

【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21年11月12日 (2009.11.12)

【公表番号】特表2009-509546(P2009-509546A)

【公表日】平成21年3月12日 (2009.3.12)

【年通号数】公開・登録公報2009-010

【出願番号】特願2008-533770(P2008-533770)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 P 19/14 (2006.01)

C 1 1 D 3/386 (2006.01)

C 1 2 N 9/42 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 P 19/14

C 1 1 D 3/386

C 1 2 N 9/42

【手続補正書】

【提出日】平成21年9月16日 (2009.9.16)

【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】

セルロース分解増強活性を有する、有効量のポリペプチドの存在下で、有効量の 1 又は複数のセルロース分解タンパク質によりセルロース材料を処理することを含んで成る、セルロース材料の分解又は転換方法であって、前記セルロース分解増強活性を有するポリペプチドの存在が、セルロース分解増強活性を有するポリペプチドの不在に比較して、セルロース材料の分解を高め、そして前記セルロース分解増強活性を有するポリペプチドが、

( a ) 配列番号 2 の成熟ポリペプチドと、好ましくは少なくとも 70 %、より好ましくは少なくとも 75 % の同一性、さらにより好ましくは少なくとも 80 % の同一性、さらにより好ましくは少なくとも 85 % の同一性、さらにより好ましくは少なくとも 90 % の同一性、最も好ましくは少なくとも 95 % の同一性、そしてさらに最も好ましくは少なくとも 97 % の同一性を有するアミノ酸配列を含んで成るポリペプチド；

( b ) ( i ) 配列番号 1 の成熟ポリペプチドコード配列、( ii ) 配列番号 1 の成熟ポリペプチドコード配列を含んで成るゲノム DNA 配列、又は ( iii ) 前記 ( i ) 若しくは ( ii ) の相補的鎖と、好ましくは少なくとも中位の緊縮条件、より好ましくは少なくとも中位に高い緊縮条件、そして最も好ましくは少なくとも高い緊縮条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド；

( c ) [ ILMV ] - P - x ( 4 , 5 ) - G - x - Y - [ ILMV ] - x - R - x - [ EQ ] - x ( 3 ) - A - [ HNQ ] ( ここで x はいずれかのアミノ酸であり、x ( 4 , 5 ) は 4 又は 5 個の連続した位置でのいずれかのアミノ酸であり、そして x ( 3 ) は 3 個の連続した位置でのいずれかのアミノ酸である ) を含んで成るポリペプチド；及び

( d ) 配列番号 2 の成熟ポリペプチドの 1 又は複数のアミノ酸の保存性置換、欠失、及び/又は挿入を含んで成る変異体から成る群から選択される方法。

【請求項 2】

前記 1 又は複数のセルロース分解酵素が、セルラーゼ、エンドグルカナーゼ、セロビオヒドロラーゼ及び  $\alpha$ -グルコシダーゼから成る群から選択される請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

ヘミセルラーゼ、エステラーゼ、プロテアーゼ、ラッカーゼ、ペルオキシダーゼ又はその混合物から成る群から選択される、有効量の 1 又は複数の酵素により前記セルロース材料を処理することをさらに含んで成る請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記分解されたセルロース材料を回収することをさらに含んで成る請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 5】

前記分解されたセルロース材料が糖である請求項 4 記載の方法。

【請求項 6】

前記セルロース分解タンパク質及び / 又はセルロース分解増強活性を有する前記ポリペプチドが、細胞を有するか又は有さない発酵液の形で存在する請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 7】

前記セルロース分解増強活性を有するポリペプチドが、配列番号 2 又はその成熟ポリペプチド、或いはセルロース分解増強活性を有するそのフラグメントを含んで成るか又はそれらから成る請求項 1 記載の方法。

【請求項 8】

前記セルロース分解増強活性を有するポリペプチドが、E. コリNRRL B-30878に含まれるプラスミド pTr3337に含まれるポリヌクレオチドによりコードされる請求項 1 記載の方法。

【請求項 9】

配列番号 1 の前記成熟ポリペプチドコード配列が、配列番号 1 のヌクレオチド 77 - 766 であり、そして配列番号 2 の前記成熟ポリペプチドが、配列番号 2 のアミノ酸 20 - 249 である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

(A) セルロース分解増強活性を有する、有効量のポリペプチドの存在下で、有効量の 1 又は複数のセルロース分解タンパク質によりセルロース材料を糖化し、前記セルロース分解増強活性を有するポリペプチドの存在が、セルロース分解増強活性を有するポリペプチドの不在に比較して、セルロース材料の分解を高め、そして前記セルロース分解増強活性を有するポリペプチドが、

(i) 配列番号 2 の成熟ポリペプチドと、好ましくは少なくとも 70% の同一性、より好ましくは少なくとも 75% の同一性、さらにより好ましくは少なくとも 80% の同一性、さらにより好ましくは少なくとも 85% の同一性、さらにより好ましくは少なくとも 90% の同一性、最も好ましくは少なくとも 95% の同一性、及びさらに最も好ましくは少なくとも 97% の同一性を有するアミノ酸配列を含んで成るポリペプチド；

(ii) (a) 配列番号 1 の成熟ポリペプチドコード配列、(b) 配列番号 1 の成熟ポリペプチドコード配列を含んで成るゲノム DNA 配列、又は (c) 前記 (a) 若しくは (b) の相補的鎖と、好ましくは少なくとも中位の緊縮条件、より好ましくは少なくとも中位に高い緊縮条件、及び最も好ましくは少なくとも高い緊縮条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド；

(iii) [ILMV]-P-x(4,5)-G-x-Y-[ILMV]-x-R-x-[EQ]-x(3)-A-[HNQ] (ここで x はいずれかのアミノ酸であり、x(4,5) は 4 又は 5 個の連続した位置でのいずれかのアミノ酸であり、そして x(3) は 3 個の連続した位置でのいずれかのアミノ酸である) を含んで成るポリペプチド；及び

(iv) 配列番号 2 の成熟ポリペプチドの 1 又は複数のアミノ酸の保存性置換、欠失、及び / 又は挿入を含んで成る変異体から成る群から選択され；

(B) 段階 (a) の糖化されたセルロース材料を、1 又は複数の発酵微生物と共に発酵

し；そして

(C) 前記発酵から物質を回収することを含んで成る、物質の生成方法。

【請求項 1 1】

前記 1 又は複数のセルロース分解タンパク質が、セルラーゼ、エンドグルカナーゼ、セロビオヒドロラーゼ及び - グルコシダーゼから成る群から選択される請求項10に記載の方法。

【請求項 1 2】

ヘミセルラーゼ、エステラーゼ、プロテアーゼ、ラッカーゼ、ペルオキシダーゼ又はその混合物から成る群から選択された、有効量の 1 又は複数の酵素により前記セルロース材料を処理することをさらに含んで成る請求項10又は11に記載の方法。

【請求項 1 3】

段階 (A) 及び (B) が、同時糖化及び発酵において同時に行われる請求項10～12のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 4】

前記物質が、アルコール、有機酸、ケトン、アミノ酸又は気体である請求項10～13のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 5】

前記セルロース分解タンパク質及び / 又はセルロース分解増強活性を有する前記ポリペプチドが、細胞を有するか又は有さない発酵液の形で存在する請求項10～14のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 6】

前記セルロース分解増強活性を有するポリペプチドが、配列番号 2 若しくはその成熟ポリペプチド、又はセルロース分解増強活性を有するそのフラグメントを含んで成るか又はそれらから成る請求項10記載の方法。

【請求項 1 7】

前記セルロース分解増強活性を有するポリペプチドが、E. コリNRRL B-30878に含まれるプラスミドpTr3337に含まれるポリヌクレオチドによりコードされる請求項10記載の方法。

【請求項 1 8】

配列番号 1 の前記成熟ポリペプチドコード配列が、配列番号 1 のヌクレオチド77 - 766 であり、そして配列番号 2 の前記成熟ポリペプチドが、配列番号 2 のアミノ酸20 - 249 である、請求項10に記載の方法。

【請求項 1 9】

(a) 配列番号 2 の成熟ポリペプチドと、好ましくは少なくとも70%の同一性、より好ましくは少なくとも75%の同一性、さらにより好ましくは少なくとも80%の同一性、さらにより好ましくは少なくとも85%の同一性、さらにより好ましくは少なくとも90%の同一性、最も好ましくは少なくとも95%の同一性、及びさらに最も好ましくは少なくとも97%の同一性を有するアミノ酸配列を含んで成るポリペプチド；

(b) (i) 配列番号 1 の成熟ポリペプチドコード配列、(ii) 配列番号 1 の成熟ポリペプチドコード配列を含んで成るゲノムDNA配列、又は(iii) 前記(i) 若しくは(ii) の相補的鎖と、好ましくは少なくとも中位の緊縮条件、より好ましくは少なくとも中位に高い緊縮条件、及び最も好ましくは少なくとも高い緊縮条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチド；

(c) [ILMV]-P-x(4,5)-G-x-Y-[ILMV]-x-R-x-[EQ]-x(3)-A-[HNQ] (ここでxはいずれかのアミノ酸であり、x(4,5) は4又は5個の連続した位置でのいずれかのアミノ酸であり、そしてx(3) は3個の連続した位置でのいずれかのアミノ酸である)を含んで成るポリペプチド；及び

(d) 配列番号 2 の成熟ポリペプチドの 1 又は複数のアミノ酸の保存性置換、欠失、及び / 又は挿入を含んで成る変異体から成る群から選択された、セルロース分解増強活性を有するポリペプチドを含んで成る洗剤組成物。

**【請求項 20】**

前記セルロース分解増強活性を有するポリペプチドが、配列番号 2 又はその成熟ポリペプチド、或いはセルロース分解増強活性を有するそのフラグメントを含んで成るか又はそれらから成る請求項19記載の洗剤組成物。

**【請求項 21】**

前記セルロース分解増強活性を有するポリペプチドが、E. コリNRRL B-30878に含まれるプラスミドpTr3337に含まれるポリヌクレオチドによりコードされる請求項19記載の洗剤組成物。

**【請求項 22】**

配列番号 1 の前記成熟ポリペプチドコード配列が、配列番号 1 のヌクレオチド77 - 766 であり、そして配列番号 2 の前記成熟ポリペプチドが、配列番号 2 のアミノ酸20 - 249である、請求項19に記載の洗剤組成物。