

【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30年5月17日(2018.5.17)

【公表番号】特表2017-511148(P2017-511148A)

【公表日】平成29年4月20日(2017.4.20)

【年通号数】公開・登録公報2017-016

【出願番号】特願2016-562915(P2016-562915)

【国際特許分類】

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)
C 1 2 P	21/02	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	15/00	(2006.01)

【F I】

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

【手続補正書】

【提出日】平成30年3月30日(2018.3.30)

【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】

目的タンパク質を製造するための組換え宿主細胞であって、配列番号：4、1、2、3、5、6、7、8、9、若しくは162又はその機能的相同体に示されるとおりのアミノ酸配列を有するヘルバータンパク質をコードするポリヌクレオチドを過剰発現するように改変されており、機能的相同体が、配列番号：4、1、2、3、5、6、7、8、9、又は162に示されるとおりのアミノ酸配列に対して少なくとも30%の配列同一性を有する、宿主細胞。

【請求項2】

前記ヘルバータンパク質又は前記のその機能的相同体が、改変する前の宿主細胞と比較して、モデルタンパク質SDZ-Fab(配列番号：25及び26)及び/又はHyHEL-Fab(配列番号：29及び30)の収量を増加させる、請求項1に記載の宿主細胞。

【請求項3】

前記ポリヌクレオチドが、前記宿主細胞のゲノム中に組み込まれるか又はベクター若しくはプラスミド中に含有される、請求項1又は2に記載の宿主細胞。

【請求項4】

ポリヌクレオチドの過剰発現が、(i)前記ポリヌクレオチドの発現を駆動する組換え

プロモーターを使用することによって、又は(i i)前記ポリヌクレオチドに作動可能に連結された制御配列を修飾することによって達成される、請求項1～3のいずれか一項に記載の宿主細胞。

【請求項5】

ピキア・パストリス(*Pichia pastoris*)、ハンゼヌラ・ポリモルファ(*Hansenula polymorpha*)、トリコデルマ・リーゼイ(*Trichoderma reesei*)、サッカロミセス・セレビシエ(*Saccharomyces cerevisiae*)、クルイベロミセス・ラクチス(*Kluyveromyces lactis*)、ヤロウイア・リポリティカ(*Yarrowia lipolytica*)、ピキア・メタノリカ(*Pichia methanolica*)、カンジダ・ボイジニイ(*Candida boidinii*)及びコマガタエラ(*Komagataella*)、及びシゾサッカロミセス・ポンベ(*Schizosaccharomyces pombe*)である、請求項1～4のいずれか一項に記載の宿主細胞。

【請求項6】

配列番号：4、1、2、3、5、6、7、8、9、若しくは162又はその機能的相同体から選択されるヘルパートンパク質の2、3、4、5、6、7、8以上が過剰発現される、請求項1～5のいずれか一項に記載の宿主細胞。

【請求項7】

配列番号：10、11及び/又は12に示されるとおりのアミノ酸配列に対して少なくとも50%の配列同一性を有するアミノ酸を有するタンパク質をコードする少なくとも1つのポリヌクレオチドを過小発現するように改変されている、請求項1～6のいずれか一項に記載の宿主細胞。

【請求項8】

目的タンパク質をコードする異種ポリヌクレオチド配列を含む、請求項1～7のいずれか一項に記載の宿主細胞。

【請求項9】

目的タンパク質が、酵素、治療用タンパク質、食品添加物若しくは飼料添加物、又は抗体若しくは抗体断片である、請求項8に記載の宿主細胞。

【請求項10】

以下のように改変される、請求項1～9のいずれか一項に記載の宿主細胞：

(i)配列番号：4又はその機能的相同体及び配列番号：2又はその機能的相同体に示されるとおりのアミノ酸配列を有するヘルパートンパク質をコードするポリヌクレオチドを過剰発現する、

(i i)配列番号：162又はその機能的相同体及び配列番号：2又はその機能的相同体に示されるとおりのアミノ酸配列を有するヘルパートンパク質をコードするポリヌクレオチドを過剰発現する、

(i i i)配列番号：1又はその機能的相同体及び配列番号：2又はその機能的相同体に示されるとおりのアミノ酸配列を有するヘルパートンパク質をコードするポリヌクレオチドを過剰発現し、かつ配列番号：10又はその機能的相同体に示されるとおりのアミノ酸を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチドを過小発現するようにさらに改変される、又は

(i v)配列番号：4又はその機能的相同体及び配列番号：1又はその機能的相同体に示されるとおりのアミノ酸配列を有するヘルパートンパク質をコードするポリヌクレオチドを過剰発現し、かつ配列番号：10又はその機能的相同体に示されるとおりのアミノ酸を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチドを過小発現するようにさらに改変される。

【請求項11】

目的タンパク質を製造するための、請求項1～10のいずれか一項に記載の宿主細胞の使用。

【請求項12】

宿主細胞における目的タンパク質の収量を増加させる方法であって、配列番号：4、1、2、3、5、6、7、8、9、若しくは162又はその機能的相同体に示されるとおり

のアミノ酸配列を有するヘルパートンパク質をコードするポリヌクレオチドを過剰発現させることを含み、機能的相同意体が、配列番号：4、1、2、3、5、6、7、8、9、又は162に示されるとおりのアミノ酸配列に対して少なくとも30%の配列同一性を有する、方法。

【請求項13】

以下を含む、宿主細胞における目的タンパク質の収量を増加させる方法：

- 宿主細胞を、配列番号：4、1、2、3、5、6、7、8、9、若しくは162又はその機能的相同意体に示されるとおりのアミノ酸配列を有するヘルパートンパク質をコードするポリヌクレオチドを過剰発現するように改変すること、ここで、機能的相同意体は、配列番号：4、1、2、3、5、6、7、8、9、又は162に示されるとおりのアミノ酸配列に対して少なくとも30%の配列同一性を有する、
- 前記宿主細胞において、目的タンパク質をコードする異種ポリヌクレオチドを組換えること、
- 前記宿主細胞を、ヘルパートンパク質又は機能的相同意体及び目的タンパク質を過剰発現するための好適な条件下で培養すること、並びに場合により
- 細胞培養物から目的タンパク質を単離すること。

【請求項14】

以下を含む、宿主細胞において目的タンパク質を製造する方法：

- 配列番号：4、1、2、3、5、6、7、8、9、若しくは162又はその機能的相同意体に示されるとおりのアミノ酸配列を有するヘルパートンパク質をコードするポリヌクレオチドを過剰発現するように改変された宿主細胞を提供すること（ここで、機能的相同意体は、配列番号：4、1、2、3、5、6、7、8、9、又は162に示されるとおりのアミノ酸配列に対して少なくとも30%の配列同一性を有し、ここで、前記宿主細胞は、目的タンパク質をコードする異種ポリヌクレオチドを含む）；
- 宿主細胞を、ヘルパートンパク質又は機能的相同意体を過剰発現するための及び目的タンパク質を発現するための好適な条件下で培養すること、並びに場合により
- 細胞培養物から目的タンパク質を単離すること。

【請求項15】

宿主細胞が、配列番号：10、11及び/又は12に示されるとおりのアミノ酸配列に対して少なくとも50%の配列同一性を有するアミノ酸を有するタンパク質をコードする少なくとも1つのポリヌクレオチドを過小発現するように改変されている、請求項12～14のいずれか一項に記載の方法。