(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年3月21日(21.03.2024)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2024/058111 A1

(51) 国際特許分類:
C12Q 1/06 (2006.01) *C12N 15/12* (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01) *G01N 33/15* (2006.01)
C12N 5/0793 (2010.01) *G01N 33/50* (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2023/033021

(22) 国際出願日： 2023年9月11日(11.09.2023)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(30) 優先権データ：
特願 2022-144633 2022年9月12日(12.09.2022) JP

(71) 出願人: 高砂香料工業株式会社 (**TAKASAGO INTERNATIONAL CORPORATION**) [JP/JP]; 〒1448721 東京都大田区蒲田五丁目３７番１号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 村井 正人(**MURAI Masato**); 〒2540073 神奈川県平塚市西八幡一丁目４番１１号 高砂香料工業株式会社内 Kanagawa (JP). 柏木 貴裕(**KASHIWAGI Takahiro**); 〒2540073 神奈川県平塚市西八幡一丁目４番１１号 高砂香料工業株式会社内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 小林 浩, 外 (**KOBAYASHI Hiroshi** et al.); 〒1040028 東京都中央区八重洲二丁目８番７号 福岡ビル９階 阿部・井窪・片山法律事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：
— 国際調査報告（条約第21条(3)）
— 明細書の別個の部分として表した配列リスト（規則5.2(a)）

(54) **Title:** SCREENING METHOD FOR OFFENSIVE ODOR SUPPRESSING MATERIAL

(54) 発明の名称： 悪臭抑制素材のスクリーニング方法

(57) **Abstract:** The present invention provides a method or the like for efficiently screening candidate substances for a hexanal-odor suppressing material. A screening method according to the present invention comprises: adding a test substance and hexanal to a specific olfactory receptor polypeptide; measuring a response of the olfactory receptor polypeptide with respect to the hexanal; and identifying, on the basis of the measured response, that the test substance suppressing a response of the olfactory receptor polypeptide is a candidate substance for a hexanal-odor suppressing material.

(57) 要約：本発明は、ヘキサナール臭抑制素材の候補物質を効率的にスクリーニングする方法等を提供する。本発明のスクリーニング方法は、特定の嗅覚受容体ポリペプチドに、試験物質及びヘキサナールを添加すること；ヘキサナールに対する前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定すること；及び測定された応答に基づいて前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を抑制する試験物質が、ヘキサナール臭抑制素材の候補物質であると同定することを含む方法である。

WO 2024/058111 A1

明　細　書

発明の名称 ： 悪臭抑制素材のスクリーニング方法

技術分野

[0001] 本発明は、悪臭抑制素材の候補物質をスクリーニングする方法に関する。

背景技術

[0002] 近年、消費者の嗜好性の多様化や生活環境の多様化に応じて、身の回りの臭気・悪臭に対して敏感な人が増えている。その範囲は、生活空間中のニオイから食品中に含まれるわずかな異臭（オフフレーバー）に至るまで多岐にわたっており、より有効に不快臭を低減・消臭させる技術が、生活の質の向上のために求められている。

[0003] 生活空間における不快臭の代表的な原因臭として、体臭や生乾き臭、浴室臭、介護臭に含まれるヘキサナール等のアルデヒド臭が挙げられる（特許文献１～３、非特許文献１）。また、一般家庭のリビングでの代表的な臭気の一つであるアルデヒド臭は、リビングの臭気に占める寄与度が高い臭気群とされており、重要な消臭対象と考えられている(非特許文献２)。一般に、体臭に含まれるヘキサナール等のアルデヒド類は、不飽和脂肪酸に由来するとされ、体表面上に存在する常在性微生物や生体内代謝によるリポキシゲナーゼ等の酵素による過酸化反応や分解によって生成するとされる。とりわけ香料業界においては、ヘキサナールは汗臭や腋臭、頭皮臭の再現香料にも用いられる重要な不快臭成分である(特許文献４、５)。さらに、ヘキサナール等のアルデヒド類は、人体から脱落した皮脂や調理時に使用する油が生活空間に常在する微生物によって分解・代謝されることによって発生するだけでなく、空気中の酸素との酸化反応によっても自然発生してしまう(非特許文献２)。

[0004] このように代謝や酸化反応によって生活空間で自然に発生してしまうヘキサナール等のアルデヒド類は、その発生を完全に抑え込むことが困難であり、香料を利用した生活空間内の不快臭を選択的に感じにくくするような匂い

コントロール（マスキング）技術が広く求められている。

[0005] また、ヘキサナールは「青臭いニオイ」と表現され、大豆や乳製品の劣化時に生じるオフフレーバーとしても知られており、食品の嗜好性を低下させる一因にもなっている（非特許文献３、４）。大豆おいては、不飽和脂肪酸に大豆リポキシゲナーゼが作用することで生じた過酸化脂質にヒドロペルオキシドリアーゼが働くことでn-ヘキサナールなどのアルデヒド類が生成し、これが青臭みの原因となる。乳製品においては、生乳が加工・貯蔵される間に乳脂肪に含まれるリノール酸が酵素反応や光酸化を受け、n-ヘキサナールをはじめとするアルデヒド類が発生することで、通常とは異なる臭気を発するようになる。そのため、脂肪酸を含有している以上、食品におけるヘキサナールの発生を完全にゼロにすることは困難であり、飲食時に感じてしまうヘキサナールオフフレーバーを特異的に感じさせなくするような香料素材の探索が重要となる。

[0006] このように、ヘキサナール臭を感じにくくする香料素材の探索は、衣食住の両側面から生活の質の向上のために非常に重要であるが、旧来の不快臭の低減・消臭物質の探索法では、匂いの評価の専門家が、膨大な数の悪臭抑制素材の候補物質を官能評価により一つ一つ確認する必要があり、スループット性が低いという問題点があった。一方、近年確立された分子生物学的な手法では、悪臭原因物質に応答する嗅覚受容体を探索し、その嗅覚受容体の応答を抑制するような悪臭抑制素材を一斉にin vitroでスクリーニングすることで、迅速に悪臭抑制素材を特定できる。

[0007] ヒトの嗅覚受容体は約４００種類が存在し、一つの匂い物質は、多数の嗅覚受容体に応答することが知られているが、応答する受容体の一部はＢｒｏａｄｌｙ　Ｔｕｎｅｄ嗅覚受容体と呼ばれる幅広い匂い物質を区別なく認識する受容体であることが多い。非特許文献５には、ＯＲ１Ａ１，ＯＲ２Ｗ１などの香調を問わず広く応答するＢｒｏａｄｌｙ　Ｔｕｎｅｄ嗅覚受容体について言及・例示されている。特許文献６には、Ｂｒｏａｄｌｙ　Ｔｕｎｅｄ嗅覚受容体ＯＲ１Ａ１，ＯＲ２Ｗ１、ＯＲ１０Ａ６が匂いの感度調整を司

っており、該嗅覚受容体応答を増強または抑制することにより、匂い感度を増強または抑制ができることが開示されている。

[0008] 非特許文献６には、大豆の青臭さの原因となるヘキサナールの感知に関わる嗅覚受容体としてＢｒｏａｄｌｙ　Ｔｕｎｅｄ嗅覚受容体ＯＲ２Ｗ１が開示されており、ＯＲ２Ｗ１応答を抑制するマスキング剤としてα-ピネン等を特定している。

[0009] このように、ヘキサナールに応答するとされる嗅覚受容体は知られているものの、in vitro試験において濃度依存的なヘキサナール応答が示され、かつ、ヘキサナール臭の認識と実際に関連付けられている嗅覚受容体はＢｒｏａｄｌｙ　Ｔｕｎｅｄ嗅覚受容体ＯＲ２Ｗ１のみである。

先行技術文献

特許文献

[0010] 特許文献1：特開平11-286423号公報

特許文献2：特許第4950927号

特許文献3：特開2007-14749号公報

特許文献4：特開2004-263102号公報

特許文献5：特開2011-184469号公報

特許文献6：特開2018-121623号公報

特許文献7：WO2019/230903

特許文献8：WO2021/193429

非特許文献

[0011] 非特許文献1：緒方規矩也，看護・介護現場の快適空間化を目指した「消臭機能の設計」，京都市産業技術研究所 研究報告，No.9，p.73-76 (2014)

非特許文献2：中村 祐子ら，生活環境の異なる家庭における室内臭気成分の実態調査，Indoor Enviroment，Vol. 17，No.1，pp.1-9 (2014)

非特許文献3：Food Sci. Nutr., 2020 Jan 14;8(2):1139-1149.

非特許文献4：Milk Science，Vol. 57，No. 3，2008

非特許文献5：Flavour Fragr. J., 2015, 30, 342-361

非特許文献6：寺田 祐子ら，大豆の青臭さの原因となるn-ヘキサナールの感知に関わる嗅覚受容体の特定，大豆たん白質研究，Vol. 23，p.159-164 （2020）

非特許文献7：Christophe Verbeurgt et.al, PLoS One., 2014. 9(5): e96333 (https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096333)

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0012] 幅広い匂いに応答し、匂いの感度を調整するＢｒｏａｄｌｙ Ｔｕｎｅｄ嗅覚受容体を標的としたマスキング剤の使用は、幅広い匂いを区別なく抑制しうるために、食品中や香料中に含まれる好ましい匂いまでマスキングし、匂い全体を弱く感じさせてしまう可能性を否定できない。このような状況下において、幅広い匂いを区別なく認識するＢｒｏａｄｌｙ Ｔｕｎｅｄ嗅覚受容体ではなく、ヘキサナール臭自体の認識に真に重要な嗅覚受容体群を特定し、ヘキサナール臭抑制素材の候補物質を効率的にスクリーニングする方法等の開発が望まれる。

課題を解決するための手段

[0013] 本発明は、上記状況を考慮してなされたもので、以下に示す、ヘキサナール臭の抑制素材の候補物質をスクリーニングする方法を提供するものである。

[0014] ［１］ヘキサナール臭抑制素材の候補物質をスクリーニング方法であって、

嗅覚受容体ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１、並びに前記各嗅覚受容体が有するアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつ悪臭原因物質ヘキサナールに対して応答性を示すポリペプチドからなる群より選択される少なくとも１種の嗅覚受容体ポリペプチドに、試験物質及びヘキサナールを添加すること；

ヘキサナールに対する前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定すること；及び

測定された応答に基づいて前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を抑制する試験物質が、ヘキサナール臭抑制素材の候補物質であると同定すること
を含む、前記方法。

［２］前記ヘキサナール臭が、ヘキサナールに起因する臭い、又は当該臭いを少なくとも一部に含む臭いであり、場合により、ヒトに不快感を与える臭いであり、さらに場合により、体臭、汗臭、腋臭、頭皮臭、生乾き臭、浴室臭、介護臭、及び、大豆又は乳製品の劣化臭のうちの１種以である、［１］に記載の方法。

［３］前記嗅覚受容体を発現している生体から単離された細胞上、又は前記嗅覚受容体を遺伝子操作により人為的に発現させた細胞上でヘキサナール臭原因物質に対する前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定する、［１］又は［２］に記載の方法。

［４］嗅覚受容体ポリペプチドの応答を、レポーターアッセイ又はカルシウムイメージングにより測定する、［１］～［３］のいずれか１つに記載の方法。

発明の効果

[0015] 本発明の方法を用いることにより、ヘキサナールと嗅覚受容体ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１との結合を阻害しうるヘキサナール臭抑制素材の候補物質をスクリーニングすることができる。

図面の簡単な説明

[0016] [図1]ヘキサナールに対する嗅覚受容体ＯＲ２Ｃ１の応答の測定結果を示す図である。

[図2]ヘキサナールに対する嗅覚受容体ＯＲ２Ｊ２の応答の測定結果を示す図である。

[図3]ヘキサナールに対する嗅覚受容体ＯＲ２Ｊ３の応答の測定結果を示す図である。

[図4]ヘキサナールに対する嗅覚受容体ＯＲ５Ｋ１の応答の測定結果を示す図

である。

[図5]ヘキサナールに対する嗅覚受容体ＯＲ５Ｐ３の応答の測定結果を示す図である。

[図6]ヘキサナールに対する嗅覚受容体ＯＲ５１Ｅ１の応答の測定結果を示す図である。

[図7]ヘキサナール臭抑制素材ベーターカリオフィレンオキシドの添加による、ヘキサナールに対する嗅覚受容体ＯＲ２Ｃ１における応答抑制効果を示す図である。

[図8]ヘキサナール臭抑制素材乳酸メンチルの添加による、ヘキサナールに対する嗅覚受容体ＯＲ２Ｊ２における応答抑制効果を示す図である。

[図9]ヘキサナール臭抑制素材ヌートカトンの添加による、ヘキサナールに対する嗅覚受容体ＯＲ２Ｊ３における応答抑制効果を示す図である。

[図10]ヘキサナール臭抑制素材ベーターカリオフィレンオキシドの添加による、ヘキサナールに対する嗅覚受容体ＯＲ５Ｋ１における応答抑制効果を示す図である。

[図11]ヘキサナール臭抑制素材乳酸メンチルの添加による、ヘキサナールに対する嗅覚受容体ＯＲ５Ｐ３における応答抑制効果を示す図である。

[図12]ヘキサナール臭抑制素材ベーターカリオフィレンオキシドの添加による、ヘキサナールに対する嗅覚受容体ＯＲ５１Ｅ１における応答抑制効果を示す図である。

発明を実施するための形態

[0017] 本発明の概要

本明細書は、本願優先権主張の基礎となる特願2022-144633号明細書（令和4年（2022年）9月12日付け出願）の全体を包含する。また、本明細書において引用される全ての刊行物、例えば先行技術文献、及び公開公報、特許公報その他の特許文献は、参照として本明細書に組み込まれる。

[0018] 本発明においては、ヘキサナールに対して濃度依存的に応答を示す真の嗅覚受容体群を探索し、該ヘキサナール臭抑制素材の候補物質を効率的にスク

リーニングする方法、ひいては、該ヘキサナール臭の不快さを低減するヘキサナール臭抑制組成物を提供する。

[0019] 本発明者は、約４００種類存在するヒト嗅覚受容体の中の特定の受容体、すなわちＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３、及びＯＲ５１Ｅ１が、悪臭原因物質ヘキサナールに対して濃度依存的に応答を示すことを新たに見出した。また、ヒト嗅覚による官能試験において、ヘキサナール臭抑制能が実証されている既知のヘキサナール臭抑制素材が、上記特定の嗅覚受容体を抑制しているという新規知見も見出し、上記特定の嗅覚受容体群がヘキサナール臭の認識に重要な真の嗅覚受容体群であると特定した。それにより、嗅覚受容体アンタゴニストのマスキング効果によるヘキサナール臭抑制素材の評価及び選択が可能となる。本発明はこのような新規知見に基づいて見出されたものである。

[0020] 以下、本発明に係るヘキサナール臭抑制素材の候補物質のスクリーニング方法（以下、本発明のスクリーニング方法という）について具体的に説明する。

前述したとおり、本発明のスクリーニング方法は、以下の工程：

ヒト嗅覚受容体ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１、及び前記各嗅覚受容体が有するアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつヘキサナールに対して応答性を示すポリペプチドからなる群より選択される少なくとも１種の嗅覚受容体ポリペプチドに、試験物質及びヘキサナールを添加すること；

ヘキサナールに対する前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定すること；及び

測定された応答に基づいて前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を抑制する試験物質が、ヘキサナール臭抑制素材の候補物質であると同定すること

を含むものである。本発明は、例えば、以下の実施形態にしたがって実施することができる。

[0021] 一実施形態として、本発明は、悪臭原因物質ヘキサナールに対して応答性

を示すＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１を用いて、試験物質の中からヘキサナール臭抑制素材の候補物質をスクリーニングする方法であって、

（ｉ）　嗅覚受容体ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１、及び前記各嗅覚受容体が有するアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつヘキサナールに対して応答性を示すタンパク質（ポリペプチド）からなる群より選択される嗅覚受容体とヘキサナールとを接触させ、ヘキサナールを接触させる以前の嗅覚受容体の基礎活性応答（T0）およびヘキサナール接触後の任意の時間でのヘキサナールに対する嗅覚受容体の応答（Ｔｘ）を測定する工程と、

（ｉｉ）　工程（ｉ）における測定結果のヘキサナールを接触させる以前の嗅覚受容体の基礎活性応答（T0）とヘキサナール接触後の任意の時間でのヘキサナールに対する嗅覚受容体の応答（Ｔｘ）とを比較して、応答性の変化値を計算して求める工程と、

（ｉｉｉ）　工程（ｉ）においてヘキサナールに試験物質を混合して、工程（ｉｉ）と同様に応答性の変化値を計算して求める工程と、

（ｉｖ）　工程（ｉｉ）と比較して工程（ｉｉｉ）の値が低減した試験物質を、ヘキサナール臭抑制素材の候補物質として選択する工程と

を含むことを特徴としている。

[0022]　本発明のスクリーニング方法は、嗅覚受容体ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１、及び前記各嗅覚受容体が有するアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつヘキサナールに対して応答性を示すタンパク質（ポリペプチド）からなる群より選択される嗅覚受容体に対する試験物質の応答性を指標として、試験物質の中からヘキサナール臭抑制素材の候補物質を選択するものである。

[0023]　in vitro嗅覚受容体アッセイでは、一般に、嗅覚受容体の発現量は全て同一であるという前提の下で評価されており、１嗅覚受容体単位当たりでは応

答値が高いものほど高感度の嗅覚受容体と考えられる。しかしながら、ヒト嗅上皮に実際に発現している嗅覚受容体の発現量は嗅覚受容体の種類により様々であり、in vitroアッセイで強応答であった嗅覚受容体が、必ずしもヒト嗅上皮に存在する嗅神経細胞において匂い感覚を強く脳中枢に伝えているとは限らない。従って、in vitro嗅覚受容体アッセイによって匂い物質に対する応答値が小さい嗅覚受容体であったとしても、実際のヒト嗅上皮で発現量の多い嗅覚受容体を発現する嗅神経細胞では、匂い刺激による応答が強くなり、匂い認識に大きく寄与していることが推測される。前掲の非特許文献７によれば、実際のヒトにおける嗅覚受容体の発現量は、Ｂｒｏａｄｌｙ Ｔｕｎｅｄ嗅覚受容体のＯＲ２Ｗ１では平均発現量６±１３と非常に少なく、一方、本願発明者らが鋭意検討の末に特定したヘキサナール嗅覚受容体の平均発現量は、ＯＲ２Ｃ１で平均値７８、ＯＲ２Ｊ２で平均値３７、ＯＲ２Ｊ３で平均値８２、ＯＲ５Ｋ１で平均値５９８、ＯＲ５Ｐ３で平均値７５２、ＯＲ５１Ｅ１で平均値１７０と開示されており、特定した全ての嗅覚受容体で総じて発現量が多く、ヒト嗅覚におけるヘキサナール臭認識に寄与度の高い嗅覚受容体であることが分かる。このことから、ヘキサナール嗅覚受容体ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１をターゲットとして試験物質の応答性を評価することによって、試験物質の中からヘキサナールが嗅覚受容体と結合することを妨げることができる候補物質を選択することができる。なお、本明細書において、「試験物質」とは、特に限定するものではないが、ヘキサナール臭抑制効果の調査対象をいい、化合物、組成物又は混合物をいうものとする。また、本明細書において「ヘキサナール臭抑制素材」とは、特に限定するものではないが、ヘキサナール臭を抑制することができる化合物、組成物又は混合物をいうものとする。以下、本発明のスクリーニング方法の各工程（前述の工程（ｉ）～（ｖ））について説明する。

[0024] ＜工程（ｉ）＞

工程（ｉ）では、嗅覚受容体ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ

５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１、及び前記各嗅覚受容体が有するアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつヘキサナールに対して応答性を示すタンパク質（ポリペプチド）からなる群より選択される嗅覚受容体とヘキサナールを接触させ、ヘキサナールを接触させる以前の嗅覚受容体の基礎活性応答（T0）およびヘキサナール接触後の任意の時間でのヘキサナールに対する嗅覚受容体の応答（Ｔｘ）を測定する。

[0025] 嗅覚受容体としては、ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１、及び前記各嗅覚受容体が有するアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつヘキサナールに対して応答性を示すタンパク質（ポリペプチド）からなる群より選択される嗅覚受容体が用いられる。

ＯＲ２Ｃ１は、NCBI（GenBank）のウェブサイト（http://www.ncbi.nlm.nih.gov/）に「Accession number：NM_012368.2」や「Accession number：NP_036500.2」として登録されており、配列番号１で示される塩基配列の第５３番目から第９９１番目のＤＮＡによってコードされるアミノ酸配列（配列番号２）からなるタンパク質（ポリペプチド）である。

[0026] ＯＲ２Ｊ２は、NCBI（GenBank）のウェブサイトに「Accession number：NM_030905.2」や「Accession number：NP_112167.2」として登録されており、配列番号３で示される塩基配列の第１０３番目から第１０４１番目のＤＮＡによってコードされるアミノ酸配列（配列番号４）からなるタンパク質（ポリペプチド）である。

ＯＲ２Ｊ３は、NCBI（GenBank）のウェブサイトに「Accession number：NM_001005216.3」や「Accession number：NP_001005216.2」として登録されており、配列番号５で示される塩基配列の第８２番目から第１０１７番目のＤＮＡによってコードされるアミノ酸配列（配列番号６）からなるタンパク質（ポリペプチド）である。

[0027] ＯＲ５Ｋ１は、NCBI（GenBank）のウェブサイトに「Accession number：NM_001004736.3」や「Accession number：NP_001004736.2」として登録されて

おり、配列番号７で示される塩基配列の第９８番目から第１０２４番目のＤＮＡによってコードされるアミノ酸配列（配列番号８）からなるタンパク質（ポリペプチド）である。

ＯＲ５Ｐ３は、NCBI（GenBank）のウェブサイトに「Accession number：NM_153445.2」や「Accession number：NP_703146.1」として登録されており、配列番号９で示される塩基配列の第３９番目から第９７４番目のＤＮＡによってコードされるアミノ酸配列（配列番号１０）からなるタンパク質（ポリペプチド）である。

[0028] ＯＲ５１Ｅ１は、NCBI（GenBank）のウェブサイトに「Accession number：NM_152430.3」や「Accession number：NP_689643.2」として登録されており、配列番号１１で示される塩基配列の第１４５番目から第１１０１番目のＤＮＡによってコードされるアミノ酸配列（配列番号１２）からなるタンパク質（ポリペプチド）である。

該嗅覚受容体ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１は、ヘキサナール臭に選択的に応答することから、ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１を用いたスクリーニング方法は、ヘキサナール臭抑制素材の開発に貢献できるものである。

[0029] 嗅覚受容体として、ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１、及び前記各嗅覚受容体が有するアミノ酸配列と８０％以上、好ましくは８５％以上、より好ましくは９０％以上、さらに好ましくは９５％以上、特に好ましくは９８％以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつヘキサナールに対して応答性を示すタンパク質（ポリペプチド）からなる群より選択される嗅覚受容体を用いてもよい。なお、本明細書においてアミノ酸配列の配列同一性は、ＢＬＡＳＴ検索アルゴリズム（ＮＣＢＩより公に入手できる）によって算出される。

嗅覚受容体は、一種で用いてもよく、二種以上を組み合わせて用いてもよい。

[0030] 本発明において、ヘキサナール臭とは、ヘキサナールに起因する臭い、又は当該臭いを少なくとも一部に含む臭いであり、好ましくはヒトに不快感を与える臭いであればよく、限定はされないが、例えば、体臭、汗臭、腋臭、頭皮臭、生乾き臭、浴室臭、介護臭、及び、大豆又は乳製品の劣化臭などが挙げられる。

[0031] 本発明において嗅覚受容体とヘキサナールとを接触させ、ヘキサナール臭に対する嗅覚受容体の応答を測定する方法は特に制限されない。例えば、嗅覚受容体を発現している生体から単離された細胞上でヘキサナールと接触させ、嗅覚受容体の応答を測定してもよいし、嗅覚受容体を遺伝子操作により人為的に発現させた細胞上でヘキサナールと接触させ、嗅覚受容体の応答を測定してもよい。嗅覚受容体とヘキサナールを接触させる時間は、ヘキサナールの濃度や測定方法にも依存するため一概には言えないが、本発明におけるルシフェラーゼアッセイ法においては０～６０分、好ましくは０～３０分、カルシウムイメージング法では数秒から数分程度である。

[0032] 嗅覚受容体を遺伝子操作により人為的に発現させた細胞は、嗅覚受容体をコードする遺伝子を組み込んだベクターを用いて細胞を形質転換することで作製することができる。

[0033] 本発明の好ましい態様では、嗅覚受容体と共に、ウシロドプシンのＮ末端２０アミノ酸残基を組み込んでもよい。ウシロドプシンのＮ末端２０アミノ酸残基を組み込むことにより、嗅覚受容体の細胞膜発現を促進することができる。

ウシロドプシンは、NCBI（GenBank）のウェブサイトに「Accession number：NM_001014890.2」や「Accession number：NP_001014890.1」として登録されている。ウシロドプシンは、配列番号１３で示される塩基配列の第１番目から第１０４７番目のＤＮＡによってコードされるアミノ酸配列（配列番号１４）からなるタンパク質（ポリペプチド）である。

また、ウシロドプシンに代えて、配列番号１４で示されるアミノ酸配列と８０％以上、好ましくは８５％以上、より好ましくは９０％以上、さらに好

ましくは９５％以上、特に好ましくは９８％以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつ嗅覚受容体の細胞膜発現を促進することができるタンパク質（ポリペプチド）を用いてもよい。

なお、嗅覚受容体の細胞膜発現を促進できるものであれば、ウシロドプシンに限らず、他のタンパク質（ポリペプチド）のアミノ酸残基を用いてもよい。

[0034] 嗅覚受容体の応答を測定する方法は特に制限されず、当分野で用いられている任意の方法を用いることができる。例えば、香気化合物が嗅覚受容体へ結合すると、細胞内のＧタンパク質を活性化し、Ｇタンパク質がアデニル酸シクラーゼを活性化して、ＡＴＰを環状ＡＭＰ（ｃＡＭＰ）へと変換し、細胞内のｃＡＭＰ量を増加させることが知られている。したがって、ｃＡＭＰ量を測定することで嗅覚受容体の応答を測定することができる。ｃＡＭＰ量を測定する方法としては、ＥＬＩＳＡ法やレポーターアッセイ法等が用いられる。中でも、ルシフェラーゼなどの発光物質を用いたレポーターアッセイ法により嗅覚受容体の応答を測定することが好ましい。

[0035] ＜工程（ｉｉ）＞

工程（ｉｉ）では、工程（ｉ）における測定結果のヘキサナールを接触させる以前の嗅覚受容体の基礎活性応答（T0）とヘキサナール接触後の任意の時間でのヘキサナールに対する嗅覚受容体の応答（Ｔｘ）とを比較して、応答性の変化値を計算して求める。

本発明の一実施態様によれば、応答性の変化は、工程（ｉ）におけるヘキサナール接触後の任意の時間でのヘキサナールに対する嗅覚受容体の応答（Ｔｘ）を、ヘキサナールを接触させる以前の嗅覚受容体の基礎活性応答（T0）における測定結果で割ることで求められるＦｏｌｄ　Ｉｎｃｒｅａｓｅ値を指標として評価してもよい。例えば、ルシフェラーゼなどの発光物質を用いたレポーターアッセイ法により嗅覚受容体の応答を測定する場合、Ｆｏｌｄ　Ｉｎｃｒｅａｓｅ値が好ましくは１以上、より好ましくは1.2以上、さらに好ましくは2以上となる濃度の悪臭原因物質を使用して評価することができる

。

[0036] ＜工程（ｉｉｉ）＞

工程（ｉｉｉ）では、工程（ｉ）においてヘキサナールに試験物質を混合して、工程（ｉｉ）と同様に応答性の変化値を計算して求める。

[0037] ＜工程（ｉｖ）＞

工程（ｉｖ）では、工程（ｉｉ）で求めた変化値と比較して工程（ｉｉｉ）で求めた変化値が低減した試験物質を、悪臭抑制素材の候補物質として選択する。

本発明では、工程（ｉｉ）及び（ｉｉｉ）における測定結果を比較して応答性の変化値の低減が見られた場合、工程（ｉｉｉ）で用いた試験物質を、悪臭抑制素材の候補物質として評価することができる。

本発明では、工程（ｉｉ）及び（ｉｉｉ）における変化値の測定結果を比較して応答性の変化値の低減が見られた場合、工程（ｉｉｉ）で用いた試験物質を、悪臭抑制素材の候補物質として評価することができる。

[0038] 上記のようにして、試験物質の中からヘキサナール臭抑制素材の候補物質をスクリーニングすることができる。本発明によれば、人間の嗅覚によって行う官能評価による嗅覚疲労や個人差などによる問題を生じることなく、多数の試験物質の中からヘキサナール臭抑制素材の候補物質を選択することができる。

選択された物質は、ヘキサナール臭抑制素材の候補物質として用いることができる。選択された物質を基に必要に応じて改変等を行い、最適な匂いのする新規な化合物を開発することもできる。さらには、選択された物質を他の香料素材とブレンドしてヘキサナール臭を抑制することができ、かつ最適な匂いのする香料素材を開発することも可能である。本発明のスクリーニング方法を用いることにより、ヘキサナール臭抑制素材としての新しい香料素材を開発することができる。

実施例

[0039] 以下、実施例を挙げて本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれら

の実施例に何ら制限されるものではない。

[0040] ［実施例１］

嗅覚受容体ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１がヘキサナールに応答することの確認

[0041] （１） 嗅覚受容体遺伝子クローニング

ヒト嗅覚受容体遺伝子は、前述したNCBI(GenBank)のウェブサイトに登録されている塩基配列情報（配列番号１、３、５、７、９及び１１を参照）を基に、Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｏｍｉｃ ＤＮＡ： Ｆｅｍａｌｅ（Ｐｒｏｍｅｇａ社）よりＰＣＲ法にてクローニングすることで得た。ｐＭＥ１８Ｓベクターにウシロドプシンのｎ末端２０アミノ酸残基をコードするＤＮＡ（配列番号１３の塩基配列の第１番目～第６０番目の塩基からなるＤＮＡ）を組み込み、さらにその下流に、得られたヒト嗅覚受容体遺伝子を組み込むことで、ヒト嗅覚受容体遺伝子発現ベクターを得た。

[0042] （２） ヘキサナールに応答する嗅覚受容体遺伝子の発現スクリーニング

ヒト嗅覚受容体遺伝子発現ベクター０．０５μｇ、ＲＴＰ１Ｓベクター０．０１μｇ、ＣＭＶプロモーターを含むホタルルシフェラーゼベクターｐＧｌｏＳｅｎｓｏｒ™－２２Ｆ ｃＡＭＰ Ｐｌａｓｍｉｄ（Ｐｒｏｍｅｇａ社）０．０１μｇをＯｐｔｉ－ＭＥＭ Ｉ（ｇｉｂｃｏ社）１０μＬに溶解して遺伝子溶液（１穴分）とした。ＨＥＫ２９３Ｔ細胞を、２４時間後にサブコンフルエントに達する細胞数で９６穴プレート（Ｂｉｏｃｏａｔ、Ｃｏｒｎｉｎｇ社）に１００μＬずつ播種し、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ ３０００の使用法に従ってリポフェクション法によって遺伝子溶液を各穴に添加して、細胞に遺伝子導入を行い、３７℃、５％二酸化炭素雰囲気下で２４時間培養した。培養液を除去後、ＨＥＰＥＳバッファーで１回洗浄し、ＦＢＳ含有ＨＥＰＥＳバッファーにて所定濃度に調整したＧｌｏＳｅｎｓｏｒ™ ｃＡＭＰ Ｒｅａｇｅｎｔ（Ｐｒｏｍｅｇａ社）１００μＬを各穴に添加して室温下で２時間静置した。その後、３００μＭ $CuCl_2$およびＦＢＳ含有ＨＥＰＥＳバッファーにて調製したヘキサナール１０ｍＭ溶液を各穴に

１０μＬずつ添加し、添加直後から1分毎にルシフェラーゼ活性の応答値の経時変化を測定することで、ヘキサナールに対するヒト嗅覚受容体約４００種類の応答を取得した。嗅覚受容体の応答強度は、ヘキサナールの刺激後に生じたルシフェラーゼ活性の最大応答値を、ヘキサナールの刺激前のルシフェラーゼ活性で割ることで求められるＦｏｌｄ　Ｉｎｃｒｅａｓｅ値で表現した。これにより、ヘキサナールに応答する嗅覚受容体候補として、ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１を特定できた。その後、最終濃度の１０倍濃度になるよう検体の香気化合物を３００μＭ　$CuCl_2$およびＦＢＳ含有ＨＥＰＥＳバッファーにて調製し、本香気化合物刺激液を各穴に１０μＬずつ添加し、添加直後から1分毎にルシフェラーゼ活性の経時変化を測定することで、香気化合物に対するヒト嗅覚受容体約４００種類の応答を取得した。嗅覚受容体の応答強度は、香気化合物の刺激によって生じたルシフェラーゼ活性の最大値を、香気化合物の刺激前のルシフェラーゼ活性で割ることで求められるＦｏｌｄ　Ｉｎｃｒｅａｓｅ値で表現した。

[0043]（３）　ヘキサナールに応答する嗅覚受容体の同定

悪臭原因物質であるヘキサナールの嗅覚受容体ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１に対する応答を、上述のルシフェラーゼ活性測定法によって様々な濃度で測定した。その結果を図１～６にそれぞれ示す。ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１は各種ヘキサナールに対して濃度依存的な応答を示した。一方で、Ｍｏｃｋ試験（嗅覚受容体を発現させない細胞を使用）では応答が見られなかった。すなわち、ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１はヘキサナールに対し特異的に応答することが示された。

[0044]［実施例２］

ヘキサナール臭抑制素材によるＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１の応答抑制効果の評価

[0045] 前掲の特許文献７、８において、ヘキサナール臭をマスキングすることが知られている既知のヘキサナール臭抑制素材：乳酸メンチル、ヌートカトン、ベーターカリオフィレンオキシドについて、ヘキサナール嗅覚受容体ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１の応答抑制効果を下記ルシフェラーゼアッセイによって測定した。

[0046] （１）ルシフェラーゼアッセイ

ヒト嗅覚受容体ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１の各遺伝子発現ベクター０．０５μｇ、ＲＴＰ１Ｓベクター０．０１μｇ、ＣＭＶプロモーターを含むホタルルシフェラーゼベクターｐＧｌｏＳｅｎｓｏｒ™－２２Ｆ ｃＡＭＰ Ｐｌａｓｍｉｄ（Ｐｒｏｍｅｇａ社）０．０１μｇをＯｐｔｉ－ＭＥＭ Ｉ（ｇｉｂｃｏ社）１０μＬに溶解して遺伝子溶液（１穴分）とした。ＨＥＫ２９３Ｔ細胞を、２４時間後にサブコンフルエントに達する細胞数で９６穴プレート（Ｂｉｏｃｏａｔ、Ｃｏｒｎｉｎｇ社）に１００μＬずつ播種し、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ ３０００の使用法に従ってリポフェクション法によって遺伝子溶液を各穴に添加して、細胞に遺伝子導入を行い、３７℃、５％二酸化炭素雰囲気下で２４時間培養した。培養液を除去後、ＨＥＰＥＳバッファーで１回洗浄し、ＦＢＳ含有ＨＥＰＥＳバッファーにて所定濃度に調整したＧｌｏＳｅｎｓｏｒ™ ｃＡＭＰ Ｒｅａｇｅｎｔ（Ｐｒｏｍｅｇａ社）１００μＬを各穴に添加して室温下で２時間静置した。その後、３００μＭ ＣｕＣｌ２およびＦＢＳ含有ＨＥＰＥＳバッファーにて調製したヘキサナール７ｍＭ溶液中にヘキサナール臭抑制素材３ｍＭを混合した溶液を、各穴に１０μＬずつ添加し、添加直後から1分毎にルシフェラーゼ活性の経時変化を測定することで、前記各ヒト嗅覚受容体の経時応答を取得した。嗅覚受容体の応答強度は、香気化合物の刺激によって生じたルシフェラーゼ活性を、香気化合物の刺激前のルシフェラーゼ活性で割ることで求められるＦｏｌｄ Ｉｎｃｒｅａｓｅ値で表現した。

[0047] （２） ヘキサナール臭抑制素材による嗅覚受容体応答の抑制評価

上記ルシフェラーゼアッセイにおいて、検体にはヘキサナールおよびヘキサナール臭抑制素材：乳酸メンチル、ヌートカトン、又は、ベーターカリオフィレンオキシドのいずれかを混合して用い、ヘキサナール臭抑制素材を混合しなかった試験と、ヘキサナール臭抑制素材を混合した試験でのＦｏｌｄ Ｉｎｃｒｅａｓｅ値の経時変化を求めた。その結果を図７～図１２に示す。ヘキサナール臭抑制素材（乳酸メンチル、ヌートカトン、ベーターカリオフィレンオキシド）は、ヘキサナール嗅覚受容体ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１の応答を抑制する効果を示した（図７～図１２）。これらの結果は、乳酸メンチル、ヌートカトン、ベーターカリオフィレンオキシドに代表される既知のヘキサナール臭抑制素材が、ヘキサナール嗅覚受容体群ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１の少なくとも1つの嗅覚受容体を抑制することにより、ヘキサナール臭を抑制していることを示している。

産業上の利用可能性

[0048] 本発明によれば、ヘキサナールと嗅覚受容体ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１との結合を阻害しうるヘキサナール臭抑制素材の候補物質をスクリーニングする方法を提供することができる。

請求の範囲

[請求項1] ヘキサナール臭抑制素材の候補物質のスクリーニング方法であって、

嗅覚受容体ＯＲ２Ｃ１、ＯＲ２Ｊ２、ＯＲ２Ｊ３、ＯＲ５Ｋ１、ＯＲ５Ｐ３及びＯＲ５１Ｅ１、並びに前記各嗅覚受容体が有するアミノ酸配列と８０％以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつヘキサナールに対して応答性を示すポリペプチドからなる群より選択される少なくとも１種の嗅覚受容体ポリペプチドに、試験物質及びヘキサナールを添加すること；

ヘキサナールに対する前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定すること；及び

測定された応答に基づいて前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を抑制する試験物質が、ヘキサナール臭抑制素材の候補物質であると同定すること

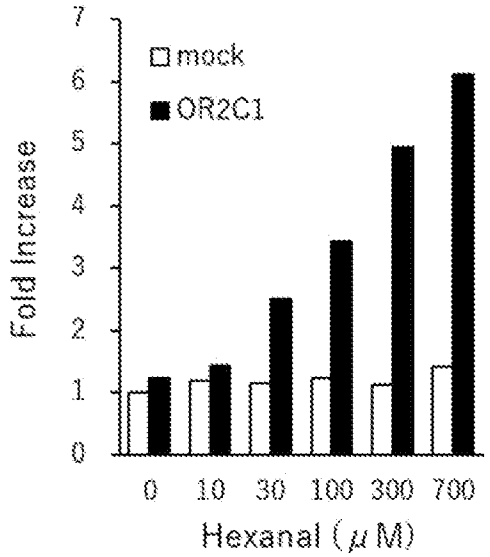
を含む、前記方法。

[請求項2] 前記ヘキサナール臭が、ヘキサナールに起因する臭い、又は当該臭いを少なくとも一部に含む臭いであり、場合により、ヒトに不快感を与える臭いであり、さらに場合により、体臭、汗臭、腋臭、頭皮臭、生乾き臭、浴室臭、介護臭、及び、大豆又は乳製品の劣化臭のうちの１種以上である、請求項１記載の方法。

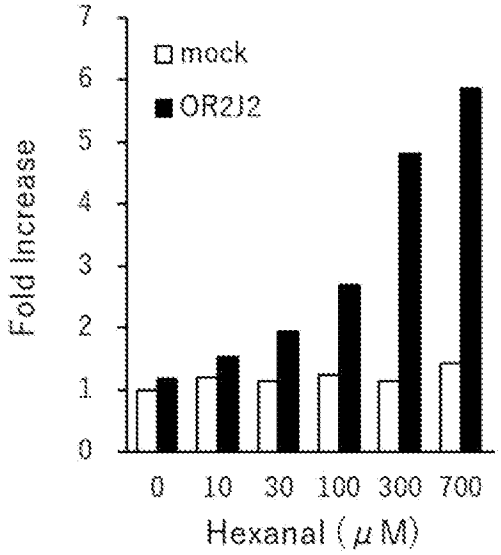
[請求項3] 前記嗅覚受容体を発現している生体から単離された細胞上、又は前記嗅覚受容体を遺伝子操作により人為的に発現させた細胞上で、ヘキサナールに対する前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定する、請求項１又は２に記載の方法。

[請求項4] 嗅覚受容体ポリペプチドの応答を、レポーターアッセイ又はカルシウムイメージングにより測定する、請求項１又は２に記載の方法。

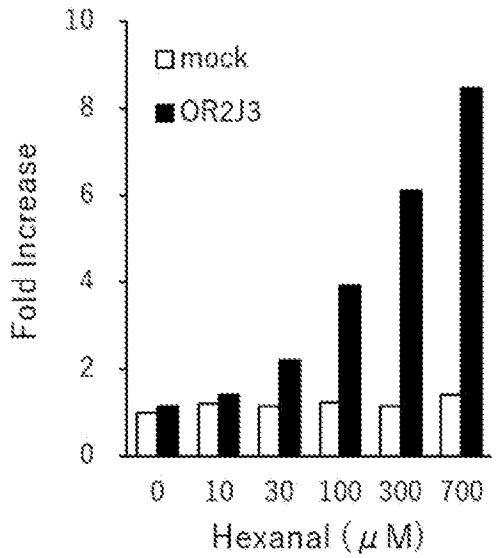
[図1]


mock
OR2C1
Fold Increase
0
1
2
3
4
5
6
7
0 10 30 100 300 700
Hexanal (μM)

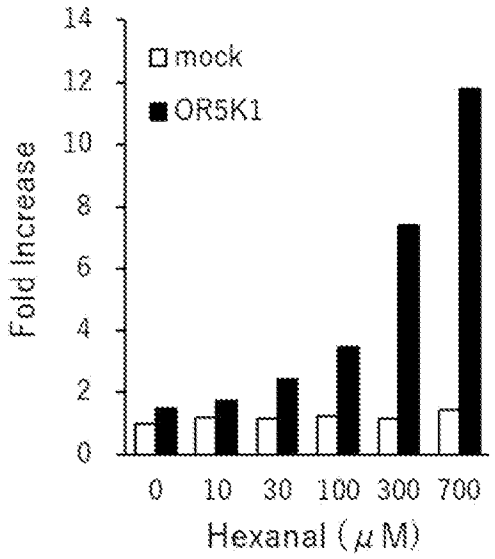
[図2]


mock
OR2J2
Fold Increase
0
1
2
3
4
5
6
7
0 10 30 100 300 700
Hexanal (μM)

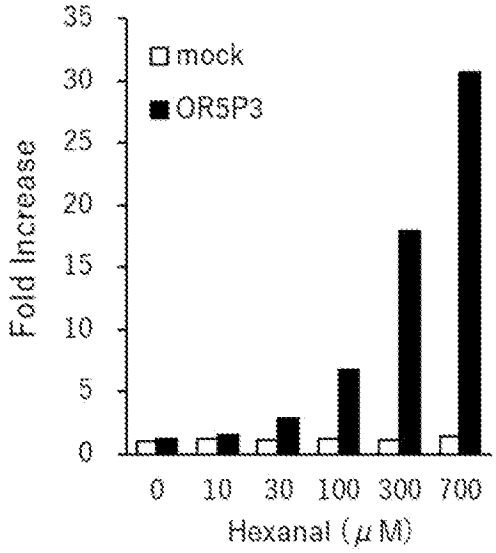
[図3]


mock
OR2J3
Fold Increase
0
2
4
6
8
10
0 10 30 100 300 700
Hexanal (μM)

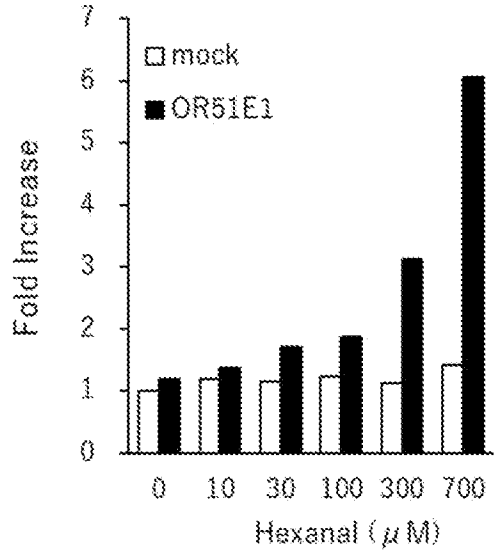
[図4]


14
12
10
8
6
4
2
0
mock
OR5K1
Fold Increase
0 10 30 100 300 700
Hexanal (μM)

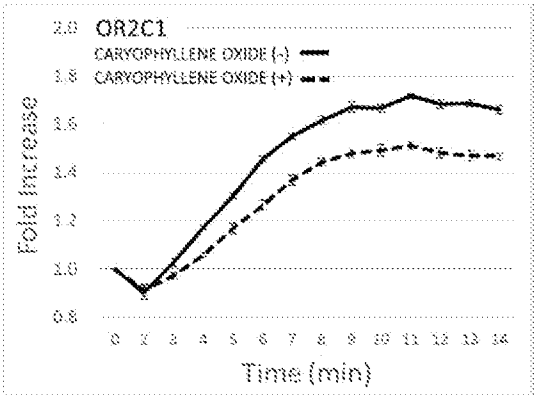
[図5]


35
30
25
20
15
10
5
0
mock
OR5P3
Fold Increase
0 10 30 100 300 700
Hexanal (μM)

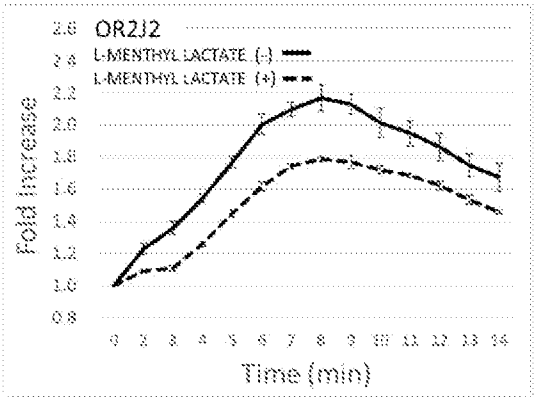
[図6]


7
6
5
4
3
2
1
0
mock
OR51E1
Fold Increase
0 10 30 100 300 700
Hexanal (μM)

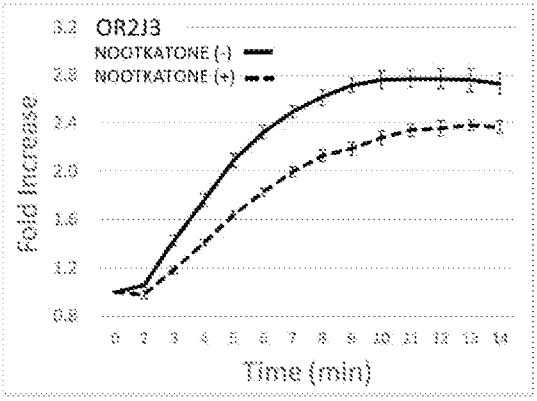
[図7]


OR2C1
CARYOPHYLLENE OXIDE (-)
CARYOPHYLLENE OXIDE (+)
Fold increase
Time (min)

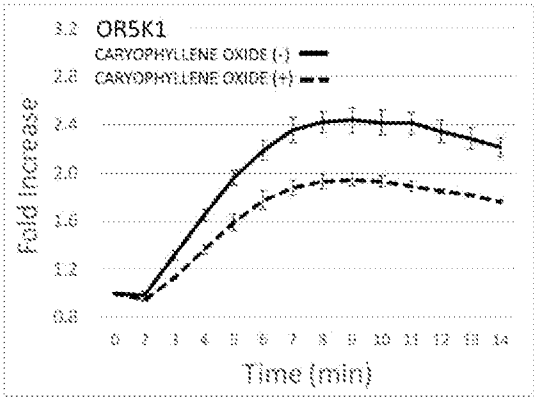
[図8]


OR2J2
L-MENTHYL LACTATE (-)
L-MENTHYL LACTATE (+)
Fold increase
Time (min)

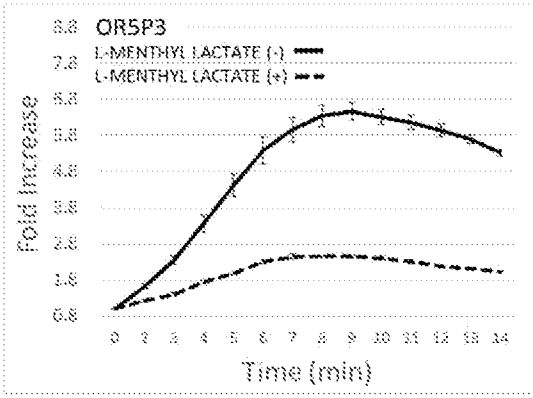
[図9]


OR2J3
NOOTKATONE (-)
NOOTKATONE (+)
Fold increase
Time (min)

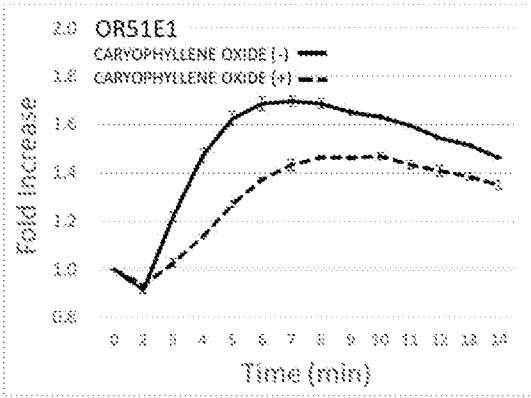
[図10]


OR5K1
CARYOPHYLLENE OXIDE (-)
CARYOPHYLLENE OXIDE (+)
Fold increase
Time (min)

[図11]


OR5P3
L-MENTHYL LACTATE (-)
L-MENTHYL LACTATE (+)
Fold increase
Time (min)

[図12]


OR51E1
CARYOPHYLLENE OXIDE (-)
CARYOPHYLLENE OXIDE (+)
Fold increase
Time (min)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2023/033021

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12Q 1/06(2006.01)i; ***C07K 14/705***(2006.01)i; ***C12N 5/0793***(2010.01)i; ***C12N 5/10***(2006.01)i; ***C12N 15/12***(2006.01)i; ***G01N 33/15***(2006.01)i; ***G01N 33/50***(2006.01)i
FI: C12Q1/06 ZNA; C07K14/705; C12N5/0793; C12N5/10; C12N15/12; G01N33/15 Z; G01N33/50 Z

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12Q1/00-3/00; C07K1/00-19/00; C12N1/00-7/08; C12N15/00-15/90; G01N33/15; G01N33/50

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2023
Registered utility model specifications of Japan 1996-2023
Published registered utility model applications of Japan 1994-2023

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN); UniProt/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2017-176134 A (TOYOTA CENTRAL RES & DEV) 05 October 2017 (2017-10-05) claims, paragraphs [0028], [0038]-[0047], examples, fig. 8, SEQ ID NO: 5, 9, 18	1-4
Y	claims, paragraphs [0028], [0038]-[0047], examples, fig. 8, SEQ ID NO: 5, 9, 18	2-4
Y	JP 2004-263102 A (TAKASAGO INTERNATIONAL CORP) 24 September 2004 (2004-09-24) paragraph [0021]	2-4
Y	JP 2011-184469 A (KRACIE HOME PRODUCTS LTD) 22 September 2011 (2011-09-22) paragraph [0014]	2-4
Y	JP 2009-244094 A (KAO CORP) 22 October 2009 (2009-10-22) paragraph [0061]	2-4
Y	JP 2007-14749 A (KAO CORP) 25 January 2007 (2007-01-25) paragraph [0010]	2-4

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
13 November 2023	**21 November 2023**
Name and mailing address of the ISA/JP **Japan Patent Office (ISA/JP)** **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2023/033021

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	緒方規矩也, 看護・介護現場の快適空間化を目指した「消臭機能の設計」, 京都市産業技術研究所　研究報告, 2019, no. 9, pp. 73-76 in particular, fig. 1, table 1, (OGATA, Kikuya. Kyoutoshi Sangyou Gijutsu Kenkyuujo kenkyuu houkoku.), non-official translation ("Design of deodorizing function" aimed at creating a comfortable space in nursing and care settings)	2-4
Y	WO 2019/230903 A1 (SAN-EI GEN F.F.I., INC.) 05 December 2019 (2019-12-05) paragraphs [0025], [0068]	2-4
Y	WO 2021/193429 A1 (AJINOMOTO CO., INC.) 30 September 2021 (2021-09-30) paragraph [0022]	2-4
Y	JP 2006-42814 A (NIPPON MILK COMMUNITY CO LTD) 16 February 2006 (2006-02-16) paragraph [0049]	2-4
A	WO 2019/131789 A1 (TAKASAGO INTERNATIONAL CORP) 04 July 2019 (2019-07-04) see entire text	1-4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2023/033021

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
   a. ☑ forming part of the international application as filed:
      ☑ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
      ☐ on paper or in the form of an image file.
   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

"In the form of an Annex C/ST.25 text file" above should be understood as "in ST.26 format".

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2023/033021

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP 2017-176134 A	05 October 2017	(Family: none)	
JP 2004-263102 A	24 September 2004	US 2006/0159639 A1 paragraph [0060]	
JP 2011-184469 A	22 September 2011	(Family: none)	
JP 2009-244094 A	22 October 2009	(Family: none)	
JP 2007-14749 A	25 January 2007	(Family: none)	
WO 2019/230903 A1	05 December 2019	TW 202011821 A	
WO 2021/193429 A1	30 September 2021	US 2023/0028073 A1 paragraphs [0043]-[0044]	
JP 2006-42814 A	16 February 2006	(Family: none)	
WO 2019/131789 A1	04 July 2019	US 2020/0318205 A1 see entire text	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2023/033021

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

C12Q 1/06(2006.01)i; C07K 14/705(2006.01)i; C12N 5/0793(2010.01)i; C12N 5/10(2006.01)i; C12N 15/12(2006.01)i; G01N 33/15(2006.01)i; G01N 33/50(2006.01)i
FI: C12Q1/06 ZNA; C07K14/705; C12N5/0793; C12N5/10; C12N15/12; G01N33/15 Z; G01N33/50 Z

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

C12Q1/00-3/00; C07K1/00-19/00; C12N1/00-7/08; C12N15/00-15/90; G01N33/15; G01N33/50

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２３年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２３年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２３年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN); UniProt/GeneSeq

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
X	JP 2017-176134 A (株式会社豊田中央研究所) 05.10.2017 (2017-10-05) 特許請求の範囲、段落［００２８］、［００３８］-［００４７］、実施例、図８、配列番号５、９、１８	1-4
Y	特許請求の範囲、段落［００２８］、［００３８］-［００４７］、実施例、図８、配列番号５、９、１８	2-4
Y	JP 2004-263102 A (高砂香料工業株式会社) 24.09.2004 (2004-09-24) 段落［００２１］	2-4
Y	JP 2011-184469 A (クラシエホームプロダクツ株式会社) 22.09.2011 (2011-09-22) 段落［００１４］	2-4
Y	JP 2009-244094 A (花王株式会社) 22.10.2009 (2009-10-22) 段落［００６１］	2-4
Y	JP 2007-14749 A (花王株式会社) 25.01.2007 (2007-01-25) 段落［００１０］	2-4

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
13.11.2023	21.11.2023

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
小林　薫 4B 6114

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C.　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	緒方規矩也，看護・介護現場の快適空間化を目指した「消臭機能の設計」，京都市産業技術研究所　研究報告，2019，No.9，pp.73-76 特に、図１、表１	2-4
Y	WO 2019/230903 A1（三栄源エフ・エフ・アイ株式会社）05.12.2019（2019－12－05） 段落[0025]、[0068]	2-4
Y	WO 2021/193429 A1（味の素株式会社）30.09.2021（2021－09－30） 段落[0022]	2-4
Y	JP 2006-42814 A（日本ミルクコミュニティ株式会社）16.02.2006（2006－02－16） 段落［００４９］	2-4
A	WO 2019/131789 A1（高砂香料工業株式会社）04.07.2019（2019－07－04） 全文参照	1-4

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2023/033021

第Ⅰ欄　　ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第１ページの１．ｃの続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。

a. ☑ 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
　☑ 附属書C/ST.25テキストファイル形式
　☐ 紙形式又はイメージファイル形式

b. ☐ 国際出願とともに、ＰＣＴ規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表

c. ☐ 国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
　☐ 附属書C/ST.25テキストファイル形式(ＰＣＴ規則13の3.1(a))
　☐ 紙形式又はイメージファイル形式（ＰＣＴ規則13の3.1(b)及びＰＣＴ実施細則第713号）

2. ☐ さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見:

上記「附属書C/ST.25テキストファイル形式」は「ST.26形式」と読み替える。

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2023/033021

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2017-176134 A	05.10.2017	（ファミリーなし）	
JP 2004-263102 A	24.09.2004	US 2006/0159639 A1 段落[0060]	
JP 2011-184469 A	22.09.2011	（ファミリーなし）	
JP 2009-244094 A	22.10.2009	（ファミリーなし）	
JP 2007-14749 A	25.01.2007	（ファミリーなし）	
WO 2019/230903 A1	05.12.2019	TW 202011821 A	
WO 2021/193429 A1	30.09.2021	US 2023/0028073 A1 段落[0043]-[0044]	
JP 2006-42814 A	16.02.2006	（ファミリーなし）	
WO 2019/131789 A1	04.07.2019	US 2020/0318205 A1 全文参照	