



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2780717 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
G01N 33/68 (2006.01)
A61K 31/137 (2006.01)
C07K 16/26 (2006.01)
G01N 33/543 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2017.05.15
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2016.12.21
(86)	European Application Nr.	12791143.6
(86)	European Filing Date	2012.11.16
(87)	The European Application's Publication Date	2014.09.24
(30)	Priority	2011.11.16, EP, 11189447 2011.11.16, EP, 11189448 2011.11.16, EP, 11189449 2011.11.16, EP, 11189450 2011.11.16, EP, 11189452 2012.03.16, EP, 12160014 2012.03.16, EP, 12160015 2012.03.16, EP, 12160016 2012.03.16, EP, 12160017 2012.03.16, EP, 12160018 2012.09.27, EP, 12186449
(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	sphingotec GmbH, Neuendorfstrasse 15a, 16761 Hennigsdorf, DE-Tyskland
(72)	Inventor	BERGMANN, Andreas, Am Rosenanger 78, 13465 Berlin, DE-Tyskland
(74)	Agent or Attorney	Plougmann Vingtoft, Postboks 1003 Sentrum, 0104 OSLO, Norge

(54)	Title	ADRENOMEDULLIN ASSAYS AND METHODS FOR DETERMINING MATURE ADRENOMEDULLIN
(56)	References Cited:	WO-A1-2004/090546 LYNLEY K LEWIS ET AL: "Adrenomedullin(1-52) measured in human plasma by radioimmunoassay: plasma concentration, adsorption, and storage", CLINICAL CHEMISTRY, vol. 44, no. 3, 1 March 1998 (1998-03-01), pages 571-577, XP055053149, KAZUO KITAMURA ET AL: "The Intermediate Form of Glycine-Extended Adrenomedullin Is the Major Circulating Molecular Form in Human Plasma", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 244, no. 2, 1 March 1998 (1998-03-01) , pages 551-555, XP055053151, ISSN: 0006-291X, DOI: 10.1006/bbrc.1998.8310 GEBAUER M. ET AL: 'Engineered protein scaffolds as next-generation antibody therapeutics' CURRENT OPINION IN CHEMICAL BIOLOGY, CURRENT BIOLOGY LTD, LONDON, GB vol. 13, no. 3, 01 June 2009, pages 245 - 255, XP026285197 DOI: 10.1016/J.CBPA.2009.04.627 ISSN: 1367-5931 APTAGEN: 'Forget Antibodies. Use Aptamers' INTERNET ARTICLE, [Online] Retrieved from the Internet: <URL:http://www.aptagen.com/home.aspx> [retrieved on 2014-09-12]

NOXXON PHARMA AG: 'Technology' INTERNET ARTICLE, [Online] Retrieved from the Internet: <URL:http://www.noxxon.com/index.php?option=com_content&view=article&id=13&Itemid=466> [retrieved on 2014-09-12]

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.** *In vitro*-fremgangsmåte for oppfølgingsterapi av pasienter som er mistenkt for å ha sepsis hvori konsentrasjonen av moden adrenomedullin (ADM) (1-52-amid) og/eller moden ADM 1-52-Gly i en prøve med kroppsvæske fra pasienten med

5 sepsis bestemmes ved bruk av et assay omfattende to bindemidler valgt fra gruppen omfattende et anti-adrenomedullin antistoff og et anti-ADM-antistoffragment som bindes til ADM, og som binder til to ulike områder innenfor området med moden adrenomedullin (21-52-amid) og/eller adrenomedullin-Gly, som er aminosyre 21-52-amid (SEQ ID No. 1) eller aminosyre 21-52-Gly (SEQ ID

10 No. 2) henholdsvis, hvori hvert av områdene omfatter minst 4 eller 5 aminosyrer.
- 2.** *In vitro*-fremgangsmåte for oppfølgingsterapi av sepsispasienter ifølge krav 1, hvori en av bindemidlene bindes til et område omfattet innenfor følgende sekvens av moden ADM (1-52-amid) og/eller moden ADM-1-52-Gly (SEQ ID No. 4), og

15 hvori den andre av disse bindemidlene bindes til et område omfattet innenfor følgende sekvens av moden ADM (1-52-amid) og/eller moden ADM 1-52-Gly (SEQ ID No. 5).
- 3.** *In vitro*-fremgangsmåte for oppfølgingsterapi av sepsispasienter ifølge krav 1

20 eller 2, hvori assaysensitiviteten til assayet kan kvantifisere ADM i friske personer og er < 10 pg/ml, foretrukket < 40 pg/ml og mer foretrukket < 70 pg/ml.
- 4.** *In vitro*-fremgangsmåte for oppfølgingsterapi av sepsispasienter ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvori bindemiddelet foreviser en

25 bindingsaffinitet til moden ADM (1-52-amid) og/eller moden ADM-52-Gly av minst 10^7 M^{-1} .
- 5.** *In vitro*-fremgangsmåte for oppfølgingsterapi av sepsispasienter ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvori et slikt assay er et sandwich-assay,

30 foretrukket et fullt automatisert assay.
- 6.** *In vitro*-fremgangsmåte for oppfølgingsterapi av sepsispasienter ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvori minst ett av bindemidlene er merket for å kunne påvises.

7. *In vitro*-fremgangsmåte for oppfølgingsterapi av sepsispasienter ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6, hvori minst ett av bindemidlene er bundet til en fast fase.

5

8. *In vitro*-fremgangsmåte for oppfølgingsterapi av sepsispasienter ifølge krav 6, hvori markøren er valgt fra en gruppe bestående av kjemoluminescerende markør, enzymmarkør, fluorescensmarkør, radiojodmarkør.

10 **9.** *In vitro*-fremgangsmåte for oppfølgingsterapi av sepsispasienter ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8, hvori konsentrasjonen av moden ADM (1-52-amid) og/eller moden ADM 1-52-Gly målt i prøven er i området mellom 10–500 pg/ml.

15 **10.** *In vitro*-fremgangsmåte for oppfølgingsterapi av sepsispasienter ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 9, hvori en terskel anvendes hvorav en verdi over terskelen indikerer at en pasient ikke responderer eller responderer dårlig på behandling, og hvorav en verdi under terskelen indikerer at en pasient responderer på behandling.

20

11. *In vitro*-fremgangsmåte for oppfølgingsterapi av sepsispasienter ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 10, hvori en terskel på 60 til 80 pg/ml, foretrukket 70 pg/ml anvendes.

25 **12.** *In vitro*-fremgangsmåte for oppfølgingsterapi av sepsispasienter ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 11, hvori prøven er valgt fra en gruppe bestående av humant citratplasma, heparinplasma, EDTA-plasma, full blod.

13. *In vitro*-fremgangsmåte for oppfølgingsterapi av sepsispasienter ifølge krav 30 12, hvori prøven som er tatt måles direkte uten ytterligere prøveforberedelse.

14. *In vitro*-fremgangsmåte for oppfølgingsterapi av sepsispasienter ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 13, hvori en slik fremgangsmåte utføres på en fullt automatisert enhet.

35

15. *In vitro*-fremgangsmåte for oppfølgingsterapi av sepsispasienter ifølge et hvilket som helst av kravene 1–14, hvori moden ADM (1-52-amid) og/eller moden ADM 1-52-Gly er bestemt i minst to prøver hvori prøvene tas ved forskjellige tidspunkt fra sepsispasientene.

5

16. *In vitro*-fremgangsmåte for oppfølgingsterapi av sepsispasienter ifølge et hvilket som helst av kravene 1–15, hvori prøvevolumet målt er mindre enn eller likt 50 µl

- 10 **17.** Assay for å bestemme moden adrenomedullin (1-52-amid) og/eller adrenomedullin-Gly i en prøve omfattende to bindemiddel som er valgt fra to bindemiddel som er valgt fra gruppen omfattende et anti-adrenomedullin antistoff og et anti-ADM-antistoffragment som bindes til ADM og som binder to ulike områder innen området for moden adrenomedullin (1-52-amid) og/eller
- 15 adrenomedullin-Gly, som er henholdsvis aminosyre 21-52-amid SEQ ID No. 1 eller aminosyre 21-52-Gly av moden adrenomedullin SEQ ID No. 2, hvori hver av områdene omfatter minst 4 eller 5 aminosyrer og hvori assayet ikke er et manuell «coated-tube-Akridiniumester» sandwich-assay.

- 20 **18.** Assay for å bestemme moden adrenomedullin (1-52-amid) og/eller adrenomedullin-Gly i en prøve omfattende to bindemiddel som er valgt fra gruppen omfattende et anti-adrenomedullin antistoff og et anti-ADM-antistoffragment som bindes til ADM og binder til to ulike områder innen området for moden adrenomedullin (1-52-amid) og/eller adrenomedullin-Gly, som er
- 25 henholdsvis aminosyre 21-52-amid (SEQ ID No. 1) eller aminosyre 21-52-Gly av moden adrenomedullin (SEQ ID No. 2), hvori hver av områdene omfatter minst 4 eller 5 aminosyrer og hvori assayet er et manuell «coated-tube-Akridiniumester» sandwich-assay og hvori et av bindemidlene er et antistoff som bindes til SEQ ID No. 6 CTVQKLAHQIYQ og hvori det andre av bindemidlene er et antistoff som
- 30 bindes til SEQ ID No. 7 APRSKISPQGY hvori karboksylsyren er erstattet med en amidgruppe (APRSKISPQGY-CO-NH₂).

- 19.** Assay for å bestemme moden adrenomedullin (1-52-amid) og/eller adrenomedullin-Gly i en prøve ifølge krav 17, hvori et av bindemidlene bindes til
- 35 et område omfattet innenfor følgende sekvens av moden ADM-1-52-Gly (SEQ ID

No.4) og hvori den andre av disse bindemidlene bindes til et området omfattet innenfor følgende sekvens av moden ADM (1-52-amid) og/eller moden ADM 1-52-Gly (SEQ ID No.5).

- 5 **20.** Assay for å bestemme moden adrenomedullin (1-52-amid) og/eller adrenomedullin-Gly i en prøve ifølge et hvilket som helst av kravene 17 til 19 hvori assaysensitiviteten for assayet kan kvantifisere ADM for friske personer og er < 10 pg/ml, foretrukket < 40 pg/ml og mer foretrukket < 70 pg/ml,
- 10 **21.** Assay for å bestemme moden adrenomedullin (1-52-amid) og/eller adrenomedullin-Gly i en prøve ifølge et hvilket som helst av kravene 17 til 20, hvori bindemiddelet foreviser en bindingsaffinitet til adrenomedullin på minst 10^7M^{-1} .
- 15 **22.** Assay for å bestemme moden adrenomedullin (1-52-amid) og/eller adrenomedullin-Gly i en prøve ifølge et hvilket som helst av kravene 17 til 21, hvori slikt assay er et sandwich-assay, foretrukket et helautomatisert assay.
- 23.** Assay for å bestemme moden adrenomedullin (1-52-amid) og/eller
20 adrenomedullin-Gly i en prøve ifølge et hvilket som helst av kravene 17 til 22, hvori mins en av de to bindemidlene er merket for å påvises.
- 24.** Assay for å bestemme moden adrenomedullin (1-52-amid) og/eller
25 adrenomedullin-Gly i en prøve ifølge et hvilket som helst av kravene 17 til 23, hvori minst en av de to bindemidlene er bundet til en fast fase.
- 25.** Assay for å bestemme moden adrenomedullin (1-52-amid) og/eller adrenomedullin-Gly i en prøve ifølge krav 23, hvori markøren er valgt fra en gruppe bestående av kjemoluminescerende markør, enzymmarkør,
30 fluorescensmarkør, radiojodmarkør.
- 26.** Sett omfattende et assay ifølge et hvilket som helst av kravene 17 til 25, hvori komponentene i assayet kan være omfattet i en eller flere beholdere.

27. Fremgangsmåte for kalibrering av et assay ifølge krav 17, hvori det anvendes et bindemiddel som bindes til et område på minst 5 aminosyrer med moden adrenomedullin (1-52-amid) og/eller adrenomedullin-Gly aminosyrer 1-16 (SEQ ID No.8), hvori bindemiddelet er valgt fra gruppen omfattende et anti-ADM-antistoff og et anti-ADM-antistofffragment.

28. Fremgangsmåte for kalibrering av et assay ifølge krav 27, hvori bindemiddelet gjenkjenner og bindes til den N-terminale enden av moden adrenomedullin (1-52-amid) og/eller adrenomedullin-Gly, hvori bindemiddelet er valgt fra gruppen omfattende et anti-ADM-antistoff og et anti-ADM-antistofffragment.