【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3年8月12日(2021.8.12)

【公表番号】特表2020-530273(P2020-530273A)
【公表日】令和2年10月22日(2020.10.22)
【年通号数】公開・登録公報2020-043
【出願番号】特願2019-572486(P2019-572486)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ　15/54　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　1/11　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/62　(2006.01)
Ｃ１２Ｐ　21/02　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　9/10　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/21　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/22　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/23　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/26　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/25　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/28　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/17　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/18　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/13　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/58　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　1/18　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　1/22　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　15/54
Ｃ１２Ｎ　1/11　ＺＮＡ
Ｃ１２Ｎ　15/62　Ｚ
Ｃ１２Ｐ　21/02　Ｃ
Ｃ１２Ｎ　9/10
Ｃ１２Ｎ　15/21
Ｃ１２Ｎ　15/22
Ｃ１２Ｎ　15/23
Ｃ１２Ｎ　15/26
Ｃ１２Ｎ　15/25
Ｃ１２Ｎ　15/28
Ｃ１２Ｎ　15/17
Ｃ１２Ｎ　15/18
Ｃ１２Ｎ　15/13
Ｃ１２Ｎ　15/58
Ｃ０７Ｋ　1/18
Ｃ０７Ｋ　1/22

【手続補正書】
【提出日】令和3年6月24日(2021.6.24)
【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】
a.標的タンパク質をコードする組換え核酸;及び
b.異種グリコシルトランスフェラーゼをコードする組換え核酸
を含む、リーシュマニア宿主細胞。
【請求項２】
前記異種グリコシルトランスフェラーゼが、N-アセチルグルコサミントランスフェラーゼ;及び/又は異種ガラクトシルトランスフェラーゼ;及び/又は異種シアリルトランスフェラーゼである、請求項1記載の宿主細胞。
【請求項３】
前記宿主細胞が、2以上のN-アセチルグルコサミントランスフェラーゼ;及び/又は2以上の異種ガラクトシルトランスフェラーゼ;及び/又は2以上の異種シアリルトランスフェラーゼを含む、請求項2記載の宿主細胞。
【請求項４】
前記異種シアリルトランスフェラーゼを含む宿主細胞が、CMP-NeuAcを生成させることができる異種CMP-Sia生合成経路タンパク質をさらに含む、請求項1～3のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項５】
N-グリカン生合成経路由来の1以上の内在性酵素が欠失させられ、突然変異させられ、及び/又は機能的に不活化されている、請求項1～4のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項６】
前記リーシュマニア細胞がリーシュマニア・タレントラエ細胞である、請求項1～4のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項７】
前記N-アセチルグルコサミントランスフェラーゼ、ガラクトシルトランスフェラーゼ、及び/又はシアリルトランスフェラーゼのアミノ酸配列が、表9に掲載されているN-アセチルグルコサミントランスフェラーゼ、ガラクトシルトランスフェラーゼ、もしくはシアリルトランスフェラーゼ、又はこれらの任意の機能性ホモログ、アイソフォーム、もしくは変異体に由来する、請求項2～6のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項８】
リーシュマニアシグナル及び/又は保持配列が、前記N-アセチルグルコサミントランスフェラーゼ、ガラクトシルトランスフェラーゼ、及び/又はシアリルトランスフェラーゼに付加され、ここで、該シグナル配列が、該N-アセチルグルコサミントランスフェラーゼ、ガラクトシルトランスフェラーゼ、及び/又はシアリルトランスフェラーゼを前記リーシュマニア宿主細胞の小胞体にターゲッティングし、かつ該保持配列が、該N-アセチルグルコサミントランスフェラーゼ、ガラクトシルトランスフェラーゼ、及び/又はシアリルトランスフェラーゼをゴルジ装置に保持する、請求項1～7のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項９】
前記CMP-NeuAcを生成させることができるCMP-Sia生合成経路タンパク質が、表11に掲載されているCMP-Sia生合成経路タンパク質、又はその任意の機能性ホモログ、アイソフォーム、もしくは変異体と少なくとも約70％、71％、72％、73％、74％、75％、76％、77％、78％、79％、80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、又は100％同一である、請求項4～8のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項１０】
前記N-アセチルグルコサミントランスフェラーゼがGnT-Iである、請求項1～9のいずれか一項記載の宿主細胞。

【請求項１１】
前記N-アセチルグルコサミントランスフェラーゼがGnT-IIである、請求項1～9のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項１２】
前記N-アセチルグルコサミントランスフェラーゼがGnT-I及びGnT-IIである、請求項1～9のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項１３】
前記ガラクトシルトランスフェラーゼがB4GALT1である、請求項1～9のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項１４】
前記N-アセチルグルコサミントランスフェラーゼがGnT-I及びGnT-IIであり、前記ガラクトシルトランスフェラーゼがB4GALT1である、請求項1～9のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項１５】
前記シアリルトランスフェラーゼが2,6-SiaT又は2,3-SiaTである、請求項1～9のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項１６】
前記N-アセチルグルコサミントランスフェラーゼがGnT-I及びGnT-IIであり、前記ガラクトシルトランスフェラーゼがB4GALT1であり、前記シアリルトランスフェラーゼが2,6-SiaT又は2,3-SiaTである、請求項1～9のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項１７】
前記N-アセチルグルコサミントランスフェラーゼがGnT-I及びGnT-IIであり、前記ガラクトシルトランスフェラーゼがB4GALT1であり、前記シアリルトランスフェラーゼが2,6-SiaT又は2,3-SiaTであり、かつ該シアリルトランスフェラーゼがCMP-NeuAcを生成させることができる異種CMP-Sia生合成経路タンパク質をさらに含む、請求項1～9のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項１８】
前記保持配列が前記N-アセチルグルコサミントランスフェラーゼ及び/又はガラクトシルトランスフェラーゼを前記宿主細胞のシスゴルジ区画に保持する、請求項8記載の宿主細胞。
【請求項１９】
前記保持配列が前記N-アセチルグルコサミントランスフェラーゼ及び/又はガラクトシルトランスフェラーゼを前記宿主細胞の中間ゴルジ区画に保持する、請求項8記載の宿主細胞。
【請求項２０】
前記保持配列が前記ガラクトシルトランスフェラーゼを前記宿主細胞のトランスゴルジ区画に保持する、請求項8記載の宿主細胞。
【請求項２１】
前記保持配列が前記シアリルトランスフェラーゼを前記宿主細胞のトランスゴルジ区画に保持する、請求項8記載の宿主細胞。
【請求項２２】
前記保持配列が前記シアリルトランスフェラーゼ及びガラクトシルトランスフェラーゼを前記宿主細胞のトランスゴルジ区画に保持する、請求項8記載の宿主細胞。
【請求項２３】
前記シグナル配列及び/又は保持配列がリーシュマニア・タレントラエに由来するシグナル配列又は保持配列である、請求項8又は10～22のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項２４】
前記シグナル配列がプロセシングされ、除去される、請求項23記載の宿主細胞。
【請求項２５】
前記保持配列がリーシュマニア・タレントラエタンパク質に由来する細胞質-膜貫通-ス

テム(CTS)配列である、請求項8又は10～23のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項２６】
前記CTS配列が、リーシュマニア・タレントラエMAN1、NTPDアーゼ1、又はNTPDアーゼ2に由来する、請求項25記載の宿主細胞。
【請求項２７】
前記CTS配列が、配列番号24、配列番号25、もしくは配列番号26の配列、又はこれらの機能的活性断片を含む、請求項25記載の宿主細胞。
【請求項２８】
前記CTS配列が、配列番号24の配列と少なくとも約70％、71％、72％、73％、74％、75％、76％、77％、78％、79％、80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、もしくは100％同一である配列又はその機能的活性断片;配列番号25の配列と少なくとも約70％、71％、72％、73％、74％、75％、76％、77％、78％、79％、80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、もしくは100％同一である配列又はその機能的活性断片;或いは配列番号26の配列と少なくとも約70％、71％、72％、73％、74％、75％、76％、77％、78％、79％、80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、もしくは100％同一である配列又はその機能的活性断片を含む、請求項25記載の宿主細胞。
【請求項２９】
前記CTSがリーシュマニア・タレントラエMAN1に由来する、請求項25記載の宿主細胞。
【請求項３０】
前記CTS配列が配列番号24の配列又はその機能的活性断片を含む、請求項25記載の宿主細胞。
【請求項３１】
前記保持配列がリーシュマニアに由来するGRIP配列又はその機能的活性断片を含む、請求項20～22のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項３２】
前記GRIP配列が配列番号27の配列又はその機能的活性断片を含む、請求項31記載の宿主細胞。
【請求項３３】
前記GRIP配列が、配列番号27の配列と少なくとも約70％、71％、72％、73％、74％、75％、76％、77％、78％、79％、80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、もしくは100％同一である配列又はその機能的活性断片を含む、請求項31記載の宿主細胞。
【請求項３４】
前記保持配列が、リーシュマニアタンパク質に由来するCTS配列又はその機能的活性断片、及びリーシュマニアに由来するGRIP配列又はその機能的活性断片を含む、請求項20～22のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項３５】
前記CTS配列が、リーシュマニア・タレントラエMAN1、NTPDアーゼ1、又はNTPDアーゼ2に由来する、請求項34記載の宿主細胞。
【請求項３６】
前記CTS配列が、配列番号24、配列番号25、又は配列番号26の配列を含み、前記GRIP配列が、配列番号27の配列又はその機能的活性断片を含む、請求項34記載の宿主細胞。
【請求項３７】
前記CTS配列がリーシュマニア・タレントラエMAN1に由来する、請求項34記載の宿主細胞。
【請求項３８】
前記CTS配列が配列番号24の配列を含み、前記GRIP配列が配列番号27の配列又はその機

能的活性断片を含む、請求項34記載の宿主細胞。
【請求項３９】
前記標的タンパク質が前記リーシュマニア宿主細胞にとって異種である、請求項1～38のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項４０】
前記標的タンパク質がリーシュマニア由来のシグナル配列を含むように改変されている、請求項39記載の宿主細胞。
【請求項４１】
前記リーシュマニア由来のシグナル配列がリーシュマニア・タレントラエ由来のシグナル配列である、請求項40記載の宿主細胞。
【請求項４２】
前記シグナル配列が、配列番号28もしくは配列番号29の配列又はこれらの機能的活性断片を含む、請求項39記載の宿主細胞。
【請求項４３】
前記シグナル配列が配列番号28の配列又はその機能的活性断片を含む、請求項39記載の宿主細胞。
【請求項４４】
前記シグナル配列が、配列番号28の配列と少なくとも約70％、71％、72％、73％、74％、75％、76％、77％、78％、79％、80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、もしくは100％同一である配列又はその機能的活性断片を含む、請求項39記載の宿主細胞。
【請求項４５】
前記シグナル配列がプロセシングされ、前記標的タンパク質から除去される、請求項41～44のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項４６】
前記標的タンパク質が、ヒトインターフェロン-α(INF-α)、インターフェロン-β(INF-β)、インターフェロン-γ(INF-γ)、インターロイキン-2(IL2)、キメラジフテリアトキシン-IL-2(デニロイキンディフチトクス)、インターロイキン-1(IL1)、IL1B、IL3、IL4、IL11、IL21、IL22、IL1受容体アンタゴニスト(アナキンラ)、腫瘍壊死因子アルファ(TNF-α)、インスリン、プラムリンタイド、成長ホルモン(GH)、インスリン様成長因子(IGF1)、ヒト副甲状腺ホルモン、カルシトニン、グルカゴン様ペプチド-1アゴニスト(GLP-1)、グルカゴン、成長ホルモン放出ホルモン(GHRH)、セクレチン、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、ヒト骨形成タンパク質2(hBMP2)、ヒト骨形成タンパク質7(hBMP7)、ゴナドトロピン放出ホルモン(GnRH)、ケラチノサイト成長因子(KGF)、血小板由来成長因子(PDGF)、線維芽細胞成長因子7(FGF7)、線維芽細胞成長因子20(FGF20)、線維芽細胞成長因子21(FGF21)、上皮成長因子(EGF)、血管内皮成長因子(VEGF)、ニューロトロフィン-3、ヒト濾胞刺激ホルモン(FSH)、ヒト絨毛性ゴナドトロピン(HCG)、ルトロピン-α、エリスロポエチン、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)、CTLA4の細胞外ドメイン(例えば、FC-融合体)、又はTNF受容体の細胞外ドメイン(例えば、FC-融合体)のアミノ酸配列を含む、請求項39～45のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項４７】
前記宿主細胞が
a.Stt3オリゴサッカリルトランスフェラーゼ(OST)を含み、かつ
b.内在性のN-グリカン伸長を有さない、
請求項1～46のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項４８】
前記宿主細胞が表13に掲載されている任意の株である、請求項1～47のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項４９】
前記宿主細胞が図53に示されている原核生物又は真核生物酵素を有するCMP-Neu5Ac経路

を含む、請求項1～48のいずれか一項記載の宿主細胞。
【請求項５０】
グリコシル化標的タンパク質を作製する方法であって、請求項1～46のいずれか一項記載の宿主細胞を培養すること、及び該標的タンパク質を培養物から精製することを含む、前記方法。
【請求項５１】
請求項50記載の方法から得られるグリコシル化標的タンパク質の組成物。
【請求項５２】
a.リーシュマニア由来のものではないN-アセチルグルコサミントランスフェラーゼの触媒ドメイン;並びに
b.リーシュマニアの小胞体又はゴルジ区画における局在及び保持に関与するアミノ酸配列
を含む、ハイブリッドN-アセチルグルコサミントランスフェラーゼ。
【請求項５３】
a.リーシュマニア由来のものではないガラクトシルトランスフェラーゼの触媒ドメイン;並びに
b.リーシュマニアの小胞体又はゴルジ区画における局在及び保持に関与するアミノ酸配列
を含む、ハイブリッドガラクトシルトランスフェラーゼ。
【請求項５４】
a.リーシュマニア由来のものではないシアリルトランスフェラーゼの触媒ドメイン;並びに
b.リーシュマニアの小胞体又はゴルジ区画における局在及び保持に関与するアミノ酸配列
を含む、ハイブリッドシアリルトランスフェラーゼ。
【請求項５５】
前記シアリルトランスフェラーゼのアミノ酸配列が、表9に掲載されているシアリルトランスフェラーゼ、又はその機能性ホモログ、アイソフォーム、もしくは変異体に由来する、請求項54記載のハイブリッドシアリルトランスフェラーゼ。
【請求項５６】
請求項52記載のハイブリッドN-アセチルグルコサミントランスフェラーゼをコードする核酸。
【請求項５７】
請求項53記載のハイブリッドガラクトシルトランスフェラーゼをコードする核酸。
【請求項５８】
請求項54又は55記載のハイブリッドシアリルトランスフェラーゼをコードする核酸。