



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3356826 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
G01N 33/574 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2024.02.19
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2023.12.06
(86)	European Application Nr.	16778307.5
(86)	European Filing Date	2016.09.30
(87)	The European Application's Publication Date	2018.08.08
(30)	Priority	2015.10.02, GB, 201517528
(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	Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Sanderring 2, 97070 Würzburg, Tyskland
(72)	Inventor	WISCHHUSEN, Jörg, Leutfresserweg 14a, 97082 Würzburg, Tyskland SCHÄFER, Tina, Schulgasse 5, 97204 Höchberg, Tyskland WEIDE, Benjamin, Mohlstr. 11, 72074 Tübingen, Tyskland
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54)	Title	GDF-15 AS A DIAGNOSTIC MARKER FOR MELANOMA
(56)	References Cited:	WO-A1-2015/144855, WO-A1-2014/049087, EP-A1- 2 694 973 SUNG JIN HUH ET AL: "Tumorigenesis and Neoplastic Progression Macrophage Inhibitory Cytokine-1 Regulates Melanoma Vascular Development", AM J PATHOL, vol. 176, 1 June 2010 (2010-06-01), pages 2948-2957, XP055330224, MURIELLE MIMÉAULT ET AL: "Divergent molecular mechanisms underlying the pleiotropic functions of macrophage inhibitory cytokine-1 in cancer", JOURNAL OF CELLULAR PHYSIOLOGY, vol. 224, no. 3, 12 May 2010 (2010-05-12), pages 626-635, XP055330227, US ISSN: 0021-9541, DOI: 10.1002/jcp.22196 ANDREAS MAUERER ET AL: "Identification of new genes associated with melanoma", EXPERIMENTAL DERMATOLOGY, vol. 20, no. 6, 16 March 2011 (2011-03-16) , pages 502-507, XP055122228, ISSN: 0906-6705, DOI: 10.1111/j.1600-0625.2011.01254.x Betül Ünal ET AL: "The divergent roles of growth differentiation factor-15 (GDF-15) in benign and malignant skin pathologies", ARCHIVES OF DERMATOLOGICAL RESEARCH., vol. 307, no. 7, 18 February 2015 (2015-02-18), pages 551-557, XP055677903, DE ISSN: 0340-3696, DOI: 10.1007/s00403-015-1546-2 ZHANG L ET AL: "Expression of growth differentiation factor 15 is positively correlated with histopathological malignant grade and in vitro cell proliferation in oral squamous cell carcinoma", ORAL ONCOLOGY, ELSEVIER SCIENCE, OXFORD, GB, vol. 45, no. 7, 1 July 2009 (2009-07-01), pages 627-632, XP026285229, ISSN: 1368-8375, DOI: 10.1016/J.ORALONCOLOGY.2008.07.017 [retrieved on 2008-09-19] ANNETTE PFLUGFELDER ET AL: "Malignant Melanoma S3-Guideline "Diagnosis, Therapy and Follow-up of Melanoma"", JDDG. JOURNAL DER DEUTSCHEN DERMATOLOGISCHEN GESELLSCHAFT, vol. 11, no. s6, 1 August 2013 (2013-08-01), pages 1-116, XP055330231, DE ISSN: 1610-0379, DOI: 10.1111/ddg.12113_suppl

MATTHEW N. SIROTT ET AL: "Prognostic factors in patients with metastatic malignant melanoma: A multivariate analysis", *CANCER.*, vol. 72, no. 10, 15 November 1993 (1993-11-15), pages 3091-3098, XP055330232, US ISSN: 0008-543X, DOI: 10.1002/1097-0142(19931115)72:10<3091::AID-CNCR2820721034>3.0.CO;2-V

SARAH L. LAKE ET AL: "Comparison of Formalin-Fixed and Snap-Frozen Samples Analyzed by Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification for Prognostic Testing in Uveal Melanoma", *INVESTIGATIVE OPHTHALMOLOGY & VISUAL SCIENCE*, vol. 53, no. 6, 4 May 2012 (2012-05-04), page 2647, XP055296795, US ISSN: 1552-5783, DOI: 10.1167/iops.12-9584

Hargita Hegyesi ET AL: "Validation of Growth Differentiation Factor (GDF-15) as a Radiation Response Gene and Radiosensitizing Target in Mammary Adenocarcinoma Model", , 1 January 2012 (2012-01-01), XP055313890, Retrieved from the Internet: URL:[http://cdn.intechopen.com/pdfs/24965.p df](http://cdn.intechopen.com/pdfs/24965.pdf) [retrieved on 2016-10-25]

DE WIT N J W ET AL: "Analysis of differential gene expression in human melanocytic tumour lesions by custom made oligonucleotide arrays", *BRITISH JOURNAL OF CANCER*, NATURE PUBLISHING GROUP, GB, vol. 92, no. 12, 1 June 2005 (2005-06-01), pages 2249-2261, XP008121830, ISSN: 0007-0920, DOI: 10.1038/SJ.BJC.6602612 [retrieved on 2005-06-14]

M MIMEAULT ET AL: "Marked improvement of cytotoxic effects induced by docetaxel on highly metastatic and androgen-independent prostate cancer cells by downregulating macrophage inhibitory cytokine-1", *BRITISH JOURNAL OF CANCER*, vol. 108, no. 5, 28 February 2013 (2013-02-28), pages 1079-1091, XP055330293, GB ISSN: 0007-0920, DOI: 10.1038/bjc.2012.484

DANIELA SUESSKIND ET AL: "GDF-15: a novel serum marker for metastases in uveal melanoma patients", *GRAEFES ARCHIVE FOR CLINICAL AND EXPERIMENTAL OPHTHALMOLOGY ; INCORPORATING GERMAN JOURNAL OF OPHTHALMOLOGY*, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 250, no. 6, 1 September 2011 (2011-09-01), pages 887-895, XP035058124, ISSN: 1435-702X, DOI: 10.1007/S00417-011-1786-6

KONSTANTINOS G. LASITHIOTAKIS ET AL: "The incidence and mortality of cutaneous melanoma in southern Germany", *CANCER.*, vol. 107, no. 6, 1 January 2006 (2006-01-01), pages 1331-1339, XP055330221, US ISSN: 0008-543X, DOI: 10.1002/cncr.22126

B WEIDE ET AL: "Serum markers lactate dehydrogenase and S100B predict independently disease outcome in melanoma patients with distant metastasis", *BRITISH JOURNAL OF CANCER*, vol. 107, no. 3, 10 July 2012 (2012-07-10) , pages 422-428, XP055330215, GB ISSN: 0007-0920, DOI: 10.1038/bjc.2012.306

GLEN M. BOYLE ET AL: "Macrophage Inhibitory Cytokine-1 Is Overexpressed in Malignant Melanoma and Is Associated with Tumorigenicity", *JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY*, vol. 129, no. 2, 28 August 2008 (2008-08-28), pages 383-391, XP055330204, US ISSN: 0022-202X, DOI: 10.1038/jid.2008.270

J. CORRE ET AL: "Concise Review: Growth Differentiation Factor 15 in Pathology: A Clinical Role?", *STEM CELLS TRANSLATIONAL MEDICINE : SCTM*, vol. 2, no. 12, 1 December 2013 (2013-12-01), pages 946-952, XP055330730, Durham ISSN: 2157-6564, DOI: 10.5966/sctm.2013-0055

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 forutsi sannsynligheten for overlevelse av en menneskelig melanompasient, hvori fremgangsmåten omfatter trinnene:

- a) å bestemme nivået av hGDF-15 i en menneskelig blodprøve oppnådd fra nevnte pasient; og
- b) å forutsi nevnte sannsynlighet for overlevelse basert på det bestemte nivået av hGDF-15 i nevnte menneskelige blodprøve; hvori et redusert nivå av hGDF-15 i nevnte menneskelige blodprøve indikerer en økt sannsynlighet for overlevelse, hvori den menneskelige melanompasienten er en tumorfri stadium III melanompasient eller en ikke-opererbar stadium IV melanompasient, hvori trinn b) omfatter å sammenligne nevnte nivå av hGDF-15 bestemt i trinn a) med et hGDF-15-terskelnivå, hvori nevnte sannsynlighet er forutsagt basert på sammenligningen av nevnte nivå av hGDF-15 bestemt i trinn a) med nevnte hGDF-15-terskelnivå; og hvor et nivå av hGDF-15 i nevnte menneskelige blodprøve som er redusert sammenlignet med nevnte hGDF-15-terskelnivå indikerer at sannsynligheten for overlevelse er økt sammenlignet med en sannsynlighet for overlevelse på eller over nevnte hGDF-15-terskelnivå, hvori den menneskelige blodprøven er en menneskelig serumprøve, og hvori hGDF-15-terskelnivået er et nivå valgt fra området mellom 1,1 ng/ml og 2,2 ng/ml.

2. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori hGDF-15-terskelnivået er et hGDF-15-nivå valgt fra området mellom 1,2 ng/ml og 2,0 ng/ml.

3. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori hGDF-15-terskelnivået er et hGDF-15-nivå valgt fra området mellom 1,3 ng/ml og 1,8 ng/ml.

4. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori hGDF-15-terskelnivået er et hGDF-15-nivå valgt fra området mellom 1,4 ng/ml og 1,6 ng/ml.

5. Fremgangsmåten ifølge krav 1, hvori hGDF-15-terskelnivået er 1,5 ng/ml.

6. Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av de foregående kravene,

hvori trinn a) videre omfatter å bestemme nivået av laktatdehydrogenase i nevnte menneskelige blodprøve, og hvori i trinn b), nevnte sannsynlighet for overlevelse er også forutsagt basert på det bestemte nivået av laktatdehydrogenase i nevnte menneskelige blodprøve; og hvori et redusert nivå av laktatdehydrogenase i nevnte menneskelige blodprøve indikerer en økt sannsynlighet for overlevelse; hvori trinn b) valgfritt omfatter å sammenligne nevnte nivå av laktatdehydrogenase bestemt i trinn a) med et terskelnivå for laktatdehydrogenase, hvori nevnte sannsynlighet også er forutsagt basert på sammenligningen av nevnte nivå av laktatdehydrogenase bestemt i trinn a) med nevnte laktatdehydrogenase terskelnivå; og hvori et nivå av laktatdehydrogenase i nevnte menneskelige blodprøve som er redusert sammenlignet med nevnte laktatdehydrogenaseterskelnivå eller er på nevnte laktatdehydrogenaseterskelnivå indikerer at sannsynligheten for overlevelse er økt sammenlignet med en sannsynlighet for overlevelse over nevnte laktatdehydrogenaseterskelnivå; hvori trinn a) valgfritt videre omfatter å bestemme nivået av S100B i nevnte menneskelige blodprøve, og hvori i trinn b), nevnte sannsynlighet for overlevelse også er forutsagt basert på det bestemte nivået av S100B i nevnte menneskelige blodprøve; og hvori et redusert nivå av S100B i nevnte menneskelige blodprøve indikerer en økt sannsynlighet for overlevelse,

fortrinnsvis hvor trinn b) omfatter å sammenligne nevnte nivå av S100B bestemt i trinn a) med et S100B-terskelnivå, hvori nevnte sannsynlighet er forutsagt basert på sammenligningen av nevnte nivå av S100B bestemt i trinn a) med nevnte S100B-terskelnivå; og hvori et nivå av S100B i nevnte menneskelige blodprøve som er redusert sammenlignet med nevnte S100B-terskelnivå eller er ved nevnte S100B-terskelnivå indikerer at sannsynligheten for overlevelse er økt sammenlignet med en sannsynlighet for overlevelse over nevnte S100B-terskelnivå.

- 7.** Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av de foregående kravene, hvori i trinn b), nevnte sannsynlighet for overlevelse også forutsies basert på alderen til nevnte pasient; og hvor en økt alder indikerer en redusert sannsynlighet for overlevelse,

fortrinnsvis hvor trinn b) omfatter å sammenligne alderen til nevnte pasient med en terskelalder, hvori nevnte sannsynlighet er forutsagt basert på sammenligningen av alderen til nevnte pasient med terskelalderen; og hvori en alder for nevnte pasient som er lik eller økt sammenlignet med terskelalderen indikerer at sannsynligheten for overlevelse er redusert sammenlignet med en sannsynlighet for overlevelse under terskelalderen, mer foretrukket hvor nevnte terskelalder er valgt fra området 60 til 65 år, mest foretrukket hvor nevnte terskelalder er 63 år.

- 8.** Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av de foregående kravene, hvori i trinn b), nevnte sannsynlighet for overlevelse også er forutsagt basert på metastase; og hvori tilstedeværelsen av metastaser i andre viscerale organer enn lunge indikerer at sannsynligheten for overlevelse er redusert sammenlignet med sannsynligheten for overlevelse når metastaser er fraværende fra andre viscerale organer enn lunge.

- 9.** Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av de foregående kravene, hvori trinn a) omfatter å bestemme nivået av hGDF-15 ved å bruke ett eller flere antistoffer som er i stand til å binde til hGDF-15 eller en antigenbindende del derav,

fortrinnsvis hvor det ene eller flere antistoff som er i stand til å binde til hGDF-15 eller den antigenbindende delen derav danner et kompleks med hGDF-15, og/eller hvori ett eller flere antistoffer omfatter minst ett polyklonalt antistoff, og/eller hvori det ene eller flere antistoff eller den antigenbindende delen omfatter minst ett monoklonalt antistoff eller en antigenbindende del derav, og hvori bindingen fortrinnsvis binder til en konformasjonell eller diskontinuerlig epitop på hGDF-15, og hvori den konformasjonelle eller diskontinuerlige epitopen er omfattet av aminosyresekvensene til SEKV ID NR: 25 og SEKV ID NR: 26, og hvori fortrinnsvis antistoffet eller den antigenbindende delen derav omfatter et tungkjede variabelt domene som omfatter en CDR1-region som omfatter aminosyresekvens av SEKV ID NR: 3, en CDR2-region som omfatter aminosyresekvensen til SEKV ID NR: 4 og en CDR3-region som omfatter aminosyresekvensen til SEKV ID NR: 5, og antistoffet eller den antigenbindende delen derav omfatter en lett kjede variabelt domene som omfatter en CDR1-region som omfatter aminosyresekvensen til SEKV ID NR: 6, en CDR2-region som omfatter aminosyresekvensen ser-ala-ser og en CDR3-region som omfatter aminosyresekvensen til SEKV ID NR: 7.

- 10.** Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 9, hvori nivået av hGDF-15 i trinn a) bestemmes ved å fange hGDF-15 med et monoklonalt antistoff eller antigenbindende fragment derav ifølge krav 9 og ved å påvise hGDF-15 med et polyklonalt antistoff, eller ved å påvise hGDF-15 med et monoklonalt antistoff eller

antigenbindende fragment derav som binder seg til en forskjellig epitop enn antistoffet som fanger hGDF-15.

11. Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av de foregående kravene, hvori fremgangsmåten er en *in vitro* fremgangsmåte.

12. Fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av de foregående kravene, hvori

- (i) i trinn a), blir nivået av hGDF-15 i den menneskelige blodprøven bestemt ved en enzymkoblet immunosorbentanalyse, eller
- (ii) i trinn a), blir nivået av hGDF-15 i den menneskelige blodprøven bestemt ved en elektrokjemiluminescensanalyse, og hvori elektrokjemiluminescensanalysen fortrinnsvis er en sandwich-deteksjonsmetode som omfatter et trinn med å danne et deteksjonskompleks mellom

- (A) streptavidin-belagte perler;
 - (B) et biotinyllert første antistoff eller antigenbindende del derav som er i stand til å binde til hGDF-15;
 - (C) hGDF-15 fra prøven; og
 - (D) et ruteniumkompleks-merket andre antistoff eller antigenbindende del derav som er i stand til å binde til hGDF-15;
- hvori deteksjonskomplekset har strukturen (A)-(B)-(C)-(D), og hvori det biotinyllerte første antistoffet eller den antigenbindende delen derav binder seg til en første hGDF-15-epitop og det ruteniumkompleks-merkede andre antistoffet eller antigenbindende del derav binder seg til en andre hGDF-15 epitop som er forskjellig fra den første hGDF-15 epitopen, hvori fremgangsmåten videre omfatter et trinn med å detektere deteksjonskomplekset ved å måle elektrokjemiluminescens, og hvori nivået av hGDF-15 i den menneskelige blodprøven bestemmes basert på elektrokjemiluminescensmålingen.

13. Apparat konfigurert til å utføre fremgangsmåten ifølge hvilket som helst av kravene 1-12, hvori apparatet er en elektrokjemiluminescensanalysator konfigurert til å utføre fremgangsmåten ifølge krav 12, hvori i trinn a), nivået av hGDF-15 i den menneskelige blodprøven bestemmes ved en elektrokjemiluminescensanalyse.

14. Bruk av et deteksjonssett i en fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1-12, hvor deteksjonssettet omfatter:

- (i) streptavidin-belagte perler;
- (ii) et biotinyllert første antistoff eller antigenbindende del derav som er i stand til å binde til hGDF-15;
- (iii) rekombinant hGDF-15, fortrinnsvis i form av en bufret løsning omfattende rekombinant hGDF-15, den bufrede løsningen har en pH i området 4 til 7;
- (iv) et ruteniumkompleks-merket andre antistoff eller antigenbindende del derav som er i stand til å binde til hGDF-15; og valgfritt
- (v) instruksjoner for bruk, fortrinnsvis instruksjoner for bruk i en fremgangsmåte ifølge kravene 1-12; og helst
- (vi) en beholder som inneholder nevnte rekombinante hGDF-15, hvori overflaten av beholderen som er i kontakt med rekombinant hGDF-15 er belagt med et ikke-klebende materiale, hvori det biotinyllerte første antistoffet eller antigenbindende del derav er i stand til å binde seg til en første hGDF-15 epitop og det ruteniumkompleksmerkede andre antistoffet eller antigenbindende delen derav er i stand til å binde seg til en andre hGDF-15 epitop som er forskjellig fra nevnte første hGDF-15 epitop,

fortrinnsvis hvor ett av det første antistoffet eller antigenbindende del derav som er i stand til å binde til hGDF-15 og andre antistoff eller antigenbindende del derav som er i stand til å binde til hGDF-15 er et monoklonalt antistoff eller antigenbindende del derav, hvori bindingen binder seg til en konformasjons- eller diskontinuerlig epitop på hGDF-15 som er omfattet av aminosyresekvensene til SEKV ID NR: 25 og SEKV ID NR: 26, og hvori fortrinnsvis, antistoffet eller den antigenbindende delen derav omfatter et tungkjede variabelt domene som omfatter en CDR1-region som omfatter aminosyresekvensen til SEKV ID NR: 3, en CDR2-region som omfatter aminosyresekvensen til SEKV ID NR: 4 og en CDR3-region som omfatter aminosyresekvensen til SEKV ID NR: 5, og antistoffet eller den antigenbindende delen derav omfatter et lett kjede variabelt domene som omfatter en CDR1-region som omfatter aminosyresekvensen til SEKV ID NR: 6, en CDR2-region som omfatter aminosyren sekvens ser-ala-ser og en CDR3-region som omfatter aminosyresekvensen til SEKV ID NR: 7.