

【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22年7月22日(2010.7.22)

【公開番号】特開2008-29329(P2008-29329A)

【公開日】平成20年2月14日(2008.2.14)

【年通号数】公開・登録公報2008-006

【出願番号】特願2007-163859(P2007-163859)

【国際特許分類】

C 12 N 1/19 (2006.01)

C 12 P 7/56 (2006.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 12 N	1/19	
C 12 P	7/56	Z N A
C 12 N	15/00	A

【手続補正書】

【提出日】平成22年6月8日(2010.6.8)

【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】

ゼノpus・レービス(Xenopus laevis)由来のL-乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子が導入された酵母。

【請求項2】

前記L-乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子が、配列番号1に示す核酸配列を有する遺伝子であることを特徴とする、請求項1に記載の酵母。

【請求項3】

前記酵母がサッカロミセス(Saccharomyces)属に属することを特徴とする、請求項1または2に記載の酵母。

【請求項4】

前記酵母がサッカロミセス・セレビセ(Saccharomyces cerevisiae)であることを特徴とする、請求項1～3のいずれかの項に記載の酵母。

【請求項5】

前記L-乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子が、該遺伝子の発現を可能とするプロモーターの下流に導入されたことを特徴とする、請求項1～4のいずれかの項に記載の酵母。

【請求項6】

前記L-乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子が、染色体上のピルビン酸脱炭酸酵素1遺伝子(PDC1遺伝子)のプロモーターの下流に発現可能な状態で導入されたことを特徴とする、請求項1～5のいずれかの項に記載の酵母。

【請求項7】

請求項1～6のいずれかの項に記載の酵母を培養することを含む、L-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】0008

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0008】

上記課題を解決するために、本発明者らが鋭意検討した結果、ゼノプス・レーピス (X e n o p u s l a e v i s)由来の L - 乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子が導入された酵母を培養することにより、従来のウシ由来の L - 乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子が導入された酵母を培養することよりも高い対糖収率で L - 乳酸を製造できることを見出し、本発明を完成させるに至った。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0009

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0009】

すなわち、本発明は、ゼノプス・レーピス (X e n o p u s l a e v i s)由来の L - 乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子が導入された酵母を提供するものである。ゼノプス・レーピス (X e n o p u s l a e v i s)由来の L - 乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子が導入された酵母は、好ましくは、配列番号 1 に示す核酸配列を有する遺伝子が導入された酵母である。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0010

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0010】

本発明の別の好ましい態様によれば、ゼノプス・レーピス (X e n o p u s l a e v i s)由来の L - 乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子が導入された酵母は、サッカロミセス (S a c c h a r o m y c e s) 属に属する酵母であり、さらに好ましくはサッカロミセス・セレビセ (S a c c h a r o m y c e s c e r e v i s i a e) である。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0011

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0011】

本発明の別の好ましい態様によれば、ゼノプス・レーピス (X e n o p u s l a e v i s)由来の L - 乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子が染色体上のピルビン酸脱炭酸酵素 1 遺伝子 (P D C 1 遺伝子) のプロモーターの下流に発現可能な状態で導入された酵母である。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0012

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0012】

また、本発明は、上記ゼノプス・レーピス (*Xenopus laevis*) 由来の L - 乳酸脱水素酵素が導入された酵母を培養することを含む、L - 乳酸の製造方法を提供するものである。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0017

【補正方法】削除

【補正の内容】

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0018

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0018】

本発明で使用するゼノプス・レーピス (*Xenopus laevis*) 由来の L - 1 d h 遺伝子は、好ましくは、配列番号1に示す核酸配列を有する L - 1 d h 遺伝子である。

【手続補正9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0019

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0019】

本発明で使用するゼノプス・レーピス (*Xenopus laevis*) 由来の L - 1 d h 遺伝子には、遺伝的多型性や、変異誘発などによる変異型の遺伝子も含まれる。ここでいう遺伝的多型性とは、遺伝子上の自然突然変異により遺伝子の塩基配列が一部変化しているものである。また、変異誘発とは、人工的に遺伝子に変異を導入することをいい、例えば、部位特異的変異導入用キット (Mutan-K (タカラバイオ社製)) を用いる方法や、ランダム変異導入用キット (BD Diversify PCR Random Mutagenesis (CLONTECH社製)) を用いる方法などがある。

【手続補正10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0020

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0020】

本発明で使用する酵母は、ゼノプス・レーピス (*Xenopus laevis*) 由来の L - 1 d h 遺伝子を導入しうる酵母であれば制限はないが、サッカロミセス (*Saccharomyces*) 属、シゾサッカロミセス (*Schizosaccharomyces*) 属、クリベロミセス (*Kluyveromyces*) 属又はカandida (*Candida*) 属に属する酵母が挙げられる。好ましくは、サッカロミセス・セレビセ (*Saccharomyces cerevisiae*) であって、具体的には、NBR C 10505 株、NBR C 10506 株が好ましい。

【手続補正11】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0021

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0021】

本発明のゼノプス・レーピス (*Xenopus laevis*) 由来の L - 乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子を酵母に導入する方法としては、例えば、ゼノプス・レーピス (*Xenopus laevis*) 由来の L - 1 d h 遺伝子をクローニングし、クローニングした該遺伝子を組み込んだ発現ベクターを酵母に形質転換する方法、クローニングした該遺伝子を染色体上の目的箇所に相同組換えで挿入する方法等が挙げられるが、これらに限られるものではない。

【手続補正12】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0022

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0022】

本発明で使用するゼノプス・レーピス (*Xenopus laevis*) 由来の L - 1 d h 遺伝子をクローニングする方法としては特に制限はなく、既知の手法を用いることができる。例えば、既知の遺伝子情報に基づき、PCR (Polymerase Chain Reaction) 法を用いて必要な遺伝領域を增幅取得する方法や、ゲノムライブラリーや cDNA ライブラリーより相同性や酵素活性を指標としてクローニングする方法などが挙げられる。また、既知のタンパク質情報に基づき化学合成的又は遺伝子工学的に合成する方法も可能である。

【手続補正13】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0023

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0023】

クローニングしたゼノプス・レーピス (*Xenopus laevis*) 由来の L - 1 d h 遺伝子を組み込む発現ベクターとしては、酵母で汎用的に利用される発現ベクターを用いることができる。酵母で汎用的に利用される発現ベクターとは、酵母細胞内での自立的複製に必要な配列、大腸菌細胞内での自立的複製に必要な配列、酵母選択マーカー及び大腸菌選択マーカーを有しており、また、組み込んだゼノプス・レーピス (*Xenopus laevis*) 由来の L - 1 d h 遺伝子を発現させるために、その発現を調節するオペレーター、プロモーター、ターミネーター又はエンハンサー等のいわゆる調節配列をも有していることが望ましい。

【手続補正14】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0025

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0025】

調節配列としては、ゼノプス・レーピス (*Xenopus laevis*) 由来の L - 1 d h 遺伝子を発現可能なものであれば特に制限はないが、一例として酸性フォスファターゼ遺伝子 (PHO5)、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ遺伝子 (TDH1, 2, 3)、アルコールデヒドロゲナーゼ遺伝子 (ADH1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) 遺伝子、ガラクトース代謝系遺伝子 (GAL1, 7, 10)、シトクロム c 遺伝子

(C Y C 1)、トリオースリン酸イソメラーゼ遺伝子 (T P I 1)、ホスホグリセレートキナーゼ遺伝子 (P G K 1)、ホスホフルクトースキナーゼ遺伝子 (P F K 1)、ピルビンデカルボキシラーゼ遺伝子 (P D C 1 , 5 , 6)などのプロモーター配列及び T D H 3 遺伝子などのターミネーター配列が挙げられる。

【手続補正 15】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0026

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0026】

上記発現ベクターのプロモータ下流に ゼノプス・レービス (Xenopus laevis) 由来の L - 1 d h 遺伝子を導入することにより、該遺伝子を発現可能なベクターが得られる。得られた ゼノプス・レービス (Xenopus laevis) 由来の L - 1 d h 遺伝子発現ベクターを、後述する方法により酵母に形質転換することにより、ゼノプス・レービス (Xenopus laevis) 由来の L - 1 d h 遺伝子を酵母に導入することができる。

【手続補正 16】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0027

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0027】

また、ゼノプス・レービス (Xenopus laevis) 由来の L - 1 d h 遺伝子を染色体上に挿入することで、ゼノプス・レービス (Xenopus laevis) 由来の L - 1 d h 遺伝子を酵母に導入することができる。ゼノプス・レービス (Xenopus laevis) 由来の L - 1 d h 遺伝子を染色体中に挿入する方法に特に制限はないが、ゼノプス・レービス (Xenopus laevis) 由来の L - 1 d h 遺伝子を含む DNA を後述する方法により酵母に形質転換し、ゼノプス・レービス (Xenopus laevis) 由来の L - 1 d h 遺伝子を非相同組み換えによって染色体中のランダムな位置に挿入する方法や、ゼノプス・レービス (Xenopus laevis) 由来の L - 1 d h 遺伝子を含む DNA を相同組み換えにより目的とする箇所に挿入する方法などを用いることができる。好ましくは、相同組み換えによる方法である。

【手続補正 17】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0028

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0028】

ゼノプス・レービス (Xenopus laevis) 由来の L - 1 d h 遺伝子を含む DNA を染色体中の目的箇所に、好ましくは P D C 1 遺伝子のプロモーターの下流に相同組み換えで挿入する方法としては、ゼノプス・レービス (Xenopus laevis) 由来の L - 1 d h 遺伝子を含む DNA の上流及び下流に、導入目的箇所に相同的な部分を附加するようにデザインしたプライマーを用いて P C R を行い、得られた P C R 断片を後述する方法により酵母に形質転換する方法が挙げられるが、これに限定されるものではない。また、形質転換株の選択を容易にするために、上記 P C R 断片には酵母選択マーカーが含まれることが好ましい。

【手続補正18】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0030

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0030】

(1) ステップ1：ゼノプス・レーピス (Xenopus laevis) 由来の L-1dh 遺伝子の下流にターミネーターがつながったプラスミドを鋳型とし、プライマー1, 2をセットとしてゼノプス・レーピス (Xenopus laevis) 由来の L-1dh 遺伝子及びターミネーターを含む断片をPCRで増幅する。プライマー1は、導入目的箇所の上流側に相同意的な配列40bp以上を付加するようデザインし、プライマー2は、ターミネーターより下流のプラスミド由来の配列をもとにデザインする。好ましくは、プライマー1に付加する導入目的箇所の上流側に相当する配列は、ビルビン酸脱炭酸酵素1遺伝子 (PDC1遺伝子) の上流に相当する配列である。

【手続補正19】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0033

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0033】

上記で得られたゼノプス・レーピス (Xenopus laevis) 由来の L-1dh 遺伝子発現ベクターまたはPCR断片を酵母に導入するには、形質転換、形質導入、トランスフェクション、コトランスフェクションまたはエレクトロポレーション等の方法を用いることができる。具体的には、例えば、酢酸リチウムを用いる方法やプロトプラスト法等がある。

【手続補正20】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0035

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0035】

本発明のゼノプス・レーピス (Xenopus laevis) 由来の L-1dh 遺伝子が導入された酵母を培養することにより、培地中に L-乳酸を製造することができる。

【手続補正21】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0050

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0050】

(実施例1：ゼノプス・レーピス (Xenopus laevis) 由来の L-1dh 遺伝子発現ベクターの作製)

ゼノプス・レーピス (Xenopus laevis) 由来の L-1dh 遺伝子として、配列番号1に示す核酸配列を有するL-1dh 遺伝子を使用した。ゼノプス・レーピス (Xenopus laevis) 由来の L-1dh 遺伝子のクローニングはPCR法により行った。PCRには、ゼノプス・レーピスの腎臓由来cDNAライブラリー (STRATA GENE社製) より付属のプロトコールに従い調製したファージミドDNAを鋳型とした。

【手続補正22】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0053

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0053】

上記ゼノプス・レービス(*Xenopus laevis*)由来のL-1dh遺伝子が挿入されたpUC118ベクターを制限酵素SalI及びNotIで切断し、DNA断片を1%アガロースゲル電気泳動により分離、定法に従いゼノプス・レービス(*Xenopus laevis*)由来のL-1dh遺伝子を含む断片を精製した。得られたL-1dh遺伝子を含む断片を、図2に示す発現ベクターpTRS11のXhoI/NotI切断部位にライゲーションし、上記と同様な方法でプラスミドDNAを回収し、制限酵素XhoI及びNotIで切断することにより、ゼノプス・レービス(*Xenopus laevis*)由来のL-1dh遺伝子が挿入された発現ベクターを選抜した。以後、このようにして作製したゼノプス・レービス(*Xenopus laevis*)由来のL-1dh遺伝子を組み込んだ発現ベクターをpTRS102とする。

【手続補正23】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0057

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0057】

(実施例2：ゼノプス・レービス(*Xenopus laevis*)由来のL-1dh遺伝子発現ベクターの酵母への導入)

実施例1のようにして得られたpTRS102を酵母サッカロミセス・セレビセNBR C10505株のpdc1遺伝子を破壊した株(以下、29-1B株と示す。)に形質転換した。形質転換は、YEASTMAKER YEAST Transformation System(CLONTECH社製)を用いた酢酸リチウム法により行い、詳細は付属のプロトコールに従った。宿主とする29-1B株はウラシル合成能を欠損した株であり、pTRS102の持つURA3遺伝子の働きにより、ウラシル非添加培地上でpTRS102の導入された形質転換株の選択が可能である。このようにして得られた形質転換株へのゼノプス・レービス(*Xenopus laevis*)由来のL-1dh遺伝子発現ベクター導入の確認は、形質転換株から、ゲノムDNA抽出キットGenとるくん(タカラバイオ社製)によりプラスミドDNAを含むゲノムDNAを抽出し、これを鋳型としてPremix Taq(タカラバイオ社製)を用いたPCRにより行った。確認用プライマーには、ゼノプス・レービス(*Xenopus laevis*)由来のL-1dh遺伝子をクローニングした際に用いたプライマー(配列番号3,4)を使用した。その結果、pTRS102を形質転換した株において、ゼノプス・レービス(*Xenopus laevis*)由来L-1dh遺伝子が導入されていることを確認した。以下、上記pTRS102が導入された形質転換株を29-1B/pTRS102株とする。

【手続補正24】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0059

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0059】

(実施例3：ゼノプス・レービス(*Xenopus laevis*)由来のL-1dh遺伝子のPDC1遺伝子座への導入)

実施例 1 で得られた p T R S 1 0 2 を増幅鑄型とし、オリゴヌクレオチド（配列番号 7, 8）をプライマーセットとした P C R により、ゼノプス・レービス（Xenopus laevis）由来の L - 1 d h 遺伝子及び T D H 3 ターミネーター配列を含む 1 . 3 k b の P C R 断片を増幅した（図 1 のステップ 1 に相当）。ここで配列番号 7 は、 P D C 1 遺伝子の開始コドンから上流 6 5 b p に相当する配列が付加されるようデザインした。

【手続補正 2 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 6 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 6 3】

上記のようにして得られた形質転換株が、ゼノプス・レービス（Xenopus laevis）由来の L - 1 d h 遺伝子が染色体上の P D C 1 遺伝子プロモーターの下流に導入されている酵母であることの確認は下記のように行つた。まず、形質転換株のゲノム D N A をゲノム D N A 抽出キット G e n とるくん（タカラバイオ社製）により調製し、これを増幅鑄型とし、オリゴヌクレオチド（配列番号 1 1, 1 2）をプライマーセットとした P C R により、約 2 . 8 k b の増幅 D N A 断片が得られることで確認した。なお、非形質転換株では、上記 P C R によって約 2 . 1 k b の増幅 D N A 断片が得られる。以下、上記ゼノプス・レービス（Xenopus laevis）由来の L - 1 d h 遺伝子が染色体上の P D C 1 遺伝子プロモーターの下流に導入された形質転換株を、 B 2 株とする。なお、 P D C 1 遺伝子の上流及び下流配列は、 S a c c h a r o m y c e s G e n o m e D a t a b a s e (URL: <http://www.yeastgenome.org/>) より取得することができる。

【手続補正 2 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 7 7

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 7 7】

表 2 及び表 3 の結果から、ゼノプス・レービス（Xenopus laevis）由来の L - 1 d h 遺伝子が導入された酵母を培養することにより、ウシ由来の L - 1 d h 遺伝子が導入された酵母を培養することよりも高い対糖収率で L - 乳酸を製造することができた。

【手続補正 2 7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 7 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 7 8】

（実施例 6 : ゼノプス・レービス（Xenopus laevis）由来の L - 1 d h 遺伝子の T D H 3 遺伝子座への導入）

染色体中に挿入するゼノプス・レービス（Xenopus laevis）由来の L - 1 d h 遺伝子を T D H 3 プロモーターの下流に導入することで乳酸生産性の向上が可能であるか検討を行つた。

【手続補正 2 8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 7 9

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0079】

実施例3と同様な方法でゼノプス・レービス (Xenopus laevis)由来のL-1dh遺伝子をTDH3遺伝子座に導入するために、pTRS102のTDH3ターミネーターをADH1ターミネーターに変更したプラスミドを作製した。

【手続補正29】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0083

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0083】

このpTRS150を鋳型とし、オリゴヌクレオチド（配列番号8, 15）をプライマーセットとしたPCRにより、ゼノプス・レービス (Xenopus laevis)由来のL-1dh遺伝子及びADH1ターミネーター配列を含む1.3kbのPCR断片を増幅した。ここで配列番号15のプライマーは、TDH3遺伝子の開始コドンから上流60bpに相当する配列が付加されるようデザインした。

【手続補正30】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0085

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0085】

それぞれのPCR断片を1%アガロースゲル電気泳動により分離、常法に従い精製した。ここで得られた各1.3kb断片、1.2kb断片を混合したものを増幅鋳型とし、オリゴヌクレオチド（配列番号15, 16）をプライマーセットとしたPCR法によって、ゼノプス・レービス (Xenopus laevis)由来のL-1dh遺伝子、ADH1ターミネーター及びURA3遺伝子が連結された約2.5kbのPCR断片を増幅した。

【手続補正31】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0086

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0086】

上記のPCR断片を1%アガロースゲル電気泳動により分離、常法に従い精製後、ゼノプス・レービス (Xenopus laevis)由来のL-1dh遺伝子がpdc1遺伝子座に導入されたB2株に形質転換し、ウラシル非添加培地で培養することにより、ゼノプス・レービス (Xenopus laevis)由来のL-1dh遺伝子が染色体上のTDH3遺伝子プロモーターの下流に導入されている形質転換株を選択した。

【手続補正32】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0087

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0087】

上記のようにして得られた形質転換株が、ゼノプス・レーピス (Xenopus laevis)由来のL-1dh遺伝子が染色体上のTDH3遺伝子プロモーターの下流に導入されている酵母であることの確認は下記のように行つた。まず、形質転換株のゲノムDNAをゲノムDNA抽出キットGenとるくん(タカラバイオ社製)により調製し、これを増幅鑄型とし、オリゴスクレオチド(配列番号17, 18)をプライマーセットとしたPCRにより、約2.8kbの増幅DNA断片が得られることで確認した。なお、非形質転換株では、上記PCRによって約2.1kbの増幅DNA断片が得られる。以下、上記ゼノプス・レーピス (Xenopus laevis)由来のL-1dh遺伝子が染色体上のTDH3遺伝子プロモーターの下流に導入された形質転換株をB3株とする。なお、TDH3遺伝子座の上流及び下流配列は、Saccharomyces Genome Database (URL:<http://www.yeastgenome.org/>)より取得することができる。

【手続補正33】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0091

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0091】

表4の結果から、ゼノプス・レーピス (Xenopus laevis)由来のL-乳酸脱水素酵素をコードする遺伝子が染色体上のPDC1遺伝子のプロモーターの下流に発現可能な状態で導入された酵母を改良することにより、より高い対糖収率でL-乳酸を製造可能な酵母が作出できた。

【手続補正34】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0092

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0092】

また、本発明のゼノプス・レーピス (Xenopus laevis)由来のL-1dh遺伝子が導入された酵母を既知の方法で更に改良し、該酵母を培養することでより高い対糖収率でL-乳酸を製造することが可能である。

【手続補正35】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0093

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0093】

(実施例8、比較例6: L-乳酸脱水素酵素の活性)

実施例2、比較例2で得られた29-1B/pTRS102株及び29-1B/pTRS49株を用いて、pH5~7におけるゼノプス・レーピス (Xenopus laevis)由来のL-乳酸脱水素酵素活性及びウシ由来のL-乳酸脱水素酵素活性を比較した。

【手続補正36】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0099

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0099】

この結果から、pH 5～7において、ゼノpus・レービス (Xenopus laevis)由来のL-乳酸脱水素酵素活性は、ウシ由来のL-乳酸脱水素酵素の活性よりも高いことがわかった。また、表2及び表3の結果から、本発明のゼノpus・レービス (Xenopus laevis)由来のL-ldh遺伝子が導入された酵母を培養することにより、ウシ由来のL-ldh遺伝子が導入された酵母を培養することよりも高い対糖収率でL-乳酸を製造することができる事がわかった。