PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro

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

(51) Internationale Patentklassifikation 6 :		(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: **WO 99/36517**
C12N 15/11, C12Q 1/68, C12N 9/00, 15/86, A61K 31/70 // C12N 15/52	**A3**	(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 22. Juli 1999 (22.07.99)

(21) **Internationales Aktenzeichen:** PCT/EP99/00181

(22) **Internationales Anmeldedatum:** 14. Januar 1999 (14.01.99)

(30) **Prioritätsdaten:**
198 01 153.9 14. Januar 1998 (14.01.98) DE

(71)(72) **Anmelder und Erfinder:** JENNE, Andreas [DE/DE]; Angerweg 12, D–83253 Rimsting (DE).

(74) **Anwalt:** VOSSIUS & PARTNER; Siebertstrasse 4, D–81675 München (DE).

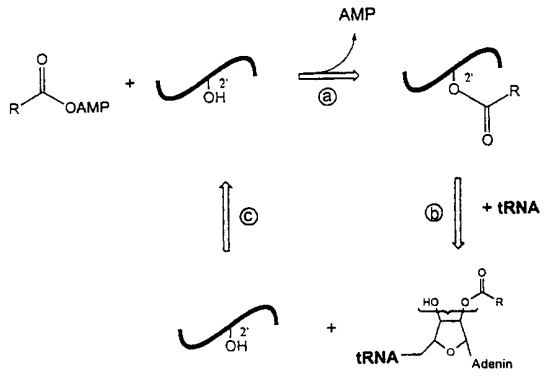
(81) **Bestimmungsstaaten:** IL, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

Veröffentlicht
Mit internationalem Recherchenbericht.
Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.

(88) **Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts:** 23. September 1999 (23.09.99)

(54) **Title:** METHOD FOR SELECTING RIBOZYMES WHICH ARE CAPABLE OF COVALENTLY MODIFYING THE RIBONUCLEIC ACIDS ON 2'–OH–GROUPS IN TRANS

(54) **Bezeichnung:** VERFAHREN ZUR SELEKTION VON RIBOZYMEN, DIE RIBONUCLEINSÄUREN IN TRANS AN 2'–OH–GRUPPEN KOVALENT MODIFIZIEREN KÖNNEN



(57) **Abstract**

The invention relates to an in vitro selection method for selecting ribozymes which are capable of covalently modifying the ribonucleic acids on 2'–OH–groups in trans and to the ribozymes obtained using this method. The invention also relates to medicaments containing said ribozymes, said medicaments being preferably used for inhibiting gene expression – for example in gene therapy. The inventive ribozymes can also be used for producing muteins and nuclease–resistant ribonucleic acids, for example ribonuclease–resistant "antisense" oligonucleotides.

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein in vitro–Selektionsverfahren, mit dem Ribozyme selektiert werden können, die 2'–OH–Gruppen von Ribonucleinsäuren in trans kovalent modifizieren können. Die vorliegende Erfindung betrifft außerdem Ribozyme, die durch dieses Verfahren erhältlich sind. Außerdem betrifft die vorliegende Erfindung diese enthaltende Arzneimittel, die vorzugsweise zur Hemmung der Genexpression – beispielsweise in der Gentherapie – verwendet werden können. Die erfingungsgemäßen Ribozyme können darüber hinaus zur Herstellung von Muteinen und nucleaseresistenten Ribonucleinsäuren – beispielsweise ribonucleaseresistenten "Antisense"–Oligonucleotide – verwendet werden.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland			TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun			PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter nal Application No
PCT/EP 99/00181

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 C12N15/11 C12Q1/68 C12N9/00 C12N15/86 A61K31/70
//C12N15/52

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 6 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)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ILLANGASEKARE M ET AL: "AMINOACYL-RNA SYNTHESIS CATALYZED BY AN RNA" SCIENCE, vol. 267, 3 February 1995 (1995-02-03), pages 643-647, XP002044710 ISSN: 0036-8075 the whole document ---	1-22
A	LORSCH J R ET AL: "IN VITRO EVOLUTION OF NEW RIBOZYMES WITH POLYNUCLEOTIDE KINASE ACTIVITY" NATURE, vol. 371, 1 September 1994 (1994-09-01), pages 31-36, XP002044711 ISSN: 0028-0836 cited in the application the whole document ---	1-22

-/--

[X] 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	Date of mailing of the international search report
20 July 1999	03/08/1999

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
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	Andres, S

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter nal Application No
PCT/EP 99/00181

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication.where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	IBBA M : "STRATEGIES FOR IN-VITRO AND IN-VIVO TRANSLATION WITH NON-NATURAL AMINO-ACIDS" BIOTECHNOLOGY & GENETIC ENGINEERING REVIEWS, (1996) VOL. 13, PP. 197-216., XP002109693 page 204 - page 210 ---	21,22
A	PAN, T.: "Novel and variant ribozymes obtained through in vitro selection" CURRENT OPINION IN CHEMICAL BIOLOGY, vol. 1, 1997, pages 17-25, XP002109694 page 21 - page 22 ---	1
A	HAGER, A. ET AL.: "Ribozymes : aiming at RNA replication and protein synthesis" CHEMISTRY AND BIOLOGY., vol. 3, September 1996 (1996-09), pages 717-725, XP002104957 ISSN: 1074-5521 page 722, right-hand column, paragraph 3 - page 723, right-hand column, line 19 ---	1
P,X	JENNE A ET AL: "A novel ribozyme with ester transferase activity" CHEMISTRY & BIOLOGY, VOL. 5, NO. 1, PP. 23-34.,15 January 1998 (1998-01-15), XP002109695 the whole document -----	1-14

1

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internales Aktenzeichen
PCT/EP 99/00181

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 C12N15/11 C12Q1/68 C12N9/00 C12N15/86 A61K31/70
//C12N15/52

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

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 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)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	ILLANGASEKARE M ET AL: "AMINOACYL-RNA SYNTHESIS CATALYZED BY AN RNA" SCIENCE, Bd. 267, 3. Februar 1995 (1995-02-03), Seiten 643-647, XP002044710 ISSN: 0036-8075 das ganze Dokument ---	1-22
A	LORSCH J R ET AL: "IN VITRO EVOLUTION OF NEW RIBOZYMES WITH POLYNUCLEOTIDE KINASE ACTIVITY" NATURE, Bd. 371, 1. September 1994 (1994-09-01), Seiten 31-36, XP002044711 ISSN: 0028-0836 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument ---	1-22

-/--

[X] 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
"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
20. Juli 1999	03/08/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter
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	Andres, S

1

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internales Aktenzeichen
PCT/EP 99/00181

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	IBBA M : "STRATEGIES FOR IN-VITRO AND IN-VIVO TRANSLATION WITH NON-NATURAL AMINO-ACIDS" BIOTECHNOLOGY & GENETIC ENGINEERING REVIEWS, (1996) VOL. 13, PP. 197-216., XP002109693 Seite 204 - Seite 210 ---	21,22
A	PAN, T.: "Novel and variant ribozymes obtained through in vitro selection" CURRENT OPINION IN CHEMICAL BIOLOGY, Bd. 1, 1997, Seiten 17-25, XP002109694 Seite 21 - Seite 22 ---	1
A	HAGER, A. ET AL.: "Ribozymes : aiming at RNA replication and protein synthesis" CHEMISTRY AND BIOLOGY., Bd. 3, September 1996 (1996-09), Seiten 717-725, XP002104957 ISSN: 1074-5521 Seite 722, rechte Spalte, Absatz 3 - Seite 723, rechte Spalte, Zeile 19 ---	1
P,X	JENNE A ET AL: "A novel ribozyme with ester transferase activity" CHEMISTRY & BIOLOGY, VOL. 5, NO. 1, PP. 23-34.,15. Januar 1998 (1998-01-15), XP002109695 das ganze Dokument -----	1-14

1