einer Zelle, die einen vollhumanen Antikörper, der aus dem chimären Antikörper von Schritt (b) abstammt und spezifisch gegen das Antigen ist, produziert; und

(d) Kultivieren wenigstens einer Zelle, die den vollhumanen Antikörper von Schritt (c) produziert und Erhalten des vollhumanen Antikörpers.

16. Das Verfahren gemäß irgendeinem der Ansprüche 14 und 15, wobei die wenigstens eine Zelle, die in Schritt (b) erhalten wurde, ein Splenozyt oder eine B-Zelle ist.

17. Das Verfahren gemäß irgendeinem der Ansprüche 14–16, wobei der Antikörper ein monoklonaler Antikörper ist.

18. Das Verfahren gemäß irgendeinem der Ansprüche 14–17, wobei das Immunisieren mit dem Antigen des Schritts (a) mit Protein, DNS, einer Kombination von DNS und Protein, oder Zellen, die das Antigen exprimieren, durchgeführt wird.

Es folgen keine Zeichnungen