【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３部門第２区分
【発行日】平成30年6月7日(2018.6.7)

【公表番号】特表2016-512266(P2016-512266A)
【公表日】平成28年4月25日(2016.4.25)
【年通号数】公開・登録公報2016-025
【出願番号】特願2016-502436(P2016-502436)
【国際特許分類】
Ｃ０７Ｋ　1/14　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　9/24　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ０７Ｋ　1/14
Ｃ１２Ｎ　9/24

【誤訳訂正書】
【提出日】平成30年4月20日(2018.4.20)
【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】請求項１
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【請求項１】
目的のたんぱく質を発現する細菌細胞又は真菌から細胞内の目的たんぱく質を放出させる方法であって、
（ａ）細胞内の目的のたんぱく質を発現する細胞の培養物を提供するステップと；
（ｂ１）前記培養物を無機塩と接触させるステップ；前記添加された無機塩を含有する前記培養物を少なくとも１０分間、保持するステップ；前記添加された無機塩を含有する前記培養物をキレート剤に接触させるステップと；又は
（ｂ２）前記培養物を無機塩及びキレート剤に接触させるステップと；
（ｃ）前記添加された無機塩及び添加されたキレート剤を含有する前記培養物を少なくとも１０分間、保持するステップと；
（ｄ）選択的に、前記添加された無機塩及び添加されたキレート剤を含有する前記培養物のｐＨを４乃至９の間のｐＨに調節するステップと；そして選択的に、前記添加された無機塩及び添加されたキレート剤を含有する前記培養物を少なくとも１５分間、保持するステップと；
（ｅ）前記添加された無機塩及び添加されたキレート剤を含有する前記培養物を界面活性剤に接触させるステップと；
（ｆ）前記添加された無機塩、添加されたキレート剤、及び前記添加された界面活性剤を含有する前記培養物を少なくとも１時間、保持するステップと；
（ｇ）選択的に、前記添加された無機塩、添加されたキレート剤、及び前記添加された界面活性剤を含有する前記培養物の温度を下げるステップと；
（ｈ）前記添加された無機塩、添加されたキレート剤、及び前記添加された界面活性剤を含有する前記培養物を沈殿剤に接触させるステップと；
（ｉ）前記添加された無機塩、添加されたキレート剤、前記添加された界面活性剤、及び前記添加された沈殿剤を含有する前記培養物を少なくとも１時間、保持するステップと；
（ｊ）前記添加された無機塩、添加されたキレート剤、前記添加された界面活性剤、及び前記添加された沈殿剤を含有する前記培養物に、細胞片の実質的部分を取り除く方法を行うことで、目的のたんぱく質を含む組成物を提供するステップとを含み、
前記方法が、（ｉ）細胞の機械的破壊、（ｉｉ）培養培地の実質的全部を取り除くステ

ップ、及び（ｉｉｉ）細胞壁物質を分解する酵素の添加、から成る群から選択される少なくとも二つのステップを含まない、方法。
【誤訳訂正２】
【訂正対象書類名】特許請求の範囲
【訂正対象項目名】請求項２
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【請求項２】
前記方法が、（ｉ）細胞の機械的破壊、（ｉｉ）培養培地の実質的全部を取り除くステップ、及び（ｉｉｉ）細胞壁物質を分解する酵素の添加、から成る群から選択されるいずれのステップも含まない、請求項１に記載の方法。
【誤訳訂正３】
【訂正対象書類名】特許請求の範囲
【訂正対象項目名】請求項３
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【請求項３】
前記方法が、培養培地の実質的全部を取り除くステップを含まない、請求項１に記載の方法。
【誤訳訂正４】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】００１４
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【００１４】
本書類は、目的のたんぱく質を発現する細菌細胞又は真菌から目的のタンパク質を放出させる方法を提供させるものである。本方法は：（ａ）目的のたんぱく質を発現する細胞の培養物（例えば目的のたんぱく質を発現する細胞と、細胞が培養された成長培地）を提供するステップ；（ｂ）細胞の培養物を無機塩に接触させる（例えば無機塩を含む組成物を培養物に加えるなどにより）ステップ；（ｃ）少なくとも１０分間、添加された無機塩を含有する培養物を保持するステップ；（ｄ）添加された無機塩を含有する培養物をキレート剤に接触させる（例えばキレート剤を含む組成物を培養物に加えるなどにより）ステップ；（ｅ）添加された無機塩及び添加されたキレート剤を含有する培養物を少なくとも１０分間、保持するステップ；（ｆ）添加された無機塩及び添加されたキレート剤を含有する培養物のｐＨを、選択に応じて、４乃至９の間のｐＨに調節するステップ；（ｇ）ｐＨ調節後、添加された無機塩及び添加されたキレート剤を含有する培養物を少なくとも１５分間、保持するステップ；（ｈ）添加された無機塩及び添加されたキレート剤を含有する培養物を界面活性剤に接触させるステップ；（ｉ）添加された無機塩、添加されたキレート剤、及び添加された界面活性剤を含有する培養物を少なくとも１時間、保持するステップ；（ｊ）選択に応じて、添加された無機塩、添加されたキレート剤、及び添加された界面活性剤を含有する培養物の温度を下げるステップ；（ｋ）添加された無機塩、添加されたキレート剤、及び添加された界面活性剤を含有する培養物を沈殿剤に接触させるステップ；（ｌ）添加された無機塩、添加されたキレート剤、添加された界面活性剤、及び添加された沈殿剤を含有する培養物を少なくとも１時間、保持するステップ；及び（ｍ）添加された無機塩、添加されたキレート剤、添加された界面活性剤、及び添加された沈殿剤を含有する培養物に、細胞片の実質的な部分（例えば少なくとも９０％）を取り除く方法を行うステップ、を含む。本方法は、（ｉ）細胞の機械的破壊；（ｉｉ）添加前に培養培地の全て又は実質的にすべてを取り除くステップ、及び（ｉｉｉ）細胞壁物質を消化する酵素の添加、から成る群より選択される少なくとも二つのステップを含まない。場合によっては、本方法は、（ｉ）細胞の機械的破壊、（ｉｉ）培養培地の実質的全部を取り除

くステップ、及び（ｉｉｉ）細胞壁物質を消化する酵素の添加、のいずれをも含まない。上記の方法は更に、培養培地の一部又は実質的に全部を取り除くステップを含むことができる。

【誤訳訂正５】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】００２７
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【００２７】
目的のたんぱく質を発現する組換え細胞（例えばＥ．　ｃｏｌｉ）の培養は、最適なバイオマス及び／又は酵素力価収率を促進する条件下で行うことができる。このような条件には、例えば、バッチ、供給バッチ又は連続培養がある。更に、条件のパラメータへの変更も、ＤＡＳ１８１タンパク質の最適なバイオマス及び／又は酵素力価収率を促進することができる。このような条件には、例えば、培養培地中のグリセロール濃度及び高いｐＯ２がある。多量の　バイオマスの生成には、浸水式の好気性培養法を用いることができるが、少量であれば振盪フラスコで培養することができる。大型のタンクでの生成の場合、多数のより小さな接種物タンクを用いて、生成容器中でのラグタイムを抑えるのに充分なレベルまで接種材料を構築することができる。生体触媒の生成のための培地は一般的には（例えばオートクレーブにより）、細胞への接種前に滅菌される。培養物の通気及び撹拌は、機械的手段、無菌空気の同時添加、又は気泡反応器内で空気のみを添加することにより、達成することができる。例えば最適なバイオマスを促進するためのバイオ反応器内で、より多量のｐＯ２（溶解酸素）を培養中に用いることができる。更にそれを、バイオマス培養物中の最適な活　性たんぱく質発現を促進するためにも用いることができる。より高い部分的酸素圧力及び段階的グリセロール枯渇を含む、このような発酵パラメータの実施により、目的のたんぱ　く質の生成を増加させることができる。

【誤訳訂正６】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】００３６
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【００３６】
ホモジナイゼーション法による調製：一つのアリクォート（Ａ）を遠心分離して培養培地を取り除いた。ペレットになった細胞を５０ｍＭのリン酸カリウム及び　２００ｍＭ　ＮａＣｌ，ｐＨ８を含む緩衝液中に懸濁させ、その後、氷上で１５，０００ｐｓｉで二回のホモジナイゼーションを行った。次にホモジネート物を更なる加工まで周囲温度に維持した。次にホモジネート物を０．５％の最終濃度までポリエチレンイミン（ＰＥＩ；ストック１０％ＰＥＩ，ｐＨ８）で処理し、周囲温度に維持した。