



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO

(10) Identifikator
dokumenta:



HR P20190820 T1

HR P20190820 T1

(12) **PRIJEVOD PATENTNIH ZAHTJEVA
EUROPSKOG PATENTA**

(51) MKP:

A01K 67/027 (2006.01)

C12N 15/85 (2006.01)

C07K 16/00 (2006.01)

(46) Datum objave prijevoda patentnih zahtjeva: 20.09.2019.

(21) Broj predmeta: P20190820T

(22) Datum podnošenja zahtjeva: 02.05.2019.

(96) Broj europske prijave patenta: EP 15177538.4
Datum podnošenja europske prijave patenta: 10.12.2010.

(97) Broj objave europske prijave patenta: EP 2954779 A1
Datum objave europske prijave patenta: 16.12.2015.

(97) Broj objave europskog patenta: EP 2954779 B1
Datum objave europskog patenta: 06.02.2019.

(31) Broj prve prijave: 285250 P (32) Datum podnošenja prve prijave: 10.12.2009. (33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US
(62) Broj i datum prvobitne prijave u slučaju podjele patenta: 10790825.3 10.12.2010.

(73) Nositelj patenta: **Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, US**
(72) Izumitelji: **Lynn MacDonald, 16 Gedney Way, White Plains, NY 10605, US**
Sean Stevens, 355 Berry Street 413, San Francisco, CA 94158, US
Andrew J. Murphy, 10 Newton Court, Croton-on-Hudson, NY 10520, US
(74) Zastupnik: **FORINPRO d.o.o., 10000 Zagreb, HR**

(54) Naziv izuma: **MIŠEVI KOJI PROIZVODE ANTITIJELA TEŠKOG LANCA**

HR P20190820 T1

PATENTNI ZAHTEJEVI

1. Metoda za dobivanje antitijela ili izoliranje stanice koja proizvodi antitijelo, pri čemu se metoda sastoji od:
 - a. imunizacije miša interesnim antigenom, naznačeno time, što miš sadrži endogenu konstantnu regiju imunoglobulinskog teškog lanca koja sadrži gen konstantne regije IgG-a koji nema sekvencu koja šifrira CH1 regiju zbog genetske modifikacije zametne linije koja se sastoji od brisanja nukleotidne sekvence koja šifrira CH1 domenu, i gen endogene konstantne regije IgM-a koji šifrira funkcionalnu CH1 domenu, naznačen time, što miš izražava IgM koji sadrži funkcionalnu CH1 domenu i IgG koji nema CH1 domenu u cijelosti;
 - b. omogućavanja mišu da razvije imunološki odgovor na interesni antigen;
 - c. izoliranja iz miša stanice koja proizvodi antitijelo koje se specifično vezuje za interesni antigen.
2. Metoda prema patentnom zahtjevu 1, naznačena time, što miš dodatno sadrži zamjenu svih ili suštinski svih segmenata gena V, D i J imunoglobulinskog teškog lanca s jednim ili više segmenata gena VH humanog imunoglobulinskog teškog lanca, DH humanog imunoglobulinskog teškog lanca i JH humanog imunoglobulinskog teškog lanca, naznačeno time, što su jedan ili više segmenata gena VH, DH i JH humanog imunoglobulinskog teškog lanca operativno povezani na endogenom mišjem lokusu s konstantnom regijom endogenog imunoglobulinskog teškog lanca.
3. Metoda prema patentnom zahtjevu 2, naznačena time, što antitijelo sadrži varijabilnu regiju humanog imunoglobulinskog teškog lanca.
4. Metoda prema bilo kojem od prethodnih patentnih zahtjeva, naznačena time, što je gen endogene konstantne regije IgG-a odabran iz grupe koja se sastoji od gena konstantne regije IgG1, gena konstantne regije konstantne regije IgG2b, gena konstantne regije konstantne regije IgG2a i njihovih kombinacija, poželjno naznačena time, što je gen konstantne regije IgG-a gen konstantne regije IgG1.
5. Metoda prema patentnom zahtjevu 4, naznačena time, što je gen endogene konstantne regije IgG-a gen konstantne regije IgG1, a miš dodatno izražava (a) protein IgG3 divljeg tipa; (b) protein IgG2a divljeg tipa; i (c) protein IgG2b divljeg tipa, poželjno naznačena time, što miš dodatno izražava (d) protein IgM-a divljeg tipa; (e) protein IgD-a divljeg tipa, (f) protein IgA divljeg tipa; i (h) protein IgE divljeg tipa.
6. Metoda prema bilo kojem od prethodnih patentnih zahtjeva, naznačena time, što:
 - (a) antitijelo endogenog teškog lanca IgG-a sadrži zglobnu regiju IgG1, CH2 domenu i CH3 domenu;
 - (b) miš sadrži funkcionalni lokus imunoglobulinskog lakog lanca, poželjno naznačen time, što je lokus imunoglobulinskog lakog lanca lokus gena lakog lanca κ ili lokus gena lakog lanca λ ; i/ili
 - (c) miš je soj odabran iz grupe koja se sastoji od soja 129, soja C57BL/6 i mješovitog soja 129 x C57BL/6, poželjno naznačen time, što je miš 50 % soj 129 i 50 % soj C57BL/6.
7. Metoda za izoliranje nukleinske kiseline koja šifrira antitijelo teškog lanca, pri čemu se metoda sastoji od:
 - a. imunizacije miša pomoću interesnog antigena, naznačeno time, što miš sadrži endogenu konstantnu regiju imunoglobulinskog teškog lanca koja sadrži gen konstantne regije IgG-a koji nema sekvencu koja šifrira CH1 regiju zbog genetske modifikacije zametne linije koja se sastoji od brisanja nukleotidne sekvence koja šifrira CH1 domenu, i gen endogene konstantne regije IgM-a koji šifrira funkcionalnu CH1 domenu, naznačen time, što miš izražava IgM koji sadrži funkcionalnu CH1 domenu i IgG koji nema CH1 domenu u cijelosti;
 - b. omogućavanja mišu da razvije imunološki odgovor na interesni antigen; i
 - c. izoliranja iz miša stanice koja proizvodi antitijelo koje se specifično vezuje za interesni antigen, i
 - d. izoliranja nukleinskih kiselina varijabilne regije imunoglobulinskog teškog lana iz stanice izolirane u koraku (c).
8. Metoda prema patentnom zahtjevu 7, naznačena time, što miš dodatno sadrži zamjenu svih ili suštinski svih segmenata gena V, D i J imunoglobulinskog teškog lanca s jednim ili više segmenata gena VH humanog imunoglobulinskog teškog lanca, DH humanog imunoglobulinskog teškog lanca i JH humanog imunoglobulinskog teškog lanca, naznačeno time, što su jedan ili više segmenata gena VH, DH i JH humanog imunoglobulinskog teškog lanca operativno povezani na endogenom mišjem lokusu s konstantnom regijom endogenog imunoglobulinskog teškog lanca.
9. Metoda prema patentnom zahtjevu 8, naznačena time, što antitijelo sadrži varijabilnu regiju humanog imunoglobulinskog teškog lanca.
10. Metoda prema bilo kojem patentnom zahtjevu od 7 do 9, naznačena time, što je gen endogene konstantne regije IgG-a odabran iz grupe koja se sastoji od gena konstantne regije IgG1, gena konstantne regije konstantne regije IgG2b, gena konstantne regije konstantne regije IgG2a i njihovih kombinacija, poželjno naznačena time, što je gen konstantne regije IgG-a gen konstantne regije IgG1.
11. Metoda prema patentnom zahtjevu 10, naznačena time, što je gen endogene konstantne regije IgG-a gen konstantne regije IgG1, a miš dodatno izražava (a) protein IgG3 divljeg tipa; (b) protein IgG2a divljeg tipa; i (c) protein IgG2b divljeg tipa, poželjno naznačena time, što miš dodatno izražava (d) protein IgM-a divljeg tipa; (e) protein IgD-a divljeg tipa, (f) protein IgA divljeg tipa; i (h) protein IgE divljeg tipa.
12. Metoda prema bilo kojem patentnom zahtjevu od 7 do 11, naznačena time, što:
 - (a) antitijelo endogenog teškog lanca IgG-a sadrži zglobnu regiju IgG1, CH2 domenu i CH3 domenu;

- (b) miš sadrži funkcionalni lokus imunoglobulinskog lakog lanca, poželjno naznačen time, što je lokus imunoglobulinskog lakog lanca lokus gena lakog lanca κ ili lokus gena lakog lanca λ ; i/ili
 - (c) miš je soj odabran iz grupe koja se sastoji od soja 129, soja C57BL/6 i mješovitog soja 129 x C57BL/6, poželjno naznačen time, što je miš 50 % soj 129 i 50 % soj C57BL/6.
- 5 13. Metoda prema bilo kojem patentnom zahtjevu od 1 do 12, koja dodatno sadrži korake
- d. proizvodnje hibridoma iz stanice izolirane u koraku (c), naznačene time, što stanica proizvodi antitijelo specifično za antigen.
14. Metoda prema patentnom zahtjevu 13, koja dodatno sadrži korak
- f. izoliranja nukleinskih kiselina varijabilne regije teškog lanca iz hibridoma dobivenog u koraku (d).
- 10 15. Hibridom formiran u skladu sa metodom prema patentnom zahtjevu 13, naznačen time, što hibridom sadrži endogenu konstantnu regiju imunoglobulinskog teškog lanca koja sadrži gen konstantne regije IgG koji nema sekvencu koja šifrira CH1 regiju zbog genetske modifikacije zametne linije koja se sastoji od brisanja nukleotidne sekvence koja šifrira CH1 domenu.
- 15 16. Hibridom prema patentnom zahtjevu 15, naznačen time, što endogena konstantna regija imunoglobulinskog teškog lanca dodatno sadrži mišju komutacijsku regiju.