

【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 (NadE^{*}) と、

(b) ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD⁺) 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または減少させること；

b) ニコチンアミドリボシド輸送体の活性をブロックまたは減少させること；

c) ニコチン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または減少させること；

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

f) ニコチン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、ニコチンアミドリボシド (NR) を産生する細菌。

【請求項2】

前記異種性 Nade* 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 PENTALTY = 10、GAP LENGTH PENTALTY = 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Gonnet 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ClustalW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) 前記ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD+) 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) 前記ニコチン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) ニコチン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) 前記ニコチン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) 前記ニコチン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)、アシネトバクター

属 (*Acinetobacter*) およびラルストニア属 (*Ralstonia*) 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。