

【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、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 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 (NANE) 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、单糖、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 (Cytidine 5' - monophosphate, CMP)、NTP (Nucleotide triphosphate)、ピルビン酸 (Sodium pyruvate)、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 (cytidine 5' - monophosphate kinase, CMK)、アセテートキナーゼ (acetate kinase, ACK)、CMP - N - アセチルノイラミン酸合成酵素 (CMP - NeuAc synthetase, NEU)、N - アセチルグルコサミン - 2 - エピメラーゼ (GalNAc - 2 - epimerase, NANE)、N - アセチルノイラミン酸アルドラーーゼ (NeuAc aldolase, NAN) 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 (Sialyllactose) 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 (GalNAc)、ピルビン酸 (Sodium pyruvate)、シチジン 5' - リン酸 (CMP) 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 CMP - 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 (CMP) を基準として 650 % であり、N - アセチル - D - グルコサミン (GalNAc) 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 (C M P) 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に行われた。

【誤訛訂正 4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 0 7

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 0 7】

反応混合液 [5 ~ 1 0 m M シチジン 5' - リン酸 (C M P 、 S h a n g h a i Q Z U B i o s c i e n c e & B i o t e c h n o l o g y) 、 2 0 ~ 8 0 m M N - アセチル - D - グルコサミン (G l c N A c 、 S h a n g h a i J i u b a n g C h e m i c a l) 、 4 0 ~ 1 2 0 m M ピルビン酸 (S o d i u m p y r u v a t e 、 Z M C I n c) 、 4 0 ~ 1 2 0 m M ラクトース (L a c t o s e 、 D M V I n c) 、 2 0 m M M g c l₂ · H₂O (D u k s a n) 、 1 m M N T P (s i g m a) 、 8 0 ~ 3 0 0 m M アセチルホスフェート (A c e t y l p h o s p h a t e 、 s i g m a) 、 5 0 m M T r i s H C l バッファー (p H 7 . 0) 、 3 7 2 M N a O H を使用して p H 6 . 5 ~ 8 . 0 維持] をシチジン 5' - リン酸キナーゼ (C M K) 、 アセテートキナーゼ (A C K) 、 N - アセチルノイラミン酸アルドラーーゼ (N A N) 、 C M P - N - アセチルノイラミン酸シンテターゼ (N E U) および N - アセチルグルコサミン - 2 - エピメラーゼ (N A N E) 、 2 , 3 - シアル酸転移酵素 (P S T 2 , 3 s t R 3 1 3 N) を混合した後、反応器で攪拌して 5 ~ 1 2 時間反応させた。

【誤訛訂正 5】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 1 3

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 1 3】

既存のツーポット方法は、反応混合液 [5 0 m M シチジン 5' - リン酸 (C M P) 、 1 0 0 m M N - アセチル - D - グルコサミン (G l c N A c) 、 1 0 0 m M ピルビン酸 (S o d i u m p y r u v a t e) 、 2 0 m M M g c l₂ · H₂O 、 1 m M N T P 、 3 0 0 m M アセチルホスフェート、 5 0 m M T r i s H C l バッファー (p H 7 . 0) 7 L 、 3 7 2 M N a O H を使用して p H 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 (C M K) 、 アセテートキナーゼ (A C K) 、 N - アセチルノイラミン酸アルドラーーゼ (N A N) 、 C M P - N - アセチルノイラミン酸シンテターゼ (N E U) および N - アセチルグルコサミン - 2 - エピメラーゼ (N A N E) を混合した後、反応器で攪拌して 5 ~ 1 2 時間反応させて、 C M P - N - アセチルノイラミン酸を合成した。

【誤訛訂正 6】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 1 1 8

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 1 1 8】

反応混合液 [5 ~ 1 0 m M シチジン 5' - リン酸 (C M P) 、 2 0 ~ 8 0 m M N - アセチル - D - グルコサミン (G l c N A c) 、 4 0 ~ 1 2 0 m M ピルビン酸 (S o d i u m p y r u v a t e) 、 4 0 ~ 1 2 0 m M ガラクトース 2 0 m M M g c l₂ · H₂O 、 1 m M N T P 、 8 0 ~ 3 0 0 m M アセチルホスフェート、 5 0 m M T r i s H C l バッファー (p H 7 . 0) 、 3 7 2 M N a O H を使用して p H 6 . 5 ~ 8 . 0 維持] をシチジン 5' - リン酸キナーゼ (C M K) 、 アセテートキナーゼ (A C K) 、 N - アセチルノイラミン酸アルドラーーゼ (N A N) 、 C M P - 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(PST2,3st R313N)を混合した後、反応器で攪拌して5~12時間反応させた。

【誤訛訂正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[5~10mMシチジン5'-リン酸(CMP)、20~80mM N-アセチル-D-グルコサミン(GlcNAc)、40~120mMピルビン酸(Sodium pyruvate)、40~120mMガラクトース末端のアミノヘキシリリンカ-、20mM MgCl₂·H₂O、1mM NTP、80~300mMアセチルホスフェート、50mM Tris HCl バッファー(pH 7.0)、37 2M 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。

【誤訛訂正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[5~10mMシチジン5'-リン酸(CMP)、20~80mM N-アセチル-D-グルコサミン(GlcNAc)、40~120mMピルビン酸(Sodium pyruvate)、40~120mMフラボノイドCSH-I-54のラクトース誘導体、20mM MgCl₂·H₂O、1mM NTP、80~300mMアセチルホスフェート、50mM Tris HCl バッファー(pH 7.0)、37 2M 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。

【誤訛訂正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[5~10mMシチジン5'-リン酸(CMP)、20~80mM N-アセチル-D-グルコサミン(GlcNAc)、40~120mMピルビン酸(Sodium pyruvate)、40~120mMタクロリムスガラクトース誘導体、20mM MgCl₂·H₂O、1mM NTP、80~300mMアセチルホスフェート、50mM Tris HCl バッファー(pH 7.0)、37 2M 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[5～10mMシチジン5' - リン酸(CMP)、20～80mM N-アセチル-D-グルコサミン(GlcNAc)、40～120mMピルビン酸(Sodium pyruvate)、40～120mMタキソールガラクトース誘導体、20mM MgCl₂・H₂O、1mM NTP、80～300mMアセチルホスフェート、50mM Tris HCl バッファー(pH 7.0)、37 2M 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[5～10mMシチジン5' - リン酸(CMP)、20～80mM N-アセチル-D-グルコサミン(GlcNAc)、40～120mMピルビン酸(Sodium pyruvate)、40～120mMバンコマイシンガラクトース誘導体、20mM MgCl₂・H₂O、1mM NTP、80～300mMアセチルホスフェート、50mM Tris HCl バッファー(pH 7.0)、37 2M 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。