

【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】平成28年8月18日(2016.8.18)

【公表番号】特表2016-519952(P2016-519952A)

【公表日】平成28年7月11日(2016.7.11)

【年通号数】公開・登録公報2016-041

【出願番号】特願2016-516451(P2016-516451)

【国際特許分類】

C 1 2 P 19/28 (2006.01)

C 1 2 N 9/12 (2006.01)

C 1 2 N 9/10 (2006.01)

C 1 2 N 9/14 (2006.01)

C 1 2 N 9/88 (2006.01)

C 1 2 N 9/90 (2006.01)

【F I】

C 1 2 P 19/28 Z N A

C 1 2 N 9/12

C 1 2 N 9/10

C 1 2 N 9/14

C 1 2 N 9/88

C 1 2 N 9/90

【誤訳訂正書】

【提出日】平成28年6月13日(2016.6.13)

【誤訳訂正 1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

次のステップを含むシアル酸誘導体の製造方法：

(a) 単一の反応器で、シチジン 5' - リン酸 (CMP)、アセチルホスフェート、ヌクレオチドトリホスフェート (NTP)、N - アセチル - D - グルコサミン (GlcNAc)、ピルビン酸 (Sodium pyruvate)、及びガラクトース残基を含む化合物を基質として添加し、シチジン 5' - リン酸キナーゼ (CMK)、アセテートキナーゼ (ACK)、CMP - N - アセチルノイラミン酸合成酵素 (NEU)、N - アセチルグルコサミン - 2 - エピメラーゼ (NANE)、N - アセチルノイラミン酸アルドラーゼ (NAN) および配列番号 1 のアミノ酸配列を有する - 2, 3 - シアル酸転移酵素の 313 番目アミノ酸の R から N、H、T、もしくは Y への置換または配列番号 1 のアミノ酸配列を有する - 2, 3 - シアル酸転移酵素の 265 番目アミノ酸の T から N もしくは S への置換を含む - 2, 3 - シアル酸転移酵素変異体、あるいは配列番号 13 のアミノ酸配列を有する - 2, 6 - シアル酸転移酵素の 411 番目アミノ酸の I から T への置換または配列番号 13 のアミノ酸配列を有する - 2, 6 - シアル酸転移酵素の 433 番目アミノ酸の L から S もしくは T への置換を含む - 2, 6 - シアル酸転移酵素変異体を添加した反応液を反応させて、シアリルラクトースまたはガラクトース残基を含む化合物のシアル酸誘導体を製造するステップ；並びに

(b) 前記製造されたシアリルラクトースまたはガラクトース残基を含む化合物のシアル酸誘導体を取得するステップ。

【請求項 2】

前記 - 2 , 3 - シアル酸転移酵素は配列番号 2 ~ 6 のいずれか一つのアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 - 2 , 6 - シアル酸転移酵素は配列番号 14 ~ 18 のいずれか一つのアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記反応は 25 ~ 38 °C で行うことを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

反応液の pH は 7 ~ 9 であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記 N - アセチルグルコサミン - 2 - エピメラーゼ (N A N E) は配列番号 25 のアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記ガラクトース残基を含む化合物は、単糖、オリゴ糖、リンカー、フラボノイド、抗癌剤、抗生剤、免疫抑制剤および抗体で構成される群から選択される化合物のガラクトースを含む誘導体であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【誤訳訂正 2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0013

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0013】

前記目的を達成するために、本発明は、(a) 単一の反応器で、シチジン 5' - リン酸 (C y t i d i n e 5' - m o n o p h o s p h a t e 、 C M P) 、 N T P (N u c l e o t i d e t r i p h o s p h a t e) 、 ピルビン酸 (S o d i u m p y r u v a t e) 、 ガラクトース残基を含む化合物を基質として添加し、シチジン 5' - リン酸キナーゼ (c y t i d i n e 5' - m o n o p h o s p h a t e k i n a s e 、 C M K) 、 アセテートキナーゼ (a c e t a t e k i n a s e 、 A C K) 、 C M P - N - アセチルノイラミン酸合成酵素 (C M P - N e u A c s y n t h e t a s e 、 N E U) 、 N - アセチルグルコサミン - 2 - エピメラーゼ (G l c N A c - 2 - e p i m e r a s e 、 N A N E) 、 N - アセチルノイラミン酸アルドラーゼ (N e u A c a l d o l a s e 、 N A N) およびシアル酸転移酵素を添加した反応液を反応させて、シアリルラクトース (S i a l y l l a c t o s e) またはガラクトース残基を含む化合物のシアル酸誘導体を製造するステップと、(b) 前記製造されたシアリルラクトースまたはガラクトース残基を含む化合物のシアル酸誘導体を取得するステップと、を含むシアル酸誘導体の製造方法を提供する。

【誤訳訂正 3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0024

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0024】

本発明の一様態において、シアリルラクトースは、*in vitro* で安価の基質である N - アセチル - D - グルコサミン (G l c N A c) 、 ピルビン酸 (S o d i u m p y r u v a t e) 、 シチジン 5' - リン酸 (C M P) などからワンポット反応で生産する。7.5 mM / hr ~ 8.5 mM / hr の C M P - N - アセチルノイラミン酸の生成速度下でシアリルラクトースの転換率は、シチジン 5' - リン酸 (C M P) を基準として 650 % であり、N - アセチル - D - グルコサミン (G l c N A c) から 81 % である。98 % 以上の純度を有するシアリルラクトースの精製収率は 75 % である。In situ

のシチジン 5' - リン酸 (CMP) 再使用システムによるシアリルラクトース生産は、細胞抽出液酵素を利用して成功的行われた。

【誤訳訂正 4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0107

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0107】

反応混合液 [5 ~ 10 mM シチジン 5' - リン酸 (CMP、Shanghai QZU Bioscience & Biotechnology)、20 ~ 80 mM N - アセチル - D - グルコサミン (GlcNAc、Shanghai Jiubang Chemical)、40 ~ 120 mM ピルビン酸 (Sodium pyruvate、ZMC Inc)、40 ~ 120 mM ラクトース (Lactose、DMV Inc)、20 mM $MgCl_2 \cdot H_2O$ (Duksan)、1 mM NTP (sigma)、80 ~ 300 mM アセチルホスフェート (Acetyl phosphate、sigma)、50 mM Tris HCl バッファー (pH 7.0)、37 °C 2 M NaOH を使用して pH 6.5 ~ 8.0 維持] をシチジン 5' - リン酸キナーゼ (CMK)、アセテートキナーゼ (ACK)、N - アセチルノイラミン酸アルドラーゼ (NAN)、CMP - N - アセチルノイラミン酸シンテターゼ (NEU) および N - アセチルグルコサミン - 2 - エピメラーゼ (NANE)、2, 3 - シアル酸転移酵素 (PST2, 3 str313N) を混合した後、反応器で攪拌して 5 ~ 12 時間反応させた。

【誤訳訂正 5】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0113

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0113】

既存のツーポット方法は、反応混合液 [50 mM シチジン 5' - リン酸 (CMP)、100 mM N - アセチル - D - グルコサミン (GlcNAc)、100 mM ピルビン酸 (Sodium pyruvate)、20 mM $MgCl_2 \cdot H_2O$ 、1 mM NTP、300 mM アセチルホスフェート、50 mM Tris HCl バッファー (pH 7.0) 7 L、37 °C 2 M NaOH を使用して pH 6.5 ~ 8.0 維持] を前記実施例 2 で製造したシチジン 5' - リン酸キナーゼ (CMK)、アセテートキナーゼ (ACK)、N - アセチルノイラミン酸アルドラーゼ (NAN)、CMP - N - アセチルノイラミン酸シンテターゼ (NEU) および N - アセチルグルコサミン - 2 - エピメラーゼ (NANE) を混合した後、反応器で攪拌して 5 ~ 12 時間反応させて、CMP - N - アセチルノイラミン酸を合成した。

【誤訳訂正 6】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0118

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0118】

反応混合液 [5 ~ 10 mM シチジン 5' - リン酸 (CMP)、20 ~ 80 mM N - アセチル - D - グルコサミン (GlcNAc)、40 ~ 120 mM ピルビン酸 (Sodium pyruvate)、40 ~ 120 mM ガラクトース 20 mM $MgCl_2 \cdot H_2O$ 、1 mM NTP、80 ~ 300 mM アセチルホスフェート、50 mM Tris HCl バッファー (pH 7.0)、37 °C 2 M NaOH を使用して pH 6.5 ~ 8.0 維持] をシチジン 5' - リン酸キナーゼ (CMK)、アセテートキナーゼ (ACK)、N - アセチルノイラミン酸アルドラーゼ (NAN)、CMP - N - アセチルノイラミン

酸シンテターゼ (NEU) および N - アセチルグルコサミン - 2 - エピメラーゼ (NANE)、2, 3 - シアル酸転移酵素 (PST2, 3 st R313N) を混合した後、反応器で攪拌して 5 ~ 12 時間反応させた。

【誤訳訂正 7】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0121

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0121】

反応混合液 [5 ~ 10 mM シチジン 5' - リン酸 (CMP)、20 ~ 80 mM N - アセチル - D - グルコサミン (GlcNAc)、40 ~ 120 mM ピルビン酸 (Sodium pyruvate)、40 ~ 120 mM ガラクトース末端のアミノヘキシルリンカー、20 mM $MgCl_2 \cdot H_2O$ 、1 mM NTP、80 ~ 300 mM アセチルホスフェート、50 mM Tris HCl バッファー (pH 7.0)、37 2 M NaOH を使用して pH 6.5 ~ 8.0 維持] をシチジン 5' - リン酸キナーゼ (CMK)、アセテートキナーゼ (ACK)、N - アセチルノイラミン酸アルドラーゼ (NAN)、CMP - N - アセチルノイラミン酸シンテターゼ (NEU) および N - アセチルグルコサミン - 2 - エピメラーゼ (NANE)、2, 3 - シアル酸転移酵素をそれぞれ混合した後、反応器で攪拌して 5 ~ 12 時間反応させた。

【誤訳訂正 8】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0125

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0125】

反応混合液 [5 ~ 10 mM シチジン 5' - リン酸 (CMP)、20 ~ 80 mM N - アセチル - D - グルコサミン (GlcNAc)、40 ~ 120 mM ピルビン酸 (Sodium pyruvate)、40 ~ 120 mM フラボノイド CSH - I - 54 のラクトース誘導体、20 mM $MgCl_2 \cdot H_2O$ 、1 mM NTP、80 ~ 300 mM アセチルホスフェート、50 mM Tris HCl バッファー (pH 7.0)、37 2 M NaOH を使用して pH 6.5 ~ 8.0 維持] をシチジン 5' - リン酸キナーゼ (CMK)、アセテートキナーゼ (ACK)、N - アセチルノイラミン酸アルドラーゼ (NAN)、CMP - N - アセチルノイラミン酸シンテターゼ (NEU) および N - アセチルグルコサミン - 2 - エピメラーゼ (NANE)、2, 3 - シアル酸転移酵素をそれぞれ混合した後、反応器で攪拌して 5 ~ 12 時間反応させた。

【誤訳訂正 9】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0133

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0133】

反応混合液 [5 ~ 10 mM シチジン 5' - リン酸 (CMP)、20 ~ 80 mM N - アセチル - D - グルコサミン (GlcNAc)、40 ~ 120 mM ピルビン酸 (Sodium pyruvate)、40 ~ 120 mM タクロリムスガラクトース誘導体、20 mM $MgCl_2 \cdot H_2O$ 、1 mM NTP、80 ~ 300 mM アセチルホスフェート、50 mM Tris HCl バッファー (pH 7.0)、37 2 M NaOH を使用して pH 6.5 ~ 8.0 維持] をシチジン 5' - リン酸キナーゼ (CMK)、アセテートキナーゼ (ACK)、N - アセチルノイラミン酸アルドラーゼ (NAN)、CMP - N - アセチルノイラミン酸シンテターゼ (NEU) および N - アセチルグルコサミン - 2 - エピメラーゼ (NANE)、2, 3 - シアル酸転移酵素をそれぞれ混合した後、反応器で

攪拌して5～12時間反応させた。

【誤訳訂正10】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0140

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0140】

反応混合液 [5 ～ 10 mM シチジン 5' - リン酸 (CMP)、20 ～ 80 mM N - アセチル - D - グルコサミン (GlcNAc)、40 ～ 120 mM ピルビン酸 (Sodium pyruvate)、40 ～ 120 mM タキソールガラクトース誘導体、20 mM $MgCl_2 \cdot H_2O$ 、1 mM NTP、80 ～ 300 mM アセチルホスフェート、50 mM Tris HCl バッファー (pH 7.0)、37 2 M NaOH を使用して pH 6.5 ～ 8.0 維持] をシチジン 5' - リン酸キナーゼ (CMK)、アセテートキナーゼ (ACK)、N - アセチルノイラミン酸アルドラーゼ (NAN)、CMP - N - アセチルノイラミン酸シンテターゼ (NEU) および N - アセチルグルコサミン - 2 - エピメラーゼ (NANE)、2, 3 - シアル酸転移酵素をそれぞれ混合した後、反応器で攪拌して5～12時間反応させた。

【誤訳訂正11】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0147

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0147】

反応混合液 [5 ～ 10 mM シチジン 5' - リン酸 (CMP)、20 ～ 80 mM N - アセチル - D - グルコサミン (GlcNAc)、40 ～ 120 mM ピルビン酸 (Sodium pyruvate)、40 ～ 120 mM バンコマイシンガラクトース誘導体、20 mM $MgCl_2 \cdot H_2O$ 、1 mM NTP、80 ～ 300 mM アセチルホスフェート、50 mM Tris HCl バッファー (pH 7.0)、37 2 M NaOH を使用して pH 6.5 ～ 8.0 維持] をシチジン 5' - リン酸キナーゼ (CMK)、アセテートキナーゼ (ACK)、N - アセチルノイラミン酸アルドラーゼ (NAN)、CMP - N - アセチルノイラミン酸シンテターゼ (NEU) および N - アセチルグルコサミン - 2 - エピメラーゼ (NANE)、2, 3 - シアル酸転移酵素をそれぞれ混合した後、反応器で攪拌して5～12時間反応させた。