



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2920199 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 1/36 (2006.01)
C07K 1/18 (2006.01)
C07K 1/30 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2018.08.06
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2018.03.07
(86)	European Application Nr.	14832966.7
(86)	European Filing Date	2014.05.07
(87)	The European Application's Publication Date	2015.09.23
(30)	Priority	2013.08.02, KR, 20130092024
(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	Daewoong Co., Ltd., 244, Galmachi-ro Jungwon-gu Seongnam-si, Gyeonggi-do 462-807, KR-Sør-Korea
(72)	Inventor	KIM, Chung Sei, 1221-903 Mokdong 12danji Apt. 50Mokdongdong-roYangcheon-gu, Seoul 158-772, KR-Sør-Korea SONG, Kwan Young, 105-604 Dongbu centrel vill42 Angok-ro 279beon-gilWonmi-gu, Bucheon-siGyeonggi-do 420-100, KR-Sør-Korea MIN, Kyoung Min, 8 Baengnyeong-ro 119beon-gil, Chuncheon-siGangwon-do 220-950, KR-Sør-Korea AN, Yeong Duk, 103-307 Baengmongnyeong Apt.21 Jeongnimseo-ro 138beon-gilSeo-gu, Daegu 302-770, KR-Sør-Korea
(74)	Agent or Attorney	ONSAGERS AS, Postboks 1813, Vika, 0123 OSLO, Norge

(54)	Title	METHOD FOR PRODUCTION OF BOTULINUM TOXIN
(56)	References Cited:	WO-A1-2011/050072, KR-A- 20030 060 150, KR-A- 20090 091 501, US-B2- 7 452 697, US-A1- 2005 238 669, US-A1- 2006 228 780, US-A1- 2011 008 843, KR-A- 20110 091 492

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 fremstilling av botulinumtoksin ,
der fremgangsmåten omfatter trinnene med å:

5

- (a) behandle en kultur av en botulinumtoksin-produserende stamme med syre for å felle ut et botulinumtoksin,
- (b) tilsette buffer til det utfelte botulinumtoksinet, etterfulgt av behandling med en proteaseinhibitor og nuklease, for slik å ekstrahere botulinumtoksinet,
- 10 (c) behandle det ekstraherte botulinumtoksinet med syre for å presipitere botulinumtoksinet og løse opp presipitatet i buffer, og
- (d) rense botulinumtoksinet ved hjelp av anionbytterkromatografi,

15

der syreutfellingen i trinn (c) blir utført ved å tilsette svovelsyre eller saltsyre til det ekstraherte botulinumtoksinet slik at det ekstraherte botulinumtoksinet når en pH-verdi på 2,5-4,5.

20

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1,
der den botulinumtoksin-produserende stammen er *Clostridium botulinum*.

3. Fremgangsmåte ifølge krav 1,
der det rensede botulinumtoksinet er et type A-toksinprotein som har en renhet på minst 98 %.

25

4. Fremgangsmåte ifølge krav 1,
der syreutfellingen i trinn (a) blir utført ved å tilsette svovelsyre eller saltsyre til kulturen av stammen slik at kulturen når en pH-verdi på 3,0-4,5.

30

5. Fremgangsmåte ifølge krav 1,
der proteaseinhibitoren i trinn (b) er benzamidin-HCl.

6. Fremgangsmåte ifølge krav 1,
der nukleasen i trinn (b) er DNase og RNase.
- 5 7. Fremgangsmåte ifølge krav 1,
der ekstraheringen av botulinumtoksinet i trinn (b) blir utført ved en pH-verdi på
4,5-6,5.
8. Fremgangsmåte ifølge krav 1,
10 der bufferen i trinn (c) er natriumfosfatbuffer.
9. Fremgangsmåte ifølge krav 1,
der anionbytterkromatografien i trinn (d) blir utført ved en pH-verdi på 3,5-7,5, og
en ledningsevne på 3-30 mS/cm.
- 15 10. Fremgangsmåte ifølge krav 1,
som etter trinn (d) videre omfatter trinnene med å:
- (e) behandle fraksjonen fra anionbytterkromatografien som inneholder
botulinumtoksinet med ammoniumsulfat for å danne et presipitat, og løse
20 presipitatet i buffer, og
- (f) rense botulinumtoksinet ved hjelp av anionbytterkromatografi.
11. Fremgangsmåte ifølge krav 10,
der ammoniumsulfatet i trinn (e) blir tilsatt ved en konsentrasjon på 10-50 %
25 (vekt/volum).
12. Fremgangsmåte ifølge krav 10,
der bufferen i trinn (e) er natriumfosfatbuffer.
- 30 13. Fremgangsmåte ifølge krav 10,

3

der anionbytterkromatografien i trinn (e) blir utført ved en pH-verdi på 3,5-7,5, og en ledningsevne på 3-30 mS/cm.

5

