

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2012128843/10, 19.11.2010

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
10.12.2009 US 61/285,312

(43) Дата публикации заявки: 20.01.2014 Бюл. № 2

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 10.07.2012(86) Заявка РСТ:
US 2010/057525 (19.11.2010)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2011/071682 (16.06.2011)Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр.3, ООО
"Юридическая фирма Городисский и Партнеры"(71) Заявитель(и):
ДЖЕНОМАТИКА, ИНК. (US)(72) Автор(ы):
БЕРГАРД Энтони П. (US),
БЕРК Марк Дж. (US),
ФАРКИЯ Прити (US)A
4 3
4 8
8 8
2 1 2 1 2 8
R UR U
2 0 1 2 1 2 8 8 4 3
A(54) СПОСОБЫ И ОРГАНИЗМЫ ДЛЯ ПРЕВРАЩЕНИЯ СИНТЕЗ-ГАЗА ИЛИ ДРУГИХ
ГАЗООБРАЗНЫХ ИСТОЧНИКОВ УГЛЕРОДА И МЕТАНОЛА В 1,3-БУТАНДИОЛ

(57) Формула изобретения

1. Не встречающийся в природе микробный организм, имеющий путь 1,3-бутандиола (1,3-BDO), причем указанный микробный организм содержит по меньшей мере одну экзогенную нуклеиновую кислоту, кодирующую фермент или белок пути 1,3-BDO, экспрессируемый в достаточном количестве для получения 1,3-BDO, где указанный путь 1,3-BDO содержит формиатдегидрогеназу, формилтетрагидрофолатсинтетазу, метенилтетрагидрофолатциклогидролазу, метилентетрагидрофолатдегидрогеназу, метилентетрагидрофолатредуктазу, метилтрансферазу метилтетрагидрофолата:корриноидного белка, корриноидный белок, содержащий железо и серу, белок сборки никельбелок, ферредоксин, ацетил-КоА-сингазу, дегидрогеназу монооксида углерода, гидрогеназу, ацетоацетил-КоА-тиолазу, ацетоацетил-КоА-редуктазу (КоА-зависимую, образующую альдегид), 3-оксобутиральдегидредуктазу (восстанавливающую кетон), 3-гидроксибутиральдегидредуктазу, ацетоацетил-КоА-редуктазу (КоА-зависимую, образующую спирт), 3-оксобутиральдегидредуктазу (восстанавливающую альдегид), 4-гидрокси-2-бутанонредуктазу, ацетоацетил-КоА-редуктазу (восстанавливающую кетон), 3-гидроксибутирил-КоА-редуктазу (образующую альдегид), 3-гидроксибутирил-КоА-редуктазу (образующую спирт), 3-гидроксибутирил-КоА-трансферазу, 3-гидроксибутирил-КоА-гидролазу, 3-гидроксибутирил-КоА-сингазу, 3-гидроксибутиратдегидрогеназу, 3-гидроксибутиратредуктазу, ацетоацетил-КоА-трансферазу, ацетоацетил-КоА-гидролазу, ацетоацетил-КоА-сингазу или

ацетоацетатредуктазу;

где указанные ферменты пути 1,3-BDO представляют собой набор ферментов, выбранный из группы, состоящей из:

A: 1) 3-гидроксибутирил-КоА-редуктазы (образующей альдегид), 2) ацетил-КоА-синтазы, 3) формиатдегидрогеназы, 4) формилтетрагидрофолатсинтетазы, 5) метенил тетрагидрофолатциклогидролазы, 6) метилентетрагидрофолатдегидрогеназы, 7) метилентетрагидрофолатредуктазы, 8) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:коррин оидного белка, 9) корриноидного белка, содержащего железо и серу, 10) белка сборки никель-белок, 11) ферредоксина, 12) дегидрогеназы монооксида углерода, 13) гидрогеназы, 14) ацетоацетил-КоА-тиолазы, 15) ацетоацетил-КоА-редуктазы (восстанавливающей кетон), и 16) 3-гидроксибутириальдегидредуктазы;

B: 1) 3-гидроксибутиратредуктазы, 2) ацетил-КоА-синтазы, 3) формиатдегидрогеназы, 4) формилтетрагидрофолатсинтетазы, 5) метенилтетрагидрофолатциклогидролазы, 6) метилентетрагидрофолатдегидрогеназы, 7) метилентетрагидрофолатредуктазы, 8) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриноидного белка, 9) корриноидного белка, содержащего железо и серу, 10) белка сборки никель-белок, 11) ферредоксина, 12) дегидрогеназы монооксида углерода, 13) гидрогеназы, 14) ацетоацетил-КоА-тиолазы, 15) ацетоацетил-КоА-редуктазы (восстанавливающей кетон), 16) 3-гидроксибутирил-КоА-трансферазы, гидролазы или синтетазы, и 17) 3-гидроксибутириальдегидредуктазы;

C: 1) 3-гидроксибутирил-КоА-редуктазы (образующей спирт); 2) ацетил-КоА-синтазы, 3) формиатдегидрогеназы, 4) формилтетрагидрофолатсинтетазы, 5) метенилтетрагидрофолатциклогидролазы, 6) метилентетрагидрофолатдегидрогеназы, 7) метилентетрагидрофолатредуктазы, 8) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриноидного белка, 9) корриноидного белка, содержащего железо и серу, 10) белка сборки никель-белок, 11) ферредоксина, 12) дегидрогеназы монооксида углерода, 13) гидрогеназы, 14) ацетоацетил-КоА-тиолазы, и 15) ацетоацетил-КоА-редуктазы (восстанавливающей кетон),

D: 1) формиатдегидрогеназы, 2) формилтетрагидрофолатсинтетазы, 3) метенилтетрагидрофолатциклогидролазы, 4) метилентетрагидрофолатдегидрогеназы, 5) метилентетрагидрофолатредуктазы, 6) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриноидного белка, 7) корриноидного белка, содержащего железо и серу, 8) белка сборки никель-белок, 9) ферредоксина, 10) ацетил-КоА-синтазы, 11) дегидрогеназы монооксида углерода, 12) гидрогеназы, 13) ацетоацетил-КоА-тиолазы, 14) ацетоацетил-КоА-редуктазы (КоА-зависимой, образующей альдегид), 15) 3-оксобутириальдегидредуктазы (восстанавливающей альдегид), и 16) 4-гидрокси-2-бутанонредуктазы;

E: 1) формиатдегидрогеназы, 2) формилтетрагидрофолатсинтетазы, 3) метенилтетрагидрофолатциклогидролазы, 4) метилентетрагидрофолатдегидрогеназы, 5) метилентетрагидрофолатредуктазы, 6) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриноидного белка, 7) корриноидного белка, содержащего железо и серу, 8) белка сборки никель-белок, 9) ферредоксина, 10) ацетил-КоА-синтазы, 11) дегидрогеназы монооксида углерода, 12) гидрогеназы, 13) ацетоацетил-КоА-тиолазы, 14) ацетоацетил-КоА-редуктазы (КоА-зависимой, образующей альдегид), 15) 3-оксобутириальдегидредуктазы (восстанавливающей кетон), и 16) 3-гидроксибутириальдегидредуктазы;

F: 1) формиатдегидрогеназы, 2) формилтетрагидрофолатсинтетазы, 3) метенилтетрагидрофолатциклогидролазы, 4) метилентетрагидрофолатдегидрогеназы, 5) метилентетрагидрофолатредуктазы, 6) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриноидного белка, 7) корриноидного белка, содержащего железо и серу, 8) белка сборки никель-белок, 9) ферредоксина, 10) ацетил-КоА-синтазы, 11) дегидрогеназы монооксида углерода, 12) гидрогеназы, 13) ацетоацетил-КоА-тиолазы, 14) ацетоацетил-КоА-редуктазы (КоА-зависимой, образующей спирт), и 15) 4-гидрокси-2-бутанонредуктазы;

R U 2 0 1 2 1 2 8 8 4 3 A

G: 1) формиатдегидрогеназы, 2) формилтетрагидрофолатсинтетазы, 3) метенилтетрагидрофолатциклогидролазы, 4) метилентетрагидрофолатдегидрогеназы, 5) метилентетрагидрофолатредуктазы, 6) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриоидного белка, 7) корриоидного белка, содержащего железо и серу, 8) белка сборки никель-белок, 9) ферредоксина, 10) ацетил-КоА-синтазы, 11) дегидрогеназы монооксида углерода, 12) гидрогеназы, 13) ацетоацетил-КоА-тиолазы, 14) ацетоацетил-КоА-трансферазы, гидrolазы или синтетазы, 15) ацетоацетатредуктазы, 16) 3-оксобутиральдегидредуктазы (восстанавливающей кетон), и 17) 3-гидроксибутиральдегидредуктазы;

H: 1) формиатдегидрогеназы, 2) формилтетрагидрофолатсинтетазы, 3) метенилтетрагидрофолатциклогидролазы, 4) метилентетрагидрофолатдегидрогеназы, 5) метилентетрагидрофолатредуктазы, 6) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриоидного белка, 7) корриоидного белка, содержащего железо и серу, 8) белка сборки никель-белок, 9) ферредоксина, 10) ацетил-КоА-синтазы, 11) дегидрогеназы монооксида углерода, 12) гидрогеназы, 13) ацетоацетил-КоА-тиолазы, 14) ацетоацетил-КоА-трансферазы, гидrolазы или синтетазы, 15) ацетоацетатредуктазы, 16) 3-оксобутиральдегидредуктазы (восстанавливающей альдегид), и 17) 4-гидрокси-2-бутанонредуктазы; и

I: 1) формиатдегидрогеназы, 2) формилтетрагидрофолатсинтетазы, 3) метенилтетрагидрофолатциклогидролазы, 4) метилентетрагидрофолатдегидрогеназы, 5) метилентетрагидрофолатредуктазы, 6) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриоидного белка, 7) корриоидного белка, содержащего железо и серу, 8) белка сборки никель-белок, 9) ферредоксина, 10) ацетил-КоА-синтазы, 11) дегидрогеназы монооксида углерода, 12) гидрогеназы, 13) ацетоацетил-КоА-тиолазы, 14) ацетоацетил-КоА-трансферазы, гидrolазы или синтетазы, 15) 3-гидроксибутиратдегидрогеназы, 16) 3-гидроксибутиратредуктазы, и 17) 3-гидроксибутиральдегидредуктазы.

2. Не встречающийся в природе микробный организм по п.1, где указанный микробный организм содержит две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать или семнадцать экзогенных нуклеиновых кислот, каждая из которых кодирует фермент пути 1,3-BDO.

3. Не встречающийся в природе микробный организм по п.1, где указанная по меньшей мере одна экзогенная нуклеиновая кислота представляет собой гетерологичную нуклеиновую кислоту.

4. Не встречающийся в природе микробный организм по п.1, где указанный не встречающийся в природе микробный организм находится в по существу анаэробной среде для культивирования.

5. Не встречающийся в природе микробный организм по любому из п.п.1-4, где указанный микробный организм использует углеродное исходное сырье, выбранное из группы, состоящей из 1) CO, 2) CO₂ и H₂, 3) CO, CO₂ и H₂, 4) синтез-газа, содержащего CO и H₂, 5) синтез-газа, содержащего CO, CO₂ и H₂, и 6) одного или нескольких углеводов.

6. Способ получения 1,3-BDO, который включает культивирование не встречающегося в природе микробного организма по любому из п.п.1-5 в условиях и в течение достаточного периода времени для получения 1,3-BDO.

7. Не встречающийся в природе микробный организм, который включает микробный организм, имеющий путь 1,3-BDO, причем указанный микробный организм содержит по меньшей мере одну экзогенную нуклеиновую кислоту, кодирующую фермент или белок пути 1,3-BDO, экспрессируемый в достаточном количестве для получения 1,3-BDO, где указанный путь 1,3-BDO содержит метанолметилтрансферазу, корриоидный

белок, метилтрансферазу метилтетрагидрофолата:корриоидного белка, метилтрансферазу метилтетрагидрофолата:корриоидного белка, корриоидный белок, содержащий железо и серу, белок сборки никель-белок, ферредоксин, ацетил-КоА-синтазу, дегидрогеназу монооксида углерода, гидрогеназу, ацетоацетил-КоА-тиолазу, ацетоацетил-КоА-редуктазу (КоА-зависимую, образующую альдегид), 3-оксобутиральдегидредуктазу (восстанавливающую кетон), 3-гидроксибутиральдегидредуктазу, ацетоацетил-КоА-редуктазу (КоА-зависимую, образующую спирт), 3-оксобутиральдегидредуктазу (восстанавливающую альдегид), 4-гидрокси-2-бутанонредуктазу, ацетоацетил-КоА-редуктазу (восстанавливающую кетон), 3-гидроксибутирил-КоА-редуктазу (образующую альдегид), 3-гидроксибутирил-КоА-трансферазу, 3-гидроксибутирил-КоА-гидролазу, 3-гидроксибутирил-КоА-синтетазу, 3-гидроксибутиратдегидрогеназу, 3-гидроксибутиратредуктазу, ацетоацетил-КоА-трансферазу, ацетоацетил-КоА-гидролазу, ацетоацетил-КоА-синтетазу или ацетоацетатредуктазу.

8. Не встречающийся в природе микробный организм по п.7, где указанные ферменты пути 1,3-EDO представляют собой набор ферментов, выбранный из группы, состоящей из:

A: 1) метанолметилтрансферазы, 2) корриоидного белка, 3) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриоидного белка, 4) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриоидного белка, 5) корриоидного белка, содержащего железо и серу, 6) белка сборки никель-белок, 7) ферредоксина, 8) ацетил-КоА-синтазы, 9) дегидрогеназы монооксида углерода, 10) гидрогеназы, 11) ацетоацетил-КоА-тиолазы, 12) ацетоацетил-КоА-редуктазы (КоА-зависимой, образующей альдегид), 13) 3-оксобутиральдегидредуктазы (восстанавливающей альдегид) и 14) 4-гидрокси-2-бутанонредуктазы;

B: 1) метанолметилтрансферазы, 2) корриоидного белка, 3) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриоидного белка, 4) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриоидного белка, 5) корриоидного белка, содержащего железо и серу, 6) белка сборки никель-белок, 7) ферредоксина, 8) ацетил-КоА-синтазы, 9) дегидрогеназы монооксида углерода, 10) гидрогеназы, 11) ацетоацетил-КоА-тиолазы, 12) ацетоацетил-КоА-редуктазы (КоА-зависимой, образующей альдегид), 13) 3-оксобутиральдегидредуктазы (восстанавливающей кетон) и 14) 3-гидроксибутирил-КоА-редуктазы;

C: 1) метанолметилтрансферазы, 2) корриоидного белка, 3) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриоидного белка, 4) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриоидного белка, 5) корриоидного белка, содержащего железо и серу, 6) белка сборки никель-белок, 7) ферредоксина, 8) ацетил-КоА-синтазы, 9) дегидрогеназы монооксида углерода, 10) гидрогеназы, 11) ацетоацетил-КоА-тиолазы, 12) ацетоацетил-КоА-редуктазы (восстанавливающей кетон), 13) 3-гидроксибутирил-КоА-редуктазы (образующей альдегид), и 14) 3-гидроксибутиральдегидредуктазы;

D: 1) метанолметилтрансферазы, 2) корриоидного белка, 3) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриоидного белка, 4) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриоидного белка, 5) корриоидного белка, содержащего железо и серу, 6) белка сборки никель-белок, 7) ферредоксина, 8) ацетил-КоА-синтазы, 9) дегидрогеназы монооксида углерода, 10) гидрогеназы, 11) ацетоацетил-КоА-тиолазы, 12) ацетоацетил-КоА-редуктазы (восстанавливающей кетон) и 13) 3-гидроксибутирил-КоА-редуктазы (образующей спирт);

E: 1) метанолметилтрансферазы, 2) корриоидного белка, 3) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриоидного белка, 4) метилтрансферазы метилтетрагидроф

R U 2 0 1 2 1 2 8 8 4 3 A

олата:корриноидного белка, 5) корриноидного белка, содержащего железо и серу, 6) белка сборки никель-белок, 7) ферредоксина, 8) ацетил-КоА-синтазы, 9) дегидрогеназы монооксида углерода, 10) гидрогеназы, 11) ацетоацетил-КоА-тиолазы, 12) ацетоацетил-КоА-редуктазы (КоА-зависимой, образующей спирт) и 13) 4-гидрокси-2-бутанонредуктазы;

F: 1) метанолметилтрансферазы, 2) корриноидного белка, 3) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриноидного белка, 4) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриноидного белка, 5) корриноидного белка, содержащего железо и серу, 6) белка сборки никель-белок, 7) ферредоксина, 8) ацетил-КоА-синтазы, 9) дегидрогеназы монооксида углерода, 10) гидрогеназы, 11) ацетоацетил-КоА-тиолазы, 12) ацетоацетил-КоА-трансферазы, гидrolазы или синтетазы, 13) ацетоацетатредуктазы, 14) 3-оксобутиральдегидредуктазы (восстанавливающей кетон) и 15) 3-гидроксибутиральдегидредуктазы;

G: 1) метанолметилтрансферазы, 2) корриноидного белка, 3) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриноидного белка, 4) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриноидного белка, 5) корриноидного белка, содержащего железо и серу, 6) белка сборки никель-белок, 7) ферредоксина, 8) ацетил-КоА-синтазы, 9) дегидрогеназы монооксида углерода, 10) гидрогеназы, 11) ацетоацетил-КоА-тиолазы, 12) ацетоацетил-КоА-трансферазы, гидrolазы или синтетазы, 13) ацетоацетатредуктазы, 14) 3-оксобутиральдегидредуктазы (восстанавливающей альдегид) и 15) 4-гидрокси-2-бутанонредуктазы;

H: 1) метанолметилтрансферазы, 2) корриноидного белка, 3) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриноидного белка, 4) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриноидного белка, 5) корриноидного белка, содержащего железо и серу, 6) белка сборки никель-белок, 7) ферредоксина, 8) ацетил-КоА-синтазы, 9) дегидрогеназы монооксида углерода, 10) гидрогеназы, 11) ацетоацетил-КоА-тиолазы, 12) ацетоацетил-КоА-редуктазы (восстанавливающей кетон), 13) 3-гидроксибутирил-КоА-трансферазы, гидrolазы или синтетазы, 14) 3-гидроксибутиратредуктазы и 15) 3-гидроксибутиральдегидредуктазы;

I: 1) метанолметилтрансферазы, 2) корриноидного белка, 3) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриноидного белка, 4) метилтрансферазы метилтетрагидрофолата:корриноидного белка, 5) корриноидного белка, содержащего железо и серу, 6) белка сборки никель-белок, 7) ферредоксина, 8) ацетил-КоА-синтазы, 9) дегидрогеназы монооксида углерода, 10) гидрогеназы, 11) ацетоацетил-КоА-тиолазы, 12) ацетоацетил-КоА-трансферазы, гидrolазы или синтетазы, 13) 3-гидроксибутиратдегидрогеназы, 14) 3-гидроксибутиратредуктазы и 15) 3-гидроксибутиральдегидредуктазы.

9. Не встречающийся в природе микробный организм по п.7, где указанный микробный организм содержит две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать экзогенных нукleinовых кислот, каждая из которых кодирует фермент пути 1,3-BDO.

10. Не встречающийся в природе микробный организм по п.7, где указанная по меньшей мере одна экзогенная нукleinовая кислота является гетерологичной нукleinовой кислотой.

11. Не встречающийся в природе микробный организм по п.7, где указанный не встречающийся в природе микробный организм находится в по существу анаэробной среде для культивирования.

12. Не встречающийся в природе микробный организм по любому из пп.7-11, где указанный микробный организм использует углеродное исходное сырье, выбранное из группы, состоящей из 1) метанола и CO, 2) метанола, CO₂ и H₂, 3) метанола, CO, CO₂ и H₂, 4) метанола и синтез-газа, содержащего CO и H₂, 5) метанола и синтез-газа,

R U 2 0 1 2 1 2 8 8 4 3 A

R U 2 0 1 2 1 2 8 8 4 3 A

содержащего CO, CO₂ и H₂, 6) одного или нескольких углеводов, и 7) метанола и одного или нескольких углеводов и 8) метанола.

13. Способ получения 1,3-BDO, включающий культивирование не встречающегося в природе микробного организма по любому из пп.7-12 в условиях и в течение достаточного периода времени для получения 1,3-BDO.