

【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18年9月7日(2006.9.7)

【公表番号】特表2002-520067(P2002-520067A)
 【公表日】平成14年7月9日(2002.7.9)
 【出願番号】特願2000-560279(P2000-560279)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)
 C 1 2 N 1/21 (2006.01)
 C 1 2 N 9/00 (2006.01)
 C 1 2 N 9/02 (2006.01)
 C 1 2 N 9/04 (2006.01)
 C 1 2 N 9/06 (2006.01)
 C 1 2 P 19/26 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A
 C 1 2 N 1/21
 C 1 2 N 9/00
 C 1 2 N 9/02
 C 1 2 N 9/04
 C 1 2 N 9/06
 C 1 2 P 19/26

【手続補正書】

【提出日】平成18年7月14日(2006.7.14)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】発酵によってグルコサミンを製造する方法であって、

(a) グルコサミン - 6 - リン酸シターゼの活性を増大する少なくとも一つの遺伝的修飾を有する微生物を炭素、窒素及びリン酸塩の同化できる供給源を含む発酵培地で培養する工程であって、前記遺伝的修飾が、

(i) グルコサミン - 6 - リン酸シターゼの活性を有する、グルコサミン - 6 - リン酸シターゼをコードしている組換え核酸分子による前記微生物の形質転換と、

(ii) 前記グルコサミン - 6 - リン酸シターゼの活性を増大する、グルコサミン - 6 - リン酸シターゼをコードしている遺伝子の遺伝的修飾であって、前記遺伝的修飾が、グルコサミン - 6 - リン酸シターゼをコードしている前記遺伝子の少なくとも一つのヌクレオチドの欠失、挿入及び置換からなる群から選択される少なくとも一つの核酸修飾を結果として生じ、前記少なくとも一つの核酸修飾がグルコサミン - 6 - リン酸シターゼの活性の増大を結果として生じることとからなる群から選択され、

前記培養する工程により、グルコサミン - 6 - リン酸及びグルコサミンからなる群から選択される生成物が前記微生物から生成されて蓄積される工程、及び

(b) 前記生成物を回収して精製する工程
 を含む方法。

【請求項2】前記培養する工程により、少なくとも約1 g / Lの前記生成物が生成されて蓄積される請求項1に記載の方法。

【請求項3】 前記組換え核酸分子は、

(a) 配列番号16のアミノ酸配列をコードしている核酸配列、

(b) 配列番号13、配列番号14及び配列番号15からなる群から選択される核酸配列、及び

(c) 前記(a)又は(b)の核酸配列の相同体からなる群から選択される核酸配列を含む請求項1に記載の方法。

【請求項4】 グルコサミン-6-リン酸シターゼの活性の増大を結果として生ずる遺伝的修飾を有する、グルコサミン-6-リン酸シターゼをコードしている核酸配列を含む組換え核酸分子であって、

(a) 配列番号19、配列番号22、配列番号25、配列番号28及び配列番号31からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードしている核酸配列、

(b) 配列番号17、配列番号18、配列番号20、配列番号21、配列番号23、配列番号24、配列番号26、配列番号27、配列番号29及び配列番号30からなる群から選択される核酸配列、及び

(c) 前記(a)又は(b)の核酸配列の相同体からなる群から選択される核酸配列を含む組換え核酸分子。

【請求項5】 生合成の方法によってグルコサミンを生成するための微生物であって、前記微生物は請求項4に記載の組換え核酸分子で形質転換され、前記核酸配列の発現により、前記微生物によるグルコサミンの産出が増大する微生物。

【請求項6】 前記微生物は、N-アセチルグルコサミン-6-リン酸デアセチラーゼ、グルコサミン-6-リン酸デアミナーゼ、N-アセチルグルコサミン特異酵素II^{Na^g}、ホスホグルコサミンムターゼ、グルコサミン-1-リン酸アセチルトランスフェラーゼ-N-アセチルグルコサミン-1-リン酸ウリジルトランスフェラーゼ、ホスホフルクトキナーゼ、PEP:グルコースPTSの酵素II^{G¹c}、PEP:マンノースPTSのEIEIM, P/III^{Maⁿ}、及びホスファターゼよりなる群から選択されるタンパク質をコードしている核酸分子に少なくとも一つの付加的な遺伝的修飾を有する請求項1に記載の方法。

【請求項7】 グルコサミン-6-リン酸シターゼ作用を有するグルコサミン-6-リン酸シターゼであって、前記シターゼは、配列番号19、配列番号22、配列番号25、配列番号28、配列番号31、及びそれらの相同体よりなる群から選択されるアミノ酸配列を含むグルコサミン-6-リン酸シターゼ。