



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2948474 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 16/26 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
G01N 33/82 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2020.03.23
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.01.15
(86)	European Application Nr.	14702498.8
(86)	European Filing Date	2014.01.27
(87)	The European Application's Publication Date	2015.12.02
(30)	Priority	2013.01.28, EP, 13152851
(84)	Designated Contracting States:	AL ; AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; RS ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR
(73)	Proprietor	DiaSorin S.p.A., Via Crescentino snc, 13040 Saluggia (Vercelli), Italia
(72)	Inventor	SOLDO, Joshua, 13899 Kensington Ave NE, Prior Lake, Minnesota 55372, USA OLSON, Gregory, 16370 Division St., Lakeland, Minnesota 55043, USA LUTTERMAN, Michael, 1569 Long Lake Road, New Brighton, MN 55112, USA WALL, John, 682 Falcon Ridge Rd., Woodbury, Minnesota 55125, USA NEW, Michael, 10918 Little Ave S, Bloomington, Minnesota 55437, USA DELUCA, Hector Floyd, 1809 County Highway BB, Deerfield, Wisconsin 53531, USA BONELLI, Fabrizio, Via Musso 2, I-15033 Casale Monferrato (Alessandria), Italia
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54)	Title	METHOD AND KIT FOR DETECTING 1,25-DIHYDROXYVITAMIN D AND RELATED ANTIBODIES
(56)	References Cited:	WO-A1-2008/092917, EP-A2- 0 583 945, WO-A1-89/01631 VAISANEN SAMI ET AL: "Conformational studies of human vitamin-D receptor by antipeptide antibodies, partial proteolytic digestion and ligand binding", EUROPEAN JOURNAL OF BIOCHEMISTRY, vol. 248, no. 1, 1997, pages 156-162, XP002720791, ISSN: 0014-2956 YONGJI WANG ET AL: "Where is the vitamin D receptor?", ARCHIVES OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS, vol. 523, mouse monoclonal antibody against the C-terminu, no. 1, 6 April 2012 (2012-04-06), pages 123-133, XP028509235, ISSN: 0003-9861, DOI: 10.1016/J.ABB.2012.04.001 [retrieved on 2012-04-06] SCHEEFERS-BORCHEL U ET AL: "Discrimination between fibrin and fibrinogen by a

monoclonal antibody against a synthetic peptide", PNAS, vol. 82, 1 October 1985 (1985-10-01), pages 7091-7095,
DATABASE UniProt [Online] "Vitamin D3 receptor", Database accession no. P11473
A Staal ET AL: "Distinct Conformations of Vitamin D Receptor/Retinoid X Receptor Heterodimers Are Specified by Dinucleotide Differences in the Vitamin D-Responsive Elements of the Osteocalcin and Osteopontin Genes", Molecular Endocrinology , 1 January 1996 (1996-01-01), XP55393933, Retrieved from the Internet: URL:www.uniprot.de [retrieved on 2017-07-26]
SWAMI S ET AL: "A new enzyme-linked immunosorbant assay for the measurement of human vitamin D receptor", BONE (NEW YORK), vol. 28, no. 3, March 2001 (2001-03), pages 319-326, XP002694951, ISSN: 8756-3282

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. Monoklonalt antistoff som binder seg til Ligand Bindings Domenet av Vitamin D Reseptor (VDR-LBD)/1,25-dihydroksyvitamin D-kompleks, hvor aminosyresekvensene
5 av CDR-ene i det tunge kjede-variable-domenet til det monoklonale antistoffet er SEKV ID NR: 1, 2 og 3, og aminosyresekvensene til CDR-ene i det lette kjede-variable-domenet til det monoklonale antistoffet er SEKV ID NR: 4, 5 og 6.
2. Monoklonalt antistoff ifølge krav 1, hvor det tunge kjede-variable-domenet omfatter
10 aminosyresekvensen SEKV ID NR: 7 eller er kodet av en nukleinsyresekvens omfattende SEKV ID NR: 8.
3. Monoklonalt antistoff ifølge krav 1 eller 2, hvor det lette kjede-variable-domenet omfatter aminosyresekvens SEKV ID NR: 9 eller er kodet av en nukleinsyresekvens
15 omfattende SEKV ID NR: 10.
4. Monoklonalt antistoff ifølge et av kravene 1 til 3, som er et helt immunoglobulin eller et antistofffragment valgt fra gruppen bestående av F(ab), F(ab')₂, F(v), F(d) enkeltkjededede antistoffer (scFv).
20
5. Metode for påvisning av 1,25-dihydroksyvitamin D (1,25(OH))₂D i en biologisk væskeprøve, hvor fremgangsmåten omfatter trinnene:
(i) justering av pH i den biologiske væskeprøven til en verdi som er på mellom 6 og 9 og samtidig eller deretter tilsetning til den biologiske fluidprøven et reseptorprotein
25 omfattende Ligand Bindings Domenet av Vitamin D Reseptor (VDR-LBD), og derved oppnå binding av 1,25-dihydroksyvitamin D til VDR-LBD av reseptorproteinet;
(ii) fange opp reseptorproteinet omfattende Ligand Bindings Domenet av Vitamin D Reseptor (VDR-LBD) bundet til 1,25-dihydroksyvitamin D ved hjelp av et monoklonalt antistoff som binder seg til Ligand Bindings Domenet av Vitamin D Reseptor (VDR-LBD)
30)/1,25-dihydroksyvitamin D-kompleks, hvor aminosyresekvensene til CDR-ene i det tunge kjede-variable-domenet til det monoklonale antistoffet er SEKV ID NR: 1, 2 og 3, og aminosyresekvensene til CDR-ene for det lette kjede-variable-domenet til det monoklonale antistoffet er SEKV ID NR: 4, 5 og 6; og
(iii) å detektere det fangede reseptorproteinet omfattende ligandbindingsdomene til
35 vitamin D-reseptor (VDR-LBD) bundet til 1,25-dihydroksyvitamin D.

6. Fremgangsmåte ifølge krav 5, hvor reseptorproteinet er hele vitamin D-reseptorproteinet eller Ligand Bindings Domenet (LBD) derav i en isolert eller konstruert form.
- 5 7. Fremgangsmåte ifølge krav 5 eller 6, hvor det monoklonale antistoffet er et antistoff som definert i hvilket som helst av kravene 2 til 4.
8. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 5 til 7, hvor fangstdelen er immobilisert på en fast bærer.
- 10 9. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 5 til 8, hvor den biologiske væsken er fullblod, plasma, serum eller urin.
- 15 10. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 5 til 9, hvor pH i den biologiske væskeprøven i trinn (i) justeres til en verdi som er på mellom 7 og 8,6.
11. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 5 til 10, som er en sandwich-immunoassay.
- 20 12. Fremgangsmåte ifølge krav 11, hvor trinn (iii) for å detektere det fangede reseptorproteinet omfattende ligandbindingsdomene til vitamin D-reseptor (VDR-LBD) bundet til 1,25-dihydroksyvitamin D utføres ved hjelp av et merket anti-VDR-LBD detektorantistoff.
- 25 13. Sett for påvisning av 1,25-dihydroxyvitamin D i en biologisk væskeprøve, hvor settet omfatter:
- et reseptorprotein omfattende ligandbindingsdomene til vitamin D-reseptor (VDR-LBD);
 - et monoklonalt antistoff ifølge krav 1; og
 - 30 - en bindingsbuffer med en pH på mellom 6 og 9.
14. Sett ifølge krav 13, hvor reseptorproteinet er hele vitamin D-reseptorproteinet eller ligandbindingsdomene derav i en isolert eller konstruert form.
15. Sett ifølge krav 13 eller 14, hvor det monoklonale antistoffet er et antistoff som
- 35 definert i hvilket som helst av kravene 2 til 4.

16. Sett ifølge et hvilket som helst av kravene 13 til 15, hvor bindingsbufferen har en pH-verdi mellom 7 og 8,6.