

【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2年11月19日(2020.11.19)

【公表番号】特表2019-530478(P2019-530478A)

【公表日】令和1年10月24日(2019.10.24)

【年通号数】公開・登録公報2019-043

【出願番号】特願2019-540704(P2019-540704)

【国際特許分類】

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 P 7/00 (2006.01)

C 1 2 P 7/42 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 P 41/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/54 (2006.01)

C 1 2 N 15/60 (2006.01)

C 1 2 N 15/61 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 1/21 Z N A

C 1 2 N 1/19

C 1 2 P 7/00

C 1 2 P 7/42

C 1 2 N 15/09 Z

C 1 2 P 41/00

C 1 2 N 15/54

C 1 2 N 15/60

C 1 2 N 15/61

【手続補正書】

【提出日】令和2年10月5日(2020.10.5)

【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】

シトロネラル及び/またはシトロネロールを生産可能な組換え宿主細胞であって、
 (a) ゲラニルニリン酸シンターゼ(GPPS)ポリペプチドをコードする遺伝子またはネリルニリン酸シンターゼ(NPPS)ポリペプチドをコードする遺伝子と、

(b) ゲラニオールシンターゼ(GES)ポリペプチドをコードする遺伝子またはネリルシンターゼ(NES)ポリペプチドをコードする遺伝子と、を含み、

前記組換え宿主細胞が、イリドイドシンターゼ(ISY)ポリペプチドをコードする遺伝子またはエノエートレダクターゼ(ENR)ポリペプチドをコードする遺伝子をさらに含み、前記遺伝子のうちの少なくとも1つが組換え遺伝子である、前記組換え宿主細胞。

【請求項2】

シトロネラル、シトロネロール、またはシトロネル酸を生産可能な組換え宿主細胞であって、

(a) ゲラニルニリン酸シターゼ (GPPS) ポリペプチドをコードする遺伝子またはネリルニリン酸シターゼ (NPPS) ポリペプチドをコードする遺伝子と、

(b) ゲラニオールシターゼ (GES) ポリペプチドをコードする遺伝子またはネリルシターゼ (NES) ポリペプチドをコードする遺伝子と、を含み、

前記組換え宿主細胞が、イリドイドシターゼ (ISY) ポリペプチドをコードする遺伝子及びシトロネラル/シトロネロールデヒドロゲナーゼ (CiDH) ポリペプチドをコードする遺伝子をさらに含み、前記遺伝子のうちの少なくとも1つが組換え遺伝子である、前記組換え宿主細胞。

【請求項3】

(a) 前記GPPSポリペプチドが、配列番号17、59~62、87、または88のうちのいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも50%の配列同一性を有するポリペプチドを含み、

(b) 前記NPPSポリペプチドが、配列番号53、74、または75のうちのいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも45%の配列同一性を有するポリペプチドを含み、

(c) 前記GESポリペプチドが、配列番号18または63~66のうちのいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも40%の配列同一性を有するポリペプチドを含み、

(d) 前記NESポリペプチドが、配列番号56~58のうちのいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも45%の配列同一性を有するポリペプチドを含み、

(e) 前記ISYポリペプチドが、配列番号54または55のうちのいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも50%の配列同一性を有するポリペプチドを含み、

(f) 前記ENRポリペプチドが、配列番号7~9、21、22、33、34、37、44~48、54、55、または67のうちのいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも50%の配列同一性を有するポリペプチドを含み、

(g) 前記CiDHポリペプチドが、配列番号49~52のうちのいずれか1つに記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するポリペプチドを含む、請求項1または請求項2に記載の組換え宿主細胞。

【請求項4】

前記シトロネラルが、d-シトロネラル、l-シトロネラル、またはそれらの組み合わせである、請求項1~3のいずれか一項に記載の組換え宿主細胞。

【請求項5】

前記シトロネロールが、d-シトロネロール、l-シトロネロール、またはそれらの組み合わせである、請求項1~3のいずれか一項に記載の組換え宿主細胞。

【請求項6】

前記組換え宿主細胞が、植物細胞、哺乳類細胞、昆虫細胞、真菌細胞、藻類細胞、または細菌細胞を含む、請求項1~5のいずれか一項に記載の組換え宿主細胞。

【請求項7】

前記組換え宿主細胞が細菌細胞である、請求項6に記載の組換え宿主細胞。

【請求項8】

前記細菌細胞が、Escherichia細胞、Lactobacillus細胞、Lactococcus細胞、Corynebacterium細胞、Acetobacter細胞、Acinetobacter細胞、またはPseudomonas細胞である、請求項7に記載の組換え宿主細胞。

【請求項9】

前記組換え宿主細胞が、ADH6、RFX1、GRE2、ARI1、GCY1、及びAYR1のうちの1つ以上の欠失をさらに含む酵母細胞である、請求項6に記載の組換え宿主細胞。

【請求項 10】

前記酵母が、

(a) ADH6、RFX1、GRE2、ARI1、GCY1、及びAYR1の欠失、または

(b) ADH6、RFX1、GRE2、及びARI1の欠失を含む、請求項9に記載の組換え宿主細胞。

【請求項 11】

前記組換え宿主細胞が、異種NADHオキシダーゼポリペプチドをコードする遺伝子をさらに含む酵母細胞である、請求項6、9および10のいずれか一項に記載の組換え宿主細胞。

【請求項 12】

前記異種NADHオキシダーゼポリペプチドが、配列番号69に記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%の配列同一性を有するポリペプチドを含む、請求項11に記載の組換え宿主細胞。

【請求項 13】

前記異種NADHオキシダーゼポリペプチドが、配列番号69に記載されるアミノ酸配列を有する、請求項12に記載の組換え宿主細胞。

【請求項 14】

前記組換え宿主細胞が、カルボン酸レダクターゼ(CAR)ポリペプチドをコードする遺伝子をさらに含む酵母細胞である、請求項6および9~13のいずれか一項に記載の組換え宿主細胞。

【請求項 15】

前記CARポリペプチドが、配列番号70に記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも75%の配列同一性を有するポリペプチドを含む、請求項14に記載の組換え宿主細胞。

【請求項 16】

前記CARポリペプチドが、配列番号70に記載されるアミノ酸配列を有する、請求項15に記載の組換え宿主細胞。

【請求項 17】

前記組換え酵母細胞が、ホスホパネイン(phosphopanine)トランスフェラーゼ(PPTase)ポリペプチドをコードする遺伝子をさらに含む、請求項11~16のいずれか一項に記載の組換え宿主細胞。

【請求項 18】

前記PPTaseポリペプチドが、配列番号71に記載されるアミノ酸配列に対して少なくとも75%の配列同一性を有するポリペプチドを含む、請求項17に記載の組換え宿主細胞。

【請求項 19】

前記PPTaseポリペプチドが、配列番号71に記載されるアミノ酸配列を有する、請求項18に記載の組換え宿主細胞。

【請求項 20】

前記酵母細胞がSaccharomyces cerevisiae細胞である、請求項6および9~19のいずれか一項に記載の組換え宿主細胞。

【請求項 21】

前記Saccharomyces cerevisiae細胞が、野生型よりも低いファルネシルピロリン酸シンターゼ活性をもたらすように転写的に下方調節または変異されているファルネシルピロリン酸シンターゼ(ERG20)遺伝子を含有する、請求項1~20のいずれか一項に記載の組換え宿主細胞。

【請求項 22】

シトロネラル、シトロネロール、またはシトロネル酸の生産方法であって、請求項1~21のいずれか一項に記載の組換え宿主細胞を細胞培養液中、前記遺伝子が発現される

条件下で増殖させることを含み、前記シトロネラル、シトロネロール、またはシトロネル酸が前記組換え宿主細胞によって生産される、前記方法。

【請求項 23】

前記組換え宿主細胞が、前記 G P P S ポリペプチドをコードする遺伝子もしくは前記 N P P S ポリペプチドをコードする遺伝子、前記 G E S ポリペプチドをコードする遺伝子もしくは前記 N E S ポリペプチドをコードする遺伝子、前記 G e D H ポリペプチドをコードする遺伝子もしくは前記 N e D H ポリペプチドをコードする遺伝子、前記 I S Y ポリペプチドをコードする遺伝子、前記 C i D H ポリペプチドをコードする遺伝子、及び/または前記 E N R ポリペプチドをコードする遺伝子を含む、1つ以上のプラスミドで形質転換され、前記遺伝子のうちの少なくとも1つが組換え遺伝子である、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

前記組換え宿主細胞が、前記 G P P S ポリペプチドをコードする遺伝子もしくは前記 N P P S ポリペプチドをコードする遺伝子、前記 G E S ポリペプチドをコードする遺伝子もしくは前記 N E S ポリペプチドをコードする遺伝子、前記 G e D H ポリペプチドをコードする遺伝子もしくは前記 N e D H ポリペプチドをコードする遺伝子、前記 I S Y ポリペプチドをコードする遺伝子、前記 C i D H ポリペプチドをコードする遺伝子、及び/または前記 E N R ポリペプチドをコードする遺伝子で形質転換され、前記遺伝子のうちの少なくとも1つが組換え遺伝子である、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 25】

前記組換え遺伝子のうちの少なくとも1つが前記宿主細胞ゲノム内に組み込まれる、請求項 22 ~ 24 のいずれか一項に記載の方法。