(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
2007 年11 月22 日 (22.11.2007)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2007/132831 A1

(51) 国際特許分類:
*C12N 1/16* (2006.01) *C12N 1/18* (2006.01)
*A61K 31/7076* (2006.01) *C07H 19/167* (2006.01)
*A61K 47/42* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2007/059917

(22) 国際出願日: 2007 年5 月15 日 (15.05.2007)

(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2006-135957 2006 年5 月16 日 (16.05.2006) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 三菱瓦斯化学株式会社 (MITSUBISHI GAS CHEMICAL COMPANY, INC.) [JP/JP]; 〒1008324 東京都千代田区丸の内二丁目５番２号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 高野 健太郎 (TAKANO, Kentarou) [JP/JP]; 〒9503112 新潟県新潟市北区太夫浜新割１８２番地 三菱瓦斯化学株式会社 新潟研究所内 Niigata (JP). 莪山 眞與 (GAYAMA, Shinyo) [JP/JP]; 〒9503112 新潟県新潟市北区太夫浜新割１８２番地 三菱瓦斯化学株式会社 新潟研究所内 Niigata (JP).

(74) 代理人: 大谷 保 (OHTANI, Tamotsu); 〒1050001 東京都港区虎ノ門三丁目２５番２号 ブリヂストン虎ノ門ビル６階 大谷特許事務所 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, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, 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, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

２文字コード及び他の略語については、定期発行される各*PCT*ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: METHOD OF PRODUCING S-ADENOSYL-L-METHIONINE-CONTAINING DRY YEAST HAVING EXCELLENT STORAGE STABILITY, THE PRODUCT THEREOF AND COMPOSITION FOR ORAL INTAKE

(54) 発明の名称: 保存安定性に優れたＳ－アデノシル－Ｌ－メチオニン含有乾燥酵母の製造方法、その製造物及び経口摂取用組成物

(57) Abstract: A method of producing an S-adenosyl-L-methionine-containing dry yeast by using a yeast capable of producing S-adenosyl-L-methionine, characterized by comprising adding ascorbic acid or its salt to a yeast cell concentrate, which has been separated from a liquid culture medium of the yeast cells, and then drying the concentrate; an SAMe-containing dry yeast produced by the above method; and a composition for oral intake prepared by molding the above dry yeast. Thus, it is intended to establish a method whereby an SAMe-containing dry yeast, which contains SAMe at a high concentration and has an excellent storage stability, can be conveniently produced at a low cost and provide an SAMe-containing dry yeast obtained by the above production method and a composition for oral intake prepared by molding the above dry yeast.

(57) 要約: Ｓ－アデノシル－Ｌ－メチオニン生産能を有する酵母を用い、Ｓ－アデノシル－Ｌ－メチオニンを含有する乾燥酵母を製造する方法において、酵母の菌体培養液より分離した酵母菌体濃縮物にアスコルビン酸類又はその塩を添加した後に、該濃縮物を乾燥させることを特徴とする、Ｓ－アデノシル－Ｌ－メチオニン含有乾燥酵母の製造方法、該製造方法で得られたＳＡＭｅ含有乾燥酵母、及び該乾燥酵母を用いて成型された経口摂取用組成物である。ＳＡＭｅを高濃度に含有する保存安定性に優れたＳＡＭｅ含有乾燥酵母を、低コストで簡便に製造できる方法を確立するとともに、該製造方法で得られたＳＡＭｅ含有乾燥酵母及び該乾燥酵母を用いて成型された経口摂取用組成物を提供する。

WO 2007/132831 A1

# 明 細 書

## 保存安定性に優れたS－アデノシル－L－メチオニン含有乾燥酵母の製造方法、その製造物及び経口摂取用組成物

### 技術分野

[0001] 本発明は、S-アデノシル－L－メチオニン（以下、SAMeと記す）生産能を有する酵母を用いた保存安定性に優れたSAMe含有乾燥酵母の製造方法、及びその製造方法を用いた製造物に関する。さらに詳しくは、SAMe生産能を有する酵母を用いて、該化合物を含有する乾燥酵母を製造する方法において、酵母の菌体培養液より得られる酵母菌体濃縮物にアスコルビン酸類又はその塩を添加した後、該濃縮物の乾燥を行うことを特徴とする、保存安定性に優れたS－アデノシル－L－メチオニン含有乾燥酵母の製造方法、該製造方法よって得られたSAMe含有乾燥酵母、及び該SAMe含有乾燥酵母を用いて成型された経口摂取用組成物に関する。

### 背景技術

[0002] SAMeは、生体内における種々のトランスメチラーゼによるメチル化反応のメチル基供与体として重要な役割を演じている水溶性の生理活性物質であり、人体の殆ど全ての細胞に見られ、様々な生化学反応における共同因子として働き、例えば、軟骨の維持や脳内物質の生合成に欠かすことの出来ない物質である。近年のSAMeの機能研究より脂肪肝、高脂血症、動脈硬化症、不眠症などに対する治療効果についても報告されている。このようにSAMeは、重要な生理活性物質であり、欧米諸国において鬱病、肝臓疾患及び関節炎等の治療薬、或いは健康食品として広く利用されている。

[0003] そのため、SAMeを安価で、簡便に製造供給することが強く望まれるが、従来、SAMeの製造方法としては、前駆物質であるL－メチオニンを含有させた培地を用いて醗酵生産する方法（例えば、特許文献1～3、非特許文献1～7参照）、酵母などの微生物より単離精製したSAMe合成酵素（メチオニンアデノシルトランスフェラーゼ）を用い、アデノシン5’－三リン酸（ATP）とL－メチオニンを基質としてSAMeを酵素的に合成する方法（例えば、特許文献4、非特許文献7～11参照）及び合成法による

方法（例えば、特許文献5、非特許文献12参照）などが知られている。

酵素的合成法については、酵母などの微生物より単離精製したSAMe合成酵素（メチオニンアデノシルトランスフェラーゼ）を用い、アデノシン5’－三リン酸（ATP）とL－メチオニンを基質としてSAMeを酵素的に合成する方法であるが、この方法は、醗酵法と比べ、SAMeの蓄積量が多く、菌体からのSAMe抽出操作が必要ないなどの利点はあるものの、酵素の調製が煩雑であること、得られる酵素の活性が微弱であること、ATP分解酵素等の妨害物質を除去する必要があること、さらには、基質であるATPが極めて高価であるなど様々な問題を有し、必ずしも実用的な方法とは成り得なかった。

また、近年の遺伝子工学の発展により、クローン化したSAMe合成酵素遺伝子を用いることによって該酵素の調製がより簡便になり（例えば、非特許文献6～9参照）、酵素調製の問題は解決されつつあるものの、依然として高価なATPを基質として使用する必要があるなど、他の実用上の問題は解決されていない。

[0004] また、SAMeは熱的に不安定で容易に分解する性質を有することから、その対策として、保存安定性の向上を目的とした多くの試みがなされてきた。例えば、前述した製造方法で得られたSAMeの組成物をクロマトグラフィー等により精製した後、硫酸やp－トルエンスルフォン酸との塩、又はブタンジスルフォン酸との塩等にすることによりSAMeの安定化をはかる方法（例えば、特許文献1～3、6～10参照）が一般的で、多くの手間と費用を要するため、治療薬や健康食品として重要である保存安定性に優れたSAMeを安価に製造し提供することは極めて困難なことであった。

[0005] 特許文献1：特公平4－21478号公報

特許文献2：特公平6－30607号公報

特許文献3：欧州特許第1091001号明細書

特許文献4：特開昭61－227792号公報

特許文献5：米国特許第6881837号明細書

特許文献6：特開昭59－51213号公報

特許文献7：特開昭52－48691号公報

特許文献8：特公平1－49274号公報

特許文献9:特公平1－49275号公報

特許文献10:特表平3－501970号公報

非特許文献1:Schlenk F.,DePalma R.E.,J.Biol.Chem.,229,1037-1050(1957)

非特許文献2:Shiozaki S.,et all,Agric.Biol.Chem.,48,2293-2300(1984)

非特許文献3:Shiozaki S.,et all,Agric.Biol.Chem.,53,3269-3274(1989)

非特許文献4:Kusakabe, H.,Kuninaka, A.,Yoshino, H.,Agric.Biol.Chem.,38, 1669-1672(1974)

非特許文献5:Mudd SH.,Cantoni GL.,et all,J.Biol.Chem.,231,481-492(1958)

非特許文献6:Shiozaki S.,et all,J.Biotechnology.,4,345-354(1986)

非特許文献7:Thomas D.,Surdin-Kerjan Y.,J.Biol.Chem.,262,16704-16709(1987)

非特許文献8:Markham G.D.,et all,J.Biol.Chem.,255,9082-9092(1980)

非特許文献9:Markham DJ.,DeParisis J.,J.Biol.Chem.,259,14505-14507(1984)

非特許文献10:Thomas D.,Cherest H.,et all,Mol.Cell.Biol.,8,5132-5139(1988)

非特許文献11:Jeongho Park,Junzhe Tai,Charles A.Roessner and A.Ian Scott., Bioorganic & Medical Chemistry,Vol.4,No.12,2179-2185(1996)

非特許文献12:Jose R.Mator,Frank M.Raushel,Chi-Huey Wong.,Biotechnology and Applied Biochemistry.,9,39-52(1987)

## 発明の開示

[0006] 本発明の目的は、SAMeを高濃度に含有する保存安定性に優れたSAMe含有乾燥酵母を、低コストで簡便に製造できる方法を確立するとともに、該製造方法で得られたSAMe含有乾燥酵母及び該乾燥酵母を用いて成型された経口摂取用組成物を提供することにある。

[0007] 本発明者等は、上記課題を解決するべく、SAMeを高濃度に含有し、かつ安定な状態で長期間保存できる性能的に優れた組成物を経済的に生産できる方法について鋭意検討した結果、SAMe生産能を有し且つ経口摂取が可能な酵母を用いて菌体内にSAMeを高濃度に産生蓄積させた後、培養液より遠心分離等の分離手段で酵母菌体を分離し、得られた酵母菌体濃縮物にアスコルビン酸類又はその塩を添加した後、乾燥させることによって、目的とするSAMeを高濃度に含有し、かつ保存安

定性が優れたSAMe含有乾燥酵母を簡便に収率良く製造できることを見出し、本発明を完成するに至った。

即ち、本発明は、以下の(1)～(8)に示す、保存安定性に優れたSAMeを高濃度に含む乾燥酵母の製造方法、該製造方法で得られたSAMe含有乾燥酵母、及び該乾燥酵母を用いて成型された経口摂取用組成物に関するものである。

(1)S－アデノシル－L－メチオニン生産能を有する酵母を用い、S－アデノシル－L－メチオニンを含有する乾燥酵母を製造する方法において、酵母の菌体培養液より分離した酵母菌体濃縮物にアスコルビン酸類又はその塩を添加した後に、該濃縮物を乾燥させることを特徴とする、S－アデノシル－L－メチオニン含有乾燥酵母の製造方法。

(2)S－アデノシル－L－メチオニン生産能を有する酵母として、サッカロマイセス属に属する酵母を用いる、上記(1)に記載のS－アデノシル－L－メチオニン含有乾燥酵母の製造方法。

(3)サッカロマイセス属に属する酵母がサッカロマイセス・セレビジエである、上記(2)に記載のS－アデノシル－L－メチオニン含有乾燥酵母の製造方法。

(4)添加するアスコルビン酸類又はその塩が、アスコルビン酸若しくはアスコルビン酸誘導体、又はそれらの塩である、上記(1)に記載のS－アデノシル－L－メチオニン含有乾燥酵母の製造方法。

(5)添加するアスコルビン酸類又はその塩が、L－アスコルビン酸又はL－アスコルビン酸ナトリウムである、上記(1)に記載のS－アデノシル－L－メチオニン含有乾燥酵母の製造方法。

(6)アスコルビン酸類又はその塩の添加量が、酵母菌体濃縮物中に含まれるS－アデノシル－L－メチオニンに対して、0．05～5倍モルの範囲であることを特徴とする、上記(1)に記載のS－アデノシル－L－メチオニン含有乾燥酵母の製造方法。

(7)上記(1)～(6)の何れかに記載した方法によって製造された、S－アデノシル－L－メチオニン含有乾燥酵母。

(8)上記(7)に記載のS－アデノシル－L－メチオニン含有乾燥酵母を用いて成型された経口摂取用組成物。

## 図面の簡単な説明

[0008] [図1]密閉ガラス容器中、40℃、RH(相対湿度)75%の加速条件下での保存安定性試験における、酵母菌体濃縮物中のSAMeに対するL－アスコルビン酸ナトリウムの添加量(モル比)と、乾燥酵母菌体中のSAMe残存率との関係。

[図2]密閉ガラス容器中、30℃の温度条件下での保存安定性試験における、酵母菌体濃縮物中のSAMeに対するL－アスコルビン酸ナトリウムの添加量(モル比)と、乾燥酵母菌体中のSAMe残存率との関係。

## 発明を実施するための最良の形態

[0009] 本発明に使用される酵母の種類は、SAMe生産能を有し且つ経口摂取可能なものであればよく、例えば、その好適な例としてサッカロマイセス属に属する酵母を挙げることができる。このうち、サッカロマイセス・セレビジエに属する酵母、例えば、清酒酵母、パン酵母、ビール酵母、ワイン酵母等の醗酵酵母がより好適であり、そのうちでも特に清酒酵母がよりさらに好適である。なお、酵母菌体には、5'－ヌクレオチド、遊離アミノ酸、抗酸化作用を有し肝機能改善に役立つグルタチオン、免疫力の増進作用や整腸作用を有するβ－グルカンや食物繊維などの有用成分が多く含まれており、健康食品等として広く利用されている。

[0010] 上記酵母を培養する際に使用する炭素源は、酵母が資化し得るものであれば特に制限はなく、例えば、グルコース、蔗糖、澱粉、廃糖蜜等の炭水化物、エタノール等のアルコール、又は酢酸等の有機酸が挙げられる。窒素源も、使用する酵母が資化し得るものであれば特に制限はなく、例えば、アンモニア、硝酸、尿素等の無機体窒素化合物、又は酵母エキス、麦芽エキス等の有機体窒素化合物を含むものが挙げられる。また、無機塩類としては、リン酸、カリウム、ナトリウム、マグネシウム、カルシウム、鉄、亜鉛、マンガン、コバルト、銅、モリブデン等の塩が用いられる。さらには、SAMeの骨格構成にあずかるメチオニン、アデニン、アデノシルリボヌクレオシドを添加し培養することもできる。

[0011] 培養温度及び培養液のpHは、使用する酵母の種類よって異なるが、培養温度としては20～35℃の範囲を、培養液のpHとしてはpH4～7の範囲を挙げることができる。 また、菌体内のSAMe含量を高めるには、好気的に培養することが好ましい。培

養槽は、通気可能で必要に応じ攪拌できるものであればよく、例えば、機械的攪拌培養槽、エアーリフト式培養槽又は気泡塔型培養槽等を利用することができる。

培地への炭素源、窒素源、各種無機塩類、各種添加剤等の培養成分の供給方法は、一括若しくは個別に連続的又は間欠的に行う。例えば、蔗糖、エタノール等の基質は他の培地成分との混合物として培養槽に供給してもよく、また他の培地成分とは別に独立して培養槽に供給してもよい。培養液のpH制御は、酸、アルカリ溶液によって行われる。アルカリとしては窒素源として使用されるアンモニア、尿素、又は非窒素系塩基、例えば、苛性ソーダ、苛性カリ等を用いてpH制御するのが望ましい。酸としては無機酸、例えば、リン酸、硫酸、硝酸、又は有機酸が用いられる。なお、無機塩類であるリン酸塩、カリウム塩、ナトリウム塩、硝酸塩等を用いてpHを制御することもできる。

[0012] このような条件で培養し、目標量のSAMeが酵母菌体中に蓄積された段階で培養液を培養槽から抜き出した後、分離し酵母菌体濃縮物となす。分離方法としては、菌体の分離と洗浄が効率的に行える方法であれば特に制限はないが、向流型のイーストセパレーターや分離膜を用いた限外濾過装置が好適な例として挙げられる。

[0013] さらに、分離した酵母菌体濃縮物にアスコルビン酸類又はその塩を添加する。これによって、乾燥酵母中のSAMeの保存安定性が増し、また酵母の乾燥工程での歩留まりも向上させることができる。

[0014] 本発明で使用するアスコルビン酸類又はその塩としては、アスコルビン酸又はその塩、或いはアスコルビン酸誘導体又はその塩が挙げられる。

アスコルビン酸又はその塩としては、Ｌ－アスコルビン酸、又はL―アスコルビン酸ナトリウムやL―アスコルビン酸カリウムなどのアルカリ金属塩、或いはL―アスコルビン酸カルシウムなどのアルカリ土類金属塩等が挙げられる。アスコルビン酸誘導体又はその塩としては、アスコルビン酸2－グルコシド、アスコルビン酸リン酸エステル、アスコルビン酸パルミチン酸エステル、アスコルビン酸ステアリン酸エステル又はそれらの塩等が挙げられる。そのうち、好ましくはアスコルビン酸又はその塩であり、より好ましくはL－アスコルビン酸又はL－アスコルビン酸ナトリウムであり、特に好ましくはL－アスコルビン酸ナトリウムである。アスコルビン酸類又はその塩は、粉末状、顆粒状、

又は結晶状の形で医薬品や食品用途で汎用されており、安全に使用することができる。

[0015] アスコルビン酸類又はその塩の添加量としては、酵母菌体濃縮物中に含まれるSAMeに対して、添加するアスコルビン酸類又はその塩のモル比が0．05～5倍モルの範囲になる量が好ましく、0．1～3．5倍モルの範囲になる量がより好ましい。0．05倍モルを下回ると乾燥酵母中のSAMeの保存安定性が不十分となることがあり、5倍モルを超えると無駄であるばかりか乾燥酵母中のSAMeの保存安定性が用量依存的に低下する傾向を示す。さらに、Ｌ－アスコルビン酸ナトリウムの添加量としては、酵母菌体濃縮物中に含まれるSAMeに対するモル比が0．1～3．0倍モルの範囲になる量が更に好ましく、0．2～1．0倍モルの範囲になる量が特に好ましい。また、Ｌ－アスコルビン酸の添加量としては、前記モル比が1．8～3．1倍モルの範囲になる量が特に好ましく、Ｌ－アスコルビン酸カルシウムの添加量としては、前記モル比が0．3～1．9倍モルの範囲になる量が特に好ましく、Ｌ－アスコルビン酸カリウムの添加量としては、前記モル比が1．5～3．5倍モルの範囲になる量が特に好ましい。

[0016] また、前記で菌体培養液より分離した酵母菌体濃縮物に硫酸とアスコルビン酸類又はその塩とを併用して添加することにより、SAMe含有乾燥酵母を長期間安定的に保存することができる。この場合、硫酸の添加量とアスコルビン酸類又はその塩の添加量との組合せとしては、前記で菌体培養液より分離した酵母菌体濃縮物のpHが2～4になる硫酸添加量と、酵母菌体濃縮物中に含まれるSAMeに対するアスコルビン酸類又はその塩のモル比として0．5～3．0倍モルの範囲になるアスコルビン酸類又はその塩の添加量との組合せが好ましく、前記pHが2～3になる硫酸添加量と、前記モル比として1．0～2．0倍モルの範囲になるアスコルビン酸類又はその塩の添加量との組合せがより好ましく、前記pHが2～3になる硫酸添加量と、前記モル比として1．0～1．7倍モルの範囲になるアスコルビン酸類又はその塩の添加量との組合せが更に好ましい。

[0017] このようにしてアスコルビン酸類又はその塩の添加処理を行った後に、酵母菌体の濃縮物をスプレードライヤによる噴霧乾燥法や凍結乾燥法等の乾燥方法により水分を蒸発させて乾燥酵母となす。乾燥条件としては、噴霧乾燥法では、入口温度210

℃以下、出口温度110℃以下にて乾燥させることが望ましい。凍結乾燥法では、最終棚温度30℃以下にて乾燥させることが望ましい。本発明のSAMe含有経口摂取用組成物は保存安定性の観点から、その水分含量が5．0質量%以下になるようにすることが望ましい。

[0018] さらには、この乾燥酵母を破砕して粉末状にしたり、粉末状の乾燥酵母に必要に応じて他の生理活性成分や賦形剤等の添加剤を加えた後に圧縮打錠し錠剤状の経口摂取用組成物となし、さらに、その表面を被覆したりすることもできる。また、粉体を顆粒状に造粒することや、粉体や造粒した顆粒を詰めてカプセル化することもできる。

## 実施例

[0019] 以下、本発明を実施例及び比較例を以てさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの例に依って限定されるものではない。

[0020] 実施例1～8

(a)酵母菌体の培養

前述した公知の培養法(Schlenk F.,DePalma R.E.,J.Biol.Chem.,229,1037-1050(1957)(非特許文献1)，Shiozaki S.,et all,Agric.Biol.Chem.,53,3269-3274(1989)(非特許文献3))に従って、L－メチオニン含有培地(Shiozaki S.,et all,J.Biotechnology,4,345-354(1986)(非特許文献6))にサッカロマイセス属に属する酵母サッカロマイセス・セレビジエIFO2346を接種し、培養温度27～29℃で好気的に通気攪拌通気拌しながら6日間培養した。その結果、菌体濃度3．5質量%，SAMe含量205mg／g－乾燥酵母の酵母菌体培養液18Lを得た。

(b)酵母菌体の集菌

上記の酵母菌体培養液18Lを連続ロータリー型遠心分離器(日立HIMAC CENTRIFUGE CR10B2)で処理し、菌体濃度が乾物換算で18質量%に相当する液状の酵母菌体濃縮物3．49kgを得た。

(c)酵母菌体濃縮物へのアスコルビン酸類又はその塩の添加

上記の酵母菌体濃縮物3．49kgにL－アスコルビン酸ナトリウムを該酵母濃縮物中のSAMeに対して0．05、0．1、0．2、0．6、1．0、3．0、5．0又は6．0倍モル加えて、室温にて30分間攪拌溶解し、L－アスコルビン酸ナトリウムを添加した酵母菌体

濃縮物を得た。

(d)乾燥酵母の製造

上記のL－アスコルビン酸ナトリウムを添加した酵母菌体濃縮物を凍結乾燥器(日本真空技術株式会社製)の凍結乾燥用ステンレストレーに流し込み－50℃で凍結した後、最終棚段温度25℃の条件で36時間凍結乾燥した。得られた凍結乾燥酵母をさらに粉砕することによって粉末乾燥酵母を得た。このようにして得られた粉末乾燥酵母を密閉ガラス容器中に詰め、40℃、RH75%の加速条件下、及び30℃の温度条件下で保存安定性試験を行った。表1(実施例1－1～8－1)及び図1に40℃、RH75%での結果を、表2(実施例1－2～8－2)及び図2に30℃での結果を示す。得られた粉末乾燥酵母中のSAMe含量を表1及び表2に示す。

なお、SAMe残存率は、SAMe含有乾燥酵母より過塩素酸を用いた公知の方法(例えば、非特許文献2)でSAMeを抽出し、液体クロマトグラフィーによって定量した。なお、液体クロマトグラフィーには以下の分析条件を用いた。

カラム:ナカライ(nacalai tesque) COSMOSIL 4.6φ×100mm

溶離液:0.2M $KH_2PO_4$水溶液/メタノール＝95／5(体積比)

流速:0.7mL/min、検出器:UV(260nm)、SAMe保持時間:約150秒

[0021] 実施例9～12

酵母菌体濃縮物にL－アスコルビン酸を該酵母濃縮物中のSAMeに対し0.6、1.8、3.1又は4.3倍モル添加したこと以外は実施例1と同様に処理して、粉末乾燥酵母を得た。得られたSAMe含有乾燥酵母の密閉ガラス容器中、40℃、RH75%の加速条件下での保存安定性試験の結果を表1(実施例9－1～12－1)に、30℃の温度条件下での保存安定性試験の結果を表2(実施例9－2～12－2)に示す。得られた粉末乾燥酵母中のSAMe含量を表1及び表2に示す。

[0022] 実施例13～17

酵母菌体濃縮物にL－アスコルビン酸カルシウムを該酵母濃縮物中のSAMeに対し0.3、0.8、1.4、1.9又は2.5倍モル添加したこと以外は実施例1と同様に処理して粉末乾燥酵母を得た。得られた粉末乾燥酵母中のSAMe含量、及び得られた粉末乾燥酵母の密閉ガラス容器中、40℃、RH75%の加速条件下での保存安定性

試験の結果を表1(実施例13－1～17－1)に示す。

[0023] 実施例18～22

酵母菌体濃縮物にL－アスコルビン酸カリウムを該酵母濃縮物中のSAMeに対し0．5、1．5、2．5、3．5又は4．5当量を添加したこと以外は実施例1と同様に処理して粉末乾燥酵母を得た。得られた粉末乾燥酵母中のSAMe含量、及び得られた粉末乾燥酵母中の密閉ガラス容器中、40℃、RH75%の加速条件下での保存安定性試験の結果を表1(実施例18－1～22－1)に示す。

[0024] 実施例23，24

実施例1と同様にして(a)から(b)までの操作を行い、得られた液状の酵母菌体濃縮物にL－アスコルビン酸、又はL－アスコルビン酸ナトリウムを酵母菌体濃縮物中のSAMeモルに対し1．0倍モル加えて、室温にて30分間攪拌、溶解し、L－アスコルビン酸又はL－アスコルビン酸ナトリウム溶解酵母菌体濃縮物を得た。

この酵母菌体を微粒子化装置として二流体ノズルを有するスプレードライヤを用いて、乾燥室の入口温度145℃、出口温度85℃、通液速度1．5g／分の条件にて噴霧乾燥し、粉末乾燥酵母を得た。得られた粉末乾燥酵母中のSAMe含量、及び得られたSAMe含有乾燥酵母の密閉ガラス容器中、40℃、RH75%の加速条件下での保存安定性試験の結果を表3(実施例23－1，24－1)に示す。

[0025] 比較例1

酵母菌体濃縮物へアスコルビン酸類又はその塩を添加しなかったこと以外は実施例1と同様に処理して、粉末乾燥酵母を得た。得られた粉末乾燥酵母中のSAMe含量を表1及び表2に示す。得られたSAMe含有乾燥酵母の密閉ガラス容器中、40℃、RH75%の加速条件下での保存安定性試験の結果を表1(比較例1－1)及び図1に示す。30℃の温度条件下での保存安定性試験の結果を表2(比較例1－2)及び図2に示す。

[0026] 比較例2

酵母菌体濃縮物にクエン酸を該酵母濃縮物中のSAMeモル比に対し2．8当量を添加したこと以外は実施例1と同様に処理して、粉末乾燥酵母を得た。得られた粉末乾燥酵母中のSAMe含量、及び得られたSAMe含有乾燥酵母の密閉ガラス容器中

、40℃、RH75％の加速条件下での保存安定性試験の結果を表1（比較例2－1）に示す。

[0027] 比較例3

酵母菌体濃縮物にEDTAを該酵母濃縮物中のSAMeモル比に対し1．9当量を添加したこと以外は実施例1と同様に処理して、粉末乾燥酵母を得た。得られた粉末乾燥酵母中のSAMe含量、及び得られたSAMe含有乾燥酵母の密閉ガラス容器中、40℃、RH75％の加速条件下での保存安定性試験の結果を表1（比較例3－1）に示す。

[0028] 実施例25～35

実施例1（c）の操作において、（b）で得られた酵母菌体濃縮物に、pH2、3又は4となるように硫酸を添加した後、L－アスコルビン酸ナトリウムを該酵母濃縮物中のSAMeに対し0．6，1．0，1．7，2．8又は3．9倍モル添加したこと以外は実施例1と同様に処理して粉末乾燥酵母を得た。得られた粉末乾燥酵母中のSAMe含量、及び得られた粉末乾燥酵母の密閉ガラス容器中、40℃、RH75％の加速条件下での保存安定性試験の結果を表4（実施例25－1～35～1）に示す。

[0029] 表1．SAMe含有乾燥酵母の密閉ガラス容器中、40℃、RH75％の加速条件下での保存安定性試験結果。

[0030] [表1]

表1

| 例 | 酵母菌体濃縮物への添加物*の添加量(g) | 酵母菌体濃縮物中のSAMeに対する添加物*の添加モル比 | 試験開始時点での乾燥酵母中SAMe含量 (mg/g-乾燥酵母) | 保存安定性紙試験 SAMe含有酵母中のSAMe残存率(%) 経過日数 6日後 | 11日後 | 25日後 | 30日後 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 比較例1-1 | 0.0 | 0.0 | 136.2 | 98.3 | 63.4 | 9.0 | 5.1 |
| 実施例1-1 | 3.2 | 0.05 | 140.4 | 99.4 | 87.9 | 62.3 | 42.6 |
| 実施例2-1 | 6.4 | 0.1 | 144.6 | 99.4 | 94.5 | 73.2 | 65.4 |
| 実施例3-1 | 12.8 | 0.2 | 154.4 | 99.5 | 98.8 | 93.1 | 84.2 |
| 実施例4-1 | 38.3 | 0.6 | 169.5 | 99.7 | 99.4 | 98.9 | 91.2 |
| 実施例5-1 | 63.9 | 1.0 | 157.7 | 99.6 | 99.3 | 98.6 | 87.8 |
| 実施例6-1 | 191.6 | 3.0 | 139.8 | 99.7 | 85.9 | 51.3 | 37.6 |
| 実施例7-1 | 319.6 | 5.0 | 137.9 | 99.6 | 64.1 | 13.3 | 7.9 |
| 実施例8-1 | 384.0 | 6.0 | 137.0 | 99.6 | 63.1 | 10.5 | 2.5 |
| 実施例9-1 | 12.8 | 0.6 | 142.8 | 98.8 | 79.2 | 17.1 | 4.7 |
| 実施例10-1 | 38.3 | 1.8 | 147.1 | 98.9 | 92.1 | 87.1 | 9.0 |
| 実施例11-1 | 63.9 | 3.1 | 147.4 | 98.4 | 90.4 | 87.7 | 6.4 |
| 実施例12-1 | 191.6 | 4.3 | 149.6 | 98.8 | 75.4 | 7.5 | 0.0 |
| 実施例13-1 | 34.9 | 0.3 | 140.4 | 99.1 | 88.2 | 54.5 | 21.7 |
| 実施例14-1 | 104.7 | 0.8 | 147.0 | 100.0 | 94.6 | 69.9 | 34.8 |
| 実施例15-1 | 174.5 | 1.4 | 147.0 | 99.3 | 93.2 | 63.8 | 28.6 |
| 実施例16-1 | 244.3 | 1.9 | 140.0 | 100.0 | 98.6 | 49.5 | 15.0 |
| 実施例17-1 | 314.1 | 2.5 | 138.1 | 100.0 | 92.8 | 26.5 | 2.9 |
| 実施例18-1 | 34.9 | 0.5 | 144.0 | 99.7 | 89.1 | 30.9 | 0.0 |
| 実施例19-1 | 104.7 | 1.5 | 151.0 | 99.8 | 95.2 | 66.7 | 30.6 |
| 実施例20-1 | 174.5 | 2.5 | 157.0 | 99.7 | 97.5 | 68.7 | 28.6 |
| 実施例21-1 | 244.3 | 3.5 | 150.0 | 99.8 | 97.8 | 72.9 | 30.7 |
| 実施例22-1 | 314.1 | 4.5 | 138.1 | 99.7 | 76.1 | 32.6 | 2.9 |
| 比較例2-1 | 174.5 | 2.8 | 153.4 | 99.4 | 91.8 | 32.9 | 28.3 |
| 比較例3-1 | 174.5 | 1.9 | 155.3 | 99.3 | 78.3 | 11.3 | 0.0 |

[0031] ※実施例1－1～8－1はL－アスコルビン酸ナトリウムを添加(乾燥法は凍結乾燥)

※実施例9－1～12－1はL－アスコルビン酸を添加(乾燥法は凍結乾燥)

※実施例13－1～17－1はL－アスコルビン酸カルシウムを添加(乾燥法は凍結乾燥)

※実施例18－1～22－1はL－アスコルビン酸カリウムを添加(乾燥法は凍結乾燥)

※比較例2－1はクエン酸を添加(乾燥法は凍結乾燥)

※比較例3－1はEDTAを添加（乾燥法は凍結乾燥）

[0032] 表2. SAMe含有乾燥酵母の密閉ガラス容器中、30℃の温度条件下での保存安定性安性試験結果

[0033] [表2]

表2

| 例 | 酵母菌体濃縮物への添加物*の添加量(g) | 酵母菌体濃縮物中のSAMeに対する添加物*の添加モル比 | 試験開始時点での乾燥酵母中SAMe含量 (mg/g-乾燥酵母) | 保存安定性紙試験 SAMe含有酵母中のSAMe残存率(%) 経過日数 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 10日後 | 30日後 | 51日後 | 62日後 | 76日後 |
| 比較例1-2 | 0.0 | 0.0 | 136.2 | 99.8 | 98.7 | 88.2 | 81.4 | 69.1 |
| 実施例1-2 | 3.2 | 0.05 | 140.4 | 99.8 | 98.8 | 90.3 | 82.6 | 71.3 |
| 実施例2-2 | 6.4 | 0.1 | 144.6 | 99.8 | 98.8 | 91.0 | 83.7 | 73.4 |
| 実施例3-2 | 12.8 | 0.2 | 154.4 | 99.8 | 98.8 | 93.1 | 89.2 | 82.4 |
| 実施例4-2 | 38.3 | 0.6 | 169.5 | 99.8 | 99.5 | 99.1 | 97.6 | 96.7 |
| 実施例5-2 | 63.9 | 1.0 | 157.7 | 99.9 | 99.8 | 99.5 | 98.7 | 98.6 |
| 実施例6-2 | 191.6 | 3.0 | 139.8 | 99.8 | 98.9 | 97.6 | 94.6 | 90.1 |
| 実施例7-2 | 319.6 | 5.0 | 137.9 | 99.8 | 98.4 | 89.7 | 85.3 | 76.8 |
| 実施例8-2 | 384.0 | 6.0 | 137.0 | 99.8 | 98.4 | 86.5 | 78.9 | 70.3 |
| 実施例9-2 | 12.8 | 0.6 | 142.8 | 99.8 | 99.1 | 91.3 | 88.3 | 74.5 |
| 実施例10-2 | 38.3 | 1.8 | 147.1 | 99.9 | 98.8 | 91.2 | 87.3 | 73.1 |
| 実施例11-2 | 63.9 | 3.1 | 147.4 | 99.8 | 98.7 | 89.9 | 86.3 | 72.8 |
| 実施例12-2 | 191.6 | 4.3 | 149.6 | 99.8 | 99.0 | 88.5 | 84.9 | 70.4 |

[0034] ※実施例1－2～8－2はL－アスコルビン酸ナトリウムを添加(乾燥法は凍結乾燥)

※実施例9－2～12－2はL－アスコルビン酸を添加(乾燥法は凍結乾燥)

[0035] 表3. SAMe含有乾燥酵母の密閉ガラス容器中、40℃、RH75%の加速条件下で

の保存安定性試験結果

[0036] [表3]

表3

| 例 | 酵母菌体濃縮物への添加物*の添加量(g) | 酵母菌体濃縮物中のSAMeに対する添加物*の添加モル比 | 試験開始時点での乾燥酵母中SAMe含量 (mg/g-乾燥酵母) | 保存安定性紙試験 SAMe含有酵母中のSAMe残存率(%) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 経過日数 | | |
| | | | | 14日後 | 28日後 | 35日後 |
| 比較例1-1 | 0.0 | 0.0 | 136.2 | 54.3 | 6.7 | 0.0 |
| 実施例5-1 | 63.9 | 1.0 | 157.7 | 99.2 | 88.7 | 80.3 |
| 実施例9-1 | 12.8 | 0.6 | 142.8 | 74.3 | 13.9 | 3.4 |
| 実施例10-1 | 38.3 | 1.8 | 147.1 | 86.3 | 81.3 | 5.2 |
| 実施例23-1 | 63.9 | 1.0 | 156.7 | 99.8 | 99.7 | 82.8 |
| 実施例24-1 | 21.3 | 1.0 | 154.5 | 88.9 | 82.3 | 53.6 |

[0037] ※比較例1－1は無添加(乾燥法は凍結乾燥)

※実施例5－1はL－アスコルビン酸ナトリウムを添加(乾燥法は凍結乾燥)

※実施例9－1、10－1はL－アスコルビン酸を添加(乾燥法は凍結乾燥)

※実施例23－1はL－アスコルビン酸ナトリウムを添加（乾燥法は噴霧乾燥）

※実施例24－1はL－アスコルビン酸を添加（乾燥法は噴霧乾燥）

[0038] 表4. 硫酸とL－アスコルビン酸ナトリウムを併用した場合の、SAMe含有乾燥酵母の密閉ガラス容器中、40℃、RH75％の加速条件下での保存安定性試験結果

[0039] [表4]

表4

| 例 | 硫酸添加後のpH | 酵母菌体濃縮物へのｱｽｺﾙﾋﾞﾝ酸ﾅﾄﾘｳﾑの添加量(g) | 酵母菌体濃縮物中のSAMeに対するｱｽｺﾙﾋﾞﾝ酸ﾅﾄﾘｳﾑの添加モル比 | 試験開始時点での乾燥酵母中のSAMe含量 (mg/g-乾燥酵母) | 保存安定性紙試験 SAMe含有酵母中のSAMe残存率(%) 経過日数 | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 12日後 | 20日後 | 28日後 | 45日後 | 60日後 | 75日後 | 95日後 |
| 実施例25-1 | 2 | 35.8 | 0.6 | 178.2 | 97.5 | 97.4 | 96.3 | 89.7 | 78.6 | 65.2 | 45.8 |
| 実施例26-1 | 2 | 64.0 | 1.0 | 168.2 | 99.7 | 99.5 | 98.9 | 95.7 | 85.7 | 73.6 | 52.8 |
| 実施例27-1 | 2 | 106.9 | 1.7 | 160.6 | 99.5 | 99.4 | 98.7 | 95.2 | 84.1 | 71.5 | 50.1 |
| 実施例28-1 | 2 | 177.9 | 2.8 | 143.3 | 93.4 | 86.3 | 76.4 | 63.8 | 50.2 | 39.5 | 15.3 |
| 実施例29-1 | 2 | 249.6 | 3.9 | 130.7 | 89.4 | 80.2 | 71.3 | 62.1 | 49.0 | 35.2 | 12.8 |
| 実施例30-1 | 3 | 35.8 | 0.6 | 145.2 | 86.5 | 82.3 | 77.6 | 65.4 | 52.3 | 32.5 | 10.0 |
| 実施例31-1 | 3 | 64.0 | 1.0 | 161.9 | 98.4 | 98.5 | 97.2 | 91.0 | 83.5 | 69.8 | 48.2 |
| 実施例32-1 | 3 | 106.9 | 1.7 | 157.8 | 98.8 | 98.6 | 97.4 | 91.2 | 80.3 | 67.9 | 47.5 |
| 実施例33-1 | 3 | 177.9 | 2.8 | 145.2 | 98.7 | 98.1 | 97.1 | 90.6 | 75.1 | 60.2 | 39.2 |
| 実施例34-1 | 4 | 64.0 | 1.0 | 151.7 | 98.9 | 89.4 | 77.9 | 64.9 | 55.6 | 30.1 | 14.2 |
| 実施例35-1 | 4 | 106.9 | 1.7 | 145.3 | 97.9 | 87.4 | 76.3 | 63.2 | 56.1 | 31.2 | 14.6 |

## 産業上の利用可能性

[0040] 本発明の製造方法を用いることによって、簡略な方法で、SAMeを高濃度に含み、かつ安定的に保存できる乾燥酵母、及びそれを用いて成型された経口摂取用組成物を製造できるようになる。また、これによって、医薬や健康食品用の生理活性物質として有用なSAMeを経済的な価格で市場に提供することが可能となる。

# 請求の範囲

[1] Ｓ－アデノシル－Ｌ－メチオニン生産能を有する酵母を用い、Ｓ－アデノシル－Ｌ－メチオニンを含有する乾燥酵母を製造する方法において、酵母の菌体培養液より分離した酵母菌体濃縮物にアスコルビン酸類又はその塩を添加した後に、該濃縮物を乾燥させることを特徴とする、Ｓ－アデノシル－Ｌ－メチオニン含有乾燥酵母の製造方法。

[2] Ｓ－アデノシル－Ｌ－メチオニン生産能を有する酵母として、サッカロマイセス属に属する酵母を用いる、請求項1に記載のＳ－アデノシル－Ｌ－メチオニン含有乾燥酵母の製造方法。

[3] サッカロマイセス属に属する酵母がサッカロマイセス・セレビジエである、請求項2に記載のＳ－アデノシル－Ｌ－メチオニン含有乾燥酵母の製造方法。

[4] 添加するアスコルビン酸類又はその塩が、アスコルビン酸若しくはアスコルビン酸誘導体、又はそれらの塩である、請求項1に記載のＳ－アデノシル－Ｌ－メチオニン含有乾燥酵母の製造方法。

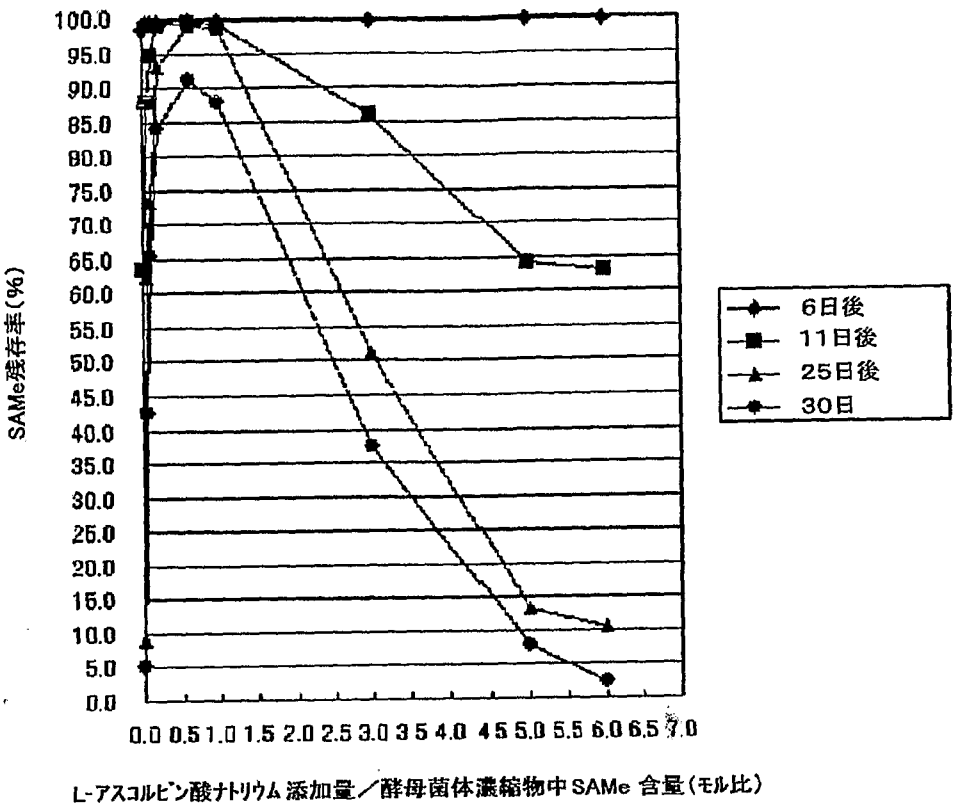
[5] 添加するアスコルビン酸類又はその塩が、Ｌ－アスコルビン酸又はＬ－アスコルビン酸ナトリウムである、請求項1に記載のＳ－アデノシル－Ｌ－メチオニン含有乾燥酵母の製造方法。

[6] アスコルビン酸類又はその塩の添加量が、酵母菌体濃縮物中に含有するＳ－アデノシル－Ｌ－メチオニンに対して、０．０５～5倍モルの範囲であることを特徴とする、請求項1に記載のＳ－アデノシル－Ｌ－メチオニン含有乾燥酵母の製造方法。

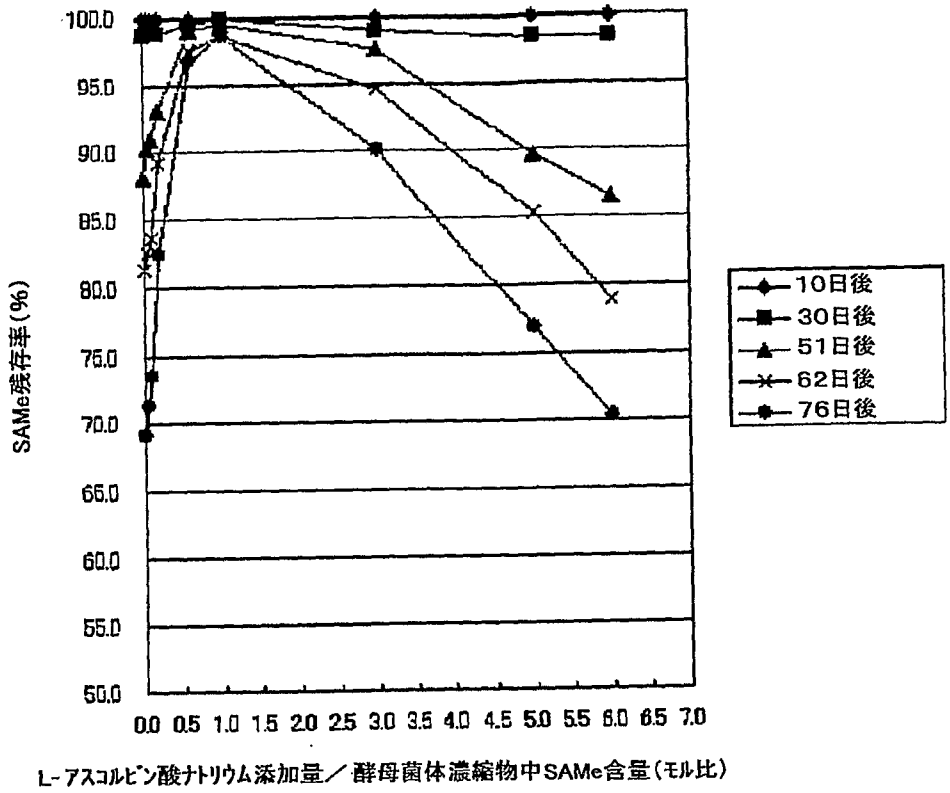
[7] 請求項1～6の何れかに記載した方法によって製造された、Ｓ－アデノシル－Ｌ－メチオニン含有乾燥酵母。

[8] 請求項7に記載のＳ－アデノシル－Ｌ－メチオニン含有乾燥酵母を用いて成型された経口摂取用組成物。

[図1]


SAMe残存率(%)
100.0
95.0
90.0
85.0
80.0
75.0
70.0
65.0
60.0
55.0
50.0
45.0
40.0
35.0
30.0
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
0.0 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 3.0 3.5 4.0 4.5 5.0 5.5 6.0 6.5 7.0
6日後
11日後
25日後
30日
L-アスコルビン酸ナトリウム添加量／酵母菌体濃縮物中SAMe 含量(モル比)

[図2]


100.0
95.0
90.0
85.0
80.0
75.0
70.0
65.0
60.0
55.0
50.0
SAMe残存率(%)
0.0 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 3.0 3.5 4.0 4.5 5.0 5.5 6.0 6.5 7.0
L-アスコルビン酸ナトリウム添加量／酵母菌体濃縮物中SAMe含量(モル比)
10日後
30日後
51日後
62日後
76日後

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2007/059917

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
*C12N1/16*(2006.01)i, *A61K31/7076*(2006.01)i, *A61K47/42*(2006.01)i, *C12N1/18*(2006.01)i, *C07H19/167*(2006.01)n

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)
C12N1/16, A61K31/7076, A61K47/42, C12N1/18, C07H19/167

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 practicable, search terms used)
WPIDS(STN), EMBASE(STN), BIOSIS(STN), CA(STN), REGISTRY(STN), CABA(STN), CONFSCI(STN), SCISEARCH(STN), JSTPlus(JDreamII), JMEDPlus(JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| Y | JP 45-33753 B2 (Kiyoshi TAKAI), 29 October, 1970 (29.10.70), (Family: none) | 1-8 |
| Y | JP 57-156500 A (Kaneka Corp.), 27 September, 1982 (27.09.82), (Family: none) | 1-8 |
| X/A | JP 9-77674 A (Takaaki KAWASHIMA, Shigeru KATO), 25 March, 1997 (25.03.97), (Family: none) | 7,8/1-6 |
| X | JP 7-203953 A (Gist-Brocades N.V.), 08 August, 1995 (08.08.95), & EP 659344 A1 & US 5716654 A | 6 |

☒ 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 |
|---|---|
| 25 July, 2007 (25.07.07) | 07 August, 2007 (07.08.07) |
| Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office<br>Facsimile No. | Authorized officer<br>Telephone No. |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.
PCT/JP2007/059917

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| X | FR 1509676 A (PENNA M M), 12 January, 1968 (12.01.68), (Family: none) | 6 |
| A | HOLCOMB E R and SHAPIRO S K, Assay and regulation of S-adenosylmethionine synthetase in Saccharomyces cerevisiae and Candida utilis., J. Bacteriol., 1975, vol. 121, p. 267-271. | 1-8 |
| A | HEICK H M C et al., The occurrence of ascorbic acid among the yeasts., Can. J. Microbiol., 1972, vol. 18, p. 597-600. | 1-8 |

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２００７／０５９９１７

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　C12N1/16(2006.01)i, A61K31/7076(2006.01)i, A61K47/42(2006.01)i, C12N1/18(2006.01)i, C07H19/167(2006.01)n

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））

Int.Cl.　C12N1/16, A61K31/7076, A61K47/42, C12N1/18, C07H19/167

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

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）

WPIDS(STN), EMBASE(STN), BIOSIS(STN), CA(STN), REGISTRY(STN), CABA(STN), CONFSCI(STN), SCISEARCH(STN), JSTPlus(JDreamII), JMEDPlus(JDreamII)

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 | 関連する請求の範囲の番号 |
|---|---|---|
| Y | JP 45-33753 B2（高井潔）1970.10.29<br>（ファミリーなし） | 1-8 |
| Y | JP 57-156500 A（鐘淵化学工業株式会社）1982.9.27<br>（ファミリーなし） | 1-8 |
| X／A | JP 9-77674 A（河嶋孝明、加藤茂）1997.3.25<br>（ファミリーなし） | 7, 8/1-6 |

☑　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矛盾するものではなく、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 |
|---|---|
| ２５．０７．２００７ | ０７．０８．２００７ |

| 国際調査機関の名称及びあて先 | 特許庁審査官（権限のある職員） | | |
|---|---|---|---|
| 日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）<br>郵便番号１００－８９１５<br>東京都千代田区霞が関三丁目４番３号 | 中村　正展 | ４Ｂ | ３５３７ |
| | 電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４４８ | | |

C（続き）．　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 | 関連する請求の範囲の番号 |
|---|---|---|
| X | JP 7-203953 A (ギスト　プロカデス　ナムローゼ　フェンノートシャップ) 1995.8.8<br>& EP 659344 A1 & US 5716654 A | 6 |
| X | FR 1509676 A (PENNA M M) 1968.1.12<br>（ファミリーなし） | 6 |
| A | HOLCOMB E R and SHAPIRO S K,<br>Assay and regulation of S-adenosylmethionine synthetase in Saccharomyces cerevisiae and Candida utilis.,<br>J. Bacteriol., 1975, vol. 121, p. 267-271. | 1-8 |
| A | HEICK H M C et al.,<br>The occurrence of ascorbic acid among the yeasts.,<br>Can. J. Microbiol., 1972, vol. 18, p. 597-600. | 1-8 |