



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2459715 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 9/64 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2020.02.03
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2019.10.02
(86)	European Application Nr.	10737917.4
(86)	European Filing Date	2010.08.02
(87)	The European Application's Publication Date	2012.06.06
(30)	Priority	2009.07.31, US, 230308 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 ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR
(73)	Proprietor	Baxalta GmbH, Zählerweg 4, 6300 Zug, Sveits Baxalta Incorporated, 1200 Lakeside Drive, Bannockburn, IL 60015, USA
(72)	Inventor	HASSLACHER, Meinhard, Vorgartenstrasse 221/1/7, A-1020 Vienna, Østerrike MITTERER, Artur, Schwarzeckerweg 10, A-2304 Orth/Donau, Østerrike FIEDLER, Christian, Raaberbahngasse 18/36, A-1100 Vienna, Østerrike MAYER, Christa, Bahnhofstrasse 2, A-2412 Wolfsthal, Østerrike
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54)	Title	METHOD FOR PURIFYING RECOMBINANT ADAMTS13 AND OTHER PROTEINS AND COMPOSITIONS THEREOF
------	-------	--

(56)	References Cited:	US-A1- 2006 246 589 JP-A- 2007 174 977
------	----------------------	---

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 rensing av rekombinant A Disintegrin-Like og metallopeptidase med trombospondin type 1-motiv 13 (ADAMTS13) protein fra en prøve som inneholder ADAMTS13-protein og ikke-ADAMTS13-forurensninger, hvor fremgangsmåten omfatter å bringe prøven i kromatografisk kontakt med hydroksyapatitt under betingelser som tillater at ADAMTS13-proteinet fremvises i et eluat eller en supernatant fra hydroksyapatitt og ytterligere bringe nevnte eluat eller supernatant i kromatografisk kontakt med en kationbytter/hydrofob interaksjonsharpiks som binder nevnte ADAMTS13-protein.
2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, som videre omfatter kromatografisk kontakt av prøven med en anionbytterharpiks og eluering av nevnte ADAMTS13-protein fra anionbytterharpiksen før kromatografisk kontakt med nevnte hydroksyapatitt.
3. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, som videre omfatter konsentrering av ADAMTS13-proteinet i prøven ved ultrafiltrering; og stabilisering av nevnte ADAMTS13-protein ved diafiltreringsutveksling inn i en buffer omfattende kalsiumioner og sinkioner før kromatografisk kontakt med nevnte hydroksyapatitt.
4. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, som videre omfatter, etter kontakt med nevnte hydroksyapatitt eller kationbytter/hydrofob interaksjonsharpiks, trinnet med fremstilling av ADAMTS13-proteinet for kationbytting ved å redusere buffer-konduktiviteten.
5. Fremgangsmåte ifølge krav 4, hvor nevnte fremstillingstrinn utføres ved
(a) ultrafiltrering/diafiltrering;
(b) dialyse, hvor nevnte dialyse består av høyst 2 passeringer gjennom en enkelt dialysemodul; og/eller
(c) gelfiltrering.
6. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av de foregående krav, som videre omfatter å utsette ADAMTS13-proteinet for minst ett trinn med virusinaktivering eller virusfjerning, hvor nevnte virusinaktiveringstrinn foretrukket omfatter tilsetning av en løsningsmiddel-detergentblanding omfattende en ikke-ionisk detergent og et organisk

løsningsmiddel til nevnte ADAMTS13-protein, hvor nevnte løsningsmiddel-detergentblanding foretrukket omfatter 1% Triton X-100, 0,3% Tri-N-butylfosfat og 0,3% Polysorbat 80; og/eller hvor nevnte virusinaktiveringstrinn foretrukket omfatter filtrering av ADAMTS13-proteinet med et nanofilter for å fjerne virus og/eller virale partikler, eller både virus og virale partikler.

7. Fremgangsmåte ifølge krav 6, hvor ADAMTS13-proteinet immobiliseres under nevnte virusinaktiveringstrinn.
8. Fremgangsmåte ifølge krav 6 eller 7, hvor ADAMTS13-proteinet immobiliseres, foretrukket på en kationbytterharpiks.
9. Fremgangsmåte ifølge krav 6, 7 eller 8, hvor nevnte virusinaktiveringstrinn utføres etter nevnte fremstillingstrinn.
10. Fremgangsmåte ifølge krav 8 eller 9, som videre omfatter eluering av ADAMTS13-proteinet fra harpiksen ved anvendelse av gradienteluering, hvor det ved nevnte gradienteluering anvendes en første buffer med lavt saltinnhold og en andre buffer med høyere saltinnhold; og/eller som videre omfatter eluering av ADAMTS13-proteinet fra harpiksen ved anvendelse av trinneluering, hvor trinnelueringen foretrukket omfatter eluering av ADAMTS13-proteinet fra harpiksen med en lagringsbuffer; hvor nevnte lagringsbuffer foretrukket har en pH større enn 7,0 og omfatter mindre enn 10 mM kalsiumioner, en bufferforbindelse, 0,05% ikke-ionisk detergent og et salt.
11. Fremgangsmåte ifølge krav 10, hvor der ikke er noen ultrafiltrering, diafiltrering eller bufferutvekslingstrinn etter elueringstrinnet fra kationbytterharpiksen med lagringsbufferen.
12. Fremgangsmåte ifølge krav 7, hvor
 - (a) ADAMTS13-proteinet immobiliseres på en bærer;
 - (b) nevnte løsningsmiddel-detergentblanding omfatter 1% Triton X-100, 0,3% Tri-N-butylfosfat og 0,3% Polysorbat 80; og/eller
 - (c) ADAMTS13-proteinet inkuberes i nevnte løsningsmiddel-detergentblanding for behandling i 30 minutter til 1 time.

13. Fremgangsmåte ifølge krav 12, som videre omfatter eluering av ADAMTS13-proteinet fra bæreren med en lagringsbuffer, hvor lagringsbufferen foretrukket har en pH større enn 7,0 og omfatter mindre enn 10 mM kalsiumioner, en bufferforbindelse, 0,05% ikke-ionisk detergent og et salt.

5

14. Fremgangsmåte ifølge krav 13, hvor der ikke er noe påfølgende konsentrasjons- eller bufferutvekslings-trinn.

10