

(19)



SUOMI - FINLAND
(FI)

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

(10) **FI/EP4023059 T3**
(12) **EUROOPPAPATENTIN KÄÄNNÖS**
ÖVERSÄTTNING AV EUROPEISKT PATENT
TRANSLATION OF EUROPEAN PATENT SPECIFICATION

(45) Käännöksen kuulutuspäivä - Kungörelsedag av översättning - **30.01.2025**
Translation available to the public

(97) Eurooppapatentin myöntämispäivä - Meddelandedatum för **06.11.2024**
det europeiska patentet - Date of grant of European patent

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassificering -
International patent classification
A01K 67/027 (2024 . 01)
C12N 15/85 (2006 . 01)
C12N 5/10 (2006 . 01)
C12N 5/12 (2006 . 01)
C07K 14/705 (2006 . 01)

(96) Eurooppapatenttihakemus - Europeisk patentansökan - **EP21213824.2**
European patent application

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **14.06.2019**

(97) Patenttihakemuksen julkiseksitulosopäivä - Patentansökans **06.07.2022**
publiceringsdag - Patent application available to the public

(30) Etuoikeus - Prioritet - Priority
14.06.2018 US US201862685203 P 23.07.2018 US US201862702206 P
01.03.2019 US US201962812580 P

(73) Haltija - Innehavare - Holder
1• Regeneron Pharmaceuticals, Inc. , 777 Old Saw Mill River Road , Tarrytown, NY 10591 , (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor
1• MURPHY, Andrew J , Tarrytown, NY 10591 , (US)
2• MACDONALD, Lynn , Tarrytown, NY 10591 , (US)
3• GUO, Chunguang , Tarrytown, NY 10591 , (US)
4• MCWHIRTER, John , Sanremo IM, 18038 , (IT)
5• VORONINA, Vera , North Bethesda, MD , (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent
Zacco Sweden AB , P.O. Box 5581 Löjtnantsgatan 21 , 114 85 Stockholm , (SE)

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention
Ei-ihmiseläimiä, jotka kykenevät DH-DH-uudelleenjärjestymiseen immunoglobuliinin raskasketjun koodaussekvensseissä
NON-HUMAN ANIMALS CAPABLE OF DH-DH REARRANGEMENT IN THE IMMUNOGLOBULIN HEAVY CHAIN CODING SEQUENCES

PATENTTIVAATIMUKSET

1. Jyrsijä, joka käsittää ituradan genomissaan, endogeenisessä raskasketjun lokuksessa, muokatun immunoglobuliinin raskasketjun monimuotoisuuden (D_H) alueen ("muokattu D_H -alue"), joka käsittää:
- 5 (i) D_H -geenisegmentin, joka on välittömästi 23-meerin RSS:n vieressä ("muokattu D_H -geenisegmentti"); ja
- (ii) uudelleenjärjestymättömän D_H -geenisegmentin, jonka 5'-päässä on ensimmäinen 12-meerin RSS ja 3'-päässä on toinen 12-meerin RSS ("uudelleenjärjestymätön D_H -geenisegmentti"),
- 10 jolloin (i) muokattu D_H -geenisegmentti ja (ii) uudelleenjärjestymätön D_H -geenisegmentti on kytketty toiminnallisesti niin, että (i) muokattu D_H -geenisegmentti ja (ii) uudelleenjärjestymätön D_H -geenisegmentti pystyvät liittymään D_H - D_H -rekombinaatiotapahtumaan 12/23-säännön mukaan, ja
- jolloin valinnaisesti muokattu D_H -alue käsittää vain ihmisen D_H -geenisegmenttejä.
- 15 2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen jyrsijä, jolloin endogeeninen raskasketjun lokus käsittää lisäksi:
- (a) vähintään yhden uudelleenjärjestymättömän immunoglobuliinin raskasketjun vaihtelevan (V_H) geenisegmentin, joka on ylävirtaan muokatusta D_H -alueesta ja toiminnallisesti liitetty siihen;
- 20 (b) vähintään yhden uudelleenjärjestymättömän immunoglobuliinin raskasketjun yhdistävän (J_H) geenisegmentin, joka on alavirtaan muokatusta D_H -alueesta ja toiminnallisesti liitetty siihen; tai
- (c) kohdan (a) ja (b) yhdistelmän.
3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen jyrsijä, jolloin:
- 25 (a) kyseinen vähintään yksi uudelleenjärjestymätön V_H -geenisegmentti käsittää uudelleenjärjestymättömän ihmisen V_H6-1 -geenisegmentin, kyseinen vähintään yksi uudelleenjärjestymätön J_H -geenisegmentti käsittää uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_H6 -geenisegmentin, tai niiden yhdistelmä;

(b) kyseinen vähintään yksi uudelleenjärjestymätön J_H -geenisegmentti käsittää uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H4} -geenisegmentin, uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H5} -geenisegmentin ja uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H6} -geenisegmentin;

- 5 (c) kyseinen vähintään yksi uudelleenjärjestymätön J_H -geenisegmentti käsittää uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H1} -geenisegmentin, uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H2} -geenisegmentin, uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H3} -geenisegmentin, uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H4} -geenisegmentin, 10 uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H5} -geenisegmentin ja uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H6} -geenisegmentin, jolloin valinnaisesti uudelleenjärjestymätön ihmisen J_{H1} -geenisegmentti, uudelleenjärjestymätön ihmisen J_{H2} -geenisegmentti, uudelleenjärjestymätön ihmisen J_{H3} -geenisegmentti, uudelleenjärjestymätön ihmisen J_{H4} -geenisegmentti, 15 ihmisen J_{H5} -geenisegmentti ja uudelleenjärjestymätön ihmisen J_{H6} -geenisegmentti ovat ituradan konfiguraatiossa; ja/tai

- (d) kyseinen vähintään yksi uudelleenjärjestymätön V_H -geenisegmentti käsittää täyden valikoiman funktionaalisia uudelleenjärjestymättömiä ihmisen V_H -geenisegmenttejä, jotka kattavat uudelleenjärjestymättömän ihmisen V_{H3-74} -geenisegmentin ja uudelleenjärjestymättömän ihmisen V_{H1-6} -geenisegmentin 20 ("täysi valikoima funktionaalisia uudelleenjärjestymättömiä ihmisen V_H -geenisegmenttejä"), jolloin valinnaisesti funktionaalisten uudelleenjärjestymättömien ihmisen V_H -geenisegmenttien täysi valikoima on ituradan konfiguraatiossa.

- 25 **4.** Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen jrsijä, jolloin:

(a) jrsijän ituradan genomi käsittää yhden tai useamman funktionaalisen jrsijän Adam6-geenin, jolloin yksi tai useampi funktionaalinen jrsijän Adam6-geeni sijaitsee valinnaisesti ihmisen V_{H1-2} -geenisegmentin ja ihmisen V_{H6-1} -geenisegmentin välissä ja/tai korvaa ihmisen Adam6-geenin;

- 30 (b) muokattu D_H -geenisegmentti käsittää 23-meerin RSS:n välittömästi D_H -geenisegmentin 5'-pään vieressä;

(c) muokattu D_H -geenisegmentti käsittää 23-meerin RSS:n välittömästi D_H -geenisegmentin 3'-pään vieressä;

(d) muokattu D_H -geenialue käsittää:

5 (i) ihmisen D_{H3-3} -geenisegmentin, joka on välittömästi 23-meerin RSS:n vieressä, jolloin valinnaisesti 23-meerin RSS on välittömästi D_{H3-3} -geenisegmentin 5'-pään vieressä;

(ii) ihmisen D_{H2-2} -geenisegmentin, joka on välittömästi 23-meerin RSS:n vieressä, jolloin valinnaisesti 23-meerin RSS on välittömästi D_{H2-2} -geenisegmentin 3'-pään vieressä;

10 (iii) ihmisen D_{H2-8} -geenisegmentin, joka on välittömästi 23-meerin RSS:n vieressä, jolloin valinnaisesti 23-meerin RSS on välittömästi D_{H2-8} -geenisegmentin 3'-pään vieressä;

(iv) ihmisen D_{H2-15} -geenisegmentin, joka on välittömästi 23-meerin RSS:n vieressä, jolloin valinnaisesti 23-meerin RSS on välittömästi D_{H2-15} -geenisegmentin 3'-pään vieressä; tai

15 (v) minkä tahansa kohtien (i)–(iv) yhdistelmän;

(e) jyrsijän ituradan genomi käsittää sekvenssinä SEQ ID NO: 52 esitetyn nukleotidisekvenssin tai sekvenssinä SEQ ID NO: 61 esitetyn nukleotidisekvenssin;

20 (f) jyrsijän ituradan genomi käsittää sekvenssinä SEQ ID NO: 70 esitetyn nukleotidisekvenssin;

(g) jyrsijän ituradan genomi käsittää sekvenssinä SEQ ID NO: 71 esitetyn nukleotidisekvenssin; ja/tai

(h) jyrsijän ituradan genomi käsittää sekvenssinä SEQ ID NO: 72 esitetyn nukleotidisekvenssin.

25 **5.** Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen jyrsijä, jolloin jyrsijän ituradan genomi käsittää endogeenisessä raskasketjun lokuksessa ja toiminnallisessa sidoksessa 5'-pästä 3'-päähän:

(a) vähintään yhden uudelleenjärjestymättömän ihmisen V_H -geenisegmentin;

(b) muokatun D_H -alueen, jossa muokattu D_H -geenisegmentti käsittää ihmisen D_{H3-3} -geenisegmentin välittömästi 23-meerin RSS:n vieressä, jolloin 23-meerin RSS on välittömästi ihmisen D_{H3-3} -geenisegmentin 5'-pään vieressä; ja

(c) vähintään yhden uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_H -geenisegmentin.

5 **6.** Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen jyr sijä, jolloin jyr sijän ituradan genomi käsittää endogeenisessä raskasketjun lokuksessa ja toiminnallisessa sidoksessa 5'-pästä 3'-pään:

(a) vähintään yhden uudelleenjärjestymättömän ihmisen V_H -geenisegmentin;

10 (b) muokatun D_H -alueen, jossa muokattu D_H -geenisegmentti käsittää ihmisen D_{H2} -geenisegmentin välittömästi 23-meerin RSS:n vieressä, jolloin 23-meerin RSS on välittömästi ihmisen D_{H2} -geenisegmentin 3'-pään vieressä, jolloin valinnaisesti:

(i) muokattu D_H -geenisegmentti käsittää ihmisen D_{H2-2} -geenisegmentin välittömästi 23-meerin RSS:n vieressä;

15 (ii) muokattu D_H -geenisegmentti käsittää ihmisen D_{H2-8} -geenisegmentin välittömästi 23-meerin RSS:n vieressä;

(iii) muokattu D_H -geenisegmentti käsittää ihmisen D_{H2-15} -geenisegmentin välittömästi 23-meerin RSS:n vieressä; tai

(iv) mikä tahansa kohtien (i)–(iii) yhdistelmä; ja

(c) vähintään yhden uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_H -geenisegmentin.

20 **7.** Patenttivaatimuksen 5 tai 6 mukainen jyr sijä, jolloin:

(a) kyseinen vähintään yksi uudelleenjärjestymätön ihmisen V_H -geenisegmentti käsittää 5'-pästä 3'-pään uudelleenjärjestymättömän ihmisen V_{H1-2} -geenisegmentin ja uudelleenjärjestymättömän ihmisen V_{H6-1} -geenisegmentin, jolloin ituradan genomi käsittää lisäksi yhden tai useamman funktionaalisen jyr sijän Adam6-geenin uudelleenjärjestymättömän ihmisen V_{H1-2} -geenisegmentin ja uudelleenjärjestymättömän ihmisen V_{H6-1} -geenisegmentin välillä, ja jolloin uudelleenjärjestymätön ihmisen V_{H1-2} -geenisegmentti, yksi tai useampi funktionaalinen jyr sijän Adam6-geeni ja uudelleenjärjestymätön ihmisen V_{H6-1} -geenisegmentti ovat vierekkäisiä;

(b) kyseinen vähintään yksi uudelleenjärjestymätön ihmisen V_H -geenisegmentti käsittää täyden valikoiman funktionaalisia uudelleenjärjestymättömiä ihmisen V_H -geenisegmenttejä, jolloin valinnaisesti funktionaalisten uudelleenjärjestymättömien ihmisen V_H -geenisegmenttien täysi valikoima on ituradan konfiguraatiossa; ja/tai

5 (c) kyseinen vähintään yksi uudelleenjärjestymätön ihmisen J_H -geenisegmentti käsittää uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H6} -geenisegmentin, jolloin valinnaisesti:

(i) kyseinen vähintään yksi uudelleenjärjestymätön ihmisen J_H -geenisegmentti käsittää uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H4} -geenisegmentin,
10 uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H5} -geenisegmentin ja uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H6} -geenisegmentin; ja/tai

(ii) kyseinen vähintään yksi uudelleenjärjestymätön ihmisen J_H -geenisegmentti käsittää uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H1} -geenisegmentin, uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H2} -geenisegmentin,
15 uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H3} -geenisegmentin, uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H4} -geenisegmentin, uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H5} -geenisegmentin ja uudelleenjärjestymättömän ihmisen J_{H6} -geenisegmentin, lisäksi jolloin valinnaisesti uudelleenjärjestymätön ihmisen J_{H1} -geenisegmentti,
20 uudelleenjärjestymätön J_{H2} -geenisegmentti, uudelleenjärjestymätön J_{H3} -geenisegmentti, uudelleenjärjestymätön J_{H4} -geenisegmentti, uudelleenjärjestymätön J_{H5} -geenisegmentti ja uudelleenjärjestymätön J_{H6} -geenisegmentti ovat ituradan konfiguraatiossa.

8. Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen jrsijä, jolloin jrsijän
25 ituradan genomi käsittää lisäksi toiminnallisesti kytkettynä muokattuun D_H -alueeseen:

(a) raskasketjun immunoglobuliinin vakioalueen (C_H) geenin tai osan siitä;

(b) jrsijän C_H -alueen geenin tai osan siitä;

(c) jrsijän C_H -alueen geenin tai osan siitä, joka käsittää jrsijän intronisen tehostaja-
30 alueen ja jrsijän IgM-geenin; ja/tai

(d) lääkevalintakasetin, joka sijaitsee ylävirtaan muokatusta D_H-geenisegmentistä, jolloin valinnaisesti lääkevalintakasettia reunustaa yksi tai useampi paikkaspesifinen rekombinaatiokohta.

5 **9.** Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen jrsijä, jolloin jrsijä on homotsygoottinen muokatun D_H-alueen suhteen.

10. Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen jrsijä, jolloin jrsijä käsittää:

(a) vähintään yhden uudelleenjärjestymättömän ihmisen immunoglobuliinin raskasketjun vaihtelevan (V_H) geenisegmentin, joka on ylävirtaan muokatusta D_H-alueesta ja toiminnallisesti liitetty siihen;

10 (b) muokatun D_H-alueen, jolloin muokattu D_H-geenisegmentti ja uudelleenjärjestymätön D_H-geenisegmentti ovat ihmisen; ja

(c) vähintään yhden uudelleenjärjestymättömän ihmisen immunoglobuliinin raskasketjun yhdistävän (J_H) geenisegmentin, joka on alavirtaan muokatusta D_H-alueesta ja toiminnallisesti liitetty siihen,

15 jolloin (a), (b) ja (c) on toiminnallisesti liitetty jrsijän immunoglobuliinin raskasketjun vakioalueen geeniin endogeenisessä raskasketjun lokuksessa.

11. Jonkin edellisen patenttivaatimuksen mukainen jrsijä, jolloin jrsijä on rotta

12. Jonkin patenttivaatimuksen 1–10 mukainen jrsijä, jolloin jrsijä on hiiri.

13. Menetelmä vasta-aineen tuottamiseksi tai sitä koodaavan nukleinihapon saamiseksi, joka menetelmä käsittää sen, että

20 immunisoidaan jonkin patenttivaatimuksen 1–12 mukainen jrsijä antigeenillä; ja annetaan jrsijän tuottaa immuunivaste antigeenille, joka sisältää vasta-aineen, joka sitoutuu antigeeniin, tai sitä koodaavan nukleinihapon.

14. Patenttivaatimuksen 13 mukainen menetelmä, joka käsittää lisäksi vasta-aineen tai sitä koodaavan nukleinihapon talteenoton jrsijästä.

25 **15.** Patenttivaatimuksen 13 tai 14 mukainen menetelmä, jolloin nukleinihappo käsittää uudelleenjärjestyneitä raskasketjun V_H(D_{HA}-D_{HB})J_H koodaussekvenssejä, jotka koodaavat immunoglobuliinin raskasketjun vaihtelevaa domeenia.