【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6月28日(2024.6.28)

【公開番号】特開2024-38140(P2024-38140A)
【公開日】令和6年3月19日(2024.3.19)
【年通号数】公開公報(特許)2024-051
【出願番号】特願2023-220226(P2023-220226)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ 15/57(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 9/76(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 15/63(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 1/15(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 1/19(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 1/21(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 5/10(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ 15/57
Ｃ１２Ｎ 9/76 ＺＮＡ
Ｃ１２Ｎ 15/63 Ｚ
Ｃ１２Ｎ 1/15
Ｃ１２Ｎ 1/19
Ｃ１２Ｎ 1/21
Ｃ１２Ｎ 5/10

【手続補正書】
【提出日】令和6年6月20日(2024.6.20)
【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】
ブタトリプシンの変異体であって、
該アミノ酸配列は、配列番号１による天然ブタトリプシンのＦ２４、Ｓ４４、Ｄ５６、Ｇ７８、Ｒ９９、Ｒ１０７、Ｋ１２５、Ｙ１３１、Ｋ１７０、Ｓ１７２およびＷ１９３に対応する１つまたはそれ以上の位置での少なくとも１個またはそれ以上のアミノ酸置換がある点が配列番号１と異なるアミノ酸配列を含みまたはそれからなり、
Ｆ２４に対応する位置のアミノ酸は、Ａｌａ、Ａｓｎ、Ａｒｇ、Ｇｌｎ、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、Ｌｙｓ、Ｍｅｔ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、およびＶａｌからなる群から選択されるアミノ酸で置換されている；
Ｓ４４に対応する位置のアミノ酸は、ＬｅｕおよびＰｒｏからなる群から選択されるアミノ酸で置換されている；
Ｄ５６に対応する位置のアミノ酸は、Ａｌａ、Ａｓｎ、Ｈｉｓ、およびＴｒｐからなる群から選択されるアミノ酸で置換されている；
Ｇ７８に対応する位置のアミノ酸は、Ａｌａ、Ｇｌｕ、Ｐｒｏ、Ｓｅｒ、およびＴｙｒからなる群から選択されるアミノ酸で置換されている；
Ｒ９９に対応する位置のアミノ酸は、Ａｌａ、Ａｓｎ、Ａｓｐ、Ｇｌｕ、Ｇｌｙ、Ｈｉｓ、Ｌｅｕ、Ｐｈｅ、Ｔｈｒ、Ｔｒｐ、およびＴｙｒからなる群から選択されるアミノ酸

で置換されている；
Ｒ１０７に対応する位置のアミノ酸は、Ａｓｐ、Ｇｌｙ、Ｐｒｏ、Ｓｅｒ、およびＴｈｒからなる群から選択されるアミノ酸で置換されている；
Ｋ１２５に対応する位置のアミノ酸は、Ａｌａ、Ｃｙｓ、Ｇｌｎ、Ｇｌｕ、Ｇｌｙ、Ｈｉｓ、Ｌｅｕ、Ｓｅｒ、およびＴｙｒからなる群から選択されるアミノ酸で置換されている；
Ｙ１３１に対応する位置のアミノ酸は、Ａｌａ、Ａｓｎ、Ａｓｐ、Ｃｙｓ、Ｇｌｎ、Ｇｌｕ、Ｇｌｙ、Ｈｉｓ、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、Ｍｅｔ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｔｒｐ、Ｖａｌからなる群から選択されるアミノ酸で置換されている；
Ｋ１７０に対応する位置のアミノ酸は、Ａｌａ、Ａｓｎ、ＧｌｙおよびＴｙｒからなる群から選択されるアミノ酸で置換されている；
Ｓ１７２に対応する位置のアミノ酸は、Ａｌａ、Ｃｙｓ、およびＴｈｒからなる群から選択されるアミノ酸で置換されている；ならびに／または
Ｗ１９３に対応する位置のアミノ酸は、Ｐｈｅ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、およびＴｙｒからなる群から選択されるアミノ酸で置換されている；但し、
該アミノ酸配列は、配列番号１による天然ブタトリプシンではないことを条件とし；かつ、
該アミノ酸配列は、配列番号２によるブタ変異体トリプシンＳ１７２Ａではないことを条件とする、
前記ブタトリプシンの変異体。

【請求項２】
前記アミノ酸配列は、
配列番号４、配列番号５、配列番号６、配列番号７、配列番号８、配列番号９、配列番号１０、配列番号１１、配列番号１２、配列番号１３、配列番号１４、配列番号１５、配列番号１６、配列番号１７、配列番号１８、配列番号１９、配列番号２０、配列番号２１、配列番号２２、配列番号２３、配列番号２４、配列番号２５、配列番号２６、配列番号２７、配列番号２８、配列番号２９、配列番号３０、配列番号３１、配列番号３２、配列番号３３、配列番号３４、配列番号３５、配列番号３６、配列番号３７、配列番号３８、配列番号３９、配列番号４０、配列番号４１、配列番号４２、配列番号４３、配列番号４４、配列番号４５、配列番号４６、配列番号４７、配列番号４８、配列番号４９、配列番号５０、配列番号５１、配列番号５２、配列番号５３、配列番号５４、配列番号５５、配列番号５６、配列番号５７、配列番号５８、配列番号５９、配列番号６０、配列番号６１、配列番号６２、配列番号６３、配列番号６４、配列番号６５、配列番号６６、配列番号６７、配列番号６８、配列番号６９、配列番号７０、配列番号７１、配列番号７２、配列番号７３、配列番号７４、配列番号７５、配列番号７６、配列番号７７、配列番号７８、配列番号７９、配列番号８０、配列番号８１、配列番号８２、配列番号８３、配列番号８４、配列番号８５、配列番号８６、配列番号８７、配列番号８８、配列番号８９、配列番号９０、配列番号９１、配列番号９２、配列番号９３、配列番号９４、配列番号９５、配列番号９６、配列番号９７、配列番号９８、配列番号９９、配列番号１００、配列番号１０１、配列番号１０２、配列番号１０３、配列番号１０４、配列番号１０５、配列番号１０６、配列番号１０７、配列番号１０８、配列番号１０９、配列番号１１０、配列番号１１１、配列番号１１２、配列番号１１３、配列番号１１４、配列番号１１５、配列番号１１６、配列番号１１７、配列番号１１８、および配列番号１１９
からなる群から選択される、請求項１に記載のブタトリプシンの変異体。

【請求項３】
（ｉ）　前記変異体は、一般式Ａ－Ｌｙｓ－Ｔｈｒ－Ａｒｇ－Ａｒｇ－Ｂを有するペプチドを切断して、少なくとも８０％の収率で、一般式Ａ－Ｌｙｓ－Ｔｈｒ－Ａｒｇ－Ａｒｇの切断産物を生じることができ、
Ａは１個またはそれ以上のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり；かつ
Ｂは１個またはそれ以上のアミノ酸からなるアミノ酸配列である；および／または

（ｉｉ） 該変異体は、配列番号２によるブタ変異体トリプシンＳ１７２Ａと比較して、Ｂ３２－Ａｒｇ位のＣ末端側の位置での、プレプロヒトインスリン、プレプロインスリングラルギン、プレプロインスリンリスプロ、プレプロインスリンアスパルト、またはプレプロインスリングルリジンの切断に対して向上した選択性を呈する、
請求項１または２に記載のブタトリプシンの変異体。
【請求項４】
核酸分子であって、
－ 請求項１～３のいずれか１項に記載のブタトリプシンの変異体、または
－ 請求項１～３のいずれか１項に記載のブタトリプシンの変異体のトリプシノーゲン前駆体分子
をコードし、
ベクターに場合により含有されるか、またはゲノムに場合により組み込まれている前記核酸分子。
【請求項５】
宿主細胞であって、請求項４に記載の核酸分子を含有する宿主細胞。
【請求項６】
請求項１～３のいずれか１項に記載のブタトリプシンの変異体を産生する方法であって：
請求項５に記載の宿主細胞を培養する工程；および
培養培地からまたは該宿主細胞からブタトリプシンの該変異体のトリプシノーゲン前駆体分子を単離する工程、ならびに
場合により、該トリプシノーゲン前駆体分子を活性化し、それによりブタトリプシンの該変異体を得る工程
を含む前記方法。
【請求項７】
食品成分または飼料成分を製造する方法中で使用するための、
請求項１～３のいずれか１項に記載のブタトリプシンの変異体、または請求項４に記載の核酸分子、または請求項５に記載の宿主細胞。
【請求項８】
ヒトインスリン、インスリンアナログまたはインスリンの誘導体の産生のための方法における、請求項１～３のいずれか１項に記載のブタトリプシンの変異体の使用。
【請求項９】
インスリンアナログは、インスリンアスパルト、インスリンリスプロ、インスリングルリジン、およびインスリングラルギンからなる群から選択される、請求項８に記載の使用。
【請求項１０】
一般式Ａ－Ｌｙｓ－Ｔｈｒ－Ａｒｇ－Ａｒｇ－Ｂを有するタンパク質またはペプチドを切断するための、請求項１～３のいずれか１項に記載のブタトリプシンの変異体の使用であって、
Ａは１個またはそれ以上のアミノ酸からなるアミノ酸配列であり；かつ
Ｂは１個またはそれ以上のアミノ酸からなるアミノ酸配列である、前記使用。
【請求項１１】
切断により、切断産物Ａ－Ｌｙｓ－Ｔｈｒ－Ａｒｇ－Ａｒｇを生じる、請求項１０に記載の使用。
【請求項１２】
切断により、少なくとも８０％の収率で、切断産物Ａ－Ｌｙｓ－Ｔｈｒ－Ａｒｇ－Ａｒｇを生じる、請求項１１に記載の使用。