【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28年11月10日(2016.11.10)

【公表番号】特表2015-529461(P2015-529461A)
【公表日】平成27年10月8日(2015.10.8)
【年通号数】公開・登録公報2015-063
【出願番号】特願2015-528573(P2015-528573)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｐ　19/04　(2006.01)
Ｃ１２Ｍ　1/40　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/09　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　9/12　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　11/00　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｐ　19/04　ＺＮＡ
Ｃ１２Ｍ　1/40　Ａ
Ｃ１２Ｎ　15/00　Ａ
Ｃ１２Ｎ　9/12
Ｃ１２Ｎ　11/00

【誤訳訂正書】
【提出日】平成28年9月15日(2016.9.15)
【誤訳訂正１】
【訂正対象書類名】特許請求の範囲
【訂正対象項目名】全文
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
酵素的な方式でオリゴ糖を合成する方法であって、
（ｉ）ＵＤＰ－Ｇａｌ再生酵素群の存在下、ガラクトースからＵＤＰ－Ｇａｌを作製し、この際、前記ＵＤＰ－Ｇａｌ再生酵素群は、ガラクトースキナーゼ、ＵＤＰ－糖ピロホスホリラーゼ及びピルビン酸キナーゼを含むことと、
（ｉｉ）ＵＤＰ－Ｇａｌ及びα－１，４ガラクトース転移酵素の存在下、Ｌａｃ－ＯＲ^{1A}をＧｂ３－ＯＲ^{1A}に転換し、この際、Ｒ^{1A}は、水素、置換または非置換のアルキル基、置換または非置換のアルケニル基、置換または非置換のアルキニル基、置換または非置換の炭素環基、置換または非置換の複素環基、置換または非置換のアリール基、置換または非置換のヘテロアリール基または酸素保護基であることと、
（ｉｉｉ）ＵＤＰ－ＧａｌＮＡｃ及びβ－１，３－Ｎ－アセチルガラクトサミン転移酵素の存在下、Ｇｂ３－ＯＲ^{1A}をＧｂ４－ＯＲ^{1A}に転換することと、
（ｖ）ＵＤＰ－Ｇａｌ及びβ－１，３－ガラクトース転移酵素の存在下、Ｇｂ４－ＯＲ^{1A}をＧｂ５－ＯＲ^{1A}に転換することを含むことと、
を含み、
この際、前記方法は、中間物を純化することなく実施され、およびすべての酵素が細胞に含まれることなく実施されることを特徴とする、方法。
【請求項２】
前記ＵＤＰ－Ｇａｌ再生酵素群は、ピロホスファターゼを含むことを特徴とする、請求項１に記載の方法。
【請求項３】

（ｉ）及び（ｉｉ）をＧｂ３－合成反応混合物中で行い、前記Ｇｂ３－合成反応混合物は、ガラクトース、ＰＥＰ、ＡＴＰ、ＵＴＰ、Ｌａｃ－ＯＲ^{1A}、α－１，４－ガラクトース転移酵素及びＵＤＰ－Ｇａｌ再生酵素群を含むことを特徴とする、請求項１または２に記載の方法。

【請求項４】

酵素反応を行う前はいかなる場合も、Ｌａｃ－ＯＲ^{1A}とガラクトースのＧｂ３－合成反応混合物中のモル比が１：１であることを特徴とする、請求項３に記載の方法。

【請求項５】

Ｒ^{1A}は、水素、アリル基、置換アルキル基、ビオチンまたはセラミドであることを特徴とする、請求項１～４のいずれか１項に記載の方法。

【請求項６】

前記α－１，４ガラクトース転移酵素はナイセリア・メニンジティディスのＬｇｔＣから由来し、前記ガラクトースキナーゼは大腸桿菌から由来し、前記ＵＤＰ－糖ピロホスホリラーゼはシロイヌナズナから由来し、前記ピルビン酸キナーゼは大腸桿菌から由来し、または前記ピロホスファターゼは大腸桿菌から由来することを特徴とする、請求項１～５のいずれか１項に記載の方法。

【請求項７】

さらに（ｉｖ）ＵＤＰ－ＧａｌＮＡｃ再生酵素群の存在下、ＧａｌＮＡｃからＵＤＰ－ＧａｌＮＡｃを作製し、この際、前記ＵＤＰ－ＧａｌＮＡｃ再生酵素群は、Ｎ－アセチルヘキソサミン１－キナーゼ、Ｎ－アセチルヘキソサミン１－リン酸ウリジル転移酵素及びピルビン酸キナーゼ、及び必要に応じてピロホスファターゼを含むことを含むことを特徴とする、請求項１～６のいずれか１項に記載の方法。

【請求項８】

（ｉｉｉ）及び（ｉｖ）は、Ｇｂ４－合成反応混合物中に行われ、前記Ｇｂ－４合成反応混合物は、ＧａｌＮＡｃ、ＰＥＰ、ＡＴＰ、ＵＴＰ、Ｇｂ３－ＯＲ^{1A}、β－１，３－Ｎ－アセチルガラクトサミン転移酵素及びＵＤＰ－ＧａｌＮＡｃ再生酵素群を含むことを特徴とする、請求項７に記載の方法。

【請求項９】

前記Ｇｂ４－合成反応混合物は、Ｇｂ３－合成反応混合物をＧａｌＮＡｃ、β－１，３－Ｎ－アセチルガラクトサミン転移酵素、Ｎ－アセチルヘキソサミン１－キナーゼ及びＮ－アセチルグルコサミン１－リン酸ウリジル転移酵素と混合することで作製されることを特徴とする、請求項８に記載の方法。

【請求項１０】

前記β－１，３－Ｎ－アセチルガラクトサミン転移酵素はヘモフィルス・インフルエンザ桿菌のＬｇｔＤから由来し、Ｎ－アセチルヘキソサミン１－キナーゼはロンガム菌から由来し、または前記Ｎ－アセチルヘキソサミン１－リン酸ウリジル転移酵素は大腸桿菌から由来することを特徴とする、請求項７～９のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１１】

さらにＧｂ４－ＯＲ^{1A}を分離することを含むことを特徴とする、請求項１～１０のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１２】

（ｖ）は、Ｇｂ５－合成反応混合物中に行われ、前記Ｇｂ５－合成反応混合物は、ガラクトース、ＰＥＰ、ＡＴＰ、ＵＴＰ、Ｇｂ４－ＯＲ^{1A}、β－１，３－ガラクトース転移酵素及びＵＤＰ－Ｇａｌ再生酵素群を含むことを特徴とする、請求項１～１１のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１３】

前記β－１，３－ガラクトース転移酵素はヘモフィルス・インフルエンザ桿菌のＬｇｔＤから由来することを特徴とする、請求項１～１２のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１４】

さらにＧｂ５－ＯＲ^{1A}を分離することを含むことを特徴とする、請求項１～１３のい

ずれか１項に記載の方法。
【請求項１５】
さらに（ｖｉｉ）ＧＤＰ－Ｆｕｃ及びα－１，２－フコース基転移酵素の存在下、Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}をフコース基－Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}に転換することを含むことを特徴とする、請求項１～１４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１６】
さらに（ｖｉｉｉ）ＧＤＰ－Ｆｕｃ再生酵素群の存在下、フコースからＧＤＰ－Ｆｕｃを生成し、この際、前記ＧＤＰ－Ｆｕｃ再生酵素群は、Ｌ－フコースキナーゼ／ＧＤＰ－フコースピロホスホリラーゼ、ピルビン酸キナーゼ及び必要に応じてピロホスファターゼを含むことを含むことを特徴とする、請求項１５に記載の方法。
【請求項１７】
（ｖｉｉ）及び（ｖｉｉｉ）は、フコース基－Ｇｂ５－合成反応混合物中に行われ、前記フコース基－Ｇｂ５－合成反応混合物は、フコース、ＡＴＰ、ＧＴＰ、ＰＥＰ、Ｇｂ５－ＯＲ、α－１，２－フコース基転移酵素及びＧＤＰ－Ｆｕｃ再生酵素群を含むことを特徴とする、請求項１６に記載の方法。
【請求項１８】
前記フコース基－Ｇｂ５－合成反応混合物は、Ｇｂ５－合成反応混合物を少なくともフコース、ＧＴＰ、α－１，２－フコース基転移酵素及びＬ－フコースキナーゼ／ＧＤＰ－フコースピロホスホリラーゼと混合して得られることを特徴とする、請求項１７に記載の方法。
【請求項１９】
前記Ｌ－フコースキナーゼ／ＧＤＰ－フコースピロホスホリラーゼはバクテロイデス・フラジリスから由来し、または前記α－１，２－フコース転移酵素はヘリコバクター・ピロリから由来することを特徴とする、請求項１６～１８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２０】
さらにフコース基－Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}を分離することを含むことを特徴とする、請求項１５～１９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２１】
さらに（ｉｘ）ＣＭＰ－Ｎｅｕ５Ａｃ及びα－２，３－シアル酸転移酵素の存在下、Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}をシアル酸－Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}に転換することを含むことを特徴とする、請求項１～２０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２２】
さらに（ｘ）ＣＭＰ－Ｎｅｕ５Ａｃ再生酵素群の存在下、Ｎｅｕ５ＡｃからＣＭＰ－Ｎｅｕ５Ａｃを生成し、この際、前記ＣＭＰ－Ｎｅｕ５Ａｃ再生酵素群は、シチジン一リン酸キナーゼ、ＣＭＰ－シアル酸シンターゼ、ピルビン酸キナーゼ及び必要に応じてピロホスファターゼを含むことを含むことを特徴とする、請求項２１に記載の方法。
【請求項２３】
（ｉｘ）及び（ｘ）は、シアル酸－Ｇｂ５－合成反応混合物中に行われ、前記シアル酸－Ｇｂ５－合成反応混合物は、Ｎｅｕ５Ａｃ、ＣＴＰ、ＰＥＰ、Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}、α－２，３－シアル酸転移酵素及びＣＭＰ－Ｎｅｕ５Ａｃ再生酵素群を含むことを特徴とする、請求項２２に記載の方法。
【請求項２４】
前記シアル酸－Ｇｂ５－合成反応混合物は、Ｇｂ５－合成反応混合物を少なくともＮｅｕ５Ａｃ、ＣＴＰ、α－２，３－シアル酸転移酵素、シチジン一リン酸キナーゼ及びＣＭＰ－シアル酸シンターゼと混合して得られることを特徴とする、請求項２３に記載の方法。
【請求項２５】
前記α－２，３－シアル酸転移酵素は海洋細菌（Ｍ．ｂａｃｔｅｒｉａ）から由来し、前記シチジン一リン酸キナーゼは大腸桿菌から由来し、または前記ＣＭＰ－シアル酸シンターゼはパスツレラ・ムルトシダから由来することを特徴とする、請求項２１～２４のい

ずれか１項に記載の方法。
【請求項２６】
シアル酸－Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}を分離することを含むことを特徴とする、請求項２１～２５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２７】
さらに（ａ）Ｇｂ３－合成反応混合物を少なくともＧａｌＮＡｃ、β－１，３－Ｎ－アセチルガラクトサミン転移酵素、Ｎ－アセチルヘキソサミン１－キナーゼ及びＮ－アセチルグルコサミン１－リン酸ウリジル転移酵素と混合することによりＧｂ４－合成反応混合物に形成することと、
（ｂ）Ｇｂ３－ＯＲ^{1A}をＧｂ４－ＯＲ^{1A}に転換することを許容する条件下、Ｇｂ４－合成反応混合物を培養することと、
（ｃ）Ｇｂ４－ＯＲ^{1A}をＧｂ５－ＯＲ^{1A}に転換することを許容する条件下、β－１，３－ガラクトース転移酵素の存在下、さらにＧｂ４－合成反応混合物を培養することと、
（ｄ）（ｃ）中に準備するＧｂ５－ＯＲ^{1A}を含有する反応混合物を少なくともフコース、ＧＴＰ、α－１，２－フコース基転移酵素及びＬ－フコースキナーゼ／ＧＤＰ－フコースピロホスホリラーゼと混合することによりフコース基－Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}反応混合物に形成することと、
（ｅ）Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}をフコース基－Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}に転換することを許容する条件下、フコース基－Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}反応混合物を培養することとを含むことを特徴とする、請求項３に記載の方法。
【請求項２８】
さらに（ａ）Ｇｂ３－合成反応混合物を少なくともＧａｌＮＡｃ、β－１，３－Ｎ－アセチルガラクトサミン転移酵素、Ｎ－アセチルヘキソサミン１－キナーゼ及びＮ－アセチルグルコサミン１－リン酸ウリジル転移酵素と混合することによりＧｂ４－合成反応混合物に形成することと、
（ｂ）Ｇｂ３－ＯＲ^{1A}をＧｂ４－ＯＲ^{1A}に転換することを許容する条件下、Ｇｂ４－合成反応混合物を培養することと、
（ｃ）Ｇｂ４－ＯＲ^{1A}を分離することと、
（ｄ）Ｇｂ４－ＯＲ^{1A}をβ－１，３－ガラクトース転移酵素及びＵＤＰ－Ｇａｌ再生酵素群と混合することによりＧｂ５－合成反応混合物に形成することと、
（ｅ）Ｇｂ４－ＯＲ^{1A}をＧｂ５－ＯＲ^{1A}に転換することを許容する条件下、Ｇｂ５－合成反応混合物を培養することと、
（ｆ）Ｇｂ５－合成反応混合物を少なくともフコース、ＧＴＰ、α－１，２－フコース転移酵素及びＬ－フコースキナーゼ／ＧＤＰ－フコースピロホスホリラーゼと混合することによりフコース－Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}反応混合物に形成することと、
（ｇ）Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}をフコース－Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}に転換することを許容する条件下、フコース－Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}反応混合物を培養することとを含むことを特徴とする、請求項３に記載の方法。
【請求項２９】
さらに（ａ）Ｇｂ３－合成反応混合物を少なくともＧａｌＮＡｃ、β－１，３－Ｎ－アセチルガラクトサミン転移酵素、Ｎ－アセチルヘキソサミン１－キナーゼ及びＮ－アセチルグルコサミン１－リン酸ウリジル転移酵素と混合することによりＧｂ４－合成反応混合物に形成することと、
（ｂ）Ｇｂ３－ＯＲ^{1A}をＧｂ４－ＯＲ^{1A}に転換することを許容する条件下、Ｇｂ４－合成反応混合物を培養することと、
（ｃ）Ｇｂ４－ＯＲ^{1A}をＧｂ５－ＯＲ^{1A}に転換することを許容する条件下、β－１，３－ガラクトース転移酵素の存在下、さらにＧｂ４－合成反応混合物を培養することと、
（ｄ）（ｃ）中に準備するＧｂ５－ＯＲ^{1A}を含有する反応混合物を少なくともＮｅｕ

５Ａｃ、ＣＴＰ、α－２，３－シアル酸転移酵素、シチジン一リン酸キナーゼ及びＣＭＰ－シアル酸シンターゼと混合することによりシアル酸－Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}反応混合物に形成することと、

（ｅ）Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}をシアル酸－Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}に転換することを許容する条件下、シアル酸－Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}反応混合物を培養することとを含むことを特徴とする、請求項３に記載の方法。

【請求項３０】

さらに（ａ）Ｇｂ３－合成反応混合物を少なくともＧａｌＮＡｃ、β－１，３－Ｎ－アセチルガラクトサミン転移酵素、Ｎ－アセチルヘキソサミン１－キナーゼ及びＮ－アセチルグルコサミン１－リン酸ウリジル転移酵素と混合することによりＧｂ４－合成反応混合物に形成することと、

（ｂ）Ｇｂ３－ＯＲ^{1A}をＧｂ４－ＯＲ^{1A}に転換することを許容する条件下、Ｇｂ４－合成反応混合物を培養することと、

（ｃ）Ｇｂ４－ＯＲ^{1A}を分離することと、

（ｄ）Ｇｂ４－ＯＲ^{1A}をβ－１，３－ガラクトース転移酵素及びＵＤＰ－Ｇａｌ再生酵素群と混合することによりＧｂ５－合成反応混合物に形成することと、

（ｅ）Ｇｂ４－ＯＲ^{1A}をＧｂ５－ＯＲ^{1A}に転換することを許容する条件下、Ｇｂ５－合成反応混合物を培養することと、

（ｆ）Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}をα－２，３シアル酸転移酵素及びＣＭＰ－Ｎｅｕ５Ａｃ再生酵素群と混合することによりシアル酸－Ｇｂ５－合成反応混合物に形成し、この際、前記ＣＭＰ－Ｎｅｕ５Ａｃ再生酵素群は、シチジン一リン酸キナーゼ、ＣＭＰ－シアル酸シンターゼ、ピルビン酸キナーゼ及び必要に応じてピロホスファターゼを含むことと、

（ｇ）Ｇｂ４－ＯＲ^{1A}をシアル酸－Ｇｂ５－ＯＲ^{1A}に転換することを許容する条件下、シアル酸－Ｇｂ５－合成反応混合物を培養することとを含むことを特徴とする、請求項３に記載の方法。

【請求項３１】

少なくとも１個の酵素は、支持体上に固定されることを特徴とする、請求項１に記載の方法。

【請求項３２】

前記Ｌａｃ－ＯＲ^{1A}、Ｇｂ３－ＯＲ^{1A}、Ｇｂ４－ＯＲ^{1A}またはＧｂ５－ＯＲ^{1A}は、支持体上に固定されることを特徴とする、請求項１に記載の方法。

【誤訳訂正２】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】０００３

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【０００３】

現在、Ｇｂ５、Ｇｌｏｂｏ　Ｈ及びＳＳＥＡ４を合成するための方法には、幾つかの欠点が存在する。伝統的な化学合成法は、非常に煩雑で手間がかかる上、高純度及び正確な形式を獲得するためには幾つかの保護及び脱保護ステップを必要とするので、往々にして収量が著しく低下していく。今まで、Ｇｌｏｂｏ　Ｈの化学合成に関する数多くの関連報告が発表された[７]　[８]　[９]　[１０]　[１１]　[１２]　[１３]　[１４]　。だが、ＳＳＥＡ４　の合成に関する報告がわずか両件である。Ｈｓｕ氏らが発表された方法はワンポット（ｏｎｅ－ｐｏｔ）化学合成法でＳＳＥＡ－４の多糖部分を準備し、収率は２４％[１５]　であり、Ｚｈｅｎ氏らが発表された方法は化学酵素方法を利用してミリグラム規模ＳＳＥＡ－４を合成するものである。[１６]一方、Ｌｅｌｏｉｒ－ｔｙｐｅ糖基転移酵素のＧｌｏｂｏ　Ｈの酵素的な合成に基づいて、ただヌクレオチド糖を供与体として活化して触媒化糖化反応を行うだけで済む。しかし、糖ヌクレオチドのコストが高すぎるため、大規模合成に適していない。さらに、副産物であるピロリン酸塩（ｐｙｒｏｐｈｏｓｐｈａｔｅ）及びヌクレオシド二リン酸（ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅ

ｄｉｐｈｏｓｐｈａｔｅ）により、ホスホリラーゼ及びＬｅｌｏｉｒ－ｔｙｐｅ 糖基のヌクレオチド糖における形成を抑制することになる。したがって、従来の技術の制限を克服するために、新たな手段を発展させると共に、ヌクレオチドを再びチャージして反応を続行するためにヌクレオチド糖産物の構成を達成する必要がある。過去数年間において、数多くのチームが糖ヌクレオチド再生の主要問題の解決に力を尽くしており、かつ糖ヌクレオチド再生に関する問題の大部分が既に解決した。しかしながら、糖ヌクレオチド再生に関する技術はまだ改善する余地が残されており、特に、ＵＤＰ－Ｇａｌの再生については非常に困難が伴う。例えば、初めてのＵＤＰ－Ｇａｌの再生は、１９８２年に、Ｗｏｎｇ及びＷｈｉｔｅｓｉｄｅから提出し、それはＵＤＰ－Ｇｌｃ Ｃ４ エピメラーゼ（ｅｐｉｍｅｒａｓｅ）により、ＵＤＰ－ＧｌｃとＵＤＰ－Ｇａｌを相互に転換するものである。［１７］１０年が過ぎた後、本発明チームから第２級ＵＤＰ－Ｇａｌ再生方法を見出し、それはＵＤＰ－Ｇｌｃ Ｃ４ エピメラーゼを使用せずに、その代わりに大腸桿菌ラクトースオペロン中に位置するＧｌｃ－１－リン酸ウリジル転移酵素（ｕｒｉｄｙｌｔｒａｎｓｆｅｒａｓｅ）を利用してＧａｌ－１－リン酸塩及びＵＤＰ－ＧｌｃＧｌｃ－１－リン酸塩及びＵＤＰ－Ｇａｌに交換するものである。［１８］しかし、適合な酵素の欠乏のせいで、直接にＵＴＰ 及びＧａｌ－１－リン酸塩をＵＤＰ－Ｇａｌに縮合形成するステップが最後までできなかった。標的化合物Ｇｂ５、Ｇｌｏｂｏ Ｈ及びＳＳＥＡ４がＧａｌ関連分子であるので、如何にしてＵＤＰ－Ｇａｌ再生の主要困難を克服すると共に、その効率を増加することが、Ｇｂ５、Ｇｌｏｂｏ Ｈ及びＳＳＥＡ４の大規模酵素合成の決め手となる。

【誤訳訂正３】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０１０２
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０１０２】
いかなる係るＵＤＰ－Ｇａｌ再生システムの酵素は、いずれも一般的な技術で作製される。本発明の実例によれば、酵素は自然資源から分離される。本発明の他の実例によれば、酵素は一般的な再編成技術で作製される。必要であれば、標的酵素のコード配列は、その宿主細胞に基づいて最適化した符号化調整を行う。例えば、大腸桿菌細胞を宿主として酵素を準備する時に、前記酵素の遺伝子を符号化して修飾されれば、それに含まれる暗号を大腸桿菌細胞中に適用させるようにする。

【誤訳訂正４】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０１０７
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０１０７】
ＵＤＰ－Ｇａｌ再生システムを１つまたは多種のガラクトース転移酵素との組合せは、高収率で、ガラクトース残基を好適な基質（受容体）に添加するために使用できる。ガラクトース転移酵素に用いられる基質は、当業者が熟知している（上記表２に示すものを参照）。好ましくは、前記基質は、１個の末端糖残基（例えば、Ｇａｌ、ＧａｌＮＡｃまたはＧｌｃＮＡｃ）を有するので、ガラクトース残基をその上に添加することができる。幾らかの実例中に、前記基質は、多糖（５０個よりも多い単糖ユニットを有する）、オリゴ糖（２～５０個の単糖ユニットを有する）、糖タンパクまたは糖ポリペプチドまたは糖脂質である。本文に述べるガラクトース化方法に用いられるガラクトース転移酵素の形式は、所望の最終産物及び前記最終産物を合成する基質によって定められ、それは当業者が熟知している範疇である。本文に述べるＵＤＰ－Ｇａｌ再生システム／ガラクトース転移酵素の組合せに関する手段は、の合成に用いられる。実例は図３に例示される。

【誤訳訂正５】

【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０１０９
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０１０９】
ＵＤＰ－ＧａｌＮＡｃ再生システム及びそのＮ－アセチルガラクトサミン化の用途
ＵＤＰ－ＧａｌＮＡｃ再生システムをＮ－アセチルガラクトサミン転移酵素（ＧａｌＮＡｃＴ）（例えばβ－１，３－Ｎ－アセチルガラクトサミン転移酵素）と合併使用することができ、好適な受容体上にＧａｌＮＡｃ残基を付加する。
【誤訳訂正６】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２１４
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２１４】
幾らかの実例中に、各個の反応器中の１つまたは多種の酵素、または全部Ｎ酵素は、好適な支持体上（例えば支持膜）に固定される。必要であれば、連続反応ステップの反応室を連結してもよく、これにより現時点の反応室の酵素反応が完了した後に、得られる反応混合物を次の反応室へ流動して次段階の反応ステップを行うことができる。幾らかの実例中に、前反応の産物を純化せずに、産物を含む反応混合物全体を次の反応室中に添加して次段階の酵素的な反応を行う。図３及び４が参照される。
【誤訳訂正７】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２２０
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２２０】
アリル基－Ｇｂ３の合成
反応混合物（２００ ｍＬ）は、１００ ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ緩衝液（ｐＨ ７．０）中に溶けていたアリル基－Ｌａｃ（１０ ｍｍｏｌ）、ガラクトース（１０ ｍｍｏｌ）、ホスホエノールピルビン酸（ＰＥＰ）（２２ ｍｍｏｌ）、ＡＴＰ（０．０５ ｍｍｏｌ）、ＵＴＰ（０．１２５ ｍｍｏｌ）及び１０ ｍＭ $MgCl_2$ を含む。１，４－ガラクトース転移酵素（ＬｇｔＣ）（１００ Ｕ）、ガラクトースキナーゼ（ＧａｌＫ）（５０ Ｕ）、ＵＤＰ－糖ピロホスホリラーゼ（ＡｔＵＳＰ）（１５０ Ｕ）、ピルビン酸キナーゼ（ＰＫ）（２００ Ｕ）及びピロホスファターゼ（ＰＰＡ）（２００ Ｕ）をその中に添加して反応を起動させる。フラスコを２５°Ｃ下に置いて培養すると共に、ＴＬＣで反応過程をモニターすることにより、アニスアルデヒドを発色させて表記する。もしいずれか１つの反応がまだ完了していないと、より多くの酵素を反応が完了するまでに添加する。ＴＬＣ及びＥＳＩ－ＭＳで産物を確定する。
【誤訳訂正８】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２２１
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２２１】
アリル基－Ｇｂ４の合成
アリル基－Ｇｂ３の合成後に、さらに他の成分を添加し、前記成分は、２２０ｍＬ溶液中に溶けていたＮ－アセチルガラクトサミン（ＧａｌＮＡｃ）（９．９ ｍｍｏｌ）、ＰＥＰ（２２ ｍｍｏｌ）、１，３－Ｎ－アセチルガラクトサミン転移酵素（１，３ＧａｌＮＡｃＴ，ＬｇｔＤ）（１００ Ｕ）、Ｎ－アセチルヘキソサミン１－キナーゼ（Ｎａ

ｈＫ）（５０　Ｕ）、Ｎ－アセチルグルコサミン１－リン酸ウリジル転移酵素（ＧｌｍＵ）（２００　Ｕ）、ＰＫ（１００　Ｕ）及びＰＰＡ（１００　Ｕ）を含む。混合物を２５°Ｃ下に置いて培養すると共に、ＴＬＣ及びＥＳＩ－ＭＳで　完全反応になるまでにモニターする。さらにＣ－１８ゲルカラムで前記産物を純化すると共に、ＮＭＲで特徴を確定する。

【誤訳訂正９】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２２２
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２２２】
アリル基－Ｇｂ５の合成
反応混合物（２５０　ｍＬ）は、１００　ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ緩衝液（ｐＨ　７．０）中に溶けていたアリル基－Ｇｂ４（９　ｍｍｏｌ）、ガラクトース（９　ｍｍｏｌ）、ＰＥＰ（２２　ｍｍｏｌ）、ＡＴＰ（０．０５　ｍｍｏｌ）、ＵＴＰ（０．１２５　ｍｍｏｌ）及び１０　ｍＭ　$MgCl_2$を含む。反応混合物中に１，３－ガラクトース転移酵素（１，３ＧａｌＴ，　ＬｇｔＤ）（２００　Ｕ）、ＧａｌＫ（５０　Ｕ）、ＵＳＰ（１５０　Ｕ）、ＰｙｋＦ（１００　Ｕ）及びＰＰＡ（１００　Ｕ）を添加して反応を起動させると共に、完全反応になるまでに２５°Ｃ下に置いて培養する。

【誤訳訂正１０】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２２３
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２２３】
アリル基－Ｇｌｏｂｏ　Ｈの合成
アリル基－Ｇｂ５反応産物の半量（～４．５　ｍｍｏｌ）は、付加的な純化をせずに直接にアリル基－ｇｌｏｂｏ　Ｈを準備するために用いられる。フコース（５　ｍｍｏｌ）、ＡＴＰ（０．０５　ｍｍｏｌ）、ＧＴＰ（０．５　ｍｍｏｌ）及びＰＥＰ（１１　ｍｍｏｌ）（１００　ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ　緩衝液（ｐＨ　７．０）に溶けている）を含む溶液をＬ－フコースキナーゼ／ＧＤＰ－フコースピロホスホリラーゼ（ＦＫＰ）（２００　Ｕ）、ＰｙｋＦ（２００　Ｕ）、ＰＰＡ（２００　Ｕ）及び１，２－フコース転移酵素（ＦｕｔＣ）（２００　Ｕ）中に添加すると共に、完全反応になるまでに２５°Ｃ下に置いて培養し、またＣ－１８ゲルクロマトグラフィーで前記産物を純化すると共に、その特徴を確定する。

【誤訳訂正１１】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２２４
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２２４】
アリル基－ＳＳＥＡ４の合成
アリル基－Ｇｂ５反応混合物の他の半量（４．５　ｍｍｏｌ）は、アリル基－ＳＳＥＡ４を合成するために用いられる。その中に１００　ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ緩衝液（ｐＨ　８．０）中に溶けていたＮ－アセチルノイラミン酸（Ｎｅｕ５Ａｃ）（５　ｍｍｏｌ）、ＡＴＰ（０．０５　ｍｍｏｌ）、ＣＴＰ（０．２５　ｍｍｏｌ）、ＰＥＰ（１１　ｍｍｏｌ）及び１０　ｍＭ　$MgCl_2$を添加し、そしてシチジン一リン酸キナーゼ（ＣＭＫ）（５０　Ｕ）、ＣＭＰ－シアル酸シンターゼ（Ｃｓｓ）（１２０　Ｕ）、ＰｙｋＦ（１００　Ｕ）、ＰＰＡ（１００　Ｕ）及びα－２，３－シアル酸転移酵素（ＪＴ－ＦＡＪ－１６）（１５０　Ｕ）を添加する。その過程は、ＴＬＣでモニターし、かつ上記のような

方法で純化すると共に、前記産物の特徴を確定する。
【誤訳訂正１２】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２２６
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２２６】
ヌクレオチド糖合成、糖基転移酵素及びＡＴＰ再生に用いられる遺伝子のクローニング
全ての遺伝子は、遺伝子組のＤＮＡまたはｃＤＮＡプールにより、個別プライマー（表６）でＰＣＲを経て獲得され、かつ前記ＰＣＲ産物を修飾されたｐＥＴ４７ｂ担体に接合する。ＡＴＧの後、続いてＨｉｓ－ｔａｇ、ＡｃＴＥＶ プロテアーゼのために位置を切断し、及び特別の制限識別酵素のｃｃｄＢ正の選択遺伝子（ｐｏｓｉｔｉｖｅ ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ ｇｅｎｅ）、またはＣ－末端Ｈｉｓ－ｔａｇにおけるｐＥＴ２８ａを側接する。遺伝子発現量を増加するために、大腸桿菌に対して最適化した暗号を使用して前記４個の糖基転移酵素を合成する。化学形質転換方法により、正確な配列を有するプラスミドをＡｒｃｔｉｃＥｘｐｒｅｓｓ／ＲＩＬコンピテント細胞にクローニングする。単一の菌そうを選ぶと共に、それをカナマイシンを有するＴＢ培地に接種し、終夜培養後に新鮮なＴＢ培地を使用して細胞培養物を更新する。ＯＤ６００が０．５に達する時に、最中濃度０．１ ｍＭのＩＰＴＧで標的タンパク質の表現を誘発する。そして１６°Ｃ下、継続的に２４時間成長する。前記大腸桿菌を収集すると共に、５０ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液（ｐＨ８．０）、３００ｍＭ塩化ナトリウム及び１０ｍＭイミダゾールを含有する緩衝液中に、マイクロ液化器で細胞を破壊する。前記細胞を４℃及び１０，０００ ｒｐｍ下、３０分間遠心分離する。懸濁液を平衡したＮｉ－ＮＴＡに注ぎ込み、かつ沈澱物を捨てる。同一の緩衝液（ただイミダゾールを含む濃度がより高い（２５０ｍＭ））を使用して結合していたタンパク質を洗い出す。Ｑｕｂｉｔ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｑｕａｎｔｉｔａｔｉｏｎ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ， ＣＡ）を使用してタンパク質濃度を測定すると共に、ＳＤＳ－ＰＡＧＥを用いてその純度を確認する。
【誤訳訂正１３】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２３０
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２３０】
（ｉ）ガラクトースキナーゼ（ＧａｌＫ）、Ｎ－アセチルヘキソサミン１－キナーゼ（ＧａｌＮＡｃＫ）、フコースキナーゼ（ＦＫＰ）及びシチジン一リン酸キナーゼ（ＣＭＫ）の活性測定
蛍光分析法は、ＡＤＰ生産量（ＡＴＰ消耗量）のモニターに基づいて、それはＮＡＤＨ消耗量を測定するピルビン酸キナーゼ／Ｌ－乳酸デヒドロゲナーゼ結合酵素を使用する分析である。例えば、Ｍｕｒｒａｙ氏ら，“Ｍｅｃｈａｎｉｓｍ ｏｆ Ｈｕｍａｎ α－１，３－Ｆｕｃｏｓｙｌｔｒａｎｓｆｅｒａｓｅ Ｖ： Ｇｌｙｃｏｓｉｄｉｃ Ｃｌｅａｖａｇｅ Ｏｃｃｕｒｓ Ｐｒｉｏｒ ｔｏ Ｎｕｃｌｅｏｐｈｉｌｉｃ Ａｔｔａｃｋ” Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ（１９９７） ３６：８２３－８３１； 及びＧｏｓｓｅｌｉｎ氏ら，“Ａ Ｃｏｎｔｉｎｕｏｕｓ Ｓｐｅｃｔｒｏｐｈｏｔｏｍｅｔｒｉｃ Ａｓｓａｙ ｆｏｒ Ｇｌｙｃｏｓｙｌｔｒａｎｓｆｅｒａｓｅｓ” Ａｎａｌｙｔｉｃａｌ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ（１９９４） ２２０：９２－９７が参照される。ＮＡＤＨの蛍光特性は、３４０ ｎｍの励起波長及び４５０ ｎｍの放射波長を有する。１００ ｕＬの反応混合物を調製し、それは１００ ｍＭ Ｔｒｉｓ（ｐＨ ７．５）中の前記結合酵素（ウサギ筋肉由来のピルビン酸キナーゼ（５単位）及びＬ－乳酸デヒドロゲナーゼ（７単位））、基質及び補助因子（０．２ ｍＭ ＮＡＤＨ、０．８ ｍＭ ＰＥＰ及び１０ ｍＭ $MgCl_2$）を含有する。個別の糖を添加することにより、反応を

起動させる。Ｋｃａｔ及びＫｍ動力学的パラメーターは、Ｇｒａｆｉｔ　ｖｅｒｓｉｏｎ　７（Ｅｒｉｔｈａｃｕｓ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ，　Ｍｉｄｄｌｅｓｅｘ，　ＵＫ）の理論方プログラムを使用し、前記実験データに適した曲線によって計算される。１単位の糖キナーゼ活性は、２５°Ｃで１分間ごとに１　ｕｍｏｌ糖－１－Ｐを形成する量として定義される。

【誤訳訂正１４】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２３１
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２３１】
（ｉｉ）ＵＤＰ－糖ピロホスホリラーゼ（ＵＳＰ）、Ｎ－アセチルグルコサミン１－リン酸ウリジル転移酵素（ＧｌｍＵ）、ＧＤＰ－Ｌ－フコースピロホスホリラーゼ（ＦＫＰ）及びＣＭＰ－シアル酸シンターゼ（Ｃｓｓ）の活性の測定
ピロリン酸塩の生産量は、ＥｎｚＣｈｅｃｋ　Ｐｙｒｏｐｈｏｓｐｈａｔｅ　Ａｓｓａｙ　Ｋｉｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，　ＣＡ，　ＵＳＡ）を使用して測定する。分析成分は：ＵＶ－Ｓｔａｒマイクロタイタープレー（Ｇｒｅｉｎｅｒ　Ｂｉｏ　Ｏｎｅ，　Ｇｅｒｍａｎｙ　）中の２００　ｕＭ　２－アミン基－６－メルカプト－７－メチルプリンヌクレオシド、１単位のヌクレオシドホスホリラーゼ、０．０３単位の無機ピロホスファターゼ、１０　ｍＭ　$MgCl_2$及び５０　ｍＭ　Ｔｒｉｓ（ｐＨ　７．５於１００ｕＬ規模）を含む。ＦＫＰを除いて、全ての成分をマイクロタイタープレー中に混合して平基準線を形成することを目的としてそれを平衡化する。酵素を添加することにより、反応を起動させる。ＣＭＰ－シアル酸シンターゼを除いて、１単位の酵素活性は、２５°Ｃで１分間ごとに個別糖－１－Ｐから１　ｕｍｏｌヌクレオチド糖を形成する量として定義される。ＣＭＰ－シアル酸シンターゼについては、その１単位の酵素活性は、２５°Ｃで１分間ごとに１　ｕｍｏｌカラメル酸を形成する量として定義される。

【誤訳訂正１５】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２３２
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２３２】
（ｉｉｉ）糖基転移酵素の測定：α－１，４－ガラクトース転移酵素（ＬｇｔＣ）、β１，３－Ｎ－アセチルガラクトサミン転移酵素（β１，３ＧａｌＮＡｃＴ，ＬｇｔＤ）、β－１，３－ガラクトース転移酵素（ＬｇｔＤ），α－１，２－フコース転移酵素（ＦｕｔＣ）及びα－２，３－シアル酸転移酵素（ＪＴ－ＦＡＪ－１６）。蛍光分析法を使用してＵＤＰ、ＧＤＰまたはＣＤＰの生産をモニターし、それはＮＡＤＨ消耗量を測定するピルビン酸キナーゼ／Ｌ－乳酸デヒドロゲナーゼ結合酵素を使用する分析である。例えば、Ｍｕｒｒａｙ氏ら，“Ｍｅｃｈａｎｉｓｍ　ｏｆ　Ｈｕｍａｎ　α－１，３－Ｆｕｃｏｓｙｌｔｒａｎｓｆｅｒａｓｅ　Ｖ：　Ｇｌｙｃｏｓｉｄｉｃ　Ｃｌｅａｖａｇｅ　Ｏｃｃｕｒｓ　Ｐｒｉｏｒ　ｔｏ　Ｎｕｃｌｅｏｐｈｉｌｉｃ　Ａｔｔａｃｋ”　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ（１９９７）　３６：８２３－８３１；　及びＧｏｓｓｅｌｉｎ氏ら，“Ａ　Ｃｏｎｔｉｎｕｏｕｓ　Ｓｐｅｃｔｒｏｐｈｏｔｏｍｅｔｒｉｃ　Ａｓｓａｙ　ｆｏｒ　Ｇｌｙｃｏｓｙｌｔｒａｎｓｆｅｒａｓｅｓ”　Ａｎａｌｙｔｉｃａｌ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ（１９９４）　２２０：９２－９７が参照される。ヌクレオチド糖を除いて、全ての分析成分を２５℃で、同時に多孔プレート蛍光放射測定器（ＳｐｅｃｔｒａＭａｘ　Ｍ２　Ｒｅａｄｅｒｓ，　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）中に培養する。対応するヌクレオチド糖を添加することにより、反応を起動させる。Ｋｃａｔ及びＫｍ動力学的パラメーターは、Ｇｒａｆｉｔ　ｖｅｒｓｉｏｎ　７（Ｅｒｉｔｈａｃｕｓ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ，　Ｍｉｄｄｌｅｓｅｘ，　ＵＫ）の理論方プログラムを使用し、前記実

験データに適した曲線によって計算される。１単位の活性は、２５°Ｃで１分間ごとに各別のヌクレオチド糖中に１　ｕｍｏｌ糖を受容体に触媒化転移する量として定義される。
【誤訳訂正１６】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２３３
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２３３】
（ｉｖ）ピルビン酸キナーゼ（ＰｙｒＫ）の測量
ピルビン酸キナーゼ分析法は、前述した糖基酵素を少々変更して得られ、かつＮＡＤＨの消耗量に基づくものでもある。１００　ｕＬの反応混合物を準備し、それは１００　ｍＭ　Ｔｒｉｓ（ｐＨ　７．５）中の０．８　ｍＭ　ＡＤＰ、０．８　ｍＭ　ＰＥＰ、０．２　ｍＭ　ＮＡＤＨ、１０　ｍＭ　$MgCl_2$及びウサギ筋肉由来のＬ－乳酸デヒドロゲナーゼ（５単位）を含み、前記混合物を黒色多孔プレートに置く。ＮＡＤＨは、３４０　ｎｍの励起波長及び４５０　ｎｍの放射波長を有する。適当量の再編成大腸桿菌ピルビン酸キナーゼを添加することにより、反応を起動させる。１単位の酵素活性は、２５°Ｃで１分間ごとに個別糖－１－Ｐから１　ｕｍｏｌヌクレオチド糖を形成する量として定義される。ＣＭＰ－シアル酸シンターゼについては、その１単位のピルビン酸キナーゼは、２５°Ｃで１分間ごとに１　ｕｍｏｌリン酸（エノール）ピルビン酸からピルビン酸に変換する量として定義される。
【誤訳訂正１７】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２３７
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２３７】
（ｖｉｉｉ）最適温度の測量
温度が酵素活性に対する影響力の評価は、適当量の純酵素をＭＯＰＳ緩衝液（ｐＨ　７．０）、１０　ｍＭ　$MgCl_2$及び個別基質中に培養する。分析の一致性を維持するために、まず全ての成分を混合しておき、かつ分析温度で５分間予熱し、それから定常温度で酵素を添加して反応を起動させると共に、マルチモードプレートリーダー（ＳｐｅｃｔｒａＭａｘ　Ｍ５，　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）で記録する。温度範囲は２０から６０°Ｃの間である。全ての反応は、統計的な評価の便宜のため、いずれも３回反復実験する。
【誤訳訂正１８】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２３９
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２３９】
暗号最適化したＬｇｔＣ酵素のコード配列は下記のとおりである（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：　２７）：
ＡＴＧＧＡＣＡＴＣＧＴＴＴＣＧＣＧＧＣＧＧＡＣＧＡＣＡＡＣＴＡＣＧＣＧＧＣＧ
ＴＡＣＣＴＧＴＧＣＧＴＴＧＣＧＧＣＧＡＡＡＴＣＴＧＴＴＧＡＡＧＣＧＧＣＧＣＡＣＣ
ＣＧＧＡＣＡＣＣＧＡＡＡＴＣＣＧＴＴＴＣＣＡＣＧＴＴＣＴＧＧＡＣＧＣＧＧＧＴＡＴ
ＣＴＣＴＧＡＡＧＣＧＡＡＣＣＧＴＧＣＧＧＣＧＧＴＴＧＣＧＧＣＧＡＡＣＣＴＧＣＧＴ
ＧＧＴＧＧＴＧＧＴＧＧＴＡＡＣＡＴＣＣＧＴＴＴＣＡＴＣＧＡＣＧＴＴＡＡＣＣＣＧＧ
ＡＡＧＡＣＴＴＣＧＣＧＧＧＴＴＴＣＣＣＧＣＴＧＡＡＣＡＴＣＣＧＴＣＡＣＡＴＣＴＣ
ＴＡＴＣＡＣＣＡＣＣＴＡＣＧＣＧＣＧＴＣＴＧＡＡＡＣＴＧＧＧＴＧＡＡＴＡＣＡＴＣ
ＧＣＧＧＡＣＴＧＣＧＡＣＡＡＡＧＴＴＣＴＧＴＡＣＣＴＧＧＡＣＡＴＣＧＡＣＧＴＴＣ

ＴＧＧＴＴＣＧＴＧＡＣＴＣＴＣＴＧＡＣＣＣＣＧＣＴＧＴＧＧＧＡＣＡＣＣＧＡＣＣＴ
ＧＧＧＴＧＡＣＡＡＣＴＧＧＣＴＧＧＧＴＧＣＧＴＧＣＡＴＣＧＡＣＣＴＧＴＴＣＧＴＴ
ＧＡＡＣＧＴＣＡＧＧＡＡＧＧＴＴＡＣＡＡＡＣＡＧＡＡＡＡＴＣＧＧＴＡＴＧＧＣＧＧ
ＡＣＧＧＴＧＡＡＴＡＣＴＡＣＴＴＣＡＡＣＧＣＧＧＧＴＧＴＴＣＴＧＣＴＧＡＴＣＡＡ
ＣＣＴＧＡＡＡＡＡＡＴＧＧＣＧＴＣＧＴＣＡＣＧＡＣＡＴＣＴＴＣＡＡＡＡＴＧＴＣＴ
ＴＧＣＧＡＡＴＧＧＧＴＴＧＡＡＣＡＧＴＡＣＡＡＡＧＡＣＧＴＴＡＴＧＣＡＧＴＡＣＣ
ＡＧＧＡＣＣＡＧＧＡＣＡＴＣＣＴＧＡＡＣＧＧＴＣＴＧＴＴＣＡＡＡＧＧＴＧＧＴＧＴ
ＴＴＧＣＴＡＣＧＣＧＡＡＣＴＣＴＣＧＴＴＴＣＡＡＣＴＴＣＡＴＧＣＣＧＡＣＣＡＡＣ
ＴＡＣＧＣＧＴＴＣＡＴＧＧＣＧＡＡＣＣＧＴＴＴＣＧＣＧＴＣＴＣＧＴＣＡＣＡＣＣＧ
ＡＣＣＣＧＣＴＧＴＡＣＣＧＴＧＡＣＣＧＴＡＣＣＡＡＣＡＣＣＧＴＴＡＴＧＣＣＧＧＴ
ＴＧＣＧＧＴＴＴＣＴＣＡＣＴＡＣＴＧＣＧＧＴＣＣＧＧＣＧＡＡＡＣＣＧＴＧＧＣＡＣ
ＣＧＴＧＡＣＴＧＣＡＣＣＧＣＧＴＧＧＧＧＴＧＣＧＧＡＡＣＧＴＴＴＣＡＣＣＧＡＡＣ
ＴＧＧＣＧＧＧＴＴＣＴＣＴＧＡＣＣＡＣＣＧＴＴＣＣＧＧＡＡＧＡＡＴＧＧＣＧＴＧＧ
ＴＡＡＡＣＴＧＧＣＧＧＴＴＣＣＧＣＡＣＣＧＴＡＴＧＴＴＣＴＣＴＡＣＣＡＡＡＣＧＴ
ＡＴＧＣＴＧＣＡＧＣＧＴＴＧＧＣＧＴＣＧＴＡＡＡＣＴＧＴＣＴＧＣＧＣＧＴＴＴＣＣ
ＴＧＣＧＴＡＡＡＡＴＣＴＡＣＴＧＡ。

【誤訳訂正１９】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２４１
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２４１】
暗号最適化したＬｇｔＤ酵素のコード配列は下記のとおりである（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：　２８）：

ＡＴＧＧＡＡＡＡＣＴＧＣＣＣＧＣＴＧＧＴＴＴＣＴＧＴＴＡＴＣＧＴＴＴＧＣＧＣＧ
ＴＡＣＡＡＣＧＣＧＧＡＡＣＡＧＴＡＣＡＴＣＧＡＣＧＡＡＴＣＴＡＴＣＴＣＴＴＣＴＡ
ＴＣＡＴＣＡＡＣＣＡＧＡＣＣＴＡＣＧＡＡＡＡＣＣＴＧＧＡＡＡＴＣＡＴＣＧＴＴＡＴ
ＣＡＡＣＧＡＣＧＧＴＴＣＴＡＣＣＧＡＣＣＴＧＡＣＣＣＴＧＴＣＴＣＡＣＣＴＧＧＡＡ
ＧＡＡＡＴＣＴＣＴＡＡＡＣＴＧＧＡＣＡＡＡＣＧＴＡＴＣＡＡＡＡＴＣＡＴＣＴＣＴＡ
ＡＣＡＡＡＴＡＣＡＡＣＣＴＧＧＧＴＴＴＣＡＴＣＡＡＣＴＣＴＣＴＧＡＡＣＡＴＣＧＧ
ＴＣＴＧＧＧＴＴＧＣＴＴＣＴＣＴＧＧＴＡＡＡＴＡＣＴＴＣＧＣＧＣＧＴＡＴＧＧＡＣ
ＧＣＧＧＡＣＧＡＣＡＴＣＧＣＧＡＡＡＣＣＧＴＣＴＴＧＧＡＴＣＧＡＡＡＡＡＡＡＴＣＧ
ＴＴＡＣＣＴＡＣＣＴＧＧＡＡＡＡＡＡＡＣＧＡＣＣＡＣＡＴＣＡＣＣＧＣＧＡＴＧＧＧ
ＴＴＣＴＴＡＣＣＴＧＧＡＡＡＴＣＡＴＣＧＴＴＧＡＡＡＡＡＧＡＡＴＧＣＧＧＴＡＴＣ
ＡＴＣＧＧＴＴＣＴＣＡＧＴＡＣＡＡＡＡＡＣＣＧＧＧＴＧＡＣＡＴＣＴＧＧＡＡＡＡＡＣＣ
ＣＧＣＴＧＣＴＧＣＡＣＡＡＣＧＡＣＡＴＣＴＧＣＧＡＡＧＣＧＡＴＧＣＴＧＴＴＣＴＡ
ＣＡＡＣＣＣＧＡＴＣＣＡＣＡＡＣＡＡＣＡＣＣＡＴＧＡＴＣＡＴＧＣＧＴＧＣＧＡＡＣ
ＧＴＴＴＡＣＣＧＴＧＡＡＣＡＣＡＡＡＣＴＧＡＴＣＴＴＣＡＡＣＡＡＡＧＡＣＴＡＣＣ
ＣＧＴＡＣＧＣＧＧＡＡＧＡＣＴＡＣＡＡＡＴＴＣＴＧＧＴＣＴＧＡＡＧＴＴＴＣＴＣＧ
ＴＣＴＧＧＧＴＴＧＣＣＴＧＧＣＧＡＡＣＴＡＣＣＣＧＧＡＡＧＣＧＣＴＧＧＴＴＡＡＡ
ＴＡＣＣＧＴＣＴＧＣＡＣＧＧＴＡＡＣＣＡＧＡＣＣＴＣＴＴＣＴＧＴＴＴＡＣＡＡＣＣ
ＡＣＧＡＡＣＡＧＡＡＣＧＡＡＡＣＣＧＣＧＡＡＡＡＡＡＡＴＣＡＡＡＣＧＴＧＡＡＡＡ
ＣＡＴＣＡＣＣＴＡＣＴＡＣＣＴＧＡＡＣＡＡＡＡＴＣＧＧＴＡＴＣＧＡＣＡＴＣＡＡＡ
ＧＴＴＡＴＣＡＡＣＴＣＴＧＴＴＴＣＴＣＴＧＣＴＧＧＡＡＡＴＣＴＡＣＣＡＣＧＴＴＧ
ＡＣＡＡＡＴＣＴＡＡＣＡＡＡＧＴＴＣＴＧＡＡＡＴＣＴＡＴＣＣＴＧＴＡＣＧＡＡＡＴ
ＧＴＡＣＡＴＧＴＣＴＣＴＧＧＡＣＡＡＡＴＡＣＡＣＣＡＴＣＡＣＣＴＣＴＣＴＧＣＴＧ
ＣＡＣＴＴＣＡＴＣＡＡＡＴＡＣＣＡＣＣＴＧＧＡＡＣＴＧＴＴＣＧＡＣＣＴＧＡＡＡＣ
ＡＧＡＡＣＣＴＧＡＡＡＡＴＣＡＴＣＡＡＡＡＡＡＡＴＴＣＡＴＣＣＧＴＡＡＡＡＴＣＡＡ
ＣＧＴＴＡＴＣＴＴＣＴＡＧ。

【誤訳訂正２０】

【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２４３
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２４３】
暗号最適化したＦｕｔＣ酵素のコード配列は下記のとおりである（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：　２９）：
ＡＴＧＧＣＧＴＴＣＡＡＡＧＴＴＧＴＴＣＡＧＡＴＣＴＧＣＧＧＴＧＧＴＣＴＧＧＧＴ
ＡＡＣＣＡＧＡＴＧＴＴＣＣＡＧＴＡＣＧＣＧＴＴＣＧＣＧＡＡＡＴＣＴＣＴＧＣＡＧＡ
ＡＡＣＡＣＴＣＴＡＡＣＡＣＣＣＣＧＧＴＴＣＴＧＣＴＧＧＡＣＡＴＣＡＣＣＴＣＴＴＴ
ＣＧＡＣＴＧＧＴＣＴＧＡＣＣＧＴＡＡＡＡＴＧＣＡＧＣＴＧＧＡＡＣＴＧＴＴＣＣＣＧ
ＡＴＣＧＡＣＣＴＧＣＣＧＴＡＣＧＣＧＴＣＴＧＣＧＡＡＡＧＡＡＡＴＣＧＣＧＡＴＣＧ
ＣＧＡＡＡＡＴＧＣＡＧＣＡＣＣＴＧＣＣＧＡＡＡＣＴＧＧＴＴＣＧＴＧＡＣＧＣＧＣＴ
ＧＡＡＡＴＧＣＡＴＧＧＧＴＴＴＣＧＡＣＣＧＴＧＴＴＴＣＴＣＡＧＧＡＡＡＴＣＧＴＴ
ＴＴＣＧＡＡＴＡＣＧＡＡＣＣＧＡＡＡＣＴＧＣＴＧＡＡＡＡＣＣＧＴＣＴＣＧＴＣＴＧＡ
ＣＣＴＡＣＴＴＣＴＴＣＧＧＴＴＡＣＴＴＣＣＡＧＧＡＣＣＣＧＣＧＴＴＡＣＴＴＣＧＡ
ＣＧＣＧＡＴＣＴＣＴＣＣＧＣＴＧＡＴＣＡＡＡＣＡＧＡＣＣＴＴＣＡＣＣＣＴＧＣＣＧ
ＣＣＧＣＣＧＣＣＧＧＡＡＡＡＣＡＡＣＡＡＡＡＡＣＡＡＣＡＡＣＡＡＡＡＡＡＧＡＡＧ
ＡＡＧＡＡＴＡＣＣＡＧＴＧＣＡＡＡＣＴＧＴＣＴＣＴＧＡＴＣＣＴＧＧＣＧＧＣＧＡＡ
ＡＡＡＣＴＣＴＧＴＴＴＴＣＧＴＴＣＡＣＡＴＣＣＧＴＣＧＴＧＧＴＧＡＣＴＡＣＧＴＴ
ＧＧＴＡＴＣＧＧＴＴＧＣＣＡＧＣＴＧＧＧＴＡＴＣＧＡＣＴＡＣＣＡＧＡＡＡＡＡＡＧ
ＣＧＣＴＧＧＡＡＴＡＣＡＴＧＧＣＧＡＡＡＣＧＴＧＴＴＣＣＧＡＡＣＡＴＧＧＡＡＣＴ
ＧＴＴＣＧＴＴＴＴＣＴＧＣＧＡＡＧＡＣＣＴＧＧＡＡＴＴＣＡＣＣＣＡＧＡＡＣＣＴＧ
ＧＡＣＣＴＧＧＧＴＴＡＣＣＣＧＴＴＣＡＴＧＧＡＣＡＴＧＡＣＣＡＣＣＣＧＴＧＡＣＡ
ＡＡＧＡＡＧＡＡＧＡＡＧＣＧＴＡＣＴＧＧＧＡＣＡＴＧＣＴＧＣＴＧＡＴＧＣＡＧＴＣ
ＴＴＧＣＣＡＧＣＡＣＧＧＴＡＴＣＡＴＣＧＣＧＡＡＣＴＣＴＡＣＣＴＡＣＴＣＴＴＧＧ
ＴＧＧＧＣＧＧＣＧＴＡＣＣＴＧＡＴＣＧＡＡＡＡＣＣＣＧＧＡＡＡＡＡＡＴＣＡＴＣＡ
ＴＣＧＧＴＣＣＧＡＡＡＣＡＣＴＧＧＣＴＧＴＴＣＧＧＴＣＡＣＧＡＡＡＡＣＡＴＣＣＴ
ＧＴＧＣＡＡＡＧＡＡＴＧＧＧＴＴＡＡＡＡＴＣＧＡＡＴＣＴＣＡＣＴＴＣＧＡＡＧＴＴ
ＡＡＡＴＣＴＣＡＧＡＡＡＴＡＣＡＡＣＧＣＧＴＡＡ。
【誤訳訂正２１】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２４５
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２４５】
暗号最適化したＪＴ－ＦＡＪ－１６酵素のコード配列は下記のとおりである（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：　３０）：
ＡＴＧＡＡＣＡＡＣＧＡＣＡＡＣＴＣＴＡＣＣＡＣＣＡＣＣＡＡＣＡＡＣＡＡＣＧＣＧ
ＡＴＣＧＡＡＡＴＣＴＡＣＧＴＴＧＡＣＣＧＴＧＣＧＡＣＣＣＴＧＣＣＧＡＣＣＡＴＣＣ
ＡＧＣＡＧＡＴＧＡＣＣＡＡＡＡＴＣＧＴＴＴＣＴＣＡＧＡＡＡＡＣＣＴＣＴＡＡＣＡＡ
ＡＡＡＡＣＴＧＡＴＣＴＣＴＴＧＧＴＣＴＣＧＴＴＡＣＣＣＧＡＴＣＡＣＣＧＡＣＡＡＡ
ＴＣＴＣＴＧＣＴＧＡＡＡＡＡＡＡＴＣＡＡＣＧＣＧＧＡＡＴＴＣＴＴＣＡＡＡＧＡＡＣ
ＡＧＴＴＣＧＡＡＣＴＧＡＣＣＧＡＡＴＣＴＣＴＧＡＡＡＡＡＣＡＴＣＡＴＣＣＴＧＴＣ
ＴＧＡＡＡＡＣＡＴＣＧＡＣＡＡＣＣＴＧＡＴＣＡＴＣＣＡＣＧＧＴＡＡＣＡＣＣＣＴＧ
ＴＧＧＴＣＴＡＴＣＧＡＣＧＴＴＧＴＴＧＡＣＡＴＣＡＴＣＡＡＡＧＡＡＧＴＴＡＡＣＣ
ＴＧＣＴＧＧＧＴＡＡＡＡＡＣＡＴＣＣＣＧＡＴＣＧＡＡＣＴＧＣＡＣＴＴＣＴＡＣＧＡ
ＣＧＡＣＧＧＧＴＴＣＴＧＣＧＧＡＡＴＡＣＧＴＴＣＧＴＡＴＣＴＡＣＧＡＡＴＴＣＴＣＴ
ＡＡＡＣＴＧＣＣＣＧＧＡＡＴＣＴＧＡＡＣＡＧＡＡＡＴＡＣＡＡＡＡＡＣＣＴＣＴＣＴＧＴ
ＣＴＡＡＡＡＡＣＡＡＣＡＴＣＡＡＡＴＴＣＴＣＴＡＴＣＧＡＣＧＧＧＴＡＣＣＧＡＣＴＣ

ＴＴＴＣＡＡＡＡＡＣＡＣＣＡＴＣＧＡＡＡＡＣＡＴＣＴＡＣＧＧＴＴＴＣＴＣＴＣＡＧ
ＣＴＧＴＡＣＣＣＧＡＣＣＡＣＣＴＡＣＣＡＣＡＴＧＣＴＧＣＧＴＧＣＧＧＡＣＡＴＣＴ
ＴＣＧＡＣＡＣＣＡＣＣＣＴＧＡＡＡＡＴＣＡＡＣＣＣＧＣＴＧＣＧＴＧＡＡＣＴＧＣＴ
ＧＴＣＴＡＡＣＡＡＣＡＴＣＡＡＡＣＡＧＡＴＧＡＡＡＴＧＧＧＡＣＴＡＣＴＴＣＡＡＡ
ＧＡＣＴＴＣＡＡＣＴＡＣＡＡＡＣＡＧＡＡＡＧＡＣＡＴＣＴＴＣＴＡＣＴＣＴＣＴＧＡ
ＣＣＡＡＣＴＴＣＡＡＣＣＣＧＡＡＡＧＡＡＡＴＣＣＡＧＧＡＡＧＡＣＴＴＣＡＡＣＡＡ
ＡＡＡＣＴＣＴＡＡＣＡＡＡＡＡＣＴＴＣＡＴＣＴＴＣＡＴＣＧＧＴＴＣＴＡＡＣＴＣＴ
ＧＣＧＡＣＣＧＣＧＡＣＣＧＣＧＧＡＡＧＡＡＣＡＧＡＴＣＡＡＣＡＴＣＡＴＣＴＣＴＧ
ＡＡＧＣＧＡＡＡＡＡＡＧＡＡＡＡＣＴＣＴＴＣＴＡＴＣＡＴＣＡＣＣＡＡＣＴＣＴＡＴ
ＣＴＣＴＧＡＣＴＡＣＧＡＣＣＴＧＴＴＣＴＴＣＡＡＡＧＧＴＣＡＣＣＣＧＴＣＴＧＣＧ
ＡＣＣＴＴＣＡＡＣＧＡＡＣＡＧＡＴＣＡＴＣＡＡＣＧＣＧＣＡＣＧＡＣＡＴＧＡＴＣＧ
ＡＡＡＴＣＡＡＣＡＡＣＡＡＡＡＴＣＣＣＧＴＴＣＧＡＡＧＣＧＣＴＧＡＴＣＡＴＧＡＣ
ＣＧＧＴＡＴＣＣＴＧＣＣＧＧＡＣＧＣＧＧＴＴＧＧＴＧＧＴＡＴＧＧＧＴＴＣＴＴＣＴ
ＧＴＴＴＴＣＴＴＣＴＣＴＡＴＣＣＣＧＡＡＡＧＡＡＧＴＴＡＡＡＡＡＣＡＡＡＴＴＣＧ
ＴＴＴＴＣＴＡＣＡＡＡＴＣＴＧＧＴＡＣＣＧＡＣＡＴＣＧＡＡＡＡＣＡＡＣＴＣＴＣＴ
ＧＡＴＣＣＡＧＧＴＴＡＴＧＣＴＧＡＡＡＣＴＧＡＡＣＣＴＧＡＴＣＡＡＣＣＧＴＧＡＣ
ＡＡＣＡＴＣＡＡＡＣＴＧＡＴＣＴＣＴＧＡＣＡＴＣＴＡＡ。

【誤訳訂正２２】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２４９
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２４９】
リンカーを有するＧｂ３の大規模準備
５　ｍｍｏｌリンカーを有するラクトース、５　ｍｍｏｌガラクトース、１２　ｍｍｏｌホスホエノールピルビン酸（ＰＥＰ）、０．２５　ｍｍｏｌ　ＡＴＰ、０．２５　ｍｍｏｌ　ＵＴＰ及び１０　ｍＭ　$MgCl_2$を１００　ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ緩衝溶液（ｐＨ　７．５）に添加する。適当量のα－１，４－ガラクトース転移酵素（ＬｇｔＣ）、ガラクトースキナーゼ（ＧａｌＫ）、ＵＤＰ－糖ピロホスホリラーゼ（ＵＳＰ）、ピルビン酸キナーゼ（ＰｙｋＦ）及びピロホスファターゼ（ＰＰＡ）を添加することにより、反応を起動させる。三角フラスコを穏やかに揺らし、１６～５０°Ｃの培養器中に置く。ＴＬＣを利用して反応を観察する。もし反応が停止すると、さらに多くの酵素を添加する。ＴＬＣでその中に出発物がないことを発見した時に、前記反応が停止したことを示す。１８Ｃ逆相カラムを使用して前記Ｇｂ３産物を分離し、その収率が９９％である。

【誤訳訂正２３】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２５３
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２５３】
リンカーを有するＧｂ４の大規模準備
５　ｍｍｏｌリンカーを有するＧｂ３、５　ｍｍｏｌ　Ｎ－アセチルガラクトサミン（ＧａｌＮＡｃ）、１２　ｍｍｏｌホスホエノールピルビン酸（ＰＥＰ）、０．２５　ｍｍｏｌ　ＡＴＰ、０．２５　ｍｍｏｌ　ＵＴＰ及び１０　ｍＭ　$MgCl_2$を１００　ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ緩衝溶液（ｐＨ　７．５）に添加する。適当量のβ－１，３－Ｎ－アセチルガラクトサミン転移酵素（ＬｇｔＤ）、Ｎ－アセチルヘキソサミン１－キナーゼ（ＧａｌＮＡｃＫ）、Ｎ－アセチルグルコサミン１－リン酸ウリジル転移酵素（ＧｌｍＵ）、ピルビン酸キナーゼ（ＰｙｋＦ）及びピロホスファターゼ（ＰＰＡ）を添加することにより、反応を起動させる。三角フラスコを穏やかに揺らし、１６～５０°Ｃの培養器中に置く。ＴＬＣを利用して反応を観察する。もし反応が停止すると、さらに多くの酵素を添

加する。ＴＬＣでその中に出発物がないことを発見したときに、前記反応が停止したことを示す。１８Ｃ逆相カラムを使用して前記Ｇｂ４産物を分離し、その収率が９６％である。
【誤訳訂正２４】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２５５
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２５５】
リンカーを有するＧｂ５の大規模準備
５ｍｍｏｌアリル基－Ｇｂ４、５ｍｍｏガラクトース、１２ｍｍｏｌホスホエノールピルビン酸（ＰＥＰ）、０．２５ｍｍｏｌ ＡＴＰ、０．２５ｍｍｏｌ ＵＴＰ、１０ｍＭ $MgCl_2$ を１００ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ緩衝液（ｐＨ ７．５）に添加する。適当量のβ－１，３－ガラクトース転移酵素、ガラクトースキナーゼ（ＧａｌＫ）、ＵＤＰ－糖ピロホスホリラーゼ（ＵＳＰ）、ピルビン酸キナーゼ（ＰｙｋＦ）及びピロホスファターゼ（ＰＰＡ）を添加することにより、反応を起動させる。三角フラスコを穏やかに揺らし、１６～５０°Ｃの培養器中に置く。ＴＬＣを利用して反応を観察する。もし反応が停止すると、さらに多くの酵素を添加する。ＴＬＣでその中に出発物がないことを発見したときに、前記反応が停止したことを示す。１８Ｃ逆相カラムを使用して前記Ｇｂ５産物を分離し、その収率が９５％である。
【誤訳訂正２５】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２５９
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２５９】
リンカーを有するＧｌｏｂｏ Ｈの大規模準備
５ｍｍｏｌリンカーを有するＧｂ５、５ｍｍｏｌ フコース、１２ｍｍｏｌホスホエノールピルビン酸（ＰＥＰ）、０．２５ｍｍｏｌ ＡＴＰ、０．２５ｍｍｏｌ ＧＴＰ と１０ｍＭ $MgCl_2$ を１００ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ緩衝液（ｐＨ ７．５）に添加する。α－１，２－フコース転移酵素、Ｌ－フコースキナーゼ／ＧＤＰ－フコースピロホスホリラーゼ（ＦＫＰ）、ピルビン酸キナーゼ（ＰｙｋＦ）及びピロホスファターゼ（ＰＰＡ）を添加することにより、反応を起動させる。三角フラスコを穏やかに揺らし、１６～５０°Ｃの培養器中に置く。ＴＬＣを利用して反応を観察する。もし反応が停止すると、さらに多くの酵素を添加する。ＴＬＣでその中に出発物がないことを発見したときに、前記反応が停止したことを示す。１８Ｃ逆相カラムを使用して前記Ｇｌｏｂｏ Ｈ産物を分離し、その収率が９４％である。
【誤訳訂正２６】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２６３
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２６３】
リンカーを有するＳＳＥＡ４の大規模準備
５ｍｍｏｌリンカーを有するＧｂ５、５ｍｍｏｌフコース、１２ｍｍｏｌホスホエノールピルビン酸（ＰＥＰ）、０．２５ｍｍｏｌ ＡＴＰ、０．２５ｍｍｏｌ ＣＴＰ與１０ｍＭ $MgCl_2$ を１００ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ緩衝液（ｐＨ ７．５）に添加する。適当量のα－２，３－シアル酸転移酵素、シチジン一リン酸キナーゼ（ＣＭＫ）、ＣＭＰ－シアル酸シンターゼ（Ｃｓｓ）、ピルビン酸キナーゼ（ＰｙｋＦ）及びピロホスファターゼ（ＰＰＡ）を添加することにより、反応を起動させる。三角フラスコ

を穏やかに揺らし、１６～５０°Ｃの培養器中に置く。ＴＬＣを利用して反応を観察する。もし反応が停止すると、さらに多くの酵素を添加する。ＴＬＣでその中に出発物がないことを発見したときに、前記反応が停止したことを示す。１８Ｃ逆相カラムを使用して前記ＳＳＥＡ４産物を分離し、その収率が４５％である。

【誤訳訂正２７】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２７０
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２７０】
三角フラス平中に、５ ｍｍｏｌアリル基－ラクトース、５ ｍｍｏｌ ガラクトース、１２ ｍｍｏｌ ＰＥＰ、０．２５ ｍｍｏｌ ＡＴＰ、０．２５ ｍｍｏｌ ＵＴＰ及び１０ ｍＭ $MgCl_2$ を１００ ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ緩衝液（ｐＨ ７．５）中に混合する。三角フラスコ中に適当のα１，４－ガラクトース転移酵素（ＬｇｔＣ）、ＧａｌＫ、ＵＳＰ、ＰｙｋＦ及びＰＰＡを添加して酵素反応を起動させると共に、アリル基－Ｇｂ３を合成する。反応混合物を含有する三角フラスコを穏やかに揺らし、１６～５０°Ｃの培養器中に置く。ＴＬＣ分析法を利用して合成過程をモニターする。もしアリル基－Ｇｂ３の合成が見当たらないと、さらに多くの酵素を添加する。

【誤訳訂正２８】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２７１
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２７１】
アリル基－Ｇｂ３の合成後に、他の組の成分（５ ｍｍｏｌ ＧａｌＮＡｃ、１２ ｍｍｏｌ ＰＥＰ及び適当量のＮ－アセチルヘキソサミン１－キナーゼ（ＧａｌＮＡｃＫ）、Ｎ－アセチルグルコサミン１－リン酸ウリジル転移酵素（ＧｌｍＵ）、ＰｙｋＦ、ＰＰＡ 及びβ・ １，３－Ｎ－アセチルガラクトサミン転移酵素（ＬｇｔＤ）を含む）を三角フラスコ中に添加する。アリル基－Ｇｂ３の合成と同じ条件下、形成された反応混合物を培養する。アリル基－Ｇｂ４の合成が見当たらないと、さらに多くの酵素を添加する。

【誤訳訂正２９】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】０２７２
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【０２７２】
アリル基－Ｇｂ４の合成後に、アリル基－Ｇｂ４の純化をしない場合、５ ｍｍｏｌガラクトース及び１２ ｍｍｏｌ ＰＥＰを三角フラスコ中に添加する。適当のβ １，３－ガラクトース転移酵素（ＬｇｔＤ）、ＧａｌＫ、ＵＳＰ、ＰｙｋＦ及びＰＰＡを添加することにより、次段階のガラクトースグリコシド化反応を起動させてアリル基－Ｇｂ５を合成する。反応混合物を含有する三角フラスコを穏やかに揺らし、１６～５０°Ｃの培養器中に置く。ＴＬＣ分析法を利用して合成過程をモニターする。もしアリル基－Ｇｂ５の合成が見当たらないと、さらに多くの酵素を添加する。アリル基－ラクトースから一ステップでアリル基－Ｇｂ５を合成する収率が約４０％である。