



(12) Translation of new
European patent specification
After opposition procedure

(11) NO/EP 2490986 B2

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.

C02F 1/28 (2023.01)
B01D 15/00 (2006.01)
C12N 9/52 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2018.10.29
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2018.08.08
(45)	Decision of the opposition in EPO	2024.04.24
	Decision of the opposition in NIPO	2024.08.12
(86)	European Application No	10825598.5
(86)	European Filing Date	2010.10.20
(87)	The European Application's Publication Date	2012.08.29
(30)	Priority	2009.10.21, US, 253810 P
(84)	Designated Contracting States	AL ; AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; RS ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR
(73)	Proprietor	Revance Therapeutics, Inc., 7555 Gateway Boulevard, Newark, CA 94560, USA
(72)	Inventor	RUEGG, Curtis L., 826 Shepard Way, Redwood City, California 94062, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge

(54)	Title	METHODS AND SYSTEMS FOR PURIFYING NON-COMPLEXED BOTULINUM NEUROTOXIN
(56)	References Cited:	US-A1- 2004 259 197, US-A1- 2006 228 780, WO-A2-00/74703, WO-A1-2011/050072, US-A1- 2007 037 257, US-A1- 2003 008 367, US-A1- 2005 238 669 "Chapter 8 - Sephadex ion exchangers" In: "Ion Exchange Chromatography - Principles and Methods", December 1999 (1999-12), Amersham Pharmacia Biotech ISBN: 91970490-3-4 pages 1-8, 61-64, Ion Exchange Chromatography - Principles and Methods, 1999,pages 1-162 (filed 29.11.2019) B.R. DASGUPTA et al.: "Purification and Amino Acid Composition of Type A Botulinum Neurotoxin", Toxicon, vol. 22, 1984, pages 415-424, ISBN 9789197049030 Ion Exchange Chromatography Principles C.C. SHONE et al.: "Growth of Clostridia and Preparation of Their Neurotoxins", Curr. Top. Microbiol. Immunol., vol. 195, 1995, pages 143-160,

C.K. TSE et al.: "Preparation and Characterisation of Homogenous Neurotoxin Type A from Clostridium botulinum", Eur. J. Biochem., vol. 122, 1982, pages 493-500,
 GESSLER ET AL: "A new scaleable method for the purification of botulinum neurotoxin type E", JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 119, no. 2, 23 September 2005 (2005-09-23), pages 204-211, XP027663511, ISSN: 0168-1656 [retrieved on 2005-09-23]
 GE HEALTHCARE: "Ion exchange columns and media", Selection Guide, December 2008 (2008-12),
 Pharmacia Fine Chemicals, Gel Filtration Theory and Practice 16-19 (November 1981)

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 et ikke -kompleksdannet *botulinum*-toksin type A (*botulinum*-toksin A), idet fremgangsmåten omfatter:

- 5 (i) å tilveiebringe en blanding som omfatter et urent ikke -kompleksdannet *botulinum*-toksin A, hvor nevnte urene ikke-kompleksdannede *botulinum*-toksin A dissosieres fra opprinnelige, ikke-toksiske proteiner, hvor blandingen oppnås ved
- 10 (a) å utsette en gjæringskultur som omfatter *botulinum*-toksin A, for syreutfelling for å oppnå et syrebunnfall; og å utføre tangential strømningsfiltrering på bunnfallet for å fremstille en konsentrert prøve;
- (b) å laste en hydrofob interaksjonskolonne med prøven, for på den måte å tillate fangst av *botulinum*-toksin-A-kompleks ved den hydrofobe interaksjonskolonnen;
- 15 (c) å eluere *botulinum*-toksin-A-komplekset fra den hydrofobe interaksjonskromatografikolonnen; og
- (d) å dissosiere *botulinum*-toksin-A-komplekset for å oppnå blandingen som omfatter det urene ikke-kompleksdannede *botulinum*-toksin A;
- 20 (ii) å laste det urene, ikke -kompleksdannede *botulinum*-toksin A på en anionbytterkolonne for på den måte å tillate fangst av det ikke -kompleksdannede *botulinum*-toksin A ved anionbytterkolonnen;
- (iii) å eluere det ikke -kompleksdannede *botulinum*-toksin A fra anionbytterkolonnen for å gi et elueringsmiddel som omfatter det ikke-kompleksdannede *botulinum*-toksin A;
- 25 (iv) å laste en kationbytterkolonne med elueringsmiddelet fra anionbytterkolonnen for på den måte å tillate fangst av det ikke -kompleksdannede *botulinum*-toksin A ved kationbytterkolonnen; og
- (v) å eluere rensed ikke -kompleksdannet *botulinum*-toksin A fra kationbytterkolonnen.

30 2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor:

- (a) prøven er en celledsupernatant eller et cellefiltrat som omfatter *botulinum*-toksin-A-komplekset; eller

9. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor den anioniske kolonnes pH er på fra 7,4 til 8,2.

5 10. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor den kationiske kolonnes pH er på fra 6,0 til 7,0.

10 11. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor en gradient for eluering av det ikke - kompleksdannede *botulinum*-toksin A fra den anioniske bytterkolonnen velges fra gruppen bestående av en stigende konsentrasjonsgradient av natriumklorid og en stigende konsentrasjonsgradient av kaliumklorid, og eventuelt hvor anionbytterkolonnen elueres ved en pH på fra 7,4 til 8,4.

15 12. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor en gradient for eluering av det ikke-kompleksdannede *botulinum*-toksin A fra den kationiske bytterkolonnen velges fra gruppen bestående av en stigende konsentrasjonsgradient av natriumklorid og en stigende konsentrasjonsgradient av kaliumklorid, og eventuelt hvor kationbytterkolonnen elueres ved en pH på fra 6,0 til 7,0.

20 13. Fremgangsmåte for rensing av et ikke -kompleksdannet *botulinum*-toksin type A (*botulinum*-toksin A), idet fremgangsmåten omfatter:

25 (a) å tilveiebringe en blanding som omfatter et urent ikke -kompleksdannet *botulinum*-toksin A, hvor nevnte urene ikke-kompleksdannede *botulinum*-toksin A dissosieres fra opprinnelige ikke-toksin-proteiner; hvor nevnte blanding oppnås ved:

(i) å utsette en gjæringskultur som omfatter *botulinum*-toksin A, for syreutfelling for å oppnå et uøstelig syrebunnfall;

(ii) å konsentrere syrebunnfallet fra trinn (i) under anvendelse av tangential strømningsfiltrering for å fremstille en konsentrert prøve;

30 (iii) å utsette prøven for nukleasefordøyning under betingelser som reduserer rvertscelle-nukleinsyreinnhold og som opprettholder et kompleks av *botulinum*-toksin A og ikke-toksin-proteiner;

16. Fremgangsmåde ifølge krav 15, hvor nukleasen avledes fra en ikke -animalsk kilde.