

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成28年5月12日(2016.5.12)

【公表番号】特表2015-510769(P2015-510769A)

【公表日】平成27年4月13日(2015.4.13)

【年通号数】公開・登録公報2015-024

【出願番号】特願2015-500651(P2015-500651)

【国際特許分類】

A 01 K 67/027 (2006.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

【F I】

A 01 K 67/027 Z N A

C 12 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成28年3月15日(2016.3.15)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

遺伝子改変された非ヒト動物であって、該非ヒト動物は、

(i)少なくとも1つのヒスチジンコドンの挿入または少なくとも1つの非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる置換を含む、再構成されていない免疫グロブリン可変領域配列を含む第一の免疫グロブリン可変領域遺伝子の遺伝子座であって、該ヒスチジンコドンは、対応する野生型生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、遺伝子座、ならびに/あるいは

(ii)少なくとも1つのヒスチジンコドンの挿入または少なくとも1つの非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる置換を含む、免疫グロブリン可変領域配列を含む第二の免疫グロブリン可変領域遺伝子の遺伝子座、

のいずれかまたは両方をその生殖細胞系列に含み、

該挿入または置換されたヒスチジンコドンが、対応する野生型生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされず、該非ヒト動物は、該非ヒト動物の生殖細胞系列におけるヒスチジン置換またはヒスチジン挿入に由来するヒスチジンを含む、免疫グロブリン重鎖可変ドメインおよび/または免疫グロブリン軽鎖可変ドメインを発現する、非ヒト動物。

【請求項2】

定常領域遺伝子配列に作動可能に連結された再構成されていないヒト免疫グロブリン重鎖可変領域の核酸配列(再構成されていないVセグメント、Dセグメント、Jセグメント)の少なくとも一部分を含む第一の可変領域遺伝子の遺伝子座であって、該V遺伝子セグメント、D遺伝子セグメント、およびJ遺伝子セグメントのうちの1つまたは複数が、少なくとも1カ所の非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる置換、または少なくとも1カ所のヒスチジンコドンの挿入を含み、該再構成されていないヒト免疫グロブリン重鎖可変領域の核酸配列の該ヒスチジンコドンは、対応するヒト生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、第一の可変領域遺伝子の遺伝子座と;

定常領域遺伝子配列に作動可能に連結された再構成されていないヒト免疫グロブリン軽鎖可変領域の核酸配列(再構成されていないVセグメント、Jセグメント)の少なくとも一部分を含む第二の可変領域遺伝子の遺伝子座であって、該V遺伝子セグメントおよびJ

遺伝子セグメントのうちの 1 つまたは複数が、少なくとも 1 カ所の非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる置換、または少なくとも 1 カ所のヒスチジンコドンの挿入を含み、該再構成されていないヒト免疫グロブリン軽鎖可変領域の核酸配列の該ヒスチジンコドンは、対応するヒト生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、第二の可変領域遺伝子の遺伝子座と

を含み、

マウスの生殖細胞系列におけるヒスチジン置換またはヒスチジン挿入に由来するヒスチジンを含む、免疫グロブリン重鎖可変ドメインおよび / または免疫グロブリン軽鎖可変ドメインを発現する、遺伝子改変された非ヒト動物。

【請求項 3】

定常領域遺伝子配列に作動可能に連結された再構成されていないヒト免疫グロブリン重鎖可変領域の核酸配列（再構成されていない V セグメント、D セグメント、J セグメント）の少なくとも一部分を含む第一の可変領域遺伝子の遺伝子座であって、該再構成されていない V 遺伝子セグメント、D 遺伝子セグメント、および J 遺伝子セグメントのうちの 1 つまたは複数が、少なくとも 1 カ所の非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる置換、または少なくとも 1 カ所のヒスチジンコドンの挿入を含み、該再構成されていないヒト免疫グロブリン重鎖可変領域の核酸配列の該ヒスチジンコドンは、対応するヒト生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、第一の可変領域遺伝子の遺伝子座と；

軽鎖定常領域遺伝子配列に作動可能に連結された再構成されたヒト免疫グロブリン軽鎖可変領域の核酸配列（再構成された V J 配列）を含む第二の可変領域遺伝子の遺伝子座であって、該再構成された V J 配列が、少なくとも 1 カ所の非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる置換、または少なくとも 1 カ所のヒスチジンコドンの挿入を含み、該再構成されたヒト免疫グロブリン軽鎖可変領域の核酸配列の該ヒスチジンコドンは、対応するヒト生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、第二の可変領域遺伝子の遺伝子座と

を含み、

マウスの生殖細胞系列におけるヒスチジン置換またはヒスチジン挿入に由来するヒスチジンを含む、免疫グロブリン重鎖可変ドメインおよび / または免疫グロブリン軽鎖可変ドメインを発現する、遺伝子改変された非ヒト動物。

【請求項 4】

前記第一の可変領域遺伝子の遺伝子座および前記第二の可変領域遺伝子の遺伝子座の両方が各々、少なくとも 1 つの非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる置換または挿入を含む、請求項 1 に記載の非ヒト動物。

【請求項 5】

前記第一の可変領域遺伝子の遺伝子座が、再構成されていない重鎖可変遺伝子座（再構成されていない V セグメント、D セグメント、J セグメント）の少なくとも 1 つの機能性部分を含む、請求項 1 または 4 に記載の非ヒト動物。

【請求項 6】

前記再構成されていない重鎖可変遺伝子座が、再構成されていないヒト可変領域遺伝子の遺伝子座（再構成されていない V セグメント、D セグメント、J セグメント）の少なくとも一部分を含む、請求項 5 に記載の非ヒト動物。

【請求項 7】

前記再構成されていない重鎖遺伝子座が、再構成されていない V セグメント、リンカーを含む合成 D セグメント、およびヒト J セグメントを含むヒト遺伝子座である、請求項 2 または 5 に記載の非ヒト動物。

【請求項 8】

前記合成 D セグメントが、少なくとも 1 つのヒスチジンコドンを含む、請求項 7 に記載の非ヒト動物。

【請求項 9】

前記第二の可変遺伝子座が、再構成されていない軽鎖遺伝子座（再構成されていない V

セグメント、Jセグメント)の少なくとも1つの機能性部分を含む、請求項1および4～8のいずれか一項に記載の非ヒト動物。

【請求項10】

前記再構成された軽鎖遺伝子座が、2つ以下の再構成されたVセグメントを含む、請求項9に記載の非ヒト動物。

【請求項11】

前記第二の可変遺伝子座が、再構成された免疫グロブリン軽鎖可変遺伝子配列(再構成されたVJ配列)を含む、請求項1および4～8のいずれか一項に記載の非ヒト動物。

【請求項12】

非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる前記置換および/またはヒスチジンコドンの前記挿入が、可変ドメインをコードする核酸配列においてであり、ヒスチジンが、免疫グロブリン鎖のN末端領域、免疫グロブリン鎖のループ4領域、重鎖のCDR1、重鎖のCDR2、重鎖のCDR3、軽鎖のCDR1、軽鎖のCDR2、軽鎖のCDR3、およびこれらの組合せから選択される領域にある、請求項1～11のいずれか一項に記載の非ヒト動物。

【請求項13】

前記第一の可変遺伝子座または前記第二の可変遺伝子座のうちの少なくとも1つが、内因性非ヒト免疫グロブリン遺伝子座において、内因性非ヒト定常領域の核酸配列に作動可能に連結された、請求項1～12のいずれか一項に記載の非ヒト動物。

【請求項14】

前記第一の可変遺伝子座が、内因性非ヒト免疫グロブリン重鎖定常領域の核酸配列に作動可能に連結された、再構成されていないヒトVセグメント、ヒトDセグメント、ヒトJセグメントを含む、請求項13に記載の非ヒト動物。

【請求項15】

再構成されていないヒトVセグメント、ヒトDセグメント、ヒトJセグメントを含む前記第一の可変遺伝子座が、内因性非ヒト免疫グロブリン遺伝子座において、前記内因性非ヒト免疫グロブリン重鎖定常領域の核酸配列に作動可能に連結された、請求項14に記載の非ヒト動物。

【請求項16】

前記第二の可変遺伝子座(再構成されていないVセグメント、Jセグメント)が、内因性非ヒト免疫グロブリン軽鎖定常領域配列に作動可能に連結された、請求項1、2、4～10および12～15のいずれか一項に記載の非ヒト動物。

【請求項17】

前記内因性非ヒト免疫グロブリン軽鎖定常領域配列が、内因性非ヒト免疫グロブリン遺伝子座にある、請求項16に記載の非ヒト動物。

【請求項18】

哺乳動物である、請求項1～17のいずれかに記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

【請求項19】

齧歯動物である、請求項18に記載の遺伝子改変された哺乳動物。

【請求項20】

マウス、ラット、およびハムスターからなる群から選択される、請求項19に記載の齧歯動物。

【請求項21】

野生型の非ヒト動物と比較した、B細胞集団の免疫グロブリン重鎖におけるおよび免疫グロブリン軽鎖におけるヒスチジン残基の存在の増強を特徴とするB細胞集団をさらに含む、請求項1～20のいずれかに記載の非ヒト動物。

【請求項22】

前記増強が、約2～4倍である、請求項21に記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

【請求項23】

前記増強が、約2～10倍である、請求項21に記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

【請求項 2 4】

前記非ヒト動物の生殖細胞系列の免疫グロブリン配列における置換および／または挿入によりコードされるヒスチジンを含む、免疫グロブリン軽鎖および免疫グロブリン重鎖をさらに含む、請求項 1～23 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

【請求項 2 5】

前記可変領域配列が、ヒスチジンコドンによる非ヒスチジンコドンの置換および／またはヒスチジンコドンの挿入である、2つ、3つ、4つ、または5つのヒスチジンによるクラスターを含む、請求項 1～24 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

【請求項 2 6】

前記再構成されていない重鎖遺伝子座が、前記重鎖遺伝子座の配向の方向に対して反転されたD遺伝子セグメントを含む、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

【請求項 2 7】

非ヒト動物を作製するための方法であって、

該非ヒト動物を、その生殖細胞系列において、少なくとも1カ所のヒスチジンコドンによる非ヒスチジンコドンの置換またはヒスチジンコドンの挿入を、再構成されていない免疫グロブリン重鎖可変（再構成されていないVセグメント、Dセグメント、Jセグメント）遺伝子座に含むように改変するステップであって、該再構成されていない免疫グロブリン重鎖可変遺伝子座の該ヒスチジンコドンが、対応する野生型生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、ステップと、および／または

該非ヒト動物を、その生殖細胞系列において、少なくとも1カ所のヒスチジンコドンによる非ヒスチジンコドンの置換またはヒスチジンコドンの挿入を、再構成されていない免疫グロブリン軽鎖可変（再構成されていないVセグメント、Jセグメント）遺伝子座に含むように改変するステップであって、該再構成されていない免疫グロブリン軽鎖可変遺伝子座の該ヒスチジンコドンが、対応する野生型生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、ステップと

を含む方法。

【請求項 2 8】

マウスの生殖細胞系列を、再構成されていないヒト免疫グロブリン重鎖可変（Vセグメント、Dセグメント、Jセグメント）遺伝子座の少なくとも一部分を含むように遺伝子改変するステップと、ヒスチジン置換またはヒスチジン挿入を、該再構成されていない免疫グロブリン重鎖可変（再構成されていないVセグメント、Dセグメント、Jセグメント）ヒト遺伝子座に施すステップとを含む、請求項 2 7 に記載の方法。

【請求項 2 9】

マウスの生殖細胞系列を、再構成されていないヒト免疫グロブリン軽鎖（再構成されていないVセグメント、Jセグメント）遺伝子座の少なくとも一部分を含むように遺伝子改変するステップと、ヒスチジン置換またはヒスチジン挿入を、該再構成されていないヒト免疫グロブリン軽鎖遺伝子座に施すステップとを含む、請求項 2 7 または 2 8 に記載の方法。

【請求項 3 0】

前記非ヒト動物が、齧歯動物である、請求項 2 7～29 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記齧歯動物が、マウス、ラット、およびハムスターから選択される、請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 2】

非ヒト動物を作製するための方法であって、

該非ヒト動物を、少なくとも1カ所のヒスチジンコドンによる非ヒスチジンコドンの置換またはヒスチジンコドンの挿入を、再構成されていない免疫グロブリン重鎖可変（再構成されていないVセグメント、Dセグメント、Jセグメント）遺伝子座に含むように改変するステップであって、該再構成されていない免疫グロブリン重鎖可変遺伝子座の該ヒス

チジンコドンが、対応する野生型生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、ステップと、およびまたは

該非ヒト動物を、少なくとも1カ所のヒスチジンコドンによる非ヒスチジンコドンの置換またはヒスチジンコドンの挿入を、該生殖細胞系列における再構成された免疫グロブリン軽鎖可変配列（再構成されたVJ配列）に含むように改変するステップであって、該再構成された免疫グロブリン軽鎖可変配列に含まれる該ヒスチジンコドンが、対応する野生型生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、ステップとを含む方法。

【請求項33】

前記非ヒト動物が、齧歯動物である、請求項32に記載の方法。

【請求項34】

前記齧歯動物が、マウス、ラット、およびハムスターから選択される、請求項33に記載の方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0588

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0588】

様々な実施形態では、本明細書に記載されている、遺伝子改変された免疫グロブリン遺伝子座は、非ヒト動物、例えば、哺乳動物、例えば、齧歯動物、例えば、マウス、ラット、またはハムスターの生殖細胞系列ゲノムに存在する。

特定の実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目1)

少なくとも1つの非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる置換または挿入を免疫グロブリン可変遺伝子座に含む、免疫グロブリン遺伝子座をその生殖細胞系列に含む、遺伝子改変された非ヒト動物であって、該ヒスチジンコドンは、対応する野生型生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない。非ヒト動物。

(項目2)

第一の可変遺伝子座および第二の可変遺伝子座を含み、少なくとも該第一の可変遺伝子座または該第二の可変遺伝子座は、少なくとも1つのヒスチジンコドンの挿入または少なくとも1つの非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる置換または挿入を含む、項目1に記載の非ヒト動物。

(項目3)

前記第一の可変遺伝子座および前記第二の可変遺伝子座の両方が各々、少なくとも1つの非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる置換または挿入を含む、項目2に記載の非ヒト動物。

(項目4)

前記第一の可変遺伝子座が、再構成されていない重鎖可変遺伝子座（再構成されていないVセグメント、Dセグメント、Jセグメント）の少なくとも1つの機能性部分を含む、項目3に記載の非ヒト動物。

(項目5)

前記再構成されていない重鎖可変遺伝子座が、ヒト遺伝子座（再構成されていないVセグメント、Dセグメント、Jセグメント）の少なくとも一部分を含む、項目4に記載の非ヒト動物。

(項目6)

前記再構成されていない重鎖遺伝子座が、再構成されていないVセグメント、リンカーを含む合成Dセグメント、およびヒトJセグメントを含むヒト遺伝子座である、項目4に記載の非ヒト動物。

(項目7)

前記合成Dセグメントが、少なくとも1つのヒスチジンコドンを含む、項目6に記載の非ヒト動物。

(項目8)

前記第二の可変遺伝子座が、再構成されていない軽鎖遺伝子座(再構成されていないVセグメント、Jセグメント)の少なくとも1つの機能性部分を含む、項目3に記載の非ヒト動物。

(項目9)

前記第二の可変遺伝子座が、再構成された免疫グロブリン軽鎖可変遺伝子配列(再構成されたVJ配列)を含む、項目4に記載の非ヒト動物。

(項目10)

非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる前記置換および/またはヒスチジンコドンの前記挿入が、可変ドメインをコードする核酸配列においてであり、ヒスチジンが、免疫グロブリン鎖のN末端領域、免疫グロブリン鎖のループ4領域、重鎖のCDR1、重鎖のCDR2、重鎖のCDR3、軽鎖のCDR1、軽鎖のCDR2、軽鎖のCDR3、およびこれらの組合せから選択される領域にある、項目1に記載の非ヒト動物。

(項目11)

前記第一の可変遺伝子座または前記第二の可変遺伝子座のうちの少なくとも1つが、内因性非ヒト免疫グロブリン遺伝子座において、内因性非ヒト定常領域の核酸配列に作動可能に連結された、項目2に記載の非ヒト動物。

(項目12)

前記第一の可変遺伝子座(再構成されていないヒトVセグメント、ヒトDセグメント、ヒトJセグメント)が、内因性非ヒト免疫グロブリン重鎖定常領域の核酸配列に作動可能に連結された、項目5に記載の非ヒト動物。

(項目13)

前記第一の可変遺伝子座(再構成されていないヒトVセグメント、ヒトDセグメント、ヒトJセグメント)が、内因性非ヒト免疫グロブリン遺伝子座において、前記内因性非ヒト免疫グロブリン重鎖定常領域の核酸配列に作動可能に連結された、項目12に記載の非ヒト動物。

(項目14)

前記第二の可変遺伝子座(再構成されていないVセグメント、Jセグメント)が、内因性非ヒト免疫グロブリン軽鎖定常領域配列に作動可能に連結された、項目6に記載の非ヒト動物。

(項目15)

前記内因性非ヒト免疫グロブリン軽鎖定常領域配列が、内因性非ヒト免疫グロブリン遺伝子座にある、項目14に記載の非ヒト動物。

(項目16)

定常領域遺伝子配列に作動可能に連結された再構成されていないヒト免疫グロブリン重鎖可変領域の核酸配列(再構成されていないVセグメント、Dセグメント、Jセグメント)の少なくとも一部分であって、該V遺伝子セグメント、D遺伝子セグメント、およびJ遺伝子セグメントのうちの1つまたは複数が、少なくとも1カ所の非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる置換、または少なくとも1カ所のヒスチジンコドンの挿入を含み、該再構成されていないヒト免疫グロブリン重鎖可変領域の核酸配列の該ヒスチジンコドンは、対応するヒト生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、再構成されていないヒト免疫グロブリン重鎖可変領域の核酸配列の少なくとも一部分と；

定常領域遺伝子配列に作動可能に連結された再構成されていないヒト免疫グロブリン軽鎖可変領域の核酸配列(再構成されていないVセグメント、Jセグメント)の少なくとも一部分であって、該V遺伝子セグメントおよびJ遺伝子セグメントのうちの1つまたは複数が、少なくとも1カ所の非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる置換、または少なくとも1カ所のヒスチジンコドンの挿入を含み、該再構成されていないヒト免疫グロブリン軽鎖可変領域の核酸配列の該ヒスチジンコドンは、対応するヒト生殖細胞系列遺伝子

セグメントによってコードされない、再構成されていないヒト免疫グロブリン軽鎖可変領域の核酸配列の少なくとも一部分とを含み、

マウスの生殖細胞系列におけるヒスチジン置換またはヒスチジン挿入に由来するヒスチジンを含む、免疫グロブリン重鎖可変ドメインおよび／または免疫グロブリン軽鎖可変ドメインを発現する、遺伝子改変された非ヒト動物。

(項目17)

哺乳動物である、項目16に記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

(項目18)

齧歯動物である、項目17に記載の遺伝子改変された哺乳動物。

(項目19)

マウス、ラット、およびハムスターからなる群から選択される、項目18に記載の齧歯動物。

(項目20)

前記再構成されていないヒト免疫グロブリン重鎖可変領域の核酸配列が、非ヒト定常領域配列に作動可能に連結された、項目16に記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

(項目21)

前記再構成されていないヒト免疫グロブリン重鎖可変領域の核酸配列に作動可能に連結された前記非ヒト定常領域核酸配列が、前記非ヒト動物の生殖細胞系列における内因性非ヒト免疫グロブリン遺伝子座にある、項目20に記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

(項目23)

前記再構成されていないヒト免疫グロブリン軽鎖可変領域の核酸配列に作動可能に連結された前記非ヒト定常領域核酸配列が、前記非ヒト動物の生殖細胞系列における内因性非ヒト免疫グロブリン遺伝子座にある、項目16に記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

(項目24)

定常領域遺伝子配列に作動可能に連結された再構成されていないヒト免疫グロブリン重鎖可変領域の核酸配列（再構成されていないVセグメント、Dセグメント、Jセグメント）の少なくとも一部分であって、該再構成されていないV遺伝子セグメント、D遺伝子セグメント、およびJ遺伝子セグメントのうちの1つまたは複数が、少なくとも1カ所の非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる置換、または少なくとも1カ所のヒスチジンコドンの挿入を含み、該再構成されていないヒト免疫グロブリン重鎖可変領域の核酸配列の該ヒスチジンコドンは、対応するヒト生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、再構成されていないヒト免疫グロブリン重鎖可変領域の核酸配列の少なくとも一部分と；

軽鎖定常領域遺伝子配列に作動可能に連結された再構成されたヒト免疫グロブリン軽鎖可変領域の核酸配列（再構成されたVJ配列）であって、該再構成されたVJ配列が、少なくとも1カ所の非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる置換、または少なくとも1カ所のヒスチジンコドンの挿入を含み、該再構成されたヒト免疫グロブリン軽鎖可変領域の核酸配列の該ヒスチジンコドンは、対応するヒト生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、再構成されたヒト免疫グロブリン軽鎖可変領域の核酸配列とを含み、

マウスの生殖細胞系列におけるヒスチジン置換またはヒスチジン挿入に由来するヒスチジンを含む、免疫グロブリン重鎖可変ドメインおよび／または免疫グロブリン軽鎖可変ドメインを発現する、遺伝子改変された非ヒト動物。

(項目25)

哺乳動物である、項目24に記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

(項目26)

齧歯動物である、項目25に記載の遺伝子改変された哺乳動物。

(項目27)

マウス、ラット、およびハムスターからなる群から選択される、項目26に記載の齧歯

動物。

(項目28)

前記再構成されていないヒト免疫グロブリン重鎖可変領域の核酸配列が、非ヒト定常領域配列に作動可能に連結された、項目24に記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

(項目29)

前記再構成されていないヒト免疫グロブリン重鎖可変領域の核酸配列に作動可能に連結された前記非ヒト定常領域配列が、前記非ヒト動物の生殖細胞系列における内因性非ヒト免疫グロブリン遺伝子座にある、項目28に記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

(項目30)

前記再構成されたヒト免疫グロブリン軽鎖可変領域の核酸配列に作動可能に連結された前記非ヒト定常領域配列が、前記非ヒト動物の生殖細胞系列における内因性非ヒト免疫グロブリン遺伝子座にある、項目29に記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

(項目31)

遺伝子改変された非ヒト動物であって、

その生殖細胞系列に、

免疫グロブリン重鎖遺伝子での非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる少なくとも1カ所の挿入または少なくとも1カ所の置換であって、該免疫グロブリン重鎖遺伝子座の該ヒスチジンコドンが、対応する生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、挿入または置換、および

免疫グロブリン軽鎖遺伝子での非ヒスチジンコドンのヒスチジンコドンによる少なくとも1カ所の挿入または少なくとも1カ所の置換であって、該免疫グロブリン軽鎖遺伝子座の該ヒスチジンコドンが、対応する生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、挿入または置換、および

野生型の非ヒト動物と比較した、B細胞集団の免疫グロブリン重鎖におけるおよび免疫グロブリン軽鎖におけるヒスチジン残基の存在の増強を特徴とするB細胞集団を含む、遺伝子改変された非ヒト動物。

(項目32)

前記増強が、約2～4倍である、項目31に記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

(項目33)

前記増強が、約2～10倍である、項目31に記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

(項目34)

非ヒト動物の生殖細胞系列の免疫グロブリン配列における置換および/または挿入によりコードされるヒスチジンを含む、免疫グロブリン軽鎖および免疫グロブリン重鎖を発現する、遺伝子改変された非ヒト動物。

(項目35)

前記可変領域配列が、ヒスチジンコドンによる非ヒスチジンコドンの置換および/またはヒスチジンコドンの挿入である、2つ、3つ、4つ、または5つのヒスチジンによるクラスターを含む、項目1に記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

(項目36)

前記再構成されていない重鎖遺伝子座が、前記重鎖遺伝子座の配向の方向に対して反転されたD遺伝子セグメントを含む、項目5に記載の遺伝子改変された非ヒト動物。

(項目37)

生殖細胞系列のヒスチジンコドンによりコードされるヒスチジンを有する抗体可変ドメインを作製する非ヒト動物を作製するための方法であって、

該非ヒト動物を、その生殖細胞系列において、少なくとも1カ所のヒスチジンコドンによる非ヒスチジンコドンの置換またはヒスチジンコドンの挿入を、再構成されていない免疫グロブリン重鎖可変(再構成されていないVセグメント、Dセグメント、Jセグメント)遺伝子座に含むように改変するステップであって、該再構成されていない免疫グロブリン重鎖可変遺伝子座の該ヒスチジンコドンが、対応する野生型生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、ステップと、

該非ヒト動物を、その生殖細胞系列において、少なくとも1カ所のヒスチジンコドンによる非ヒスチジンコドンの置換またはヒスチジンコドンの挿入を、再構成されていない免疫グロブリン軽鎖可変（再構成されていないVセグメント、Jセグメント）遺伝子座に含むように改変するステップであって、該再構成されていない免疫グロブリン軽鎖可変遺伝子座の該ヒスチジンコドンが、対応する野生型生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、ステップとを含む方法。

（項目38）

マウスの生殖細胞系列を、再構成されていないヒト免疫グロブリン重鎖可変（Vセグメント、Dセグメント、Jセグメント）遺伝子座の少なくとも一部分を含むように遺伝子改変するステップと、ヒスチジン置換またはヒスチジン挿入を、該再構成されていない免疫グロブリン重鎖可変（再構成されていないVセグメント、Dセグメント、Jセグメント）ヒト遺伝子座に施すステップとを含む、項目37に記載の方法。

（項目39）

マウスの生殖細胞系列を、再構成されていないヒト免疫グロブリン軽鎖（再構成されていないVセグメント、Jセグメント）遺伝子座の少なくとも一部分を含むように遺伝子改変するステップと、ヒスチジン置換またはヒスチジン挿入を、該再構成されていないヒト免疫グロブリン軽鎖遺伝子座に施すステップとを含む、項目37に記載の方法。

（項目40）

前記非ヒト動物が、齧歯動物である、項目37に記載の方法。

（項目41）

前記齧歯動物が、マウス、ラット、およびハムスターから選択される、項目40に記載の方法。

（項目42）

生殖細胞系列のヒスチジンコドンによりコードされるヒスチジンを有する抗体可変ドメインを作製する非ヒト動物を作製するための方法であって、

該非ヒト動物を、少なくとも1カ所のヒスチジンコドンによる非ヒスチジンコドンの置換またはヒスチジンコドンの挿入を、再構成されていない免疫グロブリン重鎖可変（再構成されていないVセグメント、Dセグメント、Jセグメント）遺伝子座に含むように改変するステップであって、該再構成されていない免疫グロブリン重鎖可変遺伝子座の該ヒスチジンコドンが、対応する野生型生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、ステップと、

該非ヒト動物を、少なくとも1カ所のヒスチジンコドンによる非ヒスチジンコドンの置換またはヒスチジンコドンの挿入を、該生殖細胞系列における再構成された免疫グロブリン軽鎖可変配列（再構成されたVJ配列）に含むように改変するステップであって、該再構成された免疫グロブリン軽鎖可変配列に含まれる該ヒスチジンコドンが、対応する野生型生殖細胞系列遺伝子セグメントによってコードされない、ステップとを含む方法。

（項目43）

前記非ヒト動物が、齧歯動物である、項目42に記載の方法。

（項目44）

前記齧歯動物が、マウス、ラット、およびハムスターから選択される、項目43に記載の方法。