

【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17年11月17日(2005.11.17)

【公表番号】特表2004-527265(P2004-527265A)

【公表日】平成16年9月9日(2004.9.9)

【年通号数】公開・登録公報2004-035

【出願番号】特願2003-502205(P2003-502205)

【国際特許分類第7版】

C 1 2 N 15/09

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/20

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 9/00

C 1 2 P 23/00

【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 1/20 A

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 9/00

C 1 2 P 23/00

C 1 2 N 5/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成16年4月9日(2004.4.9)

【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】

下記からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む単離ポリペプチド：

(a) 配列番号：43の残基1～340位として示されるアミノ酸配列；

(b) 配列番号：45の残基1～349位として示されるアミノ酸配列；

(c) 配列番号：47の残基1～388位として示されるアミノ酸配列；

(d) 配列番号：49の残基1～378位として示されるアミノ酸配列；

(e) 配列番号：51の残基1～305位として示されるアミノ酸配列；

(f) 配列番号：53の残基1～332位として示されるアミノ酸配列；

(g) 配列番号：43、45、47、49、51、および53からなる群より選択されるアミノ酸配列の断片であって、少なくとも30の隣接アミノ酸残基を有する断片；

(h) 配列番号：43、45、47、49、51、および53からなる群より選択されるポリペプチドの断片のアミノ酸配列であって、ヒドロキシメチルグルタリル-CoAレダクターゼ(HMG-CoAレダクターゼ)、イソペンテニルニリン酸イソメラーゼ、ヒドロキシメチルグルタリル-CoAシンターゼ(HMG-CoAシンターゼ)、メバロン酸キナーゼ、ホスホメバロン酸キナーゼ、またはジホスホメバロン酸デカルボキシラーゼの活性を有する断片；

(i) 配列番号：42または配列番号：42の相補体の少なくとも30の連続ヌクレオチドを含むハイブリダイゼーションプローブに、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドのアミノ酸配列であって、ポリペプチドが、HMG-CoAレダクターゼ、イソペンテニルニリン酸イソメラーゼ、HMG-CoAシターゼ、メバロン酸キナーゼ、ホスホメバロン酸キナーゼ、またはジホスホメバロン酸デカルボキシラーゼの活性を有するアミノ酸配列；ならびに

(j) 配列番号：43、45、47、49、51または53の保存的に改変された変種。

【請求項2】

配列番号：42、パラコッカス属菌種1534株コドン使用表に従って一つまたは複数の置換を含む配列番号：42の変種、配列番号：42の断片（これらはヒドロキシメチルグルタリル-CoAレダクターゼ（HMG-CoAレダクターゼ）、イソペンテニルニリン酸イソメラーゼ、ヒドロキシメチルグルタリル-CoAシターゼ（HMG-CoAシターゼ）、メバロン酸キナーゼ、ホスホメバロン酸キナーゼ、およびジホスホメバロン酸デカルボキシラーゼからなる群より選択される活性を有するポリペプチドをコードする）、ならびにヌクレオチド配列が配列番号：42、または配列番号：42の相補体の少なくとも30の隣接ヌクレオチドからなるハイブリダイゼーションプローブに、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチド配列であって、HMG-CoAレダクターゼ、イソペンテニルニリン酸イソメラーゼ、HMG-CoAシターゼ、メバロン酸キナーゼ、ホスホメバロン酸キナーゼ、およびジホスホメバロン酸デカルボキシラーゼからなる群より選択される活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドからなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む単離ポリヌクレオチド配列。

【請求項3】

請求項2記載のポリヌクレオチド配列を含む発現ベクター。

【請求項4】

pBBR-K-mev-op16-1、pBBR-K-mev-op16-2、pDS-mvaA、pDS-idi、pDS-hcs、pDS-mvk、pDS-pmk、pDS-mvd、pDS-His-mvaA、pDS-His-idi、pDS-His-hcs、pDS-His-mvk、pDS-His-pmk、pDS-His-mvd、pBBR-K-Zea4、pBBR-K-Zea4-上流、pBBR-K-Zea4-下流、pBBR-K-PcrtE-crtE-3、pBBR-tK-PcrtE-mvaA、pBBR-tK-PcrtE-idi、pBBR-tK-PcrtE-hcs、pBBR-tK-PcrtE-mvk、pBBR-tK-PcrtE-pmk、pBBR-tK-PcrtE-mvd、pBBR-K-PcrtE-mvaA-crtE-3、pDS-His-phaA、pBBR-K-PcrtE-crtW、pBBR-K-PcrtE-crtWZ、pBBR-K-PcrtE-crtZW、およびその組み合わせからなる群より選択される発現ベクター。

【請求項5】

請求項2に記載のポリヌクレオチド配列、または請求項3もしくは4記載の発現ベクターを含む培養細胞、または該細胞の子孫であって、ポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドを発現する細胞。

【請求項6】

カロテノイドの産生法であって、請求項5記載の細胞を、ポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドの発現を可能にする条件下で培養する段階、およびカロテノイドを細胞または細胞の培地から単離する段階を含む方法。

【請求項7】

カロテノイド産生細胞の作製法であって、

(a) 細胞内で発現される請求項1記載のメバロン酸経路の酵素をコードするポリヌクレオチド配列を細胞に導入する段階；および

(b) ポリヌクレオチド配列を導入する前の細胞によって産生されるカロテノイドのレベルの約1.1～1,000倍のレベルでカロテノイドを産生する、段階(a)のポリヌクレオチド配列を含む細胞を選択する段階を含む方法。

【請求項8】

イソプレノイド化合物を産生するための細菌の操作法であって、

(a) イソプレノイド化合物の発現を可能にする条件下、培地中で親細菌を培養し、本細菌の約1.1～1,000倍のイソプレノイド化合物を産生する突然変異菌を培地から選択する

段階；

(b) 発現制御配列に機能的に連結された配列番号：42で表されるポリヌクレオチド配列を含む発現ベクターを突然変異菌に導入する段階；および

(c) 発現ベクターを含み、段階(a)の突然変異体の少なくとも約1.1倍のイソプレノイド化合物を産生する細菌を選択する段階を含む方法。

【請求項9】

ATCCにおいて、寄託名称PTA-3335有するパラコッカス属の微生物。