

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP2007/051675

International filing date: 21 February 2007 (21.02.2007)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: DE
Number: 10 2006 008 030.0
Filing date: 21 February 2006 (21.02.2006)

Date of receipt at the International Bureau: 15 May 2007 (15.05.2007)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland

EP07/51675



**Prioritätsbescheinigung
DE 10 2006 008 030.0
über die Einreichung einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 10 2006 008 030.0

Anmeldetag: 21. Februar 2006

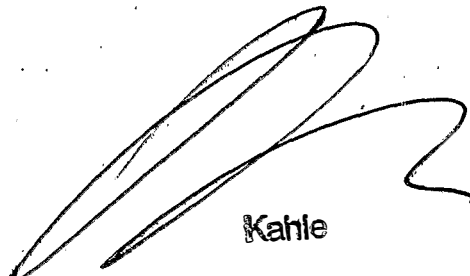
Anmelder/Inhaber: BASF Plant Science GmbH, 67056 Ludwigshafen/DE

Bezeichnung: Verfahren zur Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren

IPC: C 12 N 15/29

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 21. September 2006
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag



Kahle

A 9161
03/00

München · Hamburg · Düsseldorf
New York

Patentanwälte
Dr. Walter Maiwald (München)
Dr. Volker Hamm (Hamburg)
Dr. Stefan Michalski (Düsseldorf)
Dr. Regina Neufelnd LL.M. (München)
Dipl.-Ing. Korbinian Kopf, M.A. (München)
Dipl.-Ing. Luiz Kietzmann LL.M. (Düsseldorf)
Dr. Norbert Hansen (München)
Dr. Martin Huenges (München)
Dr. Holger Glas LL.M. (München)
Dr. Vera Tiefbrunner (München)
Dr. Sigrid von Krosigk (Hamburg)
Dipl.-Ing. Ulrich Mägerlein (München)
Dr. Andreas Dilg (München)
Dr. Eva Ehlich (München)
Dr. Dirk Bühler (München)
Dr. Şenay Has-Becker (Hamburg)
Dr. Jens Sebastian (Düsseldorf)
Dr. Sonja Althausen (Düsseldorf)
Dr. Aloys Hüttermann (Düsseldorf)
Dr. Rüdiger Haeusler (München)
Dipl.-Ing. Corinna Wedmann (Düsseldorf)
Dr. Alexander Wittkopp (Hamburg)

Rechtsanwälte
Stephan N. Schneller (München)
Matthias Gottschalk, MBA (München)

Aktenzeichen
Neuanmeldung

Unser Zeichen
B 8012 / RN

München,
21. Februar 2006

BASF Plant Science GmbH

BPS - A30, 67056 Ludwigshafen, Deutschland

Verfahren zur Herstellung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Eicosapentaensäure, Docosapentaensäure und/oder Docosahexaensäure in transgenen Pflanzen, indem in der Pflanze bereitgestellt werden mindestens eine Nukleinsäuresequenz, welche für ein Polypeptid mit einer $\Delta 6$ -Desaturase-Aktivität kodiert; mindestens eine Nukleinsäuresequenz, welche für ein Polypeptid mit einer $\Delta 6$ -Elongase-Aktivität kodiert; mindestens eine Nukleinsäuresequenz, welche für ein Polypeptid mit einer $\Delta 5$ -Desaturase-Aktivität kodiert; und mindestens eine Nukleinsäuresequenz, welche für ein Polypeptid mit einer $\Delta 5$ -Elongase-Aktivität kodiert,

RN:LA:uh

Kontakt: Postfach 330523 · 80065 München · Elisenhof · Elisenstrasse 3 · 80335 München · Tel. +49 (0)89 74 72 660 · Fax +49 (0)89 77 64 24
<http://www.maiwald.de> · info@maiwald.de
Geschäftsführer: Dr. W. Maiwald · Dr. V. Hamm · Dr. S. Michalski · Dr. R. Neufelnd · Dipl.-Ing. L. Kietzmann · Dipl.-Ing. K. Kopf · Dr. N. Hansen · Dr. H. Glas · Dr. M. Huenges · HRB Nr. 111207

wobei die Nukleinsäuresequenz, welche für ein Polypeptid mit einer $\Delta 5$ -Elongase-Aktivität kodiert, gegenüber der Nukleinsäuresequenz in dem Organismus, aus dem die Sequenz stammt, dadurch verändert ist, dass sie an die Kodonverwendung in einer oder mehreren Pflanzenarten angepasst ist.

In einer bevorzugten Ausführungsform werden zusätzlich weitere Nukleinsäuresequenzen, die für ein Polypeptid mit der Aktivität einer $\omega 3$ -Desaturase und/oder einer $\Delta 4$ -Desaturase kodieren, in der Pflanze bereitgestellt.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform werden weitere Nukleinsäuresequenzen, die für Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP(= acyl carrier protein)-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferase(n), Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylenasen, Lipoxygenasen, Triacylglycerol-Lipasen, Allenoxid-Synthasen, Hydroperoxid-Lyasen oder Fettsäure-Elongase(n) kodieren, in der Pflanze bereitgestellt.

Die Erfindung betrifft weiterhin rekombinante Nukleinsäuremoleküle, umfassend mindestens eine Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit einer $\Delta 6$ -Desaturase-Aktivität kodiert; mindestens eine Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit einer $\Delta 5$ -Desaturase-Aktivität kodiert; mindestens eine Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit einer $\Delta 6$ -Elongase-Aktivität kodiert; und mindestens eine Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit einer $\Delta 5$ -Elongase-Aktivität kodiert und die gegenüber der Nukleinsäuresequenz in dem Organismus, aus dem die Sequenz stammt, dadurch verändert ist, dass sie an die Kodonverwendung in einer oder mehreren Pflanzenarten angepasst ist.

Ein weiterer Teil der Erfindung betrifft Öle, Lipide und/oder Fettsäuren, die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt wurden, und deren Verwendung.

Schließlich betrifft die Erfindung auch transgene Pflanzen, die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellt wurden oder die ein erfindungsgemäßes rekombinantes Nukleinsäuremolekül enthalten, und deren Verwendung als Nahrungs- oder Futtermittel.

Die Lipidsynthese lässt sich in zwei Abschnitte unterteilen: die Synthese von Fettsäuren und ihre Bindung an sn-Glycerin-3-Phosphat sowie die Addition oder Modifikation einer polaren Kopfgruppe. Übliche Lipide, die in Membranen verwendet werden, umfassen Phospholipide, Glycolipide, Sphingolipide und Phosphoglyceride. Die Fettsäuresynthese beginnt mit der Umwandlung von Acetyl-CoA in Malonyl-CoA durch die Acetyl-CoA-Carboxylase oder in Acetyl-ACP durch die Acetyltransacylase. Nach einer Kondensationsreaktion bilden diese beiden Produktmoleküle zusammen Acetoacetyl-ACP, das über eine Reihe von Kondensations-, Reduktions- und Dehydratisierungsreaktionen umgewandelt wird, so dass ein gesättigtes Fettsäuremolekül mit der gewünschten Kettenlänge erhalten wird. Die Produktion der ungesättigten Fettsäuren aus diesen Molekülen wird durch spezifische Desaturasen katalysiert, und zwar entweder aerob mittels molekularem Sauerstoff oder anaerob (bezüglich der Fettsäuresynthese in Mikroorganismen siehe F.C. Neidhardt et al. (1996) *E. coli* und *Salmonella*. ASM Press: Washington, D.C., S. 612-636 und darin enthaltene Literaturstellen; Lengeler et al. (Hrsgb.) (1999) *Biology of Prokaryotes*. Thieme: Stuttgart, New York, und die enthaltene Literaturstellen, sowie Magnuson, K., et al. (1993) *Microbiological Reviews* 57:522-542 und die enthaltenen Literaturstellen). Die so hergestellten an Phospholipide gebundenen Fettsäuren müssen anschließend für die weiteren Elongationen aus den Phospholipiden wieder in den FettsäureCoA-Ester-Pool überführt werden. Dies ermöglichen Acyl-CoA:Lysophospholipid-Acyltransferasen. Weiterhin können diese Enzyme die elongierten Fettsäuren wieder von den CoA-Estern auf die Phospholipide übertragen. Diese Reaktionsabfolge kann gegebenenfalls mehrfach durchlaufen werden.

Explore Litigation Insights

Docket Alarm provides insights to develop a more informed litigation strategy and the peace of mind of knowing you're on top of things.

Real-Time Litigation Alerts



Keep your litigation team up-to-date with **real-time alerts** and advanced team management tools built for the enterprise, all while greatly reducing PACER spend.

Our comprehensive service means we can handle Federal, State, and Administrative courts across the country.

Advanced Docket Research



With over 230 million records, Docket Alarm's cloud-native docket research platform finds what other services can't. Coverage includes Federal, State, plus PTAB, TTAB, ITC and NLRB decisions, all in one place.

Identify arguments that have been successful in the past with full text, pinpoint searching. Link to case law cited within any court document via Fastcase.

Analytics At Your Fingertips



Learn what happened the last time a particular judge, opposing counsel or company faced cases similar to yours.

Advanced out-of-the-box PTAB and TTAB analytics are always at your fingertips.

API

Docket Alarm offers a powerful API (application programming interface) to developers that want to integrate case filings into their apps.

LAW FIRMS

Build custom dashboards for your attorneys and clients with live data direct from the court.

Automate many repetitive legal tasks like conflict checks, document management, and marketing.

FINANCIAL INSTITUTIONS

Litigation and bankruptcy checks for companies and debtors.

E-DISCOVERY AND LEGAL VENDORS

Sync your system to PACER to automate legal marketing.