



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO

(10) Identifikator
dokumenta:

HR P20201403 T1



HR P20201403 T1

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

(51) MKP:

A01K 67/027 (2006.01)
C12N 15/90 (2006.01)
C12N 15/85 (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01)

(46) Datum objave prijevoda patentnih zahtjeva: 27.11.2020.

(21) Broj predmeta: P20201403T

(22) Datum podnošenja zahtjeva u HR: 03.09.2020.

(86) Broj međunarodne prijave: PCT/US2017060006
Datum podnošenja međunarodne prijave: 03.11.2017.

(96) Broj europske prijave patenta: EP 17863293.1
Datum podnošenja europske prijave patenta: 03.11.2017.

(87) Broj međunarodne objave: WO 2018128691
Datum međunarodne objave: 12.07.2018.

(97) Broj objave europske prijave patenta: EP 3407709 A1
Datum objave europske prijave patenta: 05.12.2018.

(97) Broj objave europskog patenta: EP 3407709 B1
Datum objave europskog patenta: 29.07.2020.

(31) Broj prve prijave: 201662417845 P (32) Datum podnošenja prve prijave: 04.11.2016. (33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US
201762567932 P 04.10.2017. US

(73) Nositelj patenta:

**Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River Road,
Tarrytown, NY 10591-6706, US**

(72) Izumitelji:

**Chunguang Guo, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill
River Road, Tarrytown, NY 10591, US**

**Faith Harris, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill
River Road, Tarrytown, NY 10591, US**

**Vera Voronina, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill
River Road, Tarrytown, NY 10591, US**

**John McWhirter, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill
River Road, Tarrytown, NY 10591, US**

**Natasha Levenkova, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw
Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, US**

**Lynn MacDonald, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill
River Road, Tarrytown, NY 10591, US**

**Naxin Tu, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw Mill River
Road, Tarrytown, NY 10591, US**

**Andrew J. Murphy, c/o Regeneron Pharmaceuticals, Inc., 777 Old Saw
Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, US**

(74) Zastupnik:

FORINPRO d.o.o., 10000 Zagreb, HR

(54) Naziv izuma:

**NELJUDSKE ŽIVOTINJE KOJE IMAJU GENETSKI MODIFICIRAN LOKUS
IMUNOGLOBULINSKOG LAMBDA LAKOG LANCA**

HR P20201403 T1

PATENTNI ZAHTEJEVI

1. Glodavac čiji genom zametne linije sadrži lokus endogenog imunoglobulinskog lakog lanca λ koji sadrži:
 - (a) jedan ili više ljudskih $V\lambda$ segmenata gena;
 - (b) jedan ili više ljudskih $J\lambda$ segmenata gena;
 - (c) jedan ili više ljudskih $C\lambda$ segmenata gena;
 - (d) jedan ili više pojačivača imunoglobulinskog λ lakog lanca glodavca ($E\lambda$);
 - (e) tri ljudska $E\lambda$; i
 - (f) $C\lambda$ segment gena glodavca,
 naznačeno time, što (a) i (b) posjeduju sposobnost preuređivanja radi formiranja gena ljudske λ varijabilne regije koji se izražavaju u kombinaciji sa segmentima gena konstantne regije iz (c) kao λ laki lanci proteina koji se vezuju za antigen, i naznačeno time, što (a) i (b) također posjeduju sposobnost preuređivanja radi formiranja gena ljudske λ varijabilne regije koji se izražavaju u kombinaciji s $C\lambda$ segmentom gena glodavca iz (f) kao λ laki lanci proteina koji se vezuju za antigen.
2. Glodavac prema patentnom zahtjevu 1, naznačen time, što lokus endogenog imunoglobulinskog λ lakog lanca sadrži dva $E\lambda$ glodavca, opcionalno naznačen time, što su dva $E\lambda$ glodavca mišji $E\lambda$ i mišji $E\lambda 3-1$.
3. Glodavac prema patentnom zahtjevu 1 ili 2, naznačen time, što genom zametne linije dodatno sadrži:
 - (i) lokus endogenog imunoglobulinskog teškog lanca koji sadrži umetanje jednog ili više ljudskih V_H segmenata gena, jednog ili više ljudskih D_H segmenata gena i jedan ili više ljudskih J_H segmenata gena, naznačeno time, što jedan ili više ljudskih V_H segmenata gena, jedan ili više ljudskih D_H segmenata gena i jedan ili više ljudskih J_H segmenata gena posjeduju sposobnost preuređivanja radi formiranja gena ljudske varijabilne regije teškog lanca koji se izražavaju u kombinaciji sa segmentom gena konstantne regije imunoglobulinskog teškog lanca glodavca kao teški lanci proteina koji se vezuju za antigen; ili
 - (ii) lokus endogenog imunoglobulinskog teškog lanca koji sadrži umetanje jednog ili više ljudskih V_H segmenata gena, jednog ili više ljudskih D_H segmenata gena i jedan ili više ljudskih J_H segmenata gena, naznačeno time, što jedan ili više ljudskih V_H segmenata gena, jedan ili više ljudskih D_H segmenata gena i jedan ili više ljudskih J_H segmenata gena posjeduju sposobnost preuređivanja radi formiranja gena ljudske varijabilne regije teškog lanca koji se izražavaju u kombinaciji sa segmentom gena konstantne regije imunoglobulinskog teškog lanca glodavca kao teški lanci proteina koji se vezuju za antigen, i lokus endogenog imunoglobulinskog κ lakog lanca koji sadrži umetanje jednog ili više ljudskih $V\kappa$ segmenata gena i jednog ili više ljudskih $J\kappa$ segmenata gena, naznačeno time, što jedan ili više ljudskih $V\kappa$ segmenata gena i jedan ili više ljudskih $J\kappa$ segmenata gena posjeduju sposobnost preuređivanja radi formiranja gena preuređene ljudske κ varijabilne regije koji se izražavaju u kombinaciji sa segmentom gena imunoglobulinskog $C\kappa$ glodavca kao κ laki lanci proteina koji se vezuju za antigen.
4. Glodavac prema patentnom zahtjevu 3, naznačen time, što:
 - (a) umetanje jednog ili više ljudskih V_H segmenata gena, jednog ili više ljudskih D_H segmenata gena i jednog ili više ljudskih J_H segmenata gena zamjenjuje V_H , D_H i J_H segmente gena glodavca, opcionalno naznačeno time, što umetanje uključuje ljudsku nešifrirajuću DNK koja se prirodno javlja između ljudskih V_H , D_H i J_H segmenata gena i njihovih kombinacija; i/ili
 - (b) umetanje jednog ili više ljudskih $V\kappa$ segmenata gena i jednog ili više ljudskih $J\kappa$ segmenata gena zamjenjuje $V\kappa$ segmente gena i $J\kappa$ segmente gena glodavca, opcionalno naznačeno time, što umetanje uključuje ljudsku nešifrirajuću DNK koja se prirodno javlja između ljudskih $V\kappa$ segmenata gena i $J\kappa$ segmenata gena i njihovih kombinacija.
5. Glodavac prema patentnom zahtjevu 3 ili 4, naznačen time, što:
 - (a) konstanta regija imunoglobulinskog teškog lanca glodavca je endogena konstantna regija imunoglobulinskog teškog lanca glodavca; i/ili
 - (b) imunoglobulinska $C\kappa$ regija glodavca je endogena imunoglobulinska $C\kappa$ regija glodavca.
6. Glodavac prema bilo kojem patentnom zahtjevu do 1 do 4, naznačen time, što lokus endogenog imunoglobulinskog λ lakog lanca sadrži deleciju endogenih $V\lambda$ segmenata gena i $J\lambda$ segmenata gena, naznačeno time, što je delecija $V\lambda$ segmenata gena i $J\lambda$ segmenata gena cjelokupna ili djelomična.
7. Glodavac prema bilo kojem patentnom zahtjevu od 1 do 6, naznačen time, što $C\lambda$ segment gena glodavca iz (f) jest mišji $C\lambda$ segment gena.
8. Glodavac prema bilo kojem patentnom zahtjevu od 3 do 7, naznačen time, što:
 - (a) lokus endogenog imunoglobulinskog κ lakog lanca sadrži umetanje proksimalne $V\kappa$ duplikacije, cjelokupno ili djelomično, lokusa ljudskog imunoglobulinskog κ lakog lanca; i/ili
 - (b) lokus endogenog imunoglobulinskog teškog lanca ne posjeduje endogeni gen glodavca Adam6, opcionalno naznačen time, što lokus endogenog imunoglobulinskog teškog lanca dodatno sadrži umetanje jedne ili više sekvenci nukleotida koje šifriraju jedan ili više polipeptida ADAM6 glodavca;
 - (c) glodavac je homozigotan na lokusu endogenog imunoglobulinskog teškog lanca; i/ili
 - (d) glodavac je heterozigotan na lokusu endogenog imunoglobulinskog κ lakog lanca.
9. Glodavac prema bilo kojem patentnom zahtjevu do 1 do 8, naznačen time, što:
 - (a) glodavac je homozigotan na lokusu endogenog imunoglobulinskog λ lakog lanca; i/ili

(b) glodavac je štakor ili miš.

10. Izolirana stanica glodavca prema patentnom zahtjevu 1.

11. Izolirana stanica glodavca prema patentnom zahtjevu 10, naznačena time, što je stanica glodavca embrionalna matična stanica glodavca.

5 12. Metoda za dobivanje glodavca čiji genom zametne linije sadrži genetski modificirani lokus endogenog imunoglobulinskog λ lakog lanca, pri čemu se metoda sastoji od:

(a) uvođenja fragmenta DNK u embrionalnu matičnu stanicu glodavca, pri čemu se fragment DNK sastoji od sekvence nukleotida koja uključuje:

- (i) jedan ili više ljudskih V λ segmenata gena;
- 10 (ii) jedan ili više ljudskih J λ segmenata gena;
- (iii) jedan ili više ljudskih C λ segmenata gena;
- (iv) jedan ili više pojačivača imunoglobulinskog λ lakog lanca glodavca (E λ);
- (v) tri ljudska E λ ; i
- (vi) C λ segment gena glodavca;

15 naznačeno time, što (i) i (ii) posjeduju sposobnost preuređivanja radi formiranja gena ljudske λ varijabilne regije koji se izražavaju u kombinaciji sa segmentima gena konstantne regije iz (iii) kao λ laki lanci proteina koji se vezuju za antigen, i naznačeno time, što (i) i (ii) također posjeduju sposobnost preuređivanja radi formiranja gena ljudske λ varijabilne regije koji se izražavaju u kombinaciji C λ segmentom gena glodavca iz (vi) kao λ laki lanci proteina koji se vezuju za antigen;

20 (b) dobivanja embrionalne matične stanice glodavca proizvedene u koraku (a); i

(c) kreiranja glodavca iz embrionalne matične stanice glodavca iz koraka (b).

13. Metoda za dobivanje glodavca čiji genom zametne linije sadrži genetski modificirani lokus endogenog imunoglobulinskog λ lakog lanca, pri čemu se metoda sastoji od:

25 modifikacije genoma zametne linije glodavca tako da sadrži genetski modificirani lokus endogenog imunoglobulinskog λ lakog lanca koja uključuje umetanje

- (i) jednog ili više ljudskih V λ segmenata gena;
- (ii) jednog ili više ljudskih J λ segmenata gena;
- (iii) jednog ili više ljudskih C λ segmenata gena;
- (iv) jednog ili više pojačivača imunoglobulinskog λ lakog lanca glodavca (E λ);
- 30 (v) tri ljudska E λ ; i
- (vi) C λ segmenta gena glodavca;

35 naznačeno time, što (i) i (ii) posjeduju sposobnost preuređivanja radi formiranja gena ljudske λ varijabilne regije koji se izražavaju u kombinaciji sa segmentima gena konstantne regije iz (iii) kao λ laki lanci proteina koji se vezuju za antigen, i naznačeno time, što (i) i (ii) također posjeduju sposobnost preuređivanja radi formiranja gena ljudske λ varijabilne regije koji se izražavaju u kombinaciji λ segmentom gena glodavca iz (vi) kao λ laki lanci proteina koji se vezuju za antigen.

14. Metoda prema patentnom zahtjevu 12 ili 13, naznačena time, što:

- (a) jedan ili više ljudskih V λ segmenata gena uključuju ljudski V λ 5-52 do V λ 1-40 i/ili V λ 3-27 do V λ 3-1, opcionalno naznačeno time, što jedan ili više ljudskih V λ segmenata gena uključuju ljudsku nešifrirajuću DNK koja se prirodno javlja između V λ 5-52 i V λ 1-40 i/ili V λ 3-27 i V λ 3-1;
- 40 (b) jedan ili više ljudskih J λ segmenata gena i jedan ili više ljudskih C λ segmenata gena uključuju parove ljudskih J λ -C λ segmenata gena J λ 1-C λ 1, J λ 2-C λ 2, J λ 3-C λ 3, J λ 6-C λ 6 i ljudski J λ 7 segment gena, opcionalno naznačeno time, što parovi ljudskih J λ -C λ segmenti gena J λ 1-C λ 1, J λ 2-C λ 2, J λ 3-C λ 3 i J λ 6-C λ 6 uključuju ljudsku nešifrirajuću DNK koja se prirodno javlja između parova ljudskih J λ -C λ segmenata gena, a ljudski J λ 7 segment gena uključuje ljudsku nešifrirajuću DNK koja se prirodno javlja uzvodno (ili 5') od ljudskog J λ 7;
- 45 (c) C λ segment gena glodavca je mišji C λ segment gena; i/ili
- (d) lokus endogenog imunoglobulinskog λ lakog lanca sadrži dva E λ glodavca, opcionalno naznačen time, što su dva E λ glodavca mišji E λ i mišji E λ 3-1.

15. Metoda za proizvodnju antitijela u glodavca, pri čemu se metoda sastoji od sljedećih koraka:

- 50 (a) imunizacije glodavca prema patentnom zahtjevu 1 pomoću interesnog antigena;
- (b) održavanje glodavca u uvjetima koji su dovoljni da glodavac izrazi imunološki odgovor na interesni antigen; i
- (c) uzimanja antitijela iz glodavca, ili stanice glodavca, koje se vezuje za interesni antigen.

16. Metoda prema bilo kojem patentnom zahtjevu od 12 do 15, naznačena time, što je glodavac štakor ili miš.

55 17. Glodavac čiji genom zametne linije sadrži lokus endogenog imunoglobulinskog λ lakog lanca koji sadrži:

- (i) ljudske V λ segmente gena V λ 5-52 do V λ 1-40 i V λ 3-27 do V λ 3-1;
- (ii) parove ljudskih J λ -C λ segmenata gena J λ 1-C λ 1, J λ 2-C λ 2, J λ 3-C λ 3 i J λ 6-C λ 6;
- (iii) ljudski J λ segment gena J λ 7;
- (iv) jedan ili više pojačivača imunoglobulinskog λ lakog lanca glodavca (E λ);
- 60 (v) tri ljudska E λ ; i
- (vi) C λ segment gena glodavca,

naznačen time, što ljudski V λ segmenti gena iz (i) i ljudski J λ segmenti gena iz (ii) i (iii) posjeduju sposobnost preuređivanja radi formiranja gena ljudske λ varijabilne regije koji se izražavaju u kombinaciji s ljudskim C λ segmentima gena iz (ii) kao λ laki lanci proteina koji se vezuju za antigen, a ljudski V λ segmenti gena iz (i) i ljudski J λ segmenti gena iz (ii) i (iii) posjeduju sposobnost preuređivanja radi formiranja gena preuređene ljudske λ varijabilne regije koji se izražavaju u kombinaciji s C λ segmentom gena iz (vi) kao λ laki lanci proteina koji se vezuju za antigen, i naznačen time, što lokus imunoglobulinskog λ lakog lanca ne sadrži endogeni imunoglobulin E λ 2-4 glodavca,

naznačen time, što ljudski V λ segmenti gena V λ 5-52 do V λ 1-40 i V λ 3-27 do V λ 3-1 uključuju ljudsku nešifrirajuću DNK koja se prirodno javlja između ljudskih V λ segmenata gena, parovi ljudskih J λ -C λ segmenti gena J λ 1-C λ 1, J λ 2-C λ 2, J λ 3-C λ 3 i J λ 6-C λ 6 uključuju ljudsku nešifrirajuću DNK koja se prirodno javlja između parova ljudskih J λ -C λ segmenata gena, a ljudska nešifrirajuća DNK uzvodno od ljudskog J λ segmenta gena J λ 7 uključuje ljudsku nešifrirajuću DNK koja se prirodno javlja uzvodno od ljudskog J λ 7, i

naznačen time, što je predmetni glodavac homozigotan na lokusu endogenog imunoglobulinskog λ lakog lanca.

18. Glodavac prema patentnom zahtjevu 17, naznačen time, što je glodavac štakor ili miš.