

【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22年5月13日(2010.5.13)

【公開番号】特開2008-283917(P2008-283917A)
 【公開日】平成20年11月27日(2008.11.27)
 【年通号数】公開・登録公報2008-047
 【出願番号】特願2007-132998(P2007-132998)
 【国際特許分類】

C 1 2 P 7/56 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 P 7/56 Z N A

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】
 【提出日】平成22年3月26日(2010.3.26)

【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】

カエル由来の L-乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子を導入した酵母を用いた発酵による L-乳酸の製造方法であって、二価イオンの水酸化物を用いる乳酸の製造方法。

【請求項 2】

二価イオンの水酸化物が、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウム、水酸化銅(二価)、水酸化バナジウム、水酸化ニッケル、水酸化バリウム、水酸化ストロンチウム、水酸化カドミウム、水酸化ベリリウム、水酸化亜鉛、水酸化コバルト、水酸化鉄から選ばれる少なくとも 1 種類である、請求項 1 に記載の乳酸の製造方法。

【請求項 3】

カエル由来の L-乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子が、ゼノプス・レービス(Xenopus laevis)由来の L-乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子である、請求項 1 または 2 に記載の乳酸の製造方法。

【請求項 4】

カエル由来の L-乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子が配列番号 1 に示す核酸配列を有する遺伝子である、請求項 1 ～ 3 のいずれかに記載の乳酸の製造方法。

【請求項 5】

カエル由来の L-乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子が、該 L-乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子の発現を可能とするプロモーターの下流に導入されている、請求項 1 ～ 4 のいずれかに記載の乳酸の製造方法。

【請求項 6】

カエル由来の L-乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子が、染色体上のピルビン酸脱炭酸酵素 1 遺伝子のプロモーターの下流に発現可能な状態で導入されている、請求項 1 ～ 5 のいずれかに記載の乳酸の製造方法。

【請求項 7】

酵母が、サッカロミセス(Saccharomyces)属に属する、請求項 1 ～ 6 のいずれかに記載の乳酸の製造方法。

【請求項 8】

乳酸の製造方法で使用する乳酸生産培地が、シュクロース、フラクトース、グルコース、ガラクトース、ラクトース、マルトースから選ばれる少なくとも１種類を含む乳酸生産培地である、請求項１～７のいずれかに記載の乳酸の製造方法。

【請求項９】

乳酸の製造方法で使用する乳酸生産培地が、デンプン、及び、デンプン加水分解物、甘藷糖蜜、甜菜糖蜜、ハイテストモラセス、ケーンジュース、ケーンジュース抽出物または濃縮液、ケーンジュースからの精製または結晶化された原料糖、ケーンジュースからの精製または結晶化された精製糖、酢酸等の有機酸、エタノールなどのアルコール類、グリセリンから選ばれる少なくとも１種類を含む乳酸生産培地である、請求項１～８のいずれかに記載の乳酸の製造方法。

【手続補正２】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】０００７

【補正方法】変更

【補正の内容】

【０００７】

本発明者は、上記課題を解決するため鋭意研究を行った結果、カエル由来のＬ－乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子を導入した酵母を用いた発酵によるＬ－乳酸の製造方法であって、二価イオンの水酸化物を用いる乳酸の製造方法による低コストで生産性や収率を向上させる乳酸の製造し得ることを見出し、本発明を完成するに至った。

【手続補正３】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】０００９

【補正方法】変更

【補正の内容】

【０００９】

本発明の乳酸の製造方法は、二価イオンの水酸化物を用いる乳酸の製造方法である。本発明の乳酸の製造方法では、二価イオンの水酸化物は、通常、発酵液の中和操作に用いられる。

【手続補正４】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】００２５

【補正方法】削除

【補正の内容】

【手続補正５】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】００２７

【補正方法】変更

【補正の内容】

【００２７】

本発明において、乳酸脱水素酵素遺伝子（ldh遺伝子）とは、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NADH）とピルビン酸を乳酸と酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NAD⁺）に変換する活性を持つ乳酸脱水素酵素をコードしている遺伝子である。

【手続補正６】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0029

【補正方法】 削除

【補正の内容】

【手続補正7】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0030

【補正方法】 削除

【補正の内容】

【手続補正8】

【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】

本発明で使用するカエル由来のL-乳酸脱水素酵素遺伝子として、例えば、アオガエル科 (Rhacophoridae)、アカガエル科 (Ranidae)、アマガエル科 (Hylidae)、ジムグリガエル科 (Microhylidae)、ヒキガエル科 (Bufonidae)、クサガエル科 (Hyperoliidae)、スキアシガエル科 (Pelobatinae)、スズガエル科 (Discoglossidae)、コモリガエル科 (Pipidae) に属する L-乳酸脱水素酵素遺伝子 が挙げられる。これらの中でも、コモリガエル科 (Pipidae) に属する L-乳酸脱水素酵素遺伝子 を用いることが好ましく、コモリガエル科 に属する カエル の中でも、入手が容易であるゼノプス・レービス由来の L-乳酸脱水素酵素遺伝子 であることが好ましい。

【手続補正9】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0032

【補正方法】 削除

【補正の内容】

【手続補正10】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0033

【補正方法】 削除

【補正の内容】

【手続補正11】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0034

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【0034】

本発明で好ましく使用する カエル由来のL-乳酸脱水素酵素遺伝子 は、配列番号1 に示す核酸配列を有する遺伝子である。

【手続補正12】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0035

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【0035】

本発明の乳酸の製造方法では、カエル由来のL-乳酸脱水素酵素 をコードする遺伝子は

、該 L ー乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子の発現を可能とするプロモーターの下流に導入されていることが、より好ましい。さらに、本発明の乳酸の製造方法では、カエル由来の L ー乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子が、染色体上のピルビン酸脱炭酸酵素 1 遺伝子のプロモーターの下流に発現可能な状態で導入されているより好ましい。