

【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22年8月26日(2010.8.26)

【公開番号】特開2008-43329(P2008-43329A)

【公開日】平成20年2月28日(2008.2.28)

【年通号数】公開・登録公報2008-008

【出願番号】特願2007-187074(P2007-187074)

【国際特許分類】

C 1 2 P 7/18 (2006.01)

【F I】

C 1 2 P 7/18

【手続補正書】

【提出日】平成22年7月12日(2010.7.12)

【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】

1, 3 - プロパンジオールを生産する能力を有する微生物もしくは培養細胞の培養液を、分離膜で濾過し、濾液から生産物を回収するとともに未濾過液を培養液に保持または還流し、かつ、発酵原料を培養液に追加する連続発酵であって、分離膜として平均細孔径が  $0.01 \mu\text{m}$  以上  $1 \mu\text{m}$  未満の多孔性膜を用い、膜間差圧を  $0.1$  から  $20 \text{ kPa}$  の範囲で濾過処理することを特徴とする連続発酵による 1, 3 - プロパンジオールの製造方法。

【請求項 2】

多孔性膜の純水透過係数が、 $2 \times 10^{-9} \text{ m}^3 / \text{m}^2 / \text{s} / \text{Pa}$  以上  $6 \times 10^{-7} \text{ m}^3 / \text{m}^2 / \text{s} / \text{Pa}$  以下であることを特徴とする請求項 1 に記載の連続発酵による 1, 3 - プロパンジオールの製造方法。

【請求項 3】

多孔性膜が有機高分子膜であって、その平均細孔径が、 $0.01 \mu\text{m}$  以上  $0.2 \mu\text{m}$  未満の範囲内にあり、かつ、該細孔径の標準偏差が  $0.1 \mu\text{m}$  以下であることを特徴とする請求項 1 または 2 に記載の連続発酵による 1, 3 - プロパンジオールの製造方法。

【請求項 4】

多孔性膜が有機高分子膜であって、その膜表面粗さが  $0.1 \mu\text{m}$  以下の多孔性膜であることを特徴とする請求項 1 から 3 のいずれかに記載の連続発酵による 1, 3 - プロパンジオールの製造方法。

【請求項 5】

多孔性膜が多孔性樹脂層を含む多孔性膜である請求項 1 から 4 のいずれかに記載の 1, 3 - プロパンジオールの製造方法。

【請求項 6】

多孔性膜の膜素材にポリフッ化ビニリデン系樹脂を用いていることを特徴とする請求項 1 から 5 のいずれかに記載の連続発酵による 1, 3 - プロパンジオールの製造方法。

【請求項 7】

1, 3 - プロパンジオールを生産する能力を有する微生物が (a) グリセロールデヒドラターゼ活性を有するポリペプチドをコードする少なくとも 1 つの遺伝子; (b) グリセロールデヒドラターゼ再活性化因子をコードする少なくとも 1 つの遺伝子; 及び (c) 3 - ヒドロキシプロピオンアルデヒドを 1, 3 - プロパンジオールに転換する非 - 特異的

触媒活性をコードする少なくとも1つの遺伝子を含み、グリセロールから1,3-プロパンジオールを合成する能力を有することを特徴とする請求項1から6のいずれかに記載の連続発酵による1,3-プロパンジオールの製造方法。

【請求項8】

グリセロールから1,3-プロパンジオールを合成する能力を有する微生物が、クレブシエラ (*Klebsiella*)、クロストリジウム (*Clostridium*)、ラクトバシルス (*Lactobacillus*)、シトロバクテル (*Cytrobacter*)、エンテロバクテル (*Enterobacter*)、アエロバクテル (*Aerobacter*)、アスペルギルス (*Aspergillus*)、サッカロミセス (*Saccharomyces*)、シゾサッカロミセス (*Schizosaccharomyces*)、チゴサッカロミセス (*Zygosaccharomyces*)、ピチア (*Pichia*)、クルイベロミセス (*Kluyveromyces*)、カンジダ (*Candida*)、ハンセンラ (*Hansenula*)、デバリオミセス (*Debaryomyces*)、ムコル (*Mucor*)、トルロプシス (*Torulopsis*)、メチロバクテル (*Methylobacter*)、サルモネラ (*Salmonella*)、バシルス (*Bacillus*)、アエロバクテル (*Aerobacter*)、ストレプトミセス (*Streptomyces*)、エッシェリシア (*Escherichia*) 及びシュードモナス (*Pseudomonas*) より成る群から選ばれる微生物または組換え微生物であることを特徴とする請求項7に記載の1,3-プロパンジオールの製造方法。

【請求項9】

組換え微生物が、さらに：(a) グリセロール-3-リン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するポリペプチドをコードする少なくとも1つの遺伝子；及び (b) グリセロール-3-ホスファターゼ活性を有するポリペプチドをコードする少なくとも1つの遺伝子を含む組換え微生物であることを特徴とする請求項8に記載の連続発酵による1,3-プロパンジオールの製造方法。

【請求項10】

グリセロールデヒドラターゼ再活性化因子がdhaレギュロンから単離されるorfX及びorfZによりコードされる組換え微生物であることを特徴とする請求項9に記載の連続発酵による1,3-プロパンジオールの製造方法。

【請求項11】

組換え微生物が、さらにグリセロールキナーゼ活性および/またはグリセロールデヒドロゲナーゼ活性および/またはトリオースリン酸イソメラーゼ活性を欠失した組換え微生物であることを特徴とする請求項10に記載の連続発酵による1,3-プロパンジオールの製造方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0007

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0007】

すなわち、本発明は、1,3-プロパンジオールを生産する能力を有する微生物もしくは培養細胞の培養液を分離膜によって濾液と未濾過液に分離し、濾液から所望の発酵生産物を回収するとともに、未濾過液を培養液に保持または還流させる連続発酵方法による1,3-プロパンジオールの製造方法において、分離膜として、平均細孔径が、 $0.01\mu\text{m}$ 以上 $1\mu\text{m}$ 未満の範囲にある多孔性膜を用い、低い膜間差圧で濾過処理することで、安定に低コストで、発酵生産効率を著しく向上させる1,3-プロパンジオールの製造方法を提供するものである。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0010

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0010】

本発明は、1, 3 - プロパンジオールを生産する能力を有する微生物もしくは培養細胞の培養液を、分離膜で濾過し、濾液から生産物を回収するとともに未濾過液を培養液に保持または還流し、かつ、発酵原料を培養液に追加する連続発酵であって、分離膜として平均細孔径が $0.01\mu\text{m}$ 以上 $1\mu\text{m}$ 未満の多孔性膜を用い、膜間差圧を $0.1$ から $20\text{kPa}$ の範囲で濾過処理することを特徴とする連続発酵による1, 3 - プロパンジオールの製造方法である。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0045

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0045】

本発明では、グリセロールから1, 3 - プロパンジオールを合成する能力を有する微生物は、好ましくは、クレブシエラ (*Klebsiella*)、クロストリジウム (*Clostridium*)、ラクトバシルス (*Lactobacillus*)、シトロバクテル (*Cytrobacter*)、エンテロバクテル (*Enterobacter*)、アエロバクテル (*Aerobacter*)、アスペルギルス (*Aspergillus*)、サッカロミセス (*Saccharomyces*)、シゾサッカロミセス (*Schizosaccharomyces*)、チゴサッカロミセス (*Zygosaccharomyces*)、ピチア (*Pichia*)、クルイベロミセス (*Kluyveromyces*)、カンジダ (*Candida*)、ハンセンヌラ (*Hansenula*)、デバリオミセス (*Debaryomyces*)、ムコル (*Mucor*)、トルロプシス (*Torulopsis*)、メチロバクテル (*Methylobacter*)、サルモネラ (*Salmonella*)、バシルス (*Bacillus*)、アエロバクテル (*Aerobacter*)、ストレプトミセス (*Streptomyces*)、エッシェリシア (*Escherichia*) 及びシュードモナス (*Pseudomonas*) より成る群から選ばれる組換え微生物で、更に好ましくはエッシェリシア コリである。