

【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27年6月18日 (2015.6.18)

【公表番号】特表2014-513529(P2014-513529A)
 【公表日】平成26年6月5日 (2014.6.5)
 【年通号数】公開・登録公報2014-029
 【出願番号】特願2014-506563(P2014-506563)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/00 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 0 7 K 14/37 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A

C 1 2 N 1/15

C 0 7 K 14/37

【手続補正書】

【提出日】平成27年4月20日 (2015.4.20)

【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】

親菌株に由来する糸状菌の変異菌株であって、

前記変異菌株が、前記変異菌株の細胞に、前記親菌株の細胞と比較して、変更された量の機能性 M p g 1 タンパク質を生成させる、遺伝子変化を含み、

前記変異菌株が、s f b 3 遺伝子、s e b 1 遺伝子、g a s 1 遺伝子、c r z 1 遺伝子、及び t p s 2 遺伝子からなる群から選択される少なくとも 1 つの遺伝子の破壊を更に含み、並びに、

前記変異菌株の細胞が、深部培養における好気性発酵の間に（i）前記親菌株の細胞と比較して、予め選択された溶存酸素量を維持するために、変更された攪拌量を必要とする、及び／又は、（i i）前記親菌株の細胞と比較して、予め選択された攪拌量で、変更された溶存酸素量を維持する、細胞ブロスを生成する、変異菌株。

【請求項 2】

機能性 M p g 1 タンパク質の前記変更された量が、減少された量であり、

前記変異菌株が、深部培養における好気性発酵の間に、（i）前記親菌株の細胞と比較して、予め選択された溶存酸素量を維持するために、減少した攪拌を必要とする、及び／又は、（i i）前記親菌株の細胞と比較して、予め選択された攪拌量で、増加した溶存酸素量を維持する、細胞ブロスを生成する、請求項 1 に記載の変異菌株。

【請求項 3】

（a）前記遺伝子変化が、前記親菌株中に存在する m p g 1 遺伝子の破壊を含む、

（b）前記 m p g 1 遺伝子の破壊が、前記 m p g 1 遺伝子の全て又は一部の欠失の結果である、

（c）前記 m p g 1 遺伝子の破壊が、前記 m p g 1 遺伝子を含むゲノム D N A の一部の欠失の結果である、又は

(d) 前記m p g 1 遺伝子の破壊が、前記m p g 1 遺伝子の突然変異誘発の結果である、
請求項 1 又は 2 に記載の変異菌株。

【請求項 4】

前記m p g 1 遺伝子の破壊が、部位特異的組み換えを用いて行われる、又は
前記m p g 1 遺伝子の破壊が、前記m p g 1 遺伝子の遺伝子座に選択マーカーを導入する
ことと共に行われる、
請求項 3 に記載の変異菌株。

【請求項 5】

前記変異菌株が、機能性M p g 1 タンパク質を生成しない、請求項 1 ～4 のいずれか一項に記載の変異菌株。

【請求項 6】

前記変異菌株が、M p g 1 タンパク質を生成しない、請求項 1 ～5 のいずれか一項に記載の変異菌株。

【請求項 7】

前記変異菌株が、対象タンパク質をコード化する遺伝子を更に含む、請求項 1 ～6 のいずれか一項に記載の変異菌株。

【請求項 8】

s f b 3 遺伝子の破壊を更に含む、請求項 1 ～7 のいずれか一項に記載の変異菌株。

【請求項 9】

前記変異菌株が、バイオマス単位量当たり、前記親菌株と実質的に同量以上のタンパク質を生成する、請求項 1 ～8 のいずれか一項に記載の変異菌株。

【請求項 10】

前記糸状菌が、チャワントケ亜門 (Pezizomycotina) の種である、又は
前記糸状菌が、トリコデルマ属 (Trichoderma) の種である、
請求項 1 ～9 のいずれか一項に記載の変異菌株。

【請求項 11】

前記糸状菌が、トリコデルマ・リーゼイ (Trichoderma reesei) である、請求項 10 に記載の変異菌株。

【請求項 12】

糸状菌細胞の変異菌株の作製方法であって、
遺伝子変化を糸状菌細胞の親菌株に導入する工程であり、前記遺伝子変化が、前記親菌株の細胞と比較して機能性M p g 1 タンパク質の生成量を変更させる、該工程、
それにより、深部培養における好気性発酵の間に (i) 前記親菌株の細胞と比較して、予め選択された溶存酸素量を維持するために、変更された攪拌量を必要とする、及び／又は、
(i i) 前記親菌株の細胞と比較して、予め選択された攪拌量で、変更された溶存酸素量を維持する、細胞ブロスを生成する、変異糸状菌細胞を製造する工程、
を含み、並びに
前記m p g 1 遺伝子の破壊が、s f b 3 遺伝子、s e b 1 遺伝子、g a s 1 遺伝子、c r z 1 遺伝子、及びt p s 2 遺伝子からなる群から選択される少なくとも1つの遺伝子の破壊と共に行われる、
方法。

【請求項 13】

前記遺伝子変化が、機能性M p g 1 タンパク質の生成を低下させるか又は防ぎ、それにより、深部培養における好気性発酵の間に (i) 前記親菌株の細胞と比較して、予め選択された溶存酸素量を維持するために、減少した攪拌を必要とする、及び／又は、(i i) 前記親菌株の細胞と比較して、予め選択された攪拌量で、増加した溶存酸素量を維持する、細胞ブロスを生成する、変異糸状菌細胞を製造する、
請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

(a) 前記遺伝子変化が、遺伝子操作を使用して親糸状菌細胞のm p g 1 遺伝子を破壊することを含む、

(b) 前記遺伝子変化が、遺伝子操作を用いて親糸状菌細胞においてm p g 1 遺伝子を欠失させることを含む、又は

(c) 前記遺伝子変化が、部位特異的遺伝子組み換えを用いて行われる、
請求項 1 2 又は 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 5】

(a) 前記m p g 1 遺伝子の破壊が、前記m p g 1 遺伝子の遺伝子座に選択マーカーの導入と共に行われる、又は

(b) 前記m p g 1 遺伝子の破壊が、s f b 3 遺伝子の破壊と共に行われる、
請求項 1 2 ～ 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記変異菌株が、バイオマス単位量当たり、前記親菌株と実質的に同量、又はそれ以上のタンパク質を生成する、請求項 1 2 ～ 1 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記糸状菌が、チャワントケ亜門の種である、又は
前記糸状菌が、トリコデルマ属の種である、
請求項 1 2 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記糸状菌が、トリコデルマ・リーゼイである、請求項 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記親菌株が、対象タンパク質をコード化する遺伝子を更に含む、請求項 1 2 ～ 1 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記対象タンパク質をコード化する遺伝子が、機能性M p g 1 タンパク質の生成を低下させるか又は抑制する遺伝子変化を導入する前に前記親菌株内に存在する、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 1】

親菌株に由来する糸状菌の変異菌株であって、
前記変異菌株が、

(a) 前記親菌株中に存在するm p g 1 遺伝子の破壊を含む遺伝子変化であって、(i)
深部培養において、前記親菌株の細胞と比較して、予め選択された溶存酸素量を維持するために、減少した攪拌の必要性、及び／又は、(i i) 深部培養において、前記親菌株の細胞と比較して、予め選択された攪拌量で、増加した溶存酸素量の維持、をもたらす遺伝子変化、並びに

(b) (a) における遺伝子変化の前に前記変異菌株中に存在する対象タンパク質をコード化する遺伝子、
を含み、かつ

前記m p g 1 遺伝子の破壊が、s f b 3 遺伝子、s e b 1 遺伝子、g a s 1 遺伝子、c r z 1 遺伝子、及びt p s 2 遺伝子からなる群から選択される少なくとも1つの遺伝子の破壊と共に行われる、
変異菌株。

【請求項 2 2】

(a) 前記m p g 1 遺伝子の破壊が、前記m p g 1 遺伝子の遺伝子座に選択マーカーの導入と共に行われる、及び／又は

(b) 前記m p g 1 遺伝子の破壊が、s e b 1 遺伝子の破壊と共に行われる、
請求項 2 1 に記載の変異菌株。