

【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18年1月5日(2006.1.5)

【公表番号】特表2005-523019(P2005-523019A)

【公表日】平成17年8月4日(2005.8.4)

【年通号数】公開・登録公報2005-030

【出願番号】特願2003-586333(P2003-586333)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)
A 0 1 H 5/00 (2006.01)
A 0 1 K 67/027 (2006.01)
C 0 7 K 7/00 (2006.01)
C 0 7 K 14/00 (2006.01)
C 0 7 K 16/40 (2006.01)
C 0 7 K 19/00 (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 9/16 (2006.01)
C 1 2 N 11/00 (2006.01)
C 1 2 P 7/02 (2006.01)
C 1 2 P 21/08 (2006.01)
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)
C 1 2 Q 1/34 (2006.01)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)
G 0 1 N 33/53 (2006.01)
G 0 1 N 37/00 (2006.01)
C 1 2 N 5/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A
 A 0 1 H 5/00 A
 A 0 1 K 67/027
 C 0 7 K 7/00
 C 0 7 K 14/00
 C 0 7 K 16/40
 C 0 7 K 19/00
 C 1 2 N 1/15
 C 1 2 N 1/19
 C 1 2 N 1/21
 C 1 2 N 9/16 D
 C 1 2 N 11/00
 C 1 2 P 7/02
 C 1 2 P 21/08
 C 1 2 Q 1/02
 C 1 2 Q 1/34
 C 1 2 Q 1/68 A
 G 0 1 N 33/53 D
 G 0 1 N 33/53 M
 G 0 1 N 37/00 1 0 2

C 1 2 N 15/00 F
C 1 2 N 5/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成17年8月1日(2005.8.1)

【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】

下記のいずれかの核酸：

(a) 配列番号:1、配列番号:3、配列番号:5、配列番号:7、配列番号:9、配列番号:11、配列番号:13、配列番号:15、配列番号:17、配列番号:19、配列番号:21、配列番号:23、配列番号:25、配列番号:27、配列番号:29、配列番号:31、配列番号:33、配列番号:35、配列番号:37、配列番号:39、配列番号:41、配列番号:43、配列番号:45、配列番号:47、配列番号:49、配列番号:51、配列番号:53、配列番号:55、配列番号:57、配列番号:59、配列番号:61、配列番号:63、配列番号:65、配列番号:67、配列番号:69、配列番号:71、配列番号:73、配列番号:75、配列番号:77、配列番号:79、配列番号:81、配列番号:83、配列番号:85、配列番号:87、配列番号:89、配列番号:91、配列番号:93、配列番号:95、配列番号:97、配列番号:99、配列番号:101、配列番号:103、または配列番号:105と少なくとも50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれより高い、または100%の配列同一性を、少なくとも50、75、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050、1100、1150若しくはそれより多くの残基、または全長にわって有し、ホスホリパーゼ活性を有するすくなくとも1つのポリペプチドをコードする核酸配列を含む単離または組換え核酸であって、

前記ホスホリパーゼ活性が場合により、グリセロールリン酸エステル結合の加水分解を触媒する活性、植物油のリン脂質中のエステル結合の加水分解を触媒する活性、または糖タンパク質の加水分解活性を含み、

前記ホスホリパーゼ活性が場合により、ホスホリパーゼC(PLC)活性、ホスホリパーゼA(PLA)活性、ホスホリパーゼA1活性、ホスホリパーゼA2活性、ホスホリパーゼB(PLB)活性、ホスホリパーゼD(PLD)活性、ホスホリパーゼD1活性又はホスホリパーゼD2活性、パタチン酵素活性、または脂質アシル加水分解酵素(LAH)活性を含み、

前記ホスホリパーゼ活性は場合により、熱安定性または熱耐性であり、

場合により、前記配列同一性は配列比較アルゴリズムによる解析または視覚的な検査によって決定され、

場合により、前記配列比較アルゴリズムはBLASTバージョン2.2.2であって、フィルタリングの設定がblastall -p -d "nr pataa" -F F、であり、他のオプションがデフォルト値に設定されている、

前記単離または組換え核酸；

(b) 配列番号:1、配列番号:3、配列番号:5、配列番号:7、配列番号:9、配列番号:11、配列番号:13、配列番号:15、配列番号:17、配列番号:19、配列番号:21、配列番号:23、配列番号:25、配列番号:27、配列番号:29、配列番号:31、配列番号:33、配列番号:35、配列番号:37、配列番号:39、配列番号:41、配列番号:43、配列番号:45、配列番号:47、配列番号:49、配列番号:51、配列番号:53、配列番号:55、配列番号:57、配列番号:59、配列番号:61、配列番号:63、配列番号:65、配列番号:67、配列番号:69、配列番号:71、配列番号:73、配列番号:75、配列番号:77、配列番号:79、配列番号:81、配列番号:83、配列番号:85、配列番号:87、配列番号:89、配列番号:91、配列番号:93、配列番号:95、配列番号:97、配列番号:99、配列番号:101、配列番号:103、または配列番号:105と少なくとも50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれより高い、または100%の配列同一性を、少なくとも50、75、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050、1100、1150若しくはそれより多くの残基、または全長にわって有し、ホスホリパーゼ活性を有するすくなくとも1つのポリペプチドをコードする核酸配列を含む単離または組換え核酸であって、

3、配列番号:75、配列番号:77、配列番号:79、配列番号:81、配列番号:83、配列番号:85、配列番号:87、配列番号:89、配列番号:91、配列番号:93、配列番号:95、配列番号:97、配列番号:99、配列番号:101、配列番号:103、または配列番号:105を含む核酸にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列を含む単離または組換え核酸であって、場合により、前記ストリンジェントな条件が $0.2 \times \text{SSC}$ 中で約65にて15分間の洗浄工程を含む、前記単離または組換え核酸；

(c) 配列番号:2、配列番号:4、配列番号:6、配列番号:8、配列番号:10、配列番号:12、配列番号:14、配列番号:16、配列番号:18、配列番号:20、配列番号:22、配列番号:24、配列番号:26、配列番号:28、配列番号:30、配列番号:32、配列番号:34、配列番号:36、配列番号:38、配列番号:40、配列番号:42、配列番号:44、配列番号:46、配列番号:48、配列番号:50、配列番号:52、配列番号:54、配列番号:56、配列番号:58、配列番号:60、配列番号:62、配列番号:64、配列番号:66、配列番号:68、配列番号:70、配列番号:72、配列番号:74、配列番号:76、配列番号:78、配列番号:80、配列番号:82、配列番号:84、配列番号:86、配列番号:88、配列番号:90、配列番号:92、配列番号:94、配列番号:96、配列番号:98、配列番号:100、配列番号:102、配列番号:104、または配列番号:106に記載の配列を有するポリペプチドをコードする、単離または組換え核酸であって、

前記ポリペプチドは場合によりホスホリパーゼ活性を有し、

前記ホスホリパーゼ活性が、場合により、グリセロールリン酸エステル結合の加水分解を触媒する活性、植物油のリン脂質中のエステル結合の加水分解を触媒する活性、または糖タンパク質の加水分解活性を含み、

前記ホスホリパーゼ活性が、場合により、ホスホリパーゼC(PLC)活性、ホスホリパーゼA(PLA)活性、ホスホリパーゼA1活性、ホスホリパーゼA2活性、ホスホリパーゼB(PLB)活性、ホスホリパーゼD(PLD)活性、ホスホリパーゼD1活性又はホスホリパーゼD2活性、パタチン酵素活性、または脂質アシル加水分解酵素(LAH)活性を含み、

前記ホスホリパーゼ活性が、場合により、熱安定性または熱耐性である、前記単離または組換え核酸；または

(d) (a)、(b)または(c)記載の核酸に相補的な配列を含む核酸。

【請求項2】

下記の配列の少なくとも10個の連続する塩基、または、10~50、20~60、30~70、40~80、60~100または50~150の連続する塩基を含む、ホスホリパーゼ活性を有するポリペプチドをコードする核酸を同定するためのプローブであって、結合またはハイブリダイゼーションによって前記核酸を同定する前記プローブ；

(a) 配列番号:1、配列番号:3、配列番号:5、配列番号:7、配列番号:9、配列番号:11、配列番号:13、配列番号:15、配列番号:17、配列番号:19、配列番号:21、配列番号:23、配列番号:25、配列番号:27、配列番号:29、配列番号:31、配列番号:33、配列番号:35、配列番号:37、配列番号:39、配列番号:41、配列番号:43、配列番号:45、配列番号:47、配列番号:49、配列番号:51、配列番号:53、配列番号:55、配列番号:57、配列番号:59、配列番号:61、配列番号:63、配列番号:65、配列番号:67、配列番号:69、配列番号:71、配列番号:73、配列番号:75、配列番号:77、配列番号:79、配列番号:81、配列番号:83、配列番号:85、配列番号:87、配列番号:89、配列番号:91、配列番号:93、配列番号:95、配列番号:97、配列番号:99、配列番号:101、配列番号:103、または配列番号:105、または

(b) 請求項1記載の核酸の配列。

【請求項3】

下記の配列の最初の(5'側)約12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30またはそれより多くの残基を有する第1のメンバーおよび、前記第1のメンバーの相補鎖の最初の約(5'側)約12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30またはそれより多くの残基を有する第2のメンバーを含む、増幅プライマー対；

(a) 配列番号:1、配列番号:3、配列番号:5、配列番号:7、配列番号:9、配列番号:11、配列番号:13、配列番号:15、配列番号:17、配列番号:19、配列番号:21、配列番号:23、配

列番号:25、配列番号:27、配列番号:29、配列番号:31、配列番号:33、配列番号:35、配列番号:37、配列番号:39、配列番号:41、配列番号:43、配列番号:45、配列番号:47、配列番号:49、配列番号:51、配列番号:53、配列番号:55、配列番号:57、配列番号:59、配列番号:61、配列番号:63、配列番号:65、配列番号:67、配列番号:69、配列番号:71、配列番号:73、配列番号:75、配列番号:77、配列番号:79、配列番号:81、配列番号:83、配列番号:85、配列番号:87、配列番号:89、配列番号:91、配列番号:93、配列番号:95、配列番号:97、配列番号:99、配列番号:101、配列番号:103、または配列番号:105、または

(b) 請求項1記載の配列。

【請求項4】

請求項1記載の配列を含む核酸を含む発現カセット、ベクターまたはクローニングビヒクルであって、場合により、ウイルスベクター、プラスミド、ファージ、ファージミド、コスミド、フォスミド、バクテリオファージ、人工染色体、アデノウイルスベクター、レトロウイルスベクターまたはアデノ随伴ウイルスベクター、細菌人工染色体(BAC)、プラスミド、バクテリオファージP1-誘導体ベクター(PAC)、酵母人工染色体(YAC)、または哺乳動物人工染色体(MAC)を含む、前記発現カセット、ベクターまたはクローニングビヒクル。

【請求項5】

請求項1記載の配列、または請求項4記載の発現カセット、ベクターまたはクローニングビヒクルを含む核酸を含む形質転換細胞であって、場合により細菌細胞、哺乳動物細胞、真菌細胞、酵母細胞、昆虫細胞または植物細胞である、前記形質転換細胞。

【請求項6】

請求項1記載の配列、または請求項4記載の発現カセット、ベクターまたはクローニングビヒクルを含むトランスジェニック非ヒト動物、トランスジェニック植物、またはトランスジェニック種子であって、

場合により、前記動物はマウスであり；

場合により前記植物はトウモロコシ、ソルガム、ポテト、トマト、コムギ、脂肪種子植物、ナタネ、ダイズ、コメ、オオムギ、牧草、ワタ、ヤシ、ゴマ、ラッカセイ、ヒマワリ、またはタバコであり、

場合により、前記種子がトウモロコシ種子、小麦穀粒、脂肪種子植物種子、菜種種子、ダイズ種子、ヤシガラ、ヒマワリ種子、ゴマ種子、コメ、オオムギ、ラッカセイ、ワタ種子、またはタバコ種子である、

前記トランスジェニック非ヒト動物、トランスジェニック植物、またはトランスジェニック種子。

【請求項7】

以下のいずれかの単離または組換えポリペプチドであって、

場合によりホスホリパーゼ活性を有し、

前記ホスホリパーゼ活性が、場合により、グリセロールリン酸エステル結合の加水分解を触媒する活性、植物油のリン脂質中のエステル結合の加水分解を触媒する活性、または糖タンパク質の加水分解活性を含み、

前記ホスホリパーゼ活性が、場合により、ホスホリパーゼC(PLC)活性、ホスホリパーゼA(PLA)活性、ホスホリパーゼA1活性、ホスホリパーゼA2活性、ホスホリパーゼB(PLB)活性、ホスホリパーゼD(PLD)活性、ホスホリパーゼD1活性又はホスホリパーゼD2活性、パタチン酵素活性、または脂質アシル加水分解酵素(LAH)活性を含み、

前記ホスホリパーゼ活性が、場合により、熱安定性または熱耐性であり、

前記植物油のリン脂質が、場合により、植物油、高リン油、ダイズ油、カノーラ油、ヤシ油、綿実油、コーン油、パーム核油、ゴマ油、魚油、藻類リン脂質、ヒマワリ油、エッセンシャル油、果実種子油、ブドウ種子リン脂質、アプリコットリン脂質、またはルリジサリン脂質由来のリン脂質であり、

場合により、少なくとも一つのグリコシル化部位を有し、

場合により、pHが約6.5、6.0、5.5、5.0、4.5または4.0である条件を含む条件下でホス

ホリパーゼ活性を維持し、

場合によりpHが約7.5、8.0、8.5、9、9.5、10または10.5である条件を含む条件下でホスホリパーゼ活性を維持する、

前記単離または組換えポリペプチド：

(i) 配列番号:2、配列番号:4、配列番号:6、配列番号:8、配列番号:10、配列番号:12、配列番号:14、配列番号:16、配列番号:18、配列番号:20、配列番号:22、配列番号:24、配列番号:26、配列番号:28、配列番号:30、配列番号:32、配列番号:34、配列番号:36、配列番号:38、配列番号:40、配列番号:42、配列番号:44、配列番号:46、配列番号:48、配列番号:50、配列番号:52、配列番号:54、配列番号:56、配列番号:58、配列番号:60、配列番号:62、配列番号:64、配列番号:66、配列番号:68、配列番号:70、配列番号:72、配列番号:74、配列番号:76、配列番号:78、配列番号:80、配列番号:82、配列番号:84、配列番号:86、配列番号:88、配列番号:90、配列番号:92、配列番号:94、配列番号:96、配列番号:98、配列番号:100、配列番号:102、配列番号:104、または配列番号:106に記載の配列と少なくとも50%、

51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれより高い、または100%の配列同一性を、少なくとも50、75、100、150、200、250、300残基、またはそれより長い領域にわたって有し、前記配列同一性が配列比較アルゴリズムによる解析または視覚的な検査によって決定される単離または組換えポリペプチド；または、

(ii) 請求項1記載の配列を有する核酸によってコードされる単離または組換えポリペプチド。

【請求項8】

請求項7記載のポリペプチドを含む組成物であって、液体、固体、またはゲルを含む前記組成物。

【請求項9】

固定化された請求項7記載のポリペプチドまたは固定化された請求項1記載の核酸を含むアレイであって、前記ポリペプチドまたは核酸が、場合により、細胞、金属、樹脂、ポリマー、セラミック、ガラス、微小電極、グラファイト粒子、ビーズ、ゲル、プレート、アレイまたはキャピラリー管に固定化されている、前記アレイ。

【請求項10】

場合により単一鎖抗体、ペプチド擬似体抗体、合成タンパク質抗体、モノクローナル抗体、またはポリクローナル抗体である、請求項7記載のポリペプチドに特異的に結合する単離又は組換え抗体。

【請求項11】

(a) プロモーターに連結した請求項1記載の配列を有する核酸を提供する工程；および、

(b) 工程(a)の核酸をポリペプチドの発現を可能とする条件下で発現させ、それによって組換えポリペプチドを産生させる工程を含み、

場合により、更に、工程(a)の核酸で細胞を形質転換し、工程(a)の核酸を発現させ、それによって形質転換細胞中で組換えポリペプチドを産生させることを含む、組換えポリペプチドを製造する方法。

【請求項12】

(a) 請求項1記載の配列または請求項3記載の増幅プライマー配列対または前記配列の部分配列を含むポリヌクレオチドプローブ提供する工程；

(b) 環境サンプルから核酸を単離する、またはサンプル中の核酸が工程(a)のポリヌクレオチドプローブにハイブリダイズできるように環境サンプルを処理する工程；

(c) 工程(b)の単離した核酸、または処理した環境サンプル、を工程(a)のポリヌクレオチドプローブと一緒にする工程；および、

(d) 工程(a)のポリヌクレオチドプローブと特異的にハイブリダイズする核酸を単離する工程、を含み、

場合により、前記環境サンプルは水サンプル、液体サンプル、土壌サンプル、空気サンプルまたは生物学的サンプルを含み、

前記生物学的サンプルが場合により細菌細胞、原生動物細胞、昆虫細胞、酵母細胞、植物細胞、真菌細胞または哺乳動物細胞に由来する、
ホスホリパーゼ活性を有するポリペプチドをコードする核酸を環境サンプルから単離または回収する方法。

【請求項13】

(a) 請求項1記載の配列を含む鋳型核酸を提供する工程；

(b) 前記鋳型配列を改変する、または1以上のヌクレオチドを欠失もしくは付加する、またはこれらを組み合わせて前記鋳型ヌクレオチドの変種を作製する工程を含む、ホスホリパーゼ活性を有するポリペプチドの変種を作製する方法であって、

場合により、更に、前記変種ヌクレオチドを発現させて変種ホスホリパーゼを生成することを含み、

場合により、前記改変、欠失または負荷が、変異性PCR、シャッフリング、オリゴヌクレオチド特異的変異導入、アッセンブリPCR、セクシュアルPCR変異導入、in vivo変異導入、カセット変異導入、再帰的アンサンブル変異導入、エクスポネンシャルアンサンブル変異導入、部位特異的変異導入、遺伝子再アッセンブル、遺伝子部位飽和変異導入(GSSM)、合成連結再アッセンブリ(SLR)、組換え、再帰的配列組換え、ホスホチオエート改変DNA変異導入、ウラシル含有鋳型変異導入、ギャップ二重鎖変異導入、点ミスマッチ修復変異導入、修復欠損宿主株変異導入、化学的変異導入、放射性変異導入、欠失変異導入、制限-選択変異導入、制限-精製変異導入、人工遺伝子合成、アンサンブル変異導入、キメラ核酸マルチマー生成またはこれらの組合せを含む方法によって導入され、

場合により、前記鋳型核酸によってコードされるポリペプチドに比較して改変された若しくは異なる活性、または改変された若しくは異なる安定性を有するホスホリパーゼが生成されるまで反復的に繰り返される、

前記ホスホリパーゼ活性を有するポリペプチドの変種を作製する方法。

【請求項14】

(a) 請求項1記載の配列を含む、ホスホリパーゼ活性を有するポリペプチドをコードする核酸を提供する工程；および、

(b) 工程(a)の核酸中で非優先又は低優先コドンと同定し、前記コドンと同じアミノ酸をコードする優先的または中立的に使用されるコドンに置換する工程であって、前記優先的コドンとは宿主細胞の遺伝子のコード配列中で過剰提示されるコドンであり、優先又は低優先コドンとは宿主細胞の遺伝子のコード配列中で提示頻度の劣るコドンである、前記工程、を含み、

前記宿主細胞が、場合により、細菌細胞、真菌細胞、昆虫細胞、酵母細胞、植物細胞または哺乳動物細胞である、

ホスホリパーゼポリペプチドをコードする核酸のコドンを変更して宿主中の前記核酸の発現を増加させる方法。

【請求項15】

(a) ホスホリパーゼ活性を有する、請求項7記載のポリペプチド、または請求項1記載の核酸によってコードされるポリペプチドを提供する工程；

(b) リン脂質を含む組成物を提供する工程；および、

(c) 工程(a)のポリペプチドを工程(b)の組成物と、ホスホリパーゼが前記リン脂質含有組成物を加水分解、分割または破壊する条件で接触させる工程、を含み、

場合により前記組成物がリン脂質含有脂質二重層またはリン脂質含有二重膜を含み、

場合により、前記組成物が植物細胞、細菌細胞、酵母細胞昆虫細胞または哺乳動物細胞を含む、

リン脂質含有組成物を加水分解、分割または破壊する方法。

【請求項 16】

(a) ホスホリパーゼ活性を有する、請求項7記載のポリペプチド、または請求項1記載の核酸によってコードされるポリペプチドを提供する工程；

(b) リン脂質を含む組成物を提供する工程；および、

(c) 工程(a)のポリペプチドを工程(b)の組成物と、ホスホリパーゼが前記リン脂質含有組成物を液化または除去する条件で接触させる工程を含む、リン脂質含有組成物を液化または除去する方法であって、

場合により、前記ホスホリパーゼがホスホリパーゼ非表面活性ホスホリパーゼまたは表面活性ホスホリパーゼを有し、

場合により、前記ホスホリパーゼが非水性液体組成物、成型固体、顆粒状形態、微粒子形態、圧縮錠剤、ゲル形態、ペーストまたはスラリー形態に処方される、前記方法。

【請求項 17】

(a) ホスホリパーゼ活性を有する、請求項7記載のポリペプチド、または請求項1記載の核酸によってコードされるポリペプチドを含む組成物を提供する工程；

(b) リン脂質含有脂肪または油を含む組成物を提供する工程；

(c) 工程(a)の組成物を工程(b)の組成物と、前記ポリペプチドが工程(b)の組成物中のリン脂質の加水分解を触媒する条件下で接触させる工程、を含む、油を脱ガム化する方法であって、

場合により前記リン脂質含有脂肪または油を含む組成物が植物の油若しくは脂肪、動物の油若しくは脂肪、藻類の油若しくは脂肪、または魚の油若しくは脂肪を含み、

場合により、前記植物油がダイズ油、ブドウ種子油、コーン油、パーム核油、カノーラ油、ヒマワリ油、ゴマ油またはラッカセイ油を含み、

場合により、前記ポリペプチドは前記油含有組成物中の水和性及び/又は非水和性リン脂質からホスファチドを加水分解し、

場合により、前記ポリペプチドはホスファチドをグリセリルホスホエステル結合部で加水分解してジグリセリドおよび水溶性ホスフェート化合物を生成し、

場合により、前記ポリペプチドはホスホリパーゼC活性を有し、

場合により、前記ポリペプチドはホスホリパーゼD活性を有し、ホスファターゼ酵素も添加され、

場合により、前記接触が油中の水和リン脂質の加水分解を含み、

場合により、前記ポリペプチドはフィルターに結合しており、前記リン脂質含有脂肪または油が前記フィルターを通過し、

場合により、前記ポリペプチドはリン脂質含有脂肪または油を含む溶液に添加され、前記溶液がフィルターを通過する、前記方法。

【請求項 18】

(a) ホスホリパーゼ活性を有する、請求項7記載のポリペプチド、または請求項1記載の核酸によってコードされるポリペプチドを含む組成物を提供する工程；

(b) 非水和性リン脂質を含む組成物を提供する工程；および、

(c) 工程(a)のポリペプチドを工程(b)の組成物と、前記ポリペプチドが前記非水和性リン脂質を水和性リン脂質に変換する条件下で接触させる工程を含み、

場合により、前記ポリペプチドがホスホリパーゼC活性を有し、

場合により、前記ポリペプチドがホスホリパーゼD活性を有し、ホスファターゼ酵素も添加される、非水和性リン脂質を水和性形態へ変換する方法。

【請求項 19】

(a) ホスホリパーゼ活性を有する、請求項7記載のポリペプチド、または請求項1記載の核酸によってコードされるポリペプチドを含む組成物を提供する工程；

(b) リン脂質を含む組成物を提供する工程；および、

(c) 工程(a)のポリペプチドを工程(b)の組成物と、腐蝕性精製の前、途中、または後に接触させる工程、を含む、リン脂質含有組成物の腐蝕性精製方法であって、

場合により、前記ポリペプチドはホスホリパーゼC活性を有し、

場合により、前記ホスホリパーゼ活性を有するポリペプチドが腐蝕性精製の前に添加され、前記リン脂質を含む組成物が植物を含み、前記ポリペプチドが前記植物中で一過性に発現され、前記ホスホリパーゼ活性を有するポリペプチドが植物の種子または他の部分の粉碎中に添加されるか、または、前記ホスホリパーゼ活性を有するポリペプチドが粉碎の後若しくは精製に先立って添加され、

場合により前記ホスホリパーゼ活性を有するポリペプチドが腐蝕性精製の途中で添加され、リンの濃度および遊離の脂肪酸の濃度に依存して種々の濃度の酸または腐蝕剤が添加され、

場合により前記ホスホリパーゼ活性を有するポリペプチドが、腐蝕性精製の後に、分離に先立つ強力ミキサーまたは停留ミキサー中、加熱工程後、遠心中、ソープストック中、洗浄水中に添加され、または、ブリーチングまたは脱臭工程中に添加される、前記リン脂質含有組成物の腐蝕性精製方法。

【請求項20】

(a) ホスホリパーゼ活性を有する、請求項7記載のポリペプチド、または請求項1若しくは24記載の核酸によってコードされるポリペプチドを含む組成物を提供する工程；

(b) フィトステロールまたはトリテルペンを含む組成物を提供する工程；および、

(c) 工程(a)のポリペプチドを工程(b)の組成物と、前記ポリペプチドが前記組成物中のリン脂質の加水分解を触媒する条件下で接触させる工程を含む、フィトステロールまたはトリテルペンを精製する方法であって、

場合により、前記ポリペプチドがホスホリパーゼC活性を有し、

場合により、前記フィトステロールまたはトリテルペンが植物ステロールを含み、

場合により、植物ステロールが植物油のステロールであり、

場合により、前記植物油が、ココナッツ油、カノーラ油、ココアバター油、コーン油、綿実油、亜麻仁油、オリーブ油、パーム油、ラッカセイ油、コメヌカ油、ベニバナ油、ゴマ油、ダイズ油、ヒマワリ油を含む、

前記フィトステロールまたはトリテルペンを精製する方法。

【請求項21】

(a) ホスホリパーゼ活性を有する、請求項7記載のポリペプチド、または請求項1記載の核酸によってコードされるポリペプチドを含む組成物を提供する工程；

(b) リン脂質を含む油を含む組成物を提供する工程；および、

(c) 工程(a)のポリペプチドを工程(b)の組成物と、前記ポリペプチドが前記組成物中のリン脂質の加水分解を触媒する条件下で接触させる工程、を含む、粗精製油を精製する方法であって、

場合により、前記ポリペプチドはホスホリパーゼC活性を有し、

場合により、前記ポリペプチドは組成物中に添加された水性溶液中でホスホリパーゼ活性を有し、

場合により、前記加水分解条件は腐蝕剤の使用を含み、

場合により、前記加水分解条件は工程(c)の接触後の乳化剤の添加および/または混合を含み、

場合により、水性相の分離を促進するために乳化停止剤の添加および/または加熱を含み、

場合により、前記接触工程の前に遠心によって脱ガム化してレシチンを集めること、および、PCLおよび/またはPLAを添加して非水和性リン脂質を除去することを含み、

場合により、粗精製油を脱ガム化して、食用油については10ppm未満とし、バイオディーゼル油については続いて物理的精製して約50ppm未満とすることを含み、

場合により、非水和性リン脂質の水和を促進するために酸を添加することを含む、前記粗精製油を精製する方法。

【請求項 2 2】

以下の工程を含む、油または脂肪を脱ガム化する方法：

(a) ホスホリパーゼ D 活性を含むホスホリパーゼ活性を有する、請求項 7 記載のポリペプチドまたは請求項 1 記載の核酸によってコードされるポリペプチド、および、ホスファターゼ酵素、を含む組成物を提供する工程；

(b) リン脂質を含む油を含む組成物を提供する工程；および、

(c) 工程 (a) のポリペプチドを工程 (b) の組成物と、前記ポリペプチドが前記組成物中のリン脂質の加水分解を触媒する条件下で接触させる工程。