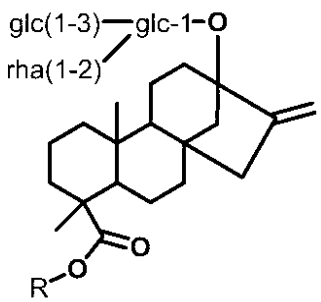
【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第３部門第２区分
【発行日】令和3年5月13日(2021.5.13)

【公開番号】特開2021-35965(P2021-35965A)
【公開日】令和3年3月4日(2021.3.4)
【年通号数】公開・登録公報2021-012
【出願番号】特願2020-183592(P2020-183592)
【国際特許分類】
Ｃ０７Ｈ　15/256　(2006.01)
Ａ２３Ｌ　33/105　(2016.01)
Ｃ１２Ｐ　19/44　(2006.01)
Ｃ１２Ｐ　19/56　(2006.01)
Ａ２３Ｌ　27/00　(2016.01)
Ａ２３Ｌ　2/60　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/54　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　15/61　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ０７Ｈ　15/256　ＣＳＰＡ
Ａ２３Ｌ　33/105
Ｃ１２Ｐ　19/44
Ｃ１２Ｐ　19/56
Ａ２３Ｌ　27/00　Ｅ
Ａ２３Ｌ　27/00　１０１Ａ
Ａ２３Ｌ　2/60
Ｃ１２Ｎ　15/54　ＺＮＡ
Ｃ１２Ｎ　15/61
Ａ２３Ｌ　2/00　Ｃ

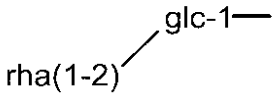
【手続補正書】
【提出日】令和3年3月26日(2021.3.26)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
式（１）：
【化１】



（１）

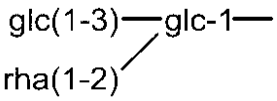
（式中、

Ｒは、式（２）または式（３）：
【化２】



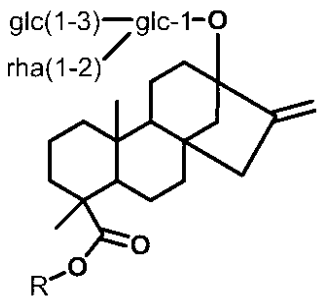
（２）

【化３】



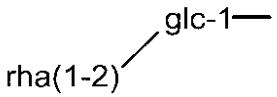
（３）

の糖鎖を表し、
glcはグルコースを表し、rhaはラムノースを表す）
で示される化合物、またはその塩、もしくは水和物を含む、飲食品。
【請求項２】
式（１）：
【化４】



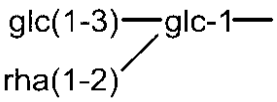
（１）

（式中、
Ｒは、式（２）または式（３）：
【化５】



（２）

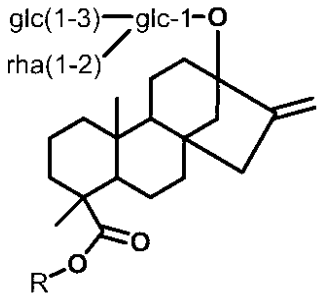
【化６】



（３）

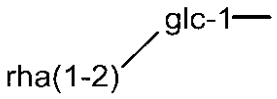
の糖鎖を表し、
glcはグルコースを表し、rhaはラムノースを表す）
で示される化合物、またはその塩、もしくは水和物を含む、甘味料組成物。
【請求項３】
レバウディオサイドＡ、レバウディオサイドＢ、レバウディオサイドＣ、レバウディオサイドＤ、レバウディオサイドＥ，レバウディオサイドＦ、レバウディオサイドＩ、レバウディオサイドＪ、レバウディオサイドＫ、レバウディオサイドＮ、レバウディオサイドＭ、レバウディオサイドＯ、レバウディオサイドＱ、レバウディオサイドＲ、ズルコサイ

ドＡ、ズルコサイドＣ、ルブソシド、ステビオール、ステビオールモノシド、ステビオールビオシドおよびステビオシドからなる群から選択される一種以上の他のステビオール配糖体をさらに含む、請求項２に記載の甘味料組成物。
【請求項４】
前記式（１）で示される化合物、またはその塩、もしくは水和物と、前記一種以上の他のステビオール配糖体との組成比が、質量比で０．０１：９．９９～６：４である、請求項３に記載の甘味料組成物。
【請求項５】
請求項２～４のいずれか一項に記載の甘味料組成物を含む飲食品。
【請求項６】
式（１）：
【化７】



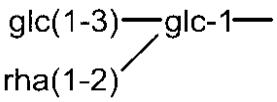
（１）

（式中、
Ｒは、式（２）または式（３）：
【化８】



（２）

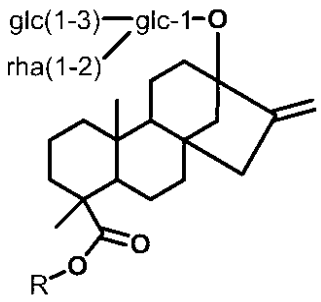
【化９】



（３）

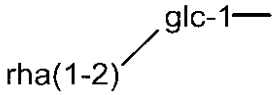
の糖鎖を表し、
glcはグルコースを表し、rhaはラムノースを表す）
で示される化合物、またはその塩、もしくは水和物を含む、植物体。
【請求項７】
請求項６に記載の植物体の、前記式（１）の化合物を含む抽出物。
【請求項８】
請求項６に記載の植物体または請求項７に記載の植物体の抽出物を含む飲食品。
【請求項９】
飲料である、請求項１、５または８に記載の飲食品。
【請求項１０】
前記式（１）で示される化合物、またはその塩、もしくは水和物の量が、飲料の総質量に対して０．０００４％～０．８％である、請求項９に記載の飲食品。
【請求項１１】
式（１）：

【化１０】



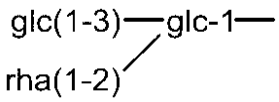
（１）

（式中、
Ｒは、式（２）または式（３）：
【化１１】



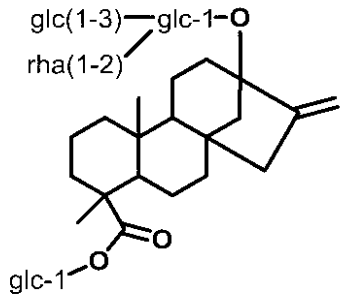
（２）

【化１２】



（３）

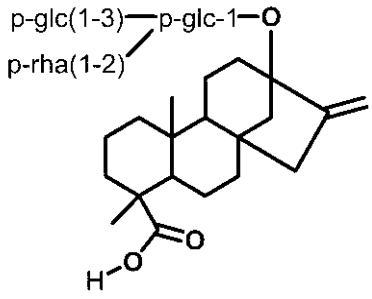
の糖鎖を表し、
ｇｌｃはグルコースを表し、ｒｈａはラムノースを表す）
で示される化合物の製造方法であって、
（Ａ）下記式（４）：
【化１３】



（４）

（式中、ｇｌｃはグルコースを表し、ｒｈａはラムノースを表す）
で示されるレバウディオサイドＣから、下記式（５）：

【化１４】

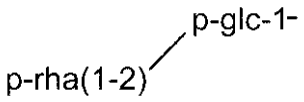


（５）

（式中、p-glcは少なくとも一つのヒドロキシル基が保護基で保護されているグルコースを表し、p-rhaは少なくとも一つのヒドロキシル基が保護基で保護されているラムノースを表す。）

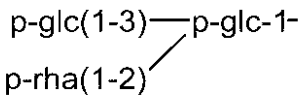
で示される中間体１を調製する工程と

（Ｂ）グルコピラノシド誘導体から式（６）：
【化１５】



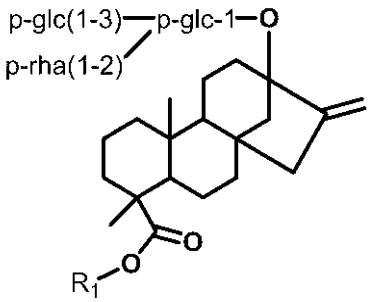
（６）

で示される中間体２、または式（７）：
【化１６】



（７）

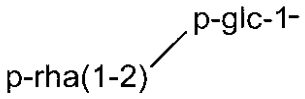
（式中、p-glcは少なくとも一つのヒドロキシル基が保護基で保護されているグルコースを表し、p-rhaは少なくとも一つのヒドロキシル基が保護基で保護されているラムノースを表す）
で示される中間体３を調製する工程と、
（Ｃ）前記中間体１と、前記中間体２または３とを、ホスフィン試薬およびアゾ化合物の存在下で反応させ、下記式（８）：
【化１７】



（８）

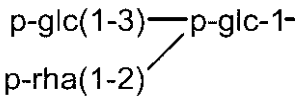
（式中、

R_1は、式（９）または式（１０）：
【化１８】



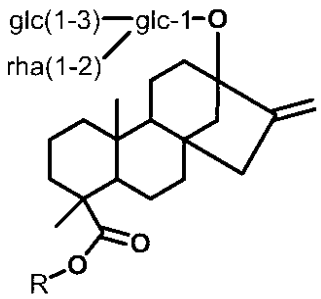
（９）

【化１９】



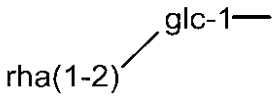
（１０）

の糖鎖を表し、
p-glcは少なくとも一つのヒドロキシル基が保護基で保護されているグルコースを表し、p-rhaは少なくとも一つのヒドロキシル基が保護基で保護されているラムノースを表す）
で示される中間体４を得る工程を含む、方法。
【請求項１２】
式（１）：
【化２０】



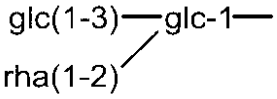
（１）

（式中、
Rは、式（２）または式（３）：
【化２１】



（２）

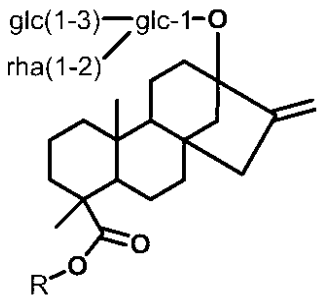
【化２２】



（３）

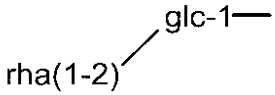
の糖鎖を表し、
glcはグルコースを表し、rhaはラムノースを表す）
で示される化合物の甘味料としての使用。
【請求項１３】
式（１）：

【化２３】



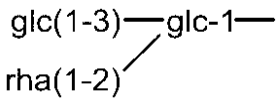
（１）

（式中、
Ｒは、式（２）または式（３）：
【化２４】



（２）

【化２５】



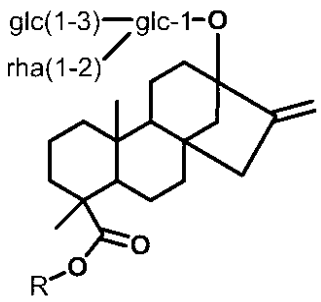
（３）

の糖鎖を表し、
glcはグルコースを表し、rhaはラムノースを表す）
で示される化合物の製造方法であって、下記（ａ）～（ｇ）：
（ａ）配列番号２のアミノ酸配列に対して９０％以上の同一性を有し、かつ、ステビオール配糖体の13位の水酸基にグルコースを付加する活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；
（ｂ）配列番号４のアミノ酸配列に対して９０％以上の同一性を有し、かつ、ステビオール配糖体の19位のカルボン酸にグルコースを付加する活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；
（ｃ）配列番号６のアミノ酸配列に対して９０％以上の同一性を有し、かつ、ステビオール配糖体の13位に結合したグルコースに1→2結合でラムノースを付加する活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；
（ｄ）配列番号８のアミノ酸配列に対して９０％以上の同一性を有し、かつ、ステビオール配糖体の13位のグルコースの3位に1→3結合でグルコースを付加する活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；
（ｅ）配列番号６のアミノ酸配列に対して９０％以上の同一性を有し、かつ、ステビオール配糖体の19位のグルコースに、1→2結合でグルコースを付加する活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；
（ｆ）配列番号８のアミノ酸配列に対して９０％以上の同一性を有し、かつ、ステビオール配糖体の19位のグルコースに、1→3結合でグルコースを付加する活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；および
（ｇ）配列番号１０のアミノ酸配列に対して９０％以上の同一性を有し、かつ、UDP-グルコースからUDP-ラムノースを生成する活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド
の少なくとも１つのポリヌクレオチドを導入した非ヒト形質転換体を用いることを特徴とする方法。

【請求項１４】
前記非ヒト形質転換体が酵母である、請求項１３に記載の方法。
【請求項１５】
ステビオールを含む培地で前記非ヒト形質転換体の培養を行うことを特徴とする、請求項１３又は１４に記載の方法。

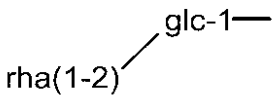
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１５０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１５０】
上記の結果から、新規ステビオール配糖体１および２はいずれも甘味を有しており、甘味料として有用であることが分かる。またいずれの配糖体も、苦味のような望ましくない香味が弱いという特徴があることが分かる。なお、化合物１７については、甘味度評価に用いたα体とβ体の混合物と類似した香味を有していた。

本発明は、以下の態様を含む。
［１］
式（１）：
【化２７】



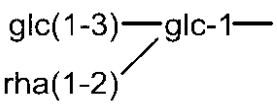
（１）

（式中、
Ｒは、式（２）または式（３）：
【化２８】



（２）

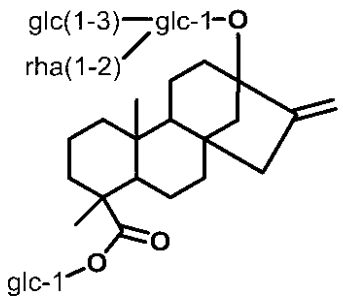
【化２９】



（３）

の糖鎖を表し、
glcはグルコースを表し、rhaはラムノースを表す）
で示される化合物、またはその塩、もしくは水和物。
［２］
植物由来物、化学合成物、または生合成物である、［1］に記載の化合物。

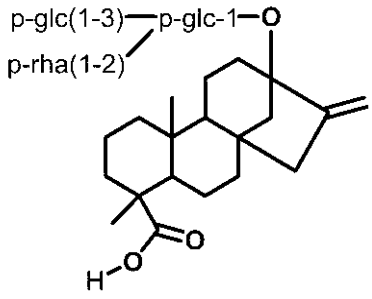
［３］
［１］または［２］に記載の化合物を含む、飲食品。
［４］
［１］または［２］に記載の化合物を含む、甘味料組成物。
［５］
レバウディオサイドＡ、レバウディオサイドＢ、レバウディオサイドＣ、レバウディオサイドＤ、レバウディオサイドＥ，レバウディオサイドＦ、レバウディオサイドＩ、レバウディオサイドＪ、レバウディオサイドＫ、レバウディオサイドＮ、レバウディオサイドＭ、レバウディオサイドＯ、レバウディオサイドＱ、レバウディオサイドＲ、ズルコサイドＡ、ズルコサイドＣ、ルブソシド、ステビオール、ステビオールモノシド、ステビオールビオシドおよびステビオシドからなる群から選択される一種以上のステビオール配糖体をさらに含む、［４］に記載の甘味料組成物。
［６］
［４］または［５］に記載の甘味料組成物を含む飲食品。
［７］
飲料である、［６］に記載の飲食品。
［８］
［１］に記載の化合物を含む植物体。
［９］
［８］に記載の植物体の、［１］に記載の化合物を含む抽出物。
［１０］
［８］に記載の植物体または［９］に記載の植物体の抽出物を含む飲食品。
［１１］
飲料である［１０］に記載の飲食品。
［１２］
［１］に記載の化合物の製造方法であって、
（Ａ）下記式（４）：
【化３０】



（４）

（式中、glcはグルコースを表し、rhaはラムノースを表す）
で示されるレバウディオサイドＣから、下記式（５）：

【化３１】

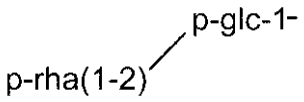


（５）

（式中、p-glcは少なくとも一つのヒドロキシル基が保護基で保護されているグルコースを表し、p-rhaは少なくとも一つのヒドロキシル基が保護基で保護されているラムノースを表す。）

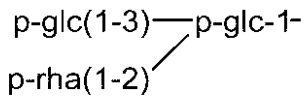
で示される中間体１を調製する工程と

（Ｂ）グルコピラノシド誘導体から式（６）：
【化３２】



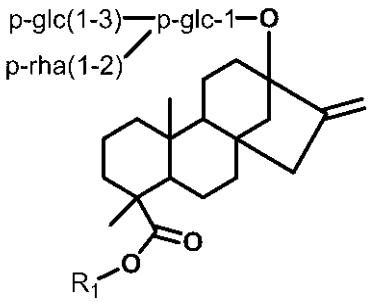
（６）

で示される中間体２、または式（７）：
【化３３】



（７）

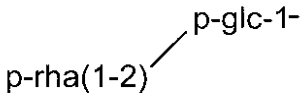
（式中、p-glcは少なくとも一つのヒドロキシル基が保護基で保護されているグルコースを表し、p-rhaは少なくとも一つのヒドロキシル基が保護基で保護されているラムノースを表す）
で示される中間体３を調製する工程と、
（Ｃ）前記中間体１と、前記中間体２または３とを、ホスフィン試薬およびアゾ化合物の存在下で反応させ、下記式（８）：
【化３４】



（８）

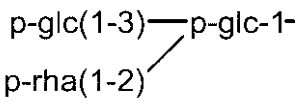
（式中、

R_1は、式（９）または式（１０）：
【化３５】



（９）

【化３６】



（１０）

の糖鎖を表し、
p-glcは少なくとも一つのヒドロキシル基が保護基で保護されているグルコースを表し、p-rhaは少なくとも一つのヒドロキシル基が保護基で保護されているラムノースを表す）
で示される中間体４を得る工程を含む、方法。
［１３］
［１］または［２］に記載の化合物の甘味料としての使用。
［１４］
［１］に記載の化合物の製造方法であって、下記（ａ）～（ｇ）：
（ａ）配列番号２のアミノ酸配列に対して９０%以上の同一性を有し、かつ、ステビオール配糖体の13位の水酸基にグルコースを付加する活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；
（ｂ）配列番号４のアミノ酸配列に対して９０%以上の同一性を有し、かつ、ステビオール配糖体の19位のカルボン酸にグルコースを付加する活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；
（ｃ）配列番号６のアミノ酸配列に対して９０%以上の同一性を有し、かつ、ステビオール配糖体の13位に結合したグルコースに1→2結合でラムノースを付加する活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；
（ｄ）配列番号８のアミノ酸配列に対して９０%以上の同一性を有し、かつ、ステビオール配糖体の13位のグルコースの3位に1→3結合でグルコースを付加する活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；
（ｅ）配列番号６のアミノ酸配列に対して９０%以上の同一性を有し、かつ、ステビオール配糖体の19位のグルコースに、1→2結合でグルコースを付加する活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；
（ｆ）配列番号８のアミノ酸配列に対して９０%以上の同一性を有し、かつ、ステビオール配糖体の19位のグルコースに、1→3結合でグルコースを付加する活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド；および
（ｇ）配列番号１０のアミノ酸配列に対して９０%以上の同一性を有し、かつ、UDP-グルコースからUDP-ラムノースを生成する活性を有するタンパク質をコードするポリヌクレオチド
の少なくとも１つのポリヌクレオチドを導入した非ヒト形質転換体を用いることを特徴とする方法。
［１５］
前記非ヒト形質転換体が酵母である、［１４］に記載の方法。
［１６］
ステビオールを含む培地で前記非ヒト形質転換体の培養を行うことを特徴とする、［１４］又は［１５］に記載の方法。