

【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12月11日 (2008.12.11)

【公表番号】特表2008-524984(P2008-524984A)

【公表日】平成20年7月17日 (2008.7.17)

【年通号数】公開・登録公報2008-028

【出願番号】特願2007-540145(P2007-540145)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 P 7/64 (2006.01)

C 1 2 Q 1/48 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 9/10 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 P 7/64

C 1 2 Q 1/48 Z

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 A

C 1 2 N 9/10

【手続補正書】

【提出日】平成20年10月22日 (2008.10.22)

【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】

(a) 配列番号 1 4 および 1 8 よりなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする単離された核酸分子、

(b) 0.1 × S S C、0.1 % S D S で 6 5 、および 2 × S S C、0.1 % S D S で洗浄、次いで 0.1 × S S C、0.1 % S D S のハイブリダイゼーション条件下で (a) とハイブリダイズする単離された核酸分子、または

(c) (a) または (b) と完全に相補である単離された核酸分子よりなる群から選択される、ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ - 1 酵素をコードする単離された核酸分子。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の単離された核酸分子によってコードされるポリペプチド。

【請求項 3】

配列番号 1 4 に記載の配列を有するポリペプチドと比較して、B L A S T P 法によるア

ラインメントに基づいて少なくとも70%の同一性を有する少なくともアミノ酸526個のジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ-1酵素をコードする第1のヌクレオチド配列、または

第1のヌクレオチド配列の相補体を含んでなる第2のヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子。

【請求項4】

配列番号18に記載の配列を有するポリペプチドと比較して、BLASTP法によるラインメントに基づいて少なくとも70%の同一性を有する少なくともアミノ酸525個のジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ-1酵素をコードする第1のヌクレオチド配列、または

第1のヌクレオチド配列の相補体を含んでなる第2のヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子。

【請求項5】

(a) 配列番号16に記載のアミノ酸配列をコードする単離された核酸分子、

(b) 0.1×SSC、0.1%SDSで65℃、および2×SSC、0.1%SDSで洗浄、次いで0.1×SSC、0.1%SDSのハイブリダイゼーション条件下で(a)とハイブリダイズする単離された核酸分子、または

(c) (a)または(b)と完全に相補である単離された核酸分子よりなる群から選択される、アシル-CoA:ステロール-アシルトランスフェラーゼをコードする単離された核酸分子。

【請求項6】

請求項5に記載の単離された核酸分子によってコードされるポリペプチド。

【請求項7】

配列番号16に記載の配列を有するポリペプチドと比較して、BLASTP法によるラインメントに基づいて少なくとも70%の同一性を有する少なくともアミノ酸543個のアシル-CoA:ステロール-アシルトランスフェラーゼをコードする第1のヌクレオチド配列、または

第1のヌクレオチド配列の相補体を含んでなる第2のヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子。

【請求項8】

適切な制御配列に作動的に結合した請求項1または5のいずれかに記載の単離された核酸分子を含んでなるキメラ遺伝子。

【請求項9】

請求項8に記載のキメラ遺伝子を含んでなる形質転換宿主細胞。

【請求項10】

a) ゲノムライブラリーを請求項1に記載の核酸分子で探索し、

b) 請求項1に記載の核酸分子とハイブリダイズするDNAクローンを同定し、

c) ステップ(b)で同定されたクローンを含んでなるゲノム断片を配列決定することを含んでなり、

配列決定されたゲノム断片が、ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ-1酵素をコードする、
ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ-1酵素をコードする核酸分子の取得方法。

【請求項11】

a) 配列番号13および17よりなる群から選択される配列の一部に対応する少なくとも1つのオリゴヌクレオチドプライマーを合成し、

b) ステップ(a)のオリゴヌクレオチドプライマーを使用してクローニングベクター中に存在するインサートを増幅させることを含んでなり、

増幅されたインサートが、ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ-1をコードするアミノ酸配列の一部をコードする

ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ - 1 酵素をコードする核酸分子の取得方法。

【請求項 1 2】

請求項 1 0 または 1 1 に記載の方法の生成物。

【請求項 1 3】

- a) 配列番号 3 1、
- b) 配列番号 3 2、
- c) 配列番号 3 3、
- d) 配列番号 3 4、
- e) 配列番号 3 5、
- f) 配列番号 3 6、
- g) 配列番号 3 7、
- h) 配列番号 2 3、
- i) 配列番号 2 4、
- j) 配列番号 2 5、
- k) 配列番号 2 6、
- l) 配列番号 2 7、
- m) 配列番号 2 8、
- n) 配列番号 2 9、および

o) 配列番号 3 0 よりなる群から選択されるアミノ酸モチーフをコードする単離された核酸分子。

【請求項 1 4】

- a) 配列番号 3 1、
- b) 配列番号 3 2、
- c) 配列番号 3 3、
- d) 配列番号 3 4、
- e) 配列番号 3 5、
- f) 配列番号 3 6、
- g) 配列番号 3 7、
- h) 配列番号 2 3、
- i) 配列番号 2 4、
- j) 配列番号 2 5、
- k) 配列番号 2 6、
- l) 配列番号 2 7、
- m) 配列番号 2 8、
- n) 配列番号 2 9、および

o) 配列番号 3 0 よりなる群から選択されるアミノ酸モチーフ配列。

【請求項 1 5】

(a) (i) 適切な制御配列の制御下にある配列番号 1 4、1 8、1 9、2 0、2 1、および 2 2 よりなる群から選択されるアミノ酸配列を有するジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ - 1 酵素をコードする少なくとも 1 つの遺伝子、および

(ii) 脂肪酸供給源

を含んでなる、形質転換された宿主細胞を準備し、

(b) ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ - 1 酵素をコードする少なくとも 1 つの遺伝子が発現する条件下でステップ (a) の細胞を生育させて、脂肪酸をトリアシルグリセロールに転移させ、

(c) ステップ (b) のトリアシルグリセロールを場合により回収すること
を含んでなる形質転換された宿主細胞中のトリアシルグリセロール含量の増大方法。

【請求項 1 6】

(a) (i) 機能性 - 3 / - 6 脂肪酸生合成経路をコードする遺伝子、

(ii) 適切な制御配列の制御下にある配列番号 14、18、19、20、21、および 22 よりなる群から選択されるアミノ酸配列を有するジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ - 1 酵素をコードする少なくとも 1 つの遺伝子を含んでなる形質転換された宿主細胞を準備し、

(b) (i) および (ii) の遺伝子が発現する条件下でステップ (a) の細胞を生育させて、少なくとも 1 つの - 3 または - 6 脂肪酸の生産、およびそのトリアシルグリセロールへの転移がもたらされ、

(c) ステップ (b) のトリアシルグリセロールを場合により回収することを含んでなる形質転換された宿主細胞中のトリアシルグリセロールの - 3 または - 6 脂肪酸含量の増大方法。

【請求項 17】

(a) (i) 適切な制御配列の制御下にある、

- 1) 配列番号 31、
- 2) 配列番号 32、
- 3) 配列番号 33、
- 4) 配列番号 34、
- 5) 配列番号 35、
- 6) 配列番号 36、および

7) 配列番号 37 に記載のアミノ酸モチーフの全てを含んでなる、ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ - 1 酵素をコードする少なくとも 1 つの遺伝子、および

(ii) 脂肪酸供給源

を含んでなる形質転換宿主細胞を準備し、

(b) ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ - 1 酵素をコードする少なくとも 1 つの遺伝子が発現し、脂肪酸をトリアシルグリセロールに転移させる条件下で、ステップ (a) の細胞を生育させ、

(c) ステップ (b) のトリアシルグリセロールを場合により回収することを含んでなる形質転換宿主細胞中のトリアシルグリセロール含量の増大方法。

【請求項 18】

(a) (i) 適切な制御配列の制御下にある、

- 1) 配列番号 23、
- 2) 配列番号 24、
- 3) 配列番号 25、
- 4) 配列番号 26、
- 5) 配列番号 27、
- 6) 配列番号 28、
- 7) 配列番号 29、および

8) 配列番号 30 に記載のアミノ酸モチーフの全てを含んでなる、ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ - 1 酵素をコードする少なくとも 1 つの遺伝子、および

(ii) 脂肪酸供給源

を含んでなる形質転換宿主細胞を準備し、

(b) ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ - 1 酵素をコードする少なくとも 1 つの遺伝子が発現し、脂肪酸をトリアシルグリセロールに転移させる条件下で、ステップ (a) の細胞を生育させ、

(c) ステップ (b) のトリアシルグリセロールを場合により回収することを含んでなる形質転換宿主細胞中のトリアシルグリセロール含量の増大方法。

【請求項 19】

(a) (i) 機能性の - 3 / - 6 脂肪酸生合成経路をコードする遺伝子、および

(ii) 適切な制御配列の制御下にある、

- 1) 配列番号 31、
- 2) 配列番号 32、

- 3) 配列番号 33、
- 4) 配列番号 34、
- 5) 配列番号 35、
- 6) 配列番号 36、および

7) 配列番号 37 に記載のアミノ酸モチーフの全てを含んでなる、ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ - 1 酵素をコードする少なくとも 1 つの遺伝子を含んでなる形質転換宿主細胞を準備し、

(b) (i) および (ii) の遺伝子が発現し、少なくとも 1 つの - 3 または - 6 脂肪酸の生成、およびそのトリアシルグリセロールへの転移がもたらされる条件下で、ステップ (a) の細胞を生育させ、

(c) ステップ (b) のトリアシルグリセロールを場合により回収することを含んでなる形質転換宿主細胞中のトリアシルグリセロールの - 3 または - 6 脂肪酸含量の増大方法。

【請求項 20】

- (a) (i) 機能性の - 3 / - 6 脂肪酸生合成経路をコードする遺伝子、および (ii) 適切な制御配列の制御下にある、

- 1) 配列番号 23、
- 2) 配列番号 24、
- 3) 配列番号 25、
- 4) 配列番号 26、
- 5) 配列番号 27、
- 6) 配列番号 28、
- 7) 配列番号 29、および

8) 配列番号 30 に記載のアミノ酸モチーフの全てを含んでなる、ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ - 1 酵素をコードする少なくとも 1 つの遺伝子を含んでなる形質転換宿主細胞を準備し、

(b) (i) および (ii) の遺伝子が発現し、少なくとも 1 つの - 3 または - 6 脂肪酸の生成、およびそのトリアシルグリセロールへの転移がもたらされる条件下で、ステップ (a) の細胞を生育させ、

(c) ステップ (b) のトリアシルグリセロールを場合により回収することを含んでなる形質転換宿主細胞中のトリアシルグリセロールの - 3 または - 6 脂肪酸含量の増大方法。

【請求項 21】

(a) ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ - 1 活性を有することが疑われるポリペプチドのアミノ酸配列を得て、

- (b) ステップ (a) のポリペプチドのアミノ酸配列中で、

- 1) 配列番号 31、
- 2) 配列番号 32、
- 3) 配列番号 33、
- 4) 配列番号 34、
- 5) 配列番号 35、
- 6) 配列番号 36、および

7) 配列番号 37 に記載のアミノ酸モチーフ配列の全ての存在を同定することを含んでなり、

ポリペプチド中のステップ (a) のモチーフ配列全ての存在が、ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ - 1 活性の徴候である

ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ - 1 活性を有するポリペプチドの同定法。

【請求項 22】

- (a) ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ - 1 活性を有することが疑われ

る真菌ポリペプチドのアミノ酸配列を得て、

(b) ステップ(a)のポリペプチドのアミノ酸配列中で、

1) 配列番号23、

2) 配列番号24、

3) 配列番号25、

4) 配列番号26、

5) 配列番号27、

6) 配列番号28、

7) 配列番号29、および

8) 配列番号30に記載のアミノ酸モチーフ配列の全ての存在を同定すること

を含んでなり、

ポリペプチド中のステップ(a)のモチーフ配列の全ての存在が、ジアシルグリセロール
アシルトランスフェラーゼ - 1 活性の徴候である

ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ - 1 活性を有する真菌ポリペプチドの同
定法。