

【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28年6月30日(2016.6.30)

【公開番号】特開2014-76042(P2014-76042A)

【公開日】平成26年5月1日(2014.5.1)

【年通号数】公開・登録公報2014-022

【出願番号】特願2013-119612(P2013-119612)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(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 P	5/00	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	A
C 1 2 N	1/15	Z N A
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/00	1 0 1
C 1 2 P	5/00	

【手続補正書】

【提出日】平成28年5月17日(2016.5.17)

【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】

- フェランドレン生産能を有する組換え細胞であって、

導入された核酸として、ゲラニルニリン酸合成酵素をコードする核酸及びネリルニリン酸合成酵素をコードする核酸からなる群より選ばれた少なくとも1つの核酸と、- フェランドレン合成酵素をコードする核酸とを有し、かつこれらの核酸が前記組換え細胞内で発現する、組換え細胞。

【請求項2】

メタンモノオキシゲナーゼを有さないものである請求項1に記載の組換え細胞。

【請求項3】

大腸菌又は酵母である請求項2に記載の組換え細胞。

【請求項4】

組換え細胞の湿潤菌体1gあたり10mg以上の- フェランドレンを生産可能である請求項1～3のいずれかに記載の組換え細胞。

【請求項5】

ゲラニルニリン酸合成酵素をコードする核酸は、下記(a)、(b)又は(c)のタンパク質をコードするものである請求項1～4のいずれかに記載の組換え細胞。

(a)配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるタンパク質、

(b)配列番号2で表されるアミノ酸配列において、1～20個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつゲラニルニリン酸合成酵素の活性を有す

るタンパク質、

(c) 配列番号2で表されるアミノ酸配列と60%以上の相同性を示すアミノ酸配列を有し、かつゲラニルニリン酸合成酵素の活性を有するタンパク質。

【請求項6】

ネリルニリン酸合成酵素をコードする核酸は、下記(d)、(e)又は(f)のタンパク質をコードするものである請求項1～5のいずれかに記載の組換え細胞。

(d) 配列番号4で表されるアミノ酸配列からなるタンパク質、

(e) 配列番号4で表されるアミノ酸配列において、1～20個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつネリルニリン酸合成酵素の活性を有するタンパク質、

(f) 配列番号4で表されるアミノ酸配列と60%以上の相同性を示すアミノ酸配列を有し、かつネリルニリン酸合成酵素の活性を有するタンパク質。

【請求項7】

-フェランドレン合成酵素をコードする核酸は、下記(g)、(h)又は(i)のタンパク質をコードするものである請求項1～6のいずれかに記載の組換え細胞。

(g) 配列番号6又は8で表されるアミノ酸配列からなるタンパク質、

(h) 配列番号6又は8で表されるアミノ酸配列において、1～20個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ-フェランドレン合成酵素の活性を有するタンパク質、

(i) 配列番号6又は8で表されるアミノ酸配列と60%以上の相同性を示すアミノ酸配列を有し、かつ-フェランドレン合成酵素の活性を有するタンパク質。

【請求項8】

導入された核酸として、イソペンテニルニリン酸の合成経路で作用する少なくとも1つの酵素をコードする核酸をさらに有し、当該核酸が前記組換え細胞内で発現する請求項1～7のいずれかに記載の組換え細胞。

【請求項9】

イソペンテニルニリン酸の合成経路は、メバロン酸経路である請求項8に記載の組換え細胞。

【請求項10】

前記メバロン酸経路は、酵母又は放線菌のメバロン酸経路である請求項9に記載の組換え細胞。

【請求項11】

請求項1～10のいずれかに記載の組換え細胞を培養することにより、当該組換え細胞に-フェランドレンを生産させる-フェランドレンの生産方法。

【請求項12】

組換え細胞の湿潤菌体1gあたり10mg以上の-フェランドレンを生産させる請求項11に記載の-フェランドレンの生産方法。

【請求項13】

組換え細胞の細胞外に放出された-フェランドレンを回収する請求項11又は12に記載の-フェランドレンの生産方法。

【請求項14】

組換え細胞の培養系の気相から-フェランドレンを回収する請求項11～13のいずれかに記載の-フェランドレンの生産方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0010

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0010】

上記した課題を解決するための本発明の1つの様相は、-フェランドレン生産能を有

する組換え細胞であって、導入された核酸として、ゲラニルニリン酸合成酵素をコードする核酸及びネリルニリン酸合成酵素をコードする核酸からなる群より選ばれた少なくとも1つの核酸と、-フェランドレン合成酵素をコードする核酸とを有し、かつこれらの核酸が前記組換え細胞内で発現する、組換え細胞である。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0011

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0011】

本発明は、-フェランドレン生産能を有する組換え細胞に係るものである。本発明の組換え細胞は、導入された核酸として「ゲラニルニリン酸（GPP）合成酵素をコードする核酸及びネリルニリン酸（NPP）合成酵素をコードする核酸からなる群より選ばれた少なくとも1つの核酸」と、「-フェランドレン合成酵素をコードする核酸」とを有するもので、かつこれらの核酸が組換え細胞内で発現する。すなわち、本発明の組換え細胞では、GPP合成酵素及び/又はNPP合成酵素の発現能と、-フェランドレン合成酵素の発現能とが、宿主細胞に対して新たに付加又は増強されている。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0012

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0012】

好ましくは、メタンモノオキシゲナーゼを有さないものである。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0013

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0013】

好ましくは、大腸菌又は酵母である。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0019

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0019】

好ましくは、導入された核酸として、イソペンテニルニリン酸の合成経路で作用する少なくとも1つの酵素をコードする核酸をさらに有し、当該核酸が前記組換え細胞内で発現する。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0030

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0030】

本発明の組換え細胞は、-フェランドレン生産能を有する組換え細胞であって、導入された核酸として、ゲラニルニリン酸合成酵素をコードする核酸及びネリルニリン酸合成酵素をコードする核酸からなる群より選ばれた少なくとも1つの核酸と、-フェランドレン合成酵素をコードする核酸とを有し、かつこれらの核酸が前記組換え細胞内で発現す

るものである。換言すれば、ゲラニルニリン酸（GPP）合成酵素をコードする核酸及び  
ネリルニリン酸（NPP）合成酵素をコードする核酸からなる群より選ばれた少なくとも  
1つの核酸と、 - フェランドレン合成酵素をコードする核酸とが宿主細胞に導入されて  
なり、かつこれらの核酸が宿主細胞内で発現する組換え細胞であり、 - フェランドレン  
合成能を有するものである。