

(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
28. März 2002 (28.03.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/24917 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12N 15/77.
15/68

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/10805

(22) Internationales Anmeldedatum:
19. September 2001 (19.09.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
100 46 870.5 20. September 2000 (20.09.2000) 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): **POMPEJUS, Markus**
[DE/DE]; Wenjenstr. 21, 67251 Freinsheim (DE).
SCHRÖDER, Hartwig [DE/DE]; Benzstr. 4, 69226 Nus-
sloch (DE). **KRÖGER, Burkhard** [DE/DE]; Im Waldhof
1, 67117 Limburgerhof (DE). **ZELDER, Oskar** [DE/DE];
Franz-Stützel-Str. 8, 67346 Speyer (DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: **BASF AKTIENGE-
SELLSCHAFT**; 67056 Ludwigshafen (DE).

(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.

(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,
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).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen
eintreffen

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: 27. Juni 2002

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 02/24917 A3

(54) Title: METHOD FOR MODIFYING THE GENOME OF CORYNEBACTERIA

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR VERÄNDERUNG DES GENOMS VON CORYNEBAKTERIEN

(57) Abstract: The invention relates to a method for producing corynebacteria that contain one or more modified genomic sequences, characterized by using a vector that does not replicate in corynebacteria and whose nucleic acid is not recognized as foreign by the corynebacteria.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Corynebakterien enthaltend eine oder mehrere geänderte genomische Sequenzen, wobei ein in Corynebakterien nicht replizierender Vektor verwendet wird, dessen Nukleinsäure von Corynebakterien nicht als fremd erkannt wird.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In tional Application No

PCT/EP 01/10805

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12N15/77 C12N15/68

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)

IPC 7 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, PAJ, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SCHAEFER A ET AL: "The Corynebacterium glutamicum cglIM gene encoding a 5-cytosine methyltransferase enzyme confers a specific DNA methylation pattern in an McrBC-deficient Escherichia coli strain." GENE, (1997 DEC 12) 203 (2) 95-101 , XP001056557 cited by the applicant page 100	1-10
X	US 5 683 900 A (BRIGGS ROBERT E ET AL) 4 November 1997 (1997-11-04) column 4, line 21 - line 41 column 10, line 11 - line 22 example 4	1-10

☒ 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.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 March 2002

Date of mailing of the international search report

24/04/2002

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

Kurz, B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 01/10805

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DONAHUE, J. P. ET AL.: "Overcoming the restriction barrier to plasmid transformation of Helicobacter pylori" MOL. MICROBIOLOGY, vol. 37, no. 5, 30 August 2000 (2000-08-30), pages 1066-1074, XP002194559 the whole document ---	1-10
A	KIM, Y. H., LEE, H-S.: "Site-specific disruption of glyoxylate bypass and its effect in lysine-producing Corynebacterium lactofermentum strain" J. MICROBIOL. BIOTECHNOL., vol. 6, no. 5, 1996, pages 315-320, XP002194560 cited by the applicant the whole document ---	1-10
A	DESOMER J ET AL: "ILLEGITIMATE INTEGRATION OF NON-REPLICATIVE VECTORS IN THE GENOME OF RHODOCOCCUS-FASCIANS UPON ELECTROTRANSFORMATION AS AN INSERTIONAL MUTAGENESIS SYSTEM" MOLECULAR MICROBIOLOGY, vol. 5, no. 9, 1991, pages 2115-2124, XP002194561 ISSN: 0950-382X the whole document ---	1-10
A	DUNICAN L K ET AL: "HIGH FREQUENCY TRANSFORMATION OF WHOLE CELLS OF AMINO ACID PRODUCING CORYNEFORM BACTERIA USING HIGH VOLTAGE ELECTROPORATION" BIO/TECHNOLOGY, NATURE PUBLISHING CO. NEW YORK, US, vol. 7, no. 10, 1 October 1989 (1989-10-01), pages 1067-1070, XP000054648 ISSN: 0733-222X the whole document ---	1-10
A	WO 92 02627 A (CNRS) 20 February 1992 (1992-02-20) page 2, line 1 - line 6 -----	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

In International Application No

PCT/EP 01/10805

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5683900	A	04-11-1997	US 5587305 A	24-12-1996
			AT 213778 T	15-03-2002
			AU 692817 B2	18-06-1998
			AU 1303195 A	27-06-1995
			CA 2177734 A1	15-06-1995
			EP 1149587 A2	31-10-2001
			EP 0733114 A1	25-09-1996
			WO 9516045 A1	15-06-1995
			US 5693777 A	02-12-1997
			US 5733780 A	31-03-1998
			US 5849305 A	15-12-1998
			US 5824525 A	20-10-1998
WO 9202627	A	20-02-1992	FR 2665711 A1	14-02-1992
			AU 646886 B2	10-03-1994
			AU 8442391 A	02-03-1992
			BR 9105857 A	29-09-1992
			CA 2067240 A1	09-02-1992
			CN 1061624 A	03-06-1992
			EP 0495078 A1	22-07-1992
			FI 921527 A	07-04-1992
			WO 9202627 A1	20-02-1992
			HU 63656 A2	28-09-1993
			IE 912791 A1	12-02-1992
			JP 5502797 T	20-05-1993
			MX 9100560 A1	01-04-1992
			NZ 239309 A	27-07-1993
			PT 98602 A ,B	31-08-1992
			ZA 9106216 A	29-04-1992

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Ir. ationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/10805

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N15/77 C12N15/68

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

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 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, PAJ, BIOSIS

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	SCHAEFER A ET AL: "The Corynebacterium glutamicum cglIM gene encoding a 5-cytosine methyltransferase enzyme confers a specific DNA methylation pattern in an McrBC-deficient Escherichia coli strain." GENE, (1997 DEC 12) 203 (2) 95-101 , XP001056557 vom Anmelder zitiert Seite 100	1-10
X	US 5 683 900 A (BRIGGS ROBERT E ET AL) 4. November 1997 (1997-11-04) Spalte 4, Zeile 21 - Zeile 41 Spalte 10, Zeile 11 - Zeile 22 Beispiel 4	1-10



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

27. März 2002

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

24/04/2002

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

Kurz, B

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DONAHUE, J. P. ET AL.: "Overcoming the restriction barrier to plasmid transformation of Helicobacter pylori" MOL. MICROBIOLOGY, Bd. 37, Nr. 5, 30. August 2000 (2000-08-30), Seiten 1066-1074, XP002194559 das ganze Dokument ---	1-10
A	KIM, Y. H., LEE, H-S.: "Site-specific disruption of glyoxylate bypass and its effect in lysine-producing Corynebacterium lactofermentum strain" J. MICROBIOL. BIOTECHNOL., Bd. 6, Nr. 5, 1996, Seiten 315-320, XP002194560 vom Anmelder zitiert das ganze Dokument ---	1-10
A	DESOMER J ET AL: "ILLEGITIMATE INTEGRATION OF NON-REPLICATIVE VECTORS IN THE GENOME OF RHODOCOCCUS-FASCIANS UPON ELECTROTRANSFORMATION AS AN INSERTIONAL MUTAGENESIS SYSTEM" MOLECULAR MICROBIOLOGY, Bd. 5, Nr. 9, 1991, Seiten 2115-2124, XP002194561 ISSN: 0950-382X das ganze Dokument ---	1-10
A	DUNICAN L K ET AL: "HIGH FREQUENCY TRANSFORMATION OF WHOLE CELLS OF AMINO ACID PRODUCING CORYNEFORM BACTERIA USING HIGH VOLTAGE ELECTROPORATION" BIO/TECHNOLOGY, NATURE PUBLISHING CO. NEW YORK, US, Bd. 7, Nr. 10, 1. Oktober 1989 (1989-10-01), Seiten 1067-1070, XP000054648 ISSN: 0733-222X das ganze Dokument ---	1-10
A	WO 92 02627 A (CNRS) 20. Februar 1992 (1992-02-20) Seite 2, Zeile 1 - Zeile 6 -----	1-10

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

In internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/10805

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5683900 A	04-11-1997	US 5587305 A	24-12-1996
		AT 213778 T	15-03-2002
		AU 692817 B2	18-06-1998
		AU 1303195 A	27-06-1995
		CA 2177734 A1	15-06-1995
		EP 1149587 A2	31-10-2001
		EP 0733114 A1	25-09-1996
		WO 9516045 A1	15-06-1995
		US 5693777 A	02-12-1997
		US 5733780 A	31-03-1998
		US 5849305 A	15-12-1998
		US 5824525 A	20-10-1998
WO 9202627 A	20-02-1992	FR 2665711 A1	14-02-1992
		AU 646886 B2	10-03-1994
		AU 8442391 A	02-03-1992
		BR 9105857 A	29-09-1992
		CA 2067240 A1	09-02-1992
		CN 1061624 A	03-06-1992
		EP 0495078 A1	22-07-1992
		FI 921527 A	07-04-1992
		WO 9202627 A1	20-02-1992
		HU 63656 A2	28-09-1993
		IE 912791 A1	12-02-1992
		JP 5502797 T	20-05-1993
		MX 9100560 A1	01-04-1992
		NZ 239309 A	27-07-1993
		PT 98602 A ,B	31-08-1992
		ZA 9106216 A	29-04-1992