

【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26年3月13日 (2014.3.13)

【公表番号】特表2013-517796(P2013-517796A)

【公表日】平成25年5月20日 (2013.5.20)

【年通号数】公開・登録公報2013-025

【出願番号】特願2012-551203(P2012-551203)

【国際特許分類】

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 P 7/42 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 1/19

C 1 2 P 7/42

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 1 0 1

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成26年1月21日 (2014.1.21)

【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】

非天然の微生物であって、

(i) 一酸化炭素デヒドロゲナーゼまたはヒドロゲナーゼ活性および還元トリカルボン酸 (r T C A) 経路を有し、C O、C O₂またはH₂をアセチルC o Aに変換するに十分な量にて発現された r T C A 経路酵素をコードする少なくとも 1 つの外因性核酸を含み、上記 r T C A 酵素が、A T P クエン酸ーリアーゼ、クエン酸リアーゼ、アコニターゼ、クエン酸デヒドロゲナーゼ、アルファケトグルタル酸：フェレドキシンオキシドレダクターゼ、スクシニルC o A シンセターゼ、スクシニルC o A トランスフェラーゼ、フマル酸レダクターゼ、フマラーゼおよびリンゴ酸デヒドロゲナーゼからなる群より選択されるか

—

(i i) 一酸化炭素または水素から還元当量を産生するに十分な量にて発現された酵素をコードする少なくとも 1 つの外因性核酸を含むことにより還元T C A 経路を介してC O₂を固定し、上記少なくとも 1 つの外因性核酸が、一酸化炭素デヒドロゲナーゼ、ヒドロゲナーゼ、およびN A D (P) H：フェレドキシンオキシドレダクターゼから選択されるか、または

(i i i) (1) C O、(2) C O₂およびH₂、(3) C OおよびC O₂、(4) C OおよびH₂を含む合成ガス、または(5) C O、C O₂およびH₂を含む合成ガスをアセチルC o Aに変換するに十分な量にて発現された r T C A 経路酵素をコードする少なくとも 1 つの外因性核酸を含み、上記 r T C A 経路酵素が、A T P クエン酸ーリアーゼ、ク

エン酸リアーゼ、アコニターゼ、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ、アルファケトグルタル酸：フェレドキシンオキシドレダクターゼ、スクシニルC o Aシンセターゼ、スクシニルC o Aトランスフェラーゼ、フマル酸レダクターゼ、フマラーゼおよびリンゴ酸デヒドロゲナーゼからなる群より選択され、

一酸化炭素デヒドロゲナーゼ、ヒドロゲナーゼおよびN A D (P) H：フェレドキシンオキシドレダクターゼからなる群より選択される酵素を産生する還元当量をコードする少なくとも1つの外因性核酸を含む還元当量産生経路を含む、非天然の微生物。

【請求項2】

上記 (i i) または (i i i) に基づく上記微生物が、フェレドキシンをさらに含む、請求項1に記載の非天然の微生物。

【請求項3】

上記 (i) または (i i i) に基づく上記 r T C A 経路酵素が、A T P クエン酸ーリアーゼ、クエン酸リアーゼ、アルファケトグルタル酸：フェレドキシンオキシドレダクターゼ、およびフマル酸レダクターゼからなる群より選択される、請求項1に記載の非天然の微生物。

【請求項4】

上記 (i) または (i i i) に基づく上記 r T C A 経路酵素が、アコニターゼまたはイソクエン酸デヒドロゲナーゼである、請求項1に記載の非天然の微生物。

【請求項5】

(2 - ヒドロキシ - 3 - メチル - 4 - オキソブトキシ) ホスホネート経路を有する非天然の微生物であって、(2 - ヒドロキシ - 3 - メチル - 4 - オキソブトキシ) ホスホネートを産生するに十分な量にて発現された (2 - ヒドロキシ - 3 - メチル - 4 - オキソブトキシ) ホスホネート経路酵素をコードする少なくとも1つの外因性核酸を含み、

上記 (2 - ヒドロキシ - 3 - メチル - 4 - オキソブトキシ) ホスホネート経路が、2 - C - メチル - D - エリトリトール - 4 - ホスフェートデヒドラターゼを含む、非天然の微生物。

【請求項6】

請求項5に記載の非天然の微生物であって、

(i) 上記 (2 - ヒドロキシ - 3 - メチル - 4 - オキソブトキシ) ホスホネート経路が、1 - デオキシキシルロース - 5 - ホスフェートシンターゼおよび／または1 - デオキシ - D - キシルロース - 5 - ホスフェートレダクトイソメラーゼをさらに含むか、

(i i) 上記微生物が3個の外因性核酸を含み、該3個の外因性核酸の各々が (2 - ヒドロキシ - 3 - メチル - 4 - オキソブトキシ) ホスホネート経路酵素をコードするか、

(i i i) 上記微生物が3個の外因性核酸を含み、該3個の外因性核酸が、2 - C - メチル - D - エリトリトール - 4 - ホスフェートデヒドラターゼ、1 - デオキシキシルロース - 5 - ホスフェートシンターゼおよび1 - デオキシ - D - キシルロース - 5 - ホスフェートレダクトイソメラーゼをコードするか、

(i v) 上記少なくとも1つの外因性核酸が異種性の核酸であるか、または

(v) 上記微生物が実質的に嫌気性である培養媒体中にある、非天然の微生物。

【請求項7】

(2 - ヒドロキシ - 3 - メチル - 4 - オキソブトキシ) ホスホネートを製造するための条件下で (2 - ヒドロキシ - 3 - メチル - 4 - オキソブトキシ) ホスホネートを製造するに十分な期間にわたって、請求項5または6に記載の非天然の微生物を培養する工程を含む、(2 - ヒドロキシ - 3 - メチル - 4 - オキソブトキシ) ホスホネートを製造する方法。

【請求項8】

p - トルイル酸経路を有する非天然の微生物であって、p - トルイル酸を産生するに十分な量で発現された p - トルイル酸経路酵素をコードする少なくとも1つの外因性核酸を含み、

上記 p - トルイル酸経路が、2 - デヒドロ - 3 - デオキシホスホヘプトン酸シンターゼ

；3-デヒドロキネートシンターゼ；3-デヒドロキネートデヒドラターゼ；シキミ酸デヒドロゲナーゼ；シキミ酸キナーゼ；3-ホスホシキメート-2-カルボキシビニルトランスフェラーゼ；コリスメートシンターゼ；またはコリスメートリアーゼを含む、非天然の微生物。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の非天然の微生物であって、

(i) 上記微生物が 2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個または 8 個の外因性核酸を含み、該 2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個または 8 個の外因性核酸の各々が p-トルイル酸経路酵素をコードするか、

(i i) 上記微生物が 8 個の外因性核酸を含み、該 8 個の外因性核酸が、2-デヒドロ-3-デオキシホスホヘプトン酸シンターゼ；3-デヒドロキネートシンターゼ；3-デヒドロキネートデヒドラターゼ；シキミ酸デヒドロゲナーゼ；シキミ酸キナーゼ；3-ホスホシキメート-2-カルボキシビニルトランスフェラーゼ；コリスメートシンターゼ；およびコリスメートリアーゼをコードするか、

(i i i) 上記微生物が (2-ヒドロキシ-3-メチル-4-オキソプトキシ) ホスホネート経路をさらに含むか、

(i v) 上記少なくとも 1 つの外因性核酸が異種性の核酸であるか、または

(v) 上記微生物が実質的に嫌気性である培養媒体中にある、非天然の微生物。

【請求項 10】

上記 (2-ヒドロキシ-3-メチル-4-オキソプトキシ) ホスホネート経路が、2-C-メチル-D-エリトリトール-4-ホスフェートデヒドラターゼ、1-デオキシキシルロース-5-ホスフェートシンターゼおよび／または 1-デオキシ-D-キシルロース-5-ホスフェートレダクトイソメラーゼを含む、請求項 9 に記載の非天然の微生物。

【請求項 11】

p-トルイル酸を製造するための条件下で p-トルイル酸を製造するに十分な期間にわたって請求項 8 から 10 のいずれか一項に記載の非天然の微生物を培養する工程を含む、p-トルイル酸を製造する方法。

【請求項 12】

テレフタル酸経路を有する非天然の微生物であって、テレフタル酸を産生するに十分な量で発現されたテレフタル酸経路酵素をコードする少なくとも 1 つの外因性核酸を含み、

上記テレフタル酸経路が、p-トルエートメチルモノオキシゲナーゼレダクターゼ；4-カルボキシベンジルアルコールデヒドロゲナーゼ；または 4-カルボキシベンジルアルデヒドデヒドロゲナーゼを含み、

上記微生物が、p-トルイル酸経路をさらに含み、

上記 p-トルイル酸経路が、2-デヒドロ-3-デオキシホスホヘプトン酸シンターゼ；3-デヒドロキネートシンターゼ；3-デヒドロキネートデヒドラターゼ；シキミ酸デヒドロゲナーゼ；シキミ酸キナーゼ；3-ホスホシキメート-2-カルボキシビニルトランスフェラーゼ；コリスメートシンターゼ；またはコリスメートリアーゼを含む、非天然の微生物。

【請求項 13】

請求項 12 に記載の非天然の微生物であって、

(i) 上記微生物が 2 個または 3 個の外因性核酸を含み、該 2 個または 3 個の外因性核酸の各々がテレフタル酸経路酵素をコードするか、

(i i) 上記微生物が 3 個の外因性核酸を含み、該 3 個の外因性核酸が p-トルエートメチルモノオキシゲナーゼレダクターゼ；4-カルボキシベンジルアルコールデヒドロゲナーゼ；および 4-カルボキシベンジルアルデヒドデヒドロゲナーゼをコードするか、

(i i i) 上記 p-トルイル酸経路が、2-デヒドロ-3-デオキシホスホヘプトン酸シンターゼ；3-デヒドロキネートシンターゼ；3-デヒドロキネートデヒドラターゼ；シキミ酸デヒドロゲナーゼ；シキミ酸キナーゼ；3-ホスホシキメート-2-カルボキシビニルトランスフェラーゼ；コリスメートシンターゼ；およびコリスメートリアーゼを含む

か、

(i v) 上記微生物が 2－ヒドロキシ－3－メチル－4－オキソプトキシ) ホスホネート経路をさらに含むか

(v) 上記少なくとも 1 つの外因性核酸が異種性の核酸であるか、または

(v i) 上記微生物が実質的に嫌気性である培養媒体中にある、非天然の微生物。

【請求項 1 4】

上記 (i v) に基づく上記 (2－ヒドロキシ－3－メチル－4－オキソプトキシ) ホスホネート経路が、2－C－メチル－D－エリトリール－4－ホスフェートデヒドラターゼ、1－デオキシキシルロース－5－ホスフェートシンターゼおよび／または 1－デオキシ－D－キシルロース－5－ホスフェートレダクトイソメラーゼを含む、請求項 1 3 に記載の非天然の微生物。

【請求項 1 5】

テレフタル酸を製造するための条件下でテレフタル酸を製造するに十分な期間にわたって請求項 1 2 から 1 4 のいずれか一項に記載の非天然の微生物を培養する工程を含む、テレフタル酸を製造する方法。

【請求項 1 6】

上記 (2－ヒドロキシ－3－メチル－4－オキソプトキシ) ホスホネート、p－トルイル酸またはテレフタル酸を、培養物中の他の成分から分離する、請求項 7、1 1 または 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

上記分離が、抽出、連続的液体－液体抽出、浸透気化、膜濾過、膜分離、逆浸透法、電気透析、蒸留、結晶化、遠心分離、抽出濾過、イオン交換クロマトグラフィ、サイズ排除クロマトグラフィ、吸着クロマトグラフィまたは限外濾過を含む、請求項 1 6 に記載の方法

。

【請求項 1 8】

細菌、酵母または真菌である、請求項 1、5、6、8 から 1 0、1 2 から 1 4 のいずれか一項に記載の非天然の微生物。

【請求項 1 9】

(i) 請求項 5 または 6 に記載の非天然の微生物によって産生した (2－ヒドロキシ－3－メチル－4－オキソプトキシ) ホスホネート、

(i i) 請求項 8 から 1 0 のいずれか一項に記載の非天然の微生物によって産生した p－トルイル酸、または

(i i i) 請求項 1 2 から 1 4 のいずれか一項に記載の非天然の微生物によって産生したテレフタル酸、を含む、培養媒体。

【請求項 2 0】

上記非天然の微生物から分離される、請求項 1 9 に記載の培養媒体。

【請求項 2 1】

生合成された、(2－ヒドロキシ－3－メチル－4－オキソプトキシ) ホスホネート、p－トルイル酸またはテレフタル酸。

【請求項 2 2】

(i) 請求項 7 に記載の方法に基づいて産生されるか、

(i i) 請求項 1 1 に記載の方法に基づいて産生されるか、または

(i i i) 請求項 1 5 に記載の方法に基づいて産生される、生合成された (2－ヒドロキシ－3－メチル－4－オキソプトキシ) ホスホネート、p－トルイル酸またはテレフタル酸

。

【請求項 2 3】

請求項 2 1 または 2 2 に記載の生合成された (2－ヒドロキシ－3－メチル－4－オキソプトキシ) ホスホネート、p－トルイル酸またはテレフタル酸を含む、化合物、ポリマーまたは他の生成物。

【請求項 2 4】

化合物、ポリマーまたは他の生成物の製造における、請求項 2 1 または 2 2 に記載の上記生合成された（2－ヒドロキシ－3－メチル－4－オキソプトキシ）ホスホネート、p－トルイル酸またはテレフタル酸の、使用。

【請求項 2 5】

上記製造が、上記生合成された（2－ヒドロキシ－3－メチル－4－オキソプトキシ）ホスホネート、p－トルイル酸またはテレフタル酸の化学的変換を含む、請求項 2 4 に記載の使用。

【請求項 2 6】

請求項 2 4 に記載の使用であって、

（i）上記使用が上記生合成された（2－ヒドロキシ－3－メチル－4－オキソプトキシ）ホスホネートの使用であり、上記化合物、ポリマーまたは他の生成物がポリエチレンテレフタル酸、衣類、樹脂、プラスチックボトルまたは飼鳥類の飼料添加物であるか、

（i i）上記使用が上記生合成された p－トルイル酸の使用であり、上記化合物、ポリマーまたは他の生成物がテレフタル酸、ポリマーの安定剤、農薬、光感受性化合物、動物飼料サプリメントおよび他の有機化合物であるか、または

（i i i）上記使用が上記生合成されたテレフタル酸の使用であり、上記化合物、ポリマーまたは他の生成物が衣類、樹脂、プラスチックボトルまたは飼鳥類の飼料添加物である、使用。

【請求項 2 7】

（i）合成された（2－ヒドロキシ－3－メチル－4－オキソプトキシ）ホスホネートおよび請求項 5 または 6 に記載の非天然の微生物、

（i i）合成された p－トルイル酸および請求項 8 から 1 0 のいずれか一項に記載の非天然の微生物、または

（i i i）合成されたテレフタル酸および請求項 1 2 から 1 4 のいずれか一項に記載の非天然の微生物、を含む、組成物。