

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成24年2月16日(2012.2.16)

【公表番号】特表2011-507532(P2011-507532A)

【公表日】平成23年3月10日(2011.3.10)

【年通号数】公開・登録公報2011-010

【出願番号】特願2010-539945(P2010-539945)

【国際特許分類】

C 12 N 1/19 (2006.01)

C 12 P 7/16 (2006.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 12 N	1/19	
C 12 P	7/16	Z N A
C 12 N	15/00	A

【手続補正書】

【提出日】平成23年12月21日(2011.12.21)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

イソブタノールを産生する組換え微生物であって、

(a) ピルビン酸をイソブタノールに変換する経路を触媒する酵素をコードする異種遺伝子を少なくとも1つ含むイソブタノール産生代謝経路を発現するように、微生物を操作する工程と、

(b) 親微生物と比較して、ピルビン酸脱炭酸酵素(PDC)活性が低下するように微生物を操作する工程と、

を含む方法によって得られる組換え微生物。

【請求項2】

前記組換え微生物は、少なくとも1つのピルビン酸脱炭酸酵素(PDC)遺伝子に変異を含み、その結果、該遺伝子にコードされるポリペプチドのピルビン酸脱炭酸酵素活性が低下している、請求項1に記載の組換え微生物。

【請求項3】

前記組換え微生物は、ピルビン酸脱炭酸酵素(PDC)遺伝子に部分的な欠失を含み、その結果、該遺伝子にコードされるポリペプチドのピルビン酸脱炭酸酵素活性が低下している、請求項1に記載の組換え微生物。

【請求項4】

前記組換え微生物は、ピルビン酸脱炭酸酵素(PDC)遺伝子の完全な欠失を含み、その結果、該遺伝子にコードされるポリペプチドのピルビン酸脱炭酸酵素活性が低下している、請求項1に記載の組換え微生物。

【請求項5】

前記組換え微生物は、少なくとも1つのピルビン酸脱炭酸酵素(PDC)遺伝子に関連した調節領域の変更を含み、その結果、該遺伝子にコードされるポリペプチドのピルビン酸脱炭酸酵素活性が低下している、請求項1に記載の組換え微生物。

【請求項6】

前記組換え微生物は、転写制御因子の改変を含み、その結果、ピルビン酸脱炭酸酵素（PDC）遺伝子の転写が低下している、請求項1に記載の組換え微生物。

【請求項7】

前記組換え微生物は、すべてのピルビン酸脱炭酸酵素（PDC）遺伝子に変異を含み、その結果、該遺伝子にコードされるポリペプチドのピルビン酸脱炭酸酵素活性が低下している、請求項1に記載の組換え微生物。

【請求項8】

前記組換え微生物は、PDC活性を変化させることなく、親微生物の増殖速度と実質的に同じ増殖速度で、C2化合物とは無関係に、グルコース上で増殖するように、さらに操作されている、請求項1から7のいずれか1項に記載の組換え微生物。

【請求項9】

前記微生物がクラブトリー陰性酵母微生物である、請求項1から8のいずれか1項に記載の組換え微生物。

【請求項10】

前記クラブトリー陰性酵母微生物が、クルイベロミセス属、ピキア属、イッサトケンキア属、ハンゼヌラ属、およびカンジダ属のうちの1つから選択される、請求項9に記載の組換え微生物。

【請求項11】

前記クラブトリー陰性酵母微生物が、クルイベロミセス・ラクチス、クルイベロミセス・マルキシアヌス、ピキア・アノマラ、ピキア・スチピチス、I.オリエンタリス、I.オシデンタリス、I.スクツラタ、ハネンスラ・アノマラ、カンジダ・ウチリス、およびクルイベロミセス・ワルチイから選択される、請求項9に記載の組換え微生物。

【請求項12】

前記微生物がサッカロミセス・クラデの酵母である、請求項1から8のいずれか1項に記載の組換え微生物。

【請求項13】

前記微生物がサッカロミセス・センスストリクト酵母である、請求項1から8のいずれか1項に記載の組換え微生物。

【請求項14】

前記サッカロミセス・センスストリクト酵母微生物が、S.セレビシエ、S.セレビシエ、S.クドリアブゼビイ、S.ミカタエ、S.バヤヌス、S.ウバルム、S.カロカニス、およびこれらの種のハイブリッドから選択される、請求項13に記載の組換え微生物。

【請求項15】

前記微生物がクラブトリー陽性酵母微生物である、請求項1から8のいずれか1項に記載の組換え微生物。

【請求項16】

前記クラブトリー陽性酵母微生物が、サッカロミセス属、クルイベロミセス属、ジゴサッカロミセス属、デバリオミセス属、ピキア属、およびシゾサッカロミセス属のうちの1つから選択される、請求項15に記載の組換え微生物。

【請求項17】

前記クラブトリー陽性酵母微生物が、サッカロミセス・セレビシエ、サッカロミセス・ウバルム、サッカロミセス・バヤヌス、サッカロミセス・パラドキサス、サッカロミセス・カステリ、サッカロミセス・クルイベリ、クルイベロミセス・サーモトレランス、カンジダ・グラブラタ、Z.バイリ、Z.ロウキシイ、デバリオミセス・ハンセニイ、ピキア・パストリウス、シゾサッカロミセス・ポンベ、およびサッカロミセス・ウバルムから選択される、請求項15に記載の組換え微生物。

【請求項18】

前記微生物がWGD（全ゲノム重複）後酵母である、請求項1から8のいずれか1項に記載の組換え微生物。

**【請求項 19】**

前記 W G D (全ゲノム重複) 後酵母が、サッカロミセス属、およびカンジダ属のうちの1つから選択される、請求項18に記載の組換え微生物。

**【請求項 20】**

前記 W G D 後酵母が、サッカロミセス・セレビシエ、サッカロミセス・ウバルム、サッカロミセス・バヤヌス、サッカロミセス・パラドキサス、サッカロミセス・カステリ、およびカンジダ・グラブラタから選択される、請求項18に記載の組換え微生物。

**【請求項 21】**

前記微生物が W G D (全ゲノム重複) 前酵母である、請求項1から8のいずれか1項に記載の組換え微生物。

**【請求項 22】**

前記 W G D 前酵母が、サッカロミセス属、クルイベロミセス属、カンジダ属、ピキア属、デバリオミセス属、ハンゼヌラ属、イッサトケンキア属、ヤロウィア属、およびシゾサッカロミセス属のうちの1つから選択される、請求項21に記載の組換え微生物。

**【請求項 23】**

前記 W G D 前酵母が、サッカロミセス・クルイベリ、クルイベロミセス・サーモトレラنس、クルイベロミセス・マルキシアヌス、クルイベロミセス・ワルチイ、クルイベロミセス・ラクチス、カンジダ・トロピカリス、ピキア・パストリス、ピキア・アノマラ、ピキア・スチビチス、デバリオミセス・ハンセニイ、H.アノマラ、I.オリエンタリス、I.オシデンタリス、I.スクツラタ、ヤロウィア・リポリチカ、およびシゾサッカロミセス・ポンベから選択される、請求項21に記載の組換え微生物。

**【請求項 24】**

前記微生物が非発酵酵母微生物である、請求項1から8のいずれか1項に記載の組換え微生物。

**【請求項 25】**

前記非発酵酵母微生物が、トリコスポロン属、ロドトルラ属、およびミキソチマ属のうちの1つから選択される、請求項24に記載の組換え微生物。

**【請求項 26】**

前記非発酵酵母微生物が、トリコスポロン・プルランス、ロドトルラ・リグノフィラ、ミキソチマ・バンデルワルチイ、カンジダ・エタノリカ、デバリオミセス・カルソニイ、およびピキア・カスチラエから選択される、請求項24に記載の組換え微生物。

**【請求項 27】**

前記微生物が、グリセロール-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GPD) 活性が低下するように、さらに操作されている、請求項1から26のいずれか1項に記載の組換え微生物。

**【請求項 28】**

イソブタノールを產生する方法であつて、  
(a) 請求項1から27のいずれか1項に記載の組換え微生物を提供する工程と、  
(b) 前記組換え微生物を、炭素原を提供する供給原料を含む培地で、回収可能な量のイソブタノールが產生されるまで培養する工程と、  
(c) 前記イソブタノールを回収する工程と、  
を含む方法。