

(19)



SUOMI - FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10)

FI/EP3331355 T3

(12)

**EUROOPPAPATENTIN KÄÄNNÖS
ÖVERSÄTTNING AV EUROPEISKT PATENT
TRANSLATION OF EUROPEAN PATENT SPECIFICATION**

(45)

Käännöksen kuulutuspäivä - Kungörelsedag av översättning -
Translation available to the public

17.06.2024

(97)

Eurooppapatentin myöntämispäivä - Meddelandedatum för
det europeiska patentet - Date of grant of European patent

03.04.2024

(51)

Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassificering -
International patent classification

A01K 67/02 (2006 . 01)

A01K 67/027 (2024 . 01)

C12N 15/85 (2006 . 01)

C12N 15/877 (2010 . 01)

C12N 15/90 (2006 . 01)

(96)

Eurooppapatenttihakemus - Europeisk patentansökan -
European patent application

EP16833514.9

(22)

Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date

22.07.2016

(97)

Patenttihakemuksen julkiseksitulosopäivä - Patentansökans
publiceringsdag - Patent application available to the public

13.06.2018

(86)

Kansainvälinen hakemus - Internationell
ansökan - International application

22.07.2016 PCT/US2016043467

(30)

Etuoikeus - Prioritet - Priority

06.08.2015 US US201562202145 P

(73)

Haltija - Innehavare - Holder

1• The Curators of the University of Missouri , 316 University Hall , Columbia, MO 65211 , (US)

(72)

Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1• PRATHER, Randall, S. , Rocheport, MO 65279 , (US)

2• WELLS, Kevin, D. , Columbia, MO 65203 , (US)

3• WHITWORTH, Kristin, M. , Columbia, MO 65203 , (US)

(74)

Asiamies - Ombud - Agent

Leitzinger Oy , c/o Spaces Mannerheiminaukio 1A , 00100 Helsinki , (FI)

(54)

Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Sikojen lisääntymishäiriö- ja keuhkotulehdusoireyhtymävirukselle (PRRSV) resistentti sika ja soluja, joilla on muokattuja CD163-geenejä

PORCINE REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME VIRUS (PRRSV)-RESISTANT PORCINE AND CELLS HAVING MODIFIED CD163 GENES

Patenttivaatimukset

1. Sikaeläin tai sikasolu, joka sisältää vähintään yhden modifioitun kromosomaalisen sekvenssin CD163-proteiinia koodaavassa geenissä, jolloin modifikaatio vähentää eläimen tai solun alttiutta sian lisääntymishäiriö- ja hengitystieoireyhtymäviruksen (PRRSV) aiheuttamalle infektiolle verrattuna sellaisen eläimen tai solun alttiuteen PRRSV-infektiolle, joka ei sisällä modifioitua kromosomaalista sekvenssiä CD163-proteiinia koodaavassa geenissä, ja jossa modifioitu kromosomaalinen sekvenssi käsittää modifikaation valittuna ryhmästä, joka koostuu seuraavista:
 - 2 emäsparin insertio nukleotidien 3149 ja 3150 välillä referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna, sekä 377 emäsparin deleetio nukleotidista 2573 nukleotidiin 2949 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna samalla alleelilla;
 - 1506 emäsparin deleetio nukleotidista 1525 nukleotidiin 3030 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna;
 - 7 emäsparin insertio nukleotidin 3148 ja nukleotidin 3,149 välillä referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna;
 - 1280 emäsparin deleetio nukleotidista 2818 nukleotidiin 4097 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna;
 - 1373 emäsparin deleetio nukleotidista 2724 nukleotidiin 4096 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna;
 - 1467 emäsparin deleetio nukleotidista 2431 nukleotidiin 3897 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna;
 - 28 emäsparin deleetio nukleotidista 3145 nukleotidiin 3172 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna;
 - 1387 emäsparin deleetio nukleotidista 3145 nukleotidiin 4531 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna;
 - 1382 emäsparin deleetio nukleotidista 3113 nukleotidiin 4494 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna, jolloin poistettu sekvenssi on korvattu 11 emäsparin insertiolla alkaen nukleotidista 3113;
 - 1720 emäsparin deleetio nukleotidista 2440 nukleotidiin 4160 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna; ja
 - 452 emäsparin deleetio nukleotidista 3015 nukleotidiin 3466 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen eläin tai solu, jossa modifikaatio alentaa eläimen tai solun alttiutta tyypin 1 PRRSV-virukselle, tyypin 2 PRRSV:lle, tai sekä tyypin 1 että tyypin 2 PRRSV-viruksille.
- 5 **3.** Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen eläin tai solu, jossa modifikaatio alentaa eläimen tai solun alttiutta PRRSV-isolaatille valittuna ryhmästä, joka koostuu isolaateista NVSL 97-7895, KS06-72109, P129, VR2332, CO90, AZ25, MLV-ResPRRS, KS62-06274, KS483 (SD23983), CO84, Lelystad, SD01-08, ja näiden yhdistelmistä.
- 10 **4.** Jonkin patenttivaatimuksen 1–3 mukainen eläin, jossa eläin on alkio, nuori eläin tai aikuinen.
- 5.** Jonkin patenttivaatimuksen 1–4 mukainen eläin tai jonkin patenttivaatimuksen 1–3 mukainen solu, jossa eläin on geneettisesti muokattu eläin tai jolloin solu on geneettisesti muokattu solu, jolloin eläintä tai solua on geneettisesti muokattu käyttämällä kotiutumisendonukleaasia (valinnaisesti suunniteltua kotiutumisendonukleaasia).
- 15 **6.** Patenttivaatimuksen 5 mukainen eläin tai solu, jossa kotiutumisendonukleaasi sisältää Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR) /Cas -järjestelmän, Transcription Activator-Like Effector -nukleaasin (TALEN), a sinkkisormijärjestelmän (ZFN), rekombinaasifuusioproteiinin, meganukleaasin tai näiden yhdistelmän.
- 20 **7.** Jonkin patenttivaatimuksen 1–6 mukainen eläin tai jonkin patenttivaatimuksen 1–3, 5 tai 6 mukainen solu, jossa modifioitu kromosomaalinen sekvenssi johtaa siihen, että eläin tai solu ei tuota olennaisesti lainkaan funktionaalista CD163-proteiinia.
- 25 **8.** Jonkin patenttivaatimuksen 1–7 mukainen sikaeläin tai jonkin patenttivaatimuksen 1–3 tai 5–7 mukainen solu, jossa insertio tai deleetio valitaan ryhmästä, joka koostuu seuraavista:
- 2 emäsparin insertio nukleotidien 3149 ja 3150 välillä referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna, sekä 377 emäsparin deleetio nukleotidista 2573 nukleotidiin 2949 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna samalla alleelilla;
- 30 35

28 emäsparin deleetio nukleotidista 3145 nukleotidiin 3172 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna;

452 emäsparin deleetio nukleotidista 3015 nukleotidiin 3466 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna;

5 ja näiden yhdistelmistä.

9. Jonkin patenttivaatimuksen 1–7 mukainen eläin tai jonkin patenttivaatimuksen 1–3 tai 5–7 mukainen solu, jossa:

10 modifioitu kromosomaalinen sekvenssi sisältää 2 emäsparin insertion nukleotidien 3149 ja 3150 välillä referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna, sekä 377 emäsparin deleetion nukleotidista 2573 nukleotidiin 2949 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna samalla alleelilla, ja 2 emäsparin insertio sisältää dinukleotidi AG:n insertion;

15 modifioitu kromosomaalinen sekvenssi sisältää 7 emäsparin insertion nukleotidin 3148 ja nukleotidin 3149 välillä referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna, jolloin 7 emäsparin insertio sisältää sekvenssin TACTACT (SEQ ID NO: 115); tai

20 modifioitu kromosomaalinen sekvenssi sisältää 1382 emäsparin deleetion nukleotidista 3113 nukleotidiin 4494 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna, jolloin poistettu sekvenssi on korvattu 11 emäsparin insertiolla alkaen nukleotidista 3113, jolloin 11 emäsparin insertio sisältää sekvenssin AGCCAGCGTGC (SEQ ID NO: 117).

10. Jonkin patenttivaatimuksen 1–9 mukainen sikaeläin tai jonkin patenttivaatimuksen 1–3 tai 5–9 mukainen solu, jolloin eläin tai solu sisältää:

25 (a) 7 emäsparin insertion nukleotidin 3148 ja nukleotidin 3149 välillä referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna CD163-proteiinia koodaavan geenin yhdessä alleelissa; ja

30 11 emäsparin deleetion nukleotidista 3137 nukleotidiin 3147 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna CD163-proteiinia koodaavan geenin toisessa alleelissa;

(b) 7 emäsparin insertion nukleotidin 3148 ja nukleotidin 3149 välillä referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna CD163-proteiinia koodaavan geenin yhdessä alleelissa; ja

35 1382 emäsparin deleetion nukleotidista 3113 nukleotidiin 4494 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna, jolloin poistettu sekvenssi on korvattu 11

emäsparin insertiolla alkaen nukleotidista 3113 CD163-proteiinia koodaavan geenin toisessa alleelissa;

(c) 1280 emäsparin deleetion nukleotidista 2818 nukleotidiin 4097 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna CD163-proteiinia koodaavan geenin yhdessä
5 alleelissa; ja

11 emäsparin deleetion nukleotidista 3137 nukleotidiin 3147 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna CD163-proteiinia koodaavan geenin toisessa alleelissa;

(d) 1280 emäsparin deleetion nukleotidista 2818 nukleotidiin 4097 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna CD163-proteiinia koodaavan geenin yhdessä
10 alleelissa; ja

2 emäsparin insertion nukleotidien 3149 ja 3150 välillä referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna, sekä 377 emäsparin deleetion nukleotidista 2573 nukleotidiin 2949 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna CD163-proteiinia
15 koodaavan geenin toisessa alleelissa;

(e) 1930 emäsparin deleetion nukleotidista 488 nukleotidiin 2417 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna, jolloin poistettu sekvenssi on korvattu 12 emäsparin insertiolla alkaen nukleotidista 488,

ja jolloin siinä on lisäksi 129 emäsparin deleetio eksonissa 7 nukleotidista 3044
20 nukleotidiin 3172 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna CD163-proteiinia koodaavan geenin yhdessä alleelissa; ja

2 emäsparin insertion nukleotidien 3149 ja 3150 välillä referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna, sekä 377 emäsparin deleetion nukleotidista 2573 nukleotidiin 2949 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna CD163-proteiinia
25 koodaavan geenin toisessa alleelissa;

(f) 1467 emäsparin deleetion nukleotidista 2431 nukleotidiin 3897 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna CD163-proteiinia koodaavan geenin yhdessä alleelissa; ja

2 emäsparin insertion nukleotidien 3149 ja 3150 välillä referenssisekvenssiin
30 SEQ ID NO: 47 verrattuna, sekä 377 emäsparin deleetion nukleotidista 2573 nukleotidiin 2949 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna CD163-proteiinia koodaavan geenin toisessa alleelissa;

(g) 1467 emäsparin deleetion nukleotidista 2431 nukleotidiin 3897 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna CD163-proteiinia koodaavan geenin yhdessä
35 alleelissa; ja

11 emäsparin deleetion nukleotidista 3137 nukleotidiin 3147 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna CD163-proteiinia koodaavan geenin toisessa alleelissa;

5 (h) 11 emäsparin deleetion nukleotidista 3137 nukleotidiin 3147 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna CD163-proteiinia koodaavan geenin yhdessä alleelissa;

ja 2 emäsparin insertion nukleotidien 3149 ja 3150 välillä referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna, sekä 377 emäsparin deleetion nukleotidista 2573 nukleotidiin 2949 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna CD163-proteiinia koodaavan geenin toisessa alleelissa; tai

(i) 28 emäsparin deleetion nukleotidista 3145 nukleotidiin 3172 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna CD163-proteiinia koodaavan geenin yhdessä alleelissa; ja

15 1387 emäsparin deleetion nukleotidista 3145 nukleotidiin 4531 referenssisekvenssiin SEQ ID NO: 47 verrattuna CD163-proteiinia koodaavan geenin toisessa alleelissa.

11. Jonkin patenttivaatimuksen 1–10 mukainen sikaeläin tai jonkin patenttivaatimuksen 1–3 tai 5–10 mukainen solu, jossa eläin tai solu sisältää kromosomaalisen sekvenssin, jolla on vähintään 80 % sekvenssi-identtisyyttä sekvenssiin SEQ ID NO: 20 47 nähden mainitun kromosomaalisen sekvenssin insertion tai deleetion ulkopuolisilla alueilla.

12. Jonkin patenttivaatimuksen 1–11 mukainen sikaeläin tai jonkin patenttivaatimuksen 1–3 tai 5–11 mukainen solu, jossa eläin tai solu sisältää kromosomaalisen sekvenssin, joka sisältää SEQ ID NO:n 98, 99, 100, 101, 103, 109, 111, 112, 113, 25 114 tai 119.

13. Jonkin patenttivaatimuksen 1–3 tai 5–12 mukainen solu, jossa mainittu solu on 30 valittu ryhmästä, joka käsittää siittiösolun, munasolun tai somaattisen solun.

14. Patenttivaatimuksen 13 mukainen solu, jossa solu käsittää munasolun ja munasolu käsittää hedelmöittyneen munasolun.

15. Patenttivaatimuksen 13 mukainen solu, jossa solu käsittää somaattisen solun ja somaattinen solu käsittää fibroblastin.