

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2014-57534
(P2014-57534A)

(43) 公開日 平成26年4月3日(2014.4.3)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 9/12 (2006.01)	C 1 2 N 9/12 Z N A	4 B 0 2 4
C 1 2 P 19/12 (2006.01)	C 1 2 P 19/12	4 B 0 5 0
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 A	4 B 0 6 4

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 12 頁)

(21) 出願番号	特願2012-203891 (P2012-203891)	(71) 出願人	304027279 国立大学法人 新潟大学 新潟県新潟市西区五十嵐2の町8050番地
(22) 出願日	平成24年9月18日 (2012.9.18)	(71) 出願人	501203344 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 茨城県つくば市観音台3-1-1
		(74) 代理人	100080089 弁理士 牛木 護
		(74) 代理人	100161665 弁理士 高橋 知之
		(72) 発明者	中井 博之 新潟県新潟市西区五十嵐2の町8050番地 国立大学法人新潟大学 農学部内 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 オリゴ糖合成酵素並びにβ-1, 2-マンノピオース及びその誘導体の製造方法

(57) 【要約】

【課題】 効率的に肺炎やカンジダ症などの日和見感染症を引き起こす病原菌のO側鎖多糖(O抗原)のコア骨格である - 1, 2-マンノピオース及びその誘導体を製造することを目的とする。

【解決手段】 本発明は、 - 1, 2-マンノピオースホスホリラーゼが触媒するオリゴ糖合成反応により、 - D-マンノース1-リン酸と、D-マンノース、D-アラビノース、D-リキソース、D-アロース、D-リポース、L-ラムノース、D-フルクトース又はD-アルトロースを出発材料として、病原菌のO抗原のコア骨格である - 1, 2-マンノピオース及びその誘導体をワンステップで簡便に製造する方法を提供する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の酵素学的性質を有するオリゴ糖合成酵素 - 1, 2 - マンノビオースホスホリラーゼ:

a) 作用

- D - マンノース 1 - リン酸と、D - マンノース、D - アラビノース、D - リキソース、D - アロース、D - リボース、L - ラムノース、D - フルクトース又は D - アルトロースとに作用して、- 1, 2 - マンノビオース、D - マンノシル - - 1, 4 - D - アラビノース、D - マンノシル - - 1, 2 - L - リキソース、D - マンノシル - - 1, 3 - D - アロース、D - マンノシル - - 1, 3 - D - リボース、D - マンノシル - - 1, 3 - L - ラムノース、D - マンノシル - - 1, 5 - D - フルクトース、D - マンノシル - - 1, 1 - D - フルクトース、D - マンノシル - - 1, 2 - D - アルトロース又は D - マンノシル - - 1, 4 - D - アルトロースを生成する;

10

b) 基質特異性

- D - マンノース 1 - リン酸と、D - マンノース、D - アラビノース、D - リキソース、D - アロース、D - リボース、L - ラムノース、D - フルクトース又は D - アルトロースとに作用する;

c) 至適 pH

30 の条件下で、pH 6.0;

d) 温度安定性

pH 6.0 の条件下で、50 まで安定;

20

e) pH 安定性

4、24 時間の条件下で、pH 5.5 - 9.0 で安定。

【請求項 2】

- D - マンノース 1 - リン酸と、D - マンノース、D - アラビノース、D - リキソース、D - アロース、D - リボース、L - ラムノース、D - フルクトース又は D - アルトロースと、請求項 1 に記載のオリゴ糖合成酵素 - 1, 2 - マンノビオースホスホリラーゼを含む溶液中でオリゴ糖合成反応を行うステップと、- 1, 2 - マンノビオース、D - マンノシル - - 1, 4 - D - アラビノース、D - マンノシル - - 1, 2 - D - リキソース、D - マンノシル - - 1, 3 - D - アロース、D - マンノシル - - 1, 3 - D - リボース、D - マンノシル - - 1, 3 - L - ラムノース、D - マンノシル - - 1, 5 - D - フルクトース、D - マンノシル - - 1, 1 - D - フルクトース、D - マンノシル - - 1, 2 - D - アルトロース又は D - マンノシル - - 1, 4 - D - アルトロースを回収するステップを含むことを特徴とする - 1, 2 - マンノビオース及びその誘導体の製造方法。

30

【請求項 3】

前記溶液は、pH 5.0 ~ 7.0 であることを特徴とする請求項 2 に記載の - 1, 2 - マンノビオース及びその誘導体の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

40

【0001】

本発明は、新規に発見したオリゴ糖合成酵素 - 1, 2 - マンノビオースホスホリラーゼ並びに前記酵素が触媒するオリゴ糖合成反応を用いた、病原菌の O 抗原のコア骨格である - 1, 2 - マンノビオース及びその誘導体の製造方法に関する。

【背景技術】

【0002】

糖タンパク質が有する糖鎖の生体認識（細胞接着・抗原抗体反応・情報伝達・ウイルス感染など）への重要性については近年注目が集まるところである。糖鎖は、核酸、タンパク質に次ぐ第三の鎖といわれ、近年急速にその機能解明が進められている。さらに、糖鎖工学及び糖鎖再生医療研究分野での生体内糖鎖認識性の解明が急がれている。

50

【0003】

しかし、生体内での発現量が微量な糖鎖試料の調製は現在有機合成法に頼らざるを得ず、その困難さが糖鎖工学研究分野や糖鎖再生医療の進展を妨げている。例えば、肺炎やカンジダ症などの日和見感染症を引き起こす病原菌のO抗原のコア骨格である - 1, 2 - マンノオリゴ糖は、従来は、有機合成法による煩雑な多段階反応で製造されており（非特許文献1）、効率的な大量調製が困難であるため、非常に高額であるという問題点があった。そのため、生体認識性分子素子である糖鎖の簡便な製造法の確立は急務となっている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

10

【0004】

【非特許文献1】Dromer, F.ら、Antimicrobial Agents and Chemotherapy 46(12):3869-3876(2002)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

そこで、本発明は上記問題点に鑑み、効率的に肺炎やカンジダ症などの日和見感染症を引き起こす病原菌のO側鎖多糖（O抗原）のコア骨格である - 1, 2 - マンノピオース及びその誘導体を製造することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

20

【0006】

上記課題を達成するため鋭意検討した結果、新規に発見した - 1, 2 - マンノピオースホスホリラーゼが触媒するオリゴ糖合成反応を用いて、病原菌のO抗原のコア骨格である - 1, 2 - マンノピオース及びその誘導体をワンステップで製造することができ、反応系のスケールアップによる大量調製も可能であることを見出し、本発明を完成させた。

【0007】

すなわち、本発明は、以下の酵素学的性質を有するオリゴ糖合成酵素 - 1, 2 - マンノピオースホスホリラーゼ：

a) 作用

- D - マンノース1 - リン酸と、D - マンノース、D - アラビノース、D - リキソース、D - アロース、D - リボース、L - ラムノース、D - フルクトース又はD - アルトロースとに作用して、 - 1, 2 - マンノピオース、D - マンノシル - - 1, 4 - D - アラビノース、D - マンノシル - - 1, 2 - D - リキソース、D - マンノシル - - 1, 3 - D - アロース、D - マンノシル - - 1, 3 - D - リボース、D - マンノシル - - 1, 3 - L - ラムノース、D - マンノシル - - 1, 5 - D - フルクトース、D - マンノシル - - 1, 1 - D - フルクトース、D - マンノシル - - 1, 2 - D - アルトロース又はD - マンノシル - - 1, 4 - D - アルトロースを生成する；

30

b) 基質特異性

- D - マンノース1 - リン酸と、D - マンノース、D - アラビノース、D - リキソース、D - アロース、D - リボース、L - ラムノース、D - フルクトース又はD - アルトロースとに作用する；

40

c) 至適pH

30 の条件下で、pH 6.0；

d) 温度安定性

pH 6.0の条件下で、50 まで安定；

e) pH安定性

4、24時間の条件下で、pH 5.5 - 9.0で安定。

【0008】

また、本発明の - 1, 2 - マンノピオース及びその誘導体の製造方法は、 - D - マンノース1 - リン酸と、D - マンノース、D - アラビノース、D - リキソース、D - アロ

50

ース、D-リボース、L-ラムノース、D-フルクトース又はD-アルトロースと、前記オリゴ糖合成酵素 - 1, 2-マンノビオースホスホリラーゼを含む溶液中でオリゴ糖合成反応を行うステップと、 - 1, 2-マンノビオース、D-マンノシル - - 1, 4 - D-アラビノース、D-マンノシル - - 1, 2 - D-リキソース、D-マンノシル - - 1, 3 - D-アロース、D-マンノシル - - 1, 3 - D-リボース、D-マンノシル - - 1, 3 - L-ラムノース、D-マンノシル - - 1, 5 - D-フルクトース、D-マンノシル - - 1, 1 - D-フルクトース、D-マンノシル - - 1, 2 - D-アルトロース又はD-マンノシル - - 1, 4 - D-アルトロースを回収するステップを含むことを特徴とする - 1, 2-マンノビオース及びその誘導体の製造方法。

10

【0009】

また、前記 - 1, 2-マンノビオース及びその誘導体の製造方法は、前記溶液が、pH 5.0 ~ 7.0であることを特徴とする。

【発明の効果】

【0010】

本発明によれば、 - 1, 2-マンノビオースホスホリラーゼが触媒するオリゴ糖合成反応により、 - D-マンノース1-リン酸と、8種類の単糖類（D-マンノース、D-アラビノース、D-リキソース、D-アロース、D-リボース、L-ラムノース、D-フルクトース又はD-アルトロース）を出発材料として、 - 1, 2-マンノビオース及びその誘導体をワンステップで簡便に製造することができる。

20

【発明を実施するための形態】

【0011】

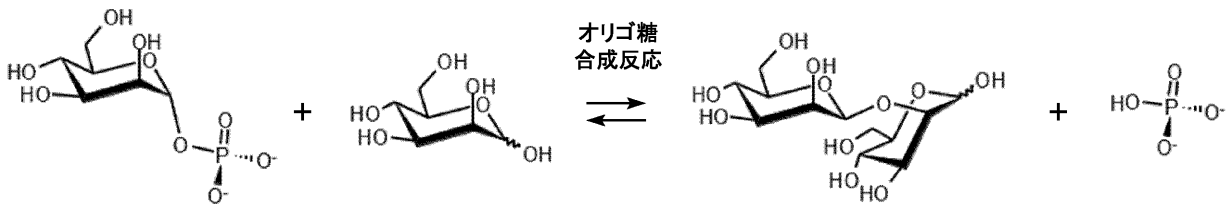
本発明の方法によれば、加リン酸分解反応の逆反応であるオリゴ糖合成反応により、 - 1, 2-マンノビオース及びその誘導体を簡便に製造できる。

【0012】

具体的には、 - D-マンノース1-リン酸と、D-マンノースと、 - 1, 2-マンノビオースホスホリラーゼを含む溶液中でオリゴ糖合成反応を行うことにより、 - 1, 2-マンノビオースを製造することができる。

【0013】

【化1】



30

α -D-マンノース1リン酸 D-マンノース β -1,2-マンノビオース リン酸

【0014】

また、 - D-マンノース1-リン酸と、D-アラビノースと、 - 1, 2-マンノビオースホスホリラーゼを含む溶液中でオリゴ糖合成反応を行うことにより、D-マンノシル - - 1, 4 - D-アラビノースを製造することができる。

40

【0015】

また、 - D-マンノース1-リン酸と、D-リキソースと、 - 1, 2-マンノビオースホスホリラーゼを含む溶液中でオリゴ糖合成反応を行うことにより、D-マンノシル - - 1, 2 - D-リキソースを製造することができる。

【0016】

また、 - D-マンノース1-リン酸と、D-アロースと、 - 1, 2-マンノビオースホスホリラーゼを含む溶液中でオリゴ糖合成反応を行うことにより、D-マンノシル - - 1, 3 - D-アロースを製造することができる。

【0017】

50

また、 α -D-マンノース1-リン酸と、D-リボースと、 α -1,2-マンノピオースホスホリラーゼを含む溶液中でオリゴ糖合成反応を行うことにより、D-マンノシル-1,3-D-リボースを製造することができる。

【0018】

また、 α -D-マンノース1-リン酸と、L-ラムノースと、 α -1,2-マンノピオースホスホリラーゼを含む溶液中でオリゴ糖合成反応を行うことにより、D-マンノシル-1,3-L-ラムノースを製造することができる。

【0019】

また、 α -D-マンノース1-リン酸と、D-フルクトースと、 α -1,2-マンノピオースホスホリラーゼを含む溶液中でオリゴ糖合成反応を行うことにより、D-マンノシル-1,5-D-フルクトース及びD-マンノシル-1,1-D-フルクトースを製造することができる。

10

【0020】

また、 α -D-マンノース1-リン酸と、D-アルトロースと、 α -1,2-マンノピオースホスホリラーゼを含む溶液中でオリゴ糖合成反応を行うことにより、D-マンノシル-1,2-D-アルトロース及びD-マンノシル-1,4-D-アルトロースを製造することができる。

【0021】

反応液中での α -1,2-マンノピオースホスホリラーゼの濃度は特に限定されないが、 $0.086 \sim 172 \mu\text{M}$ 、好ましくは、 $0.43 \sim 86 \mu\text{M}$ で使用することができる。

20

【0022】

α -1,2-マンノピオースホスホリラーゼの30における至適pHは6.0付近であることから、前記溶液は、pH5.0~7.0であることが好ましく、特にpH6.0が好ましい。前記溶液としては、特に限定されるものではないが、モルホリノエタンルホン酸-水酸化ナトリウム(MES-NaOH)緩衝液が好適である。

【0023】

また、 α -1,2-マンノピオースホスホリラーゼのpH6.0における温度安定性は50までであることから、オリゴ糖合成反応は25~50で行うことが好ましく、特に、30が好ましい。

【0024】

また、反応時間は、特に限定されるものではないが、1~100時間が好ましく、特に、24時間が好ましい。

30

【0025】

上記オリゴ糖合成反応により製造された α -1,2-マンノピオース及びその誘導体は、カラムクロマトグラフィーや結晶化等の公知の方法により単離することが可能であるが、高速液体クロマトグラフィーが好適である。

【0026】

なお、本発明は上記実施形態に限定されるものではなく、本発明の思想を逸脱しない範囲で種々の変形実施が可能である。

【0027】

次に、本発明を実施例により詳しく説明するが、本発明はこれらにより限定されるものではない。

40

【実施例1】

【0028】

リステリア・イノキュアのゲノム情報を基に、Lin0857遺伝子に対するフォワードプライマー(配列番号3)及びリバースプライマー(配列番号4)を設計し、合成した。Lin0857遺伝子の塩基配列を配列番号2に、またこの塩基配列にコードされているアミノ酸配列を配列番号1に示す。

【0029】

リステリア・イノキュアのゲノムDNAを鋳型とし、上記のプライマー及びKOD p

50

l u s p o l y m e r a s e (T O Y O B O 社 製) を 用 い 、 9 5 に 2 分 間 保 持 し た の ち 、 9 5 で 3 0 秒 間 、 5 8 で 3 0 秒 間 、 6 8 で 1 分 3 0 秒 間 の サ イ ク ル を 4 5 回 繰 り 返 し て P C R 反 応 を 行 い 、 最 後 に 6 8 に 5 分 間 保 持 し た 。 そ の 結 果 、 1 0 8 4 b p の 増 幅 断 片 が 得 ら れ た 。 こ の P C R で 増 幅 さ れ る D N A 断 片 は 、 5 ' 末 端 に N d e I サ イ ト を 、 3 ' 末 端 に X h o I サ イ ト を そ れ ぞ れ 有 す る L i n 0 8 5 7 を コ ー ド す る D N A で あ る 。

【 0 0 3 0 】

得られた増幅断片を制限酵素 N d e I 及び X h o I で 消化後、同様に処理した市販の遺伝子発現用プラスミド p E T - 2 4 a (ノバジェン社製) に 高効率ライゲーション試薬 L i g a t i o n h i g h (T O Y O B O 社 製) を 用 い て 連 結 し た 。 さ ら に 、 ラ イ ゲ ー シ ョ ン 反 応 液 を 用 い て 大 腸 菌 コ ン ピ テ ン ト セ ル D H 5 (T O Y O B O 製) を 形 質 転 換 し 、 C 末 端 に 6 残 基 の ヒ ス チ ジ ン か ら な る H i s タ グ が 付 加 さ れ た L i n 0 8 5 7 を コ ー ド す る D N A を 含 む 発 現 ベ ク タ ー p E T - 2 4 a を 回 収 し た 。

10

【 0 0 3 1 】

この発現ベクター p E T - 2 4 a を 用 い て 、 大 腸 菌 B L 2 1 (D E 3) を H a n a h a n ら の 方 法 (J . M o l . B i o l . 、 1 9 8 3 年 、 第 1 6 6 巻 、 第 5 5 7 - 5 8 0 頁) に 従 っ て 形 質 転 換 し た 。 形 質 転 換 体 を 5 0 μ g / m L の カ ナ マ イ シ ン を 含 む L B 培 地 2 0 0 m L に 植 菌 し 、 I P T G 濃 度 を 0 . 1 m M と し て 誘 導 培 養 を 1 8 で 2 4 時 間 行 っ た 。 培 養 液 か ら 遠 心 分 離 で 回 収 し た 菌 体 を 1 0 m L の 5 0 0 m M 塩 化 ナ ト リ ウ ム 及 び 1 0 % グ リ セ ロ ー ル を 含 む 2 0 m M H E P E S - N a O H 緩 衝 液 p H 7 . 5 に 懸 濁 し 、 超 音 波 処 理 に よ り 破 碎 し た 後 、 遠 心 分 離 後 に よ っ て 粗 酵 素 液 を 得 た 。 組 換 え タ ン パ ク 質 の 精 製 は 、 H i s タ グ タ ン パ ク 質 精 製 用 カ ラ ム H i s T r a p F F (G E ヘ ル ス ケ ア 社 製) を 用 い た カ ラ ム ク ロ マ ト グ ラ フ ィ ー に よ り 行 っ た 。 得 ら れ た 精 製 酵 素 溶 液 を 、 1 0 m M H E P E S - N a O H 緩 衝 液 p H 7 . 0 に 対 し て 透 析 を 行 い 、 遠 心 式 フ ィ ル タ ー ユ ニ ッ ト ア ミ コ ン ウ ル ト ラ - 1 5 (ミ リ ポ ア 社 製) を 用 い た 限 外 濾 過 に よ っ て 4 m L に 濃 縮 す る こ と で 、 精 製 酵 素 標 品 を 調 製 し た 。

20

【 実 施 例 2 】

【 0 0 3 2 】

得られた精製酵素標品を用い、以下に示す方法によって本タンパク質を新規酵素 - 1 , 2 - マンノピオースホスホリラーゼと同定し、 - 1 , 2 - マンノピオース及び9種類の - 1 , 2 - マンノピオース誘導体を生成した。

30

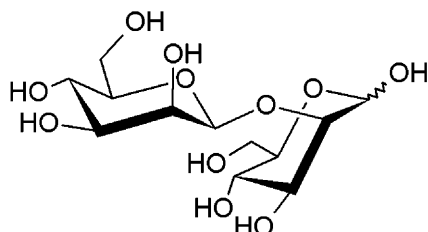
【 0 0 3 3 】

5 0 m M の - D - マ ン ノ ー ス 1 - リ ン 酸 (糖 供 与 体) 、 5 0 m M の D - マ ン ノ ー ス (糖 受 容 体) 、 0 . 4 3 μ M の 精 製 酵 素 を 含 む 4 0 m M M E S - N a O H 緩 衝 液 (p H 6 . 0) 1 m l 中 で 酵 素 反 応 を 3 0 、 2 4 時 間 行 っ た 。 反 応 液 を ア ン バ ー ラ イ ト M B 3 (オ ル ガ ノ 社 製) で 脱 塩 後 、 T S K g e l A m i d e - 8 0 カ ラ ム (T O S O H 社 製) に よ り 7 0 % ア セ ト ニ ト リ ル を 溶 媒 と し た 高 速 液 体 ク ロ マ ト グ ラ フ ィ ー に よ り 、 二 糖 画 分 を 単 離 し た 。 精 製 後 の 収 量 は 2 m g で あ っ た 。 生 成 物 を N M R に よ り 分 析 し た と ころ 、 - 1 , 2 - マ ン ノ ピ オ ー ス (下 記 式 (1)) で あ る こ と を 確 認 し た 。

40

【 0 0 3 4 】

【 化 2 】



(1)

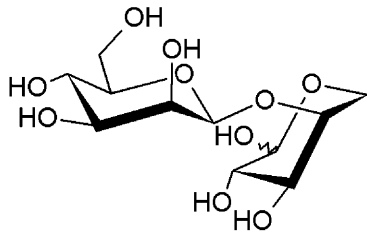
【 0 0 3 5 】

50

50 mMの D-マンノース1-リン酸(糖供与体)、50 mMの各糖受容体(5種類: D-アラビノース、D-リキソース、D-アロース、D-リボース、L-ラムノース)、86 μMの精製酵素を含む40 mM MES-NaOH緩衝液(pH6.0)1 ml中で酵素反応を30、24時間行った。各反応液をアンバーライトMB3で脱塩後、TSK gel Amide-80カラムによる75%アセトニトリルを溶媒とした高速液体クロマトグラフィーにより、二糖画分を単離し、各生成物をNMRにより分析した結果、D-マンノシル-1,4-D-アラビノース(下記式(2))、D-マンノシル-1,2-D-リキソース(下記式(3))、D-マンノシル-1,3-D-アロース(下記式(4))、D-マンノシル-1,3-D-リボース(下記式(5))、D-マンノシル-1,3-L-ラムノース(下記式(6))であることを確認した。精製後の収量はそれぞれ1 mg、1 mg、1 mg、3 mg、1 mgであった。

【0036】

【化3】

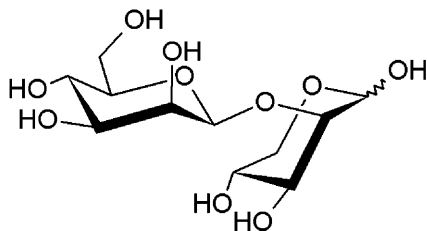


(2)

20

【0037】

【化4】

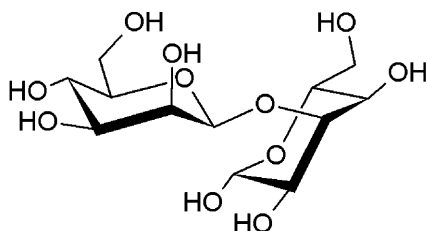


(3)

30

【0038】

【化5】

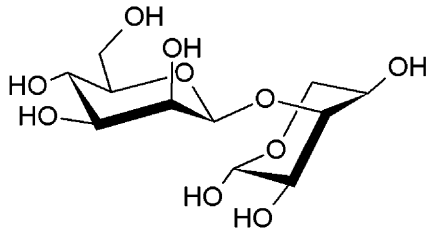


(4)

40

【0039】

【化6】

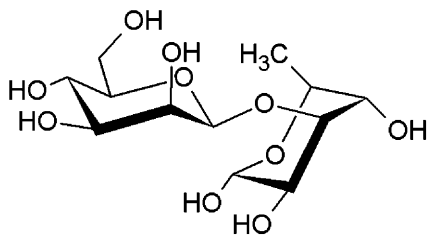


(5)

【0040】

10

【化7】



(6)

【実施例3】

20

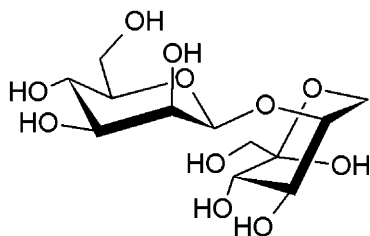
【0041】

50 mMの α -D-マンノース1-リン酸(糖供与体)、50 mMのD-フルクトース(糖受容体)、86 μ Mの精製酵素を含む40 mM MES-NaOH緩衝液(pH 6.0) 1 mL中で酵素反応を30、24時間行った。実施例2と同様、各反応液から二糖画分(2 mg)を単離し、生成物をNMRにより分析した。その結果、フルクトースを糖受容体とし、上記の条件で反応した際の生成物はD-マンノシル- α -1,5-D-フルクトース(下記式(7))とD-マンノシル- α -1,1-D-フルクトース(下記式(8))の混合物であることを確認した。同混合物は、ショウデックスアサヒパック NH2P-504Eカラムによる80%アセトニトリルを溶媒とした高速液体クロマトグラフィーにより分離可能であった。

30

【0042】

【化8】

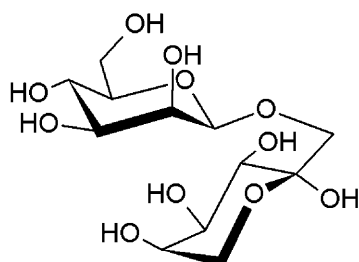


(7)

40

【0043】

【化9】



(8)

50

【実施例 4】

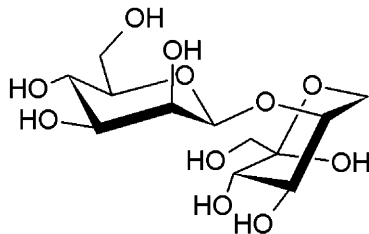
【0044】

50 mM の α -D-マンノース 1-リン酸 (糖供与体)、50 mM の D-フルクトース (糖受容体)、2.9 μ M の精製酵素を含む 40 mM MES-NaOH 緩衝液 (pH 6.0) 1 ml 中で酵素反応を 30 分、24 時間行った。反応液をアンバーライト MB3 で脱塩後、ショウデックスアサヒパック NH2P-50 4E カラムによる 80% アセトニトリルを溶媒とした高速液体クロマトグラフィーにより、二糖画分 (1 mg) を単離し、生成物を NMR により分析した結果、上記の条件で反応した際の生成物は D-マンノシル- α -1,5-D-フルクトース (下記式 (7)) のみであることを確認した。

【0045】

【化 10】

10



(7)

【0046】

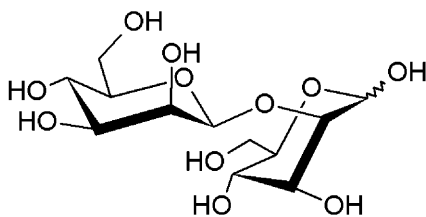
50 mM の α -D-マンノース 1-リン酸 (糖供与体)、50 mM の D-アルトロース (糖受容体)、86 μ M の精製酵素を含む 40 mM MES-NaOH 緩衝液 (pH 6.0) 1 ml 中で酵素反応を 30 分、4 時間行った。実施例 2 と同様、各反応液から二糖画分 (3 mg) を単離し、生成物を NMR により分析した結果、二糖画分の主成分は D-マンノシル- α -1,2-D-アルトロース (下記式 (9)) であり、マイナー成分として少なくとも D-マンノシル- α -1,4-D-アルトロース (下記式 (10)) が混入していることを確認した。

20

【0047】

【化 11】

30

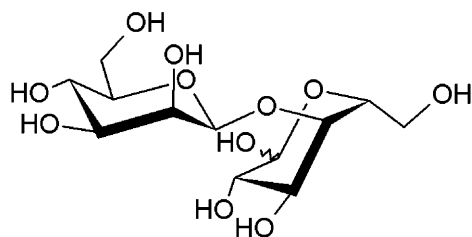


(9)

【0048】

【化 12】

40



(10)

【0049】

25 mM MES-NaOH 緩衝液 (pH 6.0) 中、2 mM の α -D-マンノース 1-リン酸及び D-マンノースを用いて、合成反応時に生成するリン酸をモリブデンブルー法 (J. Biol. Chem. 1946, 162, 421-428) により定量した。上

50

記条件下に毎分1 μ モルのリン酸を生成する活性を1ユニットと定義した。その結果、D-マンノースを糖受容体としたときの活性は6.1ユニット/mgであった。

【0050】

-1, 2-マンノピオースホスホリラーゼの30における至適pHは6.0付近であり(図1A)、安定pH範囲は4及び24時間の条件下でpH5.5-9.0であった(図1B)。本酵素のpH6.0における安定性は50までであった(図1C)。

【産業上の利用可能性】

【0051】

以上のように本発明は、糖鎖工学研究分野や糖鎖医療産業界で利用できる。

【図面の簡単な説明】

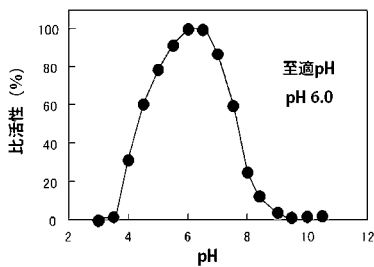
【0052】

【図1A】実施例1で調製した-1, 2-マンノピオースホスホリラーゼの至適pHを示した図である。

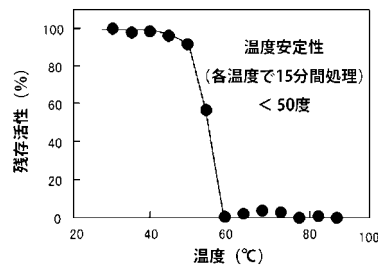
【図1B】実施例1で調製した-1, 2-マンノピオースホスホリラーゼのpH安定性を示した図である。

【図1C】実施例1で調製した-1, 2-マンノピオースホスホリラーゼの温度安定性を示した図である。

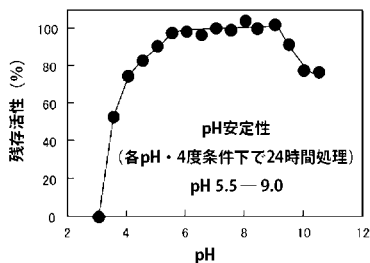
【図1A】



【図1C】



【図1B】



【配列表】

2014057534000001.app

フロントページの続き

- (72)発明者 仁平 高則
新潟県新潟市西区五十嵐二の町 8 0 5 0 番地 国立大学法人新潟大学 農学部内
- (72)発明者 鈴木 絵里香
新潟県新潟市西区五十嵐二の町 8 0 5 0 番地 国立大学法人新潟大学 農学部内
- (72)発明者 大坪 研一
新潟県新潟市西区五十嵐二の町 8 0 5 0 番地 国立大学法人新潟大学 農学部内
- (72)発明者 北岡 本光
茨城県つくば市観音台 2 - 1 - 1 2 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研
究所内
- (72)発明者 西本 完
茨城県つくば市観音台 2 - 1 - 1 2 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研
究所内
- Fターム(参考) 4B024 AA03 BA10 CA04 CA20 DA06 EA04 GA11
4B050 CC03 DD02 EE03 FF05E FF14E KK08 LL05
4B064 AF03 CA21 CC06 CD09