

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成 16 年 11 月 4 日 (2004.11.4)

【公表番号】特表 2000-501620 (P2000-501620A)

【公表日】平成 12 年 2 月 15 日 (2000.2.15)

【出願番号】特願平 9-522430

【国際特許分類第 7 版】

C 1 2 N 15/09

C 1 2 N 1/15

C 1 2 P 21/02

// (C 1 2 N 1/15

C 1 2 R 1:69)

(C 1 2 N 1/15

C 1 2 R 1:80)

(C 1 2 N 1/15

C 1 2 R 1:66)

(C 1 2 N 1/15

C 1 2 R 1:72)

(C 1 2 N 1/15

C 1 2 R 1:77)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 1/15

C 1 2 P 21/02 E

C 1 2 P 21/02 H

C 1 2 P 21/02 F

C 1 2 N 1/15

C 1 2 R 1:69

C 1 2 N 1/15

C 1 2 R 1:80

C 1 2 N 1/15

C 1 2 R 1:66

C 1 2 N 1/15

C 1 2 R 1:72

C 1 2 N 1/15

C 1 2 R 1:77

【手続補正書】

【提出日】平成 15 年 12 月 11 日 (2003.12.11)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

手 続 補 正 書

平成15年¹²月11日

特許庁長官 今 井 康 夫 殿

1. 事件の表示

平成9年特許願第522430号

2. 補正をする者

名称 ノボザイムス アクティーゼルスカブ



3. 代 理 人

住所 〒105-8423 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル

青和特許法律事務所 電話 03-5470-1900

氏名 弁理士(7751) 石 田 敬



4. 補正対象書類名

請求の範囲

5. 補正対象項目名

請求の範囲

6. 補正の内容

請求の範囲を別紙の通りに補正します。

7. 添付書類の目録

請求の範囲

1 通

方 式 査 査



請求の範囲

1. areA遺伝子が、機能的AreA活性化因子を供給するような態様で発現され得ないように、組換えDNA 技法により修飾されており、そして細胞外プロテアーゼ PecC及び／又はPepEをコードする遺伝子が、機能的プロテアーゼを生成するために発現され得ない態様で不活性化されている菌類。
2. 前記不活性化が、areA, pepC及び／又はpepE遺伝子のすべて又は一部の欠失により得られている請求の範囲第1項記載の菌類。
3. 前記不活性化が、areA及びpepE遺伝子のすべて又は一部の欠失により得られている請求の範囲第1項記載の菌類。
4. 前記不活性化が、areA, pepC及び／又はpepE遺伝子自体の発現を調節する発現シグナルの調節を妨げることによって得られている請求の範囲第1項記載の菌類。
5. 前記不活性化が、areA及びpepE遺伝子自体の発現を調節する発現シグナルの調節を妨げることによって得られている請求の範囲第1項記載の菌類。
6. 前記不活性化が、アンチセンス技法を用いることによって得られている請求の範囲第1項記載の菌類。
7. 前記不活性化が、areA, pepC及び／又はpepE遺伝子の内部に余分のDNA を挿入することによって得られている請求の範囲第1項記載の菌類。
8. 糸状菌であり、好ましくはアスペルギラス、トリコダーマ、ヒュミコラ、カンジダ、アクレモニウム、フサリウム及びペニシリウムから成る群から選択された属に属する請求の範囲第1～7のいずれか1項記載の菌類。
9. A. オリザエ、A. ニガー、A. アワモリ、A. ホエニシス、A. ジャボニカス、A. ホエチダス、A. ニジュランス、T. リーセイ、T. ハルジアナム、H. インソレンス、H. ラヌギノサ、F. グラミネアラム、F. ソラニ、P. クリソゲナム及び他のものから成る群から選択された種に属する請求の範囲第8項記載の菌類。
10. 不活性化がareA, pepC及び／又はpepE遺伝子の欠失により得られている、請求の範囲第1項記載の菌類を生成するための方法であって、
 - i) 注目の菌類からのareA, pepC及び／又はpepE遺伝子をクローニングし、

ii) 内部部分が置換され、欠失され、又は余分なDNA が挿入されている、areA 遺伝子、pepC 遺伝子、及び／又はpepE 遺伝子の1つをそれぞれが含んで成るDNA 構造体を生成し、

iii) 前記構造体により前記菌類を形質転換し、そして

iv) areA⁻、pepC⁻、及び／又はpepE⁻である形質転換体を単離することを含んで成る方法。

11. 不活性化がareA及びpepE 遺伝子の欠失により得られている、請求の範囲第1項記載の菌類を生成するための方法であって、

i) 注目の菌類からのareA及びpepE 遺伝子をクローニングし、

ii) 内部部分が置換され、欠失され、又は余分なDNA が挿入されている、areA 及びpepE 遺伝子の1つをそれぞれが含んで成るDNA 構造体を生成し、

iii) 前記構造体により前記菌類を形質転換し、そして

iv) areA⁻及びpepE⁻である形質転換体を単離することを含んで成る方法。

12. 不活性化がareA、及びpepC 遺伝子の欠失により得られている、請求の範囲第1項記載の菌類を生成するための方法であって、

i) 注目の菌類からのareA、及びpepC 遺伝子をクローニングし、

ii) 内部部分が置換され、欠失され、又は余分なDNA が挿入されている、areA 遺伝子、及びpepC 遺伝子の1つをそれぞれが含んで成るDNA 構造体を生成し、

iii) 前記構造体により前記菌類を形質転換し、そして

iv) areA⁻及びpepC⁻である形質転換体を単離することを含んで成る方法。

13. 不活性化がpepC及びpepE 遺伝子の欠失により得られている、請求の範囲第1項記載の菌類を生成するための方法であって、

i) 興味ある菌類からのpepC及びpepE 遺伝子をクローニングし、

ii) 内部部分が置換され、欠失され、又は余分なDNA が挿入されている、pepC 及びpepE 遺伝子間の1つをそれぞれが含んで成るDNA 構造体を生成し、

iii) 前記構造体により前記菌類を形質転換し、そして

iv) pepC⁻及びpepE⁻である形質転換体を単離することを含んで成る方法。

14. 不活性化がアンチセンス技法を用いることによって得られている、請求の範囲第1項記載の菌類を生成するための方法であって、

i) areA遺伝子、pepC遺伝子及び／又はpepE遺伝子から転写されるmRNAに対して相補的なRNA 分子の合成を生ぜしめる個々の発現プラスミドの構成、

ii) 前記発現プラスミド、及び別のプラスミド又は前記同じプラスミドのいずれか上の適切なマーカーによる宿主菌類の形質転換、

iii) 前記マーカーを用いての形質転換体の選択、及び

iv) AreA, PepC及び／又はPepE生成物の合成の低下を示す株についての選択された形質転換体のスクリーニングを含んで成る方法。

15. 不活性化がアンチセンス技法を用いることによって得られている、請求の範囲第1項記載の菌類を生成するための方法であって、

i) areA遺伝子、及びpepE遺伝子から転写されるmRNAに対して相補的なRNA 分子の合成を生ぜしめる個々の発現プラスミドの構成、

ii) 前記発現プラスミド、及び別のプラスミド又は前記同じプラスミドのいずれか上の適切なマーカーによる宿主菌類の形質転換、

iii) 前記マーカーを用いての形質転換体の選択、及び

iv) AreA, PepC及びPepE生成物の合成の低下を示す株についての選択された形質転換体のスクリーニングを含んで成る方法。

16. 請求の範囲第1～9のいずれか1項記載の菌類が適切な条件下で適切な増殖培地において培養され、そして所望の遺伝子生成物が回収され、そして精製される、所望の遺伝子生成物の製造方法。

17. 所望の遺伝子生成物をコードするDNA 配列を菌類のゲノム中に機能的な態様で組込むために形質転換されている請求の範囲第1～9のいずれか1項記載の菌類が、適切な条件下で適切な増殖培地において培養され、そして所望の遺伝子生成物が回収され、そして精製される、所望する遺伝子生成物の生成方法。

18. 所望のポリペプチドを製造するための方法であって、菌類を適切な増殖培地において培養し、そして前記培養物から前記ポリペプチドを回収することを含んで成り、ここで前記菌類が前記ポリペプチド又はその前駆体の発現を前記菌類において引き起こすことができる組換えDNA 構造体を担持し、そしてさらに、前記菌類の野生型よりも低い量の機能的AreA, PepC及び／又はPepEを生成することによって特徴づけられている方法。

19. 前記菌類が、前記菌類のゲノム中に組込まれる場合、機能的AreA, PepC及び／又はPepEの低められた生成を引き起こすことができるDNA 構造体により前記菌類の親を形質転換することを含んで成る方法により、野生型量よりも低い量のAreA, PepC及び／又はPepEを生成するよう修飾されている請求の範囲第18項記載の方法。

20. 前記ポリペプチドが、前記菌類により細胞外培地に分泌される請求の範囲第18項記載の方法。

21. 前記菌類が、類似する菌類よりも高い量の前記ポリペプチドを生成し、ここで前記類似する菌類は前記菌類の野生型により生成される量に類似する量でAreA, PepC及び／又はPepEを生成し、そして前記類似する菌類が他のすべての点において前記菌類と同一である請求の範囲第18項記載の方法。

22. 前記遺伝子生成物が分泌されるタンパク質である請求の範囲第14又は15～21のいずれか1項記載の方法。

23. 前記所望する遺伝子生成物が産業用ペプチド又はタンパク質、好ましくは酵素である請求の範囲第14～20のいずれか1項記載の方法。

24. 前記酵素が、プロテアーゼ、リパーゼ、クチナーゼ、セルラーゼ、キモシンから成る群から選択される請求の範囲第23項記載の方法。

25. 前記所望する遺伝子生成物が、治療的活性ペプチド又はタンパク質である請求の範囲第15～22のいずれか1項記載の方法。

26. 前記治療的活性ペプチド又はタンパク質が、インスリン、成長ホルモン、グルカゴン、ソマトスタチン、インターフェロン、PDGF、第Ⅶ因子、第Ⅷ因子、ウロキナーゼ、tPA、EPO又はTP0から成る群から選択される請求の範囲第25項記載の方法。

27. 請求の範囲第15～26のいずれか1項記載の方法に従って生成される遺伝子生成物。

28. 配列番号：2に記載にアミノ酸配列、又は配列番号：2に記載のアミノ酸配列において1～数個のアミノ酸の欠失、付加及び／又は置換により修飾されたアミノ酸配列を有し、そしてPepCプロテアーゼの活性を維持しているタンパク質。

29. 請求項28に記載のPepCプロテアーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

30. 請求項29に記載のタンパク質の製造方法において、当該タンパク質をコードするDNAを含んで成る発現ベクターにより形質転換された宿主を培養し、そして培養物から前記タンパク質を採取することを特徴とする方法。

31. 配列番号：4に記載にアミノ酸配列、又は配列番号：4に記載のアミノ酸配列において1～数個のアミノ酸の欠失、付加及び／又は置換により修飾されたアミノ酸配列を有し、そしてPepEプロテアーゼの活性を維持しているタンパク質。

32. 請求項31に記載のPepEプロテアーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

33. 請求項31に記載のタンパク質の製造方法において、当該タンパク質をコードするDNAを含んで成る発現ベクターにより形質転換された宿主を培養し、そして培養物から前記タンパク質を採取することを特徴とする方法。

34. 前記宿主が、請求の範囲第1～9のいずれか1項記載の菌類である請求の範囲第30又は33項記載の方法。

35. 前記宿主がA. オリザエであり、そして請求の範囲第28又は31項記載のDNA配列を含んで成る前記DNA構造体が前記PepC又はPepEプロテアーゼをコードする遺伝子の余分なコピーを供給する請求の範囲第30、33又は34項記載の方法。