

【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 3 月 13 日(2024.3.13)

【公開番号】特開 2024-29002(P2024-29002A)
【公開日】令和 6 年 3 月 5 日(2024.3.5)
【年通号数】公開公報(特許)2024-041
【出願番号】特願 2023-212519(P2023-212519)
【国際特許分類】

C 1 2 P 7/04(2006.01)
C 1 2 P 7/02(2006.01)
C 1 2 P 17/04(2006.01)
C 1 2 N 15/55(2006.01)
C 1 2 N 15/53(2006.01)
C 1 2 N 15/54(2006.01)

10

【F I】

C 1 2 P 7/04
C 1 2 P 7/02
C 1 2 P 17/04
C 1 2 N 15/55 Z N A
C 1 2 N 15/53
C 1 2 N 15/54

20

【手続補正書】
【提出日】令和 6 年 3 月 4 日(2024.3.4)
【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】

30

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

二環式ジテルペンアルコール化合物の生体触媒的な製造方法であって、

(1) 前記二環式ジテルペン化合物の対応する二環式ジテルペニルニリン酸前駆体を、テルペニル - ニリン酸ホスファターゼ活性を有するポリペプチドと接触させて、前記二環式ジテルペンアルコールを生成するステップと、

(2) ステップ (1) の前記二環式ジテルペンアルコールを任意選択で単離するステップと

を含み、

前記テルペニル - ニリン酸ホスファターゼ活性を有するポリペプチドが、タンパク質チロシンホスファターゼファミリーのニリン酸除去酵素メンバーから選択される、方法であって、前記テルペニル - ニリン酸ホスファターゼ活性を有するポリペプチドが、

40

以下のポリペプチド：

- a) 配列番号 2 にしたがうアミノ酸配列を含む T a l V e T P P 、
- b) 配列番号 6 にしたがうアミノ酸配列を含む A s p W e T P P 、
- c) 配列番号 10 にしたがうアミノ酸配列を含む H e l G r i T P P 、
- d) 配列番号 13 にしたがうアミノ酸配列を含む、 U m b P i T P P 1 、
- e) 配列番号 16 にしたがうアミノ酸配列を含む、 T a l V e T P P 2 、
- f) 配列番号 19 にしたがうアミノ酸配列を含む、 H y d P i T P P 1 、
- g) 配列番号 22 にしたがうアミノ酸配列を含む、 T a l C e T P P 1 、

50

h) 配列番号 25 にしたがうアミノ酸配列を含む、T a l M a T P P 1、
 i) 配列番号 28 にしたがうアミノ酸配列を含む T a l A s t r o T P P 1、および
 j) 配列番号 31 にしたがうアミノ酸配列を含む P e S u b T P P 1、ならびに
 k) テルペニル - ニリン酸ホスファターゼ活性を有し、かつ a) ~ j) にしたがう前記アミノ酸配列のうちの少なくとも 1 つとの少なくとも 90 % の配列同一性の程度を示すアミノ酸配列を含むポリペプチド
 からなる群から選択される、方法。

【請求項 2】

前記ステップ (1) が、非環式テルペニルニリン酸前駆体を、二環式ジテルペニルニリン酸シンターゼ活性を有するポリペプチドと接触させて、前記二環式ジテルペニルニリン酸前駆体を生成するステップをさらに含む、請求項 1 記載の方法。

10

【請求項 3】

前記二環式ジテルペニルニリン酸シンターゼ活性を有するポリペプチドが、
 a) 配列番号 34 にしたがうアミノ酸配列を含む S m C P S 2、
 b) 配列番号 40 にしたがうアミノ酸配列を含む T a T p s 1 - d e l 5 9、
 c) 配列番号 38 にしたがうアミノ酸配列を含む S s L P S、および
 d) 二環式ジテルペニルニリン酸シンターゼ活性を有し、かつ a)、b) および c) にしたがう前記アミノ酸配列のうちの少なくとも 1 つとの少なくとも 90 % の配列同一性の程度を示すアミノ酸配列を含むポリペプチド、
 から選択される、請求項 2 記載の方法。

20

【請求項 4】

生体触媒的に製造された前記二環式ジテルペンアルコールが、それぞれ実質的に純粋な立体異性体の形態または少なくとも 2 種の立体異性体の混合物の形態のいずれかのコパロールおよびラブデンジオールから選択される、請求項 1 から 3 までのいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 5】

ステップ (3) として、化学合成もしくは生体触媒合成またはその両方の組合せを用いた、前記ステップ (1) または前記ステップ (2) の前記二環式ジテルペンアルコールのアルコール誘導体への加工をさらに含む、請求項 1 から 4 までのいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 6】

前記アルコール誘導体が、炭化水素、アルコール、ジオール、トリオール、アセタール、ケタール、アルデヒド、酸、エーテル、アミド、ケトン、ラクトン、エポキシド、アセテート、グリコシドおよび / またはエステルである、請求項 5 記載の方法。

30

【請求項 7】

前記二環式ジテルペンアルコールを、生体触媒的に酸化させる、請求項 5 または 6 記載の方法。

【請求項 8】

前記二環式ジテルペンアルコールを、アルコールデヒドロゲナーゼ (A D H) と接触させることにより変換する、請求項 7 記載の方法。

【請求項 9】

前記 A D H が、
 a) 配列番号 42 にしたがうアミノ酸配列を含む C y m B ;
 b) 配列番号 44 にしたがうアミノ酸配列を含む A s p W e A D H 1 ;
 c) 配列番号 46 にしたがうアミノ酸配列を含む P s A e r o A D H 1 ;
 d) 配列番号 48 にしたがうアミノ酸配列を含む A z T o l A D H 1 ;
 e) 配列番号 50 にしたがうアミノ酸配列を含む A r o A r o A D H 1 ;
 f) 配列番号 52 にしたがうアミノ酸配列を含む T h T e r p A D H 1 ;
 g) 配列番号 54 にしたがうアミノ酸配列を含む C d G e o A ;
 h) 配列番号 56 にしたがうアミノ酸配列を含む V o A D H 1 ;
 i) 配列番号 68 にしたがうアミノ酸配列を含む S C H 2 3 - A D H 1

40

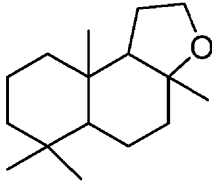
50

j) 配列番号 70 にしたがうアミノ酸配列を含む SCH24-ADH1a ; および
k) ADH 活性を有し、かつ a) ~ j) にしたがう前記アミノ酸配列のうちの少なくとも
1 つと少なくとも 90 % の配列同一性の程度を示すアミノ酸配列を含むポリペプチド
から選択される、請求項 8 記載の方法。

【請求項 10】

一般式

【化 1】



10

のアンブロックス様化合物の製造方法であって、

(i) 請求項 1 から 9 までのいずれか 1 項記載の方法を実施することでラブデンジオール
またはコパロール化合物を提供するステップと、

(ii) 化学合成および / または生化学合成を用いてステップ (i) の前記ラブデンジオール
またはコパロール化合物をアンブロックス様化合物に変換するステップと
を含む、方法。

20

30

40

50