

【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4年5月31日(2022.5.31)

【公開番号】特開2022-43100(P2022-43100A)

【公開日】令和4年3月15日(2022.3.15)

【年通号数】公開公報(特許)2022-046

【出願番号】特願2021-195994(P2021-195994)

【国際特許分類】

C 12 N 1/21(2006.01)

10

C 12 N 15/54(2006.01)

C 12 N 1/15(2006.01)

C 12 N 1/19(2006.01)

C 12 N 5/10(2006.01)

C 12 P 7/64(2022.01)

C 12 N 15/53(2006.01)

C 12 N 15/55(2006.01)

C 12 N 15/60(2006.01)

【F I】

C 12 N 1/21

20

C 12 N 15/54 Z N A

C 12 N 1/15

C 12 N 1/19

C 12 N 5/10

C 12 P 7/64

C 12 N 15/53

C 12 N 15/55

C 12 N 15/60

【手続補正書】

30

【提出日】令和4年5月23日(2022.5.23)

【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】

奇数鎖脂肪酸誘導体を含む脂肪酸誘導体組成物の作製方法であって、
炭素源を含有する培養培地中で組換え微生物細胞を培養することを含み、
前記組換え微生物細胞が、

(a) 親微生物細胞で生成されるプロピオニル-C₆Aの量と比較して、組換え微生物細胞において増加した量のプロピオニル-C₆Aを生成するために有効な酵素活性を有するポリペプチドをコードする1種または複数のポリヌクレオチドであって、前記親微生物細胞が前記酵素活性を欠如または前記酵素活性の減少した量を有しており、前記ポリヌクレオチドが組換え微生物細胞にとって外来性であるか、または前記ポリヌクレオチドが組換え微生物細胞にとって内在性であり、かつ前記ポリヌクレオチドが、それぞれが、(R)-シトラマル酸合成酵素活性、イソプロピルリンゴ酸イソメラーゼ活性もしくはベータ-イソプロピルリンゴ酸脱水素酵素活性を有する、複数のポリペプチドをコードする、1種または複数のポリヌクレオチド、

40

50

(b) - ケトアシル - A C P 合成酵素活性を有し、基質としてプロピオニル - C o A を利用するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、ならびに
 (c) チオエステラーゼ活性 (E C 3 . 1 . 1 . 5 、 E C 3 . 1 . 2 . 1 4 、 E C 3 . 1 . 2 . -) を有するポリペプチドをコードする外来性ポリヌクレオチドを含み、

前記組換え微生物細胞が、(a) に含まれる全てのポリペプチドを過剰発現するように操作されており、

前記組換え微生物細胞が、(a)、(b) および (c) によるポリヌクレオチドを発現するために有効な条件下で培養したとき、奇数鎖脂肪酸誘導体および偶数鎖脂肪酸誘導体を含む脂肪酸誘導体組成物を生成し、かつ

前記脂肪酸誘導体組成物中の脂肪酸誘導体の少なくとも 10 % が奇数鎖脂肪酸誘導体である、

方法。

【請求項 2】

脂肪酸誘導体組成物における脂肪酸誘導体の少なくとも 20 % が奇数鎖脂肪酸誘導体である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

炭素源の存在下で、(a)、(b) および (c) によるポリヌクレオチドを発現するために有効な条件下で培養したとき、組換え微生物細胞が、奇数鎖脂肪酸誘導体を少なくとも 100 mg / L 生成する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

基質としてプロピオニル - C o A を利用する - ケトアシル - A C P 合成酵素活性を有するポリペプチドが組換え微生物細胞にとって外来性であり、組換え微生物細胞にとって内在性である - ケトアシル - A C P 合成酵素活性を有するポリペプチドの発現が減衰している、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

組換え微生物細胞が細菌細胞である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

培養培地から奇数鎖脂肪酸誘導体組成物を回収することをさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

組換え微生物細胞が、

- (1) デカルボキシラーゼ活性を有するポリペプチド；
- (2) カルボン酸レダクターゼ活性を有するポリペプチド；
- (3) アルコール脱水素酵素活性を有するポリペプチド (E C 1 . 1 . 1 . 1) ；
- (4) アルデヒドデカルボニラーゼ活性を有するポリペプチド (E C 4 . 1 . 9 9 . 5) ；
- (5) アシル - C o A - レダクターゼ活性を有するポリペプチド (E C 1 . 2 . 1 . 5 0) ；
- (6) アシル - A C P レダクターゼ活性を有するポリペプチド；
- (7) エステル合成酵素活性を有するポリペプチド (E C 3 . 1 . 1 . 6 7) ；
- (8) O l e A 活性を有するポリペプチド；および

(9) O l e C D または O l e B C D 活性を有するポリペプチド、

からなる群から選択される脂肪酸誘導体酵素活性を有するポリペプチドをコードする 1 種または複数のポリヌクレオチドをさらに発現する、請求項 1 に記載の方法。

10

20

30

40

50