

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 395 053**

51 Int. Cl.:

C12P 7/62 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE REIVINDICACIONES DE SOLICITUD DE
PATENTE EUROPEA

T1

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.09.2003 E 10075400 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **14.09.2011 EP 2365088**

30 Prioridad:

12.09.2002 US 410067 P

46 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de las reivindicaciones de la solicitud:
07.02.2013

71 Solicitantes:

**METALBOLIX INC. (100.0%)
21 Erie Street
Cambridge MA 02139, US**

72 Inventor/es:

SKRALY, FRANK A.

74 Agente/Representante:

URÍZAR ANASAGASTI, José Antonio

54 Título: **Producción de polihidroxiacanoato por vías de aldehído deshidrogenasa dependiente de coenzima A**

ES 2 395 053 T1

REIVINDICACIONES

1. Un método de producción de polímeros de polihidroxiálcanoato (PHA) que comprende al menos un monómero hidroxiácilo seleccionado del grupo que consta de 3-hidroxi propionato, 3 hidroxi valerato, 4-hidroxi butirato, 4-hidroxi valerato, 5-hidroxi valerato, y 3-hidroxi hexanoato, que comprende:

5 expresar en un organismo genes que codifican una polihidroxiálcanoato sintasa (PHA) y una aldehído deshidrogenasa dependiente de CoA,

10 alimentar una sustancia química que es convertida por el organismo a al menos un monómero de hidroxiácilo-CoA por una vía catalizada por enzima que incluye la actividad de aldehído deshidrogenasa dependiente de CoA y permitir la polimerización del al menos un monómero de hidroxiácilo-CoA por la PHA sintasa para formar polímeros PHA, y recuperar los polímeros PHA así producidos

15 en el que el organismo se produce de un organismo de tipo salvaje que tiene un gen aldehído deshidrogenasa endógena dependiente de CoA que es modificado por mutación genética para aumentar la actividad de la aldehído deshidrogenasa CoA-dependiente, o en el que el organismo es un organismo recombinante, en el que un gen se expresa de forma recombinante para codificar la aldehído deshidrogenasa CoA-dependiente.

2. El método de la reivindicación 1 en donde el organismo se produce de un organismo de tipo salvaje que tiene un gen aldehído deshidrogenasa endógena dependiente de CoA que es modificado por mutación genética para aumentar la actividad de la aldehído deshidrogenasa CoA-dependiente.

20 3. El método de la reivindicación 1 en donde el organismo es un organismo recombinante, en el que un gen se expresa de forma recombinante para codificar la aldehído deshidrogenasa CoA-dependiente.

4. El método de cualquier reivindicación anterior en donde el polímero PHA además comprende 3-hidroxi butirato.

25 5. El método de cualquier reivindicación anterior en donde el polímero PHA es seleccionado del grupo compuesto por poli-3-hidroxi butirato-co-3-hidroxi valerato, poli-3-hidroxi butirato-co-3-hidroxi propionato, poli-3-hidroxi butirato-co-4-hidroxi butirato, poli-3-hidroxi butirato-co-3-hidroxi hexanoato.

6. El método de cualquier reivindicación anterior en el que la sustancia química es un alcohol, por ejemplo, un alcohol seleccionado del grupo formado por 1-propanol, 1,2-propanediol, y 1-butanol.

30 7. El método de cualquier reivindicación anterior en donde el organismo comprende genes que codifican enzimas seleccionadas del grupo que consta de acilo-CoA transferasa, acilo-CoA sintasa, β -ketotilasa, acetoacetil-CoA reductasa.

8. El método de cualquier reivindicación anterior en el que el organismo es seleccionado del grupo que consta de levadura, bacterias, hongos y plantas.

9. El método de cualquier reivindicación anterior en donde la PHA sintasa es una poli(3-hidroxiálcanoato) sintasa, o una poli(4-hidroxiálcanoato) sintasa como poli(4-hidroxi butirato) sintasa.

35 10. El método de cualquier reivindicación anterior en el que el organismo es una bacteria, preferiblemente *E. coli*, como la *E. coli* que expresa el gen *E. coli eutE*.

11. El método de cualquier reivindicación anterior que además comprende el paso de fabricar artículos, tales como películas, látex, recubrimientos, adhesivos, fibras, ligantes, resinas y dispositivos médicos, de los polímeros PHA recuperados.

40 12. El método de la reivindicación 11 en donde el dispositivo médico puede utilizarse para la liberación controlada de un agente terapéutico, profiláctico o de diagnóstico, soportes de ingeniería de tejidos, encapsulación de células, suministro dirigido, revestimientos biocompatibles, implantes biocompatibles, regeneración tisular guiada, apósitos para heridas, dispositivos ortopédicos, prótesis, cementos óseos, o diagnósticos.

45 13. Un organismo recombinante para producir polímeros de polihidroxiálcanoato (PHA) seleccionados del grupo que consta de bacterias, levaduras, hongos y plantas que comprende un gen que codifica una PHA sintasa y un gen que codifica una aldehído deshidrogenasa endógena dependiente de CoA,

50 en el que el organismo es producido de un organismo de tipo salvaje que tiene un gen gen aldehído deshidrogenasa endógena dependiente de CoA el cual es modificado por mutación genética para aumentar la actividad de la aldehído deshidrogenasa CoA-dependiente, o en el que el organismo es un organismo recombinante en el que un gen se expresa de forma recombinante para codificar la aldehído deshidrogenasa CoA-dependiente.

- 5
14. El organismo recombinante de la reivindicación 13 en el que el organismo es producido de un organismo de tipo salvaje que tiene un gen aldehído deshidrogenasa endógena dependiente de CoA el cual es modificado por mutación genética para aumentar la actividad de la aldehído deshidrogenasa CoA-dependiente,
15. El organismo recombinante de la reivindicación 13 en el que un gen se expresa de forma recombinante para codificar la aldehído deshidrogenasa CoA-dependiente.
16. El organismo recombinante de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15 que además comprende genes que codifican enzimas seleccionadas del grupo que consta de acilo-CoA transferasa, acilo-CoA sintasa, β -ketotiolasa y acetoacetyl-CoA reductasa.
- 10
17. El organismo recombinante de la reivindicación 16, en el que uno o más de los genes definidos por la reivindicación 17 son endógenos al organismo recombinante.
18. El organismo recombinante de la reivindicación 16, en el que uno o más de los genes que codifican enzimas seleccionadas del grupo que constan de acilo-CoA transferasa, acilo-CoA sintasa, β -ketotiolasa y acetoacetyl-CoA reductasa son heterólogos al organismo recombinante.
- 15
19. Un método que comprende el paso de amplificar una secuencia de ADN que codifica el gen *eutE* de un genoma de *E. coli* usando los siguientes cebadores oligonucleótidos: 5'-GGT GGT ACC TTA AGA GGA GGT TTT TAT GAA TCA ACA GGA TAT TGA ACA-3' (SEC ID NO: 1) y 5'-GGT GCG GCC GCT TAA ACA ATG CGA AAC GCA TCG-3' (SEC ID NO: 2).

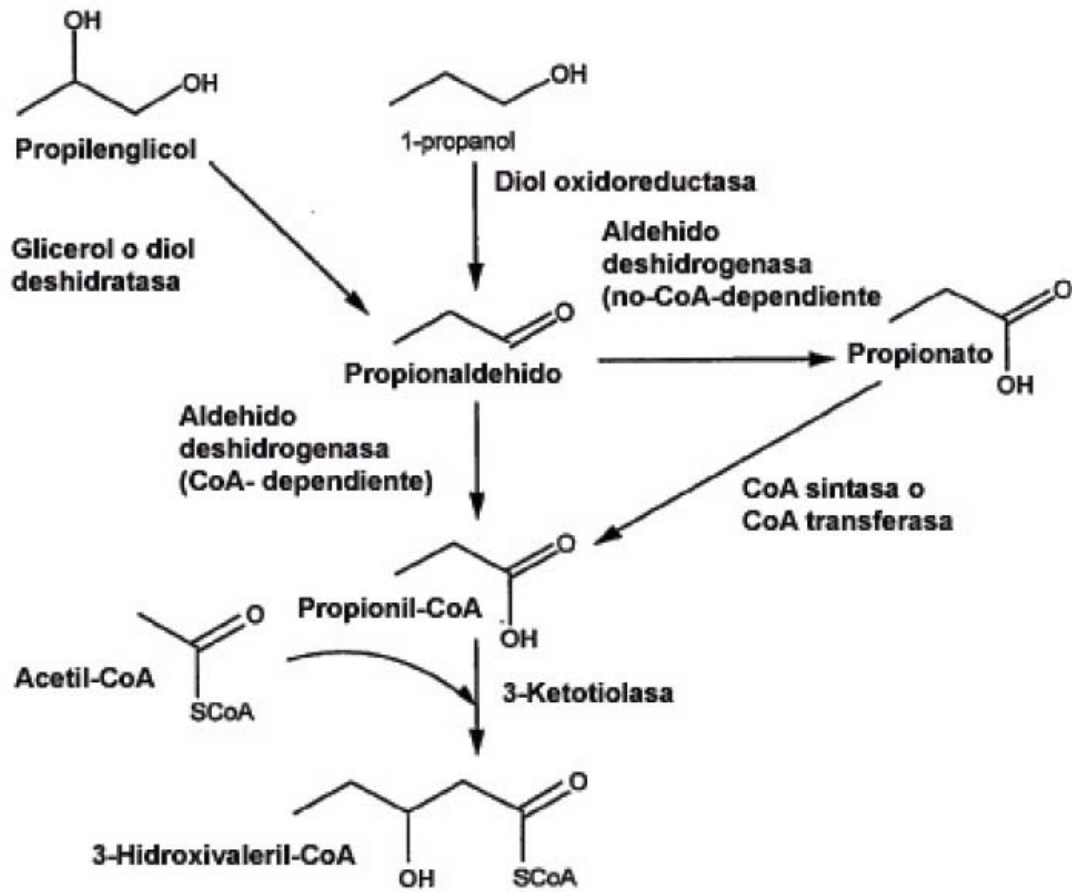


Figura 1

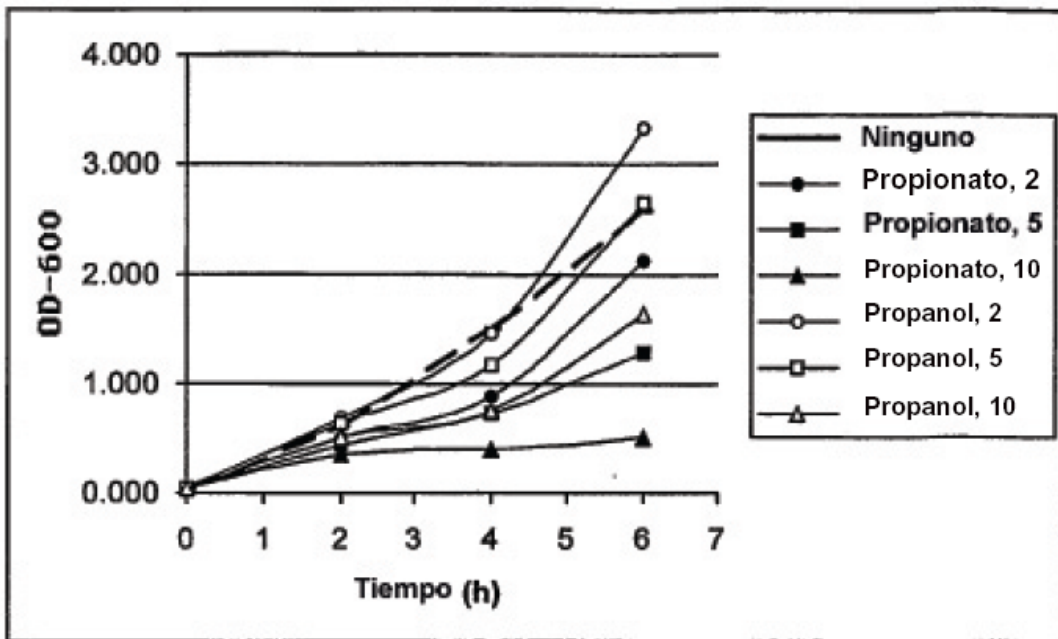


Figura 2