【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6年4月11日(2024.4.11)

【国際公開番号】WO2023/286629
【出願番号】特願2023-535244(P2023-535244)
【国際特許分類】
*C12P 19/34(2006.01)*
*C12N 1/21(2006.01)*
*C12N 15/31(2006.01)*
*C12N 15/52(2006.01)*
*C12N 15/57(2006.01)*
【FI】
C12P 19/34 AZNA
C12N 1/21
C12N 15/31
C12N 15/52 Z
C12N 15/57

【手続補正書】
【提出日】令和6年1月30日(2024.1.30)
【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】
下記の（ａ）～（ｃ）の工程を含む、プラスミドＤＮＡの製造方法：
（ａ）外膜の特性維持に関連する遺伝子領域に変異を有し、かつ目的のプラスミドを保持する大腸菌を調製する工程、
（ｂ）（ａ）の大腸菌を培養する工程、及び
（ｃ）培養後の菌体より目的のプラスミドを回収する工程。
【請求項２】
前記工程（ｃ）が、培養後の菌体外膜を溶解させて目的のプラスミドを回収する工程である、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
外膜の特性維持に関連する遺伝子領域が、外膜の物理的及び／又は機械的特性維持に関連する遺伝子領域である請求項１に記載の方法。
【請求項４】
外膜の物理的及び／又は機械的特性維持に関連する遺伝子領域が、外膜の物理的及び／又は機械的特性維持に直接関連する遺伝子領域である請求項３に記載の方法
【請求項５】
外膜の物理的及び／又は機械的特性維持に直接関連する遺伝子領域が、ｐａｌ、ｌｐｐ、ｏｍｐＡ、ｙｂｉＳ、ｙｃｆＳ、ｅｒｆＫ、ｔｏｌＡ、ｔｏｌＢ，ｎｌｐＩ、ｂａｍＤ、ｂａｍＡ、ｌｏｌＡ、ｌｏｌＢ、ｌｏｌＣ、ｌｏｌＤ、ｌｏｌＥ、ｌｐｔＥ、ｌｐｔＤ、ｌｐｔＡ、ｌｐｔＢ、ｌｐｔＦ、ｌｐｔＧ、ｓｌｙＢ、ｍｒｃＡ、ｍｒｃＢ、ｌｐｏＡ、ｌｐｏＢ、ｔｏｌＱ及びｔｏｌＲの構造タンパク質をコードする配列、並びに、これらのシグナルペプチドをコードする塩基配列、プロモーター配列及びＳＤ配列からなる群から選択される少なくとも１つである、請求項４に記載の方法。

【請求項６】
前記大腸菌が、Ｐａｌ、Ｌｐｐ、ＯｍｐＡ、ＹｂｉＳ、ＹｃｆＳ、ＥｒｆＫ、ＴｏｌＡ、ＴｏｌＢ，ＮｌｐＩ、ＢａｍＤ、ＢａｍＡ、ＬｏｌＡ、ＬｏｌＢ、ＬｏｌＣ、ＬｏｌＤ、ＬｏｌＥ、ＬｐｔＥ、ＬｐｔＤ、ＬｐｔＡ、ＬｐｔＢ、ＬｐｔＦ、ＬｐｔＧ、ＳｌｙＢ、ＭｒｃＡ、ＭｒｃＢ、ＬｐｏＡ、ＬｐｏＢ、ＴｏｌＱ及びＴｏｌＲ、並びに、これらのシグナルペプチドからなる群から選択される少なくとも１つのペプチドのアミノ酸配列に変異を有する、請求項１に記載の方法。
【請求項７】
前記大腸菌が、Ｐａｌ、Ｌｐｐ、ＯｍｐＡ、ＹｂｉＳ、ＹｃｆＳ、ＥｒｆＫ及びこれらのシグナルペプチドからなる群から選択される少なくとも１つのペプチドのアミノ酸配列に変異を有する、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
前記変異が完全欠損である、請求項１に記載の方法。
【請求項９】
前記変異が部分変異である、請求項１に記載の方法。
【請求項１０】
前記変異がシグナルペプチドの部分変異である請求項９に記載の方法。
【請求項１１】
前記変異が構造タンパク質の部分変異である請求項９に記載の方法。
【請求項１２】
前記構造タンパク質が、以下の（Ａ）～（Ｅ）のいずれかの部分変異を有する構造タンパク質である、請求項１１に記載の方法：
（Ａ）構造タンパク質が外膜、ペプチドグリカン層、内膜のいずれかに結合又は接触し、その結合又は接触する部分及び／又はその近傍のアミノ酸残基に置換又は欠損を有する構造タンパク質；
（Ｂ）構造タンパク質が他のタンパク質をペプチドグリカン層に結合させる酵素活性を有し、それらの活性部位及び／又はその近傍のアミノ酸残基に置換又は欠損を有する構造タンパク質；
（Ｃ）構造タンパク質がペプチドグリカン層の形成に関与する酵素であり、それらの活性部位、及び／又はその近傍のアミノ酸残基に置換又は欠損を有する構造タンパク質；
（Ｄ）構造タンパク質がペリプラズム画分に存在するリポタンパク質の外膜輸送に関与するタンパク質であり、リポタンパク質への結合部位及び／又はその近傍のアミノ酸残基に置換又は欠失を有する構造タンパク質；
（Ｅ）構造タンパク質がリポポリサッカライドの外膜輸送に関与するタンパク質であり、リポポリサッカライドへの結合部位及び／又はその近傍のアミノ酸残基に置換又は欠失を有する構造タンパク質。
【請求項１３】
前記構造タンパク質が前記（Ａ）の構造タンパク質であり、Ｐａｌ、Ｌｐｐ、ＯｍｐＡからなる群より選択される、少なくとも１つである請求項１２に記載の方法。
【請求項１４】
前記構造タンパク質がＰａｌであり、そのＮ末端側の領域に前記変異を有する、請求項１３に記載の方法。
【請求項１５】
前記構造タンパク質がＬｐｐであり、そのＣ末端側の領域に前記変異を有する、請求項１３に記載の方法。
【請求項１６】
前記構造タンパク質がＯｍｐＡであり、そのＣ末端側の領域に前記変異を有する、請求項１３に記載の方法。
【請求項１７】
前記構造タンパク質が前記（Ｂ）の構造タンパク質であり、ＹｂｉＳ、ＹｃｆＳ、Ｅｒ

ｆＫからなる群より選択される少なくとも１つである請求項１２に記載の方法。
【請求項１８】
前記大腸菌が、Ｂ株由来又はＫ１２株由来である請求項１に記載の方法。
【請求項１９】
プラスミドＤＮＡを製造するための大腸菌の作製方法であって、下記の（ｉ）及び（ｉｉ）の工程を含む、方法：
（ｉ）大腸菌の外膜の特性維持に関連する遺伝子領域に変異を加える工程；及び
（ｉｉ）（ｉ）で得られた変異を有し、かつ目的のプラスミドを保持する大腸菌を調製する工程。
【請求項２０】
外膜の特性維持に関連する遺伝子領域に変異を有し、目的のプラスミドを保持する、プラスミドＤＮＡの製造のための大腸菌。