

【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パ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】

前記ヘルパ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・セレビス (*Saccharomyces cerevisiae*)、クルイベロミセス・ラクチス (*Kluyveromyces lactis*)、ヤロウィア・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・ボンベ (*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タンパク質の 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、

(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、

(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タ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タ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タ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体に示されるとおりのアミノ酸配列を有するヘルパ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すること、ここで、機能的相同体は、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、ヘルパータンパク質又は機能的相同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体に示されるとおりのアミノ酸配列を有するヘルパ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た宿主細胞を提供すること（ここで、機能的相同体は、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、ヘルパータンパク質又は機能的相同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剰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。