

(19)



SUOMI - FINLAND
(FI)

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

(10)

FI/EP4082334 T3

(12)

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

(45)

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

10.06.2025

(97)

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

26.03.2025

(51)

Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassificering -
International patent classification
A01K 67/0278 (2024 . 01)
C07K 16/00 (2006 . 01)
C12N 15/90 (2006 . 01)
C12N 15/85 (2006 . 01)

(96)

Eurooppapatenttihakemus - Europeisk patentansökan -
European patent application

EP22164751.4

(22)

Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date

03.11.2017

(97)

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

02.11.2022

(30)

Etuoiikeus - Prioritet - Priority

04.11.2016 US US201662417845 P

04.10.2017 US US201762567932 P

(73)

Haltija - Innehavare - Holder

1• Regeneron Pharmaceuticals, Inc. , 777 Old Saw Mill River Road , Tarrytown, NY 10591 , (US)

(72)

Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1• GUO, Chunguang , New York, NY 10591 , (US)
2• HARRIS, Faith , New York, NY 10591 , (US)
3• VORONINA, Vera , New York, NY 10591 , (US)
4• MCWHIRTER, John , New York, NY 10591 , (US)
5• LEVENKOVA, Natasha , New York, NY 10591 , (US)
6• MACDONALD, Lynn , New York, NY 10591 , (US)
7• TU, Naxin , New York, NY 10591 , (US)
8• MURPHY, Andrew J , New York, NY 10591 , (US)

(74)

Asiamies - Ombud - Agent

Zacco Sweden AB , P.O.Box 5581 , 114 85 STOCKHOLM , (SE)

(54)

Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

**Muokatun immunoglobuliinin lambda-kevytketjun lokuksen omaavia ei-humaaneja eläimiä
NON-HUMAN ANIMALS HAVING AN ENGINEERED IMMUNOGLOBULIN LAMBDA LIGHT CHAIN LOCUS**

PATENTTIVAATIMUKSET

1. Menetelmä ihmisen lambda-kevytketjun variaabelidomeenia koodaavan nukleiinihapon ja/tai ihmisen raskasketjun variaabelidomeenia koodaavan nukleiinihapon tuottamiseksi, joka menetelmä käsittää seuraavat vaiheet:

5 (a) immunisoidaan geneettisesti muunneltu jyrsijä antigeenillä, jolloin geneettisesti muunnellulla jyrsijällä on ituradan genomi, joka käsittää seuraavat:

(i) yksi tai useampi ihmisen V λ -geenisegmentti;

(ii) yksi tai useampi ihmisen J λ -geenisegmentti;

(iii) yksi tai useampi ihmisen C λ -geenisegmentti;

10 (iv) yksi tai useampi jyrsijän immunoglobuliinin λ -kevytketjun tehostaja (E λ);

(v) kolme ihmisen E λ :aa; ja

(vi) jyrsijän C λ -geenisegmentti,

jolloin (i)–(vi) ovat endogeenisessä immunoglobuliinin λ -kevytketjun lokuksessa;

15 jolloin (i) ja (ii) kykenevät järjestäytymään uudelleen muodostaen uudelleenjärjestäytyneitä ihmisen λ -variaabelialueen geenejä, jotka ilmentyvät yhdessä (iii):n vakioalueen geenisegmenttien kanssa antigeeniä sitovien proteiinien λ -kevytketjuina, ja jolloin (i) ja (ii) kykenevät myös järjestäytymään uudelleen muodostaen uudelleenjärjestäytyneitä ihmisen λ -variaabelialueen geenejä, jotka
20 ilmentyvät yhdessä (vi):n jyrsijän C λ -geenisegmentin kanssa antigeeniä sitovien proteiinien λ -kevytketjuina, ja

(vii) muokattu raskasketjun lokus, joka käsittää yhden tai useamman ihmisen V_H-geenisegmentin, yhden tai useamman ihmisen D_H-geenisegmentin ja yhden tai useamman ihmisen J_H-geenisegmentin insertion, jotka kykenevät järjestäytymään
25 uudelleen muodostaen uudelleenjärjestäytyneitä ihmisen raskasketjun variaabelialueen geenejä, jotka ilmentyvät yhdessä jyrsijän immunoglobuliinin raskasketjun vakioalueen geenisegmentin kanssa;

(b) pidetään jyrsijä olosuhteissa, jotka ovat riittävät sille, että jyrsijä tuottaa immuunivasteen antigeenille; ja

(c) otetaan talteen ihmisen lambda-kevytketjun variaabelidomeenia koodaava nukleiinihappo ja/tai ihmisen raskasketjun variaabelidomeenia koodaava nukleiinihappo jyr sijästä tai jyr sijän solusta.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, jolloin:

5 (a) yksi tai useampi ihmisen V λ -geenisegmentti sisältää seuraavat: ihmisen V λ 5-52–V λ 1-40 ja/tai V λ 3-27–V λ 3-1, jolloin valinnaisesti yksi tai useampi ihmisen V λ -geenisegmentti sisältää ihmisen ei-koodaavaa DNA:ta, joka esiintyy luonnostaan seuraavissa: ihmisen V λ 5-52–V λ 1-40 ja/tai V λ 3-27–V λ 3-1; ja

(b) yksi tai useampi ihmisen J λ -geenisegmentti ja yksi tai useampi ihmisen C λ -geenisegmentti sisältävät ihmisen J λ -C λ -geenisegmenttiparit J λ 1-C λ 1, J λ 2-C λ 2, J λ 3-C λ 3, J λ 6-C λ 6 ja ihmisen J λ 7-geenisegmentin, jolloin valinnaisesti ihmisen J λ -C λ -geenisegmenttiparit J λ 1-C λ 1, J λ 2-C λ 2, J λ 3-C λ 3 ja J λ 6-C λ 6 sisältävät ihmisen ei-koodaavaa DNA:ta, joka esiintyy luonnostaan ihmisen J λ -C λ -geenisegmenttiparien välissä, ja ihmisen J λ 7-geenisegmentti sisältää ihmisen ei-
15 koodaavaa DNA:ta, joka esiintyy luonnostaan ylävirtaan (tai 5'-suuntaan) ihmisen J λ 7:stä; ja

(c) yksi tai useampi jyr sijän E λ on hiiren E λ ja hiiren E λ 3-1.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, jolloin yhden tai useamman ihmisen V H -geenisegmentin, yhden tai useamman ihmisen D H -geenisegmentin ja
20 yhden tai useamman ihmisen J H -geenisegmentin insertio korvaa jyr sijän V H -, D H - ja J H -geenisegmentit, jolloin valinnaisesti insertio sisältää ihmisen ei-koodaavaa DNA:ta, joka esiintyy luonnostaan ihmisen V H -, D H - ja J H -geenisegmenttien välissä, ja niiden yhdistelmiä.

4. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, jolloin jyr sijän
25 immunoglobuliinin raskasketjun vakioalue on endogeeninen jyr sijän immunoglobuliinin raskasketjun vakioalue.

5. Jonkin patenttivaatimuksista 1–3 mukainen menetelmä, jolloin endogeeninen immunoglobuliinin λ -kevytketjun lokus käsittää endogeenisten V λ -geenisegmenttien ja J λ -geenisegmenttien deletio, jolloin endogeenisten V λ -geenisegmenttien ja J λ -geenisegmenttien deletio on täydellinen tai osittainen.
30

6. Jonkin patenttivaatimuksista 1–4 mukainen jyrsijä, jolloin (vi):n mukainen jyrsijän C λ -geenisegmentti on hiiren C λ -geenisegmentti.

7. Jonkin patenttivaatimuksista 1–5 mukainen menetelmä, jolloin:

(a) endogeenisessä immunoglobuliinin raskasketjun lokuksessa ei ole jyrsijän endogeenistä Adam6-geeniä, jolloin valinnaisesti endogeeninen immunoglobuliinin raskasketjun lokus käsittää lisäksi yhden tai useamman nukleotidisekvenssin insertion, joka koodaa yhtä tai useampaa jyrsijän ADAM6-polypeptidiä; ja/tai

(b) jyrsijä on homotsygoottinen endogeenisen immunoglobuliinin raskasketjun lokuksen suhteen.

8. Jonkin patenttivaatimuksista 1–6 mukainen menetelmä, jolloin:

(a) jyrsijä on homotsygoottinen endogeenisen immunoglobuliinin λ -kevytketjun lokuksen suhteen; ja/tai

(b) jyrsijä on rotta tai hiiri.

9. Jonkin patenttivaatimuksista 1–7 mukainen menetelmä, jolloin ihmisen variaabelidomeeni on ihmisen lambda-kevytketjun variaabelidomeeni.

10. Menetelmä ihmisen lambda-kevytketjun variaabelidomeenin sekvenssin ja/tai ihmisen raskasketjun variaabelidomeenin sekvenssin tuottamiseksi, joka menetelmä käsittää seuraavat vaiheet:

(a) immunisoidaan geneettisesti muunneltu jyrsijä antigeenillä, jolloin geneettisesti muunnellulla jyrsijällä on ituradan genomi, joka käsittää seuraavat:

(i) yksi tai useampi ihmisen V λ -geenisegmentti;

(ii) yksi tai useampi ihmisen J λ -geenisegmentti;

(iii) yksi tai useampi ihmisen C λ -geenisegmentti;

(iv) yksi tai useampi jyrsijän immunoglobuliinin λ -kevytketjun tehostaja (E λ);

(v) kolme ihmisen E λ :aa; ja

(vi) jyrsijän C λ -geenisegmentti,

jolloin (i)–(vi) ovat endogeenisessä immunoglobuliinin λ -kevytketjun lokuksessa;

jolloin (i) ja (ii) kykenevät järjestäytymään uudelleen muodostaen uudelleenjärjestäytyneitä ihmisen λ -variaabelialueen geenejä, jotka ilmentyvät yhdessä (iii):n vakioalueen geenisegmenttien kanssa antigeeniä sitovien proteiinien λ -kevytketjuina, ja jolloin (i) ja (ii) kykenevät myös järjestäytymään uudelleen muodostaen uudelleenjärjestäytyneitä ihmisen λ -variaabelialueen geenejä, jotka
5 ilmentyvät yhdessä (vi):n jyrksijän C λ -geenisegmentin kanssa antigeeniä sitovien proteiinien λ -kevytketjuina, ja

(vii) muokattu raskasketjun lokus, joka käsittää yhden tai useamman ihmisen V_H-geenisegmentin, yhden tai useamman ihmisen D_H-geenisegmentin ja yhden tai useamman ihmisen J_H-geenisegmentin insertion, jotka kykenevät järjestäytymään uudelleen muodostaen uudelleenjärjestäytyneitä ihmisen raskasketjun vaihtelevan alueen geenejä, jotka ilmentyvät yhdessä jyrksijän immunoglobuliinin raskasketjun vakioalueen geenisegmentin kanssa; ja

10

(b) määritetään ihmisen lambda-kevytketjun variaabelidomeenin sekvenssi ja/tai ihmisen raskasketjun variaabelidomeenin sekvenssi vasta-aineesta, joka spesifisesti: (i) sitoutuu antigeeniin ja (ii) on geneettisesti muunnellun jyrksijän tuottama.

15

11. Patenttivaatimuksen 10 mukainen menetelmä, jolloin ihmisen kevytketjun variaabelidomeenin sekvenssin määrittäminen käsittää ihmisen kevytketjun variaabelidomeenin sekvenssiä koodaavan nukleotidisekvenssin määrittämisen.

20

12. Jonkin patenttivaatimuksista 10 tai 11 mukainen menetelmä, jolloin:

(a) yksi tai useampi ihmisen V λ -geenisegmentti sisältää seuraavat: ihmisen V λ 5-52–V λ 1-40 ja/tai V λ 3-27–V λ 3-1, jolloin valinnaisesti yksi tai useampi ihmisen V λ -geenisegmentti sisältää ihmisen ei-koodaavaa DNA:ta, joka esiintyy luonnostaan seuraavissa: ihmisen V λ 5-52–V λ 1-40 ja/tai V λ 3-27–V λ 3-1; ja

25

(b) yksi tai useampi ihmisen J λ -geenisegmentti ja yksi tai useampi ihmisen C λ -geenisegmentti sisältävät ihmisen J λ -C λ -geenisegmenttiparit J λ 1-C λ 1, J λ 2-C λ 2, J λ 3-C λ 3, J λ 6-C λ 6 ja ihmisen J λ 7-geenisegmentin, jolloin valinnaisesti ihmisen J λ -C λ -geenisegmenttiparit J λ 1-C λ 1, J λ 2-C λ 2, J λ 3-C λ 3 ja J λ 6-C λ 6 sisältävät ihmisen ei-koodaavaa DNA:ta, joka esiintyy luonnostaan ihmisen J λ -C λ -geenisegmenttiparien välissä, ja ihmisen J λ 7-geenisegmentti sisältää ihmisen ei-

30

koodaavaa DNA:ta, joka esiintyy luonnostaan ylävirtaan (tai 5'-suuntaan) ihmisen J λ 7:stä; ja

(c) yksi tai useampi jyrsijän E λ on hiiren E λ ja hiiren E λ 3-1.

5 **13.** Jonkin patenttivaatimuksista 10–12 mukainen menetelmä, jolloin yhden tai useamman ihmisen V_H-geenisegmentin, yhden tai useamman ihmisen D_H-geenisegmentin ja yhden tai useamman ihmisen J_H-geenisegmentin insertio korvaa jyrsijän V_H-, D_H- ja J_H-geenisegmentit, jolloin valinnaisesti insertio sisältää ihmisen ei-koodaavaa DNA:ta, joka esiintyy luonnostaan ihmisen V_H-, D_H- ja J_H-geenisegmenttien välissä, ja niiden yhdistelmiä.

10 **14.** Jonkin patenttivaatimuksista 10–13 mukainen menetelmä, jolloin jyrsijän immunoglobuliinin raskasketjun vakioalue on endogeeninen jyrsijän immunoglobuliinin raskasketjun vakioalue.

15. Jonkin patenttivaatimuksista 10–13 mukainen menetelmä, jolloin endogeeninen immunoglobuliinin λ -kevytketjun lokus käsittää endogeenisten V λ -geenisegmenttien ja J λ -geenisegmenttien deleetion, jolloin endogeenisten V λ -geenisegmenttien ja J λ -geenisegmenttien deleetio on täydellinen tai osittainen.

16. Jonkin patenttivaatimuksista 10–14 mukainen menetelmä, jolloin kohdan (vi) mukainen jyrsijän C λ -geenisegmentti on hiiren C λ -geenisegmentti.

17. Jonkin patenttivaatimuksista 10–15 mukainen menetelmä, jolloin:

20 (a) endogeenisessä immunoglobuliinin raskasketjun lokuksessa ei ole jyrsijän endogeenistä Adam6-geeniä, jolloin valinnaisesti endogeeninen immunoglobuliinin raskasketjun lokus käsittää lisäksi yhden tai useamman nukleotidisekvenssin insertion, joka koodaa yhtä tai useampaa jyrsijän ADAM6-polypeptidiä; ja/tai

(b) jyrsijä on homotsygoottinen endogeenisen immunoglobuliinin raskasketjun
25 lokuksen suhteen.

18. Jonkin patenttivaatimuksista 10–15 mukainen menetelmä, jolloin:

(a) jyrsijä on homotsygoottinen endogeenisen immunoglobuliinin λ -kevytketjun lokuksen suhteen ja/tai

(b) jyrsijä on rotta tai hiiri.