【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29年1月26日(2017.1.26)

【公開番号】特開2016-208998(P2016-208998A)
【公開日】平成28年12月15日(2016.12.15)
【年通号数】公開・登録公報2016-068
【出願番号】特願2016-184777(P2016-184777)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ　9/38　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　1/16　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/09　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　1/44　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　1/19　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　9/38
Ｃ１２Ｎ　1/16　Ｇ
Ｃ１２Ｎ　15/00　Ａ
Ｃ１２Ｑ　1/44
Ｃ１２Ｎ　1/19

【手続補正書】
【提出日】平成28年12月13日(2016.12.13)
【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】
酵母のラクターゼ遺伝子に由来するラクターゼを含み、ＦＣＣ　ＩＶ法によるラクターゼ活性が４，０００ＮＬＵ／ｇ以上であり、且つ、当該ラクターゼ活性を基準として、工程（１）乃至（１０）を含む下記の方法で測定し、計算したアリールスルファターゼ活性（単位：Ｕ／ｇ）が０．１％以下であることを特徴とするラクターゼ製剤：
アリールスルファターゼの活性測定方法：
（１）アリールスルファターゼの存在が予測される検体を、０．５Ｍ塩化カリウムを含む１００ｍＭリン酸カリウム緩衝液（ｐＨ６．５）で適宜希釈し、サンプルとする。
（２）４－メチルウンベリフェロンスルフェイトカリウムを２ｍＭ濃度で含有する水溶液を調製する。
（３）サンプルと４－メチルウンベリフェロンスルフェイトカリウム水溶液とを、１：１（容量基準）で混合し、３７℃にて３時間反応させる。
（４）反応液に、反応液と同量（容量基準）の０．１Ｎ水酸化ナトリウム水溶液を添加し、反応を停止させ、測定用サンプルとする。
（５）励起波長３６０ｎｍ、蛍光波長４５０ｎｍにて、蛍光強度を測定する。
（６）４－メチルウンベリフェロンを、０．５Ｍ塩化カリウムを含む１００ｍＭリン酸カリウム緩衝液（ｐＨ６．５）に溶解させ、適切な濃度の溶液とし、（４）と同様に０．１Ｎ水酸化ナトリウム水溶液を添加し、（５）と同様の条件で蛍光強度を測定する。
（７）（６）より、検量線を作成する。
（８）（５）で測定された蛍光強度と（７）で作成された検量線から、測定用サンプルの４－メチルウンベリフェロン濃度を算出し、それを３で割り、反応時間が１時間であった

場合の４－メチルウンベリフェロン濃度を求める。さらに、反応液の容量から、１時間の反応中に生じた４－メチルウンベリフェロン量を算出する。
（９）こうして算出された４－メチルウンベリフェロン量は、（１）で調製したサンプルに含有されていた検体量に基づくものであるので、検体１ｇ当たりの４－メチルウンベリフェロン量に換算する。
（１０）基質と酵素との反応時間１時間あたりの４－メチルウンベリフェロン生成量が１ｎｍｏｌｅであった場合を１ユニット（Ｕ）とし、単位は、検体、即ちラクターゼ製剤１ｇ当たりのユニット量、即ち「ユニット（Ｕ）／ｇ」で表す。
【請求項２】
ラクターゼ活性を基準として、請求項１に記載の工程（１）乃至（１０）を含む方法で測定し、計算したアリールスルファターゼ活性（単位：Ｕ／ｇ）が０．０２％以下である請求項１に記載のラクターゼ製剤。
【請求項３】
前記酵母が二倍体菌株の酵母である、請求項１又は２に記載のラクターゼ製剤。
【請求項４】
前記酵母がクリベロマイセス・ラクティス又はクリベロマイセス・マリキシアヌスである、請求項１乃至３のいずれか一項に記載のラクターゼ製剤。