

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和2年9月24日(2020.9.24)

【公表番号】特表2019-531713(P2019-531713A)

【公表日】令和1年11月7日(2019.11.7)

【年通号数】公開・登録公報2019-045

【出願番号】特願2019-511780(P2019-511780)

【国際特許分類】

C 1 2 N 1/20 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

A 2 3 C 9/123 (2006.01)

A 2 3 C 9/13 (2006.01)

A 2 3 C 19/032 (2006.01)

A 2 3 C 9/133 (2006.01)

A 2 3 C 9/137 (2006.01)

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 15/10 (2006.01)

C 1 2 N 15/31 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 1/20 Z N A A

C 1 2 N 1/21

A 2 3 C 9/123

A 2 3 C 9/13

A 2 3 C 19/032

A 2 3 C 9/133

A 2 3 C 9/137

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 15/10 2 0 0 Z

C 1 2 N 15/31

【手続補正書】

【提出日】令和2年8月11日(2020.8.11)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

10ppm(百万分率、mg/kg乾燥重量)未満、例えば9ppm未満、8ppm未満、6ppm未満又は3ppm未満の鉄イオン(例えば、Fe²⁺)を含有する乳酸菌(LAB)。

【請求項2】

6ppm(百万分率、mg/kg乾燥重量)未満、例えば5.5ppm未満、5.2ppm未満、5ppm未満、4ppm未満又は2ppm未満のマンガンイオン(例えば、Mn²⁺)を含有するLAB。

【請求項3】

合計で16ppm未満、例えば、15ppm未満、14ppm未満、13ppm未満、10ppm未満又は7ppm未満のFe²⁺及びMn²⁺を含有する、請求項1又は2に記載のLAB。

【請求項4】

攪乱された二価金属イオン代謝(DMIM)を有する、請求項1～3の何れか1項に記載の乳

酸菌 (LAB)。

【請求項 5】

攪乱された二価金属イオン代謝 (DMIM) を有する乳酸菌 (LAB)。

【請求項 6】

前記攪乱されたDMIMが、減少したDMIMである、請求項1～5の何れか1項に記載のLAB。

【請求項 7】

前記攪乱されたDMIMが、fur遺伝子の変化した発現 (例えば、減少)、例えば前記遺伝子の (部分的又は完全な) 不活性化、前記遺伝子又はその一部の欠失及び/又は前記遺伝子への追加のDNAの挿入によって引き起こされる、請求項1～6の何れか1項に記載のLAB。

【請求項 8】

前記攪乱されたDMIMが、ロックアウト突然変異等の二価金属イオンの取り込みに関連する遺伝子の変異によって引き起こされる、請求項1～7の何れか1項に記載のLAB。

【請求項 9】

前記攪乱されたDMIMが、mntH遺伝子の発現の減少、例えば前記遺伝子の (部分的又は完全な) 不活性化、前記遺伝子又はその一部の欠失及び/又は前記遺伝子への追加のDNAの挿入等によって引き起こされる、請求項1～8の何れか1項に記載のLAB。

【請求項 10】

前記攪乱されたDMIMが、fatC遺伝子又は鉄の取り込みに関与する何れか他の遺伝子の発現の減少、例えば前記遺伝子の (部分的又は完全な) 不活性化、前記遺伝子又はその一部の欠失及び/又は前記遺伝子への追加のDNAの挿入等によって引き起こされる、請求項1～9の何れか1項に記載のLAB。

【請求項 11】

前記攪乱されたDMIMが、バクテリウム属 (bacterium) が、亜テルル酸塩 (tellurite) に耐性があることによって引き起こされる、請求項1～10の何れか1項に記載のLAB。

【請求項 12】

前記二価金属イオンが、Fe²⁺、Mg²⁺、及びMn²⁺からなる群、好ましくは、Fe²⁺、及びMg²⁺の群から選択される、請求項1～11の何れか1項に記載のLAB。

【請求項 13】

前記二価金属イオンが、Fe²⁺である、請求項1～12の何れか1項に記載のLAB。

【請求項 14】

前記二価金属イオンが、Mn²⁺である、請求項1～13の何れか1項に記載のLAB。

【請求項 15】

突然変異により、及び/又は遺伝子工学により得られた、請求項1～14の何れか1項に記載のLAB。

【請求項 16】

0.25 µg/g未満、例えば、0.2 µg/g未満のFe²⁺及びMn²⁺からなる群から選択される二価金属イオンの濃度を有する培地で増殖することによって得られる、請求項1～15の何れか1項に記載のLAB。

【請求項 17】

ラクトバチルス・ブルガリカス種 (species *Lactobacillus bulgaricus*) に属する、請求項1～16の何れか1項に記載のLAB。

【請求項 18】

ストレプトコッカス・サーモフィルス種 (species *Streptococcus thermophilus*) に属する、請求項1～17の何れか1項に記載のLAB。

【請求項 19】

例えば、向上したEPS産生を有する突然変異株又は変異株等のストレプトコッカス・サーモフィルスCHCC15712 (DSM25955)、又は当該株の突然変異株又は変異株。

【請求項 20】

亜テルル酸塩に耐性である、請求項1～19の何れか1項に記載のLAB。

【請求項 21】

乳に1ml当たり10E8 CFUで接種した際、37℃で9.5%の還元脱脂粉乳における前記バクテリア属の16時間後の増殖のせん断応力として測定される、乳中で約50Pa.sより大きい（例えば、60又は70Pa.sより大きい）粘度を生じる、請求項1～20の何れか1項に記載のLAB。

【請求項22】

請求項1～21の何れか1項に記載のLAB (lactic acid bacterium) を含む組成物。

【請求項23】

種菌である、請求項22に記載の組成物。

【請求項24】

LABを含む組成物であって、前記組成物が、金属イオンキレート剤（例えば、EDTA）を、好ましくは1ppm以上の濃度でさらに含む、組成物。

【請求項25】

1mg当たり少なくとも10E9 CFU（細胞形成単位（cell forming unit））の前記LABを含む、請求項22～24の何れか1項に記載の組成物。

【請求項26】

1mg当たり少なくとも10E11 CFUの前記LABを含む、請求項22～25の何れか1項に記載の組成物。

【請求項27】

1mg当たり10E10 CFU～10E14 CFUの前記LABを含む、請求項22～26の何れか1項に記載の組成物。

【請求項28】

凍結又は凍結乾燥等の乾燥形態である、請求項22～27の何れか1項に記載の組成物。

【請求項29】

10ppm未満、例えば9.5ppm未満、9ppm未満、8ppm未満、6ppm未満又は3ppm未満のFe²⁺を含む、請求項22～28の何れか1項に記載の組成物。

【請求項30】

6ppm未満、例えば5.5ppm未満、5.2ppm未満、5ppm未満、4ppm未満又は2ppm未満のMn²⁺を含む、請求項22～29の何れか1項に記載の組成物。

【請求項31】

16ppm未満、例えば、15ppm未満、14ppm未満、13ppm未満、10ppm未満又は7ppm未満のFe²⁺及びMn²⁺の合計量を含む、請求項22～30の何れか1項に記載の組成物。

【請求項32】

少なくとも2種類、例えば少なくとも3種類、少なくとも5種類又は少なくとも10種類等の異なるLAB株を含む、請求項22～31の何れか1項に記載の組成物。

【請求項33】

少なくとも2種類異なるLAB株が、異なる種に属する、請求項22～32の何れか1項に記載の組成物。

【請求項34】

乳製品（例えば、発酵乳（例えば、ヨーグルト）又はチーズ、例えば、パスタフィラータ若しくはフレッシュチーズ等）の製造方法であって、上記請求項の何れかに記載のLAB、上記請求項の何れかに記載の株、上記請求項の何れかに記載の組成物を用いて、乳基質を発酵させることを含む、製造方法。

【請求項35】

乳製品（例えば、発酵乳（例えば、ヨーグルト）又はチーズ、例えば、パスタフィラータ若しくはフレッシュチーズ等）の製造方法であって、0.25 µg/g未満（例えば、0.20 µg/g未満又は0.15 µg/g未満等）のFe²⁺濃度を有する乳基質を、例えば、上記請求項の何れかに記載のLABを用いて発酵させることを含む、製造方法。

【請求項36】

乳製品（例えば、発酵乳（例えば、ヨーグルト）又はチーズ）の製造方法であって、0.025 µg/g（例えば、0.020 µg/g未満又は0.015 µg/g未満）のMn²⁺の濃度を有する乳基質を

、例えば、上記請求項の何れかに記載のLAB等のLABを用いて発酵させることを含む、製造方法。

【請求項 37】

乳製品（例えば、発酵乳（例えば、ヨーグルト）又はチーズ、例えば、パスタフィラータ若しくはフレッシュチーズ等）の製造方法であって、活性furタンパク質を含まないLABを用いて乳基質を発酵させることを含む、製造方法。

【請求項 38】

前記LABが、ストレプトコッカス・サーモフィルスの株である、請求項34～37の何れか1項に記載の方法。

【請求項 39】

前記LABが、ラクトバチルス・ブルガリカスの株である、請求項34～38の何れか1項に記載の方法。

【請求項 40】

請求項34～39の何れか1項に記載の方法によって得ることが出来る、例えば、発酵乳製品（例えば、発酵乳（例えば、ヨーグルト）又はチーズ、例えば、パスタフィラータ若しくはフレッシュチーズ等）等の乳製品。

【請求項 41】

果実濃縮物、シロップ、プロバイオティック細菌培養物、着色剤、増粘剤、香味剤、及び保存剤からなる群から選択される成分を任意で含み；及び/又は任意で攪拌タイプ製品、セットタイプ製品、又は飲用製品の形態である、請求項40に記載の乳製品。

【請求項 42】

乳基質に接種した際、食感を与える（又は母株と比較して増加した食感を与える）LAB株の製造方法であって、

- LAB株（母株）の前記fur遺伝子に突然変異を導入すること、すなわち、遺伝子工学又は突然変異誘発によって導入すること、及び
- 母株と比較して向上した食感特性を有する突然変異株をスクリーニングすること、を含む、製造方法。

【請求項 43】

LAB株（EPSを産生することができる）のEPS産生を向上させるための方法であって、前記方法が、株の接種前、接種中又は接種後に培地（例えば、産生培地又は乳基質）から、例えば金属キレート剤を加えること等によるFe²⁺イオンを除去することを含む、方法。

【請求項 44】

結果として生じる培地が、0.25 µg/g未満（例えば0.20 µg/g未満又は0.15 µg/g未満等）のFe²⁺濃度未満のFe²⁺濃度を有する、請求項43に記載の製造方法。

【請求項 45】

LAB株のEPS産生を向上させるための方法であって、前記方法が、株の接種前、接種中又は接種後に培地からMn²⁺イオンを除去することをさらに含む、請求項42～44の何れか1項に記載の方法。

【請求項 46】

結果として生じる培地が、0.025 µg/g未満（例えば、0.020 µg/g未満又は0.015 µg/g未満）のMn²⁺濃度を有する、LAB株のEPS産生を向上させる、請求項45に記載の方法。

【請求項 47】

増殖が、少なくとも2時間、又は少なくとも4時間行われる、請求項43～46の何れか1項に記載の方法。

【請求項 48】

LAB株（EPS産生可能）の産生方法であって、前記方法が、前記fur遺伝子の不活性化（部分的又は完全な）を含む、方法。