



## 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |           |                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| <b>(51) 国際特許分類</b><br><b>C12N 1/16 // (C12N 1/16<br/>C12R 1/645)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | <b>A1</b> | <b>(11) 国際公開番号</b><br><b>WO 91/03546</b><br><br><b>(43) 国際公開日</b><br>1991年3月21日 (21. 03. 1991) |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |  |
| <table border="1"><tr><td data-bbox="199 414 853 1227"><p><b>(21) 国際出願番号</b> PCT/JP90/01080<br/><b>(22) 国際出願日</b> 1990年8月27日 (27. 08. 90)</p><p><b>(30) 優先権データ</b><br/>特願平1/228848 1989年9月4日 (04. 09. 89) JP</p><p><b>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について)</b><br/>協和醸酵工業株式会社<br/>(KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD. ) [JP/JP]<br/>〒100 東京都千代田区大手町一丁目6番1号 Tokyo, (JP)</p><p><b>(72) 発明者 ; および</b><br/><b>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ)</b><br/>石野修一 (ISHINO, Shuichi) [JP/JP]<br/>〒194 東京都町田市旭町1-12-2 Tokyo, (JP)<br/>原 孝博 (HARA, Takahiro) [JP/JP]<br/>〒194 東京都町田市中町3-9-9 Tokyo, (JP)<br/>手柴貞夫 (TESHIBA, Sadao) [JP/JP]<br/>〒194-01 東京都町田市能ヶ谷町1626-9 Tokyo, (JP)</p><p><b>(81) 指定国</b><br/>AT (欧州特許), AU, BE (欧州特許), CA, CH (欧州特許),<br/>DE (欧州特許)*, FR (欧州特許), GB (欧州特許), IT (欧州特許),<br/>LU (欧州特許), NL (欧州特許), SE (欧州特許), US.</p><p>添付公開書類 国際調査報告書</p></td><td data-bbox="853 414 1501 1227"></td></tr></table> |           |                                                                                                | <p><b>(21) 国際出願番号</b> PCT/JP90/01080<br/><b>(22) 国際出願日</b> 1990年8月27日 (27. 08. 90)</p> <p><b>(30) 優先権データ</b><br/>特願平1/228848 1989年9月4日 (04. 09. 89) JP</p> <p><b>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について)</b><br/>協和醸酵工業株式会社<br/>(KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD. ) [JP/JP]<br/>〒100 東京都千代田区大手町一丁目6番1号 Tokyo, (JP)</p> <p><b>(72) 発明者 ; および</b><br/><b>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ)</b><br/>石野修一 (ISHINO, Shuichi) [JP/JP]<br/>〒194 東京都町田市旭町1-12-2 Tokyo, (JP)<br/>原 孝博 (HARA, Takahiro) [JP/JP]<br/>〒194 東京都町田市中町3-9-9 Tokyo, (JP)<br/>手柴貞夫 (TESHIBA, Sadao) [JP/JP]<br/>〒194-01 東京都町田市能ヶ谷町1626-9 Tokyo, (JP)</p> <p><b>(81) 指定国</b><br/>AT (欧州特許), AU, BE (欧州特許), CA, CH (欧州特許),<br/>DE (欧州特許)*, FR (欧州特許), GB (欧州特許), IT (欧州特許),<br/>LU (欧州特許), NL (欧州特許), SE (欧州特許), US.</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p> |  |
| <p><b>(21) 国際出願番号</b> PCT/JP90/01080<br/><b>(22) 国際出願日</b> 1990年8月27日 (27. 08. 90)</p> <p><b>(30) 優先権データ</b><br/>特願平1/228848 1989年9月4日 (04. 09. 89) JP</p> <p><b>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について)</b><br/>協和醸酵工業株式会社<br/>(KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD. ) [JP/JP]<br/>〒100 東京都千代田区大手町一丁目6番1号 Tokyo, (JP)</p> <p><b>(72) 発明者 ; および</b><br/><b>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ)</b><br/>石野修一 (ISHINO, Shuichi) [JP/JP]<br/>〒194 東京都町田市旭町1-12-2 Tokyo, (JP)<br/>原 孝博 (HARA, Takahiro) [JP/JP]<br/>〒194 東京都町田市中町3-9-9 Tokyo, (JP)<br/>手柴貞夫 (TESHIBA, Sadao) [JP/JP]<br/>〒194-01 東京都町田市能ヶ谷町1626-9 Tokyo, (JP)</p> <p><b>(81) 指定国</b><br/>AT (欧州特許), AU, BE (欧州特許), CA, CH (欧州特許),<br/>DE (欧州特許)*, FR (欧州特許), GB (欧州特許), IT (欧州特許),<br/>LU (欧州特許), NL (欧州特許), SE (欧州特許), US.</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>                                                                                                            |           |                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |  |
| <p><b>(54) Title: ARGININE-RICH YEAST</b></p> <p><b>(54) 発明の名称</b> アルギニン高含有酵母</p> <p><b>(57) Abstract</b></p> <p>An ethionine-resistant arginine-rich yeast belonging to the species Kluyveromyces polysporus.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |           |                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |  |

\* 追って通知があるまで、出願日が1990年10月3日より前の国際出願におけるDEの指定は、先のドイツ民主共和国の領域を除く、ドイツ連邦共和国の領域において有効である。

(57) 要約

本発明は、クリベロマイセス・ポリスポラス (Kluyveromyces polysporus) に属し、エチオニンに耐性を有するアルギニン高含酵母に関する。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願のハンフレット第1頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

|              |                |           |
|--------------|----------------|-----------|
| AT オーストリア    | ES スペイン        | MG マダガスカル |
| AU オーストラリア   | FI フィンランド      | ML マリ     |
| BB バルバドス     | FR フランス        | MR モーリタニア |
| BE ベルギー      | GA ガボン         | MW マラウイ   |
| BF ブルキナ・ファソ  | GB イギリス        | NL オランダ   |
| BG ブルガリア     | GR ギリシャ        | NO ノルウェー  |
| BJ ベナン       | HU ハンガリー       | PL ポーランド  |
| BR ブラジル      | IT イタリア        | RO ルーマニア  |
| CA カナダ       | JP 日本          | SD スーダン   |
| CF 中央アフリカ共和国 | KP 朝鮮民主主義人民共和国 | SE スウェーデン |
| CG コンゴ       | KR 大韓民国        | SN セネガル   |
| CH スイス       | LI リヒテンシュタイン   | SU ソビエト連邦 |
| CM カメルーン     | LK スリランカ       | TD チャード   |
| DE 西ドイツ      | LU ルクセンブルグ     | TG トーゴ    |
| DK デンマーク     | MC モナコ         | US 米国     |

## 明 細 書

## アルギニン高含有酵母

技術分野

本発明は、菌体内にL-アルギニンを著量蓄積する酵母に関する。  
本発明の酵母菌体は、家畜の飼料としての利用が期待される。

背景技術

従来、トルラ酵母、ビール酵母などの酵母菌体は、家畜の飼料として利用されている。

しかし、家畜によっては、酵母菌体だけでは十分に補えないアミノ酸がある。例えば、ニワトリの場合、L-アルギニンが不足しがちである。不足するアミノ酸は、単品で補充添加しているが、これは経済的に有利な方法ではない。不足するアミノ酸を菌体内に著量蓄積する種々の酵母が提供されれば、家畜の飼料として酵母菌体を広く利用することができる。

菌体内にL-アルギニンを著量蓄積する酵母としては、菌体内に1.7%のL-アルギニンを蓄積するサッカロマイセス属に属するargR, cpo0 調節変異株〔ヨーロッパ・ジャーナル・オブ・バイオケミストリイ (Eur. J. Biochem.) 12 No1, 40 ~ 47 (1970)〕が知られている。

発明の開示

本発明によれば、L-アルギニンを菌体内に著量蓄積する酵母として、クリベロマイセス属に属するエチオニン耐性株を提供することができる。この菌株は、遊離のL-アルギニンを菌体あたり5%（乾燥菌体換算）以上含有するアルギニン高含有酵母である。

本発明のアルギニン高含有酵母としては、クリベロマイセス・ポリスポラス (*Kluyveromyces polysporus*) に属し、エチオニンに耐性を有する酵母であればいずれでもよい。このような性質を有する酵母は、クリベロマイセス属に属する酵母を親株として、通常の変異処理、例

例えば紫外線照射やN-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジンなどによる化学処理を施し、エチオニンに対する耐性を獲得した変異株から菌体内にL-アルギニンを5%（乾燥菌体換算）以上蓄積する酵母を選択することにより得ることができる。親株として使用する酵母としては、クリベロマイセス属に属する酵母であればいずれでもよいが、具体的には、クリベロマイセス・ポリスポラスIFO 0996〔インターナショナル・ジャーナル・オブ・システマテック・バクテリオロジー (Int. J. Syst. Bact.), 38, 822 (1983)〕があげられる。

次に、本発明のアルギニン高含有酵母の取得方法を具体的に説明する。

親株として、クリベロマイセス・ポリスポラスIFO 0996を用いた。親株の細胞を生理食塩水に $10^8$  個/mlになるように懸濁した。この懸濁液0.1 mlをエチオニン 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ を含有する最少寒天培地〔グルコース20 g/l、イーストナイトロジェンベース(Difco社製) 6.7 g/l、寒天20 g/l、pH 5~6〕に塗抹した。この平板を紫外線光源（15W 紫外線灯、波長 253オングストローム）下35cmの位置に置き、20秒間紫外線を照射した。この紫外線照射寒天平板を、30℃で2~4日静置培養した。エチオニンを含有した培地の表面には、エチオニン耐性株が約 250個のコロニーとして生育した。生育したエチオニン耐性株 200株を釣菌し、後述の実施例1の方法で培養を行い、菌体内のL-アルギニン含量が5.0%以上の菌株を10数株選択した。このうちの1株を、クリベロマイセス・ポリスポラスETA82-33と命名した。本菌株は、ブダペスト条約に基づき、平成元年8月22日付で工業技術院微生物工業技術研究所に、微工研条寄第2560号（FERM BP-2560）として寄託されている。

本発明のアルギニン高含有酵母を培養する培地としては、炭素源、窒素源、無機塩類、生育因子などを含有する栄養培地または合成培地が用いられる。

炭素源としては、グルコース、フラクトース、シュクロース、糖蜜、デンプン、デンプン加水分解物、果汁などの炭水化物、エタノール、メタノール、プロパノールなどのアルコール類などで、該酵母が利用できるものであればいずれも使用できる。

窒素源としては、硫酸アンモニウム、硝酸アンモニウム、塩化アンモニウム、リン酸アンモニウム、酢酸アンモニウム、尿素、アンモニア、アミン類、ペプトン、肉エキス、酵母エキス、コーン・スチープ・リカー、カゼイン加水分解物、各種発酵菌体およびその消化物などが使用できる。

無機塩としては、リン酸一カリウム、リン酸二カリウム、リン酸マグネシウム、硫酸マグネシウム、塩化ナトリウム、硫酸第一鉄、硫酸マンガン、炭酸カルシウムなどが使用できる。

栄養要求性を示す変異株を使用する場合には生育因子である栄養物を、標品もしくはそれを含有する天然物として添加する。例えば、リジン、グルタミン酸などのアミノ酸、ビオチン、チアミンなどのビタミン類、プリン、アデニンなどの核酸塩基類が用いられる。

培養は、通気攪拌などの好氣的条件下、温度24～37℃、pH 4～9の範囲に維持しておこなわれ、通常2～7日間で終了する。pHの調整には尿素、炭酸カルシウム、アンモニアガス、アンモニア水、リン酸マグネシウム、炭酸アンモニウムなどが用いられる。培養終了後、培養液から菌体を集菌乾燥することにより、アルギニン高含有酵母を得ることができる。集菌乾燥する方法としては、公知の方法、例えば、シャープレス、スプレードライヤーを使用する方法などが用いられる。

発明を実施するための最良の形態

#### 実施例 1.

種菌としてクリベロマイセス・ポリスポラスETA82-33を用いた。ETA82-33をグルコース10 g / ℓ、ペプトン5 g / ℓおよび酵母エキス3 g / ℓ (pH 6.0) から成る種培地5 mlを含んだ試験管に接種し、30

℃で24時間振盪培養した。

この種培養液0.05mlを菌体培養培地〔グルコース50g/ℓ、コーン・スチープ・リカー34g/ℓ、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  3.8g/ℓ、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1g/ℓ、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1g/ℓ、 $\text{CaCO}_3$  30g/ℓ (pH6.5)] 6mlを含んだ試験管に接種し、30℃で48時間振盪培養した。培養終了後、遠心分離により菌体を集菌し、67mMリン酸緩衝液(pH6.0)で2回洗浄した。その後乾燥菌体重量換算で0.1gの酵母菌体を67mMリン酸緩衝液2mlに懸濁し、100℃で10分間抽出操作を行い、抽出液中の遊離のL-アルギニンを定量したところ、乾燥菌体重量あたり8.0%のL-アルギニンを蓄積していた。

対照として親株であるクリベロマイセス・ポリスポラスIFO 0996を前記と同様に培養したところ、L-アルギニンの蓄積量は、乾燥菌体重量あたり0.2%であった。

## 実施例2.

種菌としてクリベロマイセス・ポリスポラスETA82-33を用いた。ETA82-33をグルコース10g/ℓ、ペプトン5g/ℓおよび酵母エキス3g/ℓ (pH 6.0)から成る種培地30mlを含んだ試験管に接種し30℃で24時間振盪培養した。

この種培養液全量を菌体培養培地〔グルコース50g/ℓ、コーン・スチープ・リカー34g/ℓ、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  3.8g/ℓ、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1g/ℓ、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1g/ℓ、 $\text{CaCO}_3$  30g/ℓ (pH6.5)] 1000mlを含んだ2ℓ容発酵槽に接種し、アンモニア水でpHを5.5に調節しながら、30℃で40時間攪拌培養した。培養終了後、遠心分離により菌体を集菌し、67mMリン酸緩衝液(pH6.0)で2回洗浄した。その後乾燥菌体重量換算で0.1gの酵母菌体を67mMリン酸緩衝液2mlに懸濁し、100℃で10分間抽出操作を行い、抽出液中の遊離のL-アルギニンを定量したところ、乾燥菌体重量あたり13.0%のL-アルギニンを蓄積していた。

対照として親株であるクリベロマイセス・ポリスポラス IF0 0996を前記と同様に培養したところ、L-アルギニンの蓄積量は、乾燥菌体重量あたり 0.2 %であった。

#### 産業上の利用可能性

本発明により、飼料用酵母として有用な L-アルギニン高含有酵母を提供することができる。

## 請 求 の 範 囲

1. クリベロマイセス・ポリスポラス (Kluyveromyces polysporus) に属し、エチオニンに耐性を有する酵母。
2. 該酵母が、遊離のL-アルギニンを菌体あたり5% (乾燥菌体換算) 以上含有するアルギニン高含有酵母である請求項1記載の酵母。
3. 該酵母が、クリベロマイセス・ポリスポラス ETA82-33 (FERM BP-2560) である請求項1または2記載の酵母。
4. クリベロマイセス属に属し、エチオニンに耐性を有する酵母を培地で培養し、培養物中に遊離のL-アルギニンを菌体あたり5% (乾燥菌体換算) 以上含有するアルギニン高含有酵母を生成蓄積させ、該培養物から該酵母を採取することを特徴とするアルギニン高含有酵母の製造法。

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/JP90/01080

| <b>I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> (if several classification symbols apply, indicate all) <sup>6</sup><br>According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC<br><div style="text-align: center; padding: 10px;">           Int. Cl<sup>5</sup>      C12N1/16// (C12N1/16, C12R1:645)         </div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                     |                                     |                                                           |                                                                                                                |                                     |                               |                                                                                   |                                 |                        |                                                                                                                                                                                                                                     |       |   |                                                                                                                                                                                                                                  |       |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|---|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| <b>II. FIELDS SEARCHED</b><br><div style="text-align: center; padding: 5px;">Minimum Documentation Searched <sup>7</sup></div> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 30%; border: none;">Classification System  </td> <td style="border: none;">Classification Symbols</td> </tr> <tr> <td style="border: none; text-align: center; padding: 10px;">IPC</td> <td style="border: none; text-align: center; padding: 10px;">C12N1/16, C12P13/10</td> </tr> </table> <div style="text-align: center; padding: 5px;">Documentation Searched other than Minimum Documentation<br/>to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched <sup>8</sup></div> <div style="text-align: center; padding: 10px;">BIOSIS DATA BASE</div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                     |                                     | Classification System                                     | Classification Symbols                                                                                         | IPC                                 | C12N1/16, C12P13/10           |                                                                                   |                                 |                        |                                                                                                                                                                                                                                     |       |   |                                                                                                                                                                                                                                  |       |
| Classification System                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Classification Symbols                                                                                                                                                                                                              |                                     |                                                           |                                                                                                                |                                     |                               |                                                                                   |                                 |                        |                                                                                                                                                                                                                                     |       |   |                                                                                                                                                                                                                                  |       |
| IPC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | C12N1/16, C12P13/10                                                                                                                                                                                                                 |                                     |                                                           |                                                                                                                |                                     |                               |                                                                                   |                                 |                        |                                                                                                                                                                                                                                     |       |   |                                                                                                                                                                                                                                  |       |
| <b>III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <sup>9</sup></b><br><table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">Category <sup>*</sup></th> <th style="width: 70%;">Citation of Document, <sup>11</sup> with indication, where appropriate, of the relevant passages <sup>12</sup></th> <th style="width: 20%;">Relevant to Claim No. <sup>13</sup></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: top;">A</td> <td>JP, B2, 56-46826 (Kojin Ltd.),<br/>5 November 1981 (05. 11. 81),<br/>(Family: none)</td> <td style="text-align: center; vertical-align: top;">1 - 4</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: top;">A</td> <td>J. Bacteriology, Vol.142, No.2 (May, 1980),<br/>American Society for Microbiology,<br/>JAMES V. BRAWLEY and ADOLPH J. FERRO<br/>"Stimulation of Yeast Ascospore<br/>Germination and Outgrowth by S-Adeno-<br/>sylmethionine" p.608-p.614</td> <td style="text-align: center; vertical-align: top;">1 - 4</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: top;">A</td> <td>Eur. J. Biochem. 12 No.1 (1970),<br/>F. RAMOS, P. THURIAUX, J. M. WIAME,<br/>and J. BECHET "The Porticipation of<br/>Ornithine and Citrulline in the<br/>Regulation of Arginine Metabolism in<br/>Saccharomyces cerevisiae" p.40-p.47</td> <td style="text-align: center; vertical-align: top;">1 - 4</td> </tr> </tbody> </table>        |                                                                                                                                                                                                                                     |                                     | Category <sup>*</sup>                                     | Citation of Document, <sup>11</sup> with indication, where appropriate, of the relevant passages <sup>12</sup> | Relevant to Claim No. <sup>13</sup> | A                             | JP, B2, 56-46826 (Kojin Ltd.),<br>5 November 1981 (05. 11. 81),<br>(Family: none) | 1 - 4                           | A                      | J. Bacteriology, Vol.142, No.2 (May, 1980),<br>American Society for Microbiology,<br>JAMES V. BRAWLEY and ADOLPH J. FERRO<br>"Stimulation of Yeast Ascospore<br>Germination and Outgrowth by S-Adeno-<br>sylmethionine" p.608-p.614 | 1 - 4 | A | Eur. J. Biochem. 12 No.1 (1970),<br>F. RAMOS, P. THURIAUX, J. M. WIAME,<br>and J. BECHET "The Porticipation of<br>Ornithine and Citrulline in the<br>Regulation of Arginine Metabolism in<br>Saccharomyces cerevisiae" p.40-p.47 | 1 - 4 |
| Category <sup>*</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Citation of Document, <sup>11</sup> with indication, where appropriate, of the relevant passages <sup>12</sup>                                                                                                                      | Relevant to Claim No. <sup>13</sup> |                                                           |                                                                                                                |                                     |                               |                                                                                   |                                 |                        |                                                                                                                                                                                                                                     |       |   |                                                                                                                                                                                                                                  |       |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | JP, B2, 56-46826 (Kojin Ltd.),<br>5 November 1981 (05. 11. 81),<br>(Family: none)                                                                                                                                                   | 1 - 4                               |                                                           |                                                                                                                |                                     |                               |                                                                                   |                                 |                        |                                                                                                                                                                                                                                     |       |   |                                                                                                                                                                                                                                  |       |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | J. Bacteriology, Vol.142, No.2 (May, 1980),<br>American Society for Microbiology,<br>JAMES V. BRAWLEY and ADOLPH J. FERRO<br>"Stimulation of Yeast Ascospore<br>Germination and Outgrowth by S-Adeno-<br>sylmethionine" p.608-p.614 | 1 - 4                               |                                                           |                                                                                                                |                                     |                               |                                                                                   |                                 |                        |                                                                                                                                                                                                                                     |       |   |                                                                                                                                                                                                                                  |       |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Eur. J. Biochem. 12 No.1 (1970),<br>F. RAMOS, P. THURIAUX, J. M. WIAME,<br>and J. BECHET "The Porticipation of<br>Ornithine and Citrulline in the<br>Regulation of Arginine Metabolism in<br>Saccharomyces cerevisiae" p.40-p.47    | 1 - 4                               |                                                           |                                                                                                                |                                     |                               |                                                                                   |                                 |                        |                                                                                                                                                                                                                                     |       |   |                                                                                                                                                                                                                                  |       |
| <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 48%;"> <p><sup>*</sup> Special categories of cited documents: <sup>10</sup></p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="width: 48%;"> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p> </div> </div> |                                                                                                                                                                                                                                     |                                     |                                                           |                                                                                                                |                                     |                               |                                                                                   |                                 |                        |                                                                                                                                                                                                                                     |       |   |                                                                                                                                                                                                                                  |       |
| <b>IV. CERTIFICATION</b><br><table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; border: none;">Date of the Actual Completion of the International Search</td> <td style="width: 50%; border: none;">Date of Mailing of this International Search Report</td> </tr> <tr> <td style="border: none; text-align: center; padding: 10px;">October 12, 1990 (12. 10. 90)</td> <td style="border: none; text-align: center; padding: 10px;">October 29, 1990 (29. 10. 90)</td> </tr> <tr> <td style="border: none;">International Searching Authority</td> <td style="border: none;">Signature of Authorized Officer</td> </tr> <tr> <td style="border: none; text-align: center; padding: 10px;">Japanese Patent Office</td> <td style="border: none;"></td> </tr> </table>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                     |                                     | Date of the Actual Completion of the International Search | Date of Mailing of this International Search Report                                                            | October 12, 1990 (12. 10. 90)       | October 29, 1990 (29. 10. 90) | International Searching Authority                                                 | Signature of Authorized Officer | Japanese Patent Office |                                                                                                                                                                                                                                     |       |   |                                                                                                                                                                                                                                  |       |
| Date of the Actual Completion of the International Search                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Date of Mailing of this International Search Report                                                                                                                                                                                 |                                     |                                                           |                                                                                                                |                                     |                               |                                                                                   |                                 |                        |                                                                                                                                                                                                                                     |       |   |                                                                                                                                                                                                                                  |       |
| October 12, 1990 (12. 10. 90)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | October 29, 1990 (29. 10. 90)                                                                                                                                                                                                       |                                     |                                                           |                                                                                                                |                                     |                               |                                                                                   |                                 |                        |                                                                                                                                                                                                                                     |       |   |                                                                                                                                                                                                                                  |       |
| International Searching Authority                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Signature of Authorized Officer                                                                                                                                                                                                     |                                     |                                                           |                                                                                                                |                                     |                               |                                                                                   |                                 |                        |                                                                                                                                                                                                                                     |       |   |                                                                                                                                                                                                                                  |       |
| Japanese Patent Office                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                     |                                     |                                                           |                                                                                                                |                                     |                               |                                                                                   |                                 |                        |                                                                                                                                                                                                                                     |       |   |                                                                                                                                                                                                                                  |       |

国 際 調 査 報 告

国際出願番号PCT/JP90/01080

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                       |             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| I. 発明の属する分野の分類                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                       |             |
| 国際特許分類 (IPC)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                       |             |
| Int. Cl. <sup>4</sup><br>C12N1/16 // (C12N1/16, C12R1:645)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                       |             |
| II. 国際調査を行った分野                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                       |             |
| 調 査 を 行 っ た 最 小 限 資 料                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                       |             |
| 分 類 体 系                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 分 類 記 号                                                                                                                                                                                                                               |             |
| I P C                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | C12N1/16, C12P13/10                                                                                                                                                                                                                   |             |
| 最小限資料以外の資料で調査を行ったもの                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                       |             |
| BIOSIS DATA BASE                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                       |             |
| III. 関連する技術に関する文献                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                       |             |
| 引用文献の<br>カテゴリー ※                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示                                                                                                                                                                                                     | 請求の範囲の番号    |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | J P, B2, 56-46826 (株式会社 興人),<br>5. 11月. 1981 (05. 11. 81) (ファミリーなし)                                                                                                                                                                   | 1 - 4       |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | J. Bacteriology. Vol. 142. No.2 (May. 1980)<br>American Society for Microbiology,<br>JAMES V. BRAWLEY and ADOLPH J.<br>FERRO "Stimulation of Yeast Ascospore<br>Germination and Outgrowth by S-Adeno-<br>sylmethionine" p. 608-p. 614 | 1 - 4       |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Eur. J. Biochem. 12No. 1 (1970)<br>F. RAMOS, P. THURIAUX, J. M. WIAME,<br>and J. BECHET "The Porticipation of<br>Ornithine and Citrulline in the<br>Regulation of Arginine Metabolism in<br>Saccharomyces cerevisiae" p. 40-p. 47     | 1 - 4       |
| <p>※引用文献のカテゴリー</p> <p>「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの</p> <p>「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの</p> <p>「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)</p> <p>「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</p> <p>「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献</p> <p>「T」 国際出願日又は優先日の後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</p> <p>「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</p> <p>「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</p> <p>「&amp;」 同一パテントファミリーの文献</p> |                                                                                                                                                                                                                                       |             |
| IV. 認 証                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                       |             |
| 国際調査を完了した日<br>12. 10. 90                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 国際調査報告の発送日<br>29.10.90                                                                                                                                                                                                                |             |
| 国際調査機関<br>日本国特許庁 (ISA/JP)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 権限のある職員<br>特許庁審査官 平 田 和 男 ®                                                                                                                                                                                                           | 4 B 9 0 5 0 |