

(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2010-501197

(P2010-501197A)

(43) 公表日 平成22年1月21日(2010.1.21)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 2 3 L 1/305 (2006.01)	A 2 3 L 1/305	4 B 0 1 8
A 2 3 L 1/00 (2006.01)	A 2 3 L 1/00	F 4 B 0 3 5
A 2 3 L 1/30 (2006.01)	A 2 3 L 1/30	Z 4 C 0 8 3
A 6 1 K 8/14 (2006.01)	A 6 1 K 8/14	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 17 頁)

(21) 出願番号	特願2009-526090 (P2009-526090)	(71) 出願人	599132904 ネステク ソシエテ アノニム
(86) (22) 出願日	平成19年8月29日 (2007. 8. 29)		スイス国, ブベイ, アブニュー ネスレ
(85) 翻訳文提出日	平成21年4月17日 (2009. 4. 17)		5 5
(86) 国際出願番号	PCT/EP2007/058964	(74) 代理人	100088155
(87) 国際公開番号	W02008/025784		弁理士 長谷川 芳樹
(87) 国際公開日	平成20年3月6日 (2008. 3. 6)	(74) 代理人	100114270
(31) 優先権主張番号	06018271. 4		弁理士 黒川 朋也
(32) 優先日	平成18年8月31日 (2006. 8. 31)	(74) 代理人	100128381
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		弁理士 清水 義憲
		(74) 代理人	100132090
			弁理士 飯塚 敬子
		(74) 代理人	100107456
			弁理士 池田 成人

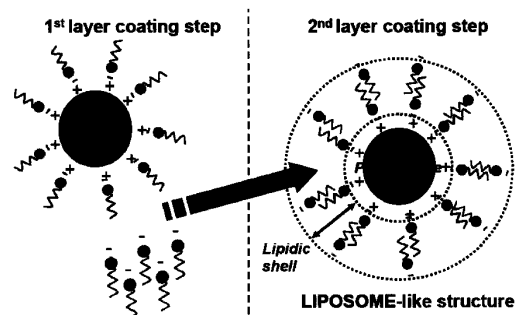
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 食品タンパク質と荷電した乳化剤との相互作用

(57) 【要約】

本発明は、タンパク質と乳化剤との相互作用から得られる構造に関し、より詳しくは少なくとも脂質層でコーティングされているタンパク質超分子のコアを含む構造に関する。本発明は、これらの構造を得るための方法、及びこれらを含む食品組成物も包含する。

【選択図】 図2



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

コーティングが、タンパク質のコアに本質的に静電的に結合している少なくとも第 1 の脂質単分子膜を含む、コーティングされている変性した超分子タンパク質のコア構造。

【請求項 2】

コーティングが、第 1 の脂質単分子膜に疎水的に結合している第 2 の脂質単分子膜を含む、請求項 1 に記載のコーティングされている変性した超分子タンパク質のコア構造。

【請求項 3】

超分子のコアが、タンパク質のミセル、タンパク質のロッド、タンパク質の凝集体、又はタンパク質のゲルである、請求項 1 又は 2 に記載のコーティングされている変性した超分子タンパク質のコア構造。

10

【請求項 4】

食品グレードの物質が超分子のコアに捕捉されている、前記請求項のいずれか一項に記載のコーティングされている変性した超分子タンパク質のコア。

【請求項 5】

食品グレードの物質が、細菌、金属イオン、生物活性物質などから選択される、請求項 4 に記載のコーティングされている変性した超分子タンパク質のコア構造。

【請求項 6】

タンパク質のコアがカゼインベースではない、前記請求項のいずれか一項に記載のコーティングされている変性した超分子タンパク質のコア構造。

20

【請求項 7】

第 1 の脂質単分子膜が、硫酸化オレイン酸ブチル、モノグリセリドのジアセチル酒石酸エステル、モノグリセリドのクエン酸エステル、ナトリウムステアロイル - 2 ラクチレート、モノグリセリドの乳酸エステル、カルシウムステアロイルラクチレート、ラウリル硫酸ナトリウムなどから選択される荷電した脂質を含む、前記請求項のいずれか一項に記載のコーティングされている変性した超分子タンパク質のコア構造。

【請求項 8】

第 2 の脂質単分子膜が、荷電している、又は中性の脂質を含む、請求項 2 ~ 7 のいずれか一項に記載のコーティングされている変性した超分子タンパク質のコア構造。

【請求項 9】

脂質 2 分子膜のシェルでコーティングされている変性した超分子タンパク質のコアを含むリポソーム様構造。

30

【請求項 10】

コアと第 1 の単分子膜との間の相互作用が本質的に静電的であるように、少なくともシェルの第 1 の単分子膜に用いられる脂質が荷電した脂質であり、

第 2 の単分子膜に用いられる脂質が、第 1 の単分子膜と疎水的に相互作用するように選択される、

請求項 9 に記載のリポソーム様構造。

【請求項 11】

第 1 の単分子膜に用いられる脂質が、硫酸化オレイン酸ブチル、モノグリセリドのジアセチル酒石酸エステル、モノグリセリドのクエン酸エステル、ナトリウムステアロイル - 2 ラクチレート、モノグリセリドの乳酸エステル、カルシウムステアロイルラクチレートなどから選択される、請求項 9 又は 10 に記載のリポソーム様構造。

40

【請求項 12】

第 1 の単分子膜に用いられる脂質が第 2 の単分子膜に用いられるものと同じである、請求項 9 ~ 11 のいずれか一項に記載のリポソーム様構造。

【請求項 13】

第 1 の単分子膜に用いられる脂質が第 2 の単分子膜に用いられるものと異なる、請求項 9 ~ 11 のいずれか一項に記載のリポソーム様構造。

【請求項 14】

50

超分子のコアが、タンパク質のミセル、タンパク質のロッド、タンパク質の凝集体、又はタンパク質のゲルである、請求項 9 ~ 12 のいずれか一項に記載のリポソーム様構造。

【請求項 15】

食品グレードの物質が超分子のコアに捕捉されている、請求項 9 ~ 14 のいずれか一項に記載のリポソーム様構造。

【請求項 16】

食品グレードの物質が、細菌、金属イオン、生物活性物質などから選択される、請求項 15 に記載のリポソーム様構造。

【請求項 17】

リポソームの表面が荷電している、又は中性である、請求項 9 ~ 16 のいずれか一項に記載のリポソーム様構造。

10

【請求項 18】

脂質でコーティングされている超分子タンパク質のロッド構造。

【請求項 19】

コーティングが、タンパク質のロッドに静電的に結合している少なくとも 1 つの脂質単分子膜を含む、請求項 18 に記載の超分子タンパク質のロッド構造。

【請求項 20】

タンパク質が、 α -ラクトグロブリン、ウシ血清アルブミン、又はオバルブミンである、請求項 18 又は 19 に記載の超分子タンパク質のロッド構造。

【請求項 21】

タンパク質が変性している、請求項 18 ~ 20 のいずれか一項に記載の超分子タンパク質のロッド構造。

20

【請求項 22】

a . 変性した超分子タンパク質構造の溶液を調製するステップと、
b . タンパク質構造が、ステップ c で用いられる脂質と反対に荷電するように溶液の pH を調整するステップと、
c . 超分子タンパク質のコアの周囲に脂質単分子膜を形成するために、超分子構造に脂質を静電的に結合させるステップと

を含む、コーティングされている変性した超分子タンパク質のコアを形成する方法。

【請求項 23】

タンパク質のコアの周囲に脂質 2 分子膜を形成するように、さらなる脂質を脂質単分子膜に疎水的に結合させるさらなるステップを含む、請求項 22 に記載の方法。

30

【請求項 24】

a . 脂質 2 分子膜がタンパク質超分子構造に本質的に静電的に結合するように、タンパク質超分子構造を、脂質 2 分子膜を含むコーティングでコーティングするステップ
を含む、タンパク質の等電点の pH に等しい pH を有する溶液にタンパク質超分子構造を可溶化する方法。

【請求項 25】

a . 脂質単分子膜がタンパク質超分子構造に本質的に静電的に結合するように、タンパク質超分子構造を、少なくとも第 1 の脂質単分子膜を含むコーティングでコーティングするステップ
を含む、疎水性の媒体にタンパク質超分子構造を可溶化する方法。

40

【請求項 26】

コーティングが、第 1 の脂質単分子膜に疎水的に結合している第 2 の脂質単分子膜を含む、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

食品組成物における請求項 1 ~ 21 のいずれか一項に記載の構造の使用。

【請求項 28】

化粧用組成物における請求項 1 ~ 21 のいずれか一項に記載の構造の使用。

【請求項 29】

50

生物活性物質用のビヒクルとしての請求項 1 ~ 2 1 のいずれか一項に記載の構造の使用。

【請求項 3 0】

請求項 1 ~ 2 1 のいずれか一項に記載の構造を含む食品組成物。

【請求項 3 1】

食品組成物が、飲料、ヨーグルト、アイスクリーム、シャーベット、ペットフード、ビスケット、乾燥食品、粉乳、油、脂質、固化油、バター、マーガリン、食品サプリメント、油中水型エマルジョンなどである、請求項 3 0 に記載の食品組成物。

【請求項 3 2】

食品組成物を、栄養上の、薬剤上の、及び / 又は化粧上の用途に用いる、請求項 2 9 又は 3 0 に記載の食品組成物。

10

【請求項 3 3】

請求項 1 ~ 2 1 のいずれか一項に記載の構造を含む化粧用組成物。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

〔発明の分野〕

本発明は、タンパク質と乳化剤との相互作用から得られる構造に関し、より詳しくは、少なくとも脂質層でコーティングされているタンパク質超分子のコアを含む構造に関する。本発明は、これらの構造を得るための方法、及びこれらを含む食品組成物も包含する。

20

【0 0 0 2】

〔発明の背景〕

タンパク質は、溶液において数々の要因（熱、pH、塩濃度など）によって容易にかく乱され得る、複雑な構造である。

【0 0 0 3】

生物学的に有用な構造であるタンパク質の超分子集合体を形成するように、かく乱を制御することができる。

【0 0 0 4】

超分子集合体は、例えば、タンパク質凝集体の形態で食品の用途に用いられており、乳化剤として、及び脂質の部分的な代替物としてますます使用されている。

30

【0 0 0 5】

US 6 7 6 7 5 7 5 B 1 は、乳清タンパク質が酸性化及び加熱によって変性させられている凝集した乳清タンパク質生成物の調製を開示している。このようにして得たタンパク質凝集体は、食品の用途において用いられている。

【0 0 0 6】

GB 1 0 7 9 6 0 4 はチーズの製造における改良を記載しており、それによって、次いで生乳に加えられる不溶性の乳清タンパク質を得るために、乳清タンパク質は最適の pH 値の熱処理を受ける。

【0 0 0 7】

国際公開第 9 3 / 0 7 7 6 1 号パンフレットは、脂肪の代替品として用いることができる乾燥微粒子化したタンパク質生成物の供給に関する。

40

【0 0 0 8】

US 5 7 5 0 1 8 3 は、脂肪を含まない脂肪の代替品として有用であるタンパク質の微粒子を生成するためのプロセスを開示している。

【0 0 0 9】

国際公開第 9 1 / 1 7 6 6 5 号パンフレットにも、タンパク質の脂肪代替品が開示されており、それによるとタンパク質は水分散性の微粒子化した変性した乳清タンパク質の形態である。

【0 0 1 0】

50

食品に使用するための乳清由来の脂肪代替製品が、国際公開第92/18239号パンフレットに開示されている。これは、良好な口当たりを与えるように、粒子をリポソーム膜中に包み込むことによって製造される。

【0011】

食品の用途とは別に、タンパク質は多くの薬剤組成物及び化粧用組成物にも存在する。

【0012】

しかし、これらの構造が遭遇する問題には、数ある中でも、これらがその環境に敏感であり、これらの味又は口当たりが常に望ましいわけではなく、これらの溶解性があるpH値及び媒体（一般に親水性の溶媒）に限られるという事実が含まれ得る。

【0013】

したがって、これらの短所を克服する必要が依然として存在する。

【0014】

〔発明の目的〕

このように、本発明の目的は、より広範囲の用途において用いることができるタンパク質超分子構造を提供することである。

【0015】

〔発明の概要〕

したがって、本発明は、第1の態様において、コーティングされている変性した超分子タンパク質のコア構造を提唱し、コーティングは、タンパク質のコアに本質的に静電的に結合している少なくとも第1の脂質単分子膜を含む。

【0016】

第2の態様においては、本発明は、脂質2分子膜のシェルでコーティングされている変性した超分子タンパク質のコアを含むリポソーム様構造に関する。

【0017】

脂質でコーティングされている超分子タンパク質のロッド構造は、本発明のさらなる態様に該当する。

【0018】

本発明は、

a. 変性した超分子タンパク質構造の溶液を調製するステップと、
b. タンパク質構造が、ステップcで用いられる脂質と反対に荷電するように溶液のpHを調整するステップと、
c. 超分子タンパク質のコアの周囲に脂質単分子膜を形成するために、超分子構造に脂質を静電的に結合させるステップと
を含む、コーティングされている変性した超分子タンパク質のコアを形成する方法をさらに包含する。

【0019】

さらなる一態様では、

a. 脂質2分子膜がタンパク質超分子構造に本質的に静電的に結合するように、タンパク質超分子構造を、脂質2分子膜を含むコーティングでコーティングするステップを含む、タンパク質の等電点のpHに等しいpHを有する溶液にタンパク質超分子構造を可溶化する方法を提供する。

【0020】

同様に、

a. 脂質単分子膜がタンパク質超分子構造に本質的に静電的に結合するように、タンパク質超分子構造を、少なくとも第1の脂質単分子膜を含むコーティングでコーティングするステップを含む、疎水性の媒体にタンパク質超分子構造を可溶化する方法を提供する。

【0021】

食品組成物、化粧用組成物における請求項1～21のいずれか一項に記載の構造の使用、及び生物活性物質のためのビヒクルとしてのその使用も、本発明の部分を形成する。

10

20

30

40

50

【 0 0 2 2 】

最後に、請求項 1 ~ 2 1 のいずれか一項に記載の構造を含む食品組成物及び化粧用組成物は、本発明の他の態様に該当する。

【 0 0 2 3 】

本発明を、添付の図において示すいくつかの実施形態を参照にして、以下にさらに記載する。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 4 】

【 図 1 】 荷電した脂質で静電的にコーティングされている、正に荷電している超分子のコアを示す図である。

10

【 図 2 】 リポソーム様構造をもたらす、第 2 の層のコーティングステップを示す図である。

【 図 3 】 脂質単分子膜を有するタンパク質のロッドを形成するステップを示す図である。

【 図 4 】 pH 4 . 3 の硫酸化オレイン酸ブチルの脂質層なしの（上の画像）及びありの（下の画像）超分子乳清タンパク質のコアの微分干渉コントラスト（D I C）画像の比較を示す図である。

【 図 5 】 タンパク質の等電点の pH を超える pH、タンパク質の等電点の pH 未満の pH、及びタンパク質の等電点の pH に近い pH における、乳清タンパク質の凝集体及び負に荷電した脂質の挙動を示す図である。

【 図 6 】 移動度対脂質濃度を示すグラフである。

20

【 図 7 】 形成の間の本発明の構造の直径対脂質濃度を示すグラフである。

【 図 8 】 - ラクトグロブリンのロッドの透過型電子顕微鏡画像、並びに硫酸化オレイン酸ブチルで得た結果の複合体の D I C 及び偏光画像を示す図である。

【 図 9 】 - ラクトグロブリンのロッド - ナトリウムステアロイルラクチレート複合体の D I C 画像を示す図である。

【 図 1 0 】 - ラクトグロブリンのロッド - D A T A M（モノグリセリドのジアセチル酒石酸エステル）複合体の画像を示す図である。

【 0 0 2 5 】

〔 発明の詳細な説明 〕

本発明は、脂質でコーティングされている超分子タンパク質のコアに関する。「超分子タンパク質のコア」は、少なくとも 1 つを超えるタンパク質分子を含むあらゆるタイプの構造を意味し、この場合、タンパク質は変性している状態にある。このようなタンパク質は、熱的、物理的、又は化学的のいずれかによって変性されていてよい。図 1 及び図 3 を参照すると、タンパク質のコアは荷電しており、少なくとも 1 つの荷電した脂質の層でコーティングされている。

30

【 0 0 2 6 】

本発明は、第 1 に変性した超分子タンパク質構造の溶液を調製するステップと、第 2 にタンパク質構造が、次のステップで用いられる脂質と反対に荷電するように溶液の pH を調整するステップと、最後に超分子タンパク質のコアの周囲に脂質単分子膜を形成するために、超分子構造に脂質を静電的に結合させるステップとを含む、コーティングされている変性した超分子タンパク質のコアを形成する方法を提供する。

40

【 0 0 2 7 】

この方法における第 1 のステップは、変性した超分子タンパク質の構造の溶液を調製することからなる。したがって、超分子のコアは、変性したタンパク質の集合体からなる。コアは、ミセル、凝集体（ロッドのような小繊維、若しくは球形）、又はゲルの形態を採用してよい。

【 0 0 2 8 】

これらの超分子構造を産生するための方法は、当技術分野ではよく知られている。これらはタンパク質水溶液の凝集又はゲル化を誘発するために、通常、ある pH、あるタンパク質、及び塩の濃度の条件下での天然のタンパク質の熱変性を伴う。したがって、コアは

50

、タンパク質のミセル、タンパク質の凝集体、タンパク質のロッド、又はタンパク質のゲルであってよい。

【0029】

本発明の超分子タンパク質のコアを形成するために、植物又は動物の供給源から選択されるあらゆるタンパク質を用いることができる。これには、ダイズタンパク質、乳タンパク質（乳清タンパク質、 α -ラクトグロブリン、カゼイン、ウシ血清アルブミンなど）、オバルブミン、肉タンパク質などが含まれ得る。しかし、超分子のコアがカゼインベースではないのが好ましい。

【0030】

第2のステップでは、超分子タンパク質のコアを含む溶液のpHを、タンパク質構造がこれらをコーティングするのに用いられる脂質と反対に荷電するように調整する。凝集した変性したタンパク質の粒子は、全体に正の電荷又は全体に負の電荷を帯びていてよい。粒子が、それが得られた天然のタンパク質の等電点のpHより低いpHでは正に荷電しているのが好ましい。

10

【0031】

このpH値は、超分子のコアを形成するのに必要とされるpH値と異なっていてよい。pHを、次のステップでコーティングに用いられる脂質に応じて、5未満、さらに4未満、好ましくはpH3に調製するのが好ましい。次のステップで負に荷電した脂質に静電的に結合することができるように、これらのpH値では超分子構造が正に荷電しているのが好ましい。

20

【0032】

イオン複合体形成のステップは、そのとき超分子タンパク質構造の溶液に負に荷電した脂質を提供することにある。

【0033】

このように、得られた構造は、少なくとも脂質単分子膜のコーティングを有する荷電したタンパク質のコアを含んでいる。

【0034】

タンパク質のコアのサイズは、100nmから100 μ mまで、好ましくは100nmと10 μ mとの間で変化してよく、タンパク質のコアの形成に用いられる方法によって制御することができる。当業者であれば、所望のコアサイズを得るためにどの方法を用いるべきかを知っている。サイズの変動性が広いことの利点は、所望の用途に応じて、コアのサイズをそれに従って逃えることができることである。コアの形状は球形でもよく、又はロッド様でもよい。

30

【0035】

本発明の一実施形態によると、本発明の構造は、脂質でコーティングされている超分子タンパク質のロッドを含む。ロッドのタンパク質超分子のコアを生成するために、 α -ラクトグロブリン、ウシ血清アルブミン、又はオバルブミンなどのタンパク質を用いることができる。 α -ラクトグロブリンをタンパク質として用いるのが好ましい。

【0036】

このような構造を得るための方法には、25g/Lの濃度の天然タンパク質及び塩化ナトリウム(0.01M)を含む水溶液(pH2)を80 $^{\circ}$ Cで10時間加熱することが含まれる。この条件下で、変性したタンパク質は、超分子タンパク質のロッドを形成するために集合する。ロッドのサイズは、形成性の条件によってモニターすることができ、2 μ mから7 μ mの範囲であってよい。本発明によると、ロッドは脂質コーティングでコーティングされている(図3に示す通り)。脂質コーティングがタンパク質のロッドに本質的に静電的に結合しているのが好ましい。

40

【0037】

このプロセスを図8においてさらに説明するが、それによると、ロッドの溶液を、形成後pH3に調整し、硫酸化オレイン酸ブチルと複合させる。図8における偏光画像及び微分干渉コントラスト(DIC)画像は、pH3におけるロッド/硫酸化オレイン酸ブチル

50

(SBO)複合体の沈澱を示している。図9及び10は、それぞれ、 β -ラクトグロブリンのロッドのステアロイルラクチレートナトリウム(SSL)との、 β -ラクトグロブリンのロッドのモノグリセリドのジアセチル酒石酸エステル(DATEM)とのpH4.2での沈澱をさらに示している。

【0038】

図1及び図3を参照すると、荷電した超分子集合体を、このように、タンパク質のコアに本質的に静電的に結合している少なくとも第1の脂質単分子膜でコーティングする。

【0039】

本質的に静電的な結合を有するためには、脂質を、それがタンパク質のコアに反対に荷電するように選択する。好ましい一実施形態では、脂質は負に荷電している脂質は、硫酸化オレイン酸ブチル、モノグリセリドのジアセチル酒石酸エステル、モノグリセリドのクエン酸エステル、ナトリウムステアロイル1-2ラクチレート、モノグリセリドの乳酸エステル、カルシウムステアロイルラクチレート、ラウリル硫酸ナトリウムなどから選択することができる。

【0040】

コアと反対の電荷の脂質との間に得られた相互作用は、本質的に静電的である。実際、移動度対荷電した脂質濃度のグラフを示す図6では、脂質濃度が増加すると移動度が低減することを見ることができる。この所見により、脂質層とタンパク質のコアとの間の結合は本質的に静電的であることが確認される。さらに、電荷及びサイズを測定することにより、等電点のpHを超えるpHでは脂質とタンパク質のコアとの間に検出可能な相互作用が生じないことが示されている(乳清タンパク質のミセルと硫酸化オレイン酸ブチルとの場合pH7で試験して)。

【0041】

本発明の一実施形態によると、超分子のコアは食品グレードの物質をさらにカプセル封入することができる。粒子性のタンパク質集合体に捕捉され得る食品グレードの物質は、例えば、香料であってよく、又は細菌、金属イオン、酵素などのあらゆる生物活性物質から選択してもよい。物質が親水性であるのが好ましい。

【0042】

このように、本発明の構造は、これらの生物活性物質用のビヒクルとして働くことができる。したがって、これらは、敏感な有効物質の送達が必要とされる、化粧上の、薬剤上の、及び/又は栄養上の用途を見出すことができる。

【0043】

タンパク質のコアのコーティングは、第2の脂質単分子膜をさらに含むことができる。この第2の層は、典型的には、第1の脂質単分子膜に疎水的に結合している。2分子膜はこのように形成され、好ましい実施形態においては挿入された単分子膜からなることができる。この2分子膜はタンパク質のコアの周囲に脂質のシェルを形成し(図2を参照されたい)、生物系では細胞膜を通してタンパク質を輸送するために、コロイドの安定性のために、捕捉した粒子の徐放のためなどに、これらの構造を用いることができるように、リポソーム様の機能を構造に付与する。

【0044】

第2の単分子膜に用いる脂質は、荷電していても、又は中性でもよい。これらは第1の単分子膜に用いられるものと同じでもよく、又は異なってもよい。中性の脂質(双性イオンの脂質を含む)は、リン脂質から選択することができる。

【0045】

第1の単分子膜に用いる脂質が第2の単分子膜に用いる脂質と同じである実施形態を表す図7を参照すると、脂質2分子膜を形成するためには脂質の濃度を増大しなければならないことを理解することができる。脂質2分子膜の形成は、得られた構造の直径サイズを測定することによってモニターしてもよく、又は超分子タンパク質のコア-脂質複合体の電荷をモニターすることによってモニターしてもよい。脂質のある濃度では、1つの脂質の単分子膜でコーティングされているタンパク質のコアからなる構造は、相互に引きつけ

10

20

30

40

50

、それゆえより大型の構造を形成する傾向がある。ある脂質濃度の閾値を超えると、2分子膜が形成され、サイズは減少する。この疎水的に駆り立てられる第2の脂質の層の形成により、水相に向かって曝されている脂質の頭部の荷電がもたらされる。

【0046】

このように、本発明によると、タンパク質のコアをコーティングするのに2つの脂質単分子膜を用いる場合、リポソーム様の構造が得られる(図2に示す通り)。

【0047】

第2の単分子膜に荷電した脂質を用いる場合、リポソーム様の構造は全体に荷電している表面を有する。或いは、第2の単分子膜に中性の脂質を用いる場合、リポソーム様の構造の表面は中性である。

【0048】

第2の層、より正確には第2の層に用いられる脂質によって生み出される親水性の頭部は、例えば、溶液におけるコロイドの安定性又は生体膜を通過する際のタンパク質のコアのトランスベクション(transvection)の実行可能性に関して、リポソーム様構造の本質的な性質を提供する。このように、第2の脂質層に用いられる脂質の電荷、立体障害は、専用の特定の目的に転じることができる重要な特徴である。

【0049】

構造が純粋に自己組織化によって産生された食品グレードの構造であるという事実ゆえに、本発明のリポソーム様構造で、タンパク質の可溶性、乳製品粉末の保護などの分野において多くの改善を実現することができる。

【0050】

例えば、図4に示すように、荷電したリポソーム様の構造により、タンパク質の等電点のpHに近いpHでタンパク質の可溶性が可能になることがある。乳清タンパク質に対しては、この値は3.5と4.6との間である。実際に、コーティングなしでは、タンパク質超分子の集合体(例えば、ミセル)は、等電点のpHではその表面の電荷が中和されるゆえに集塊する傾向があり、優勢である疎水的な相互作用によって凝集がもたらされる。本発明によるコーティングでは、構造が相互に反発するようにその表面が正だけ又は負だけに荷電しているために、構造はタンパク質の等電点のpHに近いpHでは凝結しない(図5を参照されたい)。

【0051】

したがって、本発明は、タンパク質超分子構造に本質的に静電的に結合している脂質2分子膜を含むコーティングで、タンパク質超分子構造をコーティングするステップを含む、タンパク質の等電点のpHに等しいpHを有する溶液にタンパク質超分子構造を可溶性化する方法を提供する。

【0052】

これは、pHが低く(約4)、それでもタンパク質含量が高いことがある、例えばスポーツ飲料において、安定性を失わずに用途を見出すことができる。

【0053】

本発明の利点は、脂質のシェルを、湿度、酸素、プロテアーゼなどに対するタンパク質のコアのための保護のバリアとして用いることができるということである。本発明のリポソーム様構造は、乾燥プロセスの間にタンパク質粉末の凝集から保護することも提供することができる。

【0054】

脂質のマトリックスのタンパク質含有量における増大は、疎水性の媒体(油、脂質のマトリックスなど)にタンパク質が溶解性であるため、本発明の構造では可能である。したがって、本発明は、脂質単分子膜がタンパク質超分子構造に本質的に静電的に結合するように、少なくとも第1の脂質単分子膜を含むコーティングでタンパク質超分子構造をコーティングするステップを含む、疎水性の媒体においてタンパク質超分子構造を可溶性化する方法も提供する。

【0055】

10

20

30

40

50

本発明に従って、タンパク質に対してより広い範囲の用途を企図することができるように、タンパク質の表面の性質を、このように変更してもよい。

【0056】

本発明の別の利点は、本発明のロッドを用いて油を可溶化することができることである。したがって、これは、マーガリンなどの生成物を製造するための脂質の水素化に対する代替を代表するものである。得られる生成物は、したがって、水素化された脂質の量が低減するだけでなく、かなりの量のタンパク質も含んでいる。

【0057】

タンパク質のコアを取り囲む脂質2分子膜のおかげで、タンパク質超分子構造（特にミセル）の収斂性の低減を達成することができる。本発明は、このように、タンパク質の官能特性の改善を可能にする。

【0058】

要約すると、本発明の構造を食品組成物に用いることができる。

【0059】

本発明の構造を含む食品組成物には、飲料、ヨーグルト、アイスクリーム、シャーベット、ペットフード、ビスケット、乾燥食品、粉乳、油、脂質、固化油、バター、マーガリン、食品サプリメント、油中水型エマルジョンなどが含まれ得る。

【0060】

本発明の食品組成物を、広範囲の栄養上の、薬剤上の、及び/又は化粧上の用途において用いることができる。

【0061】

これらの構造は、疎水性化合物のカプセル封入及び送達のためのナノビヒクル(nanovehicle)としても働くことができる。

【0062】

化粧用組成物におけるこれらの構造の使用、及びこれらの構造を含む化粧用組成物も、本発明の一部である。典型的な化粧用組成物は、クリーム、ローション、ゲル、シャンプー、石鹸などから選択することができる。

【0063】

本発明を、以下の非限定的な実施例によってさらに説明する。

【実施例】

【0064】

リポソーム様構造の形成

天然乳清タンパク質の溶液を、pH 5.8で、85の温度に15分間曝すことによって、乳清タンパク質凝集体の溶液を調製した。次いで、凝集体を単離し、タンパク質濃度1.511g/L、及び0.4g/Lを超える硫酸化オレイン酸ブチル濃度を含む水溶液の調製に用いる。溶液のpHをpH 3に、温度を25に調整する。この条件下では、乳清タンパク質のコアと硫酸化オレイン酸ブチルとの間の静電的な自己組織化のために、乳清タンパク質凝集体のコア及び脂質2分子膜(硫酸化オレイン酸ブチル)を含むリポソーム様構造の速やかな形成が観察される。

【0065】

移動度及びサイズの測定

超分子タンパク質集合体(例えば、ミセル)及び脂質(例えば、硫酸化オレイン酸ブチル)を含む混合試料を、Zetasizer Nano-ZS(Malvern、UK)を用いて、in situ測定にかけた。

移動度(複合体の電荷に等しいサイン)を、電気泳動移動度のモジュール(電場をかけた下での粒子の移動距離の決定)によって決定した。結果を図6に示す。

複合体のサイズを、装置の光散乱モジュールによって測定した(自己相関関数 $g_2(t)$ と、後に球状の粒子に対するストークス-アインシュタインの相関によってサイズに関連付けられる拡散係数の決定とを適合させる)。結果を図7に示す。

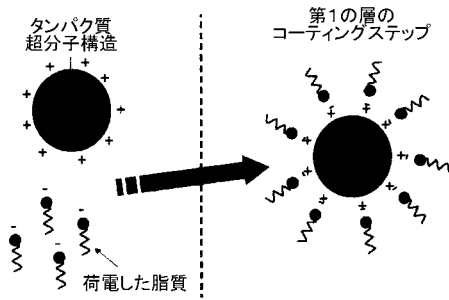
10

20

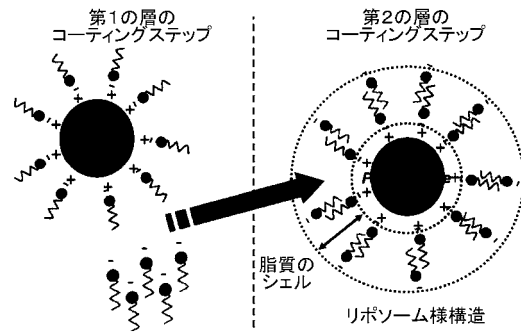
30

40

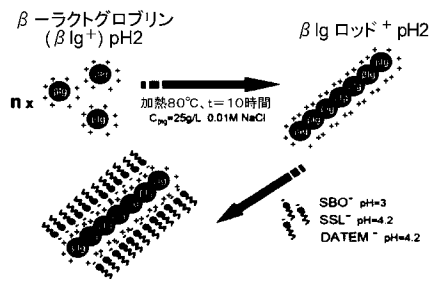
【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】

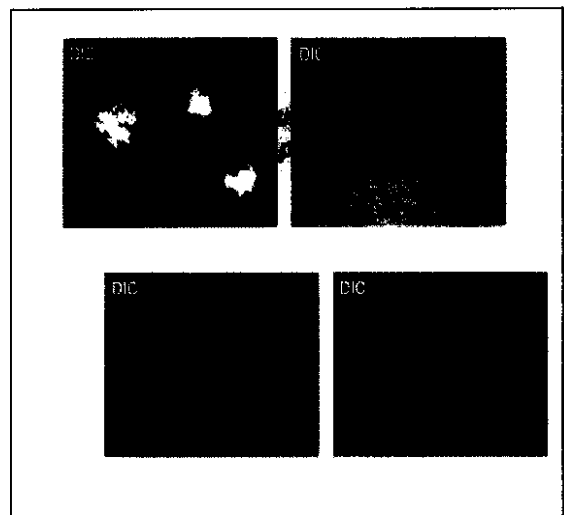
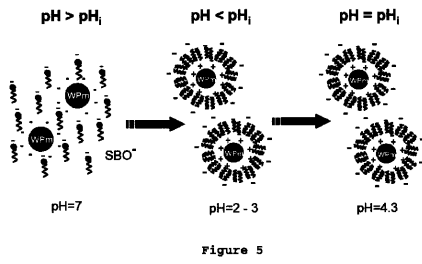
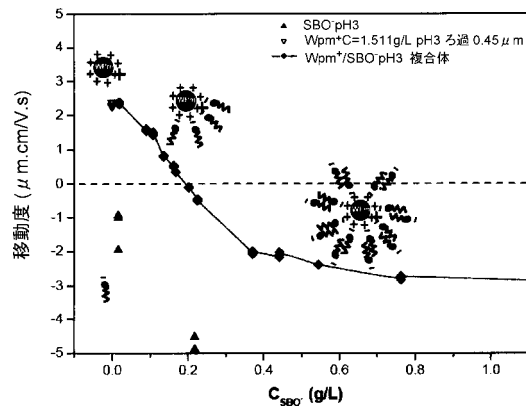


Figure 4

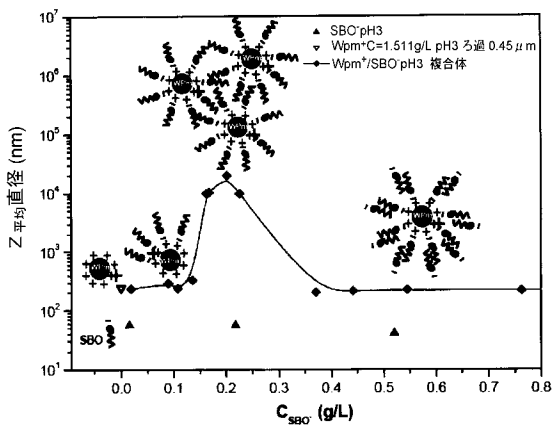
【 図 5 】



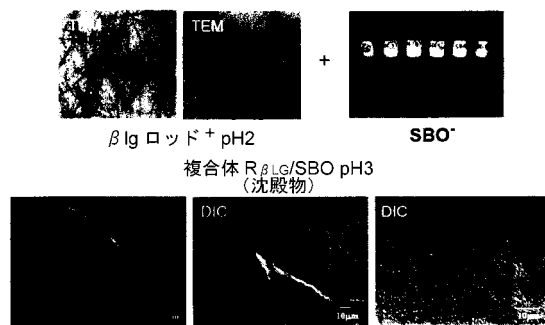
【 図 6 】



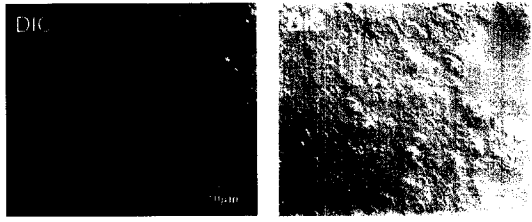
【 図 7 】



【 図 8 】

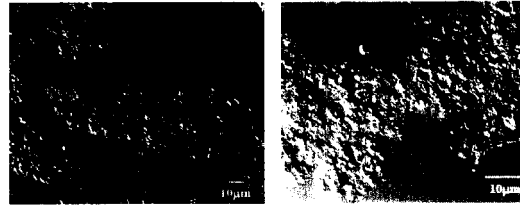


【 図 9 】



複合体 R β LG/SSL pH4.2 (沈殿物)

【 図 10 】



複合体 R β LG/DATAM pH4.2 (沈殿物)

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2007/058964

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV. A23J1/00 A23J1/20 A23J1/06 A23J1/02 A61K9/127 A23L1/00		
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) A23J A61K A23L		
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) EPO-Internal, 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 5 413 804 A (RHODES KENNETH H [US]) 9 May 1995 (1995-05-09) column 7, line 35 - column 8, line 25 column 137, lines 20-32; claim 1	1-23, 27, 29-33
X	US 7 060 291 B1 (MEERS PAUL R [US] ET AL) 13 June 2006 (2006-06-13) claims 1,3,7; examples 1-16	1-33
A	WO 2006/033985 A2 (SECRETARY OF AGRICULTURE THE U [US]; HARDEN JEROME W [US]; ONWULATA CH) 30 March 2006 (2006-03-30) the whole document	
	----- -/-	
<input checked="" 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	*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	
E earlier document but published on or after the international filing date	*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	
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)	*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.	
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	*G* document member of the same patent family	
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
11 October 2007	25/10/2007	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Adechy, Miriam	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2007/058964

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6 767 575 B1 (HUSS MANFRED [DE] ET AL) 27 July 2004 (2004-07-27) cited in the application the whole document -----	
A	US 5 589 189 A (MOYNIHAN KAREN L [US]) 31 December 1996 (1996-12-31) the whole document -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2007/058964

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5413804	A	09-05-1995	NONE	
US 7060291	B1	13-06-2006	US 2006172003 A1	03-08-2006
WO 2006033985	A2	30-03-2006	EP 1814401 A2 US 2007190213 A1	08-08-2007 16-08-2007
US 6767575	B1	27-07-2004	AT 239381 T AU 3145600 A WO 0048473 A1 DE 19906379 A1 DE 19964370 B4 EP 1154700 A1	15-05-2003 04-09-2000 24-08-2000 17-08-2000 11-05-2006 21-11-2001
US 5589189	A	31-12-1996	NONE	

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(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), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), 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, DO, 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, ME, 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

(72)発明者 ボウゾット, マシュー
スイス, シーエイチ - 1 0 1 2 ロザンヌ, アヴェニュー ドゥ レスプラネーデ 4ピス

(72)発明者 シュミット, クリストフ
スイス, シーエイチ - 1 0 7 7 セルヴィオン, シュマン オウ シャニー 17

(72)発明者 メゼンガ, ラファエル
スイス, シーエイチ - 1 0 2 8 プリヴェレンジズ, シーエイチ . ドゥ ウティンズ 2

Fターム(参考) 4B018 LB01 LB07 LB08 LB10 MD01 MD07 MD10 MD20 MD80 ME13

ME14

4B035 LC05 LC16 LG01 LG04 LG07 LG08 LG15 LG44 LG50 LK14

LK19 LP59

4C083 AC781 AD411 CC01 DD45 FF01