



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 2855662 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C12N 15/52 (2006.01)
C12P 5/00 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(21)	Translation Published	2018.08.20
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2018.03.21
(86)	European Application Nr.	13797982.9
(86)	European Filing Date	2013.06.04
(87)	The European Application's Publication Date	2015.04.08
(30)	Priority	2012.06.01, US, 201261654412 P
(84)	Designated Contracting States:	AL ; AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; RS ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR
(73)	Proprietor	Lanzatech New Zealand Limited, 24 Balfour Road, Parnell, Auckland 1052, NZ-New Zealand
(72)	Inventor	CHEN, Wendy, 24 Balfour Road, Parnell, Auckland 1052, NZ-New Zealand LIEW, FungMin, 24 Balfour Road, Parnell, Auckland 1052, NZ-New Zealand KOEPE, Michael, 24 Balfour Road, Parnell, Auckland 1052, NZ-New Zealand
(74)	Agent or Attorney	CURO AS, Vestre Rosten 81, 7075 TILLER, Norge

(54)	Title	RECOMBINANT MICROORGANISMS AND USES THEREFOR
(56)	References Cited:	WO-A2-2008/137092, US-A1- 2011 014 672, MICHAEL KÖPKE ET AL: "Fermentative production of ethanol from carbon monoxide", CURRENT OPINION IN BIOTECHNOLOGY, vol. 22, no. 3, 1 June 2011 (2011-06-01), pages 320-325, XP055104855, ISSN: 0958-1669, DOI: 10.1016/j.copbio.2011.01.005, WO-A1-2012/053905, M. KOPKE ET AL: "2,3-Butanediol Production by Acetogenic Bacteria, an Alternative Route to Chemical Synthesis, Using Industrial Waste Gas", APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, vol. 77, no. 15, 17 June 2011 (2011-06-17) , pages 5467-5475, XP055104754, ISSN: 0099-2240, DOI: 10.1128/AEM.00355-11, YANG, J. ET AL.: 'Enhancing production of bio-isoprene using hybrid MVA pathway and isoprene synthase in E. coli' PLOS ONE vol. 7, 27 April 2012, pages 1 - 7, XP055046587, US-A1- 2011 236 941, WO-A2-2008/039499, WO-A1-2009/111513

Enclosed is a translation of the patent claims in Norwegian. Please note that as per the Norwegian Patents Acts, section 66i the patent will receive protection in Norway only as far as there is agreement between the translation and the language of the application/patent granted at the EPO. In matters concerning the validity of the patent, language of the application/patent granted at the EPO will be used as the basis for the decision. The patent documents published by the EPO are available through Espacenet (<http://worldwide.espacenet.com>) or via the search engine on our website here: <https://search.patentstyret.no/>

Patentkrav

1. Framgangsmåte for framstilling av én eller flere terpene(r) og/eller forløpere for samme, ved mikrobiell fermentering, hvori framgangsmåten omfatter: framskaffe et gassformig substrat som omfatter CO til en bioreaktor som inneholder en kultur av en rekombinant karboksydotrof, acetogen bakterie og fermentere kulturen for å produsere én eller flere terpenener og/eller forløpere for samme fra det gassformige substratet,
- hvori terpenet eller forløperen for samme er valgt fra gruppen bestående av mevalonsyre, isopentenylpyrofosfat (IPP), dimetylallylpyrofosfat (DMAPP), isopren, geranylpyrofosfat (GPP), farnesylpyrofosfat (FPP) og farnesen.
2. Framgangsmåte ifølge krav 1, hvori terpenet eller forløperen for samme er valgt fra gruppen bestående av geranylpyrofosfat (GPP), farnesylpyrofosfat (FPP) og farnesen.
3. Framgangsmåte ifølge krav 1, hvori bakterien omfatter én eller flere eksogene nukleinsyrer som koder for:
 - (a) et enzym i en mevalonatvei valgt fra gruppen bestående av thiolase (EC 2.3.1.9); HMG-CoA-syntase (EC 2.3.3.10); HMG-CoA-reduktase (EC 1.1.1.88); mevalonatinase (EC 2.7.1.36); fosfomevalonatinase (EC 2.7.4.2); og mevalonat-difosfat-dekarboksylase (EC 4.1.1.33);
 - (b) et enzym i en DXS-vei valgt fra gruppen bestående av 1-deoksy-D-xylulose-5-fosfatsyntase DXS (EC:2.2.1.7); 1-deoksy-D-xylulose-5-fosfat-reduktoisomerase DXR (EC:1.1.1.267); 2-C-metyl-D-erythritol-4-fosfat-cytidyltransferase IspD (EC:2.7.7.60); 4-difosfocytidyl-2-C-metyl-D-erythritolkinase IspE (EC:2.7.1.148); 2-C-metyl-D-erythritol 2;4-syklodifosfatsyntase IspF (EC:4.6.1.12); 4-hydroksey-3-metylbut-2-en-1-yl difosfatsyntase IspG (EC:1.17.7.1); og 4-hydroksey-3-metylbut-2-enyldifosfatreduktase (EC:1.17.1.2); eller
 - (c) et enzym i en terpenbiosyntesevei valgt fra gruppen bestående av geranyltranstransferase Fps (EC:2.5.1.10); heptaprenyldifosfatsyntase (EC:2.5.1.10); oktaprenyl-difosfat-syntase (EC:2.5.1.90); isoprensyntase (EC 4.2.3.27); isopentenyl-difosfat-deltaisomerase (EC 5.3.3.2); og farnesensyntase (EC 4.2.3.46 / EC 4.2.3.47).
4. Framgangsmåte ifølge krav 3, hvori bakterien omfatter én eller flere eksogene nukleinsyrer som koder for et enzym i en terpen-biosyntesevei valgt fra gruppen bestående av geranyltranstransferase Fps (EC:2.5.1.10); heptaprenyl-difosfat-syntase (EC:2.5.1.10); oktaprenyl-difosfatsyntase (EC:2.5.1.90); isoprensyntase (EC 4.2.3.27); isopentenyl-difosfat-delta-isomerase (EC 5.3.3.2); og farnesensyntase (EC 4.2.3.46 / EC 4.2.3.47).

5. Framgangsmåte ifølge krav 1, hvori terpenet eller forløperen for samme er isopren, og bakterien omfatter en eksogen nukleinsyre som koder for en isopren-syntase.
6. Framgangsmåte ifølge krav 1, hvori terpenet eller forløperen til samme er isopentenylpyrofosfat (IPP), og hvori bakterien omfatter en eksogen nukleinsyre som koder for isopentenylidifosfat-deltaisomerase.
7. Framgangsmåte ifølge krav 1, hvori bakterien omfatter eksogene nukleinsyrer som koder for isopren-syntase, isopentenylidifosfat-deltaisomerase, og 1-deoksy-D-xylulose-5-fosfat-syntase DXS.
8. Framgangsmåte ifølge krav 1, hvori bakterien er valgt fra gruppen bestående av *Clostridium autoethanogenum*, *Clostridium ljungdahlii*, *Clostridium ragsdalei*, *Clostridium carboxidivorans*, *Clostridium drakei*, *Clostridium scatologenes*, *Clostridium aceticum*, *Clostridium formicoaceticum*, *Clostridium magnum*, *Butyribacterium methylotrophicum*, *Acetobacterium woodii*, *Alkalibaculum bacchii*, *Blautia producta*, *Eubacterium limosum*, *Moorella thermoacetica*, *Moorella thermautotrophica*, *Sporomusa ovata*, *Sporomusa silvacetica*, *Sporomusa sphaeroides*, *Oxobacter pfennigii*, og *Thermoanaerobacter kiuvi*.
9. Framgangsmåte ifølge krav 8, hvori bakterien er valgt fra gruppen bestående av *Clostridium autoethanogenum*, *Clostridium ragsdalei*, *Clostridium carboxidivorans*, *Clostridium drakei*, *Clostridium scatologenes*, *Clostridium aceticum*, *Clostridium formicoaceticum*, *Clostridium magnum*, *Butyribacterium methylotrophicum*, *Acetobacterium woodii*, *Alkalibaculum bacchii*, *Blautia producta*, *Eubacterium limosum*, *Moorella thermoacetica*, *Moorella thermautotrophica*, *Sporomusa ovata*, *Sporomusa silvacetica*, *Sporomusa sphaeroides*, *Oxobacter pfennigii*, og *Thermoanaerobacter kiuvi*.
10. Framgangsmåte ifølge krav 8, hvori bakterien er *Clostridium autoethanogenum*.
11. Framgangsmåte ifølge krav 1, hvori det gassformige substratet omfatter minst 20% CO.
12. Framgangsmåte ifølge krav 1, hvori det gassformige substratet videre omfatter minst én av CO₂ eller H₂.
13. Framgangsmåte ifølge krav 1, hvori det gassformige substratet er avledet fra en industriell prosess valgt fra gruppen bestående av framstilling av jernholdige metallprodukter, framstilling av ikke-jernholdige produkter, oljeraffinering, kullforgassing, produksjon av elektrisk strøm, produksjon av sot, ammoniakkproduksjon, metanolproduksjon og framstilling av koks.
14. Framgangsmåte ifølge krav 1, hvori det gassformige substratet er syntesegass.