



No. 13-037828- -00011-0000

Fecha: 2015-04-23 12:46:51 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 412 REPOSPRESRECU Folios: 61

As. 123.411

Señor

**DIRECTOR DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

E.

S.

D.

REF: Expediente No. 13 -037.828– solicitud de patente de invención a favor de **GENOMATICA, INC.** Título: **MICROORGANISMOS Y MÉTODOS PARA LA BIOSÍNTESIS DE AROMÁTICOS, 2,4-PENTADIENOATO Y 1,3-BUTADIENO.**

RECURSO DE REPOSICIÓN

JUAN PABLO CADENA SARMIENTO, portador de la tarjeta profesional No. 57.492 del C.S.J., obrando como apoderado de la sociedad solicitante, manifiesto a usted que debidamente notificado de la Resolución No. 11359 del 13 de Marzo de 2015, interpongo contra ella en debido término, **RECURSO DE REPOSICIÓN**, para que sea revocada en su totalidad, y en su lugar se conceda el Privilegio de Patente, para el objeto de la solicitud en referencia.

Respaldo el RECURSO en los siguientes

HECHOS

1. La resolución No. 11359 arriba citada niega el Privilegio exclusivo de Patente de Invención para el objeto de la solicitud de la referencia, considerando que el capítulo reivindicatorio carece de claridad y novedad. Lo anterior, de acuerdo con las siguientes consideraciones.
 - i. Determinación del Estado de la Técnica

Consultadas las fuentes de información con que se cuenta se encontraron los siguientes documentos, que anticipan el objeto de esta solicitud.

No	Documento	Título	Fecha de publicación
D1	W02009111513	<i>"Engineered CO₂ fixing microorganisms producing carbon based products of interest"</i>	11/Septiembre/2009

Considera el examinador que la presente invención no cumple con el requisito de novedad en vista del documentos D1.

RESUELVE

ARTÍCULO PRIMERO: Denegar la patente de invención a la creación titulada **"MICROORGANISMOS Y MÉTODOS PARA LA BIOSÍNTESIS DE AROMÁTICOS, 2,4-PENTADIENOATO Y 1,3-BUTADIENO"**.

FUNDAMENTOS

Nos permitimos mostrar nuestro total desacuerdo frente a todas y cada una de las objeciones de la Resolución No. 11359 toda vez que en dicho análisis no se demostró de manera concluyente que la invención carecía de claridad y novedad. A continuación, me permito desvirtuar todas y cada una de las afirmaciones de su Despacho en contra de la claridad y novedad de la invención y expuestas en la Resolución No. 11359.

Como punto de partida, remitimos a su Despacho un nuevo pliego reivindicatorio que consta de ocho (8) reivindicaciones, las cuales mantienen plena concordancia con la invención reivindicada anteriormente y no exceden en ningún momento el alcance de la materia presentada en la descripción de la presente solicitud.

En relación con dicho nuevo pliego reivindicatorio, solicitamos sean tenidas en cuenta las siguientes modificaciones llevadas a cabo:

- Se incluyó la palabra “o” antes del ítem (ix) de la reivindicación 1, ya que la misma se omitió de manera accidental en la pasada actuación. Asimismo, se corrigió la numeración de los elementos descritos a lo largo del ítem (i), cambiando los numerales (A), (C), (D), (E) por numerales (A), (B), (C), (D), solucionando de este modo el error presentado.

La reivindicación 8 reclama ahora “un medio de cultivo” en lugar de “una composición”, ya que como bien señala el señor Examinador, la invención descrita en dicha reivindicación no manifiesta las características propias de una composición. En vista de esta modificación, la materia ahora reivindicada hace referencia a un **medio de cultivo** que comprende por lo menos los siguientes tres componentes: (1) 1,3-butadieno biosintetizado; (2) 3-buten-1-ol biosintetizado o 2,4-pentadienoato biosintetizado; y (3) el organismo microbiano de ocurrencia no natural de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, lo cual cumple a cabalidad con los requisitos de claridad y concisión.

Cabe resaltar que dicha modificación se encuentra pertinentemente sustentada por lo indicado en las páginas 29 (líneas 17 a 20) y 33 (líneas 17 a 20) del capítulo descriptivo de la respectiva solicitud PCT/US2011/045364 y que, adicionalmente, dicho capítulo descriptivo amplía la información relacionada con el medio de cultivo, sus componentes y las condiciones de fermentación que deben ser mantenidas.

Más aún, nos permitimos agregar que el capítulo descriptivo de la presente solicitud ilustra ampliamente el cultivo de los organismos microbianos de ocurrencia no natural de la presente invención que han sido diseñados específicamente para llevar a cabo rutas metabólicas que deriven en la obtención de 1,3-butadieno y que incorporan 3-buten-1-ol o 2,4-pentadienoato como intermediarios, lo cual soporta de manera adecuada la materia descrita en dicha nueva reivindicación 8.

Adicionalmente, con respecto al enunciado (b) de dicha reivindicación 8, solicitamos al señor Examinador dirigir su atención sobre el siguiente fragmento del capítulo descriptivo:

“En algunas modalidades, el organismo microbiano que no se origina naturalmente de la invención está en un medio de cultivo sustancialmente anaeróbico. En algunas modalidades, el organismo microbiano que no se origina naturalmente de la invención incluye además una 2,4-pentadieno descarboxilasa para convertir 2,4-pentadienoato a 1,3-butadieno.”

Adaptado del capítulo descriptivo

Dada la anterior información, afirmamos que el capítulo descriptivo de la presente solicitud divulga claramente un medio de cultivo que contiene el microorganismo de ocurrencia no natural, el cual es capaz de producir 1,3-butadieno mediante la catálisis de 2,4-pentadienoato, tal y como reclama el enunciado (b) de la objetada reivindicación.

Igualmente, en lo que respecta al enunciado (a) de la reivindicación en estudio, ponemos a su consideración el siguiente fragmento:

“En algunas modalidades, el organismo microbiano que no se origina naturalmente de la invención está en un medio de cultivo sustancialmente anaeróbico. En algunas modalidades, el organismo microbiano que no se origina naturalmente de la invención incluye además una 3-buten-1-ol deshidratasa para convertir 3-buten-1-ol a 1,3-butadieno”

Adaptado del capítulo descriptivo

Similarmente, destacamos que dicho capítulo descriptivo también aborda el caso en el cual se obtiene 1,3-butadieno mediante catálisis de 3-buten-1-ol, soportando adecuadamente el enunciado (a) de la reivindicación en estudio.

A partir de estas divulgaciones, solicitamos se acepte la modificación llevada y consecuentemente se retire la respectiva objeción, dado que la misma se encuentra soportada de manera pertinente.

- La reivindicación 9, objetada por hacer referencia al uso de compuestos biosintetizados, fue completamente eliminada, por lo cual se asume superada dicha objeción.

Más allá de dichas modificaciones –las cuales solventan algunas de las objeciones de claridad y concisión–, consideramos pertinente manifestar nuestro profundo desacuerdo frente a la insistente objeción del señor Examinador en contra de la patentabilidad de las reivindicaciones 1 a 7 por supuestamente hacer referencia a procesos de transformación de ocurrencia natural.

Puntualmente, llamamos la atención sobre el hecho de que la invención descrita a lo largo del presente pliego reivindicatorio constituye un desarrollo biotecnológico que, gracias a la modificación genética, logra implementar la ejecución de vías enzimáticas específicas en organismos microbianos, las cuales en ningún momento podrían haber sido concebidas por los mismos de manera natural.

De esta manera, es claro que las reivindicaciones 1 a 7 no hacen referencia en ningún momento a *“procesos de transformación en bacterias que pueden ocurrir naturalmente”* sino divulgan mecanismos que ocurren estrictamente por consecuencia de la modificación genética de dichos microorganismos, lo cual resulta completamente evidente a partir de la materia actualmente reclamada.

A pesar de que esta circunstancia fue expuesta y analizada a fondo en la pasada respuesta, procedemos a insistir en nuestra argumentación solicitando que la misma sea estudiada con el rigor pertinente y que en esta ocasión sea reconocido que la materia contenida en el actual pliego reivindicatorio constituye, en efecto, materia susceptible de acceder al privilegio de patente.

En primera instancia, es de notar que la materia reivindicada está dirigida explícitamente a **organismos microbianos de ocurrencia no natural** que han sido modificados genéticamente a fin de dar lugar a rutas metabólicas precisas que derivan en la obtención de productos particulares, como bien indica la totalidad de las actuales reivindicaciones.

En este sentido, el señor Examinador manifiesta no tener certeza sobre si el microorganismo reclamado sí fue sometido a modificaciones genéticas o simplemente

hace parte de la naturaleza, hecho que nos desconcierta pues la presente divulgación es clara en cuanto al origen de dicha materia, como demostramos a continuación:

“Un organismo microbiano de ocurrencia no natural que tiene

(i) una ruta de 1,3-butadieno que comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de 1,3-butadieno (...)

(ii) una ruta de 1,3-butadieno que comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de 3-buten-1-ol (...)

(iii) un ruta de tolueno, y en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de tolueno (...)

(iv) una ruta de benceno, y en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de benceno (...)

(v) una ruta de estireno, y en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de estireno (...)

(vi) una ruta de (2-hidroxi-4-oxobutoxi)fosfonato, y en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de (2-hidroxi-4-oxobutoxi)fosfonato (...)

(vii) una ruta de benzoato, y en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de benzoato (...)

(viii) una ruta de 2,4-pentadienoato, y en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de 2,4-pentadienoato (...)

(ix) una ruta de 3-buten-1-ol que comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de 3-buten-1-ol (...).”

Adaptado de reivindicación 1

De acuerdo con lo señalado en el anterior fragmento, la reivindicación 1 hace referencia en todo momento a un **organismo microbiano de ocurrencia no natural**, lo cual se define pertinentemente en el capítulo descriptivo de la presente solicitud de la siguiente manera:

“Como se usa en la presente, el término “que no se origina naturalmente” cuando se usa con referencia a un organismo microbiano o microorganismo de la invención se pretende por significar que el organismo microbiano tiene al menos una alteración genética no encontrada normalmente en una cepa que se origina naturalmente de las especies referenciadas, incluyendo las cepas de tipo nativo de las especies referencias.”

Adaptado del capítulo descriptivo

Considerando entonces el sentido de la expresión “de ocurrencia no natural” o “que no se origina naturalmente”, es evidente que la presente invención corresponde necesariamente a **organismos genéticamente modificados** que difieren completamente de aquellos microorganismos disponibles libremente en la naturaleza y que por tanto constituyen materia válida y patentable.

Por otra parte, resaltamos también que a lo largo de dicha reivindicación 1 se hace claridad sobre el hecho que dicho microorganismo comprende una serie de **ácidos nucleicos exógenos**, lo cual ratifica nuevamente que la materia reivindicada fue objeto de modificaciones genéticas.

A este respecto, a pesar de que el término “exógeno” hace referencia a un concepto conocido y manejado a profundidad por cualquier persona normalmente versada en la materia, el capítulo descriptivo incluye la siguiente definición:

“Exógeno” como se usa en la presente se pretende por significar que la molécula referenciada o la actividad referenciada son introducidas en el organismo microbiano hospedero. La molécula puede ser introducida, por ejemplo, por

introducción de un ácido nucleico que codifica en el material genético hospedero tal como por integración en un cromosoma hospedero o como material genético no cromosomal tal como un plásmido. Por lo tanto, el término como se usa en referencia a expresión de un ácido nucleico codificante se refiere a la introducción del ácido nucleico codificante en una forma expresable en el organismo microbiano."

Adaptado del capítulo descriptivo

Dado que la presencia de **ácidos nucleicos exógenos** indica indiscutiblemente que el microorganismo cuenta con **información genética ajena a su naturaleza**, o dicho de otro modo, **que le ha sido introducida**, concluimos que no hay lugar a siquiera suponer que la presente invención se relaciona de algún modo con organismos naturales que no han sido alterados genéticamente y que por tanto constituyen materia exceptuada de patentabilidad.

Así pues, insistimos en que cualquier persona versada en la materia al realizar una simple lectura de las divulgaciones de la presente solicitud tendrá la certeza de que la invención reivindicada corresponde, sin lugar a dudas, a un **organismo genéticamente modificado**.

A la luz de lo anterior, solicitamos respetuosamente sea reconocido que el objeto de la presente invención no pertenece a la naturaleza, razón por la cual consideramos que las afirmaciones y objeciones del señor Examinador no son correctas y merecen ser reconsideradas.

En conexión con lo anterior, es nuestra intención expresar que contrario a las apreciaciones manifestadas en la Resolución No. 11359, el capítulo descriptivo de la presente solicitud proporciona toda la información necesaria para ejecutar la presente invención sin inconveniente alguno, incluyendo **secuencias de ácidos nucleicos exógenos y especies de origen**, situación que procedemos a demostrar.

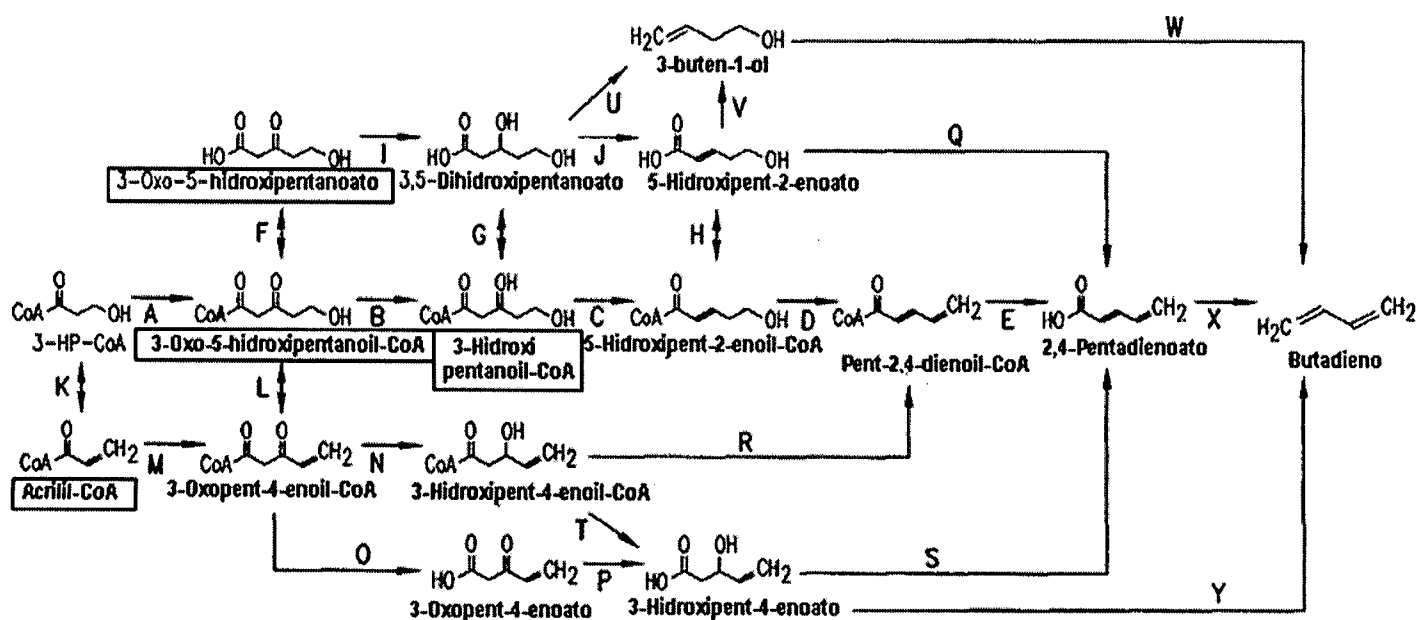
i. **Secuencias nucleotídicas:**

En lo que respecta a las secuencias de los ácidos nucleicos exógenos citados a lo largo de la presente divulgación, nos permitimos señalar que el capítulo descriptivo proporciona una completa lista de genes de ejemplo cuya secuencia es conocida y los cuales codifican para cada una de las enzimas divulgadas con funciones específicas.

Inclusive, reiteramos que cada uno de los genes citados se acompaña de su respectivo números GenBank Accession y números únicos GI, los cuales permiten que cualquier persona versada en la materia pueda acceder a la secuencia de nucleótidos específica de cada uno de dichos genes, constituyendo esta materia libre y completamente disponible al público.

A manera de ejemplo, citamos el numeral (ii) de la reivindicación 1, a lo largo del cual se cita una ruta metabólica que involucra entre cuatro y siete encimas, dentro de las cuales se encuentran las siguientes:

- 3-hidroxiopropanoil-CoA acetiltransferasa (paso catalítico A, Fig. 19)
- 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil reductasa (paso catalítico B, Fig. 19)
- acrilil-CoA acetiltransferasa (paso catalítico M, Fig. 19)
- 3-oxo-5-hidroxi-pentanoato reductasa (paso catalítico I, Fig. 19)



Adaptado de Figura 19, capítulo descriptivo

Con referencia a las enzimas 3-hidroxipropanoil-CoA acetiltransferasa (paso catalítico A, Fig. 19) y acrilil-CoA acetiltransferasa (paso catalítico M, Fig. 19), solicitamos sea tenido en cuenta que el Ejemplo XV del capítulo descriptivo expone una gran cantidad de enzimas beta-cetotiolasas que han sido descritas hasta el momento y representan enzimas que pueden ser utilizadas como parte de dichos pasos, incluyendo por ejemplo la 3-oxoadipil-CoA tiolasa (EC 2.3.1.174), enzima que se encuentra ampliamente presente en bacterias y hongos del suelo como *Pseudomonas putida* (Harwood *et al.*, *J Bacteriol.* 176:6479-6488 (1994)) y *Acinetobacter calcoaceticus* (Doten *et al.*, *J Bacteriol.* 169:3168-3174 (1987)).

Adicionalmente, el citado Ejemplo XV menciona que los productos génicos codificados por *pcaF* en la cepa de *Pseudomonas B13* (Kaschabek *et al.*, *J Bacteriol.* 184:207-215 (2002)), *phaD* en *Pseudomonas putida U* (Olivera *et al.*, *Proc.Natl.Acad.Sci U.S.A* 95:6419-6424 (1998)), *paaE* en *Pseudomonas fluorescens ST* (Di *et al.*, *Arch.Microbiol* 188:117-125 (2007)), y *paaJ* de *E. coli* (Nogales *et al.*, *Microbiology* 153:357-365 (2007)) también catalizan dicha transformación. Incluso se mencionan genes capaces de codificar enzimas del tipo beta-cetotiolasa, los cuales incluyen *bkt* de *Pseudomonas putida*, *pcaF* y *bkt* de *Pseudomonas aeruginosa PAO1*, *bkt* de *Burkholderia ambifaria* AMMD, *paaJ* de *E. coli*, y *phaD* de *P. putida*, lo cual demuestra que la presente divulgación sí hace referencia a secuencias específicas de ácidos nucleicos exógenos relacionados con la presente invención.

Más aún, destacamos que el capítulo descriptivo de la presente solicitud proporciona la siguiente tabla en donde se compilan los números GenBank Accession y números únicos GI relacionados con la materia referenciada anteriormente:

Nombre del gen	GI#	GenBank Accession #	Organismo
<i>paaJ</i>	16129358	NP_415915.1	<i>Escherichia coli</i>
<i>pcaF</i>	17736947	AAL02407	<i>Pseudomonas knackmussii</i> (B13)
<i>phaD</i>	3253200	AAC24332.1	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>pcaF</i>	506695	AAA85138.1	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>pcaF</i>	141777	AAC37148.1	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
<i>paaE</i>	106636097	ABF82237.1	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>bkt</i>	115360515	YP_777652.1	<i>Burkholderia ambifaria</i> AMMD
<i>bkt</i>	9949744	AAG06977.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1
<i>pcaF</i>	9946065	AAG03617.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1

Adaptada de Ejemplo XV, capítulo descriptivo

Dicho esto, insistimos una vez más en que la información divulgada por la presente solicitud es suficiente para que cualquier versado en la materia se vea en plena capacidad de reproducir correctamente la invención divulgada, hecho que sustenta la falta de fundamentos que acompaña las objeciones del señor Examinador.

En cuanto a las enzimas 3-oxo-5-hidroxipentanoil reductasa (paso catalítico B, Fig. 19) y 3-oxo-5-hidroxipentanoato reductasa (paso catalítico I, Fig. 19), vale la pena mencionar que el Ejemplo XV presentado en el actual capítulo descriptivo también enseña una serie de genes de ejemplo que codifican para las enzimas del tipo alcohol deshidrogenasa o su equivalente aldehído reductasa, dentro de las cuales se encuentra el gen *alrA* que codifica una alcohol deshidrogenasa de cadena media para C2-C14 (Tani *et al.*, *Appl.Environ.Microbiol.* 66:5231-5235 (2000)), *yqhD* y *fucO* de *E. coli* (Sulzenbacher *et al.*, 342:489-502 (2004)), y *bdh* I y *bdh* II de *C. acetobutylicum* la cual convierte butiraldehído en butanol (Walter *et al.*, 174:7149-7158 (1992)).

Otras enzimas que pueden ser consideradas como ejemplo incluyen *YqhD* (Sulzenbacher *et al.*, 342:489-502 (2004); Perez *et al.*, *J Biol.Chem.* 283:7346-7353 (2008)), *AdhA* de *Zymomonas mobilisE* (Kinoshita *et al.*, *Appl Microbiol Biotechnol* 22:249-254 (1985)), *Bdh* de *C. saccharoperbutylacetonicum*, *Cbei_1722*, *Cbei_2181* y *Cbei_2421* presente en *C. Beijerinckii*, y las aldehído reductasas *GRE3*, *ALD2-6* y *HFD1*, glioxilato reductasas *GOR1* y *YPL113C* y la glicerol deshidrogenasa *GCY1* de

Saccharomyces cerevisiae (WO 2011/022651A1; Atsumi *et al.*, *Nature* 451:86-89 (2008)), lo cual ratifica una vez más que las divulgaciones de la presente solicitud son completas y suficientes.

En complemento de dichas referencias, el Ejemplo XV también da a conocer la siguiente tabla que resume números GenBank Accession y números únicos GI relacionados con cada uno de los productos génicos y enzimas referidos anteriormente:

Proteína	GENBANK ID	NÚMERO GI	ORGANISMO
<i>alrA</i>	BAB12273.1	9967138	<i>Acinetobacter</i> sp. strain M-1
<i>ADH2</i>	NP_014032.1	6323961	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>yqhD</i>	NP_417484.1	16130909	<i>Escherichia coli</i>
<i>fucO</i>	NP_417279.1	16130706	<i>Escherichia coli</i>
<i>bdh I</i>	NP_349892.1	15896543	<i>Clostridium acetobutlicum</i>
<i>bdh II</i>	NP_349891.1	15896542	<i>Clostridium acetobutlicum</i>
<i>adhA</i>	YP_162971.1	56552132	<i>Zymomonas mobilis</i>
<i>bdh</i>	BAF45463.1	124221917	<i>Clostridium saccharoperbutylacetonicum</i>
<i>Cbei_1722</i>	YP_001308850	150016596	<i>Clostridium beijerinckii</i>
<i>Cbei_2181</i>	YP_001309304	150017050	<i>Clostridium beijerinckii</i>
<i>Cbei_2421</i>	YP_001309535	150017281	<i>Clostridium beijerinckii</i>
<i>GRE3</i>	P38715.1	731691	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>ALD2</i>	CAA89806.1	825575	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>ALD3</i>	NP_013892.1	6323821	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>ALD4</i>	NP_015019.1	6324950	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>ALD5</i>	NP_010996.2	330443526	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>ALD6</i>	ABX39192.1	160415767	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>HFD1</i>	Q04458.1	2494079	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>GOR1</i>	NP_014125.1	6324055	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>YPL113C</i>	AAB68248.1	1163100	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>GCY1</i>	CAA99318.1	1420317	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Adaptada de Ejemplo XV, capítulo descriptivo

Tal y como sucede en el caso de las cuatro enzimas ejemplificadas anteriormente, el Ejemplo XV del capítulo descriptivo proporciona genes de ejemplo y otra

información relativa a las demás enzimas mencionadas en el numeral (ii) de la reivindicación 1, incluyendo números GenBank Accession y números únicos GI relacionados con las enzimas 3,5-dihidroxipentanoil-CoA deshidratasa (paso catalítico C, Fig. 19), 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa (paso catalítico F, Fig. 19), 3,5-dihidroxipentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa (paso catalítico G, Fig. 19), 5-hidroxipent-2-enoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa (paso catalítico H, Fig. 19), 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa (paso catalítico J, Fig. 19), 3-hidroxipropanoil-CoA deshidratasa (paso catalítico K, Fig. 19), 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA deshidratasa (paso catalítico L, Fig. 19), 3,5-dihidroxipentanoate descarboxilasa (paso catalítico U, Fig. 19), 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa (paso catalítico V, Fig. 19), materia que respalda y sustenta de manera apropiada la totalidad de la materia reivindicada.

Tomando como muestra relevante el ejemplo presentado anteriormente – mediante el cual asumimos demostrado que la totalidad de las enzimas referidas en el numeral (ii) de la reivindicación 1 cuentan con el debido sustento en las divulgaciones del capítulo descriptivo–, solicitamos sea reconocido que no hay razón para objetarle falta de claridad o sustento a la presente divulgación puesto que, extrapolando la situación expuesta, el capítulo descriptivo hace mención apropiada de las secuencias nucleotídicas concernientes a la presente invención.

Así las cosas, consideramos que el señor Examinador no cuenta con ningún tipo de respaldo o argumento que le permita afirmar que *“no se proporciona la secuencia de nucleótidos del ácido nucleico exógeno y tampoco la especie de la cual se ha obtenido para la realización del microorganismo recombinante”*, pues es evidente que el capítulo descriptivo, en conjunto con el pliego reivindicatorio, constituyen una divulgación completa y suficiente del objeto de la presente invención.

ii. Especies de origen:

Por otra parte, encontramos que el señor Examinador afirma que la presente divulgación no proporciona información referente a las especies de origen a partir

14

de las cuales se obtiene el organismo microbiano aquí reivindicado, con lo cual nos encontramos completamente en desacuerdo dadas las siguientes circunstancias:

En principio, nos permitimos destacar que el capítulo descriptivo proporciona enseñanzas e instrucciones suficientes respecto a qué organismo microbiano hospedero emplear como punto de partida para el desarrollo de la presente invención, situación que es evidente dado el siguiente fragmento:

*“Los organismos microbianos hospederos se pueden seleccionar de, y los organismos microbianos que no se originan naturalmente generar en, por ejemplo, bacterias, levaduras, hongos, o cualesquiera de una variedad de otros microorganismos aplicables a los procesos de fermentación. Las bacterias ejemplares incluyen especies seleccionadas de Escherichia coli, Klebsiella oxytoca, Anaerobiospirillum succiniciproducens, Actinobacillus succinogenes, Mannheimia succiniciproducens, Rhizobium etli, Bacillus subtilis, Corynebacterium glutamicum, Gluconobacter oxidans, Zymomonas mobilis, Lactococcus lactis, Lactobacillus plantarum, Streptomyces coelicolor, Clostridium acetobutyllicum, Pseudomonas fluorescens, y Pseudomonas putida. Levaduras u hongos ejemplares incluyen especies seleccionadas de Saccharomyces cerevisiae, Schizosaccharomyces pombe, Kluyveromyces lactis, Kluyveromyces marxianus, Aspergillus terreus, Aspergillus niger, Pichia pastoris, Rhizopus arrhizus, Rhizobus oryzae, y similares. E. coli es un organismo hospedero particularmente útil puesto que es un organismo microbiano bien caracterizado adecuado para ingeniería genética. **Otros organismos hospederos particularmente útiles incluyen levaduras tales como Saccharomyces cerevisiae.** Se entiende que cualesquiera organismo hospedero microbiano adecuado puede ser usado para introducir modificaciones metabólicas y/o genéticas para producir un producto deseado.”*

Adaptado del capítulo descriptivo

De acuerdo con lo señalado, el capítulo descriptivo no sólo sugiere una multiplicidad de organismos que pueden emplearse como hospedero para el desarrollo de modificaciones genéticas, sino que el mismo documento caracteriza

a las especies *E. coli* y *S. cerevisiae* como microorganismos hospederos particularmente útiles, a partir de lo cual no hay lugar a dudas respecto a qué organismo microbiano podría servir para la ejecución de la presente invención.

De hecho, es de notar que el capítulo descriptivo va más allá de simplemente indicar posibles organismos microbianos aplicables a la presente invención puesto que aborda el estudio de qué secuencias de ácidos nucleicos codificantes para enzimas particulares de la ruta biosintética de 1,3-butadieno son expresadas dependiendo del microorganismo particular seleccionado para llevar a cabo tal biosíntesis.

Por ejemplo, el capítulo descriptivo instruye respecto a qué secuencias de ácidos nucleicos puntuales –que codifiquen para tal enzima o proteína deficiente– deben ser introducidas en un hospedero determinado que carece de una o más de las enzimas o proteínas involucradas con la ruta biosintética deseada para dar lugar a la expresión exógena subsecuente de tales productos. Asimismo, pone a disposición del versado en la materia la información necesaria para actuar en caso de que, en otro caso, el hospedero seleccionado manifieste expresión endógena de algunos de los genes relacionados con la vía metabólica de interés pero carezca de otros, situación que se resolvería incorporando uno de los ácidos nucleicos que codifican para las enzimas o proteínas deficientes a fin de lograr biosintetizar exitosamente el producto 1,3-butadieno.

Con base en lo anterior, solicitamos sea reconocido que los organismos microbianos de ocurrencia no natural de la presente invención pueden ser producidos mediante (i) introducción de actividad enzimática o proteica exógena para ejecutar una ruta biosintética determinada, o la obtención de la misma mediante (ii) introducción de actividad enzimática o proteica exógena que, en conjunto con el *pool enzimático* endógeno del hospedero, derive en la obtención de 1,3-butadieno.

Por si fuera poco, llamamos la atención sobre el hecho de que dicho capítulo descriptivo también hace mención de qué microorganismos particulares pueden

ser seleccionados como punto de partida, como se puede apreciar en el siguiente aparte:

“En general, un organismo microbiano hospedero se selecciona de manera que produce el precursor de una ruta de tolueno, benceno, p-tolueno, tereftalato, (2-hidroxi-3-metil-4-oxobutoxi)fosfonato, (2-hidroxi-4-oxobutoxi)fosfonato, benzoato, estireno, 2,4-pentadienoato, 3-buten-1-ol o 1,3-butadieno, ya sea como una molécula que se produce naturalmente o como un producto diseñado por ingeniería que ya sea proporciona producción de novo de un precursor deseado o producción incrementada de un precursor naturalmente producido por el organismo microbiano hospedero. Por ejemplo, cis,cis-muconato se produce naturalmente en un organismo hospedero tal como E. coli. Como un ejemplo adicional, gliceraldehído-3-fosfato y fosfoenolpiruvato son producidos naturalmente en un organismo hospedero tal como E. coli.”

Adaptado del capítulo descriptivo

Teniendo en cuenta tales enseñanzas, concluimos que las divulgaciones del capítulo descriptivo de la presente solicitud son lo suficientemente amplias en lo que respecta a qué especies originales pueden ser usadas como punto de partida para el desarrollo de los organismos microbianos de ocurrencia no natural de la presente invención.

De conformidad con la argumentación y evidencia aquí expuesta, solicitamos respetuosamente sea reconsiderada la posición del señor Examinador puesto que, contrario a sus afirmaciones, el capítulo descriptivo sí enseña de manera amplia y suficiente todo lo relacionado con las **secuencias de ácidos nucleicos exógenos y especies de origen** necesarias para el desarrollo de la presente invención.

Concordantemente, nos permitimos solicitar de manera enfática el retiro de la objeción que cuestiona la patentabilidad de la materia reivindicada, la cual hemos demostrado se relaciona con microorganismos modificados genéticamente que en ningún momento constituyen materia tal cual es disponible en la naturaleza, y que por tanto, ha de ser vista como una invención.

Finalmente, en lo concerniente al certificado de depósito, solicitamos sea reconocido que el objeto de la presente invención ha sido descrito de manera adecuada en términos puramente textuales y su desarrollo no requiere de algún tipo de muestra biológica, razón por la cual la presentación de dicho documento resulta completamente inadecuado.

En este sentido, consideramos oportuno insistir en que **no es necesario adjuntar ningún tipo de certificado de depósito** ya que a lo largo de todo el capítulo descriptivo se hace referencia específica a números de GenBank Accession y números únicos GI relativos a los genes y/o productos génicos que como tal, constituyen materia completamente familiar para el versado en la materia.

Específicamente, es de notar que dichos números de GenBank Accession y números únicos GI hacen parte de las divulgaciones del capítulo descriptivo para proporcionar ejemplos de candidatos que pueden ser empleados a fin de obtener la actividad reivindicada entendida como la conversión de un sustrato determinado en un producto puntual.

En consecuencia, considerando que la descripción enseña y referencia información que se encuentra disponible al público a través de los números de GenBank Accesion y números únicos GI, concluimos que la persona normalmente versada en la materia se encuentra en plena capacidad de alcanzar el organismo microbiano que se reivindica sin necesidad de requerir información adicional a la mencionada, hecho que demuestra que **no hay lugar a requerir los números o certificados de depósito relativos a la presente invención.**

Del mismo modo, solicitamos el retiro de la objeción en estudio reiterando al señor Examinador que la materia contenida en el capítulo descriptivo de la presente solicitud proporciona todas las enseñanzas necesarias para la plena comprensión y ejecución de la presente invención por parte de una persona normalmente versada en la materia, razón por la que tampoco es posible analizar la suficiencia de la presente divulgación bajo el caso descrito en el Artículo 29 de la Decisión 486.

Ahora bien, frente a la objeción de novedad que afecta a la reivindicación 8 consideramos pertinente mencionar que, teniendo en cuenta las modificaciones realizadas a esta reivindicación y contrario a lo señalado por el señor Examinador, el documento D1 (WO2009111513, "*Engineered CO2 fixing microorganisms producing carbon based products of interest*") no anticipa todas las características técnicas esenciales del **medio de cultivo** reclamado.

Tal y como notará el señor Examinador, la presente invención se relaciona ahora de manera específica con **medio de cultivo** que contiene:

- a) 1,3-butadieno biosintetizado + 3-buten-1-ol biosintetizado + un organismo microbiano de ocurrencia no natural de acuerdo a la presente invención; o
- b) 1,3-butadieno biosintetizado + 2,4-pentadienoato + un organismo microbiano de ocurrencia no natural de acuerdo a la presente invención.

Luego entonces, para que el documento D1 pudiera perjudicar de manera contundente la patentabilidad de la invención descrita en la reivindicación 8, sería necesario que este anticipara la totalidad de los elementos que componen dicho medio de cultivo.

Contrario a esto, encontramos que el documento D1 se limita a divulgar una serie de rutas metabólicas enfocadas en la obtención de productos a base de carbono como el etanol, etileno, químicos, polímeros, n-alcanos, isoprenoides y otros productos a partir de dióxido de carbono y luz; materia que se **aleja** evidentemente del alcance de la presente invención.

A lo sumo, el documento D1 divulga la síntesis del compuesto 1,3butadieno, lo cual no es siquiera comparable con la invención de la objetada reivindicación 8, la cual insistimos representa un **medio de cultivo** provisto de elementos puntuales que no hacen parte de las divulgaciones del estado de la técnica.

En relación con el compuesto 3-buten-1-ol, encontramos que el documento D1 no contiene ninguna enseñanza relacionada con el mismo, sino que por el contrario, el

párrafo [0325] referenciado por el señor Examinador menciona un compuesto totalmente distinto, como demostramos a continuación:

*“En otro aspecto, la invención abarca una composición de combustible producida por la preparación de **3-metil-3-buten-1-ol** utilizando un microorganismo de fijación de dióxido de carbono, y la incorporación de **3-metil-3-buten-1-ol** en un combustible.”*

Adaptado de documento D1, párrafo [0325]

Tal y como revela el anterior fragmento, el documento D1 refiere la preparación del compuesto 3-metil-3-buten-1-ol, el cual **difiere evidentemente del 3-buten-1-ol reivindicado** pues, como será evidente para el versado en la materia, el compuesto del arte previo cuenta con un grupo metilo adicional que modifica completamente su naturaleza química.

Adicionalmente, llamamos la atención sobre el hecho que, suponiendo que el compuesto 3-metil-3-buten-1-ol del arte previo fuera deshidratado, el producto obtenido sería isopreno en lugar de 1,3-butadieno, lo cual se **aleja** indiscutiblemente de la presente invención teniendo en cuenta que según la materia reivindicada, **la deshidratación de 3-buten-1-ol deriva en la obtención de dicho 1,3-butadieno** (paso catalítico O, Fig. 21 de la presente divulgación).

Con base en lo anterior, concluimos que el documento D1 falla completamente en divulgar o anticipar la biosíntesis de 3-buten-1-ol y mucho menos anticipa la incorporación de dicho producto dentro de un medio de cultivo de las características indicadas por la reivindicación 8, la cual insistimos se mantiene novedosa e inventiva a pesar de las divulgaciones del arte previo.

Dicho esto, es nuestra intención destacar que pese que el documento D1 puede contener alguna divulgación con respecto al compuesto 1,3-butadieno, este mantiene completo silencio sobre la biosíntesis de 3-buten-1-ol y por tanto, es imposible objetar falta de novedad a la presente invención cuando el arte previo no sugiere o anticipa la totalidad de sus elementos característicos, es decir, la combinación de dichos 1,3-

butadieno y de 3-buten-1-ol en un medio de cultivo que incluye además un organismo microbiano de ocurrencia no natural de acuerdo a la presente invención (reivindicación 8 (a)).

Para el caso descrito en el numeral (b) de la misma reivindicación 8, es decir, el medio de cultivo que comprende 1,3-butadieno, 2,4-pentadienoato y un organismo microbiano de ocurrencia no natural de acuerdo a la presente invención, encontramos que el documento D1 falla igualmente en divulgar cualquier tipo de biosíntesis orientada a la obtención de 2,4-pentadienoato, razón por la que nuevamente es evidente la falta de relevancia que implica el citado arte previo para el estudio de patentabilidad de la presente invención.

Debido a esto, concluimos de manera definitiva que los elementos divulgados en el documento D1 no son suficientes para desvirtuar la novedad y nivel inventivo de la presente invención, cuya caracterización evidencia no pertenecer al estado de la técnica y derivar de la aplicación de la habilidad inventiva, siendo por tanto materia completamente meritoria del privilegio de patente que, carente de fundamentos, el señor Examinador ha denegado.

Más allá del análisis de componentes que hacen parte del medio de cultivo reclamado en la reivindicación 8, vale la pena agregar que el documento D1 guarda total silencio respecto a:

- Un organismo microbiano que comprenda (i) las rutas metabólicas y (ii) un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de dichas rutas, específicamente reclamadas en la reivindicación 1.
- La **inclusión** de un organismo microbiano de tales características como parte de un **medio de cultivo** que comprende además los elementos ya analizados, es decir, 1,3-butadieno + 3-buten-1-ol (reivindicación 8 (a)) y 1,3-butadieno + 2,4-pentadienoato (reivindicación 8 (b)).

En este orden de ideas, nos permitimos destacar que el documento D1 se limita únicamente a hacer mención del compuesto 1,3-butadieno, sin abordar en algún momento el desarrollo de un medio de cultivo como el reivindicado, el cual además comprende (a) **3-buten-1-ol biosintetizado** o (b) **2,4-pentadienoato**, y un **organismo microbiano de ocurrencia no natural**; siendo estas características técnicas que no se ven de ninguna manera anticipadas por el estado de la técnica en estudio.

Considerando lo anterior, es evidente que el documento D1, al desconocer por completo la inclusión de dichos **3-buten-1-ol biosintetizado o 2,4-pentadienoato, y un organismo microbiano de ocurrencia no natural** en combinación con el compuesto 1,3-butadieno en un medio de cultivo, falla en divulgar las características técnicas que definen el objeto y alcance de la presente invención, fallando igualmente en proporcionar el debido soporte documental a la objeción del señor Examinador, la cual consideramos infundada en consecuencia.

A raíz de lo anterior, concluimos de manera insistente que el documento D1 falla en desvirtuar la novedad de la presente invención por cuanto carece de enseñanzas relacionadas específicamente con los componentes que dan lugar al medio de cultivo reclamado en la reivindicación 8, hecho por el cual solicitamos respetuosamente sea retirada tal objeción.

De la misma manera, nos permitimos reiterar que el documento D1 falla también en poner a disposición del versado en la materia información, enseñanzas o motivación suficiente que le permita alcanzar la caracterización que da origen a la presente invención de manera obvia, razón suficiente para afirmar que la misma cuenta con la debida altura inventiva y es, por tanto, meritoria del privilegio de patente que le fue denegado.

A este respecto, notará el señor que el documento D1, guardando completo silencio sobre la inclusión de (a) **3-buten-1-ol biosintetizado** o (b) **2,4-pentadienoato**, y un **organismo microbiano de ocurrencia no natural** en un medio de cultivo que además comprende el compuesto 1,3-butadieno, no proporciona ninguna instrucción que motive la combinación específica que caracteriza a la presente invención y, por tanto, no podría instruir el desarrollo de la misma.

De hecho, consideramos que las enseñanzas del documento D1, en lugar de motivar el desarrollo de la presente invención, **alejarían** al versado en la materia de la misma al instruir o recomendar la inclusión de componentes distintos a los ya mencionados, hecho que respalda aún más nuestra posición en favor de la novedad y nivel inventivo de la invención descrita en la presente solicitud.

Así las cosas, damos por defendida una vez más la entera patentabilidad de la materia reclamada a lo largo del actual pliego reivindicatorio, la cual, a partir de las modificaciones y en vista de las aclaraciones aquí expuestas, resulta completamente novedosa e inventiva en comparación con las divulgaciones del estado de la técnica definido por el documento D1 y los conocimientos generales del versado en la materia, hecho que deseamos sea reconocido en esta instancia por parte de su Despacho.

PETICIÓN

Por las razones anteriormente expuestas, solicito a ese despacho **REVOCAR** la decisión tomada mediante la Resolución No. 11359 del 13 de Marzo de 2015 y tendiente a obtener la concesión del Privilegio de Patente de conformidad con los artículos 14 y 48 de la Decisión 486 de la comunidad Andina.

NOTIFICACIONES

Recibiré notificaciones en la Secretaría General de la Superintendencia de Industria y Comercio, o en su defecto, en mi oficina de Abogado, situada en la Calle 70ª No. 4-41 de esta ciudad de Bogotá.

Del Señor Director



JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

T.P. No. 57.492 del C.S.J.

C.C. 80.410.337 de Usaquén

Calle 70 A No. 4 - 41

REIVINDICACIONES

1. Un organismo microbiano de ocurrencia no natural que tiene
 - (i) una ruta de 1,3-butadieno que comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de 1,3-butadieno expresada en una cantidad suficiente para producir 1,3-butadieno, teniendo la citada ruta de 1,3-butadieno
 - (A) un conjunto de enzimas que comprenden Y. 3-hidroxi-pent-4-enoato descarboxilasa, en donde el citado conjunto conjunto de enzimas se selecciona del grupo conformado por:
 - (a) 1) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 2) N. 3-oxopent-4-enoil-CoA reductasa, 3) T. 3-hidroxi-pent-4-enoil-CoA transferasa, sintetasa o hidrolasa, y 4) Y. 3-hidroxi-pent-4-enoato descarboxilasa;
 - (b) 1) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 2) O. 3-oxopent-4-enoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 3) P. 3-oxopent-4-enoato reductasa, y 4) Y. 3-hidroxi-pent-4-enoato descarboxilasa;
 - (c) 1) K. 3-hidroxi-propanoil-CoA deshidratasa, 2) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 3) N. 3-oxopent-4-enoil-CoA reductasa, 4) T. 3-hidroxi-pent-4-enoil-CoA transferasa, sintetasa o hidrolasa, y 5) Y. 3-hidroxi-pent-4-enoato descarboxilasa;
 - (d) 1) K. 3-hidroxi-propanoil-CoA deshidratasa, 2) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 3) O. 3-oxopent-4-enoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 4) P. 3-oxopent-4-enoato reductasa, y 5) Y. 3-hidroxi-pent-4-enoato descarboxilasa;
 - (e) 1) A. 3-hidroxi-propanoil-CoA acetiltransferasa, 2) L. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 3) N. 3-oxopent-4-enoil-CoA reductasa, 4) T. 3-hidroxi-pent-4-enoil-CoA transferasa, sintetasa o hidrolasa, y 5) Y. 3-hidroxi-pent-4-enoato descarboxilasa; y
 - (f) 1) A. 3-hidroxi-propanoil-CoA acetiltransferasa, 2) L. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 3) O. 3-oxopent-4-enoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 4) P. 3-oxopent-4-enoato reductasa, y 5) Y. 3-hidroxi-pent-4-enoato descarboxilasa;

25

(B) la citada ruta 1,3-butadieno seleccionada del grupo conformado por:

- (a) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato deshidrogenasa; 4) una 2-fumarilacetato descarboxilasa; 5) una 3-oxopent-4-enoato reductasa; y 6) una 3-hidroxi-pent-4-enoato descarboxilasa;
- (b) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato deshidrogenasa; 4) una 2-fumarilacetato descarboxilasa; 5) una 3-oxopent-4-enoato reductasa; 6) una 3-hidroxi-pent-4-enoato deshidratasa; y 7) una 2,4-pentadienoato descarboxilasa;
- (c) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato deshidrogenasa; 4) una 2-fumarilacetato reductasa; 5) una 3-hidroxi-hex-4-endoato descarboxilasa; y 6) una 3-hidroxi-pent-4-enoato descarboxilasa;
- (d) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato deshidrogenasa; 4) una 2-fumarilacetato reductasa; 5) una 3-hidroxi-hex-4-endoato descarboxilasa; 6) una 3-hidroxi-pent-4-enoato deshidratasa; y 7) una 2,4-pentadienoato descarboxilasa;
- (e) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato reductasa; 4) una 3-hidroxiadipato deshidrogenasa; 5) una 3-hidroxi-hex-4-endoato descarboxilasa; y 6) una 3-hidroxi-pent-4-enoato descarboxilasa;
- (f) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato reductasa; 4) una 3-hidroxiadipato deshidrogenasa; 5) una 3-hidroxi-hex-4-

endioato descarboxilasa; 6) una 3-hidroxipent-4-enoato deshidratasa; y 7) una 2,4-pentadienoato descarboxilasa;

- (g) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA reductasa; una 3-hidroxiadipil-CoA transferasa, una 3-hidroxiadipil-CoA sintetasa o una 3-hidroxiadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-hidroxiadipato deshidrogenasa; 4) una 3-hidroxihex-4-endioato descarboxilasa; y 5) una 3-hidroxipent-4-enoato descarboxilasa; y
- (h) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA reductasa; una 3-hidroxiadipil-CoA transferasa, una 3-hidroxiadipil-CoA sintetasa o una 3-hidroxiadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-hidroxiadipato deshidrogenasa; 4) una 3-hidroxihex-4-endioato descarboxilasa; 5) una 3-hidroxipent-4-enoato deshidratasa; y 6) una 2,4-pentadienoato descarboxilasa;

y en donde el citado organismo microbiano comprende opcionalmente además

- (i) una ruta de TCA reductor, en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de TCA reductor, en donde el citado por lo menos un ácido nucleico exógeno se selecciona de una ATP-citrato liasa, una citrato liasa, una fumarato reductasa, y una alfa-ketoglutarato:ferredoxina oxidorreductasa;
- (ii) una ruta de TCA reductor, en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de TCA reductor, en donde el citado por lo menos un ácido nucleico exógeno se selecciona de una piruvato:ferredoxina oxidorreductasa, una fosfoenolpiruvato carboxilasa, una fosfoenolpiruvato carboxinasa, una CO deshidrogenasa, y una H₂ hidrogenasa; o
- (iii) por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima seleccionada del grupo conformado por una CO deshidrogenasa, una H₂ hidrogenasa, y combinaciones de las anteriores;

28

y en donde el citado organismo microbiano comprende opcionalmente además

1. un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima seleccionada de una piruvato:ferredoxina oxidorreductasa, una aconitasa, una isocitrato deshidrogenasa, una succinil-CoA sintetasa, una succinil-CoA transferasa, una fumarasa, una malato deshidrogenasa, una acetato cinasa, una fosfotransacetilasa, una acetil-CoA sintetasa, una NAD(P)H:ferredoxina oxidorreductasa, ferredoxina, y combinaciones de las anteriores; o
2. un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima seleccionada de una aconitasa, una isocitrato deshidrogenasa, una succinil-CoA sintetasa, una succinil-CoA transferasa, una fumarasa, una malato deshidrogenasa, y combinaciones de las anteriores;

(C) que tiene un conjunto de enzimas que comprende una 2,4-pentadieno descarboxilasa o una 3-buten-1-ol deshidratasa, en donde el citado conjunto de enzimas se selecciona del grupo conformado por:

- (a) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de aldehído); 4) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 6) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa; y 7) una 2,4-pentadieno descarboxilasa;
- (b) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de aldehído); 4) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 6) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa; y 7) una 3-buten-1-ol deshidratasa;
- (c) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de aldehído); 4) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa; y 6) una 3-buten-1-ol deshidratasa;

- (d) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de CoA y formadora de alcohol); 3) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 4) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 5) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa; y 6) una 2,4-pentadieno descarboxilasa;
- (e) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de CoA y formadora de alcohol); 3) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 4) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 5) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa; y 6) una 3-buten-1-ol deshidratasa;
- (f) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de CoA y formadora de alcohol); 3) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 4) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa; y 5) una 3-buten-1-ol deshidratasa;
- (g) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de acetona); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 6) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa; y 7) una 2,4-pentadieno descarboxilasa;
- (h) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de acetona); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 6) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa; y 7) una 3-buten-1-ol deshidratasa;
- (i) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de acetona); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa; y 6) una 3-buten-1-ol deshidratasa;
- (j) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) a 3,5-

dihidroxipentanoato deshidratasa; 6) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa; y 7) una 2,4-pentadieno descarboxilasa;

- (k) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 6) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa; y 7) una 3-buten-1-ol deshidratasa;
- (l) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa; y 6) una 3-buten-1-ol deshidratasa;
- (m) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de alcohol); 4) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 5) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa; y 6) una 2,4-pentadieno descarboxilasa;
- (n) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de alcohol); 4) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 5) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa; y 6) una 3-buten-1-ol deshidratasa; y
- (o) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de alcohol); 4) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa; y 5) una 3-buten-1-ol deshidratasa;

y en donde el citado organismo microbiano comprende opcionalmente además

- (i) una ruta de TCA reductor, en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de TCA reductor, en donde el citado por lo menos un ácido nucleico exógeno se selecciona de una ATP-citrato liasa, una citrato liasa, una

fumarato reductasa, y una alfa-ketoglutarato:ferredoxina oxidorreductasa;

- (ii) una ruta de TCA reductor, en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de TCA reductor, en donde el citado por lo menos un ácido nucleico exógeno se selecciona de una piruvato:ferredoxina oxidorreductasa, una fosfoenolpiruvato carboxilasa, una fosfoenolpiruvato carboxicinasa, una CO deshidrogenasa, y una H₂ hidrogenasa; o
- (iii) por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima seleccionada del grupo conformado por una CO deshidrogenasa, una H₂ hidrogenasa, y combinaciones de las anteriores;

y en donde el citado organismo microbiano comprende opcionalmente además

1. un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima seleccionada de una piruvato:ferredoxina oxidorreductasa, una aconitasa, una isocitrato deshidrogenasa, una succinil-CoA sintetasa, una succinil-CoA transferasa, una fumarasa, una malato deshidrogenasa, una acetato cinasa, una fosfotransacetilasa, una acetil-CoA sintetasa, una NAD(P)H:ferredoxina oxidorreductasa, ferredoxina, y combinaciones de las anteriores; o
2. un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima seleccionada de una aconitasa, una isocitrato deshidrogenasa, una succinil-CoA sintetasa, una succinil-CoA transferasa, una fumarasa, una malato deshidrogenasa, y combinaciones de las anteriores;

(D) se selecciona del grupo conformado por

- (a) 1) *trans*, *trans*-muconato descarboxilasa y 2) *trans*-2,4-pentadienoato descarboxilasa;
- (b) 1) *cis*, *trans*-muconato *cis*-descarboxilasa y 2) *trans*-2,4-pentadienoato descarboxilasa;
- (c) 1) *cis*, *trans*-muconato *trans*-descarboxilasa y 2) *cis*-2,4-pentadienoato descarboxilasa;

- (d) 1) *cis, cis*-muconato descarboxilasa y 2) *cis*-2,4-pentadienoato descarboxilasa;
 - (e) *cis*-2,4-pentadienoato descarboxilasa; y
 - (f) *trans*-2,4-pentadienoato descarboxilasa;
- (ii) una ruta de 1,3-butadieno que comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de 3-buten-1-ol expresada en una cantidad suficiente para producir 3-buten-1-ol, teniendo la citada ruta de 3-buten-1-ol
- (A) un conjunto de enzimas que comprende U. 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa o V. 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa, en donde el citado conjunto de enzimas se selecciona del grupo conformado por:
- (a) 1) A. 3-hidroxiopropanoil-CoA acetiltransferasa, 2) F. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 3) I. 3-oxo-5-hidroxipentanoato reductasa, y 4) U. 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa;
 - (b) 1) A. 3-hidroxiopropanoil-CoA acetiltransferasa, 2) F. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 3) I. 3-oxo-5-hidroxipentanoato reductasa, 4) J. 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa, y 5) V. 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa;
 - (c) 1) A. 3-hidroxiopropanoil-CoA acetiltransferasa, 2) B. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA reductasa, 3) G. 3,5-dihidroxipentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 4) U. 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa;
 - (d) 1) A. 3-hidroxiopropanoil-CoA acetiltransferasa, 2) B. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA reductasa, 3) G. 3,5-dihidroxipentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 4) J. 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa, y 5) V. 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa;
 - (e) 1) A. 3-hidroxiopropanoil-CoA acetiltransferasa, 2) B. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA reductasa, 3) C. 3,5-dihidroxipentanoil-CoA deshidratasa, 4) H. 5-hidroxipent-2-enoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, y 5) V. 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa;

32

- (f) 1) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 2) L. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 3) F. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 4) I. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoato reductasa, y 5) U. 3,5-dihidroxi-pentanoato descarboxilasa;
- (g) 1) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 2) L. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 3) F. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 4) I. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoato reductasa, 5) J. 3,5-dihidroxi-pentanoato deshidratasa, y 6) V. 5-hidroxi-pent-2-enoato descarboxilasa;
- (h) 1) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 2) L. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 3) B. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA reductasa, 4) G. 3,5-dihidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, y 5) U. 3,5-dihidroxi-pentanoato descarboxilasa;
- (i) 1) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 2) L. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 3) B. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA reductasa, 4) G. 3,5-dihidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 5) J. 3,5-dihidroxi-pentanoato deshidratasa, 6) V. 5-hidroxi-pent-2-enoato descarboxilasa;
- (j) 1) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 2) L. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 3) B. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA reductasa, 4) C. 3,5-dihidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 5) H. 5-hidroxi-pent-2-enoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, y 6) V. 5-hidroxi-pent-2-enoato descarboxilasa;
- (k) 1) K. 3-hidroxi-propanoil-CoA deshidratasa, 2) A. 3-hidroxi-propanoil-CoA acetiltransferasa, 3) F. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 4) I. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoato reductasa, 5) U. 3,5-dihidroxi-pentanoato descarboxilasa;
- (l) 1) K. 3-hidroxi-propanoil-CoA deshidratasa, 2) A. 3-hidroxi-propanoil-CoA acetiltransferasa, 3) F. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 4) I. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoato reductasa, 5) J. 3,5-

dihidroxipentanoato deshidratasa, y 6) V. 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa;

- (m) 1) K. 3-hidroxipropanoil-CoA deshidratasa, 2) A. 3-hidroxipropanoil-CoA acetiltransferasa, 3) B. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA reductasa, 4) G. 3,5-dihidroxipentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, y 5) U. 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa;
- (n) 1) K. 3-hidroxipropanoil-CoA deshidratasa, 2) A. 3-hidroxipropanoil-CoA acetiltransferasa, 3) B. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA reductasa, 4) G. 3,5-dihidroxipentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 5) J. 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa, y 6) V. 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa;
- (o) 1) K. 3-hidroxipropanoil-CoA deshidratasa, 2) A. 3-hidroxipropanoil-CoA acetiltransferasa, 3) B. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA reductasa, 4) C. 3,5-dihidroxipentanoil-CoA deshidratasa, 5) H. 5-hidroxipent-2-enoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, y 6) V. 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa;
- (p) 1) K. 3-hidroxipropanoil-CoA deshidratasa, 2) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 3) L. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA deshidratasa, 4) F. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 5) I. 3-oxo-5-hidroxipentanoato reductasa, y 6) U. 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa;
- (q) 1) K. 3-hidroxipropanoil-CoA deshidratasa, 2) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 3) L. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA deshidratasa, 4) F. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 5) I. 3-oxo-5-hidroxipentanoato reductasa, 6) J. 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa, y 7) V. 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa;
- (r) 1) K. 3-hidroxipropanoil-CoA deshidratasa, 2) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 3) L. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA deshidratasa, 4) B. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA reductasa, 5) G. 3,5-dihidroxipentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 6) U. 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa;
- (s) 1) K. 3-hidroxipropanoil-CoA deshidratasa, 2) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 3) L. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA

deshidratasa, 4) B. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA reductasa, 5) G. 3,5-dihidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 6) J. 3,5-dihidroxi-pentanoato deshidratasa, y 7) V. 5-hidroxi-pent-2-enoato descarboxilasa; y

- (t) 1) K. 3-hidroxi-propanoil-CoA deshidratasa, 2) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 3) L. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 4) B. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA reductasa, 5) C. 3,5-dihidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 6) H. 5-hidroxi-pent-2-enoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, y 7) V. 5-hidroxi-pent-2-enoato descarboxilasa;

y en donde el citado organismo microbiano comprende opcionalmente además una 3-buten-1-ol deshidratasa para convertir 3-buten-1-ol en 1,3-butadieno;

- (iii) un ruta de tolueno, y en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de tolueno expresada en una cantidad suficiente para producir tolueno, en donde la citada ruta de tolueno

(A) se selecciona del grupo conformado por:

- (a) 1) una o ambas de fenilalanina aminotransferasa y fenilalanina oxidorreductasa (desaminante), 2) fenilpiruvato descarboxilasa, y 3) fenilacetaldehído descarboxilasa;
- (b) 1) una o más de fenilalanina aminotransferasa y fenilalanina oxidorreductasa (desaminante), 2) fenilpiruvato descarboxilasa, 3) una o más de fenilacetaldehído deshidrogenasa y fenilacetaldehído oxidasa, y 4) fenilacetato descarboxilasa;
- (c) 1) una o más de fenilalanina aminotransferasa y fenilalanina oxidorreductasa (desaminante), 2) fenilpiruvato oxidasa, y 3) fenilacetato descarboxilasa; y
- (d) 1) fenilalanina aminotransferasa y/o fenilalanina oxidorreductasa (desaminante), 2) fenilpiruvato oxidasa y 3) fenilacetato descarboxilasa; o

(B) se selecciona de un conjunto de enzimas de ruta seleccionadas del grupo conformado por:

- (a) *p*-toluato descarboxilasa;

- (b) 1) *p*-toluato reductasa y 2) *p*-metilbenzaldehído descarbonilasa;
- (c) 1) *p*-toluato cinasa, 2) (*p*-metilbenzoiloxi)fosfonato reductasa, y 3) *p*-metilbenzaldehído descarbonilasa;
- (d) 1) *p*-metilbenzoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 2) fosfotrans-*p*-metilbenzoilasa, 3) (*p*-metilbenzoiloxi)fosfonato reductasa, y 4) *p*-metilbenzaldehído descarbonilasa;
- (e) 1) *p*-metilbenzoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 2) *p*-metilbenzoil-CoA reductasa y 3) *p*-metilbenzaldehído descarbonilasa,
- (f) 1) *p*-metilbenzoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, y 2) *p*-toluato descarboxilasa,
- (g) 1) *p*-metilbenzoil-CoA reductasa y 2) *p*-metilbenzaldehído descarbonilasa,
- (h) 1) fosfotrans-*p*-metilbenzoilasa, 2) (*p*-metilbenzoiloxi)fosfonato reductasa, y 3) *p*-metilbenzaldehído descarbonilasa,
- (i) 1) fosfotrans-*p*-metilbenzoilasa, 2) *p*-toluato cinasa, y 3) *p*-toluato descarboxilasa,
- (j) 1) fosfotrans-*p*-metilbenzoilasa, 2) *p*-toluato cinasa, 3) *p*-toluato reductasa, y 4) *p*-metilbenzaldehído descarbonilasa;
- (k) 1) fosfotrans-*p*-metilbenzoilasa, 2) (*p*-metilbenzoiloxi)fosfonato reductasa (desfosforilante), y 3) *p*-metilbenzaldehído descarbonilasa; y
- (l) 1) *p*-metilbenzoil-CoA reductasa y 2) *p*-metilbenzaldehído descarbonilasa;

y en donde el citado organismo microbiano comprende opcionalmente además:

- (i) una ruta de *p*-toluato, en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de *p*-toluato expresada en una cantidad suficiente para producir *p*-toluato, la citada ruta de *p*-toluato comprendiendo 2-dehidro-3-desoxifosfoheptonato sintasa; 3-dehidroquinato sintasa; 3-dehidroquinato deshidratasa; shikimato deshidrogenasa; shikimato

cinasa; 3-fosfoshikimato-2-carboxiviniltransferasa; corismato sintasa; y corismato liasa; o

(ii) una ruta de (2-hidroxi-3-metil-4-oxobutoxi)fosfonato que comprende DXP sintasa, DXP reductoisomerasa, y 2ME4P deshidratasa;

(iv) una ruta de benceno, y en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de benceno expresada en una cantidad suficiente para producir benceno, en donde la citada ruta de benceno

(A) comprende una fenilalanina benceno-liasa; o

(B) se selecciona de un conjunto de enzimas de la ruta seleccionadas del grupo conformado por

(a) 1) benzoato descarboxilasa;

(b) 1) benzoato reductasa y 2) benzaldehído descarbonilasa;

(c) 1) benzoato cinasa, 2) (benzoiloxi)fosfonato reductasa, y 3) benzaldehído descarbonilasa;

(d) 1) (benzoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 2) fosfotransbenzoilasa, 3) (benzoiloxi)fosfonato reductasa, y 4) benzaldehído descarbonilasa;

(e) 1) benzoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 2) benzoil-CoA reductasa y 3) benzaldehído descarbonilasa,

(f) 1) benzoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, y 2) benzoato descarboxilasa,

(g) 1) benzoil-CoA reductasa y 2) benzaldehído descarbonilasa,

(h) 1) fosfotransbenzoilasa, 2) (benzoiloxi)fosfonato reductasa, y 3) benzaldehído descarbonilasa,

(i) 1) fosfotransbenzoilasa, 2) benzoato cinasa, y 3) benzoato descarboxilasa,

(j) 1) fosfotransbenzoilasa, 2) benzoato cinasa, 3) benzoato reductasa, y 4) benzaldehído descarbonilasa;

(k) 1) fosfotransbenzoilasa, 2) (benzoiloxi)fosfonato reductasa, y 3) benzaldehído descarbonilasa; y

(l) 1) benzoil-CoA reductasa y 2) benzaldehído descarbonilasa;

y en donde el citado organismo microbiano comprende opcionalmente además:

(i) una ruta de benzoato, en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de benzoato expresada en una cantidad suficiente para producir benzoato, la citada ruta de benzoato comprendiendo 2-dehidro-3-desoxifosfoheptonato sintasa; 3-dehidroquinato sintasa; 3-dehidroquinato deshidratasa; shikimato deshidrogenasa; shikimato cinasa; 3-fosfoshikimato-2-carboxiviniltransferasa; corismato sintasa; y corismato liasa; o

(ii) una ruta de (2-hidroxi-4-oxobutoxi)fosfonato que comprende eritrosa-4-fosfato deshidratasa y (2,4-dioxobutoxi)fosfonato reductasa

(v) una ruta de estireno, y en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de estireno expresada en una cantidad suficiente para producir estireno, la citada ruta de estireno seleccionada del grupo conformado por:

(a) 1) benzoil-CoA acetiltransferasa, 2) una o más de 3-oxo-3-fenilpropionil-CoA sintetasa, transferasa, e hidrolasa, 3) benzoil-acetato descarboxilasa, 4) acetofenona reductasa, y 5) 1-feniletanol deshidratasa; y

(b) 1) benzoil-CoA acetiltransferasa, 2) fosfotrans-3-oxo-3-fenilpropionilasa, 3) benzoil-acetato cinasa, 4) benzoil-acetato descarboxilasa, 5) acetofenona reductasa, y 6) 1-feniletanol deshidratasa;

(vi) una ruta de (2-hidroxi-4-oxobutoxi)fosfonato, y en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de (2-hidroxi-4-oxobutoxi)fosfonato expresada en una cantidad suficiente para producir (2-hidroxi-4-oxobutoxi)fosfonato, la citada ruta de (2-hidroxi-4-oxobutoxi)fosfonato comprendiendo eritrosa-4-fosfato deshidratasa y (2,4-dioxobutoxi)fosfonato reductasa;

(vii) una ruta de benzoato, y en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de

benzoato expresada en una cantidad suficiente para producir benzoato, la citada ruta de benzoato comprendiendo 2-dehidro-3-desoxifosfoheptonato sintasa; 3-dehidroquinato sintasa; 3-dehidroquinato deshidratasa; shikimato deshidrogenasa; shikimato cinasa; 3-fosfoshikimato-2-carboxiviniltransferasa; corismato sintasa; y corismato liasa;

y en donde el citado organismo microbiano comprende opcionalmente además una ruta de (2-hidroxi-4-oxobutoxi)fosfonato que comprende eritrosa-4-fosfato deshidratasa y (2,4-dioxobutoxi)fosfonato reductasa;

- (viii) una ruta de 2,4-pentadienoato, y en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de 2,4-pentadienoato expresada en una cantidad suficiente para producir 2,4-pentadienoato, en donde la citada ruta de 2,4-pentadienoato

(A) tiene un conjunto de enzimas seleccionadas del grupo conformado por:

- (a) 1) una 4-hidroxi-2-oxovalerato aldolasa, 2) una 4-hidroxi-2-oxovalerato deshidratasa, 3) una 2-oxopentenoato reductasa, y 4) una 2-hidroxipentenoato deshidratasa;
- (b) 1) una AKP desaminasa, 2) una acetilacrilato reductasa, y 3) una 4-hidroxipent-2-enoato deshidratasa;
- (c) 1) una AKP aminotransferasa y/o deshidrogenasa, 2) una 2,4-dioxopentanoato-2-reductasa, 3) una 2-hidroxi-4-oxopentanoato deshidratasa, 4) una acetilacrilato reductasa, y 5) una 4-hidroxipent-2-enoato deshidratasa;
- (d) 1) una AKP aminotransferasa y/o deshidrogenasa, 2) una 2,4-dioxopentanoato-4-reductasa, 3) una 4-hidroxi-2-oxovalerato deshidratasa, 4) una 2-oxopentenoato reductasa, y 5) una 2-hidroxipentenoato deshidratasa; y
- (e) 1) una AKP reductasa, 2) una 2-amino-4-hidroxipentanoato aminotransferasa y/o deshidrogenasa, 3) una 4-hidroxi-2-oxovalerato deshidratasa, 4) una 2-oxopentenoato reductasa, y 5) una 2-hidroxipentenoato deshidratasa;

y en donde el citado organismo microbiano comprende opcionalmente además

- (i) una 2,4-pentadienoato descarboxilasa expresada en una cantidad suficiente para producir 1,3-butadieno por conversión de 2,4-pentadienoato en 1,3-butadieno; o

- (ii) por lo menos una de una AKP tiolasa, una ornitina 4,5-aminomutasa, una 2,4-diaminopentanoato 4-aminotransferasa y una 2,4-diaminopentanoato 4-deshidrogenasa;

(B) tiene un conjunto de enzimas seleccionadas del grupo conformado por:

- (a) 1) A. 3-hidroxiopropanoil-CoA acetiltransferasa, 2) B. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA reductasa, 3) C. 3,5-dihidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 4) D. 5-hidroxi-pent-2-enoil-CoA deshidratasa, y 5) E. pent-2,4-dienoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa;
- (b) 1) A. 3-hidroxiopropanoil-CoA acetiltransferasa, 2) B. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA reductasa, 3) G. 3,5-dihidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 4) J. 3,5-dihidroxi-pentanoato deshidratasa, 5) H. 5-hidroxi-pent-2-enoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 6) D. 5-hidroxi-pent-2-enoil-CoA deshidratasa, y 7) E. pent-2,4-dienoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa;
- (c) 1) A. 3-hidroxiopropanoil-CoA acetiltransferasa, 2) F. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 3) I. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoato reductasa, 4) G. 3,5-dihidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 5) C. 3,5-dihidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 6) D. 5-hidroxi-pent-2-enoil-CoA deshidratasa, y 7) E. pent-2,4-dienoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa;
- (d) 1) A. 3-hidroxiopropanoil-CoA acetiltransferasa, 2) F. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 3) I. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoato reductasa, 4) J. 3,5-dihidroxi-pentanoato deshidratasa, 5) H. 5-hidroxi-pent-2-enoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 6) D. 5-hidroxi-pent-2-enoil-CoA deshidratasa, y 7) E. pent-2,4-dienoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa;
- (e) 1) K. 3-hidroxiopropanoil-CoA deshidratasa, 2) A. 3-hidroxiopropanoil-CoA acetiltransferasa, 3) B. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA reductasa, 4) C. 3,5-dihidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 5) D. 5-hidroxi-pent-2-enoil-CoA deshidratasa, y 6) E. pent-2,4-dienoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa;

- (f) 1) K. 3-hidroxiopropanoil-CoA deshidratasa, 2) A. 3-hidroxiopropanoil-CoA acetiltransferasa, 3) B. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA reductasa, 4) G. 3,5-dihidroxipentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 5) J. 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa, 6) H. 5-hidroxipent-2-enoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 7) D. 5-hidroxipent-2-enoil-CoA deshidratasa, y 8) E. pent-2,4-dienoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa;
- (g) 1) K. 3-hidroxiopropanoil-CoA deshidratasa, 2) A. 3-hidroxiopropanoil-CoA acetiltransferasa, 3) F. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 4) I. 3-oxo-5-hidroxipentanoato reductasa, 5) G. 3,5-dihidroxipentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 6) C. 3,5-dihidroxipentanoil-CoA deshidratasa, 7) D. 5-hidroxipent-2-enoil-CoA deshidratasa, y 8) E. pent-2,4-dienoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa;
- (h) 1) K. 3-hidroxiopropanoil-CoA deshidratasa, 2) A. 3-hidroxiopropanoil-CoA acetiltransferasa, 3) F. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 4) I. 3-oxo-5-hidroxipentanoato reductasa, 5) J. 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa, 6) H. 5-hidroxipent-2-enoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 7) D. 5-hidroxipent-2-enoil-CoA deshidratasa, 8) E. pent-2,4-dienoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa;
- (i) 1) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 2) L. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA deshidratasa, 3) B. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA reductasa, 4) C. 3,5-dihidroxipentanoil-CoA deshidratasa, 5) D. 5-hidroxipent-2-enoil-CoA deshidratasa, y 6) E. pent-2,4-dienoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa;
- (j) 1) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 2) L. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA deshidratasa, 3) B. 3-oxo-5-hidroxipentanoil-CoA reductasa, 4) G. 3,5-dihidroxipentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 5) J. 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa, 6) H. 5-hidroxipent-2-enoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 7) D. 5-hidroxipent-2-enoil-CoA deshidratasa, y 8) E. pent-2,4-dienoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa;

- (k) 1) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 2) L. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 3) F. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 4) I. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoato reductasa, 5) G. 3,5-dihidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 6) C. 3,5-dihidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 7) D. 5-hidroxi-pent-2-enoil-CoA deshidratasa, y 8) E. pent-2,4-dienoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa;
- (l) 1) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 2) L. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 3) F. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 4) I. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoato reductasa, 5) J. 3,5-dihidroxi-pentanoato deshidratasa, 6) H. 5-hidroxi-pent-2-enoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 7) D. 5-hidroxi-pent-2-enoil-CoA deshidratasa, y 8) E. pent-2,4-dienoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa;
- (m) 1) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 2) N. 3-oxopent-4-enoil-CoA reductasa, 3) R. 3-hidroxi-pent-4-enoil-CoA deshidratasa, y 4) E. pent-2,4-dienoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa;
- (n) 1) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 2) N. 3-oxopent-4-enoil-CoA reductasa, 3) T. 3-hidroxi-pent-4-enoil-CoA transferasa, sintetasa o hidrolasa, y 4) S. 3-hidroxi-pent-4-enoato deshidratasa; y
- (o) 1) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 2) O. 3-oxopent-4-enoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 3) P. 3-oxopent-4-enoato reductasa, y 4) S. 3-hidroxi-pent-4-enoato deshidratasa;
- (p) 1) A. 3-hidroxi-propanoil-CoA acetiltransferasa, 2) L. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 3) N. 3-oxopent-4-enoil-CoA reductasa, 4) R. 3-hidroxi-pent-4-enoil-CoA deshidratasa, y 5) E. pent-2,4-dienoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa;
- (q) 1) A. 3-hidroxi-propanoil-CoA acetiltransferasa, 2) L. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 3) N. 3-oxopent-4-enoil-CoA reductasa, 4) T. 3-hidroxi-pent-4-enoil-CoA transferasa, sintetasa o hidrolasa, y 5) S. 3-hidroxi-pent-4-enoato deshidratasa;
- (r) 1) A. 3-hidroxi-propanoil-CoA acetiltransferasa, 2) L. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 3) O. 3-oxopent-4-enoil-

42

CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 4) P. 3-oxopent-4-enoato reductasa, y 5) S. 3-hidroxi-pent-4-enoato deshidratasa;

- (s) 1) A. 3-hidroxi-propanoil-CoA acetiltransferasa, 2) B. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA reductasa, 3) C. 3,5-dihidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 4) H. 5-hidroxi-pent-2-enoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, y 5) Q. 5-hidroxi-pent-2-enoato deshidratasa;
- (t) 1) A. 3-hidroxi-propanoil-CoA acetiltransferasa, 2) B. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA reductasa, 3) G. 3,5-dihidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 4) J. 3,5-dihidroxi-pentanoato deshidratasa, y 5) Q. 5-hidroxi-pent-2-enoato deshidratasa;
- (u) 1) A. 3-hidroxi-propanoil-CoA acetiltransferasa, 2) F. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 3) I. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoato reductasa, 4) J. 3,5-dihidroxi-pentanoato deshidratasa, y 5) Q. 5-hidroxi-pent-2-enoato deshidratasa;
- (v) 1) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 2) L. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 3) F. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 4) I. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoato reductasa, 5) J. 3,5-dihidroxi-pentanoato deshidratasa, y 6) Q. 5-hidroxi-pent-2-enoato deshidratasa;
- (w) 1) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 2) L. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 3) B. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA reductasa, 4) G. 3,5-dihidroxi-pentanoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, 5) J. 3,5-dihidroxi-pentanoato deshidratasa, y 6) Q. 5-hidroxi-pent-2-enoato deshidratasa; y
- (x) 1) M. acrilil-CoA acetiltransferasa, 2) L. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 3) B. 3-oxo-5-hidroxi-pentanoil-CoA reductasa, 4) C. 3,5-dihidroxi-pentanoil-CoA deshidratasa, 5) H. 5-hidroxi-pent-2-enoil-CoA sintetasa, transferasa y/o hidrolasa, y 6) Q. 5-hidroxi-pent-2-enoato deshidratasa;

47

y en donde el citado organismo microbiano comprende opcionalmente además una 2,4-pentadieno descarboxilasa para convertir 2,4-pentadienoato en 1,3-butadieno;

(C) se selecciona del grupo conformado por:

- (a) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato deshidrogenasa; 4) una 2-fumarilacetato descarboxilasa; y 5) una 3-hidroxi-pent-4-enoato reductasa; y 5) una 3-hidroxi-pent-4-enoato deshidratasa;
- (b) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato deshidrogenasa; 4) una 2-fumarilacetato reductasa; 5) una 3-hidroxi-hex-4-enedioato descarboxilasa; y 6) una 3-hidroxi-pent-4-enoato deshidratasa;
- (c) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato reductasa; 4) una 3-hidroxiadipato deshidrogenasa; 5) una 3-hidroxi-hex-4-enedioato descarboxilasa; y 6) una 3-hidroxi-pent-4-enoato deshidratasa; y
- (d) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA reductasa; 3) una 3-hidroxiadipil-CoA transferasa, una 3-hidroxiadipil-CoA sintetasa o una 3-hidroxiadipil-CoA hidrolasa; 4) una 3-hidroxiadipato deshidrogenasa; 5) una 3-hidroxi-hex-4-enedioato descarboxilasa; y 6) una 3-hidroxi-pent-4-enoato deshidratasa;

y en donde el citado organismo microbiano comprende opcionalmente además

- (i) una ruta de TCA reductor, en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de TCA reductor, en donde el citado por lo menos un ácido nucleico exógeno se selecciona de una ATP-citrato liasa, una citrato liasa, una fumarato reductasa, y una alfa-ketoglutarato:ferredoxina oxidorreductasa;

44

- (ii) una ruta de TCA reductor, en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de TCA reductor, en donde el citado por lo menos un ácido nucleico exógeno se selecciona de una piruvato:ferredoxina oxidorreductasa, una fosfoenolpiruvato carboxilasa, una fosfoenolpiruvato carboxicinasa, una CO deshidrogenasa, y una H₂ hidrogenasa; o
- (iii) por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima seleccionada del grupo conformado por una CO deshidrogenasa, una H₂ hidrogenasa, y combinaciones de las anteriores;

y en donde el citado organismo microbiano comprende opcionalmente además

1. un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima seleccionada de una piruvato:ferredoxina oxidorreductasa, una aconitasa, una isocitrato deshidrogenasa, una succinil-CoA sintetasa, una succinil-CoA transferasa, una fumarasa, una malato deshidrogenasa, una acetato cinasa, una fosfotransacetilasa, una acetil-CoA sintetasa, una NAD(P)H:ferredoxina oxidorreductasa, ferredoxina, y combinaciones de las anteriores; o
2. un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima seleccionada de una aconitasa, una isocitrato deshidrogenasa, una succinil-CoA sintetasa, una succinil-CoA transferasa, una fumarasa, una malato deshidrogenasa, y combinaciones de las anteriores;

(D) se selecciona del grupo conformado por:

- (a) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de aldehído); 4) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 6) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa;
- (b) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de CoA y formadora de alcohol); 3) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 4) una

45

3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 5) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa;

- (c) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de acetona); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 6) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa;
- (d) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 6) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa; y
- (e) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de alcohol); 4) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 5) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa;

y en donde el citado organismo microbiano comprende opcionalmente además

- (i) una ruta de TCA reductor, en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de TCA reductor, en donde el citado por lo menos un ácido nucleico exógeno se selecciona de una ATP-citrato liasa, una citrato liasa, una fumarato reductasa, y una alfa-ketoglutarato:ferredoxina oxidorreductasa;
- (ii) una ruta de TCA reductor, en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de TCA reductor, en donde el citado por lo menos un ácido nucleico exógeno se selecciona de una piruvato:ferredoxina oxidorreductasa, una fosfoenolpiruvato carboxilasa, una fosfoenolpiruvato carboxicinasa, una CO deshidrogenasa, y una H₂ hidrogenasa; o
- (iii) por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima seleccionada del grupo conformado por una CO

deshidrogenasa, una H_2 hidrogenasa, y combinaciones de las anteriores;

y en donde el citado organismo microbiano comprende opcionalmente además

1. un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima seleccionada de una piruvato:ferredoxina oxidorreductasa, una aconitasa, una isocitrato deshidrogenasa, una succinil-CoA sintetasa, una succinil-CoA transferasa, una fumarasa, una malato deshidrogenasa, una acetato cinasa, una fosfotransacetilasa, una acetil-CoA sintetasa, una NAD(P)H:ferredoxina oxidorreductasa, ferredoxina, y combinaciones de las anteriores; o
 2. un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima seleccionada de una aconitasa, una isocitrato deshidrogenasa, una succinil-CoA sintetasa, una succinil-CoA transferasa, una fumarasa, una malato deshidrogenasa, y combinaciones de las anteriores; o
- (ix) una ruta de 3-buten-1-ol que comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de 3-buten-1-ol expresada en una cantidad suficiente para producir 3-buten-1-ol, la citada ruta de 3-buten-1-ol;
- (A) se selecciona del grupo conformado por:
- (a) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de aldehído); 4) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 6) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa;
 - (b) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de aldehído); 4) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; y 5) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa;
 - (c) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de CoA y formadora de alcohol); 3) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 4) una

4X

- 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 5) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa;
- (d) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de CoA y formadora de alcohol); 3) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; y 4) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa;
- (e) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de acetona); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 6) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa;
- (f) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de acetona); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; y 5) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa;
- (g) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 6) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa;
- (h) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; y 5) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa;
- (i) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de alcohol); 4) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 5) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa; y
- (j) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de alcohol); y 4) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa;

y en donde el citado organismo microbiano comprende opcionalmente además

- (i) una ruta de TCA reductor, en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de TCA reductor, en donde el citado por lo menos un ácido nucleico exógeno se selecciona de una ATP-citrato liasa, una citrato liasa, una fumarato reductasa, y una alfa-ketoglutarato:ferredoxina oxidorreductasa;
- (ii) una ruta de TCA reductor, en donde el citado organismo microbiano comprende por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de TCA reductor, en donde el citado por lo menos un ácido nucleico exógeno se selecciona de una piruvato:ferredoxina oxidorreductasa, una fosfoenolpiruvato carboxilasa, una fosfoenolpiruvato carboxicinasa, una CO deshidrogenasa, y una H₂ hidrogenasa; o
- (iii) por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima seleccionada del grupo conformado por una CO deshidrogenasa, una H₂ hidrogenasa, y combinaciones de las anteriores;

y en donde el citado organismo microbiano comprende opcionalmente además

1. un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima seleccionada de una piruvato:ferredoxina oxidorreductasa, una aconitasa, una isocitrato deshidrogenasa, una succinil-CoA sintetasa, una succinil-CoA transferasa, una fumarasa, una malato deshidrogenasa, una acetato cinasa, una fosfotransacetilasa, una acetil-CoA sintetasa, una NAD(P)H:ferredoxina oxidorreductasa, ferredoxina, y combinaciones de las anteriores; o
2. un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima seleccionada de una aconitasa, una isocitrato deshidrogenasa, una succinil-CoA sintetasa, una succinil-CoA transferasa, una fumarasa, una malato deshidrogenasa, y combinaciones de las anteriores.

2. El organismo microbiano de ocurrencia no natural de la reivindicación 1, en donde el citado organismo microbiano comprende:

- (i) la ruta de 1,3-butadieno, en donde el citado organismo microbiano comprende dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete ácidos nucleicos exógenos que codifican cada uno una enzima de la ruta de 1,3-butadieno;
- (ii) la ruta de tolueno, y comprende además dos, tres o cuatro ácidos nucleicos exógenos que codifican cada uno una enzima de la ruta de tolueno;
- (iii) la ruta de benceno, y comprende además dos, tres o cuatro ácidos nucleicos exógenos que codifican cada uno una enzima de la ruta de benceno;
- (iv) la ruta de estireno, y comprende además dos, tres, cuatro, cinco o seis ácidos nucleicos exógenos que codifican cada uno una enzima de la ruta de estireno;
- (v) la ruta de (2-hidroxi-4-oxobutoxi)fosfonato, y comprende además dos ácidos nucleicos exógenos que codifican cada uno una enzima de la ruta de (2-hidroxi-4-oxobutoxi)fosfonato;
- (vi) la ruta de benzoato, y comprende además dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho ácidos nucleicos exógenos que codifican cada uno una enzima de la ruta de benzoato;
- (vii) la ruta de 2,4-pentadienoato, y comprende además dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho ácidos nucleicos exógenos que codifican cada uno una enzima de la ruta de 2,4-pentadienoato;
- (viii) la ruta de 1,3-butadieno y el por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de 3-buten-1-ol, y en donde el citado organismo microbiano comprende además dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete ácidos nucleicos exógenos que codifican cada uno una enzima de la ruta de 3-buten-1-ol; o
- (ix) la ruta de 3-buten-1-ol, en donde el citado organismo microbiano comprende dos, tres, cuatro o cinco ácidos nucleicos exógenos que codifican cada uno una enzima de la ruta de 3-buten-1-ol.

3. El organismo microbiano de ocurrencia no natural de la reivindicación 2, en donde el citado organismo microbiano comprende:

- (i) la ruta de 1,3-butadieno, en donde el citado organismo microbiano comprende ácidos nucleicos exógenos que codifican cada una de las enzimas seleccionadas del grupo conformado por:

50

- (a) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato deshidrogenasa; 4) una 2-fumarilacetato descarboxilasa; 5) una 3-oxopent-4-enoato reductasa; y 6) una 3-hidroxipent-4-enoato descarboxilasa;
- (b) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato deshidrogenasa; 4) una 2-fumarilacetato descarboxilasa; 5) una 3-oxopent-4-enoato reductasa; 6) una 3-hidroxipent-4-enoato deshidratasa; y 7) una 2,4-pentadienoato descarboxilasa;
- (c) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato deshidrogenasa; 4) una 2-fumarilacetato reductasa; 5) una 3-hidroxihex-4-endioato descarboxilasa; y 6) una 3-hidroxipent-4-enoato descarboxilasa;
- (d) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato deshidrogenasa; 4) una 2-fumarilacetato reductasa; 5) una 3-hidroxihex-4-endioato descarboxilasa; 6) una 3-hidroxipent-4-enoato deshidratasa; y 7) una 2,4-pentadienoato descarboxilasa;
- (e) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato reductasa; 4) una 3-hidroxiadipato deshidrogenasa; 5) una 3-hidroxihex-4-endioato descarboxilasa; y 6) una 3-hidroxipent-4-enoato descarboxilasa;
- (f) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato reductasa; 4) una 3-hidroxiadipato deshidrogenasa; 5) una 3-hidroxihex-4-endioato descarboxilasa; 6) una 3-hidroxipent-4-enoato deshidratasa; y 7) una 2,4-pentadienoato descarboxilasa;
- (g) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA reductasa; una 3-hidroxiadipil-CoA transferasa, una 3-hidroxiadipil-CoA sintetasa o una 3-hidroxiadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-

hidroxiadipato deshidrogenasa; 4) una 3-hidroxihex-4-endoato descarboxilasa; y 5) una 3-hidroxipent-4-enoato descarboxilasa; y

- (h) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA reductasa; una 3-hidroxiadipil-CoA transferasa, una 3-hidroxiadipil-CoA sintetasa o una 3-hidroxiadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-hidroxiadipato deshidrogenasa; 4) una 3-hidroxihex-4-endoato descarboxilasa; 5) una 3-hidroxipent-4-enoato deshidratasa; y 6) una 2,4-pentadienoato descarboxilasa;
- (i) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de aldehído); 4) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 6) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa; y 7) una 2,4-pentadieno descarboxilasa;
- (j) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de aldehído); 4) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 6) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa; y 7) una 3-buten-1-ol deshidratasa;
- (k) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de aldehído); 4) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa; y 6) una 3-buten-1-ol deshidratasa;
- (l) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de CoA y formadora de alcohol); 3) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 4) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 5) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa; y 6) una 2,4-pentadieno descarboxilasa;
- (m) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de CoA y formadora de alcohol); 3) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 4) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 5) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa; y 6) una 3-buten-1-ol deshidratasa;
- (n) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de CoA y formadora de alcohol); 3) una 5-

52

hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 4) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa; y 5) una 3-buten-1-ol deshidratasa;

- (o) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de acetona); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 6) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa; y 7) una 2,4-pentadieno descarboxilasa;
- (p) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de acetona); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 6) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa; y 7) una 3-buten-1-ol deshidratasa;
- (q) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de acetona); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa; y 6) una 3-buten-1-ol deshidratasa;
- (r) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 6) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa; y 7) una 2,4-pentadieno descarboxilasa;
- (s) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 6) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa; y 7) una 3-buten-1-ol deshidratasa;
- (t) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa; y 6) una 3-buten-1-ol deshidratasa;



/

- (u) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de alcohol); 4) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 5) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa; y 6) una 2,4-pentadieno descarboxilasa;
 - (v) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de alcohol); 4) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; 5) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa; y 6) una 3-buten-1-ol deshidratasa; y
 - (w) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de alcohol); 4) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa; y 5) una 3-buten-1-ol deshidratasa;
- (ii) la ruta de 1,3-butadieno y la ruta de TCA reductor, y en donde el citado organismo microbiano comprende además
- (a) cuatro ácidos nucleicos exógenos que codifican una ATP-citrato liasa, citrato liasa, una fumarato reductasa, y una alfa-ketoglutarato:ferredoxina oxidorreductasa; o
 - (b) cinco ácidos nucleicos exógenos que codifican una piruvato:ferredoxina oxidorreductasa, una fosfoenolpiruvato carboxilasa, una fosfoenolpiruvato carboxicinasa, una CO deshidrogenasa, y una H₂ hidrogenasa;
- (iii) la ruta de 1,3-butadieno, y en donde el citado organismo microbiano comprende además dos ácidos nucleicos exógenos que codifican una CO deshidrogenasa y una H₂ hidrogenasa;
- (iv) la ruta de tolueno, y en donde
- (a) los citados tres ácidos nucleicos exógenos codifican 1) fenilalanina aminotransferasa o fenilalanina oxidorreductasa (desaminante), 2) fenilpiruvato descarboxilasa, 3) fenilacetaldehído descarboxilasa; o
 - (b) los citados cuatro ácidos nucleicos exógenos codifican 1) fenilalanina aminotransferasa o fenilalanina oxidorreductasa (desaminante), 2) fenilpiruvato descarboxilasa, 3) fenilacetaldehído deshidrogenasa u oxidasa, y 4) fenilacetato descarboxilasa;

54

- (v) la ruta de benceno, y en donde el citado por lo menos un ácido nucleico exógeno es la citada fenilalanina benceno-liasa;
- (vi) la ruta de estireno, y en donde
 - (a) los citados cinco ácidos nucleicos exógenos codifican 1) benzoil-CoA acetiltransferasa, 2) una de 3-oxo-3-fenilpropionil-CoA sintetasa, transferasa, e hidrolasa, 3) benzoil-acetato descarboxilasa, 4) acetofenona reductasa, y 5) 1-feniletanol deshidratasa; o
 - (b) los citados seis ácidos nucleicos exógenos codifican 1) benzoil-CoA acetiltransferasa, 2) fosfotrans-3-oxo-3-fenilpropionilasa, 3) benzoil-acetato cinasa, 4) benzoil-acetato descarboxilasa, 5) acetofenona reductasa, y 6) 1-feniletanol deshidratasa;
- (vii) la ruta de (2-hidroxi-4-oxobutoxi)fosfonato, y en donde los citados dos ácidos nucleicos exógenos codifican eritrosa-4-fosfato deshidratasa y (2,4-dioxobutoxi)fosfonato reductasa;
- (viii) la ruta de benzoato, y en donde los citados ocho ácidos nucleicos exógenos codifican 2-dehidro-3-desoxifosfoheptonato sintasa; 3-dehidroquinato sintasa; 3-dehidroquinato deshidratasa; shikimato deshidrogenasa; shikimato cinasa; 3-fosfoshikimato-2-carboxiviniltransferasa; corismato sintasa; y corismato liasa;
- (xi) la ruta de 2,4-pentadienoato, y en donde
 - (a) los citados tres ácidos nucleicos exógenos codifican i) una AKP desaminasa, ii) una acetilacrilato reductasa, y iii) una 4-hidroxipent-2-enoato deshidratasa;
 - (b) los citados cuatro ácidos nucleicos exógenos codifican i) una 4-hidroxi-2-oxovalerato aldolasa, ii) una 4-hidroxi-2-oxovalerato deshidratasa, iii) una 2-oxopentenoato reductasa, y iv) una 2-hidroxipentenoato deshidratasa;
 - (c) los citados cinco ácidos nucleicos exógenos codifican i) una AKP aminotransferasa y/o deshidrogenasa, ii) una 2,4-dioxopentanoato-2-reductasa, iii) una 2-hidroxi-4-oxopentanoato deshidratasa, iv) una acetilacrilato reductasa, y v) una 4-hidroxipent-2-enoato deshidratasa;
 - (d) los citados cinco ácidos nucleicos exógenos codifican i) una AKP aminotransferasa y/o deshidrogenasa, ii) una 2,4-dioxopentanoato-4-reductasa, iii) una 4-hidroxi-2-oxovalerato deshidratasa, iv) una 2-

55

oxopentenoato reductasa, y v) una 2-hidroxi-pentenoato deshidratasa;
o

- (e) los citados cinco ácidos nucleicos exógenos codifican i) una AKP reductasa, ii) una 2-amino-4-hidroxi-pentanoato aminotransferasa y/o deshidrogenasa, iii) una 4-hidroxi-2-oxovalerato deshidratasa, iv) una 2-oxopentenoato reductasa, y v) una 2-hidroxi-pentenoato deshidratasa;
- (x) la ruta de 2,4-pentadienoato, y en donde el citado organismo microbiano comprende ácidos nucleicos exógenos que codifican cada una de las enzimas seleccionadas del grupo conformado por:
 - (a) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato deshidrogenasa; 4) una 2-fumarilacetato descarboxilasa; 5) una 3-oxopent-4-enoato reductasa; y 6) una 3-hidroxi-pent-4-enoato deshidratasa;
 - (b) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato deshidrogenasa; 4) una 2-fumarilacetato reductasa; 5) una 3-hidroxi-hex-4-endioato descarboxilasa; y 6) una 3-hidroxi-pent-4-enoato deshidratasa;
 - (c) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA transferasa, una 3-oxoadipil-CoA sintetasa o una 3-oxoadipil-CoA hidrolasa; 3) una 3-oxoadipato reductasa; 4) una 3-hidroxiadipato deshidrogenasa; 5) una 3-hidroxi-hex-4-endioato descarboxilasa; y 6) una 3-hidroxi-pent-4-enoato deshidratasa;
 - (d) 1) una succinil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoadipil-CoA reductasa; 3) una 3-hidroxiadipil-CoA transferasa, una 3-hidroxiadipil-CoA sintetasa o una 3-hidroxiadipil-CoA hidrolasa; 4) una 3-hidroxiadipato deshidrogenasa; 5) una 3-hidroxi-hex-4-endioato descarboxilasa; y 6) una 3-hidroxi-pent-4-enoato deshidratasa;
 - (e) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de aldehído); 4) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxi-pentanoato deshidratasa; y 6) una 5-hidroxi-pent-2-enoato deshidratasa;

- (f) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de CoA y formadora de alcohol); 3) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 4) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 5) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa;
- (g) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de acetona); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 6) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa;
- (h) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 6) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa; y
- (i) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de alcohol); 4) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 5) una 5-hidroxipent-2-enoato deshidratasa;
- (xi) la ruta de 2,4-pentadienoato y la ruta de TCA reductor, y en donde el citado organismo microbiano comprende además
 - (a) cuatro ácidos nucleicos exógenos que codifican una ATP-citrato liasa, citrato liasa, una fumarato reductasa, y una alfa-ketoglutarato:ferredoxina oxidorreductasa; o
 - (b) cinco ácidos nucleicos exógenos que codifican una piruvato:ferredoxina oxidorreductasa, una fosfoenolpiruvato carboxilasa, una fosfoenolpiruvato carboxicinasa, una CO deshidrogenasa, y una H₂ hidrogenasa;
- (xii) la ruta de 2,4-pentadienoato, y en donde el citado organismo microbiano comprende además dos ácidos nucleicos exógenos que codifican una CO deshidrogenasa y una H₂ hidrogenasa;
- (xiii) la ruta de 1,3-butadieno, en donde los citados dos ácidos nucleicos exógenos codifican un conjunto de enzimas de la ruta de 1,3-butadieno seleccionadas del grupo conformado por:
 - (a) 1) *trans*, *trans*-muconato descarboxilasa y 2) *trans*-2,4-pentadienoato descarboxilasa;

5X

- (b) 1) *cis, trans*-muconato *cis*-descarboxilasa y 2) *trans*-2,4-pentadienoato descarboxilasa;
 - (c) 1) *cis, trans*-muconato *trans*-descarboxilasa y 2) *cis*-2,4-pentadienoato descarboxilasa;
 - (d) 1) *cis, cis*-muconato descarboxilasa y 2) *cis*-2,4-pentadienoato descarboxilasa;
 - (e) *cis*-2,4-pentadienoato descarboxilasa; y
 - (f) *trans*-2,4-pentadienoato descarboxilasa;
- (xiv) la ruta de 3-buten-1-ol, en donde el citado organismo microbiano comprende ácidos nucleicos exógenos que codifican cada una de las enzimas seleccionadas del grupo conformado por:
- (a) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de aldehído); 4) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 6) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa;
 - (b) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de aldehído); 4) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; y 5) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa;
 - (c) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de CoA y formadora de alcohol); 3) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; 4) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 5) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa;
 - (d) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de CoA y formadora de alcohol); 3) una 5-hidroxi-3-oxopentanoato reductasa; y 4) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa;
 - (e) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato reductasa (reductora de acetona); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 6) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa;
 - (f) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 3) una 3,5-dioxopentanoato

reductasa (reductora de acetona); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; y 5) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa;

- (g) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; 5) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 6) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa;
 - (h) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de aldehído); 4) una 3-hidroxi-5-oxopentanoato reductasa; y 5) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa;
 - (i) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de alcohol); 4) una 3,5-dihidroxipentanoato deshidratasa; y 5) una 5-hidroxipent-2-enoato descarboxilasa; y
 - (j) 1) una malonil-CoA:acetil-CoA aciltransferasa; 2) una 3-oxoglutaril-CoA reductasa (reductora de acetona); 3) una 3-hidroxiglutaril-CoA reductasa (formadora de alcohol); y 4) una 3,5-dihidroxipentanoato descarboxilasa;
- (xv) la ruta 3-buten-1-ol y la ruta de TCA reductor, y en donde el citado organismo microbiano comprende además
- (a) cuatro ácidos nucleicos exógenos que codifican una ATP-citrato liasa, citrato liasa, una fumarato reductasa, y una alfa-ketoglutarato:ferredoxina oxidorreductasa; o
 - (b) cinco ácidos nucleicos exógenos que codifican una piruvato:ferredoxina oxidorreductasa, una fosfoenolpiruvato carboxilasa, una fosfoenolpiruvato carboxicina, una CO deshidrogenasa, y una H₂ hidrogenasa; o
- (xvi) la ruta de 3-buten-1-ol, y en donde el citado organismo microbiano comprende además dos ácidos nucleicos exógenos que codifican una CO deshidrogenasa y una H₂ hidrogenasa.

4. El organismo microbiano de ocurrencia no natural de la reivindicación 1, en donde el citado por lo menos un ácido nucleico exógeno es un ácido nucleico heterólogo.

5. El organismo microbiano de ocurrencia no natural de la reivindicación 1, en donde el citado organismo microbiano de ocurrencia no naturales está en un medio de cultivo sustancialmente anaerobio.
6. Un método, en donde:
 - (i) el citado método es un método para producir 1,3-butadieno, y en donde el citado método comprende cultivar el organismo microbiano de ocurrencia no natural que tiene una ruta de 1,3-butadieno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, el citado cultivar bajo condiciones y durante un período suficiente para producir 1,3-butadieno;
 - (ii) el citado método es un método para producir 1,3-butadieno, y en donde el citado método comprende cultivar el organismo microbiano de ocurrencia no natural que tiene la ruta de 1,3-butadieno y el por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de 3-buten-1-ol, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, el citado cultivar bajo condiciones y durante un período suficiente para producir 1,3-butadieno;
 - (iii) el citado método es un método para producir tolueno, y en donde el citado método comprende cultivar el organismo microbiano de ocurrencia no natural que tiene una ruta de tolueno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, el citado cultivar bajo condiciones y durante un período suficiente para producir tolueno;
 - (iv) el citado método es un método para producir benceno, y en donde el citado método comprende cultivar el organismo microbiano de ocurrencia no natural que tiene una ruta de benceno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, el citado cultivar bajo condiciones y durante un período suficiente para producir benceno;
 - (v) el citado método es un método para producir estireno, y en donde el citado método comprende cultivar el organismo microbiano de ocurrencia no natural que tiene una ruta de estireno de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, el citado cultivar bajo condiciones y durante un período suficiente para producir estireno;
 - (vi) el citado método es un método para producir benzoato, y en donde el citado método comprende cultivar el organismo microbiano de ocurrencia no natural que tiene una ruta de benzoato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, el citado cultivar bajo condiciones y durante un período suficiente para producir benzoato;

- (vii) el citado método es un método para producir 2,4-pentadienoato, y en donde el citado método comprende cultivar el organismo microbiano de ocurrencia no natural que tiene una ruta de 2,4-pentadienoato de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, el citado cultivar bajo condiciones y durante un período suficiente para producir 2,4-pentadienoato;
 - (viii) el citado método es un método para producir 1,3-butadieno, y en donde el citado método comprende cultivar el organismo microbiano de ocurrencia no natural que tiene una ruta de 2,4-pentadienoato y que comprende además la 2,4-pentadieno descarboxilasa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, el citado cultivar bajo condiciones y durante un período suficiente para producir 1,3-butadieno;
 - (ix) el citado método es un método para producir 3-buten-1-ol, y en donde el citado método comprende cultivar el organismo microbiano de ocurrencia no natural que tiene la ruta de 3-buten-1-ol y el por lo menos un ácido nucleico exógeno que codifica una enzima de la ruta de 3-buten-1-ol, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, el citado cultivar bajo condiciones y durante un período suficiente para producir 3-buten-1-ol, y en donde el citado método comprende opcionalmente además la deshidratación química de 3-buten-1-ol para proporcionar 1,3-butadieno;
 - (x) el citado método es un método para producir 3-buten-1-ol, y en donde el citado método comprende cultivar el organismo microbiano de ocurrencia no natural que tiene la ruta de 3-buten-1-ol de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, el citado cultivar bajo condiciones y durante un período suficiente para producir 3-buten-1-ol; o
 - (xi) el citado método es un método para producir 1,3-butadieno, y en donde el citado método comprende cultivar el organismo microbiano de ocurrencia no natural que tiene la ruta de 3-buten-1-ol, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, el citado cultivar bajo condiciones y durante un período suficiente para producir 3-buten-1-ol; y en donde el citado método comprende además convertir químicamente el citado 3-buten-1-ol en 1,3-butadieno.
7. El organismo microbiano de ocurrencia no natural de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el citado organismo microbiano es una especie de bacterias, levadura, u hongo.

8. Un medio de cultivo que comprende:

- (a) un 1,3-butadieno biosintetizado, un 3-buten-1-ol tolueno biosintetizado, y el organismo microbiano de ocurrencia no natural de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5; o
- (b) un 1,3-butadieno biosintetizado, un 2,4-pentadienoato biosintetizado, y el organismo microbiano de ocurrencia no natural de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.