

【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29年12月28日 (2017.12.28)

【公表番号】特表2016-536993(P2016-536993A)  
 【公表日】平成28年12月1日 (2016.12.1)  
 【年通号数】公開・登録公報2016-066  
 【出願番号】特願2016-530177(P2016-530177)  
 【国際特許分類】

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 P 21/02 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 1/21 Z N A

C 1 2 P 21/02 C

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成29年11月13日 (2017.11.13)

【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】

改変 *Escherichia coli* K - 12 株またはその誘導体であって、

(a) *rph* 遺伝子内の天然の - 1 フレームシフト突然変異を補完する突然変異の導入により、または *rph* 遺伝子の欠失により、非改変親 *E. coli* K - 12 株と比べてオロチン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ活性を増強し、

(b) *ilvG* 遺伝子における天然の - 2 フレームシフト突然変異を補完する突然変異の導入によって活性アセトヒドロキシ酸シンターゼ II を産生し、

(c) *iclR* 遺伝子および *arpA* 遺伝子のすべてまたは一部の欠失によって非改変親 *E. coli* K - 12 株と比べて *iclR* および *arpA* 遺伝子産物の発現を低減するように改変されている、改変 *E. coli* K - 12 株またはその誘導体。

【請求項 2】

機能的な *recA* (b2699) 遺伝子を欠く、請求項 1 に記載の改変 *E. coli* K - 12 株。

【請求項 3】

前記非改変親 *E. coli* 株が、*E. coli* K 株 MG1655、W3110、DH1、DH10B、DH5、Inv、Top10、Top10F、JM103、JM105、JM109、MC1061、MC4100、XL1-Blue、EC100、BW2952、および EC300 からなる群から選択される、請求項 1 または 2 に記載の改変 *E. coli* K 株。

【請求項 4】

前記非改変親 *E. coli* 株が、*E. coli* K 株 MG1655 または W3110 である、請求項 3 に記載の改変 *E. coli* K 株。

【請求項 5】

前記非改変親 *E. coli* 株が、*E. coli* 株 MG1655 より約 2 % ~ 約 40 % 小さい、好ましくは約 5 % ~ 約 30 % 小さいように遺伝子操作されたゲノムを有する低減ゲ

ノム E . c o l i 細菌である、請求項 1 または 2 に記載の改変 E . c o l i K 株。

【請求項 6】

前記非改変親 E . c o l i 株が、少なくとも以下の DNA セグメント：E . c o l i K - 1 2 株 M G 1 6 5 5 の b 0 2 4 5 ~ b 0 3 0 1、b 0 3 0 3 ~ b 0 3 1 0、b 1 3 3 6 ~ b 1 4 1 1、b 4 4 2 6 ~ b 4 4 2 7、b 2 4 4 1 ~ b 2 4 5 0、b 2 6 2 2 ~ b 2 6 5 4、b 2 6 5 7 ~ b 2 6 6 0、b 4 4 6 2、b 1 9 9 4 ~ b 2 0 0 8、b 4 4 3 5、b 3 3 2 2 ~ b 3 3 3 8、b 2 3 4 9 ~ b 2 3 6 3、b 1 5 3 9 ~ b 1 5 7 9、b 4 2 6 9 ~ b 4 3 2 0、b 2 9 6 8 ~ b 2 9 7 2、b 2 9 7 5 ~ b 2 9 7 7、b 2 9 7 9 ~ b 2 9 8 7、b 4 4 6 6 - 4 4 6 8、b 1 1 3 7 ~ b 1 1 7 2、b 0 5 3 7 ~ b 0 5 6 5、b 0 0 1 6 ~ b 0 0 2 2、b 4 4 1 2 ~ b 4 4 1 3、b 0 5 7 7 ~ b 0 5 8 2、b 4 4 1 5、b 2 3 8 9 ~ b 2 3 9 0、b 2 3 9 2 ~ b 2 3 9 5、b 0 3 5 8 ~ b 0 3 6 8、b 0 3 7 0 ~ b 0 3 8 0、b 2 8 5 6 ~ b 2 8 6 3、b 3 0 4 2 ~ b 3 0 4 8、b 0 6 5 6、b 1 3 2 5 ~ b 1 3 3 3、b 2 0 3 0 ~ b 2 0 6 2、b 2 1 9 0 ~ b 2 1 9 2、b 3 2 1 5 ~ b 3 2 1 9、b 3 5 0 4 ~ b 3 5 0 5、b 1 0 7 0 ~ b 1 0 8 3、b 1 8 7 8 ~ b 1 8 9 4、b 1 9 1 7 ~ b 1 9 5 0、b 4 3 2 4 ~ b 4 3 4 2、b 4 3 4 5 ~ b 4 3 5 8、b 4 4 8 6、b 0 4 9 7 ~ b 0 5 0 2、b 0 7 0 0 ~ b 0 7 0 6、b 1 4 5 6 ~ b 1 4 6 2、b 3 4 8 1 ~ b 3 4 8 4、b 3 5 9 2 ~ b 3 5 9 6、b 0 9 8 1 ~ b 0 9 8 8、b 1 0 2 1 ~ b 1 0 2 9、b 2 0 8 0 ~ b 2 0 9 6、b 4 4 3 8、b 3 4 4 0 ~ b 3 4 4 5、b 4 4 5 1、b 3 5 5 6 ~ b 3 5 5 8、b 4 4 5 5、b 1 7 8 6、b 0 1 5 0 ~ b 0 1 5 3、および b 2 9 4 5 が自己から欠失している低減ゲノム E . c o l i 細菌である、請求項 5 に記載の改変 E . c o l i K 株。

【請求項 7】

前記非改変親 E . c o l i 株が、少なくとも以下の DNA セグメント：E . c o l i K - 1 2 株 M G 1 6 5 5 の b 2 4 8 1 ~ b 2 4 9 2、b 2 2 1 9 ~ b 2 2 3 0、b 4 5 0 0、b 3 7 0 7 ~ b 3 7 2 3、b 0 6 4 4 ~ b 0 6 5 0、b 4 0 7 9 - 4 0 9 0、b 4 4 8 7、b 4 0 9 2 ~ b 4 1 0 6、b 0 7 3 0 ~ b 0 7 3 2、b 3 5 7 2 ~ b 3 5 8 7、b 1 6 5 3、b 2 7 3 5 ~ b 2 7 4 0、b 2 4 0 5 ~ b 2 4 0 7、b 3 8 9 6 ~ b 3 9 0 0、b 1 2 0 2、b 4 2 6 3 ~ b 4 2 6 8、b 0 6 1 1、b 2 3 6 4 ~ b 2 3 6 6、b 0 8 3 9、b 0 4 8 8 ~ b 0 5 0 0、b 0 5 0 2 が自己からさらに欠失している低減ゲノム E . c o l i 細菌である、請求項 6 に記載の改変 E . c o l i K 株。

【請求項 8】

前記非改変親 E . c o l i 株が、低減ゲノム E . c o l i 株 M D S 4 2 である、請求項 6 に記載の改変 E . c o l i K 株。

【請求項 9】

前記非改変親 E . c o l i 株が、低減ゲノム E . c o l i 株 M D S 6 9 である、請求項 7 に記載の改変 E . c o l i K 株。

【請求項 10】

r e l A 遺伝子のコード配列の 5 4 7 もしくは 5 4 8 位における少なくとも 1 つの点突然変異を有する r e l A 遺伝子をコードし、前記突然変異が、5 4 7 位における G A 突然変異、5 4 7 位における G T 突然変異、5 4 8 位における C G 突然変異、または 5 4 8 位における C T 突然変異の 1 つまたは複数から選択される、請求項 1 から 9 のいずれかに記載の改変 E . c o l i K 株。

【請求項 11】

機能的な p o l B ( b 0 0 6 0 ) 遺伝子、機能的な d i n B ( b 0 2 3 1 ) 遺伝子、および任意選択で機能的な u m u D C ( b 1 1 8 3 ~ b 1 1 8 4 ) 遺伝子のうちの 1 つまたは複数を欠く、請求項 1 から 10 のいずれかに記載の改変 E . c o l i K 株。

【請求項 12】

異種核酸を含む、請求項 1 から 11 のいずれかに記載の細菌。

【請求項 13】

前記異種核酸が、発現制御配列に作動可能に連結されたポリペプチドをコードする核酸

を含む、請求項 1 2 に記載の細菌。

【請求項 1 4】

ポリペプチドを産生するための方法であって、前記ポリペプチドを発現させるのに適した条件下で請求項 1 3 に記載の細菌をインキュベートすることと、前記ポリペプチドを収集することを含む、方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 2】

本発明のこれらおよび他の実施形態を、以下で本明細書により詳細に記載する。

例えば、本発明は以下の項目を提供する。

(項目 1)

(a) 非改変親 *E. coli* K - 1 2 株と比べてオロチン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ活性を増強し、

(b) 活性アセトヒドロキシ酸シンターゼ II を産生し、

(c) 非改変親 *E. coli* K - 1 2 株と比べて *iclR* および *arpA* 遺伝子産物の発現を低減する

ように改変されている、改変 *Escherichia coli* K - 1 2 株またはその誘導体。

(項目 2)

機能的な *recA* (b2699) 遺伝子を欠く、項目 1 に記載の改変 *E. coli* K - 1 2 株。

(項目 3)

*rph* 遺伝子を欠失させることによってオロチン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ活性を増強するように改変されている、項目 1 または 2 に記載の改変 *E. coli* K - 1 2 株。

(項目 4)

*ilvG* 遺伝子における天然の - 2 フレームシフト突然変異を補完する突然変異の導入によって活性アセトヒドロキシ酸シンターゼ II を産生するように改変されている、前記項目のいずれかに記載の改変 *E. coli* K - 1 2 株。

(項目 5)

*iclR* 遺伝子および *arpA* 遺伝子を欠失させることによって前記 *iclR* および *arpA* 遺伝子産物の発現を低減するように改変されている、前記項目のいずれかに記載の改変 *E. coli* K - 1 2 株。

(項目 6)

前記非改変親 *E. coli* 株が、*E. coli* K 株 MG1655、W3110、DH1、DH10B、DH5、Inv、Top10、Top10F、JM103、JM105、JM109、MC1061、MC4100、XL1-Blue、EC100、BW2952、および EC300 からなる群から選択される、前記項目のいずれかに記載の改変 *E. coli* K 株。

(項目 7)

前記非改変親 *E. coli* 株が、*E. coli* K 株 MG1655 または W3110 である、項目 6 に記載の改変 *E. coli* K 株。

(項目 8)

前記非改変親 *E. coli* 株が、*E. coli* 株 MG1655 より約 2 % ~ 約 40 % 小さい、好ましくは約 5 % ~ 約 30 % 小さいように遺伝子操作されたゲノムを有する低減ゲノム *E. coli* 細菌である、項目 1 から 5 のいずれか一項に記載の改変 *E. coli*

K 株。

(項目 9)

前記非改変親 E . c o l i 株が、少なくとも以下の DNA セグメント：E . c o l i K - 1 2 株 M G 1 6 5 5 の b 0 2 4 5 ~ b 0 3 0 1、b 0 3 0 3 ~ b 0 3 1 0、b 1 3 3 6 ~ b 1 4 1 1、b 4 4 2 6 ~ b 4 4 2 7、b 2 4 4 1 ~ b 2 4 5 0、b 2 6 2 2 ~ b 2 6 5 4、b 2 6 5 7 ~ b 2 6 6 0、b 4 4 6 2、b 1 9 9 4 ~ b 2 0 0 8、b 4 4 3 5、b 3 3 2 2 ~ b 3 3 3 8、b 2 3 4 9 ~ b 2 3 6 3、b 1 5 3 9 ~ b 1 5 7 9、b 4 2 6 9 ~ b 4 3 2 0、b 2 9 6 8 ~ b 2 9 7 2、b 2 9 7 5 ~ b 2 9 7 7、b 2 9 7 9 ~ b 2 9 8 7、b 4 4 6 6 - 4 4 6 8、b 1 1 3 7 ~ b 1 1 7 2、b 0 5 3 7 ~ b 0 5 6 5、b 0 0 1 6 ~ b 0 0 2 2、b 4 4 1 2 ~ b 4 4 1 3、b 0 5 7 7 ~ b 0 5 8 2、b 4 4 1 5、b 2 3 8 9 ~ b 2 3 9 0、b 2 3 9 2 ~ b 2 3 9 5、b 0 3 5 8 ~ b 0 3 6 8、b 0 3 7 0 ~ b 0 3 8 0、b 2 8 5 6 ~ b 2 8 6 3、b 3 0 4 2 ~ b 3 0 4 8、b 0 6 5 6、b 1 3 2 5 ~ b 1 3 3 3、b 2 0 3 0 ~ b 2 0 6 2、b 2 1 9 0 ~ b 2 1 9 2、b 3 2 1 5 ~ b 3 2 1 9、b 3 5 0 4 ~ b 3 5 0 5、b 1 0 7 0 ~ b 1 0 8 3、b 1 8 7 8 ~ b 1 8 9 4、b 1 9 1 7 ~ b 1 9 5 0、b 4 3 2 4 ~ b 4 3 4 2、b 4 3 4 5 ~ b 4 3 5 8、b 4 4 8 6、b 0 4 9 7 ~ b 0 5 0 2、b 0 7 0 0 ~ b 0 7 0 6、b 1 4 5 6 ~ b 1 4 6 2、b 3 4 8 1 ~ b 3 4 8 4、b 3 5 9 2 ~ b 3 5 9 6、b 0 9 8 1 ~ b 0 9 8 8、b 1 0 2 1 ~ b 1 0 2 9、b 2 0 8 0 ~ b 2 0 9 6、b 4 4 3 8、b 3 4 4 0 ~ b 3 4 4 5、b 4 4 5 1、b 3 5 5 6 ~ b 3 5 5 8、b 4 4 5 5、b 1 7 8 6、b 0 1 5 0 ~ b 0 1 5 3、および b 2 9 4 5 が自己から欠失している低減ゲノム E . c o l i 細菌である、項目 8 に記載の改変 E . c o l i K 株。

(項目 10)

前記非改変親 E . c o l i 株が、少なくとも以下の DNA セグメント：E . c o l i K - 1 2 株 M G 1 6 5 5 の b 2 4 8 1 ~ b 2 4 9 2、b 2 2 1 9 ~ b 2 2 3 0、b 4 5 0 0、b 3 7 0 7 ~ b 3 7 2 3、b 0 6 4 4 ~ b 0 6 5 0、b 4 0 7 9 - 4 0 9 0、b 4 4 8 7、b 4 0 9 2 ~ b 4 1 0 6、b 0 7 3 0 ~ b 0 7 3 2、b 3 5 7 2 ~ b 3 5 8 7、b 1 6 5 3、b 2 7 3 5 ~ b 2 7 4 0、b 2 4 0 5 ~ b 2 4 0 7、b 3 8 9 6 ~ b 3 9 0 0、b 1 2 0 2、b 4 2 6 3 ~ b 4 2 6 8、b 0 6 1 1、b 2 3 6 4 ~ b 2 3 6 6、b 0 8 3 9、b 0 4 8 8 ~ b 0 5 0 0、b 0 5 0 2 が自己からさらに欠失している低減ゲノム E . c o l i 細菌である、項目 9 に記載の改変 E . c o l i K 株。

(項目 11)

前記非改変親 E . c o l i 株が、低減ゲノム E . c o l i 株 M D S 4 2 である、項目 9 に記載の改変 E . c o l i K 株。

(項目 12)

前記非改変親 E . c o l i 株が、低減ゲノム E . c o l i 株 M D S 6 9 である、項目 10 に記載の改変 E . c o l i K 株。

(項目 13)

前記 r e l A 遺伝子のコード配列の 5 4 7 もしくは 5 4 8 位における少なくとも 1 つの点突然変異を有する r e l A 遺伝子をコードし、前記突然変異が、5 4 7 位における G A 突然変異、5 4 7 位における G T 突然変異、5 4 8 位における C G 突然変異、または 5 4 8 位における C T 突然変異の 1 つまたは複数から選択される、前記項目のいずれかに記載の改変 E . c o l i K 株。

(項目 14)

機能的な p o l B ( b 0 0 6 0 )、d i n B ( b 0 2 3 1 )、および u m u D C ( b 1 1 8 3 ~ b 1 1 8 4 ) 遺伝子を欠く、前記項目のいずれかに記載の改変 E . c o l i K 株。

(項目 14)

異種核酸を含む、前記項目のいずれかに記載の細菌。

(項目 15)

前記異種核酸が、発現制御配列に作動可能に連結されたポリペプチドをコードする核酸

を含む、項目 1 4 に記載の細菌。

( 項目 1 6 )

ポリペプチドを産生するための方法であって、前記ポリペプチドを発現させるのに適した条件下で項目 1 5 に記載の細菌をインキュベートすることと、前記ポリペプチドを収集することを含む、方法。