



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3281953 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 16/18 (2006.01)
C12N 9/50 (2006.01)
C12Q 1/37 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)
G01N 33/573 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2020.02.24
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2019.10.02
(86)	European Application Nr.	17192861.7
(86)	European Filing Date	2010.03.12
(87)	The European Application's Publication Date	2018.02.14
(30)	Priority	2009.03.13, US, 160217 P
(84)	Designated Contracting States:	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 ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR
(73)	Proprietor	ALLERGAN, INC., 2525 Dupont Drive, Irvine, CA 92612, USA
(72)	Inventor	Wang, Joanne, 37 Bristlecone, Irvine, CA California 92620, USA Zhu, Hong, 11408 Pacific Shores Way, San Diego, CA California 92130, USA Hodges, D. Diane, 14351 Pinewood Road, Trustin, CA California 92780, USA Fernandez-Salas, Ester, 1710 Rocky Road, Fullerton, CA California 92831, USA
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54)	Title	IMMUNO-BASED RETARGETED ENDOPEPTIDASE ACTIVITY ASSAYS
(56)	References Cited:	WO-A1-95/33850 US-A1- 2004 219 619 WO-A1-96/33273 JONES ET AL: "Development of improved SNAP25 endopeptidase immuno-assays for botulinum type A and E toxins", JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V.,AMSTERDAM, NL, vol. 329, no. 1-2, 23 October 2007 (2007-10- 23), pages 92-101, XP022389333, ISSN: 0022-1759

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 påvise remålrettet endopeptidaseaktivitet, fremgangsmåten
omfatter trinnene å: a) behandle en celle fra en etablert cellelinje med en prøve
5 omfattende en remålrettet endopeptidase, hvori cellen fra en etablert cellelinje er
mottakelig for remålrettet endopeptidaseaktivitet ved en remålrettet endopeptidase;
b) isolere fra den behandlede cellelinjen en SNAP-25-komponent omfattende et SNAP-
25-spaltungsprodukt med en karboksylterminal ved P₁-residuet av BoNT/A-
spaltungssted-spaltungsbindingen; c) kontakte SNAP-25-komponenten med et α-SNAP-
10 25-antistoff, hvori α-SNAP-25-antistoffet binder en epitop omfattende en
karboksylterminal ved P₁-residuet av BoNT/A-spaltungssted-spaltungsbindingen fra et
SNAP-25-spaltungsprodukt; og d) påvise nærvær av et antistoff-antigen-kompleks
omfattende α-SNAP-25-antistoffet og SNAP-25-spaltungsproduktet; hvori påvisning av
antistoff-antigen-komplekset er en indikasjon på remålrettet endopeptidaseaktivitet,
15 hvori α-SNAP-25-antistoffet binder en epitop omfattende en karboksylterminal ved P₁-
residuet av BoNT/A-spaltungssted-spaltungsbindingen fra et SNAP-25-spaltungsprodukt
og hvori det isolerte α-SNAP-25-antistoffet har et V_HCDR1 av SEQ ID NO:93, et
V_HCDR2 av SEQ ID NO:96, et V_HCDR3 av SEQ ID NO:100, et V_LCDR1 av SEQ ID
NO:105, et V_LCDR2 av SEQ ID NO:110, og et V_LCDR3 av SEQ ID NO:115.
20
2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor α-SNAP-25-antistoffet er bundet til en
fastfasebærer.
3. Fremgangsmåte ifølge krav 2, omfattende et trinn å feste SNAP-25-komponenten til
25 nevnte fastfasebærer.
4. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 - 3, hvori cellen er mottagelig
for remålrettet endopeptidaseaktivitet med omtrent 500 nM eller mindre, med omtrent
400 nM eller mindre, med omtrent 300 nM eller mindre, med omtrent 200 nM eller
30 mindre, med omtrent 100 nM eller mindre av en remålrettet endopeptidase.
5. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvori cellen kan ta opp
omtrent 500 nM eller mindre, omtrent 400 nM eller mindre, omtrent 300 nM eller
mindre, omtrent 200 nM eller mindre, omtrent 100 nM eller mindre av remålrettet
35 endopeptidase.

6. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvori prøven omfatter omtrent 100 ng eller mindre, omtrent 10 ng eller mindre, omtrent 1 ng eller mindre, 100 fg eller mindre, 10 fg eller mindre, eller 1 fg eller mindre av en remålrettet endopeptidase.
- 5
7. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvori prøven omfatter omtrent 100 nM eller mindre, omtrent 10 nM eller mindre, omtrent 1 nM eller mindre, omtrent 0,5 nM eller mindre, eller omtrent 0,1 nM eller mindre, av en remålrettet endopeptidase.
- 10
8. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvori tilstedeværelsen av et antistoff-antigen-kompleks blir påvist ved en immunblotanalyse, en immunutfellingsanalyse, en ELISA eller en sandwich-ELISA.
- 15
9. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1-8, hvori α -SNAP-25-antistoffet har en assosiasjonshastighetskonstant for en epitop som ikke omfatter et karboksylterminalglutamin av BoNT/A-spaltingssted-spaltingsbindingen fra et SNAP-25-spaltingsprodukt på mindre enn $1 \times 10^1 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$; og hvor α -SNAP-25-antistoffet har en likevektdisassosiasjonskonstant for epitopen på mindre enn 0,450 nM.
- 20
10. Isolert monoklonalt α -SNAP-25-antistoff med et V_H CDR1 av SEQ ID NO:93, et V_H CDR2 av SEQ ID NO:96, et V_H CDR3 av SEQ ID NO:100, et V_L CDR1 av SEQ ID NO:105, et V_L CDR2 av SEQ ID NO:110, og et V_L CDR3 av SEQ ID NO:115.