

【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20年6月5日(2008.6.5)

【公開番号】特開2007-74939(P2007-74939A)

【公開日】平成19年3月29日(2007.3.29)

【年通号数】公開・登録公報2007-012

【出願番号】特願2005-264645(P2005-264645)

【国際特許分類】

C 12 N 15/09 (2006.01)

C 12 N 1/19 (2006.01)

C 12 N 9/04 (2006.01)

C 12 P 7/56 (2006.01)

C 12 R 1/865 (2006.01)

【F I】

C 12 N 15/00 Z N A A

C 12 N 1/19

C 12 N 9/04 F

C 12 P 7/56

C 12 P 7/56

C 12 R 1:865

【手続補正書】

【提出日】平成20年4月22日(2008.4.22)

【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】

下記(A)または(B)のアミノ酸配列を有するポリペプチド。

(A)配列番号1に記載のアミノ酸配列。

(B)配列番号1に記載のアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入および/または付加されているアミノ酸配列であって、D-乳酸デヒドロゲナーゼ酵素活性を有するポリペプチドのアミノ酸配列。

【請求項2】

下記(a)または(b)の塩基配列を有するDNA。

(a)配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードする塩基配列。

(b)配列番号1に記載のアミノ酸配列において、1から数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入および/または付加されているアミノ酸配列からなるポリペプチドであって、D-乳酸デヒドロゲナーゼ酵素活性を有するポリペプチドをコードする塩基配列。

【請求項3】

下記(c)から(e)の何れかの塩基配列を有するDNA。

(c)配列番号2に記載の塩基配列。

(d)配列番号2に記載の塩基配列において1から数個の塩基が置換、欠失、挿入および/または付加されている塩基配列であって、D-乳酸デヒドロゲナーゼ酵素活性を有するポリペプチドをコードする塩基配列。

(e)配列番号2に記載の塩基配列もしくはその相補配列またはそれらの一部とストリンジエントな条件下でハイブリダイズする塩基配列であって、D-乳酸デヒドロゲナーゼ

酵素活性を有するポリペプチドをコードする塩基配列。

【請求項 4】

請求項 2 または 3 に記載の DNA を用いて宿主細胞を形質転換させて得られる形質転換体。

【請求項 5】

宿主細胞がサッカロマイセス・セレビシエである、請求項 4 記載の形質転換体。

【請求項 6】

請求項 4 または 5 に記載の形質転換体に由来する細胞を培養する工程と、該工程から得られる培養物から D - 乳酸を分離する工程、とを備える、D - 乳酸の製造方法であって、形質転換体に由来する細胞を培養する工程が中和せずに培養する工程である、D - 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】0001

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0001】

この発明は、D - 乳酸の効率的生産技術に関する。詳しくは、酵母に D - 乳酸を産生させるのに適する、D - 乳酸デヒドロゲナーゼ活性を有するポリペプチド、該ポリペプチドをコードする塩基配列を有する DNA、該 DNA を用いた形質転換体、および該形質転換体を利用した D - 乳酸の製造方法に関する。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0015

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0015】

本発明の目的は、D - 乳酸発酵により適した D - 乳酸デヒドロゲナーゼ酵素の遺伝子をクローニングし、乳酸を生産しない宿主細胞に導入、発現させることで、高光学純度の D - 乳酸を効率的に生産する方法を提供することにある。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0016

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0016】

本発明者らは、各種の D - 乳酸デヒドロゲナーゼ遺伝子について微生物での発現に対して試みた結果、D - 乳酸の産生量を増大させるのに適した DNA 配列を見出した。そして、かかる DNA 配列を有する DNA 構築物を利用することにより、上記した課題を解決するに至った。すなわち、本発明は、以下の態様からなる。

(1) 下記 (A) または (B) のアミノ酸配列を有するポリペプチド。

(A) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列。

(B) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列において、1 から数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入および / または付加されているアミノ酸配列であって、D - 乳酸デヒドロゲナーゼ酵素活性を有するポリペプチドのアミノ酸配列。

(2) 下記 (a) または (b) の塩基配列を有する DNA。

(a) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードする塩基配列。

(b) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列において、1 から数個のアミノ酸が置換、欠失、挿入および / または付加されているアミノ酸配列からなるポリペプチドであって、D - 乳酸デヒドロゲナーゼ酵素活性を有するポリペプチドをコードする塩基配列。

(3) 下記 (c) から (e) の何れかの塩基配列を有する DNA。

(c) 配列番号 2 に記載の塩基配列。

(d) 配列番号 2 に記載の塩基配列において 1 から数個の塩基が置換、欠失、挿入および / または付加されている塩基配列であって、D-乳酸デヒドロゲナーゼ酵素活性を有するポリペプチドをコードする塩基配列。

(e) 配列番号 2 に記載の塩基配列もしくはその相補配列またはそれらの一部とストリージェントな条件下ハイブリダイズする塩基配列であって、D-乳酸デヒドロゲナーゼ酵素活性を有するポリペプチドをコードする塩基配列。

(4) (2) または (3) に記載の DNA を用いて宿主細胞を形質転換させて得られる形質転換体。

(5) 前記宿主細胞がサッカロマイセス・セレビシエである、(4)記載の形質転換体。

(6) (4) または (5) に記載の形質転換体に由来する細胞を培養する工程と、該工程から得られる培養物から D-乳酸を分離する工程、とを備える、D-乳酸の製造方法であって、形質転換体に由来する細胞を培養する工程が中和せずに培養する工程である、D-乳酸の製造方法。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0017

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0017】

本発明によれば、宿主細胞、特に酵母における D-乳酸発酵に適した D-乳酸デヒドロゲナーゼ活性を備えるポリペプチドをコードする塩基配列を有する DNA が提供される。この DNA を利用することにより、D-乳酸を高生産可能な形質転換体を容易に得ることができ、ひいては、D-乳酸を効率よく生産することができる。