



(12) Translation of  
European patent specification

(11) NO/EP 2803349 B1

NORWAY

(19) NO

(51) Int Cl.

|                             |                             |
|-----------------------------|-----------------------------|
| <i>A61K 9/00 (2006.01)</i>  | <i>A61P 31/00 (2006.01)</i> |
| <i>A61K 9/08 (2006.01)</i>  | <i>A61P 37/00 (2006.01)</i> |
| <i>A61K 35/16 (2015.01)</i> | <i>A61P 37/02 (2006.01)</i> |
| <i>A61K 38/17 (2006.01)</i> | <i>A61P 37/04 (2006.01)</i> |
| <i>A61K 47/18 (2017.01)</i> | <i>A61P 37/06 (2006.01)</i> |
| <i>A61P 7/00 (2006.01)</i>  | <i>C07K 1/30 (2006.01)</i>  |
| <i>A61P 13/12 (2006.01)</i> | <i>C07K 1/36 (2006.01)</i>  |
| <i>A61P 27/02 (2006.01)</i> | <i>C07K 16/06 (2006.01)</i> |

**Norwegian Industrial Property Office**

---

|      |  |   |
|------|--|---|
| (45) | Translation Published  | 2023.12.18  |
| (80) | Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent | 2023.09.27  |
| (86) | European Application Nr.   | 14176511.5  |
| (86) | European Filing Date   | 2010.05.27  |
| (87) | The European Application's Publication Date                          | 2014.11.19  |
| (30) | Priority   | 2010.05.26, AU, 2010202125  |
| (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  |
| (62) | Divided application  | EP2445482, 2010.05.27   |
| (73) | Proprietor   | Takeda Pharmaceutical Company Limited, 1-1, Doshomachi 4-chome Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka, Japan   |
| (72) | Inventor   | Bruckschwaiger, Leopold, Herminengasse 5/14, A-1020 Wien, Østerrike<br>Svatos, Sonja, Kapellengasse 42, A-2413 Berg, Østerrike<br>Nürnbergger, Julia, Donaufelderstr. 52/45, A-1210 Wien, Østerrike<br>Teschner, Wolfgang, Gestettengasse 19/14, A-1030 Wien, Østerrike<br>Butterweck, Harald Arno, Naufahrtweg 5, A-1220 Wien, Østerrike<br>Schwarz, Hans-Peter, Weimarer Strasse 76, A-1180 Vienna, Østerrike<br>Gundinger, Thomas, Barawitzkagasse 4/11, A-1190 Wien, Østerrike<br>Koelbl, Bernhard, Hintausstrasse 20/5, A-2481 Achau, Østerrike<br>Grausenburger, Reinhard, Dietrichgasse 63/18/12, A-1030 Wien, Østerrike<br>Pljevljakovic, Azra, Ottakringerstr. 94/22, A-1170 Wien, Østerrike |
| (74) | Agent or Attorney  | ZACCO NORWAY AS, Postboks 488, 0213 OSLO, Norge   |

---

(54) Title **Method for preparing an enriched IgG composition from plasma**

(56) References

Cited: EP-A1- 0 893 450  
US-A- 4 550 019  
DE-A1- 10 008 619

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 å fremstille en anriket IgG-sammensetning fra plasma, fremgangsmåten omfattende de trinn å:
  - (a) utfelle en kryo-fattig plasmafraksjon, i et første utfellingstrinn, med mellom 6% og 10%  
5 (volum/volum) alkohol ved en pH på mellom 7,0 og 7,5 for å frembringe et første presipitat og en første supernatant;
  - (b) utfelle IgG fra den første supernatanten, i et andre utfellingstrinn, med mellom 20% og 25%  
(volum/volum) alkohol ved en pH på mellom 6,7 og 7,3 for å danne et andre presipitat;
  - (c) resuspendere det andre presipitatet for å danne en suspensjon;
  - 10 (d) utfelle IgG fra suspensjonen dannet i trinn (c), i et tredje utfellingstrinn, med mellom 22% og 28%  
(volum/volum) alkohol ved en pH på mellom 6,7 og 7,3 for å danne et tredje presipitat;
  - (e) resuspendere det tredje presipitatet for å danne en suspensjon; og
  - (f) utseparere den løselige fraksjonen fra suspensjonen dannet i trinn (e), og derigjennom danne en anriket IgG-sammensetning,
  - 15 hvor pH-verdien for minst ett av det første utfellingstrinnet, andre utfellingstrinnet eller tredje utfellingstrinnet oppnås gjennom tilsetning av en pH-modifiserende løsning etter tilsetning av alkoholen, og hvor eventuelt pH-verdien for utfellingstrinnet i tillegg også modifiseres før tilsetningen av alkohol, under tilsetningen av alkohol, eller før og under tilsetningen av alkohol.
- 20 2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor pH-verdien for alle av det første utfellingstrinnet, andre utfellingstrinnet og tredje utfellingstrinnet oppnås gjennom tilsetning av en pH-modifiserende løsning etter tilsetning av alkoholen.
3. Fremgangsmåte ifølge krav 1 eller 2, hvor tilsetningen av en pH-modifiserende løsning  
25 omfatter spraytilsetning av den pH-modifiserende løsningen.
4. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvor fremgangsmåten videre omfatter et trinn med ionebyttekromatografirensing.
- 30 5. Fremgangsmåte ifølge krav 4, hvor fremgangsmåten omfatter både et trinn med anionebyttekromatografirensing og et trinn med kationebyttekromatografi.

EP2803349

2

6. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, hvor fremgangsmåten videre omfatter et nanofiltreringstrinn og/eller et ultrafiltrerings-/diafiltreringstrinn.
7. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 6, hvor den anrikede IgG-sammensetningen som oppnås i trinn (f) inneholder minst 85% av IgG-innholdet som fantes i den kryofattige plasmafraksjonen anvendt i trinn (a).
8. Fremgangsmåte ifølge krav 7, hvor den anrikede IgG-sammensetningen som oppnås i trinn (f) inneholder minst 90% av IgG-innholdet som fantes i kryofattige plasmafraksjonen anvendt i trinn (a).
9. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 8, hvor renheten til  $\gamma$ -globuliner i den endelige IgG-sammensetningen er minst 95%, fortrinnsvis minst 98%, mer foretrukket minst 99%.
10. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor fremgangsmåten omfatter de trinn å:
- (a) justere pH-verdien for en kryofattig plasmafraksjon til 7,0;
  - (b) justere etanolkonsentrasjonen til den kryofattige plasmafraksjonen i trinn (a) til 25 % (volum/volum) ved en temperatur mellom -7 °C og -9 °C, og derigjennom danne en blanding;
  - (c) utseparere væske og presipitat fra blandingen fra trinn (b);
  - (d) resuspendere presipitatet fra trinn (c) med en buffer inneholdende fosfat og acetat, hvor bufferens pH justeres med mellom 300 mL og 700 mL iseddiksyre per 1000L buffer, og derigjennom danne en suspensjon;
  - (e) blande findelt silisiumdioksid ( $\text{SiO}_2$ ) med suspensjonen fra trinn (d) i minst 30 minutter;
  - (f) filtrere suspensjonen med en filterpresse, og derigjennom danne et filtrat;
  - (g) vaske filterpressen med minst 3 filterpressedødvolum av en buffer inneholdende fosfat og acetat, hvor bufferens pH justeres med mellom 50 mL og 200 mL iseddiksyre per 1000L buffer, og derigjennom danne en vaskeløsning;
  - (h) kombinere filtratet fra trinn (f) med vaskeløsningen fra trinn (g), og derigjennom danne en løsning, og behandle løsningen med en detergent;
  - (i) justere pH-verdien til løsningen fra trinn (h) til 7,0 og tilsette etanol til en endelig konsentrasjon på 25%, og derigjennom danne et presipitat;
  - (j) utseparere væske og presipitat fra blandingen fra trinn (i);

EP2803349

3

- (k) løse opp presipitatet i en vandig løsning omfattende et løsemiddel eller en detergent og opprettholde løsningen i minst 60 minutter;
- (l) føre løsningen etter trinn (k) gjennom en kationebyttekromatografikolonne og eluere proteiner absorbert på kolonnen i et eluat;
- 5 (m) føre eluatet fra trinn (l) gjennom en anionebyttekromatografikolonne for å frembringe en effluent;
- (n) føre effluenten fra trinn (m) gjennom et nanofilter for å frembringe et nanofiltrat;
- (o) føre nanofiltratet fra trinn (n) gjennom en ultrafiltreringsmembran for å frembringe et ultrafiltrat; og
- 10 (p) diafiltrere ultrafiltratet fra trinn (o) mot en diafiltreringsbuffer for å frembringe et diafiltrat som har en proteinkonsentrasjon mellom 8% (vekt/volum) og 12% (vekt/volum), og derigjennom oppnå en sammensetning av konsentrert IgG,
- hvor den kryofattige plasmafraksjonen dannes gjennom en fremgangsmåte omfattende de trinn å:
- (i) kjøle en blanding av samlede plasmadonasjoner til en temperatur mellom 2°C og 10°C;
- 15 (ii) utseparere væske og presipitat fra blandingen fra trinn (i) gjennom sentrifugering;
- (iii) blande etanol inn i den flytende supernatanten dannet i trinn (ii) til en endelig konsentrasjon på mellom 5% (volum/volum) til 10% (volum/volum) etanol, og derigjennom danne en blanding;
- (iv) kjøling blandingen dannet i trinn (iii) til mellom -4°C og 0°C;
- (v) utseparere væske og presipitat fra blandingen fra trinn (iv) gjennom sentrifugering; og isolere
- 20 supernatanten, og derigjennom danne en kryofattig plasmafraksjon.
11. Fremgangsmåte ifølge krav 10, hvor temperaturen til blandingen fra trinn (b) er -7°C.
12. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 11, hvor presipitatet som dannes
- 25 i trinn (c) resuspenderes med mellom 12 L og 18 L buffer per kg presipitat, fortrinnsvis med 15 L buffer per kg presipitat.
13. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 12, hvor mengden av silisiumdioksid som tilsettes i suspensjonen i trinn (e) er mellom 0,02 gram per gram presipitat
- 30 dannet i trinn (c) og 0,06 gram per gram presipitat dannet i trinn (c), fortrinnsvis hvor mengden av silisiumdioksid som tilsettes i suspensjonen i trinn (e) er 0,04 gram per gram presipitat dannet i trinn (c).

EP2803349

4

14. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 13, hvor et filterhjelpemiddel tilsettes i blandingen før filtrering i trinn (f), hvor filterhjelpemiddelet fortrinnsvis er kiselgur.
15. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 14, hvor renheten til  $\gamma$ -globulinene i filtratet som dannes i trinn (f) er minst 85%.
16. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 15, hvor filtratet som dannes i trinn (f) inneholder mindre enn 10 mg fibrinogen per gram totalt protein.
17. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 16, hvor filtratet som dannes i trinn (f) inneholder mindre enn 500 IU PKA-aktivitet per gram totalt protein.
18. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 17, hvor detergenten som anvendes i trinn (h) omfatter mellom 0,1 % (vekt/volum) og 0,3% (vekt/volum) polysorbat-80.
19. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 18, hvor den vandige løsningen som anvendes i trinn (k) omfatter Triton-X 100, polysorbat-80 og TNBP.
20. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 19, hvor nanofilteret i trinn (n) har en midlere porestørrelse på mellom 15 nm til 72 nm, fortrinnsvis hvor nanofilteret har en midlere porestørrelse på mellom 19 nm til 35 nm, mer foretrukket hvor nanofilteret har en midlere porestørrelse på 35 nm.
21. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 10 til 20, hvor løsningen som dannes i trinn (h) inneholder minst 85% av det IgG som forefantes i den kryo-fattige plasmafraksjonen i trinn (a), fortrinnsvis hvor løsningen som dannes i trinn (h) inneholder minst 90% av det IgG som forefantes i den kryo-fattige plasmafraksjonen i trinn (a).
22. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor, i det første utfellingstrinnet, pH-verdien modifiseres etter tilsetning av alkoholen.
23. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor, i det andre utfellingstrinnet, pH-verdien modifiseres etter tilsetning av alkoholen.

EP2803349

5

24. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor, i det tredje utfellingstrinnet, pH-verdien modifieres etter tilsetning av alkoholen.

25. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 22, 23 eller 24, hvor alkoholen er etanol.

5

26. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1, 22, 23, 24 og 25, hvor pH-verdien for utfellingstrinnet modifieres før og etter tilsetningen av alkohol, under og etter tilsetningen av alkohol, eller før, under og etter tilsetningen av alkohol.

10

27. Fremgangsmåte ifølge et hvilket som helst av kravene 1 og 22 til 26, hvor pH-verdien for minst ett utfellingstrinn opprettholdes under hele utfellingstrinnet gjennom kontinuerlig justering av pH-verdien.