

【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24年5月24日(2012.5.24)

【公表番号】特表2010-508843(P2010-508843A)

【公表日】平成22年3月25日(2010.3.25)

【年通号数】公開・登録公報2010-012

【出願番号】特願2009-536268(P2009-536268)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 1 D	7/42	(2006.01)
C 1 1 D	3/39	(2006.01)
C 1 1 D	7/18	(2006.01)
C 1 1 D	3/386	(2006.01)
C 1 2 N	9/16	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	1/15	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 1 1 D	7/42	
C 1 1 D	3/39	
C 1 1 D	7/18	
C 1 1 D	3/386	
C 1 2 N	9/16	Z
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/00	A

【誤訳訂正書】

【提出日】平成24年3月29日(2012.3.29)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0011

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0011】

ある実施態様において、本発明のペルヒドロラーゼ酵素は自然に発生するなペルヒドロラーゼ（言い換えると、細胞の遺伝子によりコードされる野生型ペルヒドロラーゼ）のアミノ酸配列に対して少なくとも80%同一性を有する。ある実施態様において、該酵素は自然に発生するなマイコバクテリウム・スマグマチス(M. smegmatis)（配列番2）に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を有する。ある実施態様において、ペルヒドロラーゼ酵素は配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むマイコバクテリウム・スマグマチス(M. smegmatis)ペルヒドロラーゼ中の位置と同等の位置のアミノ酸に少なくとも1つの置換を含み、前記少なくとも1つの置換基が12、22、59、153、154、194、196、及び204の位置から選択される。特に好みの実施態様において、酵素が次のアミノ酸置換のいずれか一つ又は組合せを含む。それは、12位においてGly、Pro、または、Gln、22位においてTrp、59位において

Pro、153位においてPro、154位においてThr、Ser、Val、またはGln、194位においてGly、196位においてSer、Gln、Val、Gly、Pro、Ile、またはHis、204位においてTyrまたはTrpであり、アミノ酸の位置は配列番号2のマイコバクテリウム・スマグマチス(M. smegmatis)ペルヒドロラーゼ中12、22、59、153、154、194、196、及び204の位置と位置的に同等である。他の実施態様において、酵素は次のアミノ酸を含む。それは、154位においてAlaと194位においてMet、154位においてGlyと194位においてVal、又は12位においてGlyと194位においてMet、154位においてThrと196位においてIle、12位においてGlnと154位においてVal、12位においてMetと154位においてGlu、12位においてGlyと154位においてGly、154位においてGluと194位においてSer、12位においてGlyと22位においてThp、又はそれらの任意の組合せであり、アミノ酸の位置は、配列番号2のマイコバクテリウム・スマグマチス(M. smegmatis)ペルヒドロラーゼ中12、22、59、153、154、194、196、及び204の位置と位置的に同等である。好ましい実施態様において、本発明のペルヒドロラーゼ酵素は、過加水分解対加水分解の比の値が少なくとも1であり、及び/又は配列番号2と比較して低い加水分解を有する。

#### 【誤訳訂正2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0012

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0012】

また、本発明は長鎖アシルエステル基質を加水分解する単離ペルヒドロラーゼ酵素の提供である。ある実施態様において、酵素は長鎖アシルエステル基質と過酸化物存在下、長鎖過酸を生成する。ある好ましい実施態様において、長鎖アシルエステル基質は少なくとも6個の炭素原子の鎖を含む。特に好ましい実施態様において、長鎖アシルエステル基質は少なくとも9個の炭素原子の鎖を含む。

#### 【誤訳訂正3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0076

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0076】

関連(及び誘導体)蛋白質は「変異蛋白質」を含む。ある実施態様において、少量のアミノ酸残基の数の違いによって変異蛋白質は親蛋白質と異なり、またお互いに異なる。異なるアミノ酸残基の数は一以上であってよく、好ましくは約1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、50、又はそれ以上のアミノ酸残基であってよい。好ましい実施態様において、変異体間の異なるアミノ酸の数は1及び10の間である。特に好ましい実施態様において、特に関連蛋白質及び変異蛋白質は少なくとも約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、約97%、約98%、または約99%のアミノ酸同一性を有する。加えて、本明細書にて用いる関連蛋白質又は変異蛋白質は、特徴的な領域のアミノ酸の数について別の関連蛋白質又は親蛋白質と異なる蛋白質をいう。例えば、ある実施態様において、変異蛋白質は約1、2、3、4、5、又は10個の特徴的な領域が親蛋白質と異なる。

#### 【誤訳訂正4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0102

【訂正方法】変更

**【訂正の内容】****【0102】**

本明細書で用いる「核酸配列同一性の割合(%)」とは、配列のヌクレオチド残基と同一性のある候補配列中のヌクレオチド残基の割合として定義される。

**【誤訳訂正5】****【訂正対象書類名】明細書****【訂正対象項目名】0106****【訂正方法】変更****【訂正の内容】****【0106】**

少なくとも2つの核酸又はポリペプチドの文脈での「実質的に同様の」及び「実質的に同一の」という語句は、通常ポリヌクレオチド又はポリペプチドが引用（例えば、野生型）の配列と比較して、少なくとも約40%の同一性、さらに好ましくは少なくとも約50%の同一性、もっと好ましくは少なくとも約60%の同一性、好ましくは少なくとも約75%の同一性、より好ましく少なくとも約80%の同一性、さらにもっと好ましくは少なくとも約90%の同一性、好ましくは約95%の同一性、好ましくは97%の同一性、時には98%と同じ程度、及び約99%の配列同一性を有する配列を含むことを意味する。標準パラメータ（例えば、Altschul, et al., J. Mol. Biol. 215: 403-410 [1990]; Henikoff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10915 [1989]; Karin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873 [1993]; 及び Higgins et al., Gene 73: 237-244 [1988]を参照）を用いるBLAST、ALIGN、及びCLUSTALのような周知のプログラムを用いて配列同一性を決定してよい。BLAST解析を行うためのソフトウェアは全米バイオテクノロジー情報センター（National Center for Biotechnology Information）を通じて誰でも入手可能である。またデータベースはFASTA（Pearson et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 2444-2448 [1988]）を用いて検索してもよい。二つのポリペプチドが実質的に同一であるとは第一のポリペプチドが第二のポリペプチドと免疫的に交差反応を有することが一つの指標である。典型的に、同類アミノ酸置換による異なるポリペプチドは免疫的に交差反応を有する。すなわち、例えば、同類アミノ酸置換よってのみ異なる二つのペプチドの場合、第一のポリペプチドは第二のポリペプチドと実質的に同一である。二つの核酸が実質的に同一であるとはストリンジエントな条件（例えば中間から高いストリンジエンシーの範囲内）下、2分子がお互いにハイブリダイズすることが別の指標となる。

**【誤訳訂正6】****【訂正対象書類名】明細書****【訂正対象項目名】0125****【訂正方法】変更****【訂正の内容】****【0125】**

さらに、本発明のあるペルヒドロラーゼ酵素は種々のアシル供与基質に対して活性を有し、低い基質濃度でも活性を有する。そして、過酸：酸の比が高いので効率的な過加水分解の手段を提供する。実際に、加水分解に対してより高い過加水分解の割合が高い漂白利用（例えば、すべて引用により本明細書に組み込まれるU.S. Patent No. 5,352,594, 5,108,457, 5,030,240, 3,974,082、及び5,296,616を参照）において好適であると認識されている。本発明のあるペルヒドロラーゼ酵素は過加水分解対加水分解の比が1より大きい比の値を有する。ある実施態様において、ペルヒドロラーゼ酵素は1より大きい過加水分解対加水分解の比の値を有し、漂白において有用である。

**【誤訳訂正 7】****【訂正対象書類名】**明細書**【訂正対象項目名】**0 1 3 4**【訂正方法】**変更**【訂正の内容】****【0 1 3 4】**

ある実施態様において、本発明のペルヒドロラーゼは、親酵素（例えば、設計された酵素が親酵素として用いる場合、微生物によってコードされた野生型酵素だが、本発明を種々の野生型酵素に限定すること意図していない）のアミノ酸配列に少なくとも約35%同一性を有するアミノ酸配列をもつ。ある実施態様において、本発明のペルヒドロラーゼは微生物の染色体によってコードされる野生型酵素に関係しているが、同じではない。特に好ましい実施態様において、本発明のペルヒドロラーゼは、親酵素（例えば、マイコバクテリウム・スメグマチス（*M. smegmatis*）の野生型ペルヒドロラーゼ、又はWO 05 / 056782に記載の変異体、又はWO 05 / 056782に記載のような、細菌の染色体によってコードされる自然に発生するアシルトランスフェラーゼ関連酵素）のアミノ酸に少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%、同一性を有するアミノ酸配列を有する。

**【誤訳訂正 8】****【訂正対象書類名】**明細書**【訂正対象項目名】**0 1 4 2**【訂正方法】**変更**【訂正の内容】****【0 1 4 2】**

好ましい実施態様において、長鎖過酸を提供する一以上のアミノ酸の改変は高い過加水分解対加水分解の比の値（例えば、1より大きい比の値）、及び低い過酸加水分解速度（例えば、配列番号2と比較して、0.8未満の過酸加水分解速度）を有するペルヒドロラーゼを提供する改変との組合せであり、その結果長鎖過酸を効率的に生成するペルヒドロラーゼ酵素を提供することができる。

**【誤訳訂正 9】****【訂正対象書類名】**明細書**【訂正対象項目名】**0 0 7 8**【訂正方法】**変更**【訂正の内容】****【0 0 7 8】**

ある実施態様において、所望の活性を有する酵素を生産するために相同蛋白質を設計する。特に好ましい実施態様において、設計された蛋白質はSGNH-ヒドロラーゼファミリー蛋白質の範囲に入る。ある実施態様において、設計された蛋白質は次の保存残基の少なくとも1つ又は組み合わせを含む。すなわち、L 6、W 1 4、W 3 4、L 3 8、R 5 6、D 6 2、L 7 4、L 7 8、H 8 1、P 8 3、M 9 0、K 9 7、G 1 1 0、L 1 1 4、L 1 3 5、F 1 8 0、G 2 0 5である。別の実施態様において、これらの設計された蛋白質はGDSL（配列番号28）及びGRTT（配列番号29）及び/又はARTT（配列番号30）のモチーフを含む。さらなる実施態様において、酵素はマルチマーであり、2量体、8量体及び4量体を含むが、これらに限定されない。さらに実施態様において、設計された蛋白質は過加水分解対加水分解の比の値が1より大きいことを示す。

**【誤訳訂正 10】****【訂正対象書類名】**明細書**【訂正対象項目名】**0 0 1 6

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0016】

さらに、本発明は本発明の少なくとも一つのペルヒドロラーゼを含む洗浄組成物の提供である。好ましい実施態様において、さらに洗浄組成物は長鎖アシルエステル基質と過酸化物の供給源を含み、それらとペルヒドロラーゼ酵素は長鎖過酸を生成する。ある実施態様において、洗浄組成物は、さらに少なくとも一つの界面活性剤を含む。ある実施態様において、洗浄組成物は洗濯洗剤である。