

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2013-537431

(P2013-537431A)

(43) 公表日 **平成25年10月3日(2013.10.3)**

| (51) Int.Cl. | F I | テーマコード (参考) |
|-------------------------------------|-----------------|-------------|
| A 2 3 L 1/30 (2006.01) | A 2 3 L 1/30 | Z 2 B 0 0 5 |
| A 6 1 K 35/74 (2006.01) | A 6 1 K 35/74 | A 2 B 1 5 0 |
| A 6 1 K 31/715 (2006.01) | A 6 1 K 31/715 | 4 B 0 1 8 |
| A 6 1 K 31/7004 (2006.01) | A 6 1 K 31/7004 | 4 C 0 8 6 |
| A 6 1 P 1/00 (2006.01) | A 6 1 P 1/00 | 4 C 0 8 7 |
| 審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 21 頁) 最終頁に続く | | |

(21) 出願番号 特願2013-526038 (P2013-526038)
 (86) (22) 出願日 平成23年8月19日 (2011. 8. 19)
 (85) 翻訳文提出日 平成25年2月21日 (2013. 2. 21)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2011/048392
 (87) 国際公開番号 W02012/027214
 (87) 国際公開日 平成24年3月1日 (2012. 3. 1)
 (31) 優先権主張番号 61/376, 888
 (32) 優先日 平成22年8月25日 (2010. 8. 25)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 513003611
 テイト アンド ライル イングリーディ
 エンツ アメリカス エルエルシー
 Tate & Lyle Ingredi
 ents Americas LLC
 アメリカ合衆国 イリノイ ホフマン・エ
 ステーツ プレーリー・ストーン・パーク
 ウェイ 5450
 5450 Prairie Stone
 Parkway, Hoffman Es
 tates, Illinois 601
 92, United States o
 f America

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 シンバイオティクス製品

(57) 【要約】

本発明は、プレバイオティクス炭水化物およびプロバイオティクス孢子形成バチルス菌の混合物を含む、シンバイオティクス製品の組成物に関する。シンバイオティクス製品に有用なプレバイオティクス炭水化物の例としては、アラビノキシラン、アラビノキシランオリゴ糖、キシロース、可溶性の繊維デキストリン、可溶性トウモロコシ繊維、およびポリデキストロースが挙げられる。本発明はまた、そのようなシンバイオティクス製品を含むヒトの食料および動物試料、ならびにシンバイオティクス製品の投与により、哺乳類の腸管中で孢子形成細菌の力価を増加させる方法にも関する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

アラビノキシラン、アラビノキシランオリゴ糖、キシロース、可溶性繊維デキストリン、可溶性トウモロコシ繊維、ポリデキストロース、およびそれらの混合物から成る群から選択される少なくとも1つのプレバイオティクス炭水化物、ならびに少なくとも1つのプロバイオティクス孢子形成バチルス菌を含む、シンバイオティクス製品。

【請求項 2】

前記プレバイオティクス炭水化物が、アラビノキシラン、アラビノキシランオリゴ糖、キシロース、およびそれらの混合物から成る群から選択される、請求項 1 に記載のシンバイオティクス製品。

10

【請求項 3】

前記孢子形成バチルス菌が、枯草菌 (*B. subtilis*)、バチルス・コアグランス (*B. coagulans*)、バチルス・リケニフォルミス (*B. licheniformis*)、バチルス・クラウジ (*B. clausii*)、バチルス・プミリス (*B. pumilis*)、およびそれらの混合物から成る群から選択される、請求項 1 または 2 に記載のシンバイオティクス製品。

【請求項 4】

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載のシンバイオティクス製品を含む、食品。

【請求項 5】

哺乳動物の腸管中で孢子形成バチルス菌の力価を増加させる方法であって、前記方法が、前記哺乳動物に、有効量の請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載のシンバイオティクス製品を投与することを含む、方法。

20

【請求項 6】

前記シンバイオティクス製品が、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約 1 g ~ 約 25 g であり、かつ任意の1日間のプロバイオティクス孢子形成バチルス菌の量が約 10^4 CFU ~ 約 10^{10} CFU となるように投与される、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記シンバイオティクス製品が、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約 2.5 g ~ 約 10 g であり、かつ任意の1日間のプロバイオティクス孢子形成バチルス菌の量が約 10^6 CFU ~ 約 10^8 CFU となるように投与される、請求項 6 に記載の方法。

30

【請求項 8】

前記シンバイオティクス製品が、毎日投与される、請求項 5 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

前記シンバイオティクス製品が、前記シンバイオティクス製品を含む食品の消費を通して投与される、請求項 5 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

前記消費される食品が食料であり、かつ前記哺乳動物がヒトである、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記消費される食品が動物試料であり、かつ前記哺乳動物が非ヒト哺乳動物である、請求項 9 に記載の方法。

40

【請求項 12】

前記哺乳動物が、ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、雄ウシ、ラマ、アルパカ、およびバイソンを含む群から選択される、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記哺乳動物がネコまたはイヌである、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 14】

抗生物質が前記非ヒト哺乳動物に投与されない、請求項 11 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

50

【請求項 15】

プレバイオティクス炭水化物成分およびプロバイオティクス孢子成分を含むシンバイオティクス製品であって、前記プレバイオティクス炭水化物成分が、アラビノキシラン、アラビノキシランオリゴ糖、キシロース、可溶性繊維デキストリン、可溶性トウモロコシ繊維、ポリデキストロース、およびそれらの混合物から成る群から選択される少なくとも一つのプレバイオティクス炭水化物を含み、かつ前記プロバイオティクス孢子成分が、少なくとも一つのプロバイオティクス孢子形成バチルス菌を含む、シンバイオティクス製品。

【請求項 16】

前記プレバイオティクス炭水化物が、アラビノキシラン、アラビノキシランオリゴ糖、キシロース、およびそれらの混合物から成る群から選択される、請求項 15 に記載のシンバイオティクス製品。

10

【請求項 17】

前記孢子形成バチルス菌が、枯草菌 (*B. subtilis*)、バチルス・コアグランス (*B. coagulans*)、バチルス・リケニフォルミス (*B. licheniformis*)、バチルス・クラウジ (*B. clausii*)、バチルス・プミリス (*B. pumilis*)、およびそれらの混合物から成る群から選択される、請求項 15 または 16 に記載のシンバイオティクス製品。

【請求項 18】

前記プロバイオティクス孢子成分が、乾燥重量グラムあたり、最大約 10^{11} 個の生存孢子を含む、請求項 15 ~ 17 のいずれか 1 項に記載のシンバイオティクス製品。

【請求項 19】

前記プロバイオティクス孢子成分が、乾燥重量グラムあたり、約 10^9 ~ 約 10^{11} 個の生存孢子を含む、請求項 15 ~ 17 のいずれか 1 項に記載のシンバイオティクス製品。

20

【請求項 20】

前記シンバイオティクス製品が、乾燥重量グラムあたり、少なくとも約 10^5 個の生存プロバイオティクス孢子を含む、請求項 15 ~ 17 のいずれか 1 項に記載のシンバイオティクス製品。

【請求項 21】

前記シンバイオティクス製品が、乾燥重量グラムあたり、約 10^5 ~ 約 10^7 個の生存プロバイオティクス孢子を含む、請求項 15 ~ 17 のいずれか 1 項に記載のシンバイオティクス製品。

30

【請求項 22】

請求項 15 ~ 21 のいずれか 1 項に記載のシンバイオティクス製品を含む、食品。

【請求項 23】

哺乳動物の腸管中で、孢子形成バチルス菌の力価を増加させる方法であって、前記方法が、前記哺乳動物に、有効量の請求項 15 ~ 21 のいずれか 1 項に記載のシンバイオティクス製品を投与することを含む、方法。

【請求項 24】

前記シンバイオティクス製品が、任意の 1 日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約 1 g ~ 約 25 g の量であり、かつ任意の 1 日間のプロバイオティクス孢子形成バチルス菌の量が約 10^4 CFU ~ 約 10^{10} CFU となるように投与される、請求項 23 に記載の方法。

40

【請求項 25】

前記シンバイオティクス製品が、任意の 1 日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約 2.5 g ~ 約 10 g であり、かつ任意の 1 日間のプロバイオティクス孢子形成バチルス菌の量が約 10^6 CFU ~ 約 10^8 CFU となるように投与される、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記シンバイオティクス製品が、毎日投与される、請求項 23 ~ 25 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 27】

50

前記シンバイオティクス製品が、前記シンバイオティクス製品を含む食品の消費を通して投与される、請求項 23 ~ 26 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 28】

前記消費される食品が食料であり、かつ前記哺乳動物がヒトである請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記消費される食品が動物試料であり、かつ前記哺乳動物が非ヒト哺乳動物である、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 30】

前記哺乳動物が、ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、雄ウシ、ラマ、アルパカ、およびバイソンを含む群から選択される、請求項 29 に記載の方法。

10

【請求項 31】

前記哺乳動物がネコまたはイヌである、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 32】

抗生物質が前記非ヒト哺乳動物に投与されない、請求項 29 ~ 31 のいずれか 1 項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願への相互参照

20

本出願は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、2010年8月25日に出版された、米国特許仮出願第61/376,888号の利益を主張する。

【0002】

連邦政府による資金提供を受けた研究開発の記載

適用なし。

【背景技術】

【0003】

本発明は、孢子形成プロバイオティクス細菌と、プロバイオティクス細菌に栄養を提供することができ、および/または消化管中に存在する常在性の有益菌、例えば有孢子性乳酸菌 (*Lactobacillus sporogenes*) またはビフィズス菌 (*Bifidobacterium*) の成長を促進することができるプレバイオティクス化合物との組み合わせを含む、新規なシンバイオティクス製品に関する。このようなシンバイオティクス製品の組成物は、そのようなシンバイオティクス組成物を含む食品の健康効果を強化し得る。

30

【0004】

栄養に加え、健康効果も提供する、ヒトおよび動物の消費両方のための、機能性食品材料に対する需要が高まっている。そのような健康関連の食品材料のうちの1つのクラスは、「プレバイオティクス」化合物として知られている。現在食品に使用されているプレバイオティクス化合物の代表的な例としては、広範な炭水化物、例えば種々の糖類およびスターチ類が挙げられる。カロリー値を有する多くの炭水化物は、ヒトの上部消化管（例えば、口、胃、および小腸）中で、単糖類または短鎖オリゴ糖類に消化され、血流中に容易に吸収される。そのような容易に代謝される炭水化物に加え、いくつかの炭水化物は、食品中で食物「繊維」として機能する。繊維化合物は、上部消化管中で、一般的に分解されないか、または部分的にのみ消化され、相当な量が比較的損なわれずに結腸へと通過する。ヒトの健康に対する繊維の効果は確立され、世界の栄養科学者に認知されており、例としては、米国政府の推奨食生活 (US government dietary recommendations) が挙げられる。食物繊維が豊富な食事が、心血管疾患、がん、胃腸の問題、および肥満症のリスクを減少し得るということを、諸研究が示唆している。Campos et al., *Nutr Hosp.* 2005 Jan-Feb;20(1):18-25 (結腸直腸癌の発症と低繊維食との関連を示唆); Kendall et al., *Curr Atheroscler Rep.* 2004 Nov;6(6):492-8 (繊維が豊富な食事がLDLコレステロールを低減し得ることを示唆); Kendall et al., *J AOAC Int.* 2004 May-Jun;87(3):769-74 (高

40

50

繊維食が慢性疾患のリスクを低減し得ることを示唆) ; Cernea et al., Acta Diabetol. 2003 40 suppl 2:S389-400 (高繊維食が循環器系疾患のリスクを低減し得ることを示唆)を参照のこと。

【 0 0 0 5 】

食物繊維の健康促進効果の多くは、大腸中での、微生物の複集合体(微生物叢)によるこれらの炭水化物の発酵に起因するという証拠が増加している(Gibson, Glenn, "Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics," Journal Of Nutrition, 80(2):S209-S212 (1998))。炭水化物繊維のサブクラスである「プレバイオティクス」炭水化物化合物は、通常のヒトの健康促進および維持において、特に有益であると報告されている。確立されたプレバイオティクス活性を有する食物繊維炭水化物の代表的な例は、イヌリンおよびフラクトオリゴ糖(Roberfroid, et al., "The Bifidogenic Nature of Chicory Inulin and Its Hydrolysis Products," Journal of Nutrition, 128, 1, 11-19, 1998. Gibson, "Dietary Modulation of the Human Gut Microflora Using the Prebiotics Oligofructose and Inulin," Journal of Nutrition, 129, 7 Suppl., 1438S-1441S, 1999);ラクツロース(Tuohy, et al., "A human volunteer study to determine the prebiotic effect of lactulose on human colonic microbiota," Micro. Ecol. Health Disease 14, 165-173 (2002));および可溶性トウモロコシ繊維(SCF)(U.S. Pat. Appl. No.: 12/124,364)である。

10

【 0 0 0 6 】

「プレバイオティクス」材料に加えて、「プロバイオティクス」細菌が配合された食料および動物試料に対する市場が拡大している。例えば、動物用の飼料添加物として、主に抗生物質の、可能性のある代替品として、プロバイオティクス生物の使用における関心が高まっている。有益なプロバイオティクス特性を有すると考えられる多くの細菌は、健康なヒトまたは動物の腸内細菌叢に存在する通常の共生細菌である。最も頻繁に使用されるヒト用のプロバイオティクスには、乳酸桿菌(Lactobacilli)およびビフィズス菌(Bifidobacteria)が含まれる。しかしながら、これらの細菌群のどちらかを、プロバイオティクス食品または試料添加物として使用することには、困難が伴う。効果をもたらすためには、製造過程において、細菌を生存細胞として生き残らせ、安定した製品(すなわち、長期間の保存、および時には悪条件下において、生存率の有意な損失がない)として製剤化しなければならない。さらに細菌は、胃の極度の酸度を通過し、小腸上部での胆汁酸塩への暴露に耐えて生き残らなければならない。プロバイオティクスの有益な効果は、小腸および/または結腸の短期間のコロニー形成に起因し、これは、管腔内容物のグラムあたり $10^7 \sim 10^{11}$ にのぼる数の生きた細菌である既存の細菌叢と、首尾よく競合した結果であると仮定されている。

20

30

【 0 0 0 7 】

孢子形成バチルスいくつかの種類は、現在、ヒトおよび動物用途両方に対するプロバイオティクスとして販売されている。例えば、枯草菌(*B. subtilis*)は、様々な腸の問題のために(Casula and Cutting (2002), Applied Environmental Microbiology, May 2002, pp. 2344-2352; Green, DH, et al. (1999) Appl. Env. Microbiol. 65, pp. 4288-4291)、および下痢の治療用として(Mazza, P (1994) Boll. Chim. Farm. 133, pp. 3-18)、店頭で販売されていると報告されている。例えば以下のような、バチルス・クラウジ(*Bacillus clausii*)の市販製剤の研究も報告されている:Marsegli, et al. (2007), and Canani, et al. (2007). Marsegli, GL, et al. (1997) Ther. Clin. Risk Management. 3, pp. 13-17; Canani, RB, et al. (2007) BMJ, Aug 18, 335(7615): 340。

40

【 0 0 0 8 】

ヒトの使用において最も長い歴史をもつプロバイオティクス菌株のうちの1つは、1930年代に有孢子性乳酸菌(*Lactobacillus sporogenes*)として最初に記載された、バチルス・コアグランス(*Bacillus coagulans*)である((Devechihi, E. and Drago, L. (2006) Int. J. Probiotics Prebiotics 1, pp. 3-10))。この菌株は、ガスを生成することなく糖類から大量の乳酸を生成する、研究されている少数の孢子形成菌株のうちの1つで

50

あり、特に注目されている。パチルス・コアグランス (*B. coagulans*) プロバイオティクス菌株は、最終孢子 (terminal spore) を産生し、栄養細胞は通性嫌気性菌であり、かつ運動性であると報告されている (Devechihi and Drago, 2006)。

【0009】

Ducらは、パチルス孢子の菌株から成る5つの市販製品を評価した。パチルス・セレウス (*B. cereus*) の3つの菌株は、マウスの消化管中での18日間の生存を示し、これはコロニー形成の証拠と考えられた (Duc, LH, et al. (2004) *Appl. Environ. Microbiol.* 70, pp. 2161-2171)。Leserらは、ブタに対する、枯草菌 (*B. subtilis*) およびパチルス・リケニフォルミス (*B. licheniformis*) の孢子の給餌を記載している (Leser, TD, et al. (2008) *J. Appl. Microbiol.* 104, pp. 1025-1033)。これらのプロバイオティクス細菌の給餌を初めて2週間以内に、孢子はブタの胃腸管のすべての領域で認められた。孢子の70~90%が出芽し、消化管中で、限定的かつ一過性の栄養生長があったと推定された。

発明の概要

【0010】

本発明は、少なくとも1つのプレバイオティクス炭水化物、および少なくとも1つのプロバイオティクス孢子形成パチルス菌を含む、あるシンバイオティクス製品に関する。本発明はまた、プレバイオティクス炭水化物を含むプレバイオティクス炭水化物成分、およびプロバイオティクス孢子形成パチルス菌を含むプロバイオティクス孢子成分、を含む、シンバイオティクス製品と説明することも出来る。好適なプレバイオティクス炭水化物の代表的な例としては、アラビノキシラン、アラビノキシランオリゴ糖、キシロース、可溶性繊維デキストリン、可溶性トウモロコシ繊維、およびポリデキストロースが挙げられる。シンバイオティクス製品のある実施形態において、プレバイオティクス炭水化物は、アラビノキシラン、アラビノキシランオリゴ糖、キシロース、可溶性繊維デキストリン、可溶性トウモロコシ繊維、ポリデキストロース、またはこれらの炭水化物の混合物である。好適な孢子形成パチルス菌の代表的な例としては、枯草菌 (*B. subtilis*)、パチルス・コアグランス (*B. coagulans*)、パチルス・リケニフォルミス (*B. licheniformis*)、パチルス・クラウジ (*Bacillus clausii*)、およびパチルス・プミリス (*B. pumilis*) が挙げられる。シンバイオティクス製品のある実施形態において、孢子形成パチルス菌は、枯草菌 (*B. subtilis*)、パチルス・コアグランス (*B. coagulans*)、パチルス・リケニフォルミス (*B. licheniformis*)、パチルス・クラウジ (*Bacillus clausii*)、パチルス・プミリス (*B. pumilis*)、またはこれらの細菌の混合物である。

【0011】

本発明のシンバイオティクス製品は、食品中の材料または成分として使用することが出来る。ある実施形態において、食品は、本発明のシンバイオティクス製品を含む。

【0012】

本発明はまた、シンバイオティクス製品を投与することにより、哺乳動物の腸管中で、孢子形成パチルス菌の力価を増加させる方法にも関する。シンバイオティクス製品の投与は、ある健康効果を提供し得ると信じられている。ある実施形態において、シンバイオティクス製品は、シンバイオティクス製品を含む食品を消費することにより、投与される。ある実施形態において、哺乳動物はヒトであり、ある実施形態において、哺乳動物は非ヒト哺乳動物である。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】図1は、プレバイオティクス炭水化物上での、4つの市販の孢子形成プロバイオティクス・パチルス菌株の成長を示す図である。

【図2】図2は、アラビノキシラン、キシロース、およびブドウ糖上での、パチルス・コアグランス (*B. coagulans*) プロバイオティクス菌株、GBI-30の最大成長の比較図である。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 4 】

I . 定義

本明細書で使用する場合、「プレバイオティクス」化合物とは、「...宿主に微生物叢の調節に関連する健康上の利益を与える生存不能の食品成分」と定義される（プレバイオティクスに関するFAO技術会議、2007年9月15～16日。第3.1項。国連食糧農業機構（FAO）食品品質基準局（AGNS））。

【 0 0 1 5 】

本明細書で使用する場合、「プロバイオティクス」細菌とは、「...ヒト（または動物）の健康に有益な影響を与える生存可能な微生物食品（または飼料）サプリメント」と定義される（欧州国際生命科学協会、欧州における機能性食品科学プロジェクト（FUFOSE）、機能性食品に関する作業部会）。

10

【 0 0 1 6 】

別段の指定がない限り、本明細書で使用する「食品」とは、ヒトまたは動物が消費するための食用製品（飲料を含む）をいう。「食料」または「飼料」と指定されている場合、「食料」はヒトの消費用、「飼料」は動物の消費用であることを意味する。

【 0 0 1 7 】

「シンバイオティクス製品」とは、プレバイオティクス成分とプロバイオティクス成分の組み合わせを含む組成物をいう。

【 0 0 1 8 】

シンバイオティクス成分は、ある一定範囲の投与量（「有効量」）の炭水化物成分（グラム/日）およびプロバイオティクス細菌の生菌力価（CFU/日）で効果がある。製品中の生菌の力価は、炭水化物用量1グラム当たりのCFUで表すことができる。

20

【 0 0 1 9 】

II . 概要

プロバイオティクス孢子形成細菌とプレバイオティクス化合物の組み合わせを含む新規のシンバイオティクス製品組成物であって、このシンバイオティクス組成物を含有する食品成分、食料、飼料添加物、動物用飼料等の健康上の利益を増強し得る組成物を、本明細書において提供する。本発明のシンバイオティクス製品は、プロバイオティクスの発芽、増殖、および活性を増強し、よって宿主の腸管内で孢子形成プロバイオティクス細菌の力価を上昇させる。理論に拘束されるものではないが、シンバイオティクス製品組成物は、ヒトおよび動物の健康、幸福、および多産性に、改善された利益を提供できると考えられている。このことは特に、病的状態の低下によるストレス軽減、免疫状態の改善、飼料転換効率の改善、ならびに食料/飼料の形成のしやすさの向上、食料/飼料の取扱いと貯蔵のしやすさの向上、および食料/飼料の送達の柔軟性の向上を通じてもたらされる。また、本製品組成物は、現在の公知のプロバイオティクス製品に比べてより少量の服用量で効果を上げることできる。

30

【 0 0 2 0 】

III . プレバイオティクス炭水化物

イヌリン、フラクトオリゴ糖、ラクツロース、可溶性トウモロコシ繊維（SCF）などのプレバイオティクス炭水化物に加えて、上部消化管での消化または吸収が制限されるいくつかの追加の化合物も、下部消化管に通過でき、常在菌による発酵を受けるという証拠が存在する。

40

【 0 0 2 1 】

理論に拘束されるものではないが、孢子形成バチルス菌株がもたらす利益の源は、製造工程および胃を通過した後も生存する孢子にあり、この孢子が腸内で発芽し、活性化し利益をもたらすと考えられている。こうしたバチルス菌株は、インビトロではグルコースとアミノ酸で植物的に増殖するが、インビボでは、上部消化管において、その栄養分を要求する宿主動物との間で競争する必要がある。現在使われているプロバイオティクス孢子粉末はマルトデキストリンでパッケージされているが、マルトデキストリンは、腸上部で孢子を発芽させるための潜在的な食物源としてのグルコースに等しい。それは、宿主動物も急

50

速にマルトデキストリンを消化・吸収するからである。

【0022】

対照的に、植物由来のいくつかの炭水化物化合物、例えば、アラビノキシラン（「AX」）（特にトウモロコシおよびトウモロコシ繊維に由来する植物ヘミセルロースの一形態）、アラビノキシランオリゴ糖（「AXOS」）（AXを加工して、高分子量ポリマーを切断して小さな断片にした形態）、およびキシロース（「X」）（AXおよびAXOSの単糖成分の1つ。上記ポリマーの酸または酵素加水分解により放出される）などが、孢子形成バチルス菌株を併用したシンバイオティクス製品組成物で使用する炭水化物として、特に好適であり得ることが発見された（実施例1および2）。

【0023】

本発明のある実施形態では、プレバイオティクス炭水化物は、アラビノキシラン、アラビノキシランオリゴ糖、キシロース、およびこれらの混合からなる群より選ばれる。本発明において有用な他のプレバイオティクス炭水化物には、可溶性繊維デキストリン（SFD）、可溶性トウモロコシ繊維（SCF）、および/またはポリデキストロース（PDX）が含まれる。ある実施形態では、プレバイオティクス炭水化物化合物は、アラビノキシラン、アラビノキシランオリゴ糖、キシロース、可溶性繊維デキストリン、可溶性トウモロコシ繊維、ポリデキストロース、およびこれらの混合からなる群より選ばれる。当業者であれば、アラビノキシラン、アラビノキシランオリゴ糖、キシロース、可溶性繊維デキストリン、可溶性トウモロコシ繊維、およびポリデキストロースと組み合わせて使用するのに適したプレバイオティクス炭水化物が他に多数存在し、その代表例にはイヌリン、フラクトオリゴ糖、ラクツロース、グルコース、およびマルトデキストリンが含まれることも認識するであろう。

【0024】

A. アラビノキシラン（AX）

AXは、トウモロコシ繊維から水抽出により可溶化することのできるヘミセルロースである。

【0025】

B. キシロース（X）

キシロースは、トウモロコシ繊維ヘミセルロースポリマーであるアラビノキシランの、キシランポリマー骨格を構成する単糖である。キシロースは、ヘミセルロースの酸または酵素加水分解により生成される。キシロースは、可溶性の高い結晶性の乾燥粉末である。キシロースは、豊富に存在し、比較的安価で、甘みのある天然化合物であり、一部の国では低カロリー甘味料として販売されている。

【0026】

C. アラビノキシランオリゴ糖（AXOS）

AXは、トウモロコシ繊維から水抽出により可溶化することのできるヘミセルロースである。AXは高分子量ポリマーの集団であり、例えばエンドキシラナーゼを用いた消化により、AXをオリゴ糖（AXOS）に転換できる。高分子量AX上で、少なくとも4つの公知のプロバイオティクスバチルス菌が限定的ではあるが増殖し、キシロース上では、同じ4つの菌株のうち少なくとも2つが力強く増殖することに基づき、AXOSも、これらおよび他のプロバイオティクスバチルス菌株で代謝されると考えられる。

【0027】

アラビノキシラン、キシロース、およびアラビノキシランオリゴ糖を取得する方法は、当業者において公知である。例えば、キシロースおよび/またはアラビノキシランオリゴ糖は、樹木その他の植物性素材から得たヘミセルロースを化学処理および/または酵素処理することにより取得できる。こうしたリグノセルロース基質は、セルロース、ヘミセルロース、およびリグニンを含む。この種の基質は、蒸気および/または弱酸性もしくは弱アルカリ性の処理で入手可能になり得る。一般に、セルロースよりヘミセルロースの方が糖類へと加水分解されやすいため、先にヘミセルロース物質を加水分解してから、不溶性セルロースを含有した残留物から可溶性のペントース糖類と可溶性のアラビノキシランオ

10

20

30

40

50

リゴ糖を分離するのが好ましい。加水分解には、例えば酵素（ヘミセルラーゼ）を使用するか、化学処理（例えば酸処理）を使用するか、この2つの組み合わせを使用できる。

【0028】

例えば、米国特許第6,942,754号に記載されているように、リグノセルロースパルプに対してヘミセルラーゼを用いた酵素処理を行い、得られた反応混合物をろ過して、酵素処理後のパルプから液体画分を分離し、分離後の液体画分を分離膜に通して浸透処理を行い、浸透画分から、高濃度になったキシロオリゴ糖-リグニン複合体を含有する非浸透画分を分離し、非浸透画分を収集し、収集した非浸透画分からキシロオリゴ糖を分離し回収することにより、リグノセルロースパルプからキシロオリゴ糖が生成される。

【0029】

例えば、Shibanuma, K., et al. (1999) J. Appl. Glycosci. 46, 249-56に記載されているように、植物素材を弱酸加水分解することにより、単子葉植物のヘミセルロースの単糖類であるキシロースとアラビノースを取得できる。得られた加水分解産物の可溶性画分を上記の方法で分画することにより、単糖類およびアラビノキシランオリゴマー混合物が得られる。

【0030】

IV. プロバイオティクス細菌

プロバイオティクスとは、摂取されると、ヒトおよび/または動物に有益な効果をもたらす生きた微生物である。現在ヒト用食料に使われているプロバイオティクスの大半は、乳酸桿菌とビフィズス菌のいずれかの種に属する。このどちらの菌種も孢子を形成しない。しかし、プロバイオティクス特性を有する一部の微生物の中には、耐熱性で極度に安定した孢子を形成できる細菌が含まれることが報告されている。このような孢子形成細菌の代表例には様々な孢子形成バチルス種細菌が含まれ、例えば枯草菌 (*B. subtilis*)、バチルス・コアグランス (*Bacillus coagulans*)、バチルス・リケニフォルミス (*B. licheniformis*)、バチルス・プミリス (*B. pumilis*)、およびバチルス・クラウジ (*B. clausii*) などがある（これらに限定されない）。孢子は、多くの場合、100 を超える温度に曝露しても生存する。このような耐熱性を持つことから、孢子は、非常に厳しい製造工程を経ても生存することができる。一般に、工業規模の純粋培養発酵において、孢子は高収率で産生される。孢子は、植物性細菌よりも熱と酸素に対する耐性があるため、孢子を形成しない細菌と比べて、処理条件を経た後も順調に生存する。乾燥した粉末形態の孢子であれば、何十年間も生存できる。一般に、密閉包装された市販の乾燥孢子製品では、2年間に消失する生存能はごくわずかである。バチルス菌の孢子は胃通過後も生存し、胆汁酸塩曝露に対して抵抗性があり、回腸内で発芽することが報告されている。Casula, G, and Cutting, SM (2002) Applied Environmental Microbiology, May 2002, pp. 2344-2352。

【0031】

多くのバチルス菌株は、既存の機器を特別な修正なく使用して、十分に理解されている好気性発酵条件下で、安価な最小限の培地で十分に増殖し効率良く孢子を形成する。本発明のある実施形態では、細菌は、プロバイオティクス効果を有する孢子形成バチルス種細菌である。ある実施形態では、プロバイオティクス孢子形成バチルス細菌は、枯草菌 (*B. subtilis*)、バチルス・コアグランス (*Bacillus coagulans*)、バチルス・クラウジ (*B. clausii*)、バチルス・リケニフォルミス (*B. licheniformis*)、バチルス・プミリス (*B. pumilis*)、およびこれらの混合からなる群より選ばれる。

【0032】

本発明の孢子形成プロバイオティクスバチルス種細菌は、当業者によく知られている生産方法を超えた、特別な製造、取扱い、梱包等の生産方法を必要としない。プロバイオティクス孢子の生産方法は、当技術分野でよく知られている発酵および回収方法を使用する。例えば、各々の細菌種を標準ストックから反応器に播種して、所定のCFU/グラム濃度に達し孢子形成が発生するまで標準培地で増殖させる。次に、バルク材料を反応器から排出して、各種標準方法のいずれか（スプレー乾燥など）を用いて乾燥する。当技術分野

10

20

30

40

50

で公知の方法の他の代表例には、液内発酵、ろ過による回収と濃縮、および防湿システムにおける包装などが含まれる。

【0033】

V. シンバイオティクス製品

本発明のシンバイオティクス製品は、生きたプロバイオティクス孢子形成細菌、および相乗効果を達成すると考えられるプレバイオティクス化合物の、新規な組み合わせである。本発明のある実施形態では、シンバイオティクス製品は、少なくとも1つのプロバイオティクス孢子形成パチルス細菌と、少なくとも1つのプレバイオティクス炭水化物の組み合わせである。このようなシンバイオティクス製品は、食料および動物用飼料の成分として使用できる。ある実施形態では、シンバイオティクス製品は、枯草菌 (*B. subtilis*)、パチルス・コアグランス (*Bacillus coagulans*)、パチルス・リケニフォルミス (*B. licheniformis*)、パチルス・クラウジ (*B. clausii*)、パチルス・プミリス (*B. pumilis*)、およびこれらの混合からなる群より選ばれる少なくとも1つのプロバイオティクス孢子形成パチルス細菌を含む。ある実施形態では、シンバイオティクス製品は、アラビノキシラン (「AX」)、アラビノキシランオリゴ糖 (「AXOS」)、キシロース (「X」)、可溶性繊維デキストリン (「SFD」)、可溶性トウモロコシ繊維 (「SCF」)、ポリデキストロース (「PDX」)、およびこれらの混合からなる群より選ばれる少なくとも1つのプレバイオティクス炭水化物を含む。ある実施形態において、シンバイオティクス製品がイヌリン、フラクトオリゴ糖、ラクツロース、グルコース、およびマルトデキストリンを含むことも企図されている。当業者であれば、少なくとも1つのプロバイオティクス孢子形成パチルス細菌と、少なくとも1つのプレバイオティクス炭水化物の様々な組み合わせを包含する多数の実施形態が存在し、そのすべてが本明細書で企図されていることを認識するであろう。

10

20

【0034】

ある実施形態では、孢子形成パチルス細菌とプレバイオティクス炭水化物のシンバイオティクス製品組成物は、乾燥粉末である。ある実施形態では、この乾燥粉末は、ASTM規格D6128-97 (1998) American Soc. for testing and materials: "Standard shear-testing method for bulk solids using the Jenike shear cell"で測定した様に、流動性粉末である。ある実施形態では、シンバイオティクス製品の含水率は約10%未満である。ある実施形態では、シンバイオティクス製品の含水率は約9%未満である。ある実施形態では、シンバイオティクス製品の含水率は約8%未満である。ある実施形態では、シンバイオティクス製品の含水率は約7%未満である。ある実施形態では、シンバイオティクス製品の含水率は約6%未満である。ある実施形態では、シンバイオティクス製品の含水率は約5%未満である。ある実施形態では、シンバイオティクス製品の含水率は約1%~約10%である。ある実施形態では、シンバイオティクス製品の含水率は約5%~約10%である。本明細書で使用する含水率は、ASTM規格D6869米国材料試験協会:「カールフィッシャー」滴定により測定されたものをいう。

30

【0035】

少なくとも1つのプロバイオティクス孢子形成パチルス細菌と、少なくとも1つのプレバイオティクス炭水化物の組み合わせである、本発明のシンバイオティクス製品は、次のように表すこともできる。すなわち、本発明のシンバイオティクス製品は、プレバイオティクス炭水化物成分と、プロバイオティクス孢子成分を含み、このプレバイオティクス炭水化物成分は少なくとも1つのプレバイオティクス炭水化物を含み、このプロバイオティクス孢子成分は少なくとも1つのプロバイオティクス孢子形成パチルス細菌を含む。

40

【0036】

シンバイオティクス製品組成物は、ある量の乾燥孢子成分と、ある量の乾燥プレバイオティクス成分を混合することにより調製できる。別の方法として、液状のプレバイオティクス成分と、液状のプロバイオティクス孢子成分を混合して、得られた混合物をスプレー乾燥などにより乾燥することもできる。当業者であれば、商業生産で一般に用いられている他の代替方法も実用的かつ有用であることを認識するであろう。

50

【0037】

食料・飼料製品業界で公知の他の適切な付加成分、例えば不活性充填剤、分散剤、保存剤、着色剤、栄養剤など（これらに限定されない）を添加して、最終製品において所望の製品特性および所望の範囲の生きた胞子を達成することができる。

【0038】

ある実施形態では、シンバイオティクス製品のプロバイオティクス胞子成分は、乾燥重量1グラムあたり最大約 10^{11} 個の生存胞子を含有する。ある実施形態では、このプロバイオティクス胞子成分は、乾燥重量1グラムあたり約 10^9 個超の生存胞子を含有する。ある実施形態では、このプロバイオティクス胞子成分は、乾燥重量1グラムあたり約 10^9 個～約 10^{11} 個の生存胞子を含有する。ある実施形態では、このプロバイオティクス胞子成分は、乾燥重量1グラムあたり約 10^9 個～約 10^{10} 個の生存胞子を含有する。ある実施形態では、このプロバイオティクス胞子成分は、乾燥重量1グラムあたり約 10^{10} 個～約 10^{11} 個の生存胞子を含有する。本明細書で使用する生存胞子数は、一般に使用され、実施例3に説明的な例が記載されている「混積平板」法でカウントされた数をいう。

10

【0039】

ある実施形態では、最終シンバイオティクス製品組成物は、乾燥製品重量1グラムあたり約 10^5 個超の生存プロバイオティクス胞子を含有する。ある実施形態では、最終シンバイオティクス製品組成物は、乾燥製品重量1グラムあたり最大約 10^7 個の生存プロバイオティクス胞子を含有する。ある実施形態では、最終シンバイオティクス製品組成物は、乾燥製品重量1グラムあたり約 10^5 個～約 10^7 個の生存プロバイオティクス胞子を含有する。ある実施形態では、最終シンバイオティクス製品組成物は、乾燥製品重量1グラムあたり約 10^5 個～約 10^6 個の生存プロバイオティクス胞子を含有する。ある実施形態では、最終シンバイオティクス製品組成物は、乾燥製品重量1グラムあたり約 10^6 個～約 10^7 個の生存プロバイオティクス胞子を含有する。

20

【0040】

例示目的で述べると、乾燥重量1グラムあたりプロバイオティクス胞子 10^9 個の生存力価を有するプロバイオティクス胞子成分と、他の乾燥成分を混合して、最終力価として、例えば乾燥製品重量1グラムあたり 10^7 個の生存胞子を達成する場合、1グラムの乾燥胞子成分と、プレバイオティクス炭水化物を含む100グラムの他の乾燥成分を混合する。

30

【0041】

VI. 食品

本発明のシンバイオティクス製品は、ヒト用食料や動物用飼料などの食品の成分または構成要素として使用することができる。このような食品は、有効量のシンバイオティクス製品を提供する量の食品が消費できるように、ある一定量のシンバイオティクス製品を含有する。食品への各種成分の添加は当技術分野で知られており、調製する食品の種類によって様々な添加がある。従来より、プレバイオティクスまたはプロバイオティクスを含有する食品として販売されているいくつか特定の食品が存在するが、本明細書で企図されている食品の種類は、特定の種類の食品に限定されない。ある実施形態における、シンバイオティクス製品を含有する食品の代表的かつ非限定的な例として、サプリメント、栄養バー、永久臨床栄養剤、ベビーフード、および乾燥食料用のコーティング（例えばパン食品、チューインガムのコーティング）が挙げられる。このような食料の予測例を実施例に示す。

40

【0042】

VII. 胞子形成バチルス細菌の力価を上昇させる方法

本発明のある実施形態は、哺乳動物の腸管内で胞子形成バチルス細菌の力価を上昇させる方法を対象とする。有効量のシンバイオティクス製品を投与することにより、ヒトおよびヒト以外の哺乳動物に対して、ある一定の健康上の利益を提供でき、その健康が改善されると考えられる。

50

【0043】

一般に、プロバイオティクスを消費することは、正常で健康な個体の消化管を維持および調節する上で役立つと考えられている。また、プロバイオティクスを消費することは、下痢などの消化管の軽い病気の緩和にも役立つ場合がある。対照試験では、乳児と小児において、プロバイオティクスが感染性下痢の経過を短縮できることが示唆されている。また、プロバイオティクスの消費は、クローン病および過敏性腸症候群を患う人に役立つこともある。いくつかの実験では、あるプロバイオティクスは、潰瘍性大腸炎の寛解維持に役立ち、クローン病および回腸嚢炎（潰瘍性大腸炎を治療する手術の合併症）の再発を防止できることが示唆されている。また、プロバイオティクスは、泌尿生殖器の衛生を維持する上でも有用であり得る。膣は、腸管と同様に、細かなバランスを保つ生態系である。しかし、抗生物質、殺精子剤、経口避妊薬などのいくつかの要因により、この生態系のバランスが崩れることがある。ミクロフローラのバランスを回復するプロバイオティクス治療は、細菌性膣症、イースト菌感染症、尿路感染症といった一般的な女性泌尿生殖器の問題に役立つ場合がある。細菌性膣症および尿路感染症の治療では、プロバイオティクスの経口投与および膣内投与が有用であり得ることが企図されている。動物がプロバイオティクスを消費する場合も、類似の利益を提供でき、特に、抗生物質を用いた動物治療に代わる低コストかつ「天然」の治療法として有益であり得る。

10

【0044】

ヒト以外の哺乳動物の代表例には、一般に家畜類とみなされる動物が含まれ、例えば、ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、雄ウシ、ラマ、アルパカ、およびバイソンが挙げられるが、これらに限定されない。ヒト以外の哺乳動物の代表例には、げっ歯類動物も含まれ、例えば、マウス、ラット、ウサギ、ハムスター、スナネズミ、およびモルモットが挙げられるが、これらに限定されない。ヒト以外の哺乳動物の代表例には、哺乳類愛玩動物も含まれ、例えば、ネコおよびイヌが挙げられるが、これらに限定されない。家畜類などの哺乳動物に対して、健康を改善する目的で抗生物質が日常的に投与されている。ある実施形態では、ヒト以外の哺乳動物に抗生物質を投与することなく、本発明のシンバイオティクス製品を投与することにより、これらの哺乳動物に健康上の利益を提供し得る。

20

【0045】

ある実施形態では、腸管内の孢子形成バチルス細菌の力価を上昇させる効果量のシンバイオティクス製品を投与し、これは、プレバイオティクス活性および/またはプロバイオティクス活性を提供するに足る十分な量のプレバイオティクス炭水化物とプロバイオティクス細菌成分を含有し、ただし、非消化性炭水化物に浸透作用があるため、許容限度を大きく超えない量に制限する。ヒトに関しては、プレバイオティクス炭水化物の用量が約20g/日を超えると、不快な影響をもたらすことがある。動物に関しては、当業者であれば、体重に比例させるなどしてシンバイオティクス製品の投与量を調整することにより、プレバイオティクス炭水化物および/またはプロバイオティクス細菌の効果量が達成されることを認識するであろう。

30

【0046】

シンバイオティクス製品は、例えば1週間に一度、1ヶ月に一度、数ヶ月に一度、1年に一度などの低頻度で投与してよい。シンバイオティクス製品は、例えば1週間に2~6日、またはそれ以上の長期に渡って同様の頻度で投与するなど、より高頻度で投与してよい。シンバイオティクス製品は、毎日、すなわち少なくとも5日間に渡る連続した日に投与してよい。

40

【0047】

ある実施形態では、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約1g~約25gとなるように、シンバイオティクス製品を投与する。ある実施形態では、この量のシンバイオティクス製品を毎日投与する。ある実施形態では、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約1g~約10gとなるように、シンバイオティクス製品を投与する。ある実施形態では、この量のシンバイオティクス製品を毎日投与する。ある実施形態では、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約1g~約20gとなるように、

50

シンバイオティクス製品を投与する。ある実施形態では、この量のシンバイオティクス製品を毎日投与する。ある実施形態では、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約2.5g~約10gとなるように、シンバイオティクス製品を投与する。ある実施形態では、この量のシンバイオティクス製品を毎日投与する。ある実施形態では、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約2.5g~約20gとなるように、シンバイオティクス製品を投与する。ある実施形態では、この量のシンバイオティクス製品を毎日投与する。ある実施形態では、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約5g~約10gとなるように、シンバイオティクス製品を投与する。ある実施形態では、この量のシンバイオティクス製品を毎日投与する。ある実施形態では、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約5g~約20gとなるように、シンバイオティクス製品を投与する。ある実施形態では、この量のシンバイオティクス製品を毎日投与する。ある実施形態では、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約2.5g~約25gとなるように、シンバイオティクス製品を投与する。ある実施形態では、この量のシンバイオティクス製品を毎日投与する。ある実施形態では、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約5g~約25gとなるように、シンバイオティクス製品を投与する。ある実施形態では、この量のシンバイオティクス製品を毎日投与する。ある実施形態では、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約10g~約25gとなるように、シンバイオティクス製品を投与する。ある実施形態では、この量のシンバイオティクス製品を毎日投与する。ある実施形態では、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約10g~約20gとなるように、シンバイオティクス製品を投与する。ある実施形態では、この量のシンバイオティクス製品を毎日投与する。

【0048】

ある実施形態では、任意の1日間のプロバイオティクス細菌の量が約 10^4 CFU~約 10^{10} CFUとなるように、シンバイオティクス製品を投与する。ある実施形態では、この量のシンバイオティクス製品を毎日投与する。ある実施形態では、任意の1日間のプロバイオティクス細菌の量が約 10^6 CFU~約 10^8 CFUとなるように、シンバイオティクス製品を投与する。ある実施形態では、この量のシンバイオティクス製品を毎日投与する。ある実施形態では、任意の1日間のプロバイオティクス細菌の量が1日あたり約 10^4 CFU~約 10^6 CFUとなるように、シンバイオティクス製品を投与する。ある実施形態では、この量のシンバイオティクス製品を毎日投与する。ある実施形態では、任意の1日間のプロバイオティクス細菌の量が1日あたり約 10^4 CFU~約 10^8 CFUとなるように、シンバイオティクス製品を投与する。ある実施形態では、この量のシンバイオティクス製品を毎日投与する。ある実施形態では、任意の1日間のプロバイオティクス細菌の量が1日あたり約 10^6 CFU~約 10^{10} CFUとなるように、シンバイオティクス製品を投与する。ある実施形態では、この量のシンバイオティクス製品を毎日投与する。ある実施形態では、任意の1日間のプロバイオティクス細菌の量が1日あたり約 10^8 CFU~約 10^{10} CFUとなるように、シンバイオティクス製品を投与する。ある実施形態では、この量のシンバイオティクス製品を毎日投与する。

【0049】

シンバイオティクス製品の成分は消化管の内部でその利益を提供すると考えられていることから、シンバイオティクス製品の投与は、シンバイオティクス製品が消化管に曝露する投与を伴ってよい。ある実施形態では、シンバイオティクス製品は、食料や動物用飼料などの食用製品の成分または構成要素である。シンバイオティクス製品の投与は、シンバイオティクス製品を含む食品の消費を通じて行われる。消費されるシンバイオティクス製品を含む食品の量は、効果量のシンバイオティクス製品を含有する量である。

【0050】

ある実施形態では、消費される食品の量は、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約1g~約25gとなるような量のシンバイオティクス製品を含有する量である。ある実施形態では、この量の食品が毎日消費される。ある実施形態では、消費される食品の量は、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約1g~約10gとなるよ

うな量のシンバイオティクス製品を含有する量である。ある実施形態では、この量の食品が毎日消費される。ある実施形態では、消費される食品の量は、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約1g～約20gとなるような量のシンバイオティクス製品を含有する量である。ある実施形態では、この量の食品が毎日消費される。ある実施形態では、消費される食品の量は、1日間のプレバイオティクス炭水化物成分の量が約2.5g～約10gとなるような量のシンバイオティクス製品を含有する量である。ある実施形態では、この量の食品が毎日消費される。ある実施形態では、消費される食品の量は、1日間のプレバイオティクス炭水化物成分の量が約2.5g～約20gとなるような量のシンバイオティクス製品を含有する量である。ある実施形態では、この量の食品が毎日消費される。ある実施形態では、消費される食品の量は、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約5g～約10gとなるような量のシンバイオティクス製品を含有する量である。ある実施形態では、この量の食品が毎日消費される。ある実施形態では、消費される食品の量は、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約5g～約20gとなるような量のシンバイオティクス製品を含有する量である。ある実施形態では、この量の食品が毎日消費される。ある実施形態では、消費される食品の量は、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約2.5g～約25gとなるような量のシンバイオティクス製品を含有する量である。ある実施形態では、この量の食品が毎日消費される。ある実施形態では、消費される食品の量は、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物成分の量が約5g～約25gとなるような量のシンバイオティクス製品を含有する量である。ある実施形態では、この量の食品が毎日消費される。ある実施形態では、消費される食品の量は、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約10g～約25gとなるような量のシンバイオティクス製品を含有する量である。ある実施形態では、この量の食品が毎日消費される。ある実施形態では、消費される食品の量は、任意の1日間のプレバイオティクス炭水化物の量が約10g～約20gとなるような量のシンバイオティクス製品を含有する量である。ある実施形態では、この量の食品が毎日消費される。

【0051】

ある実施形態では、消費される食品の量は、任意の1日間のプロバイオティクス細菌の量が約 10^4 CFU～約 10^{10} CFUとなるような量のシンバイオティクス製品を含有する量である。ある実施形態では、この量の食品が毎日消費される。ある実施形態では、消費される食品の量は、任意の1日間のプロバイオティクス細菌の量が約 10^6 CFU～約 10^8 CFUとなるような量のシンバイオティクス製品を含有する量である。ある実施形態では、この量の食品が毎日消費される。ある実施形態では、消費される食品の量は、任意の1日間のプロバイオティクス細菌の量が約 10^4 CFU～約 10^6 CFUとなるような量のシンバイオティクス製品を含有する量である。ある実施形態では、この量の食品が毎日消費される。ある実施形態では、消費される食品の量は、任意の1日間のプロバイオティクス細菌の量が約 10^4 CFU～約 10^8 CFUとなるような量のシンバイオティクス製品を含有する量である。ある実施形態では、この量の食品が毎日消費される。ある実施形態では、消費される食品の量は、任意の1日間のプロバイオティクス細菌の量が約 10^6 CFU～約 10^{10} CFUとなるような量のシンバイオティクス製品を含有する量である。ある実施形態では、この量の食品が毎日消費される。

【0052】

VIII. 実施例

以下の開示される実施形態は、種々の形態で具体化し得る本発明を代表するものに過ぎない。従って、以下の実施例に開示される特定の構造的、機能的、および手順上の詳細は、限定するものとは解釈されない。

【0053】

実施例1：種々のプレバイオティクス炭水化物上でのプロバイオティクス・バチルスの

成長

4種の市販の孢子形成プロバイオティクス・バチルス菌株を、プレバイオティクス炭水化物上、10g/Lで増殖させた(図1を参照)。4種の菌株は、バチルス・プミリス(*B. pumilis*)、バチルス・リケニフォルミス(*B. licheniformis*)、枯草菌(*B. subtilis*)、およびバチルス・コアグランス(*B. coagulans*)であった。プレバイオティクス炭水化物は、高分子量のアラビノキシラン(A X)、キシロース(X)、可溶性繊維デキストリン(w a x y)(S F D w)、可溶性トウモロコシ繊維(85)(S C F)、およびポリデキストロース(P D X)であった。図1に示すデータの有意性の基準として、表1は、バチルス・コアグランス(*B. coagulans*)のデータに対するP値を示す。

表1

【表1】

| | |
|-------------------------------|------------|
| アラビノキシラン(高分子量)(A X) | $P < 0.01$ |
| キシロース(X) | $P < 0.01$ |
| 可溶性繊維デキストラン(w a x y)(S F D w) | $P > 0.75$ |
| 可溶性トウモロコシ繊維(85)(S C F) | $P < 0.02$ |
| ポリデキストロース(P D X) | $P < 0.01$ |

【0054】

プレバイオティクス基質5種のうちの4種上で、バチルス・コアグランス(*B. coagulans*)の有意な成長がみられた。S F D w上では、有意な成長は観察されなかった。この実験における、バチルス・コアグランス(*B. coagulans*)のプレバイオティクスに対する有意な応答は、他のプロバイオティクス菌株に対する有意な成長を判断するための対照を提供する。

【0055】

可溶性繊維デキストラン(S F D w)。エンベラ社(Embera)(ペンシルバニア州、コーツヴィル)製の3種のプロバイオティクス・バチルス菌株-バチルス・プミリス(*B. pumilis*)、バチルス・リケニフォルミス(*B. licheniformis*)、および枯草菌(*B. subtilis*)-は、S F D w上で強力に増殖した。しかしながら、バチルス・コアグランス(*B. coagulans*)は、S F D w上では増殖しなかった。

【0056】

可溶性トウモロコシ繊維(S C F)およびポリデキストロース(P D X)。バチルス・プミリス(*B. pumilis*)、バチルス・リケニフォルミス(*B. licheniformis*)、および枯草菌(*B. subtilis*)は、S C FおよびP D X上で、中程度から強力に増殖した。

【0057】

アラビノキシラン(A X)。試験した全ての4種のプロバイオティクス・バチルス菌株:バチルス・プミリス(*B. pumilis*);バチルス・リケニフォルミス(*B. licheniformis*);枯草菌(*B. subtilis*);およびバチルス・コアグランス(*B. coagulans*)は、A X上で、限定的だが、有意に増殖した。理論に限定されるものではないが、これらの菌株は、A Xから限定的な量の栄養を抽出することが出来ると信じられている。バチルス菌株は、栄養分として、高分子量A Xポリマーから、糖類および/またはフェルラ酸を切り取る、-キシラナーゼ、アラビノシダーゼ、およびフェルラ酸エステラーゼ活性を有することが報告されている。

【0058】

キシロース(X)。バチルス・コアグランス(*B. coagulans*)および枯草菌(*B. subtilis*)は、キシロース上で増殖した。バチルス・リケニフォルミス(*B. licheniformis*)は、キシロース上で限定的な増殖を示した。バチルス・プミリス(*B. pumilis*)は、キシロース上で増殖できないようであった。

10

20

30

40

50

【0059】

概要。本実施例1は、既知の孢子形成プロバイオティクス細菌が、プレバイオティクス炭水化物、例えば可溶性繊維デキストリン、可溶性トウモロコシ繊維、ポリデキストロース、高分子量アラビノキシラン、およびキシロース上で増殖可能であることを示す。プロバイオティクス・パチルス菌株の各々は、幾分異なる基質の嗜好を示した。しかしながら、試験されたプレバイオティクス候補のうちただ1つのみに限定されるものは無いと思われる。

【0060】

実施例2．種々の炭水化物上でのパチルス・コアグランス (*B. coagulans*) の最大成長の比較

プロバイオティクスなパチルス・コアグランス (*B. coagulans*) 菌株、G B I - 3 0 (ATCC 指定番号 P T A - 6 0 8 6 ; 米国特許第 6 , 8 4 9 , 2 5 6 号) (Ganeden Biotech, Inc.; Mayfield Heights, OH) の最大成長を、炭水化物であるアラビノキシラン、キシロース、およびブドウ糖上、約 1 0 g / L にて、ならびに炭水化物の添加無しに対して (図 2) 比較した。結果は、既知の孢子形成プロバイオティクス細菌が、プレバイオティクス炭水化物、例えばキシロース上で、強力に成長可能であることを示す。

【0061】

実施例3．生存孢子数を測定するための混釈平板法方法

孢子は、ともに凝集して沈降する傾向があるため、誤差の可能性を避けるためには、3つ以上の孢子濃縮試料において孢子数計測を実行することが好ましい。試料を計測のために取り出す前に、攪拌、例えば振盪により、凝集を分散するべきである。

【0062】

プロトコル：

A．試験台に8個の試験管を置き、番号を付け、各試験管に9mlの生理食塩水を添加する。

【0063】

B．1mlの孢子懸濁液を、ピペットまたはツベルクリンシリンジにより、試験管1番中に移す。

【0064】

C．新しいツベルクリンシリンジまたはピペットを使用して、最初の希釈液を数回混合し、1mlを次の試験管に移す。それぞれの希釈のために新しいシリンジまたはピペットを使用して、残りの10倍希釈液を同様に作製する。

【0065】

D．最高濃度の希釈液から始め、 10^{-8} 、 10^{-7} 、および 10^{-6} 倍のそれぞれの希釈液から、1mlをピペットでペトリ皿中に入れる。それぞれの希釈液に対し、5個の直径10cmのペトリ皿を使用する。

【0066】

E．約20mlの溶かした栄養寒天を45℃に冷やして、各ペトリ皿に注ぐ。プレートを回転させることにより、接種材料を直ちに寒天培地と混合する。プレートを室温に保ち、寒天を凝固させる。

【0067】

F．プレートを37℃で24時間、インキュベートする。

【0068】

G．特定の希釈度の、全ての5つのプレートで、コロニーをカウントする。プレートあたりの平均数に希釈因数を掛け、最初の懸濁液のmlあたりの生存孢子数を得る。 10^{-6} ~ 10^{-8} 倍のそれぞれの希釈液に対する、平均計測数を算出する。最初のストック懸濁液中の平均生存孢子数を得るためには、3種の希釈液の平均値をとる。

【0069】

実施例4．サプリメント

粉末のグラムあたり、少なくとも 10^9 個の生存孢子を含む、パチルス・コアグランス

10

20

30

40

50

(*Bacillus coagulans*) (BC) 懸濁液の凍結乾燥した孢子粉末から開始する。キシロース粉末(X)は、シグマアルドリッチ社(Sigma-Aldrich)(米国、ミズーリ州、セントルイス)より入手可能である。2つの粉末を、均一な生成物が得られるまで、100/1のX/BC比率で混合する。投与計画に基づいて、小袋に2~5gのこの混合物を入れる(例えば、1日あたり1個の小袋に5g、または1日あたり2個の小袋に3gなど)。1つの小袋の内容物を、例えば、1杯のオレンジジュースまたは牛乳に混ぜて服用してもよい。

【0070】

実施例5．シンバイオティクス栄養バー

4.0gのオーツ麦フレーク、4.0gの小麦フレーク、3.0gの膨化米、1.0gの砕いたヘーゼルナッツ、0.25gのはちみつ、3.0gのレーズン、1.5gのマルトデキストリン、1.0gの凍結乾燥したパチルス・コアグランス(*Bacillus coagulans*)(BC; >10⁹個の生存孢子/粉末g)、および5.0gのキシロース粉末から、23gのバーを調製する。

10

【0071】

実施例6．完全な腸内臨床栄養剤との混合のためのシンバイオティクス混合物

実施例4の方法に従って、シンバイオティクス製品である粉末混合物を調製する。5gの粉末混合物を小袋に入れる。この小袋の内容物を、標準の腸内臨床栄養剤に添加することができる。最善の結果を得るためには、小袋の内容物を、使用前30分間以内に添加することが好ましい。

20

【0072】

実施例7．強化離乳食のためのシンバイオティクス粉末混合物

実施例4の方法に従って、シンバイオティクス製品である粉末混合物を調製する。5gの粉末混合物を小袋に入れる。小袋の内容物を、標準の粉ミルクまたは離乳食に添加することが出来る。最善の結果を得るためには、小袋の内容物を、使用前30分間以内に添加することが好ましい。

【0073】

実施例8．乾燥食料のための甘味粉末コーティング

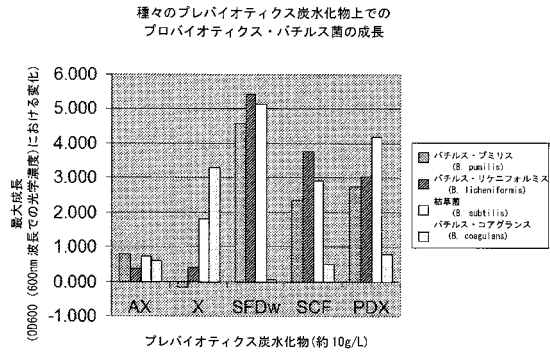
例えば、パン製品等を含む乾燥食料のための粉末コーティングなどの、甘味粉末コーティングを調製してもよい。

30

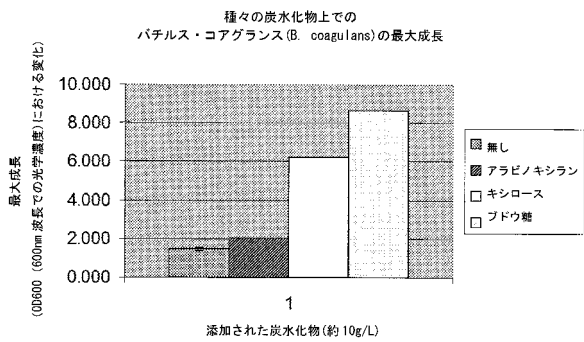
【0074】

別の例は、実施例4に従って調製された、シンバイオティクス製品である粉末混合物を用いて調製された、シンバイオティクス混合物の乾燥粉末コーティングを施したチューイングガムである。適度に甘い、非齲蝕性の粉末を使用して、チューイングガムのスティックをコーティングする。チューイングガムのスティックは、個別に包装されたガムスティックのように、標準の包装方法を使用して包装されてもよい。

【 図 1 】



【 図 2 】



* 「無し」(炭水化物の添加無し) についての平均値の標準誤差を示す (4つの独立した実験)。

【 国際調査報告 】

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT | | International application No PCT/US2011/048392 |
|---|---|--|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A23K1/00 A23K1/16 A23L1/30 A23L1/308 A61K31/70 A61K35/74 ADD. 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) A23K A23L A61K Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EP0-Internal, FSTA, BIOSIS, MEDLINE, WPI Data | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | US 2008/199444 A1 (CUI YUNLONG [CN]) 21 August 2008 (2008-08-21) claims; example 5 ----- | 1-32 |
| X | US 6 811 786 B1 (FARMER SEAN [US] ET AL) 2 November 2004 (2004-11-02) column 4, line 14 - column 7, line 14; claims ----- | 1-32 |
| <input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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 document 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 23 September 2011 | | Date of mailing of the international search report 06/10/2011 |
| Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 6818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040 Fax: (+31-70) 340-3016 | | Authorized officer Vernier, Frédéric |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2011/048392

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(a) | Publication date |
|--|------------------|-------------------------|------------------|
| US 2008199444 A1 | 21-08-2008 | CN 101095698 A | 02-01-2008 |
| US 6811786 B1 | 02-11-2004 | NONE | |

フロントページの続き

| (51)Int.Cl. | F I | テーマコード(参考) |
|-------------------------|----------------------|------------|
| A 6 1 P 31/04 (2006.01) | A 6 1 P 1/00 1 7 1 | |
| A 6 1 P 43/00 (2006.01) | A 6 1 P 31/04 1 7 1 | |
| A 2 3 K 1/16 (2006.01) | A 6 1 P 31/04 | |
| A 2 3 K 1/18 (2006.01) | A 6 1 P 43/00 1 2 1 | |
| | A 2 3 K 1/16 3 0 4 B | |
| | A 2 3 K 1/16 3 0 3 D | |
| | A 2 3 K 1/18 A | |
| | A 2 3 K 1/18 B | |
| | A 2 3 K 1/18 Z | |

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, T M), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, R S, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, I D, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO , NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM

(74)代理人 100114890
弁理士 アイゼル・フェリックス＝ラインハルト

(74)代理人 100099483
弁理士 久野 琢也

(72)発明者 リチャード ダブリュー . アーメントラウト
アメリカ合衆国 イリノイ ホフマン・エステーツ プレーリー・ストーン・パークウェイ 5 4
5 0

F ターム(参考) 2B005 AA05 BA01 BA05 EA01 EA02
2B150 AA01 AA02 AA03 AA06 AC02 AC03 DC13 DC15 DC16 DD12
4B018 LB01 LB07 LB08 LE03 MD28 MD31 MD35 MD36 MD85 ME02
MF02
4C086 AA01 AA02 EA01 EA20 MA02 MA04 MA52 NA14 ZA73 ZB35
ZC61 ZC75
4C087 AA01 AA02 BC64 BC65 MA02 MA52 NA14 ZA73 ZB35 ZC61
ZC75