

(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  
11. April 2002 (11.04.2002)

PCT

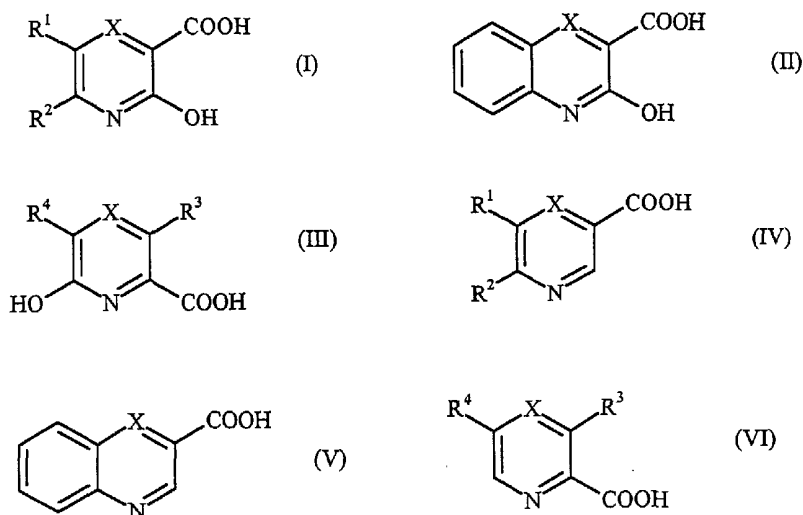
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 02/029021 A3

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C12N 9/06, 15/53, 15/31, C07K 14/21, 14/195, C12N 1/21, C12P 17/12, C07D 213/80, 241/24, 487/04
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): LONZA AG [CH/CH]; Münchensteinerstrasse 38, CH-4052 Basel (CH).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/11624
- (72) Erfinder; und
- (22) Internationales Anmeldedatum: 8. Oktober 2001 (08.10.2001)
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MARILLEY, Laurent [CH/CH]; Mont-Noble 32, CH-3960 Sierre (CH). SCHRÄDER, Thomas [DE/DE]; Bernhardstrasse 2, 06110 Halle (DE). THIEMER, Barbara [DE/DE]; Ammendorferweg 55, 06128 Halle (DE). ANDEREESSEN, Jan, R. [DE/DE]; Ringstrasse 2, 06120 Lieskan (DE). BURGDORF, Knut [DE/CH]; Gassa 5, CH-3911 Ried-Brig (CH). TINSCHERT, Andreas [DE/CH]; Kronengasse 4, CH-3900 Brig (CH). HAAS, Dieter [CH/CH]; Les Epis d'Or, CH-1036 Sullens (CH). ZIMMERMANN, Thomas [DE/CH]; Furkastrasse 9, CH-3904 Naters (CH).
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
- |            |                               |    |
|------------|-------------------------------|----|
| 00121806.4 | 6. Oktober 2000 (06.10.2000)  | EP |
| 00122543.2 | 16. Oktober 2000 (16.10.2000) | EP |
| 01116247.6 | 4. Juli 2001 (04.07.2001)     | EP |

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: BIOTECHNOLOGICAL METHOD FOR PREPARING CARBOXYLIC ACIDS WITH A HYDROXY-NITROGEN HETEROCYCLE

(54) Bezeichnung: BIOTECHNOLOGISCHES VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON HYDROXY-STICKSTOFF-HETEROCYCLUS-CARBONSÄUREN



(57) Abstract: The invention relates to a novel enzyme that has 6-methyl nicotinic-2-dehydrogenase-activity, to a nucleotide sequence encoding said enzyme, and to novel methods for producing carboxylic acids with a hydroxy-nitrogen heterocycle of the general formulae (I), (II), (III) or the salts thereof, wherein R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> and R<sup>4</sup> are the same or different and represent a hydrogen atom, a halogen atom, an alkyl group, an aryl group, an arylalkyl group, a heteroaryl group or a carboxylic acid group, and X is a nitrogen atom or CR<sup>5</sup>, wherein R<sup>5</sup> represents a hydrogen or halogen atom. The substrate used is a carboxylic acid with a nitrogen heterocycle of the general formulae (IV), (V), (VI) or a salt thereof, wherein R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> and R<sup>4</sup> and X are defined as above. The method according to the invention is carried out with the isolated polypeptide/enzyme, using genetically engineered microorganisms, or using wild strains of the genus *Ralstonia/Burkholderia*.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]



WO 02/029021 A3



(74) **Anwälte:** RITTHALER, Wolfgang usw.; Winter Brandl Fürniss Hübner Röss Kaiser Polte Partnerschaft, Alois-Steinecker-Strasse 22, 85354 Freising (DE).

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).

(81) **Bestimmungsstaaten (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, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

**Veröffentlicht:**

- mit internationalem Recherchenbericht
- mit Angaben über hinterlegtes biologisches Material, eingereicht gemäss Regel 13bis, getrennt von der Beschreibung

(88) **Veröffentlichungsdatum des internationalen**

**Recherchenberichts:** 19. September 2002

(84) **Bestimmungsstaaten (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,

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.

(57) **Zusammenfassung:** Beschrieben wird ein neues Enzym mit 6-Methylnicotinsäure-2-dehydrogenase-Aktivität, eine Nucleotidsequenz, die für dieses Enzym codiert, sowie neue Verfahren zur Herstellung von Hydroxy-Stickstoff-Heterocyclus-Carbonsäuren der allgemeinen Formeln (I), (II), (III) oder deren Salzen, worin R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> und R<sup>4</sup> gleich oder verschieden sind und ein Wasserstoffatom, ein Halogenatom, eine Alkylgruppe, eine Arylgruppe, eine Arylalkylgruppe, eine Heteroarylgruppe oder eine Carbonsäuregruppe bedeuten und X ein Stickstoffatom oder CR<sup>5</sup>, worin R<sup>5</sup> ein Wasserstoff- oder Halogenatom ist, bedeutet, wobei als Substrat eine Stickstoff-Heterocyclus-Carbonsäure der allgemeinen Formeln (IV), (V), (VI) oder ein Salz davon, worin R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> und R<sup>4</sup> und X die genannte Bedeutung haben, eingesetzt wird. Das Verfahren wird mit dem isolierten Polypeptid/Enzym, mittels gentechnologisch veränderter Mikroorganismen, oder mittels "Wildstämmen" der Gattung *Ralstonia/Burkholderia* durchgeführt.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No  
 PCT/EP 01/11624

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER					
IPC 7	C12N9/06 C12N1/21	C12N15/53 C12P17/12	C12N15/31 C07D213/80	C07K14/21 C07D241/24	C07K14/195 C07D487/04
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 C07K C12P C07D					
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, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBL					
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT					
Category <sup>o</sup>	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.			
X	DATABASE BIOSIS [Online] BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; February 2000 (2000-02) TINSCHERT A ET AL: "Novel regioselective hydroxylations of pyridine carboxylic acids at position C2 and pyrazine carboxylic acids at position C3." Database accession no. PREV200000136729 XP002193702	1-12,14			
Y	abstract & APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY., vol. 53, no. 2, February 2000 (2000-02), pages 185-195, ISSN: 0175-7598 --- -/--	13,14			
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.			
<sup>o</sup> 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			
26 April 2002		14-05-2002			
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  Douschan, K			

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No  
 PCT/EP 01/11624

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 559 116 A (LONZA AG) 8 September 1993 (1993-09-08) cited in the application	1-12,14
Y	the whole document	13,14
X	--- DATABASE BIOSIS [Online] BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; February 2000 (2000-02) TINSCHERT A ET AL: "Novel regioselective hydroxylations of pyridine carboxylic acids at position C2 and pyrazine carboxylic acids at position C3." Database accession no. PREV200000136729 XP002193703	1-12,14
Y	abstract & APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY., vol. 53, no. 2, February 2000 (2000-02), pages 185-195, ISSN: 0175-7598	13,14
Y	--- EP 0 484 908 A (LONZA AG) 13 May 1992 (1992-05-13) page 5, line 19 - line 23	13,14
Y	--- EP 0 477 829 A (LONZA AG) 1 April 1992 (1992-04-01) page 5, line 25 - line 36	13,14
Y	--- EP 0 529 653 A (LONZA AG) 3 March 1993 (1993-03-03) page 2, line 37 - line 40	13,14
A	--- DATABASE EMBL [Online] PRO:AE004652, 1 September 2000 (2000-09-01) XP002193704 abstract	6-11
A	--- DATABASE EMBL [Online] PRO:MTV036, 20 February 1998 (1998-02-20) XP002193705 abstract	5,7-11
A	--- DATABASE EMBL [Online] GSS:P181L, 17 March 2000 (2000-03-17) XP002193706 abstract	5,7-11
A	--- DATABASE EMBL [Online] PRO:U80806, 6 January 1999 (1999-01-06) XP002193707 abstract	5,7-11
	--- -/--	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 01/11624

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DATABASE EMBL [Online] SWALL:Q59129, 1 November 1996 (1996-11-01) XP002193708 abstract	1-4,7-11
A	--- DATABASE EMBL [Online] SWALL:Q59127, 1 November 1996 (1996-11-01) XP002193709 abstract	1-4,7-11
A	--- DATABASE EMBL [Online] SWALL:087682, 1 November 1998 (1998-11-01) XP002193710 abstract -----	1-4,7-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP01/11624

**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.: **2. Claims Nos.: 1-5, 7, 9, 10 (all partially)**  
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:  
  
**See supplemental sheet FURTHER INFORMATION PCT/ISA/210**
  
- 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:

**See supplemental 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 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.:

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

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/210

The International Searching Authority found that this International Application contains several inventions or groups of inventions, as follows:

1. Claims Nos.: 1-2 and 14 (part.)

Enzyme having 6-methyl nicotinic-2-dehydrogenase activity, polypeptides that form subunits of said enzyme, DNA encoding said enzyme or said polypeptides, vectors in which said DNA is inserted, microorganisms that are transformed with said DNA or said vectors, and methods for producing hydroxy-nitrogen heterocycle carboxylic acids using said enzyme or said polypeptides or recombinant microorganisms.

2. Claims Nos.: 13 and 14 (part.)

Use of known microorganisms of the genus *Ralstonia*/*Burkholderia* for producing hydroxy-nitrogen heterocycle carboxylic acids under defined process parameters.

## FURTHER INFORMATION PCT/ISA/210

Continuation of box I.2

Claims Nos.: 1-5, 7, 9, 10 (all partially)

Present patent claims 1-5, 7, 9, and 10 relate to a disproportionately large number of possible compounds/products that lack any definition whatsoever.

The terms "fragments or derivatives of ... said sequences with amino acid deletions, substitutions, insertions, inversions, additions and/or exchanges" and the completely undefined term "fragment" used in the claims comprise so many possible choices, modifications, possible permutations and/or limitations that they lack clarity and/or conciseness under Art. 6 PCT to such an extent that a meaningful search seems impossible.

For this reason, the search was restricted to those parts of the claims that seemed to be clear and concise according to the above mentioned terms, i.e. those parts of claims 1-5, 7, 9 and 10 and claims 6, 8, 11, 12 and 14 that relate to clearly defined peptide/nucleic acid sequences of SEQ ID Nos. 1-6 and 15, or to microorganisms containing said genetic information or the use thereof in a method according to claims 12 and 14.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). EPO policy, when acting as an International Preliminary Examining Authority, is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case, irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report (Article 19 PCT) or during any Chapter II procedure whereby the applicant provides new claims.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Intel International Application No

PCT/EP 01/11624

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date			
EP 559116	A	08-09-1993	AT 153698 T 15-06-1997			
			CA 2091005 A1 05-09-1993			
			CN 1077748 A 27-10-1993			
			CZ 9300272 A3 19-01-1994			
			DE 59306547 D1 03-07-1997			
			DK 559116 T3 16-06-1997			
			EP 0559116 A2 08-09-1993			
			ES 2101887 T3 16-07-1997			
			GR 3024286 T3 31-10-1997			
			JP 6199797 A 19-07-1994			
			KR 274205 B1 15-12-2000			
			LT 377 A ,B 15-06-1994			
			LV 10504 A ,B 20-02-1995			
			RU 2122029 C1 20-11-1998			
			SK 13793 A3 06-10-1993			
			US 5306630 A 26-04-1994			
			US 5364940 A 15-11-1994			
			EP 484908	A	13-05-1992	CA 2055125 A1 09-05-1992
						CS 9103364 A3 13-05-1992
						EP 0484908 A2 13-05-1992
FI 915231 A 09-05-1992						
JP 4365494 A 17-12-1992						
SK 278491 B6 09-07-1997						
US 5173412 A 22-12-1992						
US 5266482 A 30-11-1993						
EP 477829	A	01-04-1992	AT 124449 T 15-07-1995			
			CA 2052063 A1 26-03-1992			
			CS 9102824 A3 15-04-1992			
			DE 59105850 D1 03-08-1995			
			DK 477829 T3 14-08-1995			
			EP 0477829 A2 01-04-1992			
			ES 2073636 T3 16-08-1995			
			FI 914477 A 26-03-1992			
			JP 3193412 B2 30-07-2001			
			JP 4335884 A 24-11-1992			
			SK 278514 B6 06-08-1997			
			US 5229278 A 20-07-1993			
			US 5284767 A 08-02-1994			
			EP 529653	A	03-03-1993	AT 144554 T 15-11-1996
CA 2077133 A1 01-03-1993						
CZ 279296 B6 12-04-1995						
DE 59207418 D1 28-11-1996						
DK 529653 T3 18-11-1996						
EP 0529653 A2 03-03-1993						
ES 2093156 T3 16-12-1996						
JP 5252968 A 05-10-1993						
MX 9204902 A1 01-05-1993						
SK 266092 A3 04-02-1998						
US 5238829 A 24-08-1993						

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

In. ionales Aktenzeichen

PCT/EP 01/11624

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES					
IPK 7	C12N9/06	C12N15/53	C12N15/31	C07K14/21	C07K14/195
	C12N1/21	C12P17/12	C07D213/80	C07D241/24	C07D487/04
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK					
B. RECHERCHIERTE GEBIETE					
Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)					
IPK 7 C12N C07K C12P C07D					
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, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBL					
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN					
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile				Betr. Anspruch Nr.
X	DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; Februar 2000 (2000-02) TINSCHERT A ET AL: "Novel regioselective hydroxylations of pyridine carboxylic acids at position C2 and pyrazine carboxylic acids at position C3." Database accession no. PREV200000136729 XP002193702				1-12,14
Y	Zusammenfassung & APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY., Bd. 53, Nr. 2, Februar 2000 (2000-02), Seiten 185-195, ISSN: 0175-7598				13,14
	---				--- -/--
<input checked="" type="checkbox"/>	Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen				<input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :			*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		
*A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist			*X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden		
*E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist			*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		
*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)			*&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
*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 dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist					
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche			Absendedatum des internationalen Recherchenberichts		
26. April 2002			14-05-2002		
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  Douschan, K		

5

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

In. onales Aktenzeichen

PCT/EP 01/11624

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 0 559 116 A (LONZA AG) 8. September 1993 (1993-09-08) in der Anmeldung erwähnt	1-12,14
Y	das ganze Dokument	13,14
X	--- DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; Februar 2000 (2000-02) TINSCHERT A ET AL: "Novel regioselective hydroxylations of pyridine carboxylic acids at position C2 and pyrazine carboxylic acids at position C3." Database accession no. PREV200000136729 XP002193703	1-12,14
Y	Zusammenfassung & APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY., Bd. 53, Nr. 2, Februar 2000 (2000-02), Seiten 185-195, ISSN: 0175-7598	13,14
Y	--- EP 0 484 908 A (LONZA AG) 13. Mai 1992 (1992-05-13) Seite 5, Zeile 19 - Zeile 23	13,14
Y	--- EP 0 477 829 A (LONZA AG) 1. April 1992 (1992-04-01) Seite 5, Zeile 25 - Zeile 36	13,14
Y	--- EP 0 529 653 A (LONZA AG) 3. März 1993 (1993-03-03) Seite 2, Zeile 37 - Zeile 40	13,14
A	--- DATABASE EMBL 'Online! PRO:AE004652, 1. September 2000 (2000-09-01) XP002193704 Zusammenfassung	6-11
A	--- DATABASE EMBL 'Online! PRO:MTV036, 20. Februar 1998 (1998-02-20) XP002193705 Zusammenfassung	5,7-11
A	--- DATABASE EMBL 'Online! GSS:P181L, 17. März 2000 (2000-03-17) XP002193706 Zusammenfassung	5,7-11
A	--- DATABASE EMBL 'Online! PRO:U80806, 6. Januar 1999 (1999-01-06) XP002193707 Zusammenfassung	5,7-11
	--- -/--	



INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

internationales Aktenzeichen  
PCT/EP 01/11624

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. 1-5,7,9,10(alle teilweise)  
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  
siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210
  
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:

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: 1-12 und 14tw.

Enzym mit 6-Methylnicotinsäure-2-dehydrogenase-Aktivität, Polypeptide, die die Untereinheiten dieses Enzyms bilden, DNA, welche für dieses Enzym bzw. die Polypeptide codiert, Vektoren, in denen diese DNA inseriert ist, Mikroorganismen, die mit dieser DNA oder den Vektoren transformiert sind, sowie Verfahren zur Herstellung von Hydroxy-Stickstoff-Heterocyclus-Carbonsäuren unter Verwendung des besagten Enzyms bzw. der Polypeptide bzw. rekombinanten Mikroorganismen.

2. Anspruch : 13 und 14tw.

Verwendung von bekannten Mikroorganismen der Gattung *Ralstonia/Burkholderia* zur Herstellung von Hydroxy-Stickstoff-Heterocyclus-Carbonsäuren unter bestimmten Verfahrensparametern.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 1-5,7,9,10(alle teilweise)

Die geltenden Patentansprüche 1-5,7,9 und 10 beziehen sich auf eine unverhältnismäßig große Zahl möglicher Verbindungen/Produkte, die obendrein noch völlig undefiniert sind.

Die Ausdrücke "Fragmente oder Derivate dieser ..sequenzen mit Aminosäuredeletionen, -substitutionen, -insertionen, -inversionen, -additionen und/oder -austauschen" sowie der völlig undefinierte Ausdruck "Fragment" in den Ansprüchen umfassen so viele Wahlmöglichkeiten, Veränderungen, mögliche Permutationen und/oder Einschränkungen, daß sie im Sinne von Art. 6 PCT in einem solchen Maße unklar und/oder zu weitläufig gefasst erscheinen, als daß sie eine sinnvolle Recherche unmöglich machen.

Daher wurde die Recherche auf die Teile der Patentansprüche gerichtet, die als klar und knapp gefaßt gelten können, nämlich auf Teile der Ansprüche 1-5, 7, 9 und 10 sowie die Ansprüche 6,8,11,12 und 14, sofern sie sich auf genau definierte Peptid-/Nucleinsäuresequenzen der SEQ IDs No. 1-6 und 15 beziehen, bzw. Mikroorganismen enthaltend diese genetische Information bzw. deren Verwendung in einem Verfahren gemäss den Ansprüchen 12 und 14.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/11624

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
EP 559116	A	08-09-1993	AT	153698 T	15-06-1997
			CA	2091005 A1	05-09-1993
			CN	1077748 A	27-10-1993
			CZ	9300272 A3	19-01-1994
			DE	59306547 D1	03-07-1997
			DK	559116 T3	16-06-1997
			EP	0559116 A2	08-09-1993
			ES	2101887 T3	16-07-1997
			GR	3024286 T3	31-10-1997
			JP	6199797 A	19-07-1994
			KR	274205 B1	15-12-2000
			LT	377 A ,B	15-06-1994
			LV	10504 A ,B	20-02-1995
			RU	2122029 C1	20-11-1998
			SK	13793 A3	06-10-1993
			US	5306630 A	26-04-1994
			US	5364940 A	15-11-1994
EP 484908	A	13-05-1992	CA	2055125 A1	09-05-1992
			CS	9103364 A3	13-05-1992
			EP	0484908 A2	13-05-1992
			FI	915231 A	09-05-1992
			JP	4365494 A	17-12-1992
			SK	278491 B6	09-07-1997
			US	5173412 A	22-12-1992
			US	5266482 A	30-11-1993
EP 477829	A	01-04-1992	AT	124449 T	15-07-1995
			CA	2052063 A1	26-03-1992
			CS	9102824 A3	15-04-1992
			DE	59105850 D1	03-08-1995
			DK	477829 T3	14-08-1995
			EP	0477829 A2	01-04-1992
			ES	2073636 T3	16-08-1995
			FI	914477 A	26-03-1992
			JP	3193412 B2	30-07-2001
			JP	4335884 A	24-11-1992
			SK	278514 B6	06-08-1997
			US	5229278 A	20-07-1993
			US	5284767 A	08-02-1994
			EP 529653	A	03-03-1993
CA	2077133 A1	01-03-1993			
CZ	279296 B6	12-04-1995			
DE	59207418 D1	28-11-1996			
DK	529653 T3	18-11-1996			
EP	0529653 A2	03-03-1993			
ES	2093156 T3	16-12-1996			
JP	5252968 A	05-10-1993			
MX	9204902 A1	01-05-1993			
SK	266092 A3	04-02-1998			
US	5238829 A	24-08-1993			