



(12) **Translation of
European patent specification**

(11) **NO/EP 2677029 B1**

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 9/52 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2017.09.25
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2017.05.10
(86)	European Application Nr.	13184864.0
(86)	European Filing Date	2011.05.19
(87)	The European Application's Publication Date	2013.12.25
(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	Ipsen Bioinnovation Limited, 102 Park Drive Milton Park, Abingdon, Oxfordshire OX14 4RY, GB-Storbritannia
(72)	Inventor	Rummel, Andreas, Bandelstr. 13b, 30171 Hannover, DE-Tyskland
(74)	Agent or Attorney	Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO, Norge

(54)	Title	Methods for the manufacture of proteolytically processed polypeptides
(56)	References Cited:	WO-A1-02/15700 WO-A1-2009/014854 US-A1- 2011 086 018 KOZAKI S ET AL: "Activation of Clostridium botulinum type B and E derivative toxins with lysine-specific proteases", FEMS MICROBIOLOGY LETTERS, WILEY-BLACKWELL PUBLISHING LTD, GB, vol. 27, no. 2, 1 May 1985 (1985-05-01), pages 149-154, XP023919407, ISSN: 0378-1097, DOI: 10.1111/J.1574-6968.1985.TB00658.X [retrieved on 1985-05-01] GIMENEZ J A ET AL: "Botulinum neurotoxin type E fragmented with endoproteinase Lys-C reveals the site trypsin nicks and homology with tetanus neurotoxin", BIOCHIMIE, MASSON, PARIS, FR, vol. 72, no. 4, 1 April 1990 (1990-04-01), pages 213-217, XP025458768, ISSN: 0300-9084, DOI: 10.1016/0300-9084(90)90075-R [retrieved on 1990-04-01] KIM J ET AL: "Characterization of a unique IgG1 mAb CEX profile by limited Lys-C proteolysis/CEX separation coupled with mass spectrometry and structural analysis", JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY B: BIOMEDICAL SCIENCES & APPLICATIONS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 878, no. 22, 15 July 2010 (2010-07-15), pages 1973-1981, XP027118640, ISSN: 1570-0232 [retrieved on 2010-06-01]

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. Anvendelse av Lys-C for proteolytisk behandling av en enkeltkjedet botulinumneurotoksin serotype A (BoNT/A) ved hydrolyse for å fremstille di-kjede botulinum-neurotoksin serotype A (BoNT/A).
5
2. Anvendelse ifølge krav 1, der den enkeltkjedete botulinumneurotoksin serotype A (BoNT/A) er et naturlig forekommende neurotoksin, et rekombinant neurotoksin eller modifisert neurotoksin, slik som et neurotoksin som mangler den naturlige H_c domene eller deler derav eller derivater med andre aminosyrerester som erstatter neurotoksin H_c domene.
10
3. Anvendelse ifølge krav 2, der den enkeltkjedete botulinumneurotoksin serotype A (BoNT/A) omfatter en aminosyresekvens som har minst 50% sekvensidentitet med en polypeptidsekvens valgt fra en hvilken som helst av SEQ ID NO: 3 til 25;
15
fortrinnsvis hvor Lys-C hydrolyserer den enkeltkjedete botulinumneurotoksin serotype A (BoNT/A) i en stilling umiddelbart C-terminalt til en basisk aminosyrerest innenfor nevnte sekvens av en hvilken som helst av SEQ ID NO: 3 til 25.
20
4. Fremgangsmåte for fremstilling av et proteolytisk behandlet polypeptid omfattende trinnet for å kontakte:
(A) et første polypeptid, det første polypeptid er Lys-C; med
(B) et andre polypeptid, der det andre polypeptid er mottagelig for proteolyse
25 av det første polypeptidet;
hvor nevnte kontakt resulterer i proteolytisk behandling av det andre polypeptidet i minst to spaltningsprodukter;
hvor det andre polypeptidet er en enkeltkjedet botulinumneurotoksin serotype A (BoNT/A) og hvor det første polypeptidet hydrolyserer den enkeltkjedete botulinumneurotoksin serotype A (BoNT/A) for å fremstille en di-kjede botulinum-neurotoksin serotype A (BoNT/EN).
30
5. Fremgangsmåte ifølge krav 4, der det nevnte enkeltkjedete botulinumneurotoksin serotype A (BoNT/A) er et naturlig forekommende neurotoksin, et rekombinant neurotoksin eller modifisert neurotoksin, slik som et neurotoksin som mangler det naturlige H_c domene eller deler derav eller derivater med andre aminosyrerester som
35

erstatte neurotoksin H_c domene.

- 5 6. Fremgangsmåte ifølge krav 5, der det andre polypeptidet omfatter en aminosyresekvens som har minst 50% sekvensidentitet med en polypeptidsekvens valgt fra en hvilken som helst av SEQ ID NO: 3 til 25;

fortrinnsvis hvor det første polypeptidet spalter proteolytisk det andre polypeptidet i en stilling umiddelbart C-terminalt til en basisk aminosyrerest innenfor nevnte sekvens av en hvilken som helst av SEQ ID NO: 3 til 25.

10

7. Anvendelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3 eller fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 4-6, hvor C-terminalen av L-kjeden og N-terminalen av H-kjeden av di-kjeden botulinumneurotoksin serotype A (BoNT/A) er identiske med den tilsvarende di-kjede botulinumneurotoksin serotype A (BoNT/A) isolert fra villtype-klostridier.

15

8. Anvendelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3 eller 7 eller fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 4-7, hvor di-kjeden botulinumneurotoksin serotypen A (BoNT / A) har en identisk aminosyresekvens i sammenligning med det tilsvarende botulinumneurotoksin di-kjede serotype A (BoNT/A)-polypeptid generert fra samme enkeltkjede botulinumneurotoksin serotype A (BoNT/A) polypeptid i klostridier av villtype.

20

9. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 4-8, der kontakten skjer i en celle, i et cellelysatsat eller i et rensset cellelysatsat.

25