

(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
2023年10月5日(05.10.2023)



(10) 国際公開番号

WO 2023/190689 A1

- (51) 国際特許分類:
C12N 1/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2023/012814
- (22) 国際出願日: 2023年3月29日(29.03.2023)
- (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 2022-056103 2022年3月30日(30.03.2022) JP
- (71) 出願人: 富士フイルム株式会社 (FUJIFILM CORPORATION) [JP/JP]; 〒1068620 東京都港区西麻布2丁目2番30号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 下野 勝弘 (SHIMONO Katsuhiko); 〒2588577 神奈川県足柄上郡開成町牛島577番地 富士フイルム株式会社内 Kanagawa (JP).
- (74) 代理人: 伊東 秀明, 外 (ITOHI Hideaki et al.); 〒1010032 東京都千代田区岩本町2丁目3番3号 ザイマックス岩本町ビル6階 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:

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING MIXED POWDER, MIXED POWDER, POWDER, AND POWDER CULTURE MEDIUM

(54) 発明の名称: 混合粉体の製造方法、混合粉体、粉体、及び、粉体培地

(57) Abstract: With respect to poorly soluble cystine, the present invention addresses the problem of providing: a method for producing a powder which exhibits excellent solubility and in which liquid properties are neutral (pH 6.0-8.5) when the powder is dissolved in water; a powder; and a powder culture medium containing same. This method for producing a mixed powder comprises: a dissolution step in which cystine and at least one type of specific component selected from the group consisting of tryptophan, threonine and serine are dissolved in a solvent to obtain a solution containing cystine and the specific component; and a powder formation step in which the solution is dried to obtain a mixed powder of cystine and the specific component.

(57) 要約: 本発明は、難溶性のシスチンに関して、溶解性に優れ、且つ、水に溶解させたときの液性が中性 (pH 6.0~8.5) になるような粉体を得るための粉体の製造方法、並びに、上記粉体及びこれを含む粉体培地を提供することを課題とする。本発明の混合粉体の製造方法は、シスチンと、トリプトファン、トレオニン及びセリンからなる群より選択される少なくとも1種である特定成分とを溶媒に溶解させることで、シスチンと上記特定成分とを含む溶液を得る、溶解工程と、上記溶液を乾燥することで、シスチンと上記特定成分との混合粉体を得る、粉体化工程とを備える、混合粉体の製造方法である。



WO 2023/190689 A1

明 細 書

発明の名称：

混合粉体の製造方法、混合粉体、粉体、及び、粉体培地

技術分野

[0001] 本発明は、混合粉体の製造方法、混合粉体、粉体、及び、粉体培地に関する。

背景技術

[0002] 従来、難溶性の培地の溶解性を向上させるために、他の成分との水溶液としてから凍結乾燥する方法が提案されている（特許文献1）。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特表2018-521682号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] このようななか、本発明者が特許文献1を参考に、難溶性のシスチンについて他の成分（以下、「第2成分」とも言う）との水溶液を調製してから凍結乾燥したところ、第2成分の種類によっては得られる混合粉体の溶解性が不十分となることが明らかになった。また、第2成分の種類によっては、得られる混合粉体を水に溶解させたときの液性が塩基性になることが明らかになった。液性が塩基性になると、培地中にビタミン等の成分が存在する場合に分解する虞があるため問題である。

[0005] そこで、本発明は、上記実情を鑑みて、難溶性のシスチンに関して、溶解性に優れ、且つ、水に溶解させたときの液性が中性（pH6.0～8.5）になるような粉体を得るための粉体の製造方法、並びに、上記粉体及びこれを含む粉体培地を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明者は、上記課題について鋭意検討した結果、第2成分としてトリプトファン、トレオニン及びセリンからなる群より選択される少なくとも1種の成分を用いることで上記課題が解決できることを見出し、本発明に至った。

すなわち、本発明者は、以下の構成により上記課題が解決できることを見出した。

[0007] (1) シスチンと、トリプトファン、トレオニン及びセリンからなる群より選択される少なくとも1種である特定成分とを溶媒に溶解させることで、シスチンと上記特定成分とを含有する溶液を得る、溶解工程と、

上記溶液を乾燥することで、シスチンと上記特定成分との混合粉体を得る、粉体化工程とを備える、混合粉体の製造方法。

(2) 上記溶解工程において、溶解に、加熱及び／又はアルカリを用いる、上記(1)に記載の混合粉体の製造方法。

(3) 上記溶解工程において、溶解に、加熱を用いる、上記(1)又は(2)に記載の混合粉体の製造方法。

(4) 上記粉体化工程が、上記溶液をスプレードライによって乾燥する工程である、及び／又は、上記溶液を加熱及び減圧することによって乾燥する工程である、上記(1)～(3)のいずれかに記載の混合粉体の製造方法。

(5) 上記溶解工程において、シスチンに対する上記特定成分の混合比が、質量比で、1～10である、上記(1)～(4)のいずれかに記載の混合粉体の製造方法。

(6) 上記(1)～(5)のいずれかに記載の混合粉体の製造方法によって製造された、混合粉体。

(7) シスチンと、トリプトファン、トレオニン及びセリンからなる群より選択される少なくとも1種である特定成分との混合粉体であって、15～25℃において7分間水に溶解させたときに、得られる溶液がpH6.0～8.5であって、得られる溶液中のシスチン濃度が0.12g/L以上となる、混合粉体。

(8) シスチンと、トリプトファン、トレオニン及びセリンからなる群より選択される少なくとも1種である特定成分とを含む粉体であって、15～25℃において全て溶解させたときにシスチンの最終濃度が0.14 g/L以上になるように、水に溶解させたときに、以下の条件を満たす、粉体。

条件：最終濃度にするための水量の水を添加したときを0分として、7分経過後に抜取、0.2 μmフィルターで濾過した液のpHが8.5以下であって含まれるシスチンが0.12 g/L以上の濃度である。

(9) 上記(6)～(8)のいずれかに記載の混合粉体又は粉体を含む、粉体培地。

発明の効果

[0008] 以下に示すように、本発明によれば、難溶性のシスチンに関して、溶解性に優れ、且つ、水に溶解させたときの液性が中性(pH6.0～8.5)になるような粉体を得るための粉体の製造方法、並びに、上記粉体及びこれを含む粉体培地を提供することができる。

発明を実施するための形態

[0009] 以下に、本発明の混合粉体の製造方法、及び、本発明の混合粉体について説明する。

なお、本明細書において、「～」を用いて表される数値範囲は、「～」の前後に記載される数値を下限値及び上限値として含む範囲を意味する。

また、各成分は、1種を単独でも用いても、2種以上を併用してもよい。ここで、各成分について2種以上を併用する場合、その成分について含有量とは、特段の断りが無い限り、合計の含有量を指す。

[0010] [1] 混合粉体の製造方法

本発明の混合粉体の製造方法(以下、単に「本発明の製造方法」とも言う)は、

シスチンと、トリプトファン、トレオニン及びセリンからなる群より選択される少なくとも1種である特定成分とを溶媒に溶解させることで、シスチンと上記特定成分とを含む溶液を得る、溶解工程と、

上記溶液を乾燥することで、シスチンと上記特定成分との混合粉体を得る、粉体化工程とを備える、混合粉体の製造方法である。

[0011] 本発明の製造方法はこのような構成をとるため上記課題を解決することができるものと考えられる。その理由は明らかではないがおよそ以下のとおりと考えられる。

シスチンの難溶性の1つの要因としてシスチンの分子同士の疎水部の凝集が考えられる。これに対して本発明では、シスチンと特定成分とを溶媒に溶解させてから乾燥するため、特定成分がシスチンの分子間に入り込み、シスチンの分子同士の凝集による疎水部の形成が抑制され溶媒（特に親水性の溶媒）が浸透しやすくなったものと考えられる。さらに、特定成分は優れた溶解性を示す。そのため本発明によれば、シスチンと溶解性の高い特定成分とが分子レベルで混合した粉体を得られるものと考えられる。結果として、本発明の製造方法によって得られた混合粉体は優れた溶解性を示すものと考えられる。このことは、シスチンと特定成分とを単に混合しても溶解性が向上しないことから推測される。

[0012] 以下、本発明の製造方法の各工程について説明する。

[0013] [溶解工程]

溶解工程は、シスチンと特定成分とを溶媒に溶解させることで、シスチンと特定成分とを含有する溶液を得る工程である。

[0014] [シスチン]

溶媒に対するシスチンの混合量は特に制限されないが、本発明の効果がより優れる理由から、溶解に加熱を用いる場合、0.01～100g/Lであることが好ましく、0.05～10g/Lであることがより好ましく、0.1～2g/Lであることがさらに好ましく、溶解にアルカリを用いる場合、0.1～1000g/Lであることが好ましく、1～200g/Lであることがより好ましく、10～100g/Lであることがさらに好ましい。

[0015] [特定成分]

特定成分は、トリプトファン、トレオニン及びセリンからなる群より選択

される少なくとも1種である。特定成分は、本発明の効果がより優れる理由から、トレオニン又はセリンであることが好ましく、トレオニンであることがより好ましい。

[0016] 溶媒に対する特定成分の混合量は特に制限されないが、本発明の効果がより優れる理由から、溶解に加熱を用いる場合、0.01~1000g/Lであることが好ましく、0.1~100g/Lであることがより好ましく、1~5g/Lであることがさらに好ましく、溶解にアルカリを用いる場合、1~3000g/Lであることが好ましく、10~2000g/Lであることがより好ましく、100~1000g/Lであることがさらに好ましい。

[0017] [混合比]

シスチンに対する特定成分の混合比（特定成分の混合量/シスチンの混合量）は、質量比で、本発明の効果がより優れる理由から、0.1~100であることが好ましく、0.5~80であることがより好ましく、1~60であることがさらに好ましく、2~40であることが特に好ましく、5~20であることが最も好ましい。なお、以下、シスチンに対する第2成分の混合比（第2成分の混合量/シスチンの混合量）（質量比）を単に「混合比」とも言う。

[0018] [溶媒]

溶解工程で使用される溶媒は特に制限されないが、本発明の効果がより優れる理由から、水又は親水性溶媒であることが好ましく、水であることがより好ましい。また、加熱時に液体化すればよく、室温で固体であってもよい。

親水性溶媒は親水性の溶媒であれば特に制限されないが、具体例としては、テトラヒドロフラン、ジメトキシエタン、ジエチレングリコールジメチルエーテル、ポリエチレングリコールジアルキルエーテルのようなエーテル基含有化合物、 γ -ブチロラクトン、 γ -バレロラクトンのようなラクトン基含有化合物、カプロラクタム、N-メチルカプロラクタム、N,N-ジメチルアセトアミド、N-メチルアセトアミド、N,N-ジメチルホルムアミド

(DMF)、N-メチルホルムアミド、N-メチルホルムアニリド、N-メチルピロリドン(NMP)、N-オクチルピロリドン、ピロリドンのようなアミド又はラクタム基含有化合物、スルホラン(テトラメチレンスルホン)、ジメチルスルホキシド(DMSO)のようなスルホン及びスルホキシド、スクロース、グルコース、フルクトース、ラクトースのような糖又は糖誘導体、ソルビトール、マンニトールのような糖アルコール、2-フランカルボン酸、3-フランカルボン酸のようなフラン誘導体、メタノール、エチレングリコール、グリセロール、ジエチレングリコール、トリエチレングリコールのようなアルコール、ジメトキシフェノール、m-クレゾール、o-クレゾール、p-クレゾール、フェノール、ナフトールなどのフェノール化合物が挙げられる。これらの親水性溶媒は1種類を単独で用いてもよく、また2種類以上を同時に用いてもよい。

[0019] [溶解方法]

シスチンと特定成分とを溶媒に溶解させる方法は特に制限されないが、本発明の効果がより優れる理由から、加熱及び/又はアルカリを用いるのが好ましく、加熱を用いるのがより好ましい。なお、「加熱を用いる」とは溶媒を加熱することを意味し、「アルカリを用いる」とは溶媒にアルカリ(水酸化ナトリウム等)を添加することを指す。

[0020] 溶解に加熱を用いる場合の温度は特に制限されないが、本発明の効果がより優れる理由から、40~300℃であることが好ましく、40~200℃であることが好ましく、60~90℃であることがより好ましい。溶解時に溶媒が沸点以上で加圧下での亜臨界、超臨界状態になっていてもよい。

[0021] 溶解にアルカリを用いる場合、本発明の効果がより優れる理由から、溶液のpHを12以上にすることが好ましい。また、溶解にアルカリを用いた場合、本発明の効果がより優れる理由から、溶解後に酸(塩酸等)を用いてpHを中性に調整するのが好ましい(中和工程)。なお、本明細書において中性とはpH6.0~8.5を意味する。

[0022] アルカリを用いて溶解し、その後酸を用いてpHを中性に調整した場合、

得られる溶液は塩を含むことになる。溶液が塩を含む場合、特定成分によるシスチンの分子同士の会合の抑制がやや低下するものと考えられる。また、溶液が塩を含む場合、得られる混合粉体も塩を含むことになる。混合粉体が塩を含む場合、水に溶解させたときに浸透圧が上がる虞がある。このような理由から、溶解にはアルカリを用いるよりも加熱を用いる方が好ましい。

[0023] [粉体化工程]

粉体化工程は、上述した溶解工程によって得られた溶液を乾燥することで、シスチンと特定成分との混合粉体を得る工程である。

[0024] [乾燥方法]

溶液を乾燥する方法は特に制限されないが、その具体例としては、スプレードライ（噴霧乾燥）、加熱（例えば、40～80℃）及び減圧（例えば、100 mmHg以下）による乾燥（例えば、エバポレーターを用いた乾燥）、凍結乾燥等が挙げられる。

溶液の乾燥方法は、得られる混合粉体の均一性が高く、結果として溶解性により優れる点、及び、乾燥に要する時間が短い点から、凍結乾燥以外の乾燥方法が好ましく、スプレードライ、及び／又は、加熱及び減圧による乾燥がより好ましく、スプレードライがさらに好ましい。

[0025] [混合粉体]

本発明の製造方法によって得られた混合粉体は、培地用の粉体として特に有用である。

[0026] [2] 混合粉体

本発明の混合粉体は、

シスチンと、トリプトファン、トレオニン及びセリンからなる群より選択される少なくとも1種である特定成分との混合粉体であって、15～30℃（好ましくは15～25℃）において7分間水に溶解させたときに、得られる水溶液がpH6.0～8.5であって、得られる溶液中のシスチン濃度が0.12 g/L以上となる、混合粉体である。シスチン濃度は、好ましくは0.12 g/L以上0.5 g/L以下であり、さらに好ましくは0.13 g

／L以上0.4 g／L以下であり、最も好ましくは0.15 g／L以上0.3 g／L以下である。

上記混合粉体は、上述した本発明の製造方法によって得られた混合粉体であることが好ましい。

実施例

[0027] 以下、実施例により、本発明についてさらに詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

[0028] [粉体の製造]

以下のとおり、各粉体を製造した。

[0029] [実施例1]

[0030] <溶解工程>

攪拌羽根を備えた1000 mL三口フラスコに、蒸留水500 mL、L-シスチン80 mg (0.33 mmol、富士フィルム和光純薬社製)、L-トリプトファン240 mg (1.17 mmol、富士フィルム和光純薬社製)を加え、300 rpm (回転/分)で攪拌しながら80℃で2時間加熱し、完全に溶解したことを確認した。このようにして過飽和液を得た。得られた過飽和液をA1とも言う。A1は室温に戻しても数時間程度は安定であった。

[0031] <粉体化工程>

溶解工程で得られた過飽和液(A1)を1000 mLフラスコに入れた。そして、エバポレーターを用いて加熱(50~60℃)及び減圧(50 mm Hg以下)することで乾燥した。このようにして粉体を得た。得られた粉体をCT1とも言う。

CT1について¹H-NMR法(核磁気共鳴法)を用いて組成を確認したところ、シスチン:トリプトファン=1:3.5(モル比)の混合粉体であった。

[0032] [実施例2~3]

溶解工程におけるL-トリプトファンの混合量を表1に記載のとおり変更

した点以外は、実施例1と同様の手順に従って、シスチンとトリプトファンとの混合粉体を得た。

[0033] [実施例4]

粉体化工程において、溶解工程で得られた過飽和液をミニスプレードライヤーB-290 (Buchi社製)を用いて噴霧乾燥した点以外は、実施例1と同様の手順に従って、シスチンとトリプトファンとの混合粉体を得た。なお、粉体を得る際に過飽和液が不足した場合は、追加で過飽和液を準備し使用した。

[0034] [実施例5~6]

溶解工程におけるL-トリプトファンの混合量を表1に記載のとおり変更した点以外は、実施例4と同様の手順に従って、シスチンとトリプトファンとの混合粉体を得た。

[0035] [実施例7]

粉体化工程において、溶解工程で得られた過飽和液を凍結乾燥機FDU-12AS (アズワン社製)を用いて1週間凍結乾燥して粉体を得た点以外は、実施例1と同様の手順に従って、シスチンとトリプトファンとの混合粉体を得た。

[0036] [実施例8]

溶解工程におけるL-トリプトファンの混合量を表1に記載のとおり変更した点以外は、実施例7と同様の手順に従って、シスチンとトリプトファンとの混合粉体を得た。

[0037] [実施例9]

[0038] <溶解工程>

100 mLビーカーに、蒸留水30 mL、L-シスチン2.0 g (8.32 mmol、富士フィルム和光純薬社製)、L-トリプトファン6.0 g (29.3 mmol)、水酸化ナトリウム (富士フィルム和光純薬株式会社製) 4.23 gを加え、pH12以上にして一旦完全に溶解させた。その後、5 N (規定度)のHCl水溶液 (富士フィルム和光純薬株式会社製)を加え

pH 7～8の間に調整した。このようにしてスラリー液を得た。得られたスラリー液をNA1とも言う。

[0039] <粉体化工程>

溶解工程で得られたスラリー液（NA1）を1000mLフラスコに入れた。そして、エバポレーターを用いて加熱（50～60℃）及び減圧（50mmHg以下）することで乾燥した。このようにして粉体を得た。得られた粉体をCT9とも言う。CT9について¹H-NMR法を用いて組成を確認したところ、シスチン：トリプトファン=1：3.5（モル比）の混合粉体であった。

[0040] [実施例10～11]

溶解工程におけるL-トリプトファンの混合量を表1に記載のとおり変更した点以外は、実施例9と同様の手順に従って、シスチンとトリプトファンとの混合粉体を得た。

[0041] [実施例12]

粉体化工程において、溶解工程で得られたスラリー液を凍結乾燥機FDU-12AS（アズワン社製）を用いて1週間凍結乾燥して粉体を得た点以外は、実施例9と同様の手順に従って、シスチンとトリプトファンとの混合粉体を得た。

[0042] [実施例13～14]

溶解工程におけるL-トリプトファンの混合量を表1に記載のとおり変更した点以外は、実施例12と同様の手順に従って、シスチンとトリプトファンとの混合粉体を得た。

[0043] [実施例15～28]

溶解工程において、L-トリプトファンの代わりにL-セリンを用いた点以外は、実施例1～14と同様の手順に従って、シスチンとセリンとの混合粉体を得た。

[0044] [実施例29～42]

溶解工程において、L-トリプトファンの代わりにL-トレオニンを用い

た点以外は、実施例1～14と同様の手順に従って、シスチンとトレオニンとの混合粉体を得た。

[0045] [比較例1]

[0046] <溶解工程>

攪拌羽根を備えた1000mL三口フラスコに蒸留水500mL、L-シスチン80mg (0.33mmol、富士フィルム和光純薬社製)を加え、300rpmで攪拌しながら80℃で2時間加熱し、完全に溶解したことを確認した。このようにして過飽和液を得た。得られた過飽和液をD1とも言う。

[0047] <粉体化工程>

溶解工程で得られた過飽和液(D1)を1000mLフラスコに入れた。そして、エバポレーターを用いて加熱(70℃)及び減圧(50mmHg以下)することで乾燥した。このようにして粉体を得た。得られた粉体をCH1とも言う。

[0048] [比較例2]

L-シスチン(富士フィルム和光純薬社製)を比較例2の粉体とした。

[0049] [比較例3]

溶解工程において、L-トリプトファンに代わりL-フェニルアラニンを用いた点以外は、実施例1と同様の手順に従って、粉体を得た。得られた粉体をCH2とも言う。

CH2について¹H-NMR法を用いて組成を確認したところ、シスチン：フェニルアラニン=1：6.9(モル比)の混合粉体であった。

[0050] [比較例4]

溶解工程において、L-トリプトファンに代わりL-アルギニンを用いた点以外は、実施例1と同様の手順に従って、粉体を得た。得られた粉体をCH3とも言う。

CH3について¹H-NMR法を用いて組成を確認したところ、シスチン：アルギニン=1：6.9(モル比)の混合粉体であった。

[0051] [評価]

得られた各粉体について以下の評価を行った。

[0052] [溶解性]

100 mL ビーカーに蒸留水 30 mL を入れ、スターラーチップで攪拌し、得られた粉体を添加した (25°C)。粉体の添加量は表 1~3 の「添加量」に欄に記載のとおりである。添加時を 0 分として、以下の評価基準に従って目視で溶解性を評価した。

結果を表 1~3 に示す。実用上、AA、A、B、C 又は D であることが好ましく、AA、A、B 又は C であることがより好ましく、AA、A 又は B であることがさらに好ましく、AA 又は A であることが特に好ましく、AA であることが最も好ましい。

なお、上記添加量は、溶液中のシスチンの量が 0.17 g/L になるように混合比から計算したものである。

- ・ AA : 30 秒以内に完溶
- ・ A : 30 秒超 5 分以内に完溶
- ・ B : 5 分超 10 分以内に完溶
- ・ C : 10 分超 15 分以内に完溶
- ・ D : 15 分超 1 時間以内に完溶
- ・ E : 1 時間を過ぎても白濁、沈降物あり

[0053] [液性]

溶解性の評価で得られた溶液の pH を評価した。そして、以下の評価基準に従って液性を評価した。結果を表 1~3 に示す。実用上、中性であることが好ましい。

- ・ 酸性 : pH 6.0 未満
- ・ 中性 : pH 6.0 ~ 8.5
- ・ 塩基性 : pH 8.5 超

[0054] [総合評価]

溶解性及び液性の評価結果から、以下の評価基準に従って総合評価を行っ

た。結果を表 1 ～ 3 に示す。

- ・ A A : 3 0 秒以内に完溶、液性が中性である。
- ・ A : 5 分以内に完溶、液性が中性である
- ・ B : 1 0 分以内に完溶、液性が中性である
- ・ C : 1 5 分以内に完溶、液性が中性である。
- ・ D : 1 時間以内に完溶、液性が中性である。
- ・ E : 1 時間後も白濁、及び／又は、p H が中性以外である。

[0055]

[表1]

表1	溶解工程				粉体化工工程				評価							
	蒸留水 [mL]	シスチン [mg]	第2成分		溶解方法	溶液		粉体		添加量 [mg] (シスチン 0.17g/L)	溶解性	液性	総合評価			
			種類	混合量 [mg]		混合比 (質量比)	略称	性状	乾燥方法					組成比 (モル比)	含有率 (%)	
																略称
実施例1	500	80	L-トリプトファン	240	3	加熱	A1	均一	エハポレーター	CT1	3.5	0	20.4	A	中性	A
実施例2	500	80	L-トリプトファン	80	1	加熱	A2	均一	エハポレーター	CT2	1.2	0	10.2	B	中性	B
実施例3	500	80	L-トリプトファン	800	10	加熱	A3	均一	エハポレーター	CT3	11.8	0	56.1	A	中性	A
実施例4	500	80	L-トリプトファン	240	3	加熱	A1	均一	スブレードドライ	CT4	3.5	0	20.4	AA	中性	AA
実施例5	500	80	L-トリプトファン	61	0.76	加熱	A4	均一	スブレードドライ	CT5	0.89	0	9.0	B	中性	B
実施例6	500	80	L-トリプトファン	800	10	加熱	A3	均一	スブレードドライ	CT6	11.8	0	56.1	AA	中性	AA
実施例7	500	80	L-トリプトファン	240	3	加熱	A1	均一	凍結乾燥	CT7	3.5	0	20.4	B	中性	B
実施例8	500	80	L-トリプトファン	80	1	加熱	A2	均一	凍結乾燥	CT8	1.2	0	10.2	B	中性	B
実施例9	30	2000	L-トリプトファン	6000	3	アルカリ	NA1	スラリー	エハポレーター	CT9	3.5	36	27.7	B	中性	B
実施例10	30	2000	L-トリプトファン	20000	10	アルカリ	NA2	スラリー	エハポレーター	CT10	11.8	45	81.3	B	中性	B
実施例11	30	2000	L-トリプトファン	2000	1	アルカリ	NA3	スラリー	エハポレーター	CT11	1.2	33	13.6	C	中性	C
実施例12	30	2000	L-トリプトファン	6000	3	アルカリ	NA1	スラリー	凍結乾燥	CT12	3.5	37	27.9	B	中性	B
実施例13	30	2000	L-トリプトファン	20000	10	アルカリ	NA2	スラリー	凍結乾燥	CT13	11.8	45	81.3	B	中性	B
実施例14	30	2000	L-トリプトファン	2000	1	アルカリ	NA3	スラリー	凍結乾燥	CT14	1.2	33	13.6	C	中性	C

[0056] [表2]

表2	溶解工程					粉体化工工程				評価						
	蒸留水 [mL]	L-シスチン [mg]	第2成分		溶解方法	溶液	乾燥方法	粉体		添加量 [mg] (シスチン 0.17g/L)	溶解性	液性	総合評価			
			種類	混合量 [mg]				混合比 (質量比)	略称					組成比 (モル比)	含有率 (%)	
																性状
略称																
実施例15	500	80	L-セリン	240	3	加熱	B1	均一	エバポレータ	CS1	6.9	0	20.4	A	中性	A
実施例16	500	80	L-セリン	80	1	加熱	B2	均一	エバポレータ	CS2	2.3	0	10.2	B	中性	B
実施例17	500	80	L-セリン	800	10	加熱	B3	均一	エバポレータ	CS3	22.9	0	56.1	A	中性	A
実施例18	500	80	L-セリン	240	3	加熱	B1	均一	スプレードライ	CS4	6.9	0	20.4	AA	中性	AA
実施例19	500	80	L-セリン	61	0.76	加熱	B4	均一	スプレードライ	CS5	1.7	0	9.0	C	中性	C
実施例20	500	80	L-セリン	800	10	加熱	B3	均一	スプレードライ	CS6	22.8	0	56.1	AA	中性	AA
実施例21	500	80	L-セリン	240	3	加熱	B1	均一	凍結乾燥	CS7	6.9	0	20.4	B	中性	B
実施例22	500	80	L-セリン	80	1	加熱	B2	均一	凍結乾燥	CS8	2.3	0	10.2	B	中性	B
実施例23	30	2000	L-セリン	6000	3	アルカリ	NB1	スラリー	エバポレータ	CS9	6.9	25	25.5	B	中性	B
実施例24	30	2000	L-セリン	20000	10	アルカリ	NB2	スラリー	エバポレータ	CS10	22.8	35	75.7	B	中性	B
実施例25	30	2000	L-セリン	2000	1	アルカリ	NB3	スラリー	エバポレータ	CS11	2.3	31	13.4	C	中性	C
実施例26	30	2000	L-セリン	6000	3	アルカリ	NB1	スラリー	凍結乾燥	CS12	6.9	27	25.9	B	中性	B
実施例27	30	2000	L-セリン	20000	10	アルカリ	NB2	スラリー	凍結乾燥	CS13	22.8	36	76.3	B	中性	B
実施例28	30	2000	L-セリン	2000	1	アルカリ	NB3	スラリー	凍結乾燥	CS14	2.3	30	13.3	C	中性	C

[0057] [表3]

表3	溶解工程					粉体化工程				評価						
	蒸留水 [mL]	L-シスチン [mg]	第2成分		混合比 (質量比)	溶解方法	溶液		乾燥方法	粉体		添加量 [mg] (シスチン 0.17g/L)	溶解性	液性	総合評価	
			種類	混合量 [mg]			略称	性状		略称	組成比 (モル比)					塩含有率 (%)
実施例29	500	80	L-トレオニン	240	3	加熱	C1	均一	エバポレーター	CThr1	6.1	0	20.4	A	中性	A
実施例30	500	80	L-トレオニン	80	1	加熱	C2	均一	エバポレーター	CThr2	2.0	0	10.2	B	中性	B
実施例31	500	80	L-トレオニン	800	10	加熱	C3	均一	エバポレーター	CThr3	20.1	0	56.1	A	中性	A
実施例32	500	80	L-トレオニン	240	3	加熱	C1	均一	スプレードライ	CThr4	6.9	0	20.4	AA	中性	AA
実施例33	500	80	L-トレオニン	61	0.76	加熱	C4	均一	スプレードライ	CThr5	1.5	0	9.0	C	中性	C
実施例34	500	80	L-トレオニン	800	10	加熱	C3	均一	スプレードライ	CThr6	20.1	0	56.1	AA	中性	AA
実施例35	500	80	L-トレオニン	240	3	加熱	C1	均一	凍結乾燥	CThr7	6.9	0	20.4	B	中性	B
実施例36	500	80	L-トレオニン	80	1	加熱	C2	均一	凍結乾燥	CThr8	2.3	0	10.2	B	中性	B
実施例37	30	2000	L-トレオニン	6000	3	アルカリ	NC1	スラリー	エバポレーター	CThr9	6.1	32	26.9	B	中性	B
実施例38	30	2000	L-トレオニン	20000	10	アルカリ	NC2	スラリー	エバポレーター	CThr10	20.1	40	78.5	B	中性	B
実施例39	30	2000	L-トレオニン	2000	1	アルカリ	NC3	スラリー	エバポレーター	CThr11	2.3	30	13.3	C	中性	C
実施例40	30	2000	L-トレオニン	6000	3	アルカリ	NC1	スラリー	凍結乾燥	CThr12	6.1	31	26.7	B	中性	B
実施例41	30	2000	L-トレオニン	20000	10	アルカリ	NC2	スラリー	凍結乾燥	CThr13	20.1	41	79.1	B	中性	B
実施例42	30	2000	L-トレオニン	2000	1	アルカリ	NC3	スラリー	凍結乾燥	CThr14	2.0	31	13.4	C	中性	C
比較例1	500	80	—	—	—	加熱	D1	均一	エバポレーター	CH1	—	0.0	5.1	E	中性	E
比較例2	—	—	—	—	—	加熱	—	—	—	L-シスチン	—	—	5.1	E	中性	E
比較例3	500	80	L-フェニルアラニン	240	3	加熱	D2	均一	エバポレーター	CH2	6.9	0.0	20.4	E	中性	E
比較例4	500	80	L-アルギニン	240	3	加熱	D3	均一	エバポレーター	CH3	6.9	0.0	20.4	B	塩基性	E

[0058] なお、表1～3中、粉体の「組成比（モル比）」は、シスチンに対する第2成分の組成比（モル比）を表す。組成比は¹H-NMR法を用いて確認されたものである。

また、表1～3中、粉体の「塩含有率」は、シスチンと第2成分との合計を100質量%としたときの塩（NaCl）の量（質量%）を表す。

[0059] [表のまとめ]

表1～3から分かるように、シスチンのみを溶媒に溶解させて乾燥することで得られた粉体（比較例1）、市販のシスチン（比較例2）、及び、特定成分の代わりにフェニルアラニンを用いて得られた混合粉体（比較例3）と比較して、本発明の製造方法である実施例1～42によって得られた混合粉体は、優れた溶解性を示した。なお、比較例1～2は4時間でも完溶しなかった。比較例3はほとんど溶解しなかった。

[0060] 表3から分かるように、特定成分の代わりにアルギニンを用いて得られた混合粉体（比較例4）は水に溶解させたときの液性が塩基性であった。また、実施例1と実施例15と実施例29と比較例3～4との対比（第2成分の種類のみが異なる態様同士の対比）から、第2成分として特定成分以外の成分を用いて得られた混合粉体（比較例3～4）よりも、第2成分として特定成分を用いて得られた混合粉体（実施例1、実施例15、実施例29）の方が優れた溶解性を示した。

[0061] [実施例1～14（特定成分：トリプトファン）]

実施例1～3及び実施例9～11の対比（乾燥方法がエバポレーターである態様同士の対比）から、溶解に加熱を用いた実施例1～3によって得られた混合粉体の方が、より優れた溶解性を示す傾向が見られた。

[0062] 実施例1～3の対比（混合比のみが異なる態様同士の対比）から、混合比が2以上である実施例1及び実施例3によって得られた混合粉体は、より優れた溶解性を示した。同様に、実施例4～6の対比（混合比のみが異なる態様同士の対比）から、混合比が2以上である実施例4及び実施例6によって得られた混合粉体は、より優れた溶解性を示した。同様に、実施例9～11

の対比（混合比のみが異なる態様同士の対比）から、混合比が2以上である実施例9～10は、より優れた溶解性を示した。同様に、実施例12～14の対比（混合比のみが異なる態様同士の対比）から、混合比が2以上である実施例12～13は、より優れた溶解性を示した。

[0063] 実施例1と実施例4と実施例7との対比（乾燥方法のみが異なる態様同士の対比）から、乾燥にエバポレーター（加熱及び減圧）を用いた実施例1及びスプレードライを用いた実施例4によって得られた混合粉体は、より優れた溶解性を示した。なかでも、乾燥にスプレードライを用いた実施例4は、さらに優れた溶解性を示した。同様に、実施例3と実施例6との対比（乾燥方法のみが異なる態様同士の対比）から、乾燥にスプレードライを用いた実施例6は、より優れた溶解性を示した。

[0064] [実施例15～28（特定成分：セリン）]

実施例15～17及び実施例23～25の対比（乾燥方法がエバポレーターである態様同士の対比）から、溶解に加熱を用いた実施例15～17によって得られた混合粉体の方が、より優れた溶解性を示す傾向が見られた。

[0065] 実施例15～17の対比（混合比のみが異なる態様同士の対比）から、混合比が2以上である実施例15及び実施例17によって得られた混合粉体は、より優れた溶解性を示した。同様に、実施例18～20の対比（混合比のみが異なる態様同士の対比）から、混合比が2以上である実施例18及び実施例20によって得られた混合粉体は、より優れた溶解性を示した。同様に、実施例23～25の対比（混合比のみが異なる態様同士の対比）から、混合比が2以上である実施例23～24は、より優れた溶解性を示した。同様に、実施例26～28の対比（混合比のみが異なる態様同士の対比）から、混合比が2以上である実施例26～27は、より優れた溶解性を示した。

[0066] 実施例15と実施例18と実施例21との対比（乾燥方法のみが異なる態様同士の対比）から、乾燥にエバポレーター（加熱及び減圧）を用いた実施例15及びスプレードライを用いた実施例18によって得られた混合粉体は、より優れた溶解性を示した。なかでも、乾燥にスプレードライを用いた実

実施例 18 は、さらに優れた溶解性を示した。同様に、実施例 17 と実施例 20 との対比（乾燥方法のみが異なる態様同士の対比）から、乾燥にスプレードライを用いた実施例 20 は、より優れた溶解性を示した。

[0067] [実施例 29～42（特定成分：トレオニン）]

実施例 29～31 及び実施例 37～39 の対比（乾燥方法がエバポレーターである態様同士の対比）から、溶解に加熱を用いた実施例 29～31 によって得られた混合粉体の方が、より優れた溶解性を示す傾向が見られた。

[0068] 実施例 29～31 の対比（混合比のみが異なる態様同士の対比）から、混合比が 2 以上である実施例 29 及び実施例 31 によって得られた混合粉体は、より優れた溶解性を示した。同様に、実施例 32～34 の対比（混合比のみが異なる態様同士の対比）から、混合比が 2 以上である実施例 32 及び実施例 34 によって得られた混合粉体は、より優れた溶解性を示した。同様に、実施例 37～39 の対比（混合比のみが異なる態様同士の対比）から、混合比が 2 以上である実施例 37～38 は、より優れた溶解性を示した。同様に、実施例 40～42 の対比（混合比のみが異なる態様同士の対比）から、混合比が 2 以上である実施例 40～41 は、より優れた溶解性を示した。

[0069] 実施例 29 と実施例 32 と実施例 35 との対比（乾燥方法のみが異なる態様同士の対比）から、乾燥にエバポレーター（加熱及び減圧）を用いた実施例 29 及びスプレードライを用いた実施例 32 によって得られた混合粉体は、より優れた溶解性を示した。なかでも、乾燥にスプレードライを用いた実施例 32 は、さらに優れた溶解性を示した。同様に、実施例 31 と実施例 34 との対比（乾燥方法のみが異なる態様同士の対比）から、乾燥にスプレードライを用いた実施例 34 は、より優れた溶解性を示した。

[0070] 本発明の製造方法によって得られた混合粉体を E-MEM 培地（イーグル最小必須培地）に応用したときの溶解性を以下のとおり評価した。シスチンと、トリプトファン、トレオニン及びセリンからなる群より選択される少なくとも 1 種である特定成分からなる本発明の分子混合粉体はシスチンの溶解速度が極めて速いため、以下に示す方法で本発明のシスチンと特定成分の分

子混合粉体を含む培地であるかを検知することが可能であると言える。

[0071] 培地としてシスチンとトリプトファン、トレオニン及びセリンを除いたE-MEM培地Bを表4の通り混合した混合粉体を均一に乳鉢で混合し、E-MEM培地B混合粉体を得た。E-MEM培地Bは12.0g/Lでの濃度で水に溶解させ、培地液体を得ることができる。

[0072] [表4]

表4	
成分	mg(/L)
塩化カルシウム2水和物	264.9
塩化カリウム	400.0
硫酸マグネシウム7水和物	200.7
塩化ナトリウム	6800.0
リン酸2水素ナトリウム1水和物	2530.2
L-アルギニン塩酸塩	126.0
L-シスチン	0.0
L-グルタミン	292.0
L-ヒスチジン塩酸塩1水和物	42.0
L-イソロイシン	52.0
L-リジン塩酸塩	72.5
L-メチオニン	15.0
L-フェニルアラニン	32.0
L-トレオニン	48.0
L-トリプトファン	10.0
L-チロシン	36.0
L-バリン	46.0
パントテン酸カルシウム	1.0
塩化コリン	1.0
葉酸	1.0
i-イノシトール	2.0
ニコチンアミド	1.0
ピリドキサール塩酸塩	1.0
リボフラビン	0.1
チアミン塩酸塩	1.0
グルコース	1000.0
フェノールレッド	10.0
合計[g(/L)]	12.0

[0073] このようにして調製したE-MEM培地Bを用いて、表5のように実施例43としてEMEM培地Bに本発明のシスチン/トレオニン=1/4（質量比）分子混合粉体をシスチンとして0.15g/L相当分を添加した培地B1と、比較例5としてEMEM培地Bに実施例43で用いたシスチン/トレオニン分子混合粉体の代わりに同量に相当するシスチン、トレオニンをそれ

ぞれ添加した培地B2を調製した。同様にセリン、トリプトファンについて行い、それぞれB3、B4、B5、B6を得た。

室温22℃のもと、100mLの容器に培地B1、培地B2とスターラーチップを加え、それぞれ水を加えて50mLにし、水を加えた時間を0分として、100rpmで攪拌を開始し、7分後にスラリーから1mL抜き取った。抜き取ったスラリーはすぐに0.2μmフィルターでろ過しそれぞれ液BL1、BL2を得た。液BL1、BL2のシスチン含有量をHPLC（高速液体クロマトグラフ）で測定したところBL1のシスチン量は0.15g/L、BL2のシスチン量は0.09g/Lであった。B3、B4、B5、B6についても同様に行って液BL3、BL4、BL5、BL6を得て、シスチン含有量はそれぞれ0.15、0.09、0.15、0.09g/Lであった。抜き取る前のスラリー液のpHは4以上6未満の酸性であった。

[0074] 本実施例では初期シスチン添加量が溶解度上限に近い0.15g/Lの濃度で加えたが、実際には添加量として上限まで入れない可能性があることと、シスチンと特定成分を別々に添加した粉体の場合、誤差を勘案しても7分後に検出されたシスチン量が0.12g/Lを超えることはないため、7分後の抜取濾過液体が0.12g/Lを超える場合は本発明のシスチン混合粉体が含まれると考えることができるといえる。シスチン濃度は、好ましくは0.12g/L以上0.5g/L以下であり、さらに好ましくは0.13g/L以上0.4g/L以下であり、最も好ましくは0.15g/L以上0.3g/L以下である。

[0075]

[表5]

表5	実施例43	比較例5	実施例44	比較例6	実施例45	比較例7
培地名称	B1	B2	B3	B4	B5	B6
EMEM培地B(mg)	595	595	595	595	595	595
本発明のシスチン／トレオニン＝1／4(質量比)混合粉体(mg)	37.5	0	0	0	0	0
本発明のシスチン／セリン＝1／4(質量比)混合粉体(mg)	0	0	37.5	0	0	0
本発明のシスチン／トリプトファン＝1／4(質量比)混合粉体(mg)	0	0	0	0	37.5	0
L-シスチン(mg)	0	7.5	0	7.5	0	7.5
L-トレオニン(mg)	0	30	0	0	0	0
L-セリン(mg)	0	0	0	30	0	0
L-トリプトファン(mg)	0	0	0	0	0	30

請求の範囲

- [請求項1] シスチンと、トリプトファン、トレオニン及びセリンからなる群より選択される少なくとも1種である特定成分とを溶媒に溶解させることで、シスチンと前記特定成分とを含有する溶液を得る、溶解工程と、
前記溶液を乾燥することで、シスチンと前記特定成分との混合粉体を得る、粉体化工程とを備える、混合粉体の製造方法。
- [請求項2] 前記溶解工程において、溶解に、加熱及び／又はアルカリを用いる、請求項1に記載の混合粉体の製造方法。
- [請求項3] 前記溶解工程において、溶解に、加熱を用いる、請求項1に記載の混合粉体の製造方法。
- [請求項4] 前記粉体化工程が、前記溶液をスプレードライによって乾燥する工程である、及び／又は、前記溶液を加熱及び減圧することによって乾燥する工程である、請求項1に記載の混合粉体の製造方法。
- [請求項5] 前記溶解工程において、シスチンに対する前記特定成分の混合比が、質量比で、1～10である、請求項1に記載の混合粉体の製造方法。
- [請求項6] 請求項1に記載の混合粉体の製造方法によって製造された、混合粉体。
- [請求項7] シスチンと、トリプトファン、トレオニン及びセリンからなる群より選択される少なくとも1種である特定成分との混合粉体であって、15～25℃において7分間水に溶解させたときに、得られる溶液がpH6.0～8.5であって、得られる溶液中のシスチン濃度が0.12g/L以上となる、混合粉体。
- [請求項8] シスチンと、トリプトファン、トレオニン及びセリンからなる群より選択される少なくとも1種である特定成分とを含む粉体であって、15～25℃において全て溶解させたときにシスチンの最終濃度が0.14g/L以上になるように、水に溶解させたときに、以下の条件

を満たす、粉体。

条件：最終濃度にするための水量の水を添加したときを0分として、7分経過後に抜取、0.2 μm フィルターで濾過した液のpHが8.5以下であって含まれるシスチンが0.12 g/L以上の濃度である。

[請求項9] 請求項6～8のいずれか1項に記載の混合粉体又は粉体を含む、粉体培地。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2023/012814

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C12N 1/00(2006.01)i FI: C12N1/00 F		
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) C12N1/00		
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)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2010-150192 A (UHA MIKAKUTO CO., LTD.) 08 July 2010 (2010-07-08) paragraphs [0002], [0012]-[0022], [0024]-[0030]	1-8
Y	paragraphs [0002], [0012]-[0022], [0024]-[0030]	9
Y	WO 2020/091041 A1 (KYOWA KIRIN CO., LTD.) 07 May 2020 (2020-05-07) paragraphs [0003], [0017]-[0026], [0045]-[0047]	9
A	entire text	1-8
A	JP 2009-286755 A (NIPPON RIKAGAKU YAKUHHN KK) 10 December 2009 (2009-12-10) entire text	1-9
A	JP 58-188846 A (NIPPON RIKAGAKU YAKUHHN KK) 04 November 1983 (1983-11-04) entire text	1-9
A	JP 2010-105931 A (UHA MIKAKUTO CO., LTD.) 13 May 2010 (2010-05-13) entire text	1-9
A	JP 11-71398 A (SEIWAKASEI CO., LTD.) 16 March 1999 (1999-03-16) entire text	1-9
<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 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 01 June 2023		Date of mailing of the international search report 13 June 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
Information on patent family members

International application No. PCT/JP2023/012814

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP 2010-150192 A	08 July 2010	(Family: none)	
WO 2020/091041 A1	07 May 2020	US 2021/0403971 A1 paragraphs [0003], [0024]- [0034], [0052]-[0055] EP 3875595 A1	
JP 2009-286755 A	10 December 2009	(Family: none)	
JP 58-188846 A	04 November 1983	(Family: none)	
JP 2010-105931 A	13 May 2010	(Family: none)	
JP 11-71398 A	16 March 1999	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） C12N 1/00(2006.01)i FI: C12N1/00 F		
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）） C12N1/00		
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）		
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 2010-150192 A（ユーハ味覚糖株式会社）08.07.2010（2010 - 07 - 08） [0002], [0012]-[0022], [0024]-[0030]	1-8
Y	[0002], [0012]-[0022], [0024]-[0030]	9
Y	WO 2020/091041 A1（協和キリン株式会社）07.05.2020（2020 - 05 - 07） [0003], [0017]-[0026], [0045]-[0047]	9
A	全文	1-8
A	JP 2009-286755 A（日本理化学薬品株式会社）10.12.2009（2009 - 12 - 10） 全文	1-9
A	JP 58-188846 A（日本理化学薬品株式会社）04.11.1983（1983 - 11 - 04） 全文	1-9
A	JP 2010-105931 A（ユーハ味覚糖株式会社）13.05.2010（2010 - 05 - 13） 全文	1-9
A	JP 11-71398 A（株式会社成和化成）16.03.1999（1999 - 03 - 16） 全文	1-9
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> 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、一般的な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 01.06.2023	国際調査報告の発送日 13.06.2023	
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） 中村 俊之 4N 5576 電話番号 03-3581-1101 内線 3488	

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/JP2023/012814

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2010-150192 A	08.07.2010	(ファミリーなし)	
WO 2020/091041 A1	07.05.2020	US 2021/0403971 A1 [0003], [0024]-[0034], [0052]-[0055] EP 3875595 A1	
JP 2009-286755 A	10.12.2009	(ファミリーなし)	
JP 58-188846 A	04.11.1983	(ファミリーなし)	
JP 2010-105931 A	13.05.2010	(ファミリーなし)	
JP 11-71398 A	16.03.1999	(ファミリーなし)	