

【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27年12月17日 (2015.12.17)

【公表番号】特表2015-503904(P2015-503904A)

【公表日】平成27年2月5日 (2015.2.5)

【年通号数】公開・登録公報2015-008

【出願番号】特願2014-539095(P2014-539095)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 9/88 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 1/13 (2006.01)

C 1 2 P 5/02 (2006.01)

C 0 7 K 14/415 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 9/88

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 1 0 1

C 1 2 N 1/13

C 1 2 P 5/02

C 0 7 K 14/415

【手続補正書】

【提出日】平成27年10月26日 (2015.10.26)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

イソプレレン合成酵素活性を有する単離ポリペプチドであって、該ポリペプチド変異体が、配列番号 1 の対応する残基 X 2 8 8 に置換を含み、かつ前記ポリペプチドが、残基 X 2 8 8 に置換を含まない親ポリペプチドと比較してタンパク質溶解度が増加している、単離ポリペプチド。

【請求項 2】

前記置換が残基 S 2 8 8 のものである、請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 3】

前記置換が残基 S 2 8 8 C のものである、請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 4】

前記ポリペプチドが、前記親ポリペプチドと比較してタンパク質の溶解度が少なくとも約 5 % ~ 少なくとも約 7 5 % 増加している、請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 5】

前記ポリペプチドが、植物から単離された親ポリペプチドに由来するものである、請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 6】

前記親ポリペプチドが、ポプラ (poplar) (ハコヤナギ (*Populus* sp.))、クズ (kudzu) (プエラリア (*Pueraria* sp.))、ヨーロッパナラ (English oak) (カシ (*Quercus* sp.)) 又はヤナギ (willow) (サリクス (*Salix* sp.)) から選択される植物種から単離される、請求項 5 に記載のポリペプチド。

【請求項 7】

前記親ポリペプチドがハコヤナギ (*Populus* sp.) から単離され、かつウラジロハコヤナギ (*P. alba*)、ヤマナラシ (*P. tremuloides*)、コットンウッド (*P. trichocarpa*)、又はセイヨウハコヤナギ (*P. nigra*) のものである、請求項 6 に記載のポリペプチド。

【請求項 8】

前記親ポリペプチドが、タイワンクズ (*Pueraria montana*) から単離されたものである、請求項 6 に記載のポリペプチド。

【請求項 9】

前記親ポリペプチドが、ヨーロッパナラ (*Quercus rubur*) から単離されたものである、請求項 6 に記載のポリペプチド。

【請求項 10】

前記親ポリペプチドがサリックス (*Salix* sp.) から単離され、かつサリックス・アルバ (*S. alba*) 又はサリックス・バビロニア (*S. babylonica*) のものである、請求項 6 に記載のポリペプチド。

【請求項 11】

請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む組み換え宿主細胞。

【請求項 12】

前記宿主細胞が、細菌細胞、藻類細胞、真菌細胞、酵母細胞、ラン藻細胞、及びクロストリジウム細胞からなる群から選択される、請求項 11 の宿主細胞。

【請求項 13】

前記宿主細胞が、細菌細胞である、請求項 12 に記載の宿主細胞。

【請求項 14】

前記細菌細胞が、グラム陽性細菌細胞、又はグラム陰性細菌細胞である、請求項 13 に記載の宿主細胞。

【請求項 15】

前記細菌細胞が、大腸菌 (*E. coli*)、ラクトバチルス・アシドフィルス (*L. acidophilus*)、シュードアルテロモナス・シトレア (*P. citrea*)、バチルス・サブチリス (*B. subtilis*)、バチルス・リケニフォルミス (*B. licheniformis*)、バチルス・レントス (*B. lentus*)、バチルス・ブレビス (*B. brevis*)、バチルス・ステアロサーモフィルス (*B. stearothermophilus*)、バチルス・アルカロフィルス (*B. alkalophilus*)、バチルス・アミロリケファシエンス (*B. amyloliquefaciens*)、バチルス・クラウシイ (*B. clausii*)、バチルス・ハロデュランス (*B. halodurans*)、バチルス・メガテリウム (*B. megaterium*)、バチルス・コアギュランス (*B. coagulans*)、バチルス・サーキュランス (*B. circulans*)、バチルス・ロータス (*B. lautus*)、バチルス・チューリングエンシス (*B. thuringiensis*)、ストレプトマイシス・アルブス (*S. albus*)、ストレプトマイシス・リビダンス (*S. lividans*)、ストレプトマイシス・セリカラー (*S. coelicolor*)、ストレプトマイシス・グリセウス (*S. griseus*)、シュードモナス (*Pseudomonas* sp.)、シュードモナス・アルカリゲネス (*P. alcaligenes*)、及びコリネバクテリウム・グルタミカム (*C. glutamicum*) 細胞からなる群から選択される、請求項 14 に記載の宿主細胞。

【請求項 16】

前記宿主細胞が藻類細胞である、請求項 12 に記載の宿主細胞。

【請求項 17】

前記藻類細胞が、緑藻類、紅藻類、灰色藻類、クロララクニオン藻類、ミドリムシ類、

クロミスタ類、及び渦鞭毛藻類からなる群から選択される、請求項 1 6 に記載の宿主細胞。

【請求項 1 8】

前記宿主細胞が真菌細胞である、請求項 1 2 に記載の宿主細胞。

【請求項 1 9】

前記真菌細胞が糸状菌である、請求項 1 8 に記載の宿主細胞。

【請求項 2 0】

前記宿主細胞が酵母細胞である、請求項 1 2 に記載の宿主細胞。

【請求項 2 1】

前記酵母細胞が、サッカロミセス (*Saccharomyces* sp.)、シゾサッカロミセス (*Schizosaccharomyces* sp.)、ピキア属 (*Pichia* sp.)、及びカンジダ属 (*Candida* sp.) からなる群から選択される、請求項 2 0 に記載の宿主細胞。

【請求項 2 2】

前記酵母細胞が、サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) 細胞である、請求項 2 1 に記載の宿主細胞。

【請求項 2 3】

配列番号 2 (D W 6 1 4) のアミノ酸残基を含むポリペプチドの結晶形態。

【請求項 2 4】

請求項 1 に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

【請求項 2 5】

請求項 2 4 に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項 2 6】

請求項 2 5 に記載のベクターを含む、組み換え宿主細胞。

【請求項 2 7】

イソプレン産生法であって、(a) イソプレン産生に好適な条件下で請求項 1 1 に記載の組み換え宿主細胞を培養すること、並びに (b) イソプレンを産生させること、を含む、方法。

【請求項 2 8】

イソプレン産生法であって、(a) イソプレン産生に好適な条件下で請求項 2 6 に記載の組み換え宿主細胞を培養すること、並びに (b) イソプレンを産生させること、を含む、方法。