

【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20年12月11日 (2008.12.11)

【公表番号】特表2008-516637(P2008-516637A)

【公表日】平成20年5月22日 (2008.5.22)

【年通号数】公開・登録公報2008-020

【出願番号】特願2007-538145(P2007-538145)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 9/00 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 A

C 1 2 N 9/00

【手続補正書】

【提出日】平成20年10月17日 (2008.10.17)

【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】

直交アミノアシル tRNA シンテターゼ (O-RS) を含む組成物であって、前記 O-RS が N-アセチルガラクトサミン部分を含む非天然アミノ酸で直交 tRNA (O-tRNA) を優先的にアミノアシル化し、前記 O-RS が前記非天然アミノ酸と、前記 O-tRNA と、配列番号 1、2、3、4 及びその保存変異体から選択されるアミノ酸配列を含む O-RS を含む翻訳系で観察される効率の少なくとも 50% の効率で前記 O-tRNA を前記非天然アミノ酸でアミノアシル化する前記組成物。

【請求項 2】

前記 O-RS が野生型 *Methanococcus jannaschii* チロシル tRNA シンテターゼから誘導される請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

前記 O-RS が配列番号 1、2、3、4 に記載のアミノ酸配列及びその保存変異体から選択されるアミノ酸配列を含む請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 4】

非天然アミノ酸が N-アセチルガラクトサミン - - スレオニン又は N-アセチルガラクトサミン - - セリンを含む請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 5】

請求項 1 に記載の組成物をコードする核酸。

【請求項 6】

核酸が配列番号 6、7、8 又は 9 に記載のヌクレオチド配列を含む請求項 5 に記載の核酸。

【請求項 7】

請求項 5 に記載の核酸を含むベクターであって、場合により発現ベクターを含む前記ベクター。

【請求項 8】

請求項 7 に記載のベクターを含むか、又は請求項 5 に記載の核酸を含むベクターを含む細胞。

【請求項 9】

デフォルトパラメーターに設定した B L A S T を使用して決定した場合に配列番号 5 に対して少なくとも 70 % の配列一致度をもつ直交アミノアシル t R N A シンテターゼ ( O - R S ) のアミノ酸配列を含む組成物であって、アミノ酸配列が T y r 3 2 P h e、T y r 3 2 G l n、T y r 3 2 A l a、T y r 3 2 L e u、A l a 6 7 P r o、A l a 6 7 S e r、A l a 6 7 T h r、H i s 7 0 P r o、H i s 7 0 L y s、L e u 9 8 I l e、V a l 1 4 9 I l e、G l n 1 5 5 S e r、A s p 1 5 8 V a l、G l y 1 6 3 C y s 及び A l a 1 6 7 V a l から構成される群から選択される 1 種以上のアミノ酸置換を含む前記組成物。

【請求項 10】

選択位置に非天然アミノ酸をもつ蛋白質を翻訳系で生産する方法であって、

- a ) i ) N - アセチルガラクトサミン部分を含む非天然アミノ酸と；
- i i ) 少なくとも 1 個のセクターコドンを含み、前記蛋白質をコードする核酸と；
- i i i ) 前記セクターコドンを認識する直交 t R N A ( O - t R N A ) と；
- i v ) 前記グリコシル化アミノ酸と、前記 O - t R N A と、配列番号 1、2、3、4 及びその保存変異体から選択されるアミノ酸配列を含む O - R S を含む翻訳系で観察される効率の少なくとも 50 % の効率で O - t R N A を非天然アミノ酸で優先的にアミノアシル化する直交アミノアシル t R N A シンテターゼ ( O - R S ) を含む翻訳系を提供する段階と；
- b ) 蛋白質の翻訳中に前記核酸のセクターコドンの位置に対応する蛋白質の選択位置にグリコシル化アミノ酸を組み込むことにより、蛋白質を生産する段階を含む前記方法。

【請求項 11】

非天然アミノ酸を提供する前記段階が N - アセチルガラクトサミン - - スレオニン、3, 4, 6 - トリアセチル - N - アセチルガラクトサミン - - スレオニン、N - アセチルガラクトサミン - - セリン及び 3, 4, 6 - トリアセチル - N - アセチルガラクトサミン - - セリンから構成される群から選択されるアミノ酸を提供する段階を含む請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

翻訳系を提供する前記段階が前記 O - R S をコードするポリヌクレオチドを提供する段階を含むか、又は翻訳系を提供する前記段階が配列番号 1、2、3、4 に記載のアミノ酸配列及びその保存変異体から選択されるアミノ酸配列を含む O - R S を提供する段階を含む請求項 10 に記載の方法。

【請求項 13】

翻訳系を提供する前記段階が野生型 *M e t h a n o c o c c u s j a n n a s c h i i* チロシル t R N A シンテターゼから誘導される O - R S を提供する段階を含む請求項 10 に記載の方法。

【請求項 14】

翻訳系を提供する前記段階が前記 O - t R N A をコードするポリヌクレオチドを提供する段階を含む請求項 10 に記載の方法。

【請求項 15】

翻訳系を提供する前記段階が宿主細胞を提供する段階を含み、前記宿主細胞が前記非天然アミノ酸と、前記 O - R S と、前記 O - t R N A と、前記核酸を含み、宿主細胞を提供

する前記段階が大腸菌宿主細胞を提供する段階の場合により含み、前記組込み段階が前記宿主細胞を培養する段階を含む請求項 1 0 に記載の方法。

【請求項 1 6】

非天然アミノ酸を提供する前記段階が、O - t R N A をアミノアシル化する前又は非天然アミノ酸を蛋白質に組込む前に 3 , 4 , 6 - トリアセチル - N - アセチルガラクトサミン - - スレオニンを N - アセチルガラクトサミン - - スレオニンに変換する段階を含む請求項 1 0 に記載の方法。

【請求項 1 7】

( a ) N - アセチルガラクトサミン部分を含む非天然アミノ酸と；  
( b ) 直交アミノアシル t R N A シンテターゼ ( O - R S ) と；  
( c ) 直交 t R N A ( O - t R N A ) を含む翻訳系であって；  
前記 O - R S が前記非天然アミノ酸と、前記 O - t R N A と、配列番号 1、2、3、4 及びその保存変異体から選択されるアミノ酸配列を含む O - R S を含む翻訳系で観察される効率の少なくとも 5 0 % の効率で前記 O - t R N A を前記非天然アミノ酸でアミノアシル化する前記翻訳系。

【請求項 1 8】

前記非天然アミノ酸が N - アセチルガラクトサミン - - スレオニン、トリアセチル - N - アセチルガラクトサミン - - スレオニン、N - アセチルガラクトサミン - - セリン、及びトリアセチル - N - アセチルガラクトサミン - - セリンから構成される群から選択される請求項 1 7 に記載の翻訳系。

【請求項 1 9】

前記 O - R S が野生型 *M e t h a n o c o c c u s j a n n a s c h i i* チロシル t R N A シンテターゼから誘導されるか、又は前記 O - R S が配列番号 1、2、3、4 に記載の アミノ酸配列及びその保存変異体から選択されるアミノ酸配列を含む請求項 1 7 に記載の翻訳系。

【請求項 2 0】

前記 O - t R N A がアンバーサプレッサー t R N A である請求項 1 7 に記載の翻訳系。

【請求項 2 1】

該当蛋白質をコードする核酸を更に含み、前記核酸が少なくとも 1 個のセクターコドンを含み、前記セクターコドンが前記 O - t R N A により認識される請求項 1 7 に記載の翻訳系。

【請求項 2 2】

前記翻訳系が宿主細胞を含み、前記宿主細胞が前記非天然アミノ酸と、前記 O - R S と、前記 O - t R N A を含み、場合により前記宿主細胞が大腸菌細胞である請求項 1 7 に記載の翻訳系。

【請求項 2 3】

前記宿主細胞が前記 O - R S をコードするポリヌクレオチドを含む請求項 2 2 に記載の翻訳系。

【請求項 2 4】

前記ポリヌクレオチドが配列番号 6、7、8 又は 9 に記載のヌクレオチド配列を含む請求項 2 3 に記載の翻訳系。

【請求項 2 5】

前記宿主細胞が前記 O - t R N A をコードするポリヌクレオチドを含む請求項 2 3 に記載の翻訳系。