

【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】令和5年6月30日(2023.6.30)

【公開番号】特開2021-136905(P2021-136905A)
 【公開日】令和3年9月16日(2021.9.16)
 【年通号数】公開・登録公報2021-044
 【出願番号】特願2020-36812(P2020-36812)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/60(2006.01)

10

C 1 2 N 9/88(2006.01)

C 1 2 N 1/21(2006.01)

C 1 2 Q 1/02(2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/60 Z N A

C 1 2 N 9/88

C 1 2 N 1/21

C 1 2 Q 1/02

【手続補正書】

20

【提出日】令和5年6月22日(2023.6.22)

【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】

変異を導入したイソプレレン合成酵素遺伝子ライブラリを、ジメチルアリルアルコールからジメチルアリルニリン酸を合成可能な細胞に導入し、該細胞の細胞増殖速度の増加又は低下を指標とする、変異型ジメチルアリルニリン酸を消費する酵素のスクリーニング方法

30

【請求項2】

前記変異型ジメチルアリルニリン酸を消費する酵素が変異型イソプレレン合成酵素である、請求項1に記載のスクリーニング方法。

【請求項3】

前記細胞の細胞増殖速度の増加が、ジメチルアリルニリン酸を基質とするイソプレレン合成量の増加である、請求項1又は2に記載のスクリーニング方法。

【請求項4】

前記細胞の細胞増殖速度が、ジメチルアリルアルコール存在下における細胞増殖速度である、請求項1～3のいずれか1項に記載のスクリーニング方法。

40

【請求項5】

前記細胞が大腸菌である、請求項1～4のいずれか1項に記載のスクリーニング方法。

【請求項6】

前記細胞が配列番号6に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードする遺伝子により形質転換された細胞である、請求項1～5のいずれか1項に記載のスクリーニング方法。

【請求項7】

配列番号7で示されるアミノ酸配列において、1位～52位にアミノ酸欠失を有し、並びに、H218R及びT587Aのアミノ酸置換を有することを特徴とする、変異型イソプレ

50

ン合成酵素又はその誘導体。

【請求項 8】

配列番号 7 で示されるアミノ酸配列における 1 位～52 位にアミノ酸欠失を有し、並びに、218 位、587 位及び 593 位からなる群より選択される 1、2 又は 3 つの部位にアミノ酸置換を有することを特徴とする、変異型イソプレレン合成酵素又はその誘導体。

【請求項 9】

前記変異型イソプレレン合成酵素は、野生型イソプレレン合成酵素と比較して、イソプレレン合成量が高いことを特徴とする、請求項 7 又は 8 に記載の変異型イソプレレン合成酵素又はその誘導体。

【請求項 10】

前記アミノ酸置換は、以下の群より選択される少なくとも 1 以上からなる請求項 7～9 のいずれか 1 項に記載の変異型イソプレレン合成酵素又はその誘導体、

H218R、T587A 及び F593L。

【請求項 11】

前記アミノ酸置換は、以下の (1) 又は (2) から選択される 1 からなる請求項 7～10 のいずれか 1 項に記載の変異型イソプレレン合成酵素又はその誘導体、

(1) H218R、T587A、及び

(2) F593L。

【請求項 12】

配列番号 7 で示されるアミノ酸配列において、1 位～52 位にアミノ酸欠失を有し、並びに、F593L のアミノ酸置換を有することを特徴とする、変異型イソプレレン合成酵素又はその誘導体。

【請求項 13】

以下の (1)～(7) のいずれか 1 である遺伝子からなる変異型イソプレレン合成酵素遺伝子、

(1) 配列番号 11 又は 12 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードする遺伝子、

(2) 配列番号 11 又は 12 に記載のアミノ酸配列において、1～20 個のアミノ酸が置換、欠損、挿入及び/又は付加しており、かつ配列番号 11 又は 12 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドが有するジメチルアリルニリン酸を基質としてイソプレレンを生成する活性と実質的同等の活性を有するポリペプチドをコードする遺伝子、

(3) 配列番号 11 又は 12 に記載のアミノ酸配列と 90% 以上の同一性を有し、かつ配列番号 11 又は 12 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドが有するジメチルアリルニリン酸を基質としてイソプレレンを生成する活性と実質的同等の活性を有するポリペプチドをコードする遺伝子、

(4) 配列番号 13 又は 14 に記載の塩基配列からなる DNA からなる遺伝子、

(5) 配列番号 13 又は 14 に記載の塩基配列からなる DNA と相補的な塩基配列からなる DNA とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ配列番号 11 又は 12 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドが有するジメチルアリルニリン酸を基質としてイソプレレンを生成する活性と実質的同等の活性を有するポリペプチドをコードする遺伝子

(6) 配列番号 13 又は 14 に記載の塩基配列からなる DNA において、1～50 個の塩基配列が置換、欠損、挿入及び/又は付加している DNA からなる遺伝子、及び、

(7) 配列番号 13 又は 14 に記載の塩基配列からなる DNA と同一性が 90% 以上の DNA からなる遺伝子。

【請求項 14】

以下の (1)～(3) のいずれか 1 であるアミノ酸配列からなる変異型イソプレレン合成酵素、

(1) 配列番号 11 又は 12 に記載のアミノ酸配列、

(2) 配列番号 11 又は 12 に記載のアミノ酸配列において、1～20 個のアミノ酸が置

10

20

30

40

50

換、欠損、挿入及び/又は付加しており、かつ配列番号 1 1 又は 1 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドが有するジメチルアリルニリン酸を基質としてイソプレンを生成する活性を有するアミノ酸配列、及び、

(3) 配列番号 1 1 又は 1 2 に記載のアミノ酸配列と 90 % 以上の同一性を有し、かつ配列番号 1 1 又は 1 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドが有するジメチルアリルニリン酸を基質としてイソプレンを生成する活性を有するアミノ酸配列。

【請求項 1 5】

ジメチルアリルアルコールを、ジメチルアリルアルコールからジメチルアリルニリン酸を合成可能な細胞に導入又は添加する工程を含む、ジメチルアリルニリン酸を含む細胞の作製方法であって、

10

該細胞は変異型イソペンテニルホスフェートキナーゼにより形質転換された細胞であることを特徴とする作製方法。

20

30

40

50