

【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 17 年 4 月 7 日 (2005.4.7)

【公開番号】特開 2004-194588 (P2004-194588A)  
 【公開日】平成 16 年 7 月 15 日 (2004.7.15)  
 【年通号数】公開・登録公報 2004-027  
 【出願番号】特願 2002-368360 (P2002-368360)  
 【国際特許分類第 7 版】

C 1 2 N 15/09

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

C 1 2 N 9/88

C 1 2 P 13/00

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 9/88

C 1 2 P 13/00

C 1 2 N 5/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成 16 年 5 月 19 日 (2004.5.19)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】請求項 4 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項 4 8】

前記ニトリルヒドラターゼの サブユニットをコードする遺伝子が、配列番号：3 の塩基配列または請求項 1 3 ~ 1 7 のいずれかに記載の遺伝子である請求項 4 7 に記載のプラスミド。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】請求項 4 9

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項 4 9】

前記ニトリルヒドラターゼの サブユニットをコードする遺伝子が、配列番号：4 の塩基配列または請求項 1 8 ~ 2 2 のいずれかに記載の遺伝子である請求項 4 7 または 4 8 に記載のプラスミド。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 5 2 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【 0 5 2 4 】

【 表 1 1 4 】

表 1 1 4

クローン番号	変異箇所	アミノ酸配列の変化		塩基配列の変化	
		野生型	変異体	野生型	変異体
No. 114	$\alpha$ -6 番目	L e u	T h r	CTG	ACG
	$\alpha$ -19 番目	A l a	V a l	GCG	GTG
	$\alpha$ -126 番目	P h e	T y r	TTC	TAC
	$\beta$ -48 番目	L e u	V a l	CTG	GTG
	$\beta$ -108 番目	G l u	A r g	GAG	CGG
	$\beta$ -212 番目	S e r	T y r	TCC	TAC

【 実施例 7 5 】 ニトリルヒドラターゼ活性を保持したアミノ酸置換体の取得 ( 1 1 5 )

クローン No. 35 のアミノ酸変異とクローン No. 112 のアミノ酸変異を共に有しているアミノ酸置換体においてもニトリルヒドラターゼ活性が保持されていることを確認した。

【 手続補正 4 】

【 補正対象書類名 】 明細書

【 補正対象項目名 】 0 5 3 0

【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【 0 5 3 0 】

【 表 1 1 5 】

表 1 1 5

クローン番号	変異箇所	アミノ酸配列の変化		塩基配列の変化	
		野生型	変異体	野生型	変異体
No. 115	$\alpha$ -6 番目	L e u	A l a	CTG	GCG
	$\alpha$ -19 番目	A l a	V a l	GCG	GTG
	$\alpha$ -126 番目	P h e	T y r	TTC	TAC
	$\beta$ -127 番目	L e u	S e r	CTG	TCG
	$\beta$ -160 番目	A r g	T r p	CGG	TGG
	$\beta$ -186 番目	L e u	A r g	CTG	CGG

【 実施例 7 6 】 ニトリルヒドラターゼ活性を保持したアミノ酸置換体の取得 ( 1 1 6 )

クローン No. 103 のアミノ酸変異とクローン No. 106 のアミノ酸変異を共に有しているアミノ酸置換体においてもニトリルヒドラターゼ活性が保持されていることを確認した。

【 手続補正 5 】

【 補正対象書類名 】 明細書

【 補正対象項目名 】 0 5 3 6

【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【 0 5 3 6 】

【 表 1 1 6 】

表 1 1 6

クローン番号	変異箇所	アミノ酸配列の変化		塩基配列の変化	
		野生型	変異体	野生型	変異体
No. 116	$\alpha$ -6 番目	L e u	T h r	CTG	ACG
	$\alpha$ -36 番目	T h r	M e t	ACG	ATG
	$\alpha$ -126 番目	P h e	T y r	TTC	TAC
	$\beta$ -10 番目	T h r	A s p	ACC	GAC
	$\beta$ -118 番目	P h e	V a l	TTC	GTC
	$\beta$ -200 番目	A l a	G l u	GCC	GAC

【 実施例 7 7 】 ニトリルヒドラーゼ活性を保持したアミノ酸置換体の取得 ( 1 1 7 )

クローン No. 104 のアミノ酸変異とクローン No. 107 のアミノ酸変異を共に有しているアミノ酸置換体においてもニトリルヒドラーゼ活性が保持されていることを確認した。

【 手続補正 6 】

【 補正対象書類名 】 明細書

【 補正対象項目名 】 0 5 4 2

【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【 0 5 4 2 】

【 表 1 1 7 】

表 1 1 7

クローン番号	変異箇所	アミノ酸配列の変化		塩基配列の変化	
		野生型	変異体	野生型	変異体
No. 117	$\alpha$ -19 番目	A l a	V a l	GCG	GTG
	$\alpha$ -71 番目	A r g	H i s	CGT	CAT
	$\alpha$ -126 番目	P h e	T y r	TTC	TAC
	$\beta$ -37 番目	P h e	L e u	TTC	CTC
	$\beta$ -108 番目	G l u	A s p	GAG	GAT
	$\beta$ -200 番目	A l a	G l u	GCC	GAC

【 実施例 7 8 】 ニトリルヒドラーゼ活性を保持したアミノ酸置換体の取得 ( 1 1 8 )

クローン No. 104 のアミノ酸変異とクローン No. 108 のアミノ酸変異を共に有しているアミノ酸置換体においてもニトリルヒドラーゼ活性が保持されていることを確認した。