

(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
1. Februar 2007 (01.02.2007)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2007/012329 A3

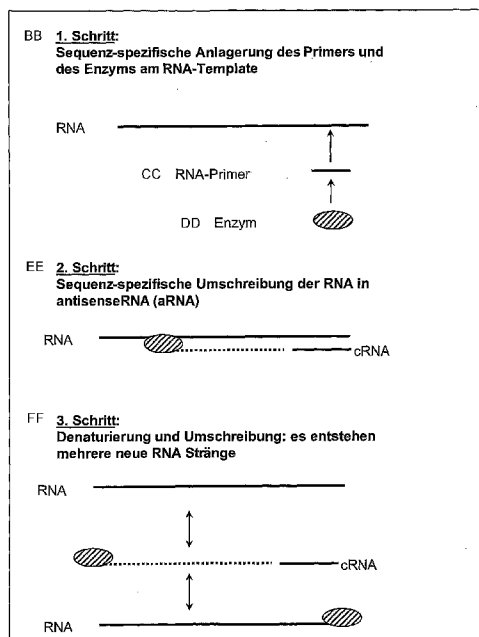
- (51) Internationale Patentklassifikation:
C12N 9/12 (2006.01) **C12Q 1/68** (2006.01)
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2006/001326
- (22) Internationales Anmeldedatum:
25. Juli 2006 (25.07.2006)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
10 2005 036 085.8 25. Juli 2005 (25.07.2005) DE
10 2006 008 219.2
13. Februar 2006 (13.02.2006) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **TECHNISCHE UNIVERSITÄT DRESDEN** [DE/DE]; Mommsenstrasse 11, 01062 Dresden (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **ROHAYEM, Jacques** [DE/DE]; Regerstrasse 27, 01309 Dresden (DE). **RUDOLPH, Wolfram** [DE/DE]; Wittenberger Strasse 8, 01307 Dresden (DE). **JÄGER, Katrin** [DE/DE]; Talstrasse 65, 01462 Dresden (DE). **JACOBS, Enno** [DE/DE]; Prellerstrasse 12, 01309 Dresden (DE).
- (74) Anwalt: **KAILUWEIT & UHLEMANN**; Bamberger Strasse 49, 01187 Dresden (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: RNA-DEPENDENT RNA-POLYMERASE, METHODS AND KITS FOR AMPLIFYING AND/OR MARKING RNA

(54) Bezeichnung: RNA-ABHÄNGIGE RNA-POLYMERASE, VERFAHREN UND KITS ZUR AMPLIFIKATION UND / ODER MARKIERUNG VON RNA

AA Sequenz-abhängige RNA Amplifikation



AA ... Sequence-dependent RNA amplification
BB ... 1st Step Sequence-specific adsorption of primer and enzyme on RNA template
CC ... RNA primer
DD ... Enzyme
EE ... 2nd Step Sequence-specific transcription of RNA into antisense RNA (aRNA)
FF ... 3rd Step Denaturation and transcription: several new RNA strands are created

(57) Abstract: The invention relates to an RNA-dependent RNA-polymerase, to methods and kits for marking and/or amplifying in a primary dependent or independent manner a ribonucleic acid (RNA), in particular a viral, eucaryotic, procaryotic and double-stranded ribonucleic acid (RNA) for the biological and medical use thereof. Said RNA-dependent RNA-polymerase comprises a right-hand conformation and the amino acid sequence the following sequence sections: a. XXDYS b. GXPSG c. YGDD d. XXYGL e. XXXXFLXRXR having the following significances: D: aspartate Y: tyrosine S: serine G: glicine P: proline L: leucine F: phenylalanine R: arginine X: any amino acid. The inventive amplifying method is particularly suitable for microarray engineering, siRNA production and for diagnosing viral infections by detecting viral RNA in patient samples. The inventive marking method is particularly suitable for purifying RNA by means of affinity bonds and for marking RNA used in molecular biology methods for characterising the function and/or structure of a viral, eucaryotic, procaryotic and double-stranded ribonucleic acid (RNA).

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft eine RNA-abhängige RNA-Polymerase sowie Verfahren und Kits zur Markierung und / oder zur primerabhängigen und -unabhängigen Amplifikation von Ribonukleinsäure (RNA), insbesondere von viraler, eukaryontischer und prokaryontischer und doppelsträngiger Ribonukleinsäure (RNA) zur Anwendung in der Biotechnologie und der Medizin. Die erfindungsgemäße RNA-abhängige RNA-Polymerase weist eine „Rechte-Hand-Konformation“ auf und die Aminosäuresequenz der RNA-abhängigen RNA-Polymerase umfasst die folgenden Sequenzabschnitte: a. XXDYS b. GXPSG c. YGDD d. XXYGL e. XXXXFLXRXR mit der Bedeutung: D: Aspartat Y: Tyrosin S: Serin G: Glycin P: Prolin L: Leucin F: Phenylalanin R: Arginin X: eine beliebige Aminosäure. Das erfindungsgemäße Amplifikationsverfahren eignet sich insbesondere für die Microarray- Technologie, zur Herstellung

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2007/012329 A3



LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen

Recherchenberichts:

23. August 2007

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.

den Nachweis viraler RNA in Patientenmaterial. Das erfindungsgemäße Markierungsverfahren eignet sich insbesondere für die Aufreinigung von RNA mittels Affinitäts-Bindung, sowie für die Markierung von RNA für die Anwendung in molekularbiologischen Verfahren, die bei der Charakterisierung der Funktion und/oder Struktur viraler, eukaryontischer und prokaryontischer und doppelsträngiger Ribonukleinsäure (RNA) verwendet werden.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/DE2006/001326

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12N9/12 C12Q1/68

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)

C12Q 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)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/092774 A2 (LIN SHI-LUNG [US]; JI HENRY H [US]) 21 November 2002 (2002-11-21)	1-6
Y	siehe ganzes Dok, bes. Ansprüche und S. 11 -----	7-21
X	SEAH E.L. ET AL.,: "open reading frame 1 of the norwalk-like virus camberwell: completion of sequence and expression in mammalian cells" J. VIROLOGY, vol. 73, no. 12, December 1999 (1999-12), pages 10531-10535, XP002418059	1-6
Y	siehe ganzes Dok., ----- -/--	7-21

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family 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.

G document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 February 2007

Date of mailing of the international search report

08/06/2007

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

Mueller, Frank

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DE2006/001326

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 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 No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

See additional sheet

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 additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
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.:

Claims 1-21 (in part)

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.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

The International Searching Authority has found that the international application contains multiple (groups of) inventions, as follows:

1. Claims 1-21 (in part)

RNA-dependent RNA-polymerase (seq id 1), method, use and kit provided therewith.

2. Claims 1-21 (in part)

RNA-dependent RNA-polymerase (seq id 2), method, use and kit provided therewith.

3. Claims 1-21 (in part)

RNA-dependent RNA-polymerase (seq id 3), method, use and kit provided therewith.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/DE2006/001326

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EMBL embl; Q9WI83_9CALI 1 November 1999 (1999-11-01), XP002418062	1-6
Y	98% homolog zu Seq id 1 abstract	7-21
X	----- WANG J. ET AL.,: "sequence diversity of small, round-structured viruses in the norwalk virus group" J. VIROLOGY, vol. 68, no. 9, August 1994 (1994-08), pages 5982-5990, XP002418060	1-6
Y	siehe ganzes Dok., bes. Tab. 1	7-21
X	----- GUO M. ET AL.,: "molecular characterization of porcine enteric calicivirus genetically related to sapporo-like human caliciviruses" J. VIROLOGY, vol. 73, no. 11, November 1999 (1999-11), pages 9625-9631, XP002418061	1-6
Y	siehe ganzes Dok., bes. S.9626	7-21
X	----- JP 2005 110517 A (BML INC) 28 April 2005 (2005-04-28) the whole document -& DATABASE WPI Week 200534 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 2005-326212 XP002418065 & JP 2005 110517 A (BML KK) 28 April 2005 (2005-04-28) abstract -----	1-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/DE2006/001326

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 02092774	A2	21-11-2002	AU 2002314782 A1	25-11-2002
JP 2005110517	A	28-04-2005	NONE	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE2006/001326

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

INV. C12N9/12 C12Q1/68

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

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

C12Q 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)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 02/092774 A2 (LIN SHI-LUNG [US]; JI HENRY H [US]) 21. November 2002 (2002-11-21)	1-6
Y	siehe ganzes Dok, bes. Ansprüche und S. 11	7-21
X	SEAH E.L. ET AL.,: "open reading frame 1 of the norwalk-like virus camberwell: completion of sequence and expression in mammalian cells" J. VIROLOGY, Bd. 73, Nr. 12, Dezember 1999 (1999-12), Seiten 10531-10535, XP002418059	1-6
Y	siehe ganzes Dok., ----- -/--	7-21

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C 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

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

2. Februar 2007

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

08/06/2007

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Mueller, Frank

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DATABASE EMBL embl; Q9WI83_9CALI 1. November 1999 (1999-11-01), XP002418062	1-6
Y	98% homolog zu Seq id 1 Zusammenfassung	7-21
X	----- WANG J. ET AL.,: "sequence diversity of small, round-structured viruses in the norwalk virus group" J. VIROLOGY, Bd. 68, Nr. 9, August 1994 (1994-08), Seiten 5982-5990, XP002418060	1-6
Y	siehe ganzes Dok., bes. Tab. 1	7-21
X	----- GUO M. ET AL.,: "molecular characterization of porcine enteric calicivirus genetically related to sapporo-like human caliciviruses" J. VIROLOGY, Bd. 73, Nr. 11, November 1999 (1999-11), Seiten 9625-9631, XP002418061	1-6
Y	siehe ganzes Dok., bes. S.9626	7-21
X	----- JP 2005 110517 A (BML INC) 28. April 2005 (2005-04-28) das ganze Dokument -& DATABASE WPI Week 200534 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 2005-326212 XP002418065 & JP 2005 110517 A (BML KK) 28. April 2005 (2005-04-28) Zusammenfassung	1-6

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE2006/001326

Feld II 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 III 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:
1-21 (teilweise)

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: 1-21 (teilweise)

RNA abhängige RNA Polymerase (seq id 1), Verfahren,
Verwendung und Kit damit

2. Ansprüche: 1-21 (teilweise)

RNA abhängige RNA Polymerase (seq id 2), Verfahren,
Verwendung und Kit damit

3. Ansprüche: 1-21 (teilweise)

RNA abhängige RNA Polymerase (seq id 3), Verfahren,
Verwendung und Kit damit

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE2006/001326

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung	
WO 02092774	A2	21-11-2002	AU 2002314782 A1	25-11-2002
JP 2005110517	A	28-04-2005	KEINE	