

【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 2 月 16 日 (2006.2.16)

【公表番号】特表 2001-526058 (P2001-526058A)

【公表日】平成 13 年 12 月 18 日 (2001.12.18)

【出願番号】特願 2000-525003 (P2000-525003)

【国際特許分類】

<b>C 1 2 N</b>	<b>15/09</b>	<b>(2006.01)</b>
<b>A 2 1 D</b>	<b>8/04</b>	<b>(2006.01)</b>
<b>A 6 1 K</b>	<b>8/96</b>	<b>(2006.01)</b>
<b>C 1 2 N</b>	<b>1/15</b>	<b>(2006.01)</b>
<b>C 1 2 N</b>	<b>1/19</b>	<b>(2006.01)</b>
<b>C 1 2 N</b>	<b>1/20</b>	<b>(2006.01)</b>
<b>C 1 2 N</b>	<b>1/21</b>	<b>(2006.01)</b>
<b>C 1 2 N</b>	<b>9/04</b>	<b>(2006.01)</b>
<b>C 1 2 Q</b>	<b>1/00</b>	<b>(2006.01)</b>
<b>C 1 2 Q</b>	<b>1/26</b>	<b>(2006.01)</b>
<b>G 0 1 N</b>	<b>33/66</b>	<b>(2006.01)</b>
<b>C 1 2 N</b>	<b>5/10</b>	<b>(2006.01)</b>
<b>A 6 1 K</b>	<b>38/44</b>	<b>(2006.01)</b>

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
A 2 1 D	8/04	
A 6 1 K	7/00	K
C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/20	A
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	9/04	D
C 1 2 Q	1/00	B
C 1 2 Q	1/26	
G 0 1 N	33/66	C
C 1 2 N	5/00	A
A 6 1 K	37/50	

【手続補正書】

【提出日】平成 17 年 12 月 15 日 (2005.12.15)

【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】 ドウおよび / またはドウから作られるベーكد製品の製造方法であって、基質としての重合度 2 以上のオリゴ糖において対応する単糖におけるより高い活性を有する糖質酸化酵素をドウに添加することを包含する方法。

【請求項 2】 糖質酸化酵素が 10mM 以下の基質濃度でグルコースにおけるより 2 ~ 6 の重合度を有するマルトオリゴ糖（特にマルトース、マルトトリオースまたはマルトテトラオース）においてより高い活性を有する請求項 1 の方法。

【請求項 3】 糖質酸化酵素がミクロドチウム属またはアクレモニウム属の菌株から得られる請求項 1 または 2 の方法。

【請求項 4】 糖質酸化酵素が、M.ニバーレ (nivale) の菌株から得られる請求項 3 の方法。

【請求項 5】 糖質酸化酵素が、CBS 100236から得られる請求項 4 の方法。

【請求項 6】 対応する単糖におけるよりも基質としての重合度 2 以上のオリゴ糖においてより高い活性を有する糖質酸化酵素を包含する粉、ドウまたはベークド製品。

【請求項 7】 以下の：

a) 対応する単糖におけるよりも基質としての重合度 2 以上のオリゴ糖においてより高い活性を有する糖質酸化酵素、および

b) アミラーゼ、セルラーゼ、ヘミセルラーゼ、リパーゼおよびホスホリパーゼから成る群から選択される二次酵素を包含するドウおよび / またはパン改良添加剤。

【請求項 8】 二次酵素がデンプンを加水分解して主生成物としてオリゴ糖を生成するアミラーゼである請求項 7 の添加剤。

【請求項 9】 アミラーゼがバシラス・ステアロサーモフィルス (Bacillus stearothermophilus) のマルトース生成性 - アミラーゼ、アスペルギルス・オリザエ (Aspergillus oryzae) の - アミラーゼまたは - アミラーゼである請求項 8 の添加剤。

【請求項 10】 対応する単糖におけるよりも基質としての重合度 2 以上のオリゴ糖においてより高い活性を有する糖質酸化酵素活性を包含する、粒状または集塊化粉末の形態のドウおよび / またはパン改良添加剤。

【請求項 11】 95% (質量で) 以上が 25 ~ 500  $\mu\text{m}$  の粒子サイズを有する請求項 10 の添加剤。

【請求項 12】 以下の：

a) ミクロドチウム・ニバーレ (Microdochium nivale) CBS 100236により産生されるポリペプチド、または

b) 大腸菌 NRRL B-30034中に存在するプラスミド中にクローン化された DNA 配列の糖質酸化酵素コード部分によりコードされるポリペプチド、または

c) 配列番号 2 で示されるアミノ酸配列を有するポリペプチド、または

d) 以下の：

i) 前記ポリペプチドと少なくとも 50% の同一性を有し、または

ii) 精製形態の前記ポリペプチドに対して生じた抗体と免疫学的に反応性であり、または

iii) 前記ポリペプチドの対立遺伝子変異体であり、または

iv) 糖質酸化酵素活性を有する前記ポリペプチドの断片である

(a)、(b) または (c) で定義されたポリペプチドの類似体、または

e) 低ストリンジェンシーの条件下で以下の：

i) 配列番号 1 の 67 位 ~ 1550 位に示される DNA 配列、または

ii) 相補鎖、または少なくとも 100 ヌクレオチドのその サブシーケンス とハイブリダイズする核酸配列によりコードされるペプチドである糖質酸化酵素。

【請求項 13】 ミクロドチウム属の菌株から得られる請求項 12 の糖質酸化酵素。

【請求項 14】 M.ニバーレ (nivale) の菌株から得られる請求項 13 の糖質酸化酵素。

【請求項 15】 ミクロドチウム属の菌株から得られ、0.83mM の基質濃度でグルコースにおける酸化活性の少なくとも 2 倍のマルトテトラオースにおける酸化活性を有する糖質酸化酵素。

【請求項 16】 M.ニバーレ (nivale) の菌株から得られる請求項 15 の糖質酸化酵素。

【請求項 17】 M.ニバーレ (nivale) CBS 100236株から得られる請求項 16 の糖質

酸化酵素。

【請求項 18】 糖質酸化酵素の製造方法であって、適切な栄養培地中でミクロドチウムの糖質酸化酵素産生菌株を培養し、その後糖質酸化酵素を回収する工程を包含する方法。

【請求項 19】 前記菌株が *M.ニバーレ* (*nivale*) の菌株である請求項 18 の方法。

【請求項 20】 前記菌株が CBS 100236 である請求項 19 の方法。

【請求項 21】 請求項 12 ~ 17 のいずれかの糖質酸化酵素をコードする核酸配列を包含する核酸配列。

【請求項 22】 以下の：

a) 大腸菌 NRRL B-30034 中に存在するプラスミド中にクローン化された DNA 配列の糖質酸化酵素コード部分、または

b) 配列番号 1 の 67 位 ~ 1550 位に示される DNA 配列、または

c) i) 前記 DNA 配列と少なくとも 50% の同一性を有し、または

ii) 低ストリンジェンシーで前記 DNA 配列、その相補鎖またはそのサブシーケンスとハイブリダイズする

a) または b) で定義された DNA 配列の類似体を包含する糖質酸化酵素コード核酸配列。

【請求項 23】 適切な発現宿主中での糖質酸化酵素の発現を指図し得る 1 以上の制御配列と操作可能に連結される請求項 21 または 22 の核酸配列を包含する核酸構築物。

【請求項 24】 請求項 23 の核酸構築物、プロモーター、ならびに転写および翻訳停止シグナルを包含する組換え発現ベクター。

【請求項 25】 請求項 23 の核酸構築物を包含する組換え宿主細胞。

【請求項 26】 糖質酸化酵素の製造方法であって、糖質酸化酵素の発現を促す条件下で請求項 25 の宿主細胞を培養し、糖質酸化酵素を回収する工程を包含する方法。

【請求項 27】 糖質酸化酵素の製造方法であって、以下の：

a) ミクロドチウムの糖質酸化酵素産生菌株からの糖質酸化酵素をコードする DNA 配列を単離し、

b) 適切なベクター中で DNA 断片を適切な発現シグナル（単数または複数）と組合せて、

c) 適切な異種宿主生物体をベクターで形質転換し、

d) 脂肪分解酵素の発現をもたらす条件下で形質転換化宿主生物を培養し、そして

e) 培地から糖質酸化酵素を回収する

工程を包含する方法。

【請求項 28】 請求項 12 ~ 17 のいずれかの糖質酸化酵素を発現し得るミクロドチウム属の菌株。

【請求項 29】 *M.ニバーレ* (*nivale*) である請求項 28 の菌株。

【請求項 30】 菌株 CBS 100236 である請求項 29 の菌株。

【請求項 31】 身体ケア製品のための請求項 12 ~ 17 のいずれかの糖質酸化酵素の使用法。

【請求項 32】 還元糖の量を確定するための分析試薬としての請求項 12 ~ 17 のいずれかの糖質酸化酵素の使用法。

【請求項 33】 デンプンまたはセルロース加水分解の連続測定を提供するための電極中の分析試薬としての請求項 12 ~ 17 のいずれかの固定化糖質酸化酵素の使用法。

【請求項 34】 ラクトースからラクトビオン酸を生成するための請求項 12 ~ 17 のいずれかの糖質酸化酵素の使用法。