

【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22年3月11日(2010.3.11)

【公表番号】特表2009-536017(P2009-536017A)

【公表日】平成21年10月8日(2009.10.8)

【年通号数】公開・登録公報2009-040

【出願番号】特願2008-551719(P2008-551719)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 12 N 1/21 (2006.01)

C 12 P 7/56 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 Z N A A

C 12 N 1/21

C 12 P 7/56

【手続補正書】

【提出日】平成22年1月25日(2010.1.25)

【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】

通性嫌気性且つホモ乳酸的である中等度好熱性バチルス種を遺伝子操作により改変する方法であって：

p S H 7 1 レプリコンまたはその相同体を含有する熱感受性プラスミド系中にクローニングされたDNAを、通性嫌気性且つホモ乳酸的である中等度好熱性バチルス種の細胞中に導入すること、ここで該相同体は、配列ID NO：1と少なくとも80%同一であるアミノ酸配列を有する、熱感受性複製の機能を有するポリペプチド(RepAタンパク質)をコードするDNA配列を含む；

選択培地上で、プラスミド複製にとって許容可能な温度で該細胞を培養して、該選択培地上で該許容可能な温度で成長することができる形質転換された細胞を選ぶこと；

選択培地上で、プラスミド複製にとって許容可能でない温度で該形質転換された細胞を培養して、該選択培地上で該許容可能でない温度で成長することができる形質転換された細胞を選ぶこと

を含む前記方法。

【請求項2】

該バチルス種が、バチルス スミシテ及び／又はバチルス コアギュランスである、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

該バチルス種が、胞子形成欠損性である、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項4】

該バチルス種が、通性嫌気性且つホモ乳酸的である中等度好熱性親バチルス種の中等度好熱性且つ通性嫌気性派生体である、請求項1～3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項5】

該DNAが所望の機能を提供する、請求項1～4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項6】

プラスミド複製にとって許容可能でない温度での該培養が、該DNAが該バチルス染色体中へ導入されることを許す、請求項1～5のいずれか1項に記載の方法。

【請求項7】

望ましくない機能が、相同組み換えにより該バチルス染色体から除去される、請求項1～6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項8】

相同組み換えにより、所望の機能が該バチルス染色体中に導入され且つ同時に望ましくない機能が該バチルス染色体から除去される、請求項1～6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項9】

配列ID NO : 2に従うアミノ酸配列又は、R - ラクテートデヒドロゲナーゼ活性を有するそれと実質的に相同的なアミノ酸配列をコードする、該バチルス種中で機能的であるプロモーターに結合されたDNA配列を含むDNA構築物により、S - ラクテートデヒドロゲナーゼをコードする遺伝子を置換することによって該バチルス種が改変される、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

該プロモーターが、除去される内因性S - ラクテートデヒドロゲナーゼ遺伝子のプロモーターである、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

通性嫌気性且つホモ乳酸的である遺伝子操作された中等度好熱性バチルス株であって、S - ラクテートヒドロゲナーゼをコードするldhL遺伝子が、R - ラクテートデヒドロゲナーゼ活性を有するNADH - 依存性2 - ヒドロキシ酸デヒドロゲナーゼをコードする遺伝子により置換されている、前記中等度好熱性バチルス株。

【請求項12】

請求項9又は10に記載の方法により得られうる、請求項11に記載の遺伝子操作された中等度好熱性バチルス株。

【請求項13】

R - 乳酸及び/またはR - ラクテートの調製方法であって、請求項11又は12の遺伝子操作された通性嫌気性である中等度好熱性バチルス種が用いられる前記方法。