



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2019126691, 26.02.2018

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

27.02.2017 US 62/464,262;

07.07.2017 US 62/529,916;

09.11.2017 US 62/583,780

(43) Дата публикации заявки: 29.03.2021 Бюл. № 10

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 27.09.2019

(86) Заявка РСТ:

US 2018/019651 (26.02.2018)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2018/157027 (30.08.2018)

Адрес для переписки:

119019, Москва, Гоголевский бульвар, 11,

Джермакян Рубен Валерьевич

(71) Заявитель(и):

**РЕГЕНЕРОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US)**

(72) Автор(ы):

**ДЕВАЛАРАДЖА-НАРАШИМХА, Кишор
(US),****МОРТОН, Лори (US),****ЛО, Ифань (US),****ХУАН, Цун (US),****МИГЕР, Каролина (US),****КАЗАНОВА, Сара (US)**(54) **ГУМАНИЗИРОВАННАЯ МОДЕЛЬ НАРУШЕНИЙ СО СТОРОНЫ ПОЧЕК И ПЕЧЕНИ**

(57) Формула изобретения

1. Способ оценивания in vivo терапевтической эффективности средства для применения в лечении связанной с комплементом нефропатии, при этом способ предусматривает:

(а) введение средства грызуну, в геноме которого содержится замена по эндогенному локусу С3 грызуна последовательности гена грызуна, содержащей экзон гена С3, последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей по меньшей мере один экзон гена С3 человека, с образованием модифицированного гена С3, при этом экспрессия модифицированного гена С3 находится под контролем регуляторных элементов грызуна в эндогенном локусе С3 грызуна; и

(б) оценивание того, подавляет ли средство один или более симптомов нефропатии по сравнению с контрольными грызунами, которым не вводили средство.

2. Способ по п. 1, где грызун представляет собой мышь или крысу.

3. Способ по п. 1 или 2, где последовательность нуклеиновой кислоты, содержащая по меньшей мере один экзон гена С3 человека, содержит экзон 1 -экзон 41 гена С3 человека.

4. Способ по любому из пп. 1-3, где последовательность нуклеиновой кислоты, содержащая по меньшей мере один экзон гена С3 человека, содержит экзон 2 - экзон 41 гена С3 человека.

5. Способ по любому из пп. 1-4, где грызун представляет собой мышь, которая не

способна экспрессировать белок С3 мышцы.

6. Способ по любому из пп. 1-5, где грызун представляет собой мышь, у которой экспрессируется белок С5 мышцы, кодируемый эндогенным геном С5 мышши.

7. Способ по любому из пп. 1-6, где средство выбрано из группы, состоящей из низкомолекулярных химических соединений, пептидов и антител.

8. Способ по п. 7, где средство представляет собой антитело.

9. Способ по п. 8, где средство представляет собой моноклональное антитело или его функциональный связывающий фрагмент.

10. Способ по п. 7, где средство представляет собой ингибиторную нуклеиновую кислоту.

11. Способ по п. 10, где ингибиторная нуклеиновая кислота выбрана из группы, состоящей из siRNA, shRNA, аптамера, антисмыслового олигонуклеотида, образующего триплекс олигонуклеотида и рибозима.

12. Способ по любому из пп. 1-11, где один или более симптомов нефропатии предусматривают спонтанную смерть.

13. Способ по любому из пп. 1-11, где один или более симптомов нефропатии предусматривают сниженный вес, сниженную плотность кости, сниженное содержание жира в организме или их комбинацию.

14. Способ по любому из пп. 1-11, где один или более симптомов нефропатии выбраны из одного или более из группы, состоящей из гломерулонефрита, базофильных канальцев, склеротических клубочков, расширенных канальцев с белковыми цилиндрами, расширения мезангиального матрикса, гипертрофии клубочков и мононуклеарного воспаления интерстиция.

15. Способ по любому из пп. 1-11, где один или более симптомов нефропатии предусматривают отложение белка С3 в почке.

16. Способ по любому из пп. 1-11, где один или более симптомов нефропатии предусматривают отложение мембраноатакующих комплексов С5b-9 в почке.

17. Способ по любому из пп. 1-11, где один или более симптомов нефропатии предусматривают один или более из повышенного уровня азота мочевины крови (BUN), липазы в сыворотке крови, цистатина С в сыворотке крови или липопротеинов, отличных от липопротеинов высокой плотности, в сыворотке крови.

18. Способ по любому из пп. 1-11, где один или более симптомов нефропатии предусматривают повышенный уровень альбумина или С5а в моче.

19. Способ по любому из пп. 1-11, где один или более симптомов нефропатии оценивают с помощью определения экспрессии одного или более сигнатурных генов нефропатии.

20. Способ оценивания *in vivo* терапевтической эффективности средства для применения в лечении фиброза печени, при этом способ предусматривает:

(а) введение средства грызуну, который характеризуется заменой по эндогенному локусу С3 грызуна последовательности гена грызуна, содержащей экзон гена С3, последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей по меньшей мере один экзон гена С3 человека, с образованием модифицированного гена С3, при этом экспрессия модифицированного гена С3 находится под контролем регуляторных элементов грызуна в эндогенном локусе С3 грызуна; и

(b) оценивание того, подавляет ли средство один или более симптомов фиброза печени по сравнению с контрольными грызунами, которым не вводили средство.

21. Способ по п. 20, где грызун представляет собой мышь или крысу.

22. Способ по п. 20 или 21, где последовательность нуклеиновой кислоты, содержащая по меньшей мере один экзон гена С3 человека, содержит экзон 1 - экзон 41 гена С3 человека.

23. Способ по любому из пп. 20-22, где последовательность нуклеиновой кислоты, содержащая по меньшей мере один экзон гена С3 человека, содержит экзон 2 - экзон 41 гена С3 человека.
24. Способ по любому из пп. 20-23, где грызун представляет собой мышь, которая не способна экспрессировать белок С3 мыши.
25. Способ по любому из пп. 20-23, где грызун представляет собой мышь, у которой экспрессируется белок С5 мыши, кодируемый эндогенным геном С5 мыши.
26. Способ по любому из пп. 20-25, где средство выбрано из группы, состоящей из низкомолекулярных химических соединений, пептидов и антител.
27. Способ по п. 26, где средство представляет собой антитело.
28. Способ по п. 27, где средство представляет собой моноклональное антитело или его функциональный связывающий фрагмент.
29. Способ по п. 26, где средство представляет собой ингибиторную нуклеиновую кислоту.
30. Способ по п. 29, где ингибиторная нуклеиновая кислота выбрана из группы, состоящей из siRNA, shRNA, аптамера, антисмыслового олигонуклеотида, образующего триплекс олигонуклеотида и рибозима.
31. Способ по любому из пп. 20-30, где один или более симптомов фиброза печени представляют собой один или более из повышенного уровня аланинаминотрансферазы (ALT), аспартатаминотрансферазы (AST) или щелочной фосфатазы (ALP).
32. Способ по любому из пп. 20-30, где один или более симптомов фиброза печени оценивают с помощью определения экспрессии одного или более сигнатурных генов фиброза печени.
33. Способ идентификации средства, которое подавляет симптом связанной с комплементом нефропатии у грызуна, в геноме которого содержится замена по эндогенному локусу С3 грызуна последовательности гена грызуна, кодирующей экзон гена С3, последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей по меньшей мере один экзон гена С3 человека, с образованием модифицированного гена С3, при этом экспрессия модифицированного гена С3 находится под контролем регуляторных элементов грызуна в эндогенном локусе С3 грызуна, при этом способ предусматривает: (а) введение средства грызуну и (b) идентификацию средства в качестве средства, которое подавляет симптом связанной с комплементом нефропатии, если средство подавляет один или более симптомов связанной с комплементом нефропатии у грызуна.
34. Модель связанной с комплементом нефропатии у человека на грызуне, характеризующаяся наличием модифицированного гена С3 в эндогенном локусе С3 грызуна, где модифицированный ген С3 содержит последовательность нуклеиновой кислоты, содержащую по меньшей мере один экзон гена С3 человека, и при этом экспрессия модифицированного гена С3 находится под контролем регуляторных элементов грызуна в эндогенном локусе С3 грызуна.
35. Модель на грызуне по п. 34, где последовательность нуклеиновой кислоты функционально связана с промотором эндогенного С3 мыши в локусе С3 грызуна.
36. Модель на грызуне для оценивания терапевтической эффективности кандидатного терапевтического средства для подавления симптома связанной с комплементом нефропатии, включающая (а) грызуна, который характеризуется заменой по эндогенному локусу С3 грызуна последовательности гена грызуна, содержащей экзон гена С3, последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей по меньшей мере один экзон гена С3 человека, с образованием модифицированного гена С3, при этом экспрессия модифицированного гена С3 находится под контролем регуляторных элементов грызуна в эндогенном локусе С3 грызуна, где у грызуна проявляется один или более симптомов связанной с комплементом нефропатии; и (b) одно или более

кандидатных терапевтических средств.

37. Способ идентификации средства, которое подавляет фиброз печени у грызуна, в геноме которого содержится замена по эндогенному локусу С3 грызуна последовательности гена грызуна, содержащей экзон гена С3, последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей по меньшей мере один экзон гена С3 человека, с образованием модифицированного гена С3, при этом экспрессия модифицированного гена С3 находится под контролем регуляторных элементов грызуна в эндогенном локусе С3 грызуна, при этом способ предусматривает: (а) введение средства грызуну и (б) идентификацию средства в качестве средства, которое подавляет фиброз печени, если средство подавляет один или более симптомов фиброза печени у грызуна.

38. Модель фиброза печени у человека на грызуне, где в геноме грызуна содержится модифицированный ген С3 в эндогенном локусе С3 грызуна, где модифицированный ген С3 содержит последовательность нуклеиновой кислоты, содержащую по меньшей мере один экзон гена С3 человека, и при этом экспрессия модифицированного гена С3 находится под контролем регуляторных элементов грызуна в эндогенном локусе С3 грызуна.

39. Модель на грызуне по п. 38, где последовательность нуклеиновой кислоты функционально связана с промотором эндогенного С3 мышцы в локусе С3 грызуна.

40. Модель на грызуне для оценивания терапевтической эффективности кандидатного терапевтического средства для подавления симптома фиброза печени, включающая (а) грызуна, в геноме которого содержится замена по эндогенному локусу С3 грызуна последовательности гена грызуна, содержащей экзон гена С3, последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей по меньшей мере один экзон гена С3 человека, с образованием модифицированного гена С3, при этом экспрессия модифицированного гена С3 находится под контролем регуляторных элементов грызуна в эндогенном локусе С3 грызуна, где у грызуна проявляется один или более симптомов связанной с комплементом нефропатии; и (б) одно или более кандидатных терапевтических средств.

41. Способ лечения индивидуума, у которого диагностирована связанная с комплементом нефропатия, предусматривающий введение клинически эффективного количества терапевтического средства, которое подавляет экспрессию или активность С5 или которое подавляет активность С3b.

42. Способ по п. 41, где введение обеспечивает улучшение функции почек по сравнению с индивидуумами, у которых диагностирована связанная с комплементом нефропатия, которым не вводили терапевтическое средство.

43. Способ по п. 41, где улучшенная функция почек предусматривает одно или более из сниженной концентрации азота мочевины крови (BUN), сниженной концентрации цистатина С в сыворотке крови и/или сниженной концентрации С5a в моче.

44. Способ по п. 41, где введение обеспечивает уменьшение образования МАС в клубочках по сравнению с индивидуумами, у которых диагностирована связанная с комплементом нефропатия, которым не вводили терапевтическое средство.

45. Способ по п. 41, где введение обеспечивает уменьшение инфильтрации иммунными клетками в почках индивидуума по сравнению с индивидуумами, у которых диагностирована связанная с комплементом нефропатия, которым не вводили терапевтическое средство, которое подавляет экспрессию или активность С5.

46. Способ по п. 45, где иммунная клетка представляет собой нейтрофил или макрофаг, которые инфильтрируют клубочек.

47. Способ по п. 41, где введение обеспечивает уменьшение размера клубочка и/или расширения мезангиального матрикса в почках индивидуума по сравнению с индивидуумами, у которых диагностирована связанная с комплементом нефропатия, которым не вводили терапевтическое средство.

48. Способ по любому из пп. 41-47, где терапевтическое средство подавляет экспрессию или активность C5.

49. Способ по п. 48, где уровень BUN снижается у индивидуума на приблизительно 10-50%.

50. Способ по п. 48, где концентрация цистатина C в сыворотке крови снижается у индивидуума на приблизительно 10-60%.

51. Способ по п. 48, где концентрация C5a в моче снижается у индивидуума на приблизительно 40-85%.

52. Способ по п. 48, где образование MAC уменьшается на приблизительно 5-20% у индивидуума.

53. Способ по п. 48, где инфильтрация клубочка нейтрофилами уменьшается на приблизительно 50-100%.

54. Способ по п. 48, где инфильтрация интерстиция макрофагами уменьшается на приблизительно 30-70%.

55. Способ по п. 48, где размер клубочка и/или расширение мезангиального матрикса уменьшается на приблизительно 15-30%.

56. Способ по любому из пп. 41-55, где связанная с комплементом нефропатия представляет собой атипичный гемолитико-уремический синдром (aHUS) или C3-гломерулопатию (C3G).

57. Способ по п. 56, где C3G предусматривает болезнь плотного осадка (DDD) или C3-гломерулонефрит (C3GN).

58. Способ по любому из пп. 41-55, где терапевтическое средство подавляет экспрессию или активность C5 и выбрано из группы, состоящей из антитела, ингибиторной нуклеиновой кислоты, отличного от антитела связывающего полипептида, низкомолекулярного химического соединения и их комбинации.

59. Способ по п. 58, где ингибиторная нуклеиновая кислота выбрана из группы, состоящей из антисмыслового олигонуклеотида, siRNA, microRNA (miR) и рибозима.

60. Способ по любому из пп. 41-47, где терапевтическое средство, которое подавляет активность C3b, представляет собой одно или более из антитела, отличного от антитела связывающего полипептида или низкомолекулярного химического соединения.

61. Способ по п. 58 или 60, где терапевтическое средство представляет собой антитело или его функциональный фрагмент.

62. Способ по п. 61, где антитело представляет собой моноклональное антитело или поликлональное антитело.

63. Способ по п. 61 или 62, где антитело выбрано из группы, состоящей из человеческих антител, гуманизированных антител, антител, модифицированных последовательностями верблюжьих, химерных антител, CDR-привитых антител, одноцепочечных Fv (scFv), связанных дисульфидной связью Fv (sdFv), Fab-фрагментов и F(ab')-фрагментов.

64. Способ по любому из пп. 61-63, где индивидууму вводят приблизительно 50 мг/кг антитела к C5.

65. Способ по любому из пп. 61-64, где индивидууму вводят антитело к C5 три раза в неделю.

66. Способ по любому из пп. 61-65, где индивидууму вводят антитело к C5 в течение приблизительно 9 недель.

67. Антитело к C3 для применения в лечении связанной с комплементом нефропатии или фиброза печени.

68. Антитело к C5 для применения в лечении связанной с комплементом нефропатии или фиброза печени.