



(12) Translation of  
European patent specification

(11) NO/EP 2710375 B1

NORWAY

(19) NO  
(51) Int Cl.  
**G01N 33/53 (2006.01)**  
**G01N 33/566 (2006.01)**

**Norwegian Industrial Property Office**

---

(21) Translation Published 2019.06.17

(80) Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent 2019.03.13

(86) European Application Nr. 12725954.7

(86) European Filing Date 2012.05.18

(87) The European Application's Publication Date 2014.03.26

(30) Priority 2011.05.18, US, 201161487612 P

(84) Designated Contracting States: AL ; AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; RS ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR

(73) Proprietor Baxalta GmbH, Zählerweg 4, 6300 Zug, Sveits  
Baxalta Incorporated, 1200 Lakeside Drive, Bannockburn, IL 60015, USA

(72) Inventor WEBER, Alfred, Skraupstrasse 24/42/8, 1210 Vienna, Østerrike  
ENGELMAIER, Andrea, Benedikt Schellingergasse 17/25, 1150 Vienna, Østerrike  
SCHWARZ, Hans, Peter, Weimarer Strasse 76, 1180 Vienna, Østerrike

(74) Agent or Attorney BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

---

(54) Title **MODIFICATION-DEPENDENT ACTIVITY ASSAYS**

(56) References Cited: WO-A1-2009/086262  
TURECEK PETER L ET AL: "PEG MODIFIED RVWF PROLONGS THE SURVIVAL OF NATIVE RFVIII IN HEMOPHILIA A KNOCK-OUT MICE", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 108, no. 11, 9 December 2006 (2006-12-09), page 299A, XP008078591, ISSN: 0006-4971  
SAENKO E L ET AL: "Strategies towards a longer acting factor VIII", HAEMOPHILIA, BLACKWELL SCIENCE, OXFORD, GB, vol. 12, no. SUPPL. 3, 1 January 2006 (2006-01-01), pages 42-51, XP002434557, ISSN: 1351-8216, DOI: 10.1111/J.1365-2516.2006.01260.X  
WEBER A ET AL: "Hämostaseologie:Congress program, 53rd Annual Meeting- Society of Thrombosis and Haemostasis Research, Selective measurement of human recombinant von Willebrand Factor (rVWF)", HAEMOSTASEOLOGIE, STUTTGART, DE, 1 January 2009 (2009-01-01), page A23, XP002521117, ISSN: 0720-9355  
VAN HELDEN PAULINE M ET AL: "Maintenance and break of immune tolerance against human factor VIII in a new transgenic hemophilic mouse model", BLOOD, vol. 118, no. 13, September 2011 (2011-09) , pages 3698-3707, XP002682002,

CHENG TIAN-LU ET AL: "Monoclonal antibody-based quantitation of poly(ethylene glycol-derivatized proteins, liposomes, and nanoparticles", BIOCONJUGATE CHEMISTRY, ACS, WASHINGTON, DC, US, vol. 16, no. 5, 1 September 2005 (2005-09-01), pages 1225-1231, XP002515101, ISSN: 1043-1802, DOI: 10.1021/BC050133F [retrieved on 2005-08-20]  
SU YU-CHENG ET AL: "Sensitive Quantification of PEGylated Compounds by Second-Generation Anti-Poly(ethylene glycol) Monoclonal Antibodies", BIOCONJUGATE CHEMISTRY, vol. 21, no. 7, July 2010 (2010-07), pages 1264-1270, XP002682001,  
KOSEOGLU MEHMET H ET AL: "Mechanism of stimulation of glucose transport in response to inhibition of oxidative phosphorylation: Analysis with myc-tagged Glut1", April 1999 (1999-04), MOLECULAR AND CELLULAR BIOCHEMISTRY, VOL. 194, NR. 1-2, PAGE(S) 109-116, XP002682000, ISSN: 0300-8177 page 111, column 2, paragraph 4 - page 112, column 1, paragraph 1; figures 1,5

Enclosed is a translation of the patent claims in Norwegian. Please note that as per the Norwegian Patents Acts, section 66i the patent will receive protection in Norway only as far as there is agreement between the translation and the language of the application/patent granted at the EPO. In matters concerning the validity of the patent, language of the application/patent granted at the EPO will be used as the basis for the decision. The patent documents published by the EPO are available through Espacenet (<http://worldwide.espacenet.com>) or via the search engine on our website here: <https://search.patentstyret.no/>

## PATENTKRAV

1. Fremgangsmåte for å detektere tilstedeværelsen av et rekombinant polypeptid omfattende en modifikasjon, hvori fremgangsmåten omfatter trinnene med:
- 5 inkubering av en prøve som inkluderer det rekombinante polypeptid som omfatter modifikasjonen med et kapringsmiddel som selektivt binder modifikasjonen under betingelser som tillater selektive binding av kapringsmiddelet til modifikasjonen, hvorved det dannes et polypeptidmiddelkompleks, hvori modifikasjonen assosiert med det rekombinante polypeptid er valgt fra minst én av PEGylering, HESylering,
- 10 stivelseskonfigurasjon («Starchylation») eller polysialylering og hvori kapringsmiddelet er et modifikasjonsgjenkjennende antistoff;
- rensing av polypeptidmiddelkomplekset fra prøven; og
- analysering av tilstedeværelsen av det rekombinante polypeptid og/eller en polypeptidaktivitet, hvori detektering av det rekombinante polypeptid og/eller
- 15 polypeptidaktiviteten er indikasjon på tilstedeværelsen av det rekombinante polypeptid som omfatter modifikasjonen.
2. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori prøven innbefatter et polypeptid uten modifikasjonen og/eller et polypeptid med et annet mønster eller grad av
- 20 modifikasjon; eventuelt
- hvori det rekombinante polypeptid er en vekstfaktor, et cytokin, et immunmodulerende middel, et hormon, et antistoff, et enzym, en enzyminhibitor, en protease, en proteaseinhibitor, en esterase, en transferase, en oksidoreduktase, en hydrolase, en asparaginase, en adenosindeaminase, et neurotoksin, et leverprotein,
- 25 et pankreasprotein, et muskelprotein, et hjerneprotein, et lungeprotein eller et blodprotein;
- eventuelt hvori esterassen er en butyrylkolinesterase eller en acetylkolinesterase;
- eventuelt hvori cytokinet er en kjemokin, en lymfokin, en tumornekrosefaktor, en hematopoietisk faktor;
- 30 eventuelt hvori det immunmodulerende middel er et interleukin eller et interferon;
- eventuelt hvori blodproteinet er et erytropoiesestimulerende middel, en protease, en proteaseinhibitor eller en koagulasjonsfaktor; eventuelt hvori det erytropoiesestimulerende middel er et erytropoietin eller et darbepoetin; eventuelt
- hvori proteasen er trypsin, kymotrypsin, elastase, pepsin eller ADAMTS13; eventuelt
- 35 hvori proteaseinhibitoren er  $\alpha$ 1-antitrypsin,  $\alpha$ 1-antikymotrypsin, C1-inhibitor eller  $\alpha$ 2-antiplasmin, antitrombin;
- eventuelt hvori koagulasjonsfaktoren er en faktor II, en faktor IIa, en faktor VII, en

faktor VIIa, en faktor VIII, en faktor VIIa, en faktor IX, en faktor IXa, en faktor X eller en faktor Xa;

eventuelt hvori blodproteinet er ADAMTS-13,  $\alpha$ 1-antiplasmin,  $\alpha$ 2-antiplasmin, antitrombin, antitrombin III, cancer-prokoagulant, erythropoietin, faktor II, faktor IIa, faktor V, faktor Va, faktor VI, faktor VIa, faktor VII, faktor VIIa, faktor VIII, faktor VIIa, faktor IX, faktor IXa, faktor X, faktor Xa, faktor XI, faktor XIa, faktor XII, faktor XIIa, faktor XIII faktor XIIIa, fibronektin, fibrinogen (faktor I), heparin-kofaktor II, kininogen (HMWK) med høy molekylvekt, intramuskulært immunoglobulin, intravenøst immunoglobulin, plasmin, plasminogen, plasminogenaktivator inhibitor-1 (PAI1), plasminogenaktivator inhibitor-2 (PAI2), prekallikrein, prostacyklin, protein C, aktivt protein C (APC), protein S, protein Z, protein Z-relatert proteaseinhibitor, trombomodulin, vevsfaktor (faktor III), vevsfaktorsporinhibitor (TFPI), vevsplasminogenaktivator (t-PA), urokinase og Von Willebrand-faktor.

3. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-2, hvori prøven innbefatter et rensset preparat av det rekombinante polypeptid, et delvis rensset preparat av det rekombinante polypeptid, et urensset preparat av det rekombinante polypeptid, et formulert preparat av det rekombinante polypeptid; et råkstrakt av det rekombinante polypeptid, en fraksjonert ekstrakt av det rekombinante polypeptid, et cellelysats som inkluderer det rekombinante polypeptid eller en biologisk prøve; eventuelt hvori den biologiske prøven omfatter celler, en vevsprøve, en blodprøve, en kroppsfluidprøve eller en organprøve tatt direkte fra et individ; eventuelt hvori kroppsfluidet er urin, sputum, sæd, avføring, spytt, galle, cerebral væske, vattpinne til bruk i nesen, urogenital vattpinne/tampong, neseaspirat eller spinalvæske; eventuelt hvori den biologiske prøven er et preparat avledet fra en prøve tatt direkte fra et individ; eventuelt hvori preparatet avledet fra prøven tatt direkte fra individet er en plasmafraksjon av en blodprøve, en serumfraksjon av en blodprøve eller et eluat fra en renseprosess.

4. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, hvori prøven behandles for å forbedre polypeptidets detekterbarhet eller forbedre det rekombinante polypeptidets aktivitet; eventuelt hvori behandlingen omfatter lysering, fortykning, rensing, ekstrahering, filtrering, destillasjon, separasjon, konsentrasjon, inaktivering av interfererende komponenter, tilsetning av reagenser eller hvilken som helst kombinasjon derav.

5. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-4, hvori kapringsmiddelet har en assosiasjonshastighetskonstant for et polypeptid som omfatter modifikasjonen på mer enn  $1 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , mer enn  $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , mer enn  $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  eller mer enn  $1 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ; eventuelt hvori kapringsmiddelet har en disassosiasjonshastighetskonstant for et polypeptid som omfatter modifikasjonen på mindre enn  $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ , mindre enn  $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  eller mindre enn  $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ; eventuelt hvori kapringsmiddelet har en likevektsdisassosiasjons-konstant for et polypeptid som omfatter modifikasjonen på mindre enn 0,500 nM, mindre enn 0,450 nM, mindre enn 0,400 nM, mindre enn 0,350 nM, mindre enn 0,300 nM, mindre enn 0,250 nM, mindre enn 0,200 nM, mindre enn 0,150 nM, mindre enn 0,100 nM eller mindre enn 0,050 nM; eventuelt hvori kapringsmiddelet har en assosiasjonshastighetskonstant for et polypeptid uten en modifikasjon eller et polypeptid med et annet mønster eller modifikasjonsgrad på mindre enn  $1 \times 10^0 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , mindre enn  $1 \times 10^1 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , mindre enn  $1 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , mindre enn  $1 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , eller mindre enn  $1 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ; eventuelt hvori kapringsmiddelet har en assosiasjonshastighetskonstant ( $K_a$ ) for det rekombinante polypeptid som omfatter en modifikasjon som er mer enn  $1 \times 10^0 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , mer enn  $1 \times 10^1 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , mer enn  $1 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , mer enn  $1 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  eller mer enn  $1 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  i forhold til assosiasjonshastighetskonstanten ( $K_a$ ) til kapringsmiddelet for et rekombinant polypeptid uten en slik modifikasjon og/eller assosiasjons-hastighetskonstanten ( $K_a$ ) til kapringsmiddelet for et rekombinant polypeptid med et annet mønster eller modifikasjonsgrad; eventuelt hvori kapringsmiddelet har en assosiasjonshastighetskonstant ( $K_a$ ) for det rekombinante polypeptid som omfatter en modifikasjon som er minst 2 ganger mer, minst 3 ganger mer, minst 4 ganger mer, minst 5 ganger mer, minst 6 ganger mer, minst 7 ganger mer, minst 8 ganger mer, minst 9 ganger mer, minst 10 ganger mer, minst 100 ganger mer, minst 1000 ganger mer eller minst 10.000 ganger mer enn assosiasjonshastighetskonstanten ( $K_a$ ) til kapringsmiddelet for et rekombinant polypeptid uten en slik modifikasjon og/eller assosiasjonshastighetskonstanten ( $K_a$ ) til kapringsmiddelet for et rekombinant polypeptid med et annet mønster eller modifikasjonsgrad; eventuelt hvori kapringsmiddelet har et bindingsspesifisitetsforhold for et rekombinant polypeptid som omfatter en modifikasjon i forhold til et rekombinant polypeptid uten en slik modifikasjon og/eller i forhold til et rekombinant polypeptid med et annet mønster eller modifikasjonsgrad på minst 2:1, minst 3:1, minst 4:1, minst 5:1, minst 6:1, minst 7:1, minst 8:1, minst 9:1, minst 10:1, minst 15:1, minst 20:1, minst 25:1, minst 30:1, minst 35:1 eller minst 40:1; eventuelt hvori kapringsmiddelet er et multivalent kapringsmiddel.

6. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-5, hvori kapringsmiddelet skjelner det rekombinante polypeptid som omfatter en modifikasjon fra det samme polypeptid men uten modifikasjonen; eventuelt hvori kapringsmiddelet skjelner det rekombinante polypeptid som omfatter en modifikasjon fra det samme polypeptid, men med et annet mønster eller en grad av samme modifikasjon.
7. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-6, hvori det modifikasjonsgjenkjennende antistoffet er et anti-karbohydratantistoff, et anti-acetylantistoff, et anti-alkylantistoff, et anti-metylantistoff, et anti-amidantistoff, et anti-karboksylantistoff, et anti-glykosylantistoff, et anti-polysialinsyreantistoff, et anti-hydroksylantistoff, et anti-polysakkaridantistoff, et anti-stivelseantistoff, et anti-hydroksyletyl-stivelse(HES)antistoff, et anti-sukkerantistoff eller et anti-polyetylenglykol(PEG)antistoff.
8. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-7, hvori det rekombinante polypeptid som omfatter modifikasjonen eller den rekombinante koagulasjonsfaktor som omfatter modifikasjonen er en PEGylert faktor II, en PEGylert faktor IIa, en polysialylert faktor II, en polysialylert faktor IIa, en HESylert faktor II, en HESylert faktor IIa, en stivelsekonfigurert faktor II eller en stivelse-konfigurert faktor IIa;
- eller hvori det rekombinante polypeptid som omfatter modifikasjonen eller den rekombinante koagulasjonsfaktor som omfatter modifikasjonen er en PEGylert faktor VII, en PEGylert faktor VIIa, en polysialylert faktor VII, en polysialylert faktor VIIa, en HESylert faktor VII, en HESylert faktor VIIa, en stivelsekonfigurert faktor VII eller en stivelsekonfigurert faktor VIIa;
- eller hvori det rekombinante polypeptid som omfatter modifikasjonen eller den rekombinante koagulasjonsfaktor som omfatter modifikasjonen er en PEGylert faktor VIII, en PEGylert faktor VIIIa, en polysialylert faktor VIII, en polysialylert faktor VIIIa, en HESylert faktor VIII, en HESylert faktor VIIIa, en stivelsekonfigurert faktor VIII eller en stivelsekonfigurert faktor VIIIa;
- eller hvori det rekombinante polypeptid som omfatter modifikasjonen eller den rekombinante koagulasjonsfaktor som omfatter modifikasjonen er en PEGylert faktor IX, en PEGylert faktor IXa, en polysialylert faktor IX, en polysialylert faktor IXa, en HESylert faktor IX, en HESylert faktor IXa, en stivelsekonfigurert faktor IX eller en stivelsekonfigurert faktor IXa.

9. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-8, hvori kapringsmiddelet er festet til en fast bærer; eventuelt hvori den faste bærer er en flerbrønnplate, en film, et rør, et ark, en kolonne eller en mikropartikkel.

5 10. Fremgangsmåte for å detektere tilstedeværelsen av:

(i) en PEGylert rekombinant faktor VII, hvori fremgangsmåten omfatter trinnene med: inkubering av en prøve som inkluderer den PEGylerte rekombinante faktor VII med et anti-PEG antistoff under betingelser som tillater den selektive binding av anti-PEG antistoffet til den PEGylerte rekombinante faktor VII og derved dannelse av et faktor VII-antistoffkompleks; rensing av faktor VII-antistoffkomplekset fra prøven; og analysering av tilstedeværelsen av den rekombinante faktor VII og/eller en faktor VII-aktivitet, hvori detektering av faktor VII og/eller faktor VII-aktiviteten er indikasjon på tilstedeværelsen av den PEGylerte rekombinante faktor VII, hvori den PEGylerte rekombinante faktor VII er en faktor VII og/eller en faktor VIIa;

15 (ii) en polysialylert rekombinant faktor VII, hvori fremgangsmåte omfatter trinnene med: inkubering av en prøve som inkluderer den polysialylerte rekombinante faktor VII med et anti-PSA-antistoff under betingelser som tillater den selektive binding av anti-PSA-antistoffet til den polysialylerte rekombinante faktor VII og derved dannelse av et faktor VII-antistoffkompleks; rensing av faktor VII-antistoffkomplekset fra prøven; og analysering av tilstedeværelsen av den rekombinante faktor VII og/eller en faktor VII-aktivitet, hvori detektering av faktor VII og/eller faktor VII-aktiviteten er indikasjon på tilstedeværelsen av den polysialylerte rekombinante faktor VII, hvori den polysialylerte rekombinante faktor VII er en faktor VII og/eller en faktor VIIa;

25 (iii) av en HESylert rekombinant faktor VII, hvori fremgangsmåten omfatter trinnene med: inkubering av en prøve som inkluderer den HESylerte rekombinante faktor VII med et anti-S-antistoff under betingelser som tillater den selektive binding av anti-S-antistoffet til den HESylerte rekombinante faktor VII og derved dannelse av et faktor VII-antistoffkompleks; rensing av faktor VII-antistoffkomplekset fra prøven; og analysering av tilstedeværelsen av den rekombinante faktor VII og/eller en faktor VII-aktivitet, hvori detektering av faktor VII og/eller faktor VII-aktiviteten er indikasjon på tilstedeværelsen av den HESylerte rekombinante faktor VII, hvori den HESylerte rekombinante faktor VII er en faktor VII og/eller en faktor VIIa;

30 (iv) av en stivelsekonfigurert rekombinant faktor VII, hvori fremgangsmåten omfatter trinnene med: inkubering av en prøve innbefattende den stivelsekonfigurerte rekombinante faktor VII med et anti-S-antistoff under betingelser som tillater den selektive binding av anti-S-antistoffet til den stivelsekonfigurerte rekombinante faktor VII og derved dannelse av et faktor VII-antistoffkompleks; rensing av faktor VII-

35

antistoffkomplekset fra prøven; og analysering av tilstedeværelsen av den rekombinante faktor VII og/eller en faktor VII-aktivitet, hvori detektering av faktor VII og/eller faktor VII-aktiviteten er indikasjon på tilstedeværelsen av den stivelsekonfigurerte rekombinante faktor VII, hvori den stivelsekonfigurerte

5 rekombinante faktor VII er en faktor VII og/eller en faktor VIIa;

(v) en PEGylert rekombinant faktor VIII, hvori fremgangsmåten omfatter trinnene med: inkubering av en prøve som inkluderer den PEGylerte rekombinante faktor VIII med et anti-PEG antistoff under betingelser som tillater den selektive binding av anti-PEG antistoffet til den PEGylerte rekombinante faktor VIII, og derved dannelse av et

10 faktor VIII-antistoffkompleks; rensing av faktor VIII-antistoffkomplekset fra prøven; og analysering av tilstedeværelsen av den rekombinante faktor VIII og/eller en faktor VIII-aktivitet, hvori detektering av faktor VIII og/eller faktor VIII-aktiviteten er indikasjon på tilstedeværelse av den PEGylerte rekombinante faktor VIII, hvori den PEGylerte rekombinante faktor VIII er en faktor VIII og/eller en faktor VIIa;

15 (vi) en polysialylert rekombinant faktor VIII, hvori fremgangsmåten omfatter trinnene med: inkubering av en prøve som inkluderer den polysialylerte rekombinante faktor VIII med et anti-PSA-antistoff under betingelser som tillater den selektive binding av anti-PSA-antistoffet til den polysialylerte rekombinante faktor VIII og derved dannelse av et faktor VIII-antistoffkompleks; rensing av faktor VIII-antistoffkomplekset fra

20 prøven; og analysering av tilstedeværelsen av den rekombinante faktor VIII og/eller en faktor VIII-aktivitet, hvori detektering av faktor VIII og/eller faktor VIII-aktiviteten er indikasjon på tilstedeværelsen av den polysialylerte rekombinante faktor VIII, hvori den polysialylerte rekombinante faktor VIII er en faktor VIII og/eller en faktor-VIIa;

(vii) en HESylert rekombinant faktor VIII, hvori fremgangsmåten omfatter trinnene

25 med: inkubering av en prøve som inkluderer den HESylerte rekombinante faktor VIII med et anti-S-antistoff under betingelser som tillater den selektive binding av anti-S-antistoffet til den HESylerte rekombinante faktor VIII og derved dannelse av et faktor VIII-antistoffkompleks; rensing av faktor VIII-antistoffkomplekset fra prøven; og analysering av tilstedeværelsen av den rekombinante faktor VIII og/eller en faktor

30 VIII-aktivitet, hvori detektering av faktor VIII og/eller faktor VIII-aktiviteten er indikasjon på tilstedeværelsen av den HESylerte rekombinante faktor VIII, hvori den HESylerte rekombinante faktor VIII er en faktor VII og/eller en faktor-VIIa;

(viii) en stivelseskonfigurert rekombinant faktor VIII, hvori fremgangsmåten omfatter trinnene med: inkubering av en prøve som innbefatter den stivelseskonfigurerte

35 rekombinante faktor VIII med et anti-S-antistoff under betingelser som tillater den selektive binding av anti-S-antistoffet til den stivelseskonfigurerte rekombinante faktor VIII og derved dannelse av et faktor VIII-antistoffkompleks; rensing av faktor VIII-



antistoffkomplekset fra prøven; og analysering av tilstedeværelsen av den rekombinante faktor VIII og/eller en faktor VIII-aktivitet, hvori detektering av faktor VIII og/eller faktor VIII-aktiviteten er indikasjon på tilstedeværelsen av den stivelseskonfigurerte rekombinante faktor VIII, hvori den stivelseskonfigurerte

5 rekombinante faktor VIII er en faktor VIII og/eller en faktor VIIIA;

(ix) en PEGylert rekombinant faktor IX, hvori fremgangsmåten omfatter trinnene med: inkubering av en prøve som inkluderer den PEGylerte rekombinante faktor IX med et anti-PEG antistoff under betingelser som tillater den selektive binding av anti-PEG antistoffet til den PEGylerte rekombinante faktor IX og derved dannelse av et faktor

10 IX-antistoffkompleks; rensing av faktor IX-antistoffkomplekset fra prøven; og analysering av tilstedeværelsen av den rekombinante faktor IX og/eller en faktor IX-aktivitet, hvori detektering av faktor IX og/eller faktor IX-aktiviteten er indikasjon på tilstedeværelsen av den PEGylerte rekombinante faktor IX, hvori den PEGylerte

15 rekombinante faktor IX er en faktor IX og/eller en faktor IXa;

(x) en polysialylert rekombinant faktor IX, hvori fremgangsmåten omfatter trinnene med: inkubering av en prøve som inkluderer den polysialylerte rekombinante faktor IX med et anti-PSA-antistoff under betingelser som tillater den selektive binding av anti-PSA-antistoffet til den polysialylerte rekombinante faktor IX og derved dannelse av et

20 faktor IX-antistoffkompleks; rensing av faktor IX-antistoffkomplekset fra prøven; og analysering av tilstedeværelsen av den rekombinante faktor IX og/eller en faktor IX-aktivitet, hvori detektering av faktor IX og/eller faktor IX-aktiviteten er indikasjon på tilstedeværelsen av den polysialylerte rekombinante faktor IX, hvori den polysialylerte

25 rekombinante faktor IX er en faktor IX og/eller en faktor IXa;

(xi) en HESylert rekombinant faktor IX, hvori fremgangsmåten omfatter trinnene med: inkubering av en prøve som inkluderer den HESylerte rekombinante faktor IX med et anti-S-antistoff under betingelser som tillater den selektive binding av anti-S-antistoffet til den HESylerte rekombinante faktor IX og derved dannelse av et faktor

30 IX-antistoffkompleks; rensing av faktor IX-antistoffkomplekset fra prøven; og analysering av tilstedeværelsen av den rekombinante faktor IX og/eller en faktor IX-aktivitet, hvori detektering av faktor IX og/eller faktor IX-aktiviteten er indikasjon på tilstedeværelsen av den HESylerte rekombinante faktor IX, hvori den HESylerte

35 rekombinante faktor IX er en faktor IX og/eller en faktor IXa;

(xii) en stivelseskonfigurert rekombinant faktor IX, hvori fremgangsmåten omfatter trinnene med: inkubering av en prøve som inkluderer den stivelseskonfigurerte rekombinante faktor IX med et anti-S-antistoff under betingelser som tillater den selektive binding av anti-S-antistoffet til den stivelseskonfigurerte rekombinante faktor IX og derved dannelse av et faktor IX-antistoffkompleks; rensing av faktor IX-

antistoffkomplekset fra prøven; og analysering av tilstedeværelsen av den rekombinante faktor IX og/eller en faktor IX-aktivitet, hvori detektering av faktor IX og/eller faktor IX-aktiviteten er indikasjon på tilstedeværelsen av den stivelseskonfigurerte rekombinante faktor IX, hvori den stivelseskonfigurerte rekombinante faktor IX er en faktor IX og/eller en faktor IXa.

11. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-10, hvori analysetrinnene utføres ved anvendelse av en kvalitativ analyse eller en kvantitativ analyse, eventuelt hvori analysetrinnene utføres ved anvendelse av en in vitro-analyse, en cellebasert analyse eller en in vivo-analyse.

12. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-11, hvori analysetrinnene utføres ved anvendelse av en ikke-spesifikk polypeptidanalyse eller en spesifikk polypeptidanalyse; eventuelt hvori den ikke-spesifikke polypeptidanalysen er en UV absorpsjonsanalyse, en biuretanalyse eller en Bradford-analyse; eventuelt hvori den spesifikke polypeptidanalysen er et kromogen analyse, en kolorimetrisk analyse, en kronometrisk analyse, en kjemiluminescensanalyse, en elektrokjemiluminescensanalyse, en bioluminescensanalyse, et fluorogen analyse, en resonansenergioverføringsanalyse, et planpolariseringsanalyse, en strømningscytopometrianalyse, en immunobasert analyse eller en aktivitetsanalyse; eventuelt hvori aktivitetsanalysen er en enzymatisk aktivitetsanalyse, en inhibitorisk aktivitetsanalyse, en koagulasjonsaktivitetsanalyse eller en polymeriseringsaktivitetsanalyse.

13. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-12, hvori selektiv binding av kapringsmidelet skjer ved en nøytral til alkalisk pH.

14. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-13, hvori det rekombinante polypeptidet er et terapeutisk polypeptid; eventuelt hvori det terapeutiske polypeptidet er faktor IX (FIX), faktor VIII (FVIII), faktor VIIa (FVIIa), Von Willebrand Factor (VWF), faktor V (FV), faktor X (FX), faktor XI (FXI), faktor XII (FXII), trombin (FN), protein C, protein S, tPA, PAI-1, vevsfaktor (TF), ADAMTS 13-protease, IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-11, kolonistimulerende faktor-1 (CSF-1), M-CSF, SCF, GM-CSF, granulocyt-kolonistimulerende faktor (G-CSF), EPO, interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ), konsensusinterferon, IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IFN- $\omega$ , IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-31, IL-32 alfa, IL-33, trombopoietin (TPO), Ang-1, Ang-2, Ang-4, Ang-Y,

angiopoietinlignende polypeptid 1 (ANGPTL1), angiopoietin-lignende polypeptid 2 (ANGPTL2), angiopoietinlignende polypeptid 3 (ANGPTL3), angiopoietinlignende polypeptid 4 (ANGPTL4), angiopoietinlignende polypeptid 5 (ANGPTL5), angiopoietinlignende polypeptid 6 (ANGPTL6), angiopoietinlignende polypeptide 7 (ANGPTL7), vitronektin, vaskulær endotel vekstfaktor (VEGF), angiogenin, aktivin A, aktivin B, aktivin C, benmorfogent protein-1, benmorfogent protein-2, benmorfogent protein-3, benmorfogent protein-4, benmorfogent protein-5, benmorfogent protein-6, benmorfogent protein-7, benmorfogent protein-8, benmorfogent protein-9, benmorfogent protein-10, benmorfogent protein-11, benmorfogent protein-12, benmorfogent protein-13, benmorfogent protein-14, benmorfogent protein-15, benmorfogen proteinreseptor IA, benmorfogen proteinreseptor IB, benmorfogen proteinreseptor II, hjerneavledet neurotrofisk faktor, kardiotrofin-1, ciliær neutrofisk faktor, ciliær neutrofisk faktor reseptor, kripto, kryptisk, cytokinindusert nøytrofil kjemotaktisk faktor 1, cytokinindusert nøytrofil kjemotaktisk faktor 2 $\alpha$ , cytokinindusert nøytrofil kjemotaktisk faktor 2 $\beta$ ,  $\beta$ -endotelcellevekstfaktor, endotelin 1, epidermal vekstfaktor, epigen, epiregulin, epitel-avledet nøytrofiltiltrekkende middel, fibroblast vekstfaktor 4, fibroblast vekstfaktor 5, fibroblast vekstfaktor 6, fibroblast vekstfaktor 7, fibroblast vekstfaktor 8, fibroblast vekstfaktor 8b, fibroblast vekstfaktor 8c, fibroblast vekstfaktor 9, fibroblast vekstfaktor 10, fibroblast vekstfaktor 11, fibroblast vekstfaktor 12, fibroblast vekstfaktor 13, fibroblast vekstfaktor 16, fibroblast vekstfaktor 17, fibroblast vekstfaktor 19, fibroblast vekstfaktor 20, fibroblast vekstfaktor 21, sur fibroblast vekstfaktor, basisk fibroblast vekstfaktor, gliacellelinjeavledet neutrofisk faktor reseptor  $\alpha$ 1, gliacellelinje-avledet neutrofisk faktor reseptor  $\alpha$ 2, vekstrelatert protein, vekstrelatert protein  $\alpha$ , vekstrelatert protein  $\beta$ , vekstrelatert protein  $\gamma$ , heparinbinding epidermal vekstfaktor, hepatocyttevekstfaktor, hepatocyttevekstfaktorreseptor, hepatomavledet vekstfaktor, insulinlignende vekstfaktor I, insulinlignende vekstfaktorreseptor, insulinlignende vekstfaktor II, insulinlignende vekstfaktorbindende protein, keratinocyttevekstfaktor, leukemiinhiberende faktor, leukemiinhiberende faktor reseptor  $\alpha$ , nervevekstfaktor, nervevekstfaktor reseptor, neuropoietin, neurotrofin-3, neurotropin-4, onkostatin M (OSM), placenta vekstfaktor, placenta vekstfaktor 2, blodplateavledet endotelcellevekstfaktor, blodplateavledet vekstfaktor, blodplateavledet vekstfaktor A-kjede, blodplateavledet vekstfaktor AA, blodplateavledet vekstfaktor AB, blodplateavledet vekstfaktor B-kjede, blodplateavledet vekstfaktor BB, blodplateavledet vekstfaktor reseptor  $\alpha$ , blodplateavledet vekstfaktor reseptor  $\beta$ , pre-B-cellevekststimulerende faktor, stamcellefaktor (SCF), stamcellefaktor reseptor, TNF, TNF0, TNF1, TNF2, transformerende vekstfaktor  $\alpha$ , transformerende vekstfaktor  $\beta$ ,

transformerende vekstfaktor  $\beta 1$ , transformerende vekstfaktor  $\beta 1.2$ , transformerende vekstfaktor  $\beta 2$ , transformerende vekstfaktor  $\beta 3$ , transformerende vekstfaktor  $\beta 5$ , latent transformerende vekstfaktor  $\beta 1$ , transformerende vekstfaktor  $\beta$  bindingsprotein I, transformerende vekstfaktor  $\beta$  bindingsprotein II, transformerende vekstfaktor  $\beta$  bindingsprotein III, tymisk stromal lymfopoietin (TSLP), tumornekrosefaktor reseptor type I, tumornekrosefaktor reseptor type II, urokinasetype plasminogenaktivator reseptor, fosfolipaseaktiverende protein (PUP), insulin, lectin ricin, prolaktin, korionisk gonadotropin, follikelstimulerende hormon, tyreoidestimulerende hormon, vevsplasminogenaktivator, IgG, IgE, IgM, IgA og IgD,  $\alpha$ -galaktosidase,  $\beta$ -galaktosidase, DNase, fetuin, leutiniserende hormon, østrogen, insulin, albumin, lipoproteiner, fetoprotein, transferrin, trombopoietin, urokinase, integrin, trombin, leptin, Humira (adalimumab), Prolia (denosumab), Enbrel (etanercept), eller et biologisk aktivt fragment, derivat eller variant derav.

15 15. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-14, hvori modifikasjonen er valgt fra minst én av HESylering, stivelseskonfigurasjon eller polysialylering.

20 16. Anvendelse av et kit for å gjennomføre en fremgangsmåte for å detektere tilstedeværelsen av et rekombinant polypeptid som omfatter en modifikasjon i henhold til:

(i) et hvilket som helst av kravene 1-14, hvori kittet omfatter;

25 (a) ett eller flere kapringsmidler som selektivt binder til modifikasjonen under betingelser som tillater den selektive binding av kapringsmiddelet til modifikasjonen, hvori modifikasjonen assosiert med det rekombinante polypeptidet er valgt fra minst en av PEGylering, HESylering, stivelseskonfigurasjon eller polysialylering og hvori kapringsmiddelet er et modifikasjonsgjenkjennende antistoff; og

(b) ett eller flere reagenser som er nødvendige for å detektere nærvær og/eller en aktivitet av et rekombinant polypeptid; eller

30 (ii) krav 15, hvori kittet omfatter:

(a') ett eller flere kapringsmidler som selektivt binder til modifikasjonen under betingelser som tillater den selektive binding av kapringsmiddelet til modifikasjonen, hvori modifikasjonen assosiert med det rekombinante polypeptidet er valgt fra minst én av HESylering, stivelseskonfigurasjon eller polysialylering og hvori

35 kapringsmiddelet er et modifikasjonsgjenkjennende antistoff; og

(b') ett eller flere reagenser som er nødvendige for å detektere tilstedeværelsen og/eller en aktivitet av et rekombinant polypeptid.