【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8月4日(2005.8.4)

【公開番号】特開2002-330791(P2002-330791A)
【公開日】平成14年11月19日(2002.11.19)
【出願番号】特願2002-5090(P2002-5090)
【国際特許分類第７版】
　Ｃ１２Ｎ　15/09
　Ｃ０７Ｋ　19/00
　Ｃ１２Ｎ　 9/04
　Ｃ１２Ｎ　 9/88
　Ｃ１２Ｐ　13/00
【ＦＩ】
　Ｃ１２Ｎ　15/00　　ＺＮＡＡ
　Ｃ０７Ｋ　19/00
　Ｃ１２Ｎ　 9/04　　Ｄ
　Ｃ１２Ｎ　 9/88
　Ｃ１２Ｐ　13/00

【手続補正書】
【提出日】平成17年1月5日(2005.1.5)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】特許請求の範囲
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
ヒドロキシニトリルリアーゼをコードするＤＮＡ配列を含有する新規遺伝子であって、当該遺伝子が、アメリカザクラ（Ｐｒｕｎｕｓ　Ｓｅｒｏｔｉｎａ）およびアーモンド（Ｐｒｕｎｕｓ　ａｍｙｇｄａｌｕｓ）に由来するｍｄｌ遺伝子の５'領域のＤＮＡ配列に基づくプライマーの組み合わせ及び（又は）アメリカザクラ又はアーモンドに由来するヒドロキシニトリルリアーゼイソ酵素の一つのＤＮＡ配列の３'領域に基づくプライマー２を作成し、これを生物から得られる、ヒドロキシニトリルリアーゼをコードする遺伝子を含有するＤＮＡをテンプレートとしてＤＮＡポリメラーゼを用いて増幅し、クローニングすることによって調製される、上記遺伝子。
【請求項２】
アーモンドＭＤＬ１遺伝子の配列およびアメリカザクラｍｄｌ遺伝子の一つの配列に基づくプライマーから、増幅およびクローニングによって調製することができる、請求項１記載の新規遺伝子。
【請求項３】
アメリカザクラｍｄｌ５遺伝子の配列およびアーモンドＭＤＬ１遺伝子の配列に基づくプライマーから、増幅およびクローニングによって調製することができ、図１記載のヌクレオチド配列を持つか、または図１記載のヌクレオチド配列と少なくとも８０％同一である、請求項１記載の新規遺伝子。
【請求項４】
アメリカザクラｍｄｌ１遺伝子の配列に基づくプライマーから、増幅およびクローニングによって調製することができ、図８記載のヌクレオチド配列を持つか、または図８記載のヌクレオチド配列と少なくとも８０％同一である、請求項１記載の新規遺伝子。

【請求項５】
図１記載のヌクレオチド配列のヌクレオチド１３～ヌクレオチド２１５１を連続的に、またはヌクレオチド１１６～２５７、９１８～１１２０および１９６２～２０７７のイントロン領域を除いて持っている、請求項１記載の新規遺伝子。
【請求項６】
図８記載のヌクレオチド配列のヌクレオチド１～ヌクレオチド２０８３を連続的に、またはヌクレオチド１０４～２４９、９０７～１０４７および１８８９～１９９３のイントロン領域を除いて持っている、請求項１記載の新規遺伝子。
【請求項７】
請求項１～６のいずれか1 つに記載のアーモンドＨＮＬ遺伝子のＤＮＡ配列の異種発現によって適切な宿主細胞中で製造することができる、組換えタンパク質。
【請求項８】
宿主特異的な糖鎖形成を含む、請求項７記載の組換えタンパク質。
【請求項９】
真核微生物における発現によって製造される、請求項７記載の組換えタンパク質。
【請求項１０】
菌類における発現によって産生される、請求項７記載の組換えタンパク質。
【請求項１１】
請求項３又は４記載の遺伝子のヌクレオチド配列から導き出されるアミノ酸配列を持つ、請求項７記載の組換えタンパク質。
【請求項１２】
ヒドロキシニトリルリアーゼ活性を持つ異種タンパク質を宿主細胞で分泌発現させることを目的とする、バラ科植物のヒドロキシニトリルリアーゼのシグナルペプチドをコードする請求項１～６のいずれか1 つに記載の遺伝子のＤＮＡ配列の使用。
【請求項１３】
バラ科植物のヒドロキシニトリルリアーゼのシグナルペプチドをコードする請求項１～６記載の遺伝子のＤＮＡ配列を使用し、それを宿主細胞で分泌発現させることによって製造することができる、ヒドロキシニトリルリアーゼ活性を持つ融合タンパク質または異種タンパク質。
【請求項１４】
請求項３記載の遺伝子の配列およびクロコウジカビ（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ　ｎｉｇｅｒ）グルコースオキシダーゼ遺伝子の配列を含む図４記載の核酸配列と、前記核酸配列から導き出される図５のアミノ酸配列とを持つ、請求項１３記載の融合タンパク質。
【請求項１５】
Ｃ末端が切り詰められているか、またはＮ末端およびＣ末端領域の配列が異なる機能を持つ近縁タンパク質の配列で置換されている請求項７記載の組換えタンパク質。
【請求項１６】
（Ｒ）－または（Ｓ）－シアノヒドリンの製造を目的とする請求項７～１１又は請求項１３～１５のいずれか1 つに記載のタンパク質を使用する方法。
【請求項１７】
有機系、水性系または二相系またはエマルジョンの状態で、脂肪族、芳香族または複素芳香族アルデヒドおよびケトンを、シアノ基供与体の存在下に、請求項７～１１又は請求項１３～１５のいずれか1 つに記載のタンパク質と反応させることを特徴とする、（Ｒ）－または（Ｓ）－シアノヒドリンの製造方法。