

【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テターゼと、前記操作されたペプチドシンテ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テターゼが、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テターゼが、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テターゼが、単一のペプチドシンテ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テターゼが、リポペプチドを合成するペプチドシンテターゼ中で第1のドメインとして見出されるペプチドシンテ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、顯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テ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テ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テ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て生成物を産生するステップと；

を含む、方法。

【請求項 13】

单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。

【請求項 14】

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、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て、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テ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テーゼポリペプチドと、(i)ペプチドシンテーゼポリペプチドのアミノ酸基質；および(ii)ペプチドシンテ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テ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テーゼと、前記操作されたペプチドシンテ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テーゼが、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テーゼが、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テーゼが、単一のペプチドシンテ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テーゼが、リポペプチドを合成するペプチドシンテーゼ中で第1のドメインとして見出されるペプチドシンテ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、顯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テ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テ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テーゼによって產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3C)

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3～3B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つて：

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て生成物を產生するステップと；

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  
を接觸させるステップを含み、

前記接觸させるステップが、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5A)

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產生される、項目5に記載の方法。

(項目5A1)

前記細胞が微生物細胞である、項目5Aに記載の方法。

(項目5A1a)

前記細胞が細菌細胞である、項目5A1に記載の方法。

(項目5A2)

前記接觸させるステップが、前記細胞と前記基質とを接觸させるステップを含む、項目1A、1A1、または1A1aのいずれか1項に記載の方法。

(項目5B)

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1C)

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5Bに記載の方法。