



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO



(10) Identifikator
dokumenta:

HR P20170096 T1

HR P20170096 T1

(12) **PRIJEVOD PATENTNIH ZAHTJEVA
EUROPSKOG PATENTA**

(51) MKP:

C12N 15/52 (2006.01)

C12P 7/16 (2006.01)

C12N 9/88 (2006.01)

C12N 9/04 (2006.01)

C12N 9/10 (2006.01)

(46) Datum objave prijevoda patentnih zahtjeva: 24.03.2017.

(21) Broj predmeta: P20170096T

(22) Datum podnošenja zahtjeva u HR: 20.01.2017.

(86) Broj međunarodne prijave: PCT/EP2009001191
Datum podnošenja međunarodne prijave: 19.02.2009.

(96) Broj europske prijave patenta: EP 09713531.3
Datum podnošenja europske prijave patenta: 19.02.2009.

(87) Broj međunarodne objave: WO 2009103533
Datum međunarodne objave: 27.08.2009.

(97) Broj objave europske prijave patenta: EP 2255007 A1
Datum objave europske prijave patenta: 01.12.2010.

(97) Broj objave europskog patenta: EP 2255007 B1
Datum objave europskog patenta: 02.11.2016.

(31) Broj prve prijave: 102008010121 (32) Datum podnošenja prve prijave: 20.02.2008. (33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: DE

(73) Nositelj patenta:

**Butalco GmbH, c/o Christen und Zobrist Treuhand AG, Achereggstrasse
10, 6362 Stansstad, CH**

(72) Izumitelji:

Gunter Festel, Schürmattstrasse 1, 6331 Hünenberg/Zug, CH

Eckhard Boles, Liebigstr. 65, 64293 Darmstadt, DE

Christian Weber, Jahnstr. 24, 65779 Kelkheim am Taunus, DE

Dawid Brat, Mattiaker Weg 35, 65929 Frankfurt am Main, DE

(74) Zastupnik:

PETOŠEVIĆ d.o.o., 10000 Zagreb, HR

(54) Naziv izuma:

FERMENTATIVNA PROIZVODNJA IZOBUTANOLA UZ POMOĆ KVASCA

HR P20170096 T1

PATENTNI ZAHTJEVI

1. Stanica kvasca koja proizvodi izobutanol. **naznačena time** što stanica ima povećan metabolički tijek materijala od piruvata preko acetolaktata. 2.3-dihidroksiizovalerata. 2-ketoizovalerata, izobutiraldehida do izobutanola. gdje se sve gene koji kodiraju enzime koji sudjeluju u toj pretvorbi hiperekprimira, te gdje su svi ti geni homologni s navedenom stanicom kvasca, gdje *Ilv2* s SEQ ID No. 2 katalizira acetolaktat-sintaznu reakciju iz piruvata u acetolaktat, *Ilv5* s SEQ ID No. 6 katalizira acetohidroksikiselina-reduktoizomeraznu reakciju iz acetolaktata u 2,3-dihidroksiizovalerat. *Ilv3* s SEQ ID No. 8 katalizira dihidroksikiselina-dehidrataznu reakciju iz 2.3-dihidroksiizovalerata u 2-ketoizovalerat. 2-ketokiselina-dekarboksilaza katalizira reakciju iz 2-ketoizovalerata u izobutiraldehid. a alkohol-dehidrogenaza katalizira reakciju iz izobutiraldehida u izobutanol, gdje je bilo najmanje jedan od promotora tih gena zamijenjen najmanje jednim jačim promotorom, ili su nukleinskokiselinski sljedovi tih gena pretvoreni u kodonski optimizirane alele, što se geni *ILV2*, *ILV5* i *ILV3* hiperekprimiraju bez mitohondijski ciljajućeg slijeda kod enzima acetolaktat-sintetaze. acetohidroksikiselina-reduktoizomeraze i dihidroksikiselina-dehidrataze. ili s uništenim. inaktiviranim mitohondijski ciljajućim slijedom, i što je uz eksprimiranje gena *PDC1* s SEQ ID No. 13. *PDC5* s SEQ ID No. 15 i *PDC6* s SEQ ID No. 17 smanjena odnosno isključena aktivnost kodiranih enzima.
2. Stanica kvasca u skladu s patentnim zahtjevom 1, **naznačena time** što se 2-ketokiselina-dekarboksilaza bira između najmanje jednog od enzima *Aro10* s SEQ ID No. 20 ili *Thi3* s SEQ ID No. 22.
3. Stanica kvasca u skladu s bilo kojim od patentnih zahtjeva 1 ili 2, **naznačena time** što se alkohol-dehidrogenaza bira između najmanje jednog od enzima *Adh1* s SEQ ID No. 24. *Adh2* s SEQ ID No. 26, *Adh3* s SEQ ID No. 28. *Adh4* s SEQ ID No. 30. *Adh5* s SEQ ID No. 32. *Adh6* s SEQ ID No. 34. *Adh7* s SEQ ID No. 36. *Sfal* s SEQ ID No. 38 ili *Ypr1* s SEQ ID No. 40.
4. Stanica kvasca u skladu s bilo kojim od patentnih zahtjeva 1 do 3, **naznačena time** što se sve hiperekprimirane gene hiperekprimira u kodonski optimiziranim varijantama.
5. Stanica kvasca u skladu s bilo kojim od patentnih zahtjeva 1 do 4. **naznačena time** što stanica eksprimira acetohidroksikiseina-reduktoizomerazu, s povećanom specifičnošću za NADH u usporedbi s NADPH.
6. Stanica kvasca u skladu s bilo kojim od patentnih zahtjeva 1 do 4. **naznačena time** što stanica također eksprimira fosforilativnu gliceraldehid-3-fosfat-dehidrogenazu. s povećanom specifičnošću za NADP⁺ u usporedbi s NAD⁺.
7. Stanica kvasca u skladu s patentnim zahtjevom 6. **naznačena time** što se tu NADP-gliceraldehid-3-fosfat-dehidrogenazu eksprimira u stanici kvasca kod koje nema ekspresije ili aktivnosti, ili je smanjena ekspresija ili aktivnost NAD-gliceraldehid-3-tbsfat-dehidrogenaza.
8. Stanica kvasca u skladu s bilo kojim od patentnih zahtjeva 1 do 7, **naznačena time** što se dodatno hiperekprimira protein *Ilv6* s SEQ ID No. 4. u istom staničnom odjeljku kao *Ilv2*.
9. Stanica kvasca u skladu s bilo kojim od patentnih zahtjeva 1 do 8. **naznačena time** što se stanica bira iz sljedeće skupine: *Pichia*, *Candida*, *Hansenula*, *Kluyveromices*, *Yarrowia* i *Saccharomices*.
10. Stanica kvasca u skladu s patentnim zahtjevom 9. **naznačena time** stoje stanica domaćin *Saccharomices cerevisiae*.
11. Postupak proizvodnje izobutanola uz pomoć stanica kvasca, **naznačen time** što se sastoji u osiguravanju stanice kvasca u skladu s bilo kojim od patentnih zahtjeva 1 do 10. kao i u dovođenju stanice kvasca u kontakt s fermentabilnim izvorom ugljika.