

【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9月24日(2009.9.24)

【公開番号】特開2008-212154(P2008-212154A)

【公開日】平成20年9月18日(2008.9.18)

【年通号数】公開・登録公報2008-037

【出願番号】特願2008-95699(P2008-95699)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(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	5/10	(2006.01)
C 1 2 P	13/08	(2006.01)
C 1 2 R	1/15	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/00	A
C 1 2 P	13/08	A
C 1 2 P	13/08	A
C 1 2 R	1:15	

【手続補正書】

【提出日】平成21年8月7日(2009.8.7)

【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】

(A) 配列番号1の核酸配列、または(B)配列番号1の配列からヌクレオチドの置換、挿入もしくは欠失により誘導され、かつ配列番号1の配列に対して核酸レベルで少なくとも90%の同一性を有する配列、または(C)配列番号1の核酸配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸配列を含み、プロモーター活性を有する核酸により、該プロモーター活性を有する該核酸に対して異種である遺伝子の微生物内での転写を調節することによって、微生物における遺伝子の転写速度を、野生型と比較して改変させるまたは生起させる方法。

【請求項2】

請求項1に記載のプロモーター活性を有する該核酸により、微生物内での遺伝子の転写を調節することが、

b1) 適宜に比プロモーター活性を改変させた、請求項1に記載のプロモーター活性を有する1以上の該核酸を微生物のゲノムに導入して、1以上の内因性遺伝子の転写が、該プロモーター活性を有する導入された核酸の制御下で起こるようにする、または

b2) 1以上の遺伝子を微生物のゲノムに導入して、導入された1以上の遺伝子の転写が、適宜に比プロモーター活性を改変させた請求項1に記載のプロモーター活性を有する内

因性核酸の制御下で起こるようにする、または

b3) 適宜に比プロモーター活性を改変させた請求項1に記載のプロモーター活性を有する核酸および機能的に連結された1以上の転写すべき核酸を含んでなる1以上の核酸構築物を微生物中に導入する、

ことによって達成される、請求項1に記載の方法。

#### 【請求項3】

微生物における遺伝子の転写速度を、野生型と比較して増加させるまたは生起させるために、請求項1に記載のプロモーター活性を有する核酸により、該プロモーター活性を有する核酸に対して異種である遺伝子の微生物内での転写を調節する、請求項1または2に記載の方法。

#### 【請求項4】

請求項1に記載のプロモーター活性を有する核酸により、微生物内での遺伝子の転写を調節することが、

bh1) 適宜に比プロモーター活性を増加させた、請求項1に記載のプロモーター活性を有する1以上の該核酸を微生物のゲノム中に導入して、1以上の内因性遺伝子の転写が、該プロモーター活性を有する導入された核酸の制御下で起こるようにする、または

bh2) 1以上の遺伝子を微生物のゲノム中に導入して、1以上の導入された遺伝子の転写が、適宜に比プロモーター活性を増加させた、請求項1に記載のプロモーター活性を有する内因性核酸の制御下で起こるようにする、または

bh3) 適宜に比プロモーター活性を増加させた、請求項1に記載のプロモーター活性を有する核酸、および機能的に連結された1以上の転写すべき核酸を含んでなる1以上の核酸構築物を微生物に導入する、

ことによって達成される、請求項3に記載の方法。

#### 【請求項5】

前記遺伝子が、タンパク原性および非タンパク原性アミノ酸の生合成経路からのタンパク質をコードする核酸、ヌクレオチドおよびヌクレオシドの生合成経路からのタンパク質をコードする核酸、有機酸の生合成経路からのタンパク質をコードする核酸、脂質および脂肪酸の生合成経路からのタンパク質をコードする核酸、ジオールの生合成経路からのタンパク質をコードする核酸、炭水化物の生合成経路からのタンパク質をコードする核酸、芳香族化合物の生合成経路からのタンパク質をコードする核酸、ビタミンの生合成経路からのタンパク質をコードする核酸、補因子の生合成経路からのタンパク質をコードする核酸からなる群より選択され、その場合、該遺伝子はさらなる調節エレメントを含んでいてもよい、請求項1～4のいずれか1項に記載の方法。

#### 【請求項6】

アミノ酸の生合成経路からのタンパク質が、アスパラギン酸キナーゼ、アスパラギン酸-セミアルデヒドデヒドロゲナーゼ、ジアミノピメリシン酸デヒドロゲナーゼ、ジアミノピメリシン酸デカルボキシラーゼ、ジヒドロジピコリン酸シンテターゼ、ジヒドロジピコリン酸還元酵素、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、3-ホスホグリセリン酸キナーゼ、ピルビン酸カルボキシラーゼ、トリオースリン酸イソメラーゼ、転写レギュレーターLuxR、転写レギュレーターLysR1、転写レギュレーターLysR2、リンゴ酸-キノン酸化還元酵素、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ、6-ホスホグルコン酸デヒドロゲナーゼ、トランスケトラーゼ、トランスアルドラーゼ、ホモセリンO-アセチルトランスフェラーゼ、シスタチオニン-シンターゼ、シスタチオニン-リアーゼ、セリンヒドロキシメルトランスフェラーゼ、O-アセチルホモセリンスルフヒドリラーゼ、メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素、ホスホセリンアミノトランスフェラーゼ、ホスホセリンホスファターゼ、セリンアセチルトランスフェラーゼ、ホモセリンデヒドロゲナーゼ、ホモセリンキナーゼ、トレオニンシンターゼ、トレオニンエクスポーター-キャリアー、トレオニンデヒドラターゼ、ピルビン酸オキシダーゼ、リシンエクスポーター、ビオチンリガーゼ、システインシンターゼI、システインシンターゼII、補酵素B12依存性メチオニンシンターゼ、補

酵素B12非依存性メチオニンシンターゼ、硫酸アデニリルトランスフェラーゼサブユニット1および2、ホスホアデノシン-ホスホ硫酸還元酵素、フェレドキシン-亜硫酸還元酵素、フェレドキシンNADP還元酵素、3-ホスホグリセリン酸デヒドロゲナーゼ、RXA00655レギュレーター、RXN2910レギュレーター、アルギニル-tRNAシンテターゼ、ホスホエノールビルピン酸カルボキシラーゼ、トレオニン流出タンパク質、セリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ、フルクトース-1,6-ビスホスファターゼ、硫酸還元のタンパク質RXA077、硫酸還元のタンパク質RXA248、硫酸還元のタンパク質RXA247、タンパク質OpcA、1-ホスホフルクトキナーゼ、および6-ホスホフルクトキナーゼからなる群より選択される、請求項5に記載の方法。

#### 【請求項7】

遺伝的に改変された微生物であって、遺伝的改変が、少なくとも1つの遺伝子の転写速度を野生型と比較して改変させるかまたは生起させるものであり、かつ遺伝的改変が、(A)配列番号1の核酸配列、または(B)配列番号1の配列からヌクレオチドの置換、挿入もしくは欠失により誘導され、かつ配列番号1の配列に対して核酸レベルで少なくとも90%の同一性を有する配列、または(C)配列番号1の核酸配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸配列を含み、プロモーター活性を有する核酸により、該プロモーター活性を有する核酸に対して異種である遺伝子の微生物内の転写を調節することによるものである、上記遺伝的に改変された微生物。

#### 【請求項8】

請求項7に記載のプロモーター活性を有する核酸により、遺伝子の微生物内の転写を調節することが、

- b1) 適宜に比プロモーター活性を改変させた、請求項7に記載のプロモーター活性を有する1以上の核酸を微生物のゲノム中に導入して、1以上の内因性遺伝子の転写が、該プロモーター活性を有する導入された核酸の制御下で起こるようにする、または
- b2) 1以上の遺伝子を微生物のゲノム中に導入して、1以上の導入された遺伝子の転写が、適宜に比プロモーター活性を改変させた請求項7に記載のプロモーター活性を有する内因性核酸の制御下で起こるようにする、または
- b3) 適宜に比プロモーター活性を改変させた請求項7に記載のプロモーター活性を有する核酸および機能的に連結された1以上の転写すべき核酸を含んでなる1以上の核酸構築物を微生物中に導入する、

ことによって達成される、請求項7に記載の遺伝的に改変された微生物。

#### 【請求項9】

少なくとも1つの遺伝子の転写速度が、野生型と比較して増加しているかまたは生起されており、該プロモーター活性を有する核酸に対して異種である遺伝子の微生物内の転写が、請求項7に記載のプロモーター活性を有する核酸により、または実施形態ah)に記載の比プロモーター活性が増加している核酸により調節されている、請求項7または8に記載の遺伝的に改変された微生物。

#### 【請求項10】

プロモーター活性を有する核酸により、微生物内の遺伝子の転写を調節することが、

- bh1) 適宜に比プロモーター活性を増加させた、請求項7に記載のプロモーター活性を有する1以上の核酸を微生物のゲノム中に導入して、1以上の内因性遺伝子の転写が、該プロモーター活性を有する導入された核酸の制御下で起こるようにする、または
- bh2) 1以上の遺伝子を微生物のゲノム中に導入して、1以上の導入された遺伝子の転写が、適宜に比プロモーター活性を増加させた請求項7に記載のプロモーター活性を有する内因性核酸の制御下で起こるようにする、または
- bh3) 適宜に比プロモーター活性を増加させた請求項7に記載のプロモーター活性を有する核酸および機能的に連結された1以上の転写すべき核酸を含んでなる1以上の核酸構築物を微生物中に導入する、

ことによって達成される、請求項9に記載の遺伝的に改変された微生物。

#### 【請求項11】

前記遺伝子が、タンパク原性および非タンパク原性アミノ酸の生合成経路からのタンパク質をコードする核酸、ヌクレオチドおよびヌクレオシドの生合成経路からのタンパク質をコードする核酸、有機酸の生合成経路からのタンパク質をコードする核酸、脂質および脂肪酸の生合成経路からのタンパク質をコードする核酸、ジオールの生合成経路からのタンパク質をコードする核酸、炭水化物の生合成経路からのタンパク質をコードする核酸、芳香族化合物の生合成経路からのタンパク質をコードする核酸、ビタミンの生合成経路からのタンパク質をコードする核酸、補因子の生合成経路からのタンパク質をコードする核酸および酵素の生合成経路からのタンパク質をコードする核酸からなる群より選択され、その場合、該遺伝子はさらなる調節エレメントを含んでいてもよい、請求項7～10のいずれか1項に記載の遺伝的に変更された微生物。

#### 【請求項12】

アミノ酸の生合成経路からのタンパク質が、アスパラギン酸キナーゼ、アスパラギン酸-セミアルデヒドデヒドロゲナーゼ、ジアミノピメリシン酸デヒドロゲナーゼ、ジアミノピメリシン酸デカルボキシラーゼ、ジヒドロジピコリン酸シンテターゼ、ジヒドロジピコリン酸還元酵素、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、3-ホスホグリセリン酸キナーゼ、ピルビン酸カルボキシラーゼ、トリオースリン酸イソメラーゼ、転写レギュレーターLuxR、転写レギュレーターLysR1、転写レギュレーターLysR2、リンゴ酸-キノン酸化還元酵素、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ、6-ホスホグルコン酸デヒドロゲナーゼ、トランスクエトラーゼ、トランスアルドラーゼ、ホモセリンO-アセチルトランスフェラーゼ、シスタチオニン-シンターゼ、シスタチオニン-リアーゼ、セリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ、O-アセチルホモセリンスルフヒドリラーゼ、メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素、ホスホセリンアミントランスフェラーゼ、ホスホセリンホスファターゼ、セリンアセチルトランスフェラーゼ、ホモセリンデヒドロゲナーゼ、ホモセリンキナーゼ、トレオニンシンターゼ、トレオニンエクスポートーキャリアー、トレオニンデヒドラターゼ、ピルビン酸オキシダーゼ、リシンエクスポートー、ビオチンリガーゼ、システインシンターゼI、システインシンターゼII、補酵素B12依存性メチオニンシンターゼ、補酵素B12非依存性メチオニンシンターゼ、硫酸アデニリルトランスフェラーゼサブユニット1および2、ホスホアデノシン-ホスホ硫酸還元酵素、フェレドキシン-亜硫酸還元酵素、フェレドキシンNADP還元酵素、3-ホスホグリセリン酸デヒドロゲナーゼ、RXA00655レギュレーター、RXN2910レギュレーター、アルギニル-tRNAシンテターゼ、ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ、トレオニン流出タンパク質、セリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ、フルクトース-1,6-ビスホスファターゼ、硫酸還元のタンパク質RXA077、硫酸還元のタンパク質RXA248、硫酸還元のタンパク質RXA247、タンパク質OpcA、1-ホスホフルクトキナーゼおよび6-ホスホフルクトキナーゼからなる群より選択される、請求項11に記載の遺伝的に変更された微生物。