

【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5月13日 (2010.5.13)

【公表番号】特表2009-529856(P2009-529856A)

【公表日】平成21年8月27日 (2009.8.27)

【年通号数】公開・登録公報2009-034

【出願番号】特願2008-544686(P2008-544686)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (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 N 9/88 (2006.01)

C 1 2 P 13/06 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 A

C 1 2 N 9/88

C 1 2 P 13/06 C

【手続補正書】

【提出日】平成22年3月19日 (2010.3.19)

【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】

- (a) 配列番号 1 の塩基配列を含む DNA、
 - (b) 配列番号 1 の塩基配列と相補的な塩基配列を有する DNA とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、アルドラーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA、
 - (c) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする DNA、
 - (d) 配列番号 2 のアミノ酸配列において、1 又は数個のアミノ酸残基の置換、欠失、挿入、付加又は逆位を含むアミノ酸配列を有し、アルドラーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA、および
 - (e) 配列番号 2 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % の相同性を有するアミノ酸配列を有し、アルドラーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA、
- からなる群から選択される DNA。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の DNA とベクター DNA とを含む組み換え DNA。

【請求項 3】

請求項 2 に記載の組み換え DNA で形質転換された単離細胞。

【請求項 4】

培地中で請求項 3 に記載の細胞を培養すること、及び該培地、細胞又はその両方において

アルドラーゼ活性を有するタンパク質を蓄積させることを含む、アルドラーゼ活性を有するタンパク質を製造する方法。

【請求項 5】

(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含むタンパク質、
(b) 配列番号 2 のアミノ酸配列において、1 又は数個のアミノ酸残基の置換、欠失、挿入、付加又は逆位を含むアミノ酸配列を有し、アルドラーゼ活性を有するタンパク質、及び
(c) 配列番号 2 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % の相同性を有し、アルドラーゼ活性を有するタンパク質、
からなる群から選択されるタンパク質。

【請求項 6】

下記性質を有するタンパク質：

(A) アセトアルデヒドと - ケト酪酸からの 4 - ヒドロキシ - 3 - メチル - 2 - ケト - ペンタン酸の生成を触媒する活性を有する、
(B) 該活性が Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、及び Mg^{2+} からなる群から選択される二価カチオンに依存する、
(C) ゲル濾過によって測定される分子量が約 186 kDa、および
(D) SDS - PAGE によって測定される 1 サブユニット当たりの分子量が約 27 kDa。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0016

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0016】

本発明の別の目的は、

(1) 水性溶媒中で、

(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含むタンパク質、

(b) 配列番号 2 のアミノ酸配列において 1 又は数個のアミノ酸残基の置換、欠失、挿入、付加又は逆位を含むアミノ酸配列を有し、アルドラーゼ活性を有するタンパク質、および

(c) 配列番号 2 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % の相同性を有し、アルドラーゼ活性を有するタンパク質、
からなる群から選択される少なくとも 1 つのアルドラーゼの存在下で、アセトアルデヒド及び - ケト酪酸を反応させること、

(2) 生成した 4 - ヒドロキシ - 3 - メチル - 2 - ケト - ペンタン酸を 4 - ヒドロキシ - L - イソロイシンに変換させること、並びに

(3) 生成した 4 - ヒドロキシ - L - イソロイシンを単離すること
を含む、4 - ヒドロキシ - L - イソロイシン又はその塩を製造する方法を提供する。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0154

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0154】

【表 3】

表 3. 金属²⁺イオン依存性の a s i H P A L 活性

タンパク質	補因子 (濃度 2 mM)			
	EDTA	Z n ²⁺	M g ²⁺	M n ²⁺
a s i H P A L	ND. ^{a)}	1 ^{b)}	0. 5	0. 5

^{a)} 検出不能

^{b)} 活性は測定され、表 1 の脚注に記載された。Z n ²⁺ イオンの存在下で測定した a s i H P A L 活性の値を 1 とする。