



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2571902 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C08B 37/00 (2006.01)
C12P 19/04 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2019.11.04
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2019.07.10
(86)	European Application Nr.	11721756.2
(86)	European Filing Date	2011.05.18
(87)	The European Application's Publication Date	2013.03.27
(30)	Priority	2010.05.20, GB, 201008401
(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	GlaxoSmithKline Biologicals S.A., Rue de l'Institut, 89, 1330 Rixensart, Belgia
(72)	Inventor	CHARLES, Philippe, GlaxoSmithKline Biologicals S.A.rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart, Belgia GELDHOF, Geoffroy, GlaxoSmithKline Biologicals S.A.rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart, Belgia MANCUSO, Vincent, GlaxoSmithKline Biologicals S.A.rue de l'Institut 89, B-1330 Rixensart, Belgia
(74)	Agent or Attorney	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54)	Title	NOVEL PROCESS
(56)	References Cited:	GB-A- 2 220 211 WO-A2-02/078637 WO-A1-00/26384 WO-A1-88/03797 US-A1- 2003 108 573 WO-A2-2007/106073 US-A- 4 076 589 FOLCH J ET AL: "A SIMPLE METHOD FOR THE ISOLATION AND PURIFICATION OF TOTAL LIPIDES FROM ANIMAL TISSUES", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, US, vol. 224, 1 January 1957 (1957-01-01), pages 497-509, XP009011060, ISSN: 0021-9258 BLIGH E G ET AL: "A RAPID METHOD OF TOTAL LIPID EXTRACTION AND PURIFICATION", CANADIAN JOURNAL OF BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY, NATIONAL RESEARCH

COUNCIL OF CANADA, OTTAWA, CA, vol. 37, no. 8, 1 August 1959 (1959-08-01) , pages 911-917, XP000998224, ISSN: 0576-5544
NURMINEN M ET AL: "Methanol extracts LPS from deep rough bacteria", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, ACADEMIC PRESS INC. ORLANDO, FL, US, vol. 219, no. 2, 1 January 1996 (1996-01-01), pages 441-444, XP002371332, ISSN: 0006-291X, DOI: 10.1006/BBRC.1996.0252

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 lipopolysakkarid(LPS)-ekstraksjon fra gramnegative bakterieceller omfattende trinnet, ekstraksjon av LPS fra cellene i en LPS-ekstraksjonssammensetning omfattende kloroform, metanol og vann, hvor LPS-ekstraksjonssammensetningen er enfase og hvor mengden vann i LPS-ekstraksjonssammensetningen er på mellom 0,4 og 1,5% (v/v), prosentandelen av metanol i LPS-ekstraksjonssammensetningen er på mellom 5% og 40% (v/v), og hvor prosentandelen av kloroform i LPS-ekstraksjonssammensetningen er på mellom 60% (v/v) og 95% (v/v).
2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor vannmengden er 0,8 til 1,2% (v/v).
3. Fremgangsmåte ifølge krav 2, hvor vannmengden er 1% (v/v).
4. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvor prosentandelen metanol i LPS-ekstraksjonssammensetningen er på mellom 10% og 30% (v/v).
5. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvor prosentandelen kloroform i LPS-ekstraksjonssammensetningen er på mellom 75% (v/v) og 90% (v/v).
6. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvor ekstraksjonen av LPS utføres ved en temperatur på mellom ca. 35°C og ca. 65°C.
7. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 6, hvor LPS-ekstraksjon utføres ved en pH mellom 7,8 og 9.
8. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 7, hvor LPS-ekstraksjonen utføres i løpet av 0,5 til 20 timer.
9. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 8, videre omfattende trinnene:
 - i. vask av celler med en løsning av etanol eller etanol; og eventuelt
 - ii. vask av celler en ytterligere gang med etanol eller metanol.
10. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 9, videre omfattende trinnet: inndamping av vannet, alkoholen og ytterligere organisk løsningsmiddel fra LPS-løsningen, hvorved man får en tørr LPS-rest.

11. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 10, hvor bakteriecellen er den av en dyp grov («deep rough») mutant bakteriestamme av *Salmonella* eller *Escherichia*.

12. Fremgangsmåte ifølge krav 11, hvor bakteriecellene er den av *Escherichia coli*.

13. Fremgangsmåte ifølge krav 11, hvor bakteriecellene er den av *Salmonella minnesota*.

14. Fremgangsmåte ifølge krav 11, hvor bakteriecellene er den av *Salmonella minnesota* R595.

15. Fremgangsmåte ifølge hvilket som helst av kravene 1 til 14, videre omfattende trinnet: å utsette LPS for sekvensiell syrehydrolyse og basehydrolyse, for å danne 3D-MPL.