

【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 2 月 10 日 (2005.2.10)

【公表番号】特表 2001-505048 (P2001-505048A)

【公表日】平成 13 年 4 月 17 日 (2001.4.17)

【出願番号】特願 平 10-516650

【国際特許分類第 7 版】

C 1 2 N 15/09

C 1 2 N 1/21

C 1 2 P 13/04

C 1 2 P 21/02

// C 1 2 N 9/10

(C 1 2 N 15/09

C 1 2 R 1:07 )

(C 1 2 N 15/09

C 1 2 R 1:37 )

(C 1 2 N 15/09

C 1 2 R 1:42 )

(C 1 2 P 13/04

C 1 2 R 1:19 )

(C 1 2 P 21/02

C 1 2 R 1:19 )

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 1/21

C 1 2 P 13/04

C 1 2 P 21/02 C

C 1 2 N 9/10

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 R 1:07

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 R 1:37

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 R 1:42

C 1 2 P 13/04

C 1 2 R 1:19

C 1 2 P 21/02 C

C 1 2 R 1:19

【手続補正書】

【提出日】平成 16 年 4 月 26 日 (2004.4.26)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】補正の内容のとおり

【補正方法】変更

【補正の内容】

## 手 続 補 正 書

平成16年4月26日



特許庁長官 殿

1. 事件の表示 平成10年特許願第516650号

2. 補正をする者

名 称 ビー・シー・ビー・ユー・サービスズ、  
インコーポレイテッド3. 代 理 人 東京都新宿区新宿1丁目1番11号 友泉新宿御苑ビル  
(郵便番号 160-0022) 電話 (03)3354-8623  
(6200) 弁理士 川 口 義 雄

4. 補正命令の日付 自 発

5. 補正により増加する請求項の数 なし

6. 補正対象書類名 請求の範囲

7. 補正対象項目名 請求の範囲

8. 補正の内容

(1) 請求の範囲を別紙の通り補正する。



## [別 紙]

請 求 の 範 囲

1. (a) D-アミノ基転移酵素遺伝子およびL-アミノ脱アミノ酵素遺伝子を細胞中に組み込む工程、  
(b) 細胞培地中で細胞を培養する工程、および  
(c) 細胞培地からD-アミノ酸を単離する工程  
を含んでなる、細胞中でD-アミノ酸を生成する方法。
2. D-アミノ脱アミノ酵素遺伝子が非機能的になるように細胞中にD-アミノ脱アミノ酵素遺伝子突然変異を導入する工程をさらに含む請求項1に記載の方法。
3. 細胞が細菌細胞である請求項1に記載の方法。
4. 細菌細胞が、*Bacillus subtilis*、*Bacillus sphaericus*、*Bacillus stearothermophilus*、*Pseudomonas*、*Klebsiella*、*Salmonella*、*Brevibacterium*、*Micrococcus*、*Corynebacterium*および*Escherichia coli*からなる群より選択される請求項2に記載の方法。
5. 細胞が、*Escherichia coli*である請求項4に記載の方法。
6. *dadA*遺伝子が非機能的になるように*Escherichia coli*細胞に*dadA*遺伝子突然変異を導入する工程をさらに含む請求項5に記載の方法。
7. D-アミノ基転移酵素遺伝子が*Bacillus sphaericus* D-アミノ基転移酵素遺伝子である請求項1に記載の方法。
8. L-アミノ脱アミノ酵素遺伝子が*Proteus myxofaciens* L-アミノ脱アミノ酵素遺伝子または*Proteus mirabilis* L-アミノ脱アミノ酵素遺伝子である請求項1に記載の方法。
9. 細胞中にラセミ化酵素遺伝子を組み込む工程をさらに含む請求項1に記載の方法。
10. ラセミ化酵素遺伝子が、アラニンラセミ化酵素、グルタメートラセミ化

酵素、アスパルテートラセミ化酵素およびフェニルアラニンラセミ化酵素からなる群より選択される請求項 9 に記載の方法。

11. ラセミ化酵素遺伝子が、アラニンラセミ化酵素である請求項 10 に記載の方法。

12. D-アミノ酸が天然または非天然 D-アミノ酸である請求項 1 に記載の方法。

13. 天然または非天然 D-アミノ酸が、イソロイシン、ロイシン、トリプトファン、チロシン、バリン、アルギニン、アスパラギン、グルタミン、メチオニン、オルニチン、セリン、ノルロイシン、ノルバリン、フェニルアラニン、ジヒドロキシフェニルアラニン、シトルリン、システイン、ヒスチジンおよびリシンからなる群より選択される請求項 12 に記載の方法。

14. 天然 D-アミノ酸がフェニルアラニンである請求項 13 に記載の方法。

15. 培地がアミノ供与体を含む請求項 1 に記載の方法。

16. アミノ供与体が、L-アラニン、L-グルタメート、L-フェニルアラニン、L-アスパルテートおよび前記 L-アミノ酸のラセミ混合物からなる群から選択される請求項 15 に記載の方法。

17. アミノ供与体ラセミ混合物がアセパルテートである請求項 16 に記載の方法。

18. 培地が L-アミノ酸基質を含む請求項 1 に記載の方法。

19. L-アミノ酸基質が、イソロイシン、ロイシン、トリプトファン、チロシン、バリン、アルギニン、アスパラギン、グルタミン、メチオニン、オルニチン、セリン、ノルロイシン、ノルバリン、フェニルアラニン、ジヒドロキシフェニルアラニン、シトルリン、システイン、ヒスチジンおよびリシンからなる群より選択される請求項 18 に記載の方法。

20. 請求項 1 の細胞の培養を用いて実質的に純粋な D-アミノ酸を調製する方法。

21. D-アミノ酸が高収率で生成される請求項 20 に記載の方法。

22. D-アミノ基転移酵素遺伝子および L-アミノ脱アミノ酵素遺伝子がプラスミドを用いて細胞中に組み込まれる請求項 1 に記載の方法。

23. (a) D-アミノ基転移酵素遺伝子、L-アミノ脱アミノ酵素遺伝子および、フェニルピルビン酸の生成を増加させるための手段を細胞中に組み込む工程、  
(b) 細胞培地中で細胞を培養する工程、および  
(c) 細胞培地からD-フェニルアラニンを単離する工程  
を含んでなる、細胞中でD-フェニルアラニンを生成する方法。
24. D-アミノ脱アミノ酵素遺伝子が非機能的になるように細胞中にD-アミノ脱アミノ酵素遺伝子突然変異を導入する工程をさらに含む請求項23に記載の方法。
25. 細胞が細菌細胞である請求項23に記載の方法。
26. 細菌細胞が、*Bacillus subtilis*、*Bacillus sphaericus*、*Bacillus stearothermophilus*、*Pseudomonas*、*Klebsiella*、*Salmonella*、*Brevibacterium*、*Micrococcus*、*Corynebacterium*および*Escherichia coli*からなる群より選択される請求項25に記載の方法。
27. 細胞が、*Escherichia coli*である請求項26に記載の方法。
28. *dadA*遺伝子が非機能的になるように*Escherichia coli*細胞に*dadA*遺伝子突然変異を導入する工程をさらに含む請求項27に記載の方法。
29. D-アミノ基転移酵素遺伝子が*Bacillus sphaericus* D-アミノ転移酵素遺伝子である請求項23に記載の方法。
30. L-アミノ脱アミノ酵素遺伝子が*Proteus myxofaciens* L-アミノ脱アミノ酵素遺伝子または*Proteus mirabilis* L-アミノ脱アミノ酵素遺伝子である請求項23に記載の方法。
31. 細胞中にラセミ化酵素遺伝子を組み込む工程をさらに含む請求項23に記載の方法。
32. ラセミ化酵素遺伝子が、アラニンラセミ化酵素、グルタメートラセミ化酵素、アスパルテートラセミ化酵素およびフェニルアラニンラセミ化酵素からな

る群より選択される請求項 3 1 に記載の方法。

3 3. ラセミ化酵素遺伝子が、アラニンラセミ化酵素である請求項 3 2 に記載の方法。

3 4. 培地がアミノ供与体を含む請求項 2 3 に記載の方法。

3 5. アミノ供与体が、L-アラニン、L-グルタメート、L-フェニルアラニン、L-アルパルテートおよび前記L-アミノ酸のラセミ混合物からなる群から選択される請求項 3 4 に記載の方法。

3 6. ラセミ混合物がアセパルテートである請求項 3 5 に記載の方法。

3 7. 培地が基質としてL-フェニルアラニンを含む請求項 2 3 に記載の方法。

3 8. フェニルピルベートの生成を増加させる手段が細胞中に *aroH* 遺伝子を組み込むことを含む請求項 2 3 に記載の方法。

3 9. フェニルピルベートの生成を増加させる手段が細胞中に *pheA* 遺伝子を組み込むことを含む請求項 2 3 に記載の方法。

4 0. 請求項 2 3 の細胞の培養を用いて実質的に純粋なD-フェニルアラニンを調製する方法。

4 1. D-フェニルアラニンが高収率で生成される請求項 4 0 に記載の方法。

4 2. D-アミノ基転移酵素遺伝子およびL-アミノ脱アミノ酵素遺伝子がプラスミドを用いて細胞中に組み込まれる請求項 4 1 に記載の方法。

4 3. 外因性D-アミノ基転移酵素遺伝子および外因性L-アミノ脱アミノ酵素遺伝子を含んでなる組換え細胞。

4 4. D-アミノ脱アミノ酵素遺伝子が非機能的になるように細胞中にD-アミノ脱アミノ酵素遺伝子突然変異を更に含む請求項 4 3 に記載の組換え細胞。

4 5. 外因性D-アミノ基転移酵素遺伝子が *Bacillus sphaericus* D-アミノ基転移酵素遺伝子である請求項 4 3 に記載の組換え細胞。

4 6. 外因性L-アミノ脱アミノ酵素遺伝子が *Proteus myxofaciens* L-アミノ脱アミノ酵素遺伝子または *Proteus mirabilis* L-アミノ脱アミノ酵素遺伝子である請求項 4 3 に記載の組換え細胞。

4 7. 外因性ラセミ化酵素遺伝子をさらに含む請求項 4 3 に記載の組換え細胞。

4 8. 外因性ラセミ化酵素遺伝子が *Salmonella typhimur*

i u m遺伝子である請求項4 7に記載の組換え細胞。

4 9. S a l m o n e l l a t y p h i m u r i u m遺伝子がアラニンラセ  
ミ化酵素である請求項4 8に記載の組換え細胞。

5 0. 外因性a r o H遺伝子および外因性p h e A遺伝子をさらに含む請求項  
4 3に記載の組換え細胞。