

【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 1 g あたり 10 mg 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 1 g あたり 10 mg 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たり、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。