

【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7月15日 (2010.7.15)

【公表番号】特表2009-538136(P2009-538136A)

【公表日】平成21年11月5日 (2009.11.5)

【年通号数】公開・登録公報2009-044

【出願番号】特願2009-512140(P2009-512140)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 P 13/04 (2006.01)

C 1 2 P 21/00 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 P 13/04 Z N A

C 1 2 P 21/00 C

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成22年5月21日 (2010.5.21)

【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) L - (7 - ヒドロキシクマリン - 4 - イル) エチルグリシン非天然アミノ酸である第 1 の非天然アミノ酸と；

(b) 第 1 の直交アミノアシル tRNA シンテターゼ (O - RS) と；

(c) 第 1 の直交 tRNA (O - tRNA) を含み；

前記第 1 の O - RS が前記第 1 の O - tRNA を前記第 1 の非天然アミノ酸で優先的にアミノアシル化する翻訳系。

【請求項 2】

前記第 1 の O - RS が配列番号 4 に記載のアミノ酸配列及びその保存変異体を含むか、又は Methanococcus jannaschii アミノアシル tRNA シンテターゼから誘導されるか、又は野生型 Methanococcus jannaschii チロシル tRNA シンテターゼから誘導される請求項 1 に記載の翻訳系。

【請求項 3】

前記第 1 の O - tRNA がアンバーサプレッサー tRNA であるか、又は配列番号 1 に記載のポリヌクレオチド配列を含むか若しくは前記配列によりコードされる請求項 1 に記載の翻訳系。

【請求項 4】

該当蛋白質をコードする核酸を更に含み、前記核酸が少なくとも１個のセクターコドンを含み、前記セクターコドンが前記第１のＯ－ｔＲＮＡにより認識される請求項１に記載の翻訳系。

【請求項５】

第２のＯ－ＲＳと第２のＯ－ｔＲＮＡを更に含み、第２のＯ－ＲＳが第１の非天然アミノ酸とは異なる第２の非天然アミノ酸で第２のＯ－ｔＲＮＡを優先的にアミノアシル化し、第２のＯ－ｔＲＮＡが第１のＯ－ｔＲＮＡにより認識されるセクターコドンとは異なるセクターコドンを認識する請求項４に記載の翻訳系。

【請求項６】

前記系が前記第１の非天然アミノ酸と、前記第１のＯ－ＲＳと、前記第１のＯ－ｔＲＮＡを含む宿主細胞を含み、前記宿主細胞が、

(a) 真正細菌細胞、

(b) 大腸菌細胞、

(c) 前記第１のＯ－ＲＳをコードするポリヌクレオチドを含む宿主細胞、

(d) 配列番号５に記載のヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを含む宿主細胞、及び

(e) 前記第１のＯ－ｔＲＮＡをコードするポリヌクレオチドを含む宿主細胞、

からなる群から選択される請求項１に記載の翻訳系。

【請求項７】

選択位置に非天然アミノ酸を含む蛋白質を翻訳系で生産する方法であって、

(a) (i) L－(７－ヒドロキシマリリン－４－イル)エチルグリシン非天然アミノ酸である第１の非天然アミノ酸と；

(ii) 第１の直交アミノアシルｔＲＮＡシンテターゼ(Ｏ－ＲＳ)と；

(iii) 第１の直交ｔＲＮＡ(Ｏ－ｔＲＮＡ)(但し、前記第１のＯ－ＲＳは前記第１のＯ－ｔＲＮＡを前記非天然アミノ酸で優先的にアミノアシル化する)と；

(iv) 前記蛋白質をコードし、前記第１のＯ－ｔＲＮＡにより認識される少なくとも１個のセクターコドンを含む核酸を含む翻訳系を提供する段階と；

(b) 前記セクターコドンに応答して前記蛋白質の翻訳中に前記蛋白質の前記選択位置に前記非天然アミノ酸を組み込むことにより、前記選択位置に前記非天然アミノ酸を含む前記蛋白質を生産する段階を含む前記方法。

【請求項８】

翻訳系を提供する前記段階が前記Ｏ－ＲＳをコードするポリヌクレオチドを提供する段階を含むか、又は Methanococcus jannaschii アミノアシルｔＲＮＡシンテターゼ若しくは野生型 Methanococcus jannaschii チロシルｔＲＮＡシンテターゼから誘導されるＯ－ＲＳを提供する段階を含むか、又は配列番号４に記載のアミノ酸配列及びその保存変異体を含むＯ－ＲＳを提供する段階を含む請求項７に記載の方法。

【請求項９】

翻訳系を提供する前記段階が前記Ｏ－ｔＲＮＡをコードするポリヌクレオチドを提供する段階を含むか、又はアンバーサプレッサーｔＲＮＡであるＯ－ｔＲＮＡを提供する段階を含むか、又は配列番号１に記載のポリヌクレオチド配列を含むか又は前記配列によりコードされるＯ－ｔＲＮＡを提供する段階を含むか、又はアンバーセクターコドンを含む核酸を提供する段階を含む請求項７に記載の方法。

【請求項１０】

更に前記蛋白質が前記第１の非天然アミノ酸とは異なる第２の非天然アミノ酸を含み、前記翻訳系が更に第２のＯ－ＲＳと第２のＯ－ｔＲＮＡを含み、第２のＯ－ＲＳが第１の非天然アミノ酸とは異なる第２の非天然アミノ酸で第２のＯ－ｔＲＮＡを優先的にアミノアシル化し、第２のＯ－ｔＲＮＡが第１のＯ－ｔＲＮＡにより認識されるセクターコドンとは異なる核酸中のセクターコドンを認識する請求項７に記載の方法。

【請求項１１】

翻訳系を提供する前記段階が宿主細胞を提供する段階を含み、前記宿主細胞が前記第 1 の非天然アミノ酸と、前記第 1 の O - R S と、前記第 1 の O - t R N A と、前記核酸を含み、前記組込み段階が前記宿主細胞を培養する段階を含み、前記宿主細胞が、

( a ) 真正細菌宿主細胞、

( b ) 大腸菌宿主細胞、

( c ) 前記第 1 の O - R S をコードするポリヌクレオチドを含む宿主細胞、

( d ) 前記第 1 の O - R S をコードするポリヌクレオチドであって、配列番号 5 に記載のヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを含む宿主細胞、  
からなる群から選択される請求項 7 に記載の方法。

【請求項 1 2】

配列番号 4 に記載のアミノ酸配列又はその保存変異体を含むポリペプチドを含有する組成物であって、前記保存変異体ポリペプチドが前記 O - t R N A と前記非天然アミノ酸と配列番号 4 のアミノ酸配列を含むアミノアシル t R N A シンターゼを含む翻訳系で観察される効率の少なくとも 5 0 % の効率でコグネイト直交 t R N A ( O - t R N A ) を非天然アミノ酸でアミノアシル化する前記組成物。

【請求項 1 3】

( a ) 請求項 1 2 に記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、及び

( b ) 請求項 1 2 に記載のポリペプチドをコードすると共に配列番号 5 のヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド、  
からなる群から選択されるポリヌクレオチド。

【請求項 1 4】

( a ) ポリペプチドを含む細胞である請求項 1 2 に記載の組成物、及び

( b ) 配列番号 5 に記載のヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを含有する組成物、  
からなる群から選択される組成物。

【請求項 1 5】

請求項 1 4 に記載のポリヌクレオチドを含むベクターを含む細胞。