

【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12月6日(2012.12.6)

【公表番号】特表2012-506716(P2012-506716A)

【公表日】平成24年3月22日(2012.3.22)

【年通号数】公開・登録公報2012-012

【出願番号】特願2011-534730(P2011-534730)

【国際特許分類】

C 12 P 13/06 (2006.01)

【F I】

C 12 P 13/06 A

【手続補正書】

【提出日】平成24年10月16日(2012.10.16)

【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】

a d h E 遺伝子、 p t a 遺伝子、 p o x B 遺伝子、 p p c 遺伝子、または d h K 遺伝子のうちの1つまたはそれ以上の破壊、

外因性シトロバクターフロインディ(Citrobacter freundii) d h a K L 遺伝子、および

外因性アクチノバチルスサクシノゲネス(Actinobacillus succinogenes) p c k A 遺伝子

を含む、大腸菌株。

【請求項2】

過剰発現される g l d A 遺伝子または過剰発現される d h a K L M オペロン、 f r d A、 f r d B、 f r d C、または f r d D 遺伝子のうちの少なくとも1つの破壊、および

p t a 遺伝子の破壊または p o x B 遺伝子の破壊を含む、大腸菌株。

【請求項3】

過剰発現される g l d A 遺伝子または過剰発現される d h a K L M オペロン、および a d h E 遺伝子、 p t a 遺伝子、 p o x B 遺伝子； f r d A 遺伝子、 f r d B 遺伝子、 f r d C 遺伝子、または f r d D 遺伝子のうちの1つまたはそれ以上の破壊を含む、大腸菌株。

【請求項4】

代謝産物を生成するための細菌を培養する方法であって、

a. 代謝産物を生成することができる細菌を用いて、供給原料としてグリセロールを含む培養培地を接種するステップと、

b. 前記グリセロールを代謝産物に変換するために前記反応器中で、20mg O₂ / L / 時の微好気性であるが、好気性でも嫌気性でもない条件下で、前記細菌を育てるステップであって、グリセロールの前記代謝産物への変換は、代謝により生成される量より多く還元当量を消費しない、ステップと、

を含む、方法。

【請求項5】

前記細菌は、 p t a、 f r d A、ならびに過剰発現される g l d A および d h a K L

Mを含む大腸菌である、請求項4に記載の方法。

【請求項 6】

前記代謝産物は、エタノール、乳酸、コハク酸、プロピオン酸、アラニン、およびこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項4に記載の方法。

【請求項 7】

前記代謝産物は、エタノール、乳酸、プロピオン酸、コハク酸、プロピオン酸、アラニン、およびこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項4に記載の方法。

【請求項 8】

微生物内で還元炭素源から酸化還元中性または酸化した化学製品を製造するための方法であって、

電子受容体が、それらが提供される速度と少なくとも同じ速度で消費される速度で、前記微生物に電子受容体を提供することと、

前記酸化還元中性または酸化した生成物および少なくともいくつかの細胞集団が、前記還元炭素源から生じ、前記還元炭素源が、前記細胞集団よりもさらに還元されるように、前記微生物の供給原料として前記還元炭素源を提供することと、を含み、

前記還元炭素源の前記還元化学製品への変換のための還元バランスの度合いは、ゼロ以上であり、炭素源の細胞集団への変換のための還元バランスの度合いは、ゼロを超える、方法。

【請求項 9】

前記還元炭素源はグリセロールを含む、請求項8に記載の方法。

【請求項 10】

前記酸化還元中性または酸化した化学製品は、アルコール、有機酸、アミノ酸、またはラクトンを含む、請求項8に記載の方法。

【請求項 11】

前記酸化還元中性または酸化した化学製品は、コハク酸、プロピオン酸、エタノール、乳酸、またはアラニンを含む、請求項8に記載の方法。

【請求項 12】

前記電子受容体は、大気、酸素、硝酸、亜硝酸、またはこれらの組み合わせを含む、請求項8に記載の方法。

【請求項 13】

前記電子受容体は、1時間当たり細胞集団1グラムにつき酸素1ミリグラムから1時間当たり細胞集団1グラムにつき酸素15ミリグラムの範囲内の速度で、前記微生物に提供される、請求項11に記載の方法。

【請求項 14】

前記微生物は、エシェリキア属、バシラス属、パエニバチルス属、またはサッカロミセス属に属する、請求項8に記載の方法。

【請求項 15】

前記化学製品は、コハク酸を含み、前記微生物は、

a) アセチル-C_oAのエタノールへの変換に関する遺伝子の破壊、アセチル-C_oAのアセチル-リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の酢酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の乳酸への変換に関する遺伝子の破壊、ホスホエノールピルビン酸のオキサロ酢酸への変換に関する遺伝子の破壊、ジヒドロキシアセトンのジヒドロキシアセトン-リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸のアセチル-C_oAへの変換に関する遺伝子の破壊、ホスホエノールピルビン酸のピルビン酸への変換に関する遺伝子の破壊、グリセロールのジヒドロキシアセトンへの変換に関する遺伝子の破壊、グリセロール-3-リン酸のジヒドロキシアセトン-リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、グリセロールのグリセロール-3-リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ジヒドロキシアセトン-リン酸のメチルグリオキサールへの変換に関する遺伝子の破壊、および

b) ジヒドロキシアセトンのジヒドロキシアセトン-リン酸への変換に関する酵素を発

現する外因性遺伝子であって、前記酵素は、補因子としてATPを使用し、副産物としてADPを生成する外因性遺伝子；グリセロール-3-リン酸のジヒドロキシアセトン-リン酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子であって、前記酵素は、フマル酸へ還元当量を渡す外因性遺伝子；フマル酸のコハク酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子であって、前記酵素は、グリセロール-3-リン酸の酸化からの還元当量を受容する外因性遺伝子；ピルビン酸およびCO₂のオキサロ酢酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子であって、前記酵素は、補因子としてATPを使用し、副産物としてADPを生成する外因性遺伝子；ホスホエノールピルビン酸およびCO₂のオキサロ酢酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子；ホスホエノールピルビン酸およびCO₂のオキサロ酢酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子であって、前記酵素は、補因子としてADPを使用し、副産物としてATPを生成する外因性遺伝子；または、ピルビン酸およびCO₂のリンゴ酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子であって、前記酵素は、補因子としてNADHを使用する外因性遺伝子のうちの1つまたはそれ以上を含む、請求項8に記載の方法。

【請求項16】

前記化学製品は、プロピオン酸を含み、前記微生物は、

a) アセチル-CoAのエタノールへの変換に関する遺伝子の破壊、アセチル-CoAのアセチル-リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の酢酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の乳酸への変換に関する遺伝子の破壊、ホスホエノールピルビン酸のオキサロ酢酸への変換に関する遺伝子の破壊、ジヒドロキシアセトンのジヒドロキシアセトン-リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸のアセチル-CoAへの変換に関する遺伝子の破壊、ホスホエノールピルビン酸のピルビン酸への変換に関する遺伝子の破壊、グリセロールのジヒドロキシアセトンへの変換に関する遺伝子の破壊、グリセロール-3-リン酸のジヒドロキシアセトン-リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、グリセロールのグリセロール-3-リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ジヒドロキシアセトン-リン酸のメチルグリオキサールへの変換に関する遺伝子の破壊、および

b) ジヒドロキシアセトンのジヒドロキシアセトン-リン酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子であって、前記酵素は、補因子としてATPを使用し、副産物としてADPを生成する外因性遺伝子；グリセロール-3-リン酸のジヒドロキシアセトン-リン酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子であって、前記酵素は、フマル酸へ還元当量を渡す外因性遺伝子；フマル酸のコハク酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子であって、前記酵素は、グリセロール-3-リン酸の酸化からの還元当量を受容する外因性遺伝子；ピルビン酸およびCO₂のオキサロ酢酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子であって、前記酵素は、補因子としてATPを使用し、副産物としてADPを生成する外因性遺伝子；ホスホエノールピルビン酸およびCO₂のオキサロ酢酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子；ホスホエノールピルビン酸およびCO₂のオキサロ酢酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子であって、前記酵素は、補因子としてADPを使用し、副産物としてATPを生成する外因性遺伝子；または、ピルビン酸およびCO₂のリンゴ酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子であって、前記酵素は、補因子としてNADHを使用する外因性遺伝子；スクシニル-CoAをメチルマロニル-CoAに、メチルマロニル-CoAをプロピオニル-CoAおよびCO₂に、ならびにプロピオニル-CoAおよびコハク酸をプロピオン酸およびスクシニル-CoAに変換する酵素をコードする、外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現のうちの1つまたはそれ以上を含む、請求項8に記載の方法。

【請求項17】

前記化学製品は、エタノールを含み、前記微生物は、

a) アセチル-CoAのアセチル-リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の酢酸への変換に関する遺伝子の破壊、フマル酸のコハク酸への変換に関する遺伝子の破壊、ジヒドロキシアセトンのジヒドロキシアセトン-リン酸への変換に関する遺伝

子の破壊、グリセロールのジヒドロキシアセトンへの変換に関する遺伝子の破壊、グリセロール - 3 - リン酸のジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、グリセロールのグリセロール - 3 - リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ギ酸の CO_2 および水素への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の乳酸への変換に関する遺伝子の破壊、ジヒドロキシアセトン - リン酸のメチルグリオキサールへの変換に関する遺伝子の破壊、および

b) グリセロールのジヒドロキシアセトンへの変換に関する外因性遺伝子、ジヒドロキシアセトンのジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、グリセロールのグリセロール - 3 - Pへの変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、またはグリセロール - 3 - Pのジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、ピルビン酸のアセトアルデヒドおよび CO_2 への変換に関する外因性遺伝子、ピルビン酸のアセチル - CoA、 CO_2 、および NADHへの変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、ピルビン酸のアセチル - CoA およびギ酸への変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、ギ酸の CO_2 および NADHへの変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現

のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 18】

前記化学製品は、乳酸を含み、前記微生物は、

a) アセチル - CoA のエタノールへの変換に関する遺伝子の破壊、アセチル - CoA のアセチル - リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の酢酸への変換に関する遺伝子の破壊、フマル酸のコハク酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸のアセチル - CoAへの変換に関する遺伝子の破壊、ジヒドロキシアセトン - リン酸のメチルグリオキサールへの変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の D - 乳酸への変換に関する遺伝子の破壊、および

b) グリセロールのジヒドロキシアセトンへの変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、ジヒドロキシアセトンのジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、グリセロールのグリセロール - 3 - Pへの変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、グリセロール - 3 - Pのジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、ピルビン酸の L - 乳酸もしくは D - 乳酸への変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現

のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 19】

前記化学製品は、乳酸を含み、前記微生物は、

a) アセチル - CoA のエタノールへの変換に関する遺伝子の破壊、アセチル - CoA のアセチル - リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の酢酸への変換に関する遺伝子の破壊、フマル酸のコハク酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸のアセチル - CoAへの変換に関する遺伝子の破壊、ジヒドロキシアセトン - リン酸のメチルグリオキサールへの変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の D - 乳酸への変換に関する遺伝子の破壊、および

b) グリセロールのジヒドロキシアセトンへの変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、ジヒドロキシアセトンのジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、グリセロールのグリセロール - 3 - Pへの変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、グリセロール - 3 - Pのジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、ピルビン酸のアラニンへの変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現

のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 8 に記載の方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0017

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0017】

このように生成された化学製品は、乳酸、エタノール、およびコハク酸であり得るが、これらに限定されない。

本発明は、例えば以下の項目を提供する。

(項目1)

微生物内で還元炭素源から酸化還元中性または酸化した化学製品を製造するための方法であって、

電子受容体は、それらが提供されるのと少なくとも同様に迅速に消費される速度で、前記微生物に電子受容体を提供することと、

前記酸化還元中性または酸化した生成物および少なくともいくつかの細胞集団が、前記還元炭素源から生じ、前記還元炭素源が、前記細胞集団よりもさらに還元されるように、前記微生物の供給原料として前記還元炭素源を提供することと、を含み、

前記還元炭素源の前記還元化学製品への変換のための還元バランスの度合いは、ゼロ以上であり、炭素源の細胞集団への変換のための還元バランスの度合いは、ゼロを超える、方法。

(項目2)

前記還元炭素源はグリセロールを含む、項目1に記載の方法。

(項目3)

前記酸化還元中性または酸化した化学製品は、アルコール、有機酸、アミノ酸、またはラクトンを含む、項目1に記載の方法。

(項目4)

前記酸化還元中性または酸化した化学製品は、コハク酸、プロピオン酸、エタノール、乳酸、またはアラニンを含む、項目1に記載の方法。

(項目5)

前記電子受容体は、大気、酸素、硝酸、亜硝酸、またはこれらの組み合わせを含む、項目1に記載の方法。

(項目6)

前記電子受容体は、1時間当たり細胞集団1グラムにつき酸素1ミリグラムから1時間当たり細胞集団1グラムにつき酸素15ミリグラムの範囲内の速度で、前記微生物に提供される、項目4に記載の方法。

(項目7)

前記微生物は、エシェリキア属、バシラス属、パエニバチルス属、またはサッカロミセス属に属する、項目1に記載の方法。

(項目8)

前記化学製品は、コハク酸を含み、前記微生物は、

a) アセチル-C_oAのエタノールへの変換に関する遺伝子の破壊、アセチル-C_oAのアセチル-リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の酢酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の乳酸への変換に関する遺伝子の破壊、ホスホエノールピルビン酸のオキサロ酢酸への変換に関する遺伝子の破壊、ジヒドロキシアセトンのジヒドロキシアセトン-リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸のアセチル-C_oAへの変換に関する遺伝子の破壊、ホスホエノールピルビン酸のピルビン酸への変換に関する遺伝子の破壊、グリセロールのジヒドロキシアセトンへの変換に関する遺伝子の破壊、グリセロール-3-リン酸のジヒドロキシアセトン-リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、グリセロールのグリセロール-3-リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ジヒドロキシアセトン-リン酸のメチルグリオキサールへの変換に関する遺伝

子の破壊、および

b) ジヒドロキシアセトンのジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子（前記酵素は、補因子としてATPを使用し、副産物としてADPを生成する）、グリセロール - 3 - リン酸のジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子（前記酵素は、フマル酸へ還元当量を渡す）、フマル酸のコハク酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子（前記酵素は、グリセロール - 3 - リン酸の酸化からの還元当量を受容する）、ピルビン酸およびCO₂のオキサロ酢酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子（前記酵素は、補因子としてATPを使用し、副産物としてADPを生成する）、ホスホエノールピルビン酸およびCO₂のオキサロ酢酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子、ホスホエノールピルビン酸およびCO₂のオキサロ酢酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子（前記酵素は、補因子としてADPを使用し、副産物としてATPを生成する）、または、ピルビン酸およびCO₂のリンゴ酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子（前記酵素は、補因子としてNADHを使用する）のうちの1つまたはそれ以上を含む、項目1に記載の方法。

（項目9）

前記化学製品は、プロピオン酸を含み、前記微生物は、

a) アセチル - CoAのエタノールへの変換に関する遺伝子の破壊、アセチル - CoAのアセチル - リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の酢酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の乳酸への変換に関する遺伝子の破壊、ホスホエノールピルビン酸のオキサロ酢酸への変換に関する遺伝子の破壊、ジヒドロキシアセトンのジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸のアセチル - CoAへの変換に関する遺伝子の破壊、ホスホエノールピルビン酸のピルビン酸への変換に関する遺伝子の破壊、グリセロールのジヒドロキシアセトンへの変換に関する遺伝子の破壊、グリセロール - 3 - リン酸のジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、グリセロールのグリセロール - 3 - リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ジヒドロキシアセトン - リン酸のメチルグリオキサールへの変換に関する遺伝子の破壊、および

b) ジヒドロキシアセトンのジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子（前記酵素は、補因子としてATPを使用し、副産物としてADPを生成する）、グリセロール - 3 - リン酸のジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子（前記酵素は、フマル酸へ還元当量を渡す）、フマル酸のコハク酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子（前記酵素は、グリセロール - 3 - リン酸の酸化からの還元当量を受容する）、ピルビン酸およびCO₂のオキサロ酢酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子（前記酵素は、補因子としてATPを使用し、副産物としてADPを生成する）、ホスホエノールピルビン酸およびCO₂のオキサロ酢酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子（前記酵素は、補因子としてADPを使用し、副産物としてATPを生成する）、または、ピルビン酸およびCO₂のリンゴ酸への変換に関する酵素を発現する外因性遺伝子（前記酵素は、補因子としてNADHを使用する）、スクシニル - CoAをメチルマロニル - CoAに、メチルマロニル - CoAをプロピオニル - CoAおよびCO₂に、ならびにプロピオニル - CoAおよびコハク酸をプロピオン酸およびスクシニル - CoAに変換する酵素をコードする、外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現のうちの1つまたはそれ以上を含む、項目1に記載の方法。

（項目10）

前記化学製品は、エタノールを含み、前記微生物は、

a) アセチル - CoAのアセチル - リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の酢酸への変換に関する遺伝子の破壊、フマル酸のコハク酸への変換に関する遺伝子の破壊、ジヒドロキシアセトンのジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する遺伝

子の破壊、グリセロールのジヒドロキシアセトンへの変換に関する遺伝子の破壊、グリセロール - 3 - リン酸のジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、グリセロールのグリセロール - 3 - リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ギ酸の C O₂ および水素への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の乳酸への変換に関する遺伝子の破壊、ジヒドロキシアセトン - リン酸のメチルグリオキサールへの変換に関する遺伝子の破壊、および

b) グリセロールのジヒドロキシアセトンへの変換に関する外因性遺伝子、ジヒドロキシアセトンのジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、グリセロールのグリセロール - 3 - Pへの変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、またはグリセロール - 3 - Pのジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、ピルビン酸のアセトアルデヒドおよび C O₂ への変換に関する外因性遺伝子、ピルビン酸のアセチル - C o A、C O₂、および N A D Hへの変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、ピルビン酸のアセチル - C o A およびギ酸への変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、ギ酸の C O₂ および N A D Hへの変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現のうちの少なくとも 1 つを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 1 1)

前記化学製品は、乳酸を含み、前記微生物は、

a) アセチル - C o A のエタノールへの変換に関する遺伝子の破壊、アセチル - C o A のアセチル - リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の酢酸への変換に関する遺伝子の破壊、フマル酸のコハク酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸のアセチル - C o Aへの変換に関する遺伝子の破壊、ジヒドロキシアセトン - リン酸のメチルグリオキサールへの変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の D - 乳酸への変換に関する遺伝子の破壊、および

b) グリセロールのジヒドロキシアセトンへの変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、ジヒドロキシアセトンのジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、グリセロールのグリセロール - 3 - Pへの変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、グリセロール - 3 - Pのジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、ピルビン酸の L - 乳酸もしくは D - 乳酸への変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現のうちの少なくとも 1 つを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 1 2)

前記化学製品は、乳酸を含み、前記微生物は、

a) アセチル - C o A のエタノールへの変換に関する遺伝子の破壊、アセチル - C o A のアセチル - リン酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の酢酸への変換に関する遺伝子の破壊、フマル酸のコハク酸への変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸のアセチル - C o Aへの変換に関する遺伝子の破壊、ジヒドロキシアセトン - リン酸のメチルグリオキサールへの変換に関する遺伝子の破壊、ピルビン酸の D - 乳酸への変換に関する遺伝子の破壊、および

b) グリセロールのジヒドロキシアセトンへの変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、ジヒドロキシアセトンのジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、グリセロールのグリセロール - 3 - Pへの変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、グリセロール - 3 - Pのジヒドロキシアセトン - リン酸への変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現、ピルビン酸のアラニンへの変換に関する外因性遺伝子もしくは内在性遺伝子の過剰発現のうちの少なくとも 1 つを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 1 3)

a d h E 遺伝子、p t a 遺伝子、p o x B 遺伝子、p p c 遺伝子、または d h K 遺伝

子のうちの 1 つまたはそれ以上の破壊、

外因性シトロバクターフロインディ (*Citrobacter freundii*) dhaKL 遺伝子、および

外因性アクチノバチルスサクシノゲネス (*Actinobacillus succinogenes*) pckA 遺伝子

を含む、大腸菌株。

(項目 14)

過剰発現される *gldA* 遺伝子または過剰発現される *dhaKL* M オペロン、
frdA、*frdB*、*frdC*、または *frdD* 遺伝子のうちの少なくとも 1 つの破壊
、および

pta 遺伝子の破壊または *poxB* 遺伝子の破壊を含む、大腸菌株。

(項目 15)

過剰発現される *gldA* 遺伝子または過剰発現される *dhaKL* M オペロン、および
adhE 遺伝子、*pta* 遺伝子、*poxB* 遺伝子；*frdA* 遺伝子、*frdB* 遺伝子、
frdC 遺伝子、または *frdD* 遺伝子のうちの 1 つまたはそれ以上の破壊を含む、大腸
菌株。

(項目 16)

代謝産物を生成するための細菌を培養する方法であって、

a. 代謝産物を生成することができる細菌を用いて、供給原料としてグリセロールを含
む培養培地を接種するステップと、

b. 前記グリセロールを代謝産物に変換するために前記反応器中で、20 mg O₂
/ L / 時の微好気性であるが、好気性あるいは嫌気性でない条件下で、前記細菌を育てる
ステップであって、グリセロールの代謝産物への変換は、それが生成するよりもさらに還
元当量を消費しない、ステップと、を含む、方法。

(項目 17)

前記細菌は、*pta*、*frdA*、ならびに過剰発現される *gldA* および *dhaKL*
M を含む大腸菌である、項目 16 に記載の方法。

(項目 18)

前記代謝産物は、エタノール、乳酸、コハク酸、プロピオン酸、アラニン、およびこれら
の組み合わせからなる群から選択される、項目 16 に記載の方法。

(項目 19)

前記代謝産物は、エタノール、乳酸、プロピオン酸、コハク酸、プロピオン酸、アラニン
、およびこれらの組み合わせからなる群から選択される、項目 16 に記載の方法。