

【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1年12月12日(2019.12.12)

【公表番号】特表2019-501638(P2019-501638A)

【公表日】平成31年1月24日(2019.1.24)

【年通号数】公開・登録公報2019-003

【出願番号】特願2018-523761(P2018-523761)

【国際特許分類】

C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	15/52	(2006.01)
C 1 2 N	15/54	(2006.01)
C 1 2 N	15/56	(2006.01)
C 1 2 P	19/26	(2006.01)
A 2 3 L	33/10	(2016.01)
C 1 2 N	15/53	(2006.01)
A 6 1 K	31/706	(2006.01)
A 6 1 P	3/06	(2006.01)
A 2 3 K	10/16	(2016.01)
A 2 3 K	20/153	(2016.01)

【F I】

C 1 2 N	1/21	Z N A
C 1 2 N	15/09	Z
C 1 2 N	15/52	Z
C 1 2 N	15/54	
C 1 2 N	15/56	
C 1 2 P	19/26	
A 2 3 L	33/10	
C 1 2 N	15/53	
A 6 1 K	31/706	
A 6 1 P	3/06	
A 2 3 K	10/16	
A 2 3 K	20/153	

【手続補正書】

【提出日】令和1年11月1日(2019.11.1)

【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】

ニコチンアミドリボシド(NR)を産生する細菌であって、

(a)前記NRを産生する細菌に導入されたポリヌクレオチドにより発現される異種性ポリペプチドである、異種性ニコチン酸アミド化ポリペプチド(Na d E<sup>\*</sup>)と、

(b)ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD<sup>+</sup>)加水分解タンパク質と、を発現し、

前記細菌が、

a) nadA、nadB、nadCまたはそれらの組み合わせの転写を抑制する機能の発現をブロックしまたは減少させること；

b) ニコチニアミドリボシド輸送体の活性をブロックしまたは減少させること；

c) ニコチニ酸モノヌクレオチドアデニルトランスフェラーゼの活性をブロックしまたは減少させること；

d) ニコチニアミドモノヌクレオチドヒドロラーゼの活性をブロックしまたは減少させること；

e) プリンヌクレオシドホスホリラーゼの活性をブロックしまたは減少させること；

f) ニコチニアミドモノヌクレオチドヒドロラーゼを発現すること；および

g) L-アスパラギン酸オキシダーゼ、キノリン酸シンターゼ、キノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ (phosphoribosyl transferase) およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるポリペプチドを発現すること；

からなる群から選択される1つまたは複数の修飾をさらに含む、ニコチニアミドリボシド(NR)を産生する細菌。

#### 【請求項2】

前記異種性NadE<sup>\*</sup>が、配列番号1、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17または18の配列と少なくとも80%同一であるアミノ酸配列から選ばれ、

配列番号1のポリペプチドの残基27位、133位および/または236位に対応する位置のアミノ酸は、GAP PENALTY = 10、GAP LENGTH PENALTY = 0.1のデフォルトパラメータ、およびタンパク質重量マトリックスのGonnert 250シリーズを用いて、配列番号1および3~18と比較した際に、アライメントのCustom法に基づく、27位のチロシン、133位のグルタミン、および/または236位のアルギニンから選択される、請求項1に記載の細菌。

#### 【請求項3】

(a) 前記ニコチニアミドアデニンジヌクレオチド(NAD<sup>+</sup>)加水分解タンパク質が、配列番号66~70と少なくとも80%同一であるポリペプチドから選択され、および/または

(b) nadA、nadB、nadCまたはそれらの組み合わせの転写を抑制する機能の発現をブロックしまたは減少させる前記ポリペプチドは、配列番号51、52または53のポリペプチドから選択され、および/または

(c) 前記ニコチニアミドリボシド輸送体が、配列番号54、55または56のポリペプチドから選択され、および/または

(d) ニコチニアミドモノヌクレオチドヒドロラーゼが、配列番号57、58または59のポリペプチドから選択され、および/または

(e) 前記ニコチニ酸モノヌクレオチドアデニルトランスフェラーゼタンパク質が、配列番号63、64または65のポリペプチドから選択され、および/または

(f) 前記ニコチニアミドモノヌクレオチドアミドヒドロラーゼタンパク質が、配列番号60、61または62のポリペプチドから選択され、および/または

(g) 前記プリンヌクレオシドホスホリラーゼタンパク質が、配列番号72~76のポリペプチドから選択され、および/または

(h) 前記キノリン酸シンターゼが、配列番号77、78または79のポリペプチドから選択され、および/または

(i) 前記L-アスパラギン酸オキシダーゼが、配列番号80または81のポリペプチドから選択され、および/または

(j) 前記キノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼが、配列番号82、83または84のポリペプチドから選択される、請求項1または2に記載の細菌。

#### 【請求項4】

前記細菌は、エシェリキア属(*Escherichia*)、バチルス属(*Bacillus*)、コリネバクテリウム属(*Corynebacterium*)、アシネットバクター

属 ( *A c i n e t o b a c t e r* ) およびラルストニア属 ( *R a l s t o n i a* ) からなる群から選択される、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の細菌。

【請求項 5】

NR を生産して NR を培地から回収するのに効果的な条件下で、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の細菌を培養し、それによって NR を生産するステップを含む、NR を生産する方法。

【請求項 6】

細菌が培養される発酵プロセス中に、NR を少なくとも 100 mg / L まで蓄積する、請求項 5 に記載の方法。