

【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25年1月10日(2013.1.10)

【公開番号】特開2010-148502(P2010-148502A)

【公開日】平成22年7月8日(2010.7.8)

【年通号数】公開・登録公報2010-027

【出願番号】特願2009-268783(P2009-268783)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	9/12	(2006.01)
C 1 2 N	1/15	(2006.01)
C 1 2 N	1/19	(2006.01)
C 1 2 N	1/21	(2006.01)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)
C 1 2 P	19/00	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
C 1 2 N	9/12	
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/00	1 0 1
C 1 2 P	19/00	

【手続補正書】

【提出日】平成24年11月20日(2012.11.20)

【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】

下記の理化学的性質を有する - ホスホグルコムターゼ。

(1) 作用

D-グルコース-6-リン酸を - D-グルコース-1-リン酸に変換し、 - D-グルコース-1-リン酸を D-グルコース-6-リン酸に変換する；

(2) 分子量

SDS-ゲル電気泳動法において、25,000±5,000ダルトン；

(3) 至適温度

10 mM の Mg<sup>2+</sup> イオン存在下、pH 6.5、30分間反応の条件下で 65；

(4) 至適 pH

10 mM の Mg<sup>2+</sup> イオン存在下、5.5、30分間反応の条件下で pH 6.5；

(5) 温度安定性

10 mM の Mg<sup>2+</sup> イオン存在下、pH 6.5、30分間保持する条件下で 60 まで安定；

(6) pH 安定性

10 mM の Mg<sup>2+</sup> イオン存在下、3.7、24時間保持する条件下で pH 4.5 乃至 9.0 の範囲で安定；及び

(7) 金属イオンによる活性化

$Mg^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ 、 $Co^{2+}$ イオンにより活性化される；

【請求項2】

配列表における配列番号1に記載のアミノ酸配列か、当該アミノ酸配列において1個以上10個未満のアミノ酸残基が置換、欠失又は付加したアミノ酸配列を有する請求項1記載の - ホスホグルコムターゼ。

【請求項3】

請求項2記載の - ホスホグルコムターゼをコードするDNA。

【請求項4】

DNAが、配列表における配列番号2に記載の塩基配列か、遺伝暗号の縮重に基づきコードするアミノ酸配列を変えることなく配列表における配列番号2に記載の塩基配列における塩基の1個又は2個以上が他の塩基に置換した塩基配列、又は、それらの塩基配列に相補的な塩基配列を有するDNAである請求項3記載のDNA。

【請求項5】

請求項3又は4記載のDNAと自律複製可能なベクターDNAとを含んでなる組換えDNA。

【請求項6】

請求項5記載の組換えDNAを適宜の宿主に導入して得られる形質転換体。

【請求項7】

請求項1又は2記載の - ホスホグルコムターゼ産生能を有する微生物を栄養培地で培養し、培養物から產生した - ホスホグルコムターゼを採取することを特徴とする - ホスホグルコムターゼの製造方法。

【請求項8】

微生物が、請求項6記載の形質転換体である請求項7記載の - ホスホグルコムターゼの製造方法。

【請求項9】

下記の工程を含んでなるオリゴ糖の製造方法。

(1) 請求項1又は2記載の - ホスホグルコムターゼをD-グルコース-6-リン酸に作用させて - D-グルコース-1-リン酸に変換する工程；

(2) 得られる - D-グルコース-1-リン酸を二糖類ホスホリラーゼの共存下でグルコースと反応させオリゴ糖を生成させる工程；及び

(3) 得られるオリゴ糖を採取する工程；

【請求項10】

二糖類ホスホリラーゼが、トレハロースホスホリラーゼ又はコージビオースホスホリラーゼである請求項9記載のオリゴ糖の製造方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0010

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0010】

- PGMは、 - G1PとG6Pの相互変換を触媒する酵素である。本発明の - PGMとは、具体的には下記の理化学的性質を有する酵素を意味する。

(1) 作用

G6Pを - G1Pに変換し、 - G1PをG6Pに変換する；

(2) 分子量

SDS-ゲル電気泳動法において、25,000±5,000ダルトン；

(3) 至適温度

10mMの $Mg^{2+}$ イオン存在下、pH6.5、30分間反応の条件下で65；

(4) 至適pH

10 mM の Mg<sup>2+</sup> イオン存在下、55℃、30分間反応の条件下で pH 6.5；  
(5) 温度安定性

10 mM の Mg<sup>2+</sup> イオン存在下、pH 6.5、30分間保持する条件下で 60℃ まで  
安定；

(6) pH 安定性

10 mM の Mg<sup>2+</sup> イオン存在下、37℃、24時間保持する条件下で pH 4.5 乃至  
9.0 の範囲で安定；

(7) 金属イオンによる活性化

Mg<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>、Co<sup>2+</sup> イオンにより活性化される；