

【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20年8月21日(2008.8.21)

【公表番号】特表2007-525974(P2007-525974A)

【公表日】平成19年9月13日(2007.9.13)

【年通号数】公開・登録公報2007-035

【出願番号】特願2006-527183(P2006-527183)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

A 0 1 H 5/00 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 9/16 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 0 1 H 5/00 A

C 1 2 N 5/00 C

C 1 2 N 9/16 B

【手続補正書】

【提出日】平成20年6月12日(2008.6.12)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0015

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0015】

すなわち、本発明は、

(1) ルビスコ大サブユニットとアセチルCoAカルボキシラーゼのサブユニット遺伝子の間にFBPase活性及び/又はSBPase活性を有するタンパク質をコードする遺伝子を含むDNAフラグメントを含んだ光合成活性を高める発現カセットを有する遺伝子組み換えベクター、

(2) FBPase活性を有するタンパク質が、次のいずれかである上記(1)に記載のベクター；

(a) 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるタンパク質；

(b) 配列表の配列番号1において、1又は数個のアミノ酸が欠失、置換、付加もしくは挿入されたアミノ酸配列を有し、かつFBPase活性を有するタンパク質；又は

(c) 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列と少なくとも60%以上の相同性を有し、かつFBPase活性を有するタンパク質、

(3) FBPase活性を有するタンパク質をコードする遺伝子が、次のいずれかのDNAからなる遺伝子である、上記(1)に記載のベクター；

(a) 配列表の配列番号2に記載の塩基配列からなるDNA；

(b) 配列表の配列番号2において、1又は数個の塩基が欠失、置換、付加もしくは挿入された塩基配列を有し、かつFBPase活性を有するタンパク質をコードするDNA；又は

(c) 配列表の配列番号2に記載の塩基配列からなるDNAと相補的な塩基配列からなるDNAとストリンジентな条件下でハイブリダイズし、かつFBPase活性を有するタンパク質をコードする塩基配列からなるDNA；又は

(d) 配列表の配列番号2に記載の塩基配列からなるDNAと少なくとも60%以上の相同性を有し、かつFBPase活性を有するタンパク質をコードする塩基配列からなるD

N A、

(4) S B P a s e 活性を有するタンパク質が、次のいずれかである上記(1)に記載のベクター；

(a) 配列表の配列番号3に記載のアミノ酸配列からなるタンパク質；

(b) 配列表の配列番号3において、1又は数個のアミノ酸が欠失、置換、付加もしくは挿入されたアミノ酸配列を有し、かつS B P a s e 活性を有するタンパク質；又は

(c) 配列表の配列番号3に記載のアミノ酸配列と少なくとも60%以上の同一性を有し、かつS B P a s e 活性を有するタンパク質、

(5) S B P a s e 活性を有するタンパク質をコードする遺伝子が、次のいずれかのD N A からなる遺伝子である、上記(1)に記載のベクター；

(a) 配列表の配列番号4に記載の塩基配列からなるD N A ；

(b) 配列表の配列番号4において、1又は数個の塩基が欠失、置換、付加もしくは挿入された塩基配列を有し、かつS B P a s e 活性を有するタンパク質をコードするD N A ；

(c) 配列表の配列番号4に記載の塩基配列からなるD N A と相補的な塩基配列からなるD N A とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつS B P a s e 活性を有するタンパク質をコードする塩基配列からなるD N A ；又は

(d) 配列表の配列番号4に記載の塩基配列からなるD N A と少なくとも60%以上の同一性を有し、かつS B P a s e 活性を有するタンパク質をコードする塩基配列からなるD N A、

(6) F B P a s e 活性及びS B P a s e 活性を有するタンパク質が、次のいずれかである上記(1)に記載のベクター；

(a) 配列表の配列番号5に記載のアミノ酸配列からなるタンパク質；

(b) 配列表の配列番号5において、1又は数個のアミノ酸が欠失、置換、付加もしくは挿入されたアミノ酸配列を有し、かつF B P a s e 活性及びS B P a s e 活性を有するタンパク質；又は

(c) 配列表の配列番号5に記載のアミノ酸配列と少なくとも60%以上の同一性を有し、かつF B P a s e 活性及びS B P a s e 活性を有するタンパク質、

(7) F B P a s e 活性及びS B P a s e 活性を有するタンパク質をコードする遺伝子が、次のいずれかのD N A からなる遺伝子である、上記(1)に記載のベクター；

(a) 配列表の配列番号6に記載の塩基配列からなるD N A ；

(b) 配列表の配列番号6において、1又は数個の塩基が欠失、置換、付加もしくは挿入された塩基配列を有し、かつF B P a s e 活性及びS B P a s e 活性を有するタンパク質をコードするD N A ；

(c) 配列表の配列番号6に記載の塩基配列からなるD N A と相補的な塩基配列からなるD N A とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつF B P a s e 活性及びS B P a s e 活性を有するタンパク質をコードする塩基配列からなるD N A ；又は

(d) 配列表の配列番号6に記載の塩基配列からなるD N A と少なくとも60%以上の同一性を有し、かつF B P a s e 活性及びS B P a s e 活性を有するタンパク質をコードする塩基配列からなるD N A、

(8) 発現カセットが、F B P a s e 活性及び/又はS B P a s e 活性を有するタンパク質をコードする遺伝子を含むD N A フラグメントの翻訳開始点の上流にリボゾーム結合部位を有することを特徴とする上記(1)～(7)のいずれかに記載のベクター、

(9) 発現カセットが、リボゾーム結合部位の上流にプロモーター、及びF B P a s e 活性及び/又はS B P a s e 活性を有するタンパク質をコードする遺伝子を含むD N A フラグメントの下流にターミネーターを有することを特徴とする上記(8)に記載のベクター、

(10) プロモーター及びターミネーターがそれぞれタバコ葉緑体由来のプロモーター及びターミネーターであることを特徴とする上記(9)に記載のベクター、

(11) ルビスコ大サブユニット遺伝子とアセチルC o A カルボキシラーゼのサブユニット遺伝子がそれぞれタバコ由来の遺伝子である上記(1)～(10)のいずれかに記載の

ベクター、

(12) タバコ由来のルビスコ大サブユニット遺伝子とアセチルCoAカルボキシラーゼのサブユニット遺伝子の間に、FBPase活性及び/又はSBPase活性を有するタンパク質をコードする遺伝子を含むDNAフラグメントを有し、上記DNAフラグメントの翻訳開始点の上流にリボゾーム結合部位を有し、さらに、上記ルビスコ大サブユニット遺伝子とリボゾーム結合部位の間にタバコ由来のプロモーターを有し、そして上記アセチルCoAカルボキシラーゼのサブユニット遺伝子とDNAフラグメントの間にタバコ由来のターミネーターを有する発現カセットを有する遺伝子組み換えベクター、

(13) 上記(1)~(12)のいずれかに記載のベクターを葉緑体に導入した形質転換葉緑体、

(14) 上記(13)に記載の形質転換葉緑体を有する植物、

(15) 植物がタバコである上記(14)に記載の植物、及び

(16) 葉緑体形質転換の手法を用いて、高等植物の葉緑体ゲノムにFBP/SBP遺伝子を導入、発現させることにより、FBPase活性を元の植物の2倍以上に高めた植物

、

に関する。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0044

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0044】

まず、pLD6ベクターを作製する工程である。かかるベクターは、実施例の〔工程1〕に記載の方法で容易に作製することができる。pLD6の全塩基配列を配列番号10に示す。pLD6のNotIとSalIの切断部位に構築遺伝子群を挿入する。構築遺伝子群は、(a)配列番号11で表される塩基配列からなるマルチクローニング領域(配列番号10中の3698-3748に位置する)と、その上流に配列番号7で表されるタバコ葉緑体由来のpsbAプロモーター(配列番号10中の3569-3701に位置する)と、マルチクローニング領域の下流に配列番号8で表されるタバコ葉緑体由来のrps16ターミネーター(配列番号10中の3755-3913に位置する)とからなる群と、その群の上流に(b)遺伝子組換え体を識別するための遺伝子としての配列番号9で表されるスペクチノマイシン耐性遺伝子であるaadA遺伝子(配列番号10中の2369-3173に位置する)と、aadA遺伝子の上流に配列番号12で表されるタバコ葉緑体由来のrrnプロモーター(配列番号10中の2227-2368に位置する)と、aadA遺伝子の下流に配列番号13で表されるタバコ葉緑体由来のpsbAターミネーター(配列番号10中の3175-3564に位置する)とを有している。上記マルチクローニング領域の制限酵素認識部位(BglII、SphI、ClaI及びEcoRI)に、FBPase活性及び/又はSBPase活性を有するタンパク質をコードする遺伝子を挿入する。より具体的には、pLD6ベクターのマルチクローニング領域のSphIとEcoRIの切断部位に、例えば配列番号2で示されるハウレンソウ由来のFBPaseをコードする遺伝子又は配列番号4で示されるハウレンソウ由来のSBPaseをコードする遺伝子、あるいはラン藻由来の配列番号6で示されるFBP/SBPaseをコードする遺伝子等を挿入する。この場合、配列番号の第13~17位の塩基配列(5'-aggag-3')がSD配列に相当し、リボゾーム結合部位として働く。以下、FBPase活性及び/又はSBPase活性を有するタンパク質をコードする遺伝子が挿入された構築遺伝子群をFBP/SBP遺伝子群と称し、該遺伝子群が挿入されたpLD6ベクターをpLD6-FBP/SBPと称する。