【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18年8月24日(2006.8.24)

【公表番号】特表2005-534328(P2005-534328A)
【公表日】平成17年11月17日(2005.11.17)
【年通号数】公開・登録公報2005-045
【出願番号】特願2004-526841(P2004-526841)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｐ　13/22　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/09　(2006.01)
Ｃ１２Ｒ　1/19　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｐ　13/22　ＺＮＡＤ
Ｃ１２Ｎ　15/00　Ａ
Ｃ１２Ｐ　13/22　Ｄ
Ｃ１２Ｒ　1:19

【手続補正書】
【提出日】平成18年7月6日(2006.7.6)
【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】請求項１
【補正方法】変更
【補正の内容】
【請求項１】
Ｌ－３，４－ジヒドロキシフェニルアラニンが、Ｌ－チロシン－３－ヒドロキシ－モノ－オキシゲナーゼ活性を有し、かつグルコース又は別の炭素源を、発酵の間に還元剤を添加する必要なしに、ホスホエノールピルベート（ＰＥＰ）及びエリスロース４－ホスフェート（Ｅ４Ｐ）へと転化させ、ＰＥＰ及びＥ４ＰをＬ－フェニルアラニン、Ｌ－チロシン、及びＬ－トリプトファンへと転化させる能力を少なくとも有する組み換え微生物の好気性発酵により、発酵培地中で製造されるところのＬ－３，４－ジヒドロキシフェニルアラニンの製造方法であって、
（ｉ）Ｌ－３，４－ジヒドロキシフェニルアラニンが発酵培地において製造されるところの成長相及び製造相、及び
（ｉｉ）ダウンストリームプロセッシング相
を含む方法において、
Ｌ－３，４－ジヒドロキシフェニルアラニンが炭素源から製造されること、及び製造相及び／又はダウンストリームプロセッシング相の少なくとも一部の間、ｐＨが１～７の範囲であることを特徴とする方法。
【手続補正２】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】請求項７
【補正方法】変更
【補正の内容】
【請求項７】
組み換え微生物が、４－ヒドロキシフェニルアセテート３－ヒドロキシラーゼを過剰発現することを特徴とする、請求項１～６のいずれか１項に記載の方法。
【手続補正３】
【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】請求項８
【補正方法】変更
【補正の内容】
【請求項８】
組み換え微生物が、ＮＡＤ（Ｐ）Ｈ：ＦＡＤオキシドリダクターゼをコードする遺伝子をも過剰発現することを特徴とする、請求項１～７のいずれか１項に記載の方法。
【手続補正４】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】請求項１０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【請求項１０】
微生物がEscherichia coli W3110／pACYCtac aroF^{FBR} tyrA／ｐJF119EHhpaBhpaCであることを特徴とする、請求項１～９のいずれか１項に記載の方法。
【手続補正５】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０００５
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０００５】
この目的は、（請求項１のプレアンブルにおいて述べられた）Ｌ－３，４－ジヒドロキシフェニルアラニンの製造方法を提供することにより、本発明により達成され、該方法においてＬ－３，４－ジヒドロキシフェニルアラニンは、発酵の間に還元剤を添加する必要なしに炭素源から製造され、かつ製造相及び／又はダウンストリームプロセッシング相の少なくとも一部の間、ｐＨが１～７の範囲である。
【手続補正６】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００３０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００３０】
好ましくは、本発明に従う方法において、ＮＡＤ（Ｐ）Ｈ：ＦＡＤオキシドレダクターゼをコードする遺伝子をもまた発現する、好ましくは過剰発現する微生物が使用される。ＮＡＤ（Ｐ）Ｈ：ＦＡＤオキシドレダクターゼは４－ヒドロキシフェニルアセテート３－ヒドロキシラーゼの活性を向上させる（クサン等（２０００年）、Appl. Environ. Microbiol.、第６６巻、４８１～４８６ページ）。もし微生物がＮＡＤ（Ｐ）Ｈ：ＦＡＤオキシドレダクターゼをコードする遺伝子を自然の状態で有していないならば、あるいは遺伝子の発現が低すぎるならば、微生物は、この遺伝子を発現するように変化され得る。例えばもし遺伝子が自然の状態で、微生物に存在しないならば、ＮＡＤ（Ｐ）Ｈ：ＦＡＤオキシドレダクターゼをコードする遺伝子が適切なベクターにおいてクローン化されて微生物に導入されて、次に発現され得る。ＮＡＤ（Ｐ）Ｈ：ＦＡＤオキシドレダクターゼをコードする遺伝子は、例えばギャラン（Galan）等によりJ.Bacetiol.第１８２巻、６２７～６３６ページにおいて記載されており、例えばEscherichia coli ATCC11105BからのhpaC遺伝子、Escherichia coliのfre遺伝子、K.pneumoniからのhapH遺伝子、B. pickettiiからのhdaB遺伝子等である。
【手続補正７】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００３１
【補正方法】変更
【補正の内容】

【００３１】
好ましくは、４－ヒドロキシフェニルアセテート３－ヒドロキシラーゼ及びＮＡＤ（Ｐ）Ｈ：ＦＡＤオキシドレダクターゼをコードする遺伝子は、微生物において過剰発現される。過剰発現は当業者に公知の方法、例えば遺伝子の１以上の複製を微生物に導入すること（例えばマルチコピーベクター上に又は直接ゲノムに）、及び／又は該遺伝子の前に適切なプロモーターを置くことにより達成され得る。