

【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9月29日(2016.9.29)

【公表番号】特表2016-503663(P2016-503663A)

【公表日】平成28年2月8日(2016.2.8)

【年通号数】公開・登録公報2016-009

【出願番号】特願2015-553830(P2015-553830)

【国際特許分類】

C 1 2 N	9/02	(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 P	7/02	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	9/02	Z N A
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10	
C 1 2 P	7/02	
C 1 2 N	15/00	A

【手続補正書】

【提出日】平成28年8月8日(2016.8.8)

【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】

SEQ ID NO: 57のアミノ酸配列に対して少なくとも90%の配列同一性を含む、バリアントアシル-ACPレダクターゼ(AAR)ポリペプチドであって、アミノ酸位置18にS18Wである突然変異を含み、且つアシル-ACPから脂肪アルデヒドへの変換を触媒する、AARポリペプチド。

【請求項2】

組換え宿主細胞におけるバリアントAARポリペプチドの発現が、対応する野生型宿主細胞における野生型AARポリペプチドの発現によって產生される力価と比較して、より高い力価の脂肪アルコール組成物をもたらす、請求項1記載のバリアントAARポリペプチド。

【請求項3】

脂肪アルコール組成物が、C12またはC14脂肪アルコール組成物である、請求項2記載のバリアントAARポリペプチド。

【請求項4】

アミノ酸8、16、21、24、31、34、35、43、50、63、86、112、113、116、118、120、135、148、153、154、155、157、159、168、172、187、188、191、209、210、211、236、277、281、283、285、291、324、328、335、337および338からなる群より選択されるアミノ酸位置に突然変異をさらに含む、請求項1~4のいずれか一項記載のバリアントAARポリペ

プチド。

【請求項 5】

突然変異が、L8A、D16L、M21L、D24E、D24Y、D24V、D24P、L31V、L31M、W34F、W35F、D43E、A50Q、C63A、C63G、C63Y、S86G、A112R、S113K、Q116G、R118Q、T120S、A135S、T148C、T148E、T148V、I153P、T154A、Q155C、Q155L、T157V、A159V、I168V、C172L、T187V、T188H、T188V、Q191A、L209R、E210Y、A211W、T236C、Q277V、A281L、E283G、E283S、A285V、M291V、A324T、A328S、Q335N、L337VおよびL338Wからなる群より選択される、請求項4記載のバリアントAARポリペプチド。

【請求項 6】

M21L突然変異、C63GA突然変異、S113K突然変異、T154A突然変異、A281L突然変異、またはL8A突然変異を含む、請求項5記載のバリアントAARポリペプチド。

【請求項 7】

(a) M21L突然変異、C63G突然変異、S113K突然変異、T154A、およびA281L突然変異をさらに含み、好ましくはSEQ ID NO: 58のアミノ酸配列を含む；

(b) L8A突然変異、M21L突然変異、C63G突然変異、S113K突然変異、T154A突然変異、およびA281L突然変異をさらに含み、好ましくはSEQ ID NO: 59のアミノ酸配列を含む；

(c) D16L突然変異、M21L突然変異、C63G突然変異、S113K突然変異、T154A突然変異、およびA281L突然変異をさらに含み、好ましくはSEQ ID NO: 60のアミノ酸配列を含む；

(d) L8A突然変異、D24V突然変異、C63G突然変異、S113K突然変異、Q155L突然変異、およびA281L突然変異をさらに含み、好ましくはSEQ ID NO: 61のアミノ酸配列を含む；

(e) D24P突然変異、L31M突然変異、C63G突然変異、S113K突然変異、T154A突然変異、およびA281L突然変異をさらに含み、好ましくはSEQ ID NO: 62のアミノ酸配列を含む；

(f) L8A突然変異、D16L突然変異、D24V突然変異、C63G突然変異、S113K突然変異、T154A突然変異、およびA281L突然変異をさらに含み、好ましくはSEQ ID NO: 63のアミノ酸配列を含む；または

(g) D24E突然変異、C63G突然変異、S113K突然変異、T154A突然変異、およびA281L突然変異をさらに含み、好ましくはSEQ ID NO: 64のアミノ酸配列を含む、請求項1~3のいずれか一項記載のバリアントAARポリペプチド。

【請求項 8】

請求項1~7のいずれか一項記載のバリアントAARポリペプチドを発現する組換え宿主細胞。

【請求項 9】

炭素源を含有する培地で、バリアントAARポリペプチドを発現させるのに有効な条件下で培養した時に、対応する野生型AARポリペプチドを発現する宿主細胞によって產生される脂肪アルコール組成物の力価を少なくとも10%上回る、少なくとも15%上回る、少なくとも20%上回る、少なくとも25%上回る、または少なくとも30%上回る力価の脂肪アルコール組成物を產生し、好ましくは脂肪アルコール組成物が細胞外に產生される、請求項8記載の組換え宿主細胞。

【請求項 10】

脂肪アルコール組成物が約30g/L~約250g/Lの力価で產生される、請求項9記載の組換え宿主細胞。

【請求項 11】

請求項8~10のいずれか一項記載の組換え宿主細胞を含む細胞培養物。

【請求項 12】

脂肪アルコール組成物が、C6、C8、C10、C12、C13、C14、C15、C16、C17、およびC18脂肪アルコールのうち1つまたは複数を含む、請求項11記載の細胞培養物。

【請求項 13】

脂肪アルコール組成物が、

(a) C10:1、C12:1、C14:1、C16:1、およびC18:1不飽和脂肪アルコールのうち1つまたは複数；

(b) 不飽和脂肪アルコール；

(c) 脂肪アルコールの還元末端からC<sub>7</sub>～C<sub>8</sub>の間の炭素鎖の位置7に二重結合を有する脂肪アルコール；または

(d) 飽和脂肪アルコール

を含む、請求項12記載の細胞培養物。

【請求項14】

力価の増大した脂肪アルコール組成物を生産する方法であって、

i. 請求項8記載の宿主細胞を炭素源とともに培養する段階；および

ii. 脂肪アルコール組成物を採取する段階

を含む方法。

【請求項15】

脂肪アルコール組成物の力価が、野生型AARを発現する宿主細胞によって産生される脂肪アルコール組成物の力価を少なくとも20%～30%上回る、請求項14記載の方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2016503663000001.app