

청구범위

- [청구항 1] 3-하이드록시프로피온산(3-hydroxypropionic acid, 3-HP) 또는 이의 유사체에 반응하는 LysR 단백질과의 결합 부위를 포함하는 3-HP 또는 이의 유사체 유도성 프로모터.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 프로모터는 3-HP 분해능을 가진 미생물로부터 유래한 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 유도성 프로모터.
- [청구항 3] 제2항에 있어서, 상기 3-HP 분해능을 가진 미생물은 아크로모박터 데니트리피칸스(*Achromobacter denitrificans*), 아시도보락스 아베네(*Acidovorax avenae* subsp.), 아시도보락스(*Acidovorax* sp.), 아시네토박터 바우만니(*Acinetobacter baumannii*), 에로모나스 하이드로필리아(*Aeromonas hydrophilia*), 아그로박테리움(*Agrobacterium* sp.), 알칼리제네스 패칼리스(*Alcaligenes faecalis*), 알칸니보락스 홍덴젠시스(*Alcanivorax hongdengensis*), 알리시클리필러스 데니트리피칸스(*Alicyclophilus denitrificans*), 알테로모나스 마리나(*Alteromonas marina*), 아미코라톱시스(*Amycolatopsis* sp.), 안에로믹소박터 디할로제난스(*Anaeromyxobacter dehalogenans*), 아조스피릴럼 브라질렌스(*Azospirillum brasilense*), 아조토박터 비네란디(*Azotobacter vinelandii*), 바이에린키아 인디카(*Beijerinckia indica*), 보르테텔라 아비움(*Bordetella avium*), 브라디라조비움 자포니쿰(*Bradyrhizobium japonicum*), 버크홀데리아 암비파리아(*Burkholderia ambifaria*), 카테눌리스포라 애시디필리아(*Catenulispora acidiphilia*), 카울로박터(*Caulobacter* sp.), 카스텔라니엘라 디프로그란스(*Castellaniella defragrans*), 크로모박테리움 비오라세움(*Chromobacterium violaceum*), 콜리모나스 아레네(*Collimonas arenae*), 코마모나스 테스트스테로니(*Comamonas testosteroni*), 코리네박테리움 비타에러미니스(*Corynebacterium vitaeruminis*), 쿠프리아비더스 네카터(*Cupriavidus necator*), 커비박터 그라실러스(*Curvibacter gracilis*), 델프트아 엑시도보란스(*Delftia acidovorans*), 페리모나스 바레아리카(*Ferrimonas balearica*), 글라시에코라 니트라티레듀센스(*Glaciecola nitratreducens*), 고르도니아 브론치알리스(*Gordonia bronchialis*), 하헬라 치유엔시스(*Hahella chijuensis*), 할로모나스 에롱가타(*Halomonas elongata*), 히르치아 리토레아(*Hirschia litorea*), 이디오마리나(*Idiomarina* sp.), 잔티노박테리움 리비딴(*Janthinobacterium lividum*), 키타사토스포라 세타에(*Kitasatospora setae*), 쿠즈네리아 알비다(*Kutzneria albida*), 메틸로박테리움(*Methylobacterium* sp.), 메틸로시스티스(*Methylocystis* sp.), 노보스핑고비움(*Novosphingobium* sp.), 오셔니모나스 스미르노비(*Oceanimonas smirnovii*), 파라코커스(*Paracoccus* sp.), 파비바쿨럼 라바멘티보란스(*Parvibaculum lavamentivorans*), 페닐로박테리움 쿤샤넨시스(*Phenylobacterium*

kunshanensis), 포토박테리움 가에트불레다(*Photobacterium gaetbuleda*), 폴리뉴클레오박터 네세사리어스 아심비오틱커스(*Polynucleobacter necessarius asymbiomaticus*), 슈도알테로모나스 카라지노보라(*Pseudoalteromonas carrageenovora*), 슈도굴벤키아니아(*Pseudogulbenkiania* sp.), 슈도모나스 데니트리피칸스(*Pseudomonas denitrificans*) ATCC13867, 슈도모나스 크낙뮤시(*Pseudomonas knackmussii*), 슈도모나스 프로테젠스(*Pseudomonas protegens*), 슈도모나스 플루오레센스(*Pseudomonas fluorescens*), 슈도잔토모나스 스파덱스(*Pseudoxanthomonas spadix*), 사이크로박스 페닐피루비커스(*Psychrobacter phenylpyruvicus*), 랄스토니아 옥살라티카(*Ralstonia oxalatica*), 로도마이크로비움 반니엘리(*Rhodocyclidium vannielli*), 세그닐리파루스 로턴더스(*Segniliparus rotundus*), 셰와넬라 원이텐시스(*Shewanella oneidensis*), 시미두이아 아가로보란스(*Simiduia agarovorans*), 시노리조비움 멜리로티(*Sinorhizobium meliloti*), 스펅고비움 클로로페놀리컴(*Sphingobium chlorophenolicum*), 스펅고모나스 위티치(*Sphingomonas wittichii*), 스펅고픽시스 알라스켄시스(*Sphingopyxis alaskensis*), 스테노트로포모나스 말토펴리아(*Stenotrophomonas maltophilia*), 스트렙토마이세스 노도서스(*Streptomyces nodosus*), 타틀록키아 미크다데이(*Tatlockia micdadei*), 타라소스피라 시아메넨시스(*Thalassospira xiamenensis*), 배리오보락스 파라독서스(*Variovorax paradoxus*), 버미네프로박터 에이세니아(*Verminephrobacter eiseniae*), 비브리오 퍼니시(*Vibrio furnissii*), 잔토박터 오토트로피커스(*Xanthobacter autotrophicus*), 잔토모나스 캄페스트리(*Xanthomonas campestris*) 및 잔토모나스 오리제(*Xanthomonas oryzae*)로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 미생물인 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 유도성 프로모터.

- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 LysR 단백질은 헬릭스-턴-헬릭스(helix-turn-helix) 구조로 이루어져 DNA와 결합하는 N-말단 도메인, 3-HP 또는 이의 유사체와 결합하는 C-말단 도메인 및 LysR 단백질 이합체 안정화에 기여하는 C-말단 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 유도성 프로모터.
- [청구항 5] 제4항에 있어서, 상기 헬릭스-턴-헬릭스(helix-turn-helix) 구조로 이루어져 DNA와 결합하는 N-말단 도메인은 서열번호 1 또는 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 유도성 프로모터.
- [청구항 6] 제4항에 있어서, 상기 3-HP 또는 이의 유사체와 결합하는 C-말단 도메인은 서열번호 3으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 유도성 프로모터.
- [청구항 7] 제4항에 있어서, 상기 LysR 단백질 이합체 안정화에 기여하는 C-말단

- 도메인은 서열번호 4로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 유도성 프로모터.
- [청구항 8] 제1항에 있어서, 상기 LysR 단백질과의 결합 부위는 LysR 단백질 이량체(dimer)가 2개 결합하는 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 유도성 프로모터.
- [청구항 9] 제1항에 있어서, 상기 LysR 단백질과의 결합 부위는 서열번호 5 내지 서열번호 43으로 이루어진 군에 선택된 어느 하나로 표시된 염기서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 유도성 프로모터.
- [청구항 10] 제9항에 있어서, 상기 LysR 단백질과의 결합 부위는 상기 서열번호 5 내지 서열번호 43으로 이루어진 군에 선택된 어느 하나로 표시된 염기서열로 이루어진 역반복(Inverted Repeat) 서열 및 이와 쌍을 이루는 역반복 서열이 2번 반복되는 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 유도성 프로모터.
- [청구항 11] 제10항에 있어서, 상기 LysR 단백질과의 결합 부위는 서열번호 44 또는 서열번호 45로 표시되는 염기서열로 이루어진 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 유도성 프로모터.
- [청구항 12] 제1항에 있어서, 상기 유사체는 3-하이드록시이소뷰티레이트(3-hydroxyisobutyrate; 3HIB) 또는 3-하이드록시뷰티레이트(3-hydroxybutyrate; 3-HB)인 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 유도성 프로모터.
- [청구항 13] 제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 따른 3-HP 또는 이의 유사체 유도성 프로모터를 포함하는 재조합 발현벡터.
- [청구항 14] 제13항에 있어서, 상기 3-HP 또는 이의 유사체 유도성 프로모터에 작동가능하게 연결된 외래 단백질을 코딩하는 유전자를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 재조합 발현벡터.
- [청구항 15] 제14항에 있어서, 상기 외래 단백질은 글리세롤 디하이드라테이즈(glycerol dehydratase; DhaB), 글리세롤 디하이드라테이즈 재활성화 효소(DhaB reactivase; GdrAB) 및 α -케토글루타릭 세미알데하이드 디하이드라지네이즈(α -ketoglutaric semialdehyde dehydrogenase; KGSADH)인 것을 특징으로 하는 재조합 발현벡터.
- [청구항 16] 제13항에 따른 재조합 발현벡터로 형질전환된 재조합 미생물.
- [청구항 17] 제16항에 있어서, 상기 미생물은 3-HP 생산능을 가진 것을 특징으로 하는 재조합 미생물.
- [청구항 18] 제17항에 있어서, 상기 미생물은 슈도모나스 데니트리피칸스(*Pseudomonas denitrificans*)인 것을 특징으로 하는 재조합 미생물.
- [청구항 19] 제17항에 있어서, 상기 미생물은 슈도모나스 데니트리피칸스(*Pseudomonas denitrificans*) 균주에서 3-HP 분해에 관련된 *3hpdh*, *3hibdh* 및

- mmsadh* 유전자가 결실된 슈도모나스 데니트리피칸스(*P. denitrificans*) $\Delta 3\text{hpdh}\Delta 3\text{hibdhIV}\Delta 3\text{hibdhI}$ 균주인 것을 특징으로 하는 재조합 미생물.
- [청구항 20] 제16항에 따른 재조합 미생물을 배양하는 단계를 포함하는 3-HP 생산방법.
- [청구항 21] 3-하이드록시프로피온산(3-hydroxypropionic acid, 3-HP) 또는 이의 유사체에 반응하는 LysR 단백질을 코딩하는 *lysR* 유전자, 상기 LysR 단백질과의 결합 부위를 포함하는 프로모터 및 발현 목적 단백질을 코딩하는 유전자를 포함하는 3-HP 또는 이의 유사체 반응성 재조합 유전자 발현 카세트.
- [청구항 22] 제21항에 있어서, 상기 LysR 단백질 또는 상기 프로모터는 3-HP 분해능을 가진 미생물로부터 유래한 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 반응성 재조합 유전자 발현 카세트.
- [청구항 23] 제22항에 있어서, 상기 3-HP 분해능을 가진 미생물은 아크로모박터 데니트리피칸스(*Achromobacter denitrificans*), 아시도보락스 아베네(*Acidovorax avenae* subsp., 아시도보락스(*Acidovorax* sp.), 아시네토박터 바우만니(*Acinetobacter baumannii*), 에로모나스 하이드로필리아(*Aeromonas hydrophilia*), 아그로박테리움(*Agrobacterium* sp.), 알칼리제네스 패칼리스(*Alcaligenes faecalis*), 알칸니보락스 홍덴젠시스(*Alcanivorax hongdengensis*), 알리시클리필러스 데니트리피칸스(*Alicyclophilus denitrificans*), 알테로모나스 마리나(*Alteromonas marina*), 아미코라톱시스(*Amycolatopsis* sp.), 안에로믹소박터 디할로제난스(*Anaeromyxobacter dehalogenans*), 아조스피릴럼 브라질렌스(*Azospirillum brasilense*), 아조토박터 비넨란디(*Azotobacter vinelandii*), 바이에린키아 인디카(*Beijerinckia indica*), 보르테텔라 아비움(*Bordetella avium*), 브라디라조비움 자포니쿰(*Bradyrhizobium japonicum*), 버크홀데리아 암비파리아(*Burkholderia ambifaria*), 카테눌리스포라 애시디필리아(*Catenulispora acidiphilia*), 카울로박터(*Caulobacter* sp.), 카스텔라니엘라 디프로그란스(*Castellaniella defragrans*), 크로모박테리움 비오라세움(*Chromobacterium violaceum*), 콜리모나스 아레네(*Collimonas arenae*), 코마모나스 테스트스테로니(*Comamonas testosteroni*), 코리네박테리움 비타에리미니스(*Corynebacterium vitae*), 쿠프리아비더스 네카터(*Cupriavidus necator*), 커비박터 그라실러스(*Curvibacter gracilis*), 델프트아 엑시도보란스(*Delftia acidovorans*), 페리모나스 바레아리카(*Ferrimonas balearica*), 글라시에코라 니트라티레듀센스(*Glaciecola nitratreducens*), 고르도니아 브론치알리스(*Gordonia bronchialis*), 하헬라 치유엔시스(*Hahella chijuensis*), 할로모나스 에롱가타(*Halomonas elongata*), 히르치아 리토레아(*Hirschia litorea*), 이디오마리나(*Idiomarina* sp.), 잔티노박테리움 리비덤(*Janthinobacterium lividum*), 키타사토스포라 세타에(*Kitasatospora*

setae), 쿠츠네리아 알비다(*Kutzneria albida*), 메틸로박테리움(*Methylobacterium* sp.), 메틸로시스티스(*Methylocystis* sp.), 노보스핑고비움(*Novosphingobium* sp.), 오서니모나스 스미르노비(*Oceanimonas smirnovii*), 파라코커스(*Paracoccus* sp.), 파비바큘럼 라바멘티보란스(*Parvibaculum lavamentivorans*), 페닐로박테리움 쿤샤넨시스(*Phenylobacterium kunshanensis*), 포토박테리움 가에트블레다(*Photobacterium gaetbuleda*), 폴리뉴클레오박터 네세사리어스 아심비오티커스(*Polynucleobacter necessarius asymbioticus*), 슈도알테로모나스 카라지노보라(*Pseudoalteromonas carrageenovora*), 슈도굴벤키아니아(*Pseudogulbenkiania* sp.), 슈도모나스 데니트리피칸스(*Pseudomonas denitrificans*) ATCC13867, 슈도모나스 크낙뮤시(*Pseudomonas knackmussii*), 슈도모나스 프로테젠스(*Pseudomonas protegens*), 슈도모나스 플루오레센스(*Pseudomonas fluorescens*), 슈도잔토모나스 스파덱스(*Pseudoxanthomonas spadix*), 사이크로박스 페닐피루비커스(*Psychrobacter phenylpyruvicus*), 랄스토니아 옥살라티카(*Ralstonia oxalatica*), 로도마이크로비움 반니엘리(*Rhodomicrobium vannielli*), 세그닐리파루스 로턴더스(*Segniliparus rotundus*), 셰와넬라 원이텐시스(*Shewanella oneidensis*), 시미두이아 아가로보란스(*Simiduia agarovorans*), 시노리조비움 멜리로티(*Sinorhizobium meliloti*), 스팅고비움 클로로페놀리컴(*Sphingobium chlorophenolicum*), 스팅고모나스 위티치(*Sphingomonas wittichii*), 스팅고픽시스 알라스켄시스(*Sphingopyxis alaskensis*), 스테노트로포모나스 말토펬리아(*Stenotrophomonas maltophilia*), 스트렙토마이시스 노도서스(*Streptomyces nodosus*), 타틀록키아 미크다데이(*Tatlockia micdadei*), 타라소스피라 시아메넨시스(*Thalassospira xiamenensis*), 베리오보락스 파라독서스(*Variovorax paradoxus*), 버미네프로박터 에이세니에(*Verminephrobacter eiseniae*), 비브리오 퍼니시(*Vibrio furnissii*), 잔토박터 오토트로피커스(*Xanthobacter autotrophicus*), 잔토모나스 캄페스트리(*Xanthomonas campestris*) 및 잔토모나스 오리제(*Xanthomonas oryzae*)로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나의 미생물인 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 반응성 재조합 유전자 발현 카세트.

[청구항 24] 제21항에 있어서, 상기 LysR 단백질은 헬릭스-턴-헬릭스(helix-turn-helix) 구조로 이루어져 DNA와 결합하는 N-말단 도메인, 3-HP 또는 이의 유사체와 결합하는 C-말단 도메인 및 LysR 단백질 이합체 안정화에 기여하는 C-말단 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 반응성 재조합 유전자 발현 카세트.

[청구항 25] 제24항에 있어서, 상기 헬릭스-턴-헬릭스(helix-turn-helix) 구조로 이루어져 DNA와 결합하는 N-말단 도메인은 서열번호 1 또는 서열번호 2로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 3-HP 또는

- 이의 유사체 반응성 재조합 유전자 발현 카세트.
- [청구항 26] 제24항에 있어서, 상기 3-HP 또는 이의 유사체와 결합하는 C-말단 도메인은 서열번호 3으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 반응성 재조합 유전자 발현 카세트.
- [청구항 27] 제24항에 있어서, 상기 LysR 단백질 이합체 안정화에 기여하는 C-말단 도메인은 서열번호 4로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 반응성 재조합 유전자 발현 카세트.
- [청구항 28] 제21항에 있어서, 상기 LysR 단백질과의 결합 부위는 서열번호 5 내지 서열번호 43으로 이루어진 군에 선택된 어느 하나로 표시된 염기서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 반응성 재조합 유전자 발현 카세트.
- [청구항 29] 제28항에 있어서, 상기 LysR 단백질과의 결합 부위는 상기 서열번호 5 내지 서열번호 43으로 이루어진 군에 선택된 어느 하나로 표시된 염기서열로 이루어진 역반복(Inverted Repeat) 서열 및 이와 쌍을 이루는 역반복 서열이 2번 반복되는 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 반응성 재조합 유전자 발현 카세트.
- [청구항 30] 제29항에 있어서, 상기 LysR 단백질과의 결합 부위는 서열번호 44 또는 서열번호 45로 표시되는 염기서열로 이루어진 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 반응성 재조합 유전자 발현 카세트.
- [청구항 31] 제21항에 있어서, 상기 유사체는 3-하이드록시이소뷰티레이트(3-hydroxyisobutyrate; 3HIB) 또는 3-하이드록시뷰티레이트(3-hydroxybutyrate; 3-HB)인 것을 특징으로 하는 3-HP 또는 이의 유사체 반응성 재조합 유전자 발현 카세트.
- [청구항 32] 제21항 내지 제31항 중 어느 한 항에 따른 3-HP 또는 이의 유사체 반응성 재조합 유전자 발현 카세트를 포함하는 재조합 발현벡터.
- [청구항 33] 제32항에 따른 재조합 발현벡터로 형질전환된 재조합 미생물.
- [청구항 34] 제21항 내지 제31항 중 어느 한 항에 따른 3-HP 또는 이의 유사체 반응성 재조합 유전자 발현 카세트가 숙주세포의 염색체 내에 삽입되어 있는 재조합 미생물.
- [청구항 35] 제33항에 따른 재조합 미생물을 배양하는 단계를 포함하는 발현 목적 단백질 생산방법.
- [청구항 36] 제35항에 있어서, 상기 재조합 미생물을 배양하는 단계는 3-HP를 첨가하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 발현 목적 단백질 생산방법.