

【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 29 年 4 月 20 日 (2017.4.20)

【公表番号】特表 2016-512692 (P2016-512692A)

【公表日】平成 28 年 5 月 9 日 (2016.5.9)

【年通号数】公開・登録公報 2016-027

【出願番号】特願 2016-502994 (P2016-502994)

【国際特許分類】

C 1 2 P 13/00 (2006.01)

C 1 2 P 13/16 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 9/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 P 13/00 Z N A

C 1 2 P 13/16

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 9/10

【手続補正書】

【提出日】平成 29 年 3 月 13 日 (2017.3.13)

【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】

操作されたペプチドシンターゼと、前記操作されたペプチドシンターゼのためのアミノ酸基質およびアシル実体基質とを、アシルアミノ酸組成物を作製するために十分な条件下および時間の間、接触させることによって、アシルアミノ酸組成物を作製する方法。

【請求項 2】

前記操作されたペプチドシンターゼが、アデニル化 (A) ドメイン、チオール化 (T) ドメイン、および縮合 (C) ドメインを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記操作されたペプチドシンターゼが、チオエステラーゼドメイン、および / またはレダクターゼドメインを欠く、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記操作されたペプチドシンターゼが、単一のペプチドシンターゼドメインのみを含有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記操作されたペプチドシンターゼが、リボペプチドを合成するペプチドシンターゼ中で第 1 のドメインとして見出されるペプチドシンターゼドメインであるか、またはそれを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

アシルアミノ酸組成物が、顕著な成分としてアシルアミノ酸を含み、そのアミノ酸部分がグリシンまたはグルタミン酸からなる群から選択されるアミノ酸由来であり、かつそのアシル部分が、ミリスチン酸および / またはラウリン酸からなる群から選択される脂肪酸

由来である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記接触させるステップが、少なくとも 1 つの操作されたペプチドシンターゼを発現するように操作された細胞を提供するステップを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

アシルアミノ酸を合成する少なくとも 1 つの操作されたペプチドシンターゼを発現するように操作された細胞。

【請求項 9】

操作されたペプチドシンターゼによって産生されたアシルアミノ酸組成物。

【請求項 10】

前記組成物中の前記アシルアミノ酸の実質的に全てが、同じアミノ酸成分を含有する、請求項 9 に記載の組成物。

【請求項 11】

前記組成物中のアシルアミノ酸が異なるアシル部分を含む、請求項 9 に記載の組成物。

【請求項 12】

生成物を調製する方法であって：

操作された微生物細胞中で調製されるアシルアミノ酸組成物を用意する、または得るステップと；

前記アシルアミノ酸組成物を特定のアシルアミノ酸について富化するステップと；

前記富化されたアシルアミノ酸組成物と少なくとも 1 つの他の成分とを組み合わせる生成物を産生するステップと；

を含む、方法。

【請求項 13】

単一のペプチドシンターゼドメインを含み、かつチオエステラーゼドメイン、および/またはレダクターゼドメインを欠く、操作されたペプチドシンターゼポリペプチドと：

前記ペプチドシンターゼポリペプチドのアミノ酸基質；および

前記ペプチドシンターゼポリペプチドのアシル部分基質と

を接触させるステップを含む、

前記接触させるステップが、前記操作されたペプチドシンターゼポリペプチドが、前記アシル部分基質からのアシル部分を前記アミノ酸へ共有結合し、その結果アシルアミノ酸が生成される条件下でかつ十分な時間行われる、方法。

【請求項 14】

前記操作されたペプチドシンターゼポリペプチドが細胞によって産生される、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記細胞が微生物細胞である、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記細胞が細菌細胞である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

前記接触させるステップが、前記細胞と前記基質とを接触させるステップを含む、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 18】

前記細胞が操作された細胞である、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 19】

前記ペプチドシンターゼポリペプチドが操作されたペプチドシンターゼポリペプチドであるという点で、前記細胞が操作されている、請求項 18 に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0012

## 【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0012】

本発明は、ある生成物を調製する方法であって、操作された宿主（例えば、微生物）細胞中で調製されたアシルアミノ酸組成物を用意する、または得るステップ；必要に応じて、アシルアミノ酸組成物を特定のアシルアミノ酸について富化するステップ；およびいくつかの実施形態では、この富化されたアシルアミノ酸組成物と、少なくとも1つの他の成分とを組み合わせ、ある生成物を生成するステップを含む、方法を提供する。

いくつかの実施形態では、本発明は、単一のペプチドシンターゼドメインを含み、かつチオエステラーゼドメイン、および/またはレダクターゼドメインのいずれかを欠く、操作されたペプチドシンターゼポリペプチドと、(i) ペプチドシンターゼポリペプチドのアミノ酸基質；および(ii) ペプチドシンターゼポリペプチドのアシル部分基質(substate)、とを接触させるステップを含み、この接触は、操作されたペプチドシンターゼポリペプチドが、アシル部分をアシル部分基質からアミノ酸へ共有結合し、その結果アシルアミノ酸が生成される条件下でかつ十分な時間行われる、方法を提供する。

特定の実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目1)

操作されたペプチドシンターゼと、前記操作されたペプチドシンターゼのためのアミノ酸基質およびアシル実体基質とを、アシルアミノ酸組成物を作製するために十分な条件下および時間の間、接触させることによって、アシルアミノ酸組成物を作製する方法。

(項目1A)

前記操作されたペプチドシンターゼが、アデニル化(A)ドメイン、チオール化(T)ドメイン、および縮合(C)ドメインを含む、項目1に記載の方法。

(項目1A1)

前記操作されたペプチドシンターゼが、チオエステラーゼドメイン、および/またはレダクターゼドメインを欠く、項目1または項目1Aに記載の方法。

(項目1A1a)

前記操作されたペプチドシンターゼが、単一のペプチドシンターゼドメインのみを含有する、項目1または項目1A1に記載の方法。

(項目1A2)

前記操作されたペプチドシンターゼが、リボペプチドを合成するペプチドシンターゼ中で第1のドメインとして見出されるペプチドシンターゼドメインであるか、またはそれを含む、項目1または項目1A1aに記載の方法。

(項目1B)

アシルアミノ酸組成物が、顕著な成分としてアシルアミノ酸を含み、そのアミノ酸部分がグリシンまたはグルタミン酸からなる群から選択されるアミノ酸由来であり、かつそのアシル部分が、ミリスチン酸および/またはラウリン酸からなる群から選択される脂肪酸由来である、項目1または項目1Aに記載の方法。

(項目1C)

前記接触させるステップが、少なくとも1つの操作されたペプチドシンターゼを発現するように操作された細胞を提供するステップを含む、先行する項目のいずれか1項に記載の方法。

(項目2)

アシルアミノ酸を合成する少なくとも1つの操作されたペプチドシンターゼを発現するように操作された細胞。

(項目3)

操作されたペプチドシンターゼによって産生されたアシルアミノ酸組成物。

(項目3B)

前記組成物中の前記アシルアミノ酸の実質的に全てが、同じアミノ酸成分を含有する、項目3に記載の組成物。

( 項目 3 C )

前記組成物中のアシルアミノ酸が異なるアシル部分を含む、項目 3 ~ 3 B のいずれか 1 項に記載の組成物。

( 項目 4 )

生成物を調製する方法であって：

操作された微生物細胞中で調製されるアシルアミノ酸組成物を用意する、または得るステップと；

前記アシルアミノ酸組成物を特定のアシルアミノ酸について富化するステップと；

前記富化されたアシルアミノ酸組成物と少なくとも 1 つの他の成分とを組み合わせる生成物を産生するステップと；

を含む、方法。

( 項目 5 )

単一のペプチドシンテターゼドメインを含み、かつチオエステラーゼドメイン、および / またはレダクターゼドメインを欠く、操作されたペプチドシンテターゼポリペプチドと

：

前記ペプチドシンテターゼポリペプチドのアミノ酸基質；および

前記ペプチドシンテターゼポリペプチドのアシル部分基質と

を接触させるステップを含み、

前記接触させるステップが、前記操作されたペプチドシンテターゼポリペプチドが、前記アシル部分基質からのアシル部分を前記アミノ酸へ共有結合し、その結果アシルアミノ酸が生成される条件下でかつ十分な時間行われる、方法。

( 項目 5 A )

前記操作されたペプチドシンテターゼポリペプチドが細胞によって産生される、項目 5 に記載の方法。

( 項目 5 A 1 )

前記細胞が微生物細胞である、項目 5 A に記載の方法。

( 項目 5 A 1 a )

前記細胞が細菌細胞である、項目 5 A 1 に記載の方法。

( 項目 5 A 2 )

前記接触させるステップが、前記細胞と前記基質とを接触させるステップを含む、項目 1 A、1 A 1、または 1 A 1 a のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 5 B )

前記細胞が操作された細胞である、項目 5 に記載の方法。

( 項目 1 C )

前記ペプチドシンテターゼポリペプチドが操作されたペプチドシンテターゼポリペプチドであるという点で、前記細胞が遺伝子操作されている、項目 5 B に記載の方法。