

(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
2021年1月28日(28.01.2021)



(10) 国際公開番号

WO 2021/015233 A1

- (51) 国際特許分類:
A23L 21/20 (2016.01) *A23L 33/18* (2016.01)
A23L 33/10 (2016.01) *C12N 9/99* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2020/028419
- (22) 国際出願日: 2020年7月22日(22.07.2020)
- (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 2019-135616 2019年7月23日(23.07.2019) JP
- (71) 出願人: 森川健康堂株式会社 (MORIKAWA KENKODO CO., LTD.) [JP/JP]; 〒8614616 熊本県上益城郡甲佐町田口2170番地 Kumamoto (JP).
- (72) 発明者: 永松 剛 (NAGAMATSU Katashi); 〒8614616 熊本県上益城郡甲佐町田口2170番地 森川健康堂株式会社内 Kumamoto (JP).
- (74) 代理人: 庄司 隆, 外 (SHOJI Takashi et al.); 〒5320011 大阪府大阪市淀川区西中島五丁目6番13号 御幸ビル307号 Osaka (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, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, 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, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, 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, 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: ROYAL JELLY HAVING ELASTASE-INHIBITING ACTION

(54) 発明の名称: エラスターゼ阻害作用を有するローヤルゼリー

(57) Abstract: The purpose of the present invention is to provide a novel technique by which royal jelly having elastase-inhibiting action can be obtained. The present inventors have conducted an intensive examination, and as a result, have found that royal jelly having elastase-inhibiting action can be obtained by causing a proteolytic enzyme derived from *Bacillus subtilis* to act on royal jelly, thereby completing the present invention.

(57) 要約: 本発明は、エラスターゼ阻害作用を有するローヤルゼリーを得ることのできる新しい技術を提供することにある。本発明者らは鋭意検討を行った結果、ローヤルゼリーにバチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素を作用させることにより、エラスターゼ阻害作用を有するローヤルゼリーを得ることができることを見出し、本発明を完成させるに至った。



WO 2021/015233 A1

明 細 書

発明の名称： エラスターゼ阻害作用を有するローヤルゼリー

技術分野

[0001] 本発明は、エラスターゼ阻害作用を有するローヤルゼリーを含有するローヤルゼリー食品組成物に関する。

背景技術

[0002] ローヤルゼリーとは、若い働き蜂の咽頭腺により分泌される乳白色したペースト状物質であり、その成分は必須アミノ酸をはじめとするアミノ酸が豊富に含まれ良質なタンパク質などから構成されている。さらに、ビタミン類、ミネラル類、炭水化物などの微量成分を含んでいる。例えばビタミン類ではビタミンB 1、ビタミンB 2、ビタミンB 6、ナイアシン、成長促進や老化防止に効果のあるパントテン酸、ビタミンA、ビタミンC、ビタミンEなどが挙げられる。ミネラル類ではカリウム、マグネシウム、カルシウム、銅、鉄、リンなどが挙げられる。炭水化物ではブドウ糖、果糖などが挙げられる。さらに、アセチルコリン様物質、有機酸（10-ヒドロキシデセン酸など）、脂肪、タンパク質性の抗菌物質であるロイアリシンなどが含まれている。

[0003] このようにローヤルゼリーは様々な栄養成分を含んでおり、例えば、抗菌作用、免疫増強作用、抗炎症作用、老化防止作用、更年期障害の予防・治療作用、抗がん作用など数多くの効果が知られている。

[0004] エラスチンは、生体内において、皮膚の真皮などに分布している。エラスチンは、組織に弾力性を与える役割を担っており、皮膚では、弾力又はハリなどを保つのに大きな働きをしている。

エラスチンは、加齢、紫外線、活性酸素、又はストレスなどにより徐々にその量が減少することが知られている。皮膚では、エラスチン減少によって皮膚の弾力性が徐々に失われ、シワ又はたるみが生じ、老化の大きな一因となることが明らかになっている。

エラスチンを分解して減少させるエラスターゼのうち、皮膚の真皮マトリックスに存在するエラスチンの分解に関与するエラスターゼとしては、線維芽細胞由来のエラスターゼが知られており、皮膚の弾力性維持にかかわる弾性繊維を構成するエラスチンを分解することが知られている。従って、その活性を阻害することにより高い抗シワ効果が得られることが期待される。

[0005] エラスターゼ阻害剤として、例えば、ザクロ (*Punica granatum*) の花の抽出物 (特許文献1) や、ユキノシタ (*Saxifrage stolonifera* Meerburg) の抽出物 (特許文献2) を有効成分とすることを特徴とするエラスターゼ阻害剤が開示されている。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：特開2011-063563号公報

特許文献2：特開平11-246386号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 本発明は、特にエラスターゼ阻害作用を有するローヤルゼリーを得ることのできる新しい技術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

[0008] 本発明者らは鋭意検討を行った結果、ローヤルゼリーにバチルス サブチリス (*Bacillus subtilis*) 由来のタンパク質分解酵素を作用させることにより、前記課題が解決できることを見出し、本発明を完成させるに至った。

[0009] すなわち本発明は、
バチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素を作用させる工程により得られた酵素処理ローヤルゼリーを有効成分とするエラスターゼ阻害用食品組成物、からなる。

発明の効果

[0010] 本発明によるとより安全で簡便な方法によりエラスターゼ阻害作用を有するローヤルゼリーを製造することができ、このエラスターゼ阻害作用を有するローヤルゼリー組成物を提供することができる。

発明を実施するための形態

[0011] 本発明において、エラスターゼ阻害作用を有するローヤルゼリーは、バチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素をローヤルゼリーに作用させることにより製造される。

[0012] ローヤルゼリーの出産国は例えば日本、中国、台湾、タイ、ブラジル、ヨーロッパ諸国、オセアニア諸国、アメリカなどを挙げることができ、いずれの出産国のローヤルゼリーを用いてもよい。また、複数の出産国のローヤルゼリーを適宜混合して用いてもよい。ローヤルゼリーは液体であることが好ましく、凍結乾燥状態のローヤルゼリーを用いる場合は精製水、水道水または適当な緩衝液などで溶解して用いることができる。また、凍結状態のローヤルゼリーは融解して用いることができる。

[0013] さらに、ローヤルゼリーは加熱、遠心分離、アルコール抽出、ろ過、フリーズドライまたは熱風乾燥などの加工並びに各種栄養素などが添加されたものであってもよい。

[0014] ローヤルゼリーに作用させる、バチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素はバチルス サブチリスを培養することにより得られ、培養液、精製品であってもよい。また、バチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素は遺伝子組換えにより得られたものであってもよく、さらに、例えば糖やポリエチレングリコールなどで修飾されたものであってもよい。

[0015] バチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素と混合した後のローヤルゼリーの固形分濃度は、0.1～30W/W%を挙げることができ、好ましくは3～10W/W%を挙げるができる。ここで、例えば10W/W%は、100gのローヤルゼリーを凍結乾燥などにより乾燥させたとき10gの乾燥品が得られることを意味している。

[0016] バチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素によるローヤルゼリーの

処理条件、例えば処理時間、pH、および温度などの条件は、目的とするエラストーゼ阻害物質が産生される条件であれば特に限定されず、ローヤルゼリーの安定性およびバチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素の安定性や反応性などを考慮して適宜設定することが可能である。

[0017] バチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素をローヤルゼリーに作用させる時間は、目的とするエラストーゼ阻害物質が産生される時間であれば特に限定されないが、数時間～1日間、好ましくは3時間～10時間が好ましい。長時間の反応でもエラストーゼ阻害物質の産生にはほとんど影響がなかった。

[0018] バチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素をローヤルゼリーに作用させる際のpHは、目的とするエラストーゼ阻害物質が産生されるpHであれば特に限定されないが、pH3～11、好ましくはpH5～11が適当である。

[0019] バチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素をローヤルゼリーに作用させる際の温度は、目的とするエラストーゼ阻害物質が産生される温度であれば特に限定されないが、30℃～80℃、好ましくは40℃～60℃が適当である。

[0020] バチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素をローヤルゼリーに反応させている間は静置であってもよくさらに、振とうや攪拌などを行ってもよい。

[0021] バチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素のほかにもタンパク質分解酵素を作用させてよく、微生物由来、動物由来または植物由来のものが例示される。微生物由来のタンパク質分解酵素は微生物培養することにより得られ、植物または動物由来のタンパク質分解酵素は植物または動物の臓器をホモジネートすることにより得られる。これらタンパク質分解酵素はさらに精製を行ったものを用いてもよく、またポリエチレングリコールなどで修飾されたものであってもよい。さらに、2種類以上のタンパク質分解酵素を組み合わせて用いても良い。

- [0022] 本発明に係るエラスターゼ阻害作用を有するローヤルゼリーの製造においては、一般に、バチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素によるローヤルゼリーの処理の後に、酵素を失活させる工程を含む。酵素を失活させる方法は、食品として問題がない程度にバチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素を失活させればよい。失活の方法としては、加熱により失活する方法、薬剤を用いて失活する方法、ろ過によりバチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素を除く方法を例示でき、これら方法を単独で用いてもよいし、二種類以上を組み合わせてもよい。好ましくは、加熱によりバチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素を失活させる。加熱温度は60℃以上、好ましくは80℃以上で加熱することが適当である。さらに、食品の殺菌工程が必要な場合は、バチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素を失活させる工程と兼ねてもよい。
- [0023] さらにバチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素をローヤルゼリーに作用させる際にバチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素の安定化剤や反応促進剤などを添加してもよい。
- [0024] バチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素を作用させることにより製造されるローヤルゼリーは、エラスターゼ阻害作用を有するローヤルゼリーである。
- [0025] 本発明に係るエラスターゼ阻害作用を有するローヤルゼリーを各種クロマトグラフィーを用いて処理することにより、エラスターゼ阻害物質を精製してもよい。精製方法としてはゲルろ過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、疎水クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、順相クロマトグラフィー、限外ろ過、電気泳動などを挙げることができる。これらは単独で若しくは組み合わせで精製に使用できる。
- [0026] ゲルろ過クロマトグラフィーは、種々な分子量のタンパク質を分離できるゲルろ過クロマトグラフィー用の担体があり、分子量が約1万以下のタンパク質を分離できるゲルろ過クロマトグラフィー用の担体が好ましい。イオン

交換クロマトグラフィーに用いられているイオン交換基としては、陰イオン交換体、陽イオン交換体などがある。陰イオン交換体としては、ジエチルアミノエチル基（D E A E 基）、四級アミノエチル基（Q A E 基）などを例示することができる。また、陽イオン交換体としては、カルボキシメチル基（C M 基）、スルホプロピル基（S P 基）を例示することができる。疎水クロマトグラフィーに用いられる担体としてはブチル基（B u t y l 基）、エチル基（E t h y l 基）、フェニル基（P h e n y l 基）が結合した担体を例示することができる。逆相クロマトグラフィーに用いられる担体としてはオクタデシル基（C 1 8）、オクタデシル基とはアルキル基の長さが異なるC 3 0、C 8、C 4 などが結合した担体が例示される。順相クロマトグラフィーに用いられる担体としてはシリカゲルのほか、シアノプロピル基、ジオール構造を有する官能基、アミノプロピル基、ポリアミンなどが結合した担体が例示される。

[0027] 本発明に係るエラスターゼ阻害作用を有するローヤルゼリーまたはその精製品に各種成分を添加することによりローヤルゼリー組成物として供することができる。各種成分としては、例えば食品、糖、脂質、乳化剤、増粘剤、調味料、香料、酸味調整剤、保存料、果汁、香料、各種栄養成分などが挙げられ、本発明の効果を損なわない範囲で使用することができる。また、各種成分は単独で用いてもよいし、二種以上を混合して用いてもよい。例えば糖としては、蔗糖、異性化糖、グルコース、フラクトース、パラチノース、トレハロース、ラクトース、キシロースなどを例示することができる。乳化剤としては、蔗糖脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル、レシチンなどを例示することができる。増粘剤としてはカラギーナン、アラビアガム、キサンタンガム、グァーガム、ペクチン、ローカストビーンガム増粘剤澱粉、ジェランガムなどを例示することができる。酸味調整剤としては、クエン酸、乳酸、リンゴ酸、フマル酸、グルコン酸、酒石酸などを例示することができる。保存料としては、安息香酸およびその塩、ソルビン酸およびその塩、パラベン、亜硫酸ナトリウム、ペクチン分解物、グリシンなどを例示するこ

とができる。果汁としては、トマト果汁、梅果汁、リンゴ果汁、レモン果汁、オレンジ果汁、ベリー系果汁などを例示することができる。香料としては、ハーブ、スパイスなどの香辛料、フルーツ系香料、バニラなどの香料などを例示することができる。この他、好ましい他の栄養成分として、ビタミンDなどのビタミン類やカルシウム、マグネシウム、鉄、マンガン、亜鉛などのミネラル類などが挙げられる。

[0028] 本発明に係るローヤルゼリー組成物は、食品として供することもできる。そのような食品の具体的形態としては、例えば、飲料類、菓子、キャンディ、ガム、パン、畜肉製品、乳製品、レトルト食品、即席食品、冷凍食品、ゼリー状食品、養蜂産品、漬物、調味料などを挙げることができる。これらの食品は、いわゆる健康食品、機能性食品、特定保健用食品、栄養機能食品、栄養補助食品、サプリメントなどとしても有用である。また、それらの食品としての形状としては、顆粒、粉末、タブレット、カプセル、チュアブル、ドリンク、ゼリー、ペースト、粒などを挙げることができる。

[0029] また、本発明に係るエラスターゼ阻害作用を有するローヤルゼリー、好ましくはその精製品は、必要に応じて医薬用に許容される担体（医薬用担体）を含む医薬組成物として製造できる。このような医薬組成物は血糖降下剤として利用することができる。医薬用担体は、製剤の使用形態に応じて通常使用される、充填剤、増量剤、結合剤、付湿剤、崩壊剤、滑沢剤、希釈剤および賦形剤を例示できる。これらは得られる製剤の投与形態に応じて適宜選択して使用される。より具体的には、水、医薬的に許容される有機溶剤、コラーゲン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシビニルポリマー、アルギン酸ナトリウム、水溶性デキストラン、カルボキシメチルスターチナトリウム、ペクチン、キサンタンガム、アラビアゴム、カゼイン、ゼラチン、寒天、グリセリン、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ワセリン、パラフィン、ステアリルアルコール、ステアリン酸、ヒト血清アルブミン、マンニトール、ソルビトール、ラクトースを例示できる。これらは、目的とする薬剤の剤形に応じて適宜1種類または2種類以上

を組み合わせ使用される。そのほか、安定化剤、殺菌剤、緩衝剤、等張化剤、キレート剤、界面活性剤、およびpH調整剤などを適宜使用することもできる。安定化剤は、例えばヒト血清アルブミンや通常のL-アミノ酸、糖類、セルロース誘導体を例示できる。L-アミノ酸は、特に限定はなく、例えばグリシン、システイン、グルタミン酸などのいずれでもよい。糖類も特に限定はなく、例えばグルコース、マンノース、ガラクトース、果糖などの単糖類、マンニトール、イノシトール、キシリトールなどの糖アルコール、ショ糖、マルトース、乳糖などの二糖類、デキストラン、ヒドロキシプロピルスターチ、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸などの多糖類などおよびそれらの誘導体などのいずれでもよい。セルロース誘導体も特に限定はなく、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウムなどのいずれでもよい。界面活性剤も特に限定はなく、イオン性界面活性剤および非イオン性界面活性剤のいずれも使用できる。界面活性剤には、例えばポリオキシエチレングリコールソルビタンアルキルエステル系、ポリオキシエチレンアルキルエーテル系、ソルビタンモノアシルエステル系、脂肪酸グリセリド系などが包含される。緩衝剤は、ホウ酸、リン酸、酢酸、クエン酸、 ϵ -アミノカプロン酸、グルタミン酸および／またはそれらに対応する塩（例えばそれらのナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ金属塩やアルカリ土類金属塩）を例示できる。等張化剤は、塩化ナトリウム、塩化カリウム、糖類、グリセリンを例示できる。キレート剤は、例えばエデト酸ナトリウム、クエン酸を例示できる。

[0030] 本発明に係るエラスターゼ阻害作用を有するローヤルゼリーは、皮膚の弾力性維持にかかわる弾性繊維を構成するエラスチンを分解する活性を阻害することにより高い抗シワ効果が得られることが期待される。

[0031] 以下、本発明の実施例について説明するが、本発明はこれら実施例に何ら限定されるものではない。

実施例 1

[0032] 生ローヤルゼリー 100 g を水に懸濁し、2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を用いて pH を 7.0 に調整し、1 L にして、生ローヤルゼリー溶液を調製した。この溶液にバチルス サブチリス 由来のタンパク質分解酵素を 1 g 添加し、45℃ で 6 時間酵素処理を行った。次に 80℃ で 10 分間加熱することにより酵素を失活させ、さらにろ過を行って不溶性残渣を除き、酵素処理ローヤルゼリー溶液を得た。

実施例 2

[0033] 実施例 1 で得られた酵素処理ローヤルゼリー溶液および生ローヤルゼリー溶液について、以下に記載の方法に従い、エラスターゼ阻害活性の検討を行った。

(1) エラスターゼ粗酵素溶液の取得

以下のようにして、ヒト線維芽細胞由来のエラスターゼ活性阻害率を試験した。

細胞は正常ヒト成人由来皮膚繊維芽細胞 (NHDF ; クラボウ社) を用いた。また、増殖培地はクラボウ社の FibroLife S2 Comp kit を用いて取扱い説明書に従い調製した。

T-75 フラスコ (エッペンドルフ社 TC 処理) に 2,500 cells/cm² の密度で播種し、37℃、5% CO₂ インキュベーター内で 24 時間培養し、増殖培地の交換を行った。その後、40% コンフルエンスになるまでは 1 日おきに増殖培地を交換し、40% コンフルエンスを超えたら増殖培地を毎日交換して、フルコンフルエンスになるまでは培養を行い、さらに 1~3 日間培養を行った。培養後、上清を除去した後、PBS(-) で細胞を洗浄後、0.5% TritonX-100 水溶液を添加し、細胞を溶解してエラスターゼ粗酵素液と得た。なお、Phenylmethanesulfonyl fluoride、1,10-Phenanthroline monohydrate の阻害剤の検討より、本エラスターゼ粗酵素液はメタルタイプであることが確認された。

(2) エラスターゼ阻害活性の測定

エラスターゼ阻害活性の測定は、125 μL の 0.1 M トリス塩酸緩衝液 (pH 8.0

）に25 μ Lの被検物質、50 μ Lの基質、50 μ Lのエラスターゼ粗酵素液を添加し、37 $^{\circ}$ Cで反応を行いエラスターゼによる加水分解で生成したp-ニトロアニリンを405nmの吸光度を測定することにより行った。行った。なお、基質は0.1M トリス塩酸緩衝液（pH8.0）に1.5mMになるように合成基質スクシニルアラニルアラニルアラニル-p-ニトロアニリド（ペプチド研究所製）を溶解させて調製した。

エラスターゼ阻害率は以下のように算出した。被験物質の代わりに0.1M トリス塩酸緩衝液（pH8.0）を添加したときの吸光度の値をCA、被験物質の代わりに0.1M トリス塩酸緩衝液（pH8.0）を添加し基質の代わりに0.1M トリス塩酸緩衝液（pH8.0）を添加したときの吸光度をCBとした。さらに、被験物質添加時の吸光度の値をSA、被験物質を添加し基質の代わりに0.1M トリス塩酸緩衝液（pH8.0）を添加したときの吸光度をSBとして、下式からエラスターゼ阻害率を算出した。

$$\text{繊維芽細胞由来エラスターゼ阻害率(\%)} = (1 - (S/C)) \times 100$$

$$S = SA - SB$$

$$C = CA - CB$$

その結果、表1に示すように、酵素処理ローヤルゼリー溶液は生ローヤルゼリー溶液と比較して、エラスターゼ阻害活性が高いことが明らかになった。

[0034] [表1]

エラスターゼ阻害率(%)	
酵素処理ローヤルゼリー溶液	73
生ローヤルゼリー溶液	5

[0035] このように、バチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素をローヤルゼリーに作用させることにより、エラスターゼ阻害活性が高いローヤルゼリーを製造できることが判明した。

産業上の利用可能性

[0036] 本発明により製造されるエラスターゼ阻害作用を有するローヤルゼリーを

含むローヤルゼリー組成物は飲食物などに好適に使用することができ、特に美容食品などに好適に使用することができる。

請求の範囲

- [請求項1] バチルス サブチリス由来のタンパク質分解酵素を作用させる工程により得られた酵素処理ローヤルゼリーを有効成分とするエラストーゼ阻害用食品組成物。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2020/028419

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl. A23L21/20 (2016.01) i, A23L33/10 (2016.01) i, A23L33/18 (2016.01) i, C12N9/99 (2006.01) i

FI: A23L33/10, A23L21/20, A23L33/18, C12N9/99

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)

Int. Cl. A23L21/20, A23L33/10, A23L33/18, C12N9/99

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 1971-2020

Registered utility model specifications of Japan 1996-2020

Published registered utility model applications of Japan 1994-2020

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII);

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN); FSTA (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2014-183842 A (MORIKAWA KENKODO KK) 02 October 2014, claims, paragraph [0029], example 1	1
X	JP 2014-124163 A (MORIKAWA KENKODO KK) 07 July 2014, claims, paragraph [0036], example 1	1
X	JP 2006-061038 A (API CO., LTD.) 09 March 2006, claims, example 1	1
X	JP 6450882 B1 (API CO., LTD.) 09 January 2019, claims	1
X	JP 2013-201996 A (TAIHO KK) 07 October 2013, claims, example 1	1

☒ 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
04.09.2020

Date of mailing of the international search report
24.09.2020

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2020/028419

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2006-273857 A (ACCESS BUSINESS GROUP INTERNATL LLC) 12 October 2006, example 4, fig. 5	1
A	JP 2007-204418 A (YAMADA BEE FARM CORP.) 16 August 2007, paragraph [0009]	1
A	プロポリス・ローヤルゼリーの最新市場動向. 食品と開発. 2009, vol. 44, no. 12, pp. 61-62, p. 62, center column, paragraph beginning "Morikawakenkodo..." (Trends in the market for propolis, royal jelly. Food Processing and Ingredients.)	1
P, X	WO 2019/221078 A1 (YAMADA BEE FARM CORP.) 21 November 2019, paragraph [0054]	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2020/028419

Patent Documents referred to in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
JP 2014-183842 A	02.10.2014	(Family: none)	
JP 2014-124163 A	07.07.2014	(Family: none)	
JP 2006-061038 A	09.03.2006	(Family: none)	
JP 6450882 B1	09.01.2019	(Family: none)	
JP 2013-201996 A	07.10.2013	(Family: none)	
JP 2006-273857 A	12.10.2006	US 2006/0198810 A1 example 4, fig. 5	
JP 2007-204418 A	16.08.2007	(Family: none)	
WO 2019/221078 A1	21.11.2019	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A23L 21/20(2016.01)i; A23L 33/10(2016.01)i; A23L 33/18(2016.01)i; C12N 9/99(2006.01)i FI: A23L33/10; A23L21/20; A23L33/18; C12N9/99														
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）） A23L21/20; A23L33/10; A23L33/18; C12N9/99														
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 <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2020年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2020年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2020年</td> </tr> </table>			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2020年	日本国実用新案登録公報	1996-2020年	日本国登録実用新案公報	1994-2020年				
日本国実用新案公報	1922-1996年													
日本国公開実用新案公報	1971-2020年													
日本国実用新案登録公報	1996-2020年													
日本国登録実用新案公報	1994-2020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） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN); FSTA (STN)														
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 2014-183842 A (森川健康堂株式会社) 02.10.2014 (2014 - 10 - 02) 特許請求の範囲, [0029], 実施例 1	1												
X	JP 2014-124163 A (森川健康堂株式会社) 07.07.2014 (2014 - 07 - 07) 特許請求の範囲, [0036], 実施例 1	1												
X	JP 2006-061038 A (アビ株式会社) 09.03.2006 (2006 - 03 - 09) 特許請求の範囲, 実施例 1	1												
X	JP 6450882 B1 (アビ株式会社) 09.01.2019 (2019 - 01 - 09) 特許請求の範囲	1												
X	JP 2013-201996 A (太邦株式会社) 07.10.2013 (2013 - 10 - 07) 特許請求の範囲, 実施例 1	1												
A	JP 2006-273857 A (アクセス ビジネス グループ インターナショナル エルエル シー) 12.10.2006 (2006 - 10 - 12) 実施例 4, 図 5	1												
A	JP 2007-204418 A (株式会社山田養蜂場本社) 16.08.2007 (2007 - 08 - 16) [0009]	1												
☒ 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。														
<table border="0"> <tr> <td>* 引用文献のカテゴリー</td> <td>"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</td> </tr> <tr> <td>"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</td> <td>"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</td> </tr> <tr> <td>"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</td> <td>"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</td> </tr> <tr> <td>"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）</td> <td>"&" 同一パテントファミリー文献</td> </tr> <tr> <td>"O" 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</td> <td></td> </tr> <tr> <td>"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</td> <td></td> </tr> </table>			* 引用文献のカテゴリー	"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	"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	"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	"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	"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	"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）	"&" 同一パテントファミリー文献	"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	
* 引用文献のカテゴリー	"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													
"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	"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													
"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	"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													
"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）	"&" 同一パテントファミリー文献													
"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														
国際調査を完了した日 04.09.2020		国際調査報告の発送日 24.09.2020												
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） 福岡 信子 40 3539 電話番号 03-3581-1101 内線 3461												

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
A	プロボリス・ローヤルゼリーの最新市場動向，食品と開発，2009，vol.44，no.12， p.61-62 p.62中央欄「森川健康堂は・・・」の項	1
P, X	W0 2019/221078 A1（株式会社山田養蜂場本社）21.11.2019（2019 - 11 - 21） [0054]	1

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/JP2020/028419

引用文献			公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP	2014-183842	A	02.10.2014	(ファミリーなし)	
JP	2014-124163	A	07.07.2014	(ファミリーなし)	
JP	2006-061038	A	09.03.2006	(ファミリーなし)	
JP	6450882	B1	09.01.2019	(ファミリーなし)	
JP	2013-201996	A	07.10.2013	(ファミリーなし)	
JP	2006-273857	A	12.10.2006	US 2006/0198810 A1 Example 4, Fig. 5	
JP	2007-204418	A	16.08.2007	(ファミリーなし)	
WO	2019/221078	A1	21.11.2019	(ファミリーなし)	