

【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3月12日 (2015.3.12)

【公表番号】特表2014-511140(P2014-511140A)

【公表日】平成26年5月12日 (2014.5.12)

【年通号数】公開・登録公報2014-024

【出願番号】特願2013-552645(P2013-552645)

【国際特許分類】

C 1 2 P 7/64 (2006.01)

C 1 2 N 1/13 (2006.01)

A 2 3 D 9/02 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 P 7/64 Z N A

C 1 2 N 1/13

A 2 3 D 9/02

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成27年1月22日 (2015.1.22)

【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】

トリアシルグリセリドを含む天然油、又は前記天然油から生成される生成物を生成する方法であって、

組み換え微生物の細胞であって、

(a) - ケトアシル - A C P シンターゼ I、 - ケトアシル - A C P シンターゼ I I、ステアロイル A C P デサチュラーゼ、脂肪酸デサチュラーゼ、又はアシル - A C P チオエステラーゼをコードする 1 つ以上の遺伝子によりコードされる酵素の発現を低下又は消失させる働きであって、場合により前記細胞は、 - ケトアシル - A C P シンターゼ I、 - ケトアシル - A C P シンターゼ I I、ステアロイル A C P デサチュラーゼ、又は脂肪酸デサチュラーゼ、又はアシル - A C P チオエステラーゼをコードする遺伝子の 2 つの複製物の発現を低下又は消失させる働きをする組み換え核酸を含む、働き；又は

(b) 活性な - ケトアシル - A C P シンターゼ I、 - ケトアシル - A C P シンターゼ I I、ステアロイル A C P デサチュラーゼ、又は脂肪酸デサチュラーゼ、又はアシル - A C P チオエステラーゼをコードする外来遺伝子の産物を発現する働き；又は

(c) - ケトアシル - A C P シンターゼ I 又は - ケトアシル - A C P シンターゼ I I をコードする 1 つ以上の遺伝子によりコードされる酵素の発現を低下又は消失させ、且つ活性なステアロイル A C P デサチュラーゼ、脂肪酸デサチュラーゼ、又はアシル - A C P チオエステラーゼをコードする外来遺伝子の産物を発現する働き；又は

(d) ステアロイル A C P デサチュラーゼ又は脂肪酸デサチュラーゼをコードする 1 つ以上の遺伝子によりコードされる酵素の発現を低下又は消失させ、且つ活性な - ケトアシル - A C P シンターゼ I、 - ケトアシル - A C P シンターゼ I I、又はアシル - A C P チオエステラーゼをコードする外来遺伝子の産物を発現する働き

をする組み換え核酸を含む細胞を育てることと；

前記細胞から前記天然油を回収することを含み、場合により前記天然油を処理して食品、燃料、又は化学製品を作り出すことをさらに含む方法において、

前記天然油が、前記組み換え核酸によって変化した脂肪酸プロファイルを有する、方法。

【請求項 2】

前記微生物が微細藻類である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

- ケトアシル - A C P シンターゼ I、 - ケトアシル - A C P シンターゼ I I、ステアロイル A C P デサチュラーゼ、又は脂肪酸デサチュラーゼをコードする 1 つ以上の遺伝子によりコードされる酵素の発現の前記低下又は消失が、活性な - ケトアシル - A C P シンターゼ I、 - ケトアシル - A C P シンターゼ I I、ステアロイル A C P デサチュラーゼ、又は脂肪酸デサチュラーゼ、又はアシル - A C P チオエステラーゼをコードする 1 つ以上の遺伝子によって前記 1 つ以上の遺伝子が分断又は置換されることに起因する、請求項 1 または請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記組み換え細胞が、オレイン酸 1 2 - ヒドロキシラーゼをコードする外来遺伝子をさらに含み、それによりリシノール酸を合成する、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記組み換え細胞が、K A S I I 遺伝子によりコードされる - ケトアシル - A C P シンターゼ I I の発現を低下又は消失させ、且つアシル - A C P チオエステラーゼをコードする外来遺伝子の産物を発現する働きをする核酸を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記組み換え細胞が、少なくとも 1 つの F A D 遺伝子によりコードされる脂肪酸デサチュラーゼ (d e s t a u r a s e) の発現を低下又は消失させ、且つ活性なステアロイル A C P デサチュラーゼをコードするステアロイル - A C P デサチュラーゼ外来遺伝子の産物を発現する働きをする核酸を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

組み換え細胞であって、

(a) - ケトアシル - A C P シンターゼ I、 - ケトアシル - A C P シンターゼ I I、ステアロイル A C P デサチュラーゼ、脂肪酸デサチュラーゼ、又はアシル - A C P チオエステラーゼをコードする 1 つ以上の遺伝子によりコードされる酵素の発現を低下又は消失させる働きであって、場合により前記細胞は、 - ケトアシル - A C P シンターゼ I、 - ケトアシル - A C P シンターゼ I I、ステアロイル A C P デサチュラーゼ、又は脂肪酸デサチュラーゼ、又はアシル - A C P チオエステラーゼをコードする遺伝子の 2 つの複製物の発現を低下又は消失させる働きをする組み換え核酸を含む働き；又は

(b) 活性な - ケトアシル - A C P シンターゼ I、 - ケトアシル - A C P シンターゼ I I、ステアロイル A C P デサチュラーゼ、又は脂肪酸デサチュラーゼ、又はアシル - A C P チオエステラーゼをコードする外来遺伝子の産物を発現する働き；又は

(c) - ケトアシル - A C P シンターゼ I 又は - ケトアシル - A C P シンターゼ I I をコードする 1 つ以上の遺伝子によりコードされる酵素の発現を低下又は消失させ、且つ活性なステアロイル A C P デサチュラーゼ、脂肪酸デサチュラーゼ、又はアシル - A C P チオエステラーゼをコードする外来遺伝子の産物を発現する働き；又は

(d) ステアロイル A C P デサチュラーゼ又は脂肪酸デサチュラーゼをコードする 1 つ以上の遺伝子によりコードされる酵素の発現を低下又は消失させ、且つ活性な - ケトアシル - A C P シンターゼ I、 - ケトアシル - A C P シンターゼ I I、又はアシル - A C P チオエステラーゼをコードする外来遺伝子の産物を発現する働きをする組み換え核酸を含む、細胞。

【請求項 8】

前記細胞がⅡⅡ型脂肪酸生合成経路によって脂肪酸を合成する、請求項7に記載の細胞。

【請求項9】

前記細胞が微細藻類である、請求項8に記載の細胞。

【請求項10】

前記微細藻類が偏性従属栄養生物である、請求項9に記載の細胞。

【請求項11】

前記微細藻類が、*Prototheca*又は*Chlorella*の種である、請求項9または請求項10に記載の細胞。

【請求項12】

請求項7～11のいずれか一項に記載の細胞から生成される天然油又は油含有生成物。

【請求項13】

リシノール酸を含むトリアシルグリセリドを含む天然油、又は前記天然油から生成される生成物を生成する方法であって、

組み換え微生物の細胞を育てることを含み、前記細胞が、活性なオレイン酸12-ヒドロキシラーゼをコードする外来遺伝子の産物を発現する働きをする組み換え核酸を含み、それにより前記リシノール酸を合成する、方法。

【請求項14】

前記微生物がⅡⅡ型脂肪酸生合成経路を有する、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

請求項13～請求項14に記載の方法に従って作られる生成物。

【請求項16】

活性なオレイン酸12-ヒドロキシラーゼをコードする外来遺伝子の産物を発現する働きをする組み換え核酸を含み、それによりリシノール酸を合成する微生物細胞。

【請求項17】

前記微生物がⅡⅡ型脂肪酸生合成経路を有する、請求項16に記載の細胞。

【請求項18】

前記微生物が微細藻類である、請求項16または請求項17に記載の細胞。

【請求項19】

前記微細藻類が偏性従属栄養生物である、請求項18に記載の細胞。

【請求項20】

前記微細藻類が*Prototheca*の種である、請求項18または請求項19に記載の細胞。