

(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  
6. März 2003 (06.03.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 03/018826 A3**

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **C12P 19/42**, (81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, C12N 15/52, 1/21, C12R 1/11 CU, CZ, 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, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/09272
- (22) Internationales Anmeldedatum:  
20. August 2002 (20.08.2002)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:  
101 41 132.4 22. August 2001 (22.08.2001) DE  
101 50 359.8 11. Oktober 2001 (11.10.2001) DE
- (71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): **BASF AKTIENGESELLSCHAFT** [DE/DE]; 67056 Ludwigshafen (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): **KÜNKEL, Andreas** [DE/DE]; Julius-Wilde-Strasse 3, 67434 Neustadt (DE). **MARTENS, Jan-Henning** [DE/DE]; Beethovenstrasse 2, 38106 Braunschweig (DE). **JAHN, Dieter** [DE/DE]; In den Schönen Morgen 14, 38300 Wölfenbüttel (DE). **BARG, Heiko** [DE/DE]; Wendenmaschstrasse 12, 38114 Braunschweig (DE). **WARREN, Martin** [GB/GB]; 29 New Road, Twyford, Berkshire RG10 9PS (GB).
- (74) Anwalt: **FITZNER, Uwe**; Lintorfer Strasse 10, 40878 Ratingen (DE).
- (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Veröffentlicht:**  
— mit internationalem Recherchenbericht  
— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen
- (88) Veröffentlichungsdatum des internationalen  
Recherchenberichts: 13. November 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 03/018826 A3**

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING VITAMIN B12

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON VITAMIN B12

(57) Abstract: The invention relates to a method for producing vitamin B12 using Bacillus megaterium.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Vitamin B12 mittels Bacillus megaterium.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 02/09272

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12P19/42 C12N15/52 C12N1/21 C12R1/11

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 C12P C12R

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, FSTA, SEQUENCE SEARCH

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HANSSON M ET AL: "THE BACILLUS-SUBTILIS HEM-AXCDBL GENE CLUSTER WHICH ENCODES ENZYMES OF THE BIOSYNTHETIC PATHWAY FROM GLUTAMATE TO UROPORPHYRINOGEN III" JOURNAL OF BACTERIOLOGY, vol. 173, no. 8, 1991, pages 2590-2599, XP009015921 ISSN: 0021-9193 the whole document	8-14
X	PETRICEK M ET AL: "CLONING AND CHARACTERIZATION OF THE HEM-A REGION OF THE BACILLUS-SUBTILIS CHROMOSOME" JOURNAL OF BACTERIOLOGY, vol. 172, no. 5, 1990, pages 2250-2258, XP009015987 ISSN: 0021-9193 the whole document	8-14
	-/--	

 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.
- \*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

4 September 2003

Date of mailing of the international search report

24/09/2003

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

Giebeler, K

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In Application No

PCT/EP 02/09272

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>JOHANSSON PER ET AL: "Organization of genes for tetrapyrrole biosynthesis in Gram-positive bacteria." MICROBIOLOGY (READING), vol. 145, no. 3, March 1999 (1999-03), pages 529-538, XP002251928 ISSN: 1350-0872 the whole document</p>	8-14
A	<p>RAUX EVELYNE ET AL: "Cobalamin (vitamin B12) biosynthesis: Functional characterization of the Bacillus megaterium cbi genes required to convert uroporphyrinogen III into cobyrinic acid a,c-diamide." BIOCHEMICAL JOURNAL, vol. 335, no. 1, 1 October 1998 (1998-10-01), pages 167-173, XP002250672 ISSN: 0264-6021 the whole document</p>	1-14
A	<p>RAUX EVELYNE ET AL: "Cobalamin (vitamin B12) biosynthesis: Identification and characterization of a Bacillus megaterium cbi operon." BIOCHEMICAL JOURNAL, vol. 335, no. 1, 1 October 1998 (1998-10-01), pages 159-166, XP002250675 ISSN: 0264-6021 the whole document</p>	1-14
A	<p>RAUX EVELYNE ET AL: "Vitamin B12: Insights into biosynthesis's mount improbable." BIOORGANIC CHEMISTRY, vol. 27, no. 2, April 1999 (1999-04), pages 100-118, XP002250673 ISSN: 0045-2068 page 107, paragraph 2 -page 108, paragraph 2</p>	1-14
A	<p>VARY P S: "PRIME TIME FOR BACILLUS MEGATERIUM" MICROBIOLOGY, SOCIETY FOR GENERAL MICROBIOLOGY, READING, GB, vol. 140, no. 5, 1994, pages 1001-1013, XP008020501 ISSN: 1350-0872 cited in the application the whole document</p>	1-14

-/--

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int      nal Application No  
PCT/EP 02/09272

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2 576 932 A (KOSUKE IJICHI ET AL) 4 December 1951 (1951-12-04) the whole document ---	1-14
A	YE ET AL: "Efficient Production of Vitamin B12 from Propionic Acid Bacteria under Periodic Variation of Dissolved Oxygen Concentration" JOURNAL OF FERMENTATION AND BIOENGINEERING, SOCIETY OF FERMENTATION TECHNOLOGY, JP, vol. 82, no. 5, 1996, pages 484-491, XP002105067 ISSN: 0922-338X the whole document ---	1-14
A	WO 99 67356 A (GIST BROCADES BV ;JORE JOHANNES PETRUS MARIA (NL); LUIJK NICOLE VA) 29 December 1999 (1999-12-29) page 23, line 17 -page 25, line 17 -----	1-14

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/09272

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12P19/42 C12N15/52 C12N1/21 C12R1/11

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

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12P C12R

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, FSTA, SEQUENCE SEARCH

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	HANSSON M ET AL: "THE BACILLUS-SUBTILIS HEM-AXCDBL GENE CLUSTER WHICH ENCODES ENZYMES OF THE BIOSYNTHETIC PATHWAY FROM GLUTAMATE TO UROPORPHYRINOGEN III" JOURNAL OF BACTERIOLOGY, vol. 173, no. 8, 1991, Seiten 2590-2599, XP009015921 ISSN: 0021-9193 Das Ganzes Dokument --- -/--	8-14

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- |  |   |
|--|---|
| <p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> | <p>"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</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"&amp;" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p> |
|--|---|

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche <b>04. September 2003</b>	Absenddatum des internationalen Recherchenberichts <b>24. Oktober 2003</b>
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde 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 Telefaxnr.	Bevollmächtigter Bediensteter  <b>Giebeler, K</b>  Telefonnr.

C (Fortsetzung). ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>PETRICEK M ET AL: "CLONING AND CHARACTERIZATION OF THE HEM-A REGION OF THE BACILLUS-SUBTILIS CHROMOSOME" JOURNAL OF BACTERIOLOGY, vol. 172, no. 5, 1990, <b>Seiten</b> 2250-2258, XP009015987 ISSN: 0021-9193 <b>Das Ganze Dokument</b></p> <p style="text-align: center;">---</p>	8-14
X	<p>JOHANSSON PER ET AL: "Organization of genes for tetrapyrrole biosynthesis in Gram-positive bacteria." MICROBIOLOGY (READING), vol. 145, no. 3, März 1999 (1999-03), <b>Seiten</b> 529-538, XP002251928 ISSN: 1350-0872 <b>Das Ganze Dokument</b></p> <p style="text-align: center;">---</p>	8-14
A	<p>RAUX EVELYNE ET AL: "Cobalamin (vitamin B12) biosynthesis: Functional characterization of the Bacillus megaterium cbi genes required to convert uroporphyrinogen III into cobyrinic acid a,c-diamide." BIOCHEMICAL JOURNAL, vol. 335, no. 1, 1. Oktober 1998 (1998-10-01), <b>Seiten</b> 167-173, XP002250672 ISSN: 0264-6021 <b>Das Ganze Dokument</b></p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-14
A	<p>RAUX EVELYNE ET AL: "Cobalamin (vitamin B12) biosynthesis: Identification and characterization of a Bacillus megaterium cobI operon." BIOCHEMICAL JOURNAL, vol. 335, no. 1, 1. Oktober 1998 (1998-10-01), <b>Seiten</b> 159-166, XP002250675 ISSN: 0264-6021 <b>Das Ganze Dokument</b></p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-14
A	<p>RAUX EVELYNE ET AL: "Vitamin B12: Insights into biosynthesis's mount improbable." BIOORGANIC CHEMISTRY, vol. 27, no. 2, April 1999 (1999-04), <b>Seiten</b> 100-118, XP002250673 ISSN: 0045-2068 <b>Seite</b> 107, <b>Abschnitt</b> 2 - <b>Seite</b> 108, <b>Abschnitt</b> 2</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1-14
	-/--	

C (Fortsetzung). ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	VARY P S: "PRIME TIME FOR BACILLUS MEGATERIUM" MICROBIOLOGY, SOCIETY FOR GENERAL MICROBIOLOGY, READING, GB, vol. 140, no. 5, 1994, <b>Seiten</b> 1001-1013, XP008020501 ISSN: 1350-0872 <b>In Der Anmeldung Erwahrt</b> <b>Das Ganze Dokument</b> ----	1-14
A	US 2 576 932 A (KOSUKE IJICHI ET AL) 4. December 1951 (1951-12-04) <b>Das Ganze Dokument</b> ----	1-14
A	YE ET AL: "Efficient Production of Vitamin B12 from Propionic Acid Bacteria under Periodic Variation of Dissolved Oxygen Concentration" JOURNAL OF FERMENTATION AND BIOENGINEERING, SOCIETY OF FERMENTATION TECHNOLOGY, JP, vol. 82, no. 5, 1996, <b>Seiten</b> 484-491, XP002105067 ISSN: 0922-338X <b>Das Ganze Dokument</b> ----	1-14
A	WO 99 67356 A (GIST BROCADES BV ;JORE JOHANNES PETRUS MARIA (NL); LUIJK NICOLE VA) 29. Dezember 1999 (1999-12-29) <b>Seite</b> 23, <b>Zeile</b> 17 - <b>Seite</b> 25, <b>Zeile</b> 17 -----	1-14