

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2020127564, 19.08.2020

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
27.06.2008 NL PCT/NL2008/050430(62) Номер и дата подачи первоначальной заявки,
из которой данная заявка выделена:
2015119670 25.05.2015

(43) Дата публикации заявки: 21.02.2022 Бюл. № 6

Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр. 3, ООО
"Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"(71) Заявитель(и):
МЕРЮС Б.В. (NL)(72) Автор(ы):
ХАУТЗАГЕР, Эрвин (NL),
ПИНТО, Рюи Даниэль (NL),
ЛОГТЕНБЕРГ, Тон (NL),
ТРОСБИ, Марк (NL),
КРАМЕР, Роберт, Арьян (NL),
ДЕ КРЭЙФ, Корнелис, Адриан (NL)

(54) ПРОДУЦИРУЮЩИЕ АНТИТЕЛА МЛЕКОПИТАЮЩИЕ, НЕ ЯВЛЯЮЩИЕСЯ ЧЕЛОВЕКОМ

(57) Формула изобретения

1. Трансгенное животное, не являющееся человеком, содержащее интегрированную в своем геноме молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую перестроенную вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанную с промотором, обеспечивающим экспрессию легкой цепи, содержащей указанную вариабельную область трансгенной легкой цепи, в В-клетках,

где указанная легкая цепь способна к образованию пары по меньшей мере с двумя различными тяжелыми цепями, кодируемыми животным, не являющимся человеком, таким образом, что разнообразие в специфичности антител сохраняется за счет перестроений и гипермутаций в тяжелых цепях, и

где указанная легкая цепь дополнительно содержит константную область легкой цепи животного.

2. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 1, где трансгенное животное, не являющееся человеком, относится к мышам или крысам.

3. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 1, где трансгенное животное, не являющееся человеком, представляет собой мышь.

4. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 1, где интеграция происходит в локусе, устойчивом к сайленсингу генов.

5. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 2, где интеграция происходит в локусе Rosa.

6. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 1, где молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина человека, встроена со средством, допускающим экспрессию указанной молекулы нуклеиновой кислоты, в основном ограниченную клетками В-клеточного

R U 2 0 2 0 1 2 7 5 6 4 A

R U 2 0 2 0 1 2 7 5 6 4 A

происхождения.

7. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 6, где молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина человека, встроена со средством, обеспечивающим экспрессию молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей легкую цепь, преимущественно в течение определенной стадии развития В-клетки.

8. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 7, где указанное средство содержит систему cre-lox или тому подобное.

9. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 1, где по меньшей мере один из эндогенных локусов, кодирующих эндогенную легкую цепь, подвергся функциональному сайленсингу.

10. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 1, где эндогенный локус легкой цепи подвергся функциональному сайленсингу.

11. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 1, где последовательность, кодирующая легкую цепь, представляет собой последовательность V_k человека.

12. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 1, где последовательность, кодирующая легкую цепь, представляет собой последовательность зародышевой линии.

13. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 12, где последовательность зародышевой линии основана на O12.

14. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 1, где молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина человека, содержит в направлении 5'-3': промотор V_k, лидерный элемент человека, ген V человека и константную область (κ) крысы.

15. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 1, которому была введена кассета экспрессии, которая содержит в направлении 5'-3': промотор V_k, лидер, ген V человека, константную область (κ) крысы.

16. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 15, где молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая легкую цепь, дополнительно содержит энхансер κ-интрана мыши (MoEk1).

17. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 14 или 16, где молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая легкую цепь, дополнительно содержит энхансер κ-3' мыши (MoEk3').

18. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 15, где экспрессионная кассета дополнительно содержит энхансер κ-интрана мыши (MoEk1).

19. Трансгенное животное, не являющееся человеком, по п. 15 или 18, где экспрессионная кассета дополнительно содержит энхансер κ-3' мыши (MoEk3').

20. Способ получения желаемого антитела, включающий иммунизацию трансгенного животного, не являющегося человеком, по любому из пп. 1-19 для индукции иммунного ответа против антигена и выделения антител, специфичных к этому антигену.

21. Способ получения желаемого антитела, включающий иммунизацию трансгенного животного, не являющегося человеком, по любому из пп. 1-19 для индукции иммунного ответа против антигена и выделение клеток, производящих такие антитела, культивирование и сбор указанных антител.

22. Способ получения желаемого антитела, включающий иммунизацию трансгенного животного, отличного от человека, по любому из пп. 1-19 для индукции иммунного ответа против антигена и выделение нуклеиновой кислоты, кодирующей такое антитело, путем вставки указанной нуклеиновой кислоты или его копии в кассету экспрессии и экспрессию указанного антитела в клетке-хозяине.

23. Способ получения нуклеиновой кислоты, кодирующей по меньшей мере вариабельную область тяжелой цепи антитела, включающий иммунизацию трансгенного

животного, отличного от человека, по любому из пп. 1-19 и выделение молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей по меньшей мере вариабельную область тяжелой цепи такого антитела.

24. Способ по п. 23, где по меньшей мере вариабельная область тяжелой цепи антитела направлена против клеточной мишени.

25. Способ по п. 23, где по меньшей мере вариабельная область тяжелой цепи антитела направлена против клеточной мишени, которая сверхэкспрессируется или селективно экспрессируется в опухолях, или направлена против мишени, вовлеченной в хроническое воспаление.

26. В-клетка, выделенная из трансгенного животного, не являющегося человеком, по любому из пп. 1-19, где клетка содержит последовательность, кодирующую перестроенную вариабельную область легкой цепи человека, функционально связанную с константной областью легкой цепи животного.

27. Применение трансгенного животного, не являющегося человеком, по любому из пп. 1-19 для продукции антител.

28. Применение клетки по п. 26 для продукции антител.

29. Способ получения трансгенного животного, не являющегося человеком, по любому из пп. 1-19, включающий вставку молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей перестроенную вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина человека, функционально связанную с константной областью легкой цепи животного, в геном указанного животного, не являющееся человеком, где указанная вариабельная область легкой цепи функционально связана с промотором, обеспечивающим экспрессию указанной трансгенной легкой цепи в В-клетках, так что она соединяется с различными тяжелыми цепями, кодируемыми указанным трансгенным животным, не являющимся человеком.