

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
15. Juli 2010 (15.07.2010)

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2010/079076 A2**

- (51) Internationale Patentklassifikation: **G01N 33/68** (2006.01) **RAPEUTICS AG** [DE/DE]; Mellendorfer Strasse 7-9, 30625 Hannover (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2009/067430 **(72) Erfinder; und**
- (22) Internationales Anmeldedatum: 17. Dezember 2009 (17.12.2009) **(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MISCHAK, Harald** [AT/DE]; Storchenstrasse 6, 31319 Sehnde (DE).
- (25) Einreichungssprache: Deutsch **(74) Anwälte: SCHREIBER, Christoph** et al.; Patentanwälte von Kreisler Selting Werner (224), Postfach 10 22 41, 50462 Köln (DE).
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch **(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart):** AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN,
- (30) Angaben zur Priorität: 08171983.3 17. Dezember 2008 (17.12.2008) EP
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **MOSAIQUES DIAGNOSTICS AND THE-**

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: AUTOSOMAL DOMINANT POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE (ADPKD)

(54) Bezeichnung : AUTOSOMAL DOMINANTE POLYZYSTISCHE NIERENERKRANKUNG (ADPKD)

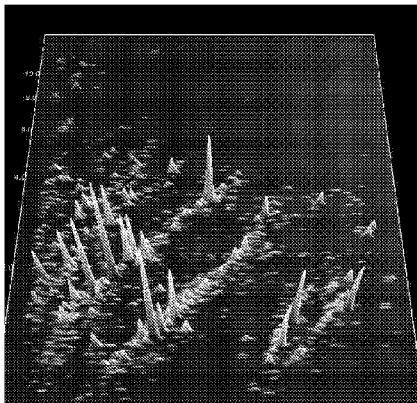


Fig. 1A

(57) Abstract: The invention relates to a method for diagnosing an autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD), comprising the step of determining the presence or absence or amplitude of at least three polypeptide markers in a urine sample, wherein said polypeptide markers are selected from the markers that are characterized in Table 1 by values for the molecular masses and the migration time.

(57) Zusammenfassung: Das Verfahren zur Diagnostik einer autosomal dominanten polyzystischen Nierenerkrankung (ADPKD) umfassend den Schritt der Bestimmung einer An- oder Abwesenheit oder Amplitude von mindestens drei Polypeptidmarkern in einer Urinprobe, wobei die Polypeptidmarker ausgewählt sind aus den Markern, die in Tabelle 1 durch Werte für die Molekularmassen und die Migrationszeit charakterisiert sind.

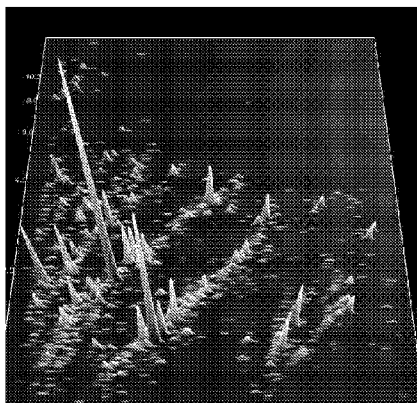


Fig. 1B

WO 2010/079076 A2



KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

**(84) Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT,

- ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts (Regel 48 Absatz 2 Buchstabe g)
- mit dem Sequenzprotokollteil der Beschreibung (Regel 5 Absatz 2 Buchstabe a)

### **Autosomal dominante polyzystische Nierenerkrankung (ADPKD)**

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Diagnose von autosomal-dominanter polyzystischer Nierenerkrankung.

5 Autosomale-dominant polyzystische Nierenerkrankung (Autosomal-Dominant-Polycystic Kidney Disease, ADPKD) ist eine der häufigsten humanen monogenetischen Erkrankungen mit einer Häufigkeit zwischen 1:400 bis 1:1.000. Die Krankheit zeigt eine fortschreitende Entwicklung und Vergrößerung von flüssigkeitsgefüllten Vesikeln bzw. Bläschen in beiden Nieren, die die Funktionsfähigkeit der Nieren erheblich einschränkt. Bis zum 60. Lebensjahr werden ca. 50% der betroffenen Er-

10 kranken dialysepflichtig.

Die Entwicklung der Zysten ist ein komplexer Vorgang, der phänotypisch einer Dedifferenzierung gleicht unter anderem mit hohen Proliferationsraten, erhöhter Apoptose, veränderter Proteinsortierung, geänderten sekretorischen Eigenschaften und einer Disorganisation der extrazellulären Matrix.

15 Obwohl die in der Niere auftretenden Zysten das signifikanteste Symptom darstellen, treten bei den Patienten auch Zystenbildungen außerhalb der Nieren auf, insbesondere in der Leber (gelegentlich bis hin zu den Symptomen der polyzystischen Lebererkrankung) sowie eine erhöhte Häufigkeit von anderen Störungen wie intercranialen Aneurysmen. Dies zeigt, dass ADPKD eine systemische Erkrankung ist.

20

ADPKD ist die häufigste lebensbedrohliche Erbkrankheit. Die Häufigkeit von ADPKD ist größer als die von Huntington, Hämophilie, Sichelzellanämie, zystischer Fibrose, myotone Dystrophie und Downsyndrom zusammen.

25 In den letzten Jahren gab es nicht nur Fortschritte im Verständnis der genetischen und molekularen Grundlagen der ADPKD, auch einige diagnostische und therapeutische Ansätze wurden entwickelt.

Auf dem Gebiet der Genetik wurde das Gen für PKD-1 auf dem Chromosom 16 lokalisiert und ist assoziiert mit dem Polycystin-1 Protein, das bei ca. 85% aller Patienten mit ADPKD mutiert ist. Das Gen für PKD-2, das auf Chromosom 4 lokalisiert ist, ist bei 15% der ADPKD Fälle mutiert und ist assoziiert mit dem Polycystin-2 Protein.

30

Während die Erkenntnisse der Genetik und der Molekularbiologie zahlreiche interessante Projekte der Grundlagenforschung angestoßen haben, hat es jedoch im Bereich der Therapie keine relevanten Fortschritte gegeben. Eine Früherkennung und die Behandlung mit Inhibitoren des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems hat das Potenzial, die mit ADPKD häufig einhergehenden hypertrophen Erscheinungen des linken Ventrikels des Herzens zu verhindern und den Fortschritt der Erkrankung zu verzögern.

35

Die Frühdiagnose der Erkrankung ist damit der Schlüssel zu einer frühen Behandlung und einer Verzögerung des Krankheitsablaufs. Des weiteren ist eine Prognose des Krankheitsverlaufs wichtig, da die therapiebedingten Kosten und Nebenwirkungen nur bei Patienten mit rascher Progression in Kauf genommen werden sollen.

40

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es, eine Möglichkeit der Diagnose von ADPKD zur Verfügung zu stellen. Gelöst wird die Aufgabe durch ein Verfahren zur

- 2 -

Diagnostik wie Anspruch 1 einer autosomal dominanten polyzystischen Nierenerkrankung (ADPKD) umfassend den Schritt der Bestimmung einer An- oder Abwesenheit oder Amplitude von mindestens drei Polypeptidmarkern in einer Urinprobe, wobei die Polypeptidmarker ausgewählt sind aus den Markern, die in Tabelle 1 durch

5

Werte für die Molekularmassen und die Migrationszeit charakterisiert sind.

Nr.	Masse (Da)	CE <sub>t</sub> (min)	Nr.	Masse (Da)	CE <sub>t</sub> (min)	Nr.	Masse (Da)	CE <sub>t</sub> (min)
1	840,4071	23,16555	40	1097,495	21,00157	79	1200,538	24,14255
2	884,2923	43,80656	41	1097,498	25,40513	80	1208,493	26,33716
3	884,3214	24,85187	42	1099,499	21,67177	81	1210,554	20,87028
4	900,4511	24,99	43	1100,502	37,03674	82	1211,542	25,82128
5	902,4133	20,84575	44	1110,389	33,6302	83	1215,452	26,87849
6	911,2648	34,34517	45	1113,511	22,2623	84	1216,537	24,24347
7	923,4244	22,01035	46	1114,479	24,21347	85	1217,529	35,78057
8	926,4665	21,35563	47	1116,477	37,03951	86	1226,525	21,01619
9	928,3718	35,46373	48	1116,53	20,8514	87	1231,488	39,56649
10	931,4706	20,00439	49	1128,394	33,59201	88	1244,566	21,64647
11	935,4465	23,68105	50	1128,488	25,64931	89	1247,523	22,00076
12	937,4612	34,09575	51	1130,337	35,39296	90	1257,443	33,9189
13	944,5103	21,24885	52	1134,583	23,65584	91	1260,562	21,82808
14	954,4564	24,31141	53	1138,468	37,07027	92	1266,565	21,20346
15	956,4393	20,35767	54	1140,516	25,38464	93	1268,543	21,3538
16	965,4274	27,83332	55	1141,511	26,05729	94	1281,585	27,09018
17	981,5851	24,79552	56	1143,52	36,96738	95	1283,366	36,12409
18	984,4547	24,92263	57	1150,561	22,43054	96	1287,592	21,87374
19	988,4991	21,2492	58	1152,485	27,84809	97	1290,344	30,86606
20	992,4164	20,39667	59	1153,311	35,60757	98	1292,393	36,15933
21	1002,454	24,41733	60	1157,537	37,44405	99	1292,594	21,41793
22	1013,368	25,16517	61	1159,603	26,06505	100	1295,356	34,16189
23	1016,265	35,651	62	1160,359	35,60058	101	1297,582	27,36504
24	1016,445	25,78512	63	1162,544	20,11196	102	1312,622	22,45504
25	1018,462	24,53558	64	1168,55	20,93344	103	1322,405	36,37559
26	1028,524	24,83936	65	1169,566	23,7134	104	1326,564	27,11048
27	1032,498	21,2104	66	1170,531	22,38287	105	1328,499	26,77713
28	1040,475	25,05015	67	1173,529	37,49036	106	1332,416	36,1259
29	1046,427	27,64366	68	1178,392	20,71175	107	1333,416	36,10802
30	1058,476	24,89302	69	1179,523	27,11006	108	1337,62	38,19948
31	1068,447	24,76449	70	1180,517	35,69966	109	1338,603	23,98777
32	1070,49	36,49286	71	1182,548	28,273	110	1341,578	29,97724
33	1072,5	21,13634	72	1186,53	22,39375	111	1350,574	21,26649
34	1075,487	20,61147	73	1187,358	35,68919	112	1351,635	38,75677
35	1082,501	23,90513	74	1191,517	36,17672	113	1352,556	29,76547
36	1082,517	21,69541	75	1194,553	26,70085	114	1352,779	24,60145
37	1084,428	25,23275	76	1196,519	21,00144	115	1353,656	25,63162
38	1085,466	21,93764	77	1199,576	21,9516	116	1354,641	22,13931
39	1096,483	26,07573	78	1200,537	25,02658	117	1357,578	30,02141

- 3 -

Nr	Masse (Da)	CE_t (min)
118	1360,627	22,64544
119	1367,643	38,88257
120	1368,577	21,9043
121	1383,593	27,62604
122	1383,637	38,94024
123	1392,623	21,75213
124	1399,623	28,74437
125	1408,66	39,13381
126	1413,55	25,55998
127	1423,594	21,90806
128	1424,662	39,29955
129	1426,638	22,42056
130	1435,659	28,83627
131	1438,659	30,20137
132	1439,655	29,81709
133	1440,661	39,28449
134	1442,626	27,6328
135	1451,693	22,55358
136	1466,659	21,8713
137	1466,653	28,51877
138	1467,795	23,8873
139	1467,807	24,68522
140	1469,668	23,69358
141	1470,684	21,08042
142	1473,63	22,20617
143	1483,656	22,58601
144	1486,683	21,15232
145	1487,652	29,62173
146	1491,739	39,83392
147	1494,661	30,3993
148	1496,684	30,37452
149	1496,63	22,33629
150	1507,738	40,02385
151	1522,701	29,40686
152	1523,841	29,75377
153	1538,69	29,77393
154	1539,735	40,30862
155	1542,692	23,96014
156	1556,739	40,03232
157	1560,577	21,76907
158	1565,688	26,3032
159	1567,702	20,19208
160	1576,6	26,37432
161	1579,679	23,00007
162	1579,713	29,81744

Nr	Masse (Da)	CE_t (min)
163	1580,886	24,84996
164	1580,879	23,8674
165	1584,506	37,49593
166	1586,738	28,88186
167	1588,706	30,15033
168	1591,709	38,27637
169	1594,762	40,21545
170	1622,722	26,79132
171	1623,727	24,12394
172	1630,739	20,64725
173	1634,652	37,33193
174	1635,76	30,33571
175	1635,786	40,44105
176	1638,728	20,22988
177	1640,581	23,24178
178	1651,79	40,66166
179	1653,876	30,38117
180	1660,735	38,00226
181	1666,775	30,66426
182	1679,947	23,81762
183	1680,752	30,02747
184	1684,666	31,75269
185	1684,671	30,65638
186	1684,709	29,6453
187	1693,762	20,50581
188	1703,839	33,58491
189	1716,657	20,17727
190	1716,773	27,99784
191	1732,771	28,17527
192	1746,593	38,21271
193	1754,895	31,25885
194	1783,791	39,81519
195	1798,716	36,94821
196	1806,827	23,06136
197	1807,809	20,64857
198	1808,793	23,71763
199	1817,694	20,23435
200	1818,827	30,95312
201	1819,796	23,36311
202	1822,735	30,87417
203	1828,848	21,20199
204	1834,825	31,09503
205	1837,8	30,55694
206	1840,836	41,17953
207	1858,839	24,2646

Nr	Masse (Da)	CE_t (min)
208	1860,826	21,40014
209	1863,751	19,92311
210	1874,831	30,82379
211	1878,59	30,77853
212	1884,857	40,05398
213	1885,651	38,81996
214	1892,973	24,55813
215	1911,051	24,98094
216	1936,874	34,748
217	1947,878	31,60618
218	1950,851	35,76881
219	1962,875	31,81242
220	1963,88	31,74253
221	1969,838	25,22952
222	1977,918	32,19436
223	2003,939	24,61864
224	2007,945	22,10222
225	2008,902	32,2865
226	2009,879	32,29178
227	2013,893	31,75577
228	2013,905	25,19463
229	2014,898	21,90602
230	2029,853	20,39044
231	2039,129	21,77864
232	2045,858	34,17017
233	2058,937	23,15082
234	2064,918	24,45992
235	2067,818	20,62077
236	2076,945	21,77894
237	2077,963	22,48482
238	2078,932	26,67145
239	2081,936	33,66116
240	2096,916	32,9972
241	2109,923	24,06903
242	2130,962	32,73483
243	2137,942	21,79294
244	2159,003	33,19108
245	2235,045	34,16645
246	2248,991	25,99098
247	2257,869	35,92739
248	2266,021	22,1634
249	2280,944	36,21864
250	2282,016	22,23937
251	2297,011	33,86518
252	2371,084	22,7883

- 4 -

Nr	Masse (Da)	CE_t (min)
253	2380,081	36,51091
254	2404,015	20,27277
255	2420,998	34,86081
256	2430,081	25,69736
257	2446,092	28,37261
258	2471,155	34,77354
259	2485,125	34,4072
260	2487,125	28,27413
261	2501,119	34,38645
262	2544,112	26,06379
263	2544,128	28,25992
264	2545,12	28,20161
265	2547,986	21,4417
266	2559,18	19,40742
267	2576,124	34,25753
268	2577,246	24,66592
269	2589,056	22,56216
270	2596,233	34,89552
271	2599,19	28,27509
272	2628,215	34,96638
273	2642,214	27,69602
274	2658,271	19,47609
275	2682,143	22,49183
276	2686,336	29,34243
277	2742,251	42,14319
278	2744,125	35,10541
279	2748,788	36,38231
280	2752,413	19,8887
281	2767,323	21,6729
282	2825,267	24,4868
283	2834,187	22,46729
284	2854,363	34,86364
285	2914,379	24,33308
286	2923,432	36,91513
287	2936,536	20,09721
288	2942,299	22,23281
289	2973,452	24,3704
290	2977,179	19,52319
291	2987,348	38,54569
292	3002,238	23,80085
293	3011,387	29,74951
294	3057,395	29,96413
295	3058,378	24,82364
296	3076,233	19,57728
297	3132,455	31,1821

Nr	Masse (Da)	CE_t (min)
298	3137,411	30,34616
299	3148,277	24,15522
300	3152,34	24,55108
301	3166,271	22,05894
302	3193,382	22,64363
303	3200,423	35,77416
304	3202,434	30,60166
305	3205,273	19,65755
306	3255,493	30,78474
307	3256,527	33,03419
308	3261,498	22,19478
309	3264,556	25,75167
310	3265,431	36,08731
311	3266,484	30,07129
312	3271,49	30,70446
313	3282,498	30,08996
314	3287,479	30,97061
315	3314,431	20,14047
316	3338,463	23,58844
317	3350,549	31,01736
318	3363,543	30,21892
319	3404,619	25,94028
320	3405,478	25,96805
321	3416,602	36,84899
322	3421,555	25,99412
323	3425,605	31,27027
324	3426,31	27,69928
325	3441,609	31,38498
326	3462,35	19,37411
327	3546,672	26,2234
328	3572,6	30,6681
329	3582,701	19,46503
330	3583,637	41,47108
331	3603,678	32,40852
332	3630,443	21,77706
333	3681,716	32,01776
334	3685,833	22,19635
335	3706,721	22,02471
336	3719,734	22,49869
337	3774,812	28,22771
338	3775,748	25,58515
339	3788,818	25,18606
340	3831,81	28,48446
341	3839,813	19,70303
342	3870,814	33,49116

Nr	Masse (Da)	CE_t (min)
343	3891,752	24,52856
344	3944,712	24,55436
345	3984,647	21,25792
346	3986,65	20,60164
347	3996,658	20,92089
348	4002,618	20,65664
349	4043,639	20,38493
350	4190,718	20,5276
351	4196,749	20,83785
352	4251,984	28,76518
353	4368,903	20,2129
354	4404,842	20,66586
355	4409,888	20,00095
356	4418,992	25,74477
357	4467,96	29,11998
358	4539,029	26,25198
359	4671,824	23,27783
360	4771,071	20,19867
361	4799,959	23,80776
362	5227,459	27,38143
363	5228,26	26,99815
364	5574,253	23,20092
365	6055,575	21,04955
366	6169,572	24,77459
367	6211,741	20,28513
368	6236,907	21,066
369	6782,845	26,57695
370	8176,072	19,46583
371	8176,01	20,17348
372	8837,408	21,0634
373	8853,766	21,09699
374	8917,251	22,54506
375	9625,366	20,68655
376	9866,536	20,86863
377	10199,7	21,11481
378	10341,97	22,98239
379	10753,32	19,65218
380	10999,91	21,37191
381	11967,55	20,46866
382	12716,79	25,89832
383	14110,92	21,95905

Diese Methode kann auch zur Frühdiagnose sowie zur Prognose der weiteren Krankheitsentwicklung genutzt werden.

Zur Auswertung der gemessenen An- oder Abwesenheiten oder Amplituden der Marker kann auf folgende Referenzwerte zurückgegriffen werden:

Tabelle 2

Nr.	Masse [Da]	CE <sub>t</sub> [min]	Freq. ADPKD	Amplitude	Freq. Contrl.	Amplitude	Freq. Diff.	AUC
1	840,4071	23,16555	0,41	1,67(1,53)	0,48	1,83(1,82)	-0,06	0.6091714
2	884,2923	43,80656	0,76	1,68(1,63)	0,12	1,49(1,47)	0,65	0.8351573
3	884,3214	24,85187	1	2,21(2,16)	0,62	2,06(2,10)	0,38	0.7611928
4	900,4511	24,99	0,59	2,02(1,99)	0	0,00(0,00)	0,59	0.7941176
5	902,4133	20,84575	1	2,97(3,02)	0,81	2,56(2,59)	0,19	0.8570451
6	911,2648	34,34517	1	2,94(2,94)	0,9	2,92(2,94)	0,1	0.6769963
7	923,4244	22,01035	0,47	1,69(1,68)	0,17	1,90(2,05)	0,3	0.7256933
8	926,4665	21,35563	0,59	1,67(1,67)	0,06	1,58(1,50)	0,53	0.7698358
9	928,3718	35,46373	0,65	1,72(1,77)	0,29	1,71(1,74)	0,36	0.6826265
10	931,4706	20,00439	0,76	2,06(1,99)	0,29	2,00(2,04)	0,47	0.6635483
11	935,4465	23,68105	0,35	1,62(1,56)	0,55	2,08(2,12)	-0,19	0.6201971
12	937,4612	34,09575	0,35	1,10(1,08)	0,51	1,72(1,71)	-0,16	0.6228020
13	944,5103	21,24885	0,94	2,69(2,74)	0,47	2,33(2,42)	0,48	0.7940194
14	954,4564	24,31141	0,59	1,91(1,98)	0,16	1,74(1,67)	0,43	0.6769546
15	956,4393	20,35767	0,76	2,41(2,46)	0,49	2,20(2,23)	0,28	0.6749081
16	965,4274	27,83332	0,76	2,26(2,26)	0,4	2,24(2,37)	0,37	0.6334781
17	981,5851	24,79552	0,88	2,57(2,51)	0,95	2,86(2,96)	-0,07	0.7700050
18	984,4547	24,92263	0,76	2,16(2,17)	0,21	1,83(1,82)	0,56	0.7841630
19	988,4991	21,2492	0,88	2,21(2,14)	0,27	1,94(1,94)	0,61	0.7307885
20	992,4164	20,39667	0,53	1,86(1,88)	0,15	2,01(2,00)	0,38	0.6417892
21	1002,454	24,41733	0,59	2,10(2,11)	0	0,00(0,00)	0,59	0.7941176
22	1013,368	25,16517	1	3,09(3,16)	0,94	2,85(2,88)	0,06	0.8391246
23	1016,265	35,651	1	2,83(2,85)	0,91	2,89(2,92)	0,09	0.5855329
24	1016,445	25,78512	1	3,21(3,18)	0,98	3,12(3,19)	0,02	0.6074173
25	1018,462	24,53558	0,71	2,18(2,23)	0,35	2,02(2,03)	0,36	0.6979619
26	1028,524	24,83936	0,59	1,87(1,86)	0,17	1,78(1,87)	0,41	0.7130643
27	1032,498	21,2104	0,65	2,86(2,83)	0,58	2,46(2,39)	0,07	0.7492482
28	1040,475	25,05015	0,35	2,35(2,35)	0,74	2,31(2,36)	-0,39	0.6272970
29	1046,427	27,64366	0,53	1,70(1,60)	0,28	1,76(1,75)	0,25	0.7124123
30	1058,476	24,89302	0,53	3,05(3,15)	0,03	1,67(2,05)	0,49	0.7564979
31	1068,447	24,76449	1	3,36(3,35)	0,94	3,29(3,30)	0,06	0.7287003
32	1070,49	36,49286	0,47	1,69(1,62)	0,55	2,25(2,30)	-0,08	0.6884572
33	1072,5	21,13634	0,53	2,02(2,22)	0,15	1,94(1,84)	0,38	0.6956224
34	1075,487	20,61147	0,88	2,49(2,47)	0,22	1,94(1,92)	0,66	0.7434848
35	1082,501	23,90513	0,59	2,46(2,59)	0,47	2,50(2,48)	0,12	0.7340461
36	1082,517	21,69541	0,76	2,05(1,93)	0,35	1,87(1,86)	0,42	0.7138323
37	1084,428	25,23275	1	3,12(3,19)	0,93	3,02(3,06)	0,07	0.6060192
38	1085,466	21,93764	1	2,62(2,64)	0,76	2,33(2,40)	0,24	0.7794437
39	1096,483	26,07573	0,76	3,20(3,54)	0,99	3,77(3,80)	-0,22	0.6386569
40	1097,495	21,00157	0,53	2,37(2,24)	0	0,00(0,00)	0,53	0.7647059
41	1097,498	25,40513	0,53	2,86(2,79)	0,07	1,97(2,01)	0,46	0.7482900
42	1099,499	21,67177	0,94	2,26(2,31)	0,59	2,28(2,31)	0,35	0.6610807

Nr	Masse [Da]	CE t [min]	Freq. ADPKD	Amplitude	Freq. Contrl.	Amplitude	Freq. Diff	AUC
43	1100,502	37,03674	0,41	2,15(2,01)	0,7	2,42(2,44)	-0,29	0.6821751
44	1110,389	33,6302	1	2,56(2,57)	0,58	2,36(2,40)	0,42	0.6171901
45	1113,511	22,2623	0,59	2,45(2,51)	0	0,00(0,00)	0,59	0.7941176
46	1114,479	24,21347	0,82	2,21(2,14)	0,4	2,21(2,23)	0,43	0.8000752
47	1116,477	37,03951	0,24	2,31(2,64)	0,51	2,16(2,20)	-0,28	0.6542825
48	1116,53	20,8514	0,71	2,17(2,17)	0,13	1,86(1,72)	0,58	0.7189275
49	1128,394	33,59201	1	3,12(3,06)	0,92	3,01(3,01)	0,08	0.7363014
50	1128,488	25,64931	0,65	2,48(2,43)	0,79	2,44(2,46)	-0,14	0.6419980
51	1130,337	35,39296	0,88	2,46(2,54)	0,74	2,76(2,83)	0,14	0.6394086
52	1134,583	23,65584	0,71	2,23(2,16)	0,74	2,77(2,73)	-0,04	0.7863348
53	1138,468	37,07027	0,71	2,25(2,22)	0,38	1,87(1,79)	0,32	0.7287962
54	1140,516	25,38464	0,06	2,34(2,34)	0,44	2,35(2,42)	-0,38	0.7181757
55	1141,511	26,05729	0,76	2,66(2,60)	0,45	2,05(2,03)	0,31	0.6506432
56	1143,52	36,96738	1	2,16(2,15)	0,92	2,63(2,68)	0,08	0.7395172
57	1150,561	22,43054	0,88	2,55(2,55)	0,53	2,21(2,24)	0,35	0.7982216
58	1152,485	27,84809	0,59	2,10(1,97)	0,15	1,57(1,44)	0,44	0.7506840
59	1153,311	35,60757	0,94	2,40(2,49)	0,62	2,55(2,53)	0,32	0.6081963
60	1157,537	37,44405	1	3,02(2,95)	0,99	3,30(3,33)	0,01	0.7258934
61	1159,603	26,06505	0,76	2,65(2,60)	0,38	2,55(2,56)	0,38	0.6357751
62	1160,359	35,60058	1	3,03(3,09)	0,97	3,19(3,22)	0,03	0.6624206
63	1162,544	20,11196	0,59	2,39(2,39)	0,62	2,30(2,37)	-0,03	0.6326428
64	1168,55	20,93344	0,59	2,19(2,13)	0,02	1,89(1,89)	0,56	0.7859097
65	1169,566	23,7134	0,88	2,28(2,37)	0,47	2,12(2,15)	0,42	0.6158537
66	1170,531	22,38287	0,53	1,84(1,83)	0,06	1,97(1,83)	0,47	0.7325581
67	1173,529	37,49036	0,88	2,18(2,12)	0,81	2,53(2,54)	0,07	0.6908678
68	1178,392	20,71175	0,59	2,38(2,38)	0,21	2,29(2,26)	0,38	0.6946625
69	1179,523	27,11006	1	3,09(3,11)	0,86	2,77(2,81)	0,14	0.8720930
70	1180,517	35,69966	0,47	2,49(2,49)	0,79	2,83(2,92)	-0,32	0.7102406
71	1182,548	28,273	0,41	1,69(1,76)	0,62	2,05(2,09)	-0,2	0.6427080
72	1186,53	22,39375	0,94	2,94(2,88)	0,88	2,87(2,89)	0,06	0.7455540
73	1187,358	35,68919	0,94	2,77(2,85)	0,8	2,88(2,93)	0,14	0.6713999
74	1191,517	36,17672	0,59	2,17(2,16)	0,85	2,70(2,73)	-0,26	0.7734714
75	1194,553	26,70085	1	3,51(3,47)	0,98	3,38(3,38)	0,02	0.5410124
76	1196,519	21,00144	0,82	2,98(3,03)	0,29	2,70(2,79)	0,53	0.6886903
77	1199,576	21,9516	0,94	2,49(2,45)	0,59	2,34(2,33)	0,35	0.7541040
78	1200,537	25,02658	0,53	3,22(3,86)	0,15	2,70(2,07)	0,38	0.7732208
79	1200,538	24,14255	0,65	3,92(3,86)	0,92	3,90(3,90)	-0,27	0.7987805
80	1208,493	26,33716	0,71	2,74(2,71)	0,27	2,47(2,44)	0,44	0.7458960
81	1210,554	20,87028	0,59	2,56(2,61)	0,09	2,10(2,03)	0,5	0.6727364
82	1211,542	25,82128	0,12	2,45(2,45)	0,59	2,11(2,14)	-0,48	0.6394921
83	1215,452	26,87849	0,24	2,67(2,76)	0,29	2,68(2,67)	-0,06	0.6974607
84	1216,537	24,24347	1	3,28(3,26)	0,91	3,17(3,16)	0,09	0.6511628
85	1217,529	35,78057	0,35	3,36(3,26)	0,83	3,57(3,66)	-0,47	0.8004093
86	1226,525	21,01619	0,94	2,67(2,66)	0,7	2,60(2,65)	0,24	0.6538988
87	1231,488	39,56649	0,53	2,22(2,30)	0,1	1,80(1,88)	0,42	0.7291382
88	1244,566	21,64647	0,59	2,08(2,18)	0,19	1,95(2,04)	0,4	0.7147743
89	1247,523	22,00076	0,88	3,08(3,11)	0,94	2,79(2,85)	-0,06	0.8098480
90	1257,443	33,9189	1	3,40(3,39)	0,97	3,21(3,25)	0,03	0.8467257

Nr	Masse [Da]	CE t [min]	Freq. ADPKD	Amplitude	Freq. Contrl.	Amplitude	Freq. Diff	AUC
91	1260,562	21,82808	0,65	2,69(2,81)	0,41	2,30(2,26)	0,24	0.6800869
92	1266,565	21,20346	0,59	2,23(2,23)	0,15	2,03(1,96)	0,44	0.7390561
93	1268,543	21,3538	0,65	2,42(2,48)	0,42	2,35(2,42)	0,23	0.6291346
94	1281,585	27,09018	0,35	2,59(2,74)	0,69	2,49(2,50)	-0,33	0.6627130
95	1283,366	36,12409	1	2,62(2,64)	0,94	2,56(2,60)	0,06	0.6740728
96	1287,592	21,87374	0,59	2,66(2,54)	0,37	2,50(2,51)	0,22	0.6125922
97	1290,344	30,86606	0,71	2,32(2,21)	0,21	2,38(2,48)	0,5	0.7393981
98	1292,393	36,15933	0,29	2,00(1,84)	0,24	2,19(2,28)	0,05	0.6295523
99	1292,594	21,41793	0,59	2,39(2,44)	0,15	2,16(2,11)	0,44	0.7363201
100	1295,356	34,16189	0,24	1,85(1,89)	0,05	1,72(1,68)	0,19	0.6740311
101	1297,582	27,36504	0,35	3,23(3,26)	0,8	3,20(3,20)	-0,45	0.6459656
102	1312,622	22,45504	1	3,00(3,02)	0,62	2,70(2,79)	0,38	0.6352808
103	1322,405	36,37559	0,59	2,46(2,31)	0,45	2,48(2,55)	0,13	0.6366104
104	1326,564	27,11048	0,12	3,05(3,05)	0,64	2,80(2,77)	-0,52	0.7488724
105	1328,499	26,77713	0,29	2,06(2,12)	0,23	1,95(1,92)	0,06	0.6541096
106	1332,416	36,1259	0,65	2,06(2,10)	0,22	1,99(1,98)	0,43	0.7209302
107	1333,416	36,10802	0,24	2,30(2,31)	0,62	2,19(2,23)	-0,38	0.6774966
108	1337,62	38,19948	0,82	2,12(2,26)	0,73	2,41(2,45)	0,09	0.6838874
109	1338,603	23,98777	0,94	2,66(2,62)	0,72	2,49(2,52)	0,22	0.7031464
110	1341,578	29,97724	0,41	2,30(2,39)	0,33	2,05(2,00)	0,09	0.7088623
111	1350,574	21,26649	0,71	2,27(2,33)	0,1	2,18(2,08)	0,6	0.7199716
112	1351,635	38,75677	0,76	2,34(2,34)	0,91	2,61(2,69)	-0,14	0.7115770
113	1352,556	29,76547	0,94	2,28(2,37)	0,63	2,11(2,18)	0,31	0.6620448
114	1352,779	24,60145	0,71	2,38(2,39)	0,24	2,09(2,08)	0,46	0.7698358
115	1353,656	25,63162	0,94	2,53(2,48)	0,94	2,77(2,78)	0	0.7869195
116	1354,641	22,13931	0,71	2,26(2,24)	0,14	1,77(1,78)	0,57	0.8283174
117	1357,578	30,02141	0,76	2,25(2,33)	0,5	2,04(2,11)	0,26	0.7595640
118	1360,627	22,64544	0,59	2,07(1,94)	0,16	1,91(2,06)	0,43	0.7209302
119	1367,643	38,88257	0,94	2,87(2,85)	0,98	3,07(3,15)	-0,04	0.6962913
120	1368,577	21,9043	0,59	2,45(2,47)	0,27	2,29(2,37)	0,32	0.7265703
121	1383,593	27,62604	1	2,60(2,65)	0,63	2,40(2,36)	0,37	0.6304711
122	1383,637	38,94024	0,41	1,92(2,09)	0,45	2,20(2,27)	-0,04	0.6521049
123	1392,623	21,75213	1	3,53(3,49)	1	3,58(3,62)	0	0.7002269
124	1399,623	28,74437	0,35	2,39(2,45)	0,15	2,24(2,18)	0,2	0.6726111
125	1408,66	39,13381	0,82	2,60(2,60)	0,91	3,02(3,05)	-0,08	0.7497912
126	1413,55	25,55998	0,59	2,58(2,62)	0,24	2,17(2,21)	0,34	0.7130643
127	1423,594	21,90806	0,41	3,15(3,03)	0,21	2,93(3,13)	0,2	0.6637989
128	1424,662	39,29955	0,94	3,34(3,29)	1	3,55(3,65)	-0,06	0.7117858
129	1426,638	22,42056	0,53	1,78(1,73)	0,22	2,01(1,97)	0,31	0.6064567
130	1435,659	28,83627	1	3,84(3,85)	0,94	3,82(3,80)	0,06	0.5957592
131	1438,659	30,20137	0,29	2,17(2,26)	0,63	2,28(2,33)	-0,33	0.6223271
132	1439,655	29,81709	0,76	2,41(2,44)	0,43	2,26(2,24)	0,33	0.6754928
133	1440,661	39,28449	0,82	2,43(2,38)	0,78	2,89(2,96)	0,04	0.7286168
134	1442,626	27,6328	0,76	2,83(2,88)	0,1	1,97(2,05)	0,66	0.6920314
135	1451,693	22,55358	0,71	3,04(3,04)	0,9	3,10(3,15)	-0,19	0.6855997
136	1466,659	21,8713	1	3,41(3,37)	1	3,37(3,41)	0	0.6834940
137	1466,653	28,51877	0,47	2,19(2,16)	0,67	2,58(2,70)	-0,2	0.6686017
138	1467,795	23,8873	0,29	2,74(2,55)	0,64	3,38(3,46)	-0,35	0.6645924

Nr	Masse [Da]	CE t [min]	Freq. ADPKD	Amplitude	Freq. Contrl.	Amplitude	Freq. Diff.	AUC
139	1467,807	24,68522	0,94	3,19(3,20)	0,56	2,83(2,79)	0,38	0.6557005
140	1469,668	23,69358	1	3,47(3,47)	0,95	3,38(3,44)	0,05	0.5601915
141	1470,684	21,08042	0,35	1,89(1,84)	0,58	2,12(2,19)	-0,23	0.6760775
142	1473,63	22,20617	0,41	3,00(3,15)	0,31	2,71(2,68)	0,1	0.6280905
143	1483,656	22,58601	0,47	2,90(2,95)	0,29	2,75(2,92)	0,18	0.6503508
144	1486,683	21,15232	0,65	2,42(2,34)	0,79	2,62(2,63)	-0,14	0.7578517
145	1487,652	29,62173	0,76	2,73(2,78)	0,5	2,57(2,63)	0,26	0.6983834
146	1491,739	39,83392	1	2,40(2,32)	0,94	2,94(2,99)	0,06	0.7893418
147	1494,661	30,3993	0,71	2,20(2,28)	0,86	2,33(2,36)	-0,15	0.6710658
148	1496,684	30,37452	0,29	1,94(1,81)	0,57	2,32(2,34)	-0,28	0.6737346
149	1496,63	22,33629	0,53	2,33(2,24)	0,23	2,05(2,04)	0,3	0.6698964
150	1507,738	40,02385	0,94	3,33(3,34)	1	3,72(3,74)	-0,06	0.7829937
151	1522,701	29,40686	1	3,04(3,04)	0,84	2,86(2,88)	0,16	0.7599179
152	1523,841	29,75377	0,12	3,21(3,21)	0,8	3,45(3,51)	-0,68	0.6491814
153	1538,69	29,77393	0,71	2,34(2,34)	0,84	2,40(2,45)	-0,13	0.7183428
154	1539,735	40,30862	1	3,28(3,31)	0,73	3,58(3,69)	0,27	0.7248998
155	1542,692	23,96014	0,59	2,40(2,41)	0,42	2,36(2,39)	0,17	0.6599546
156	1556,739	40,03232	0,24	2,05(2,03)	0,59	2,93(2,79)	-0,36	0.7356361
157	1560,577	21,76907	0,65	2,61(2,70)	0,44	2,55(2,51)	0,21	0.6563649
158	1565,688	26,3032	0,71	2,13(2,11)	0,77	2,18(2,20)	-0,06	0.6953725
159	1567,702	20,19208	0,88	2,65(2,75)	0,65	2,50(2,52)	0,23	0.6643418
160	1576,6	26,37432	1	2,93(2,98)	0,84	2,95(2,95)	0,16	0.6171901
161	1579,679	23,00007	0,94	2,93(2,97)	0,76	2,73(2,72)	0,19	0.6571584
162	1579,713	29,81744	1	3,41(3,40)	1	3,54(3,54)	0	0.7782189
163	1580,886	24,84996	0,71	3,38(3,53)	0,44	2,83(2,76)	0,26	0.6691447
164	1580,879	23,8674	0,41	2,78(2,81)	0,86	3,11(3,14)	-0,45	0.7580605
165	1584,506	37,49593	0,53	2,10(2,07)	0,79	2,61(2,66)	-0,26	0.7441860
166	1586,738	28,88186	0,71	2,39(2,34)	0,85	2,35(2,36)	-0,14	0.6819342
167	1588,706	30,15033	1	2,88(2,90)	0,5	2,11(2,13)	0,5	0.8785499
168	1591,709	38,27637	0,06	1,59(1,59)	0,55	2,08(2,11)	-0,49	0.7582246
169	1594,762	40,21545	1	3,02(3,02)	0,7	3,28(3,27)	0,3	0.6005472
170	1622,722	26,79132	0,59	2,38(2,42)	0,69	2,31(2,31)	-0,1	0.6237471
171	1623,727	24,12394	1	3,78(3,79)	0,99	3,79(3,82)	0,01	0.5583027
172	1630,739	20,64725	0,35	2,11(2,04)	0,33	2,28(2,25)	0,03	0.6211004
173	1634,652	37,33193	0,41	2,37(2,34)	0,55	2,51(2,55)	-0,13	0.6727170
174	1635,76	30,33571	0,82	3,04(3,33)	0,71	3,15(3,46)	0,11	0.6004845
175	1635,786	40,44105	1	2,98(2,99)	0,9	3,16(3,24)	0,1	0.7440442
176	1638,728	20,22988	0,82	2,71(2,76)	0,56	2,56(2,56)	0,27	0.6113014
177	1640,581	23,24178	1	3,69(3,67)	0,92	3,62(3,66)	0,08	0.6668894
178	1651,79	40,66166	0,94	3,52(3,54)	0,98	3,60(3,62)	-0,04	0.7731140
179	1653,876	30,38117	0,94	3,16(3,18)	0,65	3,11(3,06)	0,29	0.6171066
180	1660,735	38,00226	0,41	3,16(3,11)	0,6	3,06(3,08)	-0,19	0.6281906
181	1666,775	30,66426	0,65	2,33(2,32)	0,86	2,49(2,51)	-0,21	0.7300368
182	1679,947	23,81762	0,94	3,78(3,66)	0,92	4,32(4,44)	0,02	0.6952890
183	1680,752	30,02747	0,94	3,42(3,41)	0,71	3,47(3,50)	0,23	0.5632726
184	1684,666	31,75269	0,24	2,61(2,57)	0,73	3,10(3,17)	-0,5	0.7309973
185	1684,671	30,65638	0,88	3,31(3,37)	0,26	3,29(3,30)	0,63	0.8144838
186	1684,709	29,6453	0,12	2,20(2,20)	0,57	2,46(2,48)	-0,45	0.7523388

Nr	Masse [Da]	CE t [min]	Freq ADPKD	Amplitude	Freq. Contrl	Amplitude	Freq Diff	AUC
187	1693,762	20,50581	0,53	2,19(2,19)	0,65	2,22(2,25)	-0,12	0.6432509
188	1703,839	33,58491	0,18	2,17(2,15)	0,58	2,74(2,74)	-0,4	0.7291382
189	1716,657	20,17727	0,71	2,56(2,60)	0,55	2,51(2,46)	0,16	0.6575342
190	1716,773	27,99784	0,71	2,77(2,83)	0,9	2,80(2,84)	-0,19	0.7324173
191	1732,771	28,17527	0,94	3,42(3,42)	0,94	3,54(3,54)	0	0.7753829
192	1746,593	38,21271	0,29	1,61(1,56)	0,55	2,30(2,42)	-0,25	0.6781055
193	1754,895	31,25885	0,94	3,53(3,46)	0,67	3,69(3,67)	0,27	0.6908620
194	1783,791	39,81519	0,71	2,30(2,42)	0,52	2,44(2,55)	0,18	0.6197795
195	1798,716	36,94821	0,41	2,12(2,10)	0,62	2,40(2,50)	-0,2	0.6911961
196	1806,827	23,06136	0,76	2,34(2,45)	0,78	2,32(2,34)	-0,01	0.6547079
197	1807,809	20,64857	1	3,25(3,24)	0,91	3,07(3,10)	0,09	0.6068326
198	1808,793	23,71763	0,35	2,18(2,16)	0,33	2,35(2,39)	0,03	0.6483879
199	1817,694	20,23435	1	3,32(3,41)	0,94	3,32(3,40)	0,06	0.6021550
200	1818,827	30,95312	1	3,01(3,04)	0,65	2,31(2,35)	0,35	0.6579101
201	1819,796	23,36311	1	3,70(3,73)	0,98	3,58(3,59)	0,02	0.5938022
202	1822,735	30,87417	0,18	2,11(2,40)	0,67	2,59(2,60)	-0,5	0.7859097
203	1828,848	21,20199	0,53	2,31(2,35)	0,1	2,12(2,17)	0,42	0.7222982
204	1834,825	31,09503	1	3,56(3,64)	0,97	2,93(2,96)	0,03	0.8590971
205	1837,8	30,55694	0	0,00(0,00)	0,62	2,51(2,48)	-0,62	0.6600401
206	1840,836	41,17953	0,35	1,94(1,84)	0,69	2,39(2,47)	-0,33	0.7235216
207	1858,839	24,2646	0,12	2,59(2,59)	0,52	2,93(2,78)	-0,41	0.6320581
208	1860,826	21,40014	0,47	2,56(2,92)	0,85	2,85(2,84)	-0,38	0.5720013
209	1863,751	19,92311	0,29	1,97(1,92)	0,15	2,23(2,30)	0,14	0.6511443
210	1874,831	30,82379	0,12	2,25(2,25)	0,67	2,11(2,14)	-0,56	0.6922820
211	1878,59	30,77853	0,59	2,72(2,78)	0,77	2,84(2,92)	-0,18	0.6690194
212	1884,857	40,05398	0,59	2,47(2,40)	0,14	2,58(2,48)	0,45	0.7222982
213	1885,651	38,81996	0,47	1,95(1,96)	0,83	2,18(2,25)	-0,35	0.5698296
214	1892,973	24,55813	0,82	2,67(2,69)	0,34	2,47(2,50)	0,49	0.6457742
215	1911,051	24,98094	0,71	4,94(4,95)	0,93	4,37(4,47)	-0,22	0.7079343
216	1936,874	34,748	0,59	1,87(1,86)	0,5	1,98(2,00)	0,09	0.6524808
217	1947,878	31,60618	0,47	2,50(2,61)	0,71	2,70(2,74)	-0,24	0.6920314
218	1950,851	35,76881	1	2,80(2,80)	0,91	2,77(2,82)	0,09	0.5424077
219	1962,875	31,81242	0,76	2,29(2,34)	0,35	2,46(2,51)	0,42	0.6559508
220	1963,88	31,74253	0,24	2,45(2,45)	0,58	2,37(2,41)	-0,35	0.6335616
221	1969,838	25,22952	0,35	2,20(2,27)	0,41	2,33(2,30)	-0,05	0.6186519
222	1977,918	32,19436	0,53	2,53(2,52)	0,5	2,62(2,59)	0,03	0.6303176
223	2003,939	24,61864	0,47	2,12(2,17)	0,64	2,19(2,23)	-0,17	0.6202389
224	2007,945	22,10222	1	3,14(3,14)	0,84	2,97(3,01)	0,16	0.7435021
225	2008,902	32,2865	0,29	2,95(2,78)	0,59	2,93(2,91)	-0,3	0.6304594
226	2009,879	32,29178	0,71	2,71(2,74)	0,42	2,53(2,66)	0,29	0.6075008
227	2013,893	31,75577	0,35	2,14(2,15)	0,74	2,04(2,11)	-0,39	0.6947043
228	2013,905	25,19463	1	3,32(3,38)	0,99	3,19(3,24)	0,01	0.6001504
229	2014,898	21,90602	1	3,61(3,64)	0,98	3,31(3,29)	0,02	0.7985717
230	2029,853	20,39044	0,47	2,30(2,31)	0,33	2,29(2,25)	0,15	0.6196824
231	2039,129	21,77864	1	3,14(3,26)	0,76	2,93(3,04)	0,24	0.7352941
232	2045,858	34,17017	0,29	2,33(2,13)	0,57	2,29(2,27)	-0,28	0.6737096
233	2058,937	23,15082	0,65	2,42(2,30)	0,85	2,53(2,58)	-0,2	0.7454895
234	2064,918	24,45992	0,65	2,15(2,11)	0,81	2,59(2,65)	-0,17	0.6879803

Nr	Masse [Da]	CE t [min]	Freq. ADPKD	Amplitude	Freq. Contrl.	Amplitude	Freq. Diff.	AUC
235	2067,818	20,62077	1	3,04(3,12)	0,9	3,09(3,16)	0,1	0.5916553
236	2076,945	21,77894	0,24	3,17(3,13)	0,76	2,97(3,04)	-0,52	0.6145774
237	2077,963	22,48482	0,59	2,38(2,35)	0,24	2,12(2,16)	0,34	0.7075923
238	2078,932	26,67145	1	3,79(3,79)	1	3,81(3,79)	0	0.6163548
239	2081,936	33,66116	1	2,36(2,47)	0,67	2,29(2,34)	0,33	0.6976744
240	2096,916	32,9972	0,47	2,13(2,13)	0,27	2,06(2,05)	0,2	0.6861844
241	2109,923	24,06903	0,06	1,54(1,54)	0,62	2,46(2,49)	-0,56	0.7423154
242	2130,962	32,73483	0,18	1,85(1,89)	0,55	2,10(2,08)	-0,37	0.7093023
243	2137,942	21,79294	1	2,94(2,92)	0,95	2,88(2,86)	0,05	0.6942031
244	2159,003	33,19108	1	3,26(3,30)	0,99	3,24(3,22)	0,01	0.5801036
245	2235,045	34,16645	0,88	2,81(2,79)	0,86	2,91(2,91)	0,02	0.6559472
246	2248,991	25,99098	0,59	4,14(4,18)	0,64	4,25(4,26)	-0,05	0.6909455
247	2257,869	35,92739	0,12	2,00(2,00)	0,71	2,99(3,03)	-0,59	0.6485550
248	2266,021	22,1634	1	3,81(3,81)	0,94	3,50(3,53)	0,06	0.6401604
249	2280,944	36,21864	0,41	2,33(2,45)	0,56	2,39(2,41)	-0,15	0.6502673
250	2282,016	22,23937	0,82	2,88(2,91)	0,73	2,67(2,68)	0,09	0.6767457
251	2297,011	33,86518	0,65	2,26(2,33)	0,27	2,26(2,30)	0,38	0.6860465
252	2371,084	22,7883	0,47	1,95(1,93)	0,5	2,12(2,10)	-0,03	0.6227865
253	2380,081	36,51091	0,24	2,08(2,07)	0,6	2,16(2,20)	-0,37	0.6928865
254	2404,015	20,27277	0,82	2,44(2,41)	0,74	2,38(2,42)	0,08	0.6851403
255	2420,998	34,86081	0,29	1,74(1,80)	0,64	2,03(2,04)	-0,35	0.6338540
256	2430,081	25,69736	0,24	1,91(1,95)	0,53	2,25(2,24)	-0,3	0.7061826
257	2446,092	28,37261	0	0,00(0,00)	0,73	2,33(2,31)	-0,73	0.7175910
258	2471,155	34,77354	1	2,58(2,72)	0,99	2,71(2,76)	0,01	0.6878900
259	2485,125	34,4072	0,29	2,21(2,41)	0,67	2,05(2,06)	-0,38	0.6126378
260	2487,125	28,27413	0,82	2,25(2,26)	0,86	2,53(2,56)	-0,04	0.6549449
261	2501,119	34,38645	0,35	2,08(2,09)	0,44	2,01(2,07)	-0,09	0.6806716
262	2544,112	26,06379	0	0,00(0,00)	0,56	2,17(2,21)	-0,56	0.7790698
263	2544,128	28,25992	0,53	2,04(2,25)	0,63	2,25(2,26)	-0,1	0.6398263
264	2545,12	28,20161	0,41	2,26(2,28)	0,17	2,24(2,34)	0,24	0.6125961
265	2547,986	21,4417	0,71	2,58(2,63)	0,37	2,21(2,15)	0,33	0.6749858
266	2559,18	19,40742	0,35	3,00(2,98)	0,35	2,53(2,57)	0	0.6418037
267	2576,124	34,25753	0,12	1,60(1,60)	0,69	2,25(2,25)	-0,57	0.7520464
268	2577,246	24,66592	1	2,37(2,36)	0,81	2,38(2,38)	0,19	0.5902873
269	2589,056	22,56216	0,18	1,73(1,49)	0,55	2,11(2,16)	-0,37	0.6570331
270	2596,233	34,89552	0,35	1,73(1,70)	0,65	1,88(1,90)	-0,3	0.6398263
271	2599,19	28,27509	0,76	2,27(2,30)	0,88	2,40(2,48)	-0,12	0.7089041
272	2628,215	34,96638	0,59	2,73(2,72)	0,52	2,74(2,75)	0,06	0.6939875
273	2642,214	27,69602	1	2,76(2,77)	0,93	2,69(2,70)	0,07	0.6374829
274	2658,271	19,47609	0,53	3,28(3,48)	0,4	3,17(3,13)	0,13	0.6840962
275	2682,143	22,49183	1	3,01(3,01)	0,95	2,98(2,95)	0,05	0.5851988
276	2686,336	29,34243	0,71	2,36(2,40)	0,38	2,22(2,21)	0,32	0.6798363
277	2742,251	42,14319	0,94	2,91(2,95)	0,49	2,48(2,59)	0,45	0.7046442
278	2744,125	35,10541	0,71	2,22(2,21)	0,56	2,26(2,30)	0,15	0.6339375
279	2748,788	36,38231	0,41	2,06(2,01)	0,57	1,91(1,92)	-0,16	0.6451721
280	2752,413	19,8887	0,18	3,41(3,86)	0,27	3,20(3,15)	-0,09	0.6395757
281	2767,323	21,6729	0,71	2,53(2,64)	0,85	2,65(2,68)	-0,14	0.6929949
282	2825,267	24,4868	1	4,18(4,21)	0,98	4,22(4,21)	0,02	0.7767290

Nr	Masse [Da]	CE t [min]	Freq. ADPKD	Amplitude	Freq. Contrl.	Amplitude	Freq. Diff	AUC
283	2834,187	22,46729	0,59	2,33(2,40)	0,17	1,82(1,76)	0,41	0.7417921
284	2854,363	34,86364	1	3,50(3,46)	0,98	3,40(3,47)	0,02	0.6537755
285	2914,379	24,33308	0,29	2,36(2,16)	0,4	2,02(1,93)	-0,1	0.6630743
286	2923,432	36,91513	0,88	2,41(2,48)	0,72	2,43(2,44)	0,16	0.6025727
287	2936,536	20,09721	0,06	2,68(2,68)	0	0,00(0,00)	0,06	0.7512529
288	2942,299	22,23281	1	3,58(3,67)	0,97	3,54(3,60)	0,03	0.6777481
289	2973,452	24,3704	0,76	2,64(2,73)	0,85	2,74(2,74)	-0,08	0.6972490
290	2977,179	19,52319	0,59	2,59(2,78)	0,44	2,30(2,29)	0,15	0.6702723
291	2987,348	38,54569	0,35	2,05(2,05)	0,33	2,14(2,25)	0,03	0.6481791
292	3002,238	23,80085	0,18	2,05(2,03)	0,62	1,95(1,91)	-0,44	0.6300535
293	3011,387	29,74951	0,94	3,27(3,31)	1	3,37(3,39)	-0,06	0.7793534
294	3057,395	29,96413	0,24	1,80(1,82)	0,22	1,81(1,81)	0,01	0.6997995
295	3058,378	24,82364	0,76	2,44(2,28)	0,59	2,51(2,59)	0,17	0.6503926
296	3076,233	19,57728	0,59	2,77(2,91)	0,56	2,49(2,51)	0,03	0.6693953
297	3132,455	31,1821	0,71	2,26(2,25)	0,36	2,24(2,29)	0,35	0.6628801
298	3137,411	30,34616	0,94	2,46(2,49)	0,67	2,30(2,36)	0,27	0.7489740
299	3148,277	24,15522	0,59	2,21(2,23)	0,31	2,03(2,07)	0,27	0.6719011
300	3152,34	24,55108	0,82	2,79(2,86)	0,51	2,52(2,52)	0,31	0.7217675
301	3166,271	22,05894	0,71	2,77(2,85)	0,28	2,16(2,11)	0,43	0.7532994
302	3193,382	22,64363	0,76	3,13(3,16)	0,58	3,18(3,27)	0,18	0.6766875
303	3200,423	35,77416	0,53	2,75(2,81)	0,34	2,61(2,63)	0,19	0.6340628
304	3202,434	30,60166	0,47	2,30(2,41)	0,07	1,99(1,99)	0,4	0.7820748
305	3205,273	19,65755	0,71	2,87(3,01)	0,76	2,75(2,75)	-0,05	0.6685600
306	3255,493	30,78474	0,47	2,20(2,29)	0,2	2,21(2,33)	0,27	0.6953725
307	3256,527	33,03419	0,82	3,07(3,10)	0,67	2,60(2,69)	0,15	0.7700050
308	3261,498	22,19478	0,12	2,34(2,34)	0,51	2,50(2,63)	-0,39	0.6969904
309	3264,556	25,75167	0,82	2,88(2,90)	0,94	3,11(3,19)	-0,12	0.7183778
310	3265,431	36,08731	0,35	2,30(2,46)	0,76	2,76(2,86)	-0,4	0.7746238
311	3266,484	30,07129	0,59	1,95(1,95)	0,4	2,08(2,08)	0,19	0.6472603
312	3271,49	30,70446	0,35	3,02(3,01)	0,33	3,18(3,23)	0,03	0.6333111
313	3282,498	30,08996	0,47	1,98(2,01)	0,43	1,93(1,95)	0,04	0.6536919
314	3287,479	30,97061	0,35	3,34(3,35)	0,83	3,42(3,42)	-0,47	0.6347136
315	3314,431	20,14047	0,53	2,81(2,78)	0,31	2,61(2,77)	0,22	0.6507267
316	3338,463	23,58844	0,65	2,90(3,04)	0,56	2,71(2,73)	0,09	0.6506014
317	3350,549	31,01736	0,41	1,89(1,87)	0,63	2,24(2,28)	-0,22	0.6313103
318	3363,543	30,21892	0,35	2,28(2,17)	0,37	2,10(2,11)	-0,02	0.6736552
319	3404,619	25,94028	0,59	3,50(3,49)	0,37	3,31(3,48)	0,22	0.6784998
320	3405,478	25,96805	0,18	3,48(3,57)	0,55	3,55(3,59)	-0,37	0.6706482
321	3416,602	36,84899	0,06	1,65(1,65)	0,51	1,80(1,84)	-0,45	0.6028233
322	3421,555	25,99412	1	3,11(3,12)	0,88	3,14(3,16)	0,12	0.5451052
323	3425,605	31,27027	1	3,20(3,28)	0,94	3,31(3,34)	0,06	0.5608086
324	3426,31	27,69928	0,59	2,11(2,15)	0,33	1,82(1,83)	0,26	0.8015787
325	3441,609	31,38498	1	3,82(3,92)	0,94	4,03(4,07)	0,06	0.5699967
326	3462,35	19,37411	0,24	2,54(2,51)	0,15	2,21(2,28)	0,08	0.6916973
327	3546,672	26,2234	0	0,00(0,00)	0,55	2,64(2,72)	-0,55	0.7209302
328	3572,6	30,6681	0,47	2,09(2,01)	0,1	2,11(2,22)	0,37	0.7309973
329	3582,701	19,46503	0,29	3,25(3,22)	0,44	2,54(2,51)	-0,15	0.6397427
330	3583,637	41,47108	0,82	2,44(2,46)	0,45	2,45(2,56)	0,37	0.6458403

Nr	Masse [Da]	CE t [min]	Freq. ADPKD	Amplitude	Freq. Contrl.	Amplitude	Freq. Diff.	AUC
331	3603,678	32,40852	0,12	2,01(2,01)	0,56	2,19(2,17)	-0,44	0.7318741
332	3630,443	21,77706	0,71	2,60(2,57)	0,24	2,19(2,32)	0,46	0.7385149
333	3681,716	32,01776	0,41	1,98(1,99)	0,65	2,16(2,20)	-0,24	0.6225184
334	3685,833	22,19635	0,82	3,20(3,36)	0,69	3,23(3,30)	0,14	0.6607918
335	3706,721	22,02471	0,41	2,49(2,47)	0,38	2,72(2,80)	0,03	0.6143502
336	3719,734	22,49869	0,65	2,67(2,69)	0,55	2,50(2,51)	0,1	0.6681006
337	3774,812	28,22771	0,24	2,72(2,77)	0,51	2,74(2,75)	-0,28	0.6934203
338	3775,748	25,58515	0,76	2,87(2,97)	0,83	2,75(2,88)	-0,06	0.7170899
339	3788,818	25,18606	0,18	2,11(2,12)	0,55	2,32(2,42)	-0,37	0.6263782
340	3831,81	28,48446	0,53	2,26(2,33)	0,78	3,07(3,15)	-0,25	0.6866021
341	3839,813	19,70303	0,82	3,04(2,99)	0,67	3,19(3,34)	0,15	0.6516873
342	3870,814	33,49116	0,65	2,06(2,10)	0,74	2,24(2,29)	-0,1	0.6795235
343	3891,752	24,52856	0,47	2,37(2,44)	0,79	2,64(2,74)	-0,32	0.6360675
344	3944,712	24,55436	0,35	2,22(2,20)	0,35	1,85(1,86)	0	0.6489308
345	3984,647	21,25792	0	0,00(0,00)	0,57	2,79(2,85)	-0,57	0.7206466
346	3986,65	20,60164	1	3,69(3,72)	0,71	3,16(3,22)	0,29	0.7926829
347	3996,658	20,92089	0,53	3,00(2,95)	0,21	2,39(2,28)	0,32	0.7118276
348	4002,618	20,65664	0,18	2,00(1,97)	0,81	3,02(3,24)	-0,64	0.6789563
349	4043,639	20,38493	0,94	3,00(3,10)	0,44	2,75(2,70)	0,5	0.6801704
350	4190,718	20,5276	0,53	2,25(2,25)	0,09	2,21(2,37)	0,44	0.6760775
351	4196,749	20,83785	0,71	2,68(2,78)	0,33	2,24(2,28)	0,38	0.7335449
352	4251,984	28,76518	0,76	2,93(2,92)	0,88	3,07(3,06)	-0,12	0.6826432
353	4368,903	20,2129	0	0,00(0,00)	0,64	3,25(3,38)	-0,64	0.8197674
354	4404,842	20,66586	0,88	2,97(2,94)	0,45	2,62(2,68)	0,43	0.7829519
355	4409,888	20,00095	0,82	3,10(3,19)	0,38	2,68(2,73)	0,44	0.7334614
356	4418,992	25,74477	0,12	2,15(2,15)	0,52	2,15(2,17)	-0,41	0.7283040
357	4467,96	29,11998	0,29	2,34(2,47)	0,71	2,67(2,74)	-0,42	0.7564979
358	4539,029	26,25198	0,24	1,72(1,80)	0,51	2,32(2,30)	-0,28	0.7010777
359	4671,824	23,27783	0,82	2,57(2,65)	0,66	2,40(2,45)	0,16	0.7878383
360	4771,071	20,19867	0,76	3,11(3,08)	0,3	2,56(2,51)	0,46	0.7571834
361	4799,959	23,80776	1	3,48(3,53)	0,87	3,26(3,24)	0,13	0.8591714
362	5227,459	27,38143	0,47	2,93(2,91)	0,14	2,44(2,28)	0,33	0.6736552
363	5228,26	26,99815	0,18	2,49(2,43)	0,56	2,64(2,84)	-0,38	0.6406693
364	5574,253	23,20092	0,88	2,74(2,81)	0,79	2,63(2,67)	0,09	0.7053959
365	6055,575	21,04955	0,29	2,56(2,41)	0,29	2,36(2,39)	0	0.7641163
366	6169,572	24,77459	0,76	3,21(3,11)	0,17	2,52(2,63)	0,59	0.7647010
367	6211,741	20,28513	0,76	3,00(2,95)	0,45	2,70(2,71)	0,31	0.7373461
368	6236,907	21,066	0,47	2,88(2,93)	0,52	2,67(2,66)	-0,05	0.7427330
369	6782,845	26,57695	0,59	2,70(2,73)	0,33	2,63(2,62)	0,26	0.6318775
370	8176,072	19,46583	0,18	4,01(4,01)	0,71	3,16(3,23)	-0,53	0.7161423
371	8176,01	20,17348	0,59	3,79(3,91)	0,03	3,37(3,48)	0,55	0.7828317
372	8837,408	21,0634	1	3,48(3,68)	0,41	2,81(2,85)	0,59	0.8829769
373	8853,766	21,09699	0,18	2,41(2,69)	0,76	3,03(3,04)	-0,58	0.6331440
374	8917,251	22,54506	0,82	2,62(2,75)	0,24	2,23(2,24)	0,58	0.8127297
375	9625,366	20,68655	0,65	2,58(2,60)	0,26	2,27(2,31)	0,39	0.6497661
376	9866,536	20,86863	0,76	3,28(3,26)	0,5	2,89(2,90)	0,26	0.6806716
377	10199,7	21,11481	0,59	2,41(2,52)	0,26	2,45(2,45)	0,33	0.6714417
378	10341,97	22,98239	0,76	2,98(3,08)	0,08	2,76(2,68)	0,68	0.7283662

Nr.	Masse [Da]	CE t [min]	Freq. ADPKD	Amplitude	Freq. Contrl.	Amplitude	Freq. Diff	AUC
379	10753,32	19,65218	0,47	2,90(2,68)	0,19	2,42(2,39)	0,28	0.7113264
380	10999,91	21,37191	0,53	3,36(3,21)	0,19	3,27(3,46)	0,34	0.6348981
381	11967,55	20,46866	0,53	2,53(2,57)	0,28	2,20(2,06)	0,25	0.7801537
382	12716,79	25,89832	0,59	2,50(2,61)	0,06	2,51(2,49)	0,53	0.7691518
383	14110,92	21,95905	0,76	2,89(2,85)	0,26	2,45(2,52)	0,51	0.6982960

Es wird bevorzugt, dass mindestens fünf, mindestens sechs, mindestens acht, mindestens zehn, mindestens 20 oder mindestens 50 Polypeptidmarker verwendet werden, wie sie in Tabelle 1 definiert sind.

Bevorzugt handelt es sich bei der Urinprobe um eine Mittelstrahlurinprobe. Die Verwendung einer humanen Urinprobe ist bevorzugt.

Die Messung der Amplituden und/oder An- oder Abwesenheit kann durch eine Vielzahl von Verfahren erfolgen. Geeignete Verfahren sind unter anderem Kapillarelektrophorese, HPLC, Gasphasenionenspektrometrie und/oder Massenspektrometrie.

In einer bevorzugten Ausführungsform wird vor einer Messung der Molekularmasse der Polypeptidmarker eine Kapillarelektrophorese durchgeführt.

Massenspektrometrie ist zur Messung der Amplitude oder der An- oder Abwesenheit des oder der Polypeptidmarker besonders geeignet.

Erfindungsgemäß weist das Verfahren bevorzugt eine Sensitivität von mindestens 60% und eine Spezifität von mindestens 60% auf. Bevorzugt liegt die Sensitivität bei mindestens 70% oder mindestens 80% und die Spezifität bei mindestens 70% oder mindestens 80%.

In einer Ausführungsform der Erfindung erfolgt zunächst eine Auftrennung der Probe in mindestens drei, bevorzugt mindestens 5 oder 10 Teilproben. Anschließend erfolgt eine Analyse von mindestens drei, bevorzugt mindestens 5 oder 10 Teilproben zur Bestimmung einer An- oder Abwesenheit oder Amplitude mindestens eines Polypeptidmarkers in der Probe, wobei der Polypeptidmarker ausgewählt ist aus den Markern der Tabelle 1, die durch die Molekularmassen und Migrationszeit (CE-Zeit) charakterisiert sind.

Die in den Tabellen angegebenen CE-Zeit sind bezogen auf eine 90 cm lange Glaskapillare mit einem inneren Durchmesser (ID) von 50 µm bei einer angelegten Spannung von 25 kV, wobei als Laufmittel 20% Acetonitril, 0,25% Ameisensäure in Wasser verwendet wird. Einzelheiten sind im experimentellen Teil enthalten.

#### Detallierte Beschreibung der Erfindung

Spezifität ist definiert als die Nummer der tatsächlich negativen Proben geteilt durch die Summe der Anzahl der tatsächlich Negativen und der Anzahl der Falsch-Positiven. Eine Spezifität von 100% bedeutet, dass ein Test alle gesunden Personen als gesund erkennt, d.h. kein Gesunder wird als krank identifiziert. Dies trifft keine Aussage darüber, wie gut der Test kranke Patienten erkennt.

Sensitivität ist definiert als die Anzahl der tatsächlichen positiven Proben geteilt durch die Summe der Anzahl der tatsächlich Positiven und die Anzahl der Falsch-Negativen. Eine Sensitivität von 100% bedeutet, dass der Test alle Kranken erkennt. Er trifft keine Aussage, wie gut der Test gesunde Personen erkennt.

Durch die erfindungsgemäßen Markern ist es möglich, für die angegebene Erkrankung, für die eine Diagnose gewünscht wird, eine Spezifität von mindestens 60, bevorzugt mindestens 70, mehr bevorzugt 80, noch mehr bevorzugt mindestens 90 und am meisten bevorzugt mindestens 95% zu erreichen.

Durch die erfindungsgemäßen Marker ist es möglich, für die angegebene Erkrankung, für die eine Diagnose gewünscht wird, eine Sensitivität von mindestens 60, bevorzugt mindestens 70, mehr bevorzugt 80, noch mehr bevorzugt mindestens 90 und am meisten bevorzugt mindestens 95% zu erreichen.

Die Migrationszeit wird mittels Kapillarelektrophorese (capillary electrophoresis, CE) – wie z.B. in Beispiel unter Punkt 2 ausgeführt - bestimmt. In diesem Beispiel wird eine 90 cm lange Glaskapillare mit einem inneren Durchmesser (ID) von 50 µm und einem äußeren Durchmesser (OD) von 360 µm bei einer angelegten Spannung von 30 kV betrieben.

Als Laufmittel kann zum Beispiel auch 30% Methanol, 0,5% Ameisensäure in Wasser verwendet werden.

Es kann prinzipiell auch mit höheren Ameisensäuregehalten gearbeitet werden, z.B. 0,25%, 0,5%, 0,75% oder 1%.

Es ist bekannt, dass die CE-Migrationszeit variieren kann. Dennoch ist die Reihenfolge, mit der die Polypeptidmarker eluieren, für jedes verwendete CE System unter den angegebenen Bedingungen typischerweise gleich. Um dennoch auftretende Unterschiede in der Migrationszeit auszugleichen, kann das System unter Verwendung von Standards, für die die Migrationszeiten genau bekannt sind, normiert werden. Diese Standards können z.B. die in den Beispielen angegebenen Polypeptide sein (siehe Beispiele).

Die Charakterisierung der Polypeptide, die in den Tabellen gezeigt sind, wurde mittels Kapillarelektrophorese-Massenspektrometrie (CE-MS) bestimmt, einem Verfahren, das z.B. ausführlich von Neuhoff et al. (*Rapid communications in mass spectrometry*, 2004, Bd. 20, Seite 149-156), Coon et al., *Proteomics Clin. Appl.*, 2, 964–973 (2008) und Jantos-Siwy et al., *J Proteome Res*, in press (Epub Nov 14 2008) beschrieben wurde. Die Variation der Molekülmassen zwischen einzelnen Messungen oder zwischen verschiedenen Massenspektrometern ist bei exakter Kalibrierung relativ klein, typischerweise im Bereich von  $\pm 0,01\%$  oder  $0,005\%$ .

Die erfindungsgemäßen Polypeptidmarker sind Proteine oder Peptide oder Abbauprodukte von Proteinen oder Peptiden. Sie können chemisch modifiziert sein, z.B. durch posttranslationale Modifikationen wie Glykolisierung, Phosphorylierung, Alkylierung oder Disulfidverbrückung, oder durch andere Reaktionen, z.B. im Rahmen des Abbaus, verändert sein. Darüber hinaus können die

Polypeptidmarker auch im Rahmen der Aufreinigung der Proben chemisch verändert, z.B. oxidiert, sein.

Ausgehend von den Parametern, die die Polypeptidmarker bestimmen (Molekularmasse und Migrationszeit), ist es möglich, durch im Stand der Technik bekannte Verfahren die Sequenz der entsprechenden Polypeptide zu identifizieren.

Die erfindungsgemäßen Polypeptide werden verwendet, um ADPKD zu diagnostizieren.

Unter Diagnose versteht man den Vorgang der Erkenntnisgewinnung durch die Zuordnung von Symptomen oder Phänomenen zu einer Krankheit oder Verletzung. Im vorliegenden Fall wird die An- oder Abwesenheit bestimmter Polypeptidmarker auch Differentialdiagnostik genutzt. Die An- oder Abwesenheit eines Polypeptidmarkers kann durch jedes im Stand der Technik bekannte Verfahren gemessen werden. Verfahren, die verwendet werden können, sind weiter unten beispielhaft aufgeführt.

Ein Polypeptidmarker ist anwesend, wenn sein Messwert mindestens so hoch ist wie der Schwellenwert. Liegt sein Messwert darunter, ist der Polypeptidmarker abwesend. Der Schwellenwert kann entweder durch die Sensitivität des Messverfahrens (Nachweisgrenze) bestimmt werden oder anhand von Erfahrungen definiert werden.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung wird der Schwellenwert vorzugsweise überschritten, wenn der Messwert der Probe für eine bestimmte Molekularmasse mindestens doppelt so hoch ist, wie der einer Leerprobe (z.B. nur Puffer oder Lösungsmittel).

Der oder die Polypeptidmarker wird/werden in der Weise verwendet, dass seine/ihre An- oder Abwesenheit gemessen wird, wobei die An- oder Abwesenheit indikativ für ADPKD ist. So gibt es Polypeptidmarker, die typischerweise bei Individuen mit ADPKD vorhanden sind, jedoch bei Individuen ohne ADPKD seltener oder gar nicht auftreten. Weiterhin gibt es Polypeptidmarker, die bei Patienten mit ADPKD vorhanden sind, jedoch bei Patienten ohne ADPKD nicht oder nur seltener vorhanden sind.

Zusätzlich oder auch alternativ zu den Frequenzmarkern (Bestimmung der An- oder Abwesenheit) können auch Amplitudenmarker zur Diagnose verwendet werden. Amplitudenmarker werden in der Weise verwendet, dass nicht die An- oder Abwesenheit entscheidend ist, sondern die Höhe des Signals (die Amplitude) bei Anwesenheit des Signals in beiden Gruppen entscheidet. In den Tabellen sind die mittleren Amplituden der entsprechenden Signale (charakterisiert über Masse and Migrationszeit) über alle gemessenen Proben angegeben. Dabei sind zwei Nominierungsverfahren möglich, um eine Vergleichbarkeit zwischen unterschiedlich konzentrierten Proben oder unterschiedlichen Messmethoden zu erreichen. Im ersten Ansatz werden alle Peptidsignale einer Probe auf eine Gesamtamplitude von 1 Million Counts normiert. Die jeweiligen mittleren Amplituden der Einzelmarker sind daher als parts per million (ppm) angegeben.

Zusätzlich besteht die Möglichkeit über ein alternatives Normierungsverfahren weitere Amplitudenmarker zu definieren: in diesem Fall werden alle Peptidsignale

einer Probe mit einem gemeinsamen Normierungsfaktor skaliert, wie z.B. in Theodorescu et al, Electrophoresis, 26:2797-808 (2005), ausgeführt. Dazu wird eine lineare Regression zwischen den Peptid-Amplituden der einzelnen Proben und den Referenzwerten aller bekannten Polypeptide gebildet. Die Steigerung der Regressionsgeraden entspricht gerade der relativen Konzentration und wird als Normierungsfaktor für diese Probe verwandt.

Alle verwendeten Gruppen bestehen aus mindestens 20 einzelnen Patienten- oder Kontrollproben, um eine verlässliche mittlere Amplitude zu erhalten. Die Entscheidung zu einer Diagnose fällt dabei je nachdem, wie hoch die Amplitude der jeweiligen Polypeptidmarker in der Patientenprobe im Vergleich zu den mittleren Amplituden in der Kontrollgruppe bzw. der "Krank"-Gruppe ist. Liegt der Wert nahe an der mittleren Amplitude der "Krank"-Gruppe, ist von dem Vorliegen einer ADPKD auszugehen, entspricht sie eher den mittleren Amplituden der Kontroll-Gruppe, ist nicht von einer ADPKD auszugehen. Der Abstand zur mittleren Amplitude kann als eine Wahrscheinlichkeit für die Zugehörigkeit zu einer Gruppe interpretiert werden.

Alternativ kann der Abstand zwischen dem Messwert und der mittleren Amplitude als eine Wahrscheinlichkeit für die Zugehörigkeit zu einer Gruppe betrachtet werden.

Ein Frequenzmarker ist eine Variante des Amplitudenmarkers, bei dem in einigen Proben die Amplitude gering ist. Es ist möglich, solche Frequenzmarker in Amplitudenmarker umzurechnen, indem in die Berechnung der Amplitude die entsprechenden Proben, bei denen der Marker nicht gefunden wird, mit einer sehr kleinen Amplitude - im Bereich der Nachweisgrenze - in die Berechnung eingeht.

Das Individuum, von dem die Probe stammt, in der die An- oder Abwesenheit eines oder mehrerer Polypeptidmarker bestimmt wird, kann jedes Individuum sein, das an ADPKD leiden kann. Vorzugsweise handelt es sich bei dem Individuum um ein Säugetier, am meisten bevorzugt handelt es sich um einen Menschen.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung werden nicht nur drei Polypeptidmarker, sondern eine größere Kombination von Markern verwendet, um Differentialdiagnostik zu ermöglichen. Durch Vergleich einer Mehrzahl von Polypeptidmarkern kann die Verfälschung des Gesamtergebnisses durch einzelne individuelle Abweichungen von der typischen Anwesenheitswahrscheinlichkeit im einzelnen Individuum reduziert oder vermieden werden.

Bei der Probe, in der die An- oder Abwesenheit des oder der erfindungsgemäßen Polypeptidmarker gemessen werden, kann es sich um jede Probe handeln, die aus dem Körper des Individuums gewonnen wird. Bei der Probe handelt es sich um eine Probe, die über eine Polypeptidzusammensetzung verfügt, die geeignet ist, Aussagen über den Zustand des Individuums zu treffen. Beispielsweise kann es sich um Blut, Urin, eine Gelenkflüssigkeit, eine Gewebeflüssigkeit, ein Körpersekret, Schweiß, Liquor, Lymphe, Darm-, Magen-, Pankreassaft, Galle, Tränenflüssigkeit, eine Gewebeprobe, Sperma, Vaginalflüssigkeit oder eine Stuhlprobe handeln. Vorzugsweise handelt es sich um eine Flüssigprobe.

In einer bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei der Probe um eine Urinprobe.

Urinproben können wie im Stand der Technik bekannt genommen werden. Vorzugsweise wird im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung eine Mittelstrahlurinprobe verwendet. Die Urinprobe kann z.B. mittels eines Katheters oder auch mit Hilfe eines Urinierungsapparates, wie in WO 01/74275 beschrieben, entnommen werden.

Die An- oder Abwesenheit eines Polypeptidmarkers in der Probe kann durch jedes im Stand der Technik bekannte Verfahren, das zur Messung von Polypeptidmarkern geeignet ist, bestimmt werden. Dem Fachmann sind solche Verfahren bekannt. Grundsätzlich kann die An- oder Abwesenheit eines Polypeptidmarkers durch direkte Verfahren, wie z.B. Massenspektrometrie, oder indirekte Verfahren, wie z.B. mittels Liganden, bestimmt werden.

Falls erforderlich oder wünschenswert kann die Probe des Individuums, z.B. die Urinprobe, vor der Messung der An- oder Abwesenheit des oder der Polypeptidmarker durch jedes geeignete Mittel vorbehandelt und z.B. aufgereinigt oder aufgetrennt werden. Die Behandlung kann z.B. eine Aufreinigung, Trennung, Verdünnung oder Konzentrierung umfassen. Die Verfahren können beispielsweise eine Zentrifugation, Filtration, Ultrafiltration, Dialyse, eine Fällung oder chromatographische Verfahren wie Affinitätstrennung oder Trennung mittels Ionenaustauscherchromatographie, oder eine elektrophoretische Trennung sein. Besondere Beispiele hierfür sind Gelelektrophorese, zweidimensionale Polyacrylamidgelelektrophorese (2D-PAGE), Kapillarelektrophorese, Metallaffinitätschromatographie, immobilisierte Metallaffinitätschromatographie (IMAC), Affinitätschromatographie auf der Basis von Lektinen, Flüssigchromatographie, Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC), Normal- und Umkehrphasen-HPLC, Kationenaustauscherchromatographie und selektive Bindung an Oberflächen. Alle diese Verfahren sind dem Fachmann gut bekannt und der Fachmann wird das Verfahren in Abhängigkeit von der verwendeten Probe und dem Verfahren zur Bestimmung der An- oder Abwesenheit des oder der Polypeptidmarker auswählen können.

In einer Ausführungsform der Erfindung wird die Probe vor ihrer Messung mittels Elektrophorese aufgetrennt, mittels Ultrazentrifugation gereinigt und/oder mittels Ultrafiltration in Fraktionen, die Polypeptidmarker bestimmter molekularer Größe enthalten, aufgetrennt.

Vorzugsweise wird ein massenspektrometrisches Verfahren verwendet, um die An- oder Abwesenheit eines Polypeptidmarkers zu bestimmen, wobei diesem Verfahren eine Aufreinigung oder Auftrennung der Probe vorgeschaltet werden kann. Die massenspektrometrische Analyse besitzt gegenüber den derzeit gängigen Verfahren den Vorteil, dass die Konzentration vieler (>100) Polypeptide einer Probe mittels einer einzigen Analyse bestimmt werden kann. Jeder Typ eines Massenspektrometers kann verwendet werden. Mit der Massenspektrometrie ist es möglich, routinemäßig 10 fmol eines Polypeptidmarkers, also 0,1 ng eines 10 kDa Proteins mit einer Messgenauigkeit von ca.  $\pm 0,01\%$  aus einem komplexen Gemisch zu vermessen. Bei Massenspektrometern ist eine Ionen-

bildende Einheit mit einem geeigneten Analysegerät gekoppelt. Zum Beispiel werden meistens Elektrospray-Ionisations (ESI) Interfaces verwendet, um Ionen aus Flüssigproben zu vermessen, wohingegen die Matrix-assisted-laser-desorption/ionisation (MALDI) Technik verwendet wird, um Ionen aus mit einer Matrix kristallisierten Probe zu vermessen. Zur Analyse der entstandenen Ionen können z.B. Quadrupole, Ionenfallen oder Time-of-flight (TOF) Analysatoren verwendet werden.

Bei der Elektrosprayionisation (ESI) werden die in Lösung vorliegenden Moleküle u.a. unter dem Einfluss von Hochspannung (z.B. 1-8 kV) versprüht, wobei sich geladene Tröpfchen bilden, die durch Verdampfen des Lösungsmittels kleiner werden. Schließlich kommt es durch sog. Coulomb-Explosionen zur Bildung freier Ionen, die dann analysiert und detektiert werden können.

Bei der Analyse der Ionen mittels TOF wird eine bestimmte Beschleunigungsspannung angelegt, die den Ionen eine gleich große kinetische Energie verleiht. Dann wird sehr genau die Zeit gemessen, die die jeweiligen Ionen benötigen, um eine Driftstrecke durch das Flugrohr zurückzulegen. Da bei gleicher kinetischer Energie die Geschwindigkeit der Ionen von ihrer Masse abhängt, kann diese somit bestimmt werden. TOF-Analysatoren haben eine sehr hohe Scangeschwindigkeit und erreichen eine sehr hohe Auflösung.

Bevorzugte Verfahren zur Bestimmung der An- oder Abwesenheit von Polypeptidmarkern schließen Gasphasenionenspektrometrie, wie Laserdesorption/Ionisations-Massenspektrometrie, MALDI-TOF-MS, SELDI-TOF-MS (Surface enhanced laser desorption ionisation), LC-MS (Liquid chromatography-mass spectrometry), 2D-PAGE-MS und Kapillarelektrophorese-Massenspektrometrie (CE-MS) ein. Alle genannten Verfahren sind dem Fachmann bekannt.

Ein besonders bevorzugtes Verfahren ist CE-MS, in welchem die Kapillarelektrophorese mit Massenspektrometrie gekoppelt wird. Dieses Verfahren ist ausführlich z.B. in der deutschen Patentanmeldung DE 10021737, bei Kaiser et al. (*J. Chromatogr. A*, 2003, Bd. 1013:157-171, sowie *Electrophoresis*, 2004, 25:2044-2055) und bei Wittke et al. (*J. Chromatogr. A*, 2003, 1013:173-181) beschrieben. Die CE-MS Technik erlaubt, das Vorhandensein einiger Hunderter Polypeptidmarker einer Probe gleichzeitig in kurzer Zeit, einem geringen Volumen und hoher Sensitivität zu bestimmen. Nachdem eine Probe vermessen wurde, wird ein Muster der gemessenen Polypeptidmarker hergestellt. Dieses kann mit Referenzmustern von kranken bzw. gesunden Individuen verglichen werden. In den meisten Fällen ist es ausreichend, eine begrenzte Anzahl von Polypeptidmarkern für die Diagnostik von UAS zu verwenden. Weiter bevorzugt ist ein CE-MS Verfahren, das CE online an ein ESI-TOF-MS gekoppelt, einschließt.

Für CE-MS ist die Verwendung von flüchtigen Lösungsmitteln bevorzugt, außerdem arbeitet man am besten unter im Wesentlichen salzfreien Bedingungen. Beispiele geeigneter Lösungsmittel umfassen Acetonitril, Methanol und ähnliche. Die Lösungsmittel können mit Wasser verdünnt und mit einer Säure (z.B. 0,1% bis 1% Ameisensäure) versetzt sein, um den Analyten, vorzugsweise die Polypeptide, zu protonieren.

Mit der Kapillarelektrophorese ist es möglich, Moleküle nach ihrer Ladung und Größe zu trennen. Neutrale Teilchen wandern beim Anlegen eines Stromes mit der Geschwindigkeit des elektroosmotischen Flusses, Kationen werden zur Kathode beschleunigt und Anionen verzögert. Der Vorteil von Kapillaren in der Elektrophorese besteht im günstigen Verhältnis von Oberfläche zu Volumen, was einen guten Abtransport der beim Stromfluss entstehenden Jouleschen Wärme ermöglicht. Dies wiederum erlaubt das Anlegen hoher Spannungen (üblicherweise bis 30 kV) und damit eine hohe Trennleistung und kurze Analysezeiten.

Bei der Kapillarelektrophorese werden normalerweise Quarzglaskapillaren mit Innendurchmessern von typischerweise 50 bis 75  $\mu\text{m}$  eingesetzt. Die verwendeten Längen betragen 30-100 cm. Darüber hinaus bestehen die Kapillaren in der Regel aus kunststoffumhüllten Quarzglas. Die Kapillaren können sowohl unbehandelt sei, d.h. auf der Innenseite ihre hydrophilen Gruppen zeigen, als auch auf der Innenseite beschichtet sein. Eine hydrophobe Beschichtung kann verwendet werden, um die Auflösung zu verbessern. Zusätzlich zur Spannung kann auch ein Druck angelegt werden, der typischerweise im Bereich von 0-1 psi liegt. Der Druck kann dabei auch erst während der Trennung angelegt oder währenddessen verändert werden.

In einem bevorzugten Verfahren zur Messung von Polypeptidmarkern werden die Marker der Probe mittels Kapillarelektrophorese getrennt, anschließend direkt ionisiert und online in ein daran gekoppeltes Massenspektrometer zur Detektion überführt.

In dem erfindungsgemäßen Verfahren können in vorteilhafter Weise mehrere Polypeptidmarker zur Diagnostik verwendet werden.

Bevorzugt ist die Verwendung von mindestens 5, 6, 8, oder 10 Markern.

In einer Ausführungsform werden 20 bis 50 Marker verwendet.

Um die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Erkrankung bei Verwendung mehrerer Marker zu bestimmen, können dem Fachmann bekannte Verfahren verwendet werden. Beispielsweise kann das von Weissinger et al. (*Kidney Int.*, 2004, 65:2426-2434) beschriebene Random-Forests-Verfahren unter Verwendung eines Computerprogramms wie z.B. S-Plus oder die in der selben Veröffentlichung beschriebenen support-vector-machines verwendet werden. Eine weitere Möglichkeit stellt die Linearkombination von individuellen Signalen dar, wie z.B. in Rossing et al., *J Am Soc Nephrol.* (2008) 19(7):1283-90, beschrieben.

Figur 1 zeigt die summierten Daten von Urinproben von Kontrollpatienten und ADPKD Patienten.

Figur 2 zeigt die "Receiver Operating Characteristic" Kurven für das Training und das Testset.

### **Beispiel:**

#### 1. Probenvorbereitung:

Zur Detektion der Polypeptidmarker zur Diagnostik wurde Urin verwendet. Urin wurde von gesunden Spendern (Vergleichsgruppe), Patienten, die an einer chro-

nischen Nierenerkrankung oder Nieren- oder Blasenkarzinom ("Krankheitskontrolle") sowie Patienten, die an ADPKD leiden, abgenommen.

Für die nachfolgende CE-MS Messung mussten die auch in Urin von Patienten in höherer Konzentration vorkommenden Proteine wie Albumin und Immunglobuline durch Ultrafiltration abgetrennt werden. Dazu wurden 700 µl Urin entnommen und mit 700 µl Filtrationspuffer (2M Harnstoff, 10mM Ammoniak, 0,02% SDS) versetzt. Diese 1,4 ml Probenvolumen wurden ultrafiltriert (20 kDa, Sartorius, Göttingen, DE). Die UF wurde bei 3000 U/min in einer Zentrifuge durchgeführt bis 1,1 ml Ultrafiltrat erhalten wurden.

Die erhaltenen 1,1 ml Filtrat wurden dann auf eine PD 10 Säule aufgetragen (Amersham Bioscience, Uppsala, Schweden) und gegen 2,5 ml 0,01% NH<sub>4</sub>OH entsalzt und lyophilisiert. Zur CE-MS Messung wurden die Polypeptide dann mit 20 µl Wasser (HPLC-Reinheit, Merck) resuspendiert.

## 2. CE-MS Messung:

Die CE-MS Messungen wurden mit einem Kapillarelektrophoresesystem von Beckman Coulter (P/ACE MDQ System; Beckman Coulter Inc, Fullerton, USA) und einem ESI-TOF Massenspektrometer von Bruker (micro-TOF MS, Bruker Daltonik, Bremen, D) durchgeführt.

Die CE Kapillaren wurden von Beckman Coulter bezogen, sie hatten einen ID/OD von 50/360 µm und eine Länge von 90 cm. Die mobile Phase für die CE Trennung bestand aus 20% Acetonitril und 0,25% Ameisensäure in Wasser. Für den „Sheath-Flow“ am MS wurde 30% Isopropanol mit 0,5% Ameisensäure verwendet, hier mit einer Flussrate von 2 µl/min. Die Kopplung von CE und MS wurde durch ein CE-ESI-MS Sprayer Kit (Agilent Technologies, Waldbronn, DE) realisiert.

Um die Probe zu injizieren, wurde 1 bis max. 6 psi Druck angelegt, die Dauer der Injektion betrug 99 Sekunden. Mit diesen Parametern wurden ca. 150 nl der Probe in die Kapillare injiziert, dieses entspricht ca. 10% des Kapillarvolumens. Um die Probe in der Kapillare aufzukonzentrieren wurde eine „Stacking“-Technik verwendet. Dabei wird vor der Probeninjektion für 7 Sek. (bei 1 psi) eine 1M NH<sub>3</sub> Lösung injiziert, nach der Probeninjektion für 5 Sek. eine 2M Ameisensäurelösung. Nach Anlegen der Trennungsspannung (30 kV) werden die Analyten zwischen diesen Lösungen automatisch aufkonzentriert.

Die folgende CE-Trennung wurde mit einer Druckmethode durchgeführt: 40 Minuten mit 0 psi, dann für 2 min 0,1 psi, für 2 min 0,2 psi, für 2 min 0,3 psi, für 2 min 0,4 psi, abschließend 17 min bei 0,5 psi. Die Gesamtdauer eines Trennlaufes betrug damit 65 Minuten.

Um auf der Seite des MS eine möglichst gute Signalintensität zu erhalten, wurde das "Nebulizer Gas" auf den niedrigsten möglichen Wert eingestellt. Die an der Spraynadel angelegte Spannung zur Erzeugung des Elektrosprays betrug 3700 - 4100 V. Die übrigen Einstellungen am Massenspektrometer wurden gemäß Anweisung des Herstellers für Peptiddetektion optimiert. Die Spektren wurden über einen Massenbereich von m/z 400 bis m/z 3000 aufgenommen und alle 3 Sek. akkumuliert.

### 3. Standards für die CE-Messung

Zur Kontrolle und Kalibrierung der CE-Messung wurden die folgenden Proteine bzw. Polypeptide eingesetzt, welche unter den gewählten Bedingungen durch die unten aufgeführten CE-Migrationszeiten charakterisiert sind:

Protein/Polypeptid	Migrationszeit
Aprotinin, (SIGMA, Taufkirchen, DE; Kat.Nr. A1153)	19,3 min
Ribonuclease, SIGMA, Taufkirchen, DE; Kat.Nr.; R4875	19,55min
Lysozym, SIGMA, Taufkirchen, DE; Kat.Nr.; L7651	19,28 min
"REV", Sequenz: REVQSKIGYGRQIIS	20,95 min
"ELM", Sequenz: ELMTGELPYSHINNRDQIIFMVGR	23,49 min
"KINCON", Sequenz: TGSLPYSHIGSRDQIIFMVGR	22,62 min
"GIVLY" Sequenz: GIVLYELMTGELPYSHIN	32,2 min

Die Proteine/Polypeptide werden jeweils in einer Konzentration von 10 pmol/μl in Wasser eingesetzt. "REV", "ELM", "KINCON" und "GIVLY" stellen synthetische Peptide dar.

Es ist dem Fachmann prinzipiell bekannt, dass bei kapillarelektrophoretischen Trennungen geringe Schwankungen der Migrationszeiten auftreten können. Unter den beschriebenen Bedingungen ändert sich jedoch die Migrationsreihenfolge nicht. Es ist für den Fachmann in Kenntnis der angegebenen Massen und CE-Zeiten problemlos möglich, eigene Messungen den erfindungsgemäßen Polypeptidmarkern zuzuordnen. Hierzu kann er beispielsweise wie folgt vorgehen: zunächst wählt er eines der in seiner Messung gefundenen Polypeptide (Peptid 1) aus und versucht, innerhalb eines Zeitfensters der angegebenen CE-Zeit (beispielsweise  $\pm 5$  min) eine oder mehrere übereinstimmende Massen zu finden. Findet er innerhalb dieses Intervalls nur eine übereinstimmende Masse, ist die Zuordnung fertiggestellt. Findet er mehrere passende Massen, muss noch eine Entscheidung über die Zuordnung gefällt werden. Hierzu wird ein weiteres Peptid (Peptid 2) aus der Messung ausgewählt und versucht, hierfür einen passenden Polypeptidmarker zu identifizieren, wobei wieder ein entsprechendes Zeitfenster berücksichtigt wird.

Lassen sich nun wiederum mit einer entsprechenden Masse mehrere Marker finden, ist die wahrscheinlichste Zuordnung die, bei der zwischen der Verschiebung für das Peptide 1 und für das Peptid 2 ein im wesentlichen linearer Zusammenhang besteht.

In Abhängigkeit von der Komplexität des Zuordnungsproblems bietet es sich für den Fachmann an, gegebenenfalls weitere Proteine aus seiner Probe für die Zuordnung zu verwenden, beispielsweise zehn Proteine. Typischerweise sind die Migrationszeiten entweder um gewisse absolute Werte verlängert oder verkürzt oder es treten Stauchungen oder Strickungen des gesamten Verlaufs auf. Comigrierende Peptide comigrieren aber auch unter solchen Bedingungen.

Zudem kann der Fachmann sich die von Zuerbig et al. in Electrophoresis 27 (2006), Seiten 2111 - 2125 beschriebenen Migrationsmuster zu nutze machen. Wenn er mit Hilfe eines einfachen Diagramms (z.B. mit MS Excel) seine Messung in Form von m/z versus Migrationszeit plottet, werden ebenfalls die beschriebenen Linienmuster sichtbar. Durch Abzählen der Linien ist nun eine einfache Zuordnung der einzelnen Polypeptide möglich.

Auch andere Vorgehensweisen zur Zuordnung sind möglich. Grundsätzlich könnte der Fachmann auch die oben genannten Peptide als internen Standard verwenden, um seine CE-Messungen zuzuordnen.

### Prüfung der Marker

Zuerst wurden Urinproben von 17 Patienten mit ADPKD verglichen mit 86 Proben von als gesund eingestuften Kontrollpatienten. Die summierten Daten sind in Figur 1 dargestellt. Es gelang die Identifizierung von 383 Biomarkern, die statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zeigen.

In einem Testmodell zur Auswertung konnte eine Unterscheidung mit einer 100%igen Sensitivität und einer 98,8%igen Spezifität erreicht werden.

Zur Validierung der Marker wurden 150 weitere Proben untersucht und mit dem erstellten Model geprüft. Die Sensitivität war 87,5% und die Spezifität war 97,5%. Die ROC-Kurven für das Training- und auch das Testset sind in Figur 2 gezeigt.

Um die Spezifität der Biomarker für ADPKD zu überprüfen, wurden weiteren Kontrollen hinzugenommen. Mit gesunden Kontrollen ergab sich eine Spezifität von 93%, für Patienten mit anderen chronischen Nierenerkrankungen eine 95% Spezifität, für Blasenkrebs 85% Spezifität und für Nierentumore 83% Spezifität.

Außerdem wurde eine Gruppe von Gesunden mit einem Alter > 60 Jahre hinzugefügt. Hier zeigte sich eine Spezifität von nur 69%.

Für einige der 383 potentielle Biomarker war es möglich, Sequenzinformationen zu ermitteln. Bei einer Analyse nur aufbauend aus den 75 sequenzierten Peptiden ergab sich im Trainingset eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 95,5%. Nach Crossvalidierung wurde eine Sensitivität von 94,1% und eine Spezifität von 94,2% erhalten. Dieses Model wurde wieder gegen ein Testset getestet. Hier betrug die Sensitivität 66,7% und die Spezifität 99,1%. Es zeigt sich, dass die zusätzlichen bisher noch nicht sequenzierten Biomarker die Leistungsfähigkeit der Diagnostik weiter erhöhen.

Allerdings zeigten die 75 Biomarker bereits eine AUC von 0,89, sind also hervorragend geeignet.

Die hier erhaltenen Sequenzinformationen sind in Tabelle 3 angegeben.

Tabelle 3:

Nr	Sequence	Name	Start AA	Stop AA
1	KGDTGPpGP	Collagen alpha-1 (III) chain	629	637
17	VLNLGPITR	Uromodulin	598	606
19	YQTNKAKH	Cystatin-B	85	92
24	ApGDKGESGPS	Collagen alpha-1 (I) chain	777	787

Nr	Sequence	Name	Start_AA	Stop_AA
28	SpGPDGKTGPp	Collagen alpha-1 (I) chain	546	556
39	ApGDRGEpGPp	Collagen alpha-1 (I) chain	798	808
60	GPPGppGpPGPPS	Collagen alpha-1 (I) chain	1181	1193
61	MIEQNTKSPL	Alpha-1-antitrypsin	398	407
72	DDGEAGKpGRpG	Collagen alpha-1 (I) chain	231	242
75	SpGPDGKTGPPGp	Collagen alpha-1 (I) chain	546	558
82	GPpGEAGKpGEQG	Collagen alpha-1 (I) chain	650	662
89	DKGETGEQGDGRG	Collagen alpha-1 (I) chain	1095	1106
101	SpGSpGPDGKTGPp	Collagen alpha-1 (I) chain	543	556
113	DSGSSEEQGGSSRA	Polymeric-immunoglobulin receptor	626	639
121	GSpGGpGSDGKpGPpG	Collagen alpha-1 (III) chain	540	555
128	GLPGPpGPpGSFLSN	Collagen alpha-1 (XVII) chain	885	899
129	PpGKNGDDGEAGKpG	Collagen alpha-1 (I) chain	225	239
130	SpGSPGPDGKTGPpGP	Collagen alpha-1 (I) chain	543	558
131	GLpGTGGPpGENGKpG	Collagen alpha-1 (III) chain	642	657
132	TIDEKGTEAAGAMF	Alpha-1-antitrypsin	363	376
135	ApGKNGERGGpGGpGP	Collagen alpha-1 (III) chain	589	604
138	DQSRVLNLGPITR	Uromodulin	594	606
140	DGQPGAKGEpGDAGAK	Collagen alpha-1 (I) chain	820	835
143	GPpGKNGDDGEAGKpG	Collagen alpha-1 (I) chain	224	239
146	VGPpGpPGPPGPPGPPS	Collagen alpha-1 (I) chain	1174	1190
151	SpGSpGPDGKTGPPGpA	Collagen alpha-1 (I) chain	543	559
152	VIDQSRVLNLGPIT	Uromodulin	592	605
153	PpGEAGKpGEQGVpGD	Collagen alpha-1 (I) chain	651	666
155	DGQpGAKGEpGDAGAKG	Collagen alpha-1 (I) chain	820	836
159	GSEADHEGTHSTKRG	Fibrinogen alpha chain	608	622
162	SpGSpGPDGKTGPPGpAG	Collagen alpha-1 (I) chain	543	560
164	IDQSRVLNLGPITR	Uromodulin	593	606
167	TGLSMDGGSPKGDVDP	NA/K-ATPase gamma chain	2	18
171	DGApGKNGERGGpGGpGP	Collagen alpha-1 (III) chain	587	604
172	EGSpGRDGSpGAKGDRG	Collagen alpha-1 (I) chain	1021	1037
175	VGPpGPpGPpGPPGPPSAG	Collagen alpha-1 (I) chain	1177	1195
176	AGSEADHEGTHSTKRG	Fibrinogen alpha chain	607	622
179	SGSVIDQSRVLNLGPITR	Uromodulin	589	604
181	KpGEQGVpGDLGApGPSG	Collagen alpha-1 (I) chain	657	674
182	VIDQSRVLNLGPITR	Uromodulin	592	606
183	GLpGTGGPpGENGKpGEp	Collagen alpha-1 (III) chain	642	659
188	DHDVGSELPPEGLGAL	ProSAAS	223	239
200	GLpGTGGPpGENGKpGEPGp	Collagen alpha-1 (III) chain	642	661
204	GLpGTGGPpGENGKpGEPGp	Collagen alpha-1 (III) chain	642	661
208	EGSpGRDGSpGAKGDRGET	Collagen alpha-1 (I) chain	1021	1039
215	SGSVIDQSRVLNLGPITR	Uromodulin	589	606
224	DGESGRPGRPGERGLPGLPPG	Collagen alpha-1 (III) chain	230	249
227	AGpPGPPGppGTSGHpGSpGSpG	Collagen alpha-1 (III) chain	176	198
228	NSGEpGApGSKGDTGAKGEpGP	Collagen alpha-1 (I) chain	432	453
229	EGSpGRDGSpGAKGDRGETGP	Collagen alpha-1 (I) chain	1021	1041
231	SGSVIDQSRVLNLGPITRK	Uromodulin	589	607
238	DAGApGApGGKGDAGApGERGPpG	Collagen alpha-1 (III) chain	586	604
240	GAPGNDGAKGDAGAPGAPGSQGAPG	Collagen alpha-1 (I) chain	701	725
243	NGEpGGKGERGApGEKGEggpPG	Collagen alpha-1 (III) chain	818	840
244	AGPpGEAGKpGEQGVpGDLGAPGP	Collagen alpha-1 (I) chain	646	669
245	GRTGDAGVGGPPGpGppGpPGPPS	Collagen alpha-1 (I) chain	1169	1193
248	QNGEpGGKGERGAPGEKGEggpG	Collagen alpha-1 (III) chain	817	840
257	ADGQpGAKGEpGDAGAKGDAGpPGPAGP	Collagen alpha-1 (I) chain	819	846
258	TGPIGPpGPAGApGDKGESGSPGAPPTG	Collagen alpha-1 (I) chain	766	794
264	GPpGADGQpGAKGEpGDAGAKGDAGpPGP	Collagen alpha-1 (I) chain	815	843

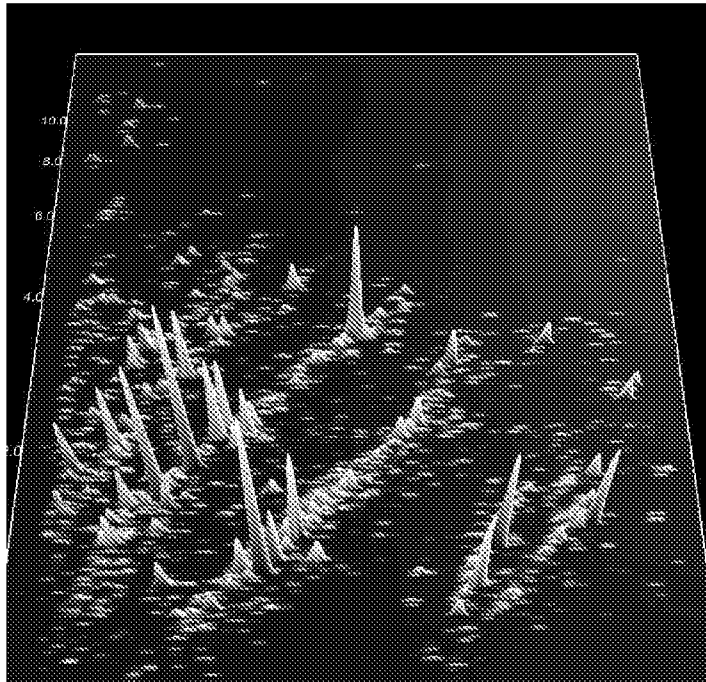
Nr	Sequence	Name	Start AA	Stop AA
266	DEAGSEADHEGTHSTKRGHAKSRP	Fibrinogen alpha chain	605	628
268	DDILASPPRLPEPQYPGAPHHSS	Collagen alpha-1 (XVIII) chain	1296	1319
271	AGPpGApGApGApGPVGPAGKSGDRGETGP	Collagen alpha-1 (I) chain	1042	1071
273	QGpPGPSGEEGKRGPNGEAGSAGPPGppG	Collagen alpha-2 (I) chain	369	397
280	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVL	Serum albumin; N-term.	25	48
281	KEGGKGPpRGETGPAGRpGEVGPpPGPpGPAG	Collagen alpha-1 (I) chain	903	932
282	ERGEAGIpGVpGAKGEDGKDGSpGEpGANG	Collagen alpha-1 (III) chain	448	477
288	ESGREGApGAEGSpGRDGSpGAKGDRGETGP	Collagen alpha-1 (I) chain	1011	1041
293	LTGSpGSpGpDGKTGPPGPAGQDGRPGPpGppG	Collagen alpha-1 (I) chain	537	569
302	PpGESGREGAP- GAEGSpGRDGSpGAKGDRGETGP	Collagen alpha-1 (I) chain	1008	1041
312	NTGApGSpGVSGpKGDAGQp- GEKGSPPGAQGGPPGAPGp	Collagen alpha-1 (III) chain	910	946
316	EEKAVADTRDQADGSRASVDSGSSEEQGGSSRA	Polymeric-immunoglobulin receptor	607	639
320	ARGNDGARGSDGQPGPpGppGTAGFpGSpGAK- GEVGP	Collagen alpha-1 (III) chain	319	355
325	NTGAPGSpGVSGpKGDAGQpGEKGSPPGAQGPpG APGPLG	Collagen alpha-1 (III) chain	910	948
334	GRPEAQPPPLSSEHKEPVAGDAVPGPKDGSAPV VRGA	Neurosecretory protein VGF	26	62

### **Patentansprüche**

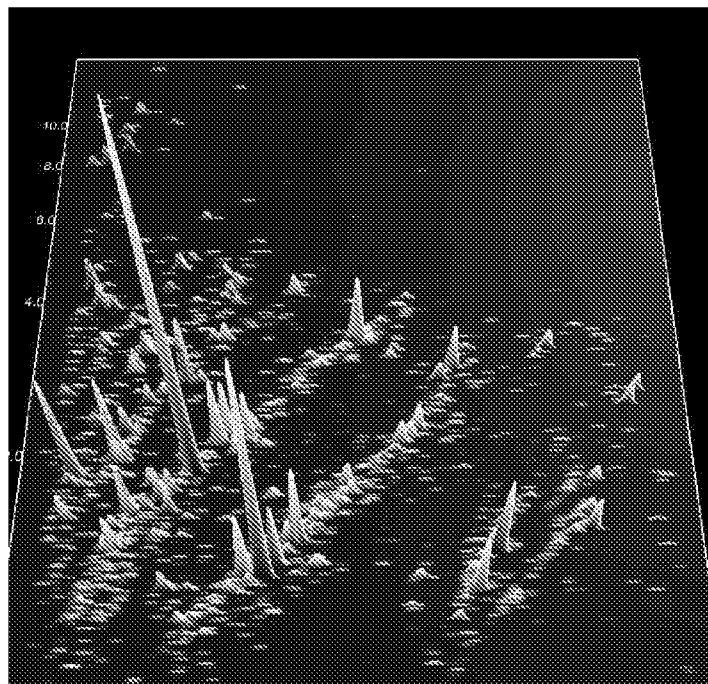
1. Verfahren zur Diagnostik, Frühdiagnostik und zur Prognose der klinischen Entwicklung einer autosomal dominanten polyzystischen Nierenerkrankung (ADPKD) umfassend den Schritt der Bestimmung einer An- oder Abwesenheit oder Amplitude von mindestens drei Polypeptidmarkern in einer Urinprobe, wobei die Polypeptidmarker ausgewählt sind aus den Markern, die in Tabelle 1 durch Werte für die Molekularmassen und die Migrationszeit charakterisiert sind.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Diagnostik eine Differentialdiagnostik zwischen ADPKD und einer oder mehrerer Erkrankungen ausgewählt aus chronischen Nierenerkrankungen, Nierenkrebs und Blasenkrebs ist.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass eine Auswertung der bestimmten An- oder Abwesenheit oder Amplitude der Marker anhand der Referenzwerte der Tabelle 2 erfolgt.
4. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei mindestens fünf, mindestens sechs, mindestens acht, mindestens zehn, mindestens 20 oder mindestens 50 Polypeptidmarker verwendet werden, wie sie in Anspruch 1 definiert sind.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die Urinprobe eine Mittelstrahlurinprobe ist.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei Kapillarelektrophorese, HPLC, Gasphasenionenspektrometrie und/oder Massenspektrometrie zur Bestimmung der An- oder Abwesenheit oder Amplitude der Polypeptidmarker verwendet wird.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei vor einer Messung der Molekularmasse der Polypeptidmarker eine Kapillarelektrophorese durchgeführt wird.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei Massenspektrometrie zum Nachweis der An- oder Abwesenheit des/der Polypeptidmarker und/oder zur Identifizierung der Polypeptidmarker verwendet wird.
9. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei die Sensitivität mindestens 60% und die Spezifität mindestens 60% beträgt.
10. Verfahren zur Diagnose einer autosomal dominanten polyzystischen Nierenerkrankung (ADPKD) umfassend die Schritte
  - a) der Auftrennung einer Probe in mindestens drei, bevorzugt mindestens 10 Teilproben,
  - b) Analyse von mindestens drei, bevorzugt mindestens 10 Teilproben zur Bestimmung einer An- oder Abwesenheit oder Amplitude mindestens eines Polypeptidmarkers in der Probe, wobei der Polypeptidmarker

ausgewählt ist aus den Markern der Tabelle 1, die durch die Molekularmassen und Migrationszeit (CE-Zeit) charakterisiert sind.

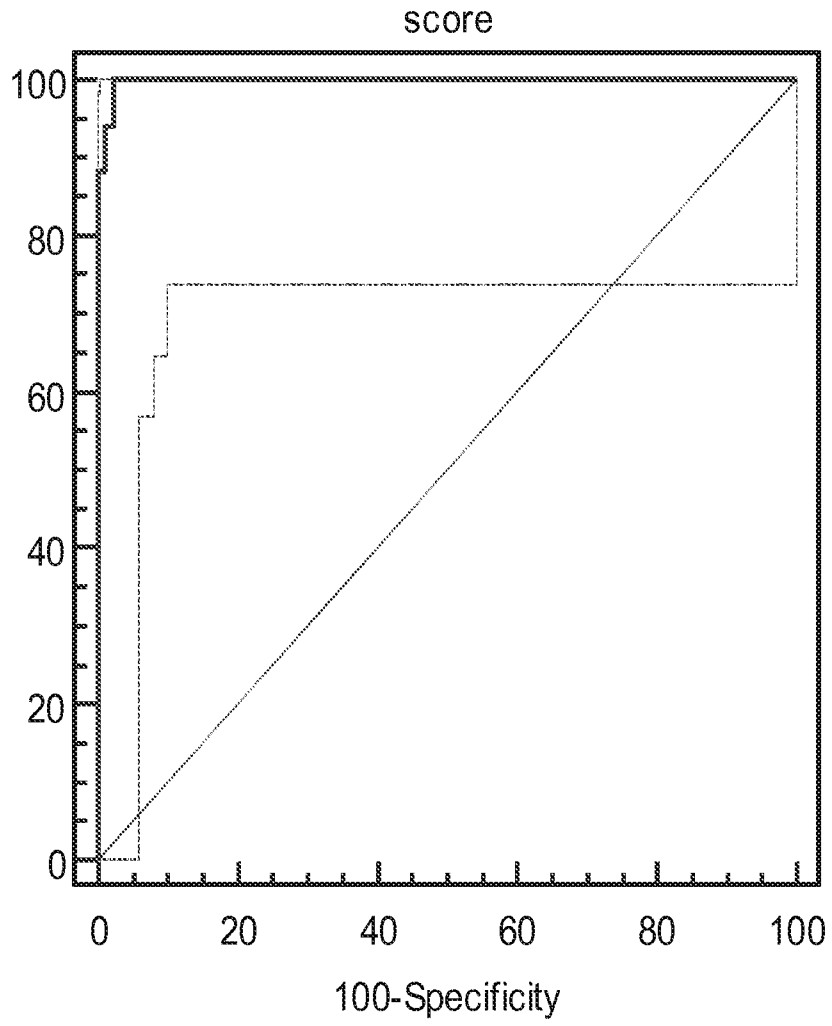
11. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet dass die CE-Zeit bezogen ist auf eine 90 cm lange Glaskapillare mit einem inneren Durchmesser (ID) von 50  $\mu\text{m}$  bei einer angelegten Spannung von 25 kV, wobei als Laufmittel 20% Acetonitril, 0,25% Ameisensäure in Wasser verwendet wird.
12. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens 3 Marker verwendet werden, die in Tabelle 3 definiert sind.
13. Verfahren nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens 5, 10, 20, 30, 50 oder alle Marker verwendet werden, die in Tabelle 3 definiert sind.
14. Vorrichtung zur quantitativen Auswertung der in einer Urinprobe gefundenen Polypeptidmarker, wobei die Vorrichtung eine Datenbank umfasst, die Datensätze enthält, die Referenzwerten von Polypeptiden entsprechen und Angaben über die An- oder Abwesenheit oder Amplitude der Polypeptide in Proben von gesunden oder kranken Probanden umfasst, wobei die Datenbank mindestens Angaben hinsichtlich der Identität der Marker und der An- und Abwesenheit oder Amplitude für drei Polypeptidmarker aus Tabelle 1 enthält.



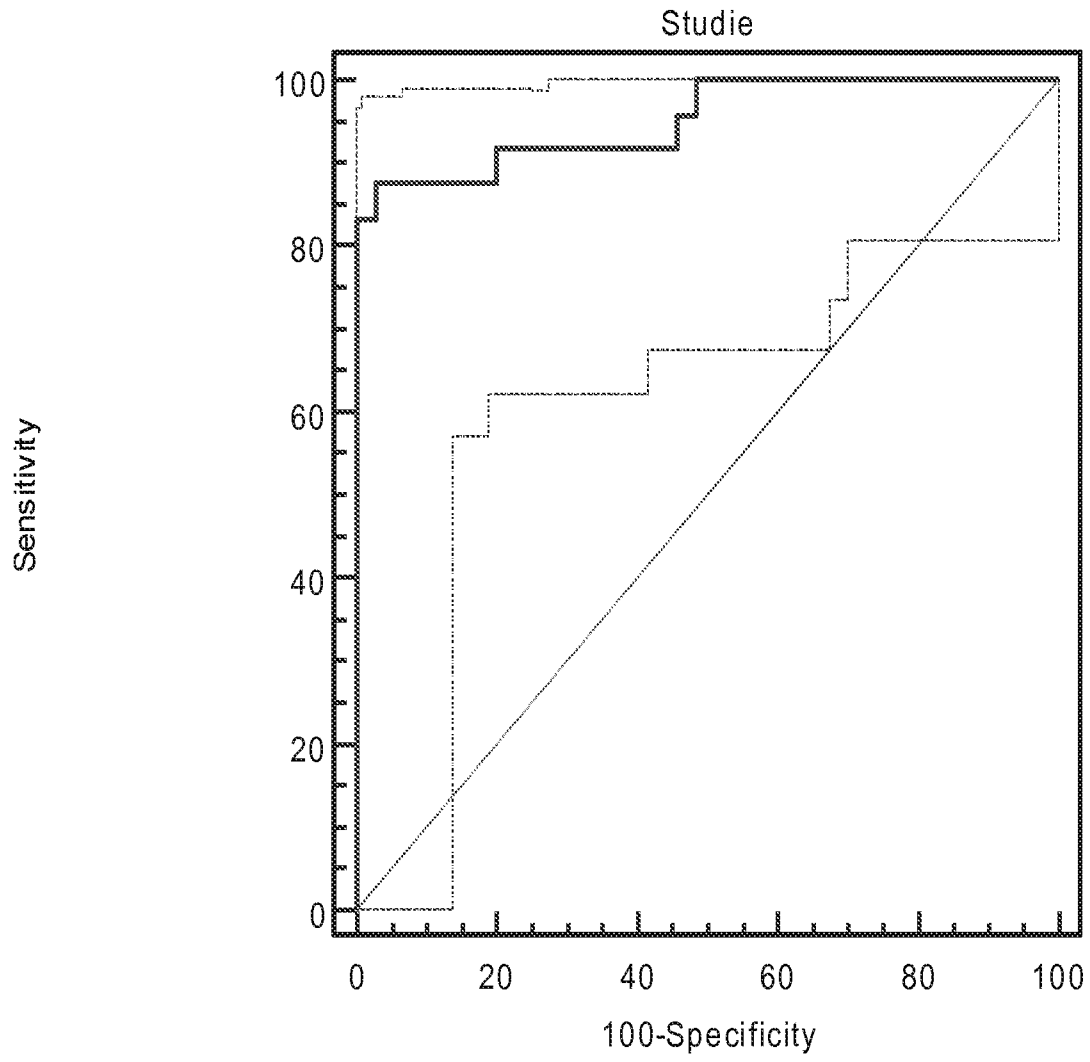
**Fig.1A**



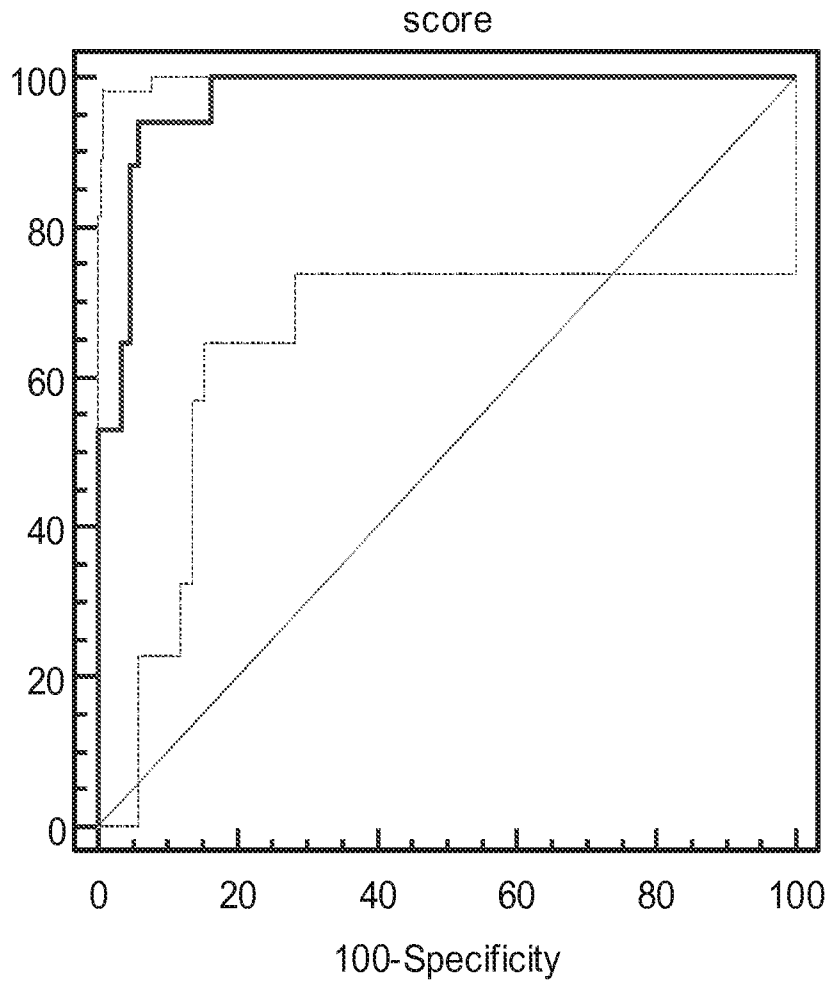
**Fig.1B**



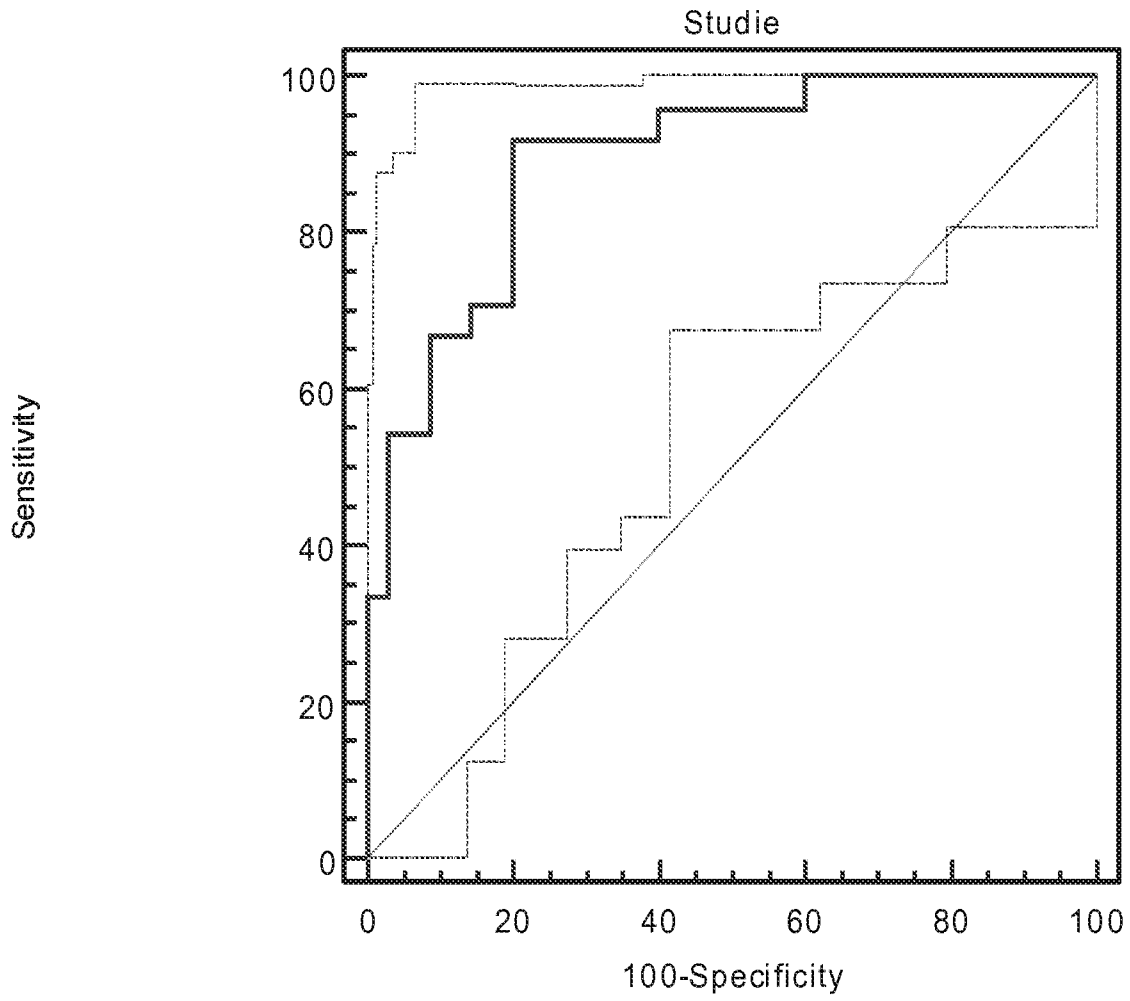
**Fig.2A**



**Fig.2B**



**Fig.2C**



**Fig.2D**