

【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】令和6年5月28日(2024.5.28)

【公開番号】特開2024-9996(P2024-9996A)
【公開日】令和6年1月23日(2024.1.23)
【年通号数】公開公報(特許)2024-013
【出願番号】特願2023-179025(P2023-179025)
【国際特許分類】

C 1 2 N 1/21(2006.01)

C 1 2 P 13/00(2006.01)

C 1 2 N 15/53(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 1/21

C 1 2 P 13/00 Z N A

C 1 2 N 15/53

10

【手続補正書】

【提出日】令和6年5月16日(2024.5.16)

【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】

ヘキサメチレンジアミン(HMDA)を産生するのに十分な量で発現されるHMDA経路酵素をコードする外因性の核酸のセットを含むHMDA経路を有する微生物生物体を含む、天然に存在しない微生物生物体であって、

該外因性の核酸のセットが、6-アミノカプロエートレダクターゼ；及び6-アミノカプロン酸セミアルデヒドアミノトランスフェラーゼ又は6-アミノカプロン酸セミアルデヒドオキシドレダクターゼ(アミノ化)をコードし、

該微生物生物体が、

(a) 6-アミノカプロン酸経路であって、(i) アジペートレダクターゼ、及び(ii) アジペートセミアルデヒドアミノトランスフェラーゼ、アジペートセミアルデヒドオキシドレダクターゼ(アミノ化)、6-アミノカプロエートトランスアミナーゼ、又は6-アミノカプロエートデヒドロゲナーゼを含む、前記6-アミノカプロン酸経路；並びに

(b) アジペート経路であって、スクシニル-CoA:アセチル-CoAアシルトランスフェラーゼ、3-オキソアジピル-CoA/アシル-CoAトランスフェラーゼ、3-オキソアジピル-CoAシンターゼ、3-オキソアジピル-CoAヒドロラーゼ、3-オキソアジペートレダクターゼ、3-ヒドロキシアジペートデヒドラターゼ、及び5-カルボキシ-2-ペンタノエートレダクターゼからなる群から選択される酵素を含む、前記アジペート経路を更に含む、前記天然に存在しない微生物生物体。

【請求項2】

前記外因性の核酸のセットが、少なくとも2つの外因性の核酸を含む、請求項1記載の天然に存在しない微生物生物体。

【請求項3】

前記6-アミノカプロン酸経路が、前記アジペートレダクターゼ及び前記アジペートセミアルデヒドアミノトランスフェラーゼを含む、請求項1又は2記載の天然に存在しない微生物生物体。

20

30

40

50

【請求項 4】

前記6-アミノカプロン酸経路が、前記アジペートレダクターゼ及び前記アジペートセミアルデヒドオキシドレダクターゼ(アミノ化)を含む、請求項1又は2記載の天然に存在しない微生物生物体。

【請求項 5】

前記6-アミノカプロン酸経路が、前記アジペートレダクターゼ及び前記6-アミノカプロエートトランスアミナーゼを含む、請求項1又は2記載の天然に存在しない微生物生物体。

【請求項 6】

前記6-アミノカプロン酸経路が、前記アジペートレダクターゼ及び前記6-アミノカプロエートデヒドロゲナーゼを含む、請求項1又は2記載の天然に存在しない微生物生物体。

10

【請求項 7】

前記6-アミノカプロン酸経路が、前記アジペートレダクターゼ、前記アジペートセミアルデヒドアミノトランスフェラーゼ、前記アジペートセミアルデヒドオキシドレダクターゼ(アミノ化)、前記6-アミノカプロエートトランスアミナーゼ、又は前記6-アミノカプロエートデヒドロゲナーゼをコードする少なくとも1つの外因性の核酸を含む、請求項3～6のいずれか一項記載の天然に存在しない微生物生物体。

【請求項 8】

前記6-アミノカプロン酸経路が、前記アジペートレダクターゼ、前記アジペートセミアルデヒドアミノトランスフェラーゼ、前記アジペートセミアルデヒドオキシドレダクターゼ(アミノ化)、前記6-アミノカプロエートトランスアミナーゼ、及び前記6-アミノカプロエートデヒドロゲナーゼからなる群から選択される2つの酵素をコードする少なくとも2つの外因性の核酸を含む、請求項3～6のいずれか一項記載の天然に存在しない微生物生物体。

20

【請求項 9】

前記アジペート経路が、前記スクシニル-CoA:アセチル-CoAアシルトランスフェラーゼ、前記3-オキソアジピル-CoA/アシル-CoAトランスフェラーゼ、前記3-オキソアジピル-CoAシンターゼ、前記3-オキソアジピル-CoAヒドロラーゼ、前記3-オキソアジペートレダクターゼ、前記3-ヒドロキシアジペートデヒドラターゼ、及び前記5-カルボキシ-2-ペンタノエートレダクターゼからなる群から選択される酵素をコードする少なくとも1つの外因性の核酸を含む、請求項1～8のいずれか一項記載の天然に存在しない微生物生物体。

30

【請求項 10】

前記アジペート経路が、前記スクシニル-CoA:アセチル-CoAアシルトランスフェラーゼ、前記3-オキソアジピル-CoA/アシル-CoAトランスフェラーゼ、前記3-オキソアジピル-CoAシンターゼ、前記3-オキソアジピル-CoAヒドロラーゼ、前記3-オキソアジペートレダクターゼ、前記3-ヒドロキシアジペートデヒドラターゼ、及び前記5-カルボキシ-2-ペンタノエートレダクターゼからなる群から選択される2つの酵素をコードする少なくとも2つの外因性の核酸を含む、請求項1～8のいずれか一項記載の天然に存在しない微生物生物体。

40

【請求項 11】

前記アジペート経路が、前記スクシニル-CoA:アセチル-CoAアシルトランスフェラーゼ、前記3-オキソアジピル-CoA/アシル-CoAトランスフェラーゼ、前記3-オキソアジピル-CoAシンターゼ、前記3-オキソアジピル-CoAヒドロラーゼ、前記3-オキソアジペートレダクターゼ、前記3-ヒドロキシアジペートデヒドラターゼ、及び前記5-カルボキシ-2-ペンタノエートレダクターゼからなる群から選択される3つの酵素をコードする少なくとも3つの外因性の核酸を含む、請求項1～8のいずれか一項記載の天然に存在しない微生物生物体。

【請求項 12】

50

前記アジペート経路が、前記スクシニル-CoA:アセチル-CoAアシルトランスフェラーゼ、前記3-オキソアジピル-CoA/アシル-CoAトランスフェラーゼ、前記3-オキソアジピル-CoAシンターゼ、前記3-オキソアジピル-CoAヒドロラーゼ、前記3-オキソアジペートレダクターゼ、前記3-ヒドロキシアジペートデヒドラターゼ、及び前記5-カルボキシ-2-ペンタノエートレダクターゼからなる群から選択される4つの酵素をコードする少なくとも4つの外因性の核酸を含む、請求項1～8のいずれか一項記載の天然に存在しない微生物生物体。

【請求項13】

前記アジペート経路が、前記スクシニル-CoA:アセチル-CoAアシルトランスフェラーゼ、前記3-オキソアジピル-CoA/アシル-CoAトランスフェラーゼ、前記3-オキソアジピル-CoAシンターゼ、前記3-オキソアジピル-CoAヒドロラーゼ、前記3-オキソアジペートレダクターゼ、前記3-ヒドロキシアジペートデヒドラターゼ、及び前記5-カルボキシ-2-ペンタノエートレダクターゼからなる群から選択される5つの酵素をコードする少なくとも5つの外因性の核酸を含む、請求項1～8のいずれか一項記載の天然に存在しない微生物生物体。

10

【請求項14】

前記5つの酵素が、前記スクシニル-CoA:アセチル-CoAアシルトランスフェラーゼ、前記3-オキソアジピル-CoA/アシル-CoAトランスフェラーゼ、前記3-オキソアジペートレダクターゼ、前記3-ヒドロキシアジペートデヒドラターゼ、及び前記5-カルボキシ-2-ペンタノエートレダクターゼを含む、請求項13記載の天然に存在しない微生物生物体。

20

【請求項15】

前記5つの酵素が、前記スクシニル-CoA:アセチル-CoAアシルトランスフェラーゼ、前記3-オキソアジピル-CoAシンターゼ、前記3-オキソアジペートレダクターゼ、前記3-ヒドロキシアジペートデヒドラターゼ、及び前記5-カルボキシ-2-ペンタノエートレダクターゼを含む、請求項13記載の天然に存在しない微生物生物体。

【請求項16】

前記5つの酵素が、前記スクシニル-CoA:アセチル-CoAアシルトランスフェラーゼ、前記3-オキソアジピル-CoAヒドロラーゼ、前記3-オキソアジペートレダクターゼ、前記3-ヒドロキシアジペートデヒドラターゼ、及び前記5-カルボキシ-2-ペンタノエートレダクターゼを含む、請求項13記載の天然に存在しない微生物生物体。

30

【請求項17】

少なくとも1つの外因性の核酸が、異種の核酸である、請求項1～16のいずれか一項記載の天然に存在しない微生物生物体。

【請求項18】

前記微生物生物体が、真正細菌、酵母、又は菌類である、請求項1～17のいずれか一項記載の天然に存在しない微生物生物体。

【請求項19】

前記微生物生物体が、大腸菌、クレブシエラ・オキシトカ、アナエロビオスピリウム・サクシニシプロデュセンス、アクチノバチルス・サクシノゲネス、マンヘミア・サクシニシプロデュセンス、インゲン根粒菌、枯草菌、コリネバクテリウム・グルタミカム、グルコノバクター・オキシダンス、ザイモモナス・モピリス、ラクトコッカス・ラクチス、ラクトバチルス・プランタルム、ストレプトマイセス・セリカラー、クロストリジウム・アセトブチリカム、シュードモナス・フルオレッセンス、及びシュードモナス・プチダの群から選択される真正細菌である、請求項18記載の天然に存在しない微生物生物体。

40

【請求項20】

前記微生物生物体が、出芽酵母、分裂酵母、クルイベロマイセス・ラクチス、クルイベロマイセス・マルキシアナス、アスペルギルス・テレウス、クロコウジカビ、ピキア・パストリス、リゾプス・アリズス、及びリゾプス・オリゼの群から選択される酵母又は菌類である、請求項15記載の天然に存在しない微生物生物体。

【請求項21】

50

ヘキサメチレンジアミン(HMDA)を産生するための方法であって、HMDAを産生するための条件下で、それに十分な期間、培地にて請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の天然に存在しない微生物生物体を培養することを含む、前記方法。

【請求項 2 2】

前記条件が、実質的に嫌気性の培養条件を含む、請求項 2 1 記載の方法。

【請求項 2 3】

前記HMDAを前記培地中の他の成分から分離することをさらに含む、請求項 2 1 又は 2 2 記載の方法。

【請求項 2 4】

前記HMDAが、継続的な液液抽出、浸透気化法、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ー、サイズ排除クロマトグラフィー、吸着クロマトグラフィー、又は限外濾過の方法によって前記培地中の他の成分から分離される、請求項 2 3 記載の方法。

10

20

30

40

50