

【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30年3月29日(2018.3.29)

【公表番号】特表2017-518026(P2017-518026A)

【公表日】平成29年7月6日(2017.7.6)

【年通号数】公開・登録公報2017-025

【出願番号】特願2016-554480(P2016-554480)

【国際特許分類】

C 1 2 P 19/02 (2006.01)

C 1 2 P 19/04 (2006.01)

C 1 3 K 3/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 11/14 (2006.01)

【F I】

C 1 2 P 19/02 Z N A

C 1 2 P 19/04

C 1 3 K 3/00

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 11/14

【手続補正書】

【提出日】平成30年2月19日(2018.2.19)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 5 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 5 8】

【表3-2】

表24 分画用いたアルゴリズム構成分析

温度	基質	酵素	配列番号	DP7+	DP7	DP6	DP5	DP4	DP3	DP2	ロイコ	グル	
				(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	ロース	トース	
60 °C	Gtf-C 反応から のオリゴマー/ ロイコロース 分画	TGL-2000	1	2.5	0.4	0.5	0.9	1.9	5.3	22.9	18.4	21.4	25.8
		TauSec098	15	5.4	0.3	0.5	1.0	1.4	2.6	6.3	71.8	0.0	10.7
		TauSec099	18	2.9	0.3	0.5	1.0	1.9	4.7	23.3	21.5	19.7	24.1
		TauSec098+T auSec099	15, 18	2.7	0.3	0.5	0.9	1.4	3.3	19.9	34.9	18.2	17.8
		TauSec098+T GL-2000	15, 1	2.7	0.3	0.5	0.8	1.4	4.5	23.7	27.1	18.6	20.3
		ブランク		5.2	0.4	0.6	1.2	1.8	3.2	8.3	70.0	0.0	9.2
		TGL-2000	1	4.1	0.3	1.2	3.2	8.1	17.2	13.2	0.0	27.9	24.8
		TauSec098	15	3.4	0.2	0.0	0.4	1.1	3.5	12.3	32.3	35.3	11.5
		TauSec099	18	4.2	0.0	1.2	3.2	8.2	17.4	15.3	0.0	25.4	25.1
		TauSec098+T auSec099	15, 18	3.5	0.2	0.4	0.9	2.3	6.2	16.8	21.2	31.7	16.9
65 °C	Gtf- S/MUT3325 反応から のオリゴマー/ ロイコロース 分画	TauSec098+T GL-2000	15, 1	3.2	0.1	0.3	0.7	2.0	6.0	26.0	17.0	29.1	15.6
		ブランク		4.6	0.4	1.2	3.2	7.9	17.5	15.1	36.6	0.0	13.5
		TGL-2000	1	2.5	0.3	0.5	1.0	1.8	4.9	24.9	26.0	17.4	20.8
		TauSec098	15	2.8	0.4	0.5	1.0	1.4	2.6	6.6	73.6	0.0	11.1
		TauSec099	18	2.2	0.3	0.4	1.0	2.0	4.9	23.2	17.4	21.6	27.0
		TauSec098+T auSec099	15, 18	4.5	0.3	0.5	0.9	1.4	3.4	20.3	28.6	20.1	20.1
		TauSec098+T GL-2000	15, 1	5.1	0.3	0.5	0.9	1.2	2.9	21.1	34.4	18.0	15.7
		ブランク		7.0	0.4	0.7	1.3	1.8	3.2	7.9	68.4	0.0	9.4

【表 3 3】

	TG L-2000	1	2.9	0.2	1.1	3.1	8.1	18.0	11.7	16.5	19.3	19.0
	TauSec098	15	2.6	0.0	0.1	0.3	0.9	3.3	12.0	33.1	36.6	11.1
	TauSec099	18	4.4	0.0	1.2	3.1	7.8	16.1	14.4	0.0	27.4	25.5
Gtf-S/MUT3325	TauSec098+TauSec099	15、18	3.9	0.2	0.4	0.8	2.1	5.7	16.2	19.4	33.7	17.6
反応からのおりゴマー/ロイ	TauSec098+T	15、1	3.7	0.2	0.3	0.7	1.8	5.0	24.9	20.5	29.4	13.6
クロース分画	G L-2000	15、1	3.1	0.6	1.1	2.5	6.3	13.6	13.0	31.1	17.0	11.8
ブランク												

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 5 9

## 【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0359】

以上、本発明を要約すると下記のとおりである。

1. 少なくとも1つのアルファ-1, 5グルコシル-フルクトース結合を含む糖においてアルファ-1, 5グルコシル-フルクトース結合を加水分解する方法であって、前記糖が二糖またはオリゴ糖であり、前記方法が、適切な条件下で前記糖をアルファ-グルコシダーゼ酵素と接触させることを含み、前記アルファ-グルコシダーゼ酵素が、前記糖の少なくとも1つのアルファ-1, 5グルコシル-フルクトース結合を加水分解し、前記糖の量が、前記接触前に存在した前記糖の量と比較して減少している、方法。

2. 前記アルファ-グルコシダーゼ酵素が固定化されている、前記1に記載の方法。

3. 前記糖がロイクロースである、前記1に記載の方法。

4. 前記接触工程後のロイクロースの濃度が、前記接触前に存在したロイクロースの濃度の50%未満である、前記3に記載の方法。

5. 前記適切な条件が、

(i) グルカン合成反応、または

(ii) 前記グルカン合成反応から得られる分画

を含み、前記糖が前記グルカン合成反応の副産物である、前記1に記載の方法。

6. 前記グルカン合成反応が、少なくとも1つの不溶性アルファ-グルカン生成物を生成させる、前記5に記載の方法。

7. 前記分画が前記グルカン合成反応のろ液である、前記6に記載の方法。

8. 前記グルカン合成反応が、

(i) グルコシルトランスフェラーゼの生成物、または

(ii) 1つ以上のアルファ-1, 3-グリコシド結合または1つ以上のアルファ-1, 6-グリコシド結合を有するグルカンポリマーを加水分解することが可能なグルコシルトランスフェラーゼおよびアルファ-グルカノヒドロラーゼの両方の協奏作用の生成物である、少なくとも1つの可溶性アルファ-グルカン生成物を生成させる、前記5に記載の方法。

9. 前記分画が前記グルカン合成反応のクロマトグラフィー分画である、前記8に記載の方法。

10. 前記アルファ-グルコシダーゼ酵素がトランスグルコシダーゼまたはグルコアミラーゼである、前記1に記載の方法。

11. 糖をアルファ-グルコシダーゼ酵素と接触させることにより生成される組成物であって、前記糖が二糖またはオリゴ糖であり、かつ少なくとも1つのアルファ-1, 5グルコシル-フルクトース結合を含み、前記酵素が、前記糖の少なくとも1つのアルファ-1, 5グルコシル-フルクトース結合を加水分解し、前記組成物が、前記接触前に存在した前記糖の量と比較して減少した量の前記糖を含む、組成物。

12. 前記糖がロイクロースである、前記11に記載の組成物。

13. 前記糖が(i)グルカン合成反応、または(ii)前記グルカン合成反応から得られる分画にあり、前記糖が前記グルカン合成反応の副産物である、前記11に記載の組成物。

14. グルカン合成反応の分画に存在するフルクトースを濃縮する方法であって、

(a) グルカン合成反応から得られる分画を適切な条件下でアルファ-グルコシダーゼ酵素と接触させることであって、前記アルファ-グルコシダーゼ酵素が、前記分画内に含まれる二糖またはオリゴ糖の少なくとも1つのアルファ-1, 5グルコシル-フルクトース結合を加水分解する、接触させることと、

(b) 工程(a)の前記分画のフルクトース濃度と比較してより高いフルクトース濃度を有する組成物を得るために、工程(a)の前記加水分解分画からフルクトースを分離することと

を含む、方法。

15. (a) グルカン合成反応から得られる分画を適切な条件下でアルファ-グルコシダーゼ酵素と接触させることであって、前記アルファ-グルコシダーゼ酵素が、前記分画内に含まれる二糖またはオリゴ糖の少なくとも1つのアルファ-1,5グルコシル-フルクトース結合を加水分解する、接触させることと、

(b) 生成物を得るために微生物を用いて工程(a)の前記分画を発酵させることであって、前記発酵が、工程(a)の後または工程(a)と同時に行われる、発酵させることと、

(c) 任意選択により(b)の前記生成物を単離することと  
を含み、(b)の前記生成物の収率が、前記アルファ-グルコシダーゼ酵素と接触していない前記グルカン合成反応の分画を発酵させる生成物の収率と比較して上昇している、発酵方法。

### 【手続補正3】

【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】

少なくとも1つのアルファ-1,5グルコシル-フルクトース結合を含む糖においてアルファ-1,5グルコシル-フルクトース結合を加水分解する方法であって、前記糖が二糖またはオリゴ糖であり、前記方法が、適切な条件下で前記糖をアルファ-グルコシダーゼ酵素と接触させることを含み、前記アルファ-グルコシダーゼ酵素が、前記糖の少なくとも1つのアルファ-1,5グルコシル-フルクトース結合を加水分解し、前記糖の量が、前記接触前に存在した前記糖の量と比較して減少している、方法。

#### 【請求項2】

糖をアルファ-グルコシダーゼ酵素と接触させることにより生成される組成物であって、前記糖が二糖またはオリゴ糖であり、かつ少なくとも1つのアルファ-1,5グルコシル-フルクトース結合を含み、前記酵素が、前記糖の少なくとも1つのアルファ-1,5グルコシル-フルクトース結合を加水分解し、前記組成物が、前記接触前に存在した前記糖の量と比較して減少した量の前記糖を含む、組成物。

#### 【請求項3】

グルカン合成反応の分画に存在するフルクトースを濃縮する方法であって、

(a) グルカン合成反応から得られる分画を適切な条件下でアルファ-グルコシダーゼ酵素と接触させることであって、前記アルファ-グルコシダーゼ酵素が、前記分画内に含まれる二糖またはオリゴ糖の少なくとも1つのアルファ-1,5グルコシル-フルクトース結合を加水分解する、接触させることと、

(b) 工程(a)の前記分画のフルクトース濃度と比較してより高いフルクトース濃度を有する組成物を得るために、工程(a)の前記加水分解分画からフルクトースを分離することと

を含む、方法。

#### 【請求項4】

(a) グルカン合成反応から得られる分画を適切な条件下でアルファ-グルコシダーゼ酵素と接触させることであって、前記アルファ-グルコシダーゼ酵素が、前記分画内に含まれる二糖またはオリゴ糖の少なくとも1つのアルファ-1,5グルコシル-フルクトース結合を加水分解する、接触させることと、

(b) 生成物を得るために微生物を用いて工程(a)の前記分画を発酵させることであって、前記発酵が、工程(a)の後または工程(a)と同時に行われる、発酵させることと、

(c) 任意選択により(b)の前記生成物を単離することと  
を含み、(b)の前記生成物の収率が、前記アルファ-グルコシダーゼ酵素と接触してい

ない前記グルカン合成反応の分画を発酵させる生成物の収率と比較して上昇している、発酵方法。