

【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2月12日(2016.2.12)

【公表番号】特表2015-511118(P2015-511118A)

【公表日】平成27年4月16日(2015.4.16)

【年通号数】公開・登録公報2015-025

【出願番号】特願2014-549274(P2014-549274)

【国際特許分類】

C 1 2 P	7/64	(2006.01)
A 0 1 H	5/00	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 P	7/16	(2006.01)
C 1 2 P	7/06	(2006.01)
C 1 2 P	5/00	(2006.01)
C 1 2 P	5/02	(2006.01)
C 1 2 P	3/00	(2006.01)
A 2 3 K	20/00	(2016.01)
A 2 3 K	10/30	(2016.01)
A 6 1 K	8/97	(2006.01)
A 6 1 K	8/36	(2006.01)
A 6 1 K	8/37	(2006.01)
A 6 1 K	8/63	(2006.01)
A 6 1 K	8/92	(2006.01)
G 0 1 N	33/483	(2006.01)

【F I】

C 1 2 P	7/64	Z N A
A 0 1 H	5/00	A
C 1 2 N	5/00	1 0 3
C 1 2 N	15/00	A
C 1 2 P	7/16	
C 1 2 P	7/06	
C 1 2 P	5/00	
C 1 2 P	5/02	
C 1 2 P	3/00	Z
A 2 3 K	1/16	3 0 4 C
A 2 3 K	1/14	
A 2 3 K	1/16	3 0 1 F
A 2 3 K	1/16	3 0 1 H
A 2 3 K	1/16	3 0 4 B
A 6 1 K	8/97	
A 6 1 K	8/36	
A 6 1 K	8/37	
A 6 1 K	8/63	
A 6 1 K	8/92	
G 0 1 N	33/483	C

【手続補正書】

【提出日】平成27年12月15日(2015.12.15)

【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】**

1以上の外因性ポリヌクレオチドを含み、前記1以上の外因性ポリヌクレオチドを有していない対応する非ヒト生物またはその一部と比較し、1以上の非極性脂質のレベルが増加している、非ヒト生物またはその一部であり、ここで、前記1以上の各外因性ポリヌクレオチドは、非ヒト生物またはその一部中のポリヌクレオチドの発現を指示することができるプロモーターに動作可能に連結されており、

(i) 前記1以上の外因性ポリヌクレオチドが、非ヒト生物またはその一部の1以上の解糖系遺伝子または脂肪酸合成遺伝子の発現を増加させる転写因子ポリペプチドをコードする第一の外因性ポリヌクレオチド、および、1以上の非極性脂質の生合成に関与するポリペプチドをコードする第二の外因性ポリヌクレオチドを含み、且つ

(ii) もし非ヒト生物が植物である場合、前記植物の生育部分は、少なくとも約10% (w/w乾重量) の総非極性脂質含有量を有している、

非ヒト生物またはその一部。

【請求項2】

1以上またはすべての以下の特長(i)～(ix)が該当する、請求項1に記載の非ヒト生物またはその一部：

(i) 前記非ヒト生物またはその一部の非極性脂質中の総脂肪酸含量が、1以上の外因性ポリヌクレオチドを有していない対応する非ヒト生物またはその一部中の脂質よりも、少なくとも2%多いオレイン酸、および/または、少なくとも2%少ないパルミチン酸、を含む、

(ii) 前記非極性脂質(複数含む)が、ヒドロキシル基、エポキシ基、シクロプロパン基、二重炭素-炭素結合、三重炭素-炭素結合、共役二重結合、分枝鎖、たとえば、メチル化分枝鎖またはヒドロキシル化分枝鎖、またはそれらの2以上の組み合わせ、または、上述の基、結合または分枝鎖の任意の2、3、4、5または6つを含む脂肪酸を含む、

(iii) 前記非ヒト生物またはその一部が、その脂質中で、エステル化形態またはエステル化していない形態で、オレイン酸を含んでおり、ここで、前記非ヒト生物またはその一部の脂質中の総脂肪酸の少なくとも20% (mol%)、少なくとも22% (mol%)、少なくとも30% (mol%)、少なくとも30% (mol%)、少なくとも40% (mol%)、少なくとも50% (mol%)、または少なくとも60% (mol%)、好ましくは少なくとも65% (mol%)、または少なくとも66% (mol%)が、オレイン酸である、

(iv) 前記非ヒト生物またはその一部が、その非極性脂質中で、エステル化形態で、オレイン酸を含んでおり、ここで、前記植物または生育植物部分の前記非極性脂質の総脂肪酸の、少なくとも20% (mol%)、少なくとも22% (mol%)、少なくとも30% (mol%)、少なくとも40% (mol%)、少なくとも50% (mol%)、または少なくとも60% (mol%)、好ましくは少なくとも65% (mol%)、または少なくとも66% (mol%)が、オレイン酸である、

(v) 前記非ヒト生物またはその一部の脂質中の総脂肪酸含量が、1以上の外因性ポリヌクレオチドを有していない対応する非ヒト生物またはその一部中の脂質よりも、少なくとも2%多いオレイン酸、および/または、少なくとも2%少ないパルミチン酸、を含む、

(vi) 前記非ヒト生物が、珪藻植物 (baciillariophytes)、緑藻類 (chlorophytes)、青綠藻類 (cyanophytes)、金茶藻類 (chytrophytes)、ハプト藻、茶藻類および黄色藻類 (heterokont algae) からなる群から選択される藻類である、

(v i i) 前記非極性脂質(複数含む)が、総ステロール、好ましくは遊離ステロール、ステロイルエステルおよび/またはステロイルグリコシド、の改変レベルを含む、

(v i i i) 前記非極性脂質(複数含む)が、ワックスおよび/またはワックスエステルを含む、および、

(i x) 前記非ヒト生物またはその一部が、少なくとも約1000のそのような非ヒト生物またはその一部の、群またはコレクションの一員である。

【請求項3】

(i) 前記非ヒト生物が植物、藻類または、たとえば菌類等の、発酵に適した生物である、または

(i i) 前記非ヒト生物が、菌類、好ましくは油性菌類、たとえば、油性酵母である、または

(i i i) 前記非ヒト生物の一部が、種子、果実、または、たとえば気生植物部分または緑色部分、たとえば葉または茎の、植物の生育部分である、

請求項1または2に記載の非ヒト生物またはその一部。

【請求項4】

前記非極性脂質の総ステロール含量および/または組成が、前記1以上の外因性ポリヌクレオチドを有していない対応する非ヒト生物またはその一部の非極性脂質の総ステロール含量および/または組成と、有意に異なる、請求項1から3のいずれか1項に記載の非ヒト生物またはその一部。

【請求項5】

1以上の非極性脂質の増加レベルが、以下の特長のうちの1以上またはすべてが該当するものである、請求項1から4のいずれか1項に記載の非ヒト生物またはその一部：

(i) 前記レベルは、対応する非ヒト生物またはその一部のレベルよりも、重量ベースで、少なくとも0.5%大きい、

(i i) 前記レベルは、対応する非ヒト生物またはその一部のレベルよりも、相対ベースで、少なくとも1%大きい、

(i i i) 前記非ヒト生物またはその一部の総非極性脂質含量は、対応する非ヒト生物またはその一部の含量よりも、それぞれ、重量ベースで、少なくとも0.5%大きい、

(i v) 前記非ヒト生物またはその一部の総非極性脂質含量が、対応する非ヒト生物またはその一部の含量よりも、それぞれ、相対ベースで、少なくとも1%大きい、

(v) 前記非ヒト生物またはその一部の、1以上の非極性脂質のレベルおよび/または、総非極性脂質の含量が、前記1以上の外因性ポリヌクレオチドを有しておらず、および、Arabidopsis thaliana DGAT1をコードする外因性ポリヌクレオチドを含む対応する非ヒト生物またはその一部よりも、それぞれ、重量ベースで少なくとも0.5%大きいか、および/または、相対ベースで少なくとも1%大きい。

【請求項6】

以下を含む、請求項1から5のいずれか1項に記載の非ヒト生物またはその一部：

(i) 対応する非ヒト生物またはその一部のTAG、DAG、TAGおよびDAG、またはMAG含量よりも、相対ベースで、少なくとも10%大きい、TAG、DAG、TAGおよびDAG、またはMAG含量、および/または

(i i) 対応する非ヒト生物またはその一部の総多価不飽和脂肪酸(PUFA)含量と比較して増加または減少している、総PUFA含量。

【請求項7】

(i) 前記第一の外因性ポリヌクレオチドは、Wrinkled 1(WRI1)転写因子、Leafy Cotyledon 1(Lec1)転写因子、Leafy Cotyledon 2(Lec2)転写因子、Fus3転写因子、ABI3転写因子、Dof4転写因子、BABY BOOM(BBM)転写因子、またはDof11転写因子をコードする、および/または

(i i) 前記第二の外因性ポリヌクレオチドは、ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ(DGAT)活性、モノアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ(MG

A T) 活性、または、グリセロール - 3 - リン酸アシルトランスフェラーゼ (G P A T)
活性を有するポリペプチドをコードする、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の非ヒト
生物またはその一部。

【請求項 8】

前記非ヒト生物またはその一部が、以下のうちの 1 つ以上または任意の組み合わせをコードする、第三の、またはそれ以上の外因性ポリヌクレオチド（複数含む）、さらに含有する、請求項1 から 7 のいずれか 1 項に記載の非ヒト生物またはその一部：

(i) 非ヒト生物またはその一部の、1 以上の解糖系遺伝子または脂肪酸生合成遺伝子の発現を増加させる、さらなる転写因子ポリペプチド、

(i i) 1 以上の非極性脂質の生合成に関与する、さらなるポリペプチド、

(i i i) 前記 1 以上の非極性脂質、好ましくはオレオシン、たとえば、ポリオレオシンまたはカレオシン、より好ましくはポリオレオシンを安定化させるポリペプチド、

(i v) たとえば A G P a s e ポリペプチドのようなデンブン生合成に関与するポリペプチドをコードする遺伝子の発現を阻害する R N A 分子、

(v) 脂質の分解に関与する、および / または、たとえば C G i 5 8 ポリペプチドのようなリパーゼ等の脂質含量を減少させる、ポリペプチドをコードする遺伝子の発現を阻害する R N A 分子、

(v i) サイレンシングサプレッサーポリペプチド、

ここで、前記第三、またはそれ以上の外因性ポリヌクレオチド（複数含む）は、非ヒト生物またはその一部でポリヌクレオチド（複数含む）の発現を指示することができるプロモーターに動作可能に連結されている。

【請求項 9】

前記1 以上の外因性ポリヌクレオチドは以下をコードする、請求項 1 から 8 のいずれか 1 項に記載の非ヒト生物またはその一部：

(i) W r i n k l e d 1 (W R I 1) 転写因子および D G A T 、

(i i) W R I 1 転写因子および D G A T およびオレオシン、

(i i i) W R I 1 転写因子、 D G A T 、 M G A T およびオレオシン、

(i v) モノアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ (M G A T) 、

(v) ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ 2 (D G A T 2) 、

(v i) M G A T およびグリセロール - 3 - リン酸アシルトランスフェラーゼ (G P A T) 、

(v i i) M G A T および D G A T 、

(v i i i) M G A T 、 G P A T および D G A T 、

(i x) W R I 1 転写因子および M G A T 、

(x) W R I 1 転写因子、 D G A T および M G A T 、

(x i) W R I 1 転写因子、 D G A T 、 M G A T 、 オレオシンおよび G P A T 、

(x i i) D G A T およびオレオシン、または、

(x i i i) M G A T およびオレオシン、ならびに、

(x i v) 任意選択的に、サイレンシングサプレッサーポリペプチド。

【請求項 10】

前記非ヒト生物の一部が

(i) 少なくとも約 1 1 % 、より好ましくは少なくとも約 1 2 % 、より好ましくは少なくとも約 1 3 % 、より好ましくは少なくとも約 1 4 % 、またはより好ましくは少なくとも約 1 5 % (w / w 乾重量または種子重量) の総非極性脂質含量、および / または

(i i) 少なくとも約 7 % 、より好ましくは少なくとも約 1 0 % 、より好ましくは少なくとも約 1 1 % 、より好ましくは少なくとも約 1 2 % 、より好ましくは少なくとも約 1 3 % 、より好ましくは少なくとも約 1 4 % 、より好ましくは少なくとも約 1 5 % 、またはより好ましくは少なくとも約 1 7 % (w / w 乾重量または種子重量) の総 T A G 含量を含む生育植物部分である、請求項1 から 9 のいずれか 1 項に記載の非ヒト生物またはその一部。

【請求項 1 1】

前記非ヒト生物またはその一部が、W R I 1 をコードする第一の外因性ポリヌクレオチド、D G A T 、好ましくはD G A T 1 をコードする第二の外因性ポリヌクレオチド、オレオシンをコードする第三のポリヌクレオチドを含み、ここで、前記非ヒト生物またはその一部が、以下の特長のうちの 1 以上、またはすべてを有している、請求項 1 から 1 0 のいずれか 1 項に記載の非ヒト生物またはその一部：

(i) 少なくとも 10 % 、少なくとも 12 . 5 % 、少なくとも 15 % 、または少なくとも 17 % (乾重量の重量 %) の総 T A G 含量、

(i i) 前記外因性ポリヌクレオチドを有していない対応する非ヒト生物またはその一部と比較して、前記非ヒト生物またはその一部の総 T A G 含量が、少なくとも 40 倍、少なくとも 50 倍、少なくとも 60 倍、または少なくとも 70 倍、または少なくとも 100 倍、高い、

(i i i) オレイン酸が、前記 T A G 中の脂肪酸の少なくとも 19 % 、少なくとも 22 % 、または少なくとも 25 % (重量 %) を構成する、

(i v) 前記外因性ポリヌクレオチドを有していない対応する非ヒト生物またはその一部と比較して、前記非ヒト生物またはその一部の T A G 中のオレイン酸のレベルが、少なくとも 10 倍、少なくとも 15 倍、少なくとも 17 倍、または少なくとも 19 倍、高い、

(v) パルミチン酸が、前記 T A G 中の脂肪酸の少なくとも 20 % 、少なくとも 25 % 、または少なくとも 28 % (重量 %) を構成する、

(v i) 前記外因性ポリヌクレオチドを有していない対応する非ヒト生物またはその一部と比較して、前記非ヒト生物またはその一部の T A G 中のパルミチン酸のレベルが、少なくとも 1 . 25 倍高い、

(v i i) リノール酸が、前記 T A G 中の脂肪酸の、少なくとも 15 % 、または少なくとも 20 % (重量 %) を構成する、

(v i i i) リノレン酸が、前記 T A G 中の脂肪酸の、 15 % 未満、 11 % 未満、または 8 % 未満 (重量 %) を構成する、および、

(i x) 前記外因性ポリヌクレオチドを有していない対応する非ヒト生物またはその一部と比較して、前記非ヒト生物またはその一部の T A G 中の リノレン酸のレベルが、少なくとも 5 倍、または少なくとも 8 倍、低い。

【請求項 1 2】

非ヒト生物またはその一部中の、 1 以上の解糖系遺伝子または脂肪酸生合成遺伝子の発現を増加させる転写因子ポリペプチドをコードする第一のポリヌクレオチドの、 1 以上の非極性脂質の生合成に関するポリペプチドをコードする第二のポリヌクレオチドとの、第一および第二のポリヌクレオチドを有していない対応する非ヒト生物またはその一部と比較して、 1 以上の非極性脂質を産生する能力が増強されているトランスジェニック非ヒト生物またはその一部を産生するための使用であって、ここで、前記第一および第二のポリヌクレオチドは各々、前記非ヒト生物またはその一部に対して外因性であり、および、各々が、それぞれ、前記トランスジェニック非ヒト生物またはその一部のポリヌクレオチドの発現を指示することができるプロモーターに動作可能に連結されており、もし前記トランスジェニック非ヒト生物が植物である場合、前記植物の生育部分は、少なくとも約 10 % の総非極性脂質含量を有している、使用。

【請求項 1 3】

工業製品、好ましくは炭化水素製品、たとえば脂肪酸エステル、好ましくは脂肪酸メチルエステルおよび / または脂肪酸エチルエステル、アルカン、たとえばメタン、エタンまたは長鎖アルカン、長鎖アルカン類の混合物、アルケン、バイオ燃料、または一酸化炭素および / または水素ガス、バイオアルコール、たとえば、エタノール、プロパンノールまたはブタノール、バイオ炭、または一酸化炭素、水素およびバイオ炭の混合物の製造のための、請求項 1 から 1 1 のいずれか 1 項に記載の非ヒト生物またはその一部の使用。

【請求項 1 4】

工業製品を製造する方法であって、以下のステップを含む、方法：

(i) 請求項 1 から 1 1 のいずれか 1 項に記載の非ヒト生物またはその一部を得ること、および、

(i i) 任意選択的にステップ(i)の前記非ヒト生物またはその一部を物理的に処理すること、および

(i i i) ステップ(i)の前記非ヒト生物またはその一部の、またはステップ(i 1)によって得られた処理された非ヒト生物またはその一部の、前記脂質の少なくとも一部を、熱、化学的手段または酵素的手段、またはそれらの任意の組み合わせを、前記ステップ(i)の前記非ヒト生物またはその一部の、またはステップ(i 1)によって得られた処理された非ヒト生物またはその一部の脂質に、 in situ で適用することにより、工業製品へと転換し、および、

(i v) 前記工業製品を回収すること。

【請求項 1 5】

抽出脂質の製造方法であって、以下のステップを含む方法：

(i) 請求項 1 から 1 1 のいずれか 1 項に記載の非ヒト生物またはその一部を得ること、

(i i) 前記非ヒト生物またはその一部から脂質を抽出すること、および、

(i i i) 前記抽出された脂質を回収すること。

【請求項 1 6】

(i) 任意選択的に触媒の存在下で、請求項 1 から 1 1 のいずれか 1 項に記載の非ヒト生物またはその一部から回収された脂質または抽出された脂質とアルコールを反応させ、アルキルエステルを產生すること、および、

(i i) 任意選択的にアルキルエステルと石油ベースの燃料とを混合させること、を含む、燃料を製造する工程。

【請求項 1 7】

(i) 請求項 1 から 1 1 のいずれか 1 項に記載の非ヒト生物またはその一部の脂質を、ガス化により合成ガスへと転換すること、および、

(i i) 前記合成ガスを、金属触媒または微生物触媒を用いて、バイオ燃料へと転換すること、を含む、合成ディーゼル燃料を製造する工程。

【請求項 1 8】

請求項 1 から 1 1 のいずれか 1 項に記載の非ヒト生物またはその一部の脂質を、熱分解によりバイオ - 油へと転換すること、発酵によりバイオアルコールへと転換すること、またはガス化または嫌気性消化によりバイオガスへと転換することを含む、バイオ燃料を製造する工程。

【請求項 1 9】

請求項 1 から 1 1 のいずれか 1 項に記載の非ヒト生物またはその一部を含む、飼料、化粧品または化学薬品。