

【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27年1月15日(2015.1.15)

【公表番号】特表2013-542747(P2013-542747A)

【公表日】平成25年11月28日(2013.11.28)

【年通号数】公開・登録公報2013-064

【出願番号】特願2013-540104(P2013-540104)

【国際特許分類】

C 12 N 1/19 (2006.01)

C 12 P 7/42 (2006.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 12 N 1/19 Z N A

C 12 P 7/42

C 12 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成26年11月20日(2014.11.20)

【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】

活性な3 HP発酵経路を含む遺伝子組み換え酵母細胞であって、

外来性PPC遺伝子；

外来性PYC遺伝子；

外来性AAT遺伝子；

外来性ADC遺伝子；

外来性BAA T又はgabT遺伝子；及び

外来性3 HP DH遺伝子、

から選択される1若しくは複数の外来性3 HP経路遺伝子を含む、細胞。

【請求項2】

前記PYC遺伝子が、配列番号2、3、4、5、6、7、8から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチドをコードする、請求項1に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項3】

前記AAT遺伝子が、配列番号14、15、及び16から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチドをコードする、請求項1又は2に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項4】

前記ADC遺伝子が、配列番号17、18、133、135、137、及び139から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチドをコードする、請求項1~3のいずれか1項に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項5】

前記BAA T遺伝子又はgabT遺伝子が、配列番号20、21、22、23、及び24から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチドをコードする、請求項1~4のいずれか1項に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項 6】

前記 H P D H 遺伝子が、配列番号 2 6、 2 7、 2 8、 2 9、 3 0、 3 1、 3 2、 3 3、 3 4、 及び 1 2 9 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチドをコードする、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項 7】

前記 P P C 遺伝子が、配列番号 1 0、 1 1、 及び 1 2 から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチドをコードする、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項 8】

前記酵母細胞が、クラブトリー陰性である、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項 9】

前記酵母細胞が、イサタケンキア属、カンジダ属、クルイベロマイセス属、ピキア属、シゾサッカロマイセス属、トルラスピラ属、チゴサッカロマイセス属、及びサッカロマイセス属から選択される属に属している、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項 10】

前記酵母細胞が、I . オリエンタリス(*orientalis*) / P . ファーメンタンス(*fermentans*) 分岐群及びサッカロマイセス分岐群から選択される分岐群に属している、請求項 9 に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項 11】

前記酵母細胞が、I . オリエンタリス(*orientalis*)、C . ランビカ(*lambica*)、及び S . ブルデリ(*bulderi*) から選択される、請求項 9 に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項 12】

前記細胞が、P D C、A D H、G A L 6、C Y B 2 A、C Y B 2 B、G P D、G P P、A L D、及び P C K 遺伝子から選択される天然遺伝子の 1 若しくは複数の欠失又は破壊をさらに含む、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項 13】

前記 1 若しくは複数の欠失又は破壊が、1 若しくは複数の外来性 3 H P 経路遺伝子の挿入に起因する、請求項 12 に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項 14】

前記 1 若しくは複数の外来性 3 H P 経路遺伝子が、1 若しくは複数の外来性調節要素に作動可能なように連結されている、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項 15】

前記細胞が、7 5 g / L 以上の 3 H P を含む培地中、4 未満の pH で増殖できる、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項 16】

前記細胞が、3 H P 耐性酵母細胞である、請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項 17】

前記細胞が、突然変異及び / 又は選択細胞が同種の野生型細胞より高い 3 H P 耐性を有するように、突然変異及び / 又は選択を受ける、請求項 1 ~ 16 のいずれか 1 項に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項 18】

前記細胞が、1 若しくは複数の外来性 3 H P 経路遺伝子を用いて遺伝子組み換えされる前に、突然変異及び / 又は選択を受ける、請求項 17 に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項 19】

前記細胞が、乳酸又は3 HPの存在下で選択を受ける、請求項17又は18に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項 20】

前記選択が、ケモスタッフ選択である、請求項19に記載の遺伝子組み換え酵母細胞。

【請求項 21】

以下：

(i) 少なくとも1種類の炭素源を含む培地の存在下、請求項1～20のいずれか1項に記載の遺伝子組み換え酵母細胞を培養し；そして

(i i) 培養物から3 HPを単離すること、
を含む3 HPの生産方法。