

【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】令和3年2月12日(2021.2.12)

【公表番号】特表2020-506723(P2020-506723A)

【公表日】令和2年3月5日(2020.3.5)

【年通号数】公開・登録公報2020-009

【出願番号】特願2019-561349(P2019-561349)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/52	(2006.01)
C 1 2 N	1/13	(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 P	21/02	(2006.01)
C 1 2 N	9/04	(2006.01)
C 1 2 N	9/12	(2006.01)
C 1 2 N	9/18	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/52	Z N A Z
C 1 2 N	1/13	
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 P	21/02	C
C 1 2 N	9/04	Z
C 1 2 N	9/12	
C 1 2 N	9/18	

【手続補正書】

【提出日】令和2年12月22日(2020.12.22)

【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】

機能性 RubisCO酵素および機能性ホスホリブロキナーゼ(PRK)を発現し、解糖経路が1,3-ビホスホ-D-グリセリン酸(1,3-BPG)の産生の上流または3-ホスホグリセリン酸(3PG)の産生の上流、およびグリセルアルデヒド-3-リン酸(G3P)の産生の下流で少なくとも部分的に阻害されている遺伝的に改変された微生物であって、当該微生物が、RubisCO酵素またはホスホリブロキナーゼ酵素以外の、目的の外因性分子を産生および/または目的の内因性分子を過剰産生するように遺伝的に改変されている、微生物。

【請求項2】

ペントースリン酸経路の酸化分岐もまた少なくとも部分的に阻害されている、請求項1に記載の遺伝的に改変された微生物。

【請求項3】

前記微生物が、組換えRubisCO酵素および/またはPRKを発現するように遺伝

的に改変されている、請求項 1 または 2 に記載の遺伝的に改変された微生物。

【請求項 4】

前記微生物が、リブロース - 5 - リン酸産生の上流の前記ペントースリン酸経路の酸化分岐を阻害するように遺伝的に改変されている、請求項 2 または 3 に記載の遺伝的に改変された微生物。

【請求項 5】

前記外因性分子および / または前記内因性分子が、アミノ酸、ペプチド、タンパク質、ビタミン、ステロール、フラボノイド、テルペン、テルペノイド、脂肪酸、ポリオールおよび有機酸から選択される、請求項 4 に記載の遺伝的に改変された微生物。

【請求項 6】

前記微生物が、真核細胞、優先的には酵母、真菌、微細藻類または原核細胞から選ばれるもの、優先的には細菌である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の遺伝的に改変された微生物。

【請求項 7】

グリセルアルデヒド 3 - リン酸デヒドロゲナーゼをコードする遺伝子の発現が、少なくとも部分的に阻害されている、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の遺伝的に改変された微生物。

【請求項 8】

ホスホグリセリン酸キナーゼをコードする遺伝子の発現が、少なくとも部分的に阻害される、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の遺伝的に改変された微生物。

【請求項 9】

グルコース - 6 - リン酸デヒドロゲナーゼまたは 6 - ホスホグルコノラクトナーゼまたは 6 - ホスホグルコン酸デヒドロゲナーゼをコードする遺伝子の発現が、少なくとも部分的に阻害されている、請求項 7 または 8 に記載の遺伝的に改変された微生物。

【請求項 10】

前記微生物が、機能性 I 型または I I 型 R u B i s C O と機能性ホスホリブロキナーゼ ( P R K ) を発現するように遺伝的に改変されたサッカロミセス・セレビシエ属の酵母であって、 T D H 1 、 T D H 2 および / または T D H 3 遺伝子の発現が少なくとも部分的に阻害されている、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の遺伝的に改変された微生物。

【請求項 11】

前記微生物が、機能性 I 型または I I 型 R u B i s C O と機能性ホスホリブロキナーゼ ( P R K ) を発現するように遺伝的に改変されたサッカロミセス・セレビシエ酵母であって、 P G K 1 遺伝子の発現が少なくとも部分的に阻害されている、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の遺伝的に改変された微生物。

【請求項 12】

Z W F 1 遺伝子の発現が、少なくとも部分的に阻害されている、請求項 1 0 または 1 1 に記載の遺伝的に改変された微生物。

【請求項 13】

前記微生物が、機能性 I 型または I I 型 R u B i s C O と機能的ホスホリブロキナーゼ ( P R K ) を発現するように遺伝的に改変されたアスペルギルス属の糸状菌であって、 p g k 遺伝子および g s d A 遺伝子の発現が少なくとも部分的に阻害されている、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の遺伝的に改変された微生物。

【請求項 14】

前記微生物が、機能性 I 型または I I 型 R u B i s C O と機能的ホスホリブロキナーゼ ( P R K ) を発現するように遺伝的に改変された大腸菌であって、 g a p A 遺伝子および / または p g k 遺伝子、ならびに任意に z w f 遺伝子の発現が少なくとも部分的に阻害されている、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の遺伝的に改変された微生物。

【請求項 15】

目的分子、優先的には、アミノ酸、ペプチド、タンパク質、ビタミン、ステロール、フラボノイド、テルペン、テルペノイド、脂肪酸、ポリオールおよび有機酸から選ばれるも

のの產生または過剰產生のための、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の遺伝的に改変された微生物の使用。

【請求項 16】

グルタミン酸、クエン酸、イタコン酸または GABA の產生または過剰產生のための、請求項 15 に記載の使用。

【請求項 17】

少なくとも 1 つの目的分子を產生するための生物工学的方法であって、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の遺伝的に改変された微生物を、当該微生物によって前記目的分子の合成または生物変換を可能にする条件下で培養する工程と、任意に前記目的分子を回収および / または精製する工程とを含むことを特徴とする、方法。

【請求項 18】

前記目的分子が、アミノ酸、ペプチド、タンパク質、ビタミン、ステロール、フラボノイド、テルペン、テルペノイド、脂肪酸、ポリオールおよび有機酸から選択される、請求項 17 に記載の生物工学的方法。

【請求項 19】

前記目的分子が、グルタミン酸、クエン酸、イタコン酸または GABA から選択される、請求項 17 または 18 に記載の生物工学的方法。

【請求項 20】

前記微生物が、前記目的分子の生物変換または合成に関与する少なくとも 1 つの酵素を発現するように遺伝的に改変されている、請求項 17 ~ 19 のいずれか一項に記載の生物工学的方法。

【請求項 21】

前記微生物が、前記目的分子の分解に関与する酵素を少なくとも部分的に阻害するように遺伝的に改変されている、請求項 17 ~ 19 のいずれか一項に記載の生物工学的方法。

【請求項 22】

目的分子を產生する方法であって、(i) 請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の組換え微生物への前記目的分子の合成または生物変換に関与する酵素をコードする少なくとも 1 つの配列を挿入することと、(ii) 前記酵素の発現を可能にする条件下で前記微生物を培養することと、任意に (iii) 前記目的分子を回収および / または精製することとを含む、方法。

【請求項 23】

目的分子を產生する方法であって、(i) 請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の組換え微生物への前記目的分子の分解に関与する酵素をコードする少なくとも 1 つの遺伝子の発現を阻害することと、(ii) 前記酵素の発現を可能にする条件下で前記微生物を培養することと、任意に (iii) 前記目的分子を回収および / または精製することとを含む、方法。