

【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2月14日 (2008.2.14)

【公表番号】特表2004-500072(P2004-500072A)

【公表日】平成16年1月8日 (2004.1.8)

【年通号数】公開・登録公報2004-001

【出願番号】特願2001-550382(P2001-550382)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/345 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 P 13/08 (2006.01)

C 1 2 R 1/13 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 14/345

C 1 2 N 1/21

C 1 2 P 13/08 A

C 1 2 P 13/08 A

C 1 2 R 1:13

【手続補正書】

【提出日】平成19年12月17日 (2007.12.17)

【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】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 配列番号 2 のポリペプチド配列をコードするヌクレオチド配列を含む、単離されたポリヌクレオチド分子。

【請求項 2】 配列番号 1 の配列を有する核酸を含む、請求項 1 に記載の単離されたポリヌクレオチド分子。

【請求項 3】 請求項 1 に記載される単離されたポリヌクレオチド分子を含む、ベクター。

【請求項 4】 請求項 3 に記載されるベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 5】 請求項 1 に記載の単離されたポリヌクレオチド分子であって、プロモーター配列

をさらに含み、該プロモーター配列は、配列番号 17 に対して少なくとも 95 % の配列同一性を有し、該プロモーター配列は、該ポリヌクレオチドの発現を制御する、単離されたポリヌクレオチド分子。

【請求項 6】 請求項 5 に記載のポリヌクレオチドであって、前記プロモーター配列が配列番号 17 のヌクレオチド配列を有する、ポリヌクレオチド。

【請求項 7】 請求項 5 に記載の単離されたポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【請求項 8】 請求項 7 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 9】 N R R L B 3 0 3 5 9 である、請求項 8 に記載の宿主細胞。

【請求項 10】 *Corynebacterium* 種の宿主細胞を形質転換するための方法であって、

(a) *Corynebacterium* 種の宿主細胞を、請求項 5 に記載のポリヌクレ

オチド分子で形質転換する工程；および

(b) 形質転換された宿主細胞を選択する工程、
を包含する、方法。

【請求項 11】 単離されたポリヌクレオチド分子であって、

(a) 請求項 1 に記載のポリヌクレオチド分子；ならびに

(b) (i) 配列番号 4 の a s d ポリペプチドをコードする、核酸分子；

(ii) 配列番号 6 の d a p A ポリペプチドをコードする、核酸分子；

(iii) 配列番号 8 の d a p B ポリペプチドをコードする、核酸分子；

(iv) 配列番号 10 の d d h ポリペプチドをコードする、核酸分子；

(v) 配列番号 21 の ' l y s A ポリペプチドをコードする、核酸分子；

(vi) 配列番号 14 の l y s A ポリペプチドをコードする、核酸分子；および

び

(vii) 配列番号 16 の O R F 2 ポリペプチドをコードする、核酸分子、
からなる群より選択される、少なくとも 1 つのさらなる *Corynebacterium*
種リジン経路遺伝子；

を含む、単離されたポリヌクレオチド分子。

【請求項 12】 請求項 11 に記載のポリヌクレオチド分子を含む、ベクター。

【請求項 13】 請求項 12 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 14】 請求項 13 に記載の宿主細胞であって、該宿主細胞は、*Brevibacterium flavum* NRRL - B30218、*Brevibacterium flavum* NRRL - B30219、*Brevibacterium lactofermentum* NRRL - B30220、*Brevibacterium lactofermentum* NRRL - B30221、*Brevibacterium lactofermentum* NRRL - B30222、*Brevibacterium flavum* NRRL - B30234 および *Brevibacterium lactofermentum* NRRL - B30235 からなる群より選択される *Brevibacterium* である、宿主細胞。

【請求項 15】 請求項 13 に記載の宿主細胞であって、該宿主細胞は、*Escherichia coli* DH5 MCR NRRL - B30228 である、宿主細胞。

【請求項 16】 請求項 13 に記載の宿主細胞であって、該宿主細胞は、*C. glutamicum* NRRL - B30236 および *C. glutamicum* NRRL - B30237 からなる群より選択される *C. glutamicum* である、宿主細胞。

【請求項 17】 請求項 11 に記載の単離されたポリヌクレオチドであって、前記さらなる *Corynebacterium* 種リジン経路遺伝子が、配列番号 4 の a s d ポリペプチドをコードする、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 18】 請求項 11 に記載の単離されたポリヌクレオチドであって、前記さらなる *Corynebacterium* 種リジン経路遺伝子が、配列番号 6 の d a p A ポリペプチドをコードする、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 19】 請求項 11 に記載の単離されたポリヌクレオチドであって、前記さらなる *Corynebacterium* 種リジン経路遺伝子が、配列番号 8 の d a p B ポリペプチドをコードする、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 20】 請求項 11 に記載の単離されたポリヌクレオチドであって、前記さらなる *Corynebacterium* 種リジン経路遺伝子が、配列番号 10 の d d h ポリペプチドをコードする、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 21】 請求項 11 に記載の単離されたポリヌクレオチドであって、前記さらなる *Corynebacterium* 種リジン経路遺伝子が、配列番号 21 の ' l y s A ポリペプチドをコードする、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 22】 請求項 11 に記載の単離されたポリヌクレオチドであって、前記さらなる *Corynebacterium* 種リジン経路遺伝子が、配列番号 14 の l y s A

ポリペプチドをコードする、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 23】 請求項 11 に記載の単離されたポリヌクレオチドであって、前記さ
らなる *Corynebacterium* 種リジン経路遺伝子が、配列番号 16 の ORF 2
ポリペプチドをコードする、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 24】 単離されたポリヌクレオチド分子であって、

(a) 請求項 1 に記載のポリヌクレオチド分子；

(b) 配列番号 4 の a s d アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

(c) 配列番号 6 の d a p A アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

(d) 配列番号 8 の d a p B アミノ酸配列をコードする、核酸分子；および

(e) 配列番号 16 の ORF 2 アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

を含む、単離されたポリヌクレオチド分子。

【請求項 25】 p K 184 - K D A B を含む、請求項 24 に記載の単離されたポリ
ヌクレオチド分子。

【請求項 26】 単離されたポリヌクレオチド分子であって、

(a) 請求項 1 に記載のポリヌクレオチド分子；

(b) 配列番号 4 の a s d アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

(c) 配列番号 6 の d a p A アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

(d) 配列番号 8 の d a p B アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

(e) 配列番号 10 の d d h アミノ酸配列をコードする、核酸分子；および

(f) 配列番号 16 の ORF 2 アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

を含む、単離されたポリヌクレオチド分子。

【請求項 27】 単離されたポリヌクレオチド分子であって、

(a) 請求項 1 に記載のポリヌクレオチド分子；

(b) 配列番号 4 の a s d アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

(c) 配列番号 6 の d a p A アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

(d) 配列番号 8 の d a p B アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

(e) 配列番号 10 の d d h アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

(f) 配列番号 21 の ' l y s A アミノ酸配列をコードする、核酸分子；および

(g) 配列番号 16 の ORF 2 アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

を含む、単離されたポリヌクレオチド分子。

【請求項 28】 p D 11 - K D A B H ' L を含む、請求項 27 に記載の単離された
ポリヌクレオチド分子。

【請求項 29】 単離されたポリヌクレオチド分子であって、

(a) 請求項 2 に記載のポリヌクレオチド分子；

(b) 配列番号 4 の a s d アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

(c) 配列番号 6 の d a p A アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

(d) 配列番号 8 の d a p B アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

(e) 配列番号 10 の d d h アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

(f) 配列番号 14 の l y s A アミノ酸配列をコードする、核酸分子；および

(g) 配列番号 16 の ORF 2 アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

を含む、単離されたポリヌクレオチド分子。

【請求項 30】 p D 2 - K D A B H L を含む、請求項 29 に記載の単離されたポリ
ヌクレオチド分子。

【請求項 31】 *Corynebacterium* 種の宿主細胞を形質転換するため
の方法であって、

(a) *Corynebacterium* 種の宿主細胞を、配列番号 2 のポリペプチドを
コードするヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチド分子で形質転換する工程
；および

(b) 形質転換された宿主細胞を選択する工程、
を包含する、方法。

【請求項 3 2】 請求項 3 1 に記載の方法であって、
前記形質転換されたポリヌクレオチド分子についてスクリーニングする工程；
をさらに包含する、方法。

【請求項 3 3】 請求項 3 1 に記載の方法であって、
(a) 前記形質転換された宿主細胞を培地中で増殖させる工程；および
(b) 該形質転換された宿主細胞によって産生されるアミノ酸を精製する工程、
をさらに包含する、方法。

【請求項 3 4】 請求項 3 1 に記載の方法であって、前記ヌクレオチド配列が前記宿主細胞の染色体中に組み込まれる、方法。

【請求項 3 5】 請求項 3 1 に記載の方法であって、前記宿主細胞が、
(a) アスパラギン酸 - セミアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性；
(b) ジヒドロジピコリン酸シンターゼ活性；
(c) ジヒドロジピコリン酸レダクターゼ活性；
(d) ジアミノピメリン酸デヒドロゲナーゼ活性；および
(e) ジアミノピメレート脱炭酸酵素活性；
のうちの少なくとも 1 つを保有する、方法。

【請求項 3 6】 請求項 3 5 に記載の方法であって、
前記活性についてスクリーニングする工程；
をさらに包含する、方法。

【請求項 3 7】 請求項 3 5 に記載の方法であって、前記活性がアスパラギン酸 - セミアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性である、方法。

【請求項 3 8】 請求項 3 7 に記載の方法であって、前記アスパラギン酸 - セミアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性が、配列番号 3 のポリヌクレオチドによりコードされる a s d ポリペプチドによって生成される、方法。

【請求項 3 9】 請求項 3 5 に記載の方法であって、前記活性がジヒドロジピコリン酸シンターゼ活性である、方法。

【請求項 4 0】 請求項 3 9 に記載の方法であって、前記ジヒドロジピコリン酸シンターゼ活性が、配列番号 5 のポリヌクレオチドによりコードされる d a p A ポリペプチドによって生成される、方法。

【請求項 4 1】 請求項 3 5 に記載の方法であって、前記活性がジヒドロジピコリン酸レダクターゼ活性である、方法。

【請求項 4 2】 請求項 4 1 に記載の方法であって、前記ジヒドロジピコリン酸レダクターゼ活性が、配列番号 7 のポリヌクレオチドによりコードされる d a p B ポリペプチドによって生成される、方法。

【請求項 4 3】 請求項 3 5 に記載の方法であって、前記活性がジアミノピメリン酸デヒドロゲナーゼ活性である、方法。

【請求項 4 4】 請求項 4 3 に記載の方法であって、前記ジアミノピメリン酸デヒドロゲナーゼ活性が、配列番号 9 のポリヌクレオチドによりコードされる d d h ポリペプチドによって生成される、方法。

【請求項 4 5】 請求項 3 5 に記載の方法であって、前記活性がジアミノピメレート脱炭酸酵素活性である、方法。

【請求項 4 6】 請求項 4 5 に記載の方法であって、前記ジアミノピメレート脱炭酸酵素活性が、配列番号 2 0 のポリヌクレオチドによりコードされる ' l y s A ポリペプチドによって生成される、方法。

【請求項 4 7】 請求項 4 5 に記載の方法であって、前記ジアミノピメレート脱炭酸酵素活性が、配列番号 1 3 のポリヌクレオチドによりコードされる l y s A ポリペプチドによって生成される、方法。

【請求項 4 8】 請求項 3 1 に記載の方法であって、前記単離されたポリヌクレオチド分子が、

(a) 配列番号 4 の a s d アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

- (b) 配列番号 6 の d a p A アミノ酸配列をコードする、核酸分子；
- (c) 配列番号 8 の d a p B アミノ酸配列をコードする、核酸分子；
- (d) 配列番号 10 の d d h アミノ酸配列をコードする、核酸分子；
- (e) 配列番号 21 の ' l y s A アミノ酸配列をコードする、核酸分子；
- (f) 配列番号 14 の l y s A アミノ酸配列をコードする、核酸分子；および
- (g) 配列番号 16 の O R F 2 アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

からなる群より選択される少なくとも 1 つの核酸分子をさらに含む、方法。

【請求項 49】 請求項 31 に記載の方法であって、前記単離されたポリヌクレオチド分子が、

- (a) 配列番号 4 の a s d アミノ酸配列をコードする、核酸分子；
- (b) 配列番号 6 の d a p A アミノ酸配列をコードする、核酸分子；
- (c) 配列番号 8 の d a p B アミノ酸配列をコードする、核酸分子；および
- (d) 配列番号 16 の O R F 2 アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

をさらに含む、方法。

【請求項 50】 請求項 31 に記載の方法であって、前記単離されたポリヌクレオチド分子が、

- (a) 配列番号 4 の a s d アミノ酸配列をコードする、核酸分子；
- (b) 配列番号 6 の d a p A アミノ酸配列をコードする、核酸分子；
- (c) 配列番号 8 の d a p B アミノ酸配列をコードする、核酸分子；
- (d) 配列番号 10 の d d h アミノ酸配列をコードする、核酸分子；および
- (e) 配列番号 16 の O R F 2 アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

をさらに含む、方法。

【請求項 51】 請求項 31 に記載の方法であって、前記単離されたポリヌクレオチド分子が、

- (a) 配列番号 4 の a s d アミノ酸配列をコードする、核酸分子；
- (b) 配列番号 6 の d a p A アミノ酸配列をコードする、核酸分子；
- (c) 配列番号 8 の d a p B アミノ酸配列をコードする、核酸分子；
- (d) 配列番号 10 の d d h アミノ酸配列をコードする、核酸分子；
- (e) 配列番号 21 の ' l y s A アミノ酸配列をコードする、核酸分子；および
- (f) 配列番号 16 の O R F 2 アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

をさらに含む、方法。

【請求項 52】 請求項 31 に記載の方法であって、前記単離されたポリヌクレオチド分子が、

- (a) 配列番号 4 の a s d アミノ酸配列をコードする、核酸分子；
- (b) 配列番号 6 の d a p A アミノ酸配列をコードする、核酸分子；
- (c) 配列番号 8 の d a p B アミノ酸配列をコードする、核酸分子；
- (d) 配列番号 10 の d d h アミノ酸配列をコードする、核酸分子；
- (e) 配列番号 14 の l y s A アミノ酸配列をコードする、核酸分子；および
- (f) 配列番号 16 の O R F 2 アミノ酸配列をコードする、核酸分子；

をさらに含む、方法。