

【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23年12月22日(2011.12.22)

【公表番号】特表2011-515067(P2011-515067A)

【公表日】平成23年5月19日(2011.5.19)

【年通号数】公開・登録公報2011-020

【出願番号】特願2010-532229(P2010-532229)

【国際特許分類】

C 12 P 7/06 (2006.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 12 P 7/06 Z N A

C 12 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成23年10月31日(2011.10.31)

【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】

キシロースを含む混合糖類培地からエタノールを产生する方法であつて：

(a) キシロースを資化してエタノールを产生することが可能な組み換えザイモモナス株を提供する工程であつて、前記株は、組み込み宿主因子 サブユニットタンパク質(HimA)の発現を減少させる少なくとも1つの遺伝子改変を含む工程と；

(b) キシロースを含む混合糖類培地において(a)の株を培養する工程であつて、それによつて、キシロースは、前記株によつてエタノールを产生するための炭素源として使用される工程と、

を含む、方法。

【請求項2】

培養が、約4.5～7.5の範囲のpHを有する培地において約25～約40の温度範囲にある、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記遺伝子改変が、挿入、欠失、変異、共抑制、およびアンチセンスRNA発現からなる群から選択されるhimA遺伝子の改変である、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

前記遺伝子改変が、himA遺伝子を非機能的にする、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

前記培地がアセテートをさらに含み、かつ、前記組み換えザイモモナス株が、himA発現を減少させる遺伝子改変を有しない親株のザイモモナス株と比較して増加した量のエタノールを产生する、請求項1に記載の方法。

【請求項6】

产生される前記増加した量のエタノールが、前記ザイモモナス株の酢酸耐性に起因する、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

前記培地が、キシロースを含む少なくとも約120g/Lの混合糖類、約2mM～約100mMの最終濃度でソルビトール、マンニトール、ガラクトール、リビトール、およ

びそれらの混合物からなる群から選択される糖アルコール、ならびに少なくとも約6g/Lのアセテートを含む、請求項5に記載の方法。

【請求項8】

前記糖アルコールが、約5mM～約20mMの濃度にある、請求項7に記載の方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0119

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0119】

この実験の結果は、ZW801-4::himAおよびAcR#3の両方とも、試験系において同一に挙動するため、himA遺伝子不活性化が、それ自体単独で発酵性能の改善を担うことを実証する。これらの2つの株はまた、図5に示す実験に使用した同じ条件を使用して、酢酸耐性についてそれらを試験した場合(図12)、識別不能であった。明らかに、AcR#3のhimA遺伝子へのPgapプロモーターの組み込み、およびこの株に施される変異体富化プロセスの延長は、所望のhimA表現型にほとんどまたは全く影響を及ぼさない。

次に、本発明の態様を示す。

1. キシロースを含む混合糖類培地からエタノールを产生する方法であって：

(a) キシロースを資化してエタノールを产生することが可能な組み換えザイモモナス株を提供する工程であって、前記株は、組み込み宿主因子 サブユニットタンパク質(HimA)の発現を減少させる少なくとも1つの遺伝子改変を含む工程と；

(b) キシロースを含む混合糖類培地において(a)の株を培養する工程であって、それによって、キシロースは、前記株によってエタノールを产生するための炭素源として使用される工程と、
を含む、方法。

2. 培養が、約4.5～7.5の範囲のpHを有する培地において約25～約40の温度範囲にある、上記1に記載の方法。

3. 前記温度が約30～37である、上記2に記載の方法。

4. 前記pHが約5.8～7.0である、上記2に記載の方法。

5. 前記遺伝子改変が、挿入、欠失、変異、共抑制、およびアンチセンスRNA発現からなる群から選択されるhimA遺伝子の改変である、上記1に記載の方法。

6. 前記遺伝子改変が、himA遺伝子を非機能的にする、上記5に記載の方法。

7. 前記遺伝子改変が、相同組み換えによってhimA遺伝子に導入される、上記6に記載の方法。

8. 前記組み換えザイモモナス株が、ZW801-4::himAまたは株AcR#3である、上記1に記載の方法。

9. 前記培地がアセテートをさらに含み、かつ、前記組み換えザイモモナス株が、himA発現を減少させる遺伝子改変を有しない親株のザイモモナス株と比較して増加した量のエタノールを产生する、上記1に記載の方法。

10. 產生される前記増加した量のエタノールが、前記ザイモモナス株の酢酸耐性に起因する、上記9に記載の方法。

11. 前記培地が、キシロースを含む少なくとも約120g/Lの混合糖類、約2mM～約100mMの最終濃度でソルビトール、マンニトール、ガラクチトール、リビトール、およびそれらの混合物からなる群から選択される糖アルコール、ならびに少なくとも約6g/Lのアセテートを含む、上記9に記載の方法。

12. 前記糖アルコールが、約5mM～約20mMの濃度にある、上記11に記載の方法。

。