

【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 9 月 5 日 (2019.9.5)

【公表番号】特表 2018-521674 (P2018-521674A)

【公表日】平成 30 年 8 月 9 日 (2018.8.9)

【年通号数】公開・登録公報 2018-030

【出願番号】特願 2018-504991 (P2018-504991)

【国際特許分類】

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 15/52 (2006.01)

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 9/90 (2006.01)

A 6 1 K 35/74 (2015.01)

A 6 1 K 35/741 (2015.01)

A 6 1 K 35/742 (2015.01)

A 6 1 K 35/744 (2015.01)

A 6 1 K 35/745 (2015.01)

A 6 1 K 35/747 (2015.01)

A 6 1 P 7/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 3/00 (2006.01)

A 6 1 P 3/02 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 15/52 Z N A

C 1 2 N 15/63

C 1 2 N 9/90

A 6 1 K 35/74 A

A 6 1 K 35/741

A 6 1 K 35/742

A 6 1 K 35/744

A 6 1 K 35/745

A 6 1 K 35/747

A 6 1 P 7/00

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 P 3/00

A 6 1 P 3/02 1 0 4

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 7 月 26 日 (2019.7.26)

【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】

プロピオネートをスクシネートに変換する、1 つまたは複数のプロピオネート異化酵素をコードする遺伝子配列（複数可）を含む細菌であって、前記 1 つまたは複数のプロピオ

ネート異化酵素は、プロピオネート異化酵素遺伝子と天然では会合していない直接的または間接的誘導性プロモーターに作動可能に連結している、細菌。

【請求項 2】

P r p E、P c c B、A c c A 1、M m c E、M u t A および M u t B から選択される 1 つまたは複数のプロピオネート異化酵素をコードする遺伝子配列（複数可）を含む、請求項 1 に記載の細菌。

【請求項 3】

P r p E、P c c B、A c c A 1、M m c E、M u t A および M u t B をコードする遺伝子配列（複数可）を含む、請求項 1 または 2 に記載の細菌。

【請求項 4】

プロピオネート異化酵素をコードする前記遺伝子配列（複数可）に作動可能に連結した前記プロモーターが、低酸素または嫌気的条件下で直接的または間接的に誘導される、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の細菌。

【請求項 5】

プロピオネート異化酵素をコードする前記遺伝子配列（複数可）に作動可能に連結した前記プロモーターが、F N R 応答性プロモーター、A N R 応答性プロモーターおよび D N R 応答性プロモーターからなる群から選択される、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の細菌。

【請求項 6】

プロピオネート異化酵素をコードする前記遺伝子配列（複数可）が、

（ a ）該細菌における染色体上に位置する、または

（ b ）該細菌におけるプラスミド上に位置する、

請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の細菌。

【請求項 7】

1 つまたは複数のプロピオネート異化酵素をコードする前記遺伝子配列（複数可）が、単一の遺伝子カセット内に存在する、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の細菌。

【請求項 8】

1 つまたは複数のプロピオネート異化酵素をコードする少なくとも 2 つの遺伝子配列を含み、1 つまたは複数のプロピオネート異化酵素をコードする前記遺伝子配列（複数可）が、第 1 のプロモーターに作動可能に連結した第 1 のカセット内に存在し、第 2 のプロモーターに作動可能に連結した第 2 の遺伝子カセット内に存在する、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の細菌。

【請求項 9】

前記第 1 のプロモーターおよび前記第 2 のプロモーターが、誘導性プロモーターである、請求項 8 に記載の細菌。

【請求項 10】

（ a ）前記第 1 のプロモーターおよび前記第 2 のプロモーターが、異なるプロモーターである、または

（ b ）前記第 1 のプロモーターおよび前記第 2 のプロモーターが、同じプロモーターの別個のコピーである、

請求項 8 または請求項 9 に記載の細菌。

【請求項 11】

前記第 1 の遺伝子カセットが、P r p E、P c c B および A c c A 1 をコードする遺伝子配列を含み、前記第 2 の遺伝子カセットが、M m c E、M u t A および M u t B をコードする前記遺伝子配列を含む、請求項 8 ～ 10 のいずれか一項に記載の細菌。

【請求項 12】

（ a ）P r p E をコードする前記遺伝子配列（複数可）が、配列番号 25 と少なくとも 90 % の同一性を有する、

（ b ）P c c B をコードする前記遺伝子配列（複数可）が、配列番号 39 と少なくとも 90 % の同一性を有する、および / または

(c) A c c A 1 をコードする前記遺伝子配列 (複数可) が、配列番号 3 8 と少なくとも 9 0 % の同一性を有する、および / または

(d) M m c E をコードする前記遺伝子配列 (複数可) が、配列番号 3 2 と少なくとも 9 0 % の同一性を有する、および / または

(e) M u t A をコードする前記遺伝子配列 (複数可) が、配列番号 3 3 と少なくとも 9 0 % の同一性を有する、および / または

(f) M u t B をコードする前記遺伝子配列 (複数可) が、配列番号 3 4 と少なくとも 9 0 % の同一性を有する、および / または

請求項 2、3、および 1 1 のいずれか 1 つに記載の細菌。

【請求項 1 3】

プロピオネートをポリヒドロキシアルカノエートに変換する 1 つまたは複数のプロピオネート異化酵素をコードする 1 つまたは複数の遺伝子配列をさらに含む、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の細菌。

【請求項 1 4】

P r p E、P h a B、P h a C および P h a A をコードする 1 つまたは複数の遺伝子配列を含む、請求項 1 3 に記載の細菌。

【請求項 1 5】

前記操作された細菌細胞が、タンパク質リシンアシルトランスフェラーゼ (p k a) における欠失をさらに含む、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の細菌。

【請求項 1 6】

(a) プロピオネートの 1 つまたは複数の輸送体をコードする遺伝子配列 (複数可) をさらに含み、前記遺伝子配列が、輸送体遺伝子と天然では会合していないプロモーターに作動可能に連結している、および / または

(b) スクシネートの 1 つまたは複数の輸送体をコードする遺伝子配列 (複数可) をさらに含み、前記遺伝子配列が、輸送体遺伝子と天然では会合していないプロモーターに作動可能に連結している、および / または

(c) 細菌内の 1 つまたは複数のスクシネートの輸送体における突然変異または欠失をさらに含む、および / または

(d) 前記細菌におけるプロピオネートの内因性生合成経路の遺伝子改変または欠失をさらに含む、請求項 1 ~ 1 5 のいずれか一項に記載の細菌。

【請求項 1 7】

プロバイオティック細菌細胞である、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の細菌。

【請求項 1 8】

バクテロイデス属、バフィドバクテリウム属、クロストリジウム属、大腸菌属、乳酸桿菌属および乳酸球菌属からなる群から選択される属のメンバーである、請求項 1 ~ 1 7 のいずれか一項に記載の細菌。

【請求項 1 9】

前記操作された細菌細胞が、大腸菌種ニッスル株のものである、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の細菌。

【請求項 2 0】

(a) 前記操作された細菌細胞が哺乳動物消化管内に存在する場合、前記操作された細菌細胞が、補足される遺伝子における栄養要求体である、

(b) 前記操作された細菌細胞がヒト消化管内に存在する場合、前記操作された細菌細胞が、補足される遺伝子における栄養要求体である、

(c) 前記操作された細菌細胞が、ジアミノピメリン酸における栄養要求体、またはチミン生合成経路における酵素における栄養要求体である、または

(d) 前記細菌に対して有毒である物質をコードする遺伝子を有するようにさらに操作され、前記遺伝子が、前記哺乳動物消化管に天然で存在しない環境条件により直接的または間接的に誘導されるプロモーターの制御下にある、

請求項 1 ~ 1 9 のいずれか一項に記載の細菌。

【請求項 2 1】

請求項 1 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の細菌と薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物。

【請求項 2 2】

対象におけるプロピオネート、メチルマロネートおよびそれらの副産物分子のレベルを低下させるための、および / または対象におけるプロピオネートの異化を伴う疾患もしくは障害を治療するための方法であって、請求項 2 1 に記載の医薬組成物を投与するステップを含む方法。

【請求項 2 3】

プロピオネートの異化を伴う前記障害が、有機酸血症、またはビタミン B₁₂ 欠乏症である、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記有機酸血症が、プロピオン酸血症 (P A)、またはメチルマロン酸血症 (M M A)である、請求項 2 3 に記載の方法。