



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202128981 A

(43)公開日：中華民國 110 (2021) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：109132754

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 09 月 22 日

(51)Int. Cl.：

*C12N1/16 (2006.01)**C12P21/02 (2006.01)**A61K38/06 (2006.01)**A61P37/00 (2006.01)**A61P39/02 (2006.01)**A61K8/64 (2006.01)**A23L33/18 (2016.01)**A23K20/147 (2016.01)*

(30)優先權：2019/10/29 南韓

10-2019-0135659

(71)申請人：南韓商 C J 第一製糖股份有限公司 (南韓) CJ CHEILJEDANG CORPORATION

(KR)

南韓

(72)發明人：河哲雄 HA, CHEOL WOONG (KR)；梁殷彬 YANG, EUN BIN (KR)；金孝珍 KIM, HYO JIN (KR)；金亨俊 KIM, HYUNG JOON (KR)；林榮恩 IM, YEONG EUN (KR)

(74)代理人：陳昭明

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：15 項 圖式數：3 共 45 頁

(54)名稱

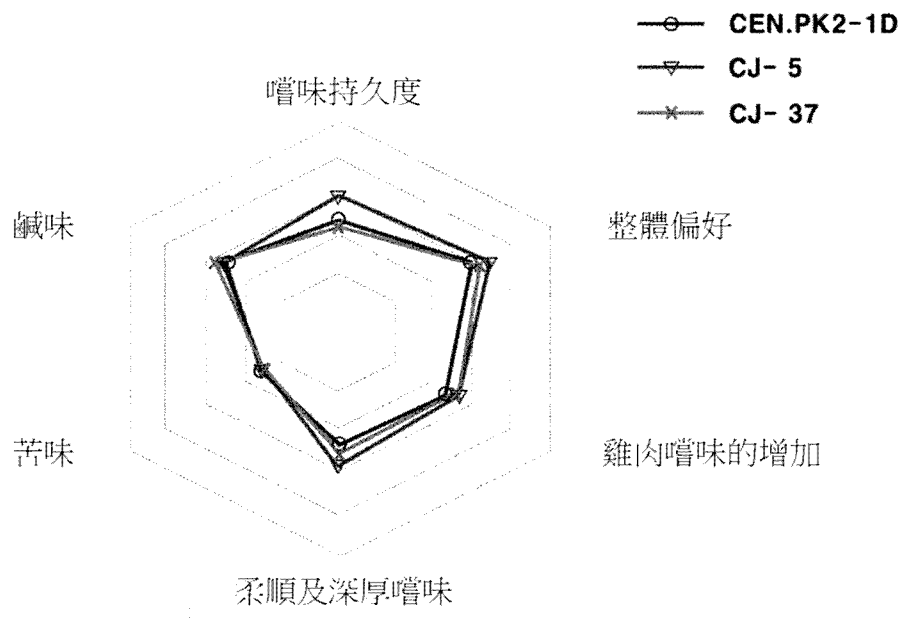
產生麩胱甘肽之酵母菌株及使用其生產麩胱甘肽的方法

(57)摘要

本發明提供一種產生麩胱甘肽之新穎酵母菌株及使用其生產麩胱甘肽的方法。

Provided are a novel yeast strain producing glutathione and a method of producing glutathione using the same.

指定代表圖：



【圖1】



202128981

【發明摘要】

【中文發明名稱】 產生麩胱甘肽之酵母菌株及使用其生產麩胱甘肽的方法

【英文發明名稱】 YEAST STRAIN PRODUCING GLUTATHIONE AND
METHOD OF PRODUCING GLUTATHIONE USING THE SAME

【中文】

本發明提供一種產生麩胱甘肽之新穎酵母菌株及使用其生產麩胱甘肽的方法。

【英文】

Provided are a novel yeast strain producing glutathione and a method of producing glutathione using the same.

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】

(無)

【特徵化學式】

(無)

【發明說明書】

【中文發明名稱】 產生麩胱甘肽之酵母菌株及使用其生產麩胱甘肽的方法

【英文發明名稱】 YEAST STRAIN PRODUCING GLUTATHIONE AND
METHOD OF PRODUCING GLUTATHIONE USING THE SAME

【技術領域】

【0001】 本發明係有關於一種產生麩胱甘肽(Glutathione)之新穎酵母菌株及使用其生產麩胱甘肽的方法。

【先前技術】

【0002】 麩胱甘肽(GSH)為一種最常出現於細胞中的有機硫化合物，且其是以三肽(tripeptide)的形式存在，其中甘胺酸、麩胺酸及半胱胺酸三個胺基酸彼此鍵結。

【0003】 在體內，麩胱甘肽以兩種形式存在：還原麩胱甘肽(reduced glutathione，GSH)及氧化麩胱甘肽(oxidized glutathione，GSSG)。還原麩胱甘肽在一般情況下是以較高百分比存在，其主要分散在人體的肝臟及皮膚細胞中且具有諸如分解並移除氧自由基的抗氧化功能、移除諸如有毒物質等外來化合物(extrinsic compounds)的解毒功能、抑制黑色素等產生的美白功能等的重要角色。

【0004】 由於麩胱甘肽的產生隨著年齡而遞減，對於抗氧化及解毒功能扮演重要角色之麩胱甘肽之產生的減少促進氧自由基的累積，而氧自由基是導致老化的一個主要因素，因此，有需要麩胱甘肽的外來補充(Sipes IG *et al.*, 麩胱

甘肽在異生物質之毒性的角色：藉由麩胱甘肽之1,2-二溴乙烷的代謝活化（The role of glutathione in the toxicity of xenobiotic compounds: metabolic activation of 1,2-dibromoethane by glutathione），*Adv Exp Med Biol.* 1986; 197: 457–67.）。

【0005】由於具有這些各種功能，麩胱甘肽已在作為諸如製藥、保健機能食品、化妝品等各種領域的材料上吸引諸多注意，且也用於製備調味料（flavoring ingredients）、食物及飼料添加劑中。已知的是麩胱甘肽對於增加原料的調味及維持濃厚風味（rich flavor）上有顯著的效果，且藉由單獨使用或與其他物質組合使用，麩胱甘肽可被使用作為濃厚風味（kokumi flavor）增強劑。通常，濃厚風味物質相較於諸如核酸(nucleic acids)、MSG等現有的鮮味（umami）物質具有更濃厚的風味（richer flavor），且已知能藉由分解及老化（aging）蛋白質而產生。

【0006】然而，儘管對於如上所述可使用在各種領域中之麩胱甘肽的需求增加，由於麩胱甘肽之工業生產需要可觀的成本，該市場仍未顯著地被活化。

【0007】經進行大量努力以解決上述問題，結果，本發明的發明人等已研發具有絕佳麩胱甘肽產生能力的一新穎菌株，藉此完成本發明。

【發明內容】

【0008】本發明的一個目的為提供產生麩胱甘肽的一新穎啤酒酵母菌（*Saccharomyces cerevisiae*）菌株。

【0009】本發明的另一個目的為提供製備麩胱甘肽的方法，該方法包括培養該菌株的步驟。

【0010】 本發明的再一目的為提供製備包括麩胱甘肽的組成物的方法，該方法包括下列步驟：培養該菌株；以及將一添加劑與選自於經培養之該菌株、該菌株的一乾燥產物、該菌株的一萃取物、該菌株的一培養物、該菌株的一溶解產物以及由其等所收集的麩胱甘肽的一或多者混合。

【0011】 本發明的再一目的為提供用於抗氧化功能、解毒、免疫增強、化妝品、食物，或飼料的組成物，該組成物包括選自於該菌株；該菌株的一乾燥產物、一萃取物、一培養物及一溶解產物；以及由該菌株、該乾燥產物、該萃取物、該培養物及該溶解產物之任一或多者所收集的麩胱甘肽的一或多者。

【0012】 本發明的再一目的為提供用以製備用於預防或治療由缺乏麩胱甘肽所致的疾病的一醫藥產物的一組成物，或用於預防或治療由缺乏麩胱甘肽所致的疾病的一藥學組成物，該組成物包括選自於該菌株、該菌株的一乾燥產物、一萃取物、一培養物及一溶解產物；以及由該菌株、該乾燥產物、該萃取物、該培養物及該溶解產物之任一或多者所收集的麩胱甘肽的一或多者。

本發明的有益功效

【0013】 相較於現有的產生麩胱甘肽之菌株，本發明的菌株可產生顯著大量的麩胱甘肽。因此，本發明的菌株可有效地使用於麩胱甘肽的製備。

【0014】 另外，包括選自於本發明之菌株；該菌株的一乾燥產物、一萃取物、一培養物及一溶解產物；以及由該菌株、乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物之任一或多者所收集的麩胱甘肽之一或多者的組成物具有絕佳氧自由基清除能力（scavenging capacity），且因此該組成物可被有效地使用作為一用於抗氧化功能、解毒，或免疫增強的組成物。

【0015】 因此，該組成物亦可有效地使用作為化妝品組成物、醫藥組成物及其製品（preparation）。

【0016】 另外，當該組成物使用於食物中，其優化上述功能及調味特性，且因此，該組成物可被有效地應用於食物組成物及飼料組成物的製備。

【圖式簡單說明】

【0017】 圖1顯示食物組成物的感官評估結果，分別包括啤酒酵母菌CEN.PK2-1D、CJ-5或CJ-37菌株的萃取物；

【0018】 圖2顯示確認啤酒酵母菌CEN.PK2-1D、CJ-5及CJ-37菌株的萃取物的自由基清除能力的結果。

【0019】 圖3顯示確認啤酒酵母菌CEN.PK2-1D、CJ-5及CJ-37菌株的氧自由基吸收能力的結果。

【實施方式】

【0020】 本發明將於以下內容中被詳細敘述。同時，揭示於本揭露內容中的各說明內容及實施例亦可被應用於其他說明內容及實施例。即，本揭露內容中所揭示的各種元件（element）的所有組合落於本發明的範圍內。另外，本發明的範圍並不受限於下述特定說明。

【0021】 另外，所屬技術領域具有通常知識者將能夠理解，或是能夠在不使用多於例行實驗的情形下確認此處所述之本發明的特定實施例之許多等效內容（equivalents）。再者，這些等效內容應被解讀為落於本發明內。

【0022】 本發明的一個態樣可提供一種產生麩胱甘肽的新穎啤酒酵母菌 (*Saccharomyces cerevisiae*) 菌株。

【0023】 本發明之產生麩胱甘肽的菌株可為具有寄存編號KCCM12568P 的啤酒酵母菌CJ-5菌株。

【0024】 本發明之產生麩胱甘肽的菌株可包括具有與屬於相同屬之相同種的一不同的啤酒酵母菌菌株，具體而言，啤酒酵母菌YJM1592 (SEQ ID NO: 3) 之一啤酒酵母菌菌株之一18S (ITS, 5.8S) rRNA序列有90%或更高，具體而言91%、92%、93%、93.2%或更高、93.5%或更高，或93.7%或更高的同源性 (homology) 或相等性 (identity) 的一18S (ITS, 5.8S) rRNA序列，但該菌株並不限於此。更具體而言，本發明之產生麩胱甘肽的菌株可包括具有與YJM1592之該18S (ITS, 5.8S) rRNA序列有90%或更高，具體而言91%或更高、92%或更高、93%或更高、93.2%或更高、93.5%或更高，或93.7%或更高的同源性或相等性，以及少於96%、少於95.5%，或少於95.2%的相等性的一18S (ITS, 5.8S) rRNA序列，但該菌株並不限於此。該18S (ITS, 5.8S) rRNA序列為存在於18S及5.8S rRNA之間的一內轉錄間隔區 (internal transcribed spacer, ITS) 序列，且為用於種等級分類 (species-level classification) 的序列。

【0025】 本發明之產生麩胱甘肽的菌株可具有一SEQ ID NO: 1之18S (ITS, 5.8S) rRNA序列。根據一個例示性實施例，該菌株的該18S (ITS, 5.8S) rRNA序列可與SEQ ID NO: 1有90%或更高，具體而言，95%或更高、96%或更高、97%或更高、98%或更高，或99%或更高的同源性或相等性，但該菌株的該18S (ITS, 5.8S) rRNA序列並不限於此。

【0026】如此處所使用的，該等用語「同源性」或「相等性」代表兩個給定的胺基酸序列或核苷酸序列之間的匹配程度（degree of matching），且可以百分比表示。該等用語「同源性」及「相等性」通常可彼此互換而使用。

【0027】一保留多核苷酸或多肽（conserved polynucleotide or polypeptide）的序列同源性或相等性可藉由標準對位演算法（standard alignment algorithm）所決定，且藉由所使用之程式而建立的預設空位罰分（default gap penalties）也可被一同使用。事實上，同源或相等序列可在中度或高度嚴密條件（moderately or highly stringent conditions）下雜交（hybridize），俾使該序列的全長或是該序列全長的至少約50%、60%、70%、80%或90%可進行雜交。額外被考量（contemplated）的是在該雜交中包括取代密碼子之簡併密碼子的多核苷酸。

【0028】任何兩個多核苷酸或多肽序列是否具有同源性、相似性或相等性可使用諸如「FASTA」程式之已知電腦演算法，運用由例如Pearson等人(1988)（*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 2444）中所述之預設參數而決定，或使用尼德曼-翁施（Needleman-Wunsch）演算法（Needleman and Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48: 443–453），如該ENBOSS軟體組合之尼德曼程式中所實施者而決定（EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice *et al.*, 2000, *Trends Genet.* 16: 276–277）（5.0.0版或更新的版本）（包括GCG程式軟體組合（Devereux, J. *et al.*, *Nucleic Acids Research* 12: 387 (1984)）、BLASTP、BLASTN、FASTA（Atschul, S. F. *et al.*, *J. Mol. Biol.* 215: 403 (1990)；Guide to Huge Computers, Martin J. Bishop, ed., Academic Press, San Diego, 1994, and Carillo *et al.* (1988) *SIAM J. Applied Math* 48: 1073））。舉例而言，國家生物技術資訊中心（National Center

for Biotechnology Information database) 的BLAST或ClustalW可被用於決定同源性、相似性，或相等性。

【0029】 多核苷酸或多肽之同源性、相似性或相等性可以，例如，藉由使用一GAP電腦程式諸如揭示於Smith and Waterman, *Adv. Appl. Math* (1981) 2: 482中之Needleman *et al.* (1970), *J. Mol. Biol.* 48: 44比對序列資訊而決定。簡而言之，該GAP程式將相似性界定為相似的經對齊 (aligned) 之符號 (亦即核苷酸或胺基酸) 的數量除以該等兩個序列中較短之一者的符號之總數。該GAP程式的預設參數可包括：(1)二進位比較矩陣 (包含表示相同的數值1及表示不同的數值0)，以及揭露於Schwartz and Dayhoff, eds., *Atlas Of Protein Sequence And Structure*, National Biomedical Research Foundation, pp. 353–358 (1979)中的Gribskov *et al.* (1986) *Nucl. Acids Res.* 14: 6745之加權比較矩陣 (或EDNAFULL (NCBI NUC4.4之EMBOSS版本) 取代矩陣)；(2)對各空位 (gap) 為3.0的罰分 (penalty) 以及各空位中每個符號額外0.10的罰分 (或為10的空位開放罰分 (gap open penalty)，為0.5的空位延伸罰分 (gap extension penalty))；以及(3)對於終端空位無罰分。

【0030】 另外，任何兩個多核苷酸或多肽序列是否具有同源性、相似性或相等性可藉由以南方雜交實驗 (Southern hybridization experiment) 於經定義的嚴密條件下比較序列而決定，且經界定之適當的雜交條件可在本技術領域的範圍內且可由所屬技術領域具有通常知識者所熟知的方法決定。

【0031】 本發明之該用語「麩胱甘肽」，其可與「GSH」互換使用，其係指由麩胺酸、半胱胺酸及甘胺酸之三個胺基酸組成的三肽。麩胱甘肽可被用作藥

學、健康機能食物、調味成分、食物、飼料添加劑、化妝品等的原料，但不限於此。

【0032】本發明之該新穎啤酒酵母菌菌株之特徵在於其具有高度之麩胱甘肽產生能力。

【0033】該菌株可為具有增強之麩胱甘肽產生能力的菌株、具有高度之麩胱甘肽產生能力的菌株，或具有經增加之麩胱甘肽產生能力的菌株。

【0034】本發明之該用語「產生麩胱甘肽之菌株（strain producing glutathione）」可與「具有麩胱甘肽產生能力的菌株（strain having a glutathione-producing ability）」、「產生麩胱甘肽的菌株（glutathione-producing strain）」等用語互換。

【0035】根據本發明之該啤酒酵母菌菌株基於該菌株之乾燥重量，可包括0.6重量%或更多，具體而言0.7重量%或更多、0.8重量%或更多、0.9重量%或更多、1.0重量%或更多，或1.1重量%或更多的含量（amount）的麩胱甘肽，但包括於該菌株中的麩胱甘肽的含量不限制於此。

【0036】本發明的另一態樣可提供用於產生麩胱甘肽的組成物，其中該組成物包括該菌株。

【0037】在本發明中，「麩胱甘肽的產生」或「麩胱甘肽的製備」可包括麩胱甘肽在該菌株中的累積（accumulation）。

【0038】用於產生麩胱甘肽的該組成物可為能夠藉由本發明之該菌株產生麩胱甘肽的組成物，且例如，該組成物可包括該菌株，且可進一步包括能夠使用該菌株產生麩胱甘肽的額外構成（additional constitution），但不限於此。

【0039】 本發明用於產生麩胱甘肽的該組成物可進一步包括常使用在用於產生麩胱甘肽的組成物中的任何適當的添加劑。該添加劑可為天然存在或非天然存在的添加劑，但不限於此。

【0040】 該添加劑可包括一賦形劑(excipient)及或一乳化劑(emulsifier)。該賦形劑可根據其目標用途或其形式而被適當地選擇使用，且可為，例如，選自於澱粉、葡萄糖、纖維素、乳糖、肝醣、右旋甘露醇(D-mannitol)、山梨醇、乳糖醇、麥芽糊精、碳酸鈣、合成矽酸鋁、正磷酸氫鈣(calcium monohydrogen phosphate)、硫酸鈣、氯化鈉、碳酸氫鈉、純化羊毛酯(lanolin)、糊精、海藻酸鈉、甲基纖維素、膠體二氧化矽膠(colloidal silica gel)、羥丙澱粉(hydroxypropyl starch)、羥丙基甲基纖維素、丙二醇、酪蛋白(casein)、乳酸鈣、羧甲基澱粉鈉(primogel)、阿拉伯膠的一或多者，且具體而言，選自於澱粉、葡萄糖、纖維素、乳糖、糊精、肝醣、右旋甘露醇及麥芽糊精的一或多者，但該賦形劑不限於此。該乳化劑可為甘油酯(glycerol ester)、山梨醇酯、單甘油酯、雙甘油酯、三酸甘油酯、蔗糖酯、丙二醇酯(propylene glycol ester)、甘油脂肪酸酯(glycerin fatty acid ester)、去水山梨醇脂肪酸酯(sorbitan fatty acid ester)、丙二醇脂肪酸酯(propylene glycol fatty acid ester)、蔗糖脂肪酸酯(sucrose fatty acid ester)、卵磷酯，或其等的混合物，但該乳化劑並不限於此，且所屬技術領域中已知者可被適當地使用。

【0041】 該賦形劑可包括，例如，一防腐劑(preservative)、一濕潤劑(wetting agent)、一分散劑、一懸浮劑、一緩衝劑、一穩定劑，或一等滲劑(isotonic agent)，但該賦形劑不限於此。

【0042】 本發明的再一態樣可提供製備麩胱甘肽的方法，該方法包括培養該菌株的步驟。通過培養該菌株，麩胱甘肽可被累積於該菌株中。

【0043】 用以培養本發明之該菌株的培養基及其他培養條件可在不特別受限之情況下被使用，只要其等通常被用於培養啤酒酵母（*Saccharomyces*）屬的微生物。具體而言，本發明之該菌株可在包含適當碳源、氮源、磷源、無機化合物、胺基酸，及／或維生素的常見培養基中，在控制溫度、pH等下，於好氧或厭氧條件下培養。

【0044】 在本發明中，該碳源可包括諸如葡萄糖、果糖、蔗糖、麥芽糖等的碳水化合物；諸如甘露醇、山梨醇等的糖醇（sugar alcohols）；諸如丙酮酸鹽（pyruvate）、乳酸鹽、檸檬酸鹽等的有機酸；以及諸如麩胺酸、甲硫胺酸、離胺酸等的胺基酸，但該碳源不限於此。另外，諸如澱粉水解物、糖蜜（molasses）、廢糖蜜（blackstrap molasses）、米糠（rice bran）、木薯（cassava）、甘蔗糖蜜（sugar cane molasses）及玉米浸液的天然有機營養物可被使用，且諸如葡萄糖及滅菌預處理之糖蜜（即被轉化成還原糖的糖蜜）等的碳水化合物可被使用。另外，各種其他碳源可以合適的量被使用而不受限。這些碳源可被單獨使用或其等之二或多者相互組合而使用，但不限於此。

【0045】 該氮源可包括諸如氨（ammonia）、硫酸銨、氯化銨、醋酸銨、磷酸銨、碳酸銨、硝酸銨等無機氮源；以及諸如胺基酸、蛋白胨（peptone）、NZ-胺（NZ-amine）、肉品萃取物、酵母萃取物、麥芽精萃取物、玉米浸液、酪蛋白水解物（casein hydrolysate）、魚或其等的分解產物、脫脂大豆餅或其等的分解產物等有機氮源。這些氮源可被單獨使用或其等之二或多者相互組合而使用，但不限於此。

【0046】 該磷源可包括磷酸二氫鉀（potassium phosphate monobasic）、磷酸氫二鉀（dipotassium phosphate）、對應的含鈉之鹽類等。該等無機化合物可包括氯化鈉、氯化鈣、氯化鐵、硫酸鎂、硫酸鐵、硫酸錳、碳酸鈣等。

【0047】 另外，胺基酸、維生素，及/或合適的前驅物可被包括於上述培養基中。左旋胺基酸（L-Amino acids）等可被添加至該培養基用以培養該菌株。具體而言，甘胺酸、麩胺酸鹽，及/或半胱胺酸可被添加，且依據需求，諸如離胺酸的左旋胺基酸可被進一步添加，但不是必須限制於此。

【0048】 這些培養基或前驅物可被以批次（in a batch）或連續模式添加至該培養物，但不限制於此。

【0049】 在本發明中，培養物的pH值可在培養菌株期間藉由以適當方式添加諸如氫氧化銨（ammonium hydroxide）、氫氧化鉀、氨水、磷酸及硫酸等化合物至該培養物而加以調整。另外，在培養期間，諸如脂肪酸聚乙二醇酯（fatty acid polyglycol ester）的抗發泡劑（anti-foaming agent）可被使用以抑制泡沫的生成。另外，氧氣或含氧氣體可被注入該培養物以維持該培養物的好氧狀態（aerobic state）；或是氮氣、氫氣或二氧化碳氣體可被注入，或是不注入任何氣體，以維持厭氧（anaerobic）或微需氧（microaerobic）狀態。

【0050】 培養物的溫度可為25°C至40°C，且更具體而言，28°C至37°C，但該溫度並不限於此。培養可持續進行直到所欲之量的有用材料被獲得，具體而言，繼續進行1至100小時，但該培養時間並不限於此。

【0051】該製備麩胱甘肽的方法可進一步包括在培養步驟之後的一額外程序。該額外程序可根據麩胱甘肽的用途而被適當地選擇。

【0052】具體而言，該製備麩胱甘肽的方法可進一步包括在培養步驟後，自選自於該菌株、該菌株的一乾燥產物、該菌株的一萃取物、該菌株的一培養物以及該菌株的一溶解產物的一或多種材料收集麩胱甘肽之步驟。

【0053】如此處所使用的，「培養物」之用語可指自培養本發明之該菌株所獲得的產物。例如，該培養物可為一培養基，其包含於該培養基中培養該菌株的期間藉由養分攝取及代謝而產生的副產物，且該培養物可包括藉由使用該培養基而可被形成的所有種類的培養物，諸如該培養基的稀釋或濃縮液體、藉由乾燥該培養基而獲得的乾燥產物、該培養基的一粗純化產物(**crude purified product**)或純化產物，或其等之混合物等。本發明之該微生物的培養物可以包括或不包括該微生物。培養方法(**culturing**)如同以上所述。

【0054】如此處所使用的，「溶解產物(**lysate**)」之用語可表示自裂解(**rupturing**)或溶解(**lysing**)該菌株或其培養物所得的產物，或是藉由將該溶解產物離心而獲得的上清液(**supernatant**)。

【0055】該培養物、該溶解產物、其上清液及其等的部分(**fractions**)亦包括於本發明的範圍內。該方法可進一步包括在收集步驟之前或與收集步驟同步之溶解該菌株的步驟。該菌株的溶解可藉由本發明所屬技術領域中常用的方法進行，例如，藉由用於溶解的緩衝溶液、一超音波振盪器(**sonicator**)、熱處理、法式壓碎機(**French press**)等。另外，該溶解步驟可包括酵素反應，該酵素為諸如細胞壁降解酵素(**cell wall degrading enzyme**)、核酸酶(**nuclease**)、核苷酸基轉移酶(**nucleotidyl transferase**)、蛋白酶等，但該溶解步驟並不限制於此。

【0056】 針對本發明的目的，具有高麩朊甘肽含量的一乾燥酵母（dry yeast）、酵母萃取物、酵母萃取物混合粉末（yeast extract mix powder），或純麩朊甘肽可經由製備麩朊甘肽的方法而製備，但由此可製備的產物並不限於此，且可根據所欲的產物而適當地製備這些產物。

【0057】 如此處所使用的，「乾燥酵母」之用語可與「該菌株的乾燥產物」等用語互換使用。該乾燥酵母可藉由將其中麩朊甘肽已累積的酵母菌株乾燥而製備，且具體而言，可被包括於一飼料組成物、一食物組成物等中，但製備該乾燥酵母的方法不限於此。

【0058】 如此處所使用的，「酵母萃取物」之用語可與「菌株萃取物」等用語互換使用。該菌株萃取物之用語可指菌株的細胞壁自該菌株之細胞體分離後所留下的材料。具體而言，該菌株萃取物可指由酵母細胞的溶解後所獲得之除該細胞壁外所剩下的組分。該菌株萃取物可包括麩朊甘肽，且可包括蛋白質、碳水化合物、核酸及纖維的一或多個組分作為麩朊甘肽外的其他組分，但包括於其中的組分並不限於此。

【0059】 該收集步驟可使用本領域中已知的適當方法而進行，藉此收集麩朊甘肽 - 其為所欲的材料。

【0060】 該收集步驟可包括一純化方法。該純化方法可為自該菌株僅分離純麩朊甘肽的方法。通過該純化方法，純麩朊甘肽可被製備。

【0061】 視需求，製備麩朊甘肽的方法可進一步包括將一添加劑與選自於培養步驟後所獲得之菌株、該菌株的乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物，及自其等所收集的麩朊甘肽的材料混合的步驟。通過此混合步驟，可製備酵母萃取物混合粉末。

【0062】 該添加劑可包括一賦形劑及/或一乳化劑。該賦形劑及該乳化劑可由所屬技術領域具有通常知識者適當地選用，且其等的實例與上述者相同。

【0063】 本發明的再另一態樣可提供製備包括麩胱甘肽的組成物的方法，該方法包括下列步驟：培養該菌株；以及將一添加劑與選自於經培養之菌株、該菌株的乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物，以及由其等所收集的麩胱甘肽的材料混合。

【0064】 本發明的該組成物可進一步包括一天然存在的物質或一非天然存在的物質。該物質可包括，但不限於，一藥學可接受載體（pharmaceutically acceptable carrier）、食品營養學可接受載體（sitologically acceptable carrier）、美妝學可接受載體（cosmetically acceptable carrier）等，依據該組成物意欲的用途而定。該載體可由所屬技術領域具有通常知識者基於已知內容（known contents）而適當地選擇。

【0065】 在該組成物中，選自於本發明之菌株、該菌株的該乾燥產物、該萃取物、該培養物及該溶解產物，以及由其等所收集的麩胱甘肽的材料的含量可為基於該組成物的總重之3重量%至30重量%。

【0066】 該添加劑可包括一賦形劑及/或一乳化劑。該賦形劑及該乳化劑可由所屬技術領域具有通常知識者適當地選用，且其等的實例與上述者相同。

【0067】 本發明的再另一態樣可提供用於抗氧化功能、解毒、免疫增強、化妝品、食物或飼料的組成物，該組成物包括選自於該菌株；該菌株的一乾燥產

物、萃取物、培養物，以及溶解產物；以及由該菌株、乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物的任何一或多者所收集的麩胱甘肽的一或多者。

【0068】 本發明的再另一態樣可提供製備用於抗氧化功能、解毒、免疫增強、化妝品、食物或飼料的組成物的方法，該組成物包括選自於該菌株；該菌株的一乾燥產物、萃取物、培養物，以及溶解產物；以及由該菌株、乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物的任何一或多者所收集的麩胱甘肽的一或多者。

【0069】 針對本發明的目的，該組成物可包括該菌株本身，或可包括該菌株的培養物、該菌株的乾燥產物、該菌株的萃取物，或該菌株的溶解產物，或可包括自該菌株的該培養物、萃取物、乾燥產物，或溶解產物所收集的的麩胱甘肽，但不限於此。換句話說，由於該菌株、其乾燥產物、萃取物、培養物或溶解產物包括麩胱甘肽，麩胱甘肽可被包括於任何這些形式中而不受限制，只要麩胱甘肽的含量可被增加至一所欲的等級，即使該形式依據該組成物的特定用途而可能為不同的。

【0070】 於該組成物中，選自於本發明之該菌株、其乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物，及自其等收集的麩胱甘肽的材料含量可為基於該組成物的總重之3重量%至30重量%。另外，該組成物可進一步包括常見使用於組成物中的任何適當的添加劑。

【0071】 該組成物可藉由包括選自於本發明之產生麩胱甘肽的菌株；該菌株的乾燥產物、萃取物、培養物，及溶解產物；及自該菌株、乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物的任一者所收集的麩胱甘肽的一或多種材料而具有經增加的麩胱甘肽含量。

【0072】 本發明的一個態樣可提供用於抗氧化功能的組成物，該組成物包括選自於以下的一或多種材料：該菌株；該菌株的該乾燥產物、萃取物、培養物，以及溶解產物；以及由該菌株、乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物的任何一者所收集的麩胱甘肽。

【0073】 如此處所使用的，「抗氧化」之用語可廣義地指抑制、降低，或控制自然發生的氧化反應的作用（actions），且更具體而言，抑制、降低，或控制體內所生成的自由基、由該等自由基所生成的過氧化氫或過氧化物，或由過氧化氫生成的羥基（hydroxyl radicals）的生成或反應的作用。

【0074】 本發明的一個態樣可提供用於解毒的組成物，該組成物包括選自於以下的一或多種材料：該菌株；該菌株的該乾燥產物、萃取物、培養物，以及溶解產物；以及由該菌株、乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物的任何一者所收集的麩胱甘肽。

【0075】 如此處所使用的，「解毒（detoxification）」之用語可指移除或降低由有害物質所致之毒性的所有作用。

【0076】 麩胱甘肽是由細胞所產生的內生（endogenous）抗氧化劑，其不僅直接涉及自由基及氧自由基化合物的中和作用（neutralization），亦將諸如維生素C及E之外源（exogenous）抗氧化劑維持於還原形式（reduced form），因此，解毒可包括抑制、降低，或控制氧自由基及自由基、由該等自由基所生成的過氧化氫或過氧化物，或由過氧化氫生成的羥基的生成或反應的作用。再者，由於麩胱甘肽可保護細胞蛋白（cellular proteins）的巯基（thiol）基團，其可避免由過量的諸如乙醯胺酚等之藥物所造成的副作用，且亦用於甲基乙二醛

(methylglyoxal) - 其是作為代謝副產物而生成 - 的解毒。因此，毒性化合物的減緩 (alleviation) 或降低亦包括於解毒的範圍內。

【0077】 本發明的一個態樣可提供用於免疫增強的組成物，該組成物包括選自於以下的一或多種材料：該菌株；該菌株的該乾燥產物、萃取物、培養物，以及溶解產物；以及由該菌株、乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物的任何一者所收集的麩胱甘肽。

【0078】 如此處所使用的，「免疫增強 (immune enhancement)」係指增強對抗抗原 (antigens) 之身體防禦，且具體而言，可指增加對抗抗原的細胞及體液免疫，且具體而言可指相對於服用該組成物前之免疫力 (immunity) 為經增加的免疫力。免疫增強的機制不受限制，但可包括，例如，藉由促進諸如巨噬細胞 (macrophage) 等之抗原呈現細胞 (antigen-presenting cell) 的活性，或促進淋巴球特定活性所獲得者。

【0079】 如上所述，麩胱甘肽具有強抗氧化能力、具有改良肝功能及協助身體中有毒物質之分解的角色，且移除有害氧自由基並參與免疫系統中的作用。即，麩胱甘肽增加T型淋巴球及白血球的活性以改良身體的免疫力並使因各種慢性疾病等所致之虛弱個體復原 (rejuvenate)。因此，選自於本發明之包括麩胱甘肽的菌株；該菌株的該乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物；及由該菌株、該乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物的任一者收集的麩胱甘肽的一或多種材料可被有效地用於免疫增強。

【0080】 本發明的一個態樣可提供用於化妝品的組成物，該組成物包括選自於以下的一或多種材料：該菌株；該菌株的該乾燥產物、萃取物、培養物，以及溶解產物；以及由該菌株、乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物的任何一者所收集的麩胱甘肽。

【0081】 本發明的「用於化妝品之組成物」可被製備成選自於由溶液、外用軟膏（ointment）、乳霜（cream）、泡沫、營養潤滑劑（nutrition emollient）、軟化潤滑劑（soft emollient）、凍膜（pack）、潤膚水（emollient water）、乳狀乳液（milky lotion）、化妝品基底（makeup base）、香精(essence)、液體清潔劑、入浴製劑（bath preparation）、防曬乳、防曬油、懸浮液、乳劑、糊劑、凝膠、乳液、粉末、肥皂、含表面活性劑的清潔劑、油品(oil)、粉狀粉底、乳狀粉底、蠟狀粉底、貼片（patch）及噴劑所組成之群組的配製品(formulation)，但不限於此。

【0082】 該用於化妝品的組成物可進一步包括於一般護膚化妝品中摻混的一或多個美妝學可接受的載體，且可適當地作為通常成分與，例如，油、水、表面活性劑、保濕霜、低級醇（lower alcohol）、增稠劑、螯合劑、色料、防腐劑、香水等摻混，但美妝學可接受的載體不限於此。包括於本發明之用於化妝品之組成物中的該美妝學可接受的載體可由所屬技術領域具有通常知識者依據化妝品組成物的配製品而適當選擇。

【0083】 本發明的一個態樣可提供用於食物的組成物，該組成物包括選自於以下的一或多種材料：該菌株；該菌株的該乾燥產物、萃取物、培養物，以及

溶解產物；以及由該菌株、乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物的任何一者所收集的麩胱甘肽。

【0084】 於一具體實施例中，用於食物的組成物可包括本發明之菌株的細胞體或萃取物，且更具體而言，可依據將應用的食物而藉由將該菌株萃取物與添加劑混合而被製備使用於一適當的配製品，但不限於此。該菌株萃取物與上述者相同。

【0085】 該添加劑可包括賦形劑及／或乳化劑。該賦形劑及乳化劑可由所屬技術領域具有通常知識者適當地選用，且其等的實例與上述者相同。另外，輔助食品添加劑、食品穩定劑、保水劑等可被包括。

【0086】 本發明的「用於食物之組成物」可包括所有種類的機能性食物、營養補充劑、健康食品及食品添加劑。

【0087】 上述種類的用於食品之組成物可根據所屬技術領域中之通常方法而被製備成各種形式。

【0088】 用於食物的組成物可被製備成丸劑、粉末、顆粒、浸劑(infusion)、錠劑、膠囊、液體等之形式。本發明之組成物可被添加於其中的食物可包括，例如，各種食物，諸如米、可食用的穀物粉末(可食用之穀粉(edible grain flours))、穀物湯(grain soups)、搭配有配料(toppings)的碗裝米飯、麵條、泡飯(rice soup)、即食米飯、調味料(condiment)、餐盒米飯、乾燥熟米飯、麵包、可食用糖、年糕(rice cake)、混合醬(mixing sauces)、醬料、香料、可食用鹽、調味品(seasonings)、調味料粉、經處理、冷凍、乾燥及烹煮之水果及蔬菜、果凍、果醬、蜜餞(candied fruit)、蛋、乳品及其它乳製品、可食用脂肪及油品、咖啡、可可及咖啡代用品、木薯(tapioca)、穀粉及穀物製備物、拉麵、烏龍麵、麵條、

刀削麵 (chopped noodle)、冷麵、稀飯、湯、湯品 (soup dishes)、即食食品、冷凍食品、殺菌食品 (retort food)、其它飲品、口香糖、茶、綜合維他命、健康補給品等，但食物製備物的形式不限於此。

【0089】作為可被包括於本發明的用於食物之組成物中的成分，諸如各種草本萃取物 (herbal extracts)、輔助食物添加劑，或天然碳水化合物的額外成份可被包括如於普通食品中。另外，該輔助食物添加劑可包括所屬技術領域中常見的輔助食物添加劑，例如，調味劑、風味增強劑、著色劑、填料、穩定劑等。

【0090】天然碳水化合物的實例包括單醣，例如，葡萄糖、果糖等；雙醣，例如麥芽糖、蔗糖等；及多醣，例如常見的糖，諸如糊精、環糊精等，及糖醇，諸如木糖醇、山梨醇、赤藻糖醇 (erythritol) 等。除了以上敘述者，天然調味劑 (例如，瑞鮑迪甙 A (rebaudioside A)、甘草酸苷 (glycyrrhizin) 等) 及合成調味劑 (糖精 (saccharin)、阿斯巴甜 (aspartame) 等) 可被有益地用作調味劑。另外，用於補充嚐味 (taste) 及營養之目的的常見之食品添加劑，例如核酸、胺基酸、有機酸等可被添加。

【0091】除了以上敘述者，本發明之用於食物之組成物可包括許多營養補充品、維生素、礦物質 (電解質)、諸如合成調味劑及天然調味劑的調味劑、著色劑，及填料 (起司、巧克力等)、果膠酸 (pectic acid) 及其鹽類、藻酸及其鹽類、有機酸、保護性膠態增稠劑、pH調節劑、穩定劑、防腐劑、甘油、醇類、用於碳酸飲料中的碳酸化劑 (carbonating agent) 等。另外，該組成物可包含果肉 (fruit pulp) 以製備天然果汁、果汁飲品及蔬菜飲品。這些成分可被單獨使用或相互組合而使用。

【0092】 本發明的食物可藉由本技術領域中常使用的方法製備，且在製備期間，本技術領域中經常添加的材料及成分可被添加用以進行製備。另外，只要該配製品被認定為食物，該等食物可被製備成任何配製品而不受限制。

【0093】 再者，當本發明之該食物組成物是用作營養機能食物時，本發明之該組成物可被製備成各種形式的配製品。本發明之該食物組成物具有下列優點：由於本發明之該食物組成物不像一般藥物，而是使用一原始材料(raw material)而製備，當藥品經過長時間服用不會有副作用發生，且其具有絕佳的相容性（portability）。因此，本發明之該食物可作為補給品被攝取。

【0094】 同時，本發明之用於食物的組成物亦可包括調味劑（flavoring agents）、風味增強劑、著色劑、填料、穩定劑及亦可被歸類為食物添加劑的風味劑（flavors）。

【0095】 如此處所使用的，「風味劑」之用語可為被添加以增強食物風味的材料。該風味劑可為允許食物具有絕佳調味性質（seasoning property）的材料。

【0096】 該風味劑可根據嗜味組分而被分類。換句話說，依據風味，該風味劑可被分類為中性風味劑(neutral flavor)、牛肉風味劑、雞肉風味劑、豬肉風味劑、濃厚風味劑（kokumi flavor）等。

【0097】 該用語「濃厚風味劑」係指釋放濃厚風味的風味劑。該用語「kokumi」（濃厚風味）為日文，且亦可以英文「溢滿口腔（mouthfulness）」、「持續不斷（continuity）」、「渾厚（thickness）」及「熱誠（heartiness）」表示，且在韓文中以「豐富嗜味（rich taste）」、「豐厚嗜味（thick taste）」、「充滿口中的嗜味（mouth-filling taste）」、「濃密嗜味（dense taste）」、「黏稠嗜味（sticky taste）」等表示。該用語「中性風味劑」係指將「鮮味（umami）」最大

化並將其他風味最小化以產生溫和且純淨（clean）風味的風味劑。舉例而言，在油類中諸如芥花油或葡萄籽油的油品可被認為具有中性風味。該用語「調味性質」可意指具有酸、甜、鹹、苦或鮮味的嗜味，但不限制於此。

【0098】 本發明之用於食物的組成物可包括，基於該組成物的總重，3重量%至30重量%之本發明的酵母萃取物，且可進一步包括選自於氯化銨、麥芽糊精、結晶粉末葡萄糖，及一賦形劑的一或多者。在一具體實施例中，該食物組成物可包括，基於該組成物的總重，3重量%至25重量%的本發明之酵母萃取物、20重量%至35重量%的氯化銨、25重量%至35重量%的麥芽糊精、3重量%至7重量%的結晶粉末葡萄糖，及0.1重量%至1重量%的一賦形劑，但該食物組成物不限於此。

【0099】 本發明的一態樣可提供用於飼料的組成物，該組成物包括選自於以下的一或多種材料：該菌株；該菌株之該乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物；及由該菌株、乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物的任何一者所收集的麩胱甘肽。

【0100】 具體而言，用於飼料的組成物可包括本發明之該菌株本身（as it is）、該菌株的乾燥產物，及該菌株的萃取物的任一或多者，或可包括在製備該菌株的萃取物的過程中所獲得的細胞壁組分，以及例如，該菌株的乾燥產物（乾燥酵母）及/或該菌株的萃取物（酵母萃取物），但不限於此。

【0101】 本發明之該「用於飼料之組成物」是任何適當地供動物食用、攝取及消化的天然或人工飲食(artificial diet)、單一膳食（single meal）等，或該單一膳食的組分。包括根據本發明之具有增加含量的麩胱甘肽的酵母的該飼料可

以本發明技術領域中所知的各種飼料形式加以製備，且具體而言，可包括濃縮飼料、粗飼料（**crude feeds**），及/或特殊飼料。

【0102】飼料的種類並未被特別限制，在本技術領域中常用的任何飼料皆可被使用。飼料的非限制性實例可包括諸如穀物、根類植物（**root plants**）、食物處理副產物、海藻、纖維、藥物副產物、油類、澱粉、餐粉、穀物副產物等以植物為主的飼料（**plant-based feeds**）；及諸如蛋白質、無機物、礦物質、脂質及油類、單細胞蛋白質、浮游動物、食物等以動物為主的飼料。這些飼料可被單獨使用，或其等的二或多者被組合而使用。

【0103】本發明的另一態樣可提供用於製備用以預防或治療由缺乏麩胱甘肽所致的疾病的醫藥產物的組成物，該組成物包括選自於該菌株；該菌株的乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物；以及由該菌株、乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物的任何一或多者所收集的麩胱甘肽的一或多者。

【0104】本發明的再一態樣可提供用於預防或治療由缺乏麩胱甘肽所致的疾病的藥學組成物，該組成物包括選自於該菌株；該菌株的乾燥產物、萃取物、培養物、溶解產物；以及由該菌株、乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物的任何一或多者所收集的麩胱甘肽的一或多者。

【0105】如此處所使用的，該用語「藥學組成物」可指意欲用於醫療診斷、治癒（**cure**）、治療（**treatment**）或預防疾病或病理學（**pathology**）的一化學／生物化合物或物質，或這些化合物或物質之二或多者的混合物或組合。

【0106】 如此處所使用的，該用語「用於製備醫藥產物的組成物」可以與該藥學組成物相同的意思使用，或可指為一組成物，其進一步包括用於製備及／或調配醫藥產物所需的額外成分。然而，該組成物不受限於此。

【0107】 如上所述，麩胱甘肽對分解及移除氧自由基的抗氧化功能、解毒功能及免疫增強有所貢獻。因此，包括高濃度麩胱甘肽的該菌株，或其培養物、乾燥產物、萃取物或溶解產物可被有效地用於醫藥產物的製備，該醫藥產物可被有效地用於治療由缺乏麩胱甘肽所致的疾病。

【0108】 再者，由於該菌株，或其培養物、乾燥產物、萃取物，或溶解產物包括高濃度麩胱甘肽，其等可以本身的形式被包括於一藥學組成物中，用以預防或治療由缺乏麩胱甘肽所致的疾病。

【0109】 只要是由缺乏麩胱甘肽所致的疾病，該疾病未受限制。例如，只要其是由氧自由基累積及／或免疫下降所導致者，該疾病不受限而包括任何疾病，且具體而言，如動脈粥樣硬化（atherosclerosis）；包括盧·賈里格症（Lou Gehrig's disease）、帕金森氏病症（Parkinson's disease）、阿茲海默氏症（Alzheimer's disease）、肌肉萎縮性脊髓側索硬化症（amyotrophic lateral sclerosis）及亨汀頓氏舞蹈症（Huntington's disease）的神經退化性疾病（neurodegenerative disease）；包括心肌梗塞（myocardial infarction）、心絞痛（angina）、冠狀動脈疾病（coronary artery disease）及缺血性心臟病（ischemic heart disease）的心血管疾病；包括中風的缺血性腦部疾病（ischemic brain）；包括糖尿病、胃炎（gastritis）及胃癌（gastric cancer）的消化疾病；癌症；白血病（leukemia）；白內障（cataract）；

老化；風濕性關節炎（rheumatoid arthritis）；肝炎（hepatitis）；異位性皮膚炎（atopic dermatitis）等，但該疾病不限於此。

【0110】該醫藥及／或藥學組成物可進一步包括一藥學可接受之載體。如此處所使用的，該用語「藥學可接受」可表示對於暴露於該藥學產物的細胞或人類無毒性之特性。只要其是於本領域中已知者，可不受限制而使用任何載體，諸如一緩衝劑、一防腐劑、一鎮痛劑（analgesic agent）、一溶解劑、一等滲劑（isotonic agent）、一穩定劑、一基底劑、一賦形劑、一潤滑劑等。

【0111】另外，該醫藥及／或藥學組成物可根據常用方法而被調配成口服劑形式（oral dosage forms），諸如粉末、顆粒、錠劑、膠囊、懸浮液、乳劑（emulsion）、糖漿及氣溶膠；外用製劑；栓劑；及滅菌可注射溶液（sterile injectable solutions）。再者，其等可以外部皮膚製劑的形式被使用，諸如一軟膏製劑、一乳液製劑、一噴霧製劑、一貼布（patch）製劑、一乳霜製劑、一粉末製劑、一懸浮液製劑、一膠體製劑（gel preparation）或一凝膠（gel）。可被包括於本發明的醫藥產物中的載體、賦形劑及稀釋劑包括乳糖、右旋糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、木糖醇、赤藻糖醇、麥芽糖醇、澱粉、阿拉伯膠、藻酸鹽、明膠、磷酸鈣、矽酸鈣、纖維素、甲基纖維素、微晶纖維素、聚乙烯吡咯酮（polyvinyl pyrrolidone）、水、羥苯甲酸甲酯、羥基苯甲酸丙酯、滑石、硬脂酸鎂及礦物油。當被調配時，其等使用經常被使用的稀釋劑或諸如填料、延展劑（extenders）、連結劑（binders）、濕潤劑、崩解劑（disintegrants）、表面活性劑等的輔料（excipient）加以製備。

【0112】用於口服的固體製劑包括錠劑、丸劑、粉末、顆粒及膠囊，且這些固體製劑可藉由將該組成物與至少一賦形劑，例如澱粉、碳酸鈣、蔗糖、乳糖、明膠等混合而製備。除了簡單的賦形劑，諸如硬脂酸鎂及滑石的潤滑劑亦可被使

用。用於口服的液體製劑包括懸浮液、供內用的液體、乳劑、糖漿等，且除了諸如水及液態石蠟之常用的簡單稀釋劑外，諸如濕潤劑、甜味劑、風味劑、防腐劑等的各種輔料（excipients）可被包括。用於非口服（parenteral）服用的製劑包括滅菌水溶液、非水溶液溶劑、懸浮液、乳劑、冷凍乾燥（lyophilized）劑及栓劑。對於非水性溶劑及懸浮劑，可使用丙二醇、聚乙二醇、諸如橄欖油的植物油、諸如油酸乙酯（ethyl oleate）的可注射酯類等。作為栓劑基底，可使用維太素栓劑基質（witepsol）、聚乙二醇（macrogol）、土溫61（tween 61）、可可酯、月桂酸黃油（lauric butter）、甘油明膠（glycerogelatin）等。

【0113】該醫藥及／或藥學組成物可以藥學有效量（pharmaceutically effective amount）被施用。如此處所使用的，該用語「施用（administration）」係指藉由適當方式將預定物質導入個體中。該組成物可通過任何一般途徑而被施用，只要其能夠到達目標組織，且該施用途徑可包括腹膜內（intraperitoneal）施用、靜脈施用、肌肉（intramuscular）施用、皮下（subcutaneous）施用、皮內（intradermal）施用、口服施用、局部（topical）施用、鼻內（intranasal）施用、肺內（intrapulmonary）施用，及直腸施用，但該施用途徑不限於此。

【0114】該用語「個體（individual）」可指包括人類、鼠（rat）、小鼠（mice）、家畜等的所有動物。具體而言，其可為包括人類的哺乳類。

【0115】該用語「藥學有效量」係指在適用於沒有副作用之任何醫藥治療的合理險益比之下足以治療疾病的量。依據包括病患的性別、年齡、體重、健康條件、疾病的種類、嚴重性、藥物活性、對藥物的敏感性、施用方法、施用時間、施用途徑、釋放速率、治療期間及組合使用或同步使用的藥物等因素，以及其它

於該醫藥領域中熟知的因素，有效劑量等級可由所屬技術領域具有通常知識者輕易決定。以上建議的劑量可每日施用一次或以數個分開的劑量施用。

【0116】 本發明的再另一個態樣可提供該菌株於生產麩胱甘肽的用途。

【0117】 該菌株與上述者相同。

實例

【0118】 此後，本發明將參照實例及實驗例而被更詳細地敘述。然而，這些實例及實驗例僅用於例示說明的目的，而本發明的範圍為並非意欲由這些實例及實驗例所限制。

實例1：具有絕佳麩胱甘肽產生之菌株的選擇及麩胱甘肽產生能力的驗證

【0119】 菌株自包含各種菌株的韓國傳統朝鮮酒麴（*Nuruk*）獲得，且該等菌株被改良以選擇具有高麩胱甘肽產生能力的一菌株。

【0120】 詳細而言，諸如米、大麥、綠豆、燕麥等的穀物樣品係收集自韓國京畿道（Gyeonggi Province）之包括龍仁（Yongin）、利川（Icheon）、平澤（Pyeongtaek）、華城（Hwaseong）等總共20個區域，而一韓國傳統朝鮮酒麴（*Nuruk*）被製備。經收集的穀物樣品被粉化（pulverized）、捏合（kneaded）、以布包裹、緊密壓實以形成一形狀、以稻草包裹並發酵10天，且接著被緩慢乾燥以製備韓國傳統朝鮮酒麴。為了將各種菌株自該所製備之韓國傳統朝鮮酒麴分離，實驗係進行如下。45毫升（mL）的鹽水被添加至5克的韓國傳統朝鮮酒麴，並以一混合器粉化。為了酵母菌株的純分離（pure isolation），進行一系列稀釋，

且所得物被分散於YPD洋菜（基於1升的蒸餾水，10 克/升之酵母萃取物、20克/升之胰蛋白胨（bacto peptone）、20克/L之葡萄糖）上，並於30°C下培養48小時。經由菌落型態的檢驗及微觀（microscopic）驗證，酵母菌落各自呈條紋狀（streaked）在YPD洋菜上。25毫升的YPD培養液被分散於250毫升錐型瓶中，且純的經分離之菌株被接種及在搖晃（30°C，200 rpm）下培養48小時以檢驗麩胱甘肽的產生量，隨後將該等菌株篩分（screening）。

【0121】為了改良初次分離的菌株，隨機突變於各分離的菌株中誘導發生。於自韓國傳統朝鮮酒麴分離的酵母菌株中，具有15毫克/升的麩胱甘肽產生量的一菌株被選擇並命名為CJ-37菌株。該CJ-37菌株於固體培養基上培養並接著被接種至一培養液中以獲得一培養物。該等酵母細胞使用UV燈以UV照射。此後，經UV照射之培養物培養液被放置於一平板培養基上且僅有形成菌落之突變菌株被分離，且這些突變菌株的麩胱甘肽的產生量被檢驗。

【0122】結果，被確認的是這些突變菌株的麩胱甘肽的產生量為高達105毫克/升，且顯示最高的麩胱甘肽產生量（105毫克/升）的菌株被選擇為該產生麩胱甘肽的菌株並命名為CJ-5菌株，其於2019年7月31日依據布達佩斯條約寄存於作為國際寄存機構的韓國微生物保藏中心（Korean Culture Center of Microorganisms，KCCM），寄存編號為KCCM12568P。

實例2：麩胱甘肽產生能力的比較

【0123】為了確認於實例1中經選擇之該CJ-5菌株的麩胱甘肽產生能力，三種已知的微生物（表1）藉由下列方法被培養且接著GSH產生能力被比較及分析。作為控制組，於實例1中所獲得之該CJ-37菌株亦被培養及分析以進行比較。

[表1]

菌株
1. 高蛋白假絲酵母 (<i>Candida utilis</i>) KCCM50667
2. 乳酸克魯維酵母 (<i>Kluyveromyces lactis</i>) ATCC8585
3. 啤酒酵母菌 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) CEN.PK2-1D

【0124】 首先，各菌株於30°C下培養1天，且接著被接種至包含25毫升之YPD培養基（基於1升的蒸餾水，10克/升之酵母萃取物，20克/升之胰蛋白胨、20克/升之葡萄糖）的250毫升轉角燒瓶（corner-baffle flask）中。胺基酸（左旋半胱胺酸、左旋麩胺及左旋甘胺酸）以20 mM的濃度，在該培養起始點起16小時的時間點下被添加，並於30°C、200 rpm下被培養。

【0125】 為了量測GSH濃度，包含細胞的500微升（500 µL）的培養樣品於80°C、800 rpm下被溶解（lysed）10分鐘，且接著GSH濃度使用Abcam GSH定量檢測法（Abcam GSH Ration Detection Assay）量測。該乾燥重量藉由轉換OD值而計算，且被用於計算GSH含量(%) = GSH重量/酵母乾燥重量。結果顯示於表2中。

[表2]

菌株評估

菌株	16 Hr	24 Hr		
	OD ₆₀₀	OD ₆₀₀	GSH (毫克/升)	GSH 含量(%)
高蛋白假絲酵母 KCCM50667	72.0	65.8	80.3	0.59
乳酸克魯維酵母 ATCC8585	81.0	74.2	99.0	0.65

啤酒酵母菌 CEN.PK2-1D	28.9	39.0	31.3	0.39
CJ-37	35.4	37.2	14.6	0.19
CJ-5	41.0	46.0	105.2	1.11

【0126】 鑒於評估5種酵母的GSH產生能力的結果，被確認的是基於該等細胞的重量，該CJ-5菌株具有最高的GSH含量。具體而言，被確認的是與現有的產生GSH之菌株（高蛋白假絲酵母KCCM50667菌株、乳酸克魯維酵母ATCC8585菌株，及啤酒酵母菌CEN.PK2-1D菌株）相比，基於該等酵母細胞的重量，該CJ-5菌株具有約200%至約300%的最高GSH含量，且特別是與CJ-37相比，CJ-5菌株的GSH產生能力被改良約584%。

【0127】 這些結果證實該CJ-5菌株具有絕佳GSH產生能力，顯示本發明的該等菌株可被有效地用於GSH的生產。

實例3：藉由基因序列之CJ-5菌株之18S (ITS, 5.8S) rRNA的驗證

【0128】 為了確認於實例1中被分離的具有最高麩胱甘肽產生量的該CJ-5菌株及具有最低麩胱甘肽產生量的該CJ-37菌株的分類，這兩個菌株的18S (ITS, 5.8S) rRNA序列被比較及分析。

【0129】 詳細而言，兩個菌株之間的18S (ITS, 5.8S) 核糖體RNA (rRNA)序列的相似度是使用BLAST資料庫（<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>）進行比較。CJ-5菌株的該18S (ITS, 5.8S) rRNA序列由SEQ ID NO: 1表示，CJ-37菌株的該18S (ITS, 5.8S) rRNA序列由SEQ ID NO: 2表示，而啤酒酵母菌YJM1592染色體XII的該18S (ITS, 5.8S) rRNA序列由SEQ ID NO: 3表示。

【0130】 結果，該CJ-5菌株顯示與啤酒酵母菌YJM1592染色體XII的該18S (ITS, 5.8S) rRNA序列約93.73%的相似度。同時，該CJ-37菌株亦顯示與啤酒酵母菌YJM1592染色體XII的該18S (ITS, 5.8S) rRNA序列約95.20%的相似度。

【0131】 這些結果指出該CJ-5菌株及該CJ-37菌株為啤酒酵母菌菌株。將這些結果與實例2的實驗結果結合，可解讀為本發明的CJ-5菌株相較於屬於相同屬之相同種的那些微生物以及屬於不同屬、不同種的微生物具有高約6倍的GSH產生能力，且亦具有相較於啤酒酵母菌CEN.PK2-1D（其為屬於相同屬之相同種的另一微生物）高284%（即，約3倍）的GSH產生能力。

【0132】 這些結果顯示本發明之該菌株具有高GSH產生能力，且因此該菌株、其乾燥產物、萃取物、培養物及／或溶解產物可被用於使用GSH作為原料而製備的各種化妝品、食物及飼料中。

實例4：包括麩胱甘肽的組成物之製備

【0133】 為了製備包括麩胱甘肽的酵母萃取物，啤酒酵母菌CEN.PK2-1D，及CJ-5及CJ-37酵母培養物首先使用一離心機被離心。

【0134】 各經離心的酵母被清洗兩次並受到重覆的離心以獲得各個酵母。此後，一細胞壁降解酵素、一核酸酶、一核苷酸基轉移酶，及一蛋白酶被添加，且酵素反應於pH 5.2及45°C的溫度下進行48小時。

【0135】 在酵素反應後，於上清液中的酵素藉由於85°C下進行熱處理30分鐘而被去活化，且各個酵素去活化的上清液被濃縮以製備一酵母萃取物。

【0136】 結果，啤酒酵母菌CEN.PK2-1D、CJ-5及CJ-37酵母萃取物顯示包括基於該總重之約0.8%、2.2%及0.4%的麩胱甘肽。

實例5：包括麩胱甘肽的食物組成物的感官評估

【0137】 包括於實例4中製備的該等酵母萃取物的食物組成物受到感官評估。詳細而言，為了啤酒酵母菌CEN.PK2-1D、CJ-5及CJ-37酵母萃取物的感官評估，係使用法式清雞湯（*consommé chicken soup*）作為基底而進行感官評估。

【0138】 感官評估藉由使用包含5%之各酵母萃取物的法式清雞湯而由感官測試者進行。該評估是針對嗜味持久性（*persistence*，濃厚風味（*kokumi*））、原有嗜味（鮮味（*umami*））、苦味（異味（*off-flavor*））、雞肉嗜味的增加、柔順及深厚嗜味，及整體偏好（*overall preference*）而進行。

【0139】 結果，經確認的是，相較於該CEN.PK2-1D酵母萃取物及該CJ-37酵母萃取物，該CJ-5酵母萃取物具有優異的嗜味持久性（濃厚風味）以及更柔順及更深厚之嗜味，且該CJ-5酵母萃取物的整體偏好被增加（圖1）。

【0140】 這些結果證實本發明之該酵母萃取物可被有效地用於製備具有絕佳調味特性的食物組成物，且因此選自於該酵母菌株；該菌株之該乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物；及由該菌株、乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物之任何一或多者所收集的麩胱甘肽之一或多者亦可有效地用於製備食物組成物。

實例6：包括麩胱甘肽之組成物的抗氧化效果的驗證

實例6-1：自由基清除能力的測試

【0141】 包括麩胱甘肽的該酵母萃取物的自由基清除能力被評估。

【0142】 詳細而言，5毫升之0.1 mM 1,1-二苯基-2-吡啶並肼基（1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl）被添加至各個實例4中所製備的啤酒酵母菌CEN.PK2-1D、CJ-5及CJ-37之5毫升之酵母萃取物懸浮液中，且允許於暗處反應30分鐘。接著，吸收度於517奈米（nm）下被量測。在2毫克/毫升至10毫克/毫升的濃度範圍中，該等CEN.PK2-1D、CJ-5及CJ-37萃取物分別顯示21%至61%、40%至83%，及12%至49%的自由基清除能力（圖2）。在10毫克/毫升的濃度下，與CEN.PK2-1D及CJ-37酵母萃取物的抗氧化活性相比，具有高濃度之麩胱甘肽的該CJ-5酵母萃取物的抗氧化活性被增加高達1.7倍。

實例6-2：氧自由基吸收能力之測試

【0143】 為了評估包括麩胱甘肽之該等酵母萃取物的抗氧化活性，氧自由基吸收能力（oxygen radical absorbance capacity，ORAC）被分析。

【0144】 詳細而言，實例4中製備的啤酒酵母菌CEN.PK2-1D、CJ-5及CJ37的5毫升之該等酵母萃取物懸浮液被與40毫升之螢光素（fluorescein）混合，且接著允許於37°C下反應15分鐘。25毫升之2,2'-偶氮二(2-脒基丙烷)鹽酸（2,2'-azobis-(2-amidinopropane) HCl）被添加於其中，且吸收度於485奈米及528奈米下量測60分鐘。該氧自由基吸收能力藉由獲得該曲線下面積（area under the curve，AUC）而被比較。相較於該CEN.PK2-1D酵母萃取物及該CJ-37酵母萃取物，CJ-5酵母萃取物之該氧自由基吸收能力較高（圖3）。如上所述，相較於該等CEN.PK2-1D及CJ-37酵母萃取物，本發明之該CJ-5酵母萃取物顯示顯著之高抗氧化活性。

【0145】 這些結果證實該酵母萃取物展現絕佳抗氧化活性，且因此選自於該酵母菌株；該菌株之乾燥產物、萃取物、培養物及溶解產物；及由該菌株、乾

燥產物、萃取物、培養物及溶解產物的任何一或多者收集的麩胱甘肽的一或多者亦可有效地用於抗氧化、解毒及免疫增強。

製備例1：包括酵母萃取物的食物組成物的製備

【0146】基於以上實驗例，酵母萃取物的該獨特的鮮味嗜味及控制異味（off-flavors）及敗味（off-odors）的效果被確認，且因此包括本發明之該酵母萃取物的一食物組成物被製備。

【0147】詳細而言，具有3%至30%之該酵母萃取物、20%至40%之氯化銨、20%至40%之麥芽糊精、1%至10%之結晶粉化葡萄糖，及0.1%至1%之一乳化劑的含量比例的酵母萃取物混合粉末被製備。

【0148】基於前述內容，本發明所屬技術領域具有通常知識者將能夠了解本發明可在不改變本發明之技術精神或是必要特徵之下以不同具體形式實施。因此，應被了解的是，上述實施例在所有態樣中並非限制性而是例示性的。本發明的範圍是由所附之申請專利範圍所界定，而不是由申請專利範圍前的敘述所界定，且因此落於該申請專利範圍之界線（metes and bounds）內的所有改變及修飾，或此界線的等效內容因此意欲由申請專利範圍所涵蓋。

【符號說明】

(無)

【生物材料寄存】

寄存機構：韓國微生物保藏中心(KCCM)

寄存編號：KCCM12568P

寄存日期：2019年7月31日

<110> CJ第一製糖股份有限公司
<120> 製造麩胱甘肽之酵母菌株及使用其製造麩胱甘肽的方法
<130> OPA20065
<150> KR 10-2019-0135659
<151> 2019-10-29
<160> 3
<170> KoPatentIn 3.0
<210> 1
<211> 810
<212> DNA
<213> 未知(unknown)

<220>
<223> CJ-5 18S(ITS, 5.8S) rRNA

<400> 1
gtgaactgcg gaggatcatt aagaatttaa taattttgaa aatggatttt ttttgttttg 60
gcaaaagcat gaaagctttt acggggcaaa aaaacacaag atggagagtc caccggggcc 120
tgcgcttaaa tgcgcggtct tgctaggcct gtaagtttct tttctgcgat tccaaacggt 180
gagagatttc tgtgcttttg ttataggaca attaaaaccg tttcaatata ccacactgtg 240
aagttttcat atctttgcaa ctttttcttt gggcattcaa gcaatcgggg cccaaaggta 300
acaaacacaa acaattttat ttattcatta aatttttgtc aaaaacaaaa attttcttaa 360
ctggaaattt taaaatatta aaaactttca acaacggatc tcttgtttct cccatcaata 420
aaaaacacac cgaaatgcga tacttaatgt gaattgcaga attccttgaa tcatcaaadc 480
tttgaacgca cattgcgccc cttggtattc ctgggggcag gccggtttga gcgtcatttc 540
cttctcaaac attctgtttg gtagtaaggg atactctttg gagttaactt gaaattgctg 600
gccttttctt tggaggtttt tttttccaaa aaaaggtttc tctgcgtgct tgaggtataa 660
tgcaagtacg gccgttttag gttttaccaa ctgcggctaa tcttttttat acagaccgta 720
ttgaaacgtt atctataaaa aaaaagcgtc taggcaaaca atgttcttaa agtttgacct 780
cacatcaggt aggagtaccc cctcaactta 810

<210> 2
<211> 806
<212> DNA
<213> 未知

<220>

<223> CJ-37 18S(ITS, 5.8S) rRNA

<400> 2
ctgcggagga tcttaagaat ttataatttt gaaaatggat ttttttgttt tggcaagagc 60
atgaaagctt ttactgggca agaagaccag aaatggagag tccagccggg cctgcgctta 120
agtgcgcggt cttagtaggc ctggaagttt ctttcttgct attccaaacg gtgaaagatt 180
tctgtgcttt tgttatagga caattaaaac cgtttcaata caacacactg tggagttttc 240
atatctttgc aactttttct ttgggcattc cagcaatcgg ggcccaaaag taacaaacac 300
aaacaatttt atttattcat taaatttttg tcaaaaacaa aaattttcct aactggaaat 360
tttaaataat taaaaacttt caacaacgga tctcttggtt ctgcgcatga tgaagaacgc 420
aacgaaatgc catacgtaat gtgaattgca aaattccctg aatcatccaa tctttgaacg 480
cacattgcgc ccttggtat tccagggggc atgcctgttt gaacgtcatt tccttctcaa 540
acattctgtt tggtagtgag tgatactctt tggaaattaac ttgaaattgc tggccttttc 600
attggatgtt ttttttccca aaaaagggtt ctctgcgtgc ttgaggtata atgcaagtac 660
gggcgtttta agttttacca actgcgggct aaactttttt atactgagcg tattggaacg 720
ttatccataa aaaaaagcg tctaggcgaa caatgttctt aaagtttgac ctcaaatcac 780
gtaagaatac ccgctgaact taacca 806

<210> 3
<211> 814
<212> DNA
<213> 未知

<220>
<223> S. cerevisiae YJM1592 18S(ITS, 5.8S) rRNA

<400> 3
gtgaacctgc ggaaggatca ttaaagaaat ttaataatit tgaaaatgga ttttttttgt 60
tttggcaaga gcatgagagc ttttactggg caagaagaca agagatggag agtccagccg 120
ggcctgcgct taagtgcgcg gtcttgctag gcttgtaagt ttctttcttg ctattccaaa 180
cggtagagaga tttctgtgct tttgttatag gacaattaaa accgtttcaa tacaacacac 240
tgtggagttt tcatatcttt gcaacttttt ctttgggcat tcgagcaatc gggggcccaga 300
ggtaacaaac acaacaatt ttattttattc attaaatit tgtcaaaaac aagaattttc 360
gtaactggaa atttttaaatt attaaaaact ttcaacaacg gatctcttgg ttctcgcatc 420
gatgaagaac gcagcgaaat gcgatacgta atgtgaattg cagaattccg tgaatcatcg 480

aatctttgaa cgcacattgc gccccttggg attccagggg gcatgcctgt ttgagcgtca	540
tttccttctc aaacattctg tttaggtagt agtgatactc tttaggagta acttgaaatt	600
gctggccttt tcattggatg tttttttttc caaagagagg tttctctgcg tgcttgaggt	660
ataatgcaag tacggtcgtt ttaggtttta ccaactgcgg ctaatctttt ttatactgag	720
cgtattggaa cgttatcgat aagaagagag cgtctaggcg aacaatgttc ttaaagtttg	780
acctcaaatc aggtaggagt acccgctgaa ctta	814

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種具有寄存編號KCCM12568P之產生麩胱甘肽之啤酒酵母菌 (*Saccharomyces cerevisiae*) 菌株。

【請求項2】 如請求項1所述的菌株，其中該菌株包括SEQ ID NO: 1的一核苷酸序列作為一18S rRNA序列。

【請求項3】 一種生產麩胱甘肽的方法，該方法包含培養請求項1的該菌株的步驟。

【請求項4】 如請求項3所述的方法，進一步包含下列步驟：由選自於經培養之該菌株、該菌株的一乾燥產物、該菌株的一萃取物、該菌株的一培養物以及該菌株的一溶解產物的一或多種材料收集麩胱甘肽。

【請求項5】 一種製備包括麩胱甘肽的一組成物的方法，該方法包含下列步驟：

培養請求項1的該菌株；以及

將一添加劑與選自於經培養之該菌株、該菌株的一乾燥產物、該菌株的一萃取物、該菌株的一培養物、該菌株的一溶解產物以及由其等所收集的麩胱甘肽的一或多種材料混合。

【請求項6】 如請求項5所述的方法，其中該添加劑包括一賦形劑或一乳化劑。

【請求項7】 如請求項5所述的方法，其中選自於經培養之該菌株、該菌株的一乾燥產物、該菌株的一萃取物、該菌株的一培養物、該菌株的一溶解產物以及由其等所收集的麩胱甘肽的一或多種材料的含量是基於該組成物的總重的3重量%至30重量%。

【請求項8】 一種用於抗氧化功能的組成物，該組成物包含選自於以下的一或多種材料：請求項1的該菌株；該菌株的一乾燥產物、該菌株的一萃取物、該菌株的一培養物，以及該菌株的一溶解產物；以及由該菌株、該乾燥產物、該萃取物、該培養物及該溶解產物的任何一或多者所收集的麩胱甘肽。

【請求項9】 一種用於解毒的組成物，該組成物包含選自於以下的一或多種材料：請求項1的該菌株；該菌株的一乾燥產物、該菌株的一萃取物、該菌株的一培養物，以及該菌株的一溶解產物；以及由該菌株、該乾燥產物、該萃取物、該培養物及該溶解產物的任何一或多者所收集的麩胱甘肽。

【請求項10】 一種用於免疫增強的組成物，該組成物包含選自於以下的一或多種材料：請求項1的該菌株；該菌株的一乾燥產物、該菌株的一萃取物、該菌株的一培養物，以及該菌株的一溶解產物；以及由該菌株、該乾燥產物、該萃取物、該培養物及該溶解產物的任何一或多者所收集的麩胱甘肽。

【請求項11】 一種用於化妝品的組成物，該組成物包含選自於以下的一或多種材料：請求項1的該菌株；該菌株的一乾燥產物、該菌株的一萃取物、該菌株的一培養物，以及該菌株的一溶解產物；以及由該菌株、該乾燥產物、該萃取物、該培養物及該溶解產物的任何一或多者所收集的麩胱甘肽。

【請求項12】 一種用於食物的組成物，該組成物包含選自於以下的一或多種材料：請求項1的該菌株；該菌株的一乾燥產物、該菌株的一萃取物、該菌株的一培養物，以及該菌株的一溶解產物；以及由該菌株、該乾燥產物、該萃取物、該培養物及該溶解產物的任何一或多者所收集的麩胱甘肽。

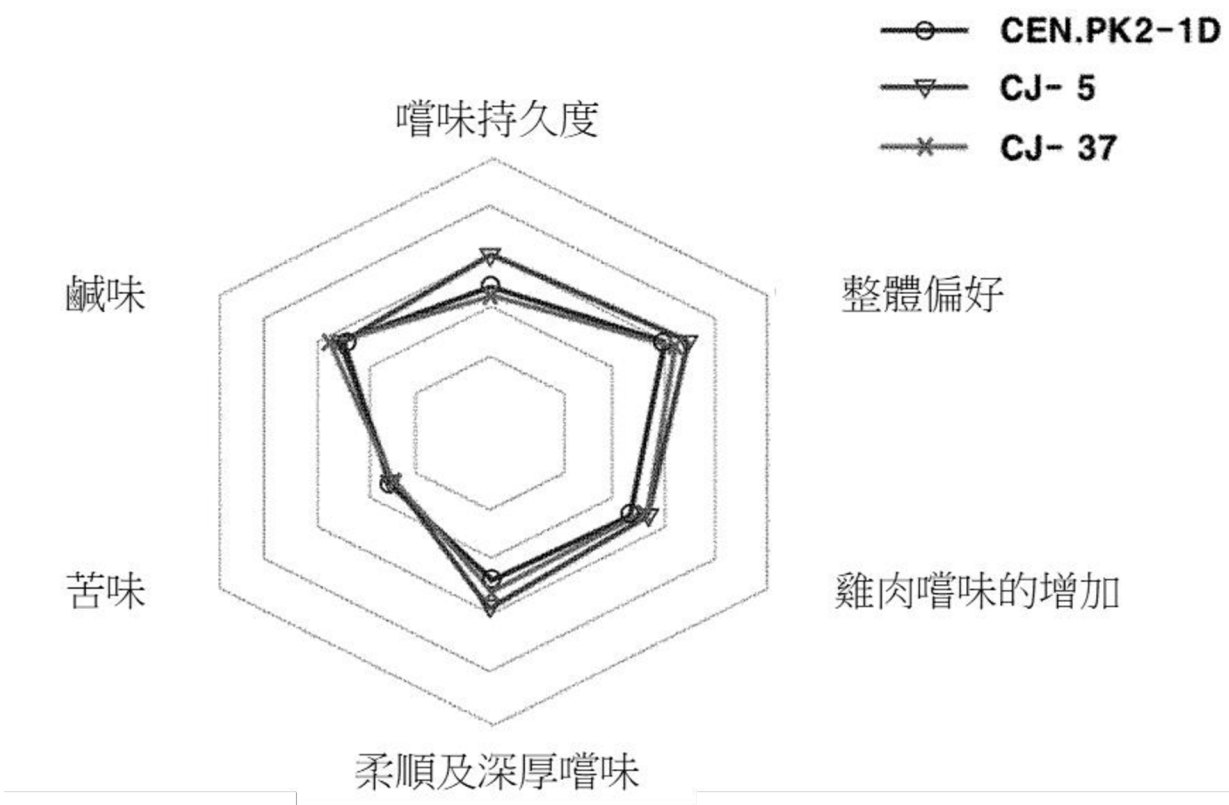
【請求項13】 一種用於飼料的組成物，該組成物包含選自於以下的一或多種材料：請求項1的該菌株；該菌株的一乾燥產物、該菌株的一萃取物、該菌株的

一培養物，以及該菌株的一溶解產物；以及由該菌株、該乾燥產物、該萃取物、該培養物及該溶解產物的任何一或多者所收集的麩胱甘肽。

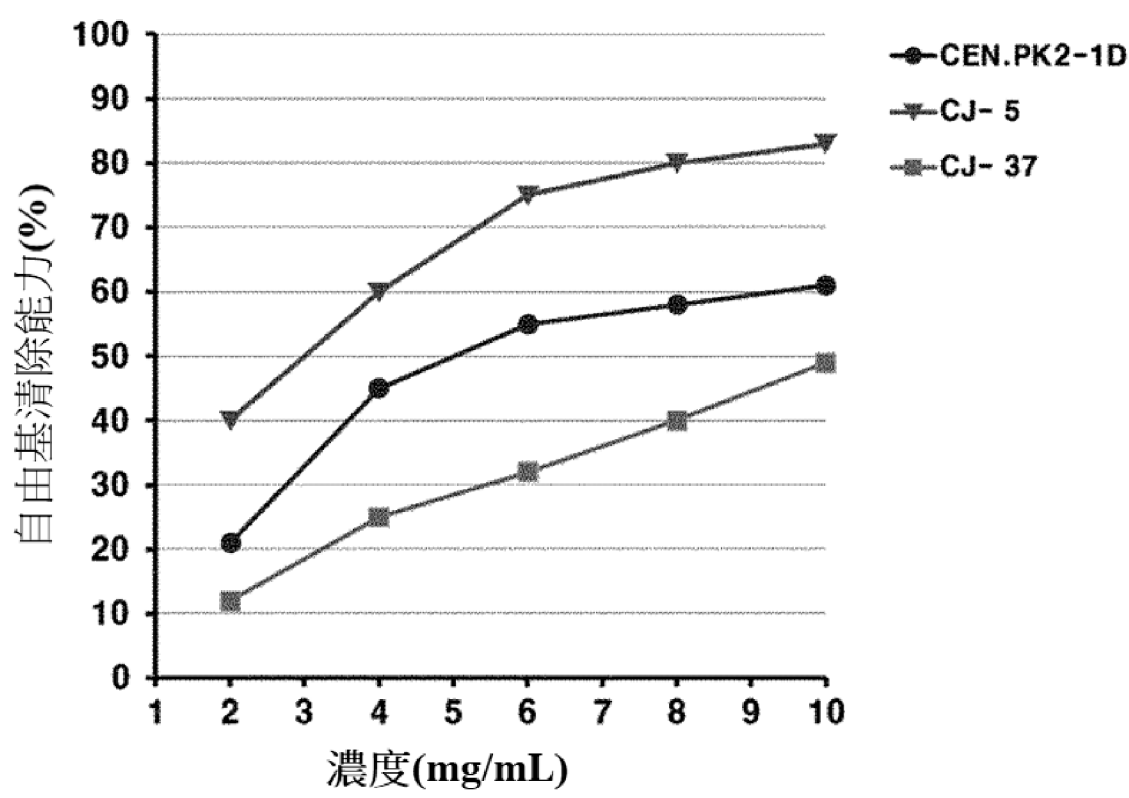
【請求項14】 一種用於製備一醫藥產物的組成物，該醫藥產物是用以預防或治療由缺乏麩胱甘肽所致的疾病，該組成物包含選自於以下的一或多種材料：請求項1的該菌株；該菌株的一乾燥產物、該菌株的一萃取物、該菌株的一培養物，以及該菌株的一溶解產物；以及由該菌株、該乾燥產物、該萃取物、該培養物及該溶解產物的任何一或多者所收集的麩胱甘肽。

【請求項15】 一種用於預防或治療由缺乏麩胱甘肽所致的疾病的藥學組成物，該組成物包含選自於以下的一或多種材料：請求項1的該菌株；該菌株的一乾燥產物、該菌株的一萃取物、該菌株的一培養物，以及該菌株的一溶解產物；以及由該菌株、該乾燥產物、該萃取物、該培養物及該溶解產物的任何一或多者所收集的麩胱甘肽。

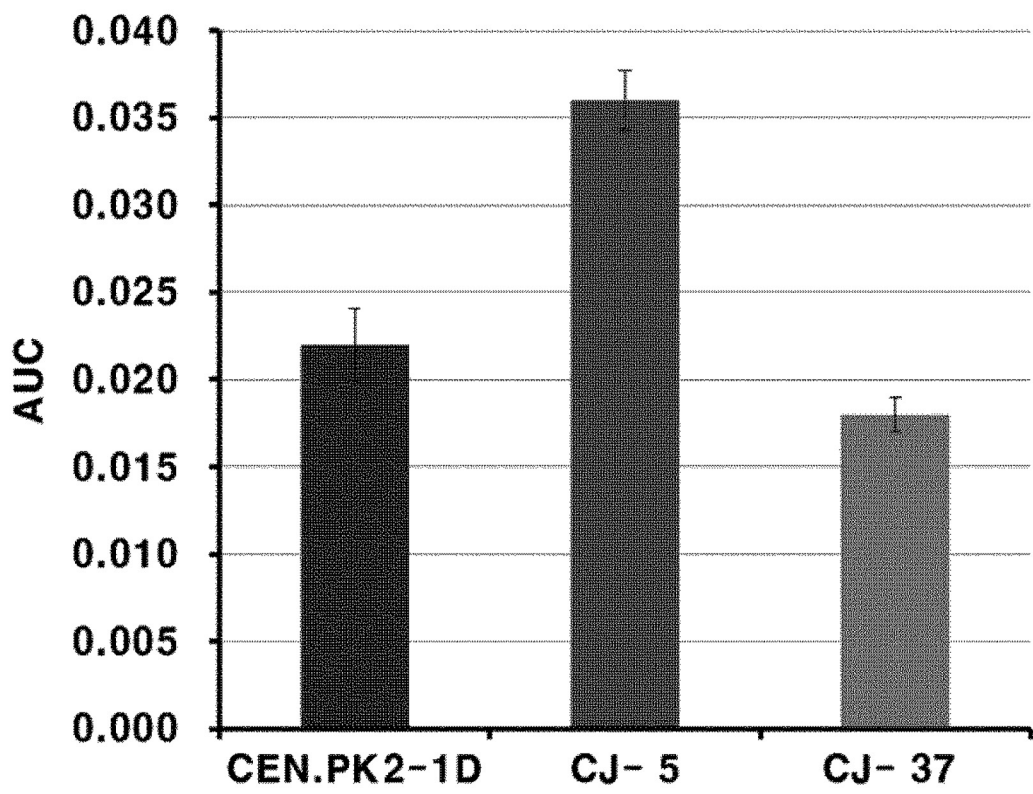
【發明圖式】



【圖1】



【圖2】



【圖3】