

【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16年8月12日(2004.8.12)

【公表番号】特表2002-514894(P2002-514894A)

【公表日】平成14年5月21日(2002.5.21)

【出願番号】特願平9-506829

【国際特許分類第7版】

C 1 2 N 15/09

C 1 2 N 9/00

C 1 2 Q 1/25

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 9/00

C 1 2 Q 1/25

【手続補正書】

【提出日】平成15年6月10日(2003.6.10)

【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】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

手続補正書

平成15年 6月10日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

平成9年特許願第506829号

2. 補正をする者

名 称 ディベルサ コーポレーション

3. 代 理 人

住 所 東京都港区虎ノ門1丁目17番1号

虎ノ門5森ビル3階

電話番号 03 (3503) 8637

氏 名 (9109) 弁理士 平木祐輔



4. 補正対象書類名

請求の範囲

5. 補正対象項目名

請求の範囲

6. 補正の内容

請求の範囲を別紙のとおり補正します。



請求の範囲

(別紙)

1. 以下の工程を含んでなる、目的のタンパク質活性の同定方法：

発現構築物のプールを含む遺伝子発現ライブラリーを培養し、各発現構築物が 1 以上の c DNA またはゲノム DNA 断片を含むベクターを含み、該発現構築物のプール中の該 c DNA またはゲノム DNA 断片が少なくとも 2 種類の生物の混合集団由来であり、該 c DNA またはゲノム DNA 断片が適当な宿主生物において該 c DNA またはゲノム DNA 断片にコードされる遺伝子の発現を促進する 1 以上の制御領域とそれぞれ機能的に結合しており；そして

該 c DNA またはゲノム DNA 断片にコードされるタンパク質活性を検出する。

2. 該タンパク質活性が酵素活性である、請求項 1 に記載の方法。

3. 該酵素活性が、オキシドレダクターゼ、トランスフェラーゼ、ヒドロラーゼ、リアーゼ、イソメラーゼおよびリガーゼ活性からなる群より選択される、請求項 2 に記載の方法。

4. ドナー生物が微生物である、請求項 1 に記載の方法。

5. 該微生物が環境サンプル由来である、請求項 4 に記載の方法。

6. 該微生物が未培養生物の混合集団である、請求項 4 に記載の方法。

7. 該 DNA 断片が 1 以上のオペロンまたはその一部を含む、請求項 1 記載の方法。

8. 該オペロンまたはその一部がある代謝経路の全部または一部をコードする、請求項 7 記載の方法。

9. 酵素の混合物を含む少なくとも 1 つの容器を含むキットであって、該酵素が発現構築物のプールを含む遺伝子発現ライブラリーを培養することによって得られ、各発現構築物が 1 以上の c DNA またはゲノム DNA 断片を含むベクターを含み、該発現構築物のプール中の該 c DNA またはゲノム DNA 断片が少なくとも 2 種類の生物由来の混合集団由来であり、該 c DNA またはゲノム DNA 断片にコードされる遺伝子の発現を促進する 1 以上の制御領域とそれぞれ機能的に結合しており、該酵素がオキシドレダクターゼ、トランスフェラーゼ、

ヒドロラーゼ、リアーゼ、イソメラーゼおよびリガーゼ活性からなる群より選択される、該キット。

- 1 0. 該微生物が環境サンプル由来である、請求項 9 に記載の方法。
- 1 1. 発現構築物のプールを含む遺伝子発現ライブラリーであって、各発現構築物が 1 以上の c DNA またはゲノム DNA 断片を含むベクターを含み、該発現構築物のプール中の該 c DNA またはゲノム DNA 断片が少なくとも 2 種類の生物の混合集団由来であり、ベクター中の 1 以上の該 c DNA またはゲノム DNA 断片が单一の生物由来であり、該 c DNA またはゲノム DNA 断片が適当な宿主生物において該 c DNA またはゲノム DNA 断片にコードされる遺伝子の発現を促進する 1 以上の制御領域とそれぞれ機能的に結合している、該遺伝子発現ライブラリー。
- 1 2. 該微生物が環境サンプル由来である、請求項 1 1 に記載の遺伝子発現ライブラリー。
- 1 3. 該微生物が未培養生物の混合集団由来である、請求項 1 1 に記載の遺伝子発現ライブラリー。
- 1 4. 該 DNA 断片が 1 以上のオペロンまたはその一部を含む、請求項 1 1 に記載の遺伝子発現ライブラリー。
- 1 5. 該オペロンまたはその一部がある代謝経路の全部または一部をコードする、請求項 1 4 に記載の遺伝子発現ライブラリー。
- 1 6. 該 DNA が 1 つまたは複数の酵素をコードする、請求項 1 1 に記載の遺伝子発現ライブラリー。
- 1 7. 各発現構築物が 1 つの c DNA またはゲノム DNA 断片を含むベクターを含む、請求項 1 1 に記載の遺伝子発現ライブラリー。
- 1 8. 以下の工程を含んでなる、遺伝子発現ライブラリーの作製方法：
ベクターを 1 以上の c DNA またはゲノム DNA 断片にライゲートして発現構築物のプールを形成し、該発現構築物のプール中の該 c DNA またはゲノム DNA 断片は少なくとも 2 種類の生物の混合集団から得られ、ベクター中の 1 以上の該 c DNA またはゲノム DNA 断片が单一の生物由来であり、該 c DNA またはゲノム DNA 断片に含まれる該遺伝子が適当な宿主細胞において遺伝子の発現を促進するそれらの天然または外因性制御領域と機能的に結合する。

19. 該微生物が環境サンプル由来である、請求項18に記載の方法。
20. 該微生物が未培養生物の混合集団由来である、請求項18に記載の方法。
21. 該DNA断片が1以上のオペロンまたはその一部を含む、請求項18に記載の方法。
22. 該オペロンまたはその一部がある代謝経路の全部または一部をコードする、請求項21に記載の方法。
23. 該DNAが1つまたは複数の酵素をコードする、請求項18に記載の方法。
24. 各発現構築物が1つのcDNAまたはゲノムDNA断片を含むベクターを含む、請求項18に記載の方法。
25. 以下の工程を含んでなる、遺伝子発現ライブラリーの作製方法：

ある種の宿主生物中の発現構築物のプールを他の種または株の宿主生物に転移させ、該発現構築物が異なった種または株の宿主細胞において複製するベクターを含み、該ベクターが1以上のcDNAまたはゲノムDNA断片を含み、発現構築物のプール中の該cDNAまたはゲノムDNA断片が少なくとも2種類の異種生物の混合集団から得られ、ベクター中の1以上のcDNAまたはゲノムDNA断片が单一の生物由来であり、cDNAまたはゲノムDNA断片に含まれる該遺伝子が適当な宿主細胞において遺伝子の発現を促進するそれらの天然または外因性制御領域と機能的に結合する。

26. 該微生物が環境サンプル由来である、請求項25に記載の方法。
27. 該微生物が未培養生物の混合集団由来である、請求項25に記載の方法。
28. 該DNA断片が1以上のオペロンまたはその一部を含む、請求項25に記載の方法。
29. 該オペロンまたはその一部がある代謝経路の全部または一部をコードする、請求項28に記載の方法。
30. 該DNAが1つまたは複数の酵素をコードする、請求項25に記載の方法。
31. 各発現構築物が1つのcDNAまたはゲノムDNA断片を含むベクターを含む、請求項25に記載の方法。
32. 発現構築物のプールを含む遺伝子発現ライブラリーであって、各発現構築物は酵素活性を有する少なくとも1つのタンパク質をコードする1以上のcDNAまたはゲノムDNA断片を含むベクターを含み、該発現構築物のプール中の該cDNAまたはゲノムDNA断片が少なくとも2種類の異種生物の

混合集団由来であり、該cDNAまたはゲノムDNA断片が適當な宿主生物において該cDNAまたはゲノムDNA断片にコードされる遺伝子の発現を促進する1以上の制御領域とそれぞれ機能的に結合している、該遺伝子発現ライプラリー。

3 3. 以下の工程を含んでなる、遺伝子発現ライプラリーの作製方法：

ベクターを1以上のcDNAまたはゲノムDNA断片にライゲートして発現構築物のプールを形成し、該発現構築物のプール中の該cDNAまたはゲノムDNA断片が少なくとも2種類の生物の混合集団から得られ、該cDNAまたはゲノムDNA断片に含まれる遺伝子が酵素活性を有する少なくとも1つのタンパク質をコードし、適當な宿主細胞における遺伝子の発現を促進するそれらの天然または外因性制御領域と機能的に結合している。

3 4. 以下の工程を含んでなる、遺伝子発現ライプラリーの作製方法：

ある種の宿主生物の発現構築物のプールを他の種または株の宿主生物に転移させ、該発現構築物が異なる種または株の宿主細胞中で複製するベクターを含み、該ベクターが酵素活性を有する少なくとも1つのタンパク質をコードする1以上のcDNAまたはゲノムDNA断片を含み、該発現構築物のプール中の該cDNAまたはゲノムDNA断片が少なくとも2種類の生物の混合集団から得られ、該cDNAまたはゲノムDNA断片に含まれる遺伝子が適當な宿主細胞において遺伝子の発現を促進するそれらの天然または外因性制御領域と機能的に結合している。

3 5. 発現構築物のプールを含む遺伝子発現ライプラリーであって、各発現構築物が1以上のcDNAまたはゲノムDNA断片を含むベクターを含み、該発現構築物のプール中の該cDNAまたはゲノムDNA断片が少なくとも2種類の生物由来の混合集団由来であり、ある経路をコードするベクター中の1以上の該cDNAまたはゲノムDNA断片が单一の生物由来であるかまたは单一の遺伝子産物をコードするcDNAまたはゲノムDNA断片は少なくとも1つの生物由来の核酸を含み、該cDNAまたはゲノムDNA断片が適當な宿主生物においてcDNAまたはゲノムDNA断片にコードされる遺伝子の発現を促進する1以上の制御領域と機能的に結合している、該遺伝子発現ライプラリー。

3 6. 該構築物が一番目に転移する宿主生物の種が大腸菌(*Escherichia coli*)で

あり、該構築物が二番目に転移する別の種の宿主がストレプトミセス(Streptomyces)、桿菌(Bacillus)またはサルモネラ(Salmonella)種である、請求項25または34に記載の方法。

37. 該宿主生物の一つがストレプトミセス(Streptomyces)、桿菌(Bacillus)またはサルモネラ(Salmonella)種である、請求項18、25または34に記載の方法。

38. 該cDNAまたはゲノムDNAが、該宿主生物を誘導して宿主特異的分子を産生させる遺伝子産物をコードする、請求項11に記載の方法。

39. 以下の工程を含んでなる、目的のタンパク質活性の同定方法：

発現構築物のプールを含む遺伝子発現ライブラリーを培養し、各発現構築物が1以上のcDNAまたはゲノムDNA断片を含むベクターを含み、該発現構築物のプール中の該cDNAまたはゲノムDNA断片が極限環境から得られる生物の混合集団由来であり、該cDNAまたはゲノムDNA断片が適当な宿主生物において該cDNAまたはゲノムDNA断片にコードされる遺伝子の発現を促進する1以上の制御領域とそれぞれ機能的に結合しており；そして

該cDNAまたはゲノムDNA断片にコードされるタンパク質活性を検出する。

40. 以下の工程を含んでなる、複数の生物種から回収したDNAより作製され、所望の特徴をもつタンパク質を発現する組換えライブラリーのクローンを同定する方法：

a) 生物から回収したDNAからランダムに作製された発現クローンのライブラリーを液相中でスクリーニングし、該スクリーニングは該クローンの発現産物を用いて実施され、それによって所望の特徴をもつ酵素を発現するクローンを同定する。

41. 作製された発現クローンのライブラリーを作製したDNAが遺伝子クラスターDNAである、請求項40に記載の方法。

42. 該タンパク質が酵素である、請求項40に記載の方法。

43. 以下の工程を含んでなる、複数の生物種から回収されたDNAを有するクローンを特定のタンパク質の特徴についてスクリーニングする方法：

(i) 複数の生物種に由来するDNA集団からDNAを回収し；そして

(i i) 回収したDNAで宿主細胞を形質転換してクローンライブラリーを作製し、これを特定の酵素の特徴についてスクリーニングする、ことによって調製されたクローンライブラリーにおいて特定のタンパク質の特徴についてスクリーニングする。

- 4 4. 回収したDNAを増幅する、請求項4 3に記載の方法。
- 4 5. 回収したDNAをベクターにライゲートする、請求項4 3に記載の方法。
- 4 6. 回収したDNAをライゲートするベクターが、該DNAからの検出可能な酵素活性の產生を調節することができる少なくとも1つのDNA配列を含む、請求項4 5に記載の方法。
- 4 7. 回収したDNAをライゲートした該ベクターが宿主細胞に形質転換するのに用いられる、請求項4 3に記載の方法。
- 4 8. 該タンパク質が酵素である、請求項4 0に記載の方法。