

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7642533号

(P7642533)

(45)発行日 令和7年3月10日(2025.3.10)

(24)登録日 令和7年2月28日(2025.2.28)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 P 19/56 (2006.01)

C 1 2 P 19/56

Z N A

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 5/10

請求項の数 14 (全185頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2021-524249(P2021-524249)

(86)(22)出願日 令和1年11月1日(2019.11.1)

(65)公表番号 特表2022-512932(P2022-512932
A)

(43)公表日 令和4年2月7日(2022.2.7)

(86)国際出願番号 PCT/US2019/059498

(87)国際公開番号 WO2020/096907

(87)国際公開日 令和2年5月14日(2020.5.14)

審査請求日 令和4年10月27日(2022.10.27)

(31)優先権主張番号 62/757,141

(32)優先日 平成30年11月7日(2018.11.7)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

前置審査

(73)特許権者 519321867

フィルメニッヒ インコーポレイテッド
Firmenich Incorporated
アメリカ合衆国 ニュージャージー州 プ
レインズボロ プレインズボロ ロード
250
250 Plainsboro Road
, Plainsboro, NJ 08
536, United States
of America

(74)代理人 100114890

弁理士 アインゼル・フェリックス＝ラ
インハルト

(74)代理人 100098501

最終頁に続く

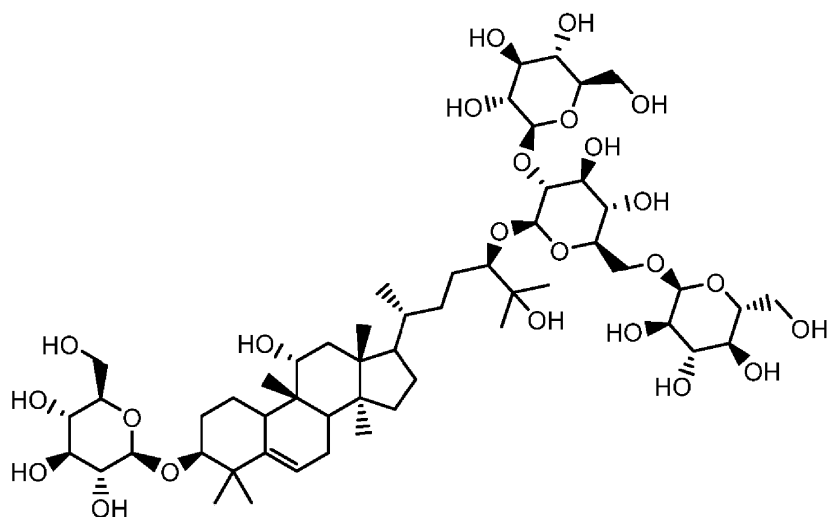
(54)【発明の名称】 高甘味度甘味料の製造方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の構造：

【化 1】



(1)

を有する化合物 1 の製造方法であって、前記方法は、

モグロシド I I I E を、モグロシド I I I E からの化合物 1 の製造を触媒することができる第 1 の酵素を含む組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、前記組換え宿主細胞は、

(1) 配列番号 1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、および 1049 のいずれか 1 つの配列に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むシトクロム P 450 ; ならびに / または

(2) 配列番号 1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、および 1048 のいずれか 1 つに対して少なくとも 90 % の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるシトクロム P 450 ; ならびに / または

(3) 配列番号 1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および 1094 ~ 1149 のいずれか 1 つの配列に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むグリコシル化酵素 ; ならびに / または

(4) 配列番号 1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および 1093 のいずれか 1 つの配列に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有する核酸配列をコードするグリコシル化酵素 ; ならびに / または

(5) 配列番号 1073 の配列に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むエポキシドヒドロラーゼ ; ならびに / または

(6) 配列番号 1072 の配列に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるエポキシドヒドロラーゼを含み、

前記第 1 の酵素は、ゲオバチルス・ステアロサーモフィルス (*Geobacillus thermophilus*) 由来の CGT-SL のシクロマルトデキストリングルカノトランスフェラーゼ (CGT アーゼ)、配列番号 896 を有するデキストランスクラーゼまたはストレプトコッカス・ミュータンス・クラーク (*Streptococcus mutans* Clarke) ATCC 25175 のデキストランスクラーゼである、方法。

【請求項 2】

前記組換え宿主細胞は、前記第 1 の酵素をコードする第 1 の遺伝子を含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

前記モグロシド I I I_E は、前記組換え宿主細胞中に存在し、かつ／または前記組換え宿主細胞によって製造される、請求項 1 または 2 記載の方法。

【請求項 4】

前記第 1 の酵素が発現される条件下にて培地中で前記組換え宿主細胞を培養するステップを含む、請求項 1 から 3 までのいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 5】

モグロシド I I A を前記組換え宿主細胞と接触させてモグロシド I I I_E を製造するステップを含み、前記組換え細胞は、モグロシド I I A からのモグロシド I I I_E の製造を触媒することができる第 2 の酵素を含む、請求項 1 から 4 までのいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 6】

モグロールを前記組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、前記組換え宿主細胞は、モグロールからのモグロシド I I I_E および／または I I I_E の製造を触媒することができる 1 つ以上の酵素を含む、請求項 1 から 5 までのいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 7】

モグロシド I A 1 を前記組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、前記組換え宿主細胞は、配列番号 9、407、16、または 306 に対して少なくとも 90% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む UGT98 または UGT SK98 酵素をコードする遺伝子を含む、請求項 1 から 6 までのいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 8】

前記方法は、11-ヒドロキシ-24, 25 エポキシクルビタジエノールを前記組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、前記組換え宿主細胞は、エポキシドヒドロラーゼをコードする第 3 の遺伝子を含む、請求項 1 から 7 までのいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 9】

前記方法は、11-ヒドロキシクルビタジエノールを前記組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、前記組換え宿主細胞は、シトクロム P450、またはエポキシドヒドロラーゼをコードする第 4 の遺伝子を含む、請求項 1 から 8 までのいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 10】

前記方法は、3, 24, 25-トリヒドロキシクルビタジエノールを前記組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、前記組換え宿主細胞は、シトクロム P450 をコードする第 5 の遺伝子を含む、請求項 1 から 9 までのいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 11】

前記方法は、クルビタジエノールを前記組換え宿主細胞と接触させるステップを含む、請求項 1 から 10 までのいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 12】

前記方法は、2, 3-オキシドスクアレン、ジオキシドスクアレン、およびジエポキシスクアレンの 1 つ以上を前記組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、前記組換え宿主細胞は、クルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドをコードする第 7 の遺伝子を含む、請求項 1 から 11 までのいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 13】

組換え細胞であって、以下の構造：

10

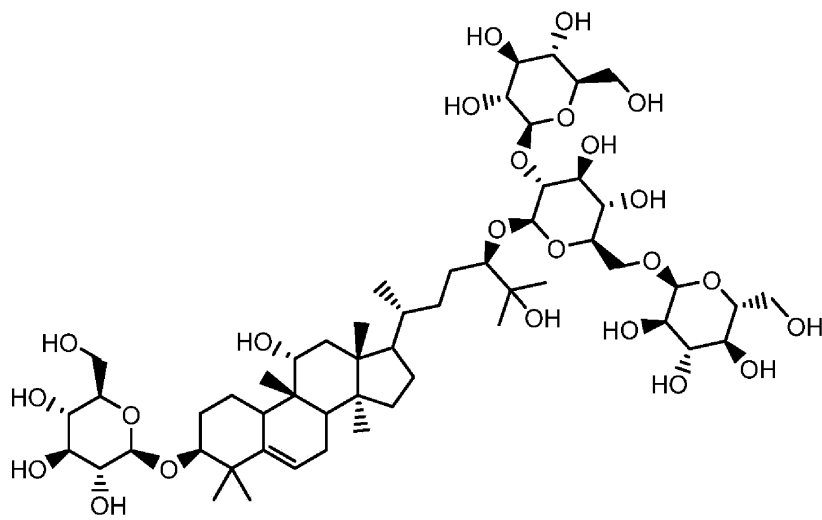
20

30

40

50

【化 2】



(1)

を有する化合物 1 と、モグロシド I I I_E からの化合物 1 の製造を触媒することができる第 1 の酵素をコードする遺伝子と、以下：

(1) 配列番号 1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、および 1049 のいずれか 1 つの配列に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むシトクロム P 450；ならびに／または

(2) 配列番号 1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、および 1048 のいずれか 1 つに対して少なくとも 90 % の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるシトクロム P 450；ならびに／または

(3) 配列番号 1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および 1094～1149 のいずれか 1 つの配列に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むグリコシル化酵素；ならびに／または

(4) 配列番号 1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および 1093 のいずれか 1 つの配列に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有する核酸配列をコードするグリコシル化酵素；ならびに／または

(5) 配列番号 1073 の配列に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むエポキシドヒドロラーゼ；ならびに／または

(6) 配列番号 1072 の配列に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるエポキシドヒドロラーゼの 1 つ以上とを含み、

前記第 1 の酵素は、ゲオバチルス・ステアロサーモフィルス (*Geobacillus thermophilus*) 由来の C G T - S L のシクロマルトデキストリングルカノトランスフェラーゼ (C G T アーゼ)、配列番号 896 を有するデキストランスクラーゼまたはストレプトコッカス・ミュータンス・クラーク (*Streptococcus mutans* Clarke) A T C C 2 5 1 7 5 のデキストランスクラーゼである、組換え細胞。

【請求項 1 4】

組換え細胞であって、モグロシド I I I_E からの、以下の構造：

10

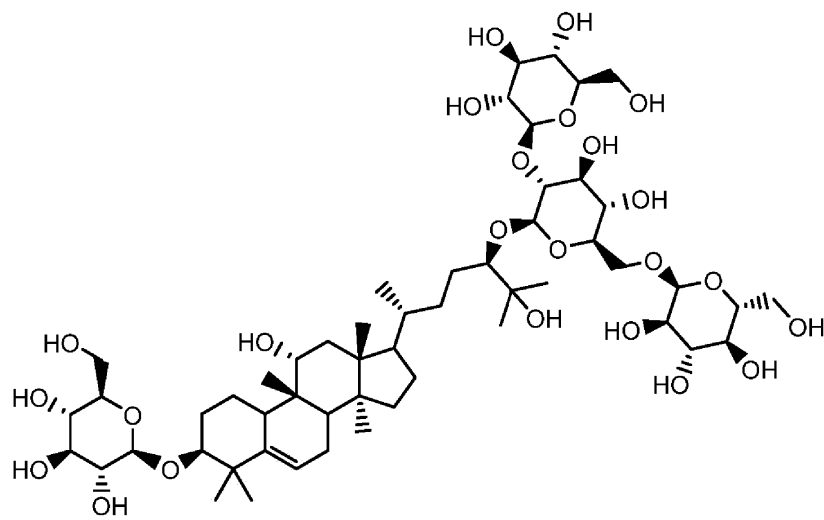
20

30

40

50

【化 3】



を有する化合物 1 の製造を触媒することができる第 1 の酵素をコードする第 1 の遺伝子と、以下：

(1) 配列番号 1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、および 1049 のいずれか 1 つの配列に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むシトクロム P 450；ならびに／または

(2) 配列番号 1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、および 1048 のいずれか 1 つに対して少なくとも 90 % の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるシトクロム P 450；ならびに／または

(3) 配列番号 1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および 1094～1149 のいずれか 1 つの配列に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むグリコシル化酵素；ならびに／または

(4) 配列番号 1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および 1093 のいずれか 1 つの配列に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有する核酸配列をコードするグリコシル化酵素；ならびに／または

(5) 配列番号 1073 の配列に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むエポキシドヒドロラーゼ；ならびに／または

(6) 配列番号 1072 の配列に対して少なくとも 90 % の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるエポキシドヒドロラーゼの 1 つ以上とを含み、

前記第 1 の酵素は、ゲオバチルス・ステアロサーモフィルス (*Geobacillus thermophilus*) 由来の CGT-SL のシクロマルトデキストリングルカノトランスフェラーゼ (CGTアーゼ)、配列番号 896 を有するデキストランスクラーゼ または ストレプトコッカス・ミュータンス・クラーク (*Streptococcus mutans* Clarke) ATCC 25175 のデキストランスクラーゼ である、

組換え細胞

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2018年11月11日に出版された米国仮出願第62／757,141号の利益を主張し、その内容は、あらゆる目的で参照によりその内容全体が本明細書に援用される。

【0002】

背景

分野

本開示は、甘味化合物を製造するための方法、システム、および組成物、ならびに甘味化合物を含む組成物に関する。

【0003】

背景の説明

味覚システムは、外界の化学組成に関する感覚情報を提供する。味覚伝達は、動物において化学物質によって引き起こされる感覚の最も高度な形態の1つである。味覚のシグナル伝達は、単純な後生動物から最も複雑な脊椎動物に至るまで、動物界全体で認められる。哺乳動物には、甘味、苦味、酸味、塩味、およびうま味（グルタミン酸ナトリウムの味、別名、セイバリーテイスト（savory taste））の5つの基本的な味の様式があると考えられている。

【0004】

何世紀にもわたって、天然および非天然の様々な組成物および／または化合物が、食品および飲料を含む摂取可能な組成物および／またはそれらの味を改善するために経口投与される医薬組成物に添加されてきた。長い間「味」にはいくつかの基本タイプしか存在しないことが知られてきたが、味の知覚の生物学的および生化学的基礎はほとんど解明されておらず、大半の味覚改善剤または味覚修飾剤は、多くが単純な試行錯誤のプロセスによって発見されてきた。

【0005】

甘味に関しては、糖尿病および心血管疾患が世界的に増加している健康上の懸念であるが、米国では驚くべき速度で増加している。砂糖およびカロリーは、健康にプラスの栄養効果をもたらすために制限できる重要な要素である。高甘味度甘味料は、様々な味の品質で砂糖の甘味を提供することができる。それらは砂糖より何倍も甘いため、砂糖を置き換えるのに必要な甘味料ははるかに少量である。

【0006】

高甘味度甘味料は、化学的に異なる構造を幅広く有しているため、これらに限定されるものではないが例えば、匂い、フレーバー、口当たり、後味など、様々な特性を備えている。これらの特性、特にフレーバーおよび後味は、テイスティングの時間とともに変化することがよく知られており、その結果、各時間プロファイルは甘味料に固有である。

【0007】

近年、例えばスクロース、フルクトース、グルコース、エリスリトール、イソマルト、ラクチトール、マンニトール、ソルビトール、キシリトールなどの甘味料、特定の既知の天然テルペノイド類、フラボノイド類、またはタンパク質甘味料などの有用な天然フレーバリング剤の特定が顕著に進歩した。Kinghom, et al., “Noncariogenic Intense Natural Sweeteners,” Med. Res. Rev. 18 (5) 347-360 (1998)参照（スクロース、フルクトースなどの一般的な天然甘味料よりもはるかに甘い、発見された天然材料に関する議論）。同様に近年、アスパルテム、サッカリン、アセスルファムK、シクラメート、スクラロースなどの特定の商品化された新たな人工甘味料も進歩した。例えばAger, et al., Angew. Chem. Int. Ed. 37, 1802-1817 (1998)参照。上記で特定された参考文献の内容全体は、参照によりその内容全体が本明細書に援用される。

【0008】

サッカリンや6-メチル-1,2,3-オキサチアジン-4(3H)-オン-2,2-ジオキシドカリウム塩（アセスルファムカリウム）などの甘味料は、一般に苦味および／または金属後味があることを特徴としている。2,4-ジヒドロキシ安息香酸を用いて製

10

20

30

40

50

造された生成物は、甘味料に付随する望ましくない後味の減少を示すと主張されており、これは、それら自体の味が知覚できる濃度よりも低い濃度で該当する。また、スクラロースやアスパルテームなどの高甘味度甘味料には、甘味の送達に問題があり、すなわち甘味の開始が遅れ、かつ甘味が長引くことが報告されている。S. G. Wiet, et al., J. Food Sci., 58(3):599-602, 666 (1993)参照。

【0009】

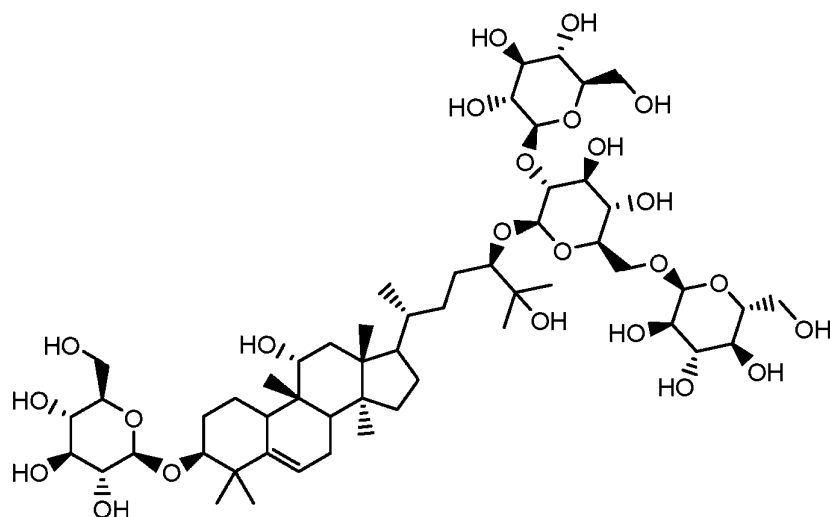
改善された味および送達特性を有する新規の甘味化合物、甘味増強剤、およびそのような化合物および増強剤を含む組成物が必要とされている。さらに、そのような望ましい特性を有する新規の甘味化合物および／または甘味増強剤を含む食品が必要とされている。

【0010】

概要

本明細書において、以下の構造：

【化1】



(1)

を有する化合物1の製造方法であって、該方法は、モグロシドIIIEを、モグロシドIIIEからの化合物1の製造を触媒することができる第1の酵素を含む組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、(1) 配列番号1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、および1049のいずれか1つの配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むシトクロムP450；ならびに／または(2) 配列番号1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、および1048のいずれか1つに対して少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるシトクロムP450；ならびに／または(3) 配列番号1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および1094～1149のいずれか1つの配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むグリコシル化酵素；ならびに／または(4) 配列番号1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および1093のいずれか1つの配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードするグリコシル化酵素；ならびに／または(5) 配列番号1073の配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むエポキシドヒドロラーゼ；ならびに／または(6) 配列番号1072の配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる

エポキシドヒドロラーゼを含む、方法が開示される。

【0011】

いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、(1) 配列番号1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、および1049のいずれか1つの配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むシトクロムP450；ならびに／または(2) 配列番号1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、および1048のいずれか1つに対して少なくとも95%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるシトクロムP450；ならびに／または(3) 配列番号1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および1094～1149のいずれか1つの配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むグリコシル化酵素；ならびに／または(4) 配列番号1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および1093のいずれか1つの配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるグリコシル化酵素；ならびに／または(4) 配列番号1073の配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むエポキシドヒドロラーゼ；ならびに／または(6) 配列番号1072の配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるエポキシドヒドロラーゼを含む。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、(1) 配列番号1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、および1049のいずれか1つの配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むシトクロムP450；ならびに／または(2) 配列番号1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、および1048のいずれか1つに対して少なくとも95%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるシトクロムP450；ならびに／または(3) 配列番号1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および1094～1149のいずれか1つの配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むグリコシル化酵素；ならびに／または(4) 配列番号1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および1093のいずれか1つの配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるグリコシル化酵素；ならびに／または(5) 配列番号1073の配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むエポキシドヒドロラーゼ；ならびに／または(6) 配列番号1072の配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるエポキシドヒドロラーゼを含む。

【0012】

いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、第1の酵素をコードする第1の遺伝子を含む。例えば、第1の遺伝子は、組換え宿主細胞に対して異種であってよい。いくつかの実施形態において、モグロシドIIIEは、組換え宿主細胞中に存在し、かつ／または組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、該方法は、第1の酵素が発現される条件下にて培地中で組換え宿主細胞を培養するステップを含む。いくつかの実施形態において、第1の酵素は、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、シクロマルトデキストリングルカノトランスフェラーゼ(CGTアーゼ)、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、 β -グルコシダーゼ、アミラーゼ、トラン

10

20

30

40

50

スグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上である。C G Tアーゼは、例えば、配列番号1、3、78～101、148、および154のいずれか1つの配列に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。デキストランスクララーゼは、例えば、配列番号2、103、106～110、156、159～162、および896に示す配列のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができるか、またはデキストランスクララーゼは、配列番号104、105、157、158、および895のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる。トランスグルコシダーゼは、例えば、配列番号163～291および723のいずれか1つの配列に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。β-グルコシダーゼは、例えば、配列番号102、292、354～374、および678～741のいずれか1つに示す配列に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。

【0013】

いくつかの実施形態において、該方法は、グロシドIIAを組換え宿主細胞と接触させてモグロシドIIIEを製造するステップを含み、組換え細胞は、モグロシドIIAからのモグロシドIIIEの製造を触媒することができる第2の酵素を含む。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、第2の酵素をコードする第2の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、モグロシドIIAは、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在する。いくつかの実施形態において、第2の酵素は、ウリジンニリン酸グルコシルトランスフェラーゼ（UGT）、C G Tアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクララーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上である。UGTは、例えばUGT73C3（配列番号4）、UGT73C6（配列番号5）、UGT85C2（配列番号6）、UGT73C5（配列番号7）、UGT73E1（配列番号8）、UGT98（配列番号9または407）、UGT1576（配列番号15）、UGTSK98（配列番号16）、UGT430（配列番号17）、UGT1697（配列番号18）、UGT11789（配列番号19）であることができるか、または配列番号4～9、15～19、125、126、128、129、293～307、407、409、411、413、439、441、444、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および1094～1149のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。UGTはまた、例えば、UGT1495（配列番号10）、UGT1817（配列番号11）、UGT5914（配列番号12）、UGT8468（配列番号13）、UGT10391（配列番号14）、および配列番号116～124、127、130、408、410、412、414、440、442、443、445、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および1093に示す配列のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされることができる。

【0014】

いくつかの実施形態において、該方法は、モグロールを組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、モグロールからのモグロシドIIIEおよび／またはIIIEの製造を触媒することができる1つ以上の酵素を含む。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、モグロールからのモグロシドIIIEおよび／またはIIIEの製造を触媒することができる1つ以上の酵素をコードする1つ以上の遺伝子を含む。モグロールは、例えば、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在することができる。いくつかの実施形態において、モグロールからのモグロシドIIIE

および／またはⅠⅠⅠⅠの製造を触媒することができる１つ以上の酵素は、UGT、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの１つ以上を含む。UGTは、例えば、UGT73C3、UGT73C6、85C2、UGT73C5、UGT73E1、UGT98、UGT1495、UGT1817、UGT5914、UGT8468、UGT10391、UGT1576、UGT SK98、UGT430、UGT1697、もしくはUGT11789であることができるか、または、配列番号4～9、15～19、125、126、128、129、293～307、405、406、407、409、411、413、439、441、444、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および1094～1149のいずれか１つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0015】

いくつかの実施形態において、該方法は、モグロシド化合物を組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、モグロシドⅠⅠⅠⅠの製造のためにモグロシド化合物からのモグロシドⅠⅠⅠⅠの製造を触媒することができる１つ以上の酵素を含み、モグロシド化合物は、モグロシドⅠA1、モグロシドⅠE1、モグロシドⅠⅠA1、モグロシドⅠⅠⅠⅠ、モグロシドⅠⅠA、モグロシドⅠⅠⅠA1、モグロシドⅠⅠⅠA2、モグロシドⅠⅠⅠ、モグロシドⅠV、モグロシドⅠVA、モグロシドV、およびシアメノシドの１つ以上である。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、モグロシド化合物からのモグロシドⅠⅠⅠⅠの製造を触媒することができる１つ以上の酵素をコードする１つ以上の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、モグロシド化合物は、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在する。いくつかの実施形態において、モグロシド化合物からのモグロシドⅠⅠⅠⅠの製造を触媒することができる１つ以上の酵素は、UGT、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの１つ以上を含む。いくつかの実施形態において、モグロシド化合物は、モグロシドⅠⅠⅠⅠである。いくつかの実施形態において、モグロシド化合物は、モルグロシド(morgroside)ⅠⅠA、またはモグロシドⅠⅠⅠⅠであり、１つ以上の酵素との接触により、モグロシドⅠⅠⅠA、モグロシドⅠⅠⅠE、およびモグロシドVの１つ以上が製造される。いくつかの実施形態において、該方法は、モグロシドⅠA1を組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、配列番号9、407、16、または306に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むUGT98またはUGT SK98酵素をコードする遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、接触により、モグロシドⅠⅠAが細胞で製造される。

【0016】

いくつかの実施形態において、該方法は、11-ヒドロキシ-24,25エポキシクルビタジエノールを組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、エポキシドヒドラーゼをコードする第3の遺伝子を含む。11-ヒドロキシ-24,25エポキシクルビタジエノールは、組換え宿主細胞中に存在し、かつ／または組換え宿主細胞によって製造されることができる。

【0017】

いくつかの実施形態において、該方法は、11-ヒドロキシクルビタジエノールを組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、シトクロムP450、またはエポキシドヒドラーゼをコードする第4の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、11-ヒドロキシクルビタジエノールは、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在する。いくつかの実施形態において、該方法は、3,24,25-トリヒドロキシクルビタジエノールを組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、シトクロムP450をコードする第5の遺伝子を含む。3

、24、25-トリヒドロキシククルビタジエノールは、組換え宿主細胞中に存在し、かつ／または組換え宿主細胞によって製造されることができる。いくつかの実施形態において、接触により、モグロールが組換え宿主細胞で製造される。いくつかの実施形態において、エポキシドヒドロラーゼは、配列番号21～30、309～314、および1073のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはエポキシドヒドロラーゼは、配列番号114、115、および1072のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる。

【0018】

いくつかの実施形態において、該方法は、ククルビタジエノールを組換え宿主細胞と接触させるステップを含む。いくつかの実施形態において、接触により、11-ヒドロキシククルビタジエノールが製造される。例えば、ククルビタジエノールは、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在することができる。

【0019】

いくつかの実施形態において、該方法は、2,3-オキシドスクアレン、ジオキシドスクアレン、およびジエポキシスクアレンの1つ以上を組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、ククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドをコードする第7の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドは、ククルビタジエノールシンターゼに融合した融合ドメインを含む融合タンパク質である。いくつかの実施形態において、接触により、ククルビタジエノールおよび／または24、25-エポキシククルビタジエノールを製造することができる。いくつかの実施形態において、2,3-オキシドスクアレン、ジオキシドスクアレン、およびジエポキシスクアレンの1つ以上は、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在する。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、CYP87D18またはSgCPRタンパク質をコードする遺伝子を含む。

【0020】

いくつかの実施形態において、該方法は、スクアレンを組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、スクアレンエポキシダーゼをコードする第8の遺伝子を含む。接触により、例えば2,3-オキシドスクアレンを製造することができる。いくつかの実施形態において、スクアレンは、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在する。

【0021】

いくつかの実施形態において、該方法は、ファルネシルピロホスフェートを組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、スクアレンシンターゼをコードする第9の遺伝子を含む。接触により、例えばスクアレンを製造することができる。いくつかの実施形態において、ファルネシルピロホスフェートは、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在する。スクアレンシンターゼは、例えば、配列番号69および336のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができるか、または配列番号337に対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列を含む配列によってコードされる。

【0022】

いくつかの実施形態において、該方法は、ゲラニル-PPを組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、ファルネシル-PPシンターゼをコードする第10の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、接触によりファルネシル-PPが製造される。ゲラニル-PPは、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在することができる。ファルネシル-PPシンターゼは、例えば、配列番号338に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができるか、または配列番号339に対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる。

【0023】

いくつかの実施形態において、第1の遺伝子、第2の遺伝子、第3の遺伝子、第4の遺

10

20

30

40

50

伝子、第5の遺伝子、第6の遺伝子、第7の遺伝子、第8の遺伝子、第9の遺伝子、および第10の遺伝子の1つ以上は、異種プロモーターに作動可能に連結されている。プロモーターは、例えば、誘導性プロモーター、抑制性プロモーター、または構成的プロモーターであることができる。組換え宿主細胞は、例えば、植物細胞、二枚貝類細胞、魚類細胞、真菌細胞、細菌細胞、または哺乳動物細胞であることができる。いくつかの実施形態において、真菌は、トリコフィトン (Trichophyton)、サンファンポルス (Sanghuangporus)、タイワノフングス (Taiwanofungus)、モニリオフトラ (Moniliophthora)、マルソニナ (Marssonina)、ディプロディア (Diplodia)、レンティヌラ (Lentinula)、キサントフィロミセス (Xanthophyllomyces)、ポコニア (Pochonia)、コレトトリカム (Colletotrichum)、ディアポルテ (Diaporthe)、ヒストプラズマ (Histoplasma)、コクシジオイデス (Coccidioides)、ヒストプラズマ (Histoplasma)、サンファンポルス (Sanghuangporus)、アウレオバシジウム (Aureobasidium)、ポコニア (Pochonia)、ペニシリウム (Penicillium)、スポロトリクス (Sporothrix)、メタリジウム (Metarhizium)、アスペルギルス (Aspergillus)、ヤロウイア (Yarrowia)、およびリボミセス (Lipomyces) からなる群から選択される。例えば、真菌は、アスペルギルス・ニデュランス (Aspergillus nidulans)、ヤロウイア・リポリティカ (Yarrowia lipolytica)、またはロドスポリン・トルロイデス (Rhodosporin toruloides) である。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、酵母細胞である。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、サッカロミセス・セレビスエ (Saccharomyces cerevisiae) 細胞、またはヤロウイア・リポリティカ (Yarrowia lipolytica) 細胞である。

10

20

【0024】

いくつかの実施形態において、該方法は、化合物1を単離するステップを含む。いくつかの実施形態において、化合物1を単離するステップは、組換え宿主細胞を破碎するステップ、および／または培地から化合物1を単離するステップを含む。該方法は、例えばHPLC、固相抽出、またはそれらの組合せを用いて化合物1を精製するステップを含むことができる。

【0025】

いくつかの実施形態において、該方法は、第1のモグロシドを組換え宿主細胞と接触させてモグロシドIIIEを製造してから、モグロシドIIIEを第1の酵素と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、ヒドロラーゼを含む。ヒドロラーゼは、例えば、β-グルカンヒドロラーゼであることができる。いくつかの実施形態において、ヒドロラーゼは、EXG1またはEXG2である。いくつかの実施形態において、第1のモグロシドモグロシドIV、モグロシドV、モグロシドVI、シアメノシドI、モグロシドIVE、モグロシドIVA、およびそれらの組合せ。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、ヒドロラーゼをコードする遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、第1のモグロシドは、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在する。

30

【0026】

いくつかの実施形態において、組換え細胞は、オキシドスクアレニシクラーゼ、またはオキシドスクアレニシクラーゼをコードする核酸配列をさらに含み、オキシドスクアレニシクラーゼは、ククルビタジエノールまたはエポキシククルビタジエノールが製造されるように修飾されている。オキシドスクアレニシクラーゼは、例えば、シクロアルテノールシンターゼまたはβ-アミリンシンターゼであることができる。いくつかの実施形態において、組換え細胞は、シトクロムP450レダクターゼ、またはシトクロムP450レダクターゼをコードする遺伝子を含む。

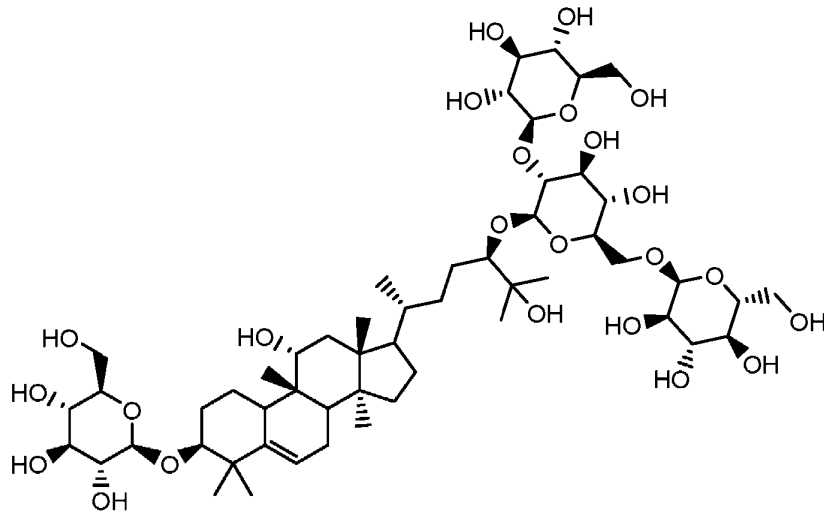
40

【0027】

また本明細書には、化合物1

50

【化 2】



10

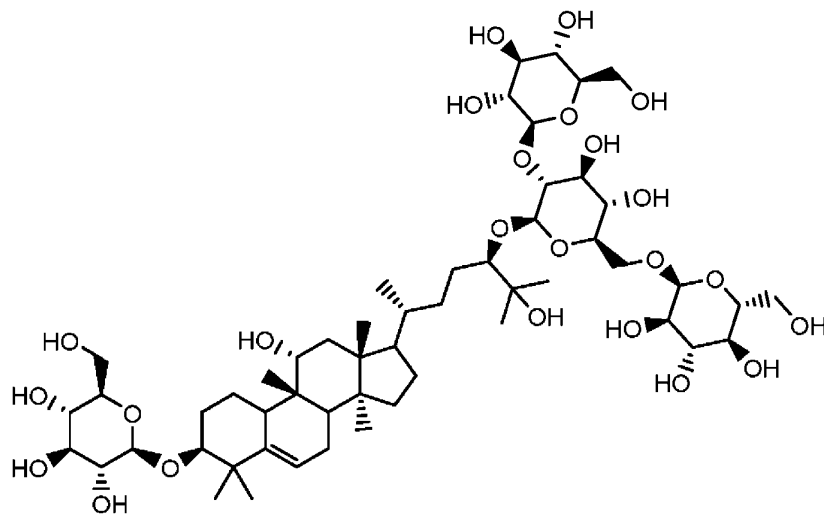
の構造を有する化合物であって、本明細書に開示される方法のいずれかにより製造される、化合物も開示される。

【 0 0 2 8 】

また本明細書には、組換え細胞であって、以下の構造：

20

【化 3】



30

を有する化合物 1 と、モグロシド I I I E から化合物 1 の製造を触媒することができる酵素をコードする遺伝子と、以下：（１）配列番号 1 0 2 5、1 0 2 7、1 0 2 9、1 0 3 1、1 0 3 3、1 0 3 5、1 0 3 7、1 0 3 9、1 0 4 1、1 0 4 3、1 0 4 5、1 0 4 7、および 1 0 4 9 のいずれか 1 つの配列に対して少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むシトクロム P 4 5 0；ならびに／または（２）配列番号 1 0 2 4、1 0 2 6、1 0 2 8、1 0 3 0、1 0 3 2、1 0 3 4、1 0 3 6、1 0 3 8、1 0 4 0、1 0 4 2、1 0 4 4、1 0 4 6、および 1 0 4 8 のいずれか 1 つに対して少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるシトクロム P 4 5 0；ならびに／または（３）配列番号 1 0 5 1、1 0 5 3、1 0 5 5、1 0 5 7、1 0 5 9、1 0 6 1、1 0 6 3、1 0 6 5、1 0 6 7、1 0 6 9、1 0 7 1、1 0 7 4、1 0 7 6、1 0 7 8、1 0 8 0、1 0 8 2、1 0 8 4、1 0 8 6、1 0 8 8、1 0 9 0、1 0 9 2、および 1 0 9 4～1 1 4 9 のいずれか 1 つの配列に対して少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むグリコシル化酵素；ならびに／または（４）配列番号 1 0 5 0、1 0 5 2、1 0 5 4、1 0 5 6、1 0 5 8、1 0 6 0、1 0 6 2、1 0 6 4、1 0 6 6、1 0

40

50

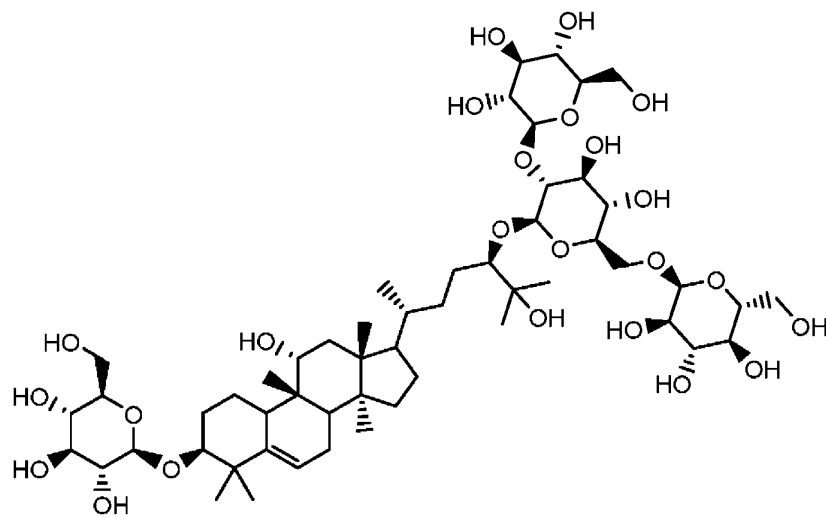
68、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および1093のいずれか1つの配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードするグリコシル化酵素；ならびに／または

(5) 配列番号1073の配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むエポキシドヒドロラーゼ；ならびに／または(6) 配列番号1072の配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるエポキシドヒドロラーゼの1つ以上とを含む、組換え細胞も開示される。

【0029】

また、組換え細胞であって、モグロシドIIIEからの、以下の構造：

【化4】



(1)

を有する化合物1の製造を触媒することができる第1の酵素をコードする第1の遺伝子と、以下：(1) 配列番号1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、および1049のいずれか1つの配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むシトクロムP450；ならびに／または(2) 配列番号1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、および1048のいずれか1つに対して少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるシトクロムP450；ならびに／または(3) 配列番号1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および1094～1149のいずれか1つの配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むグリコシル化酵素；ならびに／または(4) 配列番号1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および1093のいずれか1つの配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードするグリコシル化酵素；ならびに／または(5) 配列番号1073の配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むエポキシドヒドロラーゼ；ならびに／または(6) 配列番号1072の配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるエポキシドヒドロラーゼの1つ以上とを含む、組換え細胞も開示される。

【0030】

いくつかの実施形態において、第1の酵素は、UGT、シクロマルトデキストリングルカノトランスフェラーゼ（CGTアーゼ）、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペ

クチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上である。C G Tアーゼは、例えば、配列番号1、3、78～101、148、および154のいずれか1つの配列に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。デキストランスクラナーゼは、例えば、配列番号2、103、106～110、156、および896に示す配列のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができるか、またはデキストランスクラナーゼは、配列番号104、105、157、158、および895のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる。トランスグルコシダーゼは、例えば、配列番号3、95～102、163～291、および723のいずれか1つの配列に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。β-グルコシダーゼは、例えば、配列番号102、292、354～376、および678～741に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。

【0031】

いくつかの実施形態において、細胞は、ウリジン二リン酸グルコシルトランスフェラーゼ（UGT）をコードする第2の遺伝子を含む。UGTは、例えば、配列番号4～9、15～19、125、126、128、129、293～307、407、409、411、413、439、441、444、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および1094～1149に示す配列のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができるか、またはUGTは、配列番号116～124、127、130、408、410、412、414、440、442、443、445、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および1093のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、UGTは、UGT1495（配列番号10）、UGT1817（配列番号11）、UGT5914（配列番号12）、UGT8468（配列番号13）、またはUGT10391（配列番号14）に示す配列によってコードされる。

【0032】

いくつかの実施形態において、細胞は、配列番号9、407、16、または306に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むUGT98、またはUGT SK98をコードする第3の遺伝子を含むか、またはUGT98は、配列番号307に示す核酸配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、細胞は、エポキシドヒドロラーゼをコードする第4の遺伝子を含む。エポキシドヒドロラーゼは、例えば、配列番号21～30、および309～314のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができるか、または配列番号114および115のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる。

【0033】

いくつかの実施形態において、細胞は、P450をコードする第5の遺伝子を含む。P450は、例えば、配列番号20、49、308、315、430、872、874、876、878、880、882、884、886、888、890、891、1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、1049、1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、および1049のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができるか、または配列番号31～48、316、318、431、871、873、875、877、879、881、883、885、887、889、892、1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、103

8、1040、1042、1044、1046、および1048のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる。

【0034】

いくつかの実施形態において、細胞は、ククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドをコードする第6の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドは、融合タンパク質である。例えば、ククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドは、配列番号70~73、75~77、319、321、323、325、327-333、417、420、422、424、426、446、902、904、906、851、854、856、1024、859、862、865、867、915、920、924、928、932、936、940、944、948、952、956、959、964、967、971、975、979、983、987、991、995、999、1003、1007、および1011のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができるか、またはククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドは、配列番号74、320、322、324、326、328、418、421、423、425、427、897、899、901、903、および905のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる。

【0035】

いくつかの実施形態において、細胞は、スクアレネポキシダーゼをコードする第7の遺伝子を含む。スクアレネポキシダーゼは、例えば、配列番号50~56、60、61、334、および335のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができるか、またはスクアレネポキシダーゼは、配列番号335に対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる。

【0036】

いくつかの実施形態において、細胞は、スクアレシンターゼをコードする第8の遺伝子を含む。スクアレシンターゼは、例えば、配列番号69もしくは336に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができるか、またはスクアレシンターゼは、配列番号337に示す核酸配列を含む配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、細胞は、ファルネシルPPシンターゼをコードする第9の遺伝子を含む。ファルネシルPPシンターゼは、例えば、配列番号338に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができるか、または配列番号339に対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる。細胞は、例えば、哺乳動物細胞、植物細胞、細菌細胞、真菌細胞、または昆虫細胞であることができる。真菌は、例えば、トリコフィトン (Trichophyton)、サンファンポルス (Sanghuangporus)、タイワノフングス (Taiwanofungus)、モニリオフトラ (Moniliophthora)、マルソニナ (Marssonina)、ディプロディア (Diplodia)、レンティヌラ (Lentinula)、キサントフィロミセス (Xanthophyllomyces)、ポコニア (Pochonia)、コレトトリカム (Colletotrichum)、ディアポルテ (Diaporthe)、ヒストプラズマ (Histoplasma)、コクシジオイデス (Coccidioides)、ヒストプラズマ (Histoplasma)、サンファンポルス (Sanghuangporus)、アウレオバシジウム (Aureobasidium)、ポコニア (Pochonia)、ペニシリウム (Penicillium)、スポロトリクス (Sporothrix)、またはメタリジウム (Metarhizium) であることができる。いくつかの実施形態において、細胞は、酵母細胞であり、酵母は、カンジダ (Candida)、サッカロミセス (Saccharomyces)、サッカロミコチナ (Saccharomycotina)、タフリノミコチナ (Taphrinomycotina)、シゾサッカロミセテス (Schizosaccharomycetes)、コマガテラ (Komagataella)、バシディオミコタ (Basidiomycota)、アガリコミコチナ (Agaricomycotina)、トレメロミセテス (Tremellomycetes)、プシニオミコチナ (Pucciniomycotina)、アウレオバシジウム (Aureobasidium)、コニオケーテ (Coniochaeta)、およびミクロボリオミセテス (Microboryomycetes) からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、組換え細胞は、モグロシドVを加水分解することができ

10

20

30

40

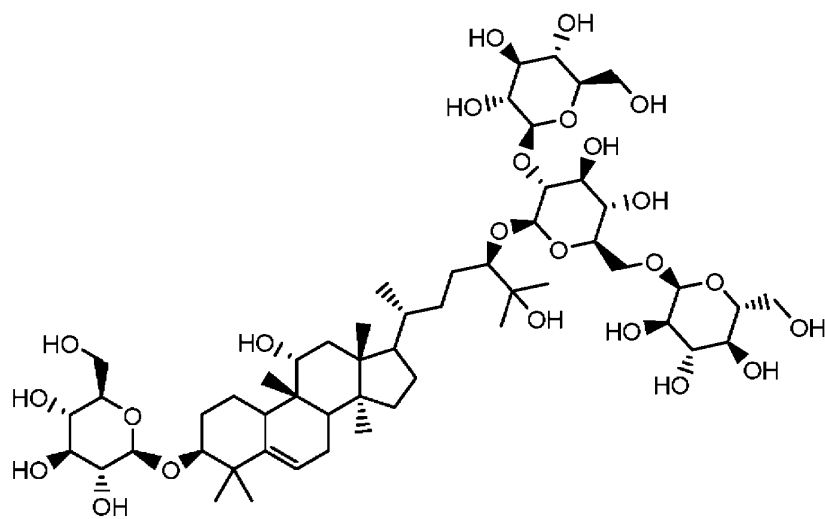
50

る少なくとも1つの加水分解酵素をコードする遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、化合物1は、組換え細胞において加水分解酵素に対する耐性を示し、加水分解酵素は、モグロシドVI、モグロシドV、モグロシドIVをモグロシドIIIに加水分解する能力を示す。いくつかの実施形態において、組換え細胞は、オキシドスクアレニシクラーゼ、またはオキシドスクアレニシクラーゼをコードする核酸配列をさらに含み、オキシドスクアレニシクラーゼは、ククルビタジエノールまたはエポキシククルビタジエノールが製造されるように修飾されている。オキシドスクアレニシクラーゼは、例えば、配列番号341、343、および346～347のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。いくつかの実施形態において、細胞は、シトクロムP450レダクターゼ、またはシトクロムP450レダクターゼをコードする遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、細胞は、第1のモグロシドを加水分解してモグロシドIIIを製造することができるヒドロラーゼをコードする遺伝子を含む。例えば、ヒドロラーゼは、 β -グルカンヒドロラーゼであることができる。いくつかの実施形態において、ヒドロラーゼは、EXG1またはEXG2である。いくつかの実施形態において、第1のモグロシドは、モグロシドIV、モグロシドV、モグロシドVI、シアメノシドI、モグロシドIVE、モグロシドIVA、およびそれらの組合せからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、細胞は、酵母細胞である。例えば、細胞は、サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*)、またはヤロウィア・リポリティカ (*Yarrowia lipolytica*) であることができる。

【0037】

また本明細書には、化合物(1)：

【化5】



の構造を有する化合物であって、単離および精製された形態である、化合物も開示される。

【0038】

本明細書には、化合物(1)：

10

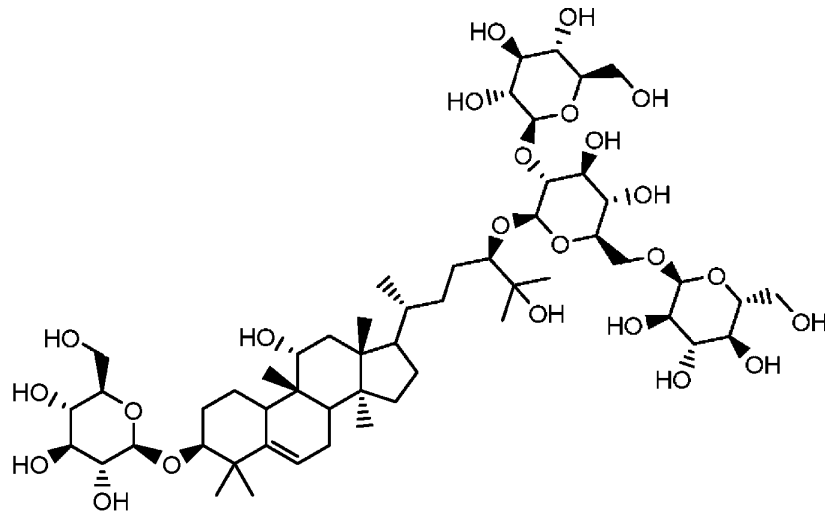
20

30

40

50

【化 6】



の構造を有する化合物を含む組成物であって、50重量%超の化合物を含む、組成物が開示される。

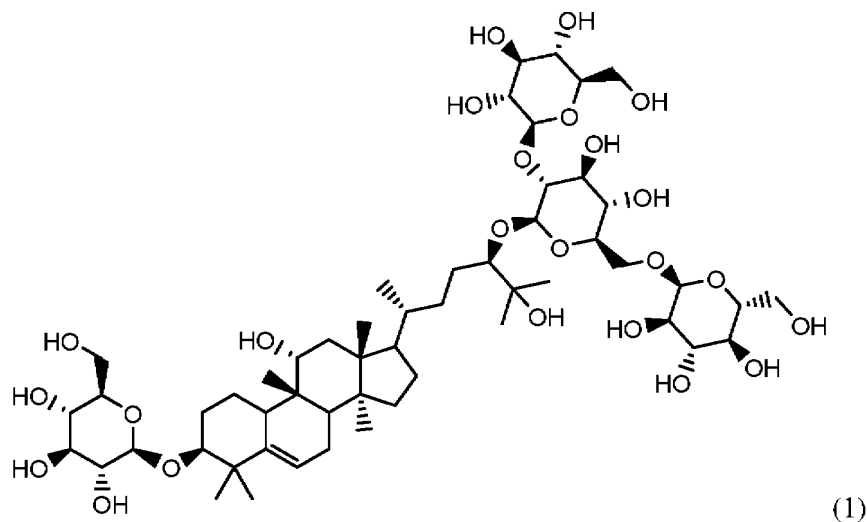
【0039】

いくつかの実施形態において、組成物は、1重量%未満、0.5重量%未満、または0.1重量%未満のモグロシドIIIEを含む。いくつかの実施形態において、組成物は、0.3重量%未満、0.1重量%未満、0.05重量%未満、または0.01重量%未満の11-オキシモグロシドIIIEを含む。いくつかの実施形態において、組成物は、1重量%未満、0.5重量%未満、または0.1重量%未満の、モグロシドI、モグロシドII、およびモグロシドIIIのすべての異性体を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、0.1重量%未満の、モグロシドIIIE、11-オキシモグロシドIIIE、モグロシドIIIA2、モグロシドIE、およびモグロシドIIIを含む。いくつかの実施形態において、組成物は、1重量%未満、0.5重量%未満、または0.1重量%未満の11-オキシモグロールを含む。いくつかの実施形態において、組成物は、70重量%超、80重量%超、または90重量%超の化合物を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、単離された形態である。

【0040】

また本明細書には、化合物(1)：

【化 7】



の構造を有する化合物の溶液を含む、組成物も開示される。

【0041】

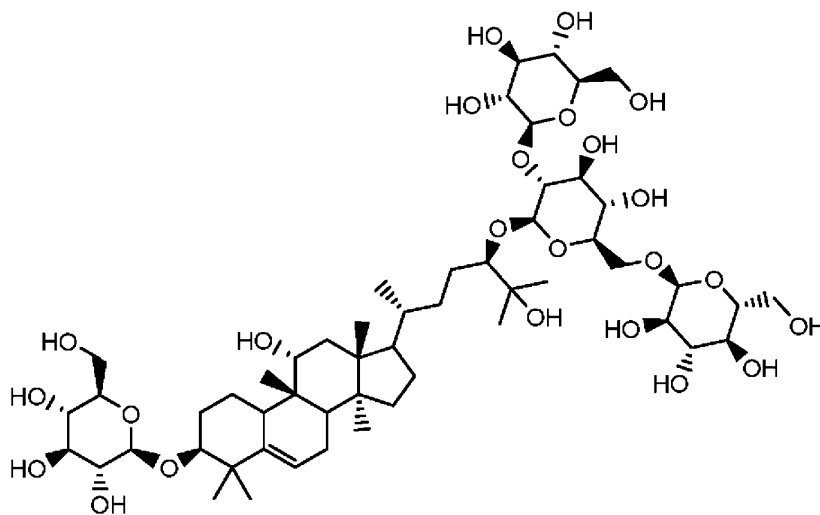
いくつかの実施形態において、上記の実施形態の溶液中の化合物の濃度は、500 ppm超、0.1%超、0.5%超、1%超、5%超、または10%超である。いくつかの実施形態において、組成物は、100 ppm未満、50 ppm未満、20 ppm未満、または5 ppm未満であるモグロシドIIIEの濃度を含む。いくつかの実施形態において、30 ppm未満、10 ppm未満、1 ppm未満、または0.1 ppm未満である11-オキソモグロシドIIIEの濃度を含む 請求項のいずれか1つ記載の組成物。いくつかの実施形態において、1%未満、0.5%未満、0.1%未満、500 ppm未満、または100 ppm未満の、モグロシドI、モグロシドII、およびモグロシドIIIのすべての異性体の合一濃度を含む 請求項記載の組成物。いくつかの実施形態において、組成物は、500 ppm未満、または100 ppm未満の、モグロシドIIIE、11-オキソモグロシドIIIE、モグロシドIIIA2、モグロシドIE、およびモグロシドIIの合一濃度を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、0.5%未満または100 ppm未満の11-オキソモグロシドIIの濃度を含む。

10

【0042】

本明細書には、充填剤と、化合物(1)：

【化8】



20

(1)

30

の構造を有する1つ以上の化合物とを含む、組成物が包含される。

【0043】

いくつかの実施形態において、組成物は、0.5重量%超、1重量%超、または2重量%超の化合物を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、30重量%超、50重量%超、70重量%超、90重量%超、または99重量%超の充填剤を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、化合物と、少なくとも1つの追加の甘味料および／または甘味修飾剤とを含む。

【0044】

また本明細書には、消費製品の甘味の知覚を伝達、増強、変更、または改善するための、本明細書に開示される組成物のいずれか、例えば化合物(1)を含む組成物の使用も開示される。

40

【図面の簡単な説明】

【0045】

【図1】モグロシドIIIEをCGTアーゼで処理した後の、化合物1の製造のHPLCデータおよび質量分析データ(挿入図)を示す図。

【図2】モグロシドIIIEをストレプトコッカス・ミュータンス・クラーク(*Streptococcus mutans* Clarke) ATCC 25175 デキストラスクラーゼで処理した後の、化合物1の製造のHPLCデータおよび質量分析データ(挿入図)を示す図。

50

【図3】キシランの存在下にセルクラストで処理した後のモグロシドグリコシル化反応のHPLCデータおよび質量分析データ（挿入図）を示す図。

【図4】UDP-グリコシルトランスフェラーゼで処理した後のモグロシドグリコシル化反応のHPLCデータおよび質量分析データ（挿入図）を示す図。

【図5】UDP-グリコシルトランスフェラーゼで処理した後のモグロシドグリコシル化反応のHPLCデータおよび質量分析データ（挿入図）を示す図。

【図6】UDP-グリコシルトランスフェラーゼ UGT73C6での処理によりモグロシドIを製造した後の、モグロールのHPLCデータおよび質量分析データ（挿入図）を示す図。

【図7】UDP-グリコシルトランスフェラーゼ（338）（配列番号405）での処理により、生成物であるモグロシドIを製造した後の、モグロールのHPLCデータおよび質量分析データ（挿入図）を示す図。

10

【図8】UDP-グリコシルトランスフェラーゼ（338）（配列番号405）での処理により、生成物であるモグロシドIIAを製造した後の、モグロールのHPLCデータおよび質量分析データ（挿入図）を示す図。

【図9】UDP-グリコシルトランスフェラーゼ（338）（配列番号405）での処理により、生成物である2つの異なるモグロシドIII生成物を製造した後の、モグロールのHPLCデータおよび質量分析データ（挿入図）を示す図。

【図10】UDP-グリコシルトランスフェラーゼでの処理によりシアメノシドI生成物を製造した後の、モグロシドIIIEのHPLCデータおよび質量分析データ（挿入図）を示す図。

20

【図11】UDP-グリコシルトランスフェラーゼでの処理によりモグロシドV生成物を製造した後の、モグロシドIIIEのHPLCデータおよび質量分析データ（挿入図）を示す図。

【図12】UDP-グリコシルトランスフェラーゼ（339）（配列番号409）での処理によりモグロシドIを製造した後の、モグロールの反応の生成物のHPLCデータおよび質量分析データ（挿入図）を示す図。

【図13】UDP-グリコシルトランスフェラーゼ（339）（配列番号409）での処理によりイソモグロシドVを製造した後の、シアメノシドIの反応の生成物のHPLCデータおよび質量分析データ（挿入図）を示す図。

30

【図14】UDP-グリコシルトランスフェラーゼ（339）（配列番号409）での処理により化合物1誘導体を製造した後の、化合物1の反応の生成物のHPLCデータおよび質量分析データ（挿入図）を示す図。

【図15】モグロシドIIAをUDP-グリコシルトランスフェラーゼ（330）（配列番号411）で処理することにより製造された、モグロシドIIIA、モグロシドIVA、モグロシドVのHPLCデータおよび質量分析データ（挿入図）を示す図。

【図16】モグロシドIIEをUDP-グリコシルトランスフェラーゼ（330）（配列番号411）で処理することにより製造された、モグロシドIIIA、モグロシドIVA、モグロシドVのHPLCデータおよび質量分析データ（挿入図）を示す図。

【図17】モグロシドIIIEをUDP-グリコシルトランスフェラーゼ（330）（配列番号411）で処理することにより製造された、モグロシドIIIA、モグロシドIVA、モグロシドVのHPLCデータおよび質量分析データ（挿入図）を示す図。

40

【図18】モグロシドIVAをUDP-グリコシルトランスフェラーゼ（330）（配列番号411）で処理することにより製造された、モグロシドIIIA、モグロシドIVA、モグロシドVのHPLCデータおよび質量分析データ（挿入図）を示す図。

【図19】モグロシドIVEをUDP-グリコシルトランスフェラーゼ（330）（配列番号411）で処理することにより製造された、モグロシドIIIA、モグロシドIVA、モグロシドVのHPLCデータおよび質量分析データ（挿入図）を示す図。

【図20】それぞれモグロシドIIA、モグロシドIIE、モグロシドIIIE、モグロシドIVA、またはモグロシドIVEをUDP-グリコシルトランスフェラーゼ（330

50

) (配列番号 4 1 1) で処理することにより製造された、モグロシド I I I A、モグロシド I V A、モグロシド V の H P L C データおよび質量分析データ (挿入図) を示す図。

【図 2 1】モグロシド I V E およびシアメノシド I の反応生成物の質量分析プロファイルを示す図。

【図 2 2】モグロシド I V E およびシアメノシド I の反応生成物の質量分析プロファイルを示す図。

【図 2 3】ククルビタジエノールシンターゼ (S g C b Q) (配列番号 4 1 7) を用いたククルビタジエノールの製造を示す図。

【図 2 4】酵素 C p e p 2 (配列番号 4 2 0) を用いたククルビタジエノールの製造を示す図。

【図 2 5】酵素 C p e p 4 (配列番号 4 2 2) を用いたククルビタジエノールの製造を示す図。

【図 2 6】エポキシドヒドロラーゼ (配列番号 4 2 8) による触媒作用からのジヒドロキシククルビタジエノールの製造を示す図。

【図 2 7 A】微生物酵素による加水分解に対する化合物 1 の耐性を示す図。

【図 2 7 B】微生物酵素による加水分解に対する化合物 1 の耐性を示す図。

【図 2 8】H i l i c _ 8 0 _ 2 0 _ 法からの α -モグロシド異性体混合物の U P L C クロマトグラムを示す図。

【図 2 9】H i l i c _ 8 0 _ 2 0 _ 法での U P L C 分析からのサンプルの純度を示す図。

【図 3 0】化合物 1 の製造のための非限定的な例示的な経路を示すフローチャートを示す図。

【図 3 1】オキシドスクアレンのブースティングのための図 3 0 に示すステップ 1 のジエポキシスクレン (diepoxysqualene) の U V 吸光度を示す図。

【図 3 2】ククミス・メロ (Cucumis melo) およびククルビタ・マクシマ (Cucurbita maxima) 由来の酵素を用いたステップ 2 におけるククルビタジエノールの製造を示す図。

【図 3 3】ピスム・サティBUM (Pisum sativum) 由来の酵素を用いたステップ 2 におけるククルビタジエノールの製造を示す図。

【図 3 4】ジクチオステリウム種 (Dictyostelium sp.) 由来の酵素を用いたステップ 2 におけるククルビタジエノールの製造を示す図。

【図 3 5】図 3 0 に示す経路のステップ 3 の中間体を示す図。

【図 3 6】図 3 0 に示す経路のステップ 4 であるモグロールの合成の中間体の質量分析データを示す図。

【図 3 7】図 3 0 に示す経路のステップ 7 である化合物 1 の合成の中間体を示す図。

【図 3 8】グリコシル化酵素による高グリコシル化モグロシドの製造を示す概略図。この高グリコシル化モグロシドを、その後、加水分解してモグロシド I I I E に戻すことができる。

【図 3 9】加水分解反応を用いることで、どのように高グリコシル化モグロシドを加水分解してモグロシド I I I E を製造することができるのかを示す概略図。このモグロシド I I I E を、その後、化合物 1 に変換することができる。

【図 4 0 A】2 日間のインキュベーションの後に、S. セレビシエ (S. cerevisiae) において実質的にすべてのモグロシドがモグロシド I I I E に変換されたことを示す図。

【図 4 0 B】2 日間のインキュベーションの後に、Y. リポリティカ (Y. lipolytica) において実質的にすべてのモグロシドがモグロシド I I I E に変換されたことを示す図。

【図 4 1】S. セレビシエ (S. cerevisiae) または Y. リポリティカ (Y. lipolytica) において、化合物 1 からの加水分解生成物が検出されなかったことを示す図。

【図 4 2】デキストランスクラーゼ (D e x T) を過剰発現するように修飾された S. セレビシエ (S. cerevisiae) における化合物 1 の製造を示す図。

【図 4 3】3 1 1 酵素 (U D P-グリコシルトランスフェラーゼにより触媒された酵素反応を示す図。

【図 4 4】1 1-OH ククルビタジエノールの製造を示す図。

10

20

30

40

50

【図 4 5 A】モグロシド I A の製造を示す図。

【図 4 5 B】モグロシド I A および I E の製造を示す図。

【図 4 6】モグロールの製造を示す図。

【0 0 4 6】

詳細な説明

定義

別段の定義がない限り、本明細書で使用されるすべての技術用語および科学用語は、本開示が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。すべての特許、出願、公開された出願、およびその他の刊行物は、参照によりその内容全体が本明細書に援用される。本明細書において 1 つの用語に対する定義が複数存在する場合には、特に明記しない限り、本セクションのものが優先する。

10

【0 0 4 7】

「溶媒和物」とは、溶媒と本明細書に記載の化合物またはその塩との相互作用によって形成される化合物を指す。適切な溶媒和物は、水和物を含む生理学的に許容される溶媒和物である。

【0 0 4 8】

本明細書で使用される「甘味料」、「甘味フレーバリング剤」、「甘味フレーバーの実体」、「甘い化合物」または「甘味化合物」とは、対象物において検出可能な甘味フレーバーを誘発する化合物または生理学的に許容されるその塩を指す。本明細書で使用される「甘味修飾剤」とは、甘味の知覚を増強、変更、または改善する化合物または生理学的に許容されるその塩を指す。

20

【0 0 4 9】

本明細書で使用される場合、「作動可能に連結されている」という用語は、調節エレメントと遺伝子またはそのコード領域との間の接続を説明するために使用される。典型的に、遺伝子発現は、1 つ以上の調節エレメント、例えば、これに限定されるものではないが、構成的プロモーターまたは誘導性プロモーター、組織特異的調節エレメント、およびエンハンサーの制御下におかれる。遺伝子またはコード領域は、調節エレメントと「作動可能に連結されている」、または「作動的に連結されている」、または「作動可能に結合されている」と表現され、これは、遺伝子またはコード領域が調節エレメントによって制御または影響されることを意味する。例えば、プロモーターがコード配列の転写または発現を行う場合、プロモーターは、コード配列に作動可能に連結されている。

30

【0 0 5 0】

「調節エレメント」および「発現制御エレメント」という用語は交換可能に使用され、特定の宿主生物における作動可能に連結されているコード配列の発現に影響を及ぼし得る核酸分子を指す。これらの用語は、プロモーター、エンハンサー配列、応答エレメント、タンパク質認識部位、誘導性エレメント、タンパク質結合配列、5' および 3' 非翻訳領域 (UTR)、転写開始部位、終止配列、ポリアデニル化配列、イントラン、RNA ポリメラーゼと転写因子との基本相互作用に必要なコアエレメント、上流エレメント、エンハンサー、応答エレメント (Lewin, "Genes V" (Oxford University Press, Oxford) pages 847-873 参照) およびそれらの任意の組合せを含む、転写を促進または調節するすべてのエレメントに広く使用され、それらを網羅する。原核生物の例示的な調節エレメントには、プロモーター、オペレーター配列、およびリボソーム結合部位が含まれる。真核細胞において使用される調節エレメントは、これに限定されるものではないが、転写および翻訳制御配列、例えばプロモーター、エンハンサー、スプライシングシグナル、ポリアデニル化シグナル、ターミネーター、タンパク質分解シグナル、内部リボソーム進入エレメント (IRES)、2A 配列など、宿主細胞においてコード配列の発現および／またはコードされたポリペプチドの製造を提供および／または調節するものが含まれることができる。本明細書におけるいくつかの実施形態において、本明細書に記載の組換え細胞は、調節エレメントに作動可能に連結されている遺伝子を含む。

40

【0 0 5 1】

50

本明細書で使用される場合、2 A 配列またはエレメントとは、リボソーム内でのポリタンパク質の自律的な自己プロセッシングを可能にする、2つのタンパク質間のリンカーとして導入された小さなペプチドを指す（例えばde Felipe, Genetic Vaccines and Ther. 2:13 (2004); deFelipe et al. Traffic 5:616-626 (2004)参照）。これらの短いペプチドにより、単一のベクターから複数のタンパク質を共発現させることができる。多くの2 A エレメントが当技術分野で知られている。本明細書に開示される方法およびシステムで 사용할ことができる2 A 配列の例は、これらに限定されるものではないが、米国特許公開第2007016690号明細書に記載されている口蹄疫ウイルス（F 2 A）、ウマ鼻炎Aウイルス（E 2 A）、ゾセア・アシグナ（*Thosea asigna*）ウイルス（T 2 A）、およびブタテッシュウウイルス-1（P 2 A）に由来する2 A 配列を含む。

10

【0052】

本明細書で使用される場合、「プロモーター」という用語は、RNAポリメラーゼの結合を可能にし、遺伝子の転写を指示するヌクレオチド配列である。通常、プロモーターは遺伝子の5'非コード領域に位置し、遺伝子の転写開始部位の近位にある。転写の開始において機能するプロモーター内の配列エレメントは、しばしばコンセンサスヌクレオチド配列によって特徴付けられる。プロモーターの例には、これらに限定されるものではないが、細菌、酵母、植物、ウイルス、および哺乳動物（ヒトを含む）由来のプロモーターが含まれる。プロモーターは、誘導性、抑制性、および／または構成的であることができる。誘導性プロモーターは、温度の変化などの培養条件の何らかの変化に応答して、その制御下でDNAからの転写レベルの増加を開始する。

20

【0053】

本明細書で使用される場合、「エンハンサー」という用語は、転写の開始部位に対するエンハンサーの距離または向きに関係なく転写効率を高めることができる調節エレメントの1種を指す。

【0054】

本明細書で使用される場合、「導入遺伝子」という用語は、ヒトの介入によって標的細胞の1つ以上の染色体に組み込まれる任意のヌクレオチドまたはDNA配列を指す。いくつかの実施形態において、導入遺伝子は、目的のタンパク質をコードするポリヌクレオチドを含む。タンパク質をコードするポリヌクレオチドは、一般に、転写調節配列などの目的の遺伝子の所望の発現を得るのに有用である他の配列に作動的に連結されている。いくつかの実施形態において、導入遺伝子は、核酸、またはそれが組み込まれた際に染色体を標識するために使用される他の分子をさらに含むことができる。

30

【0055】

本明細書において、ポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列に関する「配列同一性のパーセント（％）」とは、2つの配列のアラインメント後に、候補配列の塩基またはアミノ酸残基の、もう一方の配列の塩基またはアミノ酸残基と同一であるパーセンテージとして用いられる。必要に応じて、ギャップを配列アラインメントに導入して、最大パーセントの配列同一性を達成することができる。保存的置換は、配列同一性の一部とは見なされない。配列同一性のパーセント（％）を決定する目的でのアラインメントは、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、FASTA（米国ウィスコンシン州マディソンのGenetics Computing Group (GCG)のパッケージにおいて入手可能）、またはMegalign (DNASTAR)といった公に利用可能なコンピュータによる方法およびプログラムを用いて、当業者の裁量で様々な方法で達成することができる。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するのに必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適切なパラメータを決定することができる。

40

【0056】

例えば、アミノ酸配列同一性のパーセント（％）の値は、例えば、Altschul et al., Methods in Enzymology, 1996, 266:460-480に記載されているWU-BLAST-2コンピュータプログラムを使用することによって得ることができる。WU-BLAST-2

50

コンピュータプログラムにおける多くの検索パラメータは、当業者によって調整することができる。例えば、調整可能なパラメータの一部は、以下の値で設定することができる：オーバーラップスパン＝１、オーバーラップフラクション＝０．１２５、ワードしきい値（Ｔ）＝１１、スコアリングマトリックス＝ＢＬＯＳＵＭ６２。ＷＵ－ＢＬＡＳＴ－２が使用される場合、アミノ酸配列同一性の％値は、（ａ）ＷＵ－ＢＬＡＳＴ－２によって決定される、目的の第１のタンパク質のアミノ酸配列と目的の第２のタンパク質のアミノ酸配列との間で一致する同一のアミノ酸残基の数を、（ｂ）目的の第１のタンパク質のアミノ酸残基の総数で除すことによって決定される。

【００５７】

アミノ酸配列同一性のパーセントはまた、例えばAltschul et al., *Nucleic Acids Res.*, 1997, 25:3389-3402に記載されている配列比較プログラムＮＣＢＩ－ＢＬＡＳＴ２を使用して決定することもできる。ＮＣＢＩ－ＢＬＡＳＴ２配列比較プログラムは、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>からダウンロード可能であり、またメリーランド州ベセスダの国立衛生研究所からも入手可能である。ＮＣＢＩ－ＢＬＡＳＴ２では、いくつかの調整可能な検索パラメータが使用される。これらの調整可能な検索パラメータのいくつかのデフォルト値は、例えば、マスク解除＝はい、ストランド＝すべて、予想される出現度数＝１０、最小の低複雑性の長さ＝１５／５、マルチパスｅ値＝０．０１、マルチパスの定数＝２５、最終ギャップアライメントのドロップオフ＝２５、およびスコアリングマトリックス＝ＢＬＯＳＵＭ６２である。

【００５８】

ＮＣＢＩ－ＢＬＡＳＴ２がアミノ酸配列の比較に使用される状況では、所与のアミノ酸配列Ｂに対する所与のアミノ酸配列Ａ（または所与のアミノ酸配列Ｂに対して所定のアミノ酸配列同一性％を有するかまたは含む所与のアミノ酸配列Ａと表現することもできる）のアミノ酸配列同一性％は、以下のように計算される：

$$\text{分数 } X / Y \times 100$$

ここで、Ｘは、配列アラインメントプログラムＮＣＢＩ－ＢＬＡＳＴ２によってＡおよびＢのアラインメントで同一の一致としてスコア付けされたアミノ酸残基の数であり、Ｙは、Ｂのアミノ酸残基の総数である。アミノ酸配列Ａの長さがアミノ酸配列Ｂの長さと同しくない場合には、Ｂに対するＡのアミノ酸配列同一性％と、Ａに対するＢのアミノ酸配列同一性％とは等しくない。

【００５９】

本明細書で使用される場合、「単離された」とは、示された化合物がその自然環境から分離されており、その結果、その自然状態でその化合物と共に存在する１つ以上の他の化合物または生物剤がもはや存在しないことを意味する。

【００６０】

本明細書で使用される場合、「精製された」とは、示された化合物が、（例えば、その天然の環境において）示された化合物と共に典型的に認められる他の化合物よりも多量に存在することを意味する。いくつかの実施形態において、精製された化合物の相対量は、１％超、５％超、１０％超、２０％超、３０％超、４０％超、５０％超、８０％超、９０％超、１００％超、１２０％超、１５０％超、２００％超、３００％超、４００％超、または１０００％超だけ増加される。いくつかの実施形態において、精製された化合物は、この化合物と組み合わせられた他の化合物に対して、１％超、５％超、１０％超、２０％超、３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、９０％超、９５％超、９８％超、９９％超、または９９．５％超の重量％レベルで存在する。いくつかの実施形態において、本明細書における実施形態から製造された化合物１は、製造後にこの化合物と組み合わせられた他の化合物に対して、１％超、５％超、１０％超、２０％超、３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、９０％超、９５％超、９８％超、９９％超、または９９．５％超の重量％レベルで存在する。

【００６１】

本明細書に記載される「精製」とは、細胞破碎物および／または上清から化合物１を抽

出す方法を指すことができ、ここで、細胞は、化合物1の製造物を排出する。本明細書に記載される「破砕物」は、細胞壁および細胞膜の破壊後の細胞の細胞内容物を含み、例えば、タンパク質、糖、およびモグロシドを含むことができる。精製には、タンパク質を除去するための硫酸アンモニウム沈殿、タンパク質を除去するための塩処理、疎水性分離（HPLC）、およびアフィニティークラムの使用が含まれることができる。本明細書に記載の方法によって製造される生成物を考慮して、吸着性樹脂を用いて特定のモグロシドを除去するための親和性媒体が企図される。

【0062】

本明細書に記載される「HPLC」は、溶液に溶解している化合物を分離するために使用することができる液体クロマトグラフィーの一形態である。これらに限定されるものではないが、HPLC機器は、移動相のリザーバ、ポンプ、インジェクタ、分離カラム、および検出器から構成することができる。次に、サンプル混合物をカラムに注入することにより、化合物を分離することができる。液体の移動相と固定相との間の分配挙動の違いにより、混合物パスの様々な成分が様々な速度でカラムを通過することができる。使用可能なカラムはいくつか存在する。これらに限定されるものではないが、カラムは、順相カラム、逆相カラム、サイズ排除タイプのカラム、およびイオン交換カラムであることができる。

【0063】

また、タンパク質および糖のサンプルの脱塩に有用である固相抽出および分別の使用も企図される。他の方法には、Aurea Andrade-Eiroa et al. (TrAC Trends in Analytical Chemistry Volume 80, June 2016, Pages 641-654; 参照によりその内容全体が本明細書に援用される)に記載されている、HPLC、サンプル分析用の液体クロマトグラフィー、および液液抽出の使用が含まれることができる。

【0064】

本明細書に記載される精製のための「固相抽出」(SPE)とは、液体混合物に溶解または懸濁された化合物を、それらの物理的および化学的特性に従って混合物中の他の化合物から分離するサンプル調製プロセスを指す。例えば、分析実験室では、固相抽出を使用して、分析用のサンプルを濃縮および精製することができる。固相抽出は、例えば、尿、血液、水、飲料、土壌、および動物組織といった幅広い様々なマトリックスから目的の分析対象物を分離するためにも使用することができる。本明細書に記載の実施形態において、細胞破砕物中または細胞培地中の化合物1を固相抽出により精製することができる。

【0065】

SPEでは、液体(移動相と呼ばれる)に溶解または懸濁した溶質と、サンプルが通過する固体(固定相と呼ばれる)との親和性を利用して、混合物を所望の成分と不要な成分とに分離する。SPEは、気-液相で直接使用および適用すること、例えば熱脱着とその後のクロマトグラフィー分析とを使用することにより固体サンプルに間接的に適用することもできる。これにより、サンプル中の目的の所望の分析対象物かまたは不要な不純物を固定相に保持することができる。固定相を通過する部分は、所望の分析対象物が含まれているか、不要な不純物が含まれているかに応じて、回収または廃棄することができる。固定相に保持されている部分に所望の分析対象物が含まれている場合には、追加のステップで回収するために固定相からそれらを取り除くことができ、この追加のステップでは、固定相が適切な溶離液ですすがれる。

【0066】

固相抽出を行うことができる方法は、限定されない。これらに限定されるものではないが、次の手法が含まれ得る：順相SPE法、逆相SPE、イオン交換SPE、陰イオン交換SPE、陽イオン交換、および固相マイクロ抽出。固相抽出はSajid et al., and Plotka-Wasylyk et al.に記載されている(Anal Chim Acta. 2017 May 1;965:36-53, Crit Rev Anal Chem. 2017 Apr 11:1-11; 参照によりその内容全体が本明細書に援用される)。

【0067】

いくつかの実施形態において、細胞により製造される化合物 1 は、固相抽出により精製される。いくつかの実施形態において、例えば固相抽出により精製された化合物 1 の純度は、70%、80%、90%、もしくは100%の純度、または前述のいずれかの値で定められたいずれかのレベルの純度である。

【0068】

本明細書に記載される「発酵」とは、特定の生成物を製造するための宿主培地での宿主細胞のバルク増殖を広く指す。本明細書に記載の実施形態において、製造される最終生成物は化合物 1 である。これには、空気の有無にかかわらず生じ、例えば嫌気性環境で行うことができる方法も含まれる。全細胞（組換え宿主細胞）は、発酵ブロス中または反応緩衝剤中に存在することができる。

【0069】

化合物 1、および化合物 1 を製造するための中間体モグロシド化合物は、組換え細胞破碎物または上清から中間体モグロシド化合物または化合物 1 を回収することにより単離することができる。細胞を収穫し、この細胞を剪断力（フレンチプレス細胞超音波処理）または界面活性剤処理による破碎に供した後に、破碎物を得ることができる。次に、破碎物を濾過し、硫酸アンモニウムで処理してタンパク質を除去し、C18 HPLC（5 X 10 cm Atlantis prep T3 OBD column, 5 um, Waters）にて、30分間かけて10→30% BとするA/Bグラジエント（A＝水、B＝アセトニトリル）を用いて注入することにより分画し、95%のBで洗浄した後、1%で再平衡化する（分析の合計時間＝42分間）。これらの分析物は、風袋を秤量したチューブ（12フラクション／プレート、1回の分析につき3プレート）に30mL／フラクションで回収することができる。破碎物を遠心分離して、固形物および粒子状物質を除去することもできる。

【0070】

その後、プレートをGenevac HT12/HT24で乾燥させることができる。所望の化合物は、他の異性体とともにフラクション 21 に溶出されることが予想される。プールされたフラクションを、47回の分析で、フルオロフェニルHPLCカラム（3 X 10 cm, Xselect fluoro-phenyl OBD column, 5 um, Waters）にて、35分間かけて15→30% BとするA/Bグラジエント（A＝水、B＝アセトニトリル）を用いてさらに分画し、95%のBで洗浄した後、15%で再平衡化する（分析の合計時間＝45分間）。風袋を秤量した12本のチューブ（12フラクション／プレート、1回の分析につき1プレート）に30mL／フラクションで、各分析物を回収した。所望の純度を有する所望のピークを含むフラクションを、UPLC分析に基づいてプールし、減圧下で乾燥させて、帯白色の粉末状固体を得ることができる。純粋な化合物を10mLの水に再懸濁／溶解させ、凍結乾燥させることで、少なくとも95%の純度を得ることができる。

【0071】

本明細書で使用される場合、「グリコシド結合」とは、2つのフラノースおよび／またはピラノース基と一緒に結合する共有結合を指す。一般に、グリコシド結合とは、あるフラノースまたはピラノース部分のアノマー炭素ともう一方のフラノースまたはピラノース部分の酸素との間の結合である。グリコシド結合は、結合された炭素原子の位置番号および α ／ β 配向を用いて命名される。 α -および β -グリコシド結合は、アノマー位および環のC1から最も遠い立体中心の相対的立体化学に基づいて区別される。例えば、スクロースは、以下に示すように、1分子のグルコースおよび1分子のフルクトースが α -1-2グリコシド結合を介して結合されて構成された二糖である。

【0072】

10

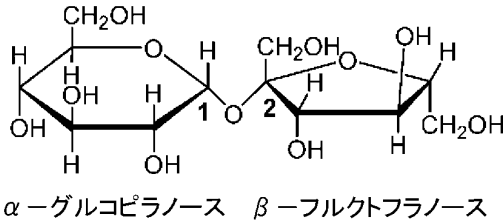
20

30

40

50

【化 9】

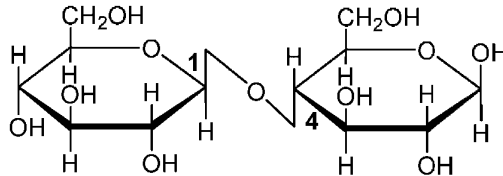


【0073】

β -1-4グリコシド結合の一例は、セルロースにおいて見ることができる：

10

【化10】



【0074】

本明細書および添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「a」、「an」および「the」は、文脈が明らかに他のことを指示しない限り、複数の指示対象を含む。したがって、例えば、「芳香族化合物」への言及は、芳香族化合物の混合物を含む。

20

【0075】

多くの場合、範囲は、本明細書では、ある特定の値について「約」から、および／または別の特定の値について「約」までとして表される。そのような範囲が表現される場合、別の実施形態は、1つの特定の値から、および／または他の特定の値までを含む。同様に、値が近似として表される場合、先行詞である「約」を用いることにより、特定の値が別の実施形態を形成することが理解されよう。さらに、各範囲の端点は、他の端点と関連しても、他の端点とは独立しても、重要であることが理解されよう。

【0076】

本明細書に記載される「コドン最適化」とは、最大タンパク質発現効率を増加させることが知られているコドンにコドンを変更する設計プロセスを指す。いくつかの代替策において、細胞における発現のためのコドン最適化が記載され、ここで、コドン最適化は、ヒトにおける高いmRNAおよびタンパク質収率に向けて最適化された合成遺伝転写物を製造するために当業者に知られているアルゴリズムを使用することによって行うことができる。コドンは、例えば、細菌細胞、哺乳動物細胞、酵母細胞、昆虫細胞、または植物細胞におけるタンパク質発現に向けて最適化することができる。ヒトのコドン最適化のためのアルゴリズムを含むプログラムは、容易に利用可能である。このようなプログラムは、例えば、OptimumGene（商標）またはGeneGPS（登録商標）アルゴリズムを含むことができる。さらに、コドン最適化配列は、例えば、Integrated DNA Technologiesより商業的に入手することができる。本明細書に記載のいくつかの実施形態において、化合物1を製造するための組換え細胞は、合成のための酵素をコードする遺伝子を含み、遺伝子は、発現のためにコドン最適化されている。いくつかの実施形態において、遺伝子は、細菌細胞、酵母細胞、真菌細胞、または昆虫細胞における発現のためにコドン最適化されている。

30

40

【0077】

本明細書で使用される場合、「核酸」、「核酸分子」、および「ポリヌクレオチド」という用語は互換的であり、ホスホジエステル結合から構成されているにせよ、修飾された結合、例えばホスホトリエステル、ホスホルアミデート、シロキサン、カーボネート、カルボキシメチルエステル、アセトアミデート、カルバメート、チオエーテル、架橋ホスホルアミデート、架橋メチレンホスホネート、架橋ホスホルアミデート、架橋ホスホルアミデート、架橋メチレンホスホネート、ホスホロチオエート、メチルホスホネート、ホスホ

50

ロジチオエート、架橋ホスホロチオエート、またはスルトン結合、およびそのような結合の組合せから構成されているにせよ、任意の核酸を指す。「核酸」および「ポリヌクレオチド」という用語は、特に生物学的に存在する5つの塩基（アデニン、グアニン、チミン、シトシン、およびウラシル）以外の塩基から構成される核酸も含む。

【0078】

ポリヌクレオチドの非限定的な例には、デオキシリボ核酸（DNA）、またはリボ核酸（RNA）、オリゴヌクレオチド、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）によって製造されるフラグメント、ならびにライゲーション、切断、エンドヌクレアーゼ作用、およびエキソヌクレアーゼ作用のいずれかによって製造されるフラグメントが含まれる。核酸分子は、天然に存在するヌクレオチド（例えば、DNAおよびRNA）、または天然に存在するヌクレオチドの類似体（例えば、天然に存在するヌクレオチドのエナンチオマー形態）、または双方の組合せであるモノマーから構成されていることができる。修飾ヌクレオチドは、糖部分および／またはピリミジンもしくはプリン塩基部分に変異を有することができる。糖修飾には、例えば、1つ以上のヒドロキシル基のハロゲン、アルキル基、アミン、およびアジド基による置換が含まれるか、または糖をエーテルまたはエステルとして官能化することができる。さらに、糖部分全体を、アザ糖および炭素環式糖類似体などの立体的および電子的に類似した構造に置き換えることができる。塩基部分の修飾の例には、アルキル化プリンもしくはピリミジン、アシル化プリンもしくはピリミジン、または他の周知の複素環式置換基が含まれる。核酸モノマーは、ホスホジエステル結合またはそのような結合の類似体によって結合することができる。ホスホジエステル結合の類似体には、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホロセレノエート、ホスホロジセレノエート、ホスホロアニロチオエート、ホスホルアニリデート、ホスホルアミデートなどが含まれる。「核酸分子」という用語はまた、いわゆる「ペプチド核酸」を含み、これは、ポリアミド骨格に結合した天然に存在するまたは修飾された核酸塩基を含む。核酸は一本鎖または二本鎖のいずれかであることができる。いくつかの代替策において、融合タンパク質をコードする核酸配列が提供される。いくつかの代替策において、核酸は、RNAまたはDNAである。いくつかの実施形態において、核酸は、配列番号1～1023のいずれか1つを含む。

【0079】

「コードする」または「コード」は、本明細書において使用され、所定のアミノ酸配列などの、他の高分子の合成のためのテンプレートとしての役割を果たす、遺伝子、cDNA、またはmRNAなどの、ポリヌクレオチドにおけるヌクレオチドの特定の配列の特性を指す。したがって、その遺伝子に対応するmRNAの転写および翻訳によって細胞または他の生物学的システムにおいてタンパク質が製造される場合、その遺伝子はそのタンパク質をコードする。本明細書に記載のいくつかの実施形態において、組換え細胞が提供され、この組換え細胞は、例えばデキストランスクラーゼ、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、デキストラナーゼ、および／またはUGTなどの酵素をコードする遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、トランスグルコシダーゼは、配列番号163～290、および723のいずれか1つに示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、CGTアーゼは、配列番号1、3、78～101、147、および154のいずれか1つの配列によってコードされるか、またはそれらの配列を有する。いくつかの実施形態において、例えばデキストランスクラーゼ、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、デキストラナーゼ、および／またはUGTなどの酵素をコードする遺伝子は、宿主細胞における発現のためにコドン最適化されている。「ポリペプチドをコードする核酸配列」は、互いに縮重したバージョンであり、同じアミノ酸配列をコードするすべてのヌクレオチド配列を含む。

【0080】

ポリヌクレオチドにおける二次構造の発生を低減するために最適化を実施することもできる。該方法のいくつかの代替策において、ベクターにおける配列の最適化を行って、総GC/A T比を低下させることもできる。厳密なコドン最適化は、望ましくない二次構造、または二次構造を招く望ましくない高いGC含量を招くおそれがある。このように、二次構造は転写効率に影響を与える。コドン使用頻度の最適化後に、二次構造の回避およびGC含量の最適化のために、GeneOptimizerなどのプログラムを使用することができる。これらの追加プログラムを、最初のコドン最適化後のさらなる最適化およびトラブルシューティングに使用することで、初回の最適化の後に発生するおそれのある二次構造を制限することができる。最適化のための代替プログラムは、容易に利用可能である。該方法のいくつかの代替策において、ベクターは、二次構造を回避するために最適化された配列を含み、かつ／または配列は、総GC/A T比を低下させるために最適化されており、かつ／または配列は、細菌細胞もしくは酵母細胞における発現のために最適化されている。

【0081】

「ベクター」、「発現ベクター」、または「構築物」とは、細胞における異種核酸の発現を提供するための調節エレメントを有する細胞に異種核酸を導入するために使用される核酸である。ベクターには、これらに限定されるものではないが、プラスミド、ミニサークル、酵母、およびウイルスゲノムが含まれる。いくつかの代替策において、ベクターはプラスミド、ミニサークル、酵母、またはゲノムである。いくつかの代替策において、ベクターは、E. コリ (E. coli) などの細菌系でのタンパク質発現のためのものである。いくつかの代替策において、ベクターは、E. コリ (E. coli) などの細菌系でのタンパク質発現のためのものである。いくつかの代替策において、ベクターは、酵母系でのタンパク質発現のためのものである。いくつかの実施形態において、発現のためのベクターは、ウイルスベクターである。いくつかの実施形態において、ベクターは、遺伝子の発現のアップレギュレーションのためのプロモーター配列を含む組換えベクターである。「調節エレメント」とは、転写または翻訳の開始および速度、転写または翻訳産物の安定性および移動性に影響を及ぼし得るヌクレオチド配列を有する核酸を指すことができる。

【0082】

本明細書に記載される「組換え宿主」または「組換え宿主細胞」は、そのゲノムが少なくとも1つの組み込まれたDNA配列によって増強されている宿主である。この組み込まれたDNA配列は、1つ以上のポリペプチドをコードする異種核酸であることができる。そのようなDNA配列には、これらに限定されるものではないが、天然に存在しない遺伝子、通常はRNAへの転写またはタンパク質への翻訳（「発現」）が行われないDNA配列、および非組換え宿主への導入が望まれる他の遺伝子またはDNA配列が含まれる。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、コドンバイアスなどの発現の問題を防ぐために使用される。タンパク質発現用の市販の宿主、例えばBL21-CodonPlus（商標）細胞、異種遺伝子発現用のtRNA補充宿主株、タンパク質の発現を増強するためのRosetta（商標）（DE3）コンピテント株、ならびにサッカロミセス（Saccharomyces）属、ピチア（Pichia）属、クルイウェロミセス（Kluyveromyces）属、ハンセヌラ（Hansenula）属、およびヤロウィア（Yarrowia）属の市販の酵母発現系が存在する。

【0083】

組換え宿主は、稀なコドンを含み得る酵素の発現用のRosetta細胞などの市販の細胞であることができる。

【0084】

いくつかの実施形態において、組換え細胞は、CYP533、CYP937、CYP1798、CYP1994、CYP2048、CYP2740、CYP3404、CYP3968、CYP4112、CYP4149、CYP4491、CYP5491、CYP6479、CYP7604、CYP8224、CYP8728、CYP10020、およびCYP10285のいずれか1つのアミノ酸配列を含むシトクロムP450ポリペプチドの製造のための組換え遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、P450ポリペプチドは、配列番号31～48、316、431、871、873、875、877、879

、 8 8 1、 8 8 3、 8 8 5、 8 8 7、 および 8 9 1 に示す配列のいずれか 1 つを含む遺伝子にコードされる。

【 0 0 8 5 】

いくつかの実施形態において、 P 4 5 0 酵素は、 C P R 4 4 9 7 などの少なくとも 1 つの C Y P 活性化因子によって支援される。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、 C P R 4 4 9 7 をコードする遺伝子をさらに含み、ここで、遺伝子は、配列番号 1 1 2 に示す核酸配列を含む。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、 C P R 4 4 9 7 をコードする遺伝子をさらに含み、ここで、 C P R 4 4 9 7 のアミノ酸配列は、配列番号 1 1 3 に示される。

【 0 0 8 6 】

いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、酵母細胞であり、組換え細胞は、モグロシドの脱グルコシル化を招き得るグルカナーゼ活性の低下を防ぐために、 E X G 1 遺伝子および／または E X G 2 遺伝子の欠失を有する。

【 0 0 8 7 】

宿主細胞のタイプは、様々であってよい。例えば、宿主細胞は、アガリクス (*Agaricus*)、アスペルギルス (*Aspergillus*)、バチルス (*Bacillus*)、カンジダ (*Candida*)、コリネバクテリウム (*Corynebacterium*)、エシェリキア (*Escherichia*)、フザリウム (*Fusarium*) / ジベレラ (*Gibberella*)、クルイウエロミセス (*Kluyveromyces*)、ラエチポラス (*Laetiporus*)、レンチヌス (*Lentinus*)、ファフィア (*Phaffia*)、ファネロケーテ (*Phanerochaete*)、ピチア (*Pichia*)、フィスコミトレラ (*Physcomitrella*)、ロドトルラ (*Rhodotulula*)、サッカロミセス (*Saccharomyces*)、シゾサッカロミセス (*Schizosaccharomyces*)、スファセロマ (*Sphaceloma*)、キサントフィロミセス (*Xanthophyllomyces*)、ヤロウィア (*Yarrowia*)、レンチヌス・チグリヌス (*Lentinus tigrinus*)、ラエチポラス・スルフレウス (*Laetiporus sulphureus*)、ファネロケーテ・クリソスポリウム (*Phanerochaete chrysosporium*)、ピチア・パストリス (*Pichia pastoris*)、フィスコミトレラ・パテンス (*Physcomitrella patens*)、ロドトルラ・グルチニス (*Rhodotulula glutinis*)、ロドトルラ・ムシラギノサ (*Rhodotulula mucilaginosa*)、ファフィア・ロドザイマ (*Phaffia rhodozyma*)、キサントフィロミセス・デンドロロウス (*Xanthophyllomyces dendrorhous*)、フザリウム・フジクロイ (*Fusarium fujikuroi*) / ジベレラ・フジクロイ (*Gibberella fujikuroi*)、カンジダ・ユチリス (*Candida utilis*)、ヤロウィア・リポリティカ (*Yarrowia lipolytica*)、シライチア (*Siraitia*)、モモルディカ (*Momordica*)、ジノステマ (*Gynostemma*)、ククルビタ (*Cucurbita*)、ククミス (*Cucumis*)、アラビドプシス (*Arabidopsis*)、アルテミシア (*Artemisia*)、ステビア (*Stevia*)、パナックス (*Panax*)、ウィタニア (*Withania*)、ユーフォルビア (*Euphorbia*)、メディカゴ (*Medicago*)、クロロフィツム (*Chlorophytum*)、エレウテロコッカス (*Eleutherococcus*)、アラリア (*Aralia*)、モルス (*Morus*)、メディカゴ (*Medicago*)、ベツラ (*Betula*)、アストラガルス (*Astragalus*)、ジャトロファ (*Jatropha*)、カメリア (*Camellia*)、ハイフォロマ (*Hypholoma*)、アスペルギルス (*Aspergillus*)、ソラナム (*Solanum*)、フペルジア (*Huperzia*)、シュードステラリア (*Pseudostellaria*)、コルコルス (*Corchorus*)、ヘデラ (*Hedera*)、マルカンチア (*Marchantia*)、およびモルス (*Morus*)、トリコフィトン (*Trichophyton*)、サンファンポルス (*Sanghuangporus*)、タイワノフングス (*Taiwanofungus*)、モニリオフトラ (*Moniliophthora*)、マルソニナ (*Marssonina*)、ディプロディア (*Diplodia*)、レンティヌラ (*Lentinula*)、キサントフィロミセス (*Xanthophyllomyces*)、ポコニア (*Pochonia*)、コレトトリカム (*Colletotrichum*)、ディアポルテ (*Diaporthe*)、ヒストプラズマ (*Histoplasma*)、コクシジオイデス (*Coccidioides*)、ヒストプラズマ (*Histoplasma*)、サンファンポルス (*Sanghuangporus*)、アウレオバシジウム (*Aureobasidium*)、ポコニア (*Pochonia*)、ペニシリウム (*Penicillium*)、スポロトリクス (*Sporothrix*)、メタリジウム (*Metarhizium*)、アスペルギルス (*Aspergillus*)、ヤロウィア (*Yarrowia*)

10

20

30

40

50

、リポミセス (*Lipomyces*)、アスペルギルス・ニデュランス (*Aspergillus nidulans*)、ヤロウィア・リポリティカ (*Yarrowia lipolytica*)、ロドスポリン・トルロイデス (*Rhodospirin toruloides*)、カンジダ (*Candida*)、サッカラオミセス (*Saccharomyces*)、サッカロミコチナ (*Saccharomycotina*)、タフリノミコチナ (*Taphrinomycotina*)、シゾサッカロミセテス (*Schizosaccharomycetes*)、コマガテラ (*Komagataella*)、バシディオミコタ (*Basidiomycota*)、アガリコミコチナ (*Agaricomycotina*)、トレメロミセテス (*Tremellomycetes*)、プシニオミコチナ (*Pucciniomycotina*)、アウレオバシジウム (*Aureobasidium*)、コニオケーテ (*Coniochaeta*)、ロドスポリジウム (*Rhodospiridium*)、およびミクロボリオミセテス (*Microboryomycetes*)、ジベレラ・フジクロイ (*Gibberella fujikuroi*)、クルイウェロミセス・ラクチス (*Kluyveromyces lactis*)、シゾサッカロミセス・ポンベ (*Schizosaccharomyces pombe*)、アスペルギルス・ニゲル (*Aspergillus niger*)、サッカロミセス・セレビスエ (*Saccharomyces cerevisiae*)、エシェリキア・コリ (*Escherichia coli*)、ロドバクター・スフェロイデス (*Rhodobacter sphaeroides*)、およびロドバクター・カプスラタス (*Rhodobacter capsulatus*) からなる群から選択されることができる。例えば *S. cerevisiae* において生成物の収率を高める方法が記載されている。組換え微生物の製造方法が知られている。

【0088】

アスペルギルス (*Aspergillus*) 種からの組換え宿主細胞の製造方法は、国際公開第 2014086842 号に記載されており、参照によりその内容全体が本明細書に援用される。ゲノムのヌクレオチド配列は、公に利用可能な遺伝子データライブラリを介して取得することができ、それにより、生成物の収率を向上および改善するための経路の合理的な設計および変更が可能となる。

【0089】

本明細書に記載される「培地」とは、細胞の生成段階中の細胞の増殖および維持のための富栄養ブロスであることができる。様々な株を維持および増殖させるための酵母培養物は、クローニングおよびタンパク質発現に使用するための複合培地の特定の配合物を必要とする場合があり、当業者によって理解されることができる。例えば ThermoFisher より市販されている培地を使用することができる。培地は、YPD ブロスであっても、酵母窒素ベースを有することもできる。酵母を、YPD または合成培地にて 30℃ で増殖させることができる。

【0090】

溶原性ブロス (LB) は、典型的には細菌細胞に使用される。酵素およびモグロシンの増殖に使用される細菌細胞は、培地中の他の細胞の増殖および汚染を防ぐために抗生物質耐性を有することができる。細胞は、例えば、クロラムフェニコール、ペニシリン、カナマイシン、およびアンピシリンなどの抗生物質に対する耐性のための抗生物質遺伝子カセットを有することができる。

【0091】

本明細書に記載される場合、「融合タンパク質」とは、別個のタンパク質のアミノ酸配列の一部または全体を元々コードしていた 2 つ以上の核酸配列の結合によって製造されたタンパク質である。例えば、融合タンパク質は、機能性タンパク質 (例えば、酵素 (これに限定されるものではないが、ククルビタジエノールシンターゼを含む)) および 1 つ以上の融合ドメインを含むことができる。本明細書に記載の融合ドメインは、タンパク質 (例えば、これに限定されるものではないが、酵素、転写因子、毒素、および翻訳因子を含む機能性タンパク質) の全長または一部/断片であることができる。融合タンパク質中の 1 つ以上の融合ドメインの位置は、様々であってよい。例えば、1 つ以上の融合ドメインは、融合タンパク質の N 末端および/または C 末端領域 (例えば、N 末端および/または C 末端) に存在することができる。1 つ以上の融合ドメインはまた、融合タンパク質の中央領域に存在することもできる。融合ドメインは、融合タンパク質の末端に位置する必要はない。融合ドメインは、所望の特性が与えられるように選択することができる。例えば

、融合ドメインは、それが融合される酵素の酵素活性に影響を及ぼす（例えば、増加または減少させる）か、またはそれが融合されるタンパク質の安定性に影響を及ぼす（例えば、増加または減少させる）ことができる。融合ドメインは、多量体化（例えば、二量体化および四量体化）ドメインおよび／または機能的ドメインであることができる。いくつかの実施形態において、融合ドメインは、それが融合されるタンパク質の多量体化を増強または低減させることができる。非限定的な例として、融合タンパク質は、全長タンパク質 A と、この全長タンパク質 A の N 末端領域および／または C 末端領域に融合された融合ドメインとを含むことができる。いくつかの例において、融合タンパク質は、タンパク質 A の部分配列と、このタンパク質 A の部分配列の N 末端領域および／または C 末端領域（例えば、N 末端および C 末端）に融合された融合ドメインとを含む。融合ドメインは、例えば、タンパク質 A の配列の一部もしくは全体、またはタンパク質 A とは異なるタンパク質の配列の一部もしくは全体であることができる。いくつかの実施形態において、本明細書に開示される方法、システム、および組成物での使用に適した 1 つ以上の酵素は、融合タンパク質であることができる。

【0092】

融合ドメインの長さは、様々であってよく、例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、12、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、125、150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、1200、1300、1400、1500、またはこれらのいずれか 2 つの数値の間の範囲のアミノ酸であってよい。いくつかの実施形態において、融合ドメインは、約 3、約 4、約 5、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、約 10、約 12、約 15、約 20、約 25、約 30、約 40、約 50、またはこれらのいずれか 2 つの数値の間の範囲のアミノ酸長であってよい。いくつかの実施形態において、融合ドメインは、機能性タンパク質（例えば、酵素、転写因子、または翻訳因子）の実質的な部分または配列全体である。いくつかの実施形態において、融合タンパク質は、ククルビタジエノールシンターゼ活性を示すタンパク質である。

【0093】

培地における細胞増殖およびタンパク質発現技術の最適化もまた企図される。培地での増殖の場合、酵母などの細胞は、低 pH に敏感である場合がある（Narendranath et al., Appl Environ Microbiol. 2005 May; 71(5): 2239-2243；参照によりその内容全体が本明細書に援用される）。増殖中、酵母は、一定の細胞内 pH を維持する必要がある。増殖および代謝の間に酵母細胞内で機能する多くの酵素が存在する。各酵素は、酵母自体の好酸性の性質ゆえに酸性であるその至適 pH で最もよく機能する。細胞外 pH が至適レベルから外れると、酵母細胞は、細胞内の至適 pH を維持するために、水素イオンをポンプ輸送により導入または排出するためにエネルギーを消費する必要がある。そのため、pH を制御するための緩衝剤を含む培地が最適であろう。あるいはモニタリングした pH が高い場合には、細胞を新たな培地に移すこともできる。

【0094】

細菌および酵母細胞の増殖の最適化を、培地への栄養素および補充物の添加によって達成することもできる。あるいは温度、pH 調整、および制御された通気速度のために設計された発酵槽で培養物を増殖させることもできる。溶存酸素および窒素を、必要に応じて培地に流入することができる。

【0095】

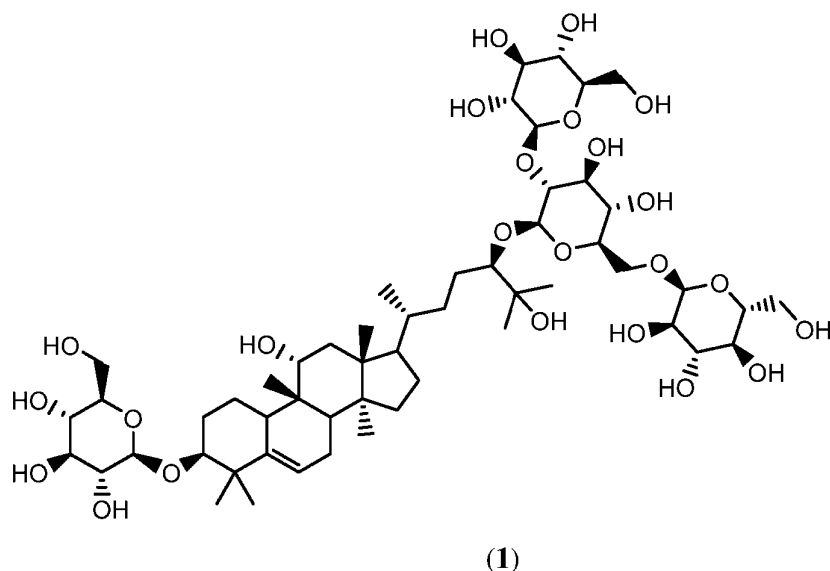
本明細書で使用される「作動可能に連結されている」という用語は、異種核酸配列の発現をもたらす、調節配列と異種核酸配列との間の機能的連結を指す。

【0096】

「モグロシド」および「モグロシド化合物」は、本明細書においては互換的に用いられ、トリテルペングリコシドのファミリーを指す。モグロシドの非限定的な具体例には、例えば、モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド I V E、イソモグロシド V、モグロシド I I I E、11-デオキシモグロシド V、11-オキソモグロシド V、モグロシド V I

、モグロシドⅠⅤ_A、モグロシドⅠⅠ_A、モグロシドⅠⅠ_AⅠ、モグロシドⅠⅠ_AⅡ、モグロシドⅠ_A、ⅠⅠ－オキシモグロシドⅤⅠ、ⅠⅠ－オキシモグロシドⅠⅠⅠ_E、ⅠⅠ－オキシモグロシドⅠⅤ_E、モグロシドⅠ_E、モグロール、ⅠⅠ－オキシモグロール、モグロシドⅠⅠⅠ_E、モグロシドⅠⅠⅠ_AⅡ、およびモグロシドⅠⅠⅠが含まれ、これらは、果実の甘味の原因であるシライチア・グロスベノリイ (*Siraitia grosvenorii*) (スウィングル (Swingle)) の果実から同定された。本明細書に記載の実施形態において、モグロシド中間体は、以下：

【化 1 1】



の構造を有する化合物 1 の、イン・ビボ、エクス・ビボ、またはイン・ビトロでの製造に使用することができる。いくつかの実施形態において、化合物 1 を製造するための組換え細胞はさらに、モグロシドを製造し、かつモグロシドを製造するための酵素をコードする遺伝子を含む。モグロシドを製造することができる組換え細胞は、国際公開第 2 0 1 4 0 8 6 8 4 2 号にさらに記載されており、参照によりその内容全体が本明細書に援用される。いくつかの実施形態において、組換え細胞は、酵素の発現、ならびに化合物 1 およびモグロシド中間体の製造を可能にするために培地で増殖される。いくつかの実施形態において、化合物 1 は、剪断力で細胞を破碎することによって（すなわち、フレンチプレス細胞超音波処理）、または界面活性剤破碎法によって得られる。いくつかの実施形態において、化合物 1 の製造を促進するために、増殖培地において細胞にモグロールなどの前駆体分子が補充される。

【0 0 9 7】

本明細書で使用される「プロモーター」とは、構造遺伝子の転写を指示するヌクレオチド配列を指す。いくつかの代替策において、プロモーターは、遺伝子の 5' 非コード領域に位置し、構造遺伝子の転写開始部位の近位にある。転写の開始において機能するプロモーター内の配列エレメントは、しばしばコンセンサスヌクレオチド配列によって特徴付けられる。これらに限定されるものではないが、これらのプロモーターエレメントは、RNA ポリメラーゼ結合部位、T A T A 配列、C A A T 配列、分化特異的エレメント (D S E ; McGehee et al., Mol. Endocrinol. 7:551 (1993) ; 参照によりその内容全体が本明細書に明示的に援用される)、サイクリック AMP 応答エレメント (C R E)、血清応答エレメント (S R E ; Treisman et al., Seminars in Cancer Biol. 1:47 (1990) ; 参照によりその内容全体が本明細書に援用される)、グルココルチコイド応答エレメント (G R E)、および他の転写因子のための結合部位、例えば C R E / A T F (O' Reilly et al., J. Biol. Chem. 267:19938 (1992) ; 参照によりその内容全体が本明細書に援用される)、A P 2 (Ye et al., J. Biol. Chem. 269:25728 (1994) ; 参照によりその内容全体が本明細書に援用される)、S P 1、c A M P 応答エレメント結合タンパク質 (C R E B

；Loeken et al., Gene Expr. 3:253 (1993)；参照によりその内容全体が本明細書に明示的に援用される）、および8量体因子（総じて、Watson et al., eds., Molecular Biology of the Gene, 4th ed. (The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. 1987参照；参照によりその内容全体が本明細書に援用される）、およびLemaigre and Rousseau, Biochem. J. 303:1 (1994)；参照によりその内容全体が本明細書に援用される）を含むことができる。本明細書で使用される場合、プロモーターは、構成的に活性、抑制性、または誘導性であることができる。プロモーターが誘導性プロモーターである場合、転写速度は誘導剤に応答して増加する。対照的に、プロモーターが構成的プロモーターである場合、転写速度は誘導剤によって調節されない。

【0098】

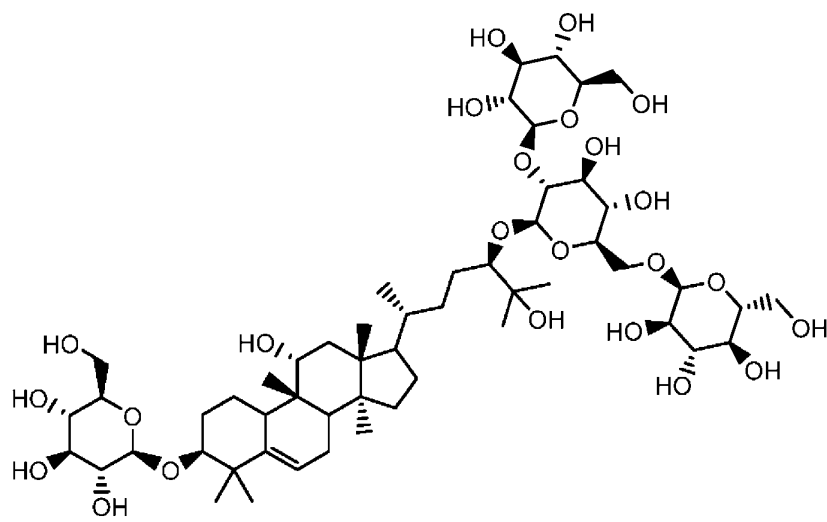
本明細書に記載される「リボソームスキップ配列」とは、翻訳中に、リボソームにリボソームスキップ配列を「スキップ」させ、ペプチド結合を形成することなくリボソームスキップ配列の後の領域を翻訳させる配列を指す。例えば、いくつかのウイルスにはリボソームスキップ配列があり、これは、ペプチド結合を介してタンパク質を結合させることなく、単一の核酸上でいくつかのタンパク質を順次翻訳することができる。本明細書に記載される場合、これは「リンカー」配列である。本明細書で提供される核酸のいくつかの代替策において、核酸は、タンパク質が共発現され、ペプチド結合によって連結されないように、本明細書に記載の酵素の遺伝子の配列間のリボソームスキップ配列を含む。いくつかの代替策において、リボソームスキップ配列は、P2A、T2A、E2A、またはF2A配列である。いくつかの代替策において、リボソームスキップ配列は、T2A配列である。

【0099】

化合物1

本明細書に開示される場合、化合物1は、以下：

【化12】



(1)

の構造を有する化合物、またはその塩である。

【0100】

化合物1は、甘味が望まれる多種多様な製品に使用することができる高甘味度甘味料である。化合物1は、スクロースやフルクトースなどの他の甘味料に低カロリーの利点を提供する。

【0101】

いくつかの実施形態において、化合物1は、単離および精製された形態である。いくつかの実施形態において、化合物1は、化合物1が実質的に精製されている組成物中に存在する。

【0102】

いくつかの実施形態において、化合物 1 またはその塩は、単離され、固体形態である。いくつかの実施形態において、固体形態は、アモルファスである。いくつかの実施形態において、固体形態は、結晶性である。いくつかの実施形態において、化合物は、凍結乾燥物の形態である。いくつかの実施形態において、化合物 1 は、単離され、緩衝剤内に存在する。

【0103】

当業者は、本明細書に記載のいくつかの構造が、速度論的であっても、他の化学構造によって適切に表され得る化合物の共鳴形態または互変異性体であり得ることを認識するであろう。熟練者は、そのような構造がそのような化合物のサンプルのごく一部しか表していない可能性があることを認識している。そのような共鳴形態または互変異性体は、本明細書では表されていないが、そのような化合物は、示された構造の範囲内にあると見なされる。

【0104】

化合物 1 には、同位体が存在し得る。化合物構造で表される各化学元素は、その元素の任意の同位体を含むことができる。例えば、化合物構造において、水素原子は、化合物中に存在することが明示的に開示または理解されることができる。水素原子が存在し得る化合物の任意の位置において、水素原子は、これらに限定されるものではないが、水素-1（プロチウム）および水素-2（重水素）を含む水素の任意の同位体であることができる。したがって、本明細書での化合物への言及は、文脈が明らかに他のことを指示しない限り、潜在的なすべての同位体形態を包含する。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の化合物は、そのような同位体の自然の蔓延率と比較して、1つ以上の同位体に富んでいる。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の化合物は、重水素に富んでいる。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の化合物中の水素原子の 0.0312% 超は、重水素である。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の化合物中の水素原子の 0.05% 超、0.08% 超、または 0.1% 超は、重水素である。

【0105】

いくつかの実施形態において、化合物 1 は、アミノ基および／もしくはカルボキシル基またはそれに類似する基の存在により、酸および／または塩基塩を形成することができる。

【0106】

いくつかの実施形態において、化合物 1 は、実質的に単離されている。いくつかの実施形態において、化合物 1 は、実質的に精製されている。いくつかの実施形態において、化合物は、凍結乾燥物の形態である。いくつかの実施形態において、化合物は結晶性である。いくつかの実施形態において、化合物は、アモルファスである。

【0107】

製造組成物

いくつかの実施形態において、製造組成物は、望ましくない化合物をまったく含まないか、または特定の量より少なく含む。いくつかの実施形態において、組成物は、モグロシド I、モグロシド II、およびモグロシド III の 1つ以上の異性体を含むか、または含まない。いくつかの実施形態において、組成物は、5 重量%未満、3 重量%未満、2 重量%未満、1 重量%未満、0.5 重量%未満、0.3 重量%未満、0.1 重量%未満、800 重量 ppm 未満、500 重量 ppm 未満、200 重量 ppm 未満、または 100 重量 ppm 未満の、モグロシド I、モグロシド II、およびモグロシド III のすべての異性体を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、モグロシド III E、11-オキシモグロシド III E、モグロシド III A2、モグロシド IE、モグロシド IIE、および 11-オキシモグロロールの 1つ以上を含むか、または含まない。いくつかの実施形態において、組成物は、5 重量%未満、3 重量%未満、2 重量%未満、1 重量%未満、0.5 重量%未満、0.3 重量%未満、0.1 重量%未満、800 重量 ppm 未満、500 重量 ppm 未満、200 重量 ppm 未満、または 100 重量 ppm 未満の、モグロシド III E、11-オキシモグロシド III E、モグロシド III A2、モグロシド IE、モグロシド IIE、および 11-オキシモグロロールの 1つ以上を含む。いくつかの実施形態におい

て、組成物は、5重量%未満、3重量%未満、2重量%未満、1重量%未満、0.5重量%未満、0.3重量%未満、0.1重量%未満、800重量ppm未満、500重量ppm未満、200重量ppm未満、または100重量ppm未満の、モグロシドIIIEを含む。いくつかの実施形態において、組成物は、5重量%未満、3重量%未満、2重量%未満、1重量%未満、0.5重量%未満、0.3重量%未満、0.1重量%未満、800重量ppm未満、500重量ppm未満、200重量ppm未満、または100重量ppm未満の、11-オキソモグロシドIIIEを含む。いくつかの実施形態において、組成物は、5重量%未満、3重量%未満、2重量%未満、1重量%未満、0.5重量%未満、0.3重量%未満、0.1重量%未満、800重量ppm未満、500重量ppm未満、200重量ppm未満、または100重量ppm未満の、11-オキソモグロールを含む。
【0108】

10

いくつかの実施形態において、製造組成物は、固体形態であり、これは、結晶性またはアモルファスであることができる。いくつかの実施形態において、組成物は、粒子形態である。組成物の固体形態は、これらに限定されるものではないが、再結晶化、濾過、溶媒蒸発、粉碎、磨砕、噴霧乾燥、噴霧凝集、流動床凝集、湿式または乾式造粒、およびそれらの組合せを含む、任意の適切な技術を用いて製造することができる。いくつかの実施形態において、さらなる食品製造方法での使用を容易にするために、流動性粒子組成物が提供される。いくつかのそのような実施形態において、50 μ m~300 μ m、80 μ m~200 μ m、または80 μ m~150 μ mの粒子サイズが製造される。

【0109】

20

いくつかの実施形態において、溶液形態である化合物1を含む製造組成物が提供される。例えば、いくつかの実施形態において、本明細書に記載の製造方法の1つによって製造された溶液は、さらに精製することなく使用される。いくつかの実施形態において、溶液中の化合物1の濃度は、300重量ppm超、500重量ppm超、800重量ppm超、0.1重量%超、0.5重量%超、1重量%超、2重量%超、3重量%超、4重量%超、5重量%超、6重量%超、7重量%超、8重量%超、9重量%超、10重量%超、15重量%超、または20重量%超である。いくつかの実施形態において、モグロシドI、モグロシドII、およびモグロシドIIIのすべての異性体の濃度は、5%未満、3%未満、2%未満、1%未満、0.5%未満、0.3%未満、0.1%未満、800ppm未満、500ppm未満、200ppm未満、または100ppm未満である。いくつかの実施形態において、製造組成物中のモグロシドIIIE、11-オキソモグロシドIIIE、モグロシドIIIA2、モグロシドIE、モグロシドIIIE、および11-オキソモグロールの1つ以上の濃度は、モグロシドIIIE、11-オキソモグロシドIIIE、モグロシドIIIA2、モグロシドIE、モグロシドIIIE、および11-オキソモグロールの1つ以上が、5%未満、3%未満、2%未満、1%未満、0.5%未満、0.3%未満、0.1%未満、800ppm未満、500ppm未満、200ppm未満、100ppm未満、50ppm未満、30ppm未満、20ppm未満、10ppm未満、5ppm未満、1ppm未満、または0.1ppm未満である。いくつかの実施形態において、モグロシドIIIEの濃度は、5%未満、3%未満、2%未満、1%未満、0.5%未満、0.3%未満、0.1%未満、800ppm未満、500ppm未満、200ppm未満、100ppm未満、50ppm未満、30ppm未満、20ppm未満、10ppm未満、5ppm未満、1ppm未満、または0.1ppm未満である。いくつかの実施形態において、11-オキソモグロールの濃度は、5%未満、3%未満、2%未満、1%未満、0.5%未満、0.3%未満、0.1%未満、800ppm未満、500ppm未満、200ppm未満、100ppm未満、50ppm未満、30ppm未満、20ppm未満、10ppm未満、5ppm未満、1ppm未満、または0.1ppm未満である。いくつかの実施形態において、11-オキソモグロールの濃度は、5%未満、3%未満、2%未満、1%未満、0.5%未満、0.3%未満、0.1%未満、800ppm未満、500ppm未満、200ppm未満、100ppm未満、50ppm未満、30ppm未満、20ppm未満、10ppm未満、5ppm未満、1ppm未満、または

30

40

50

0.1 ppm未満である。

【0110】

化合物1および中間体モグロシド化合物の製造方法

いくつかの実施形態において、化合物1は、様々な出発および／または中間体化合物と1つ以上の酵素との接触によって製造される。接触は、イン・ビボ（例えば、組換え細胞内）またはイン・ビトロであることができる。化合物1を製造するための出発および中間体化合物には、これらに限定されるものではないが、モグロシドV、モグロシドII E、モグロシドIII E、シアメノシドI、モグロシドVI異性体、モグロシドII A、モグロシドIV E、またはモグロシドIV Aが含まれることができる。

【0111】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示される化合物1は、本明細書に記載されるように、またはこれらの方法の修正によって、イン・ビボで組換え宿主細胞において製造される。方法論を修正する方法には、とりわけ、当業者に知られている温度、溶媒、試薬などが含まれる。本明細書に示され、説明される方法は、単なる例示であり、特許請求の範囲をいかようにも限定することを意図するものではなく、またそのように解釈されるべきものでもない。当業者は、開示された方法の修正形態を認識し、本明細書の開示に基づいて代替経路を考案することができるであろう。そのような修正形態および代替経路はいずれも特許請求の範囲内にある。

【0112】

いくつかの実施形態において、本明細書に開示される化合物1は、組換え細菌細胞、組換え酵母細胞、組換え植物細胞、または組換え昆虫細胞からの精製および／または単離によって得られる。いくつかの実施形態において、組換え細胞は、シライチア・グロスベノリイ (*Siraitia grosvenorii*) に由来する。いくつかのそのような実施形態において、シライチア・グロスベノリイ (*Siraitia grosvenorii*) から得られた抽出物は、適切な精製技術を用いて分画することができる。いくつかの実施形態において、抽出物は、HPLCを用いて分画され、適切な画分が回収されて、単離および精製された形態で所望の化合物が得られる。

【0113】

いくつかの実施形態において、化合物1は、シライチア・グロスベノリイ (*Siraitia grosvenorii*) から単離された化合物の酵素的修飾によって製造される。例えば、いくつかの実施形態において、シライチア・グロスベノリイ (*Siraitia grosvenorii*) から単離された化合物1を1つ以上の酵素と接触させることで、所望の化合物が得られる。接触は、イン・ビボ（例えば、組換え細胞内）またはイン・ビトロであることができる。化合物1を製造するための出発および中間体化合物には、これらに限定されるものではないが、モグロシドV、モグロシドII E、モグロシドIII E、シアメノシドI、モグロシドVI異性体、モグロシドII A、モグロシドIV E、またはモグロシドIV Aが含まれることができる。これらの化合物の1つ以上を、イン・ビボで製造することができる。本明細書に記載の化合物の製造への使用に適した酵素には、これらに限定されるものではないが、ペクチナーゼ、β-ガラクトシダーゼ（例えば、アロマーゼ）、セルラーゼ（例えば、セルクラスト）、クリクロマトロデキストリングルカノトランスフェラーゼ（例えば、トルザイム (*Toruzyme*)）、インペルターゼ、グルコーストランスフェラーゼ（例えば、UGT76G1）、デキストランスクラーゼ、ラクターゼ、アラバンス、キシラナーゼ、ヘミセルロース、アミラーゼ、またはそれらの組合せが含まれることができる。いくつかの実施形態において、酵素は、トルザイム (*Toruzyme*) であり、配列番号89～94のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

【0114】

いくつかの実施形態において、化合物1

10

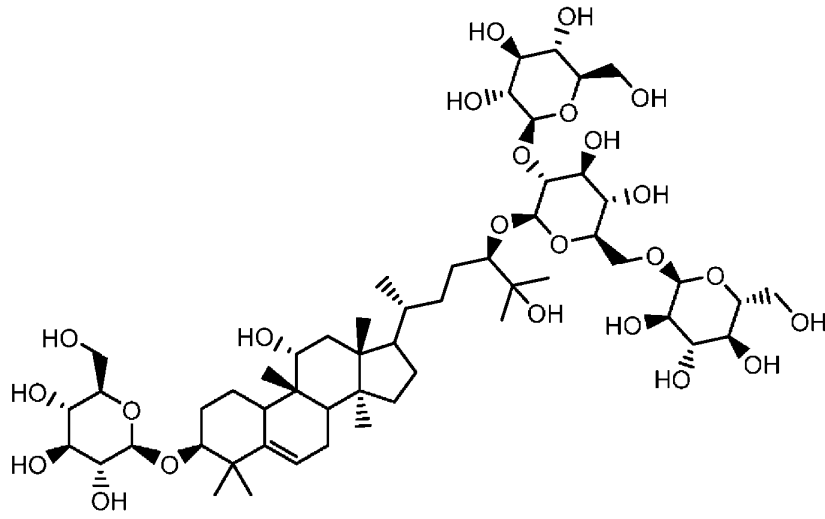
20

30

40

50

【化 1 3】

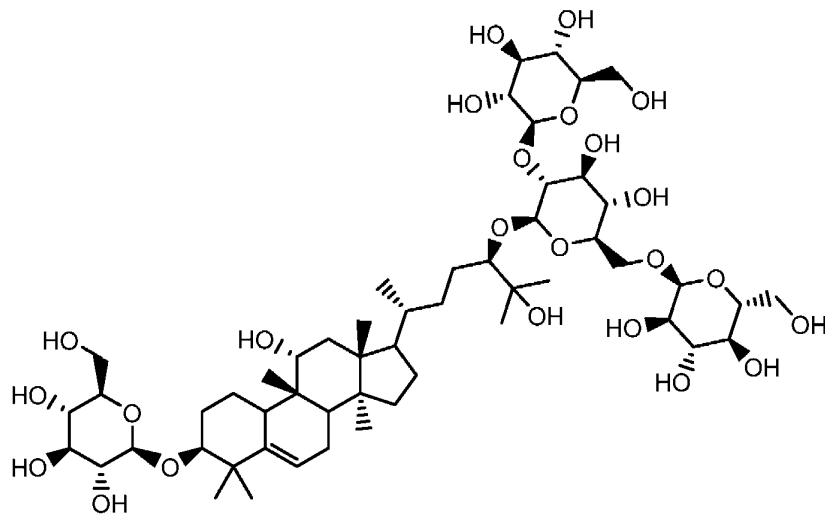


の製造方法が提供され、該方法は、HPLCカラムでシライチア・グロスベノリイ (*Siraitia grosvenorii*) の抽出物を分画するステップと、化合物 1 を含む溶出画分を回収するステップとを含む。

【0115】

いくつかの実施形態において、化合物 1

【化 1 4】



の製造方法が提供され、該方法は、モグロシド I I I E をグルコーストランスフェラーゼ 酵素 UGT 7 6 G 1 で処理するステップを含む。いくつかの実施形態において、UGT 7 6 G 1 は、配列番号 4 4 0 に示す配列によりコードされる。いくつかの実施形態において、UGT 7 6 G 1 は、配列番号 4 3 9 に示すアミノ酸配列を含む。

【0116】

化合物 1 を製造するための中間体化合物として、様々なモグロシド化合物を使用することができる。そのようなモグロシド化合物の非限定的な例の 1 つは、以下：

10

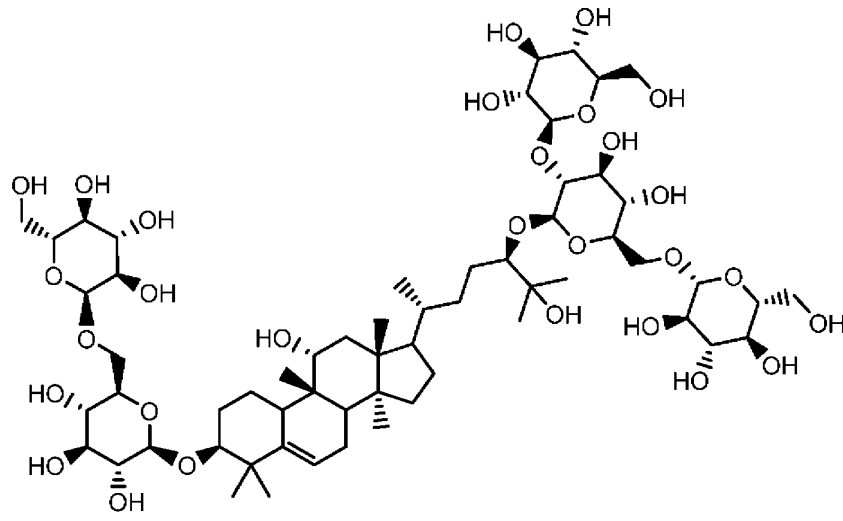
20

30

40

50

【化 1 5】



10

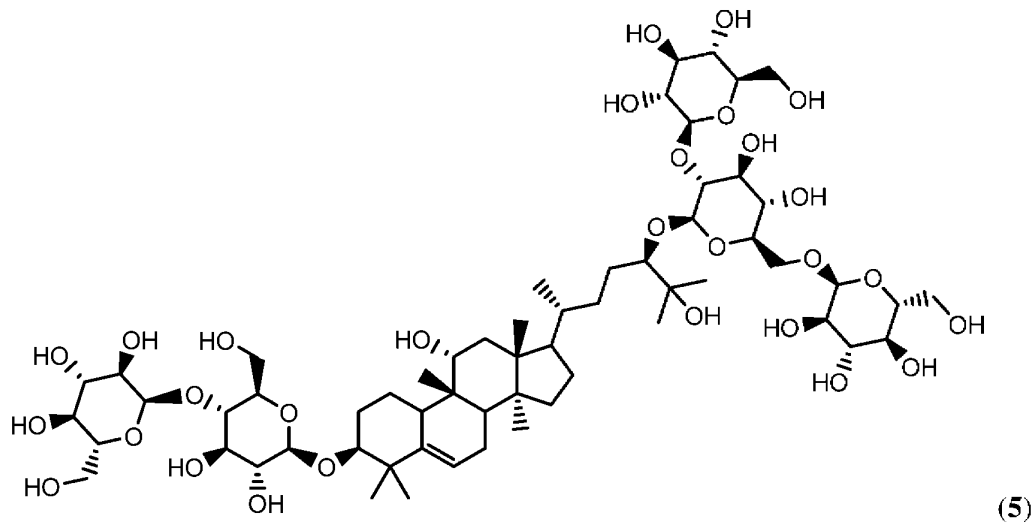
の構造を有する化合物 1 2 である。いくつかの実施形態において、化合物 1 2 の製造方法は、モグロシド V I を、1 つ以上のインペルターゼを発現する細胞（例えば、組換え宿主細胞）と接触させるステップを含む。

【 0 1 1 7 】

20

化合物 1 を製造するための中間体化合物として、様々なモグロシド化合物を使用することができる。そのようなモグロシド化合物の非限定的な例の 1 つは、以下：

【化 1 6】



30

の構造を有する化合物 5 である。いくつかの実施形態において、化合物 5 の製造方法は、モグロシド I I I E を、1 つ以上のシクロマルトデキストリングルカノトランスフェラーゼを発現する細胞（例えば、組換え宿主細胞）と接触させるステップを含む。いくつかの実施形態において、該方法は、デンプンの存在下で行われる。

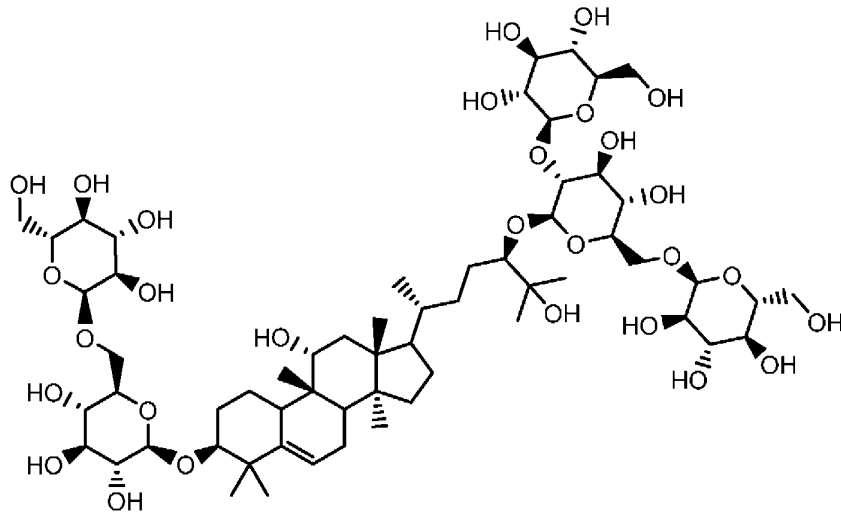
40

【 0 1 1 8 】

化合物 1 を製造するための中間体化合物として、様々なモグロシド化合物を使用することができる。そのようなモグロシド化合物の非限定的な例の 1 つは、以下：

50

【化 17】



の構造を有する化合物 4 である。いくつかの実施形態において、化合物 4 の製造方法は、モグロシド I I I E を、1 つ以上のシクロマルトデキストリングルカノトランスフェラーゼを発現する細胞（例えば、組換え宿主細胞）と接触させるステップを含む。いくつかの実施形態において、該方法は、デンプンの存在下で行われる。

【0119】

高グリコシル化モグロシドの加水分解

いくつかの実施形態において、1 つ以上のヒドロラーゼ酵素との接触により 1 つ以上の高グリコシル化モグロシドを加水分解することで、モグロシド I I I E が製造される。いくつかの実施形態において、高グリコシル化モグロシドは、モグロシド I V、モグロシド V、モグロシド V I、およびそれらの組合せから選択される。いくつかの実施形態において、高グリコシル化モグロシドは、モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド I V E、イソモグロシド V、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V A、11-オキシモグロシド V I、11-オキシモグロシド I V E、およびそれらの組合せから選択される。

【0120】

驚くべきことに、特定の加水分解酵素は、高グリコシル化モグロシドをモグロシド I I I E に加水分解する能力を示すにもかかわらず、化合物 1 は、そのような酵素による加水分解に対する耐性を示すことが見出された。化合物 1 に存在する α 結合グリコシドは、加水分解に対する耐性を示すため、他のモグロシド（例えば、 β 結合グリコシド）に比べて固有の利点を提供する。いくつかの実施形態において、微生物による化合物 1 の製造中に、微生物宿主は、不要な β 結合モグロシドを加水分解してモグロシド I I I E に戻す。以下の理由から、これによって化合物 1 の純度が向上する：1) 不要なモグロシド V I、モグロシド V、およびモグロシド I V のレベルが低減すること、2) 加水分解により、化合物 1 の製造のための前駆体として使用することができる利用可能なモグロシド I I I E の量が増加すること。

【0121】

図 38 は、グリコシル化酵素による高グリコシル化モグロシドの製造を示しており、これは次に加水分解されてモグロシド I I I E に戻ることができる。その結果、モグロシドの混合物の収率が、高グリコシル化モグロシドの望ましい収率よりも低くなる。ヒドロラーゼ酵素は除去することができるが、なおモグロシドの混合物が得られ、製造生物の寿命が短くなる場合がある。しかし、化合物 1 は加水分解に耐性を示すため、（図 39 に示すように）加水分解を用いて高グリコシル化モグロシドをモグロシド I I I E にし、これを次に化合物 1 に変換することができる。

【0122】

いくつかの実施形態において、ヒドローラーゼは、 β -グルカンヒドローラーゼである。いくつかの実施形態において、ヒドローラーゼは、EXG1である。EXG1タンパク質は、配列番号1013または1014に対して少なくとも70%、80%、90%、95%、98%、99%、またはそれを上回る配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。いくつかの実施形態において、EXG1タンパク質は、配列番号1013または1014に示すアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。いくつかの実施形態において、ヒドローラーゼは、EXG2である。EXG2タンパク質は、配列番号1023に対して少なくとも70%、80%、90%、95%、98%、99%、またはそれを上回る配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。いくつかの実施形態において、EXG2タンパク質は、配列番号1023に示すアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。ヒドローラーゼは、例えば、本明細書に開示されるヒドローラーゼのいずれか1つであることができる。

10

【0123】

モグロシドIIIEからの化合物1の製造

化合物1は、モグロシドIIIEを化合物1に変換することができる1つ以上の酵素との接触により、モグロシドIIIEから製造することができる。いくつかの実施形態において、化合物1の製造を触媒することができる酵素は、UDPグリコシルトランスフェラーゼ（UGTとしても知られる）、シクロマルトデキストリングルカノトランスフェラーゼ（CGTアーゼ）、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、 β -グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上である。

20

【0124】

いくつかの実施形態において、化合物1の製造を触媒することができる酵素は、CGTアーゼである。いくつかの実施形態において、CGTアーゼは、配列番号1、3、78～101、148、および154のいずれか1つの配列に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、CGTアーゼは、配列番号1、3、78～101、148、および154のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。いくつかの実施形態において、化合物1の製造を触媒することができる酵素は、デキストランスクラーゼである。いくつかの実施形態において、デキストランスクラーゼは、配列番号2、103、106～110、156および896のいずれか1つの配列に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、デキストランスクラーゼは、配列番号2、103、106～110、156および896のいずれか1つのアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。いくつかの実施形態において、デキストランスクラーゼは、配列番号104、105、157、158、および895のいずれか1つに対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、デキストランスクラーゼは、配列番号104、105、157、158、および895のいずれか1つを含むかまたはそれからなる。いくつかの実施形態において、化合物1の製造を触媒することができる酵素は、トランスグルコシダーゼである。いくつかの実施形態において、トランスグルコシダーゼは、配列番号163～290、および723のいずれか1つに対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、トランスグルコシダーゼは、配列番号163～292、および723のいずれか1つのアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。配列同一性のパーセントを決定するためのパラメータは、ClustalWソフトウェアでBlast検索（ncbi.nih.gov）により行うことができる。これらのプログラムを使用して、タンパク質ホモログ間の保存を決定することができ

30

40

50

る。

【0125】

いくつかの実施形態において、化合物1の製造を触媒することができる酵素は、ウリジンニリン酸グルコシルトランスフェラーゼ（UGT）である。UGTは、例えば、配列番号4～9、15～19、125、126、128、129、293～307、407、409、411、413、439、441、444、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および1094～1149のいずれか1つに対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸を含むことができる。いくつかの実施形態において、UGTは、配列番号4～9、10～14、125、126、128、129、293～304、306、407、409、411、413、439、441、444、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および1094～1149のいずれか1つのアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。いくつかの実施形態において、UGTは、UGT1495（配列番号10）、UGT1817（配列番号11）、UGT5914（配列番号12）、UGT8468（配列番号13）、UGT10391（配列番号14）、および配列番号116～124、127、130、408、410、412、414、440、442、443、445、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および1093に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、UGTは、UGT1495（配列番号10）、UGT1817（配列番号11）、UGT5914（配列番号12）、UGT8468（配列番号13）、UGT10391（配列番号14）、配列番号116～124、127、130、408、410、412、414、440、442、443、445、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および1093の核酸配列のいずれか1つを含む、からなる核酸配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、酵素は、UGT98またはUGT SK98であることができる。例えば、本明細書に記載される場合に、化合物1を製造することができる組換え宿主細胞は、UGT98および／またはUGT SK98をコードする第3の遺伝子を含むことができる。いくつかの実施形態において、UGT98またはUGT SK98は、配列番号9または16に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、UGTは、UGT73C3（配列番号4）、UGT73C6（配列番号5）、UGT85C2（配列番号6）、UGT73C5（配列番号7）、UGT73E1（配列番号8）、UGT98（配列番号9）、UGT1576（配列番号15）、UGT SK98（配列番号16）、UGT430（配列番号17）、UGT1697（配列番号18）、およびUGT11789（配列番号19）に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、UGTは、UGT73C3（配列番号4）、UGT73C6（配列番号5）、85C2（配列番号6）、UGT73C5（配列番号7）、UGT73E1（配列番号8）、UGT98（配列番号9）、UGT1576（配列番号15）、UGT SK98（配列番号16）、UGT430（配列番号17）、UGT169

10

20

30

40

50

7（配列番号18）、およびUGT11789（配列番号19）のいずれか1つのアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。いくつかの実施形態において、UGTは、UGT1495（配列番号10）、UGT1817（配列番号11）、UGT5914（配列番号12）、UGT8468（配列番号13）またはUGT10391（配列番号14）に対して、少なくとも70%、80%、90%、95%、98%、99%、またはそれを上回る配列同一性を有する核酸配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、UGTは、UGT1495（配列番号10）、UGT1817（配列番号11）、UGT5914（配列番号12）、UGT8468（配列番号13）、およびUGT10391（配列番号14）の配列のいずれか1つを含むかまたはそれからなる核酸配列によってコードされる。本明細書に開示される場合、化合物1の製造を触媒することができる酵素は、本明細書に開示されるUGT酵素のいずれか1つに対して少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、またはそれを上回る配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。さらに、化合物1を製造することができる組換え宿主細胞は、本明細書に開示されるUGT酵素のいずれか1つに対して少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、またはそれを上回る配列同一性を有する配列を含むかまたはそれからなる酵素を含むことができる。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、本明細書に開示されるUGT酵素のいずれか1つの配列を含むかまたはそれからなる酵素を含む。

10

【0126】

20

いくつかの実施形態において、化合物1の製造方法は、モグロシドIIIEを、グルコーストランスフェラーゼ酵素UGT76G1、例えば配列番号439のUGT76G1、および配列番号440の核酸配列によってコードされるUGT76G1で処理するステップを含む。

【0127】

モグロシド化合物および化合物1を製造するための酵素

本明細書に記載される場合、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、シクロマルトデキストリングルカノトランスフェラーゼ（CGTアーゼ）、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの酵素は、本明細書の配列表に記載されているアミノ酸配列を含むことができ、また配列表に記載されている核酸配列によってコードされていてもよい。さらに、酵素はまた、配列表に記載されているアミノ酸配列に対して少なくとも70%の配列同一性を有する機能的ホモログを含むことができる。配列同一性のパーセントを決定するためのパラメータは、ClustalWソフトウェアでBlast検索（ncbi.nih.gov）により行うことができる。これらのプログラムを使用して、タンパク質ホモログ間の保存を決定することができる。

30

【0128】

いくつかの実施形態において、トランスグルコシダーゼは、配列番号163～290、および723のいずれか1つに対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、CGTアーゼは、配列番号1、3、78～101、および154のいずれか1つに対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。いくつかの実施形態において、トランスグルコシダーゼは、配列番号163～290、および723のいずれか1つに対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはそのような核酸配列によってコードされる。

40

【0129】

本明細書の方法はまた、ピルビン酸、アセチルCoA、クエン酸、および他のTCA中

50

間体（クエン酸回路）などの中間体を製造するために遺伝子を組換え細胞に組み込むステップも含む。中間体をさらに使用して、化合物1を製造するためのモグロシド化合物を製造することができる。スクアレン含有量を増加させる方法は、Gruchattka et al. and Rodriguez et al. (PLoS One. 2015 Dec 23; 10(12); Microb Cell Fact. 2016 Mar 3; 15:48; 参照によりその内容全体が本明細書に援用される)に記載されている。

【0130】

オキシドスクアレンおよびジエポキシスクアレンを製造するための酵素の発現がさらに企図される。酵素を使用してオキシドスクアレンおよびジエポキシスクアレンを製造することにより、スクアレンシンターゼおよび／またはスクアレンエポキシダーゼを介してスクアレン合成を促進することができる。例えば、Suらは、スクアレンシンターゼに関して、シライチア・グロスベノリイ (*Siraitia grosvenorii*) 由来の417アミノ酸タンパク質であるSgSQSをコードする遺伝子について説明している (Biotechnol Lett. 2017 Mar 28; 参照によりその内容全体が本明細書に援用される)。HMG CoAレダクターゼの発現のために組換え細胞を遺伝子操作することは、スクアレン合成にも有用である (Appl Environ Microbiol. 1997 Sep; 63(9):3341-4.; Front Plant Sci. 2011 Jun 30; 2:25; FEBS J. 2008 Apr; 275(8):1852-9; いずれも参照によりその内容全体が本明細書に援用される。いくつかの実施形態において、2, 3-オキシドスクアレンまたはジエポキシスクアレンは、配列番号898または900に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有する配列を含む酵素によって製造される。いくつかの実施形態において、2, 3-オキシドスクアレンまたはジエポキシスクアレンは、配列番号897または899に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる酵素によって製造される。

【0131】

ククルビタジエノール／エポキシククルビタジエノールを製造するための酵素の発現も企図される。発現のためのベクターによる組換え細胞への操作のために、C. ペポ (*C. pepo*)、S. グロスベノリイ (*S. grosvenorii*)、C. サティヴァス (*C. sativus*)、C. メロ (*C. melo*)、C. モスカータ (*C. moschata*)、およびC. マクシマ (*C. maxim*) 由来のククルビタジエノールシンターゼの例が企図される。組換え細胞での発現のために、チテルペン生合成のためのオキシドスクアレンシクラーゼも企図され、これは非環式基質の様々な多環式トリテルペンへの環化をもたらし、この多環式トリテルペンを、化合物1を製造するための中間体として使用することもできる (Org Biomol Chem. 2015 Jul 14; 13(26):7331-6; 参照によりその内容全体が本明細書に援用される)。

【0132】

ヒドロキシククルビタジエノールを製造するためのエポキシドヒドロラーゼ活性を示す酵素の発現もまた企図される。本明細書のいくつかの実施形態において、化合物1を製造するための組換え細胞は、ヒドロキシククルビタジエノールを製造するためのエポキシドヒドロラーゼ活性を示す酵素をコードする遺伝子をさらに含む。そのような酵素は、Itkin et al.において提供されており、参照によりその内容全体が本明細書に援用される。Itkin et al.は、グリコシル化などの逆反応のために遺伝子改変することができる主要なモグロシド、UGSファミリー、グリコシルトランスフェラーゼ、およびヒドロラーゼを製造するための酵素についても説明している。

【0133】

モグロシド化合物をヒドロキシル化してモグロールを製造するための組換え細胞における酵素の発現もまた企図される。これらの酵素には、CAZYファミリーのタンパク質、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクララーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、デキストラナーゼ、酵母、および真菌の加水分解酵素が含まれる。そのような酵素を使用して、例えば、モグロシドVをモグロシドIIIEに加水分解することができ

、モグロシドⅠⅠⅠⅠⅠⅠⅠをさらに処理して、例えば、イン・ビボで化合物1を製造することができる。いくつかの実施形態において、真菌ラクターゼは、配列番号678～722のいずれか1つに対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0134】

いくつかの実施形態において、スクアレンまたはオキシドスクアリン、モグロール、またはモグロシドなどのモグロール前駆体が製造される。モグロール前駆体は、化合物1の製造における前駆体として使用することができる。スクアレンは、スクアレンシンターゼを使用してファメシルピロホスフェートから製造することができ、オキシドスクアレンは、スクアレンエポキシダーゼを使用してスクアレンから製造することができる。スクアレンシンターゼは、例えば、ウリ科の植物であるジノステマ・ペンタフィラム (*Gynostemma pentaphyllum*) (タンパク質アクセッション番号C4P9M2) 由来のスクアレンシンターゼであることができる。スクアレンシンターゼは、アラビドプシス・タリアナ (*Arabidopsis thaliana*) (タンパク質アクセッション番号C4P9M3)、ブラシカ・ナプス (*Brassica napus*)、キトルス・マクロフィラ (*Citrus macrophylla*)、ユーフォルビア・ティルカリ (*Euphorbia tirucalli*) (タンパク質アクセッション番号B9WZ7)、グリシンマックス (*Glycine max*)、グリチルリザ・グラブラ (*Glycyrrhiza glabra*) (タンパク質アクセッション番号Q42760、Q42761)、グリチルリザ・ウレンシス (*Glycyrrhiza uralensis*) (タンパク質アクセッション番号D6QX40、D6QX41、D6QX42、D6QX43、D6QX44、D6QX45、D6QX47、D6QX39、D6QX55、D6QX38、D6QX53、D6QX37、D6QX35、B5AID5、B5AID4、B5AID3、C7EDD0、C6KE07、C6KE08、C7EDC9)、ロータス・ヤポニカス (*Lotus japonicas*) (タンパク質アクセッション番号Q84LE3)、メディカゴ・トランカツラ (*Medicago truncatula*) (タンパク質アクセッション番号Q8GSL6)、ピスム・サティブム (*Pisum sativum*)、リシヌス・コムニス (*Ricinus communis*) (タンパク質アクセッション番号B9RHC3) 由来のスクアレンシンターゼを含むこともできる。様々なスクアレンシンターゼが国際公開第2016/050890号に記載されており、参照によりその内容全体が本明細書に援用される。

【0135】

組換え宿主細胞

本明細書に開示される酵素のいずれか1つは、イン・ビトロ、エクス・ビボ、またはイン・ビボで製造することができる。例えば、酵素をコードする核酸配列（これらに限定されるものではないが、UGT、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルアーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、デキストラナーゼ、シトロームP450、エポキシドヒドロラーゼ、ククルビタジエノールシンターゼ、スクアレンエポキシダーゼ、スクアレンシンターゼ、ヒドロラーゼ、およびオキシドスクアレンシクラーゼのいずれか1つを含む）は、例えば、イン・ビボで、コードする核酸配列を含む発現ベクターの形態で、宿主組換え細胞に導入することができる。発現ベクターは、例えば、標準的な形質転換技術（例えば、熱形質転換）またはトランスフェクションによって宿主細胞に導入することができる。発現系は、イン・ビボで細胞において化合物1を製造するために、モグロシドおよび化合物1を製造するための酵素を製造することができる。有用な発現系には、これらに限定されるものではないが、細菌細胞系、酵母細胞系、および昆虫細胞系が含まれる。例えば、昆虫細胞系は、目的の酵素の発現のために組換えウイルス発現系に感染させることができる。いくつかの実施形態において、遺伝子は、特定の細胞での発現のためにコドン最適化されている。いくつかの実施形態において、遺伝子は、酵素タンパク質の転写および翻訳を駆動するためにプロモーターに作動可能に連結されている。本明細書に記載される場合、コドン最適化を得ることができ、次に、最適化された配列を、組換え宿主細胞を形質転換するための

ベクターに操作することができる。

【0136】

発現ベクターは、酵母細胞における目的の遺伝子の転写を促進するために、転写もしくは翻訳調節配列、転写もしくは翻訳因子のコード配列、または様々なプロモーター（例えば、GPD1プロモーター）および／またはエンハンサーをさらに含むことができる。

【0137】

本明細書に記載される組換え細胞は、いくつかの実施形態において、イン・ビボで化合物1を製造するように遺伝子改変されている。さらに、細胞増殖中または細胞増殖後に細胞にモグロール前駆体またはモグロシド前駆体を供給することで、イン・ビボで化合物1を製造するための経路のための特定の中間体の製造速度を高めることができる。細胞は、懸濁状態であっても固定化されていてもよい。細胞は、発酵プロセス中または反応緩衝剤中に存在することができる。いくつかの実施形態において、透過剤は、モグロール前駆体またはモグロシド前駆体を細胞に移すために使用される。いくつかの実施形態において、モグロール前駆体またはモグロシド前駆体は、精製された形態で、または組成物もしくは抽出物の一部として提供することができる。

【0138】

組換え宿主細胞は、例えば、植物細胞、二枚貝類細胞、魚類細胞、真菌細胞、細菌細胞、または哺乳動物細胞であることができる。例えば、植物は、シライチア (*Siraitia*)、モモルディカ (*Momordica*)、ジノステマ (*Gynostemma*)、ククルビタ (*Cucurbita*)、ククミス (*Cucumis*)、アラビドプシス (*Arabidopsis*)、アルテミシア (*Artemisia*)、ステビア (*Stevia*)、パナックス (*Panax*)、ウィタニア (*Withania*)、ユーフォルビア (*Euphorbia*)、メディカゴ (*Medicago*)、クロロフィツム (*Chlorophytum*)、エレウテロコッカス (*Eleutherococcus*)、アラリア (*Aralia*)、モルス (*Morus*)、メディカゴ (*Medicago*)、ベツラ (*Betula*)、アストラガルス (*Astragalus*)、ジャトロファ (*Jatropha*)、カメリア (*Camellia*)、ハイフォロマ (*Hypholoma*)、アスペルギルス (*Aspergillus*)、ソラヌム (*Solanum*)、フペルジア (*Huperzia*)、シュードステラリア (*Pseudostellaria*)、コルコルス (*Corchorus*)、ヘデラ (*Hedera*)、マルカンチア (*Marchantia*)、およびモルス (*Morus*) から選択することができる。真菌は、トリコフィトン (*Trichophyton*)、サンファンポルス (*Sanghuangporus*)、タイワノフングス (*Taiwanofungus*)、モニリオフトラ (*Moniliophthora*)、マルソニナ (*Marssonina*)、ディプロディア (*Diplodia*)、レンティヌラ (*Lentinula*)、キサントフィロミセス (*Xanthophyllomyces*)、ポコニア (*Pochonia*)、コレトトリカム (*Colletotrichum*)、ディアポルテ (*Diaporthe*)、ヒストプラズマ (*Histoplasma*)、コクシジオイデス (*Coccidioides*)、ヒストプラズマ (*Histoplasma*)、サンファンポルス (*Sanghuangporus*)、アウレオバシジウム (*Aureobasidium*)、ポコニア (*Pochonia*)、ペニシリウム (*Penicillium*)、スポロトリクス (*Sporothrix*)、メタリジウム (*Metarhizium*)、アスペルギルス (*Aspergillus*)、ヤロウィア (*Yarrowia*)、およびリポミセス (*Lipomyces*) から選択される。いくつかの実施形態において、真菌は、アスペルギルス・ニデュランス (*Aspergillus nidulans*)、ヤロウィア・リポリティカ (*Yarrowia lipolytica*)、またはロドスポリン・トルロイデス (*Rhodospirium toruloides*) である。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、酵母細胞である。いくつかの実施形態において、酵母は、カンジダ (*Candida*)、サッカラム (*Saccharomyces*)、サッカロミコチナ (*Saccharomycotina*)、タフリノミコチナ (*Taphrinomycotina*)、シゾサッカロミセテス (*Schizosaccharomycetes*)、コマガテラ (*Komagataella*)、バシディオミコタ (*Basidiomycota*)、アガリコミコチナ (*Agaricomycotina*)、トレメロミセテス (*Tremellomycetes*)、プシニオミコチナ (*Pucciniomycotina*)、アウレオバシジウム (*Aureobasidium*)、コニオケーテ (*Coniochaeta*)、ロドスポリジウム (*Rhodospiridium*)、およびマイクロボリオミセテス (*Microboryomycetes*) から選択される。いくつかの実施形態において、細菌は、フランキア (*Frankia*)、アクチノ (*Actino*) 細菌、ストレプトミセス (*Streptomyces*)、エンテロコッカス

10

20

30

40

50

(Enterococcus) から選択される。いくつかの実施形態において、細菌は、エンテロコッカス・フェカリス (Enterococcus faecalis) である。

【0139】

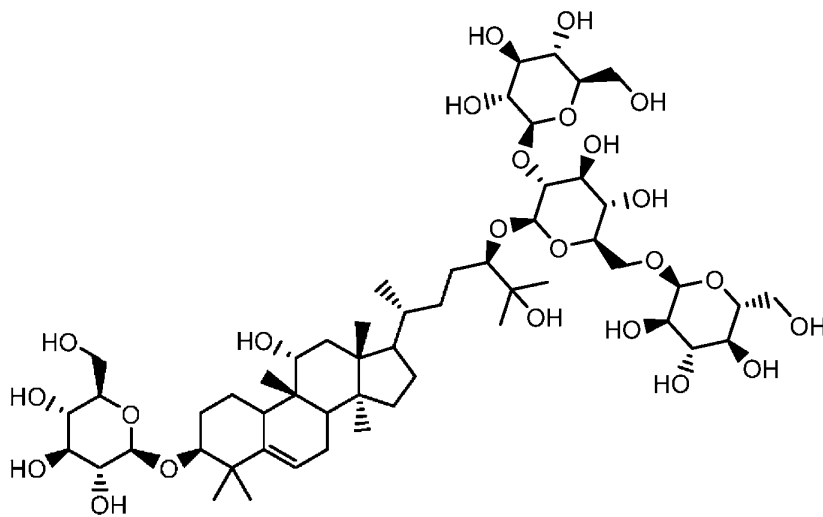
いくつかの実施形態において、組換え遺伝子は、細菌細胞、哺乳動物細胞、植物細胞、真菌細胞、または昆虫細胞における発現のためにコドン最適化されている。いくつかの実施形態において、1つ以上の遺伝子は、コードされた酵素の活性の増加に対する機能的突然変異を含む。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞を培養するステップは、pH、溶存酸素レベル、窒素レベル、またはそれらの培養条件の組合せについて培養をモニタリングするステップを含む。

【0140】

スクアレンからのモグロールの製造

化合物1の製造方法のいくつかの実施形態は、化合物1の製造において使用するための中間体を製造するステップを含む。以下：

【化18】



(1)

の構造を有する化合物は、組換え宿主においてイン・ビボで製造される。いくつかの実施形態において、化合物は、組換え宿主細胞内に存在するか、組換え細胞が増殖している培地に分泌されるか、またはその双方である。いくつかの実施形態において、組換え細胞は、イン・ビボでモグロシド化合物などの中間体をさらに製造する。組換え細胞は、本明細書に開示される遺伝子が発現される条件下にて培地中で増殖させることができる。細胞を増殖させる方法のいくつかの実施形態は、本明細書に記載されている。

【0141】

いくつかの実施形態において、中間体は、スクアレン、オキシドスクアレン、クルビタジエノール、モグロール、およびモグロシドの少なくとも1つであるか、またはそれらを含む。いくつかの実施形態において、モグロシドは、モグロシドIEEである。本明細書に記載される場合、モグロシドは、例えば、植物または果実から自然に単離することができるグリコシドのファミリーである。本明細書で企図されるように、モグロシドは、組換え宿主細胞によって製造することができる。

【0142】

本明細書に記載の方法のいくつかの代替策において、組換え宿主細胞は、以下：

スクアレンエポキシダーゼをコードする遺伝子；

クルビタジエノールシンターゼをコードする遺伝子；

シトクロムP450をコードする遺伝子；

シトクロムP450レダクターゼをコードする遺伝子；および

エポキシドヒドrolラーゼをコードする遺伝子

の1つ以上を含むポリヌクレオチドまたは配列を含む。

【0143】

いくつかの実施形態において、スクアレネポキシダーゼは、配列番号54に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、スクアレネポキシダーゼは、アラビドプシス・タリアナ (*Arabidopsis thaliana*) (タンパク質アクセッション番号: Q9SM02、065403、065402、065404、081000、またはQ9T064)、ブラシカ・ナプス (*Brassica napus*) (タンパク質アクセッション番号10065727、065726)、ユーフォルビア・ティルカリ (*Euphorbia tirucalli*) (タンパク質アクセッション番号A7VJN1)、メディカゴ・トランカツラ (*Medicago truncatula*) (タンパク質アクセッション番号Q8GSM8、Q8GSM9)、ピスム・サティブム (*Pisum sativum*)、およびリシヌス・コムニス (*Ricinus communis*) (タンパク質アクセッション番号B9R6VO、B9S7W5、B9S6Y2、B9TOY3、B9S7TO、B9SX91) に由来する配列、ならびにこれらと少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも98%の配列同一性を共有する前述のいずれかのものの機能的ホモログを含む。いくつかの実施形態において、スクアレネポキシダーゼは、配列番号50~56、60、61、334、または335に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。

【0144】

いくつかの実施形態において、細胞は、ERG7 (ラノステロールシンターゼ) をコードする遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、ラノステロールシンターゼは、配列番号111に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、P450ポリペプチドは、請求項31から48までのいずれか1つに対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有する配列を含む遺伝子でコードされる。いくつかの実施形態において、配列は、リボソームスキップ配列によって分離されて、分離されたタンパク質を製造することができる。

【0145】

いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、ククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドをコードする遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドは、配列番号70~73、75~77、319、321、323、325、327~333、420、422、424、426、446、902、904、および906のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドは、配列番号70~73、75~77、319、321、323、325、327~333、420、422、424、426、446、902、904、および906のいずれか1つの配列に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドは、配列番号73に示す配列を含むC末端部分を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドをコードする遺伝子は、コドン最適化されている。いくつかの実施形態において、コドン最適化遺伝子は、配列番号74に示す核酸配列を含む。

【0146】

いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドは、ククルビタジエノールシンターゼに融合された融合ドメインを含む融合ポリペプチドである。融合ドメインは、例えば、ククルビタジエノールシンターゼのN末端またはC

末端に融合することができる。融合ドメインは、例えば、融合ポリペプチドのN末端領域またはC末端領域に位置することができる。融合ドメインの長さは、様々であってよい。例えば、融合ドメインは、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、約10、約12、約15、約20、約25、約30、約40、約50、約100、約150、約200、約300、約400、約500、約600、約700、約800、約900、約1000、約1500、約2000、またはこれらのいずれか2つの数値の間の範囲のアミノ酸長であってよい。いくつかの実施形態において、融合ドメインは、3～1000アミノ酸長である。いくつかの実施形態において、融合ドメインは、5～50アミノ酸長である。いくつかの実施形態において、融合ドメインは、機能的タンパク質の実質的な部分または配列全体を含む。いくつかの実施形態において、融合ドメインは、酵母タンパク質の配列の一部または全体を含む。例えば、ククルビタジエノールシンターゼ活性を示す融合ポリペプチドは、配列番号851、854、856、1024、859、862、865、867、915、920、924、928、932、936、940、944、948、952、956、959、964、967、971、975、979、983、987、991、995、999、1003、1007、および1011のいずれか1つに対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。いくつかの実施形態において、融合ポリペプチドは、配列番号851、854、856、1024、859、862、865、867、915、920、924、928、932、936、940、944、948、952、956、959、964、967、971、975、979、983、987、991、995、999、1003、1007、および1011のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。いくつかの実施形態において、融合ポリペプチドの融合ドメインは、配列番号866、870、917、921、925、929、933、937、941、945、949、953、957、961、968、972、976、980、984、988、992、996、1000、1004、1008、および1012のいずれか1つに対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、融合ポリペプチドの融合ドメインは、配列番号866、870、917、921、925、929、933、937、941、945、949、953、957、961、968、972、976、980、984、988、992、996、1000、1004、1008、および1012のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。いくつかの実施形態において、融合ドメインと融合されたククルビタジエノールシンターゼは、配列番号70～73、75～77、319、321、323、325、327、329～333、420、422、424、426、446、902、904、および906のいずれか1つに対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、融合ドメインと融合されたククルビタジエノールシンターゼは、配列番号70～73、75～77、319、321、323、325、327、329～333、420、422、424、426、446、902、904、および906のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。いくつかの実施形態において、融合ドメインと融合されたククルビタジエノールシンターゼは、配列番号74、320、322、324、326、328、418、421、423、425、427、897、899、901、903、および905のいずれか1つに対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する核酸配列を含む遺伝子によってコードされる。いくつかの実施形態において、融合ドメインと融合されたククルビタジエノールシンターゼは、配列番号74、320、322、324、326、328、418、421、423、425、427、897、899、901、903、および905のいずれか1つに示す核酸配列を含むかまたはそれからなる遺伝子によってコードされる。本明細書には、ククルビタジエノールシンターゼ活性を示す融合ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え核酸分子

10

20

30

40

50

も開示される。

【0147】

本明細書に開示されるククルビタジエノールシンターゼ活性を示す融合ポリペプチドは、ククルビタジエノールシンターゼとして酵素反応を触媒するために使用することができる。例えば、ククルビタジエノールシンターゼの基質をこれらの融合ポリペプチドの1つ以上と接触させて、反応生成物を製造することができる。反応生成物の非限定的な例には、ククルビタジエノール (curcubitadienol)、24, 25-エポキシククルビタジエノール (24,25-epoxy curcubitadienol)、およびそれらの任意の組合せが含まれる。ククルビタジエノールシンターゼの基質の非限定的な例には、2, 3-オキシドスクアレン、ジオキシドスクアレン、ジエポキシドスクアレン、およびそれらの任意の組合せが含まれる。いくつかの実施形態において、基質は、ククルビタジエノールシンターゼ活性を示す1つ以上の融合ポリペプチドをコードする核酸配列を含む組換え宿主細胞と接触させることができる。基質は、組換え宿主細胞に提供することも、組換え宿主細胞中に存在することも、組換え宿主細胞によって製造されることも、またそれらの任意の組合せであることもできる。

【0148】

いくつかの実施形態において、シトクロムP450は、CYP5491である。いくつかの実施形態において、シトクロムP450は、配列番号44、74、1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、および1049のいずれか1つに示す配列に対して、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらのいずれか2つの数値の間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、P450レダクターゼポリペプチドは、配列番号46に対して、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらのいずれか2つの数値の間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、P450ポリペプチドは、配列番号31~48、316、431、871、873、875、877、879、881、883、885、887、891、1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、および1048のいずれか1つに対して、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらのいずれか2つの数値の間の範囲の配列同一性を有する配列を含む遺伝子によってコードされる。

【0149】

いくつかの実施形態において、エポキシドヒドロラーゼは、配列番号38、40または1073に対して、少なくとも70%、80%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらのいずれか2つの数値の間の範囲の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、エポキシドヒドロラーゼは、配列番号38、40または1073に示す配列を含むかまたはそれからなる。いくつかの実施形態において、エポキシドヒドロラーゼは、配列番号1072に対して、少なくとも70%、80%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらのいずれか2つの数値の間の範囲の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる。

【0150】

モグロールを製造するためのスクアレンのいくつかの製造方法

スクアレンは、植物および動物において製造することができる炭素数30の天然の有機分子であり、ステロイドのファミリーの生化学的前駆体である。さらに、スクアレンは、宿主組換え細胞におけるイン・ビボでのモグロール合成の前駆体として使用することができる。スクアレンの末端二重結合の1つを(スクアレンモノオキシゲナーゼを介して)酸化することで、2, 3-スクアレンオキシドが製造され、この2, 3-スクアレンオキシドは酵素触媒による環化を受けてラノステロールを製造し、このラノステロールがコレステロールおよび他のステロイドへと合成される。Gruchattka et al. ("In Vivo Validation

10

20

30

40

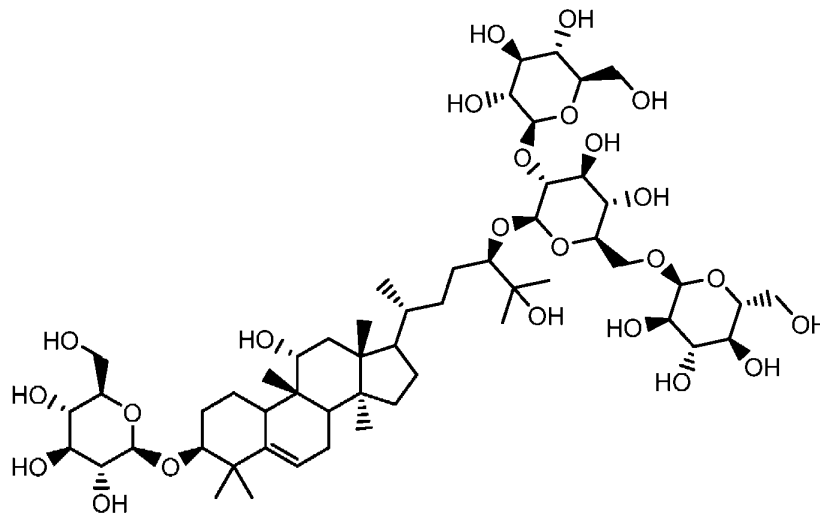
50

of In Silico Predicted Metabolic Engineering Strategies in Yeast: Disruption of α -Ketoglutarate Dehydrogenase and Expression of ATP-Citrate Lyase for Terpenoid Production.” PLOS ONE December 23, 2015 ; 参照によりその内容全体が本明細書に援用される)に記載されているように、スクアレンの合成は、スクアレンを製造するために、最初に解糖サイクルの前駆体から起こることができる。スクアレンは、ATPクエン酸リアーゼの過剰発現によってアップレギュレートされて、スクアレンの製造を増加させることができる。本明細書に開示されるいくつかの実施形態は、組換え宿主細胞、例えば組換え酵母細胞においてスクアレンを製造するための、および／またはスクアレンの製造を促進するための酵素を含む。ATPクエン酸リアーゼは、酵母 *S. cerevisiae* (S. cerevisiae) で見られたスクアレンおよびメバロン酸の製造に使用することができるアセチル CoA 合成を仲介することもできる (Rodrigues et al. “ATP citrate lyase mediated cytosolic acetyl-CoA biosynthesis increases mevalonate production in *Saccharomyces cerevisiae*” Microb Cell Fact. 2016; 15: 48 ; 参照によりその内容全体が本明細書に援用される)。アセチル CoA 合成を媒介するための酵素をコードする遺伝子の一例は、配列番号 130 に示されている。本明細書のいくつかの実施形態において、組換え細胞は、アセチル CoA 合成を媒介するための配列を含む。

【0151】

本明細書に開示されるいくつかの実施形態は、以下：

【化19】



の構造を有する化合物 1 の製造方法を提供する。

【0152】

いくつかの実施形態において、該方法は、イン・ビボで化合物 1 を製造するための経路において中間体を製造するステップをさらに含む。いくつかの実施形態において、化合物 1 を製造する組換え宿主細胞は、ジオキシドスクアレンの変換による 24, 25 エポキシクルビタジエノールの製造、オキシドスクアレンからクルビタジエノールへの変換、24, 25 エポキシクルビタジエノールから 11-ヒドロキシ-24, 25 エポキシクルビタジエノールへのヒドロキシル化の触媒が可能である少なくとも 1 つの酵素、クルビタジエノールから 11-ヒドロキシクルビタジエノールへのヒドロキシル化を触媒するための酵素、クルビタジエノールから 24, 25 エポキシクルビタジエノールへのエポキシ化を触媒するための酵素、11-ヒドロキシクルビタジエノールのエポキシ化による 11-ヒドロキシ-24, 25 エポキシクルビタジエノールの製造を触媒することができる酵素、11-ヒドロキシクルビタジエノール (11-hydroxy-cucurbitadienol) から 11-ヒドロキシ-24, 25 エポキシクルビタジエノールへの変換のための酵素、11-ヒドロキシ-24, 25 エポキシクルビタジエノールの変換によるモグロールの製造を触媒するための酵素、および／またはモグロシド前駆体のグリコシル化に

よるモグロシド化合物の製造を触媒するための酵素を含む。いくつかの実施形態において、グリコシル化のための酵素は、配列番号 121、122、123、および 124 のいずれか 1 つに示す配列によってコードされる。

【0153】

いくつかの実施形態において、24, 25 エポキシシクルビタジエノールのヒドロキシル化による 11-ヒドロキシ-24, 25 エポキシシクルビタジエノールの製造を触媒するための酵素は、CYP54G1 である。いくつかの実施形態において、CYP54G1 は、配列番号 49 に示す配列を含む。いくつかの実施形態において、スクアレンエポキシダーゼは、配列番号 54 の配列に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有する配列を含む。

10

【0154】

いくつかの実施形態において、11-ヒドロキシシクルビタジエノールのエポキシ化が可能な酵素は、配列番号 74 に示すアミノ酸配列を含む。

【0155】

いくつかの代替策において、組換え細胞は、ジオキシドスクアレント (dioxidosqualent) から 24, 25 エポキシシクルビタジエノールへの変換、オキシドスクアレノールからシクルビタジエノールへの変換、24, 25 エポキシシクルビタジエノールから 11-ヒドロキシ-24, 25 エポキシシクルビタジエノールへのヒドロキシル化、シクルビタジエノールのヒドロキシル化による 11-ヒドロキシシクルビタジエノールの製造、シクルビタジエノールのエポキシ化による 24, 25 エポキシシクルビタジエノールの製造、および/または 11-ヒドロキシシクルビタジエノールのエポキシ化による 11-ヒドロキシ-24, 25 エポキシシクルビタジエノールの製造が可能な酵素を発現するための遺伝子を含む。本明細書のこれらの実施形態において、中間体およびモグロシドは、イン・ビボで製造される。

20

【0156】

いくつかの実施形態において、化合物 1 の製造方法は、モグロシド化合物および中間体、例えば、オキシドスクアレノール、ジキシドスクアレノール (dixidosqualene)、シクルビタジエノール (cucurbitdienol)、24, 25 エポキシシクルビタジエノール、11-ヒドロキシシクルビタジエノール (11-hydroxy-cucurbitadienol)、11-ヒドロキシ-24, 25 エポキシシクルビタジエノール、モグロール、およびモグロシド化合物の 1 つ以上を製造するステップをさらに含む。

30

【0157】

モグロシド化合物の製造方法

本明細書に、モグロシド化合物、例えば、国際公開第 2014086842 号（参照によりその内容全体が本明細書に援用される）に記載されるモグロシド化合物の 1 つの製造方法が記載される。モグロシド化合物は、本明細書に開示される化合物 1 をさらに製造するための細胞による中間体として使用することができる。

【0158】

微生物、植物細胞、または植物などの組換え宿主を使用して、モグロール（トリテルペンコア）および様々なモグロールグリコシド（モグロシド）の生合成に有用なポリペプチドを発現させることができる。

40

【0159】

いくつかの実施形態において、該製造方法は、以下のステップ：

- (1) オキシドスクアレノールのレベルを高める、
- (2) ジオキシドスクアレノールのレベルを高める、
- (3) オキシドスクアレノール→シクルビタジエノール、
- (4) ジオキシドスクアレノール→24, 25 エポキシシクルビタジエノール、
- (5) シクルビタジエノール→11-ヒドロキシシクルビタジエノール、
- (6) 24, 25 エポキシシクルビタジエノール→11-ヒドロキシ-24, 25 エポ

50

キシククルビタジエノール、

(7) 11-ヒドロキシククルビタジエノール→モグロール、

(8) 11-ヒドロキシ-24, 25エポキシククルビタジエノール→モグロール、

(9) モグロール→様々なモグロシド化合物、

の1つ以上を任意の順序で含むことができる。

【0160】

本明細書の実施形態において、オキシドスクアレン、ジオキシドスクアレン、ククルビタジエノール、24, 25エポキシククルビタジエノール、またはモグロールは、組換え細胞によって製造することもできる。該方法は、本発明の方法のステップを触媒する1つ以上酵素、例えば、シンターゼ、ヒドロラーゼ、CYP450および／またはUGTが発現される条件下で、培地中で組換え微生物を増殖させるステップを含むことができる。組換え微生物は、流加回分法または連続法で増殖させることができる。典型的には、化合物1の収率を向上させるために、組換え微生物を、所望の期間にわたって所定の温度で発酵槽内にて増殖させる。

【0161】

いくつかの実施形態において、モグロシド化合物は、全細胞を使用して製造することができ、この全細胞には、化合物1の収率を向上させるために前駆体分子を含む原料が供給される。原料は、細胞増殖中または細胞増殖後に供給することができる。全細胞は、懸濁状態であっても固定化されていてもよい。全細胞は、発酵プロセス中または反応緩衝剤中に存在することができる。

【0162】

いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、オキシドスクアレンからククルビタジエノールへの、ククルビタジエノールから11-ヒドロキシククルビタジエノールへの、11-ヒドロキシククルビタジエノールからモグロールへの、および／またはモグロールからモグロシドへの触媒が可能な酵素または酵素混合物をコードする異種核酸を含むことができる。いくつかの実施形態において、細胞は、ジオキシドスクアレンから24, 25エポキシククルビタジエノールへの、24, 25エポキシククルビタジエノールからヒドロキシ-24, 25エポキシククルビタジエノールへの、11-ヒドロキシ-24, 25エポキシククルビタジエノールからモグロールへの、および／またはモグロールからモグロシドへの触媒が可能な酵素または酵素混合物をコードする異種核酸をさらに含むことができる。

【0163】

宿主細胞は、ククルビタジエノールシンターゼをコードする組換え遺伝子および／またはシトクロムP450ポリペプチドをコードする組換え遺伝子を含むことができる。

【0164】

いくつかの実施形態において、細胞は、配列番号70～73、75～77、319、321、323、325、327～333、420、422、424、426、446、902、904、906（ククルビタジエノールシンターゼ（curcubitadienol synthase））のいずれか1つに対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するタンパク質を含む。

【0165】

いくつかの実施形態において、オキシドスクアレンからククルビタジエノールへの変換は、配列番号70～73、75～77、319、321、323、325、327～333、420、422、424、426、446、902、904、および906のいずれか1つのククルビタジエノールシンターゼ、またはこれらと少なくとも70%、例えば少なくとも80%、例えば少なくとも90%、例えば少なくとも95%、例えば少なくとも98%の配列同一性を共有する前述のものの機能的ホモログによって触媒される。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼポリペプチドは、配列番号73に示す配列を含むC末端部分を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノール

ルシンターゼポリペプチドをコードする遺伝子は、コドン最適化されている。いくつかの実施形態において、コドン最適化遺伝子は、配列番号 74 に示す核酸配列を含む。

【0166】

いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールから 11-ヒドロキシククルビタジエノールへの変換は、配列番号 49 の CYP5491、またはこれと少なくとも 70%、例えば少なくとも 80%、例えば少なくとも 90%、例えば少なくとも 95%、例えば少なくとも 98% の配列同一性を共有するその機能的ホモログによって触媒される。

【0167】

いくつかの実施形態において、11-ヒドロキシククルビタジエノールからモグロールへの変換は、配列番号 29 のエポキシドヒドロラーゼ 1、配列番号 30 のエポキシドヒドロラーゼ 2、およびこれらと少なくとも 70%、例えば少なくとも 80%、例えば少なくとも 90%、例えば少なくとも 95%、例えば少なくとも 98% の配列同一性を共有する前述のものの機能的ホモログからなる群から選択されるポリペプチドを含む。いくつかの実施形態において、エポキシドヒドロラーゼ 1 およびエポキシドヒドロラーゼ 2 をコードする遺伝子は、発現のためにコドン最適化されている。いくつかの実施形態において、エポキシドヒドロラーゼのためのコドン最適化遺伝子は、配列番号 114 または 115 に示す核酸配列を含む。

【0168】

いくつかの実施形態において、エポキシドヒドロラーゼは、配列番号 21~28 のいずれか 1 つに示すアミノ酸配列を含む (Itkin et al., 参照によりその内容全体が本明細書に援用される)。

【0169】

いくつかの実施形態において、モグロールからモグロシドへの変換は、配列番号 15 の UGT1576、配列番号 9 の UGT98、配列番号 68 の UGT SK98、およびこれらと少なくとも 70%、例えば少なくとも 80%、例えば少なくとも 90%、例えば少なくとも 95%、例えば少なくとも 98% の配列同一性を共有する前述のものの機能的ホモログからなる群から選択される 1 つ以上の UGT によって宿主組換え細胞で触媒される。

【0170】

いくつかの実施形態において、宿主組換え細胞は、配列番号 31~48、316、431、871、873、875、877、879、881、883、885、887、891、番号：1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および 1093 の配列のいずれか 1 つによってコードされるシトクロム P450 ポリペプチドをコードする組換え遺伝子を含む。

【0171】

いくつかの実施形態において、宿主組換え細胞は、配列番号 50 の配列を含むスクアレノエポキシダーゼポリペプチドをコードする組換え遺伝子を含む。

【0172】

いくつかの実施形態において、宿主組換え細胞は、配列番号 70~73、75~77、319、321、323、325、327~333、420、422、424、426、446、902、904、および 906 のいずれか 1 つのククルビタジエノールシンターゼポリペプチドをコードする組換え遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼポリペプチドは、配列番号 73 に示す配列を含む C 末端部分を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼポリペプチドをコードする遺伝子は、コドン最適化されている。いくつかの実施形態において、コドン最適化遺伝子は、配列番号 74 に示す核酸配列を含む。

【0173】

モグロールからのモグロシド化合物の製造

いくつかの実施形態において、化合物 1 の製造方法は、モグロシド IIIIE を、モグロ

10

20

30

40

50

【 0 1 7 4 】

10

【 0 1 7 5 】

【 0 1 7 6 】

20

30

40

50

の実施形態において、トランスグルコシダーゼは、配列番号 3163～291、および 723 のいずれか 1 つの配列に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、トランスグルコシダーゼは、配列番号 163～291、および 723 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、トランスグルコシダーゼは、配列番号 163～291、および 723 のいずれか 1 つによってコードされる。いくつかの実施形態において、トランスグルコシダーゼは、配列番号 163～290、および 723 のいずれか 1 つに示すアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、遺伝子は、配列番号 1、3、78～101、および 154 に示す配列のいずれか 1 つを含む CGT アーゼをコードする。

10

【0177】

いくつかの実施形態において、該方法は、モグロシド IIA を組換え宿主細胞と接触させてモグロシド IIE を製造するステップを含み、組換え宿主細胞は、モグロシド IIA からのモグロシド IIE の製造を触媒することができる第 2 の酵素をコードする第 2 の遺伝子をさらに含む。いくつかの実施形態において、モグロシド IIA は、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、第 2 の酵素は、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクララーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上である。いくつかの実施形態において、第 2 の酵素は、ウリジンニリン酸グルコシルトランスフェラーゼ (UGT) である。いくつかの実施形態において、トランスグルコシダーゼは、配列番号 163～290、および 723 のいずれか 1 つに示すアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、遺伝子は、配列番号 1、3、78～101、148、および 154 に示すアミノ酸配列を含む CGT アーゼをコードする。いくつかの実施形態において、UGT は、UGT 73C3 (配列番号 4)、UGT 73C6 (配列番号 5、444、または 445)、85C2 (配列番号 6)、UGT 73C5 (配列番号 7)、UGT 73E1 (配列番号 8)、UGT 98 (配列番号 9、または 407)、UGT 1576 (配列番号 15)、UGT SK98 (配列番号 16)、UGT 430 (配列番号 17)、UGT 1697 (配列番号 18)、もしくは UGT 11789 (配列番号 19)、または配列番号 4、5、7～9、15～19、125、126、128、129、293～304、306、307、407、439、441、444、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および 1094～1149 のいずれか 1 つである。いくつかの実施形態において、UGT は、UGT 1495 (配列番号 10)、UGT 1817 (配列番号 11)、UGT 5914 (配列番号 12)、UGT 8468 (配列番号 13)、UGT 10391 (配列番号 14)、および配列番号 1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および 1093 のいずれか 1 つに示す核酸配列によってコードされる。

20

30

40

【0178】

いくつかの実施形態において、該方法は、モグロシドを組換え宿主細胞と接触させてモグロシド IIE を製造するステップを含み、組換え宿主細胞は、モグロールからのモグロシド IIE の製造を触媒することができる 1 つ以上の酵素をコードする 1 つ以上の遺伝子をさらに含む。いくつかの実施形態において、モグロールは、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、1 つ以上の酵素は、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクララーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を含む。いくつかの実施形態において、第 2 の酵素は、ウリジンニリン酸グルコシルトランスフェラーゼ (UGT) である。いくつかの実施

50

形態において、UGTは、UGT73C3、UGT73C6、85C2、UGT73C5、UGT73E1、UGT98、UGT1495、UGT1817、UGT5914、UGT8468、UGT10391、UGT1576、UGT SK98、UGT430、UGT1697、またはUGT11789である。

【0179】

いくつかの実施形態において、該方法は、モグロシド化合物を組換え宿主細胞と接触させてモグロシドIIIEを製造するステップを含み、組換え宿主細胞は、モグロシド化合物からのモグロシドIIIEの製造を触媒することができる1つ以上の酵素をコードする1つ以上の遺伝子をさらに含み、モグロシド化合物は、モグロシドIA1、モグロシドIE1、モグロシドIIA1、モグロシドIIIE、モグロシドIIIA1、モグロシドIIIA2、モグロシドIII、モグロシドIV、モグロシドIVA、モグロシドV、またはシアメノシドの1つ以上である。いくつかの実施形態において、モグロシド化合物は、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、1つ以上の酵素は、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、 β -グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を含む。いくつかの実施形態において、トランスグルコシダーゼは、配列番号163~290、および723のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、遺伝子は、配列番号1、3、78~101、148、および154に示すアミノ酸配列を含むCGTアーゼをコードする。いくつかの実施形態において、該方法は、モグロシドIA1を組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、UGT98またはUGT SK98をコードする遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、UGT98またはUGT SK98酵素は、配列番号9、407、または16に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、接触により、細胞でモグロシドIIAが製造される。いくつかの実施形態において、1つ以上の酵素は、配列番号1、3、78~101、106~109、147、154、163~303、405、411、354~405、447~723、770、776、および782のいずれか1つに示すアミノ酸を含む。

【0180】

いくつかの実施形態において、該方法は、11-ヒドロキシ-24, 25エポキシクルビタジエノールを組換え宿主細胞と接触させるステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、エポキシヒドロラーゼをコードする第3の遺伝子をさらに含む。いくつかの実施形態において、11-ヒドロキシ-24, 25エポキシクルビタジエノールは、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、該方法は、11-ヒドロキシクルビタジエノールを組換え宿主細胞と接触させるステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、シトクロムP450またはエポキシヒドロラーゼをコードする第4の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、P450ポリペプチドは、配列番号31~48、316、431、871、873、875、877、879、881、883、885、887、および891のいずれか1つに示す配列を含む遺伝子にコードされる。いくつかの実施形態において、11-ヒドロキシクルビタジエノールは、組換え宿主細胞によって製造される。

【0181】

いくつかの実施形態において、該方法は、3, 24, 25トリヒドロキシクルビタジエノールを組換え宿主細胞と接触させるステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、シトクロムP450をコードする第5の遺伝子をさらに含む。いくつかの実施形態において、P450ポリペプチドは、配列番号31~48、316、318、1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、および1049のいずれか1つに示す配列を含む遺伝子にコードされる。いくつかの実施形態において、3, 24, 25トリヒドロキシクルビタジエノール

ルは、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、接触によって、組換え宿主細胞でモグロールが製造される。いくつかの実施形態において、シトクロム P 4 5 0 は、配列番号 2 0、3 0 8、または 3 1 5 に対して、少なくとも 7 0 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 %、9 9 %、1 0 0 %、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、P 4 5 0 ポリペプチドは、配列番号 3 1 ~ 4 8、3 1 6、4 3 1、8 7 1、8 7 3、8 7 5、8 7 7、8 7 9、8 8 1、8 8 3、8 8 5、8 8 7、8 9 1、1 0 2 4、1 0 2 6、1 0 2 8、1 0 3 0、1 0 3 2、1 0 3 4、1 0 3 6、1 0 3 8、1 0 4 0、1 0 4 2、1 0 4 4、1 0 4 6、および 1 0 4 8 のいずれか 1 つに示す配列を含む遺伝子にコードされる。いくつかの実施形態において、エポキシドヒドロラーゼは、配列番号 2 1 ~ 3 0、および 3 0 9 ~ 3 1 4 のいずれか 1 つに対して少なくとも 7 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

10

【0182】

いくつかの実施形態において、該方法は、ククルビタジエノールを組換え宿主細胞と接触させるステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、シトクロム P 4 5 0 をコードする遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、接触によって、11-ククルビタジエノールが製造される。いくつかの実施形態において、11-ヒドロキシククルビタジエノールは、CYP87D18 または SgCPR タンパク質をコードする遺伝子を含む細胞において発現される。いくつかの実施形態において、CYP87D18 または SgCPR は、配列番号 3 1 5、8 7 2、または 8 7 4 に示す配列を含む。いくつかの実施形態において、CYP87D18 または SgCPR は、配列番号 3 1 6、8 7 1、または 8 7 3 によってコードされる。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールは、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、シトクロム P 4 5 0 をコードする遺伝子は、配列番号 3 1 ~ 4 8、3 1 6、4 3 1、8 7 1、8 7 3、8 7 5、8 7 7、8 7 9、8 8 1、8 8 3、8 8 5、8 8 7、および 8 9 1 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 7 0 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 %、9 9 %、1 0 0 %、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有する核酸配列を含む。いくつかの実施形態において、シトクロム P 4 5 0 は、配列番号 3 1 ~ 4 8、3 1 6、4 3 1、8 7 1、8 7 3、8 7 5、8 7 7、8 7 9、8 8 1、8 8 3、8 8 5、8 8 7、8 9 1、1 0 2 5、1 0 2 7、1 0 2 9、1 0 3 1、1 0 3 3、1 0 3 5、1 0 3 7、1 0 3 9、1 0 4 1、1 0 4 3、1 0 4 5、1 0 4 7、および 1 0 4 9 に対して、少なくとも 7 0 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 %、9 9 %、1 0 0 %、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、P 4 5 0 ポリペプチドは、配列番号 3 1 ~ 4 8、3 1 6、4 3 1、8 7 1、8 7 3、8 7 5、8 7 7、8 7 9、8 8 1、8 8 3、8 8 5、8 8 7、8 9 1、1 0 2 4、1 0 2 6、1 0 2 8、1 0 3 0、1 0 3 2、1 0 3 4、1 0 3 6、1 0 3 8、1 0 4 0、1 0 4 2、1 0 4 4、1 0 4 6、および 1 0 4 8 のいずれか 1 つに示す配列を含む遺伝子にコードされる。

20

30

【0183】

いくつかの実施形態において、該方法は、2,3-オキシドスクアレンを組換え宿主細胞と接触させるステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、ククルビタジエノールシンターゼをコードする第 7 の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼは、配列番号 7 0 ~ 7 3、7 5 ~ 7 7、3 1 9、3 2 1、3 2 3、3 2 5、3 2 7 ~ 3 3 3、4 2 0、4 2 2、4 2 4、4 2 6、4 4 6、9 0 2、9 0 4、または 9 0 6 に示すアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼは、配列番号 7 4、3 2 0、3 2 2、3 2 4、3 2 6、3 2 8、4 1 8、4 2 1、4 2 3、4 2 5、4 2 7、8 9 7、8 9 9、9 0 1、9 0 3、および 9 0 5 に示すいずれか 1 つの配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、接触によって、ククルビタジエノールが製造される。いくつかの実施形態において、2,3-オキシドスクアレンは、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、2,3

40

50

ーオキシドスクアレンまたはジエポキシスクアレンは、配列番号 898 または 900 に示す配列を含む酵素によって製造される。いくつかの実施形態において、2, 3-オキシドスクアレンまたはジエポキシスクアレンは、配列番号 897 または 899 に示す核酸配列によってコードされる酵素によって製造される。

【0184】

いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼは、配列番号 74 に示す配列を含む遺伝子によってコードされる。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼは、配列番号 74、320、322、324、326、328、418、421、423、425、427、897、899、901、903、および 905 のいずれか 1 つに示す核酸配列を含む遺伝子によってコードされる。いくつかの実施形態において、11-ヒドロキシククルビタジエノールは細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、11-OHククルビタジエノールは、CYP87D18 または SgCPR タンパク質をコードする遺伝子を含む細胞において発現される。いくつかの実施形態において、CYP87D18 または SgCPR は、配列番号 315、872、または 874 に示す配列を含む。いくつかの実施形態において、CYP87D18 または SgCPR は、配列番号 316、871、または 873 によってコードされる。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼポリペプチドは、配列番号 73 に示す配列を含む C 末端部分を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼポリペプチドをコードする遺伝子は、コドン最適化されている。いくつかの実施形態において、コドン最適化遺伝子は、配列番号 74 に示す核酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼは、配列番号 70~73、75~77、319、321、323、325、327~333、420、422、424、426、446、902、904、および 906 のいずれか 1 つに対して少なくとも 70% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む（これには、例えば、C. ペポ (C pepo)、S. グロスベノリイ (S grosvenorii)、C. サティヴァス (C sativus)、C. メロ (C melo)、C. モスカータ (C moschata)、および C. マクシマ (C maxim) 由来のククルビタジエノールシンターゼが含まれる。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼポリペプチドは、配列番号 73 に示す配列を含む C 末端部分を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼポリペプチドをコードする遺伝子は、コドン最適化されている。いくつかの実施形態において、コドン最適化遺伝子は、配列番号 74 に示す核酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼは、参照によりその内容全体が本明細書に援用される国際公開第 2016/050890 号に記載されるように、ロータス・ヤポニカス (Lotus japonicas) (BAE53431)、ポプルス・トリコカルパ (Populus trichocarpa) (XP_002310905)、アクテア・ラケモサ (Actaea racemosa) (ADC84219)、ベツラ・プラティフィラ (Betula platyphylla) (BAB83085)、グリチルリザ・グラブラ (Glycyrrhiza glabra) (BAA76902)、ヴィティス・ヴィニフェラ (Vitis vinifera) (XP_002264289)、センテラ・アジアチカ (Centella asiatica) (AAS01524)、パナックス・ジンセン (Panax ginseng) (BAA33460)、およびベツラ・プラティフィラ (Betula platyphylla) (BAB83086) に由来するポリペプチドを含むアミノ酸を含む。

【0185】

いくつかの実施形態において、該方法は、スクアレンを組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、ここで、組換え宿主細胞は、スクアレンエポキシダーゼをコードする第 8 の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、接触によって、2, 3-オキシドスクアレンが製造される。いくつかの実施形態において、スクアレンは、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、スクアレンエポキシダーゼは、配列番号 50~56、60、61、334、または 335 に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0186】

いくつかの実施形態において、該方法は、ファルネシルピロホスフェートを組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、スクアレンシンターゼをコードする第9の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、接触によって、スクアレンが製造される。いくつかの実施形態において、ファルネシルピロホスフェートは、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、スクアレンシンターゼは、配列番号69または336に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0187】

いくつかの実施形態において、該方法は、ゲラニル-Pを組換え宿主細胞と接触させるステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、ファルネシル-Pシンターゼをコードする第10の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、接触によって、ファルネシル-Pが製造される。いくつかの実施形態において、ゲラニル-Pは、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、ファルネシル-Pシンターゼは、配列番号338に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の遺伝子、第2の遺伝子、第3の遺伝子、第4の遺伝子、第5の遺伝子、第6の遺伝子、第7の遺伝子、第8の遺伝子、第9の遺伝子、および第10の遺伝子の1つ以上は、異種プロモーターに作動可能に連結されている。いくつかの実施形態において、異種プロモーターは、CMV、EF1a、SV40、PGK1、ヒトベータアクチン、CAG、GAL1、GAL10、TEF1、GDS、ADH1、CaMV35S、Ubi、T7、T7lac、Sp6、araBAD、trp、Lac、Ptac、pLプロモーター、またはそれらの組合せである。いくつかの実施形態において、プロモーターは、誘導性プロモーター、抑制性プロモーター、または構成的プロモーターである。いくつかの実施形態において、ピルビン酸、アセチルCoA、クエン酸、およびTCA回路中間体の1つ以上の製造は、組換え宿主細胞においてアップレギュレートされている。いくつかの実施形態において、サイトゾル局在化は、組換え宿主細胞においてアップレギュレートされている。いくつかの実施形態において、第1の遺伝子、第2の遺伝子、第3の遺伝子、第4の遺伝子、第5の遺伝子、第6の遺伝子、第7の遺伝子、第8の遺伝子、第9の遺伝子、および第10の遺伝子の1つ以上は、2A自己切断ペプチドをコードする少なくとも1つの配列を含む。本明細書で使用される場合、第1、第2、第3、第4、第5、第6、第7、第8、第9、第10などの用語は、特定の順序および／またはそれより前の番号が存在することの必要条件を暗示するものではない。例えば、本明細書に記載の組換え宿主細胞は、第1の遺伝子および第3の遺伝子を含むが第2の遺伝子を含まないことができる。もう1つの例として、組換え宿主細胞は、第1の遺伝子、第5の遺伝子、および第10の遺伝子を含むが第2の遺伝子、第3の遺伝子、第4の遺伝子、第6の遺伝子、第7の遺伝子、第8の遺伝子、および第9の遺伝子を含まないことができる。

【0188】

組換え宿主細胞は、例えば、植物細胞、二枚貝類細胞、魚類細胞、真菌細胞、細菌細胞、または哺乳動物細胞であることができる。例えば、植物は、シライチア (Siraitia)、モモルディカ (Momordica)、ジノステマ (Gynostemma)、ククルビタ (Cucurbita)、ククミス (Cucumis)、アラビドプシス (Arabidopsis)、アルテミシア (Artemisia)、ステビア (Stevia)、パナックス (Panax)、ウィタニア (Withania)、ユーフォルビア (Euphorbia)、メディカゴ (Medicago)、クロロフィツム (Chlorophytum)、エレウテロコッカス (Eleutherococcus)、アラリア (Aralia)、モルス (Morus)、メディカゴ (Medicago)、ベツラ (Betula)、アストラガルス (Astragalus)、ジャトロファ (Jatropha)、カメリア (Camellia)、ハイフォロマ (Hypholoma)、アスペルギルス (Aspergillus)、ソラヌム (Solanum)、フペルジア (Huperzia)、シ

ユードステラリア (Pseudostellaria)、コルコルス (Corchorus)、ヘデラ (Hedera)、マルカンチア (Marchantia)、およびモルス (Morus) から選択される。いくつかの実施形態において、真菌は、トリコフィトン (Trichophyton)、サンファンポルス (Sanghuangporus)、タイワノフングス (Taiwanofungus)、モニリオフトラ (Monilophthora)、マルソニナ (Marssonina)、ディプロディア (Diplodia)、レンティヌラ (Lentinula)、キサントフィロミセス (Xanthophyllomyces)、ポコニア (Pochonia)、コレトトリカム (Colletotrichum)、ディアポルテ (Diaporthe)、ヒストプラズマ (Histoplasma)、コクシジオイデス (Coccidioides)、ヒストプラズマ (Histoplasma)、サンファンポルス (Sanghuangporus)、アウレオバシジウム (Aureobasidium)、ポコニア (Pochonia)、ペニシリウム (Penicillium)、スポロトリクス (Sporothrix)、メタリジウム (Metarhizium)、アスペルギルス (Aspergillus)、ヤロウィア (Yarrowia)、およびリポミセス (Lipomyces) から選択される。いくつかの実施形態において、真菌は、アスペルギルス・ニデュランス (Aspergillus nidulans)、ヤロウィア・リポリティカ (Yarrowia lipolytica)、またはロドスポリン・トルロイデス (Rhodosporin toruloides) である。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、酵母細胞である。いくつかの実施形態において、酵母は、カンジダ (Candida)、サッカラオミセス (Saccharomyces)、サッカロミコチナ (Saccharomycotina)、タフリノミコチナ (Taphrinomycotina)、シゾサッカロミセテス (Schizosaccharomycetes)、コマガテラ (Komagataella)、バシディオミコタ (Basidiomycota)、アガリコミコチナ (Agaricomycotina)、トレメロミセテス (Tremellomycetes)、プシニオミコチナ (Pucciniomycotina)、アウレオバシジウム (Aureobasidium)、コニオケーテ (Coniochaeta)、ロドスポリジウム (Rhodosporidium)、およびマイクロボリオミセテス (Microboryomycetes) から選択される。いくつかの実施形態において、細菌は、フランキア (Frankia)、アクチノ (Actino) 細菌、ストレプトミセス (Streptomyces)、エンテロコッカス (Enterococcus) から選択される。いくつかの実施形態において、細菌は、エンテロコッカス・フェカリス (Enterococcus faecalis) である。いくつかの実施形態において、第1の遺伝子、第2の遺伝子、第3の遺伝子、第4の遺伝子、第5の遺伝子、第6の遺伝子、第7の遺伝子、第8の遺伝子、第9の遺伝子、および第10の遺伝子の1つ以上は、細菌細胞、哺乳動物細胞、植物細胞、真菌細胞、または昆虫細胞における発現のためにコドン最適化されている。いくつかの実施形態において、第1の遺伝子、第2の遺伝子、第3の遺伝子、第4の遺伝子、第5の遺伝子、第6の遺伝子、第7の遺伝子、第8の遺伝子、第9の遺伝子、および第10の遺伝子の1つ以上は、コードされた酵素の活性の増加に対する機能的突然変異を含む。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞を培養するステップは、pH、溶存酸素レベル、窒素レベル、またはそれらの培養条件の組合せについて培養をモニタリングするステップを含む。いくつかの実施形態において、該方法は、化合物1を単離するステップを含む。いくつかの実施形態において、化合物1を単離するステップは、組換え宿主細胞を破碎するステップを含む。いくつかの実施形態において、化合物1を単離するステップは、培地から化合物1を単離するステップを含む。いくつかの実施形態において、該方法は、化合物1を精製するステップを含む。いくつかの実施形態において、化合物1を精製するステップは、HPLC、固相抽出、またはそれらの組合せを含む。いくつかの実施形態において、精製ステップは、組換え細胞を収穫するステップ、上清を保存するステップ、および細胞を破碎するステップを含む。いくつかの実施形態において、破碎ステップは、細胞を剪断力または界面活性剤での洗浄に供して破碎物を得るステップを含む。いくつかの実施形態において、剪断力は、超音波処理法、フレンチプレス処理された細胞、またはビーズによるものである。いくつかの実施形態において、破碎物は、濾過ステップおよび精製ステップに供される。いくつかの実施形態において、破碎物は、濾過され、固相抽出によって精製される。

【0189】

いくつかの実施形態において、化合物1

10

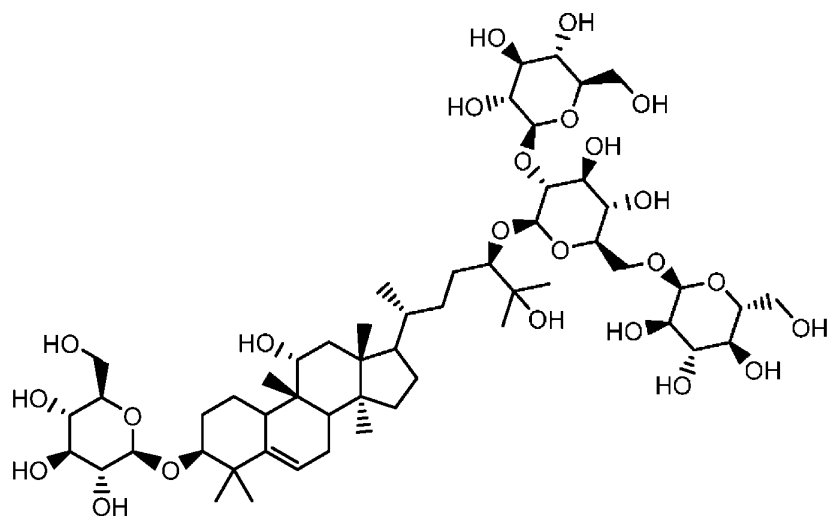
20

30

40

50

【化 2 0】



10

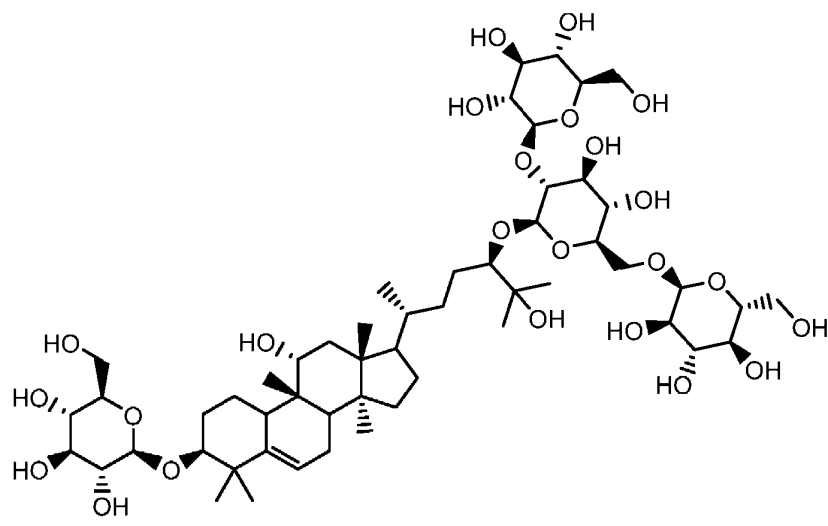
の構造を有する化合物が提供され、ここで、該化合物は、本明細書で提供される代替的方法のいずれか 1 つの方法によって製造される。

【 0 1 9 0】

いくつかの実施形態において、以下：

20

【化 2 1】



30

の構造を有する化合物 1 を含む細胞破砕物が提供される。

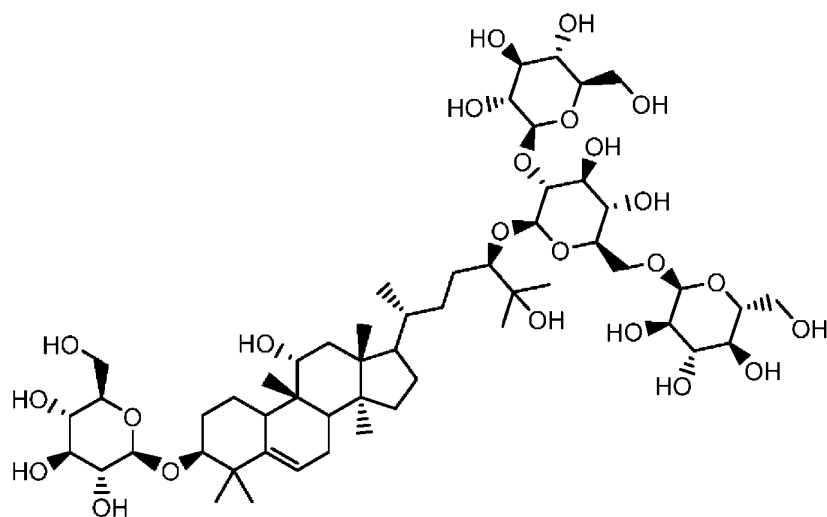
【 0 1 9 1】

いくつかの実施形態において、以下：

40

50

【化 2 2】



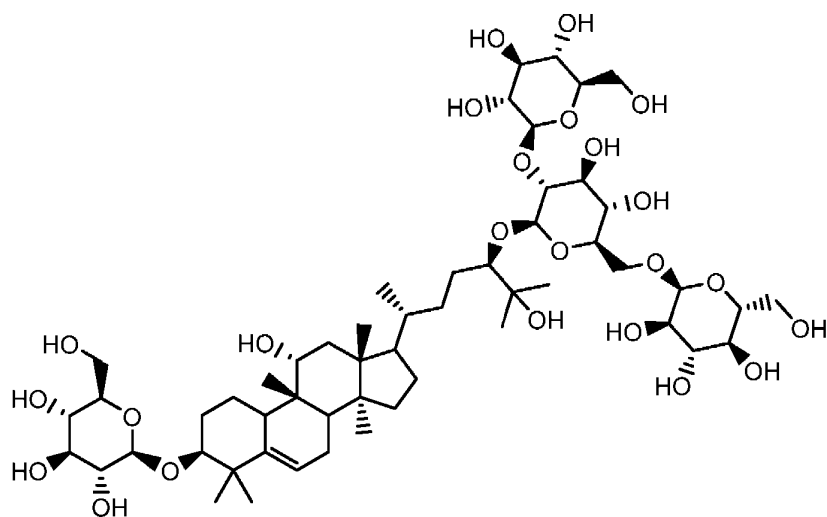
(1)

の構造を有する化合物 1 と、モグロシド I I I E からの化合物 1 の製造を触媒することができる酵素をコードする遺伝子とを含む組換え細胞が提供される。いくつかの実施形態において、遺伝子は、組換え細胞に対する異種遺伝子である。

【 0 1 9 2】

いくつかの実施形態において、モグロシド I I I E からの、以下：

【化 2 3】



(1)

の構造を有する化合物 1 の製造を触媒することができる第 1 の酵素をコードする第 1 の遺伝子を含む組換え細胞が提供される。いくつかの実施形態において、第 1 の酵素は、配列番号 1、3、78～101、148、または 154（CGTアーゼ）に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第 1 の酵素は、配列番号 1、3、78～101、148、または 154（CGTアーゼ）のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第 1 の酵素は、デキストランスクラーゼである。いくつかの実施形態において、デキストランスクラーゼは、配列番号 2、103、106～110、156、および 896 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。いくつかの実施形態において、デキストランスクラーゼは、配列番号 2、103、104、または 105 のアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。

いくつかの実施形態において、デキストランスクラーゼは、配列番号 2、103～110、および 156～162、および 896 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。いくつかの実施形態において、DexT は、配列番号 104 または 105 に示す核酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第 1 の酵素は、トランスグルコシダーゼである。いくつかの実施形態において、トランスグルコシダーゼは、配列番号 201 または配列番号 291 の配列に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、組換え細胞は、ウリジンニリン酸グルコシルトランスフェラーゼ (UGT) をコードする第 2 の遺伝子をさらに含む。いくつかの実施形態において、UGT は、配列番号 4、5、6、7、8、9、15、16、17、18、19、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および 1094～1149 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、UGT は、配列番号 4、5、6、7、8、9、15、16、17、18、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および 1094～1149 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。いくつかの実施形態において、UGT は、UGT1495 (配列番号 10)、UGT1817 (配列番号 11)、UGT5914 (配列番号 12)、UGT8468 (配列番号 13)、もしくは UGT10391 (配列番号 14)、または配列番号 1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および 1093 のいずれか 1 つに示す配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、細胞は、UGT98、または UGT SK98 をコードする第 3 の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、UGT98 または UGT SK98 は、配列番号 9、407、または 16 に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞は、エポキシドヒドロラーゼをコードする第 4 の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、エポキシドヒドロラーゼは、配列番号 21～30、および 309～314 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞は、P450 をコードする第 5 の配列を含む。いくつかの実施形態において、P450 は、配列番号 20、49、308、315、または 317 に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、P450 は、配列番号 31～48、316、431、871、873、875、877、879、881、883、885、887、および 891 のいずれか 1 つに示す配列を含む遺伝子によってコードされる。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼをコードする第 6 の配列をさらに含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼは、配列番号 70～73、75～77、319、321、323、325、327～333、420、422、424、426、446、902、904、および 906 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼポリペプチドは、配列番号 73 に記載の示す配列を含む C 末端部分を含む。

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼポリペプチドをコードする遺伝子は、コドン最適化されている。いくつかの実施形態において、コドン最適化遺伝子は、配列番号 74 に示す核酸配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞は、スクアレノエポキシダーゼをコードする第 7 の遺伝子をさらに含む。いくつかの実施形態において、スクアレノエポキシダーゼは、配列番号 50 ~ 56、60、61、334、および 335 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞は、スクアレノシンターゼをコードする第 8 の遺伝子をさらに含む。いくつかの実施形態において、第 8 の遺伝子は、配列番号 69 または配列番号 336 に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞は、ファルネシル PP シンターゼをコードする第 9 の遺伝子をさらに含む。いくつかの実施形態において、ファルネシル PP シンターゼは、配列番号 338 に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞は、哺乳動物細胞、細菌細胞、真菌細胞、または昆虫細胞である。いくつかの実施形態において、細胞は、酵母細胞である。酵母の非限定的な例には、カンジダ (*Candida*)、サッカラオミセス (*Saccharomyces*)、サッカロミコチナ (*Saccharomycotina*)、タフリノミコチナ (*Taphrinomycotina*)、シゾサッカロミセテス (*Schizosaccharomycetes*)、コマガテラ (*Komagataella*)、バシディオミコタ (*Basidiomycota*)、アガリコミコチナ (*Agaricomycotina*)、トレメロミセテス (*Tremellomycetes*)、プシニオミコチナ (*Pucciniomycotina*)、アウレオバシジウム (*Aureobasidium*)、コニオケーテ (*Coniochaeta*)、およびミクロボリオミセテス (*Microbotryomycetes*) が含まれる。いくつかの実施形態において、植物は、シライチア (*Siraitia*)、モモルディカ (*Momordica*)、ジノステマ (*Gynostemma*)、ククルビタ (*Cucurbita*)、ククミス (*Cucumis*)、アラビドプシス (*Arabidopsis*)、アルテミシア (*Artemisia*)、ステビア (*Stevia*)、パナックス (*Panax*)、ウィタニア (*Withania*)、ユーフォルビア (*Euphorbia*)、メディカゴ (*Medicago*)、クロロフィツム (*Chlorophytum*)、エレウテロコッカス (*Eleutherococcus*)、アラリア (*Aralia*)、モルス (*Morus*)、メディカゴ (*Medicago*)、ベツラ (*Betula*)、アストラガルス (*Astragalus*)、ジャトロファ (*Jatropha*)、カメリア (*Camellia*)、ハイフォロマ (*Hypholoma*)、アスペルギルス (*Aspergillus*)、ソラナム (*Solanum*)、フペルジア (*Huperzia*)、シュードステラリア (*Pseudostellaria*)、コルコルス (*Corchorus*)、ヘデラ (*Hedera*)、マルカンチア (*Marchantia*)、およびモルス (*Morus*) からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、真菌は、トリコフィトン (*Trichophyton*)、サンファンポルス (*Sanghuangporus*)、タイワノフングス (*Taiwanofungus*)、モニリオフトラ (*Moniliophthora*)、マルソニナ (*Marssonina*)、ディプロディア (*Diplodia*)、レンティヌラ (*Lentinula*)、キサントフィロミセス (*Xanthophyllomyces*)、ポコニア (*Pochonia*)、コレトトリカム (*Colletotrichum*)、ディアポルテ (*Diaporthe*)、ヒストプラズマ (*Histoplasma*)、コクシジオイデス (*Coccidioides*)、ヒストプラズマ (*Histoplasma*)、サンファンポルス (*Sanghuangporus*)、アウレオバシジウム (*Aureobasidium*)、ポコニア (*Pochonia*)、ペニシリウム (*Penicillium*)、スポロトリクス (*Sporothrix*)、またはメタリジウム (*Metarhizium*) である。

【0193】

いくつかの実施形態において、細胞は、配列番号 897、899、909、911、913、418、421、423、425、427、871、873、901、903、または 905 のいずれか 1 つに示す酵素の配列を含む。いくつかの実施形態において、酵素は、配列番号 420、422、424、426、446、872、874 ~ 896、89

10

20

30

40

50

8、900、902、904、906、908、910、912、および951～1012に示す配列を含むか、またはこの配列によってコードされる。

【0194】

いくつかの実施形態において、DNAは、遺伝子合成により得ることができる。これは、例えばGenescriptまたはIDTのいずれかにより行うことができる。DNAは、標準的な分子生物学の手法により、例えば、pQE1、pGEX-4t3、pDest-17、pET系列、pFASTBACなどの過剰発現ベクターにクローニングすることができる。E. コリ (E. coli) 宿主株は、OD600=1で誘導のために1mMのIPTGを使用して酵素（すなわち、Top10またはBL21系列+/-codon plus）を製造するために使用することができる。E. コリ (E. coli) 株は、37℃、250rpmで増殖させ、誘導中に室温または30℃（150rpm）に切り替えることができる。必要に応じて、一部の酵素は、pFASTBACおよび最適化されたMOIを使用してSF9昆虫細胞株により発現させることもできる。酵素を含む粗抽出物は、超音波処理によって製造し、本明細書に記載の反応に使用することができる。すべてのUDP-グリコシルトランスフェラーゼ反応にはスクロースシンターゼが含まれており、遺伝子合成によりA. タリアナ (A. thaliana) から取得し、E. コリ (E. coli) で発現させることができる。

【0195】

高グリコシル化モグロシドの加水分解による化合物1の製造

いくつかの実施形態において、高グリコシル化モグロシドを加水分解して、化合物1を製造することができる。高グリコシル化モグロシドの非限定的な例には、モグロシドV、シアメノシドI、モグロシドIVE、イソモグロシドV、モグロシドIIIE、11-デオキシモグロシドV、11-オキシモグロシドV、モグロシドVI、モグロシドIVA、モグロシドIIA、モグロシドIIA1、モグロシドIIA2、モグロシドIA、11-オキシモグロシドVI、11-オキシモグロシドIIIE、11-オキシモグロシドIVE、モグロシドIE、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシドIIE、モグロシドIIIA2、およびモグロシドIIIが含まれる。化合物1の製造のための加水分解プロセスを触媒することができる酵素は、例えば、CGTアーゼ（例えば、デンプンなしで加水分解を示す）、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、トランスグルコシダーゼ、アミラーゼ、ペクチナーゼ、デキストラナーゼ、および真菌ラクターゼであることができる。

【0196】

いくつかの実施形態において、化合物1は、組換え細胞における加水分解酵素に対する耐性を示し、ここで、加水分解酵素は、モグロシドVI、モグロシドV、モグロシドIVをモグロシドIIIEに加水分解する能力を示す。化合物1に存在するα結合グリコシドは、加水分解に対する耐性を示すため、他のモグロシド（β結合グリコシド）に比べて固有の利点を提供する。微生物による化合物1の製造中に、組換え宿主細胞（例えば、微生物宿主細胞）は、不要なβ結合モグロシドを加水分解してモグロシドIIIEに戻すことができる。いかなる特定の理論にも拘束されるものではないが、以下の理由から、宿主細胞による加水分解により化合物1の純度を向上させることができると考えられる：1）不要なモグロシドVI、モグロシドV、およびモグロシドIVのレベルが低減すること、および/または2）加水分解により、化合物1の製造のための前駆体として使用することができる利用可能なモグロシドIIIEの量が増加すること。

【0197】

モグロシド化合物の精製

いくつかの実施形態は、モグロシド化合物、例えば、化合物1を単離するステップを含む。いくつかの実施形態において、化合物1を単離するステップは、組換え宿主細胞を破碎するステップを含む。いくつかの実施形態において、化合物1を単離するステップは、培地から化合物1を単離するステップを含む。いくつかの実施形態において、該方法は、化合物1を精製するステップをさらに含む。いくつかの実施形態において、化合物1を精製するステップは、HPLC、固相抽出、またはそれらの組合せを含む。いくつかの実施形態において、精製ステップは、組換え細胞を収穫するステップ、上清を保存するステッ

プ、および細胞を破碎するステップを含む。いくつかの実施形態において、破碎ステップは、細胞を剪断力または界面活性剤での洗浄に供して破碎物を得るステップを含む。いくつかの実施形態において、剪断力は、超音波処理法、フレンチプレス処理された細胞、またはビーズによるものである。いくつかの実施形態において、破碎物は、濾過ステップおよび精製ステップに供される。いくつかの実施形態において、破碎物は、濾過され、固相抽出によって精製される。次に、破碎物を濾過し、硫酸アンモニウムで処理してタンパク質を除去し、C18 HPLC (5 X 10 cm Atlantis prep T3 OBD column, 5 μ m, Waters) にて、30分間かけて10→30%BとするA/Bグラジエント (A=水、B=アセトニトリル) を用いて注入することにより分画し、95%のBで洗浄した後、1%で再平衡化する (分析の合計時間=42分間)。これらの分析物は、風袋を秤量したチューブ (12フラクション/プレート、1回の分析につき3プレート) に30mL/フラクションで回収することができる。破碎物を遠心分離して、固形物および粒子状物質を除去することもできる。その後、プレートをGenevac HT12/HT24で乾燥させることができる。所望の化合物は、他の異性体とともにフラクション21に溶出されることが予想される。プールされたフラクションを、47回の分析で、フルオロフェニルHPLCカラム (3 X 10 cm, Xselect fluoro-phenyl OBD column, 5 μ m, Waters) にて、35分間かけて15→30%BとするA/Bグラジエント (A=水、B=アセトニトリル) を用いてさらに分画し、95%のBで洗浄した後、15%で再平衡化する (分析の合計時間=45分間)。風袋を秤量した12本のチューブ (12フラクション/プレート、1回の分析につき1プレート) に30mL/フラクションで、各分析物を回収した。所望の純度を有する所望のピークを含むフラクションを、UPLC分析に基づいてプールし、減圧下で乾燥させて、帯白色の粉末状固体を得ることができる。純粋な化合物を10mLの水に再懸濁/溶解させ、凍結乾燥させることで、少なくとも95%の純度を得ることができる。

【0198】

化合物1の精製のために、いくつかの実施形態において、化合物は、固相抽出によって精製することができ、これは、HPLCの必要性を排除し得る。化合物1は、例えば、70%、80%、90%、95%、98%、99%、もしくは100%の純度まで、もしくは約70%、約80%、約90%、約95%、約98%、約99%、もしくは約100%の純度まで、または前述の値のいずれか2つによって示される範囲内のいずれかのレベルの純度まで、精製することができる。いくつかの実施形態において、固相抽出によって精製された化合物1は、HPLCで精製された材料と同一であるか、または実質的に同一である。いくつかの実施形態において、該方法は、HPLCカラムで組換え細胞からの破碎物を分画するステップと、化合物1を含む溶出画分を回収するステップとを含む。

【0199】

発酵

宿主細胞は、化合物1の製造のために本明細書に記載されるように発酵させることができる。これには、空気の有無にかかわらず生じ、例えば嫌気性環境で行うことができる方法も含まれる。全細胞 (例えば、組換え宿主細胞) は、発酵プロセス中または反応緩衝剤中に存在することができる。

【0200】

化合物1を製造するために、ラカンカ (シライチア・グロスベノリイ (Siraitia grosvenorii)) 抽出物を使用して細胞に接触させることもできる。いくつかの実施形態において、化合物1の製造方法が提供される。該方法は、ラカンカ抽出物を、モグロシド、例えば、モグロシドV、シアメノシドI、モグロシドIVE、イソモグロシドV、モグロシドIEIE、11-デオキシモグロシドV、11-オキソモグロシドV、モグロシドVI、モグロシドIVA、モグロシドIIA、モグロシドIIA1、モグロシドIIA2、モグロシドIA、11-オキソモグロシドVI、11-オキソモグロシドIEIE、11-オキソモグロシドIVE、モグロシドIE、モグロール、11-オキソモグロール、モグロシドIEIE、モグロシドIIIA2、およびモグロシドIIIからの化合物1の製造を触媒することができる第1の酵素と接触させるステップを含むことができる。いくつかの実施形態

において、接触ステップは、モグロール果実抽出物を、第1の酵素をコードする第1の遺伝子を含む組換え宿主細胞と接触させるステップを含む。いくつかの実施形態において、第1の遺伝子は、組換え宿主細胞に対して異種である。いくつかの実施形態において、モグロール果実抽出物は、第1の酵素をコードする第1のポリヌクレオチドを含む組換え宿主細胞において第1の酵素と接触する。いくつかの実施形態において、モグロシドIIIEは、モグロール果実抽出物中に存在する。いくつかの実施形態において、モグロシドIIIEはまた、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、該方法は、第1の酵素が発現される条件下で、培地中で組換え宿主細胞を培養するステップをさらに含む。いくつかの実施形態において、第1の酵素は、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、シクロマルトデキストリングルカノトランスフェラーゼ（CGTアーゼ）、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上である。いくつかの実施形態において、第1の酵素は、CGTアーゼである。例えば、CGTアーゼは、配列番号1、3、78～101、148、および154のいずれか1つの配列に対して、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、またはそれを上回る配列同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。いくつかの実施形態において、CGTアーゼは、配列番号1、3、78～101、148、および154のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、CGTアーゼは、配列番号78～101のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の酵素は、デキストランスクラーゼである。いくつかの実施形態において、デキストランスクラーゼは、配列番号2、103、106～110、156、および896に示す配列のいずれか1つに対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、デキストランスクラーゼは、配列番号2、103、106～110、156、および896のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の酵素は、トランスグルコシダーゼである。いくつかの実施形態において、トランスグルコシダーゼは、配列番号163～290、および723のいずれか1つの配列に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、トランスグルコシダーゼは、配列番号163～290、および723のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の酵素は、β-グルコシダーゼである。いくつかの実施形態において、β-グルコシダーゼは、配列番号292に示すアミノ酸配列、または配列番号292に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、モグロール果実抽出物は、モグロシドIIIAを含み、組換え宿主細胞は、モグロシドIIIAからのモグロシドIIIEの製造を触媒することができる第2の酵素をコードする第2の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、モグロシドIIIAはまた、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、第2の酵素は、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上である。いくつかの実施形態において、第2の酵素は、ウリジンリリン酸グルコシルトランスフェラーゼ（UGT）である。いくつかの実施形態において、UGTは、UGT73C3（配列番号4）、UGT73C6（配列番号5、444、または445）、85C2（配列番号6）、UGT73C5（配列番号7）、UGT73E1（配列番号8）、UGT98（配列番号9、または407）、UGT1576（配列番号15）、UGT SK98（配列番号16）、UGT430（配列番号17）、UGT1697（配列番号18）、UGT11789（配列番号19）であるか、またはUGT73C3（配列番号4）、UGT73C6（

10

20

30

40

50

配列番号 5、444、または 445)、85C2 (配列番号 6)、UGT73C5 (配列番号 7)、UGT73E1 (配列番号 8)、UGT98 (配列番号 9、または 407)、UGT1576 (配列番号 15)、UGT SK98 (配列番号 16)、UGT430 (配列番号 17)、UGT1697 (配列番号 18)、UGT11789 (配列番号 19) に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、もしくはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、UGT は、UGT1495 (配列番号 10)、UGT1817 (配列番号 11)、UGT5914 (配列番号 12)、UGT8468 (配列番号 13)、または UGT10391 (配列番号 14) に示す遺伝子によってコードされる。いくつかの実施形態において、ラカンカ抽出物は、モグロールを含む。いくつかの実施形態において、該方法は、ラカンカ抽出物のモグロールを接触させるステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、モグロールからのモグロシド I I I E の製造を触媒することができる 1 つ以上の酵素をコードする 1 つ以上の遺伝子をさらに含む。いくつかの実施形態において、モグロールはまた、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、1 つ以上の酵素は、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を含む。いくつかの実施形態において、第 2 の酵素は、ウリジンニリン酸グリコシルトランスフェラーゼ (UGT) である。いくつかの実施形態において、UGT は、UGT73C3、UGT73C6、85C2、UGT73C5、UGT73E1、UGT98、UGT1495、UGT1817、UGT5914、UGT8468、UGT10391、UGT1576、UGT SK98、UGT430、UGT1697、もしくは UGT11789 であるか、またはそれらの UGT に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、該方法は、ラカンカ抽出物を組換え宿主細胞と接触させてモグロシド I I I E を製造するステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、モグロシド化合物からのモグロシド I I I E の製造を触媒することができる 1 つ以上の酵素をコードする 1 つ以上の遺伝子をさらに含む。ここで、モグロシド化合物は、モグロシド I A 1、モグロシド I E 1、モグロシド I I A 1、モグロシド I I E、モグロシド I I A、モグロシド I I I A 1、モグロシド I I I A 2、モグロシド I I I、モグロシド I V、モグロシド I V A、モグロシド V、またはシアメノシドの 1 つ以上である。いくつかの実施形態において、モグロシド化合物はまた、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、1 つ以上の酵素は、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を含む。いくつかの実施形態において、モグロシド化合物は、モグロシド I I E である。いくつかの実施形態において、1 つ以上の酵素は、配列番号 293~303 のいずれか 1 つに示すアミノ酸を含む。いくつかの実施形態において、モグロシド化合物は、モグロシド (morgroside) I I A またはモグロシド I I E であり、ラカンカ抽出物を、1 つ以上の酵素を発現する組換え細胞と接触させると、モグロシド I I I A、モグロシド I V E、およびモグロシド V が製造される。いくつかの実施形態において、1 つ以上の酵素は、配列番号 304 に示すアミノ酸を含む。いくつかの実施形態において、1 つ以上の酵素は、配列番号 305 に示す配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、ラカンカ抽出物は、モグロシド I A 1 を含む。いくつかの実施形態において、該方法は、ラカンカ抽出物を組換え宿主細胞と接触させるステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、UGT98 または UGT SK98 をコードする遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、UGT98 または UGT SK98 酵素は、配列番号 9、407、16、または 306 に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態

10

20

30

40

50

において、UGT98は、配列番号307に示す配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、接触により、細胞でモグロシドIIAが製造される。いくつかの実施形態において、ラカンカ抽出物は、11-ヒドロキシ-24, 25エポキシクルビタジエノールを含む。いくつかの実施形態において、該方法は、ラカンカ抽出物を組換え宿主細胞と接触させるステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、エポキシドヒドロラーゼをコードする第3の遺伝子をさらに含む。いくつかの実施形態において、11-ヒドロキシ-24, 25エポキシクルビタジエノールはまた、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、該方法は、ラカンカ抽出物を組換え宿主細胞と接触させるステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、シトクロムP450またはエポキシドヒドロラーゼをコードする第4の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、11-ヒドロキシクルビタジエノールはまた、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、ラカンカ抽出物は、3, 24, 25トリヒドロキシクルビタジエノールを含む。いくつかの実施形態において、該方法は、ラカンカ抽出物を組換え宿主細胞と接触させるステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、シトクロムP450をコードする第5の遺伝子をさらに含む。いくつかの実施形態において、3, 24, 25トリヒドロキシクルビタジエノールはまた、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、モグロール果実

抽出物との接触によって、組換え宿主細胞でモグロールが製造される。いくつかの実施形態において、シトクロムP450は、配列番号20または308に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、エポキシドヒドロラーゼは、配列番号21~30、および309~314のいずれか1つに対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ラカンカ抽出物は、クルビタジエノールを含む。いくつかの実施形態において、該方法は、クルビタジエノールを組換え宿主細胞と接触させるステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、シトクロムP450をコードする遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、接触によって、11-ヒドロキシクルビタジエノールが製造される。いくつかの実施形態において、11-ヒドロキシクルビタジエノールは、CYP87D18またはSgCPRタンパク質をコードする遺伝子を含む細胞において発現される。いくつかの実施形態において、CYP87D18またはSgCPRは、配列番号315、872、または874に示す配列を含む。いくつかの実施形態において、CYP87D18またはSgCPRは、配列番号316、871、または873によってコードされる。いくつかの実施形態において、クルビタジエノールはまた、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、シトクロムP450をコードする遺伝子は、配列番号31~48、316、431、871、873、875、877、879、881、883、885、887、および891のいずれか1つに対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有する核酸配列を含む。いくつかの実施形態において、シトクロムP450は、配列番号20または49に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ラカンカ抽出物は、2, 3-オキシドスクアレンを含む。いくつかの実施形態において、該方法は、ラカンカ抽出物の2, 3-オキシドスクアレンを組換え宿主細胞と接触させるステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、クルビタジエノールシンターゼをコードする第7の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、クルビタジエノールシンターゼは、配列番号70~73、75~77、319、321、323、325、327~333、420、422、424、426、446、902、904、または906に対して、少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか2つの間の範囲

10

20

30

40

50

の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼは、配列番号 74、320、322、324、326、328、418、421、423、425、427、897、899、901、903、または 905 に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有する配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、ラカンカ抽出物は、モグロシド中間体、例えば、モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド IVE、イソモグロシド V、モグロシド IIIIE、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド VI、モグロシド IVA、モグロシド IIA、モグロシド IIA1、モグロシド IIA2、モグロシド IA、11-オキシモグロシド VI、11-オキシモグロシド IIIIE、11-オキシモグロシド IVE、モグロシド IE、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド IIIIE、モグロシド IIIIA2、およびモグロシド IIIIを含む。いくつかの実施形態において、該方法は、モグロシド中間体を組換え宿主細胞と接触させるステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、ククルビタジエノールシンターゼをコードする第 7 の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼは、配列番号 70~73、75~77、319、321、323、325、327~333、420、422、424、426、446、902、904、または 906 に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼは、配列番号 74、320、322、324、326、328、418、421、423、425、427、897、899、901、903、または 905 に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有する配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、接触によって、ククルビタジエノールが製造される。いくつかの実施形態において、2, 3-オキシドスクアレンおよびジエポキシスクアレンはまた、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、2, 3-オキシドスクアレンまたはジエポキシスクアレンは、配列番号 898 もしくは 900 に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、もしくはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有する配列を含む酵素によって製造されるか、または配列番号 898 もしくは 900 に示す配列を含む酵素によって製造される。いくつかの実施形態において、2, 3-オキシドスクアレンまたはジエポキシスクアレンは、配列番号 897 もしくは 899 に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、もしくはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる酵素によって製造されるか、または配列番号 897 もしくは 899 に示す核酸によってコードされる酵素によって製造される。

【0201】

いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼは、配列番号 70~73、75~77、319、321、323、325、327~333、420、422、424、426、446、902、904、および 906 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼは、C. ペポ (C pepo)、S. グロスベノリイ (S grosvenorii)、C. サティヴァス (C sativus)、C. メロ (C melo)、C. モスカータ (C moschata)、および C. マクシマ (C maxim) 由来のククルビタジエノールシンターゼである。いくつかの実施形態において、ククルビタジエノールシンターゼは、配列番号 74、320、322、324、326、328、418、421、423、425、427、897、899、901、903、および 905 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、もしくはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有する核酸配

列を含む遺伝子によってコードされるか、または配列番号 74、320、322、324、326、328、418、421、423、425、427、897、899、901、903、および 905 のいずれか 1 つに示す核酸配列を含む遺伝子によってコードされる。いくつかの実施形態において、11-OH ククルピタジエノールは、細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、11-OH ククルピタジエノールは、CYP87D18 または SgCPR をコードする遺伝子を含む細胞において発現される。いくつかの実施形態において、CYP87D18 または SgCPR は、配列番号 315、872、もしくは 874 に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、もしくはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有する配列を含むか、または配列番号 315、872、もしくは 874 に示す配列を含む。いくつかの実施形態において、CYP87D18 または SgCPR は、配列番号 316、871、もしくは 873 に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、もしくはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有する配列によってコードされるか、または配列番号 316、871、もしくは 873 に示す配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、ラカンカ抽出物は、スクアレンを含む。いくつかの実施形態において、2,3-オキシドスクアレンまたはジエポキシスクアレンは、配列番号 898 または 900 に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはそれ上回る配列同一性を有する配列を含む酵素によって製造される。いくつかの実施形態において、2,3-オキシドスクアレンまたはジエポキシスクアレンは、配列番号 897 もしくは 899 に対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、もしくはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる酵素によって製造されるか、または配列番号 897 もしくは 899 に示す配列によってコードされる酵素によって製造される。いくつかの実施形態において、該方法は、スクアレンを組換え宿主細胞と接触させるステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、スクアレンエポキシダーゼをコードする第 8 の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、接触によって、2,3-オキシドスクアレンが製造される。いくつかの実施形態において、スクアレンはまた、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、スクアレンエポキシダーゼは、配列番号 50~56、60、61、334、および 335 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、100%、またはこれらの数値のいずれか 2 つの間の範囲の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、スクアレンエポキシドは、配列番号 335 に示す核酸配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、ラカンカ抽出物は、ファルネシルピロホスフェートを含む。いくつかの実施形態において、該方法は、ファルネシルピロホスフェートを組換え宿主細胞と接触させるステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、スクアレンシンターゼをコードする第 9 の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、接触によって、スクアレンが製造される。いくつかの実施形態において、ファルネシルピロホスフェートはまた、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、スクアレンシンターゼは、配列番号 69 および 336 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、またはそれを上回る配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、スクアレンシンターゼは、配列番号 337 に示す核酸配列を含む配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、ラカンカ抽出物は、ゲラニル-PP を含む。いくつかの実施形態において、該方法は、ゲラニル-PP を組換え宿主細胞と接触させるステップをさらに含み、組換え宿主細胞は、ファルネシル-PP シンターゼをコードする第 10 の遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、接触によって、ファルネシル-PP が製造される。いくつかの実施形態において、ゲラニル-PP はまた、組換え宿主細胞によって製造される。いくつかの実施形態において、ファルネシル-PP シンターゼは、配列番号 338 に対して、少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%

10

20

30

40

50

、少なくとも99%、またはそれを上回る配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、ファルネシル-PPシンターゼは、配列番号339に示す核酸配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、第1の遺伝子、第2の遺伝子、第3の遺伝子、第4の遺伝子、第5の遺伝子、第6の遺伝子、第7の遺伝子、第8の遺伝子、第9の遺伝子、および第10の遺伝子の1つ以上は、異種プロモーターに作動可能に連結されている。いくつかの実施形態において、異種プロモーターは、CMV、EF1a、SV40、PGK1、ヒトベータアクチン、CAG、GAL1、GAL10、TEF1、GDS、ADH1、CaMV35S、Ubi、T7、T7lac、Sp6、araBAD、trp、Lac、Ptac、pLプロモーター、またはそれらの組合せである。いくつかの実施形態において、プロモーターは、誘導性プロモーター、抑制性プロモーター、または構成的プロモーターである。いくつかの実施形態において、ピルビン酸、アセチルCoA、クエン酸、およびTCA回路中間体の1つ以上の製造は、組換え宿主細胞においてアップレギュレートされている。いくつかの実施形態において、サイトゾル局在化は、組換え宿主細胞においてアップレギュレートされている。いくつかの実施形態において、第1の遺伝子、第2の遺伝子、第3の遺伝子、第4の遺伝子、第5の遺伝子、第6の遺伝子、第7の遺伝子、第8の遺伝子、第9の遺伝子、および第10の遺伝子の1つ以上は、2A自己切断ペプチドをコードする少なくとも1つの配列を含む。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、植物細胞、二枚貝類細胞、魚類細胞、真菌細胞、細菌細胞、または哺乳動物細胞である。いくつかの実施形態において、植物は、シライチア (Siraitia)、モモルディカ (Momordica)、ジノステマ (Gynostemma)、ククルビタ (Cucurbita)、ククミス (Cucumis)、アラビドプシス (Arabidopsis)、アルテミシア (Artemisia)、ステビア (Stevia)、パナックス (Panax)、ウィタニア (Withania)、ユーフォルビア (Euphorbia)、メディカゴ (Medicago)、クロロフィツム (Chlorophytum)、エレウテロコッカス (Eleutherococcus)、アラリア (Aralia)、モルス (Morus)、メディカゴ (Medicago)、ベツラ (Betula)、アストラガルス (Astragalus)、ジャトロファ (Jatropha)、カメリア (Camellia)、ハイフォロマ (Hypholoma)、アスペルギルス (Aspergillus)、ソラナム (Solanum)、フペルジア (Huperzia)、シュードステラリア (Pseudostellaria)、コルコルス (Corchorus)、ヘデラ (Hedera)、マルカンチア (Marchantia)、およびモルス (Morus) から選択される。いくつかの実施形態において、真菌は、トリコフィトン (Trichophyton)、サンファンポルス (Sanghuangporus)、タイワノフングス (Taiwanofungus)、モニリオフトラ (Moniliophthora)、マルソニナ (Marssonina)、ディプロディア (Diplodia)、レンティヌラ (Lentinula)、キサントフィロミセス (Xanthophyllumyces)、ポコニア (Pochonia)、コレトトリカム (Colletotrichum)、ディアポルテ (Diaporthe)、ヒストプラズマ (Histoplasma)、コクシジオイデス (Coccidioides)、ヒストプラズマ (Histoplasma)、サンファンポルス (Sanghuangporus)、アウレオバシジウム (Aureobasidium)、ポコニア (Pochonia)、ペニシリウム (Penicillium)、スポロトリクス (Sporothrix)、メタリジウム (Metarhizium)、アスペルギルス (Aspergillus)、ヤロウィア (Yarrowia)、およびリボミセス (Lipomyces) から選択される。いくつかの実施形態において、真菌は、アスペルギルス・ニデュランス (Aspergillus nidulans)、ヤロウィア・リポリティカ (Yarrowia lipolytica)、またはロドスポリン・トルロイデス (Rhodosporium toruloides) である。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞は、酵母細胞である。いくつかの実施形態において、酵母は、カンジダ (Candida)、サッカラオミセス (Saccharomyces)、サッカロミコチナ (Saccharomycotina)、タフリノミコチナ (Taphrinomycotina)、シゾサッカロミセテス (Schizosaccharomycetes)、コマガテラ (Komagataella)、バシディオミコタ (Basidiomycota)、アガリコミコチナ (Agaricomycotina)、トレメロミセテス (Tremellomycetes)、プシニオミコチナ (Pucciniomycotina)、アウレオバシジウム (Aureobasidium)、コニオケータ (Coniochaeta)、ロドスポリジウム (Rhodosporidium)、およびマイクロボリオミセテス (Microboryomycetes) から選択される。いくつかの実施形態において、細菌

10

20

30

40

50

は、フランキア (Frankia)、アクチノ (Actino) 細菌、ストレプトミセス (Streptomyces)、エンテロコッカス (Enterococcus) からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、細菌は、エンテロコッカス・フェカリス (Enterococcus faecalis) である。いくつかの実施形態において、第1の遺伝子、第2の遺伝子、第3の遺伝子、第4の遺伝子、第5の遺伝子、第6の遺伝子、第7の遺伝子、第8の遺伝子、第9の遺伝子、および第10の遺伝子の1つ以上は、細菌細胞、哺乳動物細胞、植物細胞、真菌細胞、または昆虫細胞における発現のためにコドン最適化されている。いくつかの実施形態において、第1の遺伝子、第2の遺伝子、第3の遺伝子、第4の遺伝子、第5の遺伝子、第6の遺伝子、第7の遺伝子、第8の遺伝子、第9の遺伝子、および第10の遺伝子の1つ以上は、コードされた酵素の活性の増加に対する機能的突然変異を含む。いくつかの実施形態において、組換え宿主細胞を培養するステップは、pH、溶存酸素レベル、窒素レベル、またはそれらの培養条件の組合せについて培養をモニタリングするステップを含む。いくつかの実施形態において、該方法は、化合物1を単離するステップを含む。いくつかの実施形態において、化合物1を単離するステップは、組換え宿主細胞を破碎するステップを含む。いくつかの実施形態において、化合物1を単離するステップは、培地から化合物1を単離するステップを含む。いくつかの実施形態において、該方法は、化合物1を精製するステップをさらに含む。いくつかの実

施形態において、化合物1を精製するステップは、HPLC、固相抽出、またはそれらの組合せを含む。いくつかの実施形態において、精製ステップは、組換え細胞を収穫するステップ、上清を保存するステップ、および細胞を破碎するステップをさらに含む。いくつかの実施形態において、破碎ステップは、細胞を剪断力または界面活性剤での洗浄に供して破碎物を得るステップを含む。いくつかの実施形態において、剪断力は、超音波処理法、フレンチプレス処理された細胞、またはビーズによるものである。いくつかの実施形態において、破碎物は、濾過ステップおよび精製ステップに供される。いくつかの実施形態において、破碎物は、濾過され、固相抽出によって精製される。いくつかの実施形態において、該方法はさらに、組換え宿主細胞の増殖培地へのラカンカ抽出物の第2または第3の添加を含む。さらに該方法は、ラカンカ抽出物を組換え細胞破碎物と接触させることによって行うことができ、組換え細胞破碎物は、本明細書に挙げた発現された酵素を含む。

【0202】

総じて、本明細書に開示および記載される化合物は、個別にまたは組み合わせて、例えば、摂取可能な組成物などの組成物で提供することができる。一実施形態において、本明細書に開示および記載される化合物は、個別にまたは組み合わせて、摂取可能な組成物に甘味を提供することができる。他の実施形態において、本明細書に開示および記載される化合物は、個別にまたは組み合わせて、別の甘味料の甘味を増強するための甘味増強剤として作用することができる。他の実施形態において、本明細書に開示される化合物は、本明細書に開示および記載される化合物の1つ以上を甘味料組成物中の他の1つ以上の甘味料と組み合わせることによって、甘味料組成物により砂糖様の時間プロファイルおよび／またはフレーバープロファイルを与える。もう1つの実施形態において、本明細書に開示および記載される化合物は、個別にまたは組み合わせて、その組成物を本明細書に開示および記載される化合物と接触させて修飾組成物を形成することにより、組成物の甘味を増加または増強することができる。もう1つの実施形態において、本明細書に開示および記載される化合物は、個別にまたは組み合わせて、味蕾以外の身体において発現される甘味受容体および／またはそれらのリガンドを調節する組成物であることができる。

【0203】

本明細書で使用される場合、「摂取可能な組成物」には、消費が意図されるか否かにかかわらず、単独で、または別の物質と一緒に、経口摂取するのに適したあらゆる組成物が含まれる。摂取可能な組成物には、「食品または飲料製品」と「非食用製品」との双方が含まれる。「食品または飲料製品」とは、固体、半固体、または液体（例えば、飲料）を含む、人間または動物による消費が意図されるあらゆる食用製品を意味し、機能性食品（例えば、栄養素を供給するという基本的な栄養機能を越えた健康促進および／または疾患

予防の特性を有することが謳われているあらゆる生鮮または加工食品）が含まれる。「非食品または飲料製品」または「非摂取性組成物」という用語は、消費以外の目的で、または食品もしくは飲料として、人間または動物が経口摂取することができるあらゆる製品または組成物を含む。例えば、非食品もしくは飲料製品、または非摂取性組成物には、サプリメント、栄養補助食品、医薬品および市販薬、オーラルケア製品、例えば歯磨剤およびマウスウォッシュ、ならびにチューインガムが含まれる。

【0204】

いくつかの態様において、本明細書に開示される組成物は、少なくとも1つの追加の甘味料および／または甘味修飾剤をさらに含む。少なくとも1つの追加の甘味料および／または甘味修飾剤は、人工甘味料および／または甘味修飾剤、あるいは天然甘味料および／または甘味修飾剤であることができる。少なくとも1つの追加の甘味料および／または甘味修飾剤は、アビジアサポニン、アブルソシド、特にアブルソシドA、アブルソシドB、アブルソシドC、アブルソシドD、アセスルファムカリウム、アドバンタム、アルビジアサポニン、アリテーム、アスパルテム、スーパーアスパルテム、バユノシド (bayunosides)、特にバユノシド (bayunosides) 1、バユノシド (bayunosides) 2、ブラゼイン、ブリオシド、ブリオノシド、ブリオノズルコシド、カルノシフロシド、カレラメ、クルクリン、シアニン、クロロゲン酸、シクラメートおよびその塩、シクロカリオシドI、ジヒドロケルセチン-3-アセテート、ジヒドロフラベノール、ズルコシド、ガウディカウディオシド (gaudichaudioside)、グリチルリチン、グリチルリチン酸、ジペノシド、ヘマトキシリン、イソモグロシド、特にイソモグロシドV、ルグズナム (lugdunamine)、マガップ (magap)、マビンリン、ミクラクリン、モグロシド (ローハングオ)、特にモグロシドI VおよびモグロシドV、モナチンおよびその誘導体、モネリン、ムクロジオシド (mukurozioside)、ナリンジンジヒドロカルコン (NarDHC)、ネオヘスペリジンジヒドロカルコン (NHDC)、ネオテーム、オスラジン、ペンタジン、ペリアンドリンI~V、ペリラルチン、D-フェニルアラニン、フロミソシド、特にフロミソシド1、フロミソシド2、フロミソシド3、フロミソシド4、フロリジン、フィロダルシン、ポルポジオシド (polpodiosides)、ポリポドシドA、プテロカリオシド、レバウディオサイド、特に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G、レバウディオサイドH、レバウディオサイドM、ルブソシド、サッカリンおよびその塩および誘導体、スカンデノシド、セリグエアニン (selliguanin) A、シアメノシド、特にシアメノシドI、ステビア、ステビオールビオシド、ステビオシドおよび他のステビオールグリコシド、ストロジン、特にストロジン1、ストロジン2、ストロジン4、スアビオシドA、スアビオシドB、スアビオシドG、スアビオシドH、スアビオシドI、スアビオシドJ、スクラロース、スクロネート、スクロオクテート、タリン、テロスモシドA 15、タウマチン、特にタウマチンIおよびII、トランスアネトール、トランスシンナムアルデヒド、トリロバチン、D-トリプトファン、エリスリトール、ガラクトトール、マルチトールおよびソルビトールシロップを含む水素化デンプンシロップ、イノシトール、イソマルト、ラクチトール、マルチトール、マンニトール、キシリトール、アラビノース、デキストリン、デキストロース、フルクトース、高フルクトースコーンシロップ、フラクトオリゴ糖、フラクトオリゴ糖シロップ、ガラクトース、ガラクトオリゴ糖、グルコース、グルコースおよび（水素化）デンプンシロップ／加水分解物、イソマルツロース、ラクトース、加水分解ラクトース、マルトース、マンノース、ラムノース、リボース、スクロース、タガトース、トレハロースおよびキシロースからなる群から選択することができる。

【0205】

モグロシド化合物を含む組成物

本明細書には、化合物1および図43に示される化合物を含むがこれらに限定されない、本明細書に開示される1つ以上のモグロシド化合物を含む組成物、例えば摂取可能な組成物も開示される。いくつかの実施形態において、摂取可能な組成物は、飲料であること

10

20

30

40

50

ができる。例えば、飲料は、強化されたスパークリング飲料、コーラ、レモンライム風味のスパークリング飲料、オレンジ風味のスパークリング飲料、ブドウ風味のスパークリング飲料、イチゴ風味のスパークリング飲料、パイナップル風味のスパークリング飲料、ジンジャーエール、ルートビア、果汁、果物風味のジュース、ジュース飲料、ネクター、野菜ジュース、野菜風味のジュース、スポーツドリンク、エナジードリンク、エンハンストウォーター飲料、ビタミン入りのエンハンストウォーター、ニアウォーター飲料、ココナッツウォーター、茶タイプの飲料、コーヒー、ココア飲料、乳成分を含む飲料、穀類抽出物を含む飲料、およびスムージーからなる群から選択することができる。いくつかの実施形態において、飲料は、清涼飲料であることができる。

【0206】

「摂取が許容される成分」とは、経口摂取に適しており、本明細書に記載の化合物と組み合わせることで摂取可能な組成物を形成することができる物質である。摂取が許容される成分は、製品の使用目的に応じていずれの形態であってもよく、例えば、固体、半固体、液体、ペースト、ゲル、ローション、クリーム、フォーム状材料、懸濁液、溶液、またはそれらの任意の組合せ（例えば、固形分を含む液体）の形態であることができる。摂取が許容される成分は、人工のものであっても天然のものであってもよい。摂取が許容される成分には、中性、酸性もしくは塩基性pHの水、果汁もしくは野菜のジュース、酢、マリナード、ビール、ワイン、天然の水／脂肪エマルジョン、例えば、牛乳もしくは練乳、食用油およびショートニング、脂肪酸およびそれらのアルキルエステル、プロピレングリコールの低分子量オリゴマー、脂肪酸のグリセリルエステル、および水性媒体中のそのような疎水性物質の分散液もしくはエマルジョン、塩、例えば塩化ナトリウム、小麦粉、溶媒、例えばエタノール、固体食用希釈剤、例えば植物性粉末もしくは小麦粉、またはその他の液体ビヒクル；分散助剤または懸濁助剤；界面活性剤；等張剤；増粘剤または乳化剤、保存料；固体結合剤；潤滑剤など、多くの一般的な食品成分が含まれる。

【0207】

摂取が許容される追加の成分には、これらに限定されるものではないが、クエン酸、リン酸、アスコルビン酸、硫酸ナトリウム、乳酸、または酒石酸；例えば、カフェイン、キニーネ、緑茶、カテキン、ポリフェノール、ロブスタ種コーヒー生豆抽出物、コーヒー生豆抽出物、ホエイプロテインアイソレート、または塩化カリウムを含む苦味成分；例えば、カラメル色素、赤40号、黄5号、黄6号、青1号、赤3号、紫ニンジン、黒ニンジンジュース、紫サツマイモ、野菜ジュース、果汁、β-カロチン、ターメリッククルクミン、または二酸化チタンを含む着色料；例えば、安息香酸ナトリウム、安息香酸カリウム、ソルビン酸カリウム、メタ重硫酸ナトリウム、ソルビン酸、または安息香酸を含む保存料；例えば、アスコルビン酸、EDTAカルシウム二ナトリウム、アルファトコフェロール、混合トコフェロール、ローズマリー抽出物、ブドウ種子抽出物、レスベラトロール、またはヘキサメタリン酸ナトリウムを含む抗酸化剤；例えば、レスベラトロール、C-10、オメガ3脂肪酸、テアニン、塩化コリン（シトコリン）、繊維ゾル、イヌリン（チコリ根）、タウリン、パナックス・ジンセン(Panax ginseng)抽出物、グアナナ抽出物、ショウガ抽出物、L-フェニルアラニン、L-カルニチン、L-酒石酸塩、D-グルコノラクトン、イノシトール、バイオフィラノイド、エキナセア、ギンコビロバ、エルバメイト、アマニ油、ガルシニアカンボジア外皮抽出物、白茶抽出物、リボース、ミルクシスル抽出物、ブドウ種子抽出物、ピロジキシンHCl（ビタミンB6）、シアノオバラミン（cyanoobalamin）（ビタミンB12）、ナイアシンアミド（ビタミンB3）、ピオチン、乳酸カルシウム、パントテン酸カルシウム（パントテン酸）、リン酸カルシウム、炭酸カルシウム、塩化クロム、ポリニコチン酸クロム、硫酸銅、葉酸、ピロリン酸第二鉄、鉄、乳酸マグネシウム、炭酸マグネシウム、硫酸マグネシウム、リン酸一カリウム、リン酸一ナトリウム、リン、ヨウ化カリウム、リン酸カリウム、リボフラビン、硫酸ナトリウム、グルコン酸ナトリウム、ポリリン酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、チアミン-硝酸塩、ビタミンD3、パルミチン酸ビタミンA、グルコン酸亜鉛、乳酸亜鉛または硫酸亜鉛を含むビタミンまたは機能性成分；例えば、エステルガン（ester gun）、臭素化植物油

10

20

30

40

50

(BVO) またはスクロース酢酸イソブチル (SAIB) を含む起雲剤；例えば、クエン酸ナトリウム、クエン酸カリウムまたは塩を含む緩衝剤；例えば、プロピレングリコール、エチルアルコール、グリセリン、アラビアガム（アカシアガム）、マルトデキストリン、変性コーンスターチ、デキストロース、天然フレーバー、他の天然フレーバー（天然フレーバーWONF）を含む天然フレーバー、天然および人工フレーバー、人工フレーバー、二酸化ケイ素、炭酸マグネシウムまたはリン酸三カルシウムなどのフレーバー；および例えば、ペクチン、キサントガム、カルボキシメチルセルロース（CMC）、ポリソルベート60、ポリソルベート80、中鎖トリグリセリド、セルロースゲル、セルロースガム、カゼインナトリウム、変性食品デンプン、アラビアガム（アカシアガム）、またはカラギーナンを含む安定剤が含まれる。

10

【0208】

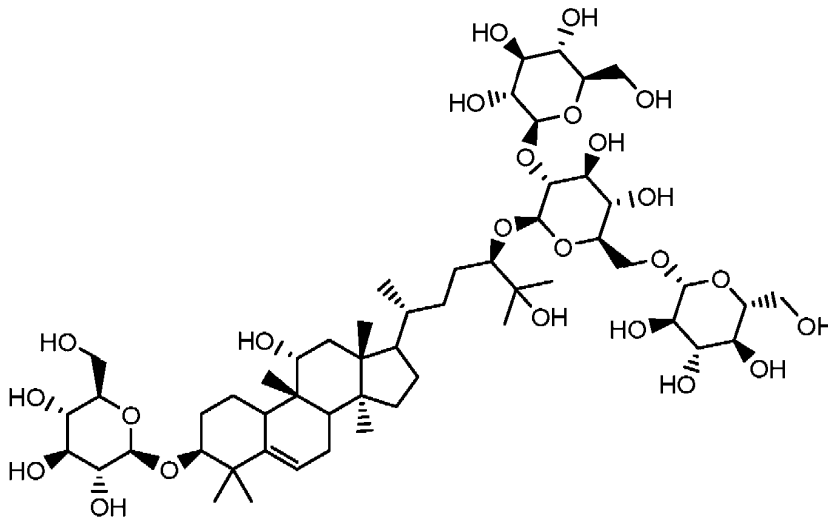
実施例

上記で論じた実施形態のいくつかの態様を、以下の実施例でさらに詳細に開示すが、これらは、何ら本開示の範囲の限定を意図するものではない。

【0209】

実施例1：シアメノシドIの製造

【化24】



20

30

【0210】

本明細書に開示される場合、シアメノシドIは、本明細書に開示される化合物1を製造するための中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、シアメノシドIを加水分解してモグロシドIIIEを製造し、次いでこれを使用して化合物1を製造することができる。例えば、シアメノシドIの製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロールと、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクララーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、アスペルギルス・アキュレアタス (*Aspergillus aculeatus*) 由来のペクチナーゼを発現する組換え細胞を使用することができる。

40

【0211】

もう1つの非限定的な例として、シアメノシドIの製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシドV、モグロシドIVE、イソモグロシドV、モグロシドIIIE、11-デオキシモグロシドV、11-オキシモグロシドV、モグロシドVI、モグロシドIVA、モグロシドIIA、モグロシドIIA1、モグロシドIIA2、モグロシドIA、11-オキシモグロシドVI、11-オキシモグロシドIIIE、11-オキシモグロシドIVE、モグロシドIE、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシドIIIE、モグロシドIIIA2、およびモグロシドIIIの1つ以上と、UDPグリコシルトランス

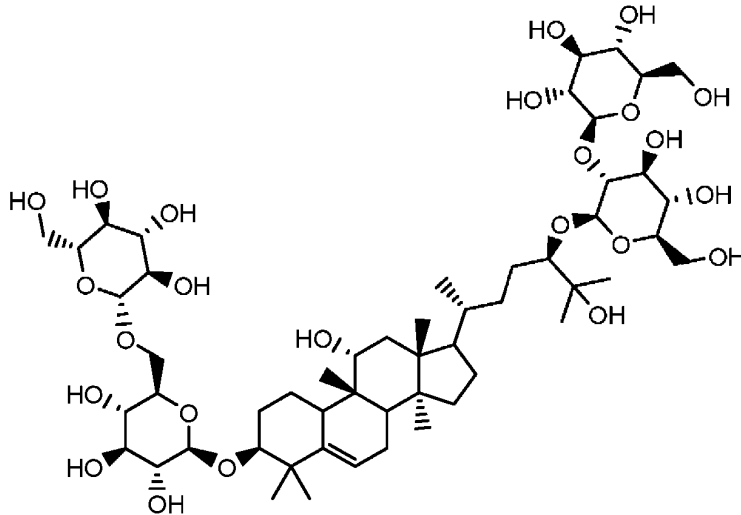
50

フェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、 β -グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、アスペルギルス・アキュレアタス (*Aspergillus aculeatus*) 由来のペクチナーゼを使用することができる。

【0212】

実施例2：モグロシドI V_Eの製造

【化25】



【0213】

本明細書に開示される場合、モグロシドI V_Eは、本明細書に開示される化合物1を製造するための中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、モグロシドVからのモグロシドI V_Eを使用して、化合物1を製造することができる。例えば、モグロシドI V_Eの製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシドVと、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、 β -グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。もう1つの例として、組換え細胞は、ペクチナーゼをコードする遺伝子を含むことができる。ペクチナーゼは、アスペルギルス・アキュレアタス (*Aspergillus aculeatus*) 由来の遺伝子によってコードされることができる。

【0214】

もう1つの例として、モグロシドI V_Eの製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシドV、シアメノシドI、イソモグロシドV、モグロシドI I I_E、11-デオキシモグロシドV、11-オキシモグロシドV、モグロシドV I、モグロシドI V_A、モグロシドI I_A、モグロシドI I_A1、モグロシドI I_A2、モグロシドI_A、11-オキシモグロシドV I、11-オキシモグロシドI I I_E、11-オキシモグロシドI V_E、モグロシドI_E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシドI I_E、モグロシドI I I_A2、およびモグロシドI I Iの1つ以上と、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、 β -グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、アスペルギルス・アキュレアタス (*Aspergillus aculeatus*) 由来のペクチナーゼを使用することができる。

【0215】

実施例3：モグロシドI I I_Eの製造

10

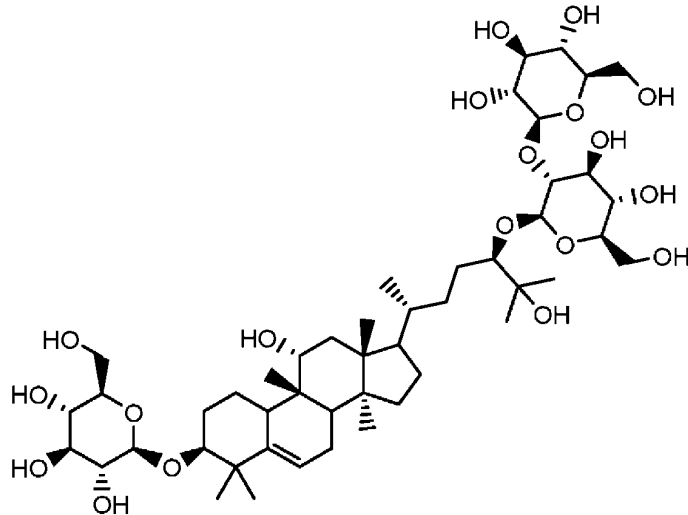
20

30

40

50

【化 2 6】



10

【 0 2 1 6】

本明細書に開示される場合、モグロシドⅡⅡⅡ_Eは、本明細書に開示される化合物1を製造するための中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、モグロシドⅡⅡ_Aをグリコシル化してモグロシドⅡⅡⅡ_Eを製造し、次いでこれを使用して化合物1を製造することができる。

20

【 0 2 1 7】

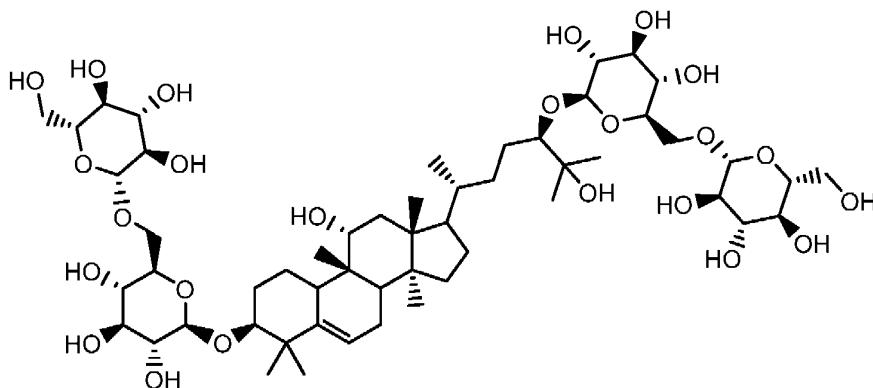
もう1つの例として、モグロシドⅡⅡⅡ_Eの製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシドⅤ、モグロシドⅡⅡ_A、シアメノシドⅠ、モグロシドⅡⅤ_E、イソモグロシドⅤ、11-デオキシモグロシドⅤ、11-オキシモグロシドⅤ、モグロシドⅡⅤ_E、モグロシドⅡⅤ_A、モグロシドⅡⅡ_A、モグロシドⅡⅡ_{A1}、モグロシドⅡⅡ_{A2}、モグロシドⅡ_A、11-オキシモグロシドⅡⅤ_E、11-オキシモグロシドⅡⅡⅡ_E、11-オキシモグロシドⅡⅤ_E、モグロシドⅡ_E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシドⅡⅡ_E、モグロシドⅡⅡ_{A2}、およびモグロシドⅡⅡⅡの1つ以上と、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、アスペルギルス・アキュレアタス (*Aspergillus aculeatus*) 由来のペクチナーゼは、組換え宿主細胞内の遺伝子によってコードされることができる。

30

【 0 2 1 8】

実施例4：モグロシドⅡⅤ_Aの製造

【化 2 7】



40

【 0 2 1 9】

50

本明細書に開示される場合、モグロシドⅠⅤ_Aは、本明細書に開示される化合物1を製造するための中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、モグロシドⅤからのモグロシドⅠⅤ_Aを使用して化合物1を製造することができる。

【0220】

例えば、モグロシドⅠⅤ_Aの製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシドⅤと、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。酵素は、例えば、アスペルギルス・オリゼ (*Aspergillus oryzae*) 由来のβ-ガラクトシダーゼであってもよい。

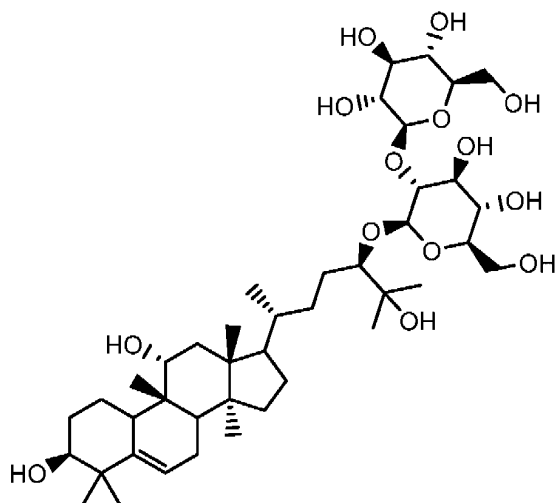
【0221】

もう1つの例として、モグロシドⅠⅤ_Aの製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシドⅤ、シアメノシドⅠ、モグロシドⅠⅤ_E、イソモグロシドⅤ、モグロシドⅠⅠ_E、11-デオキシモグロシドⅤ、11-オキシモグロシドⅤ、モグロシドⅤⅠ、モグロシドⅠⅠ_A、モグロシドⅠⅠ_{A1}、モグロシドⅠⅠ_{A2}、モグロシドⅠ_A、11-オキシモグロシドⅤⅠ、11-オキシモグロシドⅠⅠ_E、11-オキシモグロシドⅠⅤ_E、モグロシドⅠ_E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシドⅠⅠ_E、モグロシドⅠⅠ_{A2}、およびモグロシドⅠⅠⅠの1つ以上と、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、アスペルギルス・オリゼ (*Aspergillus oryzae*) 由来のβ-ガラクトシダーゼを該方法で使用するこ

【0222】

実施例5：モグロシドⅠⅠ_Aの製造

【化28】



【0223】

本明細書に開示される場合、モグロシドⅠⅠ_Aは、本明細書に開示される化合物1を製造するための中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、モグロシドⅠⅠ_Aの製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシドⅠ_{A1}と、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。

【0224】

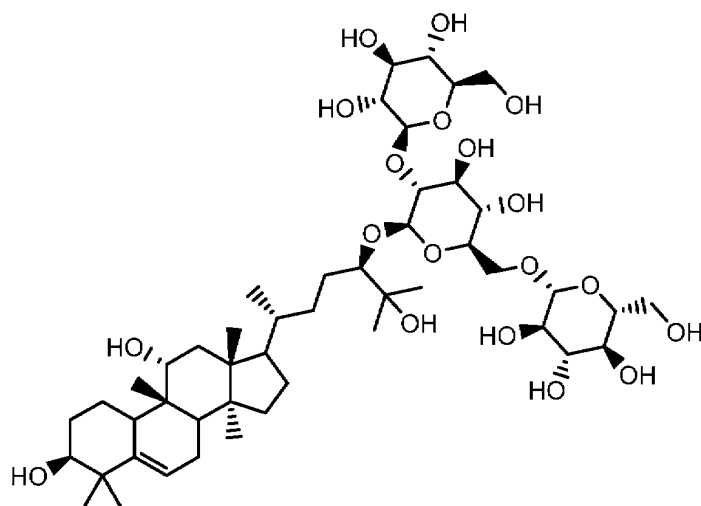
もう1つの例として、モグロシドⅠⅠ_Aの製造方法は、以下のことを含むことができる

：モグロシドⅠ_{A1}、モグロシドⅤ、シアメノシドⅠ、モグロシドⅠⅤ_E、イソモグロシドⅤ、モグロシドⅠⅠⅠ_E、11-デオキシモグロシドⅤ、11-オキシモグロシドⅤ、モグロシドⅤⅠ、モグロシドⅠⅤ_A、モグロシドⅠⅠ_{A1}、モグロシドⅠⅠ_{A2}、モグロシドⅠ_A、11-オキシモグロシドⅤⅠ、11-オキシモグロシドⅠⅠⅠ_E、11-オキシモグロシドⅠⅤ_E、モグロシドⅠ_E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシドⅠⅠ_E、モグロシドⅠⅠⅠ_{A2}、およびモグロシドⅠⅠⅠの1つ以上と、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、セルクラストも使用できる。

【0225】

実施例6：アロマーゼからのモグロシドⅠⅠⅠ_{A1}の製造

【化29】



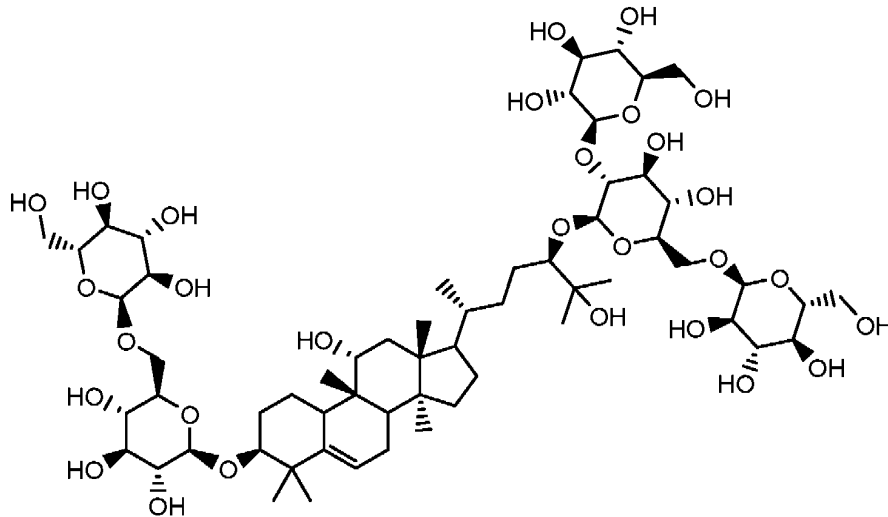
【0226】

本明細書に開示される場合、モグロシドⅠⅠⅠ_{A1}は、本明細書に開示される化合物1を製造するための中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、モグロシドⅠⅠⅠ_{A1}は、モグロシドⅠⅤ_Aを製造するための中間体であることができ、その後、このモグロシドⅠⅤ_Aを、化合物1を製造するための中間体として使用することができる。例えば、モグロシドⅠⅠⅠ_{A1}の製造方法は、以下のことを含むことができる：シアメノシドⅠと、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。酵素は、例えば、アロマーゼであってもよい。もう1つの例として、モグロシドⅠⅠⅠ_{A1}の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシドⅤ、シアメノシドⅠ、モグロシドⅠⅤ_E、イソモグロシドⅤ、モグロシドⅠⅠⅠ_E、11-デオキシモグロシドⅤ、11-オキシモグロシドⅤ、モグロシドⅤⅠ、モグロシドⅠⅤ_A、モグロシドⅠⅠ_A、モグロシドⅠⅠ_{A1}、モグロシドⅠⅠ_{A2}、モグロシドⅠ_A、11-オキシモグロシドⅤⅠ、11-オキシモグロシドⅠⅠⅠ_E、11-オキシモグロシドⅠⅤ_E、モグロシドⅠ_E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシドⅠⅠ_E、モグロシドⅠⅠⅠ_{A2}、およびモグロシドⅠⅠⅠの1つ以上と、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。

【0227】

実施例8：化合物4の製造

【化 3 0】



10

【 0 2 2 8】

本明細書に開示される場合、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される化合物 4。例えば、化合物 4 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド I I I E と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。

20

【 0 2 2 9】

もう 1 つの例として、化合物 4 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド I V E、イソモグロシド V、モグロシド I I I E、11-デオキシモグロシド V、11-オキソモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V A、モグロシド I I A、モグロシド I I A 1、モグロシド I I A 2、モグロシド I A、11-オキソモグロシド V I、11-オキソモグロシド I I I E、11-オキソモグロシド I V E、モグロシド I E、モグロール、11-オキソモグロール、モグロシド I I E、モグロシド I I I A 2、およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。酵素は、例えば、バチルス・リケンフォルミス (Bacillus lichenformis) 由来のシクロマルトデキストリングルカノトランスフェラーゼおよび／またはトルザイム (Toruzyme) であることができる。

30

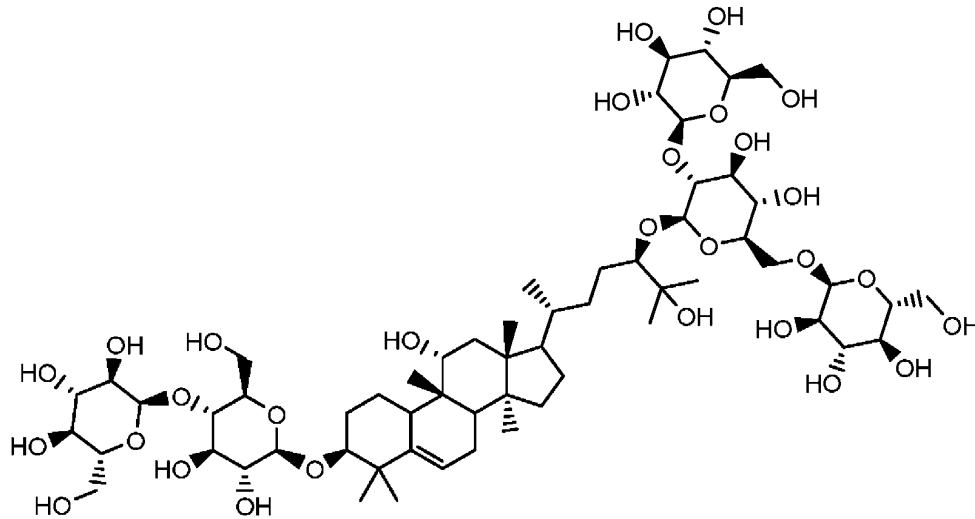
【 0 2 3 0】

実施例 9：化合物 5 の製造

40

50

【化 3 1】



10

【 0 2 3 1】

化合物 5 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物 5 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド I I I E と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。

20

【 0 2 3 2】

もう 1 つの例として、化合物 5 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド I V E、イソモグロシド V、モグロシド I I I E、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V A、モグロシド I I A、モグロシド I I A 1、モグロシド I I A 2、モグロシド I A、11-オキシモグロシド V I、11-オキシモグロシド I I I E、11-オキシモグロシド I V E、モグロシド I E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド I I E、モグロシド I I I A 2、およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、バチルス・リケンフォルミス (Bacillus licheniformis) 由来の CGT アーゼおよび／またはトルザイム (Toruzyme) を使用することができる。

30

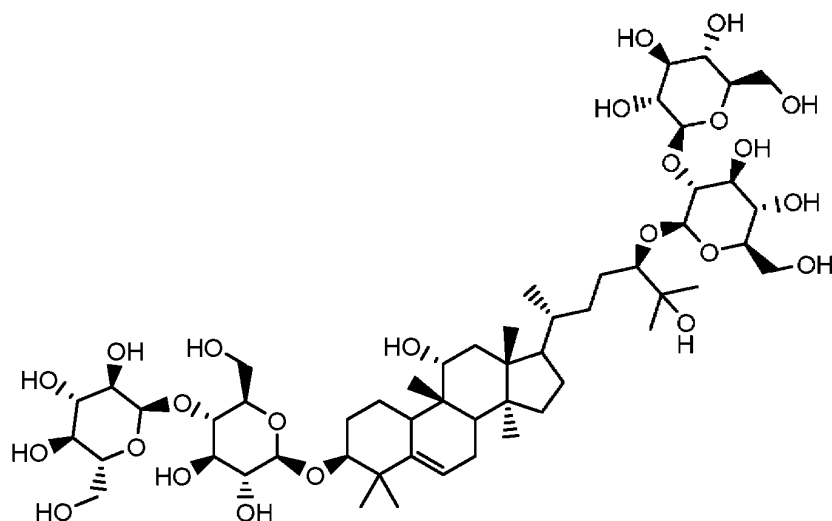
【 0 2 3 3】

実施例 10：化合物 6 の製造

40

50

【化 3 2】



10

【 0 2 3 4】

本明細書に開示される場合、化合物 6 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物 6 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシドⅡⅡⅡ_Eと、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクララーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。

20

【 0 2 3 5】

もう1つの例として、化合物 6 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシドⅤ、シアメノシドⅠ、モグロシドⅣ_E、イソモグロシドⅤ、モグロシドⅡⅡⅡ_E、11-デオキシモグロシドⅤ、11-オキシモグロシドⅤ、モグロシドⅤⅠ、モグロシドⅣ_A、モグロシドⅡⅡ_A、モグロシドⅡⅡ_{A1}、モグロシドⅡⅡ_{A2}、モグロシドⅡ_A、11-オキシモグロシドⅤⅠ、11-オキシモグロシドⅡⅡⅡ_E、11-オキシモグロシドⅣ_E、モグロシドⅡ_E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシドⅡⅡ_E、モグロシドⅡⅡ_{A2}、およびモグロシドⅡⅡⅡの1つ以上と、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクララーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、バチルス・リケンフォルミス (Bacillus lichenformis) 由来のCGTアーゼ、またはトルザイム (Toruzyme) を使用することができる。

30

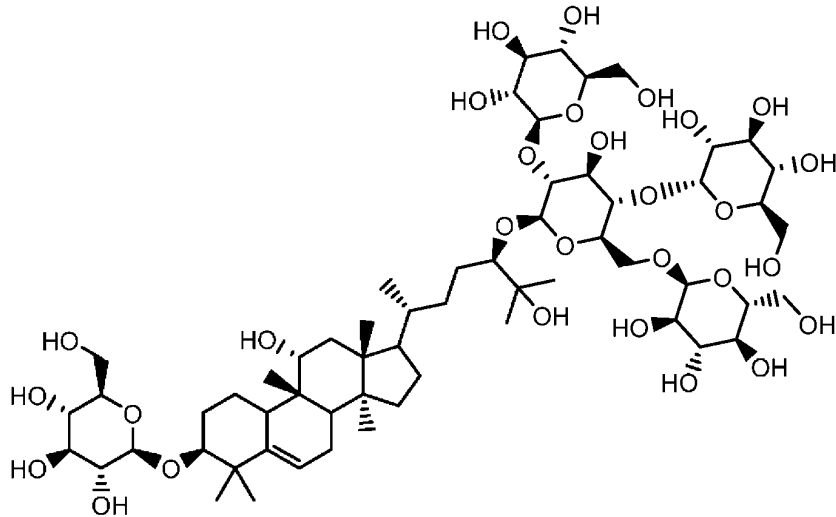
【 0 2 3 6】

実施例 11：化合物 7 の製造

40

50

【化 3 3】



10

【 0 2 3 7】

本明細書に開示される場合、化合物 7 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物 7 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、 III_E と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、 β -グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。

20

【 0 2 3 8】

もう 1 つの例として、化合物 7 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド IV_E 、イソモグロシド V、モグロシド III_E 、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド VI、モグロシド IV_A 、モグロシド II_A 、モグロシド II_{A1} 、モグロシド II_{A2} 、モグロシド I_A 、11-オキシモグロシド VI、11-オキシモグロシド III_E 、11-オキシモグロシド IV_E 、モグロシド I_E 、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド I_E 、モグロシド II_{A2} 、およびモグロシド III の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、 β -グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、バチルス・リケンフォルミス (*Bacillus licheniformis*) 由来の CGT アーゼ、またはトルザイム (Toruzyme) を使用することができる。

30

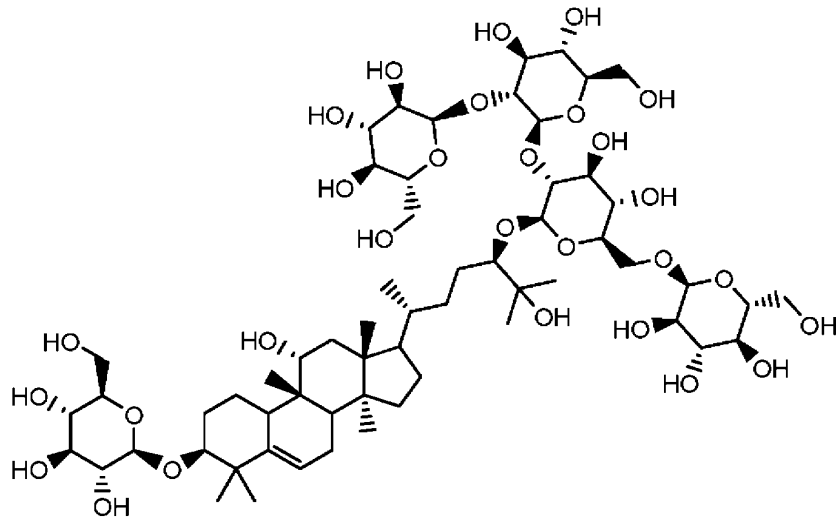
【 0 2 3 9】

実施例 12：化合物 8 の製造

40

50

【化 3 4】



10

【 0 2 4 0 】

本明細書に開示される場合、化合物 8 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物 8 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシドⅡⅡⅡ_Eと、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクララーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。

20

【 0 2 4 1 】

もう1つの例として、化合物 8 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシドⅤ、シアメノシドⅠ、モグロシドⅡⅤ_E、イソモグロシドⅤ、モグロシドⅡⅡⅡ_E、11-デオキシモグロシドⅤ、11-オキシモグロシドⅤ、モグロシドⅤⅠ、モグロシドⅡⅤ_A、モグロシドⅡⅡ_A、モグロシドⅡⅡ_{A1}、モグロシドⅡⅡ_{A2}、モグロシドⅡ_A、11-オキシモグロシドⅤⅠ、11-オキシモグロシドⅡⅡⅡ_E、11-オキシモグロシドⅡⅤ_E、モグロシドⅡ_E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシドⅡⅡ_E、モグロシドⅡⅡ_{A2}、およびモグロシドⅡⅡⅡの1つ以上と、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクララーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、バチルス・リケンフォルミス (Bacillus licheniformis) 由来のCGTアーゼ、またはトルザイム (Toruzyme) を使用することができる。

30

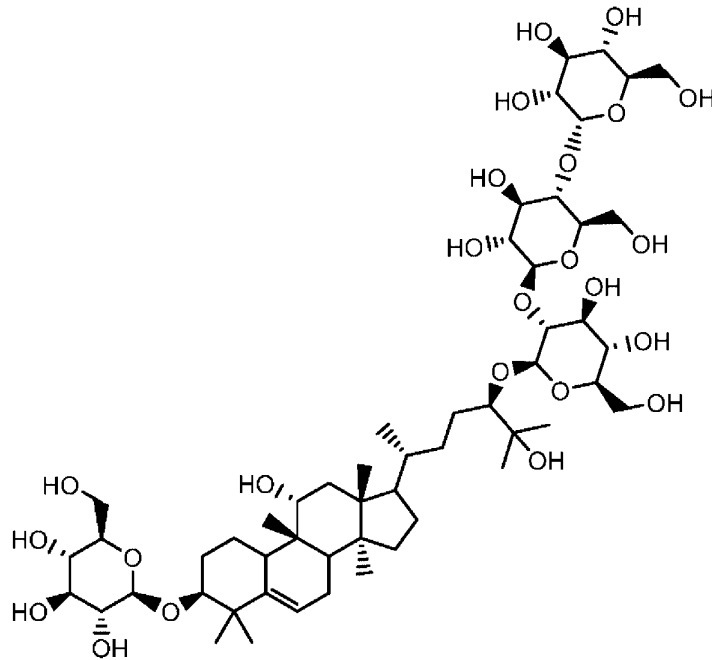
【 0 2 4 2 】

実施例 13：化合物 9 の製造

40

50

【化 3 5】



【 0 2 4 3】

本明細書に開示される場合、化合物 9 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物 9 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド I I I E と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクララーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。

【 0 2 4 4】

もう 1 つの例として、化合物 9 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド I V E、イソモグロシド V、モグロシド I I I E、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V A、モグロシド I I A、モグロシド I I A 1、モグロシド I I A 2、モグロシド I A、11-オキシモグロシド V I、11-オキシモグロシド I I I E、11-オキシモグロシド I V E、モグロシド I E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド I I E、モグロシド I I I A 2、およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクララーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、バチルス・リケンフォルミス (*Bacillus licheniformis*) 由来の CGT アーゼ、またはトルザイム (Toruzyme) を使用することができる。

【 0 2 4 5】

実施例 1 4：化合物 1 0 の製造

10

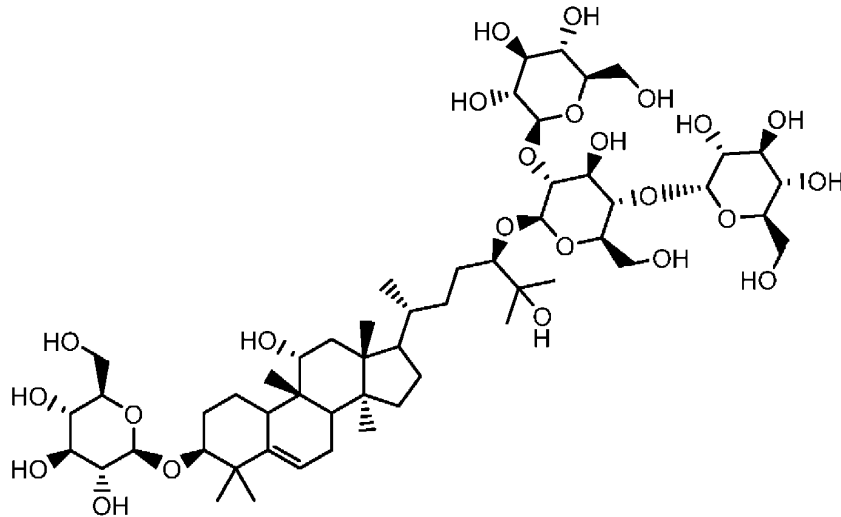
20

30

40

50

【化 3 6】



10

【 0 2 4 6】

本明細書に開示される場合、化合物 10 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物 10 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド I I I E と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。

20

【 0 2 4 7】

もう 1 つの例として、化合物 10 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド I V E、イソモグロシド V、モグロシド I I I E、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V A、モグロシド I I A、モグロシド I I A 1、モグロシド I I A 2、モグロシド I A、11-オキシモグロシド V I、11-オキシモグロシド I I I E、11-オキシモグロシド I V E、モグロシド I E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド I I E、モグロシド I I I A 2、およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、バチルス・リケンフォルミス (Bacillus licheniformis) 由来の CGT アーゼ、またはトルザイム (Toruzyme) を使用することができる。

30

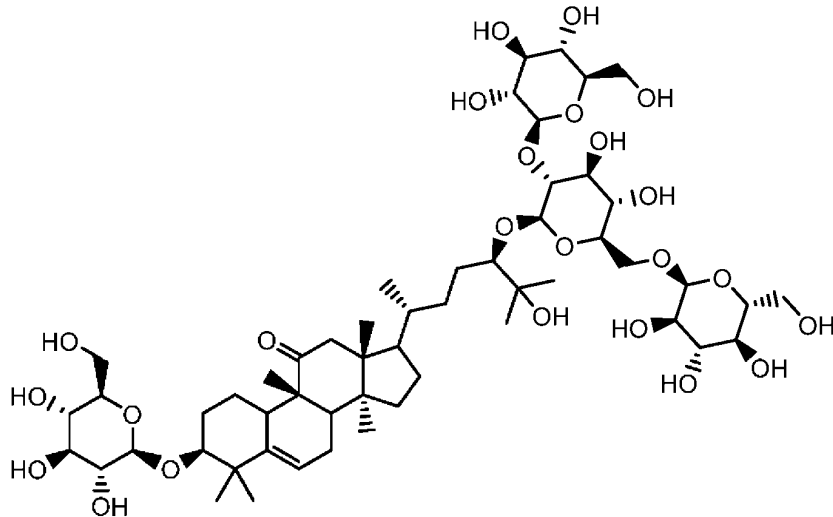
【 0 2 4 8】

実施例 15：化合物 11 の製造

40

50

【化 3 7】



10

【 0 2 4 9】

本明細書に開示される場合、化合物 1 1 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物 1 1 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド I I I E または 1 1-オキソ-M I I I E と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、C G T アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。

20

【 0 2 5 0】

もう 1 つの例として、化合物 1 1 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド I V E、イソモグロシド V、モグロシド I I I E、1 1-デオキシモグロシド V、1 1-オキソモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V A、モグロシド I I A、モグロシド I I A 1、モグロシド I I A 2、モグロシド I A、1 1-オキソモグロシド V I、1 1-オキソモグロシド I I I E、1 1-オキソモグロシド I V E、モグロシド I E、モグロール、1 1-オキソモグロール、モグロシド I I E、モグロシド I I I A 2、およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、C G T アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、バチルス・リケンフォルミス (Bacillus lichenformis) 由来の C G T アーゼ、またはトルザイム (Toruzyme) を使用することができる。

30

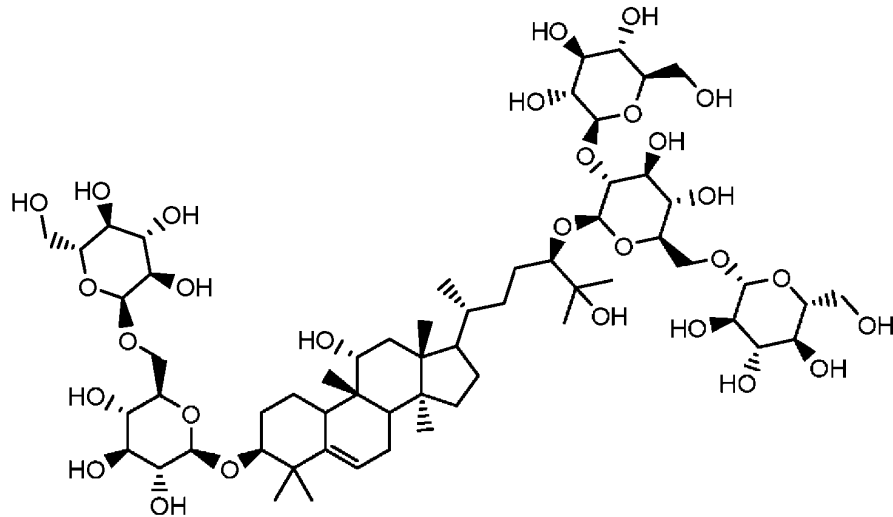
【 0 2 5 1】

実施例 1 6：化合物 1 2 の製造

40

50

【化 3 8】



10

【 0 2 5 2】

本明細書に開示される場合、化合物 1 2 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造に使用することができる中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物 1 2 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド V I 異性体と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、C G T アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、インベルターゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。酵素は、例えば、パン酵母由来のインベルターゼ酵素であることができる。

20

【 0 2 5 3】

もう 1 つの例として、化合物 1 2 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド I V E、イソモグロシド V、モグロシド I I I E、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V A、モグロシド I I A、モグロシド I I A₁、モグロシド I I A₂、モグロシド I A、11-オキシモグロシド V I、11-オキシモグロシド I I I E、11-オキシモグロシド I V E、モグロシド I E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド I I E、モグロシド I I I A₂、モグロシド V I 異性体、およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、C G T アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、インベルターゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。

30

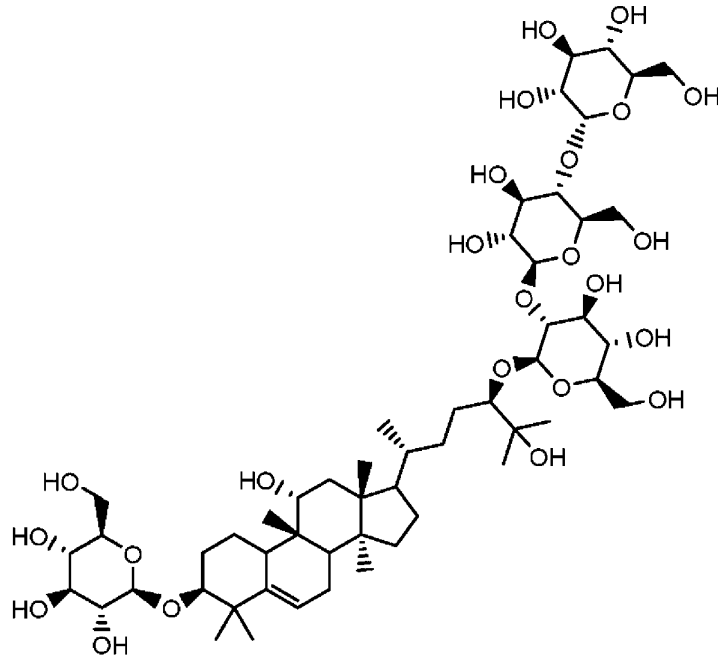
【 0 2 5 4】

実施例 1 7：化合物 1 3 の製造

40

50

【化 3 9】



【 0 2 5 5】

本明細書に開示される場合、化合物 1 3 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシドであることができる。例えば、該方法は、モグロシド I I I E と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。発現される酵素は、例えば、セルクラストであってもよい。

【 0 2 5 6】

もう 1 つの例として、化合物 1 3 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド I V E、イソモグロシド V、モグロシド I I I E、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V A、モグロシド I I A、モグロシド I I A 1、モグロシド I I A 2、モグロシド I A、11-オキシモグロシド V I、11-オキシモグロシド I I I E、11-オキシモグロシド I V E、モグロシド I E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド I I E、モグロシド I I I A 2、およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、セルクラストを使用することができる。

【 0 2 5 7】

実施例 1 8：化合物 1 4 の製造

10

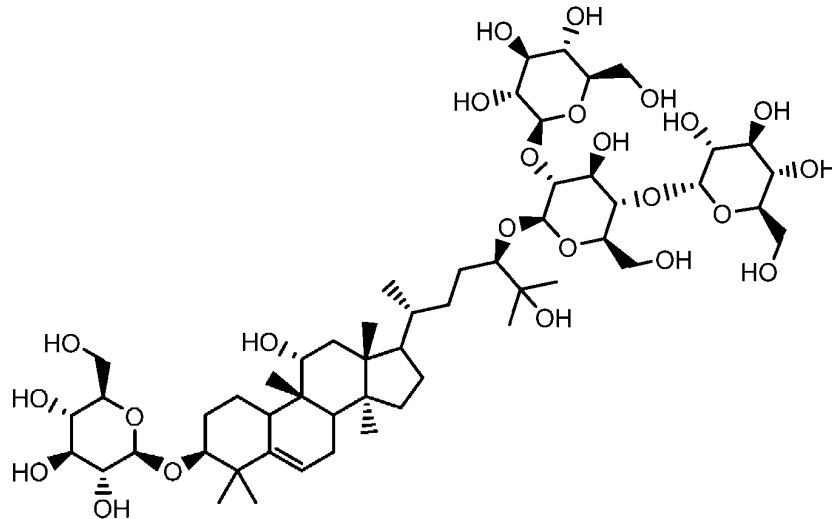
20

30

40

50

【化 4 0】



10

【 0 2 5 8】

本明細書に開示される場合、化合物 1 4 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、該方法は、モグロシド III E と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。発現される酵素は、例えば、セルクラストであってもよい。

20

【 0 2 5 9】

もう 1 つの例として、化合物 1 4 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド IV E、イソモグロシド V、モグロシド III E、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド VI、モグロシド IV A、モグロシド II A、モグロシド II A₁、モグロシド II A₂、モグロシド I A、11-オキシモグロシド VI、11-オキシモグロシド III E、11-オキシモグロシド IV E、モグロシド I E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド III E、モグロシド II A₂、およびモグロシド III の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、セルクラストを使用することができる。該方法はまた、糖、例えば α-ラクトースの存在を必要とし得る。

30

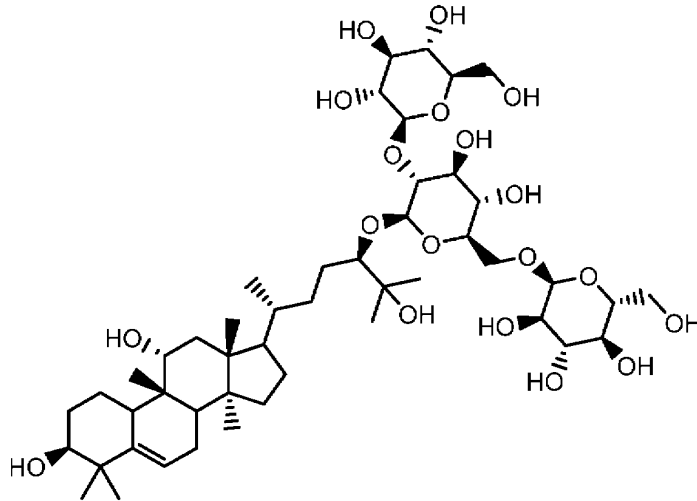
【 0 2 6 0】

実施例 1 9：化合物 1 5 の製造

40

50

【化 4 1】



10

【0 2 6 1】

本明細書に開示される場合、化合物 1 5 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造に使用することができる中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、該方法は、モグロシド I I_A と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、C G T アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。

20

【0 2 6 2】

もう 1 つの例として、化合物 1 5 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド I V_E、イソモグロシド V、モグロシド I I I_E、11-デオキシモグロシド V、11-オキソモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V_A、モグロシド I I_A、モグロシド I I A₁、モグロシド I I A₂、モグロシド I A、11-オキソモグロシド V I、11-オキソモグロシド I I I_E、11-オキソモグロシド I V_E、モグロシド I_E、モグロール、11-オキソモグロール、モグロシド I I_E、モグロシド I I I A₂、およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、C G T アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、トルザイム (Toruzyme) を使用することができる。

30

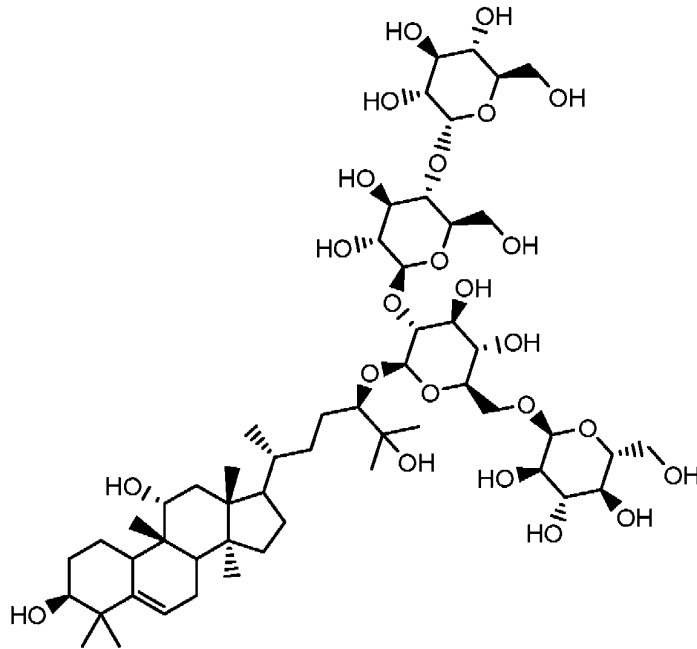
【0 2 6 3】

実施例 2 0：化合物 1 6 の製造

40

50

【化 4 2】



10

【0 2 6 4】

20

本明細書に開示される場合、化合物 16 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造に使用することができる中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、該方法は、モグロシド I I A と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。

【0 2 6 5】

30

もう 1 つの例として、化合物 16 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド I V E、イソモグロシド V、モグロシド I I I E、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V A、モグロシド I I A、モグロシド I I A₁、モグロシド I I A₂、モグロシド I A、11-オキシモグロシド V I、11-オキシモグロシド I I I E、11-オキシモグロシド I V E、モグロシド I E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド I I E、モグロシド I I I A₂、およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、トルザイム (Toruzyme) を使用することができる。

【0 2 6 6】

40

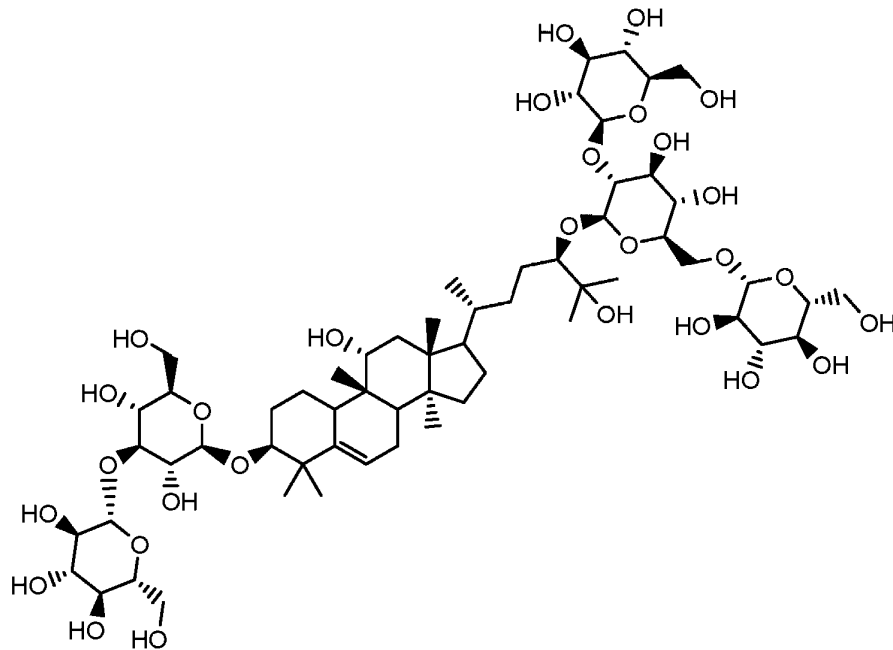
酵素は、例えばトルザイム (Toruzyme) であることができる。組換え細胞は、例えば、クリクロマトロデキストリングルカノトランスフェラーゼ (例えば、トルザイム (Toruzyme))、インベルターゼ、グルコーストランスフェラーゼ (例えば、UGT 7 6 G 1) をコードする遺伝子をさらに含むことができる。

【0 2 6 7】

実施例 2 1：化合物 1 7 の製造

50

【化 4 3】



10

【0268】

本明細書に開示される場合、化合物 17 は、本明細書に開示される化合物 1 を製造するための中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物 17 を加水分解してモグロシド III E を製造し、次いでこれを使用して化合物 1 を製造することができる。例えば、化合物 17 の製造方法は、シアメノシド I と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、トランスグルコシダーゼ、スクロースシンターゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。

20

【0269】

もう 1 つの例として、化合物 17 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド IV E、イソモグロシド V、モグロシド III E、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド VI、モグロシド IV A、モグロシド II A、モグロシド II A₁、モグロシド II A₂、モグロシド I A、11-オキシモグロシド VI、11-オキシモグロシド III E、11-オキシモグロシド IV E、モグロシド I E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド I E、モグロシド II I A₂、およびモグロシド III I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。例えば、UDP グリコシルトランスフェラーゼを使用することができる。

30

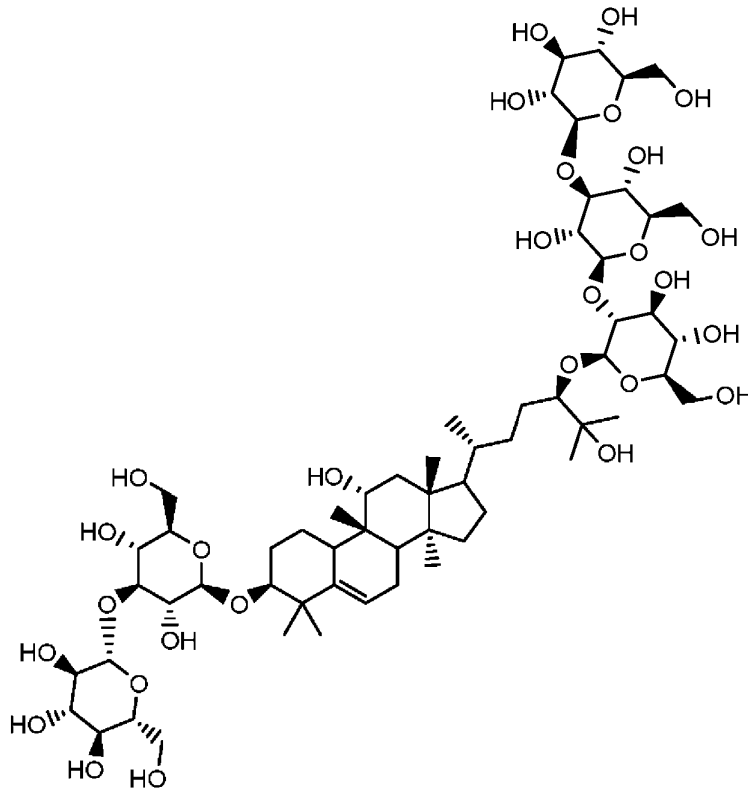
【0270】

実施例 22：化合物 18 の製造

40

50

【化 4 4】



【0271】

本明細書に開示される場合、化合物 18 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物 18 を加水分解してモグロシド I I I E を製造し、次いでこれを使用して化合物 1 を製造することができる。例えば、化合物 18 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド I I I E と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。酵素は、例えば、S u s 1 および U G T 7 6 G 1 であることができる。

【0272】

もう 1 つの例として、化合物 18 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド I V E、イソモグロシド V、モグロシド I I I E、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V A、モグロシド I I A、モグロシド I I A₁、モグロシド I I A₂、モグロシド I A、11-オキシモグロシド V I、11-オキシモグロシド I I I E、11-オキシモグロシド I V E、モグロシド I E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド I I E、モグロシド I I I A₂、およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。酵素は、例えば、U G T 7 6 G 1 であることができる。

【0273】

実施例 23：化合物 19 の製造

10

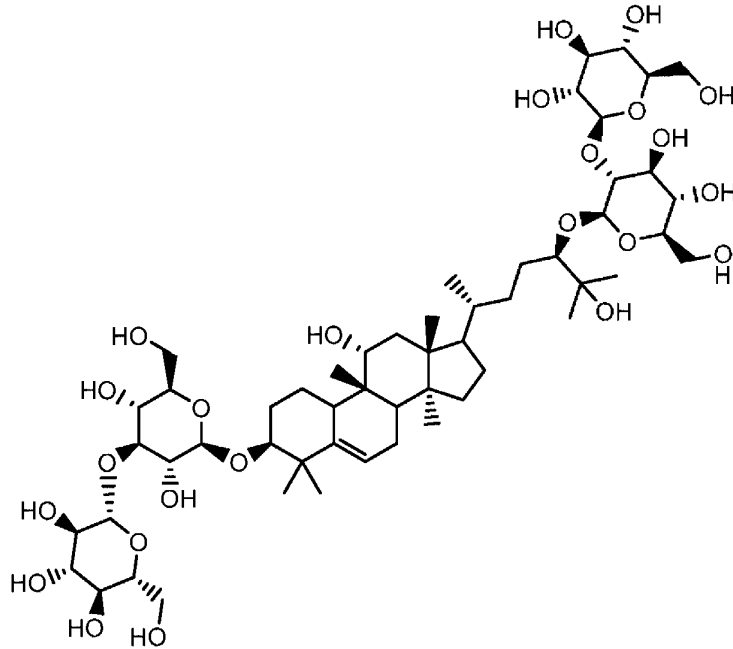
20

30

40

50

【化 4 5】



10

【 0 2 7 4 】

20

本明細書に開示される場合、化合物 19 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物 19 をさらに加水分解して、化合物 1 を製造することができる。例えば、化合物 18 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド I I I E と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。酵素は、例えば、Sus1 および UGT 76G1 であることができる。

【 0 2 7 5 】

30

もう 1 つの例として、化合物 19 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド I V E、イソモグロシド V、モグロシド I I I E、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V A、モグロシド I I A、モグロシド I I A₁、モグロシド I I A₂、モグロシド I A、11-オキシモグロシド V I、11-オキシモグロシド I I I E、11-オキシモグロシド I V E、モグロシド I E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド I I E、モグロシド I I I A₂ およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。酵素は、例えば、UGT 76G1 であることができる。酵素は、例えば、スクロースシンターゼ Sus1 であってもよい。

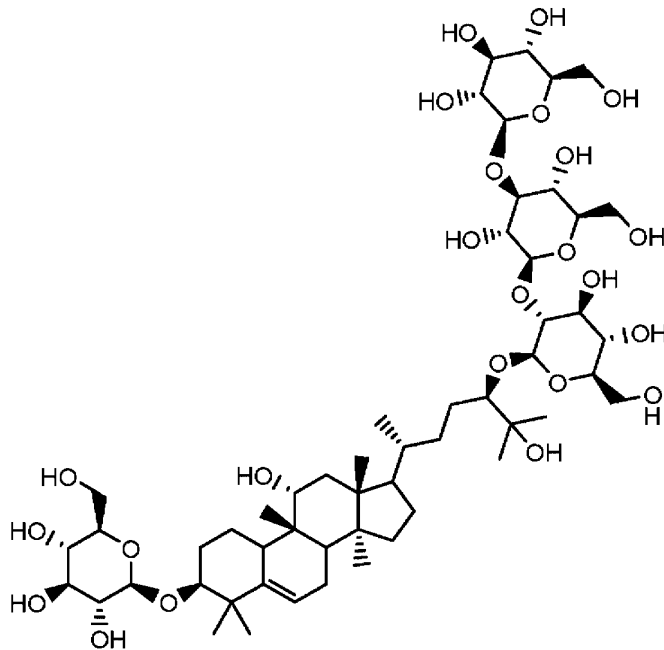
40

【 0 2 7 6 】

実施例 24：化合物 20 の製造

50

【化 4 6】



【 0 2 7 7 】

本明細書に開示される場合、化合物 20 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物 20 をさらに加水分解して、化合物 1 を製造することができる。例えば、化合物 20 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド I I I E と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。酵素は、例えば、Sus1 および UGT76G1 であることができる。

【 0 2 7 8 】

もう 1 つの例として、化合物 20 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、シアメノシド I、モグロシド I V E、イソモグロシド V、モグロシド I I I E、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V A、モグロシド I I A、モグロシド I I A₁、モグロシド I I A₂、モグロシド I A、11-オキシモグロシド V I、11-オキシモグロシド I I I E、11-オキシモグロシド I V E、モグロシド I E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド I I E、モグロシド I I I A₂ およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。酵素は、例えば、UGT76G1 であることができる。酵素は、例えば、スクロースシンターゼ Sus1 であってもよい。酵素は、例えば、スクロースシンターゼ Sus1 および UGT76G1 であることができる。

【 0 2 7 9 】

実施例 25：化合物 21 の製造

10

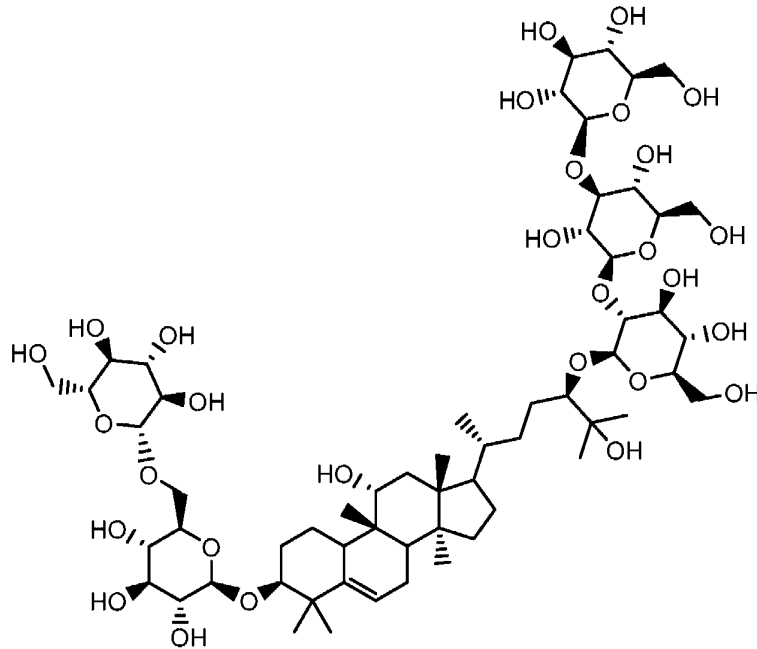
20

30

40

50

【化 4 7】



【0280】

本明細書に開示される場合、化合物 21 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物 21 をさらに加水分解して、化合物 1 を製造することができる。例えば、化合物 21 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド I V_E と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。酵素は、例えば、Sus1 および UGT 76G1 であることができる。

【0281】

もう 1 つの例として、化合物 21 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、モグロシド I V_E、シアメノシド I、モグロシド I V_E、イソモグロシド V、モグロシド I I I_E、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V_A、モグロシド I I A、モグロシド I I A₁、モグロシド I I A₂、モグロシド I A、11-オキシモグロシド V I、11-オキシモグロシド I I I_E、11-オキシモグロシド I V_E、モグロシド I E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド I I E、モグロシド I I I A₂ およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。酵素は、例えば、UGT 76G1 であることができる。酵素は、例えば、スクロースシンターゼ Sus1 であってもよい。酵素は、例えば、スクロースシンターゼ Sus1 および GT 76G1 であることができる。

【0282】

実施例 26：化合物 22 の製造

10

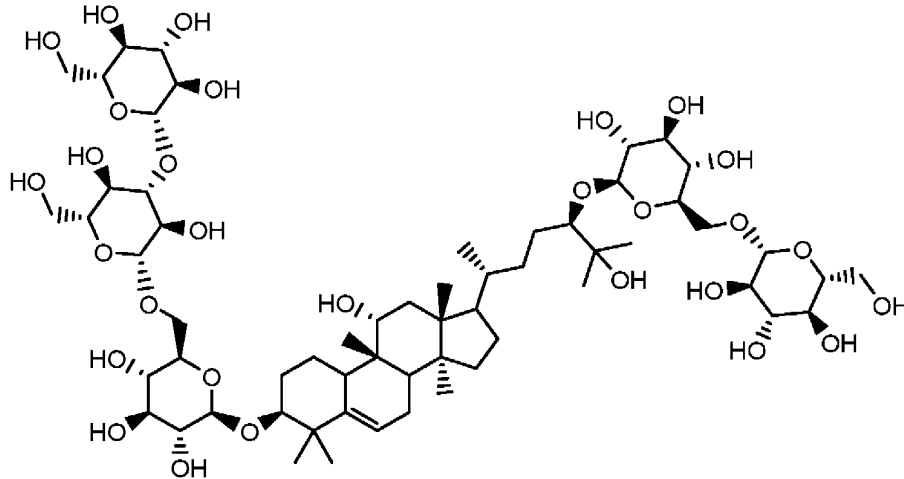
20

30

40

50

【化 48】



10

【0283】

本明細書に開示される場合、化合物22は、本明細書に開示される化合物1の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物22をさらに加水分解して、化合物1を製造することができる。例えば、化合物22の製造方法はまた、化合物1の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシドIV Aと、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。酵素は、例えば、Sus1およびUGT76G1であることができる。

20

【0284】

もう1つの例として、化合物22の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシドV、モグロシドIVE、シアメノシドI、モグロシドIVE、イソモグロシドV、モグロシドIIIE、11-デオキシモグロシドV、11-オキシモグロシドV、モグロシドVI、モグロシドIVA、モグロシドIIA、モグロシドIIA₁、モグロシドIIA₂、モグロシドIA、11-オキシモグロシドVI、11-オキシモグロシドIIIE、11-オキシモグロシドIVE、モグロシドIE、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシドIIIE、モグロシドIIIA₂およびモグロシドIIIの1つ以上と、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。酵素は、例えば、UGT76G1であることができる。酵素は、例えば、スクロースシンターゼSus1であってもよい。酵素は、例えば、スクロースシンターゼSus1およびGT76G1であることができる。

30

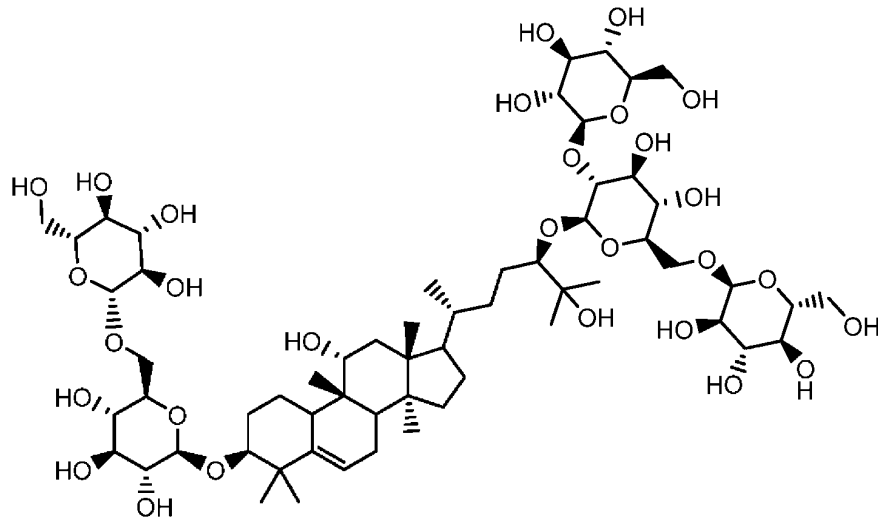
【0285】

実施例27：化合物23の製造

40

50

【化 4 9】



10

【 0 2 8 6】

本明細書に開示される場合、化合物 23 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物 23 をさらに加水分解して、化合物 1 を製造することができる。例えば、化合物 22 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド I V_E と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。酵素は、例えば、デキストランスクラーゼであることができる。

20

【 0 2 8 7】

もう 1 つの例として、化合物 23 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、モグロシド I V_E、シアメノシド I、モグロシド I V_E、イソモグロシド V、モグロシド I I I_E、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V_A、モグロシド I I A、モグロシド I I A₁、モグロシド I I A₂、モグロシド I A、11-オキシモグロシド V I、11-オキシモグロシド I I I_E、11-オキシモグロシド I V_E、モグロシド I_E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド I I_E、モグロシド I I I A₂ およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。酵素は、例えば、デトランスクラーゼ (detransucrase) であってよく、これは、高グリコシル化モグロシド I V_E 異性体を所望のモグロシド V 異性体へと加水分解する。

30

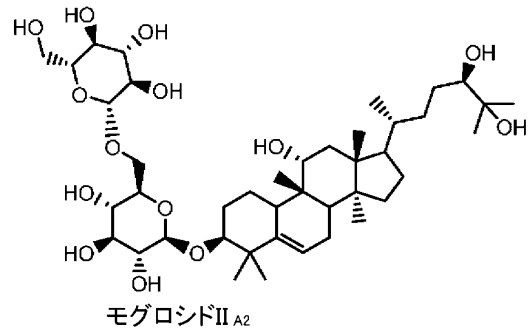
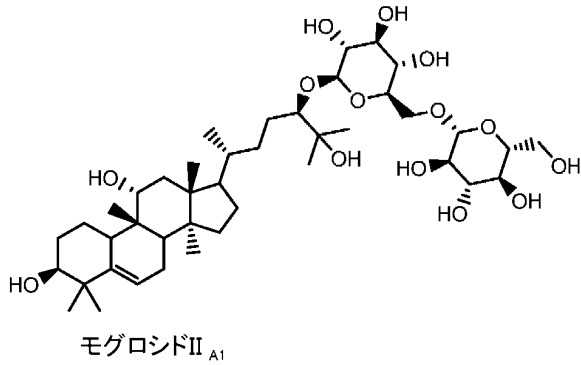
【 0 2 8 8】

実施例 28 および 29：真菌ラクターゼからのモグロシド I I A₁ およびモグロシド I I A₂ の製造

40

50

【化 5 0】



10

【 0 2 8 9 】

本明細書に開示される場合、モグロシドII_{A1}およびモグロシドII_{A2}は、本明細書に開示される化合物1の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、モグロシドII_{A1}およびモグロシドII_{A2}をさらに加水分解して、化合物1を製造することができる。例えば、モグロシドII_{A1}およびモグロシドII_{A2}の製造方法はまた、化合物1の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシドIV_Eと、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。酵素は、例えば、真菌由来のラクターゼであることができる。

20

【 0 2 9 0 】

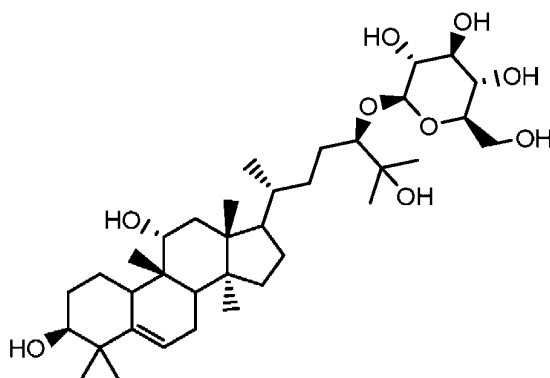
もう1つの例として、モグロシドII_{A1}およびモグロシドII_{A2}の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシドV、モグロシドIV_E、シアメノシドI、モグロシドIV_E、イソモグロシドV、モグロシドII_{IE}、11-デオキシモグロシドV、11-オキシモグロシドV、モグロシドVI、モグロシドIV_A、モグロシドII_A、モグロシドIA、11-オキシモグロシドVI、11-オキシモグロシドII_{IE}、11-オキシモグロシドIV_E、モグロシドIE、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシドII_{IE}、モグロシドII_{IA2}およびモグロシドII_{II}の1つ以上と、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。

30

【 0 2 9 1 】

実施例30：ビスコザイムからのモグロシドII_Aの製造

【化 5 1】



40

【 0 2 9 2 】

本明細書に開示される場合、モグロシドII_Aは、本明細書に開示される化合物1の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、モグロシドII_Aを

50

さらに加水分解して、化合物 1 を製造することができる。モグロシド_{EA}の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド_{IIA}と、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。酵素は、例えば、ビスコザイムであることができる。

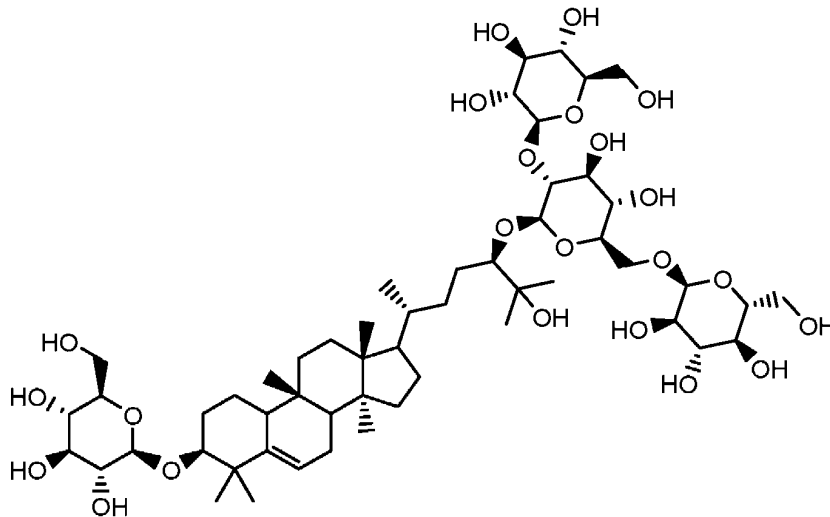
【0293】

もう 1 つの例として、モグロシド_{EA}の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド_V、モグロシド_{IVE}、シアメノシド_I、モグロシド_{IVE}、イソモグロシド_V、モグロシド_{IIIIE}、11-デオキシモグロシド_V、11-オキソモグロシド_V、モグロシド_{VI}、モグロシド_{IVA}、モグロシド_{IIA}、モグロシド_{IIA1}、モグロシド_{IIA2}、11-オキソモグロシド_{VI}、11-オキソモグロシド_{IIIIE}、11-オキソモグロシド_{IVE}、モグロシド_{IE}、モグロール、11-オキソモグロール、モグロシド_{IIIIE}、モグロシド_{IIIA2}およびモグロシド_{III}の 1 つ以上と、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。酵素は、例えば、ビスコザイムであることができる。

【0294】

実施例 31：化合物 24 の製造

【化 52】



【0295】

本明細書に開示される場合、化合物 24 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物 24 をさらに加水分解して、化合物 1 を製造することができる。化合物 24 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド_{IIIIE}と、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。酵素は、例えば、デキストランスクラーゼ Dext であることができる。

【0296】

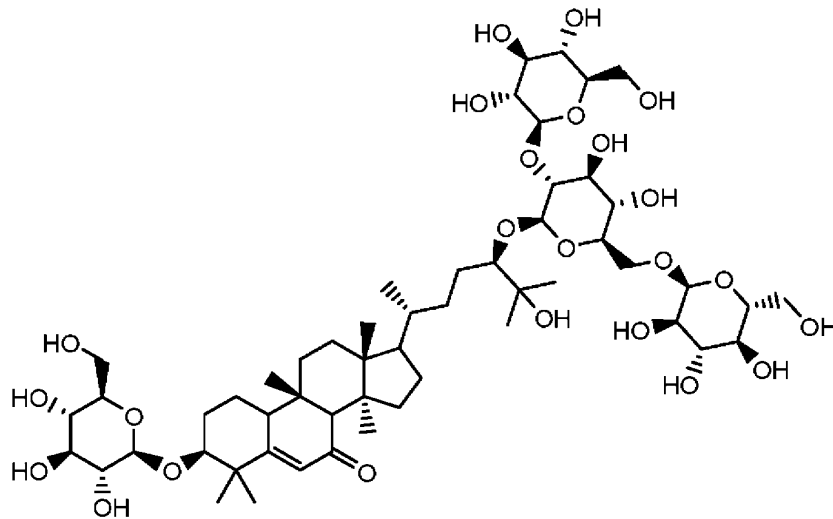
もう 1 つの例として、化合物 24 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド_V、モグロシド_{IVE}、シアメノシド_I、モグロシド_{IVE}、イソモグロシド_V、モグロシド_{IIIIE}、11-デオキシモグロシド_V、11-オキソモグロシド_V、モグロシド_{VI}、モグロシド_{IVA}、モグロシド_{IIA}、モグロシド_{IIA1}、モグロシド_{IIA}

2、モグロシドⅠ_A、11-オキシモグロシドⅤⅠ、11-オキシモグロシドⅡⅡⅠ_E、11-オキシモグロシドⅣⅤ_E、モグロシドⅠ_E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシドⅡⅡⅠ_E、モグロシドⅡⅡⅠ_{A2}およびモグロシドⅡⅡⅠの1つ以上と、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。酵素は、例えば、デキストランスクラーゼDexTであることができる。

【0297】

実施例32：化合物25の製造

【化53】



【0298】

本明細書に開示される場合、化合物25は、本明細書に開示される化合物1の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物25をさらに加水分解して、化合物1を製造することができる。化合物25の製造方法はまた、化合物1の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシドⅡⅡⅠ_Eと、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。酵素は、例えば、デキストランスクラーゼDexTであることができる。

【0299】

もう1つの例として、化合物25の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシドⅤ、モグロシドⅣⅤ_E、シアメノシドⅠ、モグロシドⅣⅤ_E、イソモグロシドⅤ、モグロシドⅡⅡⅠ_E、11-デオキシモグロシドⅤ、11-オキシモグロシドⅤ、モグロシドⅤⅠ、モグロシドⅣⅤ_A、モグロシドⅡⅡⅠ_A、モグロシドⅡⅡⅠ_{A1}、モグロシドⅡⅡⅠ_{A2}、モグロシドⅠ_A、11-オキシモグロシドⅤⅠ、11-オキシモグロシドⅡⅡⅠ_E、11-オキシモグロシドⅣⅤ_E、モグロシドⅠ_E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシドⅡⅡⅠ_E、モグロシドⅡⅡⅠ_{A2}およびモグロシドⅡⅡⅠの1つ以上と、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。酵素は、例えば、デキストランスクラーゼDexTであることができる。

【0300】

実施例33：化合物26の製造

10

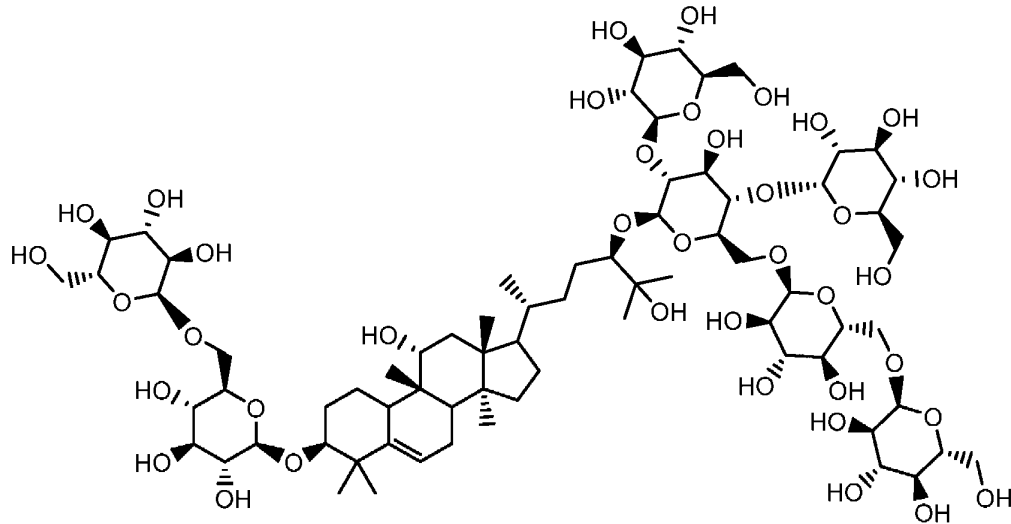
20

30

40

50

【化 5 4】



【 0 3 0 1】

本明細書に開示される場合、化合物 26 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物 26 をさらに加水分解して、化合物 1 を製造することができる。化合物 26 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド I I I E と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。酵素は、例えば、デキストランスクラーゼ D e x T であることができる。

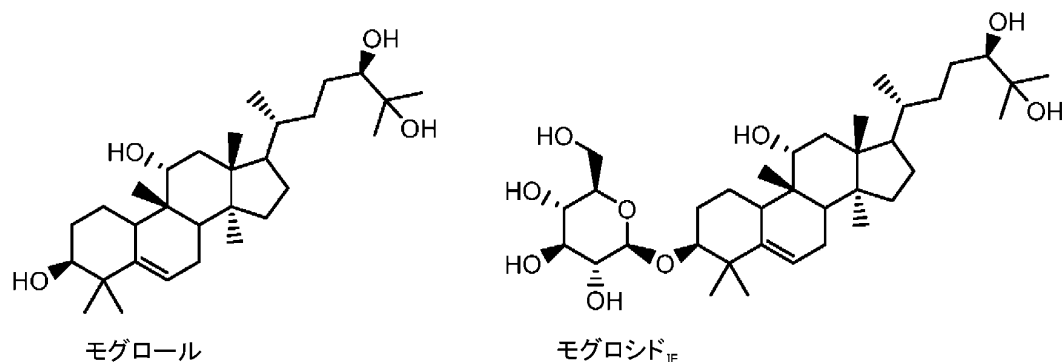
【 0 3 0 2】

もう 1 つの例として、化合物 26 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、モグロシド I V E、シアメノシド I、モグロシド I V E、イソモグロシド V、モグロシド I I I E、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V A、モグロシド I I A、モグロシド I I A 1、モグロシド I I A 2、モグロシド I A、11-オキシモグロシド V I、11-オキシモグロシド I I I E、11-オキシモグロシド I V E、モグロシド I E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド I I E、モグロシド I I I A 2 およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。酵素は、例えば、デキストランスクラーゼ D e x T であることができる。

【 0 3 0 3】

実施例 3 4 および 3 5：ペクチナーゼからのモグロールおよびモグロシド I E の製造

【化 5 5】



【0304】

本明細書に開示される場合、モグロールおよびモグロシド I_E は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、モグロールは、モグロシド I_A 1 を製造するための基質として使用することができ、これがさらに加水分解されて化合物 1 が製造され、また、モグロシド I_E をさらに加水分解して、化合物 1 を製造することができる。モグロールおよびモグロシドの製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド V と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。酵素は、例えば、アスペルギルス・アキュレアタス (*Aspergillus aculeatus*) 由来のペクチナーゼ酵素であることができる。

10

【0305】

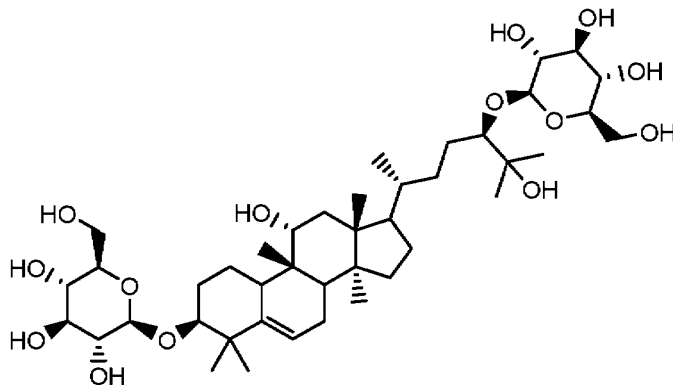
もう 1 つの例として、モグロールおよびモグロシド I_E の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、モグロシド I_{VE}、シアメノシド I、モグロシド I_{VE}、イソモグロシド V、モグロシド I_{IE}、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド VI、モグロシド I_{VA}、モグロシド I_{IA}、モグロシド I_{IA1}、モグロシド I_{IA2}、モグロシド I_A、11-オキシモグロシド VI、11-オキシモグロシド I_{IE}、11-オキシモグロシド I_{VE}、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド I_{IE}、モグロシド I_{IA2} およびモグロシド I_{II} の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。

20

【0306】

実施例 36：モグロシド I_{IE} の製造

【化 56】



30

【0307】

本明細書に開示される場合、モグロシド I_{IE} は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、モグロシド I_{IE} をさらに加水分解して、化合物 1 を製造することができる。モグロシド I_{IE} の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド V と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。酵素は、例えば、アスペルギルス・アキュレアタス (*Aspergillus aculeatus*) 由来のペクチナーゼ酵素であることができる。

40

【0308】

もう 1 つの例として、モグロシド I_{IE} の製造方法は、以下のことを含むことができる

50

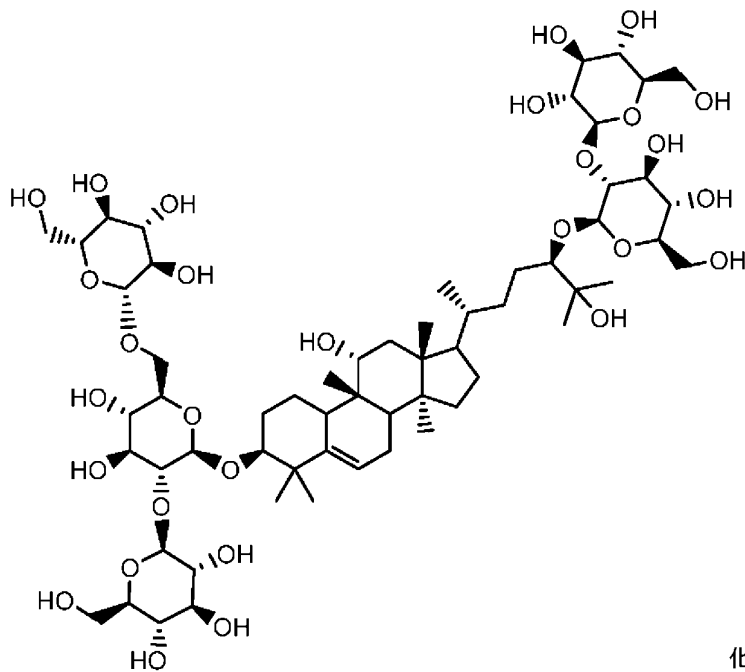
：モグロシドV、モグロシドI V_E、シアメノシドI、モグロシドI V_E、イソモグロシドV、モグロシドI I I_E、11-デオキシモグロシドV、11-オキシモグロシドV、モグロシドV I、モグロシドI V_A、モグロシドI I_A、モグロシドI I_A1、モグロシドI I_A2、モグロシドI_A、11-オキシモグロシドV I、11-オキシモグロシドI I I_E、11-オキシモグロシドI V_E、モグロシドI_E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシドI I I_E、モグロシドI I I_A2およびモグロシドI I Iの1つ以上と、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。

10

【0309】

実施例37および38：化合物32および33の製造

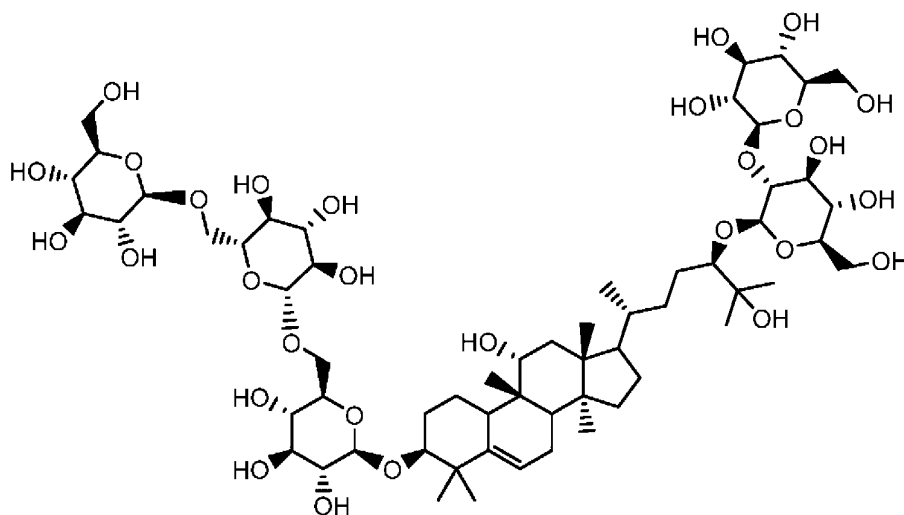
【化57】



20

化合物32

30



40

化合物33

【0310】

本明細書に開示される場合、化合物32および33は、本明細書に開示される化合物1の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物32および33をさらにグリコシル化および加水分解して、化合物1を製造することができる。

50

。化合物 3 2 および 3 3 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド V、モグロシド I V E、シアメノシド I、モグロシド I V E、イソモグロシド V、モグロシド I I I E、1 1-デオキシモグロシド V、1 1-オキシモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V A、モグロシド I I A、モグロシド I I A 1、モグロシド I I A 2、モグロシド I A、1 1-オキシモグロシド V I、1 1-オキシモグロシド I I I E、1 1-オキシモグロシド I V E、モグロシド I E、モグロール、1 1-オキシモグロール、モグロシド I I E、モグロシド I I I A 2 およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。酵素は、例えば、アスペルギルス・アキュレアタス (*Aspergillus aculeatus*) 由来のペクチナーゼ酵素であることができる。

10

【0311】

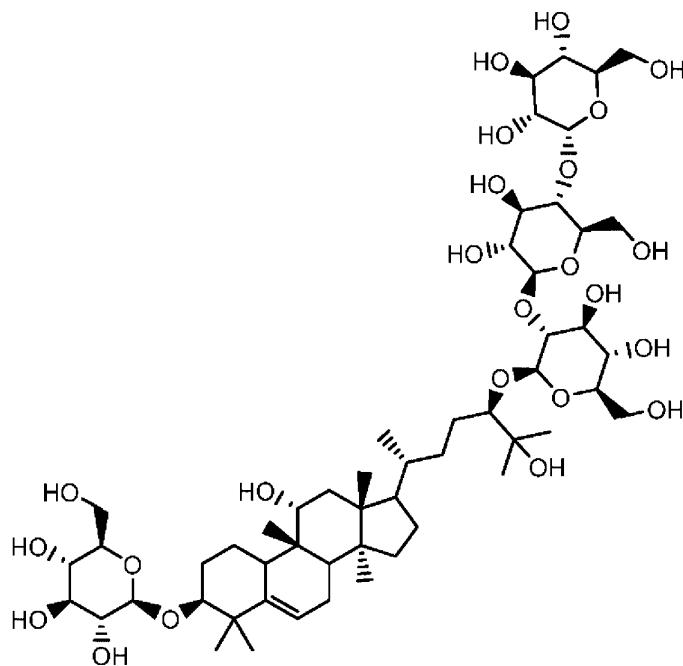
もう 1 つの例として、化合物 3 2 および 3 3 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、モグロシド I V E、シアメノシド I、モグロシド I V E、イソモグロシド V、モグロシド I I I E、1 1-デオキシモグロシド V、1 1-オキシモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V A、モグロシド I I A、モグロシド I I A 1、モグロシド I I A 2、モグロシド I A、1 1-オキシモグロシド V I、1 1-オキシモグロシド I I I E、1 1-オキシモグロシド I V E、モグロシド I E、モグロール、1 1-オキシモグロール、モグロシド I I E、モグロシド I I I A 2 およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。

20

【0312】

実施例 3 9 および 4 0：化合物 3 4 および 3 5 の製造

【化 5 8 - 1】



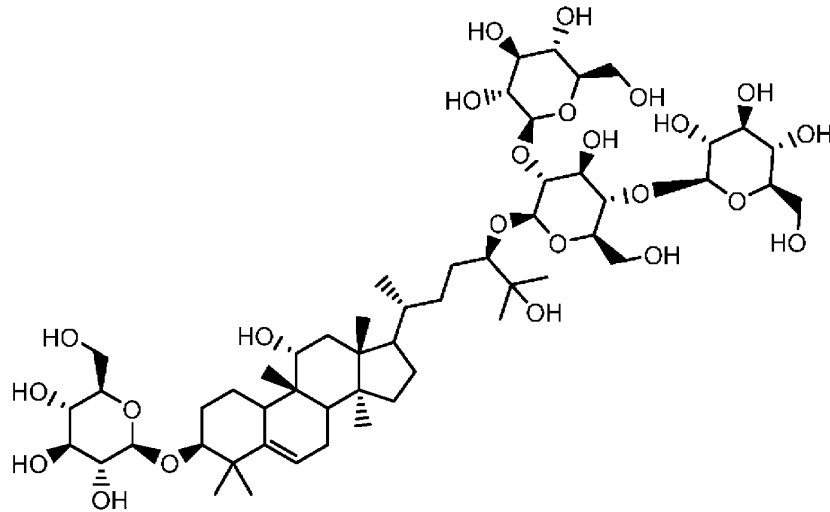
30

40

化合物 34

50

【化 5 8 - 2】



化合物 35

【 0 3 1 3】

本明細書に開示される場合、化合物 3 4 および 3 5 は、本明細書に開示される化合物 1 の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、化合物 3 2 および 3 3 をさらにグリコシル化および加水分解して、化合物 1 を製造することができる。化合物 3 4 および 3 5 の製造方法はまた、化合物 1 の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシド I I I E と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。酵素は、例えば、セルクラス

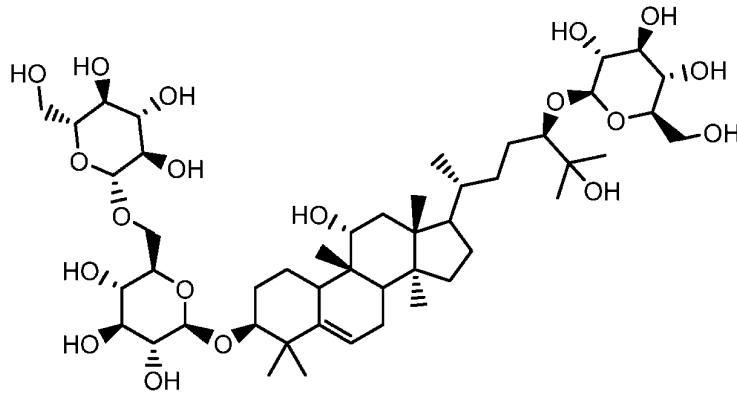
【 0 3 1 4】

もう 1 つの例として、化合物 3 4 および 3 5 の製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシド V、モグロシド I V E、シアメノシド I、モグロシド I V E、イソモグロシド V、モグロシド I I I E、11-デオキシモグロシド V、11-オキシモグロシド V、モグロシド V I、モグロシド I V A、モグロシド I I A、モグロシド I I A₁、モグロシド I I A₂、モグロシド I A、11-オキシモグロシド V I、11-オキシモグロシド I I E、11-オキシモグロシド I V E、モグロシド I E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシド I I E、モグロシド I I I A₂ およびモグロシド I I I の 1 つ以上と、UDP グリコシルトランスフェラーゼ、CGT アーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの 1 つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。

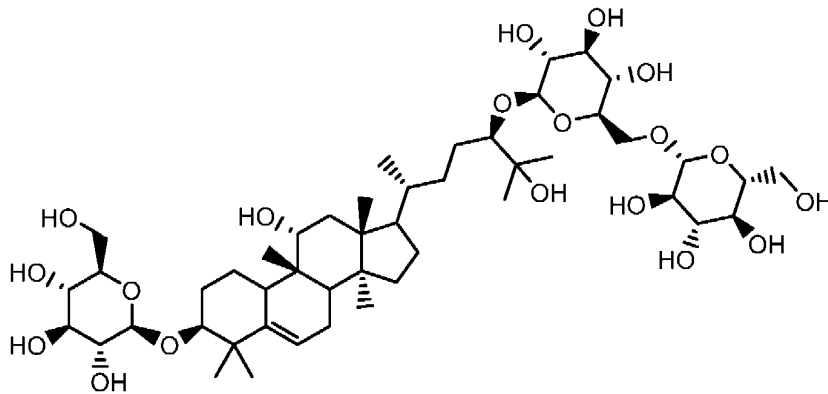
【 0 3 1 5】

実施例 4 1 および 4 2：モグロシド I I I A₂ およびモグロシド I I I の製造

【化 5 9】

モグロシドⅢ_{A2}

10



モグロシドⅢ

20

【0316】

本明細書に開示される場合、モグロシドⅢ_{A2}およびモグロシドⅢは、本明細書に開示される化合物1の製造中に製造される中間体モグロシド化合物であることができる。例えば、モグロシドⅢ_{A2}およびモグロシドⅢをさらに加水分解して、化合物1を製造することができる。

30

【0317】

例えば、モグロシドⅢ_{A2}およびモグロシドⅢをUGTと接触させて、もう1つのモグロシド化合物であるモグロシドⅣ_Aを製造させることもでき、これを使用して、モグロシドⅢ_Eを製造することができ、これをさらに加水分解することで、化合物1が製造される。

【0318】

モグロシドⅢ_{A2}およびモグロシドⅢの製造方法はまた、化合物1の製造をもたらすことができ、該方法は、モグロシドⅢ_Eと、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触を含むことができる。酵素は、例えば、セルクラストであることができる。

40

【0319】

もう1つの例として、モグロシドⅢ_{A2}およびモグロシドⅢの製造方法は、以下のことを含むことができる：モグロシドⅤ、モグロシドⅣ_E、シアメノシドⅠ、モグロシドⅣ_E、イソモグロシドⅤ、モグロシドⅢ_E、11-デオキシモグロシドⅤ、11-オキシモグロシドⅤ、モグロシドⅤ_I、モグロシドⅣ_A、モグロシドⅢ_A、モグロシドⅢ_{A1}、モグロシドⅢ_{A2}、モグロシドⅢ_A、11-オキシモグロシドⅤ_I、11-オキシモグロシドⅢ_E、11-オキシモグロシドⅣ_E、モグロシドⅢ_E、モグロール、11-オキシモグロール、モグロシドⅢ_EおよびモグロシドⅢの1つ以上

50

と、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、 β -グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を発現する組換え宿主細胞との接触。

【0320】

実施例43：化合物1を製造するためのCGT-SL酵素の使用

1mlの反応容量で、5mgのモグロシドIIIE、50mgの可溶性デンプン、0.1M NaOAc pH5.0、125 μ lのCGT-SL酵素（ゲオバチルス・ステアロサーモフィルス（*Geobacillus thermophilus*）由来）および水を混合し、スターラーバーを用いて50Cでインキュベートした。時点のサンプルをHPLC用に採取した。

10

【0321】

HPLCデータ：図1に示す化合物1の製造の質量分析。いくつかの実施形態において、CTG-SLは、配列番号3、148または154に示す配列を含むことができる。

【0322】

実施例44：クローニング：デキストランスクラーゼ酵素をコードする遺伝子を、ロイコノストック・シトレウム（*Leuconostoc citreum*）ATCC11449からPCR増幅し、pET23aにクローニングした

増殖条件：BL21 Codon Plus RIL株を、2xYT、37°C、250rpmで、OD600が1になるまで増殖させた。誘導のために10mM ラクトースを加え、室温、150rpmで一晩インキュベートした。反応に使用した粗抽出物は、超音波衝撃または浸透圧衝撃のいずれかによって得られた。

20

【0323】

いくつかの実施形態において、デキストランスクラーゼは、配列番号2、103、106～110、156、および896のいずれか1つのアミノ酸配列を含むかまたはそれらなる。いくつかの実施形態において、DexTは、配列番号103に示すアミノ酸配列を含むことができる。いくつかの実施形態において、DexTは、配列番号104または105に示す核酸配列を含む。

【0324】

実施例45：モグロシドIIIEとS ミュータンス・クラーク（*S mutans Clarke*）ATCC25175デキストランスクラーゼとの反応による化合物1の製造

30

増殖条件：デキストランスクラーゼ製造を刺激するためにWenham, Hennessey and Cole (1979)に示されているようにグルコースを補給して、上記の株を嫌氣的に増殖させた。5mg/mlのモグロシドIIIEを増殖培地に加えた。時点のサンプルをHPLC用に採取した。HPLCデータは、図2に化合物1の製造の質量分析として示されている。

【0325】

実施例46：モグロシドIIIEとCGTアーゼとの反応

1mlの反応容量で、5mgのモグロシドIIIE、50mgの可溶性デンプン、0.1M NaOAc pH5.0、125 μ lの酵素および水を混合し、スターラーバーを用いて50Cでインキュベートした。時点のサンプルをHPLC用に採取した。使用した酵素は、CGTアーゼであった。化合物1の製造を、図1に示すHPLCデータおよび質量分析データに示す。質量ピークは、化合物1のサイズに相応する。

40

【0326】

実施例47：モグロシドIIIEとセルクラストとの反応

セルクラストのキシロシル化を、モグロシドIIIEと、ネイティブ宿主であるトリコデルマ・リーゼイ（*Trichoderma reesei*）由来のセルクラストとを用いて行った。

【0327】

反応条件：5mgのモグロシドIIIE、100mgのキシラン、50 μ lのセルクラストを、総量1mlで、0.1M 酢酸ナトリウム pH5.0と混合し、50Cで攪拌しながらインキュベートした。時点のサンプルをHPLC用に採取した。

【0328】

50

キシロシル化生成物は、図3で強調表示されている。キシロシル化生成物は、化合物1の製造の中間体として使用することができる。セルクラストの配列は、本明細書に開示されており、本明細書においてキシロシル化生成物の製造に使用される。

【0329】

実施例48：グリコシルトランスフェラーゼ（マルトトリオシルトランスフェラーゼ）（ネイティブ宿主：ゲオバチルス種（*Geobacillus* sp.）APC9669）

この例では、グリコシルトランスフェラーゼ（glycosyltransferase）AGY15763.1（Amano Enzyme U.S.A. Co., Ltd., Elgin, IL；配列番号434）を使用した。20mLの脱塩水、0.6mLの0.5M MES pH6.5、6gの可溶性デンプン、150mgのモグロシドIII、および3mLの酵素を、40mLの平底スクリーキャップバイアルに加えた。このバイアルを黒色のキャップで密閉し、30℃でインキュベートして、マグネチックバーを用いて500rpmで攪拌した。出発物質として使用した合計600mgのモグロシドIIIに対して、さらに3つの同一の反応をセットアップした。反応を、24時間後に停止した。不溶性デンプンを、遠心分離（4000rpmで5分間、エッペンドルフ）により除去した。攪拌しながら（500rpm）30分間かけて上清を80℃に加熱し、次いで遠心分離（4000rpmで10分間、エッペンドルフ）した。上清を、250mL、0.22ミクロンのPESで濾過し、LC-MS（Sweet Naturals 2016-Enzymatic_2016Q4_A.SPL, line 1254）で確認してHPLCデータを得た。

【0330】

AGY15763.1タンパク質（配列番号434）は、ネイティブgDNA（配列番号437）またはコドン最適化された（*E. coli*（*E. coli*）に対して）DNA配列（配列番号438）によってコードされることができる。

【0331】

同様の挙動が予想される追加のグリコシルトランスフェラーゼ（glycosyltransferase）の一例は、ステビア・レバウディアナ（*Stevia rebaudiana*）由来のUGT76G1タンパク質（配列番号439）であり、これは、*E. coli*（*E. coli*）で発現させることができる。UGT76G1（配列番号439）のネイティブコード配列は、配列番号440に提供されている。

【0332】

実施例49：モグロールの存在下でのUDP-グリコシルトランスフェラーゼUGT73C5

モグロールをUDP-グリコシルトランスフェラーゼと反応させて、モグロシドIおよびモグロシドIIを製造した。1mg/mLのモグロールを、UGT73C5（*A. thaliana*（*A. thaliana*）（334）を含む200uLの粗抽出物、スクロースシンターゼを含む2uLの粗抽出物、5mM UDP、1x M221プロテアーゼ阻害剤、200mM スクロース、0.5mg/mL スペクチノマイシンと0.1M Tris-HCl pH7.0中で反応させ、30℃でインキュベートした。2日後にHPLC用にサンプルを採取した。図4および5に示すように、反応生成物は、モグロールからのモグロシドIおよびモグロシドIIであった。

【0333】

UGT73C5のタンパク質配列を、配列番号441に示し、UGT73C5のネイティブDNAコーディング配列（配列番号441）を、配列番号442に示し、UGT73C5コード配列（*E. coli*（*E. coli*）に対してコドン最適化）を、配列番号443に示す。

【0334】

実施例50：モグロールの存在下でのUDP-グリコシルトランスフェラーゼ（UGT73C6）モグロシドIの製造

反応条件：1mg/mLのモグロールを、UGT73C6を含む200uLの粗抽出物、スクロースシンターゼを含む2uLの粗抽出物、5mM UDP、1x M221プロテ

アーゼ阻害剤、200mM スクロース、0.5mg/ml スペクチノマイシンと0.1M Tris-HCl pH7.5中で反応させ、30℃でインキュベートした。2日後にHPLC用にサンプルを採取した。反応生成物は、モグロールからのモグロシドIであった。図6のHPLCデータおよび質量分析データに示すように。

【0335】

A. タリアナ (A. thaliana) UGT73C6をコードするタンパク質およびgDNA配列を、それぞれ配列番号444および配列番号445に示す。

【0336】

実施例51：モグロールの存在下でのUDP-グリコシルトランスフェラーゼ(338)による、モグロシドI、モグロシドIIAおよび2つの異なるモグロシドIII生成物の製造

反応条件：1mg/mlのモグロールまたはモグロシドIIAを、338を含む200ulの粗抽出物、スクロースシンターゼを含む2ulの粗抽出物、5mM UDP、1x M221プロテアーゼ阻害剤、200mM スクロース、0.5mg/ml スペクチノマイシンと0.1M Tris-HCl pH8.5中で反応させ、30℃でインキュベートした。2日後にHPLC用にサンプルを採取した。

【0337】

バチルス種 (Bacillus sp.) UDP-グリコシルトランスフェラーゼ(338)を用いたモグロール反応 (Pandey et al., 2014に記載；参照によりその内容全体が本明細書に援用される) により、反応生成物であるモグロシドI、モグロシドIIA、および2つの異なるモグロシドIII生成物が得られた。図7～9は、反応後に得られた生成物のHPLCおよび質量分析データを示す。図8は、モグロールIIAのサイズに相関するピークを示す。

【0338】

UGT338をコードするタンパク質およびgDNA配列は、それぞれ配列番号405および配列番号406に提供されている。

【0339】

実施例52：モグロシドIIIEの存在下でのUDP-グリコシルトランスフェラーゼ(301(UGT98))による、シアメノシドIおよびモグロシドVの製造

反応条件：1mg/mlのモグロシドIIIEを、301を含む200ulの粗抽出物、スクロースシンターゼを含む2ulの粗抽出物、5mM UDP、1x M221プロテアーゼ阻害剤、200mM スクロース、0.5mg/ml スペクチノマイシンと0.1M Tris-HCl pH7.0中で反応させ、30℃でインキュベートした。HPLCおよび質量分析のために2日後にサンプルを採取した。図10～11に示すように、モグロシドIIIEからの反応生成物は、シアメノシドIおよびモグロシドVであった。

【0340】

S. グロスベノリイ (S. grosvenorii) 301UGT98をコードするタンパク質およびgDNA配列は、それぞれ配列番号407および配列番号408に提供されている。

【0341】

実施例53：モグロール、シアメノシドIまたは化合物1の存在下でのUDP-グリコシルトランスフェラーゼ(339)による、モグロールからモグロシドI、シアメノシドIからイソモグロシドV、および化合物1から化合物1誘導体の製造

反応条件：1mg/mlのモグロール、シアメノシドIまたは化合物1を、339を含む200ulの粗抽出物 (Itkin et al.に記載；参照によりその内容全体が本明細書に援用される)、スクロースシンターゼを含む2ulの粗抽出物、5mM UDP、1x M221プロテアーゼ阻害剤、200mM スクロース、0.5mg/ml スペクチノマイシンと0.1M Tris-HCl pH7.0中で反応させ、30℃でインキュベートした。2日後にHPLC用にサンプルを採取した。

【0342】

モグロールからの反応生成物によりモグロシドIが得られ、シアメノシドIからの反応

10

20

30

40

50

生成物によりイソモグロシドVが得られ、化合物1からの反応生成物により化合物1誘導体を得られた(図12~14)。

【0343】

S. グロスベノリイ (*S. grosvenorii*) UGT339をコードするタンパク質およびDNA配列は、それぞれ配列番号409および配列番号410に提供されている。

【0344】

実施例54：モグロシドIIA、モグロシドIIE、モグロシドIIIE、モグロシドIVA、またはモグロシドIVEの存在下でのUDP-グリコシルトランスフェラーゼ(330)による、モグロシドIIIA、モグロシドIVE、およびモグロシドVの製造

本明細書に記載されているように、Noguchi et al. 2008 (参照によりその内容全体が本明細書に援用される) に記載されているようにUDP-グリコシルトランスフェラーゼ(330)の使用によって、反応生成物モグロシドIIIA、モグロシドIVA、モグロシドVが得られた。ネイティブ宿主は、セサムム・インディカム (*Sesamum indicum*) であり、製造宿主は、E. コリ (*E. coli*) であった。反応のために、1mg/mlのモグロシドIIA、モグロシドIIE、モグロシドIIIE、モグロシドIVA、またはモグロシドIVEを、330を含む200ulの粗抽出物、スクロースシンターゼを含む2ulの粗抽出物、5mM UDP、1x M221プロテアーゼ阻害剤、200mM スクロース、0.5mg/ml スペクチノマイシンと0.1M Tris-HCl pH7.0中で反応させ、30Cでインキュベートした。2日後にHPLC用にサンプルを採取した。

【0345】

反応により、モグロシドIIIA、モグロシドIV、モグロシドVといった生成物を得られた。図15~20に示すように、製造された化合物のサイズは、モグロシドIIIA、モグロシドIV、およびモグロシドVに相応する。

【0346】

S. グロスベノリイ (*S. grosvenorii*) UGT330をコードするタンパク質およびgDNAの配列は、それぞれ配列番号411および配列番号412に提供されている。

【0347】

実施例55：モグロシドIIA、モグロシドIIE、モグロシドIIIE、モグロシドIVA、またはモグロシドIVEの存在下でのUDP-グリコシルトランスフェラーゼ(328) (Itkin et al.に記載) による、モグロシドIIIA、モグロシドIVE、およびモグロシドVの製造

反応条件：1mg/mlのモグロシドIIIEを、330を含む200ulの粗抽出物、スクロースシンターゼを含む2ulの粗抽出物、5mM UDP、1x M221プロテアーゼ阻害剤、200mM スクロース、0.5mg/ml スペクチノマイシンと0.1M Tris-HCl pH7.0中で反応させ、30Cでインキュベートした。2日後にHPLC用にサンプルを採取した。

【0348】

反応生成物は、モグロシドIVEおよびシアメノシドIであった。図21~22に示すように、質量分析データの生成物のサイズは、モグロシドIVEおよびシアメノシドIに相応する。S. グロスベノリイ (*S. grosvenorii*) UGT328タンパク質(グリコシルトランスフェラーゼ)およびそのコード配列は、それぞれ配列番号413および414に提供されている。

【0349】

スクロースシンターゼAtSus1タンパク質配列およびAtSus1タンパク質をコードするgDNAは、それぞれ配列番号415および416に提供されている。

【0350】

実施例56：酵母でのモグロール製造

GenescriptまたはIDTのいずれかによる遺伝子合成によってDNAを取得した。一部のククルピタジエノールシンターゼでは、10~60日齢の実生からcDNAまたはゲノムDNAを取得した後、特異的および縮重プライマーを使用してPCR増幅を

10

20

30

40

50

行った。標準的な分子生物学の手法により、以下の過剰発現ベクターのいずれかにDNAをクローニングした：pESC-Ura、pESC-His、またはpESC-LEU。サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) 株YHR072 (erg7のヘテロ接合体) は、GE Dharmaconより購入した。Zymo Yeast Transformation Kit IIを使用して、モグロール合成遺伝子を含むプラスミド (pESCベクター) 形質転換／同時形質転換した。30℃、220 rpmで異種遺伝子を誘導するための2%グルコースまたは2%ガラクトースを含む適切な選択物を含む標準培地 (YPDまたはSC) で株を増殖させた。必要に応じて、ラノステロールシンターゼ阻害剤であるRo 48-8071 (Cayman Chemicals) を加えた (50 µg/ml)。酵母によるモグロールおよび前駆体の製造を、2日間の誘導後に準備し、次いで破碎 (イースト・バスター (Yeast Buster))、酢酸エチル抽出、乾燥、およびメタノールへの再懸濁を行った。サンプルをHPLCで分析した。

【0351】

ククルビタジエノールの製造を、阻害剤を含まない増殖条件において、ククルビタジエノールシンターゼS. グロスベノリイ (*S. grosvernorii*) SgCbQによって触媒した。

【0352】

ククルビタジエノールの製造が、示された生成物の質量ピークを示すHPLCおよび質量分析データに示されている (図23)。S. グロスベノリイ (*S. grosvernorii*) SgCbQをコードするタンパク質配列およびDNA配列は、それぞれ配列番号446および418に提供されている。

【0353】

Cpep2も、酵母でのククルビタジエノールの製造に使用した。図24に示すように、質量分析プロファイルは、ククルビタジエノールに相応するピークおよび特徴的なフラグメントを示す。Cpep2のタンパク質配列およびCpep2タンパク質をコードするDNA配列は、それぞれ配列番号420および421に提供されている。

【0354】

ククルビタ・ペポ (*Cucurbita pepo*) (ジャック・オー・ランタン) Cpep4も、阻害剤を含まない増殖条件下でのククルビタジエノールの製造に使用した。ククルビタジエノールの製造が、図24および25に示す質量分析データに示されている。示されているように、ピークおよびフラグメントは、ククルビタジエノールに相当する。Cpep4をコードするタンパク質配列およびDNA配列は、それぞれ配列番号422および423に提供されている。

【0355】

推定上のククルビタジエノールシンターゼタンパク質配列を表すCmaxは、ネイティブ宿主であるククルビタ・マクシマ (*Cucurbita maxima*) から得られた。推定されるコードDNA配列を、遺伝子合成および発現に使用する。ククルビタジエノールシンターゼをコードするタンパク質およびDNAのククルビタジエノールシンターゼ配列を、以下に示す。

【0356】

以下のタンパク質およびDNAコード配列は、公開データベース (Pubmed) より入手可能な既知のククルビタジエノールシンターゼ配列を用いたゲノムDNAのPCR産物配列のアラインメントにより得られた。これらのCmaxタンパク質のいずれか1つを、本明細書に開示される方法、システム、組成物 (例えば、宿主細胞) で使用することで、化合物1を製造することができると予想される。非限定的でかつ例示的なCmaxタンパク質は、Cmax1 (タンパク質) (配列番号424) であり、これはCmax1 (DNA) (配列番号425) によってコードされる。

【0357】

推定上のククルビタジエノールシンターゼタンパク質配列を表すCmos1は、ネイティブ宿主であるククルビタ・モスカータ (*Cucurbita moschata*) から得られた。推定されるコードDNA配列を、遺伝子合成および発現に使用する。以下に示すタンパク質およ

びDNAコード配列は、公開データベース（Pubmed）より入手可能な既知のククルビタジエノールシンターゼ配列を用いたゲノムDNAのPCR産物配列のアラインメントにより得られた。これらのCmosタンパク質のいずれか1つを、本明細書に開示される方法、システム、組成物（例えば、宿主細胞）で使用することで、化合物1を製造することができる。非限定的でかつ例示的なCmos1タンパク質は、Cmos1（タンパク質）（配列番号426）であり、これはCmos1（DNA）（配列番号427）によってコードされる。

【0358】

実施例57：酵母でのジヒドロキシククルビタジエノールの製造（ククルビタジエノールシンターゼおよびエポキシドヒドロラーゼ）

酵母におけるジヒドロキシククルビタジエノールの製造を、ククルビタジエノールシンターゼおよびエポキシドヒドロラーゼを使用して検討した。これらの酵素のネイティブ宿主は、S. グロスベノリイ（*S. grosvenorii*）である。

【0359】

増殖条件：SgCbQを、ラノステロールシンターゼ阻害剤の存在下でエポキシドヒドロラーゼ（EPH）と共発現させた。

【0360】

考えられるジヒドロキシククルビタジエノール生成物を、図26に示す。

【0361】

EPHタンパク質（コドン最適化S. セレビシエ（*S. cerevisiae*））をコードするEPHタンパク質配列およびDNAは、それぞれ配列番号428および429に提供されている。

【0362】

実施例58：ククルビタジエノールシンターゼ、エポキシドヒドロラーゼ、シトクロムP450およびシトクロムP450レダクターゼからモグロールの製造

ククルビタジエノールシンターゼ、エポキシドヒドロラーゼ、シトクロムP450、およびシトクロムP450レダクターゼを含む4つの酵素を、S. セレビシエ（*S. cerevisiae*）で共発現させた。増殖条件について、SgCbQ、EPH、CYP87D18およびAtCPR（A. タリアナ（*A. thaliana*）由来のシトクロムP450レダクターゼ）を、ラノステロールシンターゼ阻害剤の存在下で共発現させる。S. セレビシエ（*S. cerevisiae*）によるモグロールの製造が期待される。SgCbQ、EPH、CYP87D18、およびAtCPR（A. タリアナ（*A. thaliana*）由来のシトクロムP450レダクターゼ）をコードするタンパク質配列およびDNA配列は、CYP87D18（タンパク質）（配列番号430）、およびCYP87D18（DNA）（配列番号431）；およびAtCPR（タンパク質）（配列番号432）、およびAtCPR（DNA）（配列番号433）である。

【0363】

実施例59：化合物1は微生物による加水分解に耐性を示す

酵母株であるサッカロミセス・セレビシエ（*Saccharomyces cerevisiae*）、ヤロウィア・リポリティカ（*Yarrowia lipolytica*）、およびカンジダ・ボンビコラ（*Candida bombicola*）を、1mg/mlのモグロシドVまたは化合物1を補給したYPDでインキュベートした。3日後、上清をHPLCで分析した。

【0364】

HPLCデータに示すように、これらの株は、モグロシドVをモグロシドIIIEへと加水分解した。化合物1を用いた場合には、加水分解生成物が観察されなかった（図27Aおよび27B）。

【0365】

実施例60：ストレプトコッカス・ミュータンス・クラーク（*Streptococcus mutans* Clarke）ATCC 25175デキストランスクララーゼ

ストレプトコッカス・ミュータンス・クラーク（*Streptococcus mutans* Clarke）は

10

20

30

40

50

、グルコースを補給して嫌氣的に増殖させることができる。増殖条件の一例は、Wenham, Hennessey and Cole (1979)に見ることができ、例えば、該方法は、デキストランスクラーゼの製造を刺激するために使用される。5 mg / ml のモグロシド I I I E を増殖培地に加えた。例えば、製造をモニタリングするための時点のサンプルを、HPLC用に採取することができる。様々なデキストランスクラーゼの配列には、デキストランスクラーゼのタンパク質配列およびデキストランスクラーゼをコードする核酸配列（例えば、配列番号 157 ~ 162）が含まれる。いくつかの実施形態において、デキストランスクラーゼは、配列番号 2、103、106 ~ 110、156、および 896 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。いくつかの実施形態において、D e x T は、配列番号 103 に示すアミノ酸配列を含むことができる。いくつかの実施形態において、D e x T は、配列番号 104 または 105 に示す核酸配列を含む。いくつかの実施形態において、本明細書において、組換え細胞は、配列番号 156 ~ 162 のいずれか 1 つに示す配列を含むタンパク質をコードし、かつ／または配列番号 157 ~ 162 のいずれか 1 つに示す核酸配列を含むデキストランスクラーゼコードする核酸を含む。この例は、化合物 1 を製造するために使用される。

【0366】

実施例 61：純度 90 % の化合物 1 の製造手順および官能評価

モグロシド I I I E (M I I I E) をデキストランスクラーゼ／デキストラナーゼ酵素反応で処理した後、SPE 分画することによって、3 つの α -モグロシド異性体の混合物を含むフラクションを得る。UPLC 分析に基づく、この混合物には 3 つの異性体、すなわち 11-オキソ化合物 1、化合物 1、およびモグロシド V 異性体がそれぞれ 5 : 90 : 5 % の比で含まれている。これらの 3 つの異性体は、LC-MS、1D および 2D NMR スペクトルによる異なるフラクション／ソースの精製、および文献で報告されているモグロシド系列の密接に関連する異性体の比較によって特徴付けられる。このサンプルを、トライアングルテストを使用して純粋な化合物 1 サンプルと比較することにより、官能的にさらに評価する。

【0367】

酵素反応および精製手順

100 mL の pH 5.5 の 1 M 酢酸ナトリウム緩衝剤、200 g のスクロース、100 mL のデキストランスクラーゼ D e x T (1 mg の / ml の粗抽出物、pET23a、BL21-Codon Plus-RIL、2X YT で増殖)、12.5 g のモグロシド I I I E および 600 mL の水を、2.8 L の振盪フラスコに加え、このフラスコを、30°C、200 rpm で振盪した。反応の進行を、LC-MS によって定期的にモニタリングした。72 時間後、反応物を、2.5 mL のデキストラナーゼ (Amano) で処理し、30°C でフラスコを振盪し続けた。24 時間後、反応混合物を 80°C で加熱によりクエンチし、5000 rpm で 5 分間遠心分離し、上清を濾過し、400 g の C18 SPE カラムに直接ロードし、MeOH : H₂O 5 / 25 / 50 / 75 / 100 のステップグラジエントを使用して分画した。グラジエントの各ステップを 6 つのジャーに回収し、各ジャーに 225 mL を入れた。所望の生成物を 75 % MeOH フラクションの第 2 のジャー (SPE 75_2) で溶出し、減圧下で乾燥させた。これをさらに、7 mL の H₂O に再懸濁／溶解させ、凍結させ、かつバイアルを 3 日間凍結乾燥させて、1.45 g の白色固形物を得た。

【0368】

UPLC 分析 (図 28 および 29) によれば、混合物には、3 つの特性決定された α -モグロシド異性体、すなわち 11-オキソ化合物 1、化合物 1、およびモグロシド V 異性体が、それぞれ 5 : 90 : 5 % の比で含まれている。¹H および ¹³C-NMR (ピリジン-d₅ + D₂O) 分析に基づき、残留溶媒および／または構造的に無関係な不純物は観察されなかった。

【0369】

官能評価

純粋な化合物 1 v s . 純度 90 % の化合物 1 についてのトライアングルテストを、20

16年11月10日に行った。2つの異なる組成物：(1) LSB+175ppmの純粋な化合物1(標準)および(2) LSB+175ppmの純度90%の化合物1を試験した。組成物のサンプルはいずれも、低ナトリウム緩衝剤(LSB) pH約7.1を用いて製造され、エタノールの含有量は0%である。

【0370】

結論：パネリストは、組成物(1) LSB+175ppmの純粋な化合物1(標準)が組成物(2) LSB+175ppmの純度90%の化合物1(試験)と有意差がないことを見出した($p > 0.05$)。試験した分析結果の一部を、表2~4に示す。

【0371】

【表1】

表2. 異なるサンプルを正しく選択したパネリストの頻度

$n = 38$ (19名のパネリスト×2回繰返し)

サンプル	合計
正しくない	24
正しい	14
合計	38
選択された正しいサンプル(p値)	0.381

【0372】

【表2】

表3. 分析結果: 試験日

理論値(μM)	測定値(μM)
175ppm (155.51 μM) 純粋な化合物1(標準)	132.20 $\pm$ 1.54 ($n=2$)
175ppm (155.56 μM) 純度90%の化合物1(試験)	157.62 $\pm$ 0.63 ($n=2$)

【0373】

【表3】

表4. 分析結果: 試験日前日

理論値(μM)	測定値(μM)
175ppm (155.51 μM) 純粋な化合物1(標準)	134.48 $\pm$ 7.31 ($n=2$)
175ppm (155.56 μM) 純度90%の化合物1(試験)	140.69 $\pm$ 4.34 ($n=2$)

【0374】

実施例62: 組換え酵母細胞における遺伝子発現、サンプル処理および代謝産物の検出

Genescript、IDT、またはGenewizのいずれかによる遺伝子合成によってDNAを取得した。一部のククルピタジエノールシンターゼでは、10~60日齢の実生からcDNAまたはゲノムDNAを取得した後、特異的および縮重プライマーを使用してPCR増幅を行った。標準的な分子生物学の手法により、または酵母ギャップ修復クローニング(Joska et al., 2014)により、以下の過剰発現ベクターのいずれかにDNAをクローニングした: pESC-Ura、pESC-His、またはpESC-LEU。以下のプロモーターのいずれかによって遺伝子発現を調節した: Gal1、Gal10

、T e f 1、またはG D S。、Zymo Yeast Transformation Kit IIを使用して酵母の形質転換を行った。異種遺伝子を誘導するための2%グルコースまたは2%ガラクトースを含む適切な選択物を含む標準培地(Y P DまたはS C)で、酵母株を増殖させた。振盪フラスコまたは96ウェルプレートで30℃、140~250rpmで、酵母株を増殖させた。必要に応じて、ラノステロールシンターゼ阻害剤であるR o 48-8071 (Cayman Chemicals)を加えた(50ug/ml)。モグロール前駆体、モグロール、およびモグロシドを製造する酵母サンプルを、以下のいずれかによって処理した：

- ・ククルビタジエノールおよび11-OHククルビタジエノール：サンプルの細胞ペレットを破碎し(イースト・バスター(Yeast Buster))、次いで、酢酸エチル抽出、乾燥、およびメタノールへの再懸濁を行った。

- ・モグロールおよびモグロシド：サンプルの細胞ペレットを50%ETOHで溶解させ、80℃で30分間インキュベートし、濾過し、乾燥させ、LCMSスクリーニングのためにMeOHに再懸濁させた。

【0375】

サンプルを、以下に説明するLCMS法で、A/Bグラジエント(A=H₂O、B=アセトニトリル)を使用して分析した：

【0376】

ジエポキシスクアレンを分析するために、LCMS法は、C18 2.1 x 50 mmカラムの使用を含んでおり、Bが5%で1.5分間、Bが5%から95%へのグラジエント、または5.5分間、Bが95%で6分間、Bが100%で3分間、Bが5%で1.5、いずれも流量0.3ml/minであった。

【0377】

ククルビタジエノールを分析するために、第1のLCMS法は、C4 2.1 x 100 mmカラムの使用を含んでおり、グラジエントは、Bが1%から95%で6分間、流量は0.55ml/minであり、第2のLCMS法は、Waters Acquity UPLC Protein BEH C4 2.1x100mm、1.7um(ガード付き)の使用を含んでおり、Bが62%から67%で2分間、Bが100%で1分間、流量は0.9ml/minであり、ESIソースポジティブシングルスイオンモニタリングは427および409であった。酵素活性は、生成物のLCMSピーク面積vs. 内部標準のピーク面積として表示される。

【0378】

11-OHククルビタジエノールを分析するために、LCMS法は、C8 2.1 x 100 mmカラムの使用を含んでおり、グラジエントは、Bが60%から90%で6分間、流量は0.55ml/minであった。酵素スクリーニングのために、LCMS法では、Waters Acquity UPLC Protein BEH C4 2.1x100mm、1.7umのカラムを使用し、グラジエントは、Bが5分間で40%から80%、Bが95%で5.1~5.6分間であり、流量は0.55ml/minであり、ESIソースポジティブモードシングルスイオンモニタリングは425.4であった。酵素活性は、生成物のLCMSピーク面積vs. 内部標準のピーク面積として表示される。

【0379】

モグロールを分析するために、LCMS法は、C8 2.1 x 100 mmカラムの使用を含んでおり、グラジエントは、Bが6分間で50%から90%であり、流量は0.55ml/minであった。もう1つの方法では、Water Acquity HSS T3 C18 2.1X30mm、1.8umのカラムを使用し、Bが45%で1分間定組成、1.3分でBが100%であり、流量は1.3ml/minであり、APCIソースポジティブモードシングルスイオンモニタリングは、423.4であった。

【0380】

モグロシドIIIEおよび化合物1を分析するために、LCMS法は、Fluoro-phenyl 2.1 x 100 mmカラムの使用を含んでおり、グラジエントは、Bが6分間で15%から30%であり、流量は0.55ml/minであった。酵素スクリーニング中にモグロシドIの酵母製造を分析するために、LCMS法では、Phenomenex Kinetex Polar C18, 4

10

20

30

40

50

.6 X 100mm、2.6 μ mのカラムを使用し、グラジエントは、3分間でBが25%から55%であり、3.5分でBが100%であり、流量は1.5 ml/minであった。ESIソースネガティブモードシングルイオンモニタリングによる検出は、モグロシドIでは683.4であり、モグロシドIIでは799.4であった。

【0381】

実施例63:

ステップ1. オキシドスクアレンの入手可能性のブースティング

サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) 株YHR072 (ラノステロールシンターゼ *erg7* のヘテロ接合体) を、GE Dharmaconより購入した。プロモーターを *cup1* のプロモーターに置き換えることにより、活性な *erg7* 遺伝子の発現が減少した (Peng et al., 2015)。GDSプロモーターの制御下にあるトランケートされた酵母HMG-CoAレダクターゼ (*tHMG-CoA*) および *Tef1* プロモーターの制御下にある酵母スクアレンエポキシダーゼ (*erg1*) を、ゲノムに組み込んだ。オキシドスクアレンのブーストを、HPLCおよびUV吸光度に示されているように、ジエポキシスクアレンの製造によってモニタリングした (図31)。

【0382】

tHMG-CoA (タンパク質) 配列番号898 (経路1)

tHMG-CoA (DNA) 配列番号897 (経路1)

Erg1 (タンパク質) 配列番号900; *Erg1* (DNA) 配列番号899

【0383】

いくつかの実施形態において、*tHMG-CoA* 酵素は、ジエポキシスクアレンの製造のために使用される。

【0384】

S. grosvenorii (*S. grosvenorii*) での推定上のスクアレンエポキシダーゼをコードする遺伝子 (Itkins et al., 2016) を選択して、オキシドスクアレン/ジエポキシスクアレンの製造のブースティングについて試験した。3つのスクアレンエポキシダーゼのアミノ酸およびコード配列は、配列番号50~56、60、61、334、および335に示されている。オキシドスクアレンおよび/またはジエポキシスクアレンの製造、ならびにオキシドスクアレンおよび/またはジエポキシスクアレンのブースティングのための本明細書に開示される方法、システム、および組成物での使用に適したスクアレンエポキシダーゼの追加の配列は、SQE1 (タンパク質) 配列番号908、SQE1 (DNA) 配列番号909; SQE2 (タンパク質) 配列番号910、SQE2 (DNA) 配列番号911; SQE3 (タンパク質) 配列番号912、およびSQE3 (DNA) 配列番号913を含む。

【0385】

ステップ2. ククルビタジエノールの製造

ククルビタジエノールシンターゼ酵素

S. grosvenorii (*S. grosvenorii*) ククルビタジエノールシンターゼ遺伝子 (*SgCbQ*) を含むプラスミドを、オキシドスクアレンブーストを用いて酵母株に形質転換した。株を、30°C、150~250 rpmで1~3日増殖させた。ククルビタジエノールの製造が、示された生成物の質量ピークを示すHPLCおよび質量分析データに示されている (図23)。 *SgCbQ* タンパク質および *SgCbQ* をコードする *gDNA* は、それぞれ配列番号446および配列番号418に提供されている。ククルビタ・ペポ (*Cucurbita pepo*) (ジャック・オー・ランタン) タンパク質 *Cpep2* も、酵母でのククルビタジエノールの製造に使用した。図24は、ククルビタジエノールに相応するピークおよび特徴的なフラグメントを含む質量分析プロファイルを示す。 *Cpep2* タンパク質および *Cpep2* をコードするDNA配列は、それぞれ配列番号420および421に提供されている。ククルビタ・ペポ (*Cucurbita pepo*) (ジャック・オー・ランタン) タンパク質 *Cpep4* も、ククルビタジエノールの製造に使用した。阻害剤を含まない増殖条件下で宿主細胞を培養した。ククルビタジエノールの製造が、図25に示す質量分析データで

実証されている。示されているように、ピークおよびフラグメントは、ククルビタジエノールに相応する。C p e p 4 タンパク質および C p e p 4 をコードする DNA は、それぞれ配列番号 4 2 2 および配列番号 4 2 3 に提供されている。ククルビタ・マクシマ (Cucurbita maxima) タンパク質 C m a x も、酵母でのククルビタジエノールの製造に使用した。図 3 2 は、ククルビタジエノールに相応するピークおよび特徴的なフラグメントを含む質量分析プロファイルを示す。C m a x 1 タンパク質配列は、配列番号 4 2 4 に提供されており、C m a x 1 をコードする配列 (DNA) は、配列番号 4 2 5 に提供されている。ククミス・メロ (Cucumis melo) タンパク質 C m e l o も、酵母でのククルビタジエノールの製造に使用した。図 3 2 は、ククルビタジエノールに相応するピークおよび特徴的なフラグメントを含む質量分析プロファイルを示す。C m e l o タンパク質配列は、配列番号 9 0 2 で提供されており、C m e l o をコードする配列 (DNA) は、配列番号 9 0 1 で提供されている。ククルビタ・モスカータ (Cucurbita moschata) タンパク質 C m o s 1 も、組換え宿主細胞、例えば酵母細胞でのククルビタジエノール (cucurbitodienol) の製造に使用することができると予想される。C m o s 1 配列 C m o s 1 (タンパク質) (配列番号 4 2 6) および C m o s 1 (DNA) (配列番号 4 2 7) は、公開データベース (Pubmed) より入手可能な既知のククルビタジエノールシンターゼ配列を用いたゲノム DNA の PCR 産物配列のアラインメントにより得られた。C m o s t 1 タンパク質 (配列番号 4 2 6) を、組換え宿主細胞、例えば酵母細胞でのククルビタジエノールの製造に使用することができると予想される。

【0386】

他のオキシドスクアレニシクラーゼからククルビタジエノールシンターゼへの変換

修飾されたオキシドスクアレニシクラーゼを含むプラスミドを、オキシドスクアレニシクラーゼを用いて酵母株に形質転換した。株を、30℃、150~250 rpm で 1~3 日増殖させた。

【0387】

ネイティブ宿主ピスム・サティBUM (Pisum sativum) 由来のタンパク質 P S X Y 1 1 8 L も、酵母でのククルビタジエノールの製造に使用した。図 3 3 は、118 位のチロシンがロイシンに変換された際のククルビタジエノールに相応するピークおよび特徴的なフラグメントを含む質量分析プロファイルを示す。修飾されたオキシドスクアレニシクラーゼをコードするタンパク質および DNA の配列は、P S X Y 1 1 8 L (タンパク質) (配列番号 9 0 4) および P S X Y 1 1 8 L (DNA、コドン最適化) (配列番号 9 0 3) である。

【0388】

ジクチオステリウム種 (Dictyostelium sp.) 由来のオキシドスクアレニシクラーゼも、酵母でのククルビタジエノールの製造に使用した。図 3 4 に示すように、80 位のチロシンがロイシンに変換された際のククルビタジエノールの HPLC ピークが示されている。修飾オキシドスクアレニシクラーゼをコードするタンパク質および DNA の配列は、D d C A S Y 8 0 L (タンパク質) (配列番号 9 0 6) および D d C A S Y 8 0 L (DNA) (配列番号 9 0 5) である。

【0389】

ククルビタジエノールシンターゼ活性の向上

ククミス・メロ (Cucumis melo) 由来のククルビタジエノールシンターゼをコードする遺伝子を、コドン最適化し (配列番号 9 0 7)、修飾のライブラリーを製造するための開始点として使用した。修飾を、酵素の N 末端 (すなわち 5') または C 末端 (すなわち 3') 末端の融合ペプチドからなる標準的な分子生物学技術によって導入した。修飾されたククルビタジエノールシンターゼ遺伝子のプラスミドライブラリーを、オキシドスクアレニシクラーゼを用いて酵母株に形質転換した。上記の LCMS 法 2 を使用して、ククルビタジエノール v s . 内部標準の予想保持時間での 409 および 427 の正の質量フラグメントのピーク高さまたは面積の比率によって、酵素活性を測定した。酵素の性能を、親酵素の平均活性に対する平均 % 活性として記録した (n = 8)。ステップ 1 配列の酵素および酵

素をコードする配列を、配列番号 951～1012 に見ることができる。ステップ 1 の配列はまた、融合体 SS2c-G10、SS2e-A7b、SS2d-G11、SS2e-A7a、SS4d-G5、SS4d-C7、SS3b-D8、および SS2c-A10a を含み、これらは本明細書に開示される。

【0390】

ステップ 3. 11-OH ククルビタジエノールの製造

ククルビタジエノールを製造する *S. セレビシエ* (*S. cerevisiae*) 株で、CYP87D18 (CYP450、*S. グロスベノリイ* (*S. grosvenorii*)) および SgCPR (CYP450 レダクターゼ、*S. グロスベノリイ* (*S. grosvenorii*)) を発現させた。HPLC および質量分析データを用いて、11-OH ククルビタジエノール (すなわち、11-ヒドロキシククルビタジエノール) が観察された (図 35)。*S. グロスベノリイ* (*S. grosvenorii*) CYP87D18 タンパク質配列は、配列番号 872 に示され、CYP87D18 (コドン最適化 DNA) コード配列は、配列番号 871 に示されている。*S. グロスベノリイ* (*S. grosvenorii*) SgCPR タンパク質配列は、配列番号 874 に示され、SgCPR1 (コドン最適化 DNA) コード配列は、配列番号 873 に示されている。

【0391】

ククルビタジエノールを製造しかつ SgCPR を発現する *S. セレビシエ* (*S. cerevisiae*) 株で、追加の CYP450 を発現させた。11-OH ククルビタジエノールの製造をもたらす CYP450 は、表 5 に提供されている。CYP450 酵素の DNA およびタンパク質配列を、配列番号 871～890 および 1024～1049 に示す (表 1 参照)。サンプル LCMS データは、図 44 に提供されている。

【0392】

【表 4】

表 5. LCMS によって同定されたククルビタジエノールからの 11-OH ククルビタジエノールの製造を示す酵素。ヒットは、ベクターのみの対照に対する 11-OH ククルビタジエノールに相応する算出ピーク面積から選択した。

酵素の DNA/タンパク質配列番号	11-OH CCB のピーク面積
1024/1025	1.231
1026/1027	0.9893
1028/1029	0.9703
1030/1031	0.9207
889/890	0.649
1032/1033	0.4459
62048792D6	0.4362
1034/1035	0.3854
1036/1037	0.3833
1038/1039	0.3528
1040/1041	0.3523
1042/1043	0.3326
1044/1045	0.2664
1046/1047	0.2276
1048/1049	0.2083

【0393】

ステップ 4. モグロールの製造

11-OH ククルビタジエノールを製造する *S. セレビシエ* (*S. cerevisiae*) 株で、CYP1798 (CYP450 酵素、*S. グロスベノリイ* (*S. grosvenorii*)) および EP

H2A（エポキシドヒドロラーゼ、*S. grosvenorii*）を発現させた。HPLCおよび質量分析データを用いて、モグロールが観察された（図36）。配列について、酵素のDNAコードおよびタンパク質配列が、配列番号891～894に提供されている。

【0394】

モグロール前駆体を製造する酵母株で、追加のEPHを試験した。EPHの1つ（コードDNA配列およびタンパク質配列は、それぞれ配列番号1072および1073に示されている）は、モグロールを製造する能力を示した（図46）。

【0395】

ククルビタジエノールおよび／または11-OHククルビタジエノールのエポキシ化

エポキシ化を試験するために、*S. grosvenorii* およびグリチルリザ（*Glycyrrhiza*）（CYP88D6）由来の追加のCYP450およびSQEも、ククルビタジエノールまたは11-OHククルビタジエノールを製造する*S. cerevisiae*株で発現させた。

【0396】

SQEについて、酵素のタンパク質およびDNAコード配列は、配列番号882～888に提供されている。CYP450について、酵素のタンパク質およびDNAコード配列は、配列番号875～890に提供されている。

【0397】

ステップ7：*S. cerevisiae*でのモグロシドIIIEからの化合物1の製造

トランケートされたデキストランスクラーゼ（tDexT）を発現する*S. cerevisiae*株を、7mg/mlのモグロシドVを含むYPD（30℃、250rpm）で1～2日間インキュベートし、モグロシドIIIEに加水分解した。*S. cerevisiae*の細胞を収穫し、破碎し、そしてモグロシドIIIEを含むYPD上清と再度混合した。デキストランスクラーゼ反応を開始するために、最終濃度が200g/Lとなるようにスクロースを加え、次いで30℃、250rpmで2日間インキュベートした。HPLC用いて、化合物1の製造が観察された（図37）。tDexTのタンパク質配列は、配列番号896に示され、tDexTのDNAコード配列は、配列番号895に示されている。

【0398】

実施例64

*S. cerevisiae*または*Y. lipolytica*をモグロシドVの存在下で増殖させ、酵母におけるヒドロラーゼがモグロシドIIIEを製造できるようにした。1または2日後、細胞を破碎してHPLCで分析し、モグロシド含有量を測定した。1日間のインキュベーションの後、*S. cerevisiae*は、モグロシドVと、モグロシドIVと、モグロシドIIIEとの混合物を製造した。2日間のインキュベーションの後、図40Aに示すように、実質的にすべてのモグロシドがモグロシドIIIEに変換された。

【0399】

同様に、2日間のインキュベーションの後、*Y. lipolytica*は、主にモグロシドIIIEを製造した（図40Bに示す）。

【0400】

実施例65

*S. cerevisiae*または*Y. lipolytica*を、化合物1の存在下で増殖させた。他のモグロシド（実施例64参照）とは異なり、図41に示すように、化合物1の加水分解による加水分解生成物は観察されなかった。

【0401】

実施例66

*S. cerevisiae*を、デキストランスクラーゼ（DexT）を過剰発現

10

20

30

40

50

するように修飾した。この修飾株をモグロシド混合物の存在下で増殖させて、*S. cerevisiae* (S. cerevisiae) におけるヒドロラーゼがモグロシド I I I E を製造できるようにした。2 日間のインキュベーションの後、細胞を破碎して D e x T 酵素を放出させ、スクロースを補給した。24 時間後、かなりの量の化合物 1 が製造された (図 4 2 参照)。

【0402】

実施例 67: ククルビタジエノールシンターゼ活性を示す融合タンパク質の製造

ククルビタジエノールシンターゼ遺伝子の *S. cerevisiae* (S. cerevisiae) インフレイム融合ポリヌクレオチドのコレクションまたはライブラリー (配列番号 907 に提供されている DNA コード配列、および配列番号 902 に提供されているタンパク質配列) を調製した。インフレイム融合ポリヌクレオチドを酵母ベクター分子にクローニングして、融合タンパク質を製造した。

【0403】

様々な融合タンパク質が製造され、ククルビタジエノールシンターゼ活性について試験した。この例で製造されたいくつかの融合タンパク質の試験結果を、表 2 に示す。

【0404】

【表 5】

表 2. 融合タンパク質のククルビタジエノールシンターゼ活性

融合タンパク質の 配列番号	活性(親と比較して)	融合タンパク質の 配列番号	活性(親と比較して)
1024	166%	851	142%
854	135%	856	123%
859	105%	862	102%
865	125%	867	145%
915	124%	920	124%
924	121%	928	117%
932	128%	936	126%
940	109%	944	107%
948	102%	952	90%
956	85%	959	46%
964	74%	967	72%
971	89%	975	35%
979	96%	983	80%
987	111%	991	114%
995	124%	999	103%
1003	118%	1007	97%

【0405】

実施例 68: モグロシド I I I E、モグロシド I V E、またはモグロシド I V A の存在下での、UDP-グリコシルトランスフェラーゼ (311 酵素、配列番号 436 ~ 438) による、モグロシド I V およびモグロシド V 異性体の製造

反応条件: 50 ml のファルコン (Falcon) チューブに、17 ml の水、3 ml の pH 7.0 1M Tris-HCl、0.12 g の UDP (Carbosynth) 3 g のスクロース、300 ul のプロテアーゼ阻害剤 100x M221、150 ul のカナマイシン (50 mg/ml)、1,185 ml のスクロースシンターゼ S u s 1 (1 mg/ml の粗抽出物)、150 mg の開始モグロシド、および 6 ml の 311 酵素 (1 mg/ml の粗抽出物) を加え、30°C、150 rpm でインキュベートした。反応の進行を、LC-MS によって定期的にモニタリングした。3 日後、攪拌 (500 rpm) しながら 30 分間かけて 80°C に加熱することにより反応を停止させた。次に、反応物を遠心分離し (4000 rpm で 10 分間、エッペンドルフ)、上清を、50 ml の 0.22 ミクロンの PVDF で濾過した。同定された反応生成物を、図 4 3 に示す。

【0406】

実施例69：モグロシドからのモグロシドIAおよび／またはモグロシドIEの製造

10 μMのモグロールの存在下で30℃、140～250 rpmで2～4日間にわたり振盪フラスコまたは96ウェルプレートで増殖させた*S. セレビシエ* (*S. cerevisiae*)で、様々なグリコシルトランスフェラーゼタンパク質を発現させた。モグロシドIA (C24-OH位置のグリコシル化) および／またはモグロシドIE (C3-OH位置のグリコシル化) の製造をもたらすグリコシルトランスフェラーゼが、表6に提供されている。酵素のDNAおよびタンパク質配列は、配列番号1050～1071に提供されている (表1参照)。サンプルLCMSデータを、図45A～Bに示す。

【0407】

【表6】

表6. LCMSによって同定されたモグロールからのモグロシドIの製造を示す酵素

DNA/タンパク質配列番号	モグロシド IA	モグロシド IE
1050/1051	2700609	非検出
1052/1053	1605	22917
1054/1055	659331	17857
1056/1057	200270	4690
1058/1059	261900	104300
1060/1061	696200	非検出
1062/1063	1816000	非検出
1064/1065	76330	13290
1066/1067	562100	非検出
1068/1069	1315000	非検出
1070/1071	1764000	非検出

【0408】

【表7-1】

表1: 本明細書に開示される若干のタンパク質および DNA 配列

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
CYP87D18 DNA (コドン最適化) [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	ATGTGGACAGTTGTGTGGGACTTGTACCTTCTTGTGTCCTATTATATTCATTGGATCAACA AGTGGAGAGATTCCAAGTTCAATGGTGTCTACCTCCTGGAACCTATGGGGCTACCATTTGATAGG AGACACAATTCAGTTGTCAAGACCATCTGACAGTTTGGATGTGCATCCCTTTATCCAGAAGAAA GTCCGAACGTTATGGTCCGATATTTAAACCTGTTTGGCAGGCAGACCAAGTTGTTGTTTCAGCGG ATGCAGAGTTCAATAATTACATTATGTTACAACAAGGTAGAGCTGTAGAAATGTGGTATTTGSA CACACTGTCTAAATTTCTCGGGTTGGATACAGAGTGGTTAAAGCCTTAGGCTTAATCCACAAG TACATAAGATCCATTACCCCTAAACCACTTTGGTGTGTAAGCATTGAGAGAAAGATTCTTGCCAT TTATAGAGGCATCGTCTATGGAAGCGTTACATCTTGGTCCACTCAACCCAGTGTGGAGGTCAA GAATGCAAGTCTTTGATGGTATTCAGAACGCTCTGTAACAAAATGTTTGGAGAAGATGCTAAG AAATTTATCAGGAATATTCAGGTAATTCACAAAGCTGCTGGGTGGCTTTCTATCTCTACCGT TAAATTTTCCCGGCACCTACTTATCACAAGTGTCTTAAAGACATGAAAGAAATCCAGAAGAAAT ACGTGAAGTTGTAGATGATAGACTTGCCAAATGTGGGCCAGATGTTGAGGACTTTCTAGGGCAA CGCTTGAAGACAAAGAAATCCGAGAAATTCATAAGCGAAGAAATTTATCATCCAATTTGCTATTTT CAATAAGCTTTGCTTCTGTTTCAATCGATCAGCACGACGTTGACATTGATTTTGAAGCTACTTGA CGAACATCTCTGAGGTTGTAAGGAATTAGAAGCCGAACATGAAGCTATCAGAAAAGCTAGAGCT GATCCAGATGGTCCAATTAACCTGGGAAGAAATACAAATCTATGACCTTCACACTTCAAGTCATAA ACGAAACACTTAGGTTAGGCTCAGTGAATCCTGCTTATTGAGGAAACTGTTAAAGATCTGCA AGTCAAGGGTTACATTATCTGAGGATGGACTATAATGTTGGTAACATGCATCTAGGCATCGT GATGCAAGGTTCTACAAAGATCCGCACATATCCAATCCTTGGAGATGGAAGACCTGGACTCAA TTACCATTCAAAAGAACTTTATGCCATTCGGTGGTGGTTTAAAGGCATTGTGCAGGAGCTGAATA CTCCAAAGCTGATCTGCTACTTTTCTTCCACACTCTTTCACAAAATATAGGTCACCAAGCTTA GGTGGCGGTAGAAATGCAAGAGCCCATATTTTAAAGTTTGGAGATGGTTTGACCGTCAAGTTTA CTCTAAAGAGTAA	871	Itkins et al., 2016
CYP87D18 タンパク質 [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	MWTVVLGLATLFVAYYIHWINKWRDSKFNGLVPPGTMGPLIGETIQLSRPDSLDVHPFFQKK VERYGPLFKTCLAGRPVVVSADAEFNYYIMLQEGRAVEMWYLDLTLKFFGLDTEWLKALGLIHK YIRSIITLNHFGEALRERFLFFIEASSMEALHSWSTQPSVEVKNASALMVFTSVNKKVFGEDAK KLSGNIPGKFTKLGGFLSLPLNFPCTTYHKCLKDMKEIQKKLREVVDRLANVGPDPVEDFLGQ ALKDKSEKFLISEFIIQLLFSISFASFESISTLLTLILKLLDEHFEVVKLEAEHEALRKARA DPDGPIITWEEKSMFTTLQVINETLRGLSVTPALLRKTVKDLQVKGYYIIEGWTIMLVTAQRHR DPKVYKDPHIFNPWRWKLDSITIQKNFMPFGCCLRHCAGAEYSKVYLCTFLHILCTKYRWTKL GGGRIARAHILSFEDGLHVKFTPKNE	872	Itkins et al., 2016
SgCPR DNA (コドン最適化) [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	ATGAAGTTCAGTCCATTGCAATTCATGTCCTGCTATTATCAAGGGTAGAATGGACCCATCTAACT CCTCATTTGAATCTACTGGTGAAGTTGCCCTCCGTTATCTTTGAAACAGAGAAATGGTGTGCCAT CTTGACCACTTCTATTGCTGTATGATTTGGTTGCTTCGTTGCTTTGATGTGGAGAAGAGCTGCT	873	Itkins et al., 2016

10

20

30

40

50

【0409】

【表7-2】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列 番号	アクセッション番号 / 参考文献
<i>grosvenorii</i>]	TCTAGAAAGGTTAAGAATGTCGAATTGCCAAAGCCATTGATTGTCCATGAACCAGAACCTGAAG TTGAAGATGGTAAGAAGAAGGTTCCATCTCTTCGGTACTCAAACCTGGTACTGCTGAAGGTTT TGCTAAGGCTTGGCTGATGAAGCTAAAGCTAGATACGAAAAGGCTACCTTCAGAGTTGTTGAT TTGGATGATTATGCTGCCGATGATGACCAATACGAAGAAAAATGAAGAACGAATCCITCGCCG TTTTCTTGTGGCTACTTATGGTGATGGTGAACCTACTGATAACGCTGCTAGATTTTACAAGTG GTTCCGCCGAAGGTAAAGAAAGAGGTGAATGGTTGCCAAACTTGCACTATGCTGTTTTGGTTG GGTAACAGACAATACGAACACTTCAACAAGATTGCTAAGGTTGCCGACGAATTATTGGAAGCTC AAGGTGGTAACAGATTGGTTAAGGTTGGTTTAGGTGATGACGATCAATGCATCGAAGATGATTT TCTGCTTGGAGAGAATCTTGTGGCCAGAATTGGATATGTTGTTGAGAGATGAAGATGATGCT ACTACTGTTACTACTCCATATACTGCTGCTGCTTGGAAATACAGAGTTGCTTTCATGATTCTG CTGATGTTGCTGCTGAAGATAAGTCTTGGATTAAACGCTAATGGTCATGCTGTTTCATGATGCTCA ACATCCATTCCAGATCTAACGTTGTCGTCAGAAAAGAAATGTCATACTTCTGCTCTGATAGATCC TGTTCTCATTTCGAATTCACATTTCGGGTTCCGCTTTGAATTACGAAACTGGTGATCATGTTG GTGCTACTGTGAAAACCTGACTGAAACTGTTGATGAAGCCTTGAACCTTGTGGGTTTGTCTCC AGAAACTTACTTCTCTATCTACCCGATAACGAAGATGGTACTCCATTGGGTGGTTCTTCATG CCACCACCATTTCCATCATGTACTTTGAGAACCTGCTTTGACCAGATACGCTGATTGTTGAAC CTCCAAAAAGCTCTGCTTTGTTGGCTTTAGCTGCTCATGCTTCTAATCCAGTTGAAGCTGATAG ATTGAGATACTTGGCTTCTCCAGCTGGTAAAGATGAATATGCCCAATCTGTTATCGGTTCCCAA AAGTCTTTGTTGGAAGTTATGGCTGAATTCCCATCTGCTAAACCCACCATAGGTGTTTTTTTIG CTGCTGTTGCTCCAAGATTGCAACCTAGATTCTACTCCATTTTCATCTCTCCAAGAAATGGCTCC ATCTAGAATCCATGTTACTTCTGCTTTGCTTTTACGATAACATGCCAACTGGTAGAATTTCATAAG GGTGTGTTGTTCTACCTGGATGAAGAAATCTGTTCCAAATGGAAAAGTCCCATGAATGTTCTTGGG CTCCAATTTTCGTAGACAATCCAAATTTTAAAGTTGCCAGCCGAATCCAAGGTTCCAATTATCAT GGTTGGTCCAGCTACTGGTTTGGCTCCTTTTAGAGGTTTTTTACAAGAAAGATTGGCCTTGAAA GAATCCGGTGTTGAATGGGTCCATCCATTTGTTTTTCGGTTGCAGAAACAGAAGAAATGGATT ACATCTACGAAGATGAATTGAACAACCTTCGTTGAAACCGGTGCTTTGTCCGAATTGGTTATTGC TTTTTCTAGAGAAGGTCCTACCAAGAATACGTCCAAACATAAGATGGCTGAAAAGGCTTCTGAT ATCTGGAACCTGATTCTGAAGGTGCTTACTTGTACGTTTGTGCTGATGCTAAAGGTATGGCTA AGGATGTTTCATAGAACCTTGCATACCATCATGCAAGAACAAGGTTCTTTGGATTCTTCCAAAGC TGAATCCATGGTCAAGAACTTGCAAAATGAATGGTAGATACTTAAGAGATGTTTGGTAA		
SgCPR タンパク質 [<i>S. grosvenorii</i>]	MKVSPFEFMSAIIKGRMDPNSSEFESTGEVASVIFENRELVAITTSIAVMIGCFVVLWRRAG SRKVKNVRLPKPLTVHFEPEPRVEDGXXKXVSIFFGTQTGTARGFAKALADFAKARYEKATFRVVD LDDYAADDQYEEKLKNESEFAVELLATYGDGEPTDNAAREFYKWFAGKGERGEWLQNLLEYAVFGL GNRQYEHFNKIAKVADELLEAQGGNRLVKVGLGDDQCIEDDFSAWRESLWPELDMLLRDEDDA TTVTTPYTAAVLEYRVVHDSADVAEDKSWINANGHAVHDAQHPFRSNVVVRKELHETSASDRS CSHLEFNISGSALNYETGDHVGVCENLTETVDEALNLLGLSPETYFSIYTDNEDGTPGGSSSL PPFPFSCTLRTALTRYADILNSPKKSALIALAAHASNPVEADRLRYIASPAGKDFYAQSVIGSQ KSLLEVMAEFPSAKPPLGVFFAAVAPRLQPRFYSISSSPRMAPSRIHVTICALVYDKMPTGRIHK	874	Ilkins <i>et al.</i> , 2016

【0410】

10

20

30

40

50

【表 7 - 3】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列 番号	アクセッション番号 / 参考文献
	GVCSTWMKNSVPMKESHECSWAPFVVRQSNFKLPAESKVPFIIMVPGTGLAPFRGFLQERLALK ESGVELGPSILFFGCRNRMDYIYEDLNNFVETGALSSELVIAFSSREGPTKEYVQHKMAEKASD IWNLISEGAYLYVCGDAKGMADJVERTLHTIMQEQSLDSSKAESKVKNLQMNRYLRDVM		
CYP51G1 (コドン最適化) [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	ATGGAACCTGAAACAAGTTCTTCAATGTTGGGTATTGATCGTAGTTACGTTGGTITTTGGCTA AACTAATTTCTCGCGTCATTAATCCAGGTCTAAGAAGAGAGTACCTCCAACCGCTCAAAGGTTT TCCACTTGTAGGTGGCTTGGTTAGATTCTTAAAGGGCCAATTGTGATGTTGAGAGAAGAATAT CCCAACATGGATCCGTATTCACTCTGAATTTACTACATAAGAAGATTACCTTTCTGATTGGAC CAGAAGTTTCTGCACATTTCTTAAAGGCTTCAGAGAGTGATTATCACAGCAAGAAGTCTACCA ATTTAACGTGCCCACTTTTGGTCCGGGCGTTGTTTTGATGTCGACTACTCGGTAAGGCAAGAA CAATTCAGATTCTTACCAGAGCATTGAGAGTTACAAAACCTGAAGGGCTATGTTGACCAATGG TGAAAGAAGCACAAGATTACTTTTCAAAATGGGGTGAATTCAGGACAGGTTGATCTAAAAATGCGA ACTTGAACACTTGATCATATTAACCGCATCTAGATGTTTGTGGGAAGAGAAGTTCTGTGACCA TTATTTGCTGATGTAAGTCCCTATTTCATGACTTCGATAACCGTATGCTGCCAATATCCGTGA TGTTCCCATACTTGCTATACCCGCTCATAGGAGAAGAGATCAAGCGAGATCAAAATTTGGCTGA TATCTTTGTCAACATCATATCCCTCTCGTAAATGTACTGGCACTCTGAAAAATGACATGTTACAA TGCTTTATAAACTCTAAATACAAAGATGGCAGACCACTACTGATCTGAAATCACAGGGTTAT TGATAGCCGCATTTATCGCTGGGCAACATACGAGCTCGATTACTAGCACATGGACAGGCGCAT TTTGTATTGTCAAAAGAGTATATGAGTGGCTTCTTGAAGAGCAGCAGAAACAAATGGAGAAG CATGGTGACGAAAATGATCACGATATTTCTATCCGAAATGGACAAATTTGACCGTTGATCAAAAG AAGCCCTAAGACTACATCCACCTTGATTATGCTTATGAGGTGAGTATACCGATTTTAGCGT TACGACAAGACAACCAAGAGTATGATATTCGAAGCGGACATATTATAGCCACAAGTCCAGCT TTCGCAAAATCGTTTACCTCACGTGTATAAAGACCTTGACAGATTGATCCAGATAGGTTTGCTC CAGGTAGAGATGAGGATAAGGCTGCTGGACCTTCTCCTACATATCAATTTGGTGGTGGTAGACA CGGTTGTTAGGTGAACCTTTTGCCTATTACAAATCAAGGCAATCTGGTCACACTTACTGAGA AATTTTGAGTTAGAGTTGATTAGTCTTTCCCGGAAATTGACTGCAATGCCATGGTTGTGGGTG TCAAGGGTAAAGTGAAGTATAGAGAGAAGAAAGCTTAGCGTATCTTAG	875	Itkins et al., 2016
CYP51G1 タンパク質 [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	MPFNKFFNVGLTIVVTI.VI.AKI.TSAVINRSRKKRVPPPTVKGFPI.VGGI.VRF.I.KGPVIMI.RFFY PKHGSVFTLNLHKKITFLIGPEVSAHFKAESDLSQQEVYQFNVPITFGPGVVFVDVYSVRQE QFRFFTEALRVTKKGYVDQMVKEABYFSKWGDSGEVDLKCELEHLIILTA SRCLLGRREVDRQ LEADVSALFHDLNDGMLPI.SVMFPYLP.IPAHRRRDQARSLADI.FVNI.ISSRKCTGTSENDMLQ CFINISKYKDRPTIDSEITGLLIAALFAGQHTSISITWTGAYLLCHKKEYMSAVLEEQQKQMEK HGDRIDHDTLSFMDNLYRCIKFALRI.HPPI.IMIMRSSHTDFSVTTRGKEYDIPKGHI.IATSPA FANRLPHVYKDPDRDFDRFAPGRDCKAAGPFSYISVFGGRHGCLGEPFAYLQIKAIWSHLLR NFELELISPFPEIDWNAMVVGVKGVVRYKRRKLSVS	876	Itkins et al., 2016
CYP71B97 (コドン最適化) [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	ATGTTATCGTTGGCCATTTGGGTTTCACTTTTGTCTTGTGTGTCATCATTGCTTCTTTTAAAGA CGAAGAAGAAAGTTGCTCCACAAAGAGAAGAGCAATTTCCACCTGGACCTCCCAAACCTACC ATTGTTAGGCCATCTGCACTTATTGGGTTCTTTGCCTCATGCTCCTTATGTGAAGTGTCTAGA AAATATGGTCTCTCATGTTGTTTAAATTAGGCTCAGTACCTACCGTAGTCATATCTAGCGCTG	877	Itkins et al., 2016

10

20

【0411】

【表 7 - 4】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列 番号	アクセッション番号 / 参考文献
	CAGCCGCTAGAGAGGTGTTGAAAGTACACCATCTAGCATGTTGCTCTCGTCCGAGATTGGCTGC TTCCGGTAGATTCTCGTACAATTTTCTGGATCTGAACCTTAAGCCCATATGGTGAGAGATGGAGA GAACCTGAGGAAAAATTTGCGTATTGGTTTCTGCTGAGTCTAGACGTGTTGAGAGCTTCCACAGCA TAAGAGAAGAAGAGGTGGGATTATTACTTAAATCCATAGTCAAGTTTCCAGTAGTGCCACTCC AGTTGATCTATCTGAGAAATCCTATTCTTTCAGAGCTAACATTTATCACTAGAAATCCCGTTTGGG AAGTCATTCAGAGGTGGCGAATTTAGACAAATGAAACCTTTCAACAAGTCATCCACAGGACATCGA TTGCCCTAGGTTCTTTTCTGTGACAAACTTCTTCTGTCAGTAGGGTGGATTATCGACAGATT AACCCTGCTACATGCCAGATTGGACAAGACTTTTGTGCAATTAGACACCTTCTTTTACGATATC ATTGATGATCGTATCAATTTTGTGCGCAACAGCCAAACCGAAGAAAACATTATAGACGTACTAT TGAAATGGAAAGAGAAGCTTCAAAATTTGATGTCTTCAACTGAATAGGGACTGCATAAAAGC CTTGATAATGGATATATTTCTTCCCGGTGTAGATCTGGAGCAGGACAAATTTGTGGGCGATTG ACTGAATTTGGTGAGAAATCCAGAGTGAAGAAGTTGCAAGACGAAATAAGGTCGTGTGTGA AAGAGGATCAAGTCAAGGAACGTGATTTAGAGAACTTCAGTACTTAAAGATGGTCGTAAAGA AGTTTTAAGATTGCATGCTCCAGTTCTCTTGTATTGCGCAGAGAGACATGTCTCATTTCAAAA CTAAATGGTTATGACATTGATCCGAAACTCACTTGCATGTCAATGTTTGGGCGATTGGTAGGG ACCCAGATTCTTGGTCTGATCCAGAAAGATTTCTTCCAGAAAGATTGCGAGGATCAAGTATTGA TTACAAAGGACATAAATTTGAATTGCTGCCATTTGGTGGTGGCAGAGGATCTGTCCCGGTATG AACATCCGGACACTTCCGCTTGAACCTTGCCTAACCAACCTATTACTTTGTTTTCATTGAGATC TACCTGATGGCATGAAAGAGGAAGATGTGACATGGAAGAAGATGGTGGACTTGCTATTGCTAA GAAATCTCCCTAAAATTAGTTCCAGTTAGGTGCTTAAATTAG		
CYP71B397 タンパク質 [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	MLSIAIWVSLFLSLLSLLKTKKKVAPQKKKKQFPFGPPKLP.LLGH.LHLLGSLPHCSLCELSR KYGPV.M.LLKLGSVPTVVISAAAAAREVLKVHDLACCSRPRLAASGRFSYNFLDLNLSFYGERWR ELRKICVLVLLSARRVQSFOQIREEEVGLLLKSIQVSSSATPVLSKSYSLTANIITRIAFG KSFRGGELDNENFQOVHRRASIALGFSVFNFFPSVGVIIIDRLTGVEHGRLEKSFALDTFFQHI IDDRINFVATSQTEENIIDVLLKMERERSKFVQLNLRDCIKALIMDIFLAGVDTGAGTIWAL TELVRNPRVMKKLQDEIRSCVKEDQVKERDLEKLQYLMVVKVLEVLRLHAPVPLLLPRETMSHFK LNGYDIDPKTHLVNVAIGRPDPDSWSDPEEFFPERFAGSSIDYKGNFELLFPFGGRRICPGM NMGTVAVELALTNLLCFDWTLPDGMKEEDVDMEEDEGLAIAKKSPLKLVPRCLN	878	Itkins et al., 2016
CYP73A152 (コドン最適化) [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	ATGGATTTCCTTTTGTGGAAAAGACGTTGTTGGGTCTATTATCGCTGTCGATTGGCAATAG CCATTAGCAAAATTAAGGGGTAAGAGGTTTAAACTGCCACCAAGGTCGTTACCTGTCCCTATCTT TGGAACCTGGTTACAGGTTGGTGATGATTTGAACCCAGAGAAATCTAACGGGTTAGCCAGAGAA TTTGGGATATTTTCTTGTTAAGAAATGGCCAAAGAAACTAGTGGTAGTTTCTATCTCTGAC TTGCCAAAGAGTGCTTCATACACAAGGAGTGGAGTTTGGATCTAGAACAAGAAATGTAGTGT CGACATATTTACCGGAAAAGGTCAAGATATGGTTTTCACAGTATATGGTGAACATTGGCGTAAAA ATGCGTAGAAATTAATGATGATACCATCTTTCACCAACAAGGTTGTCCAACAATATAGGCAITGAT GGGAAGCAGAGCAGCTAGCGTTGTTGAAGATGTGAAGAAGAAATCCGGAATCTGCTACTACTGG TATTTGTGTTACGTGCTAGACTTCAATTTGATGATGACAAATACATATGATATGATATGATGAC AGAAGATTGAGTCCGAGGATGATCCCTCTTTCACAAATTTAGAGCACTGAATGGTGAGAGAT	879	Itkins et al., 2016

30

40

50

【0412】

【表7-5】

タンパク質/DNAの種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	CTAGGTTGGCTCAATCGTTCCGAGTACAACTATGGAGACTTCATCCCTATTTTAAGACCTTTCTT GAGAGGCTATTTGAAAATTTGCAAGGAAGTCAAGGACACTAGGTTACAGTTGTTTAAAGACTAC TTTGTGAAGAAAGAAAGAAATTGGCGAAGCTGAAAACCTACCACAAATGAGGGCTTAAATGTG CGATCGATCACCATTCTGGACGCACAAAGAGTGAATCAATGAAGATAACGTTTATACAT TGTTGAGAATATTAATGTAGCTGCCATTGAAACTACGTTGTGGTTCGATAGAAATGGGGAATTGCA GAGCTTGTAATCATCTCTGAAATCCAAAGAAAGCTGAGAAATGAGATGGATACAGTCTTAGGCT CAGGTGTTCCCTATCACTGAACAGATACACATAAGTTGCCCTATTTACAAGCTGTCATAAAAGA AACTCTTAGACTTAGAATGGCTATACCTTGTAGTTCCACATATGAATCTACATGATGCCAAA CTGGTGGTTACGACATTCCAGCAGAAATCCAAGATTCTAGTAAACCGTTGGTGGTTAGCCAATA ATCCAGCTAATTGGAAGAATCCAGAAGAATTCAGACCAGAGAGATTCTTGAAGAAGAATCCAA AGTTGAAGCTAATGGGAACGACTTTAGATATTTACCGTTCCGTTGAGGAAGAAGGAGTTGTCCA GGGATAATTTTAGCGCTACCTATCTTAGCTATCACCATAGGCAGACTGGTTCCAGAACTTTGAAT TGTTACCTCCACCAGGGCAAAGTAAGCTGGATACAAGTGAGAAGGGTGGTCAGTTTTCATTGCA TATCTTAAACACTCAACCATTCCTCTTAAACCCAGGCCATTTTAC		
CYP73A152 タンパク質 [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	MDLLLEKTLGLFIADVLAIAISKLRCKRFKLPGLPVPIFGNWLQVDDLNHRNLTLGAKK FGDIFLLRMGQRNLVVVSSPELAKEVLHTQGVFEGSRTRNVVDFIETGKGQDMVFVYGEHWRK MRRMTVPFFTNKVQYRHHGWEFAASVVDVKKNPESATTTGTVLRRRIQLMMYNMVRIMFD RRFESEDDPLFEKLRALNCRSRLAQSFENYNGDFIPILRPFLRCYLKCKEVDKTRLQLFKDY FVEERKKLANVKTNTNEGLKCAIDHILDAQKQKEINEDNVLYIVENINVAIETTLWSIEWGIA ELVNHPEIQKKLRNEMDVLGSGVPIETPDTHKLPYLQAVIKETLRLRLMAIPLLVPMMNLHDAK LGGYDIPAESKILVNANWLANPANWKNPEEPRPERFLBESKEVEANGNDFRILPFGVGRSCLP GILALPILAITIGRLVQNFELPPPPQSKLDTSEKGGQSLHLKHSITIVVKPRAF	880	Itkins et al., 2016
CYP80C13 (コドン最適化) [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	ATGTTAAAGAGTCCCTTTTGCCTTTCCCTTTTACCTCTGTTGAGTTGGCTGTTCTTCTTCT TACTATTGAGAAGGATCTGCTCTAAATCTAAGCCTAGACCTTTGCCCTCCGGTCCCTACTCCATG GCCGTGGTCCGAAATCTATTGCAAAATAGGCACAAATCCCATATTTCCGATCACTCAATTTCT CAAACTTACGGTCCGTTGATTTCCTTGCCTTTGGGAAGTACGTTATTGGCTCGTTGCATCGTAC CAGCTGCTGCTACTGCCGTTCTTAGAACACATGATAGATTACTTAGTGGGAGATATATGTTCCA GACCATTCCTGACAAACCTAAACATGCCCAATTTGCTCTTATCTACATCCCAATTTCTCCGATGAC CATTTGGAAGTCATTGAGAAGCATTTGTAGAGCAAACTTATTCACGTCAGGCTATAGAGTAC AAGGAGGTCTTAGAAGAAGAAAGATGAAGAGATGGTGGAAATTTCTACATCCAAACAAGGTAC GGTTGTAGGTGTTAGGGACTTAGTGTTTACACCGTTTTCACACATCTTATCCAACTTGGTGTTC TCAAGAGACTTAGTTGGCTATGTAGGTGAAGGTTTCAATGGGATTAAAGCATCTTTTCCCGTT CTATGAAATTAGGGTTAACACCTAATCTGGCAGACTTTTATCCAACTACGGAAGGGTTTCGATCT TCAAGGACTACAGAAGAAGGCTGTACTATATAACAAAGGAGTTGATCTACATGGGAAATCCTA GTCAAAGAAAGGAGAGAAATTACACAGGAACAACCTTGGTAGTTTCCACCGAATGACTTCTTGGAT TTTTGATACAGAATCAATTCAGTGATGATCAGATCACTACTTGGATTACCGAGGTTCTAACAGC TGGATTGATACAAACCTTCTACCGTTGAATGGGCTATGGCGGAACCTTTAAAGAATAAGGAT TTAACTGAGAAAGTCAGGGTCGAATTGGAAAGAGAGATGAAAATCAAGGAAATGCGATTGATG	881	Itkins et al., 2016

10

20

【0413】

【表7-6】

タンパク質/DNAの種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	ACAGTCAGATTAGTCAATTTTCAAGTCTGCTCAAGAAACCTTTGAGACTTTATCC ACCAGTGCCTATTTCTGTTACCAAGACTAGCACCAGAACCTTTGTAAGTGATGGGTTACAGTATT CCGAAGATACCTCGATATTTGTTAAGCATGGGGCATTTGGTAGAGATCCATCTATATGGGAGG AACCTCAGCATTTCAACCCAGAAAGATTGTCAATTCAGACTTAGACTTTAAAGCCTATGATT CAGATTTCTTGCCTTTTGGTGGAGGCAGAAGATCTTGCCAGGCCCTTTGATGACAACTGTACAA GTACCATGATAATTGCCCGTTAATCCCAATTTTGAATGCGAGCTTACCTACCTGGCGGTGAT TGGCCCAATTGGATTTAAGCGGTCAAATGGGTGTATCCTTACAAAGGAAAGCCACTGTTGCT TATTTCCAGGAACGTAATAG		
CYP80C13 タンパク質 [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	MIKDPFCFPFLPIISLAVLIDFLIRRTCSKSKPRPIPPGPTPWPVVGNIILQIGTNPHISITQFS QTYGPLISLRGTSLLVVASSPAAATAVLRTHDRLLSARYMFQTIIDPKRKHQSLSTSPFCCDD HWKSLRSICRANLFTSKAIESQGLRRRKKMKEMVEFLQSQGTVVGVDRDLVFTTVFNILSNLVF SRDLVGTVGGEFNGIKSSFHRSMLGLTLPNLADFFYPILGEGFDLQGLQKAVLYNKGVDSIWELL VKERRELRHNNLVVSPNDFLDVLQNGFSDQNYLITEVLTAGIDTCTSTVEWAMAEILLKND LTEKVRVLELEREMKIXENAIDESQSQFQLQCVKETLRLYPVPVFLPRLAPEPECEVMGYSI PKDTSIFVNAWIGRDPSEIWEPSAFKPERFVNSLDLFKAYDYRFLFPFGSRRSCLPGLLMTTVQ VPLIITATILHNFDWSLPLNGGDLAQILDLSGQMGVSLQKEXPLILIPRKRT	882	Itkins et al., 2016
CYP92A127 (コドン最適化) [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	ATGGAAGCTCCCTCGTGGGTGCTCTATGCCGAGCTTGGGTTGCAACATTGGCTCTATTGTTAC TTAGTAGGCGTTTGAGAAGAAGAAATGAATTTGCCACCTGGACCTAAACCTGGCCATTAAAT TGGCAATTTAAACCTAATAGGTCTTTACCGCATCAATCCATCCATCAATTTGCCAAAAGTAT GCCCAATAATGCACTTGAGATTGGATCATTTCCTGTTGAGTTGGCAGTTCTGTGCGATATCG CCAAGATCTTCTTGAAGACTCAGGATCTAACCTTCGTTTACGTCCTAAAGACAGCAGCTGGCAA ATACACCACTTACAATTTATAGCAATATAACGTGGTCACAATATGGTCTTATTGGAGACAAGCG AGGAAAATGTGTTGATGGAATGTCTCTGTGTAGAAGATTGGACAGTTATGAATACATTAGGA AAGAGAGATGAATGCCCTTGTCTAAGGAAATTTGCAAAAGTTCGGGAAAAGTCATCAAACTAAA GGACTACCTATCTACAGTTTCTTGAACGTGATAAGCAGGATGGTCTTAGGGAAGAAATACACT GACGAGTCAGAAGATGCAATCGTTAGTCCAGACGAATTTAAGAAAATGCTTGACGAATTTGTTT TCTATCTGGTGTATTGAACATCGGTGATTTCGATACCGTGGATTGATCTCTTAGATCTACAGGG TTACGTGAAACGTATGAAAGCTTGTCTCAAGAAATTCGACAGATTCTCGGAGCATGTTTAGAC GAGCATAATGAGAGAAGAAAAGGTGTCAAAGATTATGTAGCTAAAGACATGGTCGATGTACTGT TACAACCTGGCAGATGATCCGGATCTTGAGGTGAAATTTGGAACGTACGGTGTAAAGCGCTTAC ACACAGCTTAATAGCCCGTGGTACAGAACTTCCCGTGTCACTGTAGAATGGGCAATGAGCGAA CTTCTAAAGAAACAGAGATGTCGAAAAGGCCCTCTGAAGAGTTAGATAGAGTGAATTGGTAGGG AAAGATGGGTTGAGGAAAAGGATATCGCGAATTTACCCCTATATTGACGCAATTTGCTAAAGAAAC CATGAGGTTACATCTGTGGCACCATTTGTTGTTACCTAGATTATGACAGAGAAGATTGTGAGATT GCTGGCTACGATATAGCAAAAGGGCACTAGAGTTCTTGTCAACGTTTGGCAAAATTTGGAAGAGATC CAACTGTTTGGGAAAATCCCGATCAATTTAACCAGAAAGATTCTTCCGAAATCAATTCATCT CAAAGGGCAAGACTTTGAGTTGTTACCTTTGGAAGTGGTAGAAGAAATGTGCTCGGATATTCA CTGGGTTTAAAGATTATTCAGTCACTACGCAACTTATTGCATGGGTTTCTCTGGAAGCTGG	883	Itkins et al., 2016

30

40

50

【0414】

【表7-7】

タンパク質/DNAの種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	CTGGTGATACCAAGAAAGAGATTGGAATATGGAAGAAGTATTCGGTTTAAGCACGCCAAAGAA GTTTCCTTTGGATGCTGTTGCCGAACCAAGACTGCCTCCACACCTGTATCTATGTAG		
CYP92A127 タンパク質 [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	MEAPSWVSAAAWVATLALLLSRRLRRRLNLPPGPKPWLIGNLNLIGSLPHQSIHQLSQKY GPIMHLRFGSFPVVVGSSVDMAKIFLTKQDLTFVSRPKTAAGKYTTYNYNSNIWVSQYGPYWRQA RKMCLMELFSARRLDSYFYIRKEEMNALKEICKSSCKVILKLDYLSVSLNVISRMVLGKRYT DESEDAIVSPDEFKKMLDELFLLSGVNLIGDSIPWIDFLDLQGYVXRMKALSKKFDRFLEHVL FENERRKGVKDYVAKDMVDVILQIADDPDIEVKLEHRHGVKAFTQDLTAGGTSSAVTVWAMSE LLKKPEMFKAEEELDRVIGRERWVEEKDIANLPYIDAIKAKETMRLEHPVAPMLVPRLCREDCQI AGYDIAKGTRVLVNVWTIGRDPVTWENPDEFNPERFLGKSIDVKGQDFELLPFGSGRRMCPGYS LGLKVIQSSLANLHGHFSWKLAGDTKKEDLNMEEVFGLSTPKKFLDVAEAPRLPHLYSM	884	Itkins et al., 2016
CYP92A129 (コドン最適化) [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	ATGGAGGCACCACCGTGGGTTTCATATGCAGCTGCGTGGGTAGCAACATGGCTCTGTACTTC TGCTTAGACATTTGCGTAGAAGAAAATTGAATTTACCACCTGGTCCAAAGCCTTGGCCCTCTAAT TGGCAATCTGAACCTGATAGGATCGCTACCACATCAATCCATACATCAATTGAGTCAGAAATAT GGCCCAATTAIGCAGTTAAGATTGGTTCTTTTCCCGTTGGTTGGTTGGTTCAAGCGTAGATATGG CCAAAATTTTCTGAAAACACACGATCTTACGTTTGTGAGCAGACCGAAAACGCTGCGAGGC ATACACCACGATATAACTGTTCCAAATATAACTIGGTCGCAATATGGTCCGTATIGGAGACAAGCC AGGAAAATGTGTTTGATGGAGCTGTTTACGCGTAGACGCTCGGATTCATACGAATACATCAGAA AAGAGGAAATGAATGCATATTGAAGGAGATTTGCAAAAGTAGTGGGAAAGTAATCAAACCTTAA AGACTATTTGTCTACTGTCTCGCTTAATGTCTCAGTAGAATGGTGTAGGAAAGAAAGTACAC GATGAGCTGAAGATGCCATTGTTTCTCCCGATGAATTTAAGAAAATGTTGGATGAATGTTTTC TACTGGGCGGTGTTTGAACATCGGTGATTCATACCTTGGATCGACTTCTTAGATCTTCAAGG ATATGTCAAGAGAATGAAGGCTTTATCAAAGAAATTTGATCGTTTCTAGAACACGCTACTAGAT GAACACACGAGCGTAGAAAAGGTGTGAAGGATTATGTTGCTAAGGACATGGTCGATGTTGTTAT TGCAATTTGGCTGACGATCCAGACTTGAAGTCAAGTTAGAGAGGCATGGTGTAAAGGCGTTTAC CCAAGACTTGATTGCAGGAGGAACAGAAATCATCCGAGTAACAGTAGAATGGGCCATGTCTGAA TTGTTAAAGAACCCGAAATGTTTCGAGAAAGCCTCAGAAGAGCTAGACAGAGTGATTGGTAGGG AAAGATGGGTGAAGAGAAAGACATAGCCAAATTTACCGTATATAGACGCCATCGCTAAAGAAAC CATGAGATTGCGATCCAGTCGACCTATGCTAGTTCCACGTTTATGACAGAGAAGATTGTCAGATT GCTGGATACGATATTTGCTAAGGGTACTAGAGCTTGGTGAACGTTTGGACAAATGGTAGGGATC CTACTGTATGGGAAAATCCGTGATGAATTCATCCCGAAAGATTCTTAGGGAATCCATCGATGT CAAAGCTCAAGACTTCCGAATTTATGCCATTCCGATCAGGCAGAGAAGATGCTCCAGGGTACTCC TTAGGCTTAAAGGTTATACAGAGTAGCTTAGCAAACTCTTTGCGATGGTTCTCTTGGAGACTTG CTGGGGACGTTAAGAAAGAAGATTAAACATGGAAGAAGTGTGTTGGTCTTTCTACTCCCAAGAA ATTTCCATTGGATGCGGTTGCTGAACCTAGGTTACCACCTCACTTGTACTCTATTTAG	885	Itkins et al., 2016
CYP92A129 タンパク質 [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	MEAPPWVSAAAWVATLALLLSRRLRRRLNLPPGPKPWLIGNLNLIGSLPHQSIHQLSQKY GPIMQLRFGSFPVVVGSSVDMAKIFLTKHDLTFVSRPKTAAGKYTTYNYNSNIWVSQYGPYWRQA RKMCLMELFSARRLDSYFYIRKEEMNALKEICKSSCKVILKLDYLSVSLNVISRMVLGKRYT DESEDAIVSPDEFKKMLDELFLLSGVNLIGDSIPWIDFLDLQGYVXRMKALSKKFDRFLEHVL	886	Itkins et al., 2016

【0415】

【表7-8】

タンパク質/DNAの種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	EENERRKGVKDYVAKDMVDVLLQLADDPDLVLRERHGVKAFTQDLTAGGTSSAVTVWAMSE LLKKPEMFKAEEELDRVIGRERWVEEKDIANLPYIDAIKAKETMRLEHPVAPMLVPRLCREDCQI AGYDIAKGTRVLVNVWTIGRDPVTWENPDEFNPERFLGKSIDVKGQDFELLPFGSGRRMCPGYS LGLKVIQSSLANLHGHFSWRLAGDVKKEDLNMEEVFGLSTPKKFLDVAEAPRLPHLYSI		
CYP92A458 (コドン最適化) [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	ATGGAAATGTCATCATGTGTAGCCGCTACGATTAGCATCTGGATGGTGGTGTGTTTGTATTGTGG GTGTTGGATGGAGAGTGGTAAATTTGGGTTTGGCTAAGACCCAAAGAAATGGAGAAAAGGTTAAG GGAAACAGGCTTGGCAGGGAACCTCTACAGATTGTTATTTGGTGACCTTAAAGAACGTCGACGA ATGGCTGAACAAGCCAATTCAAAACCGATTAAATTTAGTCACGACATTTGGTCCAGAGTTTTC CAAGTATGTACAAAACCATTCAGAAATTAIGGGAAGAAATTCCTACATGTGGTTAGGTCCCTATCC AAGATGTCATATAATGGATCCTCAACAGCTGAAAACCGCTCTTACATTGGTTTATGACATTCAA AAGCCGAATCTGAATCCACTGGTCAAATCTCTGTTAGATGGGATTGTACATCAAGAGAGAAA AGTGGGCAAGCATAGAAAAGATCATTAATCCAGCTTTTACCTTGAAAAGTTGAAGGACATGAT TCCTGCCTTCTTTCACTCTTGCAATGAGATAGTTAATGAGTGGGAAAGACTAATTTCGAAGGAG GGTTCCTGTGAACCTTGATGTTATGCCCTACTIGCAGAACTTAGCTGCTGATGCTATATCCAGAA CAGCGTTTCTGTTCTAGCTATGAAGACCGTAAAAATGATATCCAAATTAATTAAGCAATTGACTCA TTTGGTCGTAAAAAGTAGCGTTTGGTGTGATATCCCTGGTTGGAGATTCTTACCAACCAATCA AACAACAAAATGAAGAAATCAACAGGAAAATCAAATCTCTGCTATTAGGAATCATTAACAAC GTCAGAAAGCAATGGAAGAAGGCCGAAGCTGCTCAATCTGATTTGTTAGGCATACTAATGGAATC GAATTCACACGAAATTCAGGAGAAGGAAACAATAAGGAGGACGGTATGCTATAGAAGATGTA ATCCAGCAATGCAAGCTTTCTATATAGCTGCACACAGACTACACCCACATTAATTTGCA CAATGATACTTTTAAAGTTACATACGGAATGGCAAGAGAGAGCAAGGACTGAAGTCTTGAAGGT CTTTGGCAATAAGAAGCCTGATTTTGTAGCGCTGAACAGATTGAAAATCGTTAGTGAAATTTCTA TAG	887	Itkins et al., 2016
CYP92A458 タンパク質 [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	MEMSSCAATISIMVVVCLVGVGWRVNVWLRPKKLEKRLREQGLAGNSYRLLFGDLKERAA MAEQANSKPIFNSHDIGPRVFPMSMYKTIQNYGKNSYMWLGYPYRVHIMDPQQLKIVFTLVYDIO KPNLNLPLVKFLLDGIVTHEGEKWAHKKRIINPAFHLEKLLKMPIPAFFHSCNEIVNWERLISKE GSCELDVMPLYLQNLAAADAIISRTAFGSSYEKGKIFQLLKLTLVLVVKVAFGVYIPGWRFLPTKS NNKMKKINRKIKSLLGLINKRQKAMEEGEAGQSDDLGLILMESNSNEIQEGENNKEDGMSIEDV IEECKVFYIGQGETTARLLIWTMILLSHTEWQERARTEVLKVFNGNKKPDEFGLNRLKIVSEIL MEVWVCMCAATLLVCYIFGSKFVRNLNGWYDVKLRRKEHPLPPGDMGWPLMGNLLSFKDFS SGHPDSFTNNV.KYGRSGTYKTHIFGNPSTVCFQPMQCRVITDDVNFK.GYPKSTKRIARCR PMIDVSNAEHRLFRRLITSPIVGHKALAMYLERLEBIVINSLEELSSMKHPVELLKEMKKVSFK AIVGVFMGSSNQDIKKIGSSFTDLYNGMFSIPINVPGETTFEKALZARKKLAKIVQPVVZERRL MIENQQEGDQRKDLIDILLEVKDENGKLEDEDISDLLIGLLFAGHESTATSLMWSITYLTQH PEILKKAKEEQEIMRTRLSSQKQLSFKIEKQMVYLSQVICTELRCANIAFAFTFEATAOVNIN GYITPAGWRV.ITWARATHMSEYYPNPEFFNPSRWDYNAKAGTFFPFAGSRI.CPGA.DIAKIF. ISIFLHYFLNRYLERVNPCEVTSFLVSKPIDNCLAKVMKVS	888	Itkins et al., 2016
CYP88D6 タンパク質 [<i>グリチルリザ・ウラレンシス</i> (<i>Glycyrrhiza uralensis</i>)]	MEVWVCMCAATLLVCYIFGSKFVRNLNGWYDVKLRRKEHPLPPGDMGWPLMGNLLSFKDFS SGHPDSFTNNV.KYGRSGTYKTHIFGNPSTVCFQPMQCRVITDDVNFK.GYPKSTKRIARCR PMIDVSNAEHRLFRRLITSPIVGHKALAMYLERLEBIVINSLEELSSMKHPVELLKEMKKVSFK AIVGVFMGSSNQDIKKIGSSFTDLYNGMFSIPINVPGETTFEKALZARKKLAKIVQPVVZERRL MIENQQEGDQRKDLIDILLEVKDENGKLEDEDISDLLIGLLFAGHESTATSLMWSITYLTQH PEILKKAKEEQEIMRTRLSSQKQLSFKIEKQMVYLSQVICTELRCANIAFAFTFEATAOVNIN GYITPAGWRV.ITWARATHMSEYYPNPEFFNPSRWDYNAKAGTFFPFAGSRI.CPGA.DIAKIF. ISIFLHYFLNRYLERVNPCEVTSFLVSKPIDNCLAKVMKVS	889	KY499143, Zhu et al., Metabolic Engineering 45 (2018) pp. 43-50 ("Zhu et al., 2018)
CYP88D6 DNA [グリチルリザ・ウラレンシス]	ATGGAAGTACATTGGGTTTGATGTGCGCTGCCACTTTGTGTGATGTCTACATTTTGGGAAGCA	890	Zhu et al.,

10

20

30

40

50

【 0 4 1 6 】

【表 7 - 9】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列 番号	アクセッション番号 / 参考文献
ルリザ・ウラレンシス (Glycyrrhiza uralensis)	ACTTTGTGAGGAATTTGAATGGGTGGTATTATGATGTAAACTAAGAAGGAAAGAACCCCACT ACCCCCAAGGTGACATGGGATGGCCCTCTTATGGGCAATCTATTGTCCCTCATCAAGATTCTCA TCGGGTCACCCGTGATTTCATTCATCAACAACCTTGTCTCAAAATATGGACGAAAGTGGTATCTACA AGACTCACTTGTTTGGGAATCCAAGCATCATTGTTTGGAGCCCTCAGATGTGTAGGCGAGTTCT CACTGATGATGTGAACCTTTAAGCTTGGTTATCCAAAATCTATCAAGAGTTGGCAGCATGTAGA CCCATGATTGATGCTCTCTAATGCGGAACATAGGCTTTTTCGACGCCCTCATTACTTCCCAATCG TGGGTCAACAAGGCGCTAGCAATGTACCTAGAACGCTCTTGAGGAAATTTGATCAATTCGTTGGA AGAATTTGCCAGCATGAAGCACCCCGTTGAGCTCTTGAAAAGAGATGAAGAAGGTTTCCTTTAAA GCCATTGTCCACGTTTTCATGGGCTCTTCCAATCAGGACATCATTAAAAAATTGGAAGTTCGT TTACTGATTTGTACAATGGCATGTTCTCTATCCCCATTAACTGACCTGCTTTTACATTCCACAA AGCATTGAGGACGTAAGAAGCTAGSCAAAAATAGTTCAACCCGTTTGGGATGAAAGGCGGTTG ATGATAGAAAAATGGTCAACAAGAAGGGGACCAAGAAAAAGATCTTATGATATTCTTTTGGAG TCAAGATGAGAAATGGACGAAAAATGGAGACGAGGATATTAGCGATTATTAATAGGCTTTT GTTGTGCGCATGAAAGTACAGCAACAGTTTAAATGTGGTCAATTACATATCTTACACAGCAT CCCATATCTTTGAAAAAGGCTAAGGAAGAGCAGGAAGAAATAATGAGGACAAGATTGCTCTCGC AGAAACAATTAAAGTTTAAAGGAAATTAACAATAATGGTTTATCTTCTCAGGTAATTGATGAAAC TTTACGATGTGCCAATATTGCCTTTGCAACTTTTCGAGAGGCCAATCTGATGTGAACATCAAT CTTTATATCATACCAAGGCGATGGAGAGTCTTAATTGGGCAAGCCCATTCATATGGATTCTC AATATTACCAAAATCCAGAAGAAATTAATCCATCGAGATGGGATGATTACAATGCCAAAGCAGG AACCTTCCTTCTTTTGGAGCAGGAAGTAGACTTTGTCTGGAGCCGACTTGGCGAAACTTGAA ATTTCCATATTTCTTCTTATTTCCTCTTAATTACAGGTTGGAGCGAGTAAATCCAGAATGTC ATGTTACCAAGTTACCACTATCTAAGCCACAGACAATTGCCCTGCGTAAGGTGATGAAGGTTCTC ATGTGCTTAG	2018	10
CYP 酵素 (コード DNA) [シトルルス・ラナトウス (Citullus lanatus)]	ATGTGGACAATTTGTTAGGTTTGGCTACGCTAGCTATCGCTTACTACATACATTGGGTTAACA AGTGGAAAGATTCAAAATTCATGGGGTATTGCCACCGGGGACGATGGGGCTTCCGTTGATCGG TGAACCGATTCAACTTAGCCGTCCGTCCGATTCTTAGACGTCCATCCATTCAATCAGAGCAAG GTCAAAAGATATGCCCCGATCTTCAAAACATGCTTAGCTGGTGGTCCGCTGGTGGTTTCGACTG ACGCCGAATTCATCACTACATCATGCTACAAGAGGGTCGTGCCGTGGAATGTGGTACTTGGTA TACTCTTTCAAAATTCCTTGGTTTAGACACGGAGTGGCTGAAGGCGCTAGGCTGATACATAAA TACATCAGGTCCATCACTTTGAACCACTTCGGAGCGGAATCCTTGGCTGAAAGGTTCTTCTCTA GGATAGAAGAAAGCGCGGTGAGACTCTACATTATTGGTGGACTCAGCCATCTGTGAGGTTAA GGAATCCGACGCTGCAATGGTGTTCAGAAACATCAATTGTTAAATGTTCTCGGAAGATTCAATCG AAATGTGTGACTGGTGGTTTAAACCAAGAAATTCACAGGTTTGTAGGTGGGTTCTTGACATTGC CACTTAACCTTACCGGGAACGACCTACAAATGATATAAGGACATGAAGGAAATCCAAAGAA ACTTAAGGACATTCTGGAACACAGACTAGCAAAAGGTTACCGGTAATGATGAGGACTTTCTTGGT CAAGCAATCAAGGACAAGGAGTCCACAGCTTCATCTCCGAAGAAATTCATCATTCATTAATGAT TCTCTATTTCTTCTTCTTCTTTCGAAAGCATATCAACGAGTTTAACTCTGATTCTAAAGTTCTC TGCTGACCATCCGCAAGTTGTCAGGAACTTGAGGCTGAGCACGAGGCAATCCAAAGGCCAGA	1024	20

【 0 4 1 7 】

【表 7 - 10】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列 番号	アクセッション番号 / 参考文献
	GCCGATCCAGATGGCCCTATAACTTGGGAAGAGTATATAAGCATGACGTTTACATTGAACGTTA TATCAGAGACTTTAAGATTGGGTTCAAGTTACGCCAGCTCTTCTAAGGAAGACTACCAAGAAAT CCAGATCAAAAGGTTACACCATTCAGAGCGATGGACGGTCATGTTGCTCACTCCCTCCAGCCAC CGTAGCCCCGAAGTGTACAAGGATCCCGATACGTTTAACTCCTTGGCGTTGGAAGGAATTAGACT CTATTACCGTTTCAAGAAGCTTTATGCCATTCCGTTGGTGGCTACGTCACGTGTGCGGGTGTGTA ATACTCGAAGGTTATCCATGACAGTTTCCCTTCATATTTCTATTCAACAAATATAGATGGCAAG TTGAAGGTTGGCAAGATAGCTAGAGCTCAGATCGTGGCTTCGAGGATGGTTGCTGTGAAGT TTACCCCAAGCACTGA		10
CYP 酵素 (タンパク質) [シトルルス・ラナトウス (Citullus lanatus)]	MWTLLGLATLAIAYYTHWVKNKWDKXFNGVLPCTMCLPLIGETIQLSRPSDSLVDVHPFIQSK VKRYGPIFKTCLAGRPVVVSTDAEFNHYIMLQEGRAVEMWYLDLTKFFGLDTEWLKALGLIHK YIRSIITLNHFGAESLRERFLPRIEESARETLHYWSTQPSVEVKESSAAMVFRTSIVKMFSEDS KLLTGGLTKKFTGLLGGFLTLPLNLPGTYYNKIKDMKEIQKKLKDILEERLAKGTGNDEDFLG QAIKDKESQQFISEFFIQLLESISFASFESISTSLTLILKFLADHPQVVKLEAEHEAIQKAR ADPDGPITWEEYKSMFTLNVISITLRLGSVTPALRKTTKEIQIKGYTIPEGWTVMVLTAHRH RDPEVYKDPDFTFNPRWKELDSITVQXNFMFPFGGLRHCAGAEYSKVYLCITFLHILFTKYRWTK LKSGKIAHAHLRFDGLHVKETPKS	1025	Cla008354
CYP 酵素 (コード DNA) [ククミス・サティウス (Cucumis sativus)]	ATGTGGACCACTCTGTGGGTTTAGCTACTTTGGCTATTGCCATATATCCACTGGGTTAACA AATGGAAGGACTCTAAGTTTAACGGTGTTTTGCCACCAGGTACTATGGGTTTGCCATTGATTGG TGAAACCATCCAATTGCTAGACCATCCGATTCTTTGGATGTTTACCATTCATTTCAGAGAAAG GTCAAAAGATACGGTCCAATTTCAAGACTTGTTTGGCTGGTAGACGAGTTGTTGTTTCTACTG ATGCTGAATTCAACCACTACATCATGTTGCAAGAAGGTAGAGCTGTTGAAATGTGGTACTTGGTA TACTCTGTCTAAGTTTTCGTTTGGATACCGAATGGTTGAAAGCCTTGGGTTTGATTCATAAG TACATCAGGTCTATCACCCTGAACCATTTTGGTGCTGAATCCTTGAGAGAAAGATTCTTGCCCTA GAATTGAAGAATCCGCTAGAGAAACATTGCATTACTGGTCAACTCAACCTCCGTTGAAGTAAA AGAATCTGCTGCTGCTAGGTTTTCAGAACCTCTATCGTTAAGATGTTCTCCGAGGATCTTCT AAGTTGTTCACTGAAGGTTTGACCAAGAAGTTCAGTGGTTTGTAGGTGGTTTTTGACTCTGC CATGAAATTTGCCAGGTACAACTTACCATAAGTGCAATCAAGGATGAAGCAGATCCAGAAAGAA GTTGAAGGACATCTTGAAGAAAGATTGGCTAAGGGTCTTAAGATCGACGAGAAAGATTTTGGGT CAAGCCATCAAGGACAAGAAATCCCAACAATTCATCTCCGAAGAAATTCATCATCCAGCTGTTGT TCTCTATTTCTTCTGCTTCTTCTGAAATCTATTCTACTACCTTGACCTTGATCTGAAATTTCT GGCTGATCATCTGATGCTGCTCAAGAAATTTGAAGCTGAACATGAAGCTATTAGAAGGCTAGA GCTGATCCAGATGGTCTTATTACTTGGGAAGAGTACAAGTCTATGAATTCACCTTGAACGTTA TCTGCGAAACCTTGAGATTGGGTTCTGTTACTCCAGCTTTGTTGAGAAAGACCAACAAAAGATTA TCAATCAAGGGCTACACTATTCTGAAGGTTGGAGCTGTATGTTGGTTACTGCTCTAGACAT AGAGATCTGAAGTTTACAAGGATCCAGATACCTTTAATCCCTGGCGTTGGAAGAGTTGGATT CCATTACTATCCAAAGAACTTCATGCCATTTGGTGGTGGTTTGGAGACATTGTGCTGGTGCAGA ATACTCTAAGGTTTACTTGTGTAATTTCTGTCACATCTTGTTCACATAAGTACAGATGGCGTAAA TTGAAGGTTGGTAAATCTGCTAGAGCCACATCTTGAATTTGAAGATGGTCTGACGTTAACT	1026	40

【0418】
【表7-11】

タンパク質/DNAの種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	TCACCCCAAAAGAATGA		
CYP 酵素 (タンパク質) [ククミス・サティウス (<i>Cucumis sativus</i>)]	MWTLILLGLATLAIYYTHWVNKWKDSXFNGVLPPGTMGLPLIGETIQLSRPSDSLVDHHPFIQRK VKRYGPIFKTCLAGRPVVVSTDAEFNHYIMLQEGRAVEMWYLDLTSKFFGLDTEWLKALGLIHK YIRSIITLNFHGAESLRERFLPRIEESARETLHYWSTQTSVEVKESAAAMVFRSIVKMFSEDS KLLTEGLTKKFTGLLGGFLTLPNLPGTTTHYKCIKDMKQIQKKLKDILEERLAKGVKIDEDFLG QAIKDKESQQFISEEFIIQLLESISFASFESISTTLTLILNFLADHPDVVKELEAEHEAIRKAR ADPDGPITWEEYKSMNFTLNVICETLRLGSVTPALLRKTTKEIQIKGYTIPEGWTVMLVTASRH RDPFVYKDPDTFNPRWKELDSITIQKNFMFFGGGIRHCAGAEYSKVYLCTFLHILFTKYRWRK LKGGKIARAHILRFEDGLYVNFPEKE	1027	Csa1G044890.1
CYP 酵素 (コード DNA) [ククミス・メロ (<i>Cucumis melo</i>)]	ATGTGGACCATACTATTAGGGCTAGCCACTTTAGCCATTGCCTATTACATACATTGGGTCAACA AATGGAAGGACTCAAAATCAATGGCGTTTACCACCAGGCACATATGGGCTTGCCGCTGATTGG TGAGACCATTCAGCTTTCAGACCACTCCGATAGTTTGACGCTCCACCCCTTCATCCAAAGTAA GTTAAAGGTACGGGCCAATCTTTAAACCTGTCTTGCCGGAAGACCTGTCGTGTGTCCACCG ATGCAGAATTCAATCACATACATGCTTCAAGAGGGTCGTSCCGTCGAAATGTGGTACTTAGA CACATTATCTAAGTTCTTGGCTTAGACACTGAGTGGTTGAAAGCTCTAGGTCTGATTCACAAA TACATCAGAAGTATCAGCTTGAATCACTTCGGTGCCGAATCCCTGAGAGAAAGATTCTTGCCCTA GAATCGAAGAGAGTGCCAGGAGACGCTGCATTACTGTCGACTCAGCCATCAGTAGAGGTAAA AGAGTCGGCTGCAGCGATGGTGTTACAGGACATCAATTGTGAAAATGTCTCTGAGGATTCGTCA AAGTATTAACAGCTGGGCTGACGAAGAAATTTACTGGTCTGTGGTGGTTTCTTGACATTGC CCTTAAACGTTCCCGGGACACGTACCACAAATGTATTAAGGACATGAAAGAGATACAGAAGAA ACTGAAGGACATACCTGAAGAGAGGCTTGCAAAGGGCGTATCAATCGATGAAGACTTCCCTTGGC CAGGCGATTAAAGGACAAGAAATCTCAGCAGTTTATCTCCGAAGAGTTTATCATTCAGTTACTAT TTTCCATCAGCTTTGCGAGTTTCGAGTCGATCTTACCACCTTTGACCTTGATCTTGAACCTCTT AGCGGACCATCCCGATGTTGCTAAAGAATTGGAAGCTGAGCAGGAGCGATTCTGAAGGCGAGG GCATATCCCGACGGCCCCATAACTTGGGAAGAGTACAAATCGATGAACCTTACGTTAAATGTGA TATGCGGAGACTCTTCGCTTGGTAGTGTACACACAGCTTGTACGTAAGACACCAAGGAGAT ACAAATAAAGGGCTACACTATTCTGAGGGCTGGACGCTTATGCTAGTTACAGCCAGTAGACAT AGAGATCCCGAAGTGTACAAGGATCCTGATACATTCATCCATGGAGATGGAAGGAAATGGGATA GTATCACCATACAGAGGAACCTCATGCCATTGGTGGTGGCCTGAGGCACCTGCGGGTGACAT ATACTCGAAGGCTTATTTGTCACATTTCTTACACATATCTTACGAAGTACAGCTGGGAGAAAG CTGAAAGGTGGAAAGATCCCGAGAGCCCATATTCTTAGATTCSAAGACGGCTTGTACGTGAAC TCACGCCAAAAGAATAA	1028	
CYP 酵素 (タンパク質) [ククミス・メロ (<i>Cucumis melo</i>)]	MWTLILLGLATLAIYYTHWVNKWKDSXFNGVLPPGTMGLPLIGETIQLSRPSDSLVDHHPFIQSK VKRYGPIFKTCLAGRPVVVSTDAEFNHYIMLQEGRAVEMWYLDLTSKFFGLDTEWLKALGLIHK YIRSIITLNFHGAESLRERFLPRIEESARETLHYWSTQTSVEVKESAAAMVFRSIVKMFSEDS KLLTAGLTKKFTGLLGGFLTLPNLPGTTTHYKCIKDMKEIQKKLKDILEERLAKGVSDDEDFLG QAIKDKESQQFISEEFIIQLLESISFASFESISTTLTLILNFLADHPDVAKLEAEHEAIRKAR ADPDGPITWEEYKSMNFTLNVICETLRLGSVTPALLRKTTKEIQIKGYTIPEGWTVMLVTASRH	1029	MEI03C002192P 1

10

20

【0419】
【表7-12】

タンパク質/DNAの種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	RDPFVYKDPDTFNPRWKELDSITIQKNFMFFGGGLRHCAGAEYSKVYLCTFLHILFTKYRWRK LKGGKIARAHILRFEDGLYVNFPEKE		
CYP 酵素 (コード DNA) [クエルクス・スベル (<i>Quercus suber</i>)]	ATGTGGACAATAGGCTTGTGCATCGTCGCGTCTTGGTTATATACTTGAGCTATAGACTGAATA AGTGGTCCACCCCAAGTGTAAACGGGATCCTACCCCGAGGCTCAATGGGTTTGCCCTTAATTGG TGAAACCCCTGCAGCTAATTGTACCCTCGTATCCCTAGACCTGCATCCTTTTATCAAGAAGAAA GCACAAAGTACCGCCCAATCTTCAGGACTTCGCTACCGGGTTCGCCAATCGTTGTTCTATAG ATCCCGAATTCACACCATTACATCGTAAAGCAGGAAGGTAGACTGGTCGAGCTGTGGTATTAGA CTCCTTCAGTAAGCTATTTCTACGGAAGGTGAAAATAAGACGAACGCGATTGGGTTGTGCAT AAGTACATCAGGCTATTCGCATTGAATCATTTCCGGGTGGAGCCCACTAAAGGAGAAGTTGTTC CACAAATCGAAGAAATTTGTTGACAAGGCTTTGACAGCTGGTCCAGTACCCCTTTGGTTGAGAT GAAGCATGCCGCCAGCTTATCATCTTTGACTTTTACGCCAAGCTATTCAATTCATATGATGCA GAAAACAGCCCTATGAAAATGAGTGAAAAGTTCCACAACATTTTGGGCGGATTTCATGTCATTCC CCCTGAACATTCAGGACCACTTATCACAAGTGTCTAAAGGATAGAAATGAAGCCCTGAGTAT GTTGCGTAAGATCTTTAAAGAGCGTATAAACTCACCCAAAAGGCATTTTGAAGATCTGCTTGAC CAGGCCATTAAAGACAGGACAAAGAAAAGTTCTTCTGAGGACTTCATAATCAACGTAGTGT TCCGTTTGTGTTTGGCTTCAITCGAGTCAATCCAGCTGCGCTTATACITTAACCTATT GGCTGAGCACCTGCACTTACAGGAAGTACAGACGAACCAAGGCTATTCTGAAGAATAGG GAATCTCTAATTCATTTTGACTTGGGACGAATATAAATCAATGACATTCACGACACAGGTTA TAAATGAGGCTTTGAGGCTGGGCGGGTGCCTCCAGGCTTGCTAAGAAAAGGCTTTAAAGGATAT CGAGTTCAAGGGCTATACGATCCCTGCGGGCTGGACAATCATGTTAGTAAACAGTGCCATTGAG TTAAACCCCAATACATATAAAGACCCACTTGCCCTTAACCCATGGAGATGGAAGGACTTGGACT CGCTATTGCTGCAAGAATTCATGCCCTTCGGCGCGGGATTGCTCAATGCGTGGTGCCGA GTACTCAAAGACATTCCTTGCCACGTTCTTTCAGCTTCTTGTAACAAAATATAGATGGACCAAG GTCAAAGTGGTACAATCGTGCCTAACCAGATCTTGGAGTTCAGTATGAGCTTGCACATTAAT TCTCTGCCATCTCCAATTGA	1030	
CYP 酵素 (タンパク質) [クエルクス・スベル (<i>Quercus suber</i>)]	MWTLIGLTVAVIVTYISYRIKWSNPKNGTLPPIGSMGLPLIGRTIQTIVPSYSLDIHPFIKKX AQKYGPFRCSVAGSIPVVSIDPEFNHYIVKQEGRLVELWYLDSESKLFSTEGENKTNAGVVS XYIRSIALLNFHFGVDPLKEKLLPQIEEFVDKALQVWSSHPLVEMKHAASVMIEDFSAKLFISSYDA SNSPMKMKSEKTNILGGFMFPLNIPGTTHYKCLKDRNEALSMRLKIFKERINSPKRHFEDLLD QAINDTDKETLPEDFIINVVFGLLFASFESISAALSILNLAEHPAVLQELTDENKAILXNR ESPSILTWDEYKSMFTTHQVINEALRLGGVAPGLLRKALKDIEFKGYTIAGWTIMLVNSAIQ LNENTYKDFLAFNPRWKDLDSLFSVNFMFFGGGIRQCVAEYSKTFLATFLHLVLTKYRWRK VKGGTIVRNPILEFTDGLHIKFSAINF	1031	XP_023906874. 1
CYP 酵素 (コード DNA) [クルビタ・マクシマ (<i>Cucurbita maxima</i>)]	ATGTGGACCATTGCTGGGCGCTTGCAACACTTGCCGTCGCTTATTACATCCATTGGATAAACA AGTGGAAGACTCCAAGTTCAATGGGGCTTGCCACCTGGAACCATGGGTTTACCATTAATCGG AGAAACCCCTCAGTTATCCAGGCTTCGGATTCTCTAGACGTTTATCCATTTATCAAGAAGAAA GTAAACAGCTACGTTTATCTTTAAACCTCTTTGGCCGCTCGTCCCCTTGTGTAAGTACCG ACGCCGAATTCACAAATTACATAATGCTTCAAGAGGGAGAGCCGTTGAGATGTGGTACCTTGA	1032	

30

40

50

【 0 4 2 0 】
【表 7 - 1 3】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	TACCCATATCGAAGTCTCTCGGTCTTGATACTGAGTGGCTTAAAGCCTTAGGGTTCATTTCATAAG TACATAAGATCCATTACATTGAACCACTTTGGTGTCTGAGTCTCTGAGAGAGAGGTTCTTACCGA GGATTGAAGAGTCAGCTTAAGGAACTTTATGCTACTGGGCCACTCAGCCTTCCGTTGAGGTGAA GGACTCAGCAGCGGTCATGGTCTTTCTGACCTCGATGGTCAAAATGGTATCGAAAGACTCCCTCA AAATGTTAACCTGGTGGACTGACTAAGAAATTTACCGGGTGTCTAGGTGGCTTCTTAACGTGTGC CCATTAACTCCAGGAAACATACATAAAGTGTATGAAAGACATGAAGGAAATTCAAAAGAA ATTGAGGGAGATCCTGGAAGGCAGATTAGCATCAGGTGCTGTTTTCAGACGAGGATTTCCTAGGA CAGGCGGTAAAGGACAAGGGATCCAGAAATTCATTTCAGACGACTTCATAATCCAGTTACTGCT TCTCTATCAGTTTTGCGAGTTTTGAGTCCATCAGTACAACCCCTACATTAATCCTTAACATCT AGCCGACCACCCGACGCTCGTAAAGAGCTTGAGGCGGAACATGAGGCAATTAGGAACCGGAGA CGAGATCCCGACGGCCCAATCACATGGGAAGAGTATAAGTCCATGACCTTCACCTTTGCACGTAA TCTTCGAGACCCTACGTTTGGGCAGTGTGACACCGACATGTTGAGAAAGACTACGAAAGAGCT GCAAAATTAATGGTTATACTATCCCGGAAGGTTGGACGGTAATGTTAGTGACCGCAAGCCGTCA AGGGATCCTGCTGTTTACAAAGACCCCTCATACGTTCAACCCCTTGGAGATGGAAGGAATTTGGA GTATAACAATCCAGAAAGAACTTCATGCCATTTGGTGGTGGTCTTCGCTACTGTGCTGGAGCTGA GTATTCGAAGGTGTACTTATGCACCTTCTTGCAATTTTGTGTTTACTAAATACAGGTGGACTAAG TTGAAAGGCGGCAAGGTTGCGCGTGCCCATATATTGTCTTCGAGGATGGCTTGCAATATGAAAT TCACACCTAAGGAATAA		
CYP 酵素 (タンパク質) [ククルビタ・マクシマ (<i>Cucurbita maxima</i>)]	MWTIVVGLATLAVAYYIHWINKWKDSKFNGLVLPPTMGLPLIGETLQLSRPSDSLVDVHFIIKKK VKRYGSIKFTCLAGRPVVVSTDAEFNNYIMLQEGRAVEMWYLDLTLKFFGLDTEWLKALGFIIHK YTRSTTLNHFGEESI RFRFLPRIEESAKETLCYWATQFSVFVKDSAAVMVFRSTSMVKMVS KDSS KLLTGGLTKKFTGLLGGFLTLPIINVPGTTYNKCMKMKKEQKKLREILEGRLASGAGSDEDFLG QAVKQKSGKFISDDFIIQLLESISFASFESISTTLILINYLADHPDVVKELEAEHEAIRNAR ADPDGPITWIEYKSMFTLHVIFETLRGLSVTPALLRKTKELQINGYTIPEGWTVMLVTASRH RDPAYVKDPHTFNWPKLELDSITIQNFMPFGGGLRHCAGAEYSKVYLCITFLHILFTKYRWTK LKGGKVARAHILSFEDCLHMKFTPKE	1033	CmaCh18G00116 0.1
CYP 酵素 (コード DNA) [ククルビタ・ペポ (<i>Cucurbita pepo</i>)]	ATGGAGATCATAAACGGAGTGTCTCTAATCTTGGCCCTGGGATTCGTCCTAGTATTCGAGGTCG TTAAGAGATTGAATGGCTTGTAACACGGGTAAATTTGGGGAAGAAGTGGGGAGAATTACCACC AGGCGACCTATCCTGGCCCTTGTTAGGATCTACTCTATCCTTCTTGAAGTCATTCACCGTGGGC CCACCAGAAAGCTTTATAAGGATCTTTACCAACAGGTACGGCAAGGTGGACATGTACAAGACCC ATATGTTTCGGAAGAGCTTCGATTCTGGTATGCAAAACAGAAATCTGTCTGACGTTCTGATAGA CGAAACTAAGTTCCTCCCTCGTACCCCGCTCTATGAACACATTCCTCGGCCGTAAAACTTTA ATCCGTGTATCGAAGGCCGAGCATAGAAAGTTGAGGAGAATGACTATGGCTCCAATCAGTTAC ACGCGGCCCTTGAGATCTACATTGAACACACTGAACACACAGTCATTAGCGGTCTTGAGGAGTG GAGTCCGTAGAAAAGCCATTAAAGCTGTAAACCGAGATTAAAGGAATTGACATTCAGATAATC TGGAAACATCTTTATGGGCAGTACGTCATTTGACTACACCAAGAAATGGAAGCCCTGACAG ACGATGTGGCTTTGGGCTATTCCTGTTTCCAAATTAACCTTCAGGTTTCAATTTTCAATAAGAG CCTTAAGGCTAGGAAAAGATTGTACGAGATCCTGCTGTCAATTTGTTAACGAGAAGAGACTAATG	1034	

10

20

【 0 4 2 1 】
【表 7 - 1 4】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	AAGAAATCCAAAGGTGAGAGCTGGGAAGCTAAAGACATGATSGATTAAATGACTGAGGTTGAGG ATGAGGACGGCGAAGGCATGGATAACGAAACAATCACAGACTTGATATTCGGGAAGTTGTTGCG TGGCCACGAGACGTCGCCCTTCACAACATATGTGGGCAATCATATTTCTGACCGACCATCCCCAC ATCTTCCAGAGGGCCAAAGAAGAACAGGAAGACATTA"AAAGAGGAGACCAAGCAC"CAAAAGG GTATTAACCTGGTCGAGTTCAAACAGATGAAATTCCTGTCCCAAGTGATAGATGAAACCCCTAAG GCTATCCAGCATTTGCTTTGCCACTTTTCAGAGAGGCCACGACAGATATAAATATCAATGGTAAA TTAATACCGAAGGTTGGAAGGTCATCTTGTGGCACAGGGSTTTATACATGGACGAAGAATTAC ATCCTTCCCTCAAGACTTCAACCCATCGAGGTTGGGATGATTTTCATCGGCAACCCCTGGTGCATT CACCCTGTTTGGGTTGGGCGTTAGACTTTGCCAGGCAGGGACTTGGCCAAGTTGGAAATCAGC ATCTTCTTACACCATTCCTTCTTAACATAAGATTGAAAGGTATAATCCACAGTGCCCAACTAA CCTACCTGCCACTGCCACATCCTAAGGATAAATGCCTAGCTCGTGTGTTTAAAGCAGCAGGTCAT ATGTGTTTGA		
CYP 酵素 (タンパク質) [ククルビタ・ペポ (<i>Cucurbita pepo</i>)]	MEIINGVFLILPLGFVLVFEVLKRLNGLYYAVKLGKKWGLPPGDLSPWLLGSLSLFKLSFTVG PPEFIRIFTRYCKVDMYKTHMFGRASILVCKEPEICRQVILIDETKFVPSYPACMKRLPGRKSL LRVSKAEHRKLRMTMAPISSHALEIYIEHTEHTVISGLEEWSSVEKPLKLTLEIKELTFKII WNIFMGSTSIDYTTKRMFAIYDDVAIGLFCFPINFPGNPHKSLKARKRIYRILLSVNEKRIIM KSKGESWEAKMMDLMEVEDEDEGEMDNETITDLIFGKLFAGHETSATFTMWAIIFLTDHPH IFQRAKEEQEDIIRRRPSTQKGINLVEFKMKFLSQVIDETLRLSSIATFATFREACTDININGK LIPKGWVILWHRGLYMDEELHPSQDFNPSRWDDFIGNPFAFTPFGLGVRLCPGRDLAKLEIS IFLHHFLLNYKIERYNPQCQLTYLPLPIPKDKCLARVLKAAAGQCV	1035	Cp4.1.G14g088 80
CYP 酵素 (コード DNA) [ラゲナリア・シセラリア (<i>Lagenaria siceraria</i>)]	ATGGAGTTGATTATTAATAACTGGCTTCTAATTTCTAAGCTGCTTGGGTTTCGCGTTGGGCTTAG GTGTTTGAAGAGGTTGAATAACCTGTATTACGCCATAAASCTAGGCAAGAAGTGGGATGAAGT CCCACCGGGTGACTTGAGCTGGCCTTTATTTGGGCTCAACACTGTCCTTCATTAAAGTATTTACG CTAGGCCCAACCGCACAACTTTATAGCCCAATTCCTAACCSTTATGGCAAGGTTGATGTGTATA AGACACACATCTTCGGAAGAGCATCTATTATTGTATGTAAGCCCGAAATTTGCAGGCAAGGTGTT GACGGACGAAACGAAGTTCGCTCCAGGTTACCCAACGACAAATGACATCATTTGTTCCGCCGTAGA TCCCTTGCACTGCTGCTCAAAAGTGGAGCACAGAAAGCT"AAAGAAAT"TAACCAACGACTTCAATAA GTTCCCAACGACGCTTGGAGTTGTATATCGATCATATAGAGCACAGGTAATAAATGGCTTGGGA AGAGTGGTCACTATGGAAGAACCTTTGGAATTTGTGACTGTGATAAAGAGGTTGACGTTCAAA ATCATATGGAATATCTCATGGGCTCGACCCCGATGGGGTCAATGCCATCAGAGAGATGGAAG CTCTTTACAAACGACATTTTCGTAGGTTTCTTCTGCTTCCCATTAACCTTCCCGGCTTCTACTIT CCCAAGTCCCTTGAAGGCCAGGAAGAGACTTCACGAAATCCTGCAGTGCAATTTGTGAACGAGAAG AGSTTAGTGAAGAAGTCCAGGGGAGAGACCTGGGAAGCTAAAGATATGATGGACCTTATGATCG AAGTAAGAGACGAGGATGGCGAGGGCATGGACGATGAGACTATCGTTGACCTAATATTTCSGAAA GTTATTCGCCGGGCAGGAACGCTCCGCTTTTACCACATGTGGCAATTTCTATTTCTGACAAAC AATCCACACCGTGTCCAGAAAGGCCAAGGTAATCGATGAGACGCTTCGTGTAGTTCTATTACCT TCGCAACTTTCCGTGAGGCAATGACTGACGTAAGATTAAACGTAATAATCATACCAAGGGTTTG GAAAGTGATCTTATGGCTAAGGGAATTGAACATGGATGACAAGTTGCACACCTCTCCACAGGAA	1036	

30

40

50

【0 4 2 2】
【表 7-15】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	TTCAACCCCTCTAGATGGGATAACTTCATAGGGAACCCCGGGGCATTCACCCCATTTGGGTTAG GCGTTAGAAATGTGCCCCGGGAGAGATTGGCAAGAGCTAGAGATTTCCATATCTCTCACTACATT CTTGTCTCAACTACAAGGTGGAACAGCTCAATCTCAATGCCAACTACATATCTACCGATTCCC CACCTTAAGGATAAGTGCCCTAGCTAGGTTCTTAAAGGTTGCTTGA		
CYP 酵素 (タンパク質) [ラゲナリア・シセラリア (<i>Lagenaria siceraria</i>)]	MELIINNWLILSCVGFALGLVLKRLNNLYYAIKLGKKWDEVPPGDLWFLLLGSLTSFIKYFT LGPPHNFIAQFSNRYGKVDMYKTHTFGRASITVCKPRICQKQVITDRKTFAPAGYPTMTSIFGRR SLHRVSKVEHRKRLRLTTPISSHAALLEYIDHIEHTVINGLEBWSMEKPLELLTVIKELTFL IWNIFMGSTPMGSIATREMEALYNDISLGFCLPINFPGFYFHKSLLKARKRLHEILQCIVNEK RLVYKSKGCTWEAKDDMLMIEVRDEDEGCMDDETIVDLIFGLKFAQCETSAFTTMAAILFLFN NPHVFGAKVIDETLVRSSITFATFREAMTDVKINGKIIIPKGWKLWLRELNMDEXLHSTSPQE FNPSPRDNFTGKPGAFTPFGLGVRMCPGRDLAKLEISTFIHYFLINLYKVFQINPQCQLDYLPI HPKDKCLARVLKVA.	1037	Lsi07G012220
CYP 酵素 (コード DNA) [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	ATGCTGAGCTCTCTTAGGCTTTGCGGCTTCTTCTTCTGTTTCTTCTCTAATTCACCTCACTATTTA AAGTTTTCTCTGCTGTCTAGAGAAGGCTGCCCTGCCGCCAGGTAGATGGTGTGGCCCTATAT GGCGGAAACCCCTTCAGTTATATTCACAGGACCCAAACGTTCTTTGCCGATAGAAGAAGAAAGA TAGGACCAATCTTCAAAAGCCACATCTTGGGATATCCTTGCGTCATCGCTAAGTTCTCCCGAGG CAGTCAAACTCGTGTAGTTACCAAGGCCACCTATTTAAACCAACGCTCCCTCGCATCTAAAGA GCGTATGCTTGGGAAGAACGCTATCTCTTCCATCAGGGAGACTACACGCTAAGTTGCGGTAGA CTTGTTTTGAGGACCTTCATGCCCCAAGCCATACGTATTATGGTACCATCGATAGAAAGTATCC CTAAGAAATACAGTTCAATCGTGGGAAGGTCAGCTGATCAACACCTTCCAAGATAGAAATGTT TGCAATCGAAGTTTCTCTGCTTTTTCGATCTTGGCAAGACGACGACATTTAGTTTCGAAGACCTG AAGAGGTGCTATTACATCCITGAAAAGGGCTACAATTCGATGCCAAATAAATTTGCCAGGAACAT TGTTCCATAGGGCGATGAAGGGCAAGAAAAGAGTTAGCTCATATTTCTAAGCAAGATCCTATTCAT AAGACCTGAGATGAACCGACACACACACGACCTTGCTGGGGAGTTTATGGCGACAGAAGAGGT CTTACTGATGAACAGATCGGTGACAACTGAATTTGGGTTGATATTCGCGCGTAGAGATACACCG CTAGTCTCTTCACTCGGATCTAAAGTACTTGGGTGAAAACCCATCAGTTTACCAACAGCTGAC AGCCGAACAGGAAGCAATATGAAGCAGAAGAGGTGCGCTCACGACAAACCTGACTTGGGCGGAT ACTAAGAACATGCCAATCACTTCAAGAGTGATACAAGAGACCTGAGAGTGGAAGTGTGTGTTG CTTTCACATCTCAGAGAAGCTGTGTGAGGATGTCGAGTTTGTATGTTATTAATCCCAAGGGATG GAAAGTATTCGCTCTTTTCGTAATATTCATCATTCACAGAGATTTCCCCCAACCCGACAG TTGCAACCCGAGCAGATTCGAAGTCGCCCAAAAGCCCAACACGCTACATGCTCTTCGGTTCTGGTA CACACTCATGTCGGGTAAATGAGTTGGCTAAACTTGAATGCTGCTGCTATTCGATCACTTGAC GACAAAGTACAGATGGTCGGTAGTTGGTGGCAAGAGGGTATTTCAGTACGGTCCCTTTGCTCTA CCTCATAACTGGGTATACCCATTAGGATCTCATTAAGAAAGTGA	1038	
CYP 酵素 (タンパク質) [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	MLSFAGAAFFTCFLLHSLFLKFLSAARRKLPSPGSMGNFYMETLQLYSQDPNPFVASKKKR YGP1FKSHLILGYPCVMLSSPEAVKFLVLTKAHLFKPTFPASKERMCLKNALTFHQGDYHAKLRR LVLRITFMPEAIRTMVPSISIAKNTVQSWEGQLINTFQEMKMFAYEVSLLSIFGKDEALYFEDL KRCYITLLEKYSMPNINLPGTILPHKAMKARKEIAHLNKTILSTRRMKPDHNDLIGSFMGQKFG	1039	Xia et al., GigaScience, 7, 2018, pp. 1-9 ("Xia et al., 2018")

【0 4 2 3】
【表 7 - 1 6】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	LTDFQIADNVIGLITFAARDTTASVITWTITKYI.GENPNSVI.QAVTAEQFATMKQKRS.AHDKITWGD TKNMPITSRV.IQETLRVASVLSFTFREAVEDVEFDGYLIPKGWKVLPFRNIIHHSPEIPQPDK FDP.SRFEVAQKPNITMYPFGSGGTHSCPGNELAKLEMLVLLHHLITKRYRWSVVGAEQEQYGPFFAL PHNGLPIRISLKK		al., 2018 ⁴⁾
CYP 酵素 (コード DNA) [<i>S. グロスベノリイ</i>(<i>S. grosvenorii</i>)]	ATGGAAGTGGAACTTACCAATTTCTGGGTCATGATTCTTCCCGCGGTCTTGGGCTTTTGGCTAT TTGTTTTTCGGCTTCTCTGAGACGTTTTAATGACCTTTGGACCATGGTAAAACTGGGAAAGAGGT TTATAAAACCTTACCAGCTTGGAGACATGGGTGGGCTCTTATTGGCPTCTACATTGGTTCTAC AAGCGCTTTTCTGCATCCGGAGACCCAGATTCTTTATTAAGCATTTCGGTCTTAGACATGGTA GAGTCGGGATGTATAAGACCCATCTGTTCCGGTAACCCCGCGTCAATGTGCATCGATCCCGAGAT ATCGCGTCGTGTATACCTTGGACGACAAAGCACTTCGTAATCTTACCCAAAGTCGGTAAGATA TTGGGTACTGGAAGTTTGGCTAGGATAGATCACCAGTATCACACATAGGTTTATGGCCGCTCCTA TCAAATGGTTCGAGGCTCTGGCGAGATATGTTGGTTTCACTCGAGCAGGTAAGTATAGGGGCTT AGAGGAATGGTCAAGTATGAGGAAGCCTATAGAGCTGTTGCATGAAATCAAAAGATTAACCTTTC AGAATTATAATCCAGCTTTTCATGGGCTCAGCCCTTGATCCACACATCCAAAACCTTGAGAAGT TGTACGCTGAAGTCTGCTGCTGCGCTCTTCTGTCGGCTTCGCAATCGACGTCGCCAGGTTCCACCTA TCACAGAGCTTTTGAAGCTTGAAGGAGGATCCAAAACATCTTAAGACCGGTAATCGAAGAGAAG AGACGCTAATCGAAAAGAACGAGGAAATGGAAGATAAATGTGAGTTGGACGCTGTAAATAAAG CTAAGAACGGCAAGGGGAAAGATCTGCACACAGCAGCAATCTGATATGATACGCTATCTGGGTT GCTGTATGCGAGGTCATCACACCTCTGCTCACGGTACCATGTGGGCTTAAATTCACCTTTTGGAA CACCCACAGGTTTATGAAAAGSCGAAGGAAGAACAGGAATTAATTTAGAAACACAGCTCCATCCA CGCAGAAGGGGTTAATATTTCAACGAAATCAACAAATGACCTACCTGTAAAGGTCAATTAATGA GATGTTGAGGAGAGTGAGTATTGTGTTTCGCCAACTTCAGAGAGGCGGCCACGGACGTTAATCATT AACGGCTATACCATCCCAAAAGGTTGGGTTGTGCCGGTGTGATATAAAAGGCGTTCATCATGGACC CTCAGATTTACCCGAACCTGAAGAATTTAACCTTTCGCGTGGGATACCCACACACCCAGGCC TGGCGCTTTTATCCCTTCGGATTGGTAATCGTTTTCGCCCGGGAGACAGATTAGCCAAACTG GAAATACCAATCTTACACACCATTTCTTATTGAAATATAAGTGGGAGAGAGTGAACCCAGG CCTCTATTACAAGCGTCCCATGCGCTCACCAGTATGACCATTTTAGCCAAAGATACCATGCCAT CCCATCTCATAG	1040	
CYP 酵素 (タンパク質) [<i>S. グロスベノリイ</i>(<i>S. grosvenorii</i>)]	MEVELTNFWVMITAAVLGFCVFVFGFI.RRFNDLWTKVILCKKVYKTI.PPGDMGNPLT.GSSI.WFY KAF.SASGDPSDFIKHLRSRYGRVGMKYTHLFGKPAVIVTDPEICRRVYSDDKHFVMSYPKSVKI LGTGSLSRIDHRTIHFMAAPINGS.EALARYVGFIEQVVVRGLEEWSMRKPIELHLEIKRLTF RII.IHVMFGSALDDPHIPKLEKLYAELSAVVFVAEIDVPGSTYHRAKKAKEEIQNLIRPVEIEK RRIIEKNEEMEDKQCLDAVIKSKNGKGEKIFNDNAIIDMLLSLYAGHHTSAHGTMMWALIQILLE HPQVYKKAKEEQLIMKQRPSTQKGLIFNEIKQMTYLVKVINEMLRVSVIVFANFREAAITDVNI NGYTIIPKGWVVPVWIKGVHMDPQIYPNPEEFNPSRWDTHTPKGAFIPFGFGNRFPCPNELAKI EITILLHHLFLKYRWERVNPKASITSPMPSPIDQCLAKITAIPISS	1041	Itkins et al., 2016
CYP 酵素 (コード DNA) [<i>S. グロスベノリイ</i>(<i>S. grosvenorii</i>)]	ATGGCTATATATCTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT TCTTAAAGAGTTTCGGTTCAGAGTTAGGTTAGCCACACAGTTCCGCTAGGTTACCGCTGAT	1042	

【 0 4 2 4 】
【 表 7 - 1 7 】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列 番号	アクセッション番号 / 参考文献
<i>grosvenorii</i>]	TGGCGAGACGCTACAATTGATTTTCAGCATATAAGACGGAAAAATCCAGAACCCATTTATTGACGAA AGGGTGGGTAGATTTCGGCGCCGTTTTCACGACTCAGTTGTTGGTGAACCTACGGTTCCTCAGCG CTGATTGGCAAACTAACCGTTTATCTACAGAACGACGAAAAAGCTCTTGAATGCTCTTACCC AGGCTCAATCAGTAACCTGTTGGGCAAAACATTCCTGCTGCTTATGAAGGTAACCTGCATAAG AGGATGCATCTTTAACTATGTCGTTCGCAAACTCCTCAATCATAAGGGATCATTTGTTACTAG ATGTTTGACAGATTGATAAGGTTGAACCTTGATTCTTGGACTGGCAGAACTTTCTCTGATGGAAGA GGCGAAGAAGATAACTTTTGAGTTAGCTGTGAAACAGTTGATGAGCTTTGACAGGTGCGAATGG ACTCAGAACCTTATGAAAGAGTATTTACTGCTCATAGAGGGGTCTTTACTGTACCTTTACCTC TGCTATCCCACTACCTATAGGCGTGTCTAAGGGCGAGAACAAAAGTCGCTGAAGCTCTGGGTTT AGTCGTGACAAAGACGTAAGAGTTCAGACGCGAGCAAGAGGAAGAATGATATGTTGGGTGCT CTGCTTGCTGCTGAAGACGCATTATCAGACGACCAAAATCGTGGACTTCTTACTGGCTCTGTTGG TGGCAGGATACGAAACCACTAGTACTACAATGACTTTGGCCGTTAAGTCCCTTACCAGAGGCCCC ATTAGCCCTTACCCCAATTGCAAGAGGAACATGAACAGATTAAAGCTAGGAAGAAGGAAGCGGAC CAGCACTTCGAATGGAATGACTATAAATCTATGCCCTTTTACGCAATGCGTGGTAAACGAAACAC TGAGAGTGGCTAATAATAATTTAGGGCGGTTTAGGGCTGCGATGACGATATAAACAATCAAGGG TTACACTATTTCCCAAGGGATGGAAGGTATTTGCTTCTTTAGGGCAGTTCATCTTGATCATGAT CACTTCAAGACGCGGCTTCGTTTAAACCTTGGAGATGGCAACAGAACACATCTGGTAGTACAG TGAATGCCCTTACCCCTTTGGTGGTGGTCCAGGCTTTGCCAGGTTACGAATTAGCCCGCT AGAGCTGTGAGTGTCTTGATCACTTCTGCTCAGTTCCTTGGTGGTCCCGCCGAGGACGAC AAGCTAGTCTTCTTCCCAACCACGAGGACGCAAAAGAGATATCCCATAAATGTTATGCGTAAGA ACGAACACGACAAAGAAAAGATTCACTGGACTCAAGGCACATGAAGGCTCAAGAGTCTTCTTT TGACATGTAG		
CYP 酵素 (タンパク質) : <i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)	MAIFFFFFFLVSVVFVFLFLRASFRFRVRLPGSLGLPLIGETLQLISAYKTENPEPFIDE RVRRFGAVFTTHLGEPTVFSADWEINRFLQNEEKLFECSYPGSIISNLGKHSLLMKGNLHK RMHSLTMSFANSSIIIRDHLLDVDRRLRLKLSWTGRIPLMEAAKKTIFELAVKQLMSFDRCEW TONLMKEYLLVIEGFTVPLPLSTTYRRAIRARTKVAEALGLVVRQRKESDAGXRKNDMLGA ILAAFDALSDQIVDFILALIVAGYETSTTMTILAVKFIIFAPILATQIQEHEHQIKARKKRAF QHLQWNDYKSMPTQCVVNETLRVANIISGVFRRAMTIDINIKGYTIPKWKVFASFRAVHLDDH HEKIDARSFNPWRQNTSGSTVNATTFEGGGPRLCPGYELARVELSVFLHHFVTQFSWVPAEDD KLVEFPTTCTQKRYPINVMRKNETQRKDSLDSRHMKGQESSFDM	1043	Xia et al., 2018
CYP 酵素 (コード DNA) : <i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)	ATGGATGAATAAAGTGGTTTGCTCAATCCAGCAACCTTCTTCTAGTCGTTTTTCGTTTTTCG AAGTCTGAAGAGGTTGAACGGTTGGTACTACGCTACAAAATTATGGAAGATATGGGATGAGCT GCCCGCCGGGATATGGCTGGCCCTGTAGGGTCCACCCCTTCTTACATCAATGACTTTACA GCTGGGCAACACAGAATTCATCAGAACCTTTAGTAATAGGTATGGCAAGGCTGATATGTACA AAACTCACATTTGGGCAGGGCGCTCTATAATCATCTGTACACAGAAAATTCGAGACAGGTCTT GACTAACGAGGATAAGTTCAAACCCAGTTTGCCTGGCAACATGAAAAATCTTAGCGGAAGAAA TCATTGATGCAAGTTAGCAAGGCAGAACCCGTAGATTAAAGAGGCTAACCATGGCTCCTATT CCGGACATGCTGCATTAGAAATGTACATCTCACATATACAGGCTACAGTCTCGCGGGGACTGGA	1044	

10

20

【 0 4 2 5 】
【 表 7 - 1 8 】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列 番号	アクセッション番号 / 参考文献
	AGAGTGGGCTTCCATTCAAAGGCTGTGGAGCTTGTGACCGAGATCAAGCGTCTGACATTCAAA GTTATATGCAATATCTTTATGGGAAGCACTTCCCTAGATTGCTCCATGGGTGCGATGGAAGCCC TATTTTCGGACGTCGCTGTGGGCTTCCCTATCATTTGCTATAAACTTCCCCGGGTTTACTTCCA TAAATCTTTAAAGGCGAGGAAAAGACTTATAGAGATACTTCAGTCTATTATCAACGAAAAGCGT CTAGTTAAGAAGTCGAAAGGCGAGTCTTGGGAAGCGAAGGATATGATGACCTGATGATCGAAG TGAAAGATGAGGACGGCGAGGAGCTGGACGATGAGACTATCATGATCTAATATTTGGAATAAT GTTCCCGGACACGAGACTTCCCGCTTCCCGCTATGTGGGCTGATTTCTTCTCAACCGATCAT CCGCAGATATTTCAAAGGCGAAGGAAGAGCAAGAGAGATAATCAGACCTAGACCTAGTACTC AGAAGGGTATTAACTTGTGACACTACAAGCAGATGAAGTCTTATCGCAAGTGATCGACGAAAC CTTAAGAGCTTCTTGCATAACCTCGCTGTTATTATAGAGAGGCGACTGCAGATGTCGAAATCAAT GGTAAGATAATTTCCCAAGGCTGGAGAGTGTGCCATGGTTGGGAATGCTGTACATGGACGAAA ACTTGTTTCCCTCGCCGAGGAGTTCAACCTTCTAGGTGGGACAACCTTGTCTCTTAAACCCAGG TGCTTTTCAATCCATTCCGCTGTGGGGAACAGGTCTGTCTCTGGGTGACACCTAGCCAGCTGGAG ATATCCATATCTTGCATTAATCTTAACTACAAGGTGCAAGAGATTGAACCTTAAATGCC ATCTTACGTGCTTGCTTTTCTTCCCTACCTACTGATAAGTGCTTGGCTAGGGTACACAAGGTGGC TTAG		
CYP 酵素 (タンパク質) : <i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)	MDEIKWFLVLPATFFIVVFVFEVLKRIINGWYYATKIWKIWDEIPPGDMGWPLLGSTLSYINDFT ACQPQNFRTTSNRYGKADMYKTHILGRASIICTPEICRQVLTNEDKFKPSLPGNMKILSGRK SLMQVSKAEHRRRLRLTMAPISGHAALEMYISHIQATVVGGLEEWASIQRPVELVTEIKRLTFK V1WNIFMGSTSLDSSMGAMEALFSDVAVGFLSLPINFPGFYFHKSLKARKRLIEILQSIIINEKR LVKRSKGSWEAKDMDMLIEVKDEDEGELEDDETIIDLIIFGKLFAGHETSAFTAMWAVLFLTDII PQIFQKAKEEQEEIIRRRPSTQKGINLSDYKQMKFLSQVIDETLRVSCITSLLFREATADVEIN GKIIIPKGRWRVLPWLGMLYMDENLFPSPQEFNPSRWDNFVPKPGAFIPFGVGNRFPCPSDLAKLE ISIFLHYFLNKYKVERLNPCKHLTCLPFPHPPTDKCLARVHKVA	1045	Itkins et al., 2016
CYP 酵素 (コード DNA) : <i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)	ATGGAACCTTGGCTGTGGTTGTTGGGTGCTTCTGTAGGCGCATACGTTTTCTGTTTCGGTATAC TGAGAAACCTTAATCAGTGGAGATTGTTTACCAGACATAGGAACAGATACAACCTGCCACCCGG AGATATGGGCTGGGCCCTTATCGGAACATTGCTACCATTCCTTCAAGCTTTCAGAAGCGGTGCT CCCGACAGCTTTATACATTACTTCCGCTCCACATATGGTAAATAGGTATGTACAAGACCTACC TGTTTGGTTCCTCATCTGCTAGTTCGCTACCAAGTGTGACAGACAGTTTGTGATGAACGA CGAACAGTCTGTTCCGCTACAGTAAGCAACTAGAATCCTTACCATCAAAGGCTTTAAAC ACAGTACCGAAGGCTGAACATAGAGGTTAAGAAGATTGATAGCCTCGTGTATATCCGGGAACG ACGCTTTGTGCTAGTATACCTCGGACAGTTGAGGGTATCGTTATTAACCTGTTTACAGGAGTGGG ATCTATGAAGAAGGCTTCGAGTTCCTGTCGAGATGAAAACCGTTGCTTTAAAGTGCTTCT CACATCTTATTGGCTCTACGAGCGCAGCTTTATCGACAAGATGGAGAAGCTTTATACGAGCT TTCCTTAGGTTTATGTCCACACCAATCGATTGCCAGGCACTACCTTCTCACGCTGTTTGA GGCGAGAAATGAGCTTATTAGAATCTTCGAAAACGCTGCTAAAGGAGAAGAGGGCCAAATTTGAAG TCGAAGGAAGCGAAAATCGTAAGAAGGATATGACTGACTTGTGTGGAAGTACGTGATGAGG ATGGCCAAGGCTTGATGATGGTTGATATTGACCTACTTATAGGTTCTCTTCTCGCGGGACA	1046	

30

40

50

【 0 4 2 6 】

【表 7 - 1 9】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	TGAGACGTCGGGCTCATTCATCATGCGTGAATAATGTTCCTAAGCGAGAATCCAGAAACATTGTTAAAGCTAAAGCTGAACAGGAGCAAATCGTAAAGGCTAGACCTGCAGACGACCAACACAAGGGTTGACAAATGAAAGAGATAAAGCAAATGGAGTACCTGAGTAAGGTGATTGACGAAACATTACGTAAAACACGCTTAGCTTTTACTCTAAGTAGGGAACAAAGGTTGACCTGAATCTAAACGGATACACGATCCCAAAGGGCTGGAAGATACTGGTTTGGACAGGGCCGCTCCACATGGATCCAGAAATATACGAAAGTCCTCAGAAATTCGATCCATCCAGATGGGATAATTCCAAAAGAAGGGCCGGTAGCTTCATTCCGTTCCGGGCTGGAATGAGACTATGCCAGGTATAGATCTATCCAACTGGAAATAGCAATTTCTTCGACTACTTTATTTATGGTGGCTTAGGCTGGAGAGGGTCAATCTAACTGCCCTGAGAACTATCTCCGCTGGCCAGGCTACGGATAACTGCTGGCCCGTTCGCTCAGGGACTCATAG		
CYP 酵素 (タンパク質) [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	MELWLWLLGASVGAYVFVFGILRNLNQWRVTRIHRNRYNLFPFGDMGWPLIGTLLPFLQAFRSGRPDSEFIHYFASTYGKIGMYKTYLFGSPSVIVCLPEVCRHVLNMNDEQFVFGYSKATRILITGSKALNTVPKAEHRRLRLIASLISGNDALSVYIGHVEGIVINCLQEWGSMKKPVEFLSEMKTVAFKVLLHIFIGSTSAAFIDKMEKLYTDFHLGFMSTPIDLPCTTFSRALKARNELIRIFENVLKEKRALNKSKEGENRKKDMTDLLEVRDEDDGGGLDDGCIIDLLIGFFVFAGHETSAAHSIMRAIMFLENPETLTKAKAEQFQVKARPADDQHKGITMKFKTKQMEYLSKVITDETIKRTSLAFTLSRETXYVDVNIINGYTIFPKGWKLWTRAVHMDPEIYESPQKFDPSRWDSNKRAGSFIPFGAGMRLCPGIDLSKLEIAIFLHYFIYGGFRLERVNPENCPENYLPLARPTDCLARVVRDS	1047	Itkins et al., 2016
CYP 酵素 (コード DNA) [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	ATGTGGCTGTTGTTGATCGGTGCTATCGTTGTTTTGTCTTTCACTAGATGGTTGTACGGTTGGAGAATCCAAAGTGAATCGTAAATGCCACCAGGTTCTATGGGTTTCCATTATTCGGTGAAACCTTGCAATCTCTCTCTCCAAACACTCTCTCTGATGTTCCACCATTCACTAGAAAAAGATGGATAGATACGGTCCAAATCTTCAGGACTAAATTTGGTTGGTAGACCATTGATCGTTTCCACCGATTCTGATTTGAACACTTCTCATCTTCCAACAAGAGGGTCAGTTGTTCCAATCTTGGTATCCAGATACCTTCAACGAAATCTTCGGTAGACAAAACGTTGGTTCATTGACACGGTTTTATCTACAAGTACCTGAAGAACATGGTCTTGCATTTGTTTGGTCCAGAATCCTTGAGAAAGATGATCCAGAAAGTTGAAGCTGTCTGCTACTAGAAGATTGAGACAAATGGTCATCTCATACACCGTTGAATTGAAGACGAAACCGCTCTCATGATTTTGTATTTGACCGCCAAAACGCTGATCTCCACGATTTGGAATCTTCTCAGAAACCTTGAGAGATAACTTCGTTGCCCTTCATCCAGGGTTGATTTCTTTTCCATTGAACGTTCCAGTACTCTCTTATCATAAGTCTTGAAGGCTAGAAAAAGGGCCATGAGAACTCTGAAGAATATGTTGCAAGAAAGAGGGCTAACCCAGAAAGCAACAAATTGACTTCTTCGACTTCGCTCTGGAGAGTCTGGAAAAAGATSGTACTTTGTTGACCGAAGAAATCGCCTTGGATTGATGTTTCGTTTTGTTGTTCGCTTCTTCCGAAACCACTTCTTTGGCTTTGACTGCTGCCATTAAGTCTTTGTTGGATAACCCACAGCTTTTGGAGGAATTGACAGCTGAACATGAAGGTATCTTGAAGAGAGAGAAAAACGCTGATCTCGTTTTCGACTTGGGGTGAGTACAAATCTATGACTTTCACCTTCCAGTTCATCAACGAAACTGTATGATTGGCTAAATCTGCTCCAGGTATTTTCAAGAGGCTTTGAGAGACATCCAATTCAAGGGTTATACAAATCCAGCTGGTTGGGCTGTTATGGTTTGTCCACCGCTGTTTCAATTGAATCCAGAAAGTACATTTGATCCCTTGGCTTTTAACTCCTTGAGATGGGAAAGCTGAATTGAACGGTGTCCAAACATTTTATGGCTTTTGGTGGTGGTATGAGATCTCTGTGTGGTACTGATTTCCACCAAGGT	1048	

10

20

【 0 4 2 7 】

【表 7 - 2 0】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	TCAAATGGCTGTTTTCTTGCAATTGCTTGGTTACCAAGTACAGATTCAAGGCTATCAAAGGTGGTAAACATTATAGAACTCCAGGCTTGCAATTTCCAAACGGTTTCCATAATCAAATCACCGAGAAGTAA		
CYP 酵素 (タンパク質) [<i>S. グロスベノリイ</i> (<i>S. grosvenorii</i>)]	MWLLLIGAVVLSFTRWLYGWKNPKNGKLPFGSMGFLLGETLQFFSPNTSSDVPPFIRKMYDRYGPPIFRNLVGRPLIVSTDSDLNYFTFQEGQLFQSWYPDTFTEIFGRQNVGSLHGFMYKYLKMMVLHLFGPESLRKMIPEVEAAATRRRLRWSSHNITVELKDEATASMIFDLTAKKLI SYDLESSSENLNRDNFVAFIQGLISFPLNVPGTAYHKCLQGRKRAMRLNMLQERRANPRKQIIDFFDFVLEEIRKDGTLICFFIATDIMEVILFASFEETSLAATAAKFLLDNPHVLEELTAHFEGTIXRRFNADSGLTWGEYKSMFTTFQFINETVRLANVPGIFRKALRDIQFKGYTIPAGWAVMVCPPAVHLNPEKYIDPLAFNPRWRKESLNGASKHFMAGGGGMRFCVGTDFTKVQMAVFLHCLVTKYRFAIKGGNLIHFPGLQFPNGFHIQITEK	1049	Xia et al., 2018
グリコシル化酵素 (コード DNA) [<i>バチルス・リケニフォルミス</i> (<i>Bacillus licheniformis</i>)]	ATGAGACATAAACATATCGCGATTTTAAATATCCGGCTCACGGCCATTAATCCAACGCTAGCTTTAACGGCAAGCCTTGTCAAACGCGGTTATCGGGTAACATATCCGGTGACGGATGAGTTTGTGAAGGCTGTTGAGGAACTGGGGCAGAGCCGCTCAACTACCGCTCAACTTAAATATCGATCCGCAGCAAACTCGGGAGCTGATGAAAAATAAAAGATATGTCGACGGCTCCGCTGATGTTTATCAAGCAAAATCCAGGAGTTCTTCTCAGCTTGAACCGCTCTATGACAACTACAAGCCACACCTTATCCTTTTGTACTTTATGGCCATGGCGGGAAACTGCTGGCTGAGAAGTTTGAATAGAGGCGGTCCGCTTTGTTCTACATATGCACAGAACGAACTTTTACATTCAGATCCATTTCTGAAGAGTTTATAGATCGAGCTGACGCTGACGAAGAGGATGCTTTGAAAAATCGAATCTTCCGTCATTTAACTTTGAGGATATGTTGAGCGCTGCAAAATGAACATTTGCTTTATGCCTCGTGTCTTTCAGCCTTACGGCGAAACGTTTGATGAGCGGTTCTCTTTGTTGGTCTTCTCTTGCCAAACGCAAGTTTCAGGAAAAAGAAACGCCGATTATTTTCGGACAGCGGCGCTCTGTCTATGCTCATATCTTTAGGGACGGCGTTCAATGCCCTGGCCGGAATTTTATCATATGTGCATAGAAAGCATTAGGGACACGAAGTGGCAGGTTATCATGGCTGTTGGCAGCACAATCGATCCGTAAGGCTTTGATGACATACCTGAGAACTTTTCGATTATCAGCGGTTCCCTCAGCTGGAGATCCTGAAGAAAGCGGAGCTGTTATCATACCCATGGCGGTATGAACAGTACGATCGAAGGGTTGAATGCCGCTGTACCGCTCCTTGGCGTTCCGCAAAATGCTTGAACAGGAAATCACTGCCCGCCGCTGCAAGAGCTTGGGCTTGCAAGCATTTCGAGCCGGAAGACACAACAGAGCTTCACTGCCGGAAGCCGTCTCTCAGACGGATGGTGACCCGATGTCTGAAACGGATACAGGACATGCAAAAGCACATTAACAAGCCGAGGGGCCGAGAAAGCCGCGATGAATTGAGGCATTTTAGCAACCCGCGAGGATAAATAA	1050	
グリコシル化酵素 (タンパク質) [<i>バチルス・リケニフォルミス</i> (<i>Bacillus licheniformis</i>)]	MRHKHIAFNIPAHGHINPTLALTAASIVKRGYRVYTPVTDEFVKAVEETGAEPNLYRSTLNIDPQQIRELMKNKKDMSQAPLMFIKEMEVLPLQLEALYENDKPDLLFDPMAMAGKLLAEKFGIEAVRLCSTYAQNEHETFRSISEEFKIELTPEQEDALKNSNLPSENFEDMFEPAKLNIIVMPRAFQPYGETFDERFSFVCPSLAKXKFOKETPIISDSGRVMLISLCTAFNAWPEYHMCIEAFRDTKWQVIMAVGTTIDPESTDDIPENFSIHQRVPLEILKKAELFITHGMNSTMEGLNAGVPLVAVPMPRQRTTARRVFEELIGLXGHIQPEDTTAASIREAVSQTDGDPHVIKRTQDMQKHKQAGGAFAKADIEAFLAPAGVK	1051	W2_003182014 (Pandey et al., 2014)
グリコシル化酵素 (コード DNA)	ATGGAGAAAGCGSATACGCATATTTCTAGTGTTCCTTTCCCTTCACAAAGGCCACATAAACCCCTC	1052	

30

40

50

【 0 4 2 8 】
【表 7 - 2 1】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
DNA) [<i>S. グロスベノリ</i> (<i>S. grosvenori</i>)]	TTCTTCAACTATCGAAGCGCCTAATCGCCAAGGGAATCAAGGTTTCGCTGGTCACAACTTACATGTTAGCAATCACTTGCAGTTGCAGGGTGCTTATCCCACTCCGTGAAGATCGAAGTCATTTCCGATGGCTCTGAGGATCGTCTGGAAACCGATACTATGCGCCAACTCTGGATCGAATTCGGCAGAGATGACGAAGAACITGGGAAGATTTCITGCGAGAAAGCCATGGTITTCITCAAATCCGCTTAAATTCATTCTGTATGATTCGACAATGCCGTGGGTTTGGAGGTCGCCAAGGAGTTCGGACTCGATAGGGCCCGTTCTACACTCAGTCTTTGTGCGCTTAACAGTATCAATTATCATGTCTTCATGGTCAATTGAAGCTTCCICGAAACCCCCACGATTTCCGTCCTTCTATGCTCTGTCTCGCCCCAGCGATCTCCCCGGCTTATGATTTTGTATCCTGCCCTCCACTGACACCATCATCGATCTTCTTACCAGTCAGTATTTCTAATATCCAGGATGCAAAATCTGCTTTTCTGCAACACTTTTGACAAGTGGGAAGGCGAGATTATCCAATGGATGGAGACCTGGGTGCGCTGTGAAACCGTAGGACCAACTGTTCCATCAGCCTACTTTAGACAAAAGGGTAGAGAACGACAAGCACTATGGGCTGAGTCTGTTCAAGCCCAACGAGGACGCTCGCTCAAATGGCTTGATAGCAAGCCCTCTGGTTCTGTTCTGTATGTGCTTATGGCATTTTGCTTGAATATGGGGAAGAGCAGCTCAAGGAGTTCGGCTCTCGGAATCAAGGAACTCGCCAA GTTCTTCTTGTGGGTGGTGAGAGACTGAAGCAGAGAAGCTTCTCCCAACTTTTGTGGAGAGTGTGGCAGAGAAGGGCTTTGTGGTCAGCTGGTCTCCAGCTGGAGGTATTTGGCTACCCCTCCGTCGGCTGCTCTTTCACGCACTGTGGCTGGAACCTGACGCTTGAGGCGCTGTGCTTGGCGTCCC GGTTGGTCGCTTTCACAGTGGGCTGATCAGSTAACCAATGCAAAAGTTTTTGGAAAGATGTTTGG AAGGTTGCGAAGAGGGTGAAGCGGAATCAACCAAGGCTTGCAAGTAAAGAAAGTAAGGAGTTGCATTTGGGAAGTATGGAGGGAGAGAGCCAGCGAGTTCAAGAGCAACTCCATGGAGTGGAA GAAGTGGGCAAAAGAGCTGTGGATGAAGCTGGAGCTCTGATAAGAACATTGAGGAGTTTGTG GCCATGCTCAAGCAAACCTTGA		
グリコシル化酵素 (タンパク質) [<i>S. グロスベノリ</i> (<i>S. grosvenori</i>)]	MEKGDTHILVFFPFSQGHINPLQLSKRLAKGIKVSIVTTLFVSNHLQLQGAYSNSVKIEVIS DGEDRLLETDMRQTLDRFRQKMTKNLEDFLQKAMVSNPPKFIYDSTMPWVLEVAKEFGLDR APFYTQSCALNSINYHVLHGQLKLPPETPTISLPSMPLLRPSOLPAYDFDPASTDTIIDLLTSQ YSNIQDANLIFCNTFDKLEGEI IQWMETLGRPVKTVGPTVPSAYLDRKRVENDKHVGLSLFKPNE DVCLRWLDSKPSGSLVYVSYGSLVEMGEELKELALGIKETGKFFLWVRDTEAEKLPPNFVBS VAEKGLVVSWSQLEVLAIHPSVGCFTTHCGWNSTLEALCLGVVPVAFPPQWADQVTNAKFLFEDVW KVGKRVRKNEQRLLASKEEVRSICIWEVMEGERASEFKSNSMEWKKWAKEAVDEGGSSDKNIEEFV AMLKQT	1053	AEK42999 (Dai et al, Plant Cell Physiol. 56(6):1172-1182 (2015), "Dai et al., 2015")
グリコシル化酵素 (コード DNA) [<i>バルバレア・ブルガリス</i> (<i>Barbarea vulgaris</i>)]	ATGGTTTCCGAAATCACCCATAAATCTTATCCCTCTTCACTTTGTTCTCTTCCCTTTTCATGGGCTC AAGGCCACATGATTTCCCATGGTTGATATTGCAAGGCTCTTGGCTCAGCGCGGTGTGAAAATAAC AATTGTCAACACGCCGACAAATGCAGCGAGGTTGAGAAATGTCTTAAGCCGTGCCATTGAGTCT GGCTTGCCCATCAGCATAGTGCAAGTCAAGCTTCCATCTCAAGAAGCTGGCTTACCAGAAGGAA ATGAGACTTTTCGATTCACTTGTCTCGATGGAGTGTCTGGTACCTTTCTTTAAAGCGGTTAAACAT GCTTGAAGAACCGTCCAGAAGCTCTTTGAAGAGATGAGCCCTCAACCAAGCTGTATAATTTCT GATTTTGTGTTCCTTATACAAGCAAAATAGCCCAAGAGTTCAATATCCCAAGATTCCTTTC ATGGCATGTGTGCTTTTGTCTTCTGTGTATGATGTTTTACGCAAAACCGTGAGATCTTGGAA AACTTAAAGTCTGACAAGGAGCATTTCTGTTCTTCTTATTTTCTGTATCGAGTTGAATTCACA	1054	

10

20

【 0 4 2 9 】
【表 7 - 2 2】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	AGACCTCAAGTTCCAATGGCAACATATGTTCCCTGGAGAGTGGCAGGAGATCAAGGAGGATATAG TAGAAGCGGATAAGACTTCCATGGTGTGATAGTCAACACATATCAAGAGCTCGAGCCTGCTTAT TGCCAACGACTACAAGGAGGCAAGGTTCTGGTAAAGCATGGACCATTTGGACCTGTTTCCCTTGTGC AACCAAGGTGGGAGCCGACAAAGCAGAGAGGGGAAACAAAGCAGACATTGATCAAGATGAGTGTC TTAATAGGCTTGATTCTAAAGAAGAAGGTTCCGTTCTATATGTTTGCCTTGGAAAGTATCTGCAG TCTTCTCTCTGTCTCAGCTCAAAGAGCTGGGGCTAGGCCCTTGAGGAATCCCAAAGACCTTTCAIT TGGCTCCTAAGAGGTTCCGACAAACAAAGAGCTTACTTCACTGCTTCTCGGACAGCCGATTTG AAGAAGAGTAAAGACAGAGGGCTTCTCATCAAAGGATGGTCACTCAAATGCTTATCCTTGC ACATCATTCGGTTGGAGGGTTCTTAACACACTGTGGATGGAACTCGACCTCGAAGGAATCACT TCAGGCATTTCCATTTGCTTCACTTGGCCACTGTITGGAGACCAATTCGCAACCAAAACCTTGTG TCGAGGTGCTAAAAGTGGGTGTAAAGTCCCGGGTTGAAGAGGTACGAATTGGGGAGAAGAGGA GAAAATAGGAGTATTAGTGCATAAAGAGGAGTGAAGAAGGCCTTGAAGAAATTAATGGGTGAG AGTGATGATGCTAAAGAAAGAGAAAAAGAGTCAAAGAGCTTGGACAATTAGCTCAAAAGGCTG TGGAGGAAGGAGGCTCATCTCATCTAATATCATACCTTGTCTAGAGACATAATGCAACTAGC ACAATCTAATAATTGA		
グリコシル化酵素 (タンパク質) [<i>バルバレア・ブルガリス</i> (<i>Barbarea vulgaris</i>)]	MVSEITHKSYPLHFVLFPPFAQGHMIPMVQIARLLAQRGVKITIVTTPHNAARFENVLSRAIES GLPISIVQVKLPSEQEAGLPEGNETFDSLVSMEMLVPPFKAVNMLEEPVQKLFZEMSFPQSCIIIS DFCLEPYTSKIAKKFNIPKILFHGCCFCCLCMHVLRXNREILENLKSDKEEFVVPYFPDRVEFT RPQVPMATYVPGEWHEIKEDIVEADKTSYGVIVNTYQELEPAYANDYKEARSXKAWTIGPVSLC NKVGADKAERGNKADIDQDECLKWLDSKEEGSVLYVCLGSLICSLPLSQLKELGLGLEESQRPFI WVRGWEKNKELLEWFSESGFEERVKDRGLLIGKWSQMLILAHHSVGGFLTICGWNSTLEGIT SGIPLLTWPLFGDQFCNQKLVVQVLKVGVSAGVEEVTNWGEEKIGVLVDKEGVXKAVEELMGE SDDAKERRRKRKVELGQLAQKAVEEGSSSESNITSLLEDIMQLAQSNK	1055	AFN26667 (Plant Physiology, Dec. 2012, vol. 160, pp. 1881-1895, "Augustin et al., 2012")
グリコシル化酵素 (コード DNA) [<i>バルバレア・ブルガリス</i> (<i>Barbarea vulgaris</i>)]	ATGGTTTCCGAAATCACCCATAAATCTTATCCCTCTTCACTTTGTTCTCTTCCCTTTTCATGGCTC AAGGCCACATGATTTCCCATGGTTGATATTGCAAGGCTCTTGGCTCAGCGCGGTGTGAAAATAAC AATTGTCAACACGCCGACAAATGCAGCGAGGTTTCGAGAAATGCTTAAAGCCGTGCCATTGAGTCT GGCTTGCCCATCAGCATAGTGCAAGTCAAGCTTCCATCTCAAGAAGCTGGCTTACCAGAAGGAA ATGAGACTTTTCGATTCACTTGTCTCAACAAAGTTGCTGGTACCTTTCTTTAAAGCGGTTAAACAT GCTTGAAGAACCCTCCAGAAGCTCTTTGAAGAGATGAGCCCTCAACCAAGCTGTATAATTTCT GATTTTGTGCTTTTGTCTTCTGTGTATGATGTTTTACGCAAGAACCGTGAGATCTTGGAA AACTTAAAGTCTGACAAGGAGCATTTCTGTTGTTCTTATTTTCTGTATCGAGTTGAATTCACA AGACCTCAAGTTCCATTGGCAACATATGTTTCCCTGGGGAATGGCAGGAGATCAAGGAGGATATGG TAGAAGCGGATAAGACTTCTATGGTGTGATAGTCAACACATATCAAGAGCTCGAGCCTGCTTATGCCAACCGCTACAAGAGGCAAGCTGTGCTTAAGAGCTTGTGCTTAAAGCTTGTGCTTAAAGAGGAGGTTTCGGTTCTATATGTTTGCCTTGGAAAGTATCTGCAG TCTTCTCTGTCTCAGCTCAAGGAGCTGGGGCTAGGCCCTTGAGGAATCCCAAAGACCTTTCAIT	1056	

30

40

50

【0430】
【表7-23】

タンパク質/DNAの種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	TGSGTCGTAAGAGGTTGGGAGAAGAACAAGAGTTACTTGAGTGGTTCTCGGAGAGCGGATTGGAAGAAGAGTAAAAGACAGAGGGCTTCTCATCAAAGGATGGTCACCTCAAATGCTTATCCTTGCACATCATTCCTGTTGGAGGGTTCTTAACACACTGTGGATGGAACCTCGACCTCGAAGGAATCACTTCAGGCGTTCCATTGCTTCACTTGGCCACTGTTTGGAGACCAATTCGCAACCAAAAACTTGTGCTGCAGGTGCTAAAAGTGGGTGTAAGTGCCCGGGTTGAAGAGGTTACGAATTGGGGAGAAGAGGA GAAAATAGGAGATTATTAGTGGATAAAGAGGGAGTGAAAGAGGCAGTGGAAGAAATTAATGGGTGAGAGTGATGATGCTAAAGAAATAAGAAAAAGAGCTCAAAGAGCTTGGACAATTAGCTCACAAGGCTGTGGAGGAAGGAGGCTCATCTCATTTCTAATATCATACCTCTGCTAGAAGACATAATGCAACTAGCACAACTAATAATTGA		
グリコシル化酵素 (タンパク質) [バルバレア・ブルガリス (<i>Barbarea vulgaris</i>)].	MYSEITHKSYPLHFVLPFFMAQGHMIPMVDIARLLAQRGVKITIVTTPHNAARFENVLSRAIESGLPISIVQVKLPFSQEAGLPEGNETFDSLVS TKLLVPFFKAVNMLEEPVQKLFEEEMSPQPSCIIISDFCLPYTSKIAKKFNI PKILFHGMCCFCLLCMHVLRKNREILENLKSDKEHFVVPVFPDRVEFTRPQVPLATYVPGEWHEIKEDMVEADKTSYGVIVNTYQELEPAYANGYKEARSKAWTIGPVSLCNKVGADKAERGNKADIQDDECLKWLDSKEEGSVLYVCLCSICSLPLSQLKELGLGLEESQRPFIWVVRGWEXNKELLEWFSESSTEEERVXDRGLLIKWWSQMLILAHHSVGGFLTHCGWNSTLEGITSGVPIITWPIIFGDQFCNQKIVVQVI.KVGVSAGVFEVFNWGFEEKIGVIVDKRGVKKAVFEIMGE.SDDAKEIRKRVKELGQLAHKAVEEGSSHSNITSLLEDIMQLAQPNNTATGGCTTCTGAAACTACACATCAATTCATTCAACATTACATTTCTGTTTCTCCCTTTTATGGCACAGGTCAATATGATCCCAATGGTTGATATCGCTAGAACTTTGGCACAAGAGGCTGTACTATCACAAATCGTTACTACACCACATAACGCTGCAAGATTCAAAAACGTTTGTCTAGAGCTATCCAAATCAGGTTTGCCAATTAATTTGGTTCAAGCAAAGTTCCCATCTCAAGAAATCTGGTTCAATTGGAAGGTCATGAAAAATTTGGATTCTTTGGATTCTTTAGGTGCTTCATTGACTTTCTTTAAGGCACACAAATGTTTCGAAAAGCCAGTTGAAAAGTTGTTAAAGAAATTCACCAAGACCATCAGCTATTATGGTGACATGTGTTTGCCATACACTAACAGAAATTGCTAAAAATTTGGGTATTCCAAAAATTTATTTTTCATGGCATGTGTTGTTTAAATTTGTTATGTATGCATATTATGAGACAAAATACGAATTCCTGGAAACAATCGATTCTCGAAAAGGAATACTTCCCAATCCCAAACTTCCAGAAAAGAGCTGAATTCCTAAGTACAAATTTGCCAATGATCACATACCGCTGGTGAATTCAAAGAAATTCCTGGATGAAGTTACTGAAGGTGACAAACACATCTTACGGTGTATTGTTAAACACTTTCGAAAGAAATTAGAACCAGCTTACGTTAGAGATTACAAGAAAGTTAAGGCTGCTAAAGTTTGGCTCTATTGGTCCAGTTTCATTGTGTATAAGGTTGGTGAAGATAAGCTGAAAGAGGTAATAAGGCTGCAATCGATCAAGATGAATGTATCAAGTGGTTGGATTCTAAGCAAGAGGTTTCAGTTTCTACSTTTGTTTGGGTTCTATCTGTATAATTTGCCATTGTCACAATTTGAAAGAAATTTGGGTTTAGGTTTGGAAAGAACTTCAAGACCTTTTATTTGGGTTATTAGAGGTTGGGAAAAGTACAACGAATTAGCTGAATGGATCTCTGAATCAGGTTTATAAGAAAGAAATTAAGAAAGAGGTTTGTAAATTAGAGGTTGGTCTCCACAAATGTTAAATTTGTGACATCCAGCAGTTGGTGGTTCTTGACTCATTTGGTTGGAATTCCTACTTTGGAAAGGTTATACATCAGGTTTCCATTGTTAACATGGCCATTATTGGTGACCAATTCCTAACGAAAAGTTTGGTTGTCAAGTTTGAAGTTGGTGTATAGATCTGGTGTGAAGAAATCAATGAATGGGTTCAAGAAAGAAACATCGGTTGTTTGGTTGATAAAGAGGTTTGAAGAAAGCTGTTGAAGAGTTATGGGTGAA	1057	AFN26666 (Augustin et al., 2012)
グリコシル化酵素 (コードDNA) [バルバレア・ブルガリス (<i>Barbarea vulgaris</i>)].	ACTAAGTACAAATTTGCCAATGATCACATACCGCTGGTGAATTCAAAGAAATTCCTGGATGAAGTTACTGAAGGTGACAAACACATCTTACGGTGTATTGTTAAACACTTTCGAAAGAAATTAGAACCAGCTTACGTTAGAGATTACAAGAAAGTTAAGGCTGCTAAAGTTTGGCTCTATTGGTCCAGTTTCATTGTGTATAAGGTTGGTGAAGATAAGCTGAAAGAGGTAATAAGGCTGCAATCGATCAAGATGAATGTATCAAGTGGTTGGATTCTAAGCAAGAGGTTTCAGTTTCTACSTTTGTTTGGGTTCTATCTGTATAATTTGCCATTGTCACAATTTGAAAGAAATTTGGGTTTAGGTTTGGAAAGAACTTCAAGACCTTTTATTTGGGTTATTAGAGGTTGGGAAAAGTACAACGAATTAGCTGAATGGATCTCTGAATCAGGTTTATAAGAAAGAAATTAAGAAAGAGGTTTGTAAATTAGAGGTTGGTCTCCACAAATGTTAAATTTGTGACATCCAGCAGTTGGTGGTTCTTGACTCATTTGGTTGGAATTCCTACTTTGGAAAGGTTATACATCAGGTTTCCATTGTTAACATGGCCATTATTGGTGACCAATTCCTAACGAAAAGTTTGGTTGTCAAGTTTGAAGTTGGTGTATAGATCTGGTGTGAAGAAATCAATGAATGGGTTCAAGAAAGAAACATCGGTTGTTTGGTTGATAAAGAGGTTTGAAGAAAGCTGTTGAAGAGTTATGGGTGAA	1058	

10

20

【0431】
【表7-24】

タンパク質/DNAの種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	TCTGATGATGCAAAAGGAAGAAGAAGAGGTTAAGGAATTAGGTCAATTTGGCTCATAAAGCAGTTGAAGAAGGTGGTTCTTCCATCTCAATCTAACATCATCATCATGTTGGCAAGATATTAGACAATTGCAATCTAAGAAATAA		
グリコシル化酵素 (タンパク質) [バルバレア・ブルガリス (<i>Barbarea vulgaris</i>)].	MASETHHQHSPHLHFVLPFFMAQGHMIPMVDIARLLAQRGVKITIVTTPHNAARFKNVLSRAIQSGLPINLVQAKEPSQESGSLGHEHNLDDLSDLSGLSLTFFKATNMFEKPVKKLKEIQPRPSCIIIDMCLPYTNRIAKNLGIPKILFHGMCCFNLLCMHIMRQNYEFLETIDSEKEYFPIPNFPERAEFTKSQPLPMITYAGEFKELDEVTEGDNTSYGVIVNTFEELEPAYVRDYKKVKAGKVWSIGPVSLCNKVGEDKAERGNKAAIDQDECIKWLDSKEEGSVLYVCLCSICNLP SQLKELGLGLEESQRPFIWVIRGWEXNKLAEWISSESGTKERIKERGLLRGWSPQMLILSHPAVGGFLTHCGWNSTLEGITSGVPIITWPIIFGDQFCNFKIVVQVI.KVGVSAGVFEVFNWGFEEKIGVIVDKRGVKKAVFEVFMGE.SDDAKERRRRVKELGQLAHKAVEEGSSHSNITSLIQDIRQLQSKV	1059	AVW82175 (Erthmann et al., Plant Molecular Biology (2018) 97:37-55, "Erthmann et al., 2018")
グリコシル化酵素 (コードDNA) [バルバレア・ブルガリス (<i>Barbarea vulgaris</i>)].	ATGGCATCTGAATCATGTCATCATTTCTCATTTGCCATTGCCATTTCTGTTTCTCCCTTTTATGGCTCAAGGTCAATATGATTTCCAATGGTTGATATGCTAGATTGTTAGCATTGAGAGGTGCTACTATCACAAATCGTTACTACACCACATAACGCAACTAGATTCAATAATTTGTTGTCAAGAGCTATTGAAATCGATTGTTCAATTAACATCGTTTCATGTTAACTTCCCATACCAAGAAGCAGGTTTGTCTGAAGGTCAGAAAACGTTGATTGTTGGAAATCAATGGGTTTGAATGGTTCCATTTTAAAGGCTGTTAAATGATGTTGGAAGAACCGCTTATGAAGTTGATGGAAGAAATGAAGCCAAAGACCATCTCTTTGATTTCAGATTTTGTGTTTACATTTCACTTCTAAGATCACTAAAAAGTTTAAATATCCCAAAGATCGTTTTCATGGGTATGGGTTGCTTCTGTTTGTGTGTATGCACGTTTGGAGAAGAAACATCGAAATCTTGAAGAAATTTGAAGTCTGATAAGGAATACTTTTGGTTCCATCATTTCCAGATATCGTTGAATTCCTAAGCCACAAAGTTCCAGTTGAAACAAATGCATCTGGTGACTGGAAGAAATTTTGAAGCAATGGTTGAAGCTGAAGATCTTCAACGGTGTATTGTTAAACACTTCCAAAGAAATTAGAACCAGCTTACGTTAAGGATTACAAGAAAGCTAGAGCTGGTAAAGTITGGTCTATTGGTCCAGTTTCATTGTGTAATAAGATCGAAGCTGATAAGCAGAAAGAGGTAATAAGGCTGCAATCGATCAAGAAAGATGTTGAAGTGGTTGGATTCTAAGAAAGAAAGGTTTCAGTTTGTACGTTTGTGTTGGGTTCTATCTGTAAATTTGCCATTGCTCAATTCAGCAATTAGCTATCCGTTTCGAAGAAATCAAAACACCTTTTATTTGGGTTATTAGAGGTTGGGAAAAGTACAACGAATTCCTGAATGGATGTTGGAATCAGGTTTCGAAGAAAGAGTTAAGGATAGAGGTTTGTGATTAAAGGTTGGTCTCCACAAATGTTGGTATTTATCTCATCCATCAGTTTGGTGGTTTCTTGACTCATTTGGTTGGAATTCCTACTTTAGAAGGTATTACATCAGGTGTTCCATTGTTAACATGGCCATTGTTGCAGATCAATTTTGTAAACGAAAAGTTGGTTGTGTTCAAGTTTGAAGTTGGTGTAGAGCTGGTGTGAAGATCCAAATGCTCTGGGGTGAAGAGAAAAGTTGGTGTGTTGGATAAGGAAGGTTGAAGAAAGCAGTTGAAGAAATTAATGGGTGAATCAGATGATGCTAAGGAAGAAAGAGAGTTAAGGAAATTTGGGTGAATTAGCTCATAAAGCAGTTGAAGAGGTTGTTTACATTTCTAATATTACTTTGTTTTTACAAGATATTCTCAATAATAATCACTTGGTACATTTTAA	1060	
グリコシル化酵素 (タンパク質) [バルバレア・ブルガリス (<i>Barbarea vulgaris</i>)].	MASECHHSCHFLHFVLPFFMAQGHMIPMVDIARLLALRGATITIVTTPHNAARFNNLLSRAIESDLSINIVHVNFPYQEAGLSEGGENVDLLESLMGLMVFFLKAVNMLEEPVMKLMEMKRPSCLI	1061	AVW82178 (Erthmann et

30

40

50

【0432】
【表7-25】

タンパク質/DNAの種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
ガリス (<i>Barbarea vulgaris</i>)	SDFCLHYTSKITKKFNPKIVFHGMGFCFLCMHVIIRNIEILKNLKSDEKEYFLVPSFPDIVEF TKPQVPVETNASGDWKEFLEAMVEAEDTSYGVIVNTFQELEPAYVKDYKEARAGKWSIGPVSL CNKIEADKAERGNKAAIDQEECLKWLDKSKEGSSVLYVCLGSI CNLPLAQLKELGLGLEESQRPF LWVIRGWKEYNELSEWMLSESGFEERVXDRGLLIKGWSPQMLVLSHPSVGGFLTHCGWNSTLEGI TSGVPLLTWPLFADQFCNEKLVVQVLXVGVVAGVEDFMSWGEEEKVGVLLDKBEGVKKAVEELMG ESDDAKERRRKRKRLGFLAHKAVEEGGSSHSNITIFLQDTSQYKSVGTF		al., 2018)
グリコシル化酵素 (コード DNA) [バルバレア・ブルガリス (<i>Barbarea vulgaris</i>)]	ATGGCATCAATCACTAACCATAAGTCTGATCCATTGCATTTCGTTTGTTCCTCTTTATGGCTC AAGTTCATATGATTCCAAATGGTTGATATTGCTAGATTGTTAGCACAAAGAGGTTTGACTATCAC AATCGTTTACTACACCACATAACGCATCAAGATTCAAAAACGTTTGAATAGAGCTATTGAATCT GGTTTGCCAAITTAATATCTTGCATGTTAAGTTCGCATATCAAGAAGTCGGTTTACCTGAAGGTT TGGAAAAACATCGATTGTTTCGATTCAATGGAACATATGATCCATTTTTCAAGGGTGTAAACAT GGTTGAAGAAATCTGTTCAAAAGTTGTTTCAAGAAATGTCTCCAAGACCATCATGTATCATCTCT GATTTCCTGTTTGCCATACACATCAAGAGTTGCTAAAAAGTTTAAATCCCAAAGATCTTGTTC ATGGCATGTCCTGCTTATCTTTGTTGCTGATGCTATCTTTGAGAAAGAAATCCAAACATCTTGG AAATTTGAAGTCTGATAAGGAACATTTCGTTGTTCCATACTTCCAGATAAGATCGAATTAAC AGACCACAAGTTCCAATGGATACATACGTTCTCGGTGAATTAAGGAATTCATGGAAGATTGG TTGAAGCTGATAAGACTCTTACGGTGTATTGTTAACACATTTCAAGAAATGGAACACGACATA CGTTAAGGATTACAAGGAACTAGATCTGTTAAGCTTGGTCTGTTGCTCCAGTTGCTTTGTGT AATAAGGCAAGAAATCGATAAGGCTGAAAGAGGTAATAAGTCGATATCGATCAAGATGAATGTT TGAAGTGGTTGGATTCAAAGGAAGAAAGATCTGTTTGTACGTTTGTGGGTCAATCTGTAA TTTGCCATTGGCTCAATGAAGGAATTTGGGTATTAGGTTTGAAGAAATCTACAAGACCTTTTATT TGGGTATTAGAGTTGGGATAAGAAATGAAGCAATGGTTGAATGGTTCTCTGAATCAGGTTTCG AAGAAGAATTAAGATAGAGGTTTGTGATTAAAGGTTGGTCACCACAAATGTGATCTGTCT TCATCAATCAGTTGGTGGTTCTTGACTCATTTGGTTGCAATTTCTACTTTAGAAGGCTATTACA CGAGGTTTGCATTTGTTAAACATGGCCATTGTTGCTGTGATCAATCTGTAAACGAAAGTTAGTTG TTCAAGTTTGAATTCAGGTGTTAGAGCAGGTTGTAACAACCAATGAAGATGGGGTGAAGAGA AAAGATTGGTGTGTTGCTGATAAAGAAAGGTGTTAAGAAAGCTGTTGAAGAAATTAATCGGTGAA TCTGATGAAGCAAACGAAGAAGAAGAGAGCTAAGGAATTAGGCGAATTGGCTCATAAAGCAG TTGAAGAAGGTGGTTCTTCAACATCAACACATCATCTTTTGTGCAAGATATCATCAATTAGC TCAATCTAATAATTA	1062	
グリコシル化酵素 (タンパク質) [バルバレア・ブルガリス (<i>Barbarea vulgaris</i>)]	MASITNHSKSDPLHFVLPFMAQGHMIPMDIARLLAQRCITITIVTTPHNASRFKNVNLRAIES GLPNIILHVKLPHYQEVGLPEGLENI DCFDSMEHMI PFKGVNMVEESVQKLFEEEMSPRPSCLIS DFCI.PYTSKVAKKFNTPKT.L.FHGMCCIC.L.CMHV.LRKNPKT.L.FN.LKSDKEHFVVVYFPDKLEIT RPQVPMDTYVPGLKEFMEDELVEADKTSYGVIVNTFQELEPAYVKDYKETRSKGAWSVGPVALC NKARIDKAERGNKSDIDQDECLKWLDKSKEERSVLYVCLGSI CNLPLAQLKELGLGLEESTRPF WVIRGWDDKNQVLVWFSESGFEERIKDRGLLIKGWSPQMLLSHQSVGGFLTHCGWNSTLEGI TSGVPLLTWPLFADQFCNEKLVVQVLXVGVVAGVEDFMSWGEEEKVGVLLDKBEGVKKAVEELMG ESDEANERRRRRAKELGELAHKAVEEGGSSHSNITIFLQDMQLQASNN	1063	AVW82181 (Erthmann et al., 2018); 配列番号 1067 に対して C 末端にトランケーションを有する

10

20

【0433】
【表7-26】

タンパク質/DNAの種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
グリコシル化酵素 (コード DNA) [バルバレア・ブルガリス (<i>Barbarea vulgaris</i>)]	ATGGCTTCTGCAAAATTCGATCAATCCATCCATCACTGCATTTCGTTTGTTCCTTTTATGG CTCAAGGTCATATGATCCCAATGATCGATATCGCTAGATTGTTGGCACAAAGAGGTTTACTAT CACAACTCTTACTACATTGCATAACTCTGCTAGATTTCAGAAACGTTTCTCTAGACCAATCGAA TCAGGTTTGCCAAITTAATTTGGTTTCATGTTAAGTTCCCATATCAAGAAGCTGGTTTACCAGAG GTCAAGAAAACATCGATTCTTTGGATTCAAAGGAATTAACCTGTTCCATTTTCAAGGCAGTTAA CATGTTGGAAGAACACGTTATGAAGTTGATGGAAGAAATGAAGCCAGACCACTTTGTTGATC TCAGATTGTGTTTGCCATATACATCTAAATTTGCTAAAAGTTTAAATATCCCAAAGATCGATT TCCATGCTATCGGTTGTTTGTGTTCTATGATGATGCTTTTAAAGAAAGAAATTCGAAATTTT GCAAAATTTGAAGTCAGATAAGGAATACCTCTGGATCCCAAACTTCCAGATAGAGTTGAATTC ATACAGGTAAGATTTTCAAGAAGCTAGAGCTGGTAAAGTTTGGTCTATTGGTCCAGTTTTCATTG TGTAATAAGATCGAAGCTGATAAAGCAAGAAAGGTAATAAGGCTGCAATCGATCAAGATGAAT GTTTGAAAGTGGTTGGATTCTAAAGAAAGGTGGTTGAGTTTGTACGTTTGTGGGTCTATCTG TAAATTTGCCATTGGTTCAATTTGATTGAATTTGGTTTGAAGTTTGAAGAAATCTCAAAGACCTTT ATTTGGGTTATTAGAGTTGGGAAAAGTACAACGAATATCAGAATGGATCTCTGAATCAGGTT TCGAAGAAAGAGTTAAGGATAGAGGTTTGTGATCAGAGGTTGGGCTCCACAGTTTAAATTTT GTCTCATCCATCAGTTGGTGGTTTCTTGACTCATCTGGTTGGAATTTCTACTTAGAAGGTAAT ACATCAGGTGTTCCATTGTTAACATTACCATTGTTGGTGACCAATTTTGAACCAAAAGTTGA TCGTTCAAGTTTGAAGTTGGTGTCTGCTGGTGTGAAGAAAGTTATGGGTTGGGTTGAAGA AGAAAAGATTGGTGTGTTGGTTGATAAGGAAAGAGTTAAGAAAAGTGTGCAAGAAAGTTATGGGT GAATCAGATGATGCAAGGAAAGAAAGAAAGAGTTAAGGAATTTGGTAAATTTGGCTCATAAAG CAGTTGAAGAAAGGTGGTTCTTCAACATCTAACATCAGATTATTTTGAAGATATGTGTCATTA ACAATCAGTTGGTATCTATTAA	1064	
グリコシル化酵素 (タンパク質) [バルバレア・ブルガリス (<i>Barbarea vulgaris</i>)]	MASAKLHCFHPSLHEVLPFMAQGHMIPMDIARLLAQRCVITITVTTLHNSARFRNVLSRAIES SGLPINLVHVHFPYQEAAGLEGGQENIDSLDSKELTFVFFKAVNMLEEPVVKLMEEMKPRPSCLI SOLCI.PYTSKTAKKFNPKTVFHMGCFC.L.CMHV.LRNI.EIT.QNT.KSDKEFPWTNPFDRVVF TKPQVPVRINASGDWVFLDEMVAEETSYGVIVNTFQELEPAYVKDFQEARAGKWSIGPVSL CNKIEADKAERGNKAAIDQDECLKWLDKSKEGSSVLYVCLGSI CNLPLVQLIELGLGLEESQRPF LWVIRGWKEYNELSEWMLSESGFEERVXDRGLLIKGNAPQVLILSHPSVGGFLTHCGWNSTLEGI TSGVPLLTLPFGDQFCNQKLIQVLXVGVVAGVEEVMWGEBEIKGVLDKERVKKTVEEVMG ESDDAKERRRRVKELGLAHKAVEEGGSSHSNITIFLQDMCQLQSVGIY	1065	AVW82184 (Erthmann et al., 2018)
グリコシル化酵素 (コード DNA) [バルバレア・ブルガリス (<i>Barbarea vulgaris</i>)]	ATGGCATCAATCACTAACCATAAGTCTGATCCATTGCATTTCGTTTGTTCCTCTTTATGGCTC AAGTTCATATGATTCCAAATGGTTGATATTGCTAGATTGTTAGCACAAAGAGGTTTGACTATCAC AATCGTTTACTACACCACATAACGCATCAAGATTCAAAAACGTTTGAATAGAGCTATTGAATCT GGTTTGCCAAITTAATATCTTGCATGTTAAGTTCGCATATCAAGAAGTCGGTTTACCTGAAGGTT TGGAAAAACATCGATTGTTTCGATTCAATGGAACATATGATCCCATTTTCAAGGGTGTAAACAT GGTTGAAGAAATCTGTTCAAAAGTTGTTTCAAGAAATGTCTCCAAGACCATCATGTATCATCTCT	1066	

30

40

50

【0 4 3 4】
【表 7 - 2 7】

20

【0 4 3 5】
【表 7 - 2 8】

40

【 0 4 3 6 】

【 表 7 - 2 9 】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列 番号	アクセッション番号 / 参考文献
	AAGAAAGAATTAAAGATACAGGTTTGTGATTAAAGGTTGGGCTCCACAAATGTTGATCTTGTC TCATCATTACAGTTGGTGGTTTCTTGACTCATTGTGGTTGGAATCTACTTTAGAAGGTTTGACA GCAGGTTTACCATTGCTTAACATGCCATTCTTCGCTCATCAATTCTGTAACGAAAAGCTGGCAG TTCAAGTTTGAAGGCTGGTGTTCAGCAGGTGTTGATCAACCAATGAAATGGGGTGAAGAAGA AAAGATTGGTGTGTTGGTTGATAAGGAAGGTGTTAAGAAAGCTGTTGAAGAATTGATGGGTGAA TCTGATGATGCTAAGGAAATCAGAAGAAGAGCAAAGGAAATTAGGCGAAATGGCTCAATAAGCAG TTGAAGAAGGTGGTTCTTCACATTCAAACATCACTTCTTGTGGAAGATATCATGCAATTGGC ACAATCTAATAATTAA		
グリコシル化酵素 [バルバ レ ア ・ ブ ル ガ リ ス (<i>Barbarea vulgaris</i>)]	MVSEITHKSYPLHFVLPFFMAQGHMIPMVDIARLLAQRGVKITIVTPHNAARFENVLKRATIES GLPISIVQVKLPSEQEAGLEPQNETFDSLVSMELLVFFFKSVNMLEEPVQKLFEEEMSPQPSCIIS DFCLPYTSKIAKKFNI PKILPHGMCCFCLLCMHVLRKNHEIVENLKSDEKHFVVPYFDRVEFT RPQVPVATYVPGDWHEITGDMVEADKTSYGVIVNTCQELEPAYANDYKEARSGKAWTIGPVSLC NKVGADKAFRGNKADIDQDFCIKWINSKFFGSGVLYVCLGSTCNIPLSQLKFLGLLFEFSQRPFIT WVIRGWEXNKELLEWFSESGFEERIXDRGLLIKGWAPQMLILSHHSVGGFLTHCGWNSTLEGLT AGLPLLTWPLFADQFCNEKLVQVLKAGVSAGVDQPMKWGEEEKIGVLVDKEGVKKAVEELMGE SDDAKEIRRRAKELGELAHKAVEEGGSSHSNITSLLEDLMQLAQSN	1071	AFN26669 (Erthmann et al., 2018)
EPH コード DNA [クミ ス ・ メ ロ (<i>Cucumis melo</i>)]	ATGGATGCCATTCAACATACACCATCAAAACGAATGCCATAAAATGCATATTGCGAGTGTAG GGAATGGACCTGTCGTGTTACTCTTACACGTTTTCGCCAATTGTGGTATTCTTGGAGACATCA ACTCCTTTATCTGAGTTTCAAGTGGGATATCGCGCAATAGCTCCAGATTGAGAGGATACGGTGAT ACCGATTCTCCAGAAAGCCATACCTCTTATACAGCGTTACACATTGTTGGAGATCTAGTAGGTG CTTTAGACGAGTTAGGCATTGAAAAGGTCTTCTTGGTTGGGCATGATTGGGGTGCCATAATAGC CTCGTATTCTGCCTATTAGACACAGAGAGGATCAAAACGATTGCTCAACCTTTCAGTCCAATTTC TTTCCACGTAATCCGGCTATCTCGTTTATTACAGCGATTAGAGCTGCATATGGGGATGATTTTCT ACATGTGTAGGTTTCCAAGTTCCAGGAGAAGCTGAAGCAGATTTTGCCGTGATTGACACAGCACA ACTGTTCAAAACTACCTTATCTAACAGATCCACGAAAGCTCCGTGTTTGCCATAAGAAATACGGT TTTAGGGCTATTCCACCACCTGAGAATTTGCTTTCATGGCTAACTGAAGAAGACATCAACTACT ATGCAGCGAAGTTTAAGGAACTGGTTTACAGGCGCTTTGAAGTACTATCGTGCCCTTTGATCT TACTTGGGAACTGACTGCTCCTTGGACAGGTGTTGAGATTCAAGTGCCCTGTTAAGTTCATAGTA GGTGATTCCGACTTAACATACCATTTTAAGGGTGCAGAGGAGTACATTCATGAAGGTGGCTTTA AAGAGAGCTACCTTATCGGAAGAGGTTGTTATCGTGGAAATGCCGGTCATTTGTTTCACGA AGAAAAACCCATGAGATAAATACACACATTACGACTTCATCAAGAAATTTTAA	1072	
EPH タンパク質 [クミ ス ・ メ ロ (<i>Cucumis melo</i>)]	MDATQHTTITKTNGTKMHASVGNPVPVLIJHGFPEI WYSWRHQIJIYISSVGYRATAPDLRGYGD TDSPEHSHTSYTALHIVGDLVGALDELGIEKVFLVGHWDGAI IAWYFCLFRPERIKALVNLVSVQF FPRNPATISFIQRFRNAYGDDFYMCRFQVPGEAEDFACIDTAQLFKTTLSNRSTKAPCLPKEYG FRAIPPPENLPSWLTEEDINYYAAKFETGFTGALNYRAFDLTWELTAPWTGVQIQVPVKFIV GDSDLTYHFKGAKEYIHEGGFKRDVPLEEVVIVENAGHFVHEEKPEINTHIHDFKKK	1073	XP_008454322
MLUGT73K1 タンパク質 [メディカゴ・トランカツラ]	MGTESKPLKIYMLPFFAQGHILPLVNLARLVASKNQHVTTITTPSNAQLFDKTIIEEKAAGHHI RVHIIKFPSAQLGLPTGVENLFAASDNQTAGKIHMAAHFVKADIEEFMKENPPDVFLSDIIFTW	1074	AAW56091

10

20

【 0 4 3 7 】

30

40

50

【表 7 - 3 0】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列 番号	アクセッション番号 / 参考文献
(<i>Medicago truncatula</i>)	SESTAKNIQTIPRI.VFNPSTIFDVMCIQAIQSHPFSEFVSDSPYQIHGI.PHPITL.PPKPSPGFAR LTESLIEAENDSHGIVNVSFAELDEGYTEYYENLTGRKVWHVGPSTLMVEIPKKKKVVSSTENDS SITKHQSLTWLDTKEPSSVLYISFGSLCRLSNEQLKEMANGIEASKHQFLWVHVHKEGEDEDNW LPKGFVERMKKEKKGMLKGVVPQALILDHPSIGGLTHCGWNATVEA1SSGVPMVMPGFQDQ YYNEKLVTVEHRIIGVEVGAEEWSMSPYDAKKTVVRAERIEKAVKKLMDNSNGEGGEIRKRAKEMK FKAWKAVQFEGSSQNCICIKLVDYI.HSVVTKSVRI N		
MLUGT73K1 コード DNA [メディカゴ・トランカツラ (<i>Medicago truncatula</i>)]	ATGGGTACTGAATCTAAGCCATTGAAGATCTATATGTTGCCATTTTTCGCTCAAGGTCATTGTA TCCCATTTGGTTAATTTGGCTAGATTGGTTGCATCTAAAAATCAACATGTTACTATCACTCACTAC ACCATCAAACGCTCAATTTGTTGATAAGACAATCGAAGAAGAAAAGCTGCAGGTCAATCATATC AGAGTTCATATTATTAAGTTCCCATCTGCACAATTGGGTTTACCAACTGGTGTGAAAAATTTGT TCGCTGCATCAGATAACCAACAGCTGGTAAAAATCCATATGCGTGCACATTTCGTTAAGCAGA TATCGAAGAATTCATGAAGGAAAAATCCACCAGATGTTTTATTCTGATATCATTTTACTTGG TCTGAATCAACAGCTAAAAATTTGCAAAATCCCAAGATTGGTTTTTAAATCCAATCTCAATCTTTG ATGTTTCTGATGATCAACCAATTCAATCTCATCCAGAATCATTTCTTCTGATTCAGCTCCATA TCAAATTCATGGTTTGCACATCCATTGACTTTACCAATTAACCATCTCCAGGTTTCGCTAGA TTGCAGAAATCATGATCGAAGCAGAAAACGATTCTCATGCTGTTATTTGTTAACTCATTCGCTG AATTGGATGAAGGTTACACTGAATACTACGAAAATTTGACAGGTAGAAAAGTTTGGCATGTTGG TCCAATCTCTTGATGGTTGAAATCCCAAGAAAAGAAAAGTTGTTTCTACTGAAAACGATTCT TCAATCAAAAAGCATCAATCATTTGACTTGGTTAGATACAAAAGAACCATCTTCACTTTTGATACA TCTCTTTTCGGTTTCAATGCTAGATTGCTAACGAACAATTGAAGGAAATGGCTAACGGTATCGA AGCATCAAAGCATCAATTTCTTGTGGGTTGTTTATGTTAAGAAGGTGAAGATGAAGATAACTGG TTGCCAAAGGGTTTCGTTGAAAGAATGAAGGAAGAAAAGAAAGGCATGTTGATTAAAGGTTGGG TTCACAAAGCTTTGATTTTATGATCATCCATCTATTGGTGGTTTCTTGACTCATTTGGTGGAA TGCTACAGTTGAAGCAATTTCTTCAAGGTGTTCCAAATGGTTACTATGCCAGGTTTCGGTGACCAA TACTACAACGAAAAGTTGGTTACAGAAGTTTATAGAATTGGTGTGAAAGTTGGTGGTGCAGAAAT GGTCTATGTACCAATATGATGCTAAGAAAACGTGTTGTTAGAGCTGAAAGAATCGAAAAGGCAGT TAAGAAAATTGATGGATTCTTAACGGTGAAGGTGGTGAATCAGAAAGAGACAAAGGAAATGAAG CAAAAAGCTTGGAAGCAGTTCAAGAAGGTGGTTCTTCAAAAACGTTTGTAGCTAAGTTGGTTG ATTACTTGCAATCTGTGCTGTGTTACAAAAGTCAGTTGAATTAATAATTA	1075	
MtUGT71G1 タンパク質 [メディカゴ・トランカツラ (<i>Medicago truncatula</i>)]	MSMSDINKNSELIFIPAPGIGHLASALEFAKLLTNHDKNLYITVFCIKFPGMPFADSYIKSVLA SQPQIQILDLPEVEPPPPQELLSPEFYILTFLESLIPHVKATIKTILSNKVVLVLDFFCVSMI DVNGNEFGLPSYLFLLTSNVGFLSLMLSLKNRQIEEVFDDSDRDHQLLNIPGISNQVPSNVLPD ACFNKGGYIAYKLAERFRDTKGIIVNTFSDLEQSSIDALYDHDEKIPPIYAVGPLLDLKGQPNP KLDAQHDLILKWLDEQPDKSVVFLCFGSMGVFSGPSQIREIALGLXHSVRFLLWSNSAEKKVF PEGFLEWMELEGKMICGWAPQVEVLAHKAIGGFVSHCGWNSILESMMWFGVPIILTWPIYAEQQL NAFLRVKWEVGVLGLRVDRYRKGSJVVAEEIEKGLKDLMDKDSIVHKVQEMKEMSRNAVVDGG SSLISVGKLDDITGSN	1076	AAW56092
MtUGT71G1 コード DNA	ATGCTATGTGATGATATCAATAAGAACTCTGAATTAATTTTCATTCCAGCTCCAGGTATTGGTC	1077	

10

20

【 0 4 3 8】

【表 7 - 3 1】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列 番号	アクセッション番号 / 参考文献
[メディカゴ・トランカツラ (<i>Medicago truncatula</i>)]	ATTTTGGCTTCAGCATTTGGAATTTGCAAAAGTTGTTGACTTAACCATGATAAGAATTTGTATATTAC AGTTTTCCTGTATTAAATTTCCCTGGTATGCCATTCCGCTGATTCTTACATCAAGTCAGTTTGGCA TCTCAACACACAAATCCAAATGATCGATTGCCAGAAGTTGAACACACACACAAAGAAATGTTGA AGTCTCCGAATTTTACATCTTGACATTTTGGAAATCATTGATCCACATGTTAAGGCTACTA TAAAACAATCTTGCTAAACAAGGTTGTTGGTTTGGTTTTGATTTCTTTTGTGTTTCCAATGATC GATGTTGGTAACGAATTCGGTATCCCATCTTACTTGTGTTTTAACATCAACAGTTGGTTCTTGTG CATTTGATGTTGCTTTGAAAAATAGACAAATCGAAGAAGTTTTCGATGATTCTGATAGAGATCA TCAATTTGTTGAACATCCAGGTATCTCTAACCAAGTTCCATCAACAGTTTTCGACATGCTTGT TTCAATAAGGATGGTGGTTACATCGCTTACTACAAGTTGGCAGAAAGATTTCAGAGATACAAAGG GTATCATCGTTAACACATTTTCTGATTTGGAACAATCTTCAATCGATGCTTTTGATGATCATGA TGAAAGATTCCACCAATCTATGCAAGTTGGTCCATTGTTAGATTGAAAGGTCAACCAATCCCA AAATTTGGATCAAGCACAAATGATTGATCTTGAAGTGGTTGGATGAACAACCTGATAAGTCTG TTGTTTTCTTGTGTTTTCGGTTCAATGGCTGTTTTCTTTTCTGCTCACAATACAGACAAATCCG TTTGGGTTTGAAGCATTCAGGTGTTAGATTTTATGGTCTAATCAGCAGAAAAGAAAGTTTCTT CCAGAAAGTTTCTTGGAAATGGATGGAATTTGGAGGTTAAAGCATGATTTTGTGTTGGGCTCCAC AAGTTGAAGTTTTCGCTCATAAAGCAATTTGGTGGTTTGTGTTCTCATTTGTGTTGGAACTCTAT CTTGGAAATCAATGTTGTTTCGGTGTTCCAATTTTGACTTGGCCAAATCTATGCTGAACCAAAATG AAGCTTTTATGATTGCTTAAAGCAATGGGCTGTTGTTTGGGTTTAAAGATTGATTACAGAAAAG GTTCTGATGTTGTTGCTGCAGAAAGAAATCGAAAAGGTTTGAAGGATTGATGGATAAAGATT TATTGTTTCAAGAAAGTTCAAGAAATGAAGGAAATGTCAGAAATGCTGTTGTTGATGGTGGT TCTTCATTGATCTCTGTTGGTAAATTGATCGATGATATCACAGGTTCAAAATTA		
PgUGT74AE2 タンパク質 [パナックス・ジンセン (<i>Panax ginseng</i>)]	MLSKTHIMFIFPPAQGHMSPMMQFAKRLAWKGVRIITIVLPAQIRDSMQITNSLINTECISFDPD KDDGMPYSMQAYMGVVKLKVTNKLSDILEKQKTNQYFVNLI.VVDSI.YPSRVFMCHQLGVKGAPF PTHSCAVGAIYYNAHLGKLKIPPEEGLTSVSLPSIPLGRDDLPIIRTGTGFDLFEHLGNQFSD LDKADWIFFNTEFDKLENEEAKWLSSQWPIITSIGPLIFSMYLDKQLPNDKGNINLYKADVGS CIKWLDKADPGSVVYASFGSVKHNFGDDYMDVEAWGLLHSHKYNFIWVVIIEPERTKLSSDFLAEABE KGLIVSWCPQLEVLSHKSI.GSFTMTHCGWNSTVEALSLGVPMVAVPQQFDQPVNAKYIVDVWQIG VRVPIGEDGVVLREGEVANCIDVMEGSI.GDELGRNALKWKGLAVEAMEKGGSSDKNIDEFISK LVSS	1078	JX898529
PgUGT74AE2 コード DNA [パナックス・ジンセン (<i>Panax ginseng</i>)]	ATGTTGTCAAAGACTCATCATGTTTCATCCCATTTCCAGCTCAAGGTATATGTCCTCAATGA TGCATTTGCTAAAGACTTAGCATGGAAGGTTGTTAGAATCAAAATCGTTTTCGCCAGCACAAT TAGAGATTCAATGCAAACTCACTAATCTTTGATTAAATACAGAAATGATTTTCATTGATTTCGAT AAGGATGATGGTATGCCATCTCTATGCAAGCTTACATGGGTGTTGTTAAGTTGAAGGTTACTA ATAAGTTGCTGATTTGTTGGAAAAGCAAAGACTAACGGTTACCCAGTTAAATTTGTTGGTTGT TGATTCATTGTACCACTTAGAGTTGAAATGTGTCATCAATTTGGGTGTTAAAGGTGCTCCATTT TTCATCTATTCTTGTGCTGTTGGTGCATCTATTAACACCCACATTTGGGTAATTTGAAGATT CACCAGAAAGAGGTTTGCATCTGTTTCATTACCATCAATTCATTTGTTAGGTAGAGATGATTT GCCAATCATCAGAACTGGTACATTCACAGATTGTTTCCAAATTTGGGTAACCAATTTCTGAT	1079	

30

40

50

【 0 4 3 9 】
【 表 7 - 3 2 】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列 番号	アクセッション番号 / 参考文献
	TTGGATAAGGCTGATTGGATTTTCTTTAAACACTTTTCGATAAGTTGGAAAAAGGAAAGCAAAAT GGTTGTCTTCCAAATGGCCCAATTACATCAATCGGTCCATTTGATCCCATCTATGATTTGGATAA GCAATTGCCAAACGATAAGGGTAACGGTATTAAATTTGTACAAGGCTGATGTTGGTTCATGTATT AAATGGTTGGATGCTAAAGATCCAGGTTCTGTGTTTACGCATCTTTTCGGTTTCAGTTAAGCATA ACTTCGGTGCAGATTACATGGATGAAGTTGCATGGGGTTTGTTCATTCAAAGTACAACTTCAT CTGGGTTGTTATTGAACCAAGAAAGAACTAAGTTGTCTTCAGATTTCTTGGCTGAAGCAGAAAGAA AAAGGTTTGATTGTTTCTTGGTGTCCACAATTGGAAGTTTGTCTCATAAGTCAATCGGTTCTT TTATGACTCATTTGGGTTGGAATTCACAGTTGAAGCTTTGTCTTTAGGTGTTCCAAATGGTTGC AGTTCCACAACAATTGATCAACCAAGTTAACGCTAAGTACATCGTTGATGTTTGGCAAAATGGT GTTAGAGTTCCAATTGGTGAAGATGGTGTGTTTGTAGAGGTGAAGTTGCTAACTGTATCAAGG ATGTTATGGAAGGTGAAATTTGGTGACCAATTCGCTGGTAAATSCATTTAAATGGAAAGGTTGGC TGTGAAGCAATGGAAAGGTGGTCTTCAGATAAGAACATCGATGAATTCATTTCTCAAAATG CTTCTCTCATAA		
PgUGT71A27 タンパク質 [パナックス・ジンセン (<i>Panax ginseng</i>)]	MKSELI FLPAIACHLVCMVEMAKLFISRHENLSVTVLIAKFYMDTCVDNYNKSLLTNPTRLT LVNLPETDPQNYMLKPRHAI FSPSIEQKTHVRDIIISGMTQSESTRVVGLLADLLFINIMDIAN FENVPTYVYSPAGAGHIGLATHIQTINDKKQDVTEFRNSDTFLVPSFANPVPARVLPSPMYVOK EGGYDYLFSLFRRRESKAI IINTFEELEPYAINSLRMSMIPPIYPVGPILNLNGDGQKNSDEA AVILGWLDDQPPSSVFLCFGSYGSFQENQVKEIAMGLERSGHRFLWSLRPSIPKGETKLQKY SNLKEILPVGF LDRITCVGVKVI GWAPQVAVLAHKAVGGFVSHCGWNSILESVWYDMSVATWPMY GEQQLNAFEMVKELGLAVEIEVDYRNEYNTGFI VRADEIETKIKKLMMEKNSEIRKKVKEMK EKSrvAMSENGSSYTSIAKLEKIM	1080	KM491309
PgUGT71A27 コード DNA [パナックス・ジンセン (<i>Panax ginseng</i>)]	ATGAAATCTGAATTGATTTCTTCCAGCTCCAGCAATTTGTCATTTGGTTGGTATGGTTGAA TGGCAAGTTGTTTATTTCTAGACATGAAATTTGTGAGTTACTGTTTGTATCGCTAAGTTCTA CATGGATACAGGTGTTGATTAACACATAAAGTCTTTGTTGACTAATCCAAACACCAAGATTGACT ATTGTTAATTTGCCAGAAACAGATCCACAAAATACATGTTGAAGCCAGACATGCAATCTTCC CATCTGTTATTGAACCTCAAAAGACTCATGTTAGAGATATCATCTCTGGTATGACTCAATCTGA ATCAACAAGAGTTGTTGGTTGTTAGCAGATTTGTTGTTTATTAACATCATGGATATCGCTAAC GAATTCATGTTCCAACTTACGTTTACTCTCCAGCTGGTGCAGGTGATTTGGGTTTAGCTTTCC ATTTGCAAAACATTGAACGATAAGAAACAAGATCTTACTCAATTCAGAACTCTGATACAGAAAT GTTAGTTCCATCATTGCAAAATCCAGTTCCAGCTGAAGTTTACCATCTATGTACGTTGATAAG GAAGGTGGTTACGATTACTGTTTCTTTGTTTAGAAGATGTAGAGAATCAAAGGCAATCATT TAAACACTTTCGAAGAACTTGAACCATACGCTATTAAATCTTTGAGAATGGATTCATGATTCC ACCAATCTATCCAGTTGGTCCAATTTGAATTTGAATGGTGACGGTCAAAATCTGATGAAGGT CGAGTTATTTTGGGTTGGTTAGATGATCAACCCACATCTTCAGTTGTTTCTTGTGTTTCGGTT CTTACGGTTTCAATCCAAAGAAACCAAGTTAAGGAAATCGCTATGGGTTTGGAAAGATCAGGTCA TAGATTTTGTGGTCTTTAAGACCATCAATTCAAAAGCTGAAACTAAATTTGCAATTTGAAGTAC TCTAATTTGAAGGAAATCTTGCAGTTGGTTTCTTGGATAGAATCATGTTGTTGGTAAAGTTA TTGGTTGGGCACCACAAGTTGCTGTTTGGCACATAAAGCTTSTGGTGGTTTGTCTCTCATTTG	1081	

10

20

【 0 4 4 0 】
【 表 7 - 3 3 】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列 番号	アクセッション番号 / 参考文献
	TGGTTGGAACCTCTATCTTGGAAATCAGTTTGGTACGATATGTCAGTTGCTACTTGGCCAAATGTAC GGTGAACAACAATGAACGCATTGCAAAATGGTTAAGGAATTTGGGTTTAGCTGTTGAAATCGAAG TTGATTACAGAAACGAACACAAATAGACTGGTTTATGCTGATAGAGCTGATGAAATCGAAACAAA AATTAAGAAATGATGATGGATGAAAGAAATCTGAAATTAAGAAAGAAAGTTAAAGAAATGAAG CAAAATCTAGAGTTGCAATCTCAGAAATGGTTCTTCATATACATCATGGCTAAATTTATTG AAAGATTATGTAA		
CaUGT3 タンパク質 [カ タランタス・ロゼウス (<i>Catharanthus roseus</i>)]	MATEQQQASISCKILMPFWLAFGHISFLQAKKLSDRGFYFYICSTPINLDSIKNKINQNYSS STQIVDLHLPNSPQIPPSIHTTNGLPPIHMSITKNALIDANPDI CKTIASIKPDIITTDHQPW TEALASRHNI PAVSFSTMNAVSFAFVMMFMNPGIEFFKAIHLSDFEQARFLEQLSASKN DAS AKDLQLQSGKFNSTFIVRSSREIEGKYVDYLSIILKSKVIPVCPVISLNNNDQGGKNDDE IQWLDKSHRSSVFVSFGSEYFLNMQIEIEIAIGLELSNVNFIWVLRFPKGEDTKIEEVLPEG FLDRVKTGRIVHGWAPQARILGHPSIGGFVSHCGWNSVMESIQIGVPIIAMPNNLDQPFKARL VVEIGVGIEVGRDENGKLRERIEGIVEIKKEIKKELRKTAKDLGQKLDRDEKQDFDELAAT LKQLCV	1082	BAH80312
CaUGT3 コード DNA [カ タランタス・ロゼウス (<i>Catharanthus roseus</i>)]	ATGGCTACTGAACAACAACAAGCATCAATCTCTTGTAAAGATCTTGATGTTCCCATGGTTGGCAT TCGGTCATATCTCTTCACTTTTGCATTTGGCTAAGAAATGCTGTGATAGAGGTTCTACTTCTA CATCTGTTCAACACCACTTAAATTTGGATTCTATTAATAAAGATTAATCAAACTATCTTCTCA TCTATCCAATTGGTTGACTTGCATTTGCCAAATTCACCACAATTGCCACCATCTTACATACTA CAAAATGGTTTGCACCACATTTGATGTCAACTTTGAAAAATGCTTTGATCGATGCAAAACCCAGA TTTGTGTAAGATCATCGCATCTATTAACACAGATTTGATCATCTATGATTGATCAACCATGG ACTGAAGCTTTGGCATCAAGACATAACATCCAGCTGTTTCATTTTCTACAATCAACCGCTGTTT CTTTCGCATACGTTATGCATATGTTTCATGAACCCAGGTATCGAATTCCTTTTAAAGCTATCCA TTTGTCTGATTTGAAACAAGCAAGATTTTGGAAACAATTGGAATCAGCTAAAAATGATGCTTCT GCCAAAGATCCAGAAATGCAAGGTTCAAAGGTTTCTTTAACCTACTTTTATTTGTTAGATCAT CTAGAGAAATCGAGGGTAAATACGTTGATTACTTGTGAGAAATCTTGAAGTCTAAAGTTATTCC AGTTTGTCCAGTTATTTCATTGAACAACAACAGATCAAGGTCAGGTAATAAGGATGAAGATGAA ATCATCCAATGGTTGGAACAAGAAATCTCATAGATCATCTGTTTTCGTTTCATTCGGTCTGAAAT ACTTTTGAACATGCAAGAAATCGAAGAAATCGCTATCGGTTTGGCAATTTATCTAACCTTAACCT CATCTGGGTTTGTAGATTTCCAAAGGGTGAAGATAAGATCGAAGAGTTTGGCCAGAAGGT TTCTTTGGATAGAGTTAAGACAAAGGGTAGAATCGTTTCATGTTGGGCTCCACAAGCAAGAAATTT TGGGTCATCCATCAATCGGTGGTTTGTCTTCATTTGTTGGTGGAACTCAGTTATGGAATCTAT CCAAATCGGTGTTCCAACTCATCGCAATGCCAATGAATTTGGATCAACCTTTTAAATGCTAGATTG GTTTGTGAAATTTGGTGTGGTATTGAAGTTGGTAGAGATGAAACCGTAAATGAAGAGAGAAA GAATCGGTGAAGTTATTAAGAAAGTTGCAATCGGTAAGAAAGGTGAAAGTTGAGAAAGACTGC TAAGGATTGGGTCAAAGTTGAGAGATAGAGAAAGCAAGATTTTGATGAATTTGGCTGCAACA TTGAACAATTTATGTCTTAA	1083	
SvUGT74M1 タンパク質 [ジブソフィラ・バッカリア	MSNNENNATQVIVLPYHGQGHMNTMVQFAKRLAWKGHVHTIATFPNTIQMKLNISSYKSITLE PIYDDTDDSTLHIKDRMARFEAEASNLTRVLEAKKQQQALNKKCLLVYHGSINWALVVAHQON	1084	ABK76266

30

40

50

【 0 4 4 1 】
【 表 7 - 3 4 】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列 番号	アクセッション番号 / 参考文献
(<i>Gypsophila vaccaria</i>)	VAGAAFFTAASAFACYYYLHLESQGXVDLEELPSILPPPKVIVQXLPKSF LAYGDNKSHNNN NNNNNNNNNNMGLHPLVLWLLKDYGNSVKADEFVLNSFDKLEEEAIKWISNICSVKTI GPTIP STYLDKQIENDVDYGFNQYKPTNEDCMKWLDTKEANSVVY IAFGSVARLSVEQMAELAKALDHS SKSFIWVVRETEKEKLPVDLVEKISGQGMVVPWAPQLEVLAHDAVGCFVSHCGWNS TLEALSFG VPILAMPQFLDQLVDAHFVDRVWVGIAPTVDENDLVTQEEISRCLDEMGGGPEGEKIKKNVA MKKELTKRALDKGGSSDKHIDEIIFWISSS		
SvUGT74M1 コード DNA [<i>ジブソフィラ・バッカリア</i> (<i>Gypsophila vaccaria</i>)]	ATGTCTAACAACGAAAACAACGCTACACAAGTTATTGTTTTSCCATACCATGGTCAAGGTCATA TGAACACTATGGTTCAATTCGCTAAGAGATTAGCATGGAAAGGTGTTCAATGTTACAAATTGCAAC TACTTTTAATACTATCCAACAAATGAAGTTGAATATTCTTCATACAATTCTATTACATTAGAA CCAATCTATGATGATACCTGATGATTCAACATTGCATATCAAGSATAGAATGGCTAGATTGAAG CAGAAGCTGCATCTAATTTGACTAGAGTTTTGGAAGCTAAGAAACACAACAAGCAATTGAATAA GAAATGTTTGTGGTTTACCATGGTTCAATTGAATTGGGCTTTAGTTGTTGCACATCAACAAAAT GTTGCTGGTGGTGGTTCTTTACAGCTGCATCAGCTTCTTTCGATGTTACTACTATTTGCATT TGGAAATCTCAGGGTAAAGGTTGTTGATTTCGAAGAATTACCATCAATCTTCCACCACCAAAAGT TATTGTTCAAAAGTTGCCAAAGTCATTTTGGCTTACGGTGACAATAATTACATAAACAATAAT AATAATAACAATAAACAATAAATAAATAAATATGGGTTTGCATCCATTGGTTTGTGGTTGT TGAAGGATTACGGTAACCTCTGTAAAGCTGATTTCTGTTTGTGAAGCTCATTGATAAGTTGGA AGAAGAAGCAATTAAATGGATCTCAACATCTGTTCTGTTAAGACTATCGGTCCAACAATTCCTCA TCTACTTACTTAGATAAGCAAAATCGAAAATGATGTTGATTACGGTTTAAATCAATAAACCACAA CAATGAAGATTGTATGAAATSGTTGGATACTAAGGAAGCTAACTCAGTTGTTTACATCGCTTT CGSTTCAGTTGCAAGATTGTTCTGTTGAACAAATGGCAGAAATCGCTAAGGCATTGGATCATTCT TCAAAAGTCTTTTATTTGGGTTGTTAGAGAAACAGAAAAGGAAAGTTGCCAGTTGATTTGGTTG AAAAGATTTCAGGTCAGGGTATGGTTGTTCCATGGGCTCCACAATTGGAAGTTTTCAGCTCATGA TGCAGTTGGTTGTTTGTTCACATTGTGGTTGGAATTCTACTATTGAAGCTTTGTCATTTGGT GTTCCAATTTTAGCAATGCCACAATTCTGGATCAATTGGTTGATGCTCATTTCGTTGATAGAG TTTGGGGTGTGGTATTGCACCAACAGTTGATGAAAACGATTTGGTTACTCAAGAAGAAATCTC TAGATGTTTGGATGAAATGATGGTGGTGGTCCAGAAGGTGAAAAGATTAGAAAAATGTTGCT ATGTGGAAGGAATTGACTAAGGAAGCATTTGGATAAAGGTGGTTCTTCAGATAAACATATTGATG AAATTATTGAATGGTTACCTTCATCTTAA	1085	
MtUGT73F3 タンパク質 [<i>メディカゴ・トランカツラ</i> (<i>Medicago truncatula</i>)]	MEGVEVEQPLKVYFIPFLASGHMIFLFDIATMFASRGQQVTVITTPANAKSLTKSLSSDAPSFL RLHTVDFPSQQVGLPEGIESMSSSTDPTTTWKIHTGAMLLKEPIGDFIENDPPDCIISDSTYPW VNDLADKFI PNITFNGLCLFVSLVETLKTNNLLKSQTS DSDSSSFVVPNFPHHITLCSKPP KVIGIFMGMMLETVLKSKALIINNFESLDGEECIQHYEKATGHKVVH LGPTSLIRKTAQEKSER GNEGAVNVHESLSWLDSESVNSVLYICFGSINYFSDKQLYEMACAI EASGHPFIWVVPKKGKE DESEEEKEKWLPGFEEERNIGKKGLIIRGWAPQVKILSHPAVGGFMT HCGNSTVEAVSAGVPM ITWPHGDQFYNEKLITQFRGIGVEVGATEWCTSGVAERKKLVSRDSIEKAVRRLMDGGDEAEN IRLRAREFGEKAIQAIQEGSSYNLLALIDELKRSRDLKRLDLKLLD	1086	ACT34898.1
MtUGT73F3 コード DNA	ATGGAAGGTGTTGAAGTTGAACAACCATTTGAAGGTTTACTTCATCCCATTTT TAGCTTCTGGTC	1087	

【 0 4 4 2 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 3 5】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
[メディカゴ・トランカツラ (<i>Medicago truncatula</i>)]:	ATATGATCCCATTGTTTCGATATCGCTACAATGTTTCGGATCAAGAGGTCAACAAGTTACTGTTAT TACTACACCAGCTAACGCAAGTCATTGCACAAAGTCTTATCTTCAGATGCACCACATTTTGG ACATTGCCATACGTTGATTTTCCATCTCAACAAGTTGGTTTACCAGAAGGTATTGAATCAATGT CTTCAACTACAGATCCAACTACAACCTTGGAAAGATCCATCTGGTGTATGTTGTTGAAGGAACC AATCGGTGACTTCATCGAAAAAGATCCACCAGATTGTATCATCTCAGATTCTACATACCCATGG GTTAATGATTTGGCTGATTAAGTTCCAAATCCCAACATCACCTTTAATGGTTTGTGTTGTTCG CAGTTTCTTTGGTTGAACATTGAAGACTAACATTTGTTGAAGTCACAACAGATTCCAGATTCT TGATTCTTCATCTTTCTGTTTCCAACTTCCACATCATATCACTTTGTTGTGCTAAACCACCA AAAGTTATTTGGTATTTTATGGGTATGATGTTGGAACAGTTTGAAGTCAAAGGCTTTGATTAT TTAAACATTTTCTGAATTTGGATGGTGAAGAAATGTATCCACATTACGAAAAGGCAACAGGTCA TAAGTTTGGCATTTGGGTCCAACATCATTGATCAGAAAGACTGCTCAAGAAAAATCTGAACGT GATAATGAAGGTGCACTTAATGTTTCATGAATCATTTGCTTGGTTAGATTACAGAAAGAGTTAATT CTGTTTATACATTTGTTTGGTTCAATTAATTAATCTCTGATAAGCAATTGTACGAAATGGC TTGTGCAATTGAAGCTCTGGTCACTCTTTTATTTGGTTGTTCCAGAAAAAGAAAGTTAAGAA GATGAATCAGAAAGAAAAAGGAAAGTGGTTGCCAAAGGCTTCGAAGAAAAAGAAACATCGGTA AAAAAGGTTTGTATCATAGAGGTTGGGCTCCCAAGTTAAAAATTTGTCTCATCCAGCAGTTGG TGGTTTTATGACACATTTGGTGGTAATTCAACTGTTGAAGCTGTTTCTGCAGGTGTTCCAAATG ATTACATGGCCAGTTCACTGGTGACCAATTTACAACGAAAGTTGATCACTCAATTCAGAGGTA TTGSGTGTGAAGTTGGTGTCTACAGAAATGGTGTACTTCTGGTGTTCAGAAAGAAAGAAATGGT TTCAAGAGATTCTATCGAAAAGGCAGTTAGAAGATTGATGGATGGTGGTGACGAAGCTGAAAC ATCAGATTGAGAGCAAGAGAAATTTGGTGAAAAAGCTATTCAAGCAATTCAGAAAGGTGGTTCAT CTTACAACAATTTGTTGGCTTTGATTGATGAATAAAAAGATCTAGAGATTGAAAAGATTAAAG AGATTGAAATTAGATGATTAA	1088	BAM29362.1
GmUGT73F2 タンパク質 [グリシンマックス (<i>Glycine max</i>)]:	MDLQQRPLKLHFIPLYSPGHVPLCGIATLFAISRGQHVTVITTPYYAQILRKSSPSLQLHVVD PAKDVGLPDGVEIKSAVTLADTAKFYQAAMLLRRPISHFMDQHPDPCIVADTMYSWADVDVANN LRIPRLAFNGYFLFSGAAMKCVISHPELHSDTGPFVIFDPFPHRVMTSPRPFPMATAFMDILKCI FLKSHGLTVNSFARLDGFECTQHYFKSTGHKAWHI GPACIVGKRDRGFKSVSVSNQFCLTWLD PKPNSVVVYVSGSVCHFPDKQLYE IACALEQSGKSFVWVPEKKGKEYENESEEEKEKWLPGK FEERNREXGMIVKGWAPQLLLILHAPVGGFLSHCGWNSLEAVTAGVPMITWVPVMDQFYNEKL LTVVRGIGVEVGATEWRLVGYGEREKLVTRDTIETAIKRLMGGGDEAQNIIRRSEELAEKAKQS LQEGGSSHNRLTLLIADLMRLRDSKST	1089	
GmUGT73F2 コード DNA [グリシンマックス (<i>Glycine max</i>)]:	ATGGATTTCACAACAAGACCATTGAAGTTGCATTTTCATCCCATATTTGTCTCCAGGTCATGTTA TTCCATTGTGTGGTATTGCTACATTAATTTGCATCAAGAGGTCACATGTTACTGTTATTACTAC ACCATACTACGCTCAAACTCTTGAGAAATCTTCACCATCTTTGCAATTACATGTTGTTGATT CCAGCTAAAGATGTTGGTTTACCAGATGGTGTGAAATTAATCAGCAGTTACAGATTGGGCTG ATATGCAAAATTTTACCAAGCTGCAATGTTGTTGAGAAAGCAATCTCTCATTTTCATGGATCA ACATCCACAGATTGATTCGTTGCTGATACAATGTACTCATGGCTGATGATGTTGCAACAAT TTGAGAAATCCCAAGATTGGCTTTTAATGGTTACCCATTATTTTCTGGTGTGCAAGCAAGTGTG	1089	

10

20

【0 4 4 3】

【表 7 - 3 6】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
[UGT73C26 タンパク質 [バルバレア・ブルガリス (<i>Barbarea vulgaris</i>)]:	TTATCTCTCATCCAGAACTGCATTTCAGATACTGGTCCATTGTTATTCAGATTTCACATAG AGTTACAATGCCATCAAGACCACCAAAATGGCTACTGCTTTTATGGATCATTGTTGAAGATC CAATTGAAATCTCATGCTTTGATCGTTAACTCATTCCTCTCAATTAGATCGTGAAGAACTGATCC AACATTACGAAAAATCTACAGGTCATAAGGCTTGGCATTTGGGTCCAGCATGTTTAGTTGGTAA AAGAGATCAAGAAAGAGGTGAAAAATCTGTTGTTTTCACAAAACGAATGTTTGACATGGTTAGAT CCAAAGCCAACCTAATCAGTTGTTACGTTTCTTTCTGCTTCAGTTTGTTCATTTCACAGATAAGC AATTGTACGAAATTCGTTGCTGATTGGAACAATCTGGTAAATCTTTTATTTGGATCGTTCCAGA AAACAAAGCTTAAAGAAACGAAAAACGAATCTGAAGAAACAAAGCAAGCAAGCTGTTCCCAAGCGT TTGCAAGAAAGAAACAGAGAAAGGGTATGATTGTTAAAGTTGGGCTCCACAACTGTTAATTT TGGTCTATCCAGCAGTTGGTGGTTTCTTGTCTCATTGTTGGTGGAAATCTCTCATTGGAAGCTGT TACAGCAGGTGTTCCAACTGATTACTTGGCCAGTTATGGCTGATCAATTTACAAACGAAAGTTG ATCAGAGAAAGTTAGAGGTATTGGTGTGAAGTTGGTGAACCTGAATGGAGATTAGTTGGTTAG GTGAAAGAGAAAGTTGGTTACTAGAGATACAATCGAACTGCTATTAAGAGATTGATGGGTGG TGGTGACGAAGCAAAACATCAGAAAGAGATCTGAAGAAATGGCTGAAAAAGCAAAACAACTCA TTACAAGAAAGTTGGTTCTTTCACATAACAGATTGACTACATTTGATCGCTGATTGATGAGATTGA GAGATTCTAAGTCAGCAACTTAA	1090	AVW82168.1
UGT73C26 コード DNA [バルバレア・ブルガリス (<i>Barbarea vulgaris</i>)]:	ATGGGCTTCGAAAAACCATCAATGTCATCCATCATTTGCATTTCTGTTTTCCTCTTTTATGG CACAAAGGTCATATGATCCCAATGATCGATATCGCTAGATTGTTGGCAGATAGAGGTCCAAAGAT CACATACGTTACTACACCACAAAACGCTGCAAGATTCAAAAACGTTTGTCTAGATCAATCGAT TCTGGTTTGGCAATTAATGTTGTTTCATGTTAAAGTTGCCATATCAAGAGCTGGTTTACAGAAAG GTCAAGAAAAACGAGATTGTTGGATTCAACTGAATTCATGTTTCCATTTTCAAGGCTGTTAA CATGTTGGAAGAACCACTTATGAAGTTGATGGAAGAAATGAAGCCAAGACCATCTTGTGTTGATC TCAGATTCTCTGTTTGGCATACACATCTAAAATTTGCTAAAAGTTTAAATATCCCAAAGATCGTTT TCCATGGTATGGGTTGTTCTGTTTGTGTTTGTGTTTGTACGTTTGGAGACAAAATTTGGAATTTT GCAAAATTTGAAATCTGATAAAGAATACTTTTGGATGCCATCATTTCCAGATAGAGTTGAATTC ACTAAACACAAAGTTCCAGTTAGAACAATGCTTCTGTTGACTGGAAGTTTCTCTGGATGAA GAGTTAAAGGTTGAAGAACTCATATGGTGTATTTGTTAAACACATCCAGAATTAGAACCAAGC ATACGTTAACGATTACAAGAAAGCTAGAGCTGGTAAAGTTTGGTCTATTTGGTCCAGTTTTCATTG TGTAATAAGGTTGAAGCTGATAAAGCAGAAAGAGGTAATAAGCCAGTTATTAATCAAGAACAA GTATCAAGTGGTTGGAATCTAAAGAAAGAGGTTTCAGTTTGTACGTTTGTGTTGGGCTCTATCTG	1091	

30

40

50

【 0 4 4 4 】

【 表 7 - 3 7 】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列 番号	アクセッション番号 / 参考文献
	TAATTTGCCATTGCCACAATTGAAAGAATTGGGTTTAGGTITGGAAGAATCACAAAGACCTTTT ATTTGGGTACTAGAGGTGGGAAAAATACGATGAATIGTCTGAATGGTGTGTGGAATCAGGTT TCCAGAAAGAACAAACCAAACAGGTTTCTTGATTAACGTTTGGTCTCCACAATCTTAATTTT GTCACATCCAGCTGTGGTGGTTTCTTGACTCATTGTGGITGGAATTCTACTTTAGAAGGTATT ACATCAGGTGTTCATCTGTAACATGGCCATTGTTCCGTTGACCAATCTGTAAACCAAAGTTGG TTGTTCAAAGTTTGAAGTTGGTGTCTCTGCTGGTGTGAAGAAGTTATGGAATGGGGTGACGA AGAAAAGATTGGTGTTCGATCGATAAGGAAGGTGTTAAGAAAGCTGTGAAGAATTAAATGGGT GAATCTGATGATGCAAACGAAAGAAAGAGAGCTTAACCAATTGGCTGAATTAGCTCATAAAG CATTAGAAGAAGGTGGTCTTTCACATTCTAACATCACTTTATTTTGCAGATATCATGCAACA AGTTGAATCAAGAACAGATTAA		
UGT73C27 タンパク質 [バルバレア・ブルガリス 亜種 アルクアタ (<i>Barbarea vulgaris</i> subsp. <i>arcuata</i>)]	MASEKSHLFDPSLHFVTFPFMAQGHMTPMIDTARIQAQRGAKITVTNPHNAARFYNVLSRSIE SGLPINLEHVKLPHYQAGLSEGGQENIDSLDSMELMVFFIKAVNLLPEPVMKLMEEIKPRPSCLI SDLLLPYTSKITKKFNPKIVFHGMGCFCLLCMHVLRNIEILKNLKSDDYFLVPSFPDRVEF TKPQVPVETNASGDWKEFLDEMVEAEDTSYGVIVNTFQELEPAYIKDYKEAKAGKWSIGPVS CNKIGADKAERGNKAAEFQDECLKWLDSKEEGSVLYVCLGSI CNLPLAQKELGLGLEESQRF LWVIRGWEEKYDELYEWMLSEGFEBRTKDRGLLIRGWAPQVLILSHPSVGGFLTHCGWNSLLEGI TSGVPLLTWPLFGDQFCNQKLVMOVLXVGVS TGVEEIMKWGEEEEKIGVLVDKEGVKAVEELMG ESDDAKERRRRVKELGKLAHKAVEEGSSHCNITLFLQDQCQLQSVKYFK	1092	AVW82172.1
UGT73C27 コード DNA [バルバレア・ブルガリス 亜種 アルクアタ (<i>Barbarea vulgaris</i> subsp. <i>arcuata</i>)]	ATGGCATCTGAAAAATCACATTTGTTCCGATCCATCTTTCGATTTCGTTATCTTCCCTTTTATGG CTCAAGGTCATATGATCCCAATGATCGATATCGCTAGATTGTTGGCACAAGAGGTGCTAAGAT CACTATCGTTACAAACCCACATAACGCTGCAAGATTCTACAACGTTTGTCTAGATCAATCGAA TCTGGTTTGCCAAATTAATTTGGAACAATGTTAAGTTGCCATACCAAGAAGCAGGTTTGTGAGAAG GTCAAGAAAACATCGATTCTTTGGATTCAATGGAATTAATGGTTCCTTTTATTAAAGCTGTTAA TTTGTGGAAGAACCAGTTATGAAGTTGATGGAAGAAATTAACCAAGACCATCTTCTTTGATC TCAGATTGTTATTGCCATACACTTCAAAGATCACTAAAAAGTTTAATATTCCAAAGATCGTTT TCCATCGTATGGCTTCTTCTCTTTCTGTTCTGATGCCCTTTTCAGAAGAAACATCCAAATCTT GAAAAATTTGAAGTCTGATAAGGATTACTTTTGGTTCCATCATTTCCAGATAGAGTTGAATTC ACTAAACCACAAGTTCCAGTTGAAACAAATGCATCTGGTGACTGGAAAGAATTTTGGATGAAA TGGTTGAAGCTGAAGACTTTCATACGGTGTIATTTGTAAACACATTCCAAGAATTAGAACCAGC TTACATCAAGGATTACAGGAAGCTAAAGCTGGTAAAGTTTGGTCTATTGGTCCAGTTTCATTG TGTAATAAGATTGGTGCCTGATAAAGCAGAAAGAGGTAATAAGGCTGCAATCGAACAAGATGAAT GTTTGAAGTGGTTGGATTCTAAAGAAGAAGGTTCAAGTTTGTACGTTTGTGTTGGGTTCTATCTG TAATTTGCCATTGGCACAATTGAAGGAATTAGGTTTGGGTITGGAAGAATCACAAAGACCTTTT ATTTGGGTACTAGAGGTTGGGAAAAGTACGATGAATGTACGAATGGATGTTGGAATCTGGTT TCGAAGAAAGAACAAAGGATAGAGGTTTGTGATCAGAGGTTGGGCTCCACAAGTTTGTATTT ATCTCATCCATCAGTTGGTGGTTTCTTGACTCATTTGGTITGGAATCTACTTTAGAAGGTATT ACATCAGGTGTTCCATTATTGACATGGCCATTGTTCCGTTGACCAATCTGTAAACCAAAGTTGG TTATGCAAGTTTGAAGTTGGTGTCTTACTGTTGTGAAGAAATCATGAAGTGGGTTGAAGA	1093	

【 0 4 4 5 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 3 8】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	AGAAAGATTGGTGTGTTTGGTTGATAAAGAGGTGTTAAGAAAGCAGTTGAAGAAATTAATGGGT GAATCAGATGATGCTAAGGAAAGAAAGAGAGATTAGGAATTTGGGTAAATTTGGCTCATAAAG CAGTTGAAGAAGGTGGTTCTTCACATTGTAATATTACATTGTTTTACAAGATATTTGTCAAT ACAACTCTGTTAAATATTTTAAATAA		
UGT スーパーファミリータンパク質 [シトルルス・ラナトウス (<i>Citrus lanatus</i>) (スイカ)]	MDVHKAKDKPTTILMFPWIGYGHLSAYLELAKAVSRCRNNFQIYFCSTPVNLDISIRPKLVASS SSSSSIQFVELHLPSSPEFPPHHTTALPPHLLPTLHQAFAAAAAPRFESILQTLSPHLLIYD VLQWPAPRIASSLNIPAINFTTATSIIISHALHNIHYPNKFPFLSDFLVHNYWKAKYTNVDCIT TERGRVRREAFYCLTASHDVILINSFKEMEGKYMDYLSVMLKKRVIAVGFLVYEPSEDEDEED FDYSRTKNWLDKKFASSTVIVAFGSEFFPSKFFMFEIATGIEKSGANFTWVVRFPKGFRKRTRF ELLPEGFVERAGERAMVEKDWAPQGGKILKHSRTGGFVSHCGWNSVMESIMLGVPVIGVPMHVDQ PYNAGLLEEAGVGVEAKRDPDGKIQRQETANLRQVVVDKSRDLRMKVREMSILRRKGDKQI DEMLTQISLLKLI	1094	Cla003152
UGT スーパーファミリータンパク質 [シトルルス・ラナトウス (<i>Citrus lanatus</i>) (スイカ)]	MAADKQTKKILMLPWLHGHITPFFELAKRLSKSFQIYLCSSPINLQAINPTLARDHSIELIS LHLLSLPDLPAHMHHTTKGIPHLLEPTLVKAFDMAAHGFELLDRAPDLVSDLFQPWAVRSAS SRNIPVVSFVVTGCAVILARLVNGFVNNQGEFFPEVDLSEHWVSKSSVRKVCDEVGHDWAMRFF ECMRMSCDVALVNTSPEFEGKYIEFLASSLKKKVLPIAPLIPIQIEPNNEKSEILEWLDRTPKS TVYVSFGSEYILTQDREELAHGLHQSGVNPFIWVIRFPKGQNLIIQEALPNDPLTQIEGKGLIL NEWVPQLKILNHSSIGGFVCHCGWNSVVEVMVGVPIVALPMQLDQPYHAKVVECAGVCVEAKR DGEKNVREEIVKAIKEVMFEKSGEALRGKAREIGEALRKREEGIIDEVVDPECKLWEPESKGV	1095	Cla020503
UGT スーパーファミリータンパク質 [ククミス・サティウス (<i>Cucumis sativus</i>) (キュウリ野生種)]	MAENKGLHVVFWSAFGHLIPHFQLSIALAKAGVHVSFISTPKNLQRLPPIPPSLSSFITLV IPLPKLPGDPLPEGAEATVDIPFDKIPFLKVALDLTEPPFRKFIADHAHPPDWFIVDENVSWIG DISREFRIPIVFFRVLSPGFLAFYAHLLGNRLPMTEIGSLISPPPIEGSVAYRRHZAAGIHA GFEKNDGLSDYERVTKINTACRVIAVTRCYEFDVYDLKLYSNYCGKKVIPLGFLPPEKPKTE FEANSPPWKSTFEWLDQQNPKSVMVFGVSGECKLTKDQIHEIARGVELSELPMWALRQPDWAE DSDVI.PAGFRDRTAARRGTVSMGWAPQMQLTGHPA.TGSSFFHGGWGSATFAT.FEGNCI.T.I.I.PFTVD QPLNARLLVEKGVATIEVERNEDDGCSSGEA.TAKALREAMVSEBGEKIRKRAKEVAATFGDTK.H QRYIEEFVEFLKHREDPIPNQ	1096	CSPI03G08620.1
UGT スーパーファミリータンパク質 [ククミス・サティウス (<i>Cucumis sativus</i>) (キュウリ野生種)]	MELDGHHRNKKKILMLPWLHGHVSPFLELSKLLATKNFHIFFCSTSIILHSIRSKLPQKLL SSSNIQLVELTLPSTADLPWRHTTAGLPSHLMFSLKRAFDSASAAPDGLQLNKLKPLDVIYDFL QWAPAVALSADIPAVMFQCTGALMAAMVNMMLKEPNSDFLSTFPEIRLSEFEIKQLKNLFKSS VNDAKDKQRIECCYKRSCCILLKLSLREIEAKYIDFVSTSLQIKAIIPVGLVEEQEEDIVVLA E.SFEKWLNKKEKRSCLVSGSEFYLSKGDMEETAHGLELSHVNFIWVVRFPSSGGEQGERKKKN VVFRTI.PKGF.FRVGERGMVVF.FWVPVQV.TI.KHRS.TGGFI.SHCGWSSVT.FSTIKSGVPI.TAAPQ LDQPLNARLVEHLGVGVVVERS.DGGMLCRREVARAVREVVAE.SSGKRVREKVKVEVAKIMKEKD EGEME.VVVEEITKLCRRKRKGLQSNWCRT.SMDSHCCEVMED	1097	CSPI06G03850.1
UGT スーパーファミリータンパク質 [ククミス・メロ (<i>Cucumis melo</i>) (メロン)]	MSNGDVLHVLFPLWAFGHLIPFARLAICLAQKGEKVSFISTPRLNRRIPKISPHLSSVVS VSLPLFDGLPVAAEASSDVYPNKQLLKAFFDSLESLQADLLRDLNPDWIIYDASHWISPLAA ELRISSVFFSLFTAGFLAFLGPPSELNNGRGSSTVEDFMEVPEWMSHSGNLRFYHELKTSLD	1098	MELO3C003508P1

【 0 4 4 6】

【表 7 - 3 9】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
ロン)]	GATGNRSGTSDSVRFVGSFEEFSVAVVRSSPFI.FEFESFDI.ITKLIYQXPVITIGFI.PPI.TFDVRR LSIEDIEQLWKKQKTNSVLYVSFGTEAFLSQEDVTELAYGLEQSEIPFLWILRISHRNESEMLPA GFKERISGRGLVHEGW.SQVKVLSHDSVGGCLTHCGWNS.IEGLGYGRVMIMCFVVDQGLNAR LLEKMMVGIE.IERNERDGS.TRESVSSSVRSAMAEAGSGCGKLLRERAMEMKGLFGNGDKNERDL DKLVDFLKTNRKNAA		
UGT スーパーファミリータンパク質 [ククミス・メロ (<i>Cucumis melo</i>) (メロン)]	MTGDKNLHIVMFPWLAFGHIMPIYLELSKLIQAQGHRSFVSTPKNIDRLFTQLPPIHLSPLFSV KITPI.QI.HNI.PPDAA.FATS.DI.PYCKVQFLKFAFDAT.KQPLSDFLRTSDADWIVYDFVYWTGQV GPNLRITKTAFFSIFILQSLAFVGPMLGDRMRKLEDFTVPPDWIFPPTTVAERHFEIKKLFDFVA GNTTGVS.DIDREFKMSAHYS.DLVVVRAPFEYEPWIIQLLEDIHDKTVIPVQGLPTSEHDSKEDNR SWQSIKEWLDKQAKGSVVYVAFGSEAKPSQHELTEIALGLEKSRFPFFFWLRLRLGLSDPDPE LPEGFEERTKGQGVVCTT.WAPQLKILGHEVGGFITHSGWSSVVEAIQSERALVLLSFLADQGI L.ARVLEEKKMGYCVPRSQLDGSFT.RDVSVAESLKLVMVEEEGKIYREIRIEMKDLFVNKERDEKL MDGFLSYLKKHRNVDDDEH	1099	MELO3C007706P1
3-1,6-グルコシルトランスフェラーゼ様 [ジュグルانس・レギア (<i>Juglans regia</i>)]	MDTARKRIRVVMLPWLHGHISPFLELSKLLAKRNFHIFCSTPVNLSSTKPKLSGKYSRSIQ VELHLPSIPRI.PPQYHCTKGI.PPHINATIKRAFDMAGPHFSNITLKTLSPLD.IIYDFI.QWPAPAT AASQNI.PAINFLSTGAAMTSVLHAMKKPGDEFFFEIHLDECMKTRFVLDPEDHSPSDHNNI SDKDRALXCFEQSSGFVMMKTFEELGKYINFLSHLMQKKI.VPVGPLVQNPARGDHEKAKTLEW LDKRRQSSAVFVSFGTEYFLSKBEMEZIAYGLELSNVNF.IWVVRFPGEKVKLDEALPEGFLQR VGEKGMVVEGWAPQAKILMHPSIGGFVSHCGWSSVMESIDFGVPIVAIPMLDQPVNAKVEQA GVGVFVKRDRDGKILREFEVATVIRFVVMGNTGFSVRKKFRFMRDNIRKKGEFEMDGVAQFI.VQI. YNGIKNV	1100	XP_018827544.1
UDPGT ドメイン含有タンパク質 [セファロタス・フォリキュラリス (<i>Cephalotus follicularis</i>)]	MDLKRRSIRVLMPLWLHGHISPFLELAKKLTNRNFIYFCSTPINLNSIKPKLSSKYSFSIQL VELHLPSLPELPHYHTNGLPLHLMNTLKTAFDMASSPFLNLIKTLKPDLLICDHLQWPAPSL ASSLNIPALIFPTNSA.LMAA.SLHHAXNPGEFFPEFSIN.NDDMVKSINFLHSASNGLTDMDRV LQCLERSNTMLLKTFRQLEAKYVDYSSALLKKKIVAGPLVQVPDNEDEKIEIKWLD.SRGQS STVFVSFGSEYFLSKEEREDIAHGLELSKVNFIWVVRFPVGEKVKLEALPNNGFAERIGERGLV VEGWAPQAMILSHSSIGGFVSHCGWSSMMESMKFGVPIIAMPMHIDQPLNARLVEDVGVGLEIK RNKDCRFEREELARVIEKVLVYKNGDAVRSKAREMSEHIKKNGDQEDICVADALVKLCCEMKTNS LNQD	1101	GAV83746.1
3-D-グルコシルクロセチン β-1,6-グルコシルトランスフェラーゼ様 [ブルナス・アビウム (<i>Prunus avium</i>)]	MVYSQQRSITILMLPWLHGHISPFLELAKKLTNRNFIYFCSTPVNLSIKPKLSPKYSHCI ETVELHLPHLELPELPHYHTNGLPLHLMNTLKTAFDMASSPFLNLIKTLKPDLLIYD.LQWP APSLASLQNPSPSVEFITTS.AAMTSFGVHLLKNPSAKFFPFSINLRDYEAKQFNLLLESSNGIK DGDRIQQCSDLSDDIILVKT.SREIEAKYVDYLSGVMGKKIPVVGPLVQPEPMDLKVDDETWMKW LNKRRRASVVYVVGSEYFLTKEEIEEIAHGLELSKASF.IWVIRFPKEEKGRVVEVLPEGFLE RVGEKGIIVEGWAPQAKILKHSSVGGFVSHCGWSSVLESIKFGVPIIAMPMHLDQPINSLRVEE AGVGVEVXRTAEGSRQREEVAKVIRDVVVIGEGVRRKALEIRDNMKKVEDAEIDGVVEELMQ LCTKRGSNVNF	1102	XP_021818209.1
3-D-グルコシルクロセチン	MEATHNTISVLMPLWLHGHISPFLELAKKLTNRNFIYFCSTPINLGPICKQQQLSEKDSLSIE	1103	XP_023881565

10

20

30

40

50

【 0 4 4 7 】
【 表 7 - 4 0 】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列 番号	アクセッション番号 / 参考文献
β-1,6-グルコシルトランスフェラーゼ様 [クエルクス・スベル (<i>Quercus suber</i>)]	LVELHLPSLPPELPPHYHTTNGLPPLHMTLKKAMDMA SPNITNLTQLKPDLYVDFLQILAPS LAQSQNI PAVNFVVM SACTVVSFYMHFANNPGVEYPSFEVYLQDHEVGKFANDTDDGDRILECFQ QSSEIVLTKTFQEIEAKHIDYLSVLAKKKIVPVGLVQDPVEEDEKKGIEWLNDKEPSSAVFV SFGSEYFLSKEETEEIAYGLELSMVPFIWVVRFPGEKVNLMALPKGFLDRVGDGRGMVIEGWA PQKTI LKHSSIGGFVSHCGWSSVMESMKFGVPIIAMPMLDQPVNARLVEAIGAGVEVKRDKKG RLERE EVAKVIRKVLVENTTKRKAKELKENIENKGD EEVGVVQELRLCSKLKE		
β-D-グルコシルクロセチン β-1,6-グルコシルトランスフェラーゼ様 [シトラス・シネンシス (<i>Citrus sinensis</i>)]	MNNRQRNYCVLMFPWLAHGHVFPFLELTKKFTKRSNFYVYFCSTPAILDSIKLSDNFSLSIQLI RI,HT,PSI,PTI,PPHYHTCKGI,PI,HLMPIT, KKA FDMASSSFNTI,KNVNPDI,LIYDF, QPWAPTIA LSLNI PSVLF LTSSATMGGLFHTFEXTPSEDDGEFFPSSIFIEHYMKPKFSLVDSSSNGIKD KDKFLQCCDSSCNVILIKTFRDLOGKYIDYLSVLMKKKLVPGPLVEDPVEEDDHEEGIEIIQW LDKKERSSTVTVSFGSEYFLPKEEMEGLALGLEFSGVDF, WVVRFP SGVKVKVDEELPKHFLER TKERAMVVEGWAPQMKILGHXGGFVSHCGWSSVMESMKLGVPIIAMPMLDQPLNARLVEDVGV GMEVRRNENGRIEREEMARVIKEVVVEKNGEKLRRKAREMSENIRKKGDEEIDEVVDLSQLSG	1104	XP_015380577. 1
UGT スーパーファミリータンパク質 [ラゲナリア・シセラリア (<i>Lagenaria siceraria</i>) (ヒョウタン)]	MASHDHGTTPHLLFPFMAQGHMIPMIDLAKLLASRGAIITIVTTPLNSARFHSVLTRAHSGLQ THVLELQFPPTCQETGLPQGCENVDLLPSLASLSQFYRAASLLYGPSEKLEQQLNPRPNCIISDM CLPWTTFQLAQKFHVPRLVFYSLSCEFFLLCMRSLIANIDFLKPIPDSEFVALPDLPPFVEFRRSQ LYKSTDDYLTQFSLAMWEADRQSYGVVLNVFEEMEPEHVTEYIKGRESPEKVCIGPLSLSNPN ELDKAERGDKSSIDGHECMKWLDGQNPSSVYVYSLGSLCNLGTSQLIELGLGLEASKPFIWV RKANLTANLLKWVEEYDFEETKGRGVVIRGWAPQVLLSHSSIGCFLTHCGWNSSEIGISAGV PMITWPLFADQVFNYKLVEILKVGVSVEETETNWEKEEGEGERVVVKKEKVREAEMVMGDG EREEMRKRCKEIGEKAKRAVKEGSSSRNLSRLIEDISAHVTVHGSEFENGSR	1105	Lsi03G019760. 1
UGT スーパーファミリータンパク質 [ククミス・サテイウス (<i>Cucumis sativus</i>) (キュウリ)]	MASPHFLFPFMAQGHVPMIDLAKLLAHRGVIITIVVTPTNAARNHSVLDRAIRSGLQIRMI QLFPFSKEGGLPEGCNDLDDLPSFKFASKFRATSFYQPSEDLFHQLKPRPICISDYLTPWT FQLSQKFQVPRLVYSTFSCEFCFLCIHCLMTNPALSISDSDSVIFSDFDTPVEFRKSELPKSTDE DILKFTSELIQTDAQSYGVINFTFVEMEYNYITDYRKTRQKSPKVCVGPVSLYNDKDLLE RGGKASINQDECINWLDEQQPSSVYVYSLGSLCNLVTAQLIELGLGLEASNKPFISIREANLT EELMKWLEEYDLECKTKGKGLVICGWAPQVLLITHSAIGCFLTHCGWNSSEIGISACVPMITWP LFGDQIFNYKLIVDVLKVGVSVEETLVNNGEEDKGVYVKREMVREAEMVLEGEKREEMRER SKKLAETIAKRGMEEGSSYKDI TMVIEDIIGNGGC	1106	CsGy3G031540. 1
UGT スーパーファミリータンパク質 [ククミス・サテイウス (<i>Cucumis sativus</i>) (キュウリ野生種)]	MASPHFLFPFMAQGHMPPMIDLAKLLARRGVIITIVTTPHNAARNHSILSRAIHSGLQINVVQ LPFPCLQGGLPEGCENLDDLPSLDLASKFLRATFFLDPFAELFQKLTTPRPTCIISDPCLPWTI KLAKHFHTPRIVFYSI,CCFST,LCQPTLVNKEPT,IRST PDQATVTVPD,IPGYDFQFRRSMT,PKHT DQYFAAFNREMEADLKSYSIIINTFELEPKNLAEYRKLRDLPEKVCVIGPVSLCNHDKLKA ERGNKSAIDQHECLKWMDWQPPSSVYVYSLGSLCNITRQLIELGLGLEASKRPFIVVIRKNGNE TKELQKWMEAYNFKEKTKGRGLVIRGWAPQVMILSHTAIGSFLTHCGWNSSTLEGISACVPMITW PLFSDQFNNEVLIVKMLKNGVSVGVEASLQWGEDEEIEVAVKKEDVMNAIERVMSGTKEGEEIR ERCKELGZKANRAVEEGSSHHNIKLFIDDLIDLAGGDPN	1107	CSPI06G02690. 1
UGT スーパーファミリータンパク質 [ククミス・サテイウス (<i>Cucumis sativus</i>) (キュウリ野生種)]	MASKSKQPPHFI,ITPT,MAQGH,ITPMADI,AKI,IAENGARVSI,ITTPQNASRINSI,JSHPKQSQIQ	1108	CmaCh06G00411

【 0 4 4 8 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 4 1】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
ンパク質 [ククルビタ・マクシマ (<i>Cucurbita maxima</i>) (Rimu)]	ILHLQFPSSHQQSGFFQGCENFDSLPSLSLLPKFLSATALFCRATEDLFQQLSRPRSCVVSMDMALPWTIKVAHKFNVPRLVFYSLSSLYLLGMANLRATGVIDKIMSASDSERIVIPNLDPKVELTKPQFICLTDAGFMEWANEMGKADQASYGVIVNSFDGLEPKYLEELKKAIGSEKVVWCVSVSLCNKXTTDKAIKRNKAALDEHECLKWLDRQQPGSVVYAAAGSLCNLIAAQIIELGLEALNRPFTWVIRQTEATNNELEKWLSESGFEERTKERGLVVRGWAPQILILSHPAAGAFVTHCGWNSTEGITAGVPMVAWPLFADQIFNEKLIVQLLVKVGVSVMGSEEEIGVQVXMEGIRGAIEKVMGDGCKEMRRRVRLDAERAKAAMEEGSSSHLNKLLIEDIMHEFAFARESHK		0.1
UGT スーパーファミリータンパク質 [ククルビタ・モスカータ (<i>Cucurbita moschata</i>) (Rifu)]	MFILILFSAYTIASSFVNRLRTFKSVYMATPHFLFFFMAGQHMIIPMDLAKLLAHGAIVTIVLT PNNAAARNHVSLSRAIDSGQLIRVVQLEFPWKEGGLPEGCNDVLLPSLTSMSSTFFKAASLLYDP SEKFLQLHLPFPASIIISDMNLPWTLQLAQKFHVPRIVFYYSAYFLHCLQGLMTHRDPVEFHKS ELPRATDADLAKFVEMMLADAQSYGVVNSFEEMEPKYVAECRKTRRESPEKVVWCVSVSLCN DKLKAERGNKASIDQHQCTEWLQGOQPTSVVYVSLGSCNLVTAQILIELGLGLEASNKPTIWW IRKANLTELKWLLEEDYDLEKTKGRSLVIRGWAPQVILSHPSIGCFILHCGWNSSIEGISAG VPMITWPLFADQVFNKLVIVLKVGVGMGVETVMHWGEEEEIGVVVKREKVREAEMVFDGED REEMRQSRKKLAVMAKRAVEEGSSSHRDLKLLIEDTVAHGGDHEI	1109	CmoCh14G00233 0.1
UGT スーパーファミリータンパク質 [ククルビタ・ペポ (<i>Cucurbita pepo</i>) (ズッキーニ)]	MGSETNSGEYHILMLPFMAHGHLIPFLELANFIHRKSSVFTITIACTPSNIQYLRSAADSKIR LAELYSSSDHGLPPNTESTENLPLNQIDTLFHSSTALELPLRELISDLVQKEGNPPQCIISDV FLGVSVAVARSFNIPVFSFTTCGAYGTLAYISLWNLPHRSSTSDSEFSLPGFPESCRFHRSQLH RFLLAADGTDSDWSRYFRPQISYSLSSDCWLCNTVEEVESFGLKHLRDYIKLPVWAICPLLLQTS SGGRRRWGKEKDSGVGLEACMNWLNSHRKNVSVLYISFGSQNTITETQMELAYGLEESGSAFIW VVRPPSGHDMKAEFRAHQWLPEHFEDRMKETNRGLVIRNWAQLEILAHESVGAFLSHCGWNST VESLSQGVPIGWPMAAEQAYNSKMLVSEMGIGVELTRGKESEIKGRVKEVLEMVMEGEGGE EMRNKAAIVKDKMRAAVMDEQKGSSTNLVDLEFIQAKQKSLNKIK	1110	Cp4.1LG08g057 50.1
UGT スーパーファミリータンパク質 [ククミス・メロン (<i>Cucumis melo</i>) (メロン)]	MDSHTHTGTPHFLFFFMAGQHMIIPMDLAKLLACRGAITITVTPPLNSARFHSVLRATIDSGHQ IHVHELQFPSSHQETGLPEGCENVDLLPSLASLSQFYQASILLHQPSKLFELQTLPRPNCIISDM CIPWTFEISQKHFVPRLVFYSLSCFFLLCMRSLTNTNFEFLKSMPSDFELTLPGLPSHVKTFRSK IFTSTDDYLIQFSLRMWEADRQSYGVIVNVFEEMEPHVTEYIKGRSEPKVWCVGPLSLSDN ELDKAERGNKAIIDGHECIKWMDEQKPSVVYVSLGSLCNLCTEQIKELGLGLEASNKPTIWWI RKANTTRFIIKWMDFYFFFEKTKGRGLVIRGWAPQVILSHSATGCFITHCGWNSSVFGTSAGV PMITWPLFADQVFNKLVILKVGVSGEETEGDLGGVGVVVKREKVREAEMVMDGDDSEE MKRCKEYSEKAKKAVEEGSSSHRNLRDLVEDITAHAFYGNENGSGC	1111	MELO3C009389P 1
UGT スーパーファミリータンパク質 [ククミス・メロン (<i>Cucumis melo</i>) (メロン)]	MASTPHFLFFFMAGQHMIIPMDLAKLLAHGAIITITVTPINAARYHVSLSRAIHSGSQIHVV QVPFPGNKXVGLPEGCESAELLPSFRSMFTFRATYLLYDPADELLQQLRPRPTAIIISDCCHPWT RLRAHKHNIPLRVFYSLNCFTFLCQDGLTKETILRSISDYEFVTLVEEFKFRKAQLPKNDJF VAFMKESNFADMMSDGVILNVFRELIPKYNAFYKKIFGSPDRVWCVGPIISICNFSKIDRAERGD KASIDDEH2CTKWLDEQEPSCSVVYVSLGSACNLVTAQHIELGLGLEALNKPTIWWIRKGNLTTEL LKWLEEDYDEEKIKGRGFLIRGWAPQVILSHSSIGSFLTHCGWNSSIEGIAACVPMITWPLFADQV FNIYNQTLIVEILKIGASVGVEMGMPWGEEEKGVVVKREKVKEAEMVMEGENRAEMKQRCKE	1112	MELO3C009387P 1

【 0 4 4 9 】

【表 7 - 4 2】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	IAFMAKRAVEEGSSSHRNIRLITQKHQQL		
UGT スーパーファミリータンパク質 [シトルルス・ラナトウス (<i>Citrullus lanatus</i>) (スイカ)]	MAQGHMTMTDIKLLIAHGSTITITVTPHNAARYHSVIRATDSGILQTHMVILQFPSTQVGLP EGCENLDLLPSPLSSSVAAYRATCLLYEPSEKLFHQLSPPPTCIISDMCLPWLRLAQNHQIP RLVFSYLSFFLLCMRSLKINHDLVTSISDSEFLTSLDLPDPVEFRKSQPLTKVIQEMEKLQY MVEADRQSHGVILNVFEEMEAEEYVAEYRKNRESPEKVVWCVGVPVSLCNDNTLKAERCEKSSING DKCITKWLDEQQPCSVVYVSMGSLCNLTPQLIELGLGLEASKKPTIWWIRKGNLTEDLQRWVVE YDFEGKIRGRGLVIRGWAPQVILSHSATGCFITHCGWNSSIEGTSAGVPMITWPLFADQVFN KLIVEVLKVGVSVEETALYWGGEENGVMVVKREVEVRAEMVMDGEDREEMRQSRKEFAEMAK RAVEEGSSSHRNKLLIEIMYENGSGC	1113	Cla017773
UGT 73C1 様 [シトラス・シネンシス (<i>Citrus sinensis</i>)]	MDTQANQLHFVLFPLAQGHMIPMDIARLLAARGVITITVTPVNAARFNGILARAIESGLQI KIVQQLPCEEAGLPEGCENLDMVASLGLAFDFETAAADMLQEPVENFFAQLKPRPNCIISDMCL PYTAHIAIGKFNIPRITFHGTCFCLVYCNLFTSKVFESVSSSEYFVVPCLPDKIEPTTQQVD SSLGSRFNVFQKKMGAAADGTGYGVIVNSFEELPAYKEYKKIRHDXVWCIGPVSLGNKEYSSX AQRGNKASVDEHQCLKWLDSKAPKSVVYACLGSLCNLIPQMRLEGLGLEASNRPFVWIREGE TSKELKWWVVDGFFERTKGRGLVIRGWAPQVILSHPSIGCFILHCGWNSTIEGVSAGIPLIT WPLFGDQFMNEKLVVQILKIGVKGVESPMIWGEEQKNGVLMKRDDVRNAVEKLMDEGEKEER RNRRAVKLGQMANMAVQEGSSSHLNITLVIQIDMKHVHSTSQANK	1114	XP_006492619
UGT 73C6 様 [モモルディア・カランディア (<i>Momordica charantia</i>) (ニガウリ)]	MASPHFLIFPFMAQGHMIPMDLANLLAHGAIIVTITVTPHNAARYHSVLTTRAIGSGSQIRVVQ LEFPCHAEAGLPHGCENLDLLPSLSSMSTFMKATYLLHDPSEKLLPQLSPRPTCIISDMCLPWL TLAHKFRVPRVLVYLSLSCFFLLCMHVSXVYHIPFSSISDSLELDFSGLPHPVQFRKSQLPKATD EAMSKFGYEMGEADRQSHGVINTFEEMEPYLAERYKRLRELPEKVVWCVGPLLLYNDNKLDDVAQ RNTAAIDENECINWLDGQRPCSVVYVSLGSLCNLITPQLIELGLGLEASNKPTIWWIRKLNLT KELLDMMEYDFEGRTKXRGVLVIRGWAPQVILSHSSTGCFILHCGWNSSIEGMSAGVPMITW PLFADQVFNKLLVILVRIGSVGAETAVPWGEEKKIGVLVKRESVRAEMAMMDGSGSEMRQR CKQLAEKAKRAVQEGSSSHRNKLLIEIVDQGRSCENGSC	1115	XP_022144752
UGT 73C6 様 [ククルビタ・ペポ亜種ペポ (<i>Cucurbita pepo</i> subsp. <i>Pepo</i>) (ペポカボチャ)]	MAPHSDDLHFLFFFMAGQHMIIPMDLAKLLARNGAIVTITVTPPLNFARYHSVLTTRAIDSGLOI HVVLQFPWTKNSGIPEGCENVDLLPSLSYLSHFYRVLSSLYDPSEKLFELQTLPRPNCIISDMC IPWTFQLAQKFHVPRLVFYSLSCFFLLCLNRLFGKSDVWKSLSDESFVAVDFDPDPVEFLKSHL PRGTDYATQFGQAMKADRSYGVILNVFEEMEPYLYEYKGRLEPENVWCVGPLSLSDN LDKAERGNKASINEHECIKWLNGQQPSSVHASLGSCLNLGTQLELIELGLGLEASNKPTIWWI KANLKEELLKWLLEEDYFERKVSGRGLVIRGWAPQVILSHSATGCFILHCGWNSSIEGISAGVP MITWPLFADQIFNEKLIVQILKVGVSGEETVVHFDREDEELVLVKREKVREAETVMDGDERE AMRERSKLANAKTAMEEGSSSHRNKMLIQDLIAHGRSSKNGSC	1116	XP_023540660
UGT スーパーファミリータンパク質 [ククルビタ・ペポ (<i>Cucurbita pepo</i>) (ズッキーニ)]	MTDSQEAAPCHVFLVCYFGQGHINPTLRLAKKLAAGLLVITISTAVHFGKTLQKAGSIGAGDCPT PVNGGPIRFEFFEDGLQELNPKOVNLRVVYQIELFGRPSLAGLIKQNTAENRSVSCLIVKPPFL PWTCEVAKELEIPCAILWVQSCAVFSIYHCYHKSVFPFSELEPKIDVHLPIPLPLKNDEIPSF LHPNNTYGVIGNVILSQFSKISTPFCTIMDTFDRIFKDTINYSNITPIKPIGPIFINSONVNT EVSVDCLXAEDCMEWLNKSKPTQSVVYVSFGSIVHLKQEQNELAYGLCNSGFSFLVWMPKPDJ	1117	Cp4.1LG04g078 10.1

10

20

30

40

50

【 0 4 5 0 】

【表 7 - 4 3】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列 番号	アクセッション番号 / 参考文献
	YGLKGHVLPPEGVMKAGERGKVVQWSSQERVLSSHESVGCMTGCGWNSSEVAIGCGVPVVAFPQ WGDQVTNAKFLVEDYGVGVRLSRGAZANELISRDEIVRCISEVMTDRSSGGEFRRNALKLKQAA AAAVVDGGSSHHNIQEFVDELKKRRMMNCSECS		
UGT スーパーファミリー タンパク質 [ククルビタ・ペ ポ (<i>Cucurbita pepo</i>) (ズッキーニ)]	MKHVSNKPRVLFVPPYPAQCHVTPMLMLAAVFQRRGFLPIFLTPSYIHRHISSQISLTNELLFIS MPDTVDDNTPHDFFTIETALETTPSYVRRVLGEYNSNESGVVCMVVDLLASSAIEVGKEYGVA VAGFWPAMEATYNLISAVPDMVKNNLISSDTGCPEGSGKRCVNPQLLSTEELPWLTGTSSARK ARFKFWTRTMVRAKSLQWILVNSFPPELPLENPIPKSSAAVFLVGPLSRHSNPAKTPTFWEEED GCLQWLEKQSPNSVVYISFGSWVSPINESKVRSLAVALLGLRKPFIVWLKSNWRDGLPIGTQK IQRYGRLVSWAPQMEILKHAHVGCYLTGCGWNSIMEAIQCRKRLLCFPVAGDQFLNCGYVVKVW RIGLKLNGFGEKEVEEGVRKVMEDGEMKARMMKLHERIMGEDANSRVNSFTTFIKDINKLSFD KFL	1118	Cp4.1L606g054 70.1
UGT スーパーファミリー タンパク質 [ククミス・サテ ィ ウ ス (<i>Cucumis sativus</i>) (キュウリ (チャイニーズロング))]	MKGEPQAPHVLIFFLPFGCHINSMLXLAELLSIAGITVTFLNTPHFQSQLTRHSDVLSRFSRFP TFRFHTIIDGLPPDHPRTEFFAQIISSLDSITKPIFRNWLVSGHFGSNLTCVVLDCFLKNFID GDEDEVKQPIFGFRITVSACSVMYTLCAPHLIEDGQLPIRCEEDMDRMITNLFCMENLLRCRDLF GLCRVTDNDSVLQYTLKQTQGSYQFHALILNSFEDLEGPILSKIRTNLCPNLYTIGPLHSLLK TKISHETESI.NNI.WEVDRT.CI.AWI.DNQPPGSVIYVSFGSITVMGNEGIMRFWHGIVNSGRNFIW VIRPDLVSGKNGEIEIPADLEEGTKQRGYVVGWAPQEKVLSHEAVGGFLTHSGWNSLTLESIVAG KAMVCWPYTDQQVNSRFVSNVWKLGVDMKDMCDREIVAKMVNEVMVNRKEEFKRSALIMANLA RRSVSLGSSYADFDRLVNEIRLLSLRQ	1119	Csa5G196560.1
UGT スーパーファミリー タンパク質 [ラゲナリア・シ セ ラ リ ア (<i>Lagenaria siceraria</i>) (ヒョウタ ン)]	MAKPRVLFFPFFALCHVKPFLSLAELLSIDAGLDVVFINSYNNHRRISNVIESLSRRFPPLRFET IPDGLPPDQPRSLVDSPLYFTMRDGTAKARFRLIQSFNDGCSANPWPITCIINDVMLSSPIEVA EEFGIPVISFCPHSARYFYTHFLVPKLVVEEGQIPYTDENPFQKIEGIPLEFEGHLRRNHLPGSWS QQSSHISHSLSLINQTVAAARSSALILNTHDLEAPFLTHLSSIENRIYTIPLHALFKSKLSN SSSLPPTLVGFQKEDESCISWLDSPPEISVIFVSFGSSMKMEARELTEFWHGLVNSGFRFLCVL RSDGVYGGESAELEQVVGKKGYDRNVVVVEWADQEKVLSHPAIGGFLTHCGWNSLTLESIVAGV PMIGWPILGDQPSNAAWIDKVWKIGIERNDEKNWDRSTVKMMVRELMDSQKGVETRRSVKLSK LTKENVGKGGLSFDNLEYLVQHIKNLXPYI	1120	Lsi01C014910. 1
UGT スーパーファミリー タンパク質 [ククミス・メロ (<i>Cucumis melo</i>) (メ ロン)]	MGSTSKVDQENQOPHAVFVPPYPSQGHSPMI.KI.AKI.FHHKGFHVTFVNTYNNHRRJ.LRSRGPN LDGLPDEQERAI.PDGLPPSDGNATQHVPSLCYSTSRKNCLAPLCSLISEINSSGSTVPPVSCIIIG DGVMTFTVFAAQKFGIPEASFWTASACGCLGYMQYAKLVEQQMIPEKDENFMSNGDLEETIEWI PPMEKIRLRDIPSFIRTTDKDDIMLNFFIQQLETLPKANAIINTFDSLEHHVLEALSSKLPI YPIGINSLVTELKDDKVKGIRSNLWDEQSECMKWLDQQQNSVYVNFSGSITVMSPOHLVEF AWGLANSEKPFLLWIVRDLVECEATALLPAEFVAETKERCM.LGDWCNQEVLKHPSVCCFLTHSG WNSTMESIAGGVAMISWPFPAEQQTNCRYCKTEWNGLEIDSNVRREDVEKLVRELMEGEKGED MKRNAKRWKRKAEPACKTGGSSITNI.DQVITSEI.I.SKDKSNI.KSQN	1121	MRI03C018664. 2.1
UGT スーパーファミリー タンパク質 [シトルルス・ラ ナ ト ウ ス (<i>Citrullus</i>)]	MDSHTRTHHHVLI.FFFFPANGHTKPFICI.AHI.I.CNAGT.RVTFI.NTHHHHRNITHNT.TRI.AAQFPS LHFESISDGLPLDQPRNIVDGKLFESMPRVTKHLFRQLLSYNNGTSPITCVITDVLRFPMDV AQELRIPVFCFATFNARFLFLEFSIPKLIEDGQIPYFVGNNSQELHGVPGGEGLLRCKDLPGEW	1122	C1CG04G007490 .1

【 0 4 5 1 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 4 4】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
<i>lanatus</i>), スイカ (チャールストングレー)]	SVEDVAKMDPMNFVSQILATSKSSGLILNTFDELEAPFVTSLSKIYKRLYTIGPIHSLKNSIQ SQCFEWEKEDHSCLAWLDSQPPRSVLFVSFGSLVKLTSSQKLEFWNGLVNSGKAFVLVLRSDGLI EAEEDGCKKKLVKEIMDTKAEGRWIMVNWAPQEQVLVHEAIGGFLTHSGWNSTLESITACVP MISWPQIGDQTSNATWITKVWKIGVQMGSYDRSTVETMVKSIMQQDEKMENTIAELAKRAKD RVSKHGTSYQNIQRIVRDTQETKLN		
仮 想 タ ン パ ク 質 CISIN_1g011792mg [シトラス・シネンシス (<i>Citrus sinensis</i>)]	MRQTRVPHVVLIPFPAYGHITKPMISLAKIFSHAGFRITFVNTDQYHDRIFGNTDVTAFYKHFPN FLCTSIDPGLPPDNPRFGIYTKDWFCSNKPVSKLAFRQLLMTGRLPTCIIISDSIMSFADVAE ELNIPITFRPYSAYCSWSDHFSKLAZEGELPVTDENFDKPVTCIPELENIFRNRDLPSICRH CGPDDPILQTFIRDTACTRTSALVINTFNEIEGPIISKLGSRITKIYTVGPIHALLKSRIQED SVESPLESNNCVLSKEDRSCTWLGSQPSRSVLVVSFGSFIKLSGDQILEFWHGVNSGKGL WVIRSDLIDGESGVGPVPAELDQGTKEGRCIVSWAPQEEVLAHQAIIGGFLTHSGWNSTLESMA GVPMICWPPQVGDQVNSRCVSEIWKIGFDMKOTCDRSTIEKLVRDLMDNRDKIMESTVQIAKM ARDAVKEGSSYRNLEKLIEDIRLMAFKA	1123	KD043669.1
7-デオキシログラン酸グル コシルトランスフェラーゼ 様 [モモディカ・カラ ン ティ ア (<i>Momordica charantia</i>)]	MAQPQTQARVLVFPYPTVGHITKPFSLAEALLADGGLDVVFLSTEYNHRRIPNLEALASRFTLH FDITPDGLPIDKPRVITGGELYTSMRDGVKQRLRQVLSYNDGSSPITCVICDVMLSGPIEAAE ELGIPVVTFCFYSARYLCAHTVMPKLIBEGQIIFTDGNLAGEIQGVPLFGGLLRDHLPGFWFV KSLSDVWVSHAFNLQTLAVGRTSALIINTLDELEAPFLAHLSTFDKLYPIGPLDALSKSRLGD SSSSSTVLTAFWKEDQACMSWLDSDQPPKSVIFVSFGSTMRTADKLVEFWHGLVNSGTRFLCVL RSDIVEGGGAADLIKQVGETGNGIVVWAAQEKVLAHRAVGGFLTHCGWNSTMESIAAGVPMMC WQIYGDQMINATWIGKWKIGIERDDKWRSTVEKMIKELMEGEKGAEIQRSMEEKFSKLANDKV VKGSTSFENLELIVEYLKKLKPSN	1124	XP_022151474.1
7-デオキシログラン酸グル コシルトランスフェラーゼ 様 [モモディカ・カラ ン ティ ア (<i>Momordica charantia</i>)]	MAQPRVLLFPFAMGHVKPFLSLAEALLSDAGVEVVFLSTEYNHRRIPDIGALAAFFTLHFETI PDGLPPDQPRVLADGHLVFSMLDGTKPRFQLIQSLNCPNPITCIINDVMLSSEVAEEFGI PVIAFCPCSAARELSVHFPMNPTEIEAQIPTYDENPMGKIEEATVFEGLLRKDLPLGLWCAKSSN TSFSHRFTNQTTAAGRASALITNTFDRIESPFI.NHISTTTPKTYCIGPINAI.SRSRI.GKSSSSS SALAGFWKEDQAYMSWLESQPPRSVIFVSFGSTMKEAWKLAEFWYGLVNSGSPFLFVFRPDCV TNSGDAAEVMGGRGMVVEWASQEKVLAHFAVGGFLTHCGWNSTVESIVAGVPMCCPIVAQD LSNATWIKVWKIGIEGDEKWRSTVEMMIKELMESQKTEIRTSIEMLSKLANEKVVKGGTSL NNFELLVEDIKTLRRPYT	1125	XP_022151546.1
7-デオキシログラン酸グル コシルトランスフェラーゼ 様 [ククルビタ・マクシ マ (<i>Cucurbita maxima</i>)]	MELSHTHHVLLEFPFAKGHIKPPFSLAQLLCNAGLRVTFNLTDHIIHRRIHDLNRLAAQLPTLHF DSVSDGLPPDEPRNVFDCKLYESIRQVTSLSFRELIVSYNNGTSSGRPPITCVITDVMFRFPID TAEELGIPVFTTSTFSARFLFLIFWIPKLLDGGQLRYPEQELHGVPGAEGLIRWKDLPGFWSVE DVADWDPMNFVNQTIACSRSSGLILNTFDELEAPFLTSISKTYKKTYSIGPINSLKLPQSQVQ YLVKEDHSCMAWLDSDQPRKSVVFSVFGSVVKLTSRQLMEFWNGLVNSGMPFLVLVRSVIEAG EEVVREIMERKAEGRWVIVSWAPQEEVLAHDAVGGFLTHSGWNSTLESIAAGVPMISWPQIGDQ TSNATWISKVWRIGLQLEDGDSSTIETMVRSLMDQIMEKTVAELAEAKRKNRASKNGTSYRNQ TLIQDITNIETHI	1126	XP_022978164.1
7-デオキシログラン酸グル	MEMQMLRPPQHVLLEFPFAKGHIKPMALAQLLCHAGIHVTFNLTEHHNRQLTQRQALSARFP	1127	XP_024189663.

【 0 4 5 2】

【表 7 - 4 5】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
コシルトランスフェラーゼ 様 [ロザ・キネンシス (<i>Rosa chinensis</i>)]	TLFRSISDGLPSDHPHSISPNLMDIVSSLSRKTAPLLHQLLVLSMSKNVDVGSAAQLPSLGCVI TDCIMCAIEAAEEVGIPVIALRTTSACSWCYSCIPKLIBEAAQLPFGDEDMDKMSGIPGMEEC LLRRRLDPSICRVPTDHFVIOFFVEETRAITRASSILNTFDDLESSISLHIAASRFSKIYTTIGP LEALLKSRVDDNLSSSLRQEDRGCMWLDSDQRVGSVIFVSFGSLVKLTRVQLLEFWHGLVNSG SPFLWVIRSDVLWSDEAEQASEVTPAEVIVDWAPQEEVLAHEAVGGFLTHSGWNSTLEAIWAGV PMLCWPQLADQVNSRWVGEVWKIGVDMKDTCDRSTVEKMIKALMGEDKEVISRSDVDFAKLA RTSVSKNGSSYLNLKELIQDLRLN		1
UGT スーパーファミリー タンパク質 [ラゲナリア・シ セラリア (<i>Lagenaria siceraria</i>) (ヒョウタ ン)]	MDLSHSQTHHHVLLFPFPVKGHIKPFCLAHLLCNAGLQVTFNLTHHHHRNIHNLTHLAAQFPS LHFQISIDGLLPDQPRNTVCGKLLSMPRVKITLFRQLLSYNGTSPITCVITDVLHFFSMDV AQELGIPVFCSTFSACSLCLLFSIPKLEDGQVPPVENSNQELHGLGGEIGFRCKDLPGFW SVEVJVKNDPMKFKVNLATSKSCGILNNTFDELEAPFLTCLSKIYNKVYTTIGPIHSLKNSIQ TQYEFWEKEDHSCLEWLDSDQPPRSVVFVSFGSLVKLTSSQKLEFWNGLVNSGKAFMLVLRSDGLI EEAGSEEEKQKELVIRIMDTGEGRWIVNWAPQEEVLGHEAIGGFLTHSGWNSTLESITACV PMICWPPQIEDQTCNATWITKVWKIGVEMEDSYDRSTVETMVRSLMESHQDEKMENTIAELAKRAK DEVSKHGTSYQNLQRLVEDIKEIKLN	1128	Lsi01G015000.1
フラボノイド UDP-グルコ シルトランスフェラーゼ 3 [ラゲナリア・シセラリア (<i>Lagenaria siceraria</i>) (ヒョウタ ン)]	MEEQQTSSPHVLLFPAPAQGEINVMKLAELLSLAIHVTLTTEHSHRQLTLHSDVLRHFSRF PAFQFRTISDGLPFSHPRTFSHHLPEIVNSLISVTKPLFRDILLISGHYASDLTCLILDGFFSFL VCIODDFVKLPIFCFRTFGACSSWAILSVPNLIKQGLPIEGEEDMDRI.LDNV?AMENLLRCRD LPGFCRAADPNND?ILQFIVSMFIRCTKFDALIMNTFEDLEGPILSNIRTLCPKIYSIGPLHAL LTKLSHETESLNNLWEVDRSCLAWLDNKPPGSVIVVSFGSITVMGNRELMFWHGLVNSGRNF LWAI?PDLMKGDGEIETPALEEGTKQGYKVGWVPQEKVLSHKA?VGGFLTHSGWNSTLESII EGKPMICWPYAFDQVNSRFVSNVWKLGLDMKDLCDRETVAKMVNDVMVNRKDEFMRSAEIGN LARRSVNFGSSYVNFDCLEIRILISQKMANNN	1129	Lsi04G009410.1
UDP- グル ク ロ ノ シ ル /UDP-グルコシルトランス フェラーゼ [ククミス・サテ ィ ウ ス (<i>Cucumis sativus</i>) (キュウリ (チャイニーズロン グ))]	MGLSPTDHVLLFPFPAGHIKPFCLAHLLCNAGLRVTFNLTEHHHCKLHNLTHLAAQIPSLHF QSISDGLSLDHPNRNLDGQLFKSPQVTKPLFRQLLSYKQGTSPITCVITDILRFPMDVAQE LPIPVFCSTFSARFLFLYFSIPKLLDGGQIPYPEGNSNQVLHGIPGAEGGLRCKDLPGYWSVE AVANYNPMNFVNQTIATSKSEGLILNTFDELEAPFLTCLSKIYKXVYTTIGPIHSLKLSVQYQY EFWKEDHSCLAWLDSQPPRSVMFVSFGSIVKLKSSQKLEFWNGLVDSGKAFMLVLRSDALVEET GRF?XQKELVTKITMETKREGRWIVNWAPQKRVIRHKAIGGFLTHSGWNSTLESIVAGVPMV SWPQIGDQPSNATWLSKVWKIGVEMEDSYDRSTVESKVRSLMEHEDKKMENAIVELAKRVDV SKEGTSYQNLQRLIEDIEGFKLN	1130	Csa4G303180.1
UGT スーパーファミリー タンパク質 [ククルビタ・マ ク シ マ (<i>Cucurbita maxima</i>) (Rimu))]	MEQEGDVPHVLLFPFPAGGEVNSMLKIAELLSLSGLRITFNLTHRIHQKLTTHSDILSRFSRFP NFQFRTITDGLTPQNRTLGMFSDLIIRLNSVTKPLLTQMLLSGELGPNPTCIIIDGLFNFIQV DAQPKIPVFSERTISACSWAYSFVPMLEIDGQLPIKGEEDMDRMIDGVITGMENVLRCDLPSE CRIDKDPDPT?QHGVTTQTTSI.KAHSTI?NTF?DITL?GPI?SGI?RRRC?PNIIYATGPIHSLIKSRI SGEESPFGESEFNLWEVDRSCLAWLDAQPSKSVIVVSFGSVVMGDDGQFREFWHGLVNSGRF LWVVRPNVAGEDGENCEILELEKGTKEGCKVWAPQEEVLAHEAIGGFLTHCGWNSTLESIV AGVPMICWPPQADQNTSRVSEVWRIGVDMKDVCDRETVSQMVNDVMENRRNELMGSVIETAK	1131	CmaCh04G011530.1

10

20

30

40

50

【0453】

【表7-46】

タンパク質/DNAの種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
UGT スーパーファミリータンパク質 [ククルビタ・モスカータ (<i>Cucurbita moschata</i>) (Rifu)]	LAKTSVEEGGSSFRDLERMINDIRLLCRQQREAIH MELSRTHHVLLEFPFAKGHIKPPFSLAQLLCNAGLHVTFLNTDHHHRIHDLNRLAAQLPTLHF DSVSDGLPPDEPRDVPDRKLCESIRQVTSFLRELLVSYNNGTSSGRPPITCVITDVMFRFPID IAEELGIPVFTSTFSARFLFLIFWIPKLLLEDQQLRYPEQELHCVPGAEGLIKWKDLPGFWSVE DVADWDPMMFVNQTLATSRSSGLILNTFDELEAPFLTSLSKIYKKIYSLGPIINSLKNIQSQQP YNIWKEDHSCMAWIDSQPRKSVVVSFGSVVKLTNRQIVRFWNGIVNSGKPFLLVLRSDVIFAG EEVVRENMERKAEGRWMLVSWAPQEBVLADAVGGFTHSGWNSTLZSLAAGVPMISWPQIGDQ TSNSTWVSKVWRIGLQLEDGSDSTIETMVRVMDQTMKTVAELEERAKNRASKNGTSYRNQ TLIQDITNIIETHI	1132	CmoCh03G004020.1
グリコシルトランスフェラーゼ [ククルビタ・ペポ (<i>Cucurbita pepo</i>) (ズッキーニ)]	MELSRTHHVLLEFPFAKGHIKPPFSLAQLLCNAGLRVTFLNTDHHHRIHDLNRLAAQLPTLHF DSVSDGLPPDEPRDVPDRKLCDSIRQVTSFLRELLVSYNNGSSSGRPPITCVITDVMFRFPID IAEELGIPVFTSTFSARFLFLIFWIPKLLLEHGGIQYPVTSILFRDILVSYNNGTSSGRPPITC VITDCMFRFPIDIAEELGIPVFTSTFSARFLFLFFWIPKLLLEDGQLRYPEQELHGVPGAEGLI RCKDLPGFLSDDEDVAHWKPMFVNQILATSRSSGLILNTFDELEAPFLTSLSKIYKKIYHLSH INQTPPPPTGDLHSISSPGDFNRFYRLLLRHLRNGDSQNPILHRRDLHLHFSILRQSESPQEL PFAPFNAMPILLVLLFNASLSADLKXAAVLHLHFDFLLQPRQIGLENVGLWGLFPIDLRASL AVVGAHMSDKKGSKRLLVPKTLGDKDILVFFILPLPSPTFFPCMAMASNTASSRSFRLPSQWR QPSGLEFGLSAPAQ	1133	Cp4.1LG10g08310.1
UGT [ククルビタ・ペポ (<i>Cucurbita pepo</i>) (ズッキーニ)]	MERKQKERKGLHLVLPCLPSPHMSPLHLAKLLHSQGFSITIIHTQLNSPNESHYPFESFESIG GSMLESYSVFDGDMFLSKLKMKECTFFHECLVNMQLRCQFNPIISCIYDAVMYFSAAVAQDL KLFRIVLRTSSAANYIGLSILDESDFVSERRMEEPVAGFPFLRIKDMPLFSTQKHTREVLTCIY NGTRTASAIWNLSWCLEHALFEKIKNETLVPVFFLGLPKHCSSTFNALNEEQGCCIAWLQKQ APSSVYVYISGSVVTMTEDELLEMAWGLANSGRPFLLWVVRACVVNGSDGVEMLPREFHEATRSR CRIASWLPQKQVLAHTSIGCFLTHNGWNSTIESIAEGVPMLCWPRVGDQVRNARFVSHVWRVGL QIEDRIIRDDVRESATRLFTDFEGFTTHKRAKFKKKVD*SLRQGGASSFFLSRIYKYTSIRRD NDKVVKCLISL	1134	Cp4.1LG10g11120.1
グリコシルトランスフェラーゼ [ククミス・メロ (<i>Cucumis melo</i>) (メロン)]	MGSISISZQQPHAVCIYPYPAQGHINPMLKLAKLLHSFGFHTFVNTDFNHRRLKSRGPKALDG LSSFRFESIPDGLPPTDVPATQDIPSLCQSTRQFCIQPFKELVSKLNCDFNPVQVSCIVSDGVM SETIDADELGVVVLFWTTTSACGFLGYLHYQQLVERGYTFPKDESYLSNKQYLDTKIDWIPGM KDVRIIRDIPTEIRTTDPKDVMDVFILGETKRAKRANAIVLNTVDSLEQALNAMPISLLPPPVFS TGPIQITIKQVASHDSISLKSIGSNIWKEDTSCIQWIDQMSANSVVYVNFGSTTVMTKDQIKKF AWGLANSQTFELWIIIRPDVAGDTAVLPPEFIDMTKERGMLTNWCQEEVLQHPAIGGFLTHNG WNSTFESIVAGVPMICWPFPAEQQTNCRYCCTEWGIGMETDSVVKREEIEKQVRELMEGDKGKE MRKRAQEWKKLMADAEPHSGSSFRNLNLHVHVKVLLQSP*	1135	MELO3C003567.2.1
UGT 1 [シトルルス・ラナトウス (<i>Citrullus lanatus</i>), スイカ (チャールストングレー)]	MEKGVPEPHVLMFFPALGHVNPMLKLAELLSLSGLRITFLNIHSIHQRILILHTNLQSRFSCFPK FRFQITIDGLFPFSTYTGGLTKLSHLVRSMETVTVKPLIKQMLLSGELGPIPTCIIILDGFFSTMVDS TSLSEFPFVSAPACSFWAYSIPELIQEGQLPVKGEDMDRMIEGVAGLENILRCRDLPSFSR VGDQTEPILOYSVAQTIESSKAHALIINTFEDLEGPIILSCIRRCPNIIYAIGPLHAHLKSRHFG	1136	C1CG07G003780.1

10

20

【0454】

30

40

50

【表 7 - 4 7】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列 番号	アクセッション番号 / 参考文献
	EKSPPELESSNGNWEVDRSCLAWLDAQPSKSVVYVFCGSVTVMGDNQFREFWHGLVDSGRRFLW VVRPNMVSGKDGNGVPAELEEGTKERGCMVGWAFQEEVLAHEAIGGFLTHSGWNSTLEGIVAG VPMICWPQFADQLTNSRFVSEVWKIGLDMKDVCRRKTAKMVNDVMENRRNELMGSVETAKLA ESSVEEGGSSYCDLKRMTDHIQLLCRRRGEAID		
7-デオキシロガン酸グル コシルトランスフェラーゼ 様 [モモルディカ・カラン テ ィ ア (Momordica charantia) (ニ ガ ウ リ)]	MEQSDSNDDHQHHVLLFPFPAKGHIKPFLLCLAQLCCAGLQVTFLLNTDHNHRRIDDRHRRLLA TQFPMLHFKSTSDGLPPDHPRDLIDGKIATSMRRVTFESI.PRQI.IISYNGYNGTNNVSKSGRRP PISCVITDVIFSFVEVAEELGIPVFSFATFSARFLFLYFWIPKLIQEGQLPFPDGGKTNQELYG VPGAEGIIIRCKDLPGSWSVEAVAKNDPMNFVKQTLASSRSSGLILNTFEDLEAFFVTHLSKTFD KIYTTIGPIHSLGLTSHCCLWKEDYACLAWLADARPKSVVVFVSGSLVKTTSRLELMELWHGLVSS GKSFLLVLRSDVVEGEDEEQVVKIILESNGEGKWLIVGWAFQEEVLAHEAIGGFLTHSGWNSTM ESTAAGVPMVCWPKTGDQPSKCTWVSRVWVGLEMMFRYDRSTVARMASMMRQEGKEMFRRTA ELAKRVKRYRVGKDGESYRNLESILRIDIKITKSSN	1137	XP_022151514
7-デオキシロガン酸グル コシルトランスフェラーゼ 様 [クエルクス・スベル (Quercus suber)]	MEQHKVPBVILPLPLSGHVKPMILAEELCCDAGFLITFVNSDYNHDLERLVMDIPAFYKNSPG PRFVVISDGLPLDQRLGPILFQLFFNTRTVSKPLFRELLISLRQSTERSPPTCIADGLMCPA IDVAEELGVPIITFTPHCYHGMWTIMATSNLIEEGEVPPQEEESDMXPVTSIPCMESLLRRDL PGNCRLEVENPLMEFIISEASAMKRATLILNTFEELEAPIIAHLGSFFDKVYTIPLHALLKT RIKDSQAVSSYGLRKEDSSCVELNSQPLKSVIYVSGSVVELSLDQLIELWHGLVNSRKPF LWVVRPDLVEGNEELGQISEELEQGTKEKCMVSWAPQEEVLAHPSVGGFLTHSGWNSTLESIF EGVPMICWPQVADQVNGRSVSKLWRVGFDMKDTCDREFIEKIVRDLMDKREEIIRSTNEIAR MARCSVKENGSSHCNLERLIEDLRMLSLTN	1138	XP_023913036
UGT タンパク質 (シトル ルス・ラナトウス (Citrullus lanatus), スイカ)	MDARQESFKVFMLPWLAHGHISPYLELAKRLAKRKFIYVFCSTPVNLEAIKSNYLSKSYSDSIQ LVKIHQLQSTPELPPIHYHTAKGLPPLHMPKLCDAFQMAAPNLESILKTLNPDLLIVDILQLWMLP TSSSINTPMITFFPTFGATTTSTFI.TRTVSNDRFRFPFRI.RDYWQSKCPYI.QMDRTSRQTFKQNI.D QSSGIILFKSSREIETKYLEFLASSFTNKIVTTGPELLQEPACSEKEKHVEIIEWLDDKKELYSTV LVSGSEYYLSKEEIEELAHGLEISEANFIWIVRFPNGDETAVEAAVPEGFIERSRERKIVKG WAPQTEILAHIRSTGGHMSHCWSSFMESLMYGVPIGAPMQLDGPVARLAEEIGVGLIKRDE EGRMMDZTAGAIKKVLMKPGEVFRKKAKEISSVLKEKDDEELDRLTTELVLRLCETKRT	1139	Cla020504
UGT (シトルルス・ラナト ウス (Citrullus lanatus), スイカ)	MEGSESRRKKVLLFPWLAPGHIISPFLELAKKLSQNNFQIYLCSSPINLQSIHSLKLPQSFSSINL VRI.NI.PSI.PQI.PPHMHS"NGI.PI.DI.TPTI.FKAFEMAAPFSSII.HRI.NPDI.IITDSFQPWATQS ASSLNIPIVIPFSVVGAAVLAHSIHYILNPNIKFPFPEIDLMDHWISKRHPDIFKNPDVSMNLF QWVENMKLCSOVVLANSFTIEIGKYLDYVSEMLKKKVVPVGPLIVTASDVANEKSDVLDWLKK QPKSTVYVSGSEYYLSKEDREELAHGLELSGANFIWVIRPKGDEMGIIEALPEGFIERIGER GILVDGWAPQLKILKHS"GGFVCHCGWNSVVEAVVHGVPILALPMQLDQFFHARVATAAAGIG VEAERGVDGAVVRQGVAKAIKQVLEK"TEDEFKLKAKEICEILKDKGQNIKTCVAELHQL	1140	Cla020505
UGT スーパーファミリータ ンパク質 [ククルビタ・モ スカータ (Cucurbita moschata) (Rifu)]	MDAQQAANKSPTASTTFMI.PWVGYGH.SAYI.EIAKATSTRNFHVYFCSTPVSTAS"KPRI.TPSC SSIQFVELHLPSSDEFPPHLHTTNGLPAHLVPTIHQAFAAAQTFFAFLQTLRPHLLIYDSLQ WAPRIASSLNIFAINF"TAGAFVSHVLRFAHFYDPSQFPSSDEVLHSRWKIKNTTAESPTQVKI PKIGEAIGYCLNASRGVLTNSFRELEGKYIDYLSVILKKRVLPIGPLVYQPNQDEEDEDYSRI	1141	CmoCh02G01225 0.1

【 0 4 5 5 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 4 8】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
	KNWLDKREASSTVLVSFGSEFFLSKSETEAHGLEQSEANFIWIGRIFPKGAKKNAIEEALPEG FLERVGGGRAMVVEEWVPQCKILKHGNIIGFVSHCCWNAMESIMCGVPVIGIPMQVDQPPNAGI LEEAGVGVEAKRDSGDKQRDEVAKLIKEVVVERTREDIRNKLEEINEILRTRREEKLDLELAE TSLI		
UGT スーパーファミリータンパク質 [ククルビタ・モスカータ (<i>Cucurbita moschata</i>) (Rifu)]	MEGNRHGXTSVLMLPWLHGHVSPFFELAKSLRRNFHIFCSTSVIINSIQSNLTRDLSDDIE LVELKLPTSSDLPPYRHCTAGLPPLHMFSLKRAFDSDAAATFSIILHNLNPDVLIYDFLQWPAT VARGSHIIPAVMFQPTGALMAAMVKYLEYPSDLSISIPDRLTEYDIKQVKNLFRSSVNDARD EERIKECNERSCGMILVKSFREIEGXYIDFLSILLRKKVVPVGPLVQEPENDVVSRRRFEKWLN KKQDSSCLLVSGSEFYLSKEDMBEIIAYGLELSHVDFIWWVRFPVAGGGERKKNVEEELPKGFI ERVVRERGMVVEGWVPPQAQILKHRTTGGFLSHCGWSSVMESIKFGVPITIAAPMQLDQPLKARLVE WLDVGVVIERDNGRLRRQEVARVVKVEMVKMERVRKKVKEFAEMLKKKGDEEMDMVVEELVK TCKSNKRDNI.FSHWCRPAT.DSHFCRPR	1142	CmoCh04G02647 0.1
UGT スーパーファミリータンパク質 [ククルビタ・モスカータ (<i>Cucurbita moschata</i>) (Rifu)]	MFPPKPTXKITMFPIAFGHSTPPTQTAKHT.SNTTFETH.CSSPVNI.QSTQSKT.PRTPSNPHTIL HLNLPPSPPELPPHMSTNGLPRLIPTLLNAFDKAAPDFTSILHKLNPDLITDMFQPAWVHSA AALNIPAVFFLLVVGAGTFSHSVHVLHGVDFPFFELDLQNHWLFKRHQNDPSDSSVGVATSRF LQLVKDLLEVYSDVVLVNSFMELIESKYIDYLSVLKKKVVPVGPLVALSDKSDVLDWLDQKEPK STVYVSFGSEYYLSNEDRAELAMGLEMSGANFIWVIRFGKGESVGIREALFEGFIERVGERGLV VDGWAPQMCITLKHTSTCGFVCHCGWNSVVEAVNAVPTTALPMQIDQPFHCKVAVAAAGVAVAAA RGVDGAVQREGVAKAIEVLFEKKGEELSGKAKEICESLKVKGDKNIDTCWSMHGSLQVRSHT	1143	CmoCh18G00937 0.1
UGT スーパーファミリータンパク質 [ククルビタ・モスカータ (<i>Cucurbita moschata</i>) (Rifu)]	MDAQKAVDTPPTTVLMLPWIYGHLISAYLELAKALSRNFHVFYFCSTPVLNDSIKPNLIIPPPS IQFVLDLHLPSSPELPPHLHTTNGLPSSLKPTLHQAFSAAAOHFMAILQTLSPHLLIYDSLQPPWA PRIASSLNIPAINFNTTAVSIIAHALSHVHYDPSKFFPSDFVLHDYWKAKYTTADCATSEKTRR GVEAFLYCLNASCDVVLVNSFRELGEYMDYLSVLLKKKVSVGPLVYEPSEGEDEEYWRICK WIDKFAITSTVIVSGFSRYPPPKRFRRTIAHGI.RFSRANFIWVVRFPKGRFSSSRGTFEAF.PKG FVERAGERAMVVKWAPQGGKILKHGSIIGFVSHCGWNSVLESIRFGVPVIGAPMHLDQPYNAGL LEEAGIGVEAKRDADGKTQRQVASLIKQVVVEKTREDIWKVKVREMRVLRDDDDMMTDEMVA AVISVVLKI	1144	CmoCh20G00020 0.1
UGT スーパーファミリータンパク質 [ラゲナリア・シセラリア (<i>Lagenaria siceraria</i>) (ヒョウタン)]	MDGQQGGSNTSTPTTILMFFWIGYGHLCAYLELAKALSRNNFHIYFCSTPVCCLDSIKPKLIPS SIEFVEFHLPSPPELPPHLHTTNGVPPIALTLHQATAAAPRFESILQTLSPHLLIYDCFPQ WAPRIASTLNIPAINFNTTASIVSHFHSIHYDPSKFFPSNVLHNYWAKLKSVTSEGACII EGFNNCFNASCVDILMNSFREIEGYMNYVSLTLKKKVIIPVGPLVYEPNEEEEDENYSRIKNWL DKKETLSTVLVSLGSERTASEEEEINEIGKGLEESEVNFVWERSNSKCEDEQKRREFVEMVGER VMVVGWAPQGGKILKHGSIIGFVSHCGWNSVLESITFGVPVIGVPIFGDQPFNAIVVEEAGLGV EAKRDSGDKIQRKEIARLKEVVVEKTREIIRMKVREMSEILRRKGDDKIDEMLSQISLLNI	1145	Lsi10G009490. 1
UGT スーパーファミリータンパク質 [ラゲナリア・シセラリア (<i>Lagenaria siceraria</i>) (ヒョウタ)]	MDAQAGSNTPTPTTILMPLWLGYGHVSAYFELAKALSRNNFHIYLCSTPVLNDFIKSKLIPS SSSFQFVELHLPSSPEFPFHVHTTNALPVHLTPTLHQAFDAAAPRFMAILQTLSPHLLIYDYF QSWAPRLASSLNIPAINFNTSGTSMICGFHSIHYFNSKFFVSDVFLHNNHWAKFNSALSEHAR SVKEAFFYCFNASCVDILNFSREVDGKYMDYLSLLKKKVIPIGPLVYKPNEEEEDEYWRIK	1146	Lsi10G009510. 1

【0 4 5 6】

【表 7 - 4 9】

タンパク質/DNA の種類	タンパク質/DNA 配列	配列番号	アクセッション番号 / 参考文献
ン)]	NWLDKKEALSTVLVSFGSESYASEEEXEEVGNGLSEETNFIWVERVSLKEDQEQRERGVERA GERALVLKGWAPQGGKILKHGSIIGFVSHCGWNSVLESIVSGVPITIGVPIISGDQPFNVGVVEEAG VCVEAKRDPNGKIQRQEVAKLIKQVVVEKTREELRMKVREMSEILRRKRDEKIDEMLAQISLLC NI		
グリコシルトランスフェラーゼ [ククミス・メロ (<i>Cucumis melo</i>) (メロン)]	MDAHQASDPTTTTILMFWLRYGHLISAYLELSKALSRKNFLIYFCSTPVLNDSIKPKLIPSPS TQFVKI.HLPSSPEFPPIHTTKAT.PI.HI.TPAI.HQAFSAAAP.FRTTII.KTI.SPHI.II.YDCQSWA PRLASSLNIPAINFNTSCASII.SYAFHSIHRPGSKFPI.SDFVLHNNHNSKYNSTLRKHAHCVK AFFECLNTRSDVILTNSPKVEGEYMDYISLSLKKKVIIPVGPLVYEPNEKDEEDEDYSRIKNWL DKKKEALSTVLVSLGSESASEEKEEIVKGLVESGANFIWVERINQKGDEEQIKRRELLEKGG ERAMVVGWAPQGGKILKHGSIIGFVSHCGWNSVLESITFGVPVIGVPLFGDQPFNAGVVEEAGI GVEAKRDHDGKIQRQEVAKLIKEVVVEKSRREIIRMKVREMSEIVKRRGDEKIEELLQISRLSN IS	1147	MELC3C014696P 1
UGT [ククミス・メロ (<i>Cucumis melo</i>) (メロン)]	MATEGRQLHIFMFPMHAGHMIPIVNMALFASRGIKITIVTTPNLNSISIRSLHNDNSNLDIH T.IITIKFPSAEVGI.PPDCFNVDLSIPTMDI.I.PIFYQATNLI.QPST.FEAT.HQNRPHCI.VADMFPWT NDVADRIGIPRLIFHGTCESFSLCASEFVRLHQPKYKHVSSDTEHFLIPLYLPGLDKLTKMQLPIL RENVENEYSKFITKVKESESYCYGVVNSFYELEAEYVDCYRNVLGRKANFIPLSLWNNEEQ LSQRGTGSTIDEHECLKWLDLQKPNSVYICFGLSAKFNSAQLKEI.AIGVEASGKKFIWVVRKG KGEEEEEQNWLPKGYEQRMGRGLIIRGWAPQVILIDHLAVGGFVTHCGWNSLLEGVAVAGLPM VTWPVAAEQFYNEKLLTEVLKIGVGVGVQWAPGVGDFIKSEVVEKAIKRIMBEEGEEMANRAI EFAKKAERAIEKDGSSYLNLDAIEELKSLAF	1148	MELC3C018468P 1
β-D-グルコシルクロセチン β-1, 6-グルコシルトランスフェラーゼ様 [モモディカ・カランティア (<i>Momordica charantia</i>)]	MDARQQAHTTTTILMPLWVGYGHLSAYLELAKALSRNNFHIYFCSTPVLNIESIKPKLTIPCSSI QFVELHLPSSDDLPPNLHTTNGLPSHLMPALHQAFSAAAPLFEAILQTLCPHLLIYDSLQWPAP QIASSLKIPALNFTNTGVSIVARALSTIHHPSDKFPLSEIVLHNYWKATHATADGANPEKERRD LEALLCCLHSSCNAILNTFRELEGEYIDYLSLLNKKKVIPIGPLVYEPNQDEEQDEEYRSIKN WLDKKKEPYSTIFVSGSEYPPSNEMEBEIIARGLEESGANFIWVVRHKLNGNGITEEGLLERA GERGMVIGWAPQARIILRHGSIIGFVSHCGWNSVMESITCGVPVIGVPMGLDQFYNAGLVEEAG VCVEAKRDPDGKIQRHEVSKLIKQVVVEKTRDDVRKKVQAMSEILRRKGDEKIDEMVALISLLL KG	1149	XP_022156002

【0 4 5 7】

本発明を、その特定の実施形態を参照して説明したが、当業者であれば、本発明の真の趣旨および範囲から逸脱することなく、様々な変更を加えることができるとともに均等物に置き換えることができることを理解するであろう。これには、本明細書に記載の利点および特徴のすべてを提供するわけではない実施形態が含まれる。さらに、特定の状況、材

10

20

30

40

50

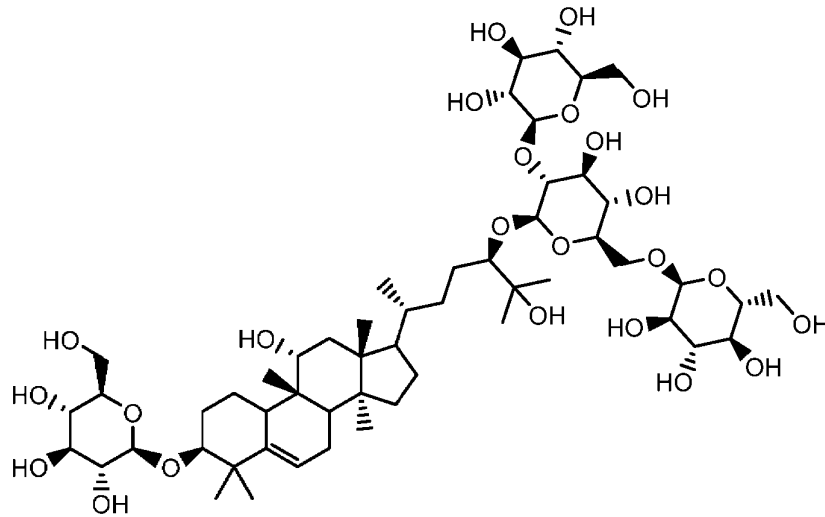
料、物質組成、プロセス、プロセスステップを、本発明の目的、趣旨および範囲に適合させるために、多くの修正を加えることができる。そのような修正形態はいずれも、本明細書に添付された特許請求の範囲内にあることが意図されている。したがって、本発明の範囲は、添付の特許請求の範囲を参照することによってのみ定められる。

【0458】

さらなる実施形態

1. 以下の構造：

【化60】



(1)

を有する化合物1の製造方法であって、該方法は、

モグロシドIIIEを、モグロシドIIIEからの化合物1の製造を触媒することができる第1の酵素を含む組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、

(1) 配列番号1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、および1049のいずれか1つの配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むシトクロムP450；ならびに／または

(2) 配列番号1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、および1048のいずれか1つに対して少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるシトクロムP450；ならびに／または

(3) 配列番号1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および1094～1149のいずれか1つの配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むグリコシル化酵素；ならびに／または

(4) 配列番号1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および1093のいずれか1つの配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードするグリコシル化酵素；ならびに／または

(5) 配列番号1073の配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むエポキシドヒドロラーゼ；ならびに／または

(6) 配列番号1072の配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるエポキシドヒドロラーゼを含む、方法。

【0459】

2. 組換え宿主細胞は、

(1) 配列番号1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、および1049のいずれか1つの配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むシトクロムP450；ならびに／または

(2) 配列番号1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、および1048のいずれか1つに対して少なくとも95%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるシトクロムP450；ならびに／または

(3) 配列番号1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および1094～1149のいずれか1つの配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むグリコシル化酵素；ならびに／または

(4) 配列番号1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および1093のいずれか1つの配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるグリコシル化酵素；ならびに／または

(5) 配列番号1073の配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むエポキシドヒドロラーゼ；ならびに／または

(6) 配列番号1072の配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるエポキシドヒドロラーゼを含む、実施形態1記載の方法。

【0460】

3. 組換え宿主細胞は、

(1) 配列番号1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、および1049のいずれか1つの配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むシトクロムP450；ならびに／または

(2) 配列番号1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、および1048のいずれか1つに対して少なくとも95%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるシトクロムP450；ならびに／または

(3) 配列番号1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および1094～1149のいずれか1つの配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むグリコシル化酵素；ならびに／または

(4) 配列番号1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および1093のいずれか1つの配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるグリコシル化酵素；ならびに／または

(5) 配列番号1073の配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むエポキシドヒドロラーゼ；ならびに／または

(6) 配列番号1072の配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるエポキシドヒドロラーゼを含む、実施形態1記載の方法。

10

20

30

40

50

【0461】

4. 組換え宿主細胞は、第1の酵素をコードする第1の遺伝子を含む、実施形態1から3までのいずれか1つ記載の方法。

【0462】

5. 第1の遺伝子は、組換え宿主細胞に対して異種である、実施形態4記載の方法。

【0463】

6. モグロシドIIIEは、組換え宿主細胞中に存在し、かつ／または組換え宿主細胞によって製造される、実施形態1から5までのいずれか1つ記載の方法。

【0464】

7. 第1の酵素が発現される条件下にて培地中で組換え宿主細胞を培養するステップを含む、実施形態1から6までのいずれか1つ記載の方法。

【0465】

8. 第1の酵素は、UDPグリコシルトランスフェラーゼ、シクロマルトデキストリングルカノトランスフェラーゼ（CGTアーゼ）、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクララーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上である、実施形態1から7までのいずれか1つ記載の方法。

【0466】

9. CGTアーゼは、配列番号1、3、78～101、148、および154のいずれか1つの配列に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態8記載の方法。

【0467】

10. デキストランスクララーゼは、配列番号2、103、106～110、156、159～162、および896に示す配列のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはデキストランスクララーゼは、配列番号104、105、157、158、および895のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる、実施形態8記載の方法。

【0468】

11. トランスグルコシダーゼは、配列番号163～291および723のいずれか1つの配列に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態8記載の方法。

【0469】

12. β-グルコシダーゼは、配列番号102、292、354～374、および678～741のいずれか1つに示す配列に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態8記載の方法。

【0470】

13. モグロシドIIAを組換え宿主細胞と接触させてモグロシドIIIEを製造するステップを含み、組換え細胞は、モグロシドIIAからのモグロシドIIIEの製造を触媒することができる第2の酵素を含む、実施形態1から12までのいずれか1つ記載の方法。

【0471】

14. 組換え宿主細胞は、第2の酵素をコードする第2の遺伝子を含む、実施形態13記載の方法。

【0472】

15. モグロシドIIAは、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在する、実施形態14記載の方法。

【0473】

16. 第2の酵素は、ウリジン二リン酸グルコシルトランスフェラーゼ（UGT）、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクララーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラ

10

20

30

40

50

ナーゼの1つ以上である、実施形態13から15までのいずれか1つ記載の方法。

【0474】

17. UGTは、UGT73C3（配列番号4）、UGT73C6（配列番号5）、UGT85C2（配列番号6）、UGT73C5（配列番号7）、UGT73E1（配列番号8）、UGT98（配列番号9または407）、UGT1576（配列番号15）、UGT SK98（配列番号16）、UGT430（配列番号17）、UGT1697（配列番号18）、UGT11789（配列番号19）であるか、または配列番号4～9、15～19、125、126、128、129、293～307、407、409、411、413、439、441、444、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および1094～1149のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態16記載の方法。

10

【0475】

18. UGTは、UGT1495（配列番号10）、UGT1817（配列番号11）、UGT5914（配列番号12）、UGT8468（配列番号13）、UGT10391（配列番号14）、および配列番号116～124、127、130、408、410、412、414、440、442、443、445、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および1093に示す配列のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる、実施形態16記載の方法。

20

【0476】

19. モグロールを組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、モグロールからのモグロシドIIIEおよび／またはIIIEの製造を触媒することができる1つ以上の酵素を含む、実施形態1から18までのいずれか1つ記載の方法。

【0477】

20. 組換え宿主細胞は、モグロールからのモグロシドIIIEおよび／またはIIIEの製造を触媒することができる1つ以上の酵素をコードする1つ以上の遺伝子を含む、実施形態19記載の方法。

30

【0478】

21. モグロールは、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在する、実施形態19または20記載の方法。

【0479】

22. モグロールからのモグロシドIIIEおよび／またはIIIEの製造を触媒することができる1つ以上の酵素は、UGT、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクララーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を含む、実施形態19から21までのいずれか1つ記載の方法。

【0480】

23. UGTは、UGT73C3、UGT73C6、85C2、UGT73C5、UGT73E1、UGT98、UGT1495、UGT1817、UGT5914、UGT8468、UGT10391、UGT1576、UGT SK98、UGT430、UGT1697、もしくはUGT11789であるか、または、配列番号4～9、15～19、125、126、128、129、293～307、405、406、407、409、411、413、439、441、444、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および1094～1149のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態22記載の方法。

40

50

【0481】

24. モグロシド化合物を組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、モグロシドIIIEを製造するためにモグロシド化合物からのモグロシドIIIEの製造を触媒することができる1つ以上の酵素を含み、モグロシド化合物は、モグロシドIA1、モグロシドIE1、モグロシドIIA1、モグロシドIIIE、モグロシドIIIA、モグロシドIIIA1、モグロシドIIIA2、モグロシドIII、モグロシドIV、モグロシドIVA、モグロシドV、およびシアメノシドの1つ以上である、実施形態1から23までのいずれか1つ記載の方法。

【0482】

25. 組換え宿主細胞は、モグロシド化合物からのモグロシドIIIEの製造を触媒することができる1つ以上の酵素をコードする1つ以上の遺伝子を含む、実施形態24記載の方法。

10

【0483】

26. モグロシド化合物は、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在する、実施形態25記載の方法。

【0484】

27. モグロシド化合物からのモグロシドIIIEの製造を触媒することができる1つ以上の酵素は、UGT、CGTアーゼ、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクラーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上を含む、実施形態24から26までのいずれか1つ記載の方法。

20

【0485】

28. モグロシド化合物は、モグロシドIIIEである、実施形態24から27までのいずれか1つ記載の方法。

【0486】

29. モグロシド化合物は、モルグロシド (morgroside) IIA、またはモグロシドIIIEであり、1つ以上の酵素との接触により、モグロシドIIIA、モグロシドIVE、およびモグロシドVの1つ以上が製造される、実施形態24から27までのいずれか1つ記載の方法。

【0487】

30. モグロシドIA1を組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、配列番号9、407、16、または306に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むUGT98またはUGT SK98酵素をコードする遺伝子を含む、実施形態1から29までのいずれか1つ記載の方法。

30

【0488】

31. 接触により、モグロシドIIAが細胞で製造される、実施形態30記載の方法。

【0489】

32. 該方法は、11-ヒドロキシ-24, 25エポキシシクロピタジエノールを組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、エポキシドヒドラーゼをコードする第3の遺伝子を含む、実施形態1から31までのいずれか1つ記載の方法。

40

【0490】

33. 11-ヒドロキシ-24, 25エポキシシクロピタジエノールは、組換え宿主細胞中に存在し、かつ／または組換え宿主細胞によって製造される、実施形態32記載の方法。

【0491】

34. 該方法は、11-ヒドロキシシクロピタジエノールを組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、シトクロムP450、またはエポキシドヒドラーゼをコードする第4の遺伝子を含む、実施形態1から33までのいずれか1つ記載の方法。

【0492】

50

35. 11-ヒドロキシククルビタジエノールは、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在する、実施形態34記載の方法。

【0493】

36. 該方法は、3, 24, 25-トリヒドロキシククルビタジエノールを組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、シトクロムP450をコードする第5の遺伝子を含む、実施形態1から35までのいずれか1つ記載の方法。

【0494】

37. 3, 24, 25-トリヒドロキシククルビタジエノールは、組換え宿主細胞中に存在し、かつ／または組換え宿主細胞によって製造される、実施形態36記載の方法。

【0495】

38. 接触により、モグロールが組換え宿主細胞で製造される、実施形態32から37までのいずれか1つ記載の方法。

【0496】

39. エポキシドヒドロラーゼは、配列番号21~30、309~314、および1073のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはエポキシドヒドロラーゼは、配列番号114、115、および1072のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる、実施形態34または35記載の方法。

【0497】

40. 該方法は、ククルビタジエノールを組換え宿主細胞と接触させるステップを含む、実施形態1から39までのいずれか1つ記載の方法。

【0498】

41. 接触により、11-ヒドロキシククルビタジエノールが製造される、実施形態40記載の方法。

【0499】

42. ククルビタジエノールは、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在する、実施形態40または41記載の方法。

【0500】

43. 該方法は、2, 3-オキシドスクアレン、ジオキシドスクアレン、およびジエポキシスクアレンの1つ以上を組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、ククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドをコードする第7の遺伝子を含む、実施形態1から42までのいずれか1つ記載の方法。

【0501】

44. ククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドは、ククルビタジエノールシンターゼに融合した融合ドメインを含む融合タンパク質である、実施形態43記載の方法。

【0502】

45. 接触により、ククルビタジエノールおよび／または24, 25-エポキシククルビタジエノールが製造される、実施形態43または44記載の方法。

【0503】

46. 2, 3-オキシドスクアレン、ジオキシドスクアレン、およびジエポキシスクアレンの1つ以上は、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在する、実施形態43から45までのいずれか1つ記載の方法。

【0504】

47. 組換え宿主細胞は、CYP87D18またはSgCPRタンパク質をコードする遺伝子を含む、実施形態1から46までのいずれか1つ記載の方法。

【0505】

48. 該方法は、スクアレンを組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、スクアレンエポキシダーゼをコードする第8の遺伝子を含む、実施形態1から47までのいずれか1つ記載の方法。

10

20

30

40

50

【0506】

49. 接触により、2, 3-オキシドスクアレンが製造される、実施形態48記載の方法。

【0507】

50. スクアレンは、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在する、実施形態48または49記載の方法。

【0508】

51. 該方法は、ファルネシルピロホスフェートを組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、スクアレンシンターゼをコードする第9の遺伝子を含む、実施形態1から50までのいずれか1つ記載の方法。

【0509】

52. 接触によりスクアレンが製造される、実施形態51記載の方法。

【0510】

53. ファルネシルピロホスフェートは、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在する、実施形態51または52記載の方法。

【0511】

54. スクアレンシンターゼは、配列番号69および336のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはスクアレンシンターゼは、配列番号337に対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列を含む配列によってコードされる、実施形態51から53までのいずれか1つ記載の方法。

【0512】

55. 該方法は、ゲラニル-PPを組換え宿主細胞と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、ファルネシル-PPシンターゼをコードする第10の遺伝子を含む、実施形態1から54までのいずれか1つ記載の方法。

【0513】

56. 接触によりファルネシル-PPが製造される、実施形態55記載の方法。

【0514】

57. ゲラニル-PPは、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在する、実施形態55または56記載の方法。

【0515】

58. ファルネシル-PPシンターゼは、配列番号338に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、または配列番号339に対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる、実施形態55から57までのいずれか1つ記載の方法。

【0516】

59. 第1の遺伝子、第2の遺伝子、第3の遺伝子、第4の遺伝子、第5の遺伝子、第6の遺伝子、第7の遺伝子、第8の遺伝子、第9の遺伝子、および第10の遺伝子の1つ以上は、異種プロモーターに作動可能に連結されている、実施形態1から58までのいずれか1つ記載の方法。

【0517】

60. プロモーターは、誘導性プロモーター、抑制性プロモーター、または構成的プロモーターである、実施形態59記載の方法。

【0518】

61. 組換え宿主細胞は、植物細胞、二枚貝類細胞、魚類細胞、真菌細胞、細菌細胞、または哺乳動物細胞である、実施形態1から60までのいずれか1つ記載の方法。

【0519】

62. 真菌は、トリコフィトン (Trichophyton)、サンファンポルス (Sanghuangporus)、タイワノフングス (Taiwanofungus)、モニリオフトラ (Moniliophthora)、マルソニナ (Marssonina)、ディプロディア (Diplodia)、レンティヌラ (Lentinula)、キサントフィロミセス (Xanthophyllomyces)、ポコニア (Pochonia)、コレト

10

20

30

40

50

トリカム (*Colletotrichum*)、ディアポルテ (*Diaporthe*)、ヒストプラズマ (*Histoplasma*)、コクシジオイデス (*Coccidioides*)、ヒストプラズマ (*Histoplasma*)、サンファンポルス (*Sanghuangporus*)、アウレオバシジウム (*Aureobasidium*)、ポコニア (*Pochonia*)、ペニシリウム (*Penicillium*)、スポロトリクス (*Sporothrix*)、メタリジウム (*Metarhizium*)、アスペルギルス (*Aspergillus*)、ヤロウイア (*Yarrowia*)、およびリボミセス (*Lipomyces*) からなる群から選択される、実施形態 61 記載の方法。

【0520】

63. 真菌は、アスペルギルス・ニデュランス (*Aspergillus nidulans*)、ヤロウイア・リポリティカ (*Yarrowia lipolytica*)、またはロドスポリン・トルロイデス (*Rhodospirium toruloides*) である、実施形態 61 記載の方法。

10

【0521】

64. 組換え宿主細胞は、酵母細胞である、実施形態 61 記載の方法。

【0522】

65. 組換え宿主細胞は、サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) 細胞、またはヤロウイア・リポリティカ (*Yarrowia lipolytica*) 細胞である、実施形態 64 記載の方法。

【0523】

66. 化合物 1 を単離するステップを含む、実施形態 1 から 65 までのいずれか 1 つ記載の方法。

20

【0524】

67. 化合物 1 を単離するステップは、組換え宿主細胞を破碎するステップ、および／または培地から化合物 1 を単離するステップを含む、実施形態 66 記載の方法。

【0525】

68. 化合物 1 を精製するステップを含む、実施形態 1 から 67 までのいずれか 1 つ記載の方法。

【0526】

69. 化合物 1 を精製するステップは、HPLC、固相抽出、またはそれらの組合せを含む、実施形態 68 記載の方法。

【0527】

70. 第 1 のモグロシドを組換え宿主細胞と接触させてモグロシド IIII E を製造してから、モグロシド IIII E を第 1 の酵素と接触させるステップを含み、組換え宿主細胞は、ヒドロラーゼを含む、実施形態 1 から 69 までのいずれか 1 つ記載の方法。

30

【0528】

71. ヒドロラーゼは、 β -グルカンヒドロラーゼである、実施形態 70 記載の方法。

【0529】

72. ヒドロラーゼは、EXG1 または EXG2 である、実施形態 70 記載の方法。

【0530】

73. 第 1 のモグロシドは、モグロシド IV、モグロシド V、モグロシド VI、シアメノシド I、モグロシド IV E、モグロシド IV A、およびそれらの組合せからなる群から選択される、実施形態 70 から 72 までのいずれか 1 つ記載の方法。

40

【0531】

74. 組換え宿主細胞は、ヒドロラーゼをコードする遺伝子を含む、実施形態 70 から 73 までのいずれか 1 つ記載の方法。

【0532】

75. 第 1 のモグロシドは、組換え宿主細胞によって製造され、かつ／または組換え宿主細胞中に存在する、実施形態 70 から 74 までのいずれか 1 つ記載の方法。

【0533】

76. 組換え細胞は、オキシドスクアレニシクラーゼ、またはオキシドスクアレニシクラーゼをコードする核酸配列をさらに含み、オキシドスクアレニシクラーゼは、ククルビ

50

タジエノールまたはエポキシクルビタジエノールが製造されるように修飾されている、実施形態 1 から 75 までのいずれか 1 つ記載の方法。

【0534】

77. オキドスクアレノシクラーゼは、シクロアルテノールシンターゼまたは β -アミリンシンターゼである、実施形態 76 記載の方法。

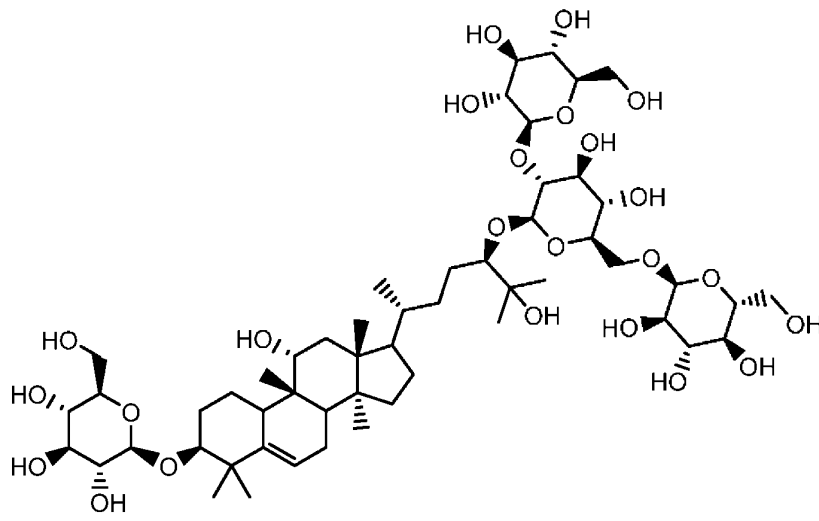
【0535】

78. 組換え細胞は、シトクロム P450 レダクターゼ、またはシトクロム P450 レダクターゼをコードする遺伝子を含む、実施形態 1 から 77 までのいずれか 1 つ記載の方法。

【0536】

79. 化合物 1

【化 61】

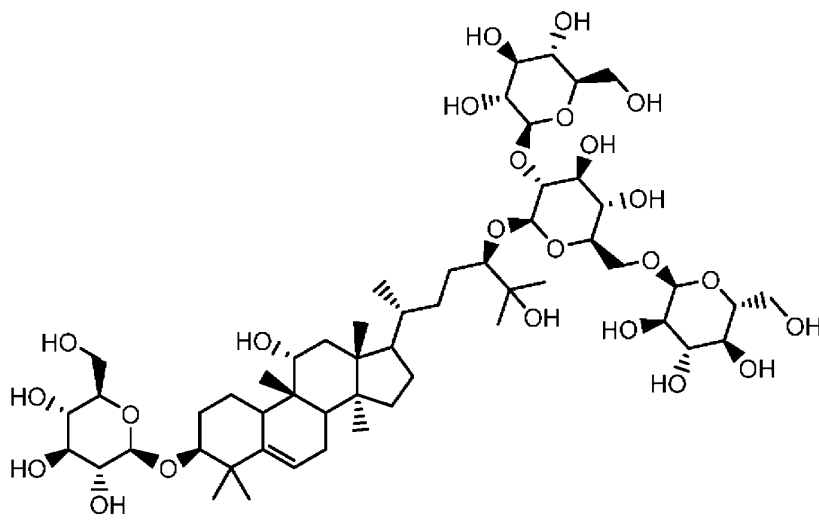


の構造を有する化合物であって、実施形態 1 から 78 までのいずれか 1 つ記載の方法により製造される、化合物。

【0537】

80. 組換え細胞であって、以下の構造：

【化 62】



を有する化合物 1 と、モグロシド IIIIE からの化合物 1 の製造を触媒することができる酵素をコードする遺伝子と、以下：

(1) 配列番号 1025、1027、1029、1031、1033、1035、10

37、1039、1041、1043、1045、1047、および1049のいずれか1つの配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むシトクロムP450；ならびに／または

(2) 配列番号1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、および1048のいずれか1つに対して少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるシトクロムP450；ならびに／または

(3) 配列番号1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および1094～1149のいずれか1つの配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むグリコシル化酵素；ならびに／または

(4) 配列番号1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および1093のいずれか1つの配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードするグリコシル化酵素；ならびに／または

(5) 配列番号1073の配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むエポキシドヒドロラーゼ；ならびに／または

(6) 配列番号1072の配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるエポキシドヒドロラーゼの1つ以上とを含む、組換え細胞。

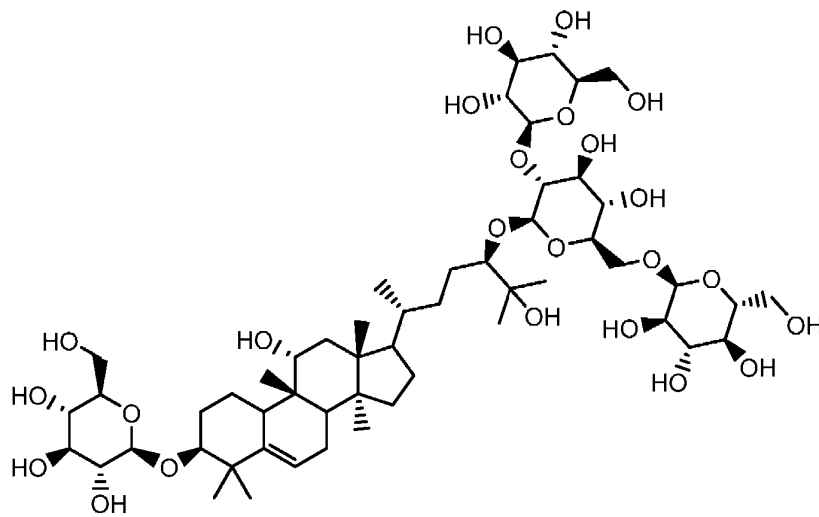
【0538】

81. 遺伝子は、組換え細胞に対する異種遺伝子である、実施形態80記載の組換え細胞。

【0539】

82. 組換え細胞であって、モグロシドIIIEからの、以下の構造：

【化63】



を有する化合物1の製造を触媒することができる第1の酵素をコードする第1の遺伝子と、以下：

(1) 配列番号1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、および1049のいずれか1つの配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むシトクロムP450；ならびに／または

(2) 配列番号1024、1026、1028、1030、1032、1034、10

36、1038、1040、1042、1044、1046、および1048のいずれか1つに対して少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるシトクロムP450；ならびに／または

(3) 配列番号1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および1094～1149のいずれか1つの配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むグリコシル化酵素；ならびに／または

(4) 配列番号1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および1093のいずれか1つの配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列をコードするグリコシル化酵素；ならびに／または

(5) 配列番号1073の配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むエポキシドヒドロラーゼ；ならびに／または

(6) 配列番号1072の配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされるエポキシドヒドロラーゼ
の1つ以上を含む、組換え細胞。

【0540】

83. 第1の酵素は、UGT、シクロマルトデキストリングルカノトランスフェラーゼ（CGTアーゼ）、グリコトランスフェラーゼ、デキストランスクララーゼ、セルラーゼ、β-グルコシダーゼ、アミラーゼ、トランスグルコシダーゼ、ペクチナーゼ、およびデキストラナーゼの1つ以上である、実施形態82記載の細胞。

【0541】

84. CGTアーゼは、配列番号1、3、78～101、148、および154のいずれか1つの配列に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態83記載の細胞。

【0542】

85. デキストランスクララーゼは、配列番号2、103、106～110、156、および896に示す配列のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはデキストランスクララーゼは、配列番号104、105、157、158、および895のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる、実施形態83記載の細胞。

【0543】

86. トランスグルコシダーゼは、配列番号3、95～102、163～291、および723のいずれか1つの配列に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態83記載の細胞。

【0544】

87. β-グルコシダーゼは、配列番号102、292、354～376、および678～741に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態83記載の細胞。

【0545】

88. ウリジン二リン酸グルコシルトランスフェラーゼ（UGT）をコードする第2の遺伝子を含む、実施形態82から87までのいずれか1つ記載の細胞。

【0546】

89. UGTは、配列番号4～9、15～19、125、126、128、129、293～307、407、409、411、413、439、441、444、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、および1094～1149に示す配列のい

10

20

30

40

50

れか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはUGTは、配列番号116~124、127、130、408、410、412、414、440、442、443、445、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、および1093のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる、実施形態88記載の細胞。

【0547】

90. UGTは、UGT1495（配列番号10）、UGT1817（配列番号11）、UGT5914（配列番号12）、UGT8468（配列番号13）、またはUGT10391（配列番号14）に示す配列によってコードされる、実施形態88記載の細胞。

10

【0548】

91. 配列番号9、407、16、または306に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むUGT98、またはUGT SK98をコードする第3の遺伝子を含むか、またはUGT98は、配列番号307に示す核酸配列によってコードされる、実施形態82から90までのいずれか1つ記載の細胞。

【0549】

92. エポキシドヒドロラーゼをコードする第4の遺伝子を含む、実施形態82から91までのいずれか1つ記載の細胞。

【0550】

20

93. エポキシドヒドロラーゼは、配列番号21~30、および309~314のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、または配列番号114および115のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる、実施形態92記載の細胞。

【0551】

94. P450をコードする第5の遺伝子を含む、実施形態82から93までのいずれか1つ記載の細胞。

【0552】

95. P450は、配列番号20、49、308、315、430、872、874、876、878、880、882、884、886、888、890、891、1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、1049、1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、および1049のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、または配列番号31~48、316、318、431、871、873、875、877、879、881、883、885、887、889、892、1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、および1048のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる、実施形態94記載の細胞。

30

【0553】

96. ククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドをコードする第6の遺伝子を含む、実施形態82から95までのいずれか1つ記載の細胞。

40

【0554】

97. ククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドは、融合タンパク質である、実施形態96記載の方法。

【0555】

98. ククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドは、配列番号70~73、75~77、319、321、323、325、327~333、417、420、422、424、426、446、902、904、906、851、854、856、1024、859、862、865、867、915、920、924、928、932

50

、936、940、944、948、952、956、959、964、967、971、975、979、983、987、991、995、999、1003、1007、および1011のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはククルビタジエノールシンターゼ活性を示すポリペプチドは、配列番号74、320、322、324、326、328、418、421、423、425、427、897、899、901、903、および905のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる、実施形態96記載の細胞。

【0556】

99. スクアレンエポキシダーゼをコードする第7の遺伝子を含む、実施形態82から98までのいずれか1つ記載の細胞。

10

【0557】

100. スクアレンエポキシダーゼは、配列番号50～56、60、61、334、および335のいずれか1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはスクアレンエポキシダーゼは、配列番号335に対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる、実施形態99記載の細胞。

【0558】

101. スクアレンシンターゼをコードする第8の遺伝子を含む、実施形態82から100までのいずれか1つ記載の細胞。

【0559】

20

102. スクアレンシンターゼは、配列番号69もしくは336に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはスクアレンシンターゼは、配列番号337に示す核酸配列を含む配列によってコードされる、実施形態101記載の細胞。

【0560】

103. ファルネシル-PPシンターゼをコードする第9の遺伝子を含む、実施形態82から102までのいずれか1つ記載の細胞。

【0561】

104. ファルネシル-PPシンターゼは、配列番号338に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、または配列番号339に対して少なくとも70%の配列同一性を有する核酸配列によってコードされる、実施形態103記載の細胞。

30

【0562】

105. 細胞は、哺乳動物細胞、植物細胞、細菌細胞、真菌細胞、または昆虫細胞である、実施形態82から104までのいずれか1つ記載の細胞。

【0563】

106. 真菌は、トリコフィトン (Trichophyton)、サンファンポルス (Sanghuangporus)、タイワノフングス (Taiwanofungus)、モニリオフトラ (Moniliophthora)、マルソニナ (Marssonina)、ディプロディア (Diplodia)、レンティヌラ (Lentinula)、キサントフィロミセス (Xanthophyllomyces)、ポコニア (Pochonia)、コレトトリカム (Colletotrichum)、ディアポルテ (Diaporthe)、ヒストプラズマ (Histoplasma)、コクシジオイデス (Coccidioides)、ヒストプラズマ (Histoplasma)、サンファンポルス (Sanghuangporus)、アウレオバシジウム (Aureobasidium)、ポコニア (Pochonia)、ペニシリウム (Penicillium)、スポロトリクス (Sporothrix)、またはメタリジウム (Metarhizium) である、実施形態105記載の細胞。

40

【0564】

107. 細胞は、酵母細胞であり、酵母は、カンジダ (Candida)、サッカロミセス (Saccharomyces)、サッカロミコチナ (Saccharomycotina)、タフリノミコチナ (Taphrinomycotina)、シゾサッカロミセテス (Schizosaccharomycetes)、コマガテラ (Komagataella)、バシディオミコタ (Basidiomycota)、アガリコミコチナ (Agaricomycotina)、トレメロミセテス (Tremellomycetes)、プシニオミコチナ (Pucciniomycotina)、アウレオバシジウム (Aureobasidium)、コニオケーテ (Coniochaete)

50

ta)、およびミクロボリオミセテス (Microboryomycetes) からなる群から選択される、実施形態 82 から 104 までのいずれか 1 つ記載の細胞。

【0565】

108. 組換え細胞は、モグロシド V を加水分解することができる少なくとも 1 つの加水分解酵素をコードする遺伝子を含む、実施形態 82 から 106 までのいずれか 1 つ記載の細胞。

【0566】

109. 化合物 1 は、組換え細胞において加水分解酵素に対する耐性を示し、加水分解酵素は、モグロシド VI、モグロシド V、モグロシド IV をモグロシド III に加水分解する能力を示す、実施形態 82 から 108 までのいずれか 1 つ記載の細胞。

10

【0567】

110. 組換え細胞は、オキシドスクアレニシクラーゼ、またはオキシドスクアレニシクラーゼをコードする核酸配列をさらに含み、オキシドスクアレニシクラーゼは、ククルビタジエノールまたはエポキシククルビタジエノールが製造されるように修飾されている、実施形態 82 から 109 までのいずれか 1 つ記載の細胞。

【0568】

111. オキシドスクアレニシクラーゼは、配列番号 341、343、および 346 ~ 347 のいずれか 1 つに対して少なくとも 70 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 111 記載の細胞。

【0569】

112. 細胞は、シトクロム P450 レダクターゼ、またはシトクロム P450 レダクターゼをコードする遺伝子を含む、実施形態 82 から 111 までのいずれか 1 つ記載の細胞。

20

【0570】

113. 第 1 のモグロシドを加水分解してモグロシド III を製造することができるヒドロラーゼをコードする遺伝子を含む、実施形態 82 から 112 までのいずれか 1 つ記載の細胞。

【0571】

114. ヒドロラーゼは、β-グルカンヒドロラーゼである、実施形態 113 記載の細胞。

30

【0572】

115. ヒドロラーゼは、EXG1 または EXG2 である、実施形態 113 記載の細胞。

【0573】

116. 第 1 のモグロシドは、モグロシド IV、モグロシド V、モグロシド VI、シアメノシド I、モグロシド IVE、モグロシド IVA、およびそれらの組合せからなる群から選択される、実施形態 113 から 115 までのいずれか 1 つ記載の細胞。

【0574】

117. 細胞は、酵母細胞である、実施形態 113 から 116 までのいずれか 1 つ記載の細胞。

【0575】

118. 細胞は、サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*)、またはヤロウィア・リポリティカ (*Yarrowia lipolytica*) である、実施形態 117 記載の細胞。

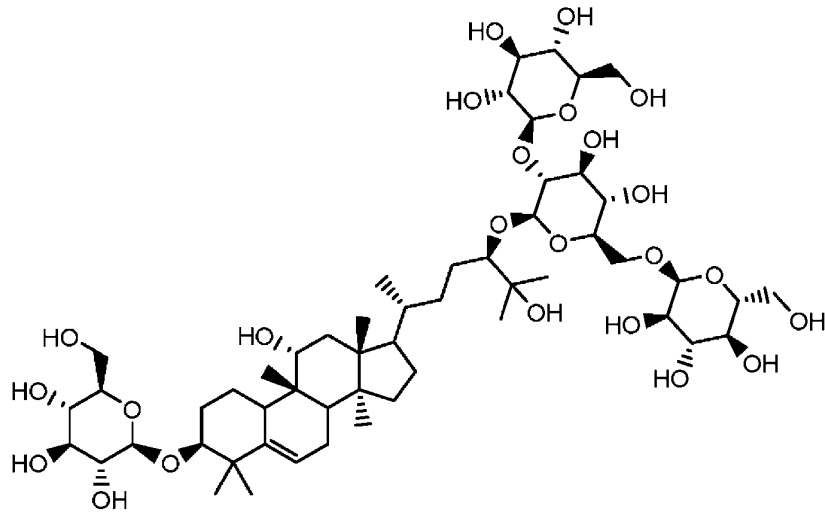
40

【0576】

119. 化合物 (1) :

50

【化 6 4】



(1)

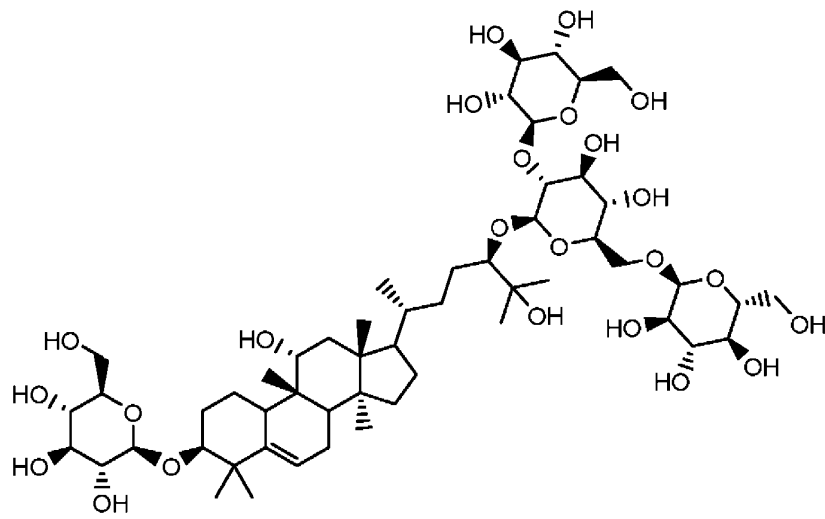
の構造を有する化合物であって、単離および精製された形態である、化合物。

【 0 5 7 7】

1 2 0 . 化合物 (1) :

【化 6 5】

20



(1)

の構造を有する化合物を含む組成物であって、50重量%超の化合物を含む、組成物。

【 0 5 7 8】

1 2 1 . 1重量%未満、0.5重量%未満、または0.1重量%未満のモグロシド I I I Eを含む、実施形態 1 2 0 記載の組成物。

【 0 5 7 9】

1 2 2 . 0.3重量%未満、0.1重量%未満、0.05重量%未満、または0.01重量%未満の 1 1 - オキシモグロシド I I I Eを含む、実施形態 1 2 0 または 1 2 1 記載の組成物。

【 0 5 8 0】

1 2 3 . 1重量%未満、0.5重量%未満、または0.1重量%未満の、モグロシド I、モグロシド I I、およびモグロシド I I I のすべての異性体を含む、実施形態 1 2 0 から 1 2 2 までのいずれか 1 つ記載の組成物。

【 0 5 8 1】

1 2 4 . 0.1重量%未満の、モグロシド I I I E、1 1 - オキシモグロシド I I I E、モグロシド I I I A 2、モグロシド I E、およびモグロシド I I Eを含む、実施形態 1

50

20 記載の組成物。

【0582】

125. 1重量%未満、0.5重量%未満、または0.1重量%未満の11-オキソモグロールを含む、実施形態120から124までのいずれか1つ記載の組成物。

【0583】

126. 70重量%超、80重量%超、または90重量%超の化合物を含む、実施形態120から125までのいずれか1つ記載の組成物。

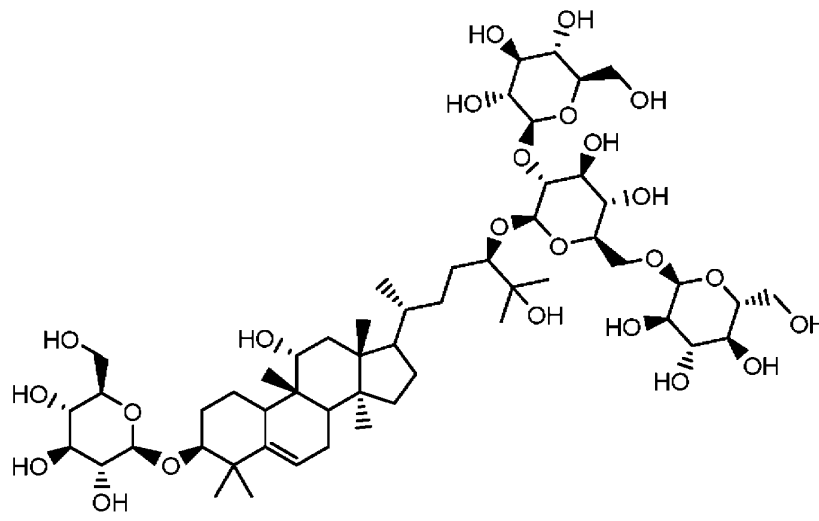
【0584】

127. 固体形態である、実施形態120から126までのいずれか1つ記載の組成物。

【0585】

128. 化合物(1)：

【化66】



の構造を有する化合物の溶液を含む、組成物。

【0586】

129. 溶液中の化合物の濃度は、500ppm超、0.1%超、0.5%超、1%超、5%超、または10%超である、実施形態128記載の組成物。

【0587】

130. 100ppm未満、50ppm未満、20ppm未満、または5ppm未満であるモグロシドIIIEの濃度を含む、実施形態128または129記載の組成物。

【0588】

131. 30ppm未満、10ppm未満、1ppm未満、または0.1ppm未満である11-オキソモグロシドIIIEの濃度を含む、実施形態128から130までのいずれか1つ記載の組成物。

【0589】

132. 1%未満、0.5%未満、0.1%未満、500ppm未満、または100ppm未満の、モグロシドI、モグロシドII、およびモグロシドIIIのすべての異性体の合一濃度を含む、実施形態128記載の組成物。

【0590】

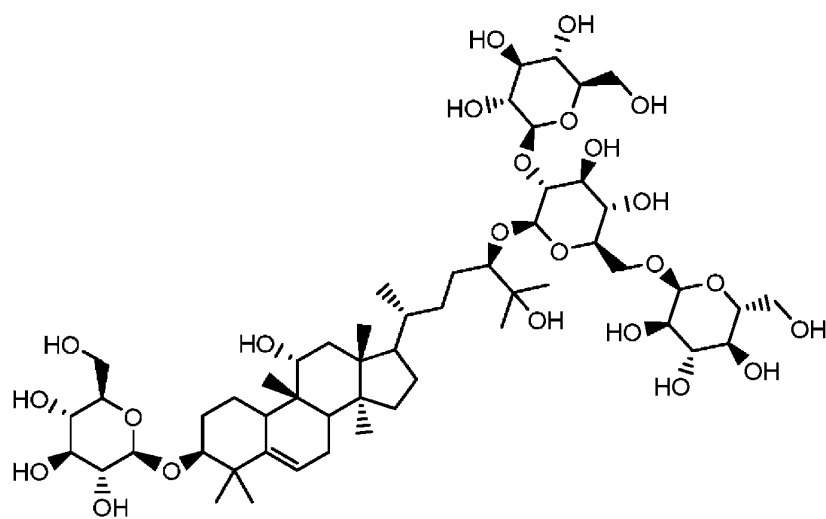
133. 500ppm未満、または100ppm未満の、モグロシドIIIE、11-オキソモグロシドIIIE、モグロシドIIIA2、モグロシドIE、およびモグロシドIIIEの合一濃度を含む、実施形態128記載の組成物。

【0591】

134. 0.5%未満または100ppm未満の11-オキソモグロールの濃度を含む、実施形態128から133までのいずれか1つ記載の組成物。

【0592】

135. 充填剤と、化合物(1) :
【化67】



(1)

の構造を有する1つ以上の化合物とを含む、組成物。

【0593】

136. 0.5重量%超、1重量%超、または2重量%超の化合物を含む、実施形態135記載の組成物。

【0594】

137. 30重量%超、50重量%超、70重量%超、90重量%超、または99重量%超の充填剤を含む、実施形態135記載の組成物。

【0595】

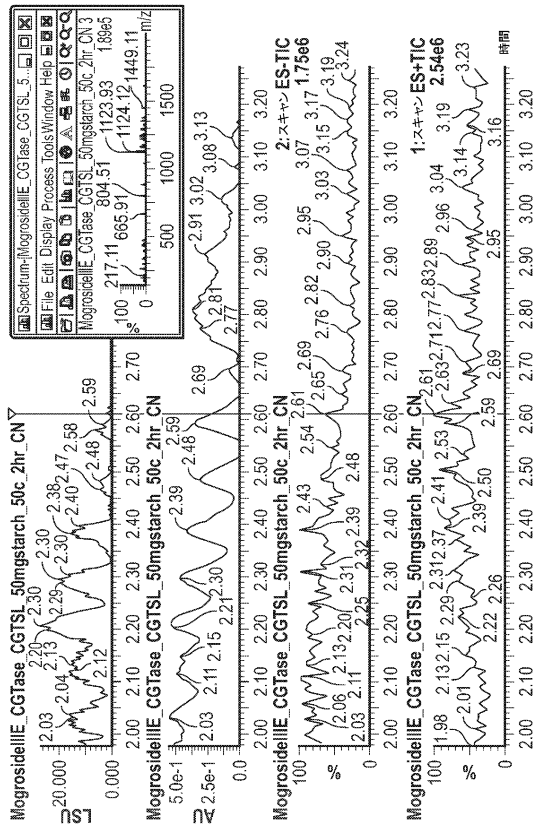
138. 実施形態119記載の化合物と、少なくとも1つの追加の甘味料および／または甘味修飾剤とを含む、組成物。

【0596】

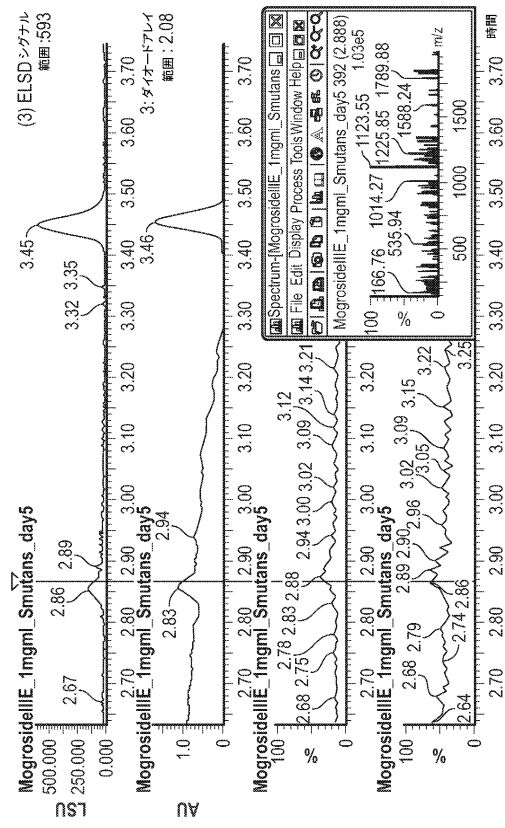
139. 消費製品の甘味の知覚を伝達、増強、変更、または改善するための、実施形態138記載の組成物の使用。

【凶面】

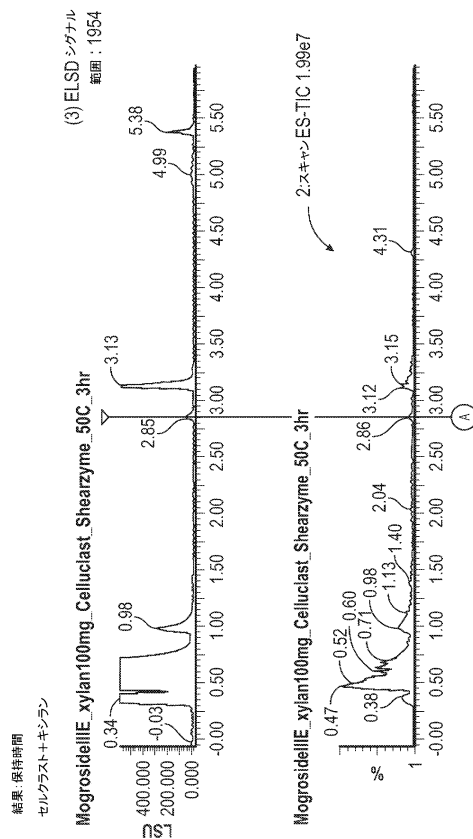
【図 1】



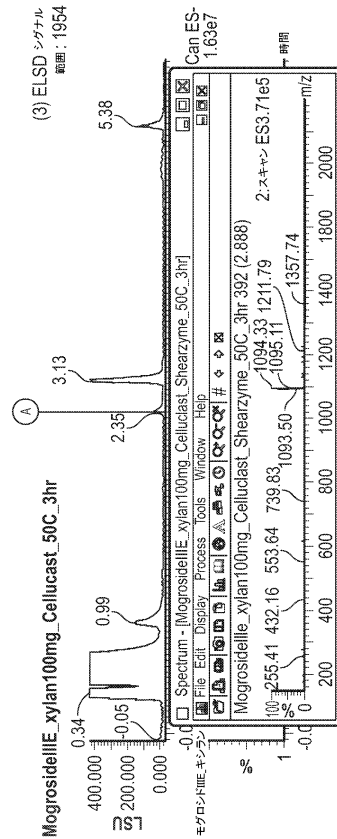
【図 2】



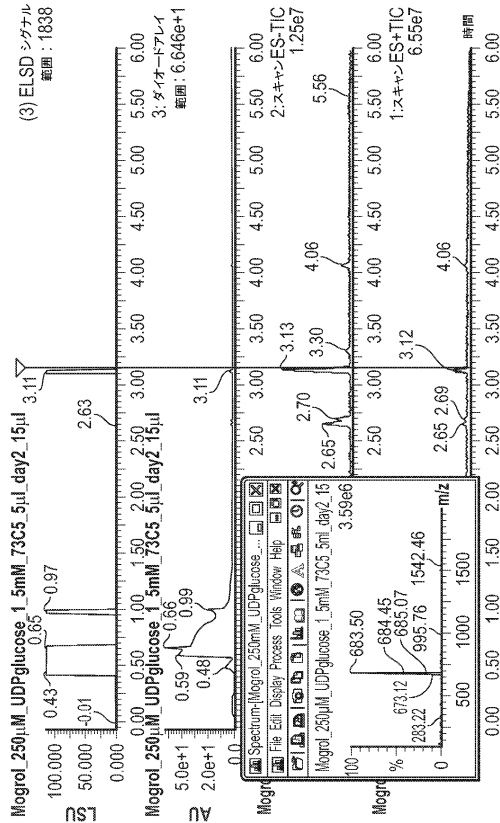
【圖 3 - 1】



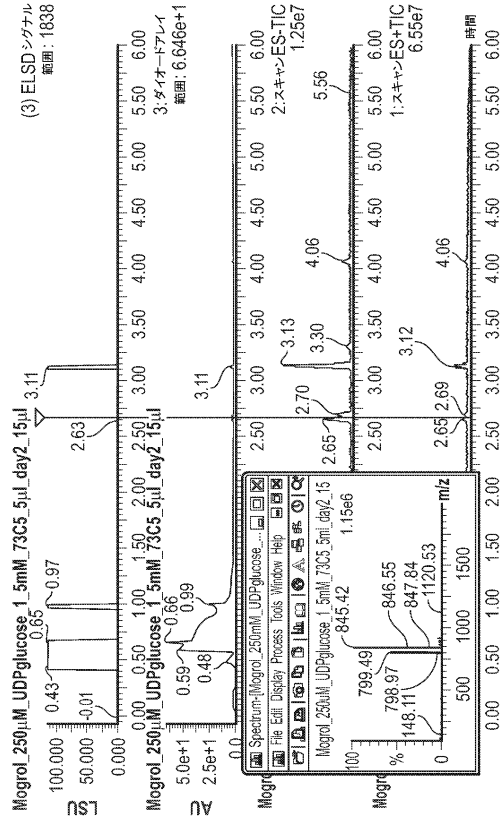
【図 3 - 2】



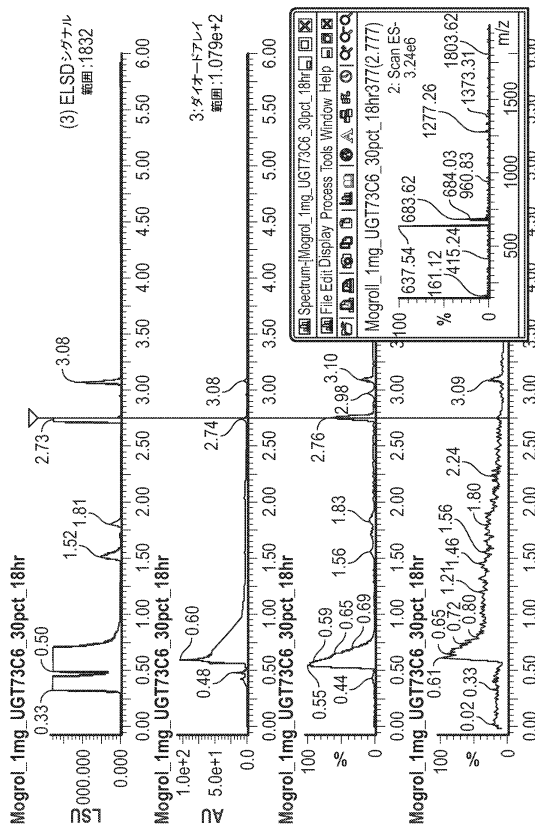
【図 4】



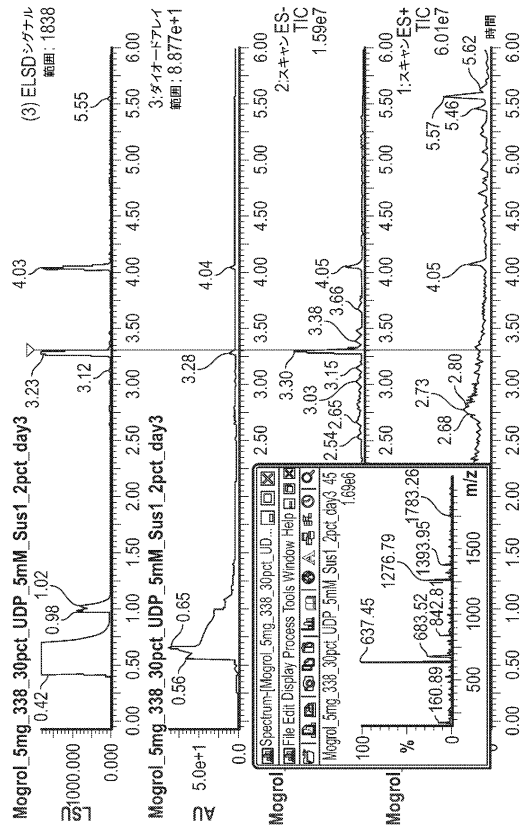
【図 5】



【図 6】



【図 7】



10

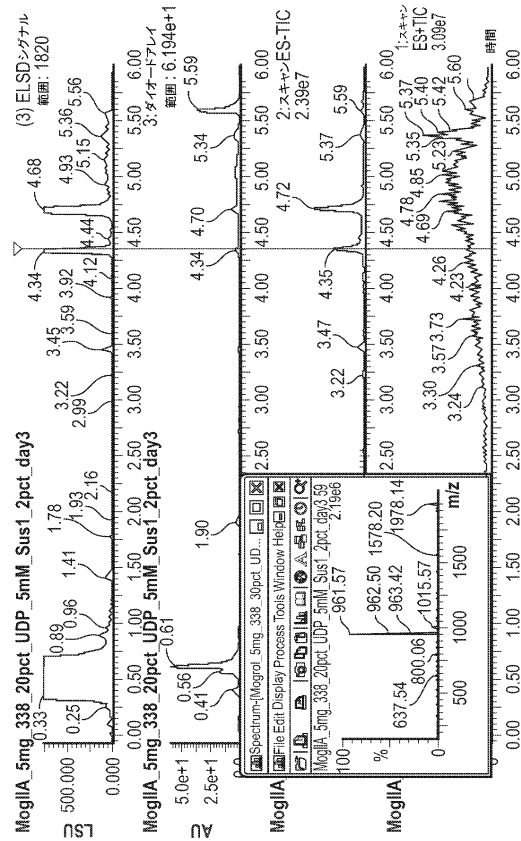
20

30

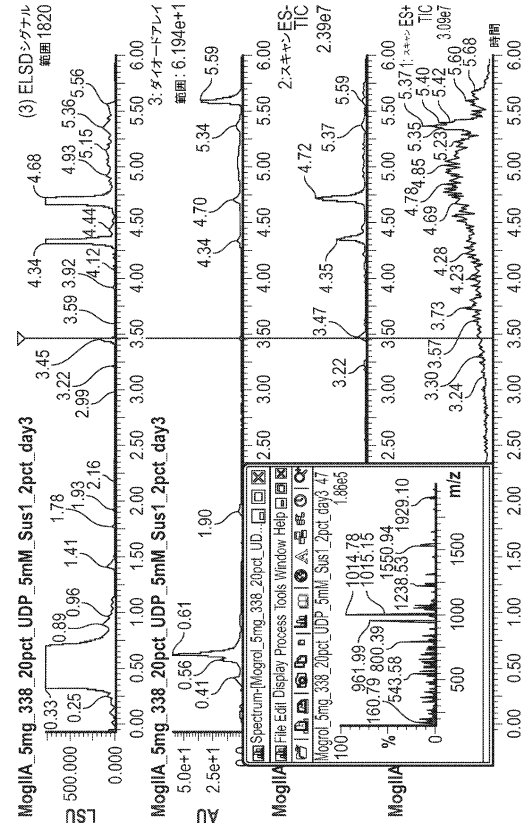
40

50

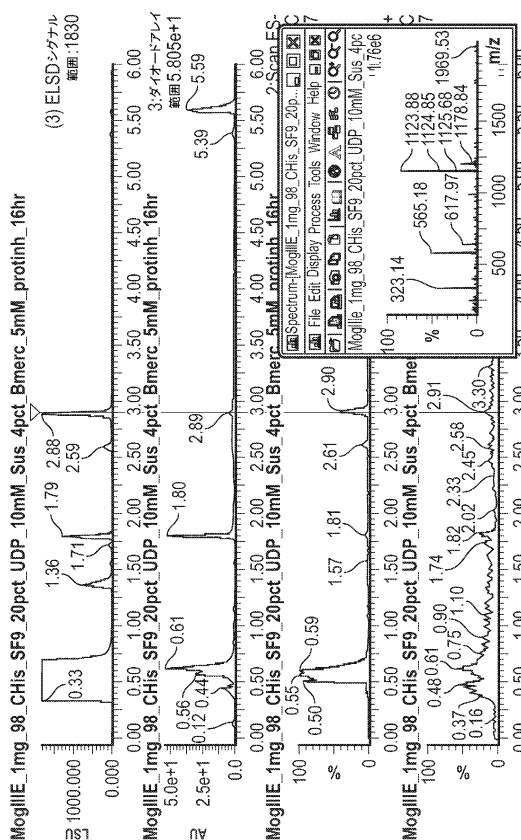
【図 8】



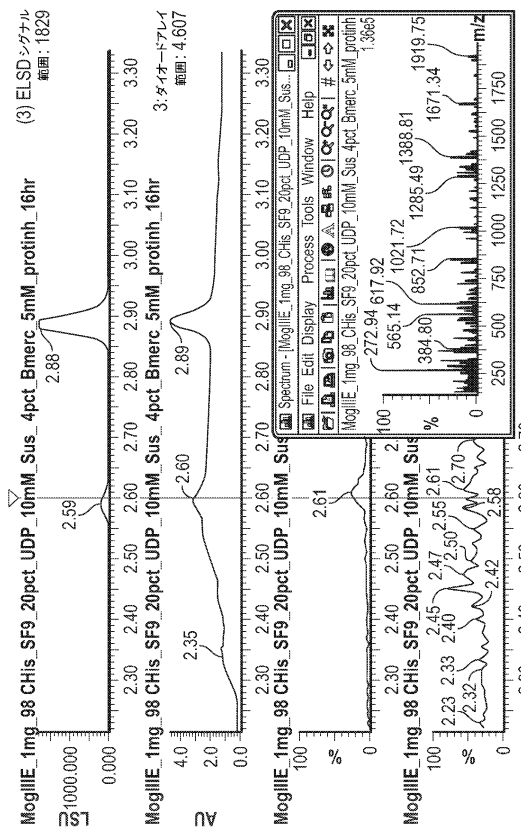
【図 9】



【図 10】



【図 11】



10

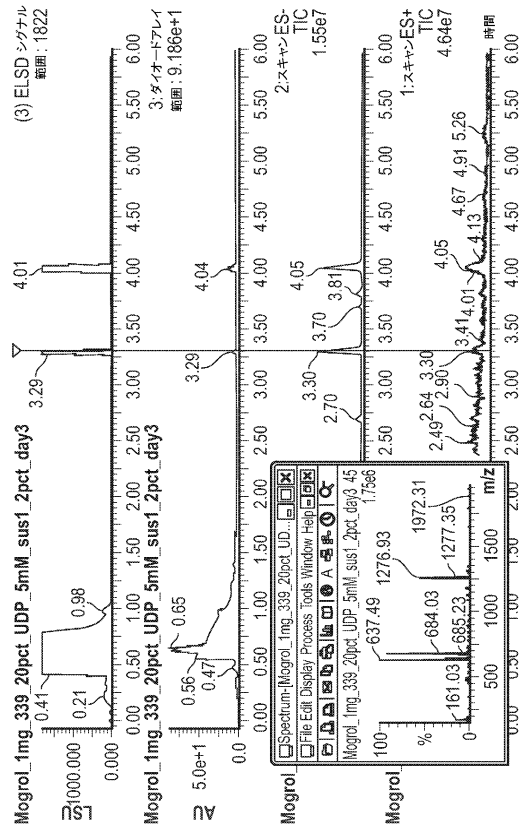
20

30

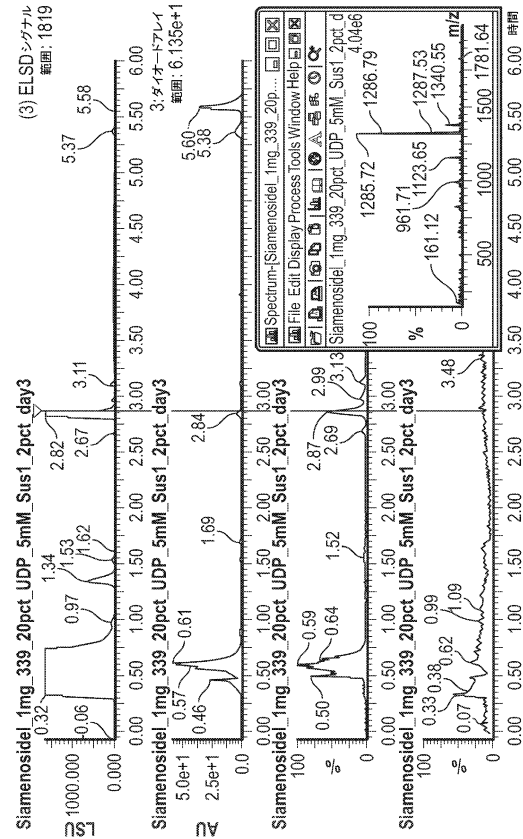
40

50

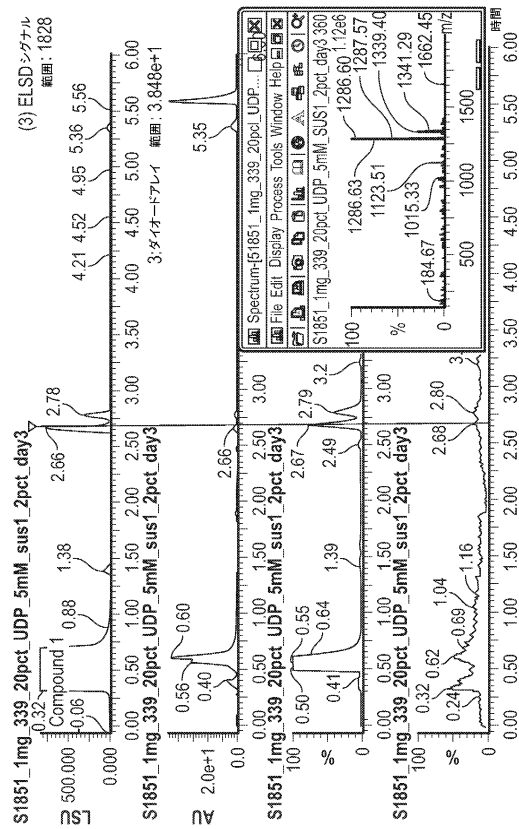
【図 1 2】



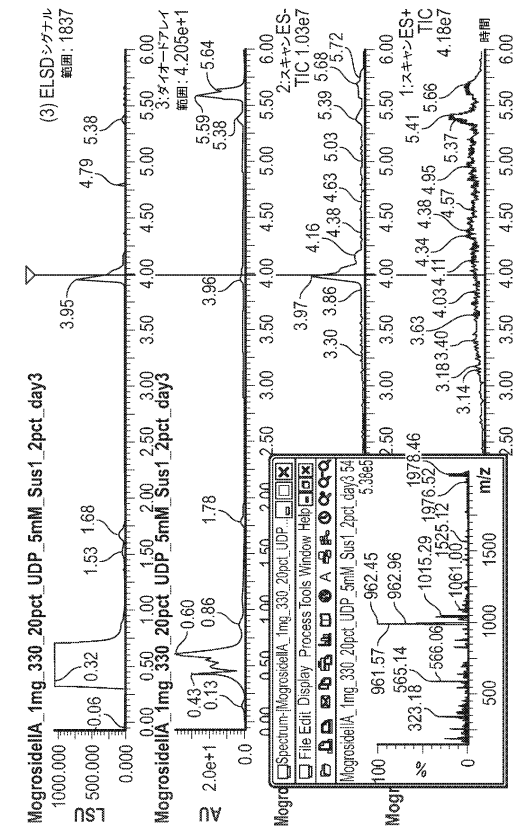
【図 1 3】



【図 1 4】



【図 1 5】



10

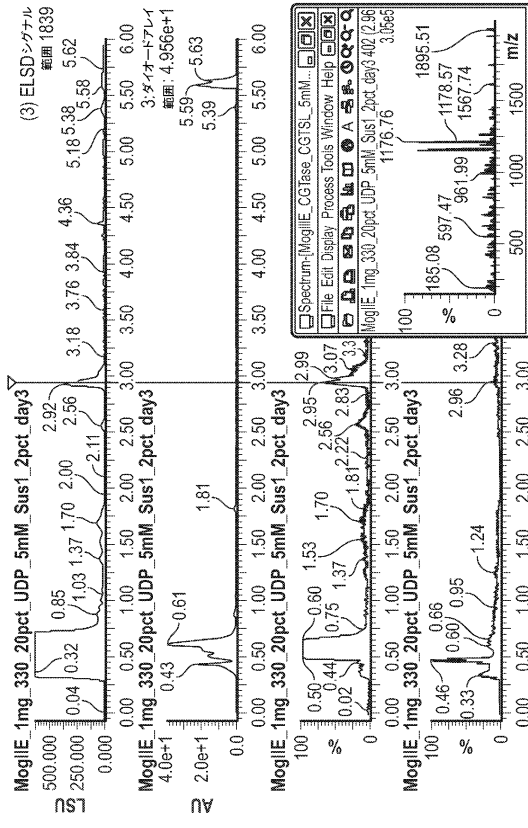
20

30

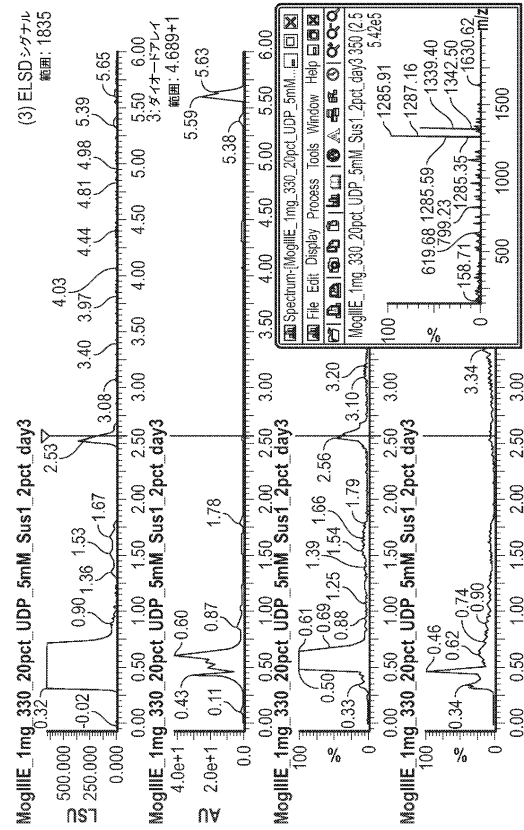
40

50

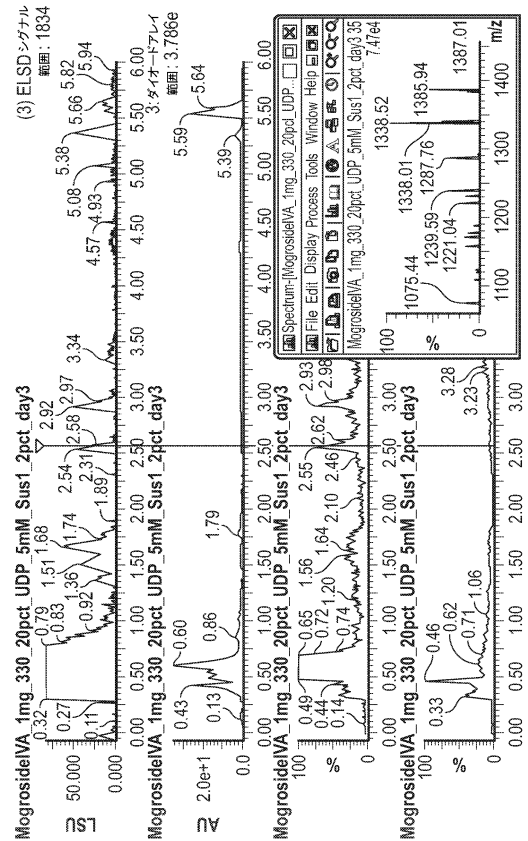
【図 16】



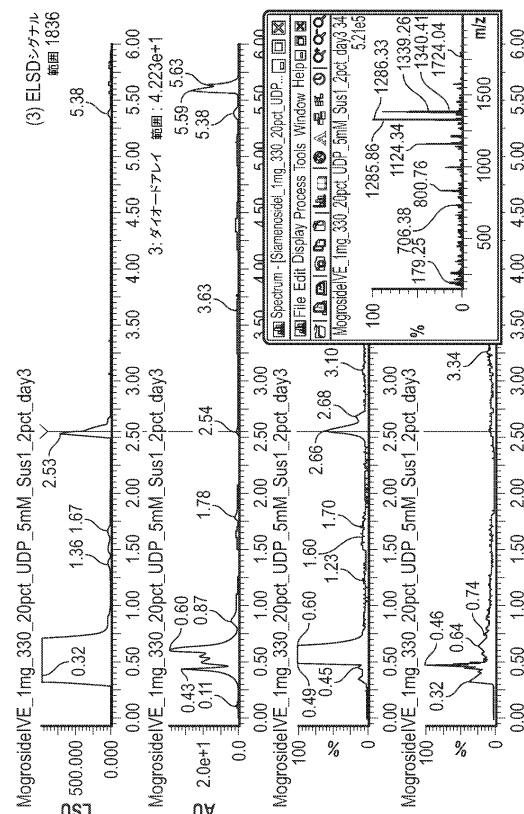
【図 17】



【図 18】



【図 19】



10

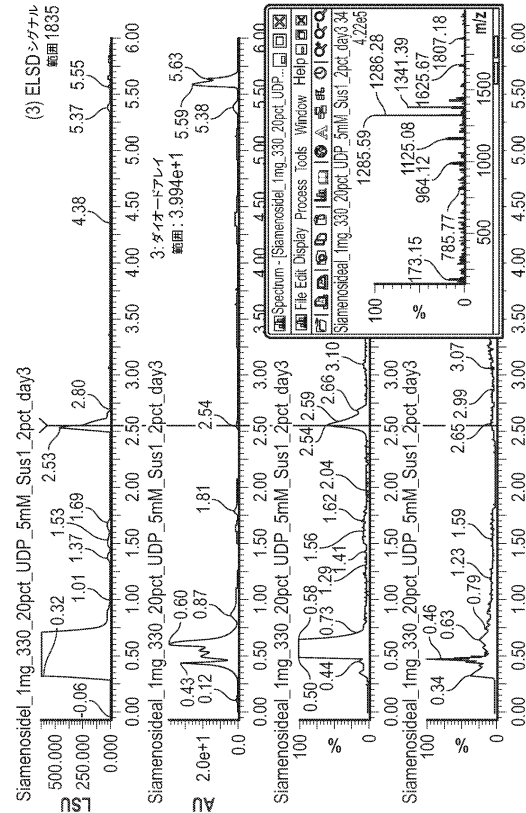
20

30

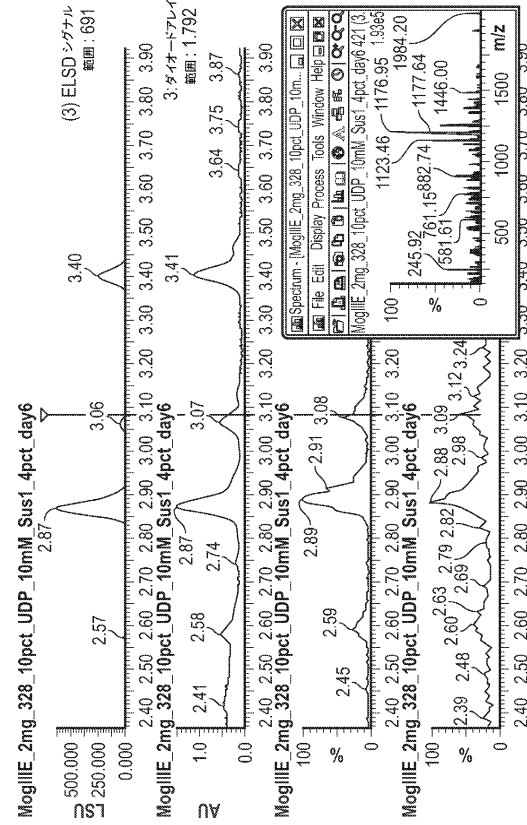
40

50

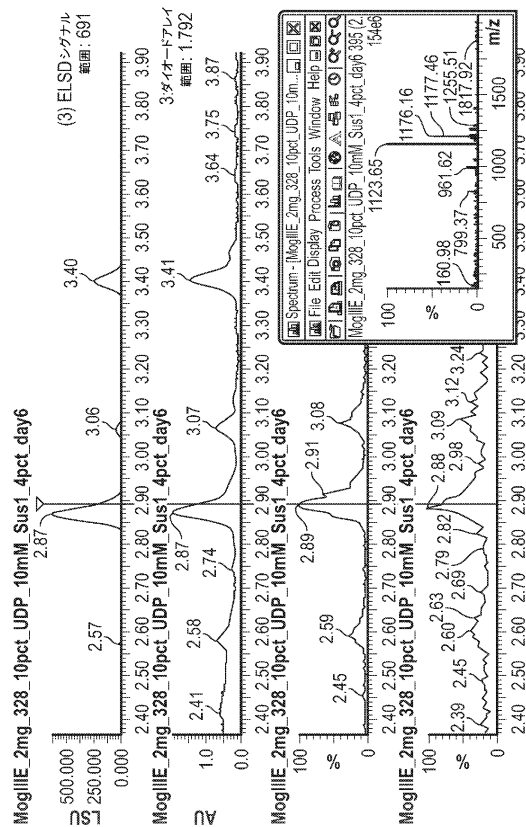
【図 20】



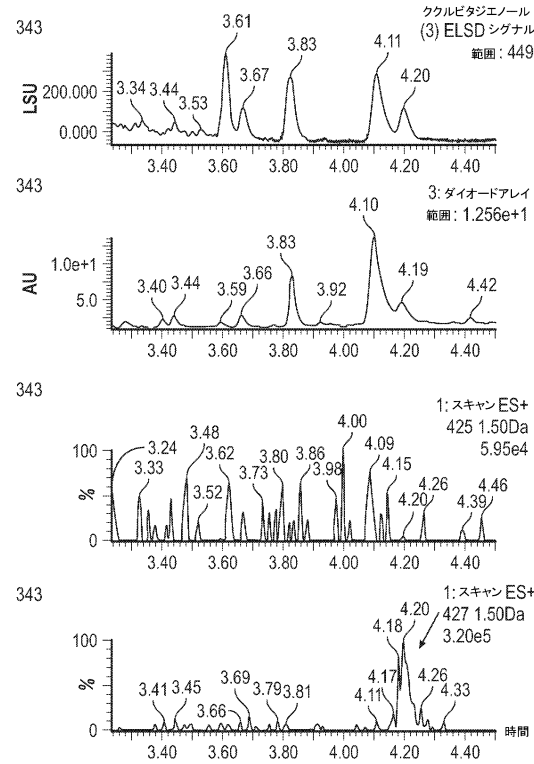
【図 21】



【図 22】



【図 23】



10

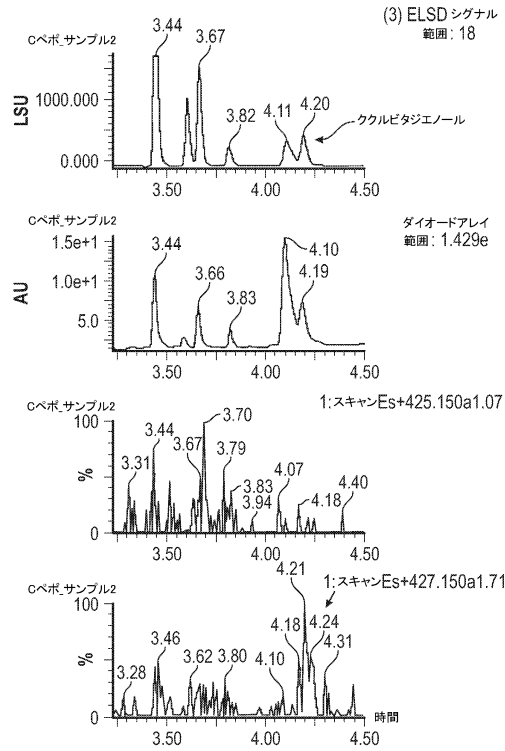
20

30

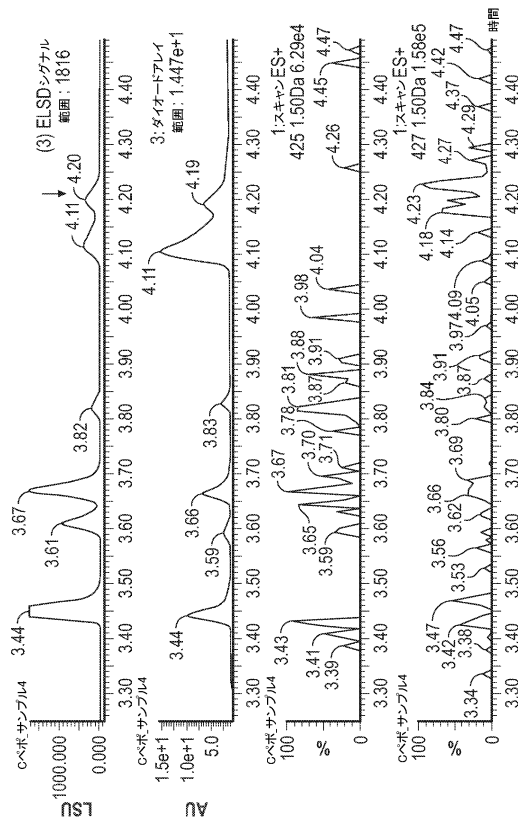
40

50

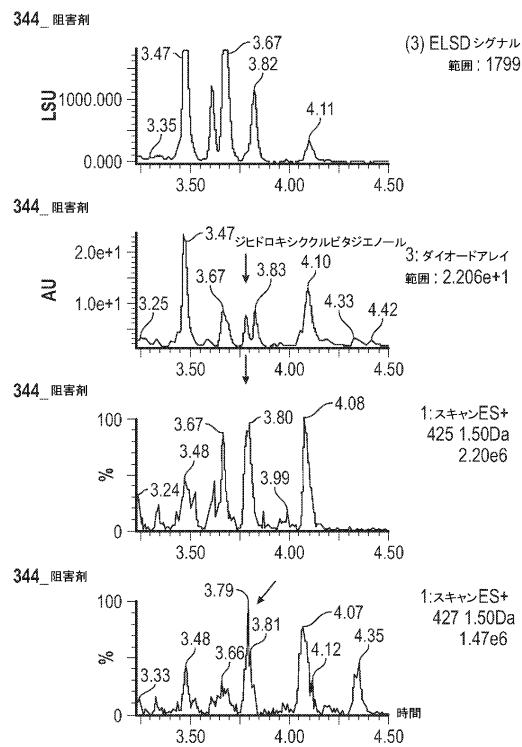
【図 2 4】



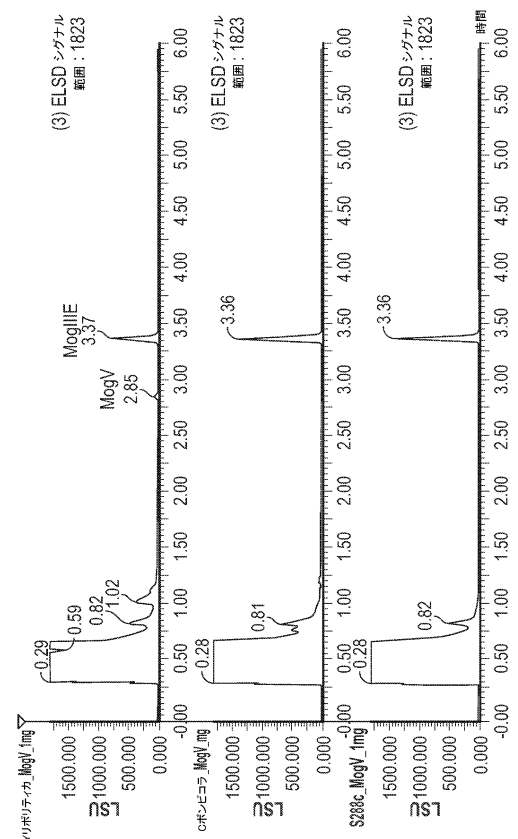
【図 2 5】



【図 2 6】



【図 2 7 A】



10

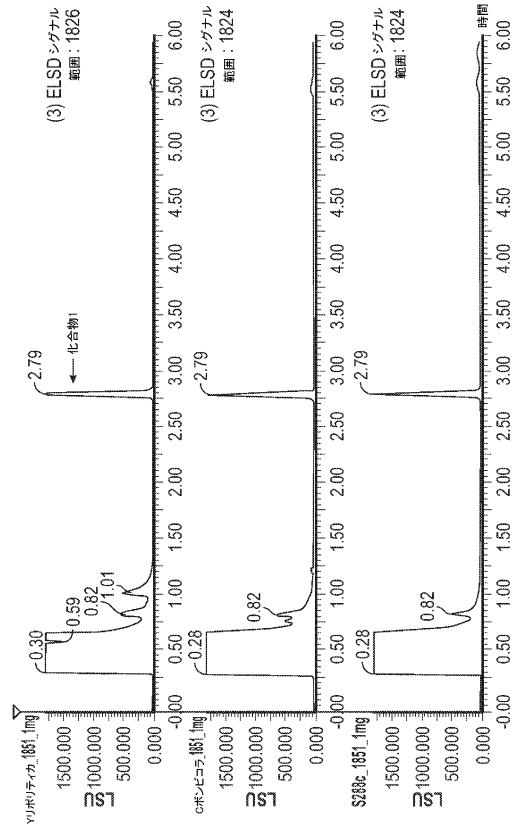
20

30

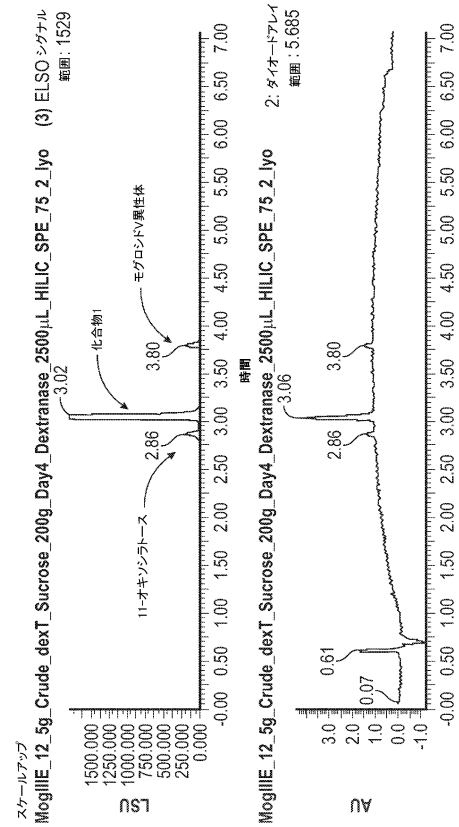
40

50

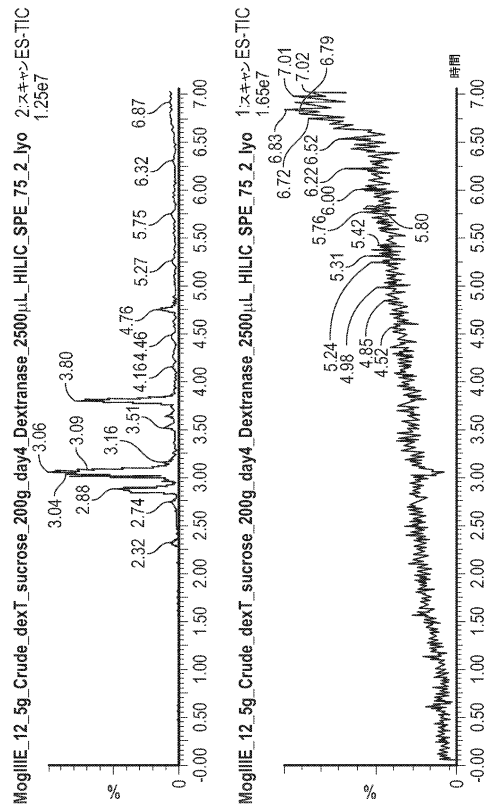
【図 27B】



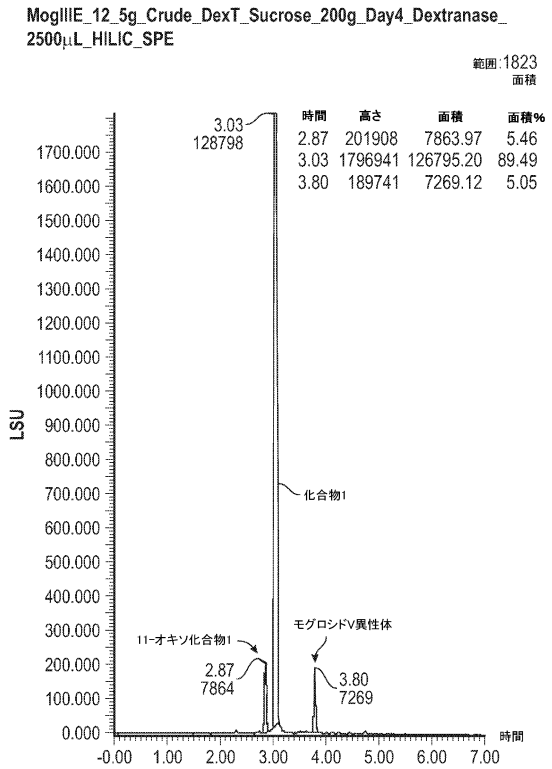
【図 28-1】



【図 28-2】



【図 29】



10

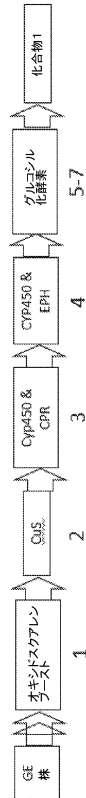
20

30

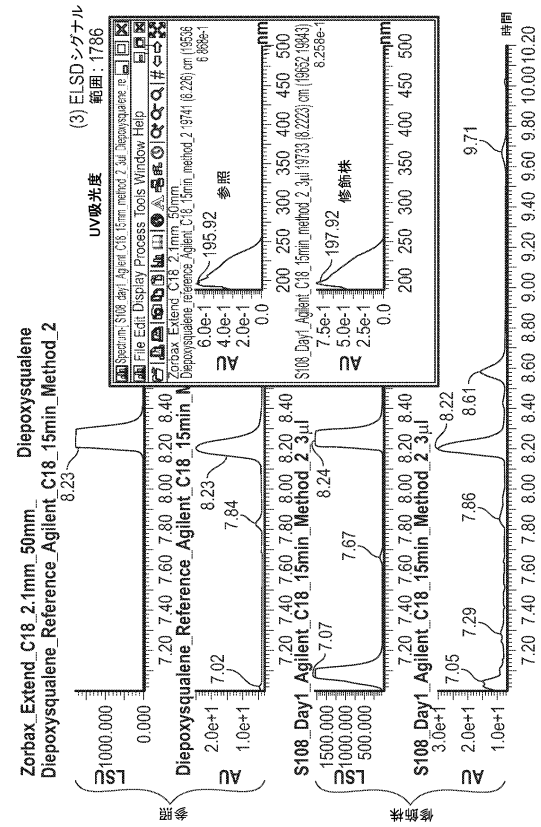
40

50

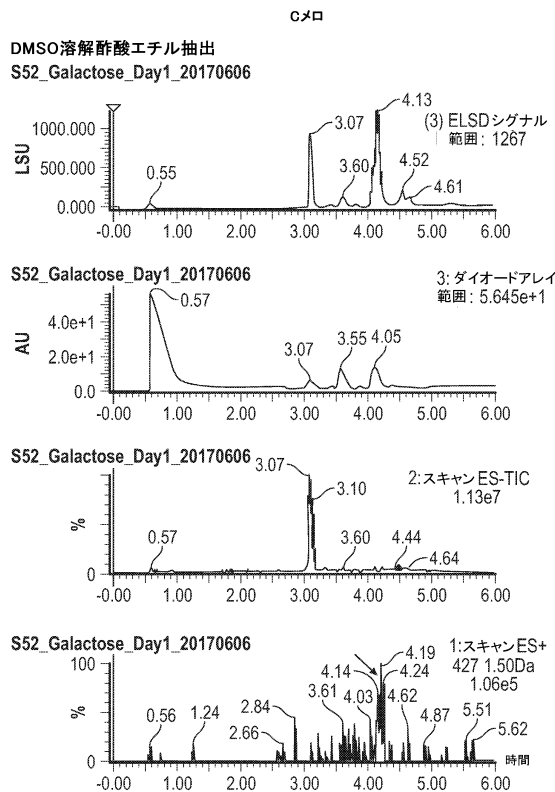
【図 3 0】



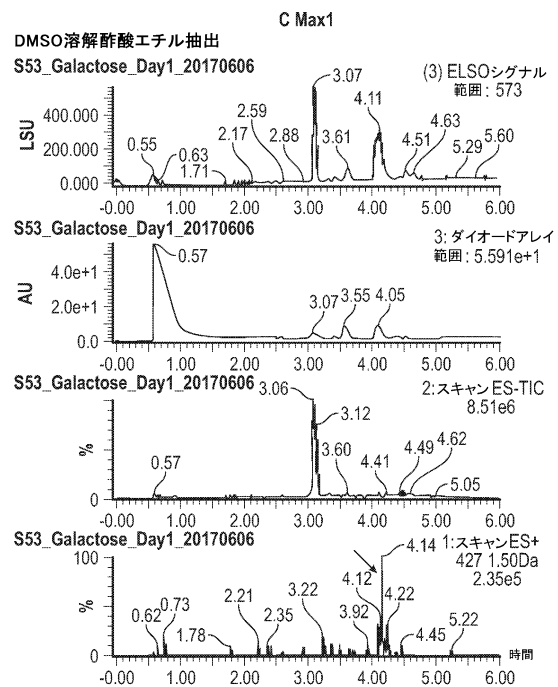
【図 3 1】



【図 3 2 - 1】



【図 3 2 - 2】



10

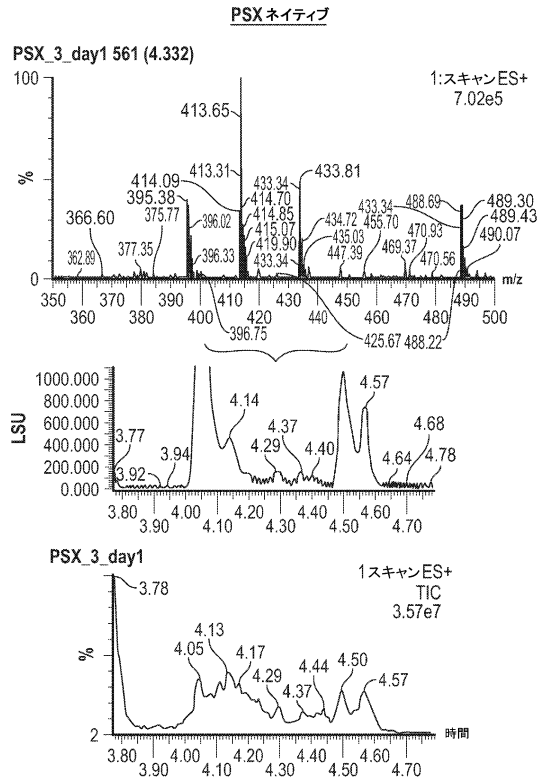
20

30

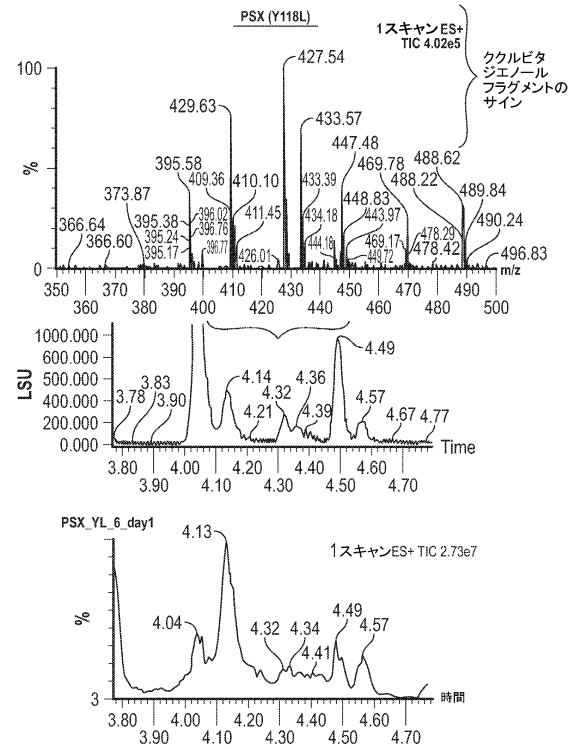
40

50

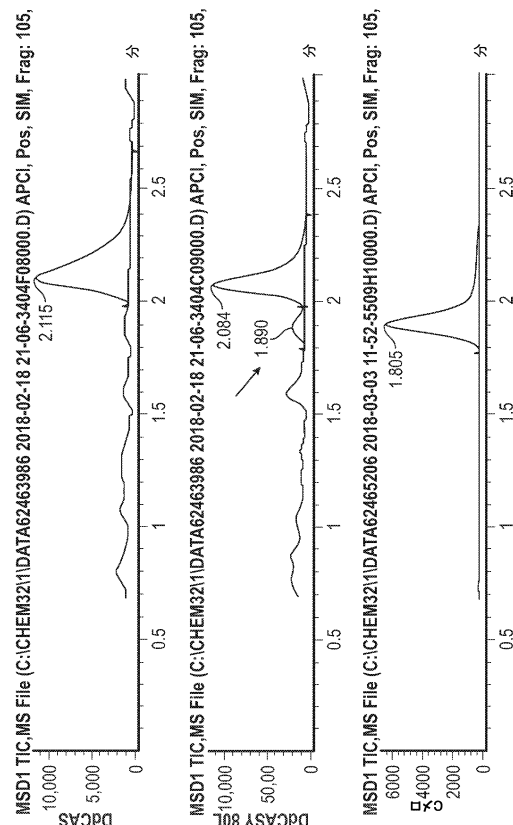
【図 3 3 - 1】



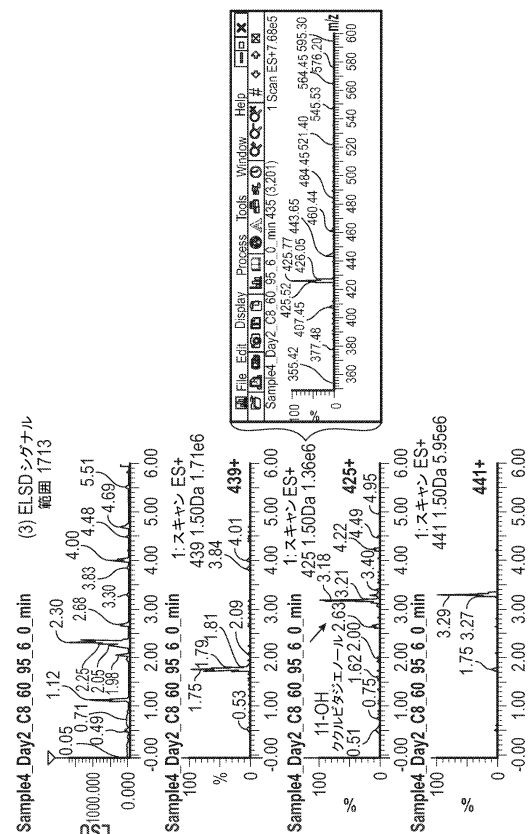
【図 3 3 - 2】



【図 3 4】



【図 3 5】



10

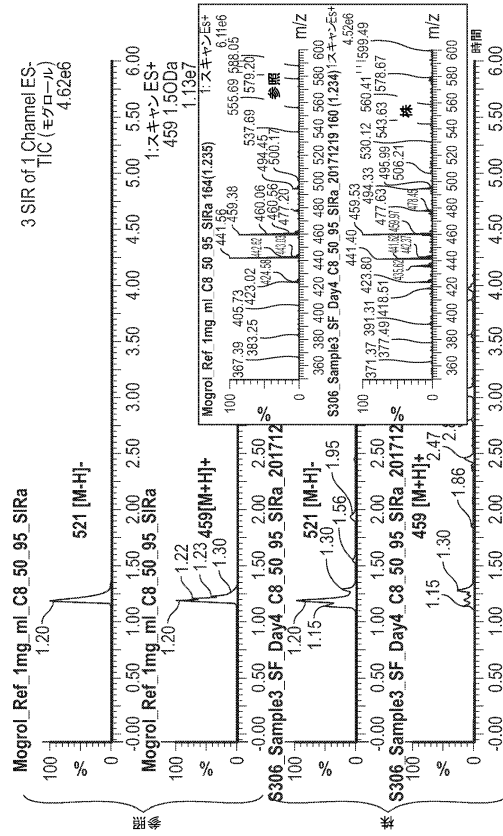
20

30

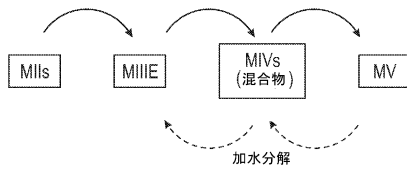
40

50

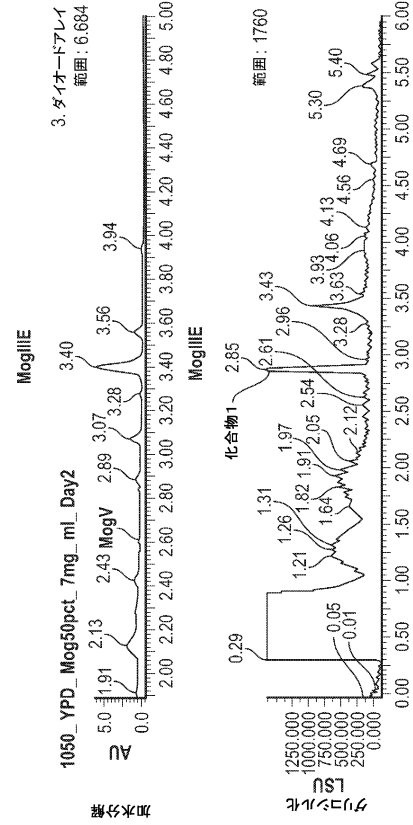
【図 3 6】



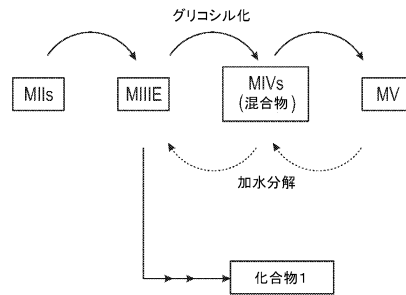
【図 3 8】



【図 3 7】



【図 3 9】



10

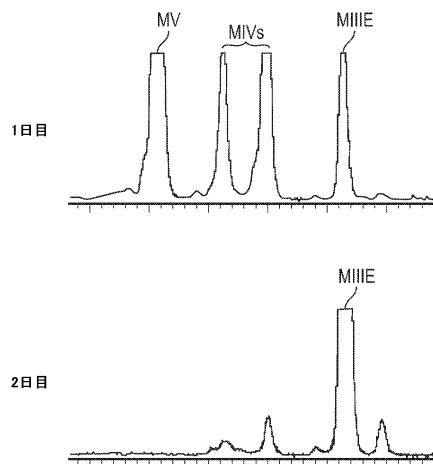
20

30

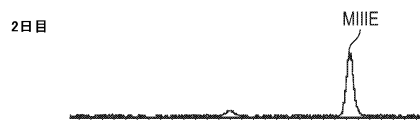
40

50

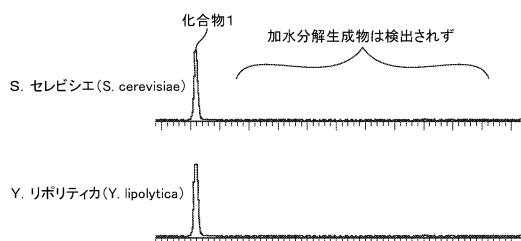
【図 40 A】



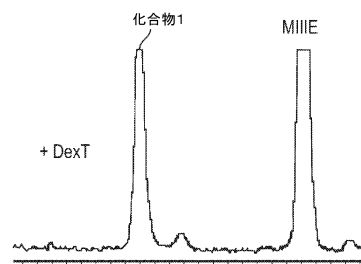
【図 40 B】



【図 41】



【図 42】



10

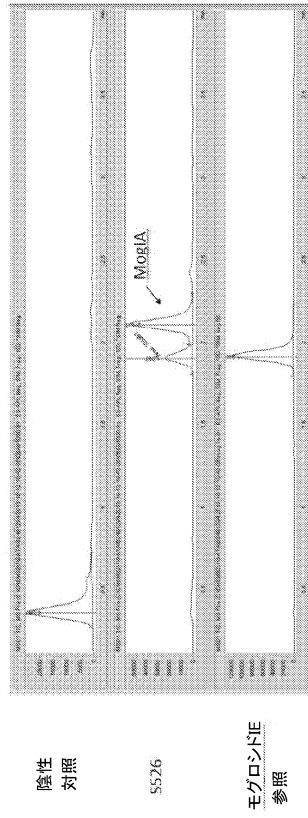
20

30

40

50

【図 4 5 B】



【図 4 6】

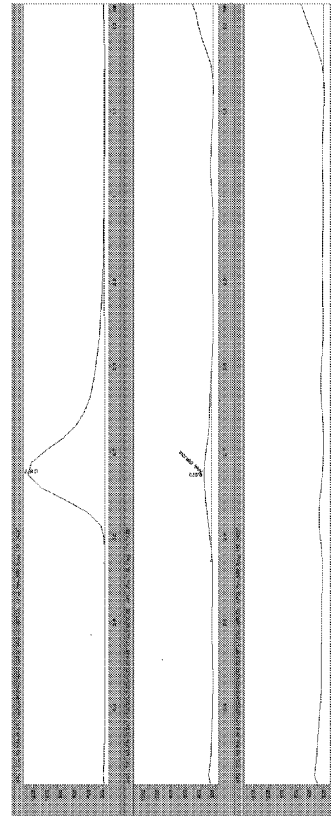


Figure 46

【配列表】

0007642533000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

C 1 2 N 9/10 (2006.01)
C 1 2 N 9/24 (2006.01)

F I

C 1 2 N 9/10
C 1 2 N 9/24

- 弁理士 森田 拓
(74)代理人 100116403
弁理士 前川 純一
(74)代理人 100134315
弁理士 永島 秀郎
(74)代理人 100162880
弁理士 上島 類
(74)代理人 100210099
弁理士 遠藤 太介
(72)発明者 アンドルー ピー. パトロン
アメリカ合衆国 ニュージャージー プレインズボロ プレインズボロ・ロード 250
(72)発明者 クリス エダノ ノリーガ
アメリカ合衆国 ニュージャージー プレインズボロ プレインズボロ・ロード 250
(72)発明者 ラマ ラオ マナム
アメリカ合衆国 ニュージャージー プレインズボロ プレインズボロ・ロード 250
(72)発明者 ジャスティン コルキット
アメリカ合衆国 ニュージャージー プレインズボロ プレインズボロ・ロード 250
(72)発明者 ネイサン フェイバー
アメリカ合衆国 カリフォルニア サンディエゴ アラバマ ストリート 4473 アpartment 16
(72)発明者 ヘルジ ジーラー
アメリカ合衆国 カリフォルニア デル・マー カミノ・デル・マー 1155 ナンバー148
(72)発明者 ジャスティン スティージ
アメリカ合衆国 カリフォルニア サンディエゴ デニグ プレイス 11355
(72)発明者 ダニエル ケイ. オルソン
アメリカ合衆国 カリフォルニア サンディエゴ カミノ・ルイス 10175 ナンバー87
審査官 小倉 梢
(56)参考文献 国際公開第2018/200663 (WO, A1)
特表2017-529860 (JP, A)
特表2015-536157 (JP, A)
(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
C 1 2 P 1/00 - 41/00
C 1 2 N 15/00 - 15/90
C 1 2 N 9/00 - 9/99
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)
UniProt/GeneSeq