

【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23年11月24日(2011.11.24)

【公表番号】特表2010-539979(P2010-539979A)

【公表日】平成22年12月24日(2010.12.24)

【年通号数】公開・登録公報2010-051

【出願番号】特願2010-528006(P2010-528006)

【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 1/13 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (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 1/13

C 1 2 N 5/00 1 0 3

【手続補正書】

【提出日】平成23年10月5日(2011.10.5)

【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】

葉緑体ゲノムを組み立てる方法であって、

それぞれ20kb以上の葉緑体DNAを含み、かつ全体で光合成の実施に必要とされる全ての葉緑体遺伝子を含む、複数のベクターを取得する工程；

ここで前記複数のベクター中の各ベクターが、前記複数のベクターの1つ又は2つの他のベクターと相同組換えを行うための2つの領域を含み、

ここで前記複数のベクターの1つ以上のベクターが、1つの酵母DNA複製要素を含み、ここで前記複数のベクターの1つ以上のベクターが、1つの細菌DNA複製要素を含み、ここで当該酵母DNA複製要素を含むベクター及び細菌DNA複製要素を含むベクターが同一又は非同一であって、且つ

ここで前記複数のベクターの1つ以上のベクターが、1つ以上の酵母選択マーカーを含む1つの酵母安定要素を含み、そして当該安定要素を含む1つ以上のベクターが、酵母DNA複製要素を含むものでない；

前記複数のベクターを酵母に導入して、相同組換えで前記複数のベクターを組み立てることにより、組み立てられた葉緑体ゲノムを作製する工程；並びに

前記1つ以上の安定要素の存在を選別することにより、前記葉緑体ゲノムの完全な組み立てを選別する工程；

を含む、前記方法。

【請求項2】

前記複数のベクターが、2つのベクターを含み、当該各ベクターが、他方のベクターと組換えを行うための2つの領域を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

前記酵母DNA複製要素が、酵母動原体、酵母自己複製配列、又はそれらの両方である、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記細菌DNA複製要素が、P1複製配列又はF因子複製配列である、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 5】

前記組み立てられた葉緑体ゲノムが、単一の酵母要素を含む、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

前記酵母DNA複製要素及び前記細菌DNA複製要素が、同一のベクター中に含まれる、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

前記組み立てられた葉緑体ゲノムが、140 kb以上のDNAを含む、請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記ベクターの 1 つ以上が、化学的に合成されたDNAを含む、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

前記ベクターの 1 つ以上が、光合成生物由来のゲノム葉緑体DNAを含む、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

前記光合成生物が藻類である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記光合成生物由来のゲノムDNAが 1 つ以上の修飾を含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

前記酵母安定要素が、1 対の酵母選択マーカーを含む、請求項 1 ～ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

前記 1 対の選択マーカーが、URA3遺伝子及び追加の酵母選択マーカーである、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記追加のマーカーがADE遺伝子、LEU遺伝子、HIS遺伝子、LYS遺伝子又はG418遺伝子である、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

酵母安定要素を含む各ベクターにおいて、当該酵母安定要素が、異なる対の酵母選択マーカーを含む、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記組み立てられた葉緑体ゲノムを宿主生物に導入する工程を更に含む、請求項 1 ～ 15 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 17】

前記 1 つ以上の酵母安定要素を除去する工程を更に含む、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

組み立てられた葉緑体ゲノムであって、
それぞれ20kb以上の葉緑体DNAを含み、かつ全体で光合成に必要とされる全ての葉緑体遺伝子を含む、複数のベクター；
ここで当該複数のベクター中の各ベクターが、当該複数のベクターの1つ又は2つの他のベクターと相同組換えを行うための2つの領域を含むことにより、当該ベクターを環状構築物に組み立てることが可能で、
ここで前記複数のベクターの1つ以上のベクターが、1つの酵母DNA複製要素を含み、こ

ここで前記複数のベクターの1つ以上のベクターが、1つの細菌DNA複製要素を含み、ここで当該酵母DNA複製要素を含むベクター及び細菌DNA複製要素を含むベクターが同一又は非同
一であって、且つ

ここで前記複数のベクターの1つ以上のベクターが、1つ以上の酵母選択マーカを含む
1つの酵母安定要素を含み、そして当該安定要素を含む1つ以上のベクターが、酵母DNA複
製要素を含むものでない；
を含む、前記ゲノム。