

【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10月28日(2021.10.28)

【公表番号】特表2020-534806(P2020-534806A)

【公表日】令和2年12月3日(2020.12.3)

【年通号数】公開・登録公報2020-049

【出願番号】特願2020-512715(P2020-512715)

【国際特許分類】

C 12 N	1/19	(2006.01)
C 12 P	23/00	(2006.01)
C 12 N	1/15	(2006.01)
C 12 N	1/21	(2006.01)
C 12 N	1/13	(2006.01)
C 12 N	5/10	(2006.01)
C 12 N	9/10	(2006.01)
C 12 N	15/54	(2006.01)

【F I】

C 12 N	1/19	
C 12 P	23/00	Z N A
C 12 N	1/15	
C 12 N	1/21	
C 12 N	1/13	
C 12 N	5/10	
C 12 N	9/10	
C 12 N	15/54	

【手続補正書】

【提出日】令和3年9月17日(2021.9.17)

【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】

アシルトランスフェラーゼ[EC 2.3.1]活性を有する酵素を含むレチノール産生宿主細胞であって、前記宿主細胞により產生されるレチノイドの総量を基準として少なくとも20%の割合で長鎖レチニルエステルを產生する、レチノール産生宿主細胞。

【請求項2】

異種アシルトランスフェラーゼを含む、請求項1に記載の宿主細胞。

【請求項3】

前記宿主細胞が植物、真菌、藻類又は微生物から選択される、請求項1又は2に記載の宿主細胞。

【請求項4】

前記アシルトランスフェラーゼが植物、ヒトを含む動物、藻類、酵母を含む真菌、又は細菌から選択される、請求項1～3のいずれか一項に記載の宿主細胞。

【請求項5】

前記アシルトランスフェラーゼが、ヤロウイア属(Yarrowia)又はドロソフィラ属(Drosophila)から選択されるアシルトランスフェラーゼである、請求項

4に記載の宿主細胞。

【請求項6】

前記アシルトランスフェラーゼが、配列X M _ 5 0 2 5 5 7又は配列N M _ 1 3 5 9 6 9に従うアシルトランスフェラーゼに対して少なくとも60 %の同一性を有するポリペプチドから選択される、請求項5に記載の宿主細胞。

【請求項7】

前記長鎖レチニルエステルがさらにビタミンAに変換される、請求項1～6のいずれか一項に記載の宿主細胞。

【請求項8】

アシルトランスフェラーゼ [E C 2 . 3 . 1] の酵素活性によって長鎖レチニルエステルを含むレチノイドを生産するためのプロセスであって、レチノールを前記アシルトランスフェラーゼと接触させることを含み、前記長鎖レチニルエステル混合物中のトランス-アイソフォームのシス-アイソフォームに対する比率が少なくとも4である、プロセス。

【請求項9】

請求項1～7のいずれか一項に記載の宿主細胞を用いる、請求項8に記載のプロセス。

【請求項10】

(a) アシルトランスフェラーゼ [E C 2 . 3 . 1] をコードする核酸分子を適切なレチノール産生宿主細胞に導入するステップと、

(b) レチノールを、少なくとも4の比率のトランス-及びシス-レチニルエステルを含む長鎖レチニルエステル混合物に酵素変換するステップと、

(c) 適切な培養条件下で長鎖レチニルエステルをビタミンAに変換するステップとを含む、ビタミンAの生産プロセス。

【請求項11】

少なくとも4の比率のトランス-及びシス-レチニルエステルを含む長鎖レチニルエステル混合物を生産するためのアシルトランスフェラーゼ [E C 2 . 3 . 1] の使用であって、前記アシルトランスフェラーゼが適切なレチノール産生宿主細胞において異種発現される、使用。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 7 2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 7 2】

【表4】

表4:異種アシルトランスフェラーゼ酵素の作用により増強されたヤロウイア属(*Yarrowia*)におけるレチノイドの产生。「エステル%」は、レチノイド混合物中の長鎖レチニルエステルの割合を意味する。さらなる詳細については本文を参照されたい。

生物	受託番号	エステル 増大%	ML 菌株	MB プラスミド	配列番号 (aa/nt)
D.メラノガスター (<i>D.melanogaster</i>)	NM_135969	14%	17767	8299	3/4
Y.リポリティカ (<i>Y.lipolytica</i>)	XM_502557	20%	17767	8201	5/6
Y.リポリティカ (<i>Y.lipolytica</i>)	XM_504038	0	17767	8195	7/8
F.オキシスポラム (<i>F.oxysporum</i>)	EXK27040	10%	17767	8200	9/10