

【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29年3月2日(2017.3.2)

【公開番号】特開2015-156844(P2015-156844A)

【公開日】平成27年9月3日(2015.9.3)

【年通号数】公開・登録公報2015-055

【出願番号】特願2014-34291(P2014-34291)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 P 13/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 1/21

C 1 2 P 13/00

【手続補正書】

【提出日】平成29年1月6日(2017.1.6)

【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】

枯草菌変異株であって、

prophage 6 領域、prophage 1 領域、prophage 4 領域、PBS X 領域、prophage 5 領域、prophage 3 領域、spb 領域、pks 領域、skin 領域、pps 領域、prophage 2 領域、ydcL-ydeK-ydhU 領域、yisB-yitD 領域、yunA-yurT 領域、cgeE-ypmQ 領域、yeK-yesX 領域、pdp-rocR 領域、ycxB-sipU 領域、SKIN-Pro7 領域、sbo-ywhH 領域、yybP-yyaJ 領域及びyncM-fosB 領域が欠失したゲノムを有し、且つ

枯草菌ジピコリン酸シンターゼ遺伝子又はこれに相当する遺伝子の発現と、枯草菌ピルビン酸カルボキシラーゼ遺伝子又はこれに相当する遺伝子の発現とが強化された、枯草菌変異株。

【請求項 2】

前記枯草菌ジピコリン酸シンターゼ遺伝子又はこれに相当する遺伝子が、下記(i)及び(ii)に記載の遺伝子からなる群より選択される少なくとも1つである、請求項1記載の枯草菌変異株：

(i) 下記(a)～(f)からなる群より選択される、少なくとも1つの枯草菌ジピコリン酸シンターゼ・サブユニットA 遺伝子又はこれに相当する遺伝子：

(a) 配列番号3に示すヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド；

(b) 配列番号3に示すヌクレオチド配列と90%以上の同一性を有するヌクレオチド配列からなり、且つ(ii)に記載の遺伝子がコードするタンパク質の存在下でジピコリン酸シンターゼ活性を発揮するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(c) 配列番号3に示すヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドの相補鎖に対してストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、且つ(ii)に記載の遺伝子がコードするタンパク質の存在下でジピコリン酸シンターゼ活性を発揮するタンパク質をコードする

ポリヌクレオチド、ここで該ストリンジェントな条件が、5 × S S C 中、85 以上でハイブリダイゼーションし、且つ 1 × S S C 中、73 以上で洗浄する条件である；

(d) 配列番号 4 に示すアミノ酸配列からなるタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(e) 配列番号 4 に示すアミノ酸配列において 1 又は複数個のアミノ酸が欠失、置換、付加又は挿入されたアミノ酸配列からなり、且つ (ii) に記載の遺伝子がコードするタンパク質の存在下でジピコリン酸シンターゼ活性を発揮するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(f) 配列番号 4 に示すアミノ酸配列と 90 % 以上の同一性を有するアミノ酸配列からなり、且つ (ii) に記載の遺伝子がコードするタンパク質の存在下でジピコリン酸シンターゼ活性を発揮するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(ii) 下記 (j) ~ (o) からなる群より選択される、少なくとも 1 つの枯草菌ジピコリン酸シンターゼ・サブユニット B 遺伝子又はこれに相当する遺伝子；

(j) 配列番号 5 に示すヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド；

(k) 配列番号 5 に示すヌクレオチド配列と 90 % 以上の同一性を有するヌクレオチド配列からなり、且つ (i) に記載の遺伝子がコードするタンパク質の存在下でジピコリン酸シンターゼ活性を発揮するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(l) 配列番号 5 に示すヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドの相補鎖に対してストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、且つ (i) に記載の遺伝子がコードするタンパク質の存在下でジピコリン酸シンターゼ活性を発揮するタンパク質をコードするポリヌクレオチド、ここで該ストリンジェントな条件が、5 × S S C 中、85 以上でハイブリダイゼーションし、且つ 1 × S S C 中、73 以上で洗浄する条件である；

(m) 配列番号 6 に示すアミノ酸配列からなるタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(n) 配列番号 6 に示すアミノ酸配列において 1 又は複数個のアミノ酸が欠失、置換、付加又は挿入されたアミノ酸配列からなり、且つ (i) に記載の遺伝子がコードするタンパク質の存在下でジピコリン酸シンターゼ活性を発揮するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(o) 配列番号 6 に示すアミノ酸配列と 90 % 以上の同一性を有するアミノ酸配列からなり、且つ (i) に記載の遺伝子がコードするタンパク質の存在下でジピコリン酸シンターゼ活性を発揮するタンパク質をコードするポリヌクレオチド。

【請求項 3】

前記枯草菌ピルビン酸カルボキシラーゼ遺伝子又はこれに相当する遺伝子が、下記 (p) ~ (u) からなる群より選択される少なくとも 1 つである、請求項 1 又は 2 記載の枯草菌変異株；

(p) 配列番号 1 に示すヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド；

(q) 配列番号 1 に示すヌクレオチド配列と 90 % 以上の同一性を有するヌクレオチド配列からなり、且つピルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(r) 配列番号 1 に示すヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドの相補鎖に対してストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、且つピルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド、ここで該ストリンジェントな条件が、5 × S S C 中、85 以上でハイブリダイゼーションし、且つ 1 × S S C 中、73 以上で洗浄する条件である；

(s) 配列番号 2 に示すアミノ酸配列からなるタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(t) 配列番号 2 に示すアミノ酸配列において 1 又は複数個のアミノ酸が欠失、置換、付加又は挿入されたアミノ酸配列からなり、且つピルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(u) 配列番号 2 に示すアミノ酸配列と 90 % 以上の同一性を有するアミノ酸配列か

らなり、且つピルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド。

【請求項 4】

前記枯草菌ジピコリン酸シンターゼ遺伝子又はこれに相当する遺伝子が、枯草菌 s p o V F A 遺伝子及び枯草菌 s p o V F B 遺伝子からなる群より選択される少なくとも 1 つである、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項記載の枯草菌変異株。

【請求項 5】

前記枯草菌ピルビン酸カルボキシラーゼ遺伝子又はこれに相当する遺伝子が、枯草菌 p y c A 遺伝子である、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項記載の枯草菌変異株。

【請求項 6】

枯草菌変異株の製造方法であって、

p r o p h a g e 6 領域、p r o p h a g e 1 領域、p r o p h a g e 4 領域、P B S X 領域、p r o p h a g e 5 領域、p r o p h a g e 3 領域、s p b 領域、p k s 領域、s k i n 領域、p p s 領域、p r o p h a g e 2 領域、y d c L - y d e K - y d h U 領域、y i s B - y i t D 領域、y u n A - y u r T 領域、c g e E - y p m Q 領域、y e e K - y e s X 領域、p d p - r o c R 領域、y c x B - s i p U 領域、S K I N - P r o 7 領域、s b o - y w h H 領域、y y b P - y y a J 領域及び y n c M - f o s B 領域が欠失したゲノムを有する枯草菌変異株において、枯草菌ジピコリン酸シンターゼ遺伝子又はこれに相当する遺伝子の発現と、枯草菌ピルビン酸カルボキシラーゼ遺伝子又はこれに相当する遺伝子の発現とを強化することを含む、方法。

【請求項 7】

前記枯草菌ジピコリン酸シンターゼ遺伝子又はこれに相当する遺伝子が、下記 (i) 及び (ii) に記載の遺伝子からなる群より選択される少なくとも 1 つである、請求項 6 記載の方法：

(i) 下記 (a) ～ (f) からなる群より選択される、少なくとも 1 つの枯草菌ジピコリン酸シンターゼ・サブユニット A 遺伝子又はこれに相当する遺伝子：

(a) 配列番号 3 に示すヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド；

(b) 配列番号 3 に示すヌクレオチド配列と 9 0 % 以上の同一性を有するヌクレオチド配列からなり、且つ (ii) に記載の遺伝子がコードするタンパク質の存在下でジピコリン酸シンターゼ活性を発揮するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(c) 配列番号 3 に示すヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドの相補鎖に対してストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、且つ (ii) に記載の遺伝子がコードするタンパク質の存在下でジピコリン酸シンターゼ活性を発揮するタンパク質をコードするポリヌクレオチド、ここで該ストリンジェントな条件が、5 × S S C 中、8 5 以上でハイブリダイゼーションし、且つ 1 × S S C 中、7 3 以上で洗浄する条件である；

(d) 配列番号 4 に示すアミノ酸配列からなるタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(e) 配列番号 4 に示すアミノ酸配列において 1 又は複数個のアミノ酸が欠失、置換、付加又は挿入されたアミノ酸配列からなり、且つ (ii) に記載の遺伝子がコードするタンパク質の存在下でジピコリン酸シンターゼ活性を発揮するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(f) 配列番号 4 に示すアミノ酸配列と 9 0 % 以上の同一性を有するアミノ酸配列からなり、且つ (ii) に記載の遺伝子がコードするタンパク質の存在下でジピコリン酸シンターゼ活性を発揮するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(ii) 下記 (j) ～ (o) からなる群より選択される、少なくとも 1 つの枯草菌ジピコリン酸シンターゼ・サブユニット B 遺伝子又はこれに相当する遺伝子：

(j) 配列番号 5 に示すヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド；

(k) 配列番号 5 に示すヌクレオチド配列と 9 0 % 以上の同一性を有するヌクレオチド配列からなり、且つ (i) に記載の遺伝子がコードするタンパク質の存在下でジピコリン酸シンターゼ活性を発揮するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(l) 配列番号 5 に示すヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドの相補鎖に対してストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、且つ (i) に記載の遺伝子がコードするタンパク質の存在下でジピコリン酸シンターゼ活性を発揮するタンパク質をコードするポリヌクレオチド、ここで該ストリンジェントな条件が、5 × S S C 中、8 5 以上でハイブリダイゼーションし、且つ 1 × S S C 中、7 3 以上で洗浄する条件である；

(m) 配列番号 6 に示すアミノ酸配列からなるタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(n) 配列番号 6 に示すアミノ酸配列において 1 又は複数個のアミノ酸が欠失、置換、付加又は挿入されたアミノ酸配列からなり、且つ (i) に記載の遺伝子がコードするタンパク質の存在下でジピコリン酸シンターゼ活性を発揮するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(o) 配列番号 6 に示すアミノ酸配列と 9 0 % 以上の同一性を有するアミノ酸配列からなり、且つ (i) に記載の遺伝子がコードするタンパク質の存在下でジピコリン酸シンターゼ活性を発揮するタンパク質をコードするポリヌクレオチド。

【請求項 8】

前記枯草菌ピルビン酸カルボキシラーゼ遺伝子又はこれに相当する遺伝子が、下記 (p) ~ (u) からなる群より選択される少なくとも 1 つである、請求項 6 又は 7 記載の方法；

(p) 配列番号 1 に示すヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド；

(q) 配列番号 1 に示すヌクレオチド配列と 9 0 % 以上の同一性を有するヌクレオチド配列からなり、且つピルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(r) 配列番号 1 に示すヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドの相補鎖に対してストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、且つピルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド、ここで該ストリンジェントな条件が、5 × S S C 中、8 5 以上でハイブリダイゼーションし、且つ 1 × S S C 中、7 3 以上で洗浄する条件である；

(s) 配列番号 2 に示すアミノ酸配列からなるタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(t) 配列番号 2 に示すアミノ酸配列において 1 又は複数個のアミノ酸が欠失、置換、付加又は挿入されたアミノ酸配列からなり、且つピルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；

(u) 配列番号 2 に示すアミノ酸配列と 9 0 % 以上の同一性を有するアミノ酸配列からなり、且つピルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド。

【請求項 9】

前記枯草菌ジピコリン酸シンターゼ遺伝子又はこれに相当する遺伝子が、枯草菌 s p o V F A 遺伝子及び枯草菌 s p o V F B 遺伝子からなる群より選択される少なくとも 1 つである、請求項 6 ~ 8 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 10】

前記枯草菌ピルビン酸カルボキシラーゼ遺伝子又はこれに相当する遺伝子が、枯草菌 p y c A 遺伝子である、請求項 6 ~ 9 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 11】

請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項記載の枯草菌変異株を用いるジピコリン酸又はその塩の製造方法。