

【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25年9月5日(2013.9.5)

【公表番号】特表2013-500729(P2013-500729A)

【公表日】平成25年1月10日(2013.1.10)

【年通号数】公開・登録公報2013-002

【出願番号】特願2012-523236(P2012-523236)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 9/06 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 Q 1/26 (2006.01)

C 1 2 M 1/34 (2006.01)

G 0 1 N 27/327 (2006.01)

G 0 1 N 27/416 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 9/06 Z N A B

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 1 0 1

C 1 2 Q 1/26

C 1 2 M 1/34 E

G 0 1 N 27/30 3 5 3 F

G 0 1 N 27/30 3 5 3 R

G 0 1 N 27/46 3 3 6 G

【手続補正書】

【提出日】平成25年7月16日(2013.7.16)

【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】

配列番号1記載のアミノ酸配列の56位に対応する位置でアミノ酸残基A s nをA l a、C y s、P h e、M e t、S e rおよびV a lから選択されるアミノ酸残基で置換することにより改変された変異体フルクトシルアミノ酸オキシダーゼ。

【請求項2】

野生型フルクトシルアミノ酸オキシダーゼと比較して減少されたオキシダーゼ活性を有し、かつ野生型フルクトシルアミノ酸オキシダーゼと比較して増加したデヒドロゲナーゼ活性を有する請求項1記載の変異体フルクトシルアミノ酸オキシダーゼ。

【請求項3】

野生型フルクトシルアミノ酸オキシダーゼの30%以下のオキシダーゼ活性を有し、かつ

野生型フルクトシルアミノ酸オキシダーゼの50%以上のデヒドロゲナーゼ活性を有する請求項1記載の変異体フルクトシルアミノ酸オキシダーゼ。

【請求項4】

野生型フルクトシルアミノ酸オキシダーゼと比較して増加したデヒドロゲナーゼ活性を有する請求項1記載の変異体フルクトシルアミノ酸オキシダーゼ。

【請求項5】

配列番号1～12からなる群より選択されるアミノ酸配列であり、配列番号1記載のアミノ酸配列の56位に対応する位置のアミノ酸残基Asnが、Ala、Cys、Phe、Met、SerおよびValから選択されるアミノ酸残基で置換されているアミノ酸配列を有する請求項1記載の変異体フルクトシルアミノ酸オキシダーゼ。

【請求項6】

配列番号1記載のアミノ酸配列であり、56位のアミノ酸残基Ansが、Ala、Cys、Phe、Met、SerおよびValから選択されるアミノ酸残基で置換されているアミノ酸配列を有する請求項1記載の変異体フルクトシルアミノ酸オキシダーゼ。

【請求項7】

配列番号1の109～124位でアミノ酸配列：Ser Gly Tyr Gln Ala Leu Val Asp Ala Gly Leu Asp Ala Thr Asn Gluが、配列：Lys Gln Tyr Gln Ala Leu His Asp Ala Gly Ala Gly Leu Glu Lys Thr His Alaに置き換えられている請求項6記載の変異体フルクトシルアミノ酸オキシダーゼ。

【請求項8】

配列番号2記載のアミノ酸配列であり、47位のアミノ酸残基Asnが、Ala、Cys、Phe、Met、SerおよびValから選択されるアミノ酸残基で置換されている請求項1記載の変異体フルクトシルアミノ酸オキシダーゼ。

【請求項9】

配列番号3記載のアミノ酸配列であり、52位のアミノ酸残基Asnが、Ala、Cys、Phe、Met、SerおよびValから選択されるアミノ酸残基で置換されている請求項1記載の変異体フルクトシルアミノ酸オキシダーゼ。

【請求項10】

配列番号7記載のアミノ酸配列であり、56位のアミノ酸残基Asnが、Ala、Cys、Phe、Met、SerおよびValから選択されるアミノ酸残基で置換されている請求項1記載の変異体フルクトシルアミノ酸オキシダーゼ。

【請求項11】

配列番号7の61～72位でアミノ酸配列：Ile Arg Leu Arg Asn Lys Val Asp Leu Gln Met Serが、配列：Val Ser Leu Arg Asn Pro Val Asp Leu Gln Leu Alaに置き換えられている請求項10記載の変異体フルクトシルアミノ酸オキシダーゼ。

【請求項12】

請求項1～11のいずれか1項に記載の変異体フルクトシルアミノ酸オキシダーゼをコードする単離されたポリヌクレオチド。

【請求項13】

請求項12記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項14】

請求項13記載のベクターにより形質転換された宿主細胞。

【請求項15】

試料中の糖化タンパク質をアッセイする方法であって、該試料を請求項1～11のいずれか1項に記載のフルクトシルアミノ酸オキシダーゼと接触させること、および該フルクトシルアミノ酸オキシダーゼにより酸化された糖化タンパク質の量を測定することを含む方法。

【請求項16】

試料中の H b A 1 c を消化してフルクトシルバリンまたはフルクトシルバリルヒスチジンを生成すること、該フルクトシルバリンまたはフルクトシルバリルヒスチジンを請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載のフルクトシルアミノ酸オキシダーゼと接触させること、および酸化されたフルクトシルバリンまたはフルクトシルバリルヒスチジンの量を測定することを含む H b A 1 c をアッセイする方法。

【請求項 1 7】

試料中のフルクトシルバリン、フルクトシルバリルヒスチジン、H b A 1 c またはフルクトシルヘキサペプチドをアッセイするための装置であって、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載のフルクトシルアミノ酸オキシダーゼおよび電子移動メディエーターを含む装置。

【請求項 1 8】

試料中のフルクトシルバリン、フルクトシルバリルヒスチジン、H b A 1 c またはフルクトシルヘキサペプチドをアッセイするためのキットであって、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載のフルクトシルアミノ酸オキシダーゼおよび電子移動メディエーターを含むキット。

【請求項 1 9】

電極上に固定された請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載のフルクトシルアミノ酸オキシダーゼを有する酵素電極。

【請求項 2 0】

フルクトシルバリン、フルクトシルバリルヒスチジン、H b A 1 c またはフルクトシルヘキサペプチドをアッセイするための酵素センサーであって、請求項 1 9 記載の酵素電極を作用電極として含む酵素センサー。

【請求項 2 1】

配列番号 1 記載のアミノ酸配列であり、配列番号 1 の 6 1 ~ 7 2 位のアミノ酸配列：V a l S e r L e u A r g A s n P r o V a l A s p L e u G l n L e u A l a が、配列：I l e A r g L e u A r g A s n L y s V a l A s p L e u G l n M e t S e r で置き換えられているアミノ酸配列を有する変異体フルクトシルアミノ酸オキシダーゼ。

【請求項 2 2】

配列番号 1 記載のアミノ酸配列であり、配列番号 1 の 1 0 9 ~ 1 2 4 位のアミノ酸配列：S e r G l y T y r G l n A l a L e u V a l A s p A l a G l y L e u A s p A l a T h r A s n G l u が、配列：L y s G l n T y r G l n A l a L e u H i s A s p A l a G l y A l a G l y L e u G l u L y s T h r H i s A l a で置き換えられているアミノ酸配列を有する変異体フルクトシルアミノ酸オキシダーゼ。

【請求項 2 3】

配列番号 7 記載のアミノ酸配列であり、配列番号 7 の 6 1 ~ 7 2 位のアミノ酸配列：I l e A r g L e u A r g A s n L y s V a l A s p L e u G l n M e t S e r が、配列：V a l S e r L e u A r g A s n P r o V a l A s p L e u G l n L e u A l a で置き換えられているアミノ酸配列を有する変異体フルクトシルアミノ酸オキシダーゼ。

【請求項 2 4】

配列番号 7 記載のアミノ酸配列であり、配列番号 7 の 1 0 9 ~ 1 2 6 位のアミノ酸配列：L y s G l n T y r G l n A l a L e u H i s A s p A l a G l y A l a G l y L e u G l u L y s T h r H i s A l a が、配列：S e r G l y T y r G l n A l a L e u V a l A s p A l a G l y L e u A s p A l a T h r A s n G l u で置き換えられているアミノ酸配列を有する変異体フルクトシルアミノ酸オキシダーゼ。