



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3517956 B1

NORWAY

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

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2021.11.22
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2021.09.08
(86)	European Application Nr.	19161002.1
(86)	European Filing Date	2012.05.18
(87)	The European Application's Publication Date	2019.07.31
(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
	Designated Extension States:	BA ; ME
(62)	Divided application	EP2710375, 2012.05.18
(73)	Proprietor	Takeda Pharmaceutical Company Limited, 1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku,, Osaka-shi, Osaka, Japan
(72)	Inventor	Weber, Alfred, Skraupstraße 24/42/8, 1210 Wien, Østerrike Engelmaier, Andrea, Benedikt-Schellinger-Gasse 17/25, 1150 Wien, Østerrike Schwarz, Hans-Peter, Weimarer Straße 76, 1180 Wien, Østerrike
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54)	Title	MODIFICATION-DEPENDENT ACTIVITY ASSAYS
(56)	References Cited:	WO-A1-2009/121551 WO-A1-2009/086262 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, 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 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, 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

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

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 *

CHENG TIAN-LU ET AL: "Monoclonal antibody-based quantitation of poly(ethylene glycol-derivatized proteins, liposomes, and nanoparticles", BIOCONJUGATE CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, 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]

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 tilstedeværelsen av et rekombinant polypeptid omfattende en modifikasjon, hvilken fremgangsmåte
5 omfatter

inkubasjon av en prøve som inkluderer det rekombinante polypeptidet som omfatter modifikasjonen med et fangstmiddel som selektivt binder modifikasjonen under betingelser som tillater selektiv binding av fangstmidlet til modifikasjonen og derved danner et polypeptid-
10 middelkompleks, hvor modifikasjonen forbundet med det rekombinante polypeptidet er valgt fra minst én av HESylering, stivelseskonfigurasjon («Starchylation») eller polysialylering;

rensing av polypeptid- middelkomplekset fra prøven; og

analyse for (i) tilstedeværelsen av det rekombinante polypeptidet ved
15 bruk av en ikke-spesifikk polypeptidanalyse og/eller (ii) polypeptidaktivitet i det rensede polypeptid-middelkomplekset, hvor påvisning av det rekombinante polypeptidet og/eller polypeptidaktiviteten er indikativ for tilstedeværelse av det rekombinante polypeptidet som omfatter modifikasjonen.

20 2. Fremgangsmåte for å påvise tilstedeværelsen av et rekombinant polypeptid omfattende en modifikasjon, hvilken fremgangsmåte omfatter

inkubasjon av en prøve som inkluderer det rekombinante polypeptidet
25 som omfatter modifikasjonen med et fangstmiddel som selektivt binder modifikasjonen under betingelser som tillater selektiv binding av fangstmidlet til modifikasjonen og derved danner et polypeptid-middelkompleks, hvor modifikasjonen forbundet med det rekombinante polypeptidet er valgt fra minst én av PEGylering, HESylering,
30 stivelseskonfigurasjon eller polysialylering;

rensing av polypeptid-middelkomplekset fra prøven; og

- analyse for (i) tilstedeværelsen av det rekombinante polypeptidet ved bruk av en ikke-spesifikk polypeptidanalyse og/eller (ii) polypeptidaktivitet i det rensede polypeptid-middelkomplekset, hvor påvisning av det rekombinante polypeptidet og/eller
- 5 polypeptidaktiviteten er indikativ for tilstedeværelse av det rekombinante polypeptidet som omfatter modifikasjonen, hvor: det rekombinante polypeptidet 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
- 10 stivelsessylert faktor II eller en stivelsessylert faktor IIa; det rekombinante polypeptidet 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 stivelsessylert faktor VII eller en stivelsessylert faktor VIIa;
- 15 det rekombinante polypeptidet 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 stivelsessylert faktor VIII eller en stivelsessylert faktor VIIIA; eller
- 20 det rekombinante polypeptidet 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 stivelsessylert faktor IX eller en stivelsessylert faktor IXa.
- 25 3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller krav 2, hvor fangstmiddelet skiller det rekombinante polypeptidet omfattende en modifikasjon fra det samme polypeptidet, men uten modifikasjonen.
4. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller krav 2, hvor fangstmiddelet skiller
- 30 det rekombinante polypeptidet omfattende en modifikasjon fra det samme polypeptidet, men med et annet mønster eller en grad av

samme modifikasjon.

5 5. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvor den selektive bindingen av fangstmidlet skjer ved en nøytral til alkalisk pH.

6. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvor det rekombinante polypeptidet er en vekstfaktor, et cytokin, et immunmodulerende middel, et hormon, et antistoff, et enzym, en
10 enzymhemmer, en protease, en proteasehemmer, en esterase, en transferase, en oksidoreduktase, en hydrolase, en asparaginase, en adenosindeaminase, et nevrotoksin, et leverprotein, et bukspyttkjertelprotein, et muskelprotein, et hjerneprotein, et lungeprotein eller et blodprotein;
15 hvor esterassen er en butyrylkolinesterase eller en acetylkolinesterase; hvor cytokinet er et kjemokin, et lymfokin, en tumornekrosefaktor eller en hematopoietisk faktor;
hvor immunmodulerende middel er et interleukin eller et interferon;
hvor blodproteinet er et erytropoiesestimulerende middel, en protease,
20 en proteasehemmer eller en koagulasjonsfaktor;
hvor 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; og/eller
hvor blodproteinet er ADAMTS-13, α 1-antiplasmin, α 2-antiplasmin,
25 antitrombin, antitrombin III, kreftprokoagulant, erytropoietin, 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), heparinkofaktor II, høy-molekylær
30 kininogen (HMWK), intramuskulært immunglobulin, intravenøst immunglobulin, plasmin, plasminogen, plasminogenaktivatorhemmer-1

(PAI1), plasminogenaktivatorhemmer-2 (PAI2), prekallikrein, prostacyklin, protein C, aktivt protein C (APC), protein S, protein Z, protein Z-relatert proteasehemmer, trombomodulin, vevsfaktor (faktor III), vevsfaktormekanisme-hemmer (TFPI), vevsplasminogenaktivator (t-PA), urokinase eller Von Willebrand Factor.

7. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6, hvor prøven inkluderer et rensset preparat av det rekombinante polypeptidet, et delvis rensset preparat av det rekombinante polypeptidet, et urensset preparat av det rekombinante polypeptidet, et formulert preparat av det rekombinante polypeptidet, et råprodukt ekstrakt av det rekombinante polypeptidet, et fraksjonert ekstrakt av det rekombinante polypeptidet, et cellelysat inkludert det rekombinante polypeptidet eller en biologisk prøve.

8. Fremgangsmåte ifølge et av kravene 1 til 7, hvor den biologiske prøven omfatter celler, en vevsprøve, en blodprøve, en kroppsvæskeprøve eller en organprøve tatt direkte fra et individ.

9. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8, hvor prøven behandles for å forbedre detekterbarheten av det rekombinante polypeptidet eller forbedre aktiviteten til det rekombinante polypeptidet.

10. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 9, hvor fangstmiddelet har en assosiasjonshastighetskonstant for polypeptidet omfattende modifikasjon av 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 $1 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

11. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 10, hvor fangstmidlet er festet til en fast bærer.

12. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 11, hvor det rekombinante polypeptidet er faktor IX (FIX), faktor VIII (FVIII), faktor VIIa (FVIIa), Von Willebrand faktor (VWF), faktor FV (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, granulocyttkolonistimulerende faktor (G-CSF), EPO, interferon- α (IFN- α), konsensusinterferon, IFN- β , IFN- γ , IFN- ω , 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), angiopoietinlignende polypeptid 2 (ANGPTL2), angiopoietin-lignende polypeptid 3 (ANGPTL3), angiopoietinlignende polypeptid 4 (ANGPTL4), angiopoietinlignende polypeptid 5 (ANGPTL5), angiopoietinlignende polypeptid 6 (ANGPTL 6), angiopoietinlignende polypeptid 7 (ANGPTL7), vitronektin, vaskulær endotelial vekstfaktor (VEGF), angiogenin, activin A, activin B, activin C, benmorfogent protein-1, benmorfogent protein-2, morfogent protein-3-ben, ben morfogent protein-4, ben morfogent protein-5, bein morfogent protein-6, bein morfogent protein-7, ben morfogent protein-8, ben morfogent protein-9, ben morfogent protein-10, ben morfogent protein-11, ben morfogent protein-12, benmorfogent protein-13, benmorfogent protein-14, benmorfogent protein-15, benmorfogent proteinreseptor IA, benmorfogent proteinreseptor IB, benmorfogent proteinreseptor II, neurotrofisk faktor i hjernen, cardiotrophin-1, ciliær neurotrofisk faktor, ciliær neurotrofisk faktor reseptor, cripto, kryptisk, cytokinindusert neutrofil kjemotaktisk faktor 1, cytokinindusert neutrofil, kjemotaktisk faktor 2 α , cytokinindusert neutrofil kjemotaktisk faktor 2 β , β -endotelcellevekst faktor, endotelin 1, epidermal vekstfaktor, epigen, epiregulin, epitelavledet neutrofiltrekkemiddel, fibroblastvekstfaktor 4, fibroblastvekstfaktor 5, fibroblastvekstfaktor 6, fibroblastvekstfaktor 7,

fibroblastvekstfaktor 8, fibroblastvekstfaktor 8b, fibroblast vekstfaktor
 8c, fibroblastvekstfaktor 9, fibroblastvekstfaktor 10,
 fibroblastvekstfaktor 11, fibroblastvekstfaktor 12, fibroblastvekstfaktor
 13, fibroblastvekstfaktor 16, fibroblastvekstfaktor 17,
 5 fibroblastvekstfaktor 19, fibroblastvekstfaktor 20, fibroblast vekstfaktor
 21, sur fibroblast vekstfaktor, grunnleggende fibroblast vekstfaktor,
 glialcellelinje-avledet neutrofisk faktor reseptor $\alpha 1$, glialcellelinje-
 avledet neutrofisk faktor reseptor $\alpha 2$, vekstrelatert protein,
 vekstrelatert protein α , vekstrelatert protein β , vekstrelatert protein γ ,
 10 heparinbindende epidermal vekstfaktor, hepatocytvekstfaktor,
 hepatocytvekstfaktorreseptor, hepatomavledet vekstfaktor,
 insulinlignende vekstfaktor I, insulinlignende vekstfaktorreseptor,
 insulinlignende vekstfaktor II, insulinlignende vekstfaktorbindende
 protein, keratinocytvekstfaktor, leukemihemmende faktor,
 15 leukemihemmende faktor reseptor α , nervevekstfaktor nervevekst
 faktorreseptor, neuropoietin, neurotrophin-3, neurotrophin-4,
 onkostatin M (OSM), placenta vekstfaktor, placenta vekstfaktor 2,
 trombocytavledet endotelcellevekstfaktor, blodplateavledet vekstfaktor,
 blodplateavledet vekstfaktor A-kjede, blodplateavledet vekstfaktor AA,
 20 blodplateavledet vekstfaktor AB, blodplateavledet vekstfaktor B-kjede,
 blodplateavledet vekstfaktor BB, blodplateavledet vekstfaktorreseptor α ,
 blodplateavledet vekstfaktorreseptor β , stimulering av pre-B-cellevekst,
 stamcellefaktor (SCF), stamcellefaktorreseptor, TNF, TNF0, TNF1,
 TNF2, transformerende vekstfaktor α , transformerende vekstfaktor β ,
 25 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 β bindende protein I, transformerende
 vekstfaktor β bindingsprotein II, transformerende vekstfaktor β
 30 bindingsprotein III, tymisk stromal lymfopoietin (TSLP),
 tumornekrosefaktorreseptor type I, tumornekrosefaktorreseptor type II,

urokinase-type plasminogenaktivatorreseptor, fosfolipaseaktiverende protein (PUP), insulin, lektinricin, prolaktin, koriongonadotropin, follikelstimulerende hormon, skjoldbruskstimulerende hormon, vevsplasminogenaktivator, IgG, IgE, IgM, IgA, IgD, α -galaktosidase, β -galaktosidase, DNase, fetuin, luteiniserende 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.

10

13. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 12, hvor analysen utføres ved bruk av en kvalitativ analyse eller en kvantitativ analyse.

15

14. Anvendelse av et sett for utøvelse av fremgangsmåten ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 13, hvor settet omfatter ett eller flere fangstmidler som selektivt binder modifikasjonen under betingelser som tillater selektiv binding av fangstmidlet til modifikasjonen, hvor modifikasjonen er forbundet med rekombinanten polypeptid er valgt fra minst ett av PEGylering, HESylering, starkylering eller polysialylering.

20