

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
14. Februar 2002 (14.02.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/012508 A3

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: **C12N 15/52**, 9/00, C07K 14/195, C12P 21/02
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/08687
- (22) Internationales Anmeldedatum:
27. Juli 2001 (27.07.2001)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
100 38 776.4 9. August 2000 (09.08.2000) DE
- (51) Bestimmungstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) Bestimmungstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (71) Anmelder (*für alle Bestimmungstaaten mit Ausnahme von US*): **BAYER AKTIENGESELLSCHAFT** [DE/DE]; 51368 Leverkusen (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): **JOENTGEN, Winfried** [DE/DE]; Hoppegartenerstrasse 6, 50735 Köln (DE). **STEINBÜCHEL, Alexander** [DE/DE]; Rönneenthal 27, 48341 Altenberge (DE). **OPPERMANN-SANIO, Fred, Bernd** [DE/DE]; Finkenstrasse 27, 59075 Hamm (DE). **ABOULMAGD, Elsayed** [EG/DE]; Horstmarer Landweg 84, 48149 Münster (DE).
- (74) Gemeinsamer Vertreter: **BAYER AKTIENGESELLSCHAFT**; 51368 Leverkusen (DE).
- Veröffentlicht:
— mit internationalem Recherchenbericht
- (88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 17. April 2003
- Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*



WO 02/012508 A3

- (54) Title: METHOD FOR IMPROVED PRODUCTION OF CYANOPHYCIN AND THE SECONDARY PRODUCTS THEREOF
- (54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR VERBESSERTEN HERSTELLUNG VON CYANOPHYCIN UND DESSEN FOLGEPRODUKTE
- (57) Abstract: The invention relates to thermostable cyanophycin synthetases and a method for the improved production of cyanophycin and/or the secondary products thereof.
- (57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft thermostabile Cyanophycinsynthetasen sowie ein Verfahren zur verbesserten Herstellung von Cyanophycin und/oder dessen Folgeprodukten.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 01/08687

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 C12N15/52 C12N9/00 C07K14/195 C12P21/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

BIOSIS, EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data, SCISEARCH, MEDLINE, EMBASE, EMBL

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category ° | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| X | ZIEGLER KARL ET AL: "Molecular characterization of cyanophycin synthetase, the enzyme catalyzing the biosynthesis of the cyanobacterial reserve material multi-L-arginyl-poly-L-aspartate (cyanophycin)" EUROPEAN JOURNAL OF BIOCHEMISTRY, BERLIN, DE, vol. 254, no. 1, May 1998 (1998-05), pages 154-159, XP002182773 ISSN: 0014-2956 figure 2 | 1-19 |
| X | -& DATABASE SWISS PROT [Online] 30 May 2000 (2000-05-30) "CPHA ANAVA" retrieved from EBI Database accession no. 086109 XP002215400 abstract | 1-19 |
| | -/-- | |

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 October 2002

Date of mailing of the international search report

27.12.02

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Meyer, W

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 01/08687

| C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|--|--|-----------------------|
| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | <p style="text-align: center;">---</p> KANEKO T ET AL: "Sequence analysis of the genome of the unicellular cyanobacterium <i>Synechocystis</i> sp. strain PCC6803. II. Sequence determination of the entire genome and assignment of potential protein-coding regions" DNA RESEARCH, UNIVERSAL ACADEMY PRESS, JP, vol. 3, no. 3, 1996, pages 109-136, XP002084893 ISSN: 1340-2838 the whole document | 1-19 |
| X | -& DATABASE SWISS PROT [Online] 30 May 2000 (2000-05-30) "CPHA_SYNY3" retrieved from EBI Database accession no. P73833 XP002215399 abstract | 1-19 |
| X,P | <p style="text-align: center;">---</p> ABOULMAGD ELSAYED ET AL: "Molecular characterization of the cyanophycin synthetase from <i>Synechocystis</i> sp. strain PCC6308." ARCHIVES OF MICROBIOLOGY, vol. 174, no. 5, October 2000 (2000-10), pages 297-306, XP002215397 ISSN: 0302-8933 siehe PCC6308 figure 2 | 1-19 |
| X | -& DATABASE EMBL [Online] 16 April 2000 (2000-04-16) ABOULMAGD, E. ET AL.: "Synechocystis PCC6308 gene cluster, complete sequence" retrieved from EBI Database accession no. AF220099 XP002215732 abstract | 1-19 |
| X | -& DATABASE SWISS PROT [Online] 30 May 2002 (2002-05-30) "CPHA_SYNY8" retrieved from EBI Database accession no. P56947 XP002215398 abstract | 1-19 |
| | ----- | |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

EP01/08687

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

in part 1-19

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

The International Searching Authority has determined that this international application contains multiple (groups of) inventions, namely

1. Claims: in part 1-19

Cyanophycin synthetases comprising the amino acid sequence as per SEQ ID 01 and coded by a nucleotide sequence as per SEQ ID 02 and their use.

2. Claims: in part 1-19

Cyanophycin synthetases comprising the amino acid sequence as per SEQ ID 03 and coded by a nucleotide sequence as per SEQ ID 04 and their use.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/08687

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 IPK 7 C12N15/52 C12N9/00 C07K14/195 C12P21/02

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

BIOSIS, EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data, SCISEARCH, MEDLINE, EMBASE, EMBL

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|--|--------------------|
| X | ZIEGLER KARL ET AL: "Molecular characterization of cyanophycin synthetase, the enzyme catalyzing the biosynthesis of the cyanobacterial reserve material multi-L-arginyl-poly-L-aspartate (cyanophycin)" EUROPEAN JOURNAL OF BIOCHEMISTRY, BERLIN, DE, Bd. 254, Nr. 1, Mai 1998 (1998-05), Seiten 154-159, XP002182773 ISSN: 0014-2956 Abbildung 2 | 1-19 |
| X | -& DATABASE SWISS PROT [Online] 30. Mai 2000 (2000-05-30) "CPHA_ANAVA" retrieved from EBI Database accession no. 086109 XP002215400 Zusammenfassung -/-- | 1-19 |

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld G zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

7. Oktober 2002

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

27.12.02

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Meyer, W

| C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN | | |
|--|--|--------------------|
| Kategorie° | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
| X | <p style="text-align: center;">---</p> KANEKO T ET AL: "Sequence analysis of the genome of the unicellular cyanobacterium <i>Synechocystis</i> sp. strain PCC6803. II. Sequence determination of the entire genome and assignment of potential protein-coding regions" DNA RESEARCH, UNIVERSAL ACADEMY PRESS, JP, Bd. 3, Nr. 3, 1996, Seiten 109-136, XP002084893 ISSN: 1340-2838 das ganze Dokument | 1-19 |
| X | -& DATABASE SWISS PROT [Online] 30. Mai 2000 (2000-05-30) "CPHA_SYNY3" retrieved from EBI Database accession no. P73833 XP002215399 Zusammenfassung | 1-19 |
| X,P | <p style="text-align: center;">---</p> ABOULMAGD ELSAYED ET AL: "Molecular characterization of the cyanophycin synthetase from <i>Synechocystis</i> sp. strain PCC6308." ARCHIVES OF MICROBIOLOGY, Bd. 174, Nr. 5, Oktober 2000 (2000-10), Seiten 297-306, XP002215397 ISSN: 0302-8933 siehe PCC6308 Abbildung 2 | 1-19 |
| X | -& DATABASE EMBL [Online] 16. April 2000 (2000-04-16) ABOULMAGD, E. ET AL.: "Synechocystis PCC6308 gene cluster, complete sequence" retrieved from EBI Database accession no. AF220099 XP002215732 Zusammenfassung | 1-19 |
| X | -& DATABASE SWISS PROT [Online] 30. Mai 2002 (2002-05-30) "CPHA_SYNY8" retrieved from EBI Database accession no. P56947 XP002215398 Zusammenfassung <p style="text-align: center;">-----</p> | 1-19 |

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich

2. Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich

3. Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.

2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.

3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.

4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:
teilweise 1-19

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: teilweise 1-19

Cyanophycin-Synthetasen mit der Aminosäuresequenz gemäss SEQ ID 01 und codiert durch eine Nukleotidsequenz gemäss SEQ ID 02 und deren Gebrauch.

2. Ansprüche: teilweise 1-19

Cyanophycin-Synthetasen mit der Aminosäuresequenz gemäss SEQ ID 03 und codiert durch eine Nukleotidsequenz gemäss SEQ ID 04 und deren Gebrauch.