



(12) Translation of  
European patent specification

(11) NO/EP 3365685 B1

NORWAY

(19) NO  
(51) Int Cl.  
**G01N 33/68 (2006.01)**  
**G01N 33/86 (2006.01)**

**Norwegian Industrial Property Office**

---

|      |                                                                            |                                                                                                                                                                                                   |
|------|----------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (45) | Translation Published                                                      | 2021.05.03                                                                                                                                                                                        |
| (80) | Date of The European<br>Patent Office Publication of<br>the Granted Patent | 2020.11.25                                                                                                                                                                                        |
| (86) | European Application Nr.                                                   | 16791171.8                                                                                                                                                                                        |
| (86) | European Filing Date                                                       | 2016.10.19                                                                                                                                                                                        |
| (87) | The European Application's<br>Publication Date                             | 2018.08.29                                                                                                                                                                                        |
| (30) | Priority                                                                   | 2015.10.19, US, 201562243505 P<br>2016.05.12, US, 201662335311 P                                                                                                                                  |
| (84) | Designated Contracting<br>States:                                          | AL ; AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ;<br>IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; RS ; SE ; SI ;<br>SK ; SM ; TR |
| (73) | Proprietor                                                                 | Dyax Corp., 300 Shire Way, Lexington, MA 02421, USA                                                                                                                                               |
| (72) | Inventor                                                                   | SEXTON, Daniel, J., 59 Marvin Road, Melrose, MA 02176, USA<br>FAUCETTE, Ryan, 29 Birch Hill Road, Melrose, MA 02176, USA<br>COSIC, Janja, 112 Warren Street 2, Arlington, MA 02474, USA           |
| (74) | Agent or Attorney                                                          | TANDBERG INNOVATION AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge                                                                                                                                      |

---

(54) Title                    **IMMUNOASSAY TO DETECT CLEAVED HIGH MOLECULAR WEIGHT KININOGEN**

(56) References  
Cited:                    WO-A1-2014/113712  
                              WO-A1-2015/061182  
                              WO-A1-2015/061183  
                              US-A- 5 047 323  
                              M. BERRETTINI ET AL: "Detection of In Vitro and In Vivo Cleavage of High Molecular Weight  
Kininogen in Human Plasma by Immunoblotting With Monoclonal Antibodies", BLOOD, vol. 68,  
no. 2, 1 August 1986 (1986-08-01) , pages 455-462, XP055335425,

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.** En immunanalyse fremgangsmåte for å detektere et spaltet høy-molekylvekt kininogen (HMWK), hvor fremgangsmåten omfatter:

(i) å tilveiebringe et støtteelement, på hvilket et første middel som spesifikt binder et spaltet HMWK er immobilisert;

(ii) å kontakte støtteelementet i (i) med en biologisk prøve mistenkt for å inneholde et spaltet HMWK;

(iii) å kontakte støtteelementet oppnådd i (ii) med et andre middel som binder HMWK, hvor det andre midlet er konjugert med en markør; og

(iv) å detektere et signal frigjort fra markøren til det andre midlet som er bundet til støtteelementet, direkte eller indirekte, for å bestemme nivået av det spaltede HMWK-et i den biologiske prøven,

hvor det første midlet er et antistoff som omfatter en tung kjedes komplementaritetsbestemmende region (CDR) 1-sekvens FSFYVMV, en tung kjedes CDR2-sekvens GISPSGGNTAYADSVK, og en tung kjedes CDR3-sekvens KLFYYDDTKGYFDF og en lett kjedes CDR1-sekvens SGSSSNIGSNYVY, en lett kjedes CDR2-sekvens RNNQRPS, og en lett kjedes CDR3 sekvens AWDDSLNGRV.

**2.** Immunanalyse fremgangsmåten ifølge krav 1, hvor:

(a) støtteelementet er en plate med 96-brønner;

(b) før trinn (ii), blir støtteelementet i (i) inkubert med en blokkerende buffer;

(c) det andre midlet er et polyklonalt antistoff, et monoklonalt antistoff, eller en blanding av to eller flere monoklonale antistoff som bind til HMWK;

(d) markøren er et signalfrigjørende middel;

(e) markøren er et medlem av et reseptor-ligand-par og immunanalyse fremgangsmåten omfatter videre, før trinn (iv), å kontakte det andre midlet i (iii) som er bundet til støtteelementet, med det andre medlemmet av reseptor-ligand-paret, hvor det andre medlemmet er konjugert med et signalfrigjørende middel, eventuelt hvor reseptor-ligand-paret er biotin og streptavidin;

(f) immunanalyse fremgangsmåten er en Western blot-analyse, en ELISA-analyse, eller en lateral flow-analyse; og/eller

(g) trinn (ii) blir utført i nærværet av  $\text{ZnCl}_2$ .

**3.** Immunanalyse fremgangsmåten i følge et hvilket som helst av kravene 1-2, hvor den biologiske prøven er oppnådd fra humant individ, eventuelt hvor:

(a) den biologiske prøven er en serumprøve eller plasma sample, som blir behandlet fra en blodprøve samlet i et tomt blodprøverør som omfatter én eller flere protease-inhibitorer;

(b) humant individ har en sykdom og hvor immunanalyse fremgangsmåten videre omfatter å bestemme om sykdommen er mediert av pKal basert på nivået av det spaltede HMWK-et bestemt i trinn (iv), et avvik av nivået av det spaltede HMWK-et i den biologiske prøven, fra det til en kontrollprøve som er indikativt for at sykdommen er mediert av pKal;

(c) immunanalyse fremgangsmåten omfatter videre å bestemme om det humane individet har eller er i fare for en sykdom mediert av plasma-kallikrein basert på nivået av det spaltede HMWK-et bestemt i trinn (iv), hvor hvis nivået av det spaltede HMWK-et i den biologiske prøven fra individet avviker fra nivået av det spaltede HMWK-et i en kontrollprøve, hvor individet er identifisert å ha eller i fare for å ha sykdommen, som eventuelt videre omfatter å identifisere individet som en kandidat for administrering av en effektiv mengde av et terapeutisk middel for å behandle sykdommen, hvis individet er identifisert som å ha sykdommen, for eksempel hvor det terapeutiske midlet er en plasma-kallikrein (pKal)-inhibitor, en bradykinin 2-reseptor (B2R)-inhibitor, og/eller en C1-esterase-inhibitor, for eksempel hvor pKal-inhibitoren er et anti-pKal-antistoff eller et inhiberende peptid slik som lanadelumab, ecallantide, icatibant, eller human plasma-avledet C1-INH;

(d) det humane individet er på en behandling for sykdommen, og hvor fremgangsmåten videre omfatter å vurdere virkningen av behandlingen basert på nivået av det spaltede HMWK-et som bestemt i trinn (iv), et avvik av nivået av det spaltede HMWK-et i den biologiske prøven fra individet, fra det til en kontrollprøve som er indikativ for behandlingen effektiviteten;

(e) immunanalyse fremgangsmåten omfatter videre å identifisere en passende behandling for individet basert på nivået av det spaltede HMWK-et;

(f) immunanalyse fremgangsmåten omfatter videre å identifisere individet som en kandidat for en behandling av sykdommen basert på nivået av det spaltede HMWK-et; eller

(g) det humane individet har en historie med HAE, og hvor immunanalyse fremgangsmåten videre omfatter å vurdere risikoen for sykdomsangrep hos individet basert på nivået av det spaltede HMWK-et, et avvik av nivået av det spaltede HMWK-et i den biologiske prøven fra individet, fra det til en kontrollprøve som er indikativ for risikoen for sykdomsangrep, som eventuelt videre omfatter å

identifisere individet som en kandidat for administrering av et terapeutisk middel, hvis individet er i fare for sykdomsangrep.

**4.** Immunanalyse fremgangsmåten i følge et hvilket som helst av kravene 3(a) eller 3(c)-3(f), hvor det humane individet har en historie med sykdommen, eventuelt hvor sykdommen er HAE.

**5.** Et isolert antistoff, som spesifikt binder et spaltet høy-molekylvekt kininogen (HMWK), hvor antistoffet omfatter en tung kjedes komplementaritetsbestemmende region (CDR) 1-sekvens FSFYVMV, en tung kjedes CDR2-sekvens GISPSGGNTAYADSVK, og en tung kjedes CDR3-sekvens KLFYYDDTKGYFDF og en lett kjedes CDR1-sekvens SGSSSNIGSNYYVY, en lett kjedes CDR2-sekvens RNNQRPS, og en lett kjedes CDR3-sekvens AWDDSLNGRV.

**6.** Det isolerte antistoffet ifølge krav 5, hvor antistoffet omfatter den tunge kjedens variable region sekvens presentert i SEKV ID NR: 4 og den lette kjedens variable region sekvens presentert i SEKV ID NR: 5.

**7.** Et sett for å detektere et spaltet høy-molekylvekt kininogen (HMWK), hvor settet omfatter et første middel som spesifikt binder et det spaltede HMWK-et; hvor det første midlet er et antistoff i følge et hvilket som helst av kravene 5-6.

**8.** Settet ifølge krav 7, hvor:

(a) settet videre omfatter et andre middel som binder HMWK, et støtteelement, eller begge;

eventuelt hvor (b) støtteelementet er en plate med 96-brønner; og/eller

(c) settet videre omfatter instruksjoner for å detektere det spaltede HMWK-et.

**9.** Et isolert antistoff som binder både intakt høy-molekylvekt kininogen (HMWK) og et spaltet HMWK, hvor:

(a) antistoffet binder ikke til lav-molekylvekt kininogen (LMWK), hvor antistoffet binder den samme epitopen som et antistoff som omfatter CDR-ene til de tunge kjedene og de lette kjedene presentert i:

i) SEKV ID NR: 6 og 7;

ii) SEKV ID NR: 8 og 9;

iii) SEKV ID NR: 10 og 11;

iv) SEKV ID NR: 12 og 13;

- v) SEKV ID NR: 14 og 15;
- vi) SEKV ID NR: 16 og 17;
- vii) SEKV ID NR: 18 og 19;
- viii) SEKV ID NR: 20 og 21;
- 5 ix) SEKV ID NR: 22 og 23;
- x) SEKV ID NR: 24 og 25;
- xi) SEKV ID NR: 26 og 27;
- xii) SEKV ID NR: 28 og 29;
- xiii) SEKV ID NR: 30 og 31; eller
- 10 xiv) SEKV ID NR: 32 og 33,

eller konkurrerer mot et antistoff som omfatter CDR-ene til de tunge kjedene og de lette kjedene presentert i:

- i) SEKV ID NR: 6 og 7;
- ii) SEKV ID NR: 8 og 9;
- 15 iii) SEKV ID NR: 10 og 11;
- iv) SEKV ID NR: 12 og 13;
- v) SEKV ID NR: 14 og 15;
- vi) SEKV ID NR: 16 og 17;
- vii) SEKV ID NR: 18 og 19;
- 20 viii) SEKV ID NR: 20 og 21;
- ix) SEKV ID NR: 22 og 23;
- x) SEKV ID NR: 24 og 25;
- xi) SEKV ID NR: 26 og 27;
- xii) SEKV ID NR: 28 og 29;
- 25 xiii) SEKV ID NR: 30 og 31; eller
- xiv) SEKV ID NR: 32 og 33

for binding til det intakte HMWK-et og/eller det spaltede HMWK-et,  
for eksempel hvor antistoffet omfatter de samme CDR-ene til tunge kjeder og lette kjeder  
presentert i:

- 30 i) SEKV ID NR: 6 og 7;
- ii) SEKV ID NR: 8 og 9;
- iii) SEKV ID NR: 10 og 11;
- iv) SEKV ID NR: 12 og 13;
- v) SEKV ID NR: 14 og 15;
- 35 vi) SEKV ID NR: 16 og 17;
- vii) SEKV ID NR: 18 og 19;
- viii) SEKV ID NR: 20 og 21;
- ix) SEKV ID NR: 22 og 23;

x) SEKV ID NR: 24 og 25;

xi) SEKV ID NR: 26 og 27;

xii) SEKV ID NR: 28 og 29;

xiii) SEKV ID NR: 30 og 31; eller

5 xiv) SEKV ID NR: 32 og 33; eller

(b) antistoffet også binder LMWK,

hvor antistoffet binder den samme epitopen som et antistoff som omfatter CDR-ene til de tunge kjedene og de lette kjedene presentert i:

i) SEKV ID NR: 34 og 35;

10 ii) SEKV ID NR: 36 og 37;

iii) SEKV ID NR: 38 og 39;

iv) SEKV ID NR: 40 og 41;

v) SEKV ID NR: 42 og 43;

vi) SEKV ID NR: 44 og 45;

15 vii) SEKV ID NR: 46 og 47;

viii) SEKV ID NR: 48 og 49;

ix) SEKV ID NR: 50 og 51;

x) SEKV ID NR: 52 og 53;

xi) SEKV ID NR: 54 og 55;

20 xii) SEKV ID NR: 56 og 57;

xiii) SEKV ID NR: 58 og 59;

xiv) SEKV ID NR: 60 og 61;

xv) SEKV ID NR: 62 og 63;

xvi) SEKV ID NR: 64 og 65;

25 xvii) SEKV ID NR: 66 og 67; eller

xviii) SEKV ID NR: 76 og 77;

eller konkurrerer mot et antistoff som omfatter CDR-ene til de tunge kjedene og de lette kjedene presentert i:

i) SEKV ID NR: 34 og 35;

30 ii) SEKV ID NR: 36 og 37;

iii) SEKV ID NR: 38 og 39;

iv) SEKV ID NR: 40 og 41;

v) SEKV ID NR: 42 og 43;

vi) SEKV ID NR: 44 og 45;

35 vii) SEKV ID NR: 46 og 47;

viii) SEKV ID NR: 48 og 49;

ix) SEKV ID NR: 50 og 51;

x) SEKV ID NR: 52 og 53;

- xi) SEKV ID NR: 54 og 55;
- xii) SEKV ID NR: 56 og 57;
- xiii) SEKV ID NR: 58 og 59;
- xiv) SEKV ID NR: 60 og 61;
- 5 xv) SEKV ID NR: 62 og 63;
- xvi) SEKV ID NR: 64 og 65;
- xvii) SEKV ID NR: 66 og 67; eller
- xviii) SEKV ID NR: 76 og 77,

for binding til det intakte HMWK-et, det spaltede HMWK-et, og/eller LMWK-et.

10

**10.** Det isolerte antistoffet ifølge krav 9, hvor:

(a) antistoffet omfatter de samme CDR-ene til tung kjede og lett kjede presentert i:

- i) SEKV ID NR: 6 og 7;
- 15 ii) SEKV ID NR: 8 og 9;
- iii) SEKV ID NR: 10 og 11;
- iv) SEKV ID NR: 12 og 13;
- v) SEKV ID NR: 14 og 15;
- vi) SEKV ID NR: 16 og 17;
- 20 vii) SEKV ID NR: 18 og 19;
- viii) SEKV ID NR: 20 og 21;
- ix) SEKV ID NR: 22 og 23;
- x) SEKV ID NR: 24 og 25;
- xi) SEKV ID NR: 26 og 27;
- 25 xii) SEKV ID NR: 28 og 29;
- xiii) SEKV ID NR: 30 og 31; eller
- ix) SEKV ID NR: 32 og 33; eller

(b) hvor antistoffet omfatter de samme CDR-ene til tung kjede og lett kjede presentert i:

- 30 i) SEKV ID NR: 34 og 35;
- ii) SEKV ID NR: 36 og 37;
- iii) SEKV ID NR: 38 og 39;
- iv) SEKV ID NR: 40 og 41;
- v) SEKV ID NR: 42 og 43;
- 35 vi) SEKV ID NR: 44 og 45;
- vii) SEKV ID NR: 46 og 47;
- viii) SEKV ID NR: 48 og 49;
- ix) SEKV ID NR: 50 og 51;



- x) SEKV ID NR: 52 og 53;
- xi) SEKV ID NR: 54 og 55;
- xii) SEKV ID NR: 56 og 57;
- xiii) SEKV ID NR: 58 og 59;
- 5 xiv) SEKV ID NR: 60 og 61;
- xv) SEKV ID NR: 62 og 63;
- xvi) SEKV ID NR: 64 og 65;
- xvii) SEKV ID NR: 66 og 67; eller
- xviii) SEKV ID NR: 76 og 77.

10 **11.** En fremgangsmåte for å detektere et spaltet høymolekylært kininogen (HMWK) i en prøve, hvor fremgangsmåten omfatter:

- (i) å kontakte en prøve mistenkt for å inneholde et spaltet HMWK med et antistoff i følge et hvilket som helst av kravene 5-6;
- 15 (ii) å måle et kompleks av spaltet HMWK og antistoffet dannet i trinn (i); og
- (iii) å bestemme nivået av spaltet HMWK i prøven basert på resultatet av trinn (ii).

**12.** Fremgangsmåten ifølge krav 11, hvor:

- (a) prøven er en biologisk prøve oppnådd fra et individ, for eksempel hvor den biologiske prøven er en serumprøve eller en plasmaprøve og/eller hvor individet er en human pasient, som eventuelt videre omfatter å samle den biologiske prøven i et tomt blodprøverør, som omfatter én eller flere protease-inhibitorer; og/eller
- (b) fremgangsmåten blir utført ved å anvende en enzymkoblet immun-adsorberende analyse (ELISA), immunblotting analyse, eller lateral flow-analyse,

25 eventuelt hvor individet fra (a) og/eller (b) har en sykdom og hvor fremgangsmåten videre omfatter å bestemme om sykdommen er mediert av pKal, basert på nivået av spaltet HMWK bestemt i trinn (iii), hvor et avvik i nivået av spaltet HMWK i prøven, fra det til en kontrollprøve indikerer at sykdommen er mediert av pKal.

30 **13.** Fremgangsmåten ifølge krav 12:

- (a) som videre omfatter å bestemme om individet har eller er i fare for en lidelse mediert av plasma-kallikrein basert på nivået av spaltet HMWK bestemt i trinn (iii), hvor hvis nivået av spaltet HMWK i prøven fra individet avviker fra nivået av spaltet HMWK i en kontrollprøve, blir individet identifisert som å ha eller er i fare for å ha lidelsen, som eventuelt videre omfatter å identifisere individet som en kandidat for administrering av en effektiv mengde av et terapeutisk middel for å behandle lidelsen, hvis individet er identifisert til å ha lidelsen, for eksempel hvor

det terapeutiske midlet er en plasma-kallikrein (pKal)-inhibitor, en bradykinin 2-reseptor (B2R)-inhibitor, og/eller en C1-esterase-inhibitor, særlig hvor pKal-inhibitoren er et anti-pKal-antistoff eller et inhiberende peptid slik som lanadelumab, ecallantide, icatibant, eller human plasma-avledet C1-INH; eller

(b) hvor individet er en human pasient som er på en behandling for lidelsen, og hvor fremgangsmåten videre omfatter å vurdere effektiviteten av behandlingen basert på nivået av spaltet HMWK som bestemt i trinn (iii), hvor et avvik av nivået av spaltet HMWK i prøven fra individet fra det til en kontrollprøve er indikativt for behandlingen effektiviteten.

**14.** Fremgangsmåten i følge et hvilket som helst av kravene 12 eller 13(a), hvor:

(a) fremgangsmåten omfatter videre å identifisere en passende behandling for individet basert på nivået av spaltet HMWK;

(b) fremgangsmåten omfatter videre å identifisere individet som en kandidat for en behandling av sykdommen basert på nivået av spaltet HMWK; eller

(c) hvor den humane pasienten har en historie med HAE og fremgangsmåten omfatter videre å vurdere risikoen for sykdomsangrep hos individet basert på nivået av spaltet HMWK, hvor et avvik av nivået av spaltet HMWK i prøven fra individet fra det til en kontrollprøve er indikativt for risikoen for sykdomsangrep, som eventuelt videre omfatter å identifisere individet som en kandidat for administrering av et terapeutisk middel, hvis individet er i fare for sykdomsangrep.

**15.** Fremgangsmåten i følge et hvilket som helst av kravene 12-14, hvor den humane pasienten har en historie med sykdommen, eventuelt hvor sykdommen er HAE.

**16.** Fremgangsmåten i følge et hvilket som helst av kravene 11-15, hvor trinn (i) blir utført i nærværet av  $\text{ZnCl}_2$ .