

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges
Eigentum

Internationales Büro

(43) Internationales
Veröffentlichungsdatum
13. Juni 2013 (13.06.2013)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2013/083374 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

C12P 7/42 (2006.01) C12N 9/02 (2006.01)
C12N 15/52 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2012/072594

(22) Internationales Anmeldedatum:
14. November 2012 (14.11.2012)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
11191923.9 5. Dezember 2011 (05.12.2011) EP

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): **EVONIK DEGUSSA GMBH** [DE/DE];
Rellinghauser Straße 1-11, 45128 Essen (DE).

(72) Erfinder; und

(71) Anmelder (nur für US): **HAAS, Thomas** [DE/DE];
Backenkamp 9, 48161 Münster (DE). **SCHAFFER,
Steffen** [DE/DE]; Antoniusstrasse 19, 45699 Herten (DE).
PÖTTER, Markus [DE/DE]; Gemenweg 45, 48149
Münster (DE). **WESSEL, Mirja** [DE/DE]; Aufm Bleck 3,
44799 Bochum (DE). **PFEFFER, Jan, Christoph**
[DE/DE]; Büdesheime Ring 8d, 63452 Hanau (DE).
GEHRING, Christian [DE/DE]; Insterburger Straße 62,
45770 Marl (DE). **KIRCHNER, Nicole** [DE/DE];
Sachsenstraße 28, 45665 Recklinghausen (DE).
WITTMANN, Eva, Maria [DE/DE]; Tilsiter Weg 22,
83301 Traunreut (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW,
BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,
DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN,
KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU,
RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ,
TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA,
ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ,
TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ,
RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY,
CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT,
LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE,
SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)
- mit dem Sequenzprotokollteil der Beschreibung (Regel 5 Absatz 2 Buchstabe a)

(54) Title: BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF 3-HYDROXYISOBUTYRIC ACID

(54) Bezeichnung : BIOTECHNOLOGISCHE HERSTELLUNG VON 3-HYDROXYISOBUTTERSÄURE

(57) Abstract: The invention relates to a method having the steps of a) providing isobutyric acid, b) bringing the isobutyric acid into contact with the combination of isobutyrate kinase and phosphotransisobutyrylase and/or isobutyryl-coenzyme A-synthetase/ligase and/or isobutyrate-coenzyme A-transferase, c) bringing the product of step a) into contact with isobutyryl-coenzyme A-dehydrogenase, d) bringing the product of step b) into contact with methacrylyl-coenzyme A-hydratase, and e) hydrolyzing the product of step d) with the formation of 3-hydroxyisobutyric acid. At least one of the enzymes is used in the form of a cell which comprises an activity of 3-hydroxyisobutyric acid dehydrogenase or a variant thereof, said activity being reduced with respect to the wild type of the cell. The invention also relates to a cell which comprises at least one enzyme of the group comprising isobutyryl-coenzyme A-synthetase/ligase, isobutyrate-coenzyme A-transferase, isobutyrate-kinase, phosphotransisobutyrylase, isobutyryl-coenzyme A-dehydrogenase, methacrylyl-coenzyme A-hydratase, and 3-hydroxyisobutyryl-coenzyme A-hydrolase and which has an activity of a 3-hydroxyisobutyric acid dehydrogenase or a variant thereof, said activity being reduced with respect to the wild type of the cell. Additionally, the cell preferably has a monooxygenase, even more preferably a monooxygenase of the AlkBGT type or a variant thereof. The invention also relates to the use of such a cell for producing 3-hydroxyisobutyric acid

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren umfassend die Schritte a) Bereitstellen von Isobuttersäure, b) Kontaktieren von Isobuttersäure mit der Kombination aus Isobutyryl-Kinase und Phosphotransisobutyrylase und/oder Isobutyryl-Coenzym A-Synthetase/Ligase und/oder Isobutyryl-Coenzym A-Transferase, c) Kontaktieren des Produktes aus Schritt a) mit Isobutyryl-Coenzym A-Dehydrogenase, d) Kontaktieren des Produktes aus Schritt b) mit Methacrylyl-Coenzym A-Hydratase, und e) Hydrolyse des Produktes aus Schritt d) unter Bildung von 3-Hydroxyisobuttersäure, wobei wenigstens eines der Enzyme in Form einer Zelle verwendet wird, die eine ihrem Wildtyp gegenüber verringerte Aktivität einer 3-Hydroxyisobuttersäure-Dehydrogenase oder einer Variante davon umfasst, eine Zelle, die wenigstens ein Enzym aus der Gruppe umfassend Isobutyryl-Coenzym A-Synthetase/Ligase, Isobutyryl-Coenzym A-Transferase, Isobutyryl-Kinase, Phosphotransisobutyrylase, Isobutyryl-Coenzym A-Dehydrogenase, Methacrylyl-Coenzym A-Hydratase und 3-Hydroxyisobutyryl-Coenzym A-Hydrolase

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2013/083374 A1



und eine gegenüber ihrem Wildtyp verringerte Aktivität einer 3-Hydroxyisobuttersäure-Dehydrogenase oder einer Variante davon aufweist, wobei die Zelle bevorzugt zusätzlich eine Monooxygenase, noch bevorzugter eine Monooxygenase des AlkBGT-Typs oder eine Variante davon aufweist und die Verwendung einer solchen Zelle zur Herstellung von 3-Hydroxyisobuttersäure.