

【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22年9月2日 (2010.9.2)

【公表番号】特表2010-508019(P2010-508019A)

【公表日】平成22年3月18日 (2010.3.18)

【年通号数】公開・登録公報2010-011

【出願番号】特願2009-534568(P2009-534568)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 1/02 (2006.01)

C 1 2 P 7/64 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 1/13 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (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 1/02

C 1 2 P 7/64

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 1/13

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 5/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成22年7月12日 (2010.7.12)

【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 2 および配列番号 3 からなる群から選択された、17 デサチュラーゼ酵素をコードする単離されたヌクレオチド分子、

b. ) 0.1 × SSC、0.1 % SDS で 65 、および 2 × SSC、0.1 % SDS で洗浄後、0.1 × SSC、0.1 % SDS というハイブリダイゼーション条件下で (a) とハイブリダイズする単離されたヌクレオチド分子、または

(a) または (b) と完全に相補的な単離されたヌクレオチド分子からなる群から選択された単離された核酸分子。

【請求項 2】

配列番号 1 および配列番号 4 からなる群から選択された、17 デサチュラーゼ酵素をコードする単離された核酸分子。

【請求項 3】

請求項 1 に記載の単離された核酸分子によってコードされた、17 デサチュラーゼ酵素をコードするポリペプチド。

【請求項 4】

配列番号 2 および配列番号 3 からなる群から選択された、17 デサチュラーゼ酵素をコードするポリペプチド。

【請求項 5】

C l u s t a l W アルゴリズムに基づいて配列番号 2 に示される配列を有するポリペプチドと比較すると、少なくとも 75 . 3 % の同一性を有する少なくとも 359 個のアミノ酸の 17 デサチュラーゼ酵素をコードする第 1 のヌクレオチド配列、または第 1 のヌクレオチド配列の相補体を含んでなる第 2 のヌクレオチド配列を含んでなる単離された核酸分子。

【請求項 6】

適切な制御配列と作動可能に連結する、請求項 1 に記載の単離された核酸分子を含んでなるキメラ遺伝子。

【請求項 7】

請求項 1 に記載の単離された核酸分子を含んでなる形質転換宿主細胞。

【請求項 8】

a) i) クラスタルダブル (C l u s t a l W) を用いたアライメント法に基づいて配列番号 2 に示されるアミノ酸配列を有するポリペプチドと比較すると、少なくとも 75 . 3 % の同一性を有する二機能性 17 / 15 デサチュラーゼポリペプチドをコードする単離されたヌクレオチド分子、および

ii) リノール酸、エイコサジエン酸、ジホモ - リノレン酸、およびアラキドン酸よりなる群から選択された少なくとも 1 つの基質脂肪酸源を含んでなる宿主細胞を提供する工程と、

b) 二官能性 17 / 15 デサチュラーゼポリペプチドをコードする核酸分子が発現して、少なくとも 1 つの基質脂肪酸が少なくとも 1 つの生成物脂肪酸に転換され、反応が、

リノール酸の - リノレン酸への転換、

エイコサジエン酸のエイコサトリエン酸への転換、

ジホモ - リノレン酸のエイコサテトラエン酸への転換、および

アラキドン酸のエイコサペンタエン酸への転換

よりなる群から選択される条件下で、工程 (a) の宿主細胞を成長させる工程と、

c) 場合により工程 (b) の生成物脂肪酸の少なくとも 1 つを回収する工程とを含んでなる、多価不飽和脂肪酸を製造する方法。

【請求項 9】

a) F T X G H D X G H (配列番号 96)、

b) H R H H H K N T G (配列番号 97)、および

c) I G T H Q X H H L F P (配列番号 98)

からなる群から選択された少なくとも 1 つのアミノ酸配列モチーフを含んでなる 17 デサチュラーゼポリペプチドをコードする核酸配列を含んでなり、

X があらゆるアミノ酸となることができ、

17 デサチュラーゼポリペプチドが配列番号 43 および 95 に示されるアミノ酸配列を有さない、単離された核酸断片。

【請求項 10】

配列番号 96 ~ 98 からなる群から選択された少なくとも 1 つのアミノ酸モチーフを含んでなる、17 デサチュラーゼポリペプチド。

【請求項 11】

配列番号 96 ~ 98 からなる群から選択されたアミノ酸モチーフをコードする 17 デサチュラーゼポリペプチドを同定するのに有用な単離された核酸分子コード。

【請求項 12】

a) i) 配列番号 96 ~ 98 からなる群から選択されたアミノ酸配列をコードする単離された核酸断片、または

ii) (i) に相補的な単離された核酸断片

でゲノムライブラリをプローブする工程と、

b) 工程 (a) の核酸断片とハイブリダイズする DNA クローンを同定する工程と、

c) 工程 (b) で同定されたクローンを含んでなるゲノム断片を配列決定する工程とを含んでなり、配列決定されたゲノム断片が 17 デサチュラーゼポリペプチドをコードする、17 デサチュラーゼポリペプチドを同定および単離する方法。

【請求項 13】

a) 配列番号 96 ~ 98 からなる群から選択されたアミノ酸モチーフをコードする単離された核酸配列の一部に対応する、少なくとも 1 つのオリゴヌクレオチドプライマーを合成する工程と、

b) 工程 (a) のオリゴヌクレオチドプライマーを使用してクローニングベクター中に存在する挿入断片を増幅する工程と

を含んでなり、増幅された挿入断片が 17 デサチュラーゼ酵素をコードするアミノ酸配列の一部をコードする、17 デサチュラーゼポリペプチドを同定および単離する方法。