

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2023-519115
(P2023-519115A)

(43)公表日 令和5年5月10日(2023.5.10)

(51)国際特許分類		F I	テーマコード (参考)	
C 0 7 H	3/06 (2006.01)	C 0 7 H	3/06	3 L 1 1 3
F 2 6 B	17/02 (2006.01)	F 2 6 B	17/02	4 B 0 1 8
F 2 6 B	17/28 (2006.01)	F 2 6 B	17/28	A 4 C 0 5 7
A 2 3 L	33/125 (2016.01)	A 2 3 L	33/125	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全37頁)				
(21)出願番号	特願2022-550218(P2022-550218)	(71)出願人	508278309	
(86)(22)出願日	令和3年1月29日(2021.1.29)		グリコム・アクティーゼルスカブ	
(85)翻訳文提出日	令和4年10月19日(2022.10.19)		G l y c o m A / S	
(86)国際出願番号	PCT/IB2021/050703		デンマーク 2 9 7 0 ヘアスホルム、コウ	
(87)国際公開番号	WO2021/186258		レ・アレ 4 番	
(87)国際公開日	令和3年9月23日(2021.9.23)	(74)代理人	100107456	
(31)優先権主張番号	PA202070175		弁理士 池田 成人	
(32)優先日	令和2年3月20日(2020.3.20)	(74)代理人	100128381	
(33)優先権主張国・地域又は機関	デンマーク(DK)		弁理士 清水 義憲	
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(74)代理人	100162352	
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(		弁理士 酒巻 順一郎	
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A	(72)発明者	シャサーニュ, ピエール	
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR		デンマーク王国, 2 9 7 0 ヘアスホル	
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,		ム, コウレ アレ 4, グリコム・アク	
	最終頁に続く		ティーゼルスカブ, ケアオブ ディーエ	
			最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 固形のHMO製品を提供するための方法及びそれにより得られる固形のHMO製品

(57)【要約】

固形のHMO製品を提供するための様々な方法であって、ドラム乾燥、ベルト乾燥、好ましくは真空床乾燥又は造粒を含む様々な方法が提供される。固形のHMO製品は、前記方法及び固形のHMO製品自体を介して得られる。これらの方法は、他の方法を介して達成されるものと異なる固形のHMO製品を提供することができる。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖（HMO）、HMO 前駆体及び / 又は HMO 合成の副生成物を含む固形の HMO 製品を提供するためのプロセスであって、前記 1 種以上のヒトミルクオリゴ糖（HMO）、HMO 前駆体及び / 又は前記 HMO 合成の副生成物を含む水性組成物を、

- ベルト乾燥させる、好ましくは真空ベルト乾燥させる工程、
- ドラム乾燥させる工程、又は
- 造粒する工程

を含むプロセス。

10

【請求項 2】

前記水性組成物は、1 種以上の HMO 並びに任意選択的に HMO 前駆体及び / 又は HMO 合成の副生成物を含み、及び前記プロセスは、それにより、任意選択的に HMO 前駆体及び / 又は前記 HMO 合成の副生成物を含む 1 種以上の HMO を含む前記固形の HMO 製品を提供する、請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 3】

ベルト乾燥、好ましくは真空ベルト乾燥の工程を含む、請求項 1 又は 2 に記載のプロセス。

【請求項 4】

前記水性組成物を造粒して粒状組成物を形成する工程、その後、前記粒状組成物を乾燥させる工程を含む、請求項 1 又は 2 に記載のプロセス。

20

【請求項 5】

前記固形の HMO 製品を固形の HMO 粉末に粉砕する工程を更に含む、請求項 1 ~ 4 の何れか一項に記載のプロセス。

【請求項 6】

前記固形の HMO 粉末をふるいにかけて、且つ前記 HMO 粉末を少なくとも第 1 の HMO 粉末画分及び第 2 の HMO 粉末画分に分離する工程を更に含む、請求項 5 に記載のプロセス。

【請求項 7】

前記固形の HMO 製品は、前記固形の HMO 製品の総重量のパーセンテージとしておよそ 40 重量 % 以上、例えばおよそ 50 重量 % 以上、好ましくはおよそ 60 重量 % 以上の合成 HMO を含む、請求項 1 ~ 6 の何れか一項に記載のプロセス。

30

【請求項 8】

前記合成 HMO は、LNT、LNnT、2'-FL、3-FL、DFL、LNFP I、3'-SL、6'-SL、FSL、LST a、LST b 及び DS-LNT、好ましくは LNT、LNnT、2'-FL、3-FL、DFL、LNFP I、3'-SL 及び 6'-SL の 1 つ以上から選択される、請求項 1 ~ 7 の何れか一項に記載のプロセス。

【請求項 9】

前記水性組成物は、前記合成 HMO、HMO 前駆体及び / 又は HMO 合成の副生成物の水溶液又は水性懸濁液、好ましくは前記 1 種以上の合成 HMO、HMO 前駆体及び / 又は HMO 合成の副生成物の水溶液である、請求項 1 ~ 8 の何れか一項に記載のプロセス。

40

【請求項 10】

前記乾燥工程は、前記固形の HMO 製品中における 15 % 未満、好ましくは 10 % 未満、より好ましくは 7 % 未満、最も好ましくは 6 % 未満の含水率まで行われる、請求項 1 ~ 9 の何れか一項に記載のプロセス。

【請求項 11】

前記ドラム乾燥、ベルト乾燥、好ましくは真空ベルト乾燥又は造粒の工程前に、発酵、酵素反応又は合成反応により、前記 1 種以上の合成 HMO を生成する工程を更に含む、請求項 1 ~ 10 の何れか一項に記載のプロセス。

【請求項 12】

50

1 つ以上の精製工程は、前記ドラム乾燥、ベルト乾燥、好ましくは真空ベルト乾燥又は造粒の工程前に、HMO発酵ブロス、酵素反応環境又は合成反応混合物に対して実施される、請求項 11 に記載のプロセス。

【請求項 13】

前記発酵ブロス、酵素反応環境又は合成反応混合物に対して実施される前記 1 つ以上の精製工程は、

- 固形物質を除去する工程；
- 塩及び荷電分子を除去する工程；
- 非荷電又は非帯電物質を除去する工程；
- HMO前駆体及びノ又は副生成物を除去する工程；
- HMO混合物が生成される場合、HMOを分離する工程；
- 過剰の水を除去する工程

10

の 1 つ以上から選択される、請求項 12 に記載のプロセス。

【請求項 14】

前記 1 種以上の合成 HMO は、発酵によって生成され、及び前記発酵ブロスは、前記 1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (HMO) を含む水性組成物を調製するために更に処理される、請求項 1 ~ 13 の何れか一項に記載のプロセス。

【請求項 15】

a) 懸濁粒子及び汚染物質、特に細胞、細胞成分、不溶性代謝産物及び発酵プロセスからの残屑を除去するために前記ブロスを浄化する工程；その後、

20

b) 工程 a) において得られた前記水溶液から、前記その後の精製工程を妨害し得る実質的に全てのタンパク質と、ペプチド、アミノ酸、RNA 及び DNA 並びに任意の内毒素及び糖脂質とを除去する工程

を含む、請求項 13 又は 14 に記載のプロセス。

【請求項 16】

i) 限外濾過 (UF)、
 ii) ナノ濾過 (NF)、及び
 iii) イオン交換樹脂による処理
 を含む、請求項 15 に記載のプロセス。

【請求項 17】

30

前記 1 種以上の合成 HMO は、発酵によって生成され、発酵ブロスは、前記 1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (HMO) を含む前記水性組成物として、いかなる中間精製工程もなしにドラム乾燥機、ベルト乾燥機、好ましくは真空ベルト乾燥機又は造粒機に直接供給される、請求項 11 に記載のプロセス。

【請求項 18】

前記固形の HMO 製品は、1 種以上の非晶質の HMO、又は非晶質及び結晶質の HMO の混合物、又は結晶質の HMO を含む、請求項 1 ~ 17 の何れか一項に記載のプロセス。

【請求項 19】

請求項 1、2 又は 5 ~ 18 の何れか一項に記載のプロセスによって得られる、1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (HMO) を含む、ドラム乾燥された固形の HMO 製品。

40

【請求項 20】

請求項 1 ~ 3 又は 5 ~ 18 の何れか一項に記載のプロセスによって得られる、1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (HMO) を含む、ベルト乾燥、好ましくは真空ベルト乾燥された固形の HMO 製品。

【請求項 21】

請求項 1 又は 4 ~ 18 の何れか一項に記載のプロセスによって得られる、1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (HMO) を含む、造粒され、乾燥された固形の HMO 製品。

【請求項 22】

1 種以上のヒトミルクオリゴ糖 (HMO) を含む固形の HMO 製品であって、およそ 120 °C 又はそれを超えるガラス転移温度 (T_g) を有する固形の HMO 製品。

50

【請求項 23】

請求項 19 ~ 21 の何れか一項に記載の固形の HMO 製品を含む食品、特に栄養製剤、例えば乳幼児用栄養製剤。

【請求項 24】

所定の多形形態における結晶質の HMO を前記 HMO の水性組成物から生成するための方法であって、

- 任意選択的に、前記 HMO の前記水性組成物に前記所定の多形形態の前記 HMO のシード結晶を播種する工程、及び
- 前記水性組成物を 10 重量 / 重量 % 未満の含水率まで乾燥させ、それにより前記所定の多形形態における結晶質の HMO を生成する工程を含む方法。

10

【請求項 25】

前記 HMO の前記水性組成物は、45 ~ 90、例えば 60 ~ 80、好ましくは約 75 の Brix を有する、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記乾燥は、ベルト乾燥、好ましくは真空ベルト乾燥である、請求項 24 又は 25 に記載の方法。

【請求項 27】

前記 HMO は、2' - FL である、請求項 24 ~ 26 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 28】

前記多形形態は、多形体 II である、請求項 24 ~ 27 の何れか一項に記載の方法。

20

【請求項 29】

前記水性組成物は、前記 HMO を生成するための発酵プロセスからの発酵ブロスである、請求項 24 ~ 28 の何れか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

[技術分野]

固形の HMO 製品を提供するための様々な方法並びにそのような方法を介して得られる固形の HMO 製品及び新規な固形の HMO 製品自体が提供される。

【0002】

30

[背景]

ヒトミルクオリゴ糖 (HMO) は、ヒト母乳中に見出される可溶性グリカンの異種混合物である。それらは、ヒト母乳中のラクトース及び脂質に続く 3 番目に存在量の多い固形成分であり、5 ~ 25 g / l の濃度で存在する (Bode: Human milk oligosaccharides and their beneficial effects, in: Handbook of dietary and nutritional aspects of human breast milk (Zibadi et al., eds.), pp. 515 - 31, Wageningen Academic Publishers (2013))。

【0003】

40

ヒトミルクオリゴ糖 (HMO) は、ヒトの発達におけるそれらの重要な機能に起因して、過去数年間に極めて関心が高まってきた。現在まで、少なくとも 115 種の HMO の構造が決定されており (Urashima et al.: Milk Oligosaccharides, Nova Biomedical Books, New York, 2011, ISBN: 978 - 1 - 61122 - 831 - 1; Chen Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 72, 113 (2015) を参照されたい)、及びかなりより多くのものがおそらくヒト母乳中に存在する。少なくとも 115 種の HMO について、現在までに同定された 13 種のコア構造を表 1 に列挙する。

【0004】

50

【表 1】

番号	コアの名称	コアの構造
1	ラクトース (Lac)	Gal β 1-4Glc
2	ラクト- <i>N</i> -テトラオース (LNT)	Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc
3	ラクト- <i>N</i> -ネオテトラオース (LNnT)	Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc
4	ラクト- <i>N</i> -ヘキサオース (LNH)	Gal β 1-3GlcNAc β 1-3(Gal β 1-4GlcNAc β 1-6)Gal β 1-4Glc
5	ラクト- <i>N</i> -ネオヘキサオース (LNnH)	Gal β 1-4GlcNAc β 1-3(Gal β 1-4GlcNAc β 1-6)Gal β 1-4Glc
6	パラ-ラクト- <i>N</i> -ヘキサオース (パラ-LNH)	Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc
7	パラ-ラクト- <i>N</i> -ネオヘキサオース (パラ-LNnH)	Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc
8	ラクト- <i>N</i> -オクタオース (LNO)	Gal β 1-3GlcNAc β 1-3(Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-6)Gal β 1-4Glc
9	ラクト- <i>N</i> -ネオオクタオース (LNnO)	Gal β 1-4GlcNAc β 1-3(Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-6)Gal β 1-4Glc
10	イソ-ラクト- <i>N</i> -オクタオース (イソ-LNO)	Gal β 1-3GlcNAc β 1-3(Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-6)Gal β 1-4Glc
11	パラ-ラクト- <i>N</i> -オクタオース (パラ-LNO)	Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc
12	ラクト- <i>N</i> -ネオデカオース (LNnD)	Gal β 1-3GlcNAc β 1-3[Gal β 1-4GlcNAc β 1-3(Gal β 1-4GlcNAc β 1-6)Gal β 1-4GlcNAc β 1-6]Gal β 1-4Glc
13	ラクト- <i>N</i> -デカオース (LND)	Gal β 1-3GlcNAc β 1-3[Gal β 1-3GlcNAc β 1-3(Gal β 1-4GlcNAc β 1-6)Gal β 1-4GlcNAc β 1-6]Gal β 1-4Glc

10

20

表1.コアのHMO構造

【0005】

乳幼児用並びに場合により小児用及び成人用栄養製剤及び治療製剤におけるそれらの使用が世界中の研究者によって発見、開発及び活用され得るように、できる限り多くのHMOの工業量を製造するための低コストの方法が求められてきた。近年、少数のHMOは、高収率で化学的に合成されている一方、他の方法は、培養微生物を使用する発酵技術を使用している。国際公開第2013/185780号パンフレット及び同第2019/110800号パンフレットは、HMO及びHMOの混合物のスプレー乾燥を開示している。

【0006】

30

特定の結晶質のHMOは、冷凍せずに長期間にわたり貯蔵されると、相当に不安定であることが証明されている。それらは、融解する傾向を示し、それにより粘着性になり、集塊を形成する。

【0007】

したがって、それらを冷凍せずに、例えば最大で30℃又は更にそれを超える、好ましくは最大で40℃又は更にそれを超える温度で長期間にわたり貯蔵できるように、強化された安定性を備える固形のHMO製品を提供するための方法を提供することも本発明の目的である。

【0008】

[概要]

40

第1の態様では、本発明は、1種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖(HMO)、HMO前駆体及び/又はHMO合成の副生成物を含む固形のHMO製品を提供するための方法であって、前記1種以上のヒトミルクオリゴ糖(HMO)、HMO前駆体及び/又はHMO合成の副生成物を含む水性組成物をドラム乾燥させる工程を含む方法に関する。

【0009】

好ましくは、水性組成物は、1種以上のHMO並びに任意選択的にHMO前駆体及び/又はHMO合成の副生成物を含み、及び方法は、それにより、任意選択的にHMO前駆体及び/又はHMO合成の副生成物を含む1種以上のHMOを含む固形のHMO製品を提供する。

【0010】

50

第 2 の態様では、本発明は、1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖（HMO）、HMO 前駆体及び / 又は HMO 合成の副生成物を含む固形の HMO 製品を提供するための方法であって、前記 1 種以上のヒトミルクオリゴ糖（HMO）、HMO 前駆体及び / 又は HMO 合成の副生成物を含む水性組成物をベルト乾燥させる、好ましくは真空ベルト乾燥させる工程を含む方法に関する。

【0011】

好ましくは、水性組成物は、1 種以上の HMO 並びに任意選択的に HMO 前駆体及び / 又は HMO 合成の副生成物を含み、及び方法は、それにより、任意選択的に HMO 前駆体及び / 又は HMO 合成の副生成物を含む 1 種以上の HMO を含む固形の HMO 製品を提供する。

10

【0012】

第 3 の態様では、本発明は、1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖（HMO）、HMO 前駆体及び / 又は HMO 合成の副生成物を含む固形の HMO 製品を提供するための方法であって、前記 1 種以上のヒトミルクオリゴ糖（HMO）、HMO 前駆体及び / 又は HMO 合成の副生成物を含む水性組成物を造粒して粒状組成物を形成する工程、その後、前記粒状組成物を乾燥させる工程を含む方法に関する。

【0013】

好ましくは、水性組成物は、1 種以上の HMO 並びに任意選択的に HMO 前駆体及び / 又は HMO 合成の副生成物を含み、及び方法は、それにより、粒状組成物を乾燥させた後、任意選択的に HMO 前駆体及び / 又は HMO 合成の副生成物を含む 1 種以上の HMO を含む固形の HMO 製品を提供する。

20

【0014】

更に、本明細書に記載した方法によって得られる、1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖（HMO）を含む固形の HMO 製品が提供される。

【0015】

本明細書に記載した方法によって得られる、1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖（HMO）を含む、ドラム乾燥された、ベルト乾燥された、好ましくは真空ベルト乾燥された又は造粒された固形の HMO 製品も提供される。

【0016】

更に、1 種以上のヒトミルクオリゴ糖（HMO）を含む固形の HMO 製品であって、100 を超える、例えばおよそ 105 ~ およそ 160 、例えばおよそ 100 ~ 150 又はおよそ 120 ~ 140 のガラス転移温度（ T_g ）を有する固形の HMO 製品も提供される。これに関連して、用語「およそ」は、表示値からの + / - 2.5 の偏差を意味する。

30

【0017】

本明細書に記載した固形の HMO 製品を含む食品、特に栄養製剤、例えば乳幼児用栄養製剤も提供される。

【0018】

本発明の更なる特徴は、以下の説明、番号付けされた態様、実施例及び請求項から明らかである。

40

【図面の簡単な説明】

【0019】

【図 1】実施例 3 で得られる物質の XRPD スペクトルを示す。

【0020】

〔詳細な開示〕

他に特に規定しない限り、用語「およそ」は、表示値から 0.1% ~ 5%、例えば 0.1 ~ 2.5% 又は 0.1 ~ 1.0% 外れる数値であると定義されるべきである。

【0021】

上記のように、本技術は、固形の HMO 製品を提供するための 3 つの方法を提供する。固形の HMO 製品は、1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖（HMO）、HMO 前駆体及び

50

／又はＨＭＯ合成の副生成物を含む。好ましくは、固形のＨＭＯ製品は、１種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖（ＨＭＯ）を含み、前記１種以上のヒトミルクオリゴ糖（ＨＭＯ）を含む水性組成物を（様々な手段によって）乾燥させる工程を介して得られる。

【００２２】

第１の方法は、前記１種以上のヒトミルクオリゴ糖（ＨＭＯ）、ＨＭＯ前駆体及び／又はＨＭＯ合成の副生成物を含む水性組成物をドラム乾燥させる工程を含む。固形のＨＭＯ製品は、こうして得られる。

【００２３】

第２の方法は、前記１種以上のヒトミルクオリゴ糖（ＨＭＯ）、ＨＭＯ前駆体及び／又はＨＭＯ合成の副生成物を含む水性組成物をベルト乾燥させる、好ましくは真空ベルト乾燥させる工程を含む。固形のＨＭＯ製品は、こうして得られる。 10

【００２４】

第３の方法は、前記１種以上のヒトミルクオリゴ糖（ＨＭＯ）、ＨＭＯ前駆体及び／又はＨＭＯ合成の副生成物を含む水性組成物を造粒して粒状組成物を形成する工程、その後、前記粒状組成物を乾燥させる工程を含む。固形のＨＭＯ製品は、こうして得られる。

【００２５】

本明細書に記載した全ての方法は、１種以上のヒトミルクオリゴ糖（ＨＭＯ）、ＨＭＯ前駆体及び／又はＨＭＯ合成の副生成物を含む水性組成物を使用する。水性組成物は、ヒトミルクオリゴ糖（ＨＭＯ）、ＨＭＯ前駆体及び／又はＨＭＯ合成の副生成物の水性溶液又は水性懸濁液であり得、好ましくは、前記１種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖（ＨＭＯ）、ＨＭＯ前駆体及び／又はＨＭＯ合成の副生成物の水性溶液である。 20

【００２６】

水性組成物は、好適には、２種以上のＨＭＯ、例えば３種以上のＨＭＯ又は４種以上のＨＭＯを含む。水性組成物は、更に５種以上のＨＭＯを含み得る。ＨＭＯは、ＬＮＴ、ＬＮｎＴ、２'-ＦＬ、３'-ＦＬ、ＤＦＬ、ＬＮＦＰ、３'-ＳＬ、６'-ＳＬ、ＦＳＬ、ＬＳＴ a、ＬＳＴ b及びＤＳ-ＬＮＴからなる群から選択され得る。

【００２７】

水性組成物は、例えば、塩、ｐＨ調節剤又は可溶化剤等の追加の成分を含み得る。水性組成物のｐＨは、好適には、３～７、好ましくは４～６である。

【００２８】

それぞれの場合において、乾燥工程は、好適には、固形のＨＭＯ製品中における１５％未満、好ましくは１０％未満、より好ましくは７％未満、最も好ましくは６％未満の含水率まで行われる。 30

【００２９】

特定の一態様では、１種以上の合成ＨＭＯは、前記乾燥工程前に発酵によって生成される。

【００３０】

好適には、この態様によると、１つ以上の精製工程は、前記乾燥工程前に、ＨＭＯ発酵プロス、酵素反応環境又は合成反応混合物に対して実施される。発酵プロス、酵素反応環境又は合成反応混合物に対して実施される精製工程は、 40

- 例えば、発酵物質（タンパク質及びＤＮＡ等）又は酵素反応物質（タンパク質）等のＨＭＯ合成環境から固形物質を除去する工程；
- 塩及び荷電分子（小さいＤＮＡ断片、有機酸、ペプチド等）を除去する工程；
- 非荷電又は非常電物質（例えば、脂質、多糖類、例えば内毒素、発酵からの着色剤）を除去する工程；
- ＨＭＯ前駆体及び／又は副生成物を除去する工程；
- ＨＭＯ混合物が生成される場合、ＨＭＯを分離する工程；
- 過剰の水を除去する工程

の１つ以上から選択され得る。

【００３１】

態様では、前記 1 種以上の合成 H M O は、発酵によって生成され、及び発酵ブ罗斯は、前記 1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (H M O) を含む水性組成物を調製するために更に処理される。

【 0 0 3 2 】

一実施形態では、特に、乾燥工程がベルト乾燥、好ましくは本出願において開示した真空ベルト乾燥である場合、発酵ブ罗斯は、乾燥前に、

a) 懸濁粒子及び汚染物質、特に細胞、細胞成分、不溶性代謝産物及び発酵プロセスからの残屑を除去するためにブ罗斯を浄化する工程；その後、

b) 工程 a) において得られた水溶液から、その後の精製工程を妨害し得る実質的に全てのタンパク質並びにペプチド、アミノ酸、R N A 及び D N A 、任意の内毒素及び糖脂質を除去する工程

10

によって処理される。

【 0 0 3 3 】

工程 a) では、ブ罗斯は、従来する方法において、例えば遠心又は濾過によって浄化される。好ましくは、水性媒体は、最初に凝集され、次に任意の残留している不溶性粒子及び汚染物質並びに細胞及び細胞成分、不溶性代謝産物及び残屑を除去するために遠心又は濾過される。

【 0 0 3 4 】

工程 b) では、タンパク質及び関連する不純物は、例えば、限外濾過、ナノ濾過、接線流高性能濾過、接線流限外濾過、アフィニティークロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、ゲル濾過、サイズ排除クロマトグラフィー及び / 又は活性炭処理により、事前に従来する方法で得られた水性媒体から除去される。活性炭処理は、必要に応じて、着色剤及び / 又は例えば塩等の水溶性汚染物質を除去するか、又は少なくともそれらの量を減少させるのに役立つ。イオン交換クロマトグラフィーは、例えば、塩、着色体、タンパク質、アミノ酸、脂質及び D N A 等の荷電分子を効率的に除去する。

20

【 0 0 3 5 】

したがって、本方法は、乾燥、好ましくはベルト乾燥、より好ましくは真空ベルト乾燥前に、任意の順序で発酵ブ罗斯の以下の分離 / 精製工程：

i) 限外濾過 (U F) 、

30

i i) ナノ濾過 (N F) 、及び

i i i) イオン交換樹脂による処理

を更に含み得る。

【 0 0 3 6 】

有利には、工程 i) は、工程 i i) 前に実施される。より有利には、工程 i) は、工程 i i) 及び i i i) の何れかの前に実施される。好ましくは、本方法は、工程 i) 後に工程 i i) が続き、工程 i i) 後に工程 i i i) が続く順序で実施される。本方法は、U F 、 N F 又はイオン交換樹脂処理後に活性炭処理を更に含み得る。

【 0 0 3 7 】

関心対象の一態様では、1 種以上の合成 H M O は、発酵によって生成され、及び発酵ブ罗斯は、前記 1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (H M O) を含む水性組成物として、いかなる中間精製工程もなしにドラム乾燥機に直接供給される。

40

【 0 0 3 8 】

水性組成物の H M O 含量及び溶液又はスラリーが形成されるかどうかは、対象の H M O の可溶性に左右される。

【 0 0 3 9 】

典型的には、2 ' - F L について、最少濃度は、B r i x 5 0 であると推定される。好ましくは、本プロセスは、飽和溶液 (例えば、B r i x 5 8 ~ 6 5) 上で実行されるであろうが、更に、過飽和準安定溶液又は水性スラリー (8 5 % までの乾燥物質) 上で実行されることも推測され得る。

50

【 0 0 4 0 】

[合成ヒトミルクオリゴ糖 (H M O)]

本技術において言及したヒトミルクオリゴ糖は、合成であり、即ちインビトロ又はインビボでの化学的若しくは生化学的プロセスによって生成される。本方法及び本製品において使用される合成 H M O は、L N T、L N n T、2' - F L、3 - F L、D F L、L N F P I、3' - S L、6' - S L、F S L、L S T a、L S T b 及び D S - L N T、好ましくは L N T、L N n T、2' - F L、3 - F L、D F L、L N F P I、3' - S L 及び 6' - S L の 1 種以上から選択され得る。

【 0 0 4 1 】

合成 H M O は、中性又は酸性 (シアリル化) であり得る。

10

【 0 0 4 2 】

用語「中性ヒトミルクオリゴ糖」は、ヒト母乳中に見出される (U r a s h i m a e t a l . : M i l k o l i g o s a c c h a r i d e s , N o v a B i o m e d i c a l B o o k s , 2 0 1 1 ; C h e n A d v . C a r b o h y d r . C h e m . B i o c h e m . 7 2 , 1 1 3 (2 0 1 5))、a) 1 つ又は 2 つの α - L - フコピラノシル部分で置換されているか、b) ガラクトシル残基で置換されているか、又は c) N - アセチルグルコサミン部分、ラクト - N - ピオース (G a l β 1 - 3 G l c N A c) 部分若しくは N - アセチルラクトサミン (G a l β 1 - 4 G l c N A c) 部分により 3' - O H 基を介して伸長されている、還元末端においてラクトース単位であるコア構造を含む、非シアリル化 (したがって中性) 複合炭水化物を意味する。N - アセチルラクトサミン含有誘導体は、N - アセチルラクトサミン及び / 又はラクト - N - ピオース (ラクト - N - ピオースは、常に非還元末端である) で更に置換され得る。N - アセチルラクトサミン含有誘導体及びラクト - N - ピオース含有誘導体は、1 つ以上の α - L - フコピラノシル部分で任意選択的に置換され得る。

20

【 0 0 4 3 】

中性の三糖 H M O の例としては、2' - O - フコシルラクトース (2' - F L、F u c α 1 - 2 G a l β 1 - 4 G l c)、3 - O - フコシルラクトース (3 - F L、G a l β 1 - 4 (F u c α 1 - 3) G l c) 又はラクト - N - トリオース I I (G l c N A c β 1 - 3 G a l β 1 - 4 G l c) が挙げられ；中性の四糖 H M O の例としては、2' , 3 - ジ - O - フコシルラクトース (D F L、F u c α 1 - 2 G a l β 1 - 4 (F u c α 1 - 3) G l c)、ラクト - N - テトラオース (L N T、G a l β 1 - 3 G l c N A c β 1 - 3 G a l β 1 - 4 G l c) 又はラクト - N - ネオテトラオース (L N n T、G a l β 1 - 4 G l c N A c β 1 - 3 G a l β 1 - 4 G l c) が挙げられ；中性の五糖 H M O の例としては、ラクト - N - フコペンタオース I (L N F P I、F u c α 1 - 2 G a l β 1 - 3 G l c N A c β 1 - 3 G a l β 1 - 4 G l c)、ラクト - N - フコペンタオース I I (L N F P I I、G a l β 1 - 3 (F u c α 1 - 4) G l c N A c β 1 - 3 G a l β 1 - 4 G l c)、ラクト - N - フコペンタオース I I I (L N F P I I I、G a l β 1 - 4 (F u c α 1 - 3) G l c N A c β 1 - 3 G a l β 1 - 4 G l c)、ラクト - N - フコペンタオース V (L N F P V、G a l β 1 - 3 G l c N A c β 1 - 3 G a l β 1 - 4 (F u c α 1 - 3) G l c)、ラクト - N - フコペンタオース V I (L N F P V I、G a l β 1 - 4 G l c N A c β 1 - 3 G a l β 1 - 4 (F u c α 1 - 3) G l c) が挙げられ；中性の六糖 H M O の例としては、ラクト - N - ジフコヘキサオース I (L N D F H I、F u c α 1 - 2 G a l β 1 - 3 (F u c α 1 - 4) G l c N A c β 1 - 3 G a l β 1 - 4 G l c)、ラクト - N - ジフコヘキサオース I I (L N D F H I I、G a l β 1 - 3 (F u c α 1 - 4) G l c N A c β 1 - 3 G a l β 1 - 4 (F u c α 1 - 3) G l c)、ラクト - N - ジフコヘキサオース I I I (L N D F H I I I、G a l β 1 - 4 (F u c α 1 - 3) G l c N A c β 1 - 3 G a l β 1 - 4 (F u c α 1 - 3) G l c)、ラクト - N - ヘキサース (L N H、G a l β 1 - 3 G l c N A c β 1 - 3 (G a l β 1 - 4 G l c N A c β 1 - 6) G a l β 1 - 4 G l c)、パラ - ラクト - N - ヘキサオース (p L N H、G a l β 1 - 3 G l c N A c β 1 - 3 G a l β 1 - 4 G l c N A c β 1 - 3 G a l β 1 - 4 G l c)

30

40

50

、ラクト - N - ネオヘキサオース (L N n H、G a l β 1 - 4 G l c N A c β 1 - 3 (G a l β 1 - 4 G l c N A c β 1 - 6) G a l β 1 - 4 G l c) 又はパラ - ラクト - N - ネオヘキサオース (p L N n H、G a l β 1 - 4 G l c N A c β 1 - 3 G a l β 1 - 4 G l c N A c β 1 - 3 G a l β 1 - 4 G l c) が挙げられる。

【 0 0 4 4 】

用語「シアリル化ヒトミルクオリゴ糖」は、1つ以上の β - N - アセチル - ラクトサミニル単位及び/又は1つ以上の β - ラクト - N - ピオシル単位により伸長され得る、還元末端においてラクトース単位であるコア構造を含み、このコア構造は、 α - N - アセチル - ノイラミニル (シアリル) 部分により置換され、任意選択的に α L - フコピラノシル部分により置換され得る、ヒト母乳中に見出されるシアリル化複合炭水化物を意味する (U r a s h i m a e t a l . : M i l k o l i g o s a c c h a r i d e s , N o v a B i o m e d i c a l B o o k s , 2 0 1 1 ; C h e n A d v . C a r b o h y d r . C h e m . B i o c h e m . 7 2 , 1 1 3 (2 0 1 5)) 。これに関して、酸性 H M O は、それらの構造中に少なくとも1つのシアリル残基を有する。

10

【 0 0 4 5 】

酸性 H M O の例としては、3' - シアリルラクトース (3' - S L)、6' - シアリルラクトース (6' - S L)、3 - フコシル - 3' - シアリルラクトース (F S L)、L S T a、フコシル - L S T a (F L S T a)、L S T b、フコシル - L S T b (F L S T b)、L S T c、フコシル - L S T c (F L S T c)、シアリル - L N H (S L N H)、シアリル - ラクト - N - ヘキサオース (S L N H)、シアリル - ラクト - N - ネオヘキサオース I (S L N H - I)、シアリル - ラクト - N - ネオヘキサオース II (S L N H - I I) 及びジシアリル - ラクト - N - テトラオース (D S - L N T) が挙げられる。

20

【 0 0 4 6 】

酵素的に生成された H M O の様々な混合物は、参照により組み込まれる、以前の特許出願の国際公開第 2 0 1 6 / 1 9 9 0 7 1 号パンフレット、同第 2 0 1 7 / 2 2 1 2 0 8 号パンフレット、同第 2 0 1 7 / 1 0 3 8 5 0 号パンフレット、同第 2 0 1 6 / 1 5 7 1 0 8 号パンフレット、同第 2 0 1 6 / 0 6 3 2 6 2 号パンフレットに記載されている。

【 0 0 4 7 】

任意の利用できる方法によって合成された H M O の任意の人工的ブレンドも本発明の範囲内に含まれる。

30

【 0 0 4 8 】

[H M O 前駆体]

本発明に関連して、用語「H M O 前駆体」は、本発明に従った1種以上の H M O の生合成経路に包含されている化合物であって、宿主細胞内で生成され、且つ天然に存在するか又は細胞外培地から細胞内に持ち込まれる化合物を指す。H M O 前駆体の幾つかの非限定的な例を下記に列挙する。

【 0 0 4 9 】

【表 2】

前駆体:	生成物:
UDP-GlcNAc	LNT, LNnT, LNFP-I, LNFP-II, LNFP-III, LNFP-V, LNFP-VI, LNDFH-I, LNDFH-II, pLNH, F-pLNH I, 3'-SL, 6'-SL, pLNnH, (F)LST a, (F)LST b, (F)LST c, (F)LST d
UDP-Gal	LNT, LNnT, LNFP-I, LNFP-II, LNFP-III, LNFP-V, LNFP-VI, LNDFH-I, LNDFH-II, pLNH, F-pLNH I, pLNnH, LST a, LST b, LST c, LST d
GDP-フコース	LNFP-I, LNFP-II, LNFP-III, LNFP-V, LNFP-VI, LNDFH-I, LNDFH-II, F-pLNH I, 2'-FL, 3-FL, DFL, FLST a, FLST b, FLST c, FLST d

40

50

【 0 0 5 0 】

前駆体としては、ラクトース、フコース、シアル酸及びそれらの誘導体も挙げられる。幾つかの実施形態では、前駆体は、HMO発酵の副生成物であり得る。

【 0 0 5 1 】

[HMO合成の副生成物]

用語「副生成物」は、関心対象のHMO以外の発酵中に形成される炭水化物又は炭水化物様構造を意味する。例えば、2'-FLの発酵では、2'-FL以外のフコシル化炭水化物、例えばDFLは、重量で2:8~1:9のDFL/2'-FL比における高力価水性発酵プロセス中の副生成物として見出され得る。水溶液中の2'-FL以外のフコシル化炭水化物は、ラクトースのガラクトース部分（例えば、3-O-フコシルラクトース、3-FLをもたらず部分）における、 α -1,2-フコシル化以外の、欠損性、欠陥性若しくは損傷したフコシル化又は培養条件下若しくは発酵後作用下での2'-FLのフコース移動、マルチフコシル化、好ましくはジフコシル化されたラクトースからのフコース加水分解の結果として、発酵中に形成され得る任意の他のモノフコシル化ラクトースであり得る。そのような他のフコシル化ラクトースは、培養条件下でのラクトースの過剰フコシル化の結果として形成され得るマルチフコシル化、好ましくはジフコシル化されたラクトースでもあり得る。ジフコシル化ラクトースは、好ましくは、2'-FLの発酵による生成中に形成される特徴的な副生成物としての2,2'-ジ-O-フコシルラクトース又は2',3-ジ-O-フコシルラクトース（DFL）、特にDFLである。この水溶液は、2'-O-フコシルラクツロース、ラクトース、ラクツロース、フコース、グルコース、ガラクトース等のような炭水化物様汚染物質も含有し得る。これらの汚染物質は、発酵中又は発酵後の精製/単離工程中、例えば再配列（例えば、2'-O-フコシルラクツロース、ラクツロース）若しくは加水分解（例えば、フコース、グルコース、ガラクトース、ラクトース）によって形成され得るか、又は発酵中に添加される未消費遊離体若しくは成分（例えば、炭素源としてのグルコース）であり得る。これらの汚染物質は、典型的には、乾燥させるために意図される所望のHMOの水溶液中で1~2重量/重量%（個別に）又は5~7重量/重量%（まとめて）以下の濃度にある。水溶液は、典型的には、15重量/重量%まで、好ましくは10重量/重量%まで、より好ましくは5重量/重量%以下、特に1重量/重量%以下のHMO前駆体、例えば発酵プロセスに添加された未使用の受容体としてのラクトースを更に含有し得る。

【 0 0 5 2 】

シアリル化又は中性非フコシル化HMOのような他のHMO構造の発酵副生成物のスペクトルは、前駆体及び副生成物のスペクトルが、一般に、HMOを生成するために使用される酵素の所望のHMO構造及び基質特異性に左右されるため、フコシル化HMO発酵の副生成物のスペクトルと相違するであろう。1つのHMOが所望のHMOであり、他方のHMOが、幾つかの選択された酵素を用いて所望のHMOの発酵において生成され得る「副生成物」である、HMO及びHMO混合物の非限定的な例を下記の表2に提示する。

【 0 0 5 3 】

10

20

30

40

50

【表 3】

酵素/遺伝子	HMOの例
β -1,3-N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ/ <i>lgtA</i>	LNT, LNnT, LNFP-I, LNFP-II, LNFP-III, LNFP-V, LNFP-VI, LNDFH-I, LNDFH-II, pLNH, F-pLNH I, pLNnH
β -1,4-ガラクトシルトランスフェラーゼ/ <i>galT</i>	LNnT, LNFP-III, LNFP-VI, pLNH, F-pLNH I, pLNnH
β -1,3-ガラクトシルトランスフェラーゼ/ <i>cpsIBJ</i>	LNT, LNFP-I, LNFP-II, LNFP-V, LNDFH-I, LNDFH-II, pLNH, F-pLNH I
α -1,3-フコシルトランスフェラーゼ/ <i>MAMA_R764</i>	2'-FL, 3-FL, DFL, LNFP-I, LNFP-III, LNFP-V, LNFP-VI, LNDFH-II, F-pLNH I
α -1,3-フコシルトランスフェラーゼ/ <i>Mg791</i>	2'-FL, 3-FL, DFL, LNFP-I, LNFP-III, LNFP-V, LNFP-VI, LNDFH-II, F-pLNH I
α -1,3-フコシルトランスフェラーゼ/ <i>Moumou_00703</i>	2'-FL, 3-FL, DFL, LNFP-I, LNFP-III, LNFP-V, LNFP-VI, LNDFH-II, F-pLNH I
α -1,3-フコシルトランスフェラーゼ/ <i>futA</i>	2'-FL, 3-FL, DFL, LNFP-I, LNFP-III, LNFP-V, LNFP-VI, LNDFH-II, F-pLNH I
α -1,2-フコシルトランスフェラーゼ/ <i>futC</i>	2'-FL, DFL, LNFP-I, LNDFH-I
α -1,3-フコシルトランスフェラーゼ/ <i>fucT</i>	2'-FL, 3-FL, DFL, LNFP-I, LNFP-III, LNFP-V, LNFP-VI, LNDFH-II, F-pLNH I
α -1,4-フコシルトランスフェラーゼ/ <i>fucTIII</i>	LNDFH-I, LNDFH-II
α -1,3/4-フコシルトランスフェラーゼ/	LNFP-II, LNDFH-I, LNDFH-II
CMP-Neu5Acシンターゼ/ <i>neuA</i>	3'-SL, 6'-SL
シアル酸シンターゼ/ <i>neuB</i>	3'-SL, 6'-SL
GlcNAc-6-ホスフェート-2-エピメラーゼ/ <i>neuC</i>	3'-SL, 6'-SL

表2.

【 0 0 5 4 】

幾つかの実施形態では、用語「前駆体」及び「副生成物」は、同じ分子に関し得る。

【 0 0 5 5 】

[ドラム 乾燥]

ドラム乾燥は、1種以上のヒトミルクオリゴ糖（HMO）、HMO前駆体及び／又はHMO合成の副生成物を含む水性組成物を大型ドラムの加熱面上に配置する工程を包含する技術である。ドラムが回転する間に水が蒸発する。ドクターブレードは、ドラム表面から乾燥させた生成物を擦り落とすために使用される。

【 0 0 5 6 】

一構成では、ドラム乾燥機は、1つ以上のアプリーケーターローラーを含む。水性組成物は、アプリーケーターローラー間の間隙及び／又はアプリーケーターローラーと乾燥ドラムとの間の間隙に配置される。アプリーケーターローラーを伴わないドラム乾燥機の他の構成がある。例えば、ドラム乾燥機は、組成物を加熱ドラムに適用するために、ディップフィー

【 0 0 5 7 】

したがって、一態様では、ドラム乾燥の工程において使用されるドラム乾燥機は、いかなるアプリーケーターローラーも含まない。別の態様では、ドラム乾燥の工程において使用されるドラム乾燥機は、二重ドラム乾燥機である。

【 0 0 5 8 】

ドラム乾燥機は、単一ドラム（1つの加熱ドラムを備える）又は二重ドラム（2つの加熱ドラムを備え、ここで、乾燥される組成物は、加熱ドラム間の間隙内に送り込まれる）であり得る。

【 0 0 5 9 】

10

20

30

40

50

本技術は、それらが還元圧で作動するため、高温に関連する問題を有利に回避できる真空ドラム乾燥機を包含する。真空ドラム乾燥機は、典型的には、 $20 \sim 60 \text{ mbar}$ の圧力で作動し、生成物を低温（ $40 \sim 120$ 、好ましくは $60 \sim 90$ ）に暴露させることを可能にする。より低い温度で作動することの他に、真空ドラム乾燥機は、（それらが閉環境内で作動するために）より衛生的でもあり、場合により乳児用食品製造のためにより好適である。したがって、好適には、ドラム乾燥の工程で使用されるドラム乾燥機は、真空ドラム乾燥機である。

【0060】

ドラム乾燥機を使用する乾燥は、固形のHMO製品中における15%未満、好ましくは10%未満、より好ましくは7%未満、最も好ましくは6%未満、例えば2~3%の含水率まで行われる。 10

【0061】

当業者は、固形のHMO製品の所望の特性（例えば、含水率、微粉度）を得るために、ドラム乾燥機の作動パラメータを調整することができる。例えば、ドラム乾燥は、大気圧において100から160~170、より好ましくは110~170、一層より好ましくは110~140又は120~160の温度で行われ得る。加熱ドラムは、通常、 0.3 rpm ~数（即ち2~5又は更に9~10） rpm の速度で回転し、数秒から20~180秒の加熱ドラムの表面上の水性組成物の滞留時間を提供する。驚くべきことに、HMOの有意な分解又は着色は、100を超える温度とともに大気圧で回転するドラム乾燥機で認められなかった。 20

【0062】

[ベルト乾燥、真空ベルト乾燥]

ベルト乾燥機では、大部分が湿っている生成物は、ベルト乾燥機の送り込みチャンバー内へのワイヤーメッシュベルト上に均等に広げられる。大多数のベルト乾燥機は、生成物を乾燥セクションに通して搬送する水平位置にあるワイヤーメッシュベルトを有する。ガス流又は気流は、乾燥セクションを通して湿性製品の上方を循環する。乾燥機内の各セクションには、熱交換器又はプロセスオペレーターが各セクションを個別に制御することを可能にする換気扇の何れかを装備することができる。ベルト乾燥機は、少なくとも1つの侵入点（送り込みヘッド）、製品を空気透過性のための多孔性ワイヤーメッシュベルト上に輸送するためのコンベヤーベルト及び出力のための排出端を含む。ベルト乾燥機は、気流と連動して製品を通過させるか、又は製品の上方を流れさせて製品を乾燥させる。 30

【0063】

真空ベルト乾燥機は、真空下で作動するベルト乾燥機である。真空ベルト乾燥機は、その上に水性組成物が配置され、そこで水が熱と低圧との組み合わせを使用して排出されるベルトを含む。ベルトは、典型的には、放射を介して伝熱を提供する、ベルトの上方又は下方に配列された加熱板によって加熱される。

【0064】

本技術において使用される真空ベルト乾燥機は、様々な温度帯域、例えば少なくとも2つ又は少なくとも3つの温度帯域を含み得る。各温度帯域における作動温度は、典型的には、第1温度帯域から第2及びそれ以降の温度帯域に低下する。 40

【0065】

再び、当業者は、所望の特性を得るために、真空ベルト乾燥機の作動パラメータを調整することができる。真空ベルト乾燥は、 $90 \sim 160$ 、好ましくは $110 \sim 140$ の温度（加熱板の温度）及び $10 \sim 30 \text{ mbar}$ の圧力で行うことができる。真空ベルト乾燥させる場合、水性組成物は、典型的には、ベルト上で20~25分間の滞留時間を有する。真空ベルト乾燥機への水性組成物の送り込み流速は、典型的には、 $150 \sim 180 \text{ g/分}$ である。

【0066】

ベルト乾燥、好ましくは真空ベルト乾燥は、適用される高温及び長い滞留時間にも関わらず、HMOの熱分解及び/又はHMOの組成における任意の他の望ましくない変化を引 50

き起こさない、驚くべき効果的な工業用乾燥方法である。これは、穏やかな乾燥方法（実施例を参照されたい）であることが公知である凍結乾燥を用いた比較試験において証明されている。

【 0 0 6 7 】

[乾燥が後に続く造粒]

造粒技術の概要は、Salman et al. Handbook of Powder Technology vol. 11, Granulation, Elsevier 2006の中に見出される。造粒は、粉末状又は固形物質から粒子又は顆粒を生成して、粒状物質を形成するプロセスである。典型的には、造粒は、それらのその後の使用に依存して、典型的には0.2 ~ 4.0 mmのサイズ範囲の大きい顆粒への微細粒子の凝集を包 10

【 0 0 6 8 】

高剪断造粒機は、一般に、2つのクラス、即ち水平軸型及び垂直軸型に分類され、連続作動式又はバッチ作動式であり得る。高剪断造粒機は、粉末を強力に攪拌し、インペラーを使用して高密度顆粒を生成する。それらは、一般に、高粘度のバインダー流体及び微細な凝集性粉体を含む困難な供給調製物を取り扱うそれらの能力に起因して、製薬、農薬及び工業界において見出される。インペラーは、造粒のために必要とされる攪拌をもたらすために、垂直軸又は水平軸何れかの上で高速（100 ~ 1500 rpm）で回転する。典型的には、チョッパーと呼ばれる第2の小型インペラーが使用される。これは、より高速（約1500 rpm）で回転する。高剪断造粒機へのバインダーの添加は、液体スプレー 20

【 0 0 6 9 】

造粒のために、流動床も使用され得る。流動床造粒は、特に、高熱及び質量移動を使用することにより、湿潤化、乾燥、サイズ拡大、成形及び均質化又は分離のような多数のプロセスを単一工程のプロセスに統合することにより、噴霧化可能な液体（例えば、懸濁液、溶液、エマルジョン又は融液）を自由流動の粒状固体に転換させる場合、極めて一般的である。

【 0 0 7 0 】

別の造粒プロセスは、押し出し造粒法（E - S）である。E - Sは、半固体の湿性粉末塊を、多数の穴を特徴とする単一のダイ、一連のダイ又はスクリーンに通して球状又は円筒状ペレットを押し出し、次に粉砕して回転摩擦板上で押し出し物を丸める工程によって製造するために使用される。 30

【 0 0 7 1 】

回転ドラム造粒機は、回転運動を受けている湿性粒子床における衝突によってサイズ拡大が達成される、最も広汎に使用されている造粒設備装置の1つである。回転ドラムは、最も単純な連続式造粒装置であり、肥料の造粒及び鉄鉱石の球形化において広汎に使用されている。

【 0 0 7 2 】

造粒は、水溶液上で実施することができ；そのような場合、固形の乾燥させた担体が必要とされる（例えば、以前のバッチからのHMO製品）。好適には、造粒工程は、大気圧下で70 ~ 150 の温度において又は真空（50 ~ 100 mbar）下で30 ~ 100 の温度において行われる。 40

【 0 0 7 3 】

造粒工程及び乾燥工程は、例えば、流動床装置等の同じ装置で実施され得る。したがって、造粒プロセスは、流動床造粒又は押し出し（E - S）造粒法であり得る。好適には、造粒工程は、湿性造粒である。

【 0 0 7 4 】

[固形のHMO製品]

好適には、本発明の固形のHMO製品は、固形のHMO製品の総重量のパーセンテージとしておよそ40重量%以上、例えばおよそ50重量%以上、好ましくはおよそ60重量 50

%以上の合成HMOを含む。

【0075】

合成HMOの一部の結晶化は、濃縮工程に起因して、乾燥中に発生した可能性がある。したがって、固形のHMO製品は、非晶質の固形のHMO製品若しくは結晶質の固形のHMO製品又は非晶質及び結晶質の固形のHMO製品の混合物であり得る。

【0076】

[追加の方法工程]

本明細書に提供した一般的方法は、固形のHMO製品上で実施される追加の方法工程；即ち後乾燥によって補完することができる。

【0077】

一態様では、本明細書に記載した方法は、固形のHMO製品を固形のHMO粉末に粉碎する工程を更に含む。粉碎は、例えば、インパクトミル、ボールミル、強制ふるい機又はジェットミル等の使用されるミルのタイプに依存して、様々な粒径分布(D90)を備える固形のHMO粉末を提供することができる。別の態様として、本方法は、固形のHMO粉末をふるいにかけて、且つHMO粉末を少なくとも第1のHMO粉末画分及び第2のHMO粉末画分に分離する工程を更に含み得る。ふるいかけは、使用されるふるいのタイプに依存して、粒径分布(D90)を備えるHMO粉末画分を提供することができる。ふるいかけ及び分類は、任意の顧客の要件に適應させることができる。食品安全予測から、最大1mm、好ましくは0.5~0.7mmのふるいかけが必要とされるであろう。

【0078】

[食品]

固形のHMO製品は、食品、特に栄養製剤、例えば乳幼児用栄養製剤においても製剤化され得る。

【0079】

固形のHMO製品を含む栄養製剤は、食品、飲料又は飼料であり得る。栄養製剤は、食用微量栄養素、ビタミン類及びミネラル類を同様に含有し得る。そのような成分の量は、栄養製剤が、健常者、健常乳幼児、小児、成人又は特殊な必要(例えば、代謝障害に罹患している)を有する対象とともに使用することが意図されるかどうかによって依存して変動する可能性がある。微量栄養素としては、例えば、食用の油、脂肪又は脂肪酸(例えば、ヤシ油、大豆油、モノグリセリド、ジグリセリド、パームオレイン、ヒマワリ油、魚油、リノール酸、リノレン酸等)、炭水化物(例えば、グルコース、フルクトース、スクロース、マルトデキストリン、デンプン、加水分解コーンスターチ等)及びカゼイン、大豆、ホエイ若しくはスキムミルク由来のタンパク質又はこれらのタンパク質の加水分解物が挙げられるが、しかし、他の起源(インタクト又は加水分解の何れか)からのタンパク質も同様に使用され得る。ビタミン類は、ビタミンA、B1、B2、B5、B6、B12、C、D、E、H、K、葉酸、イノシトール及びニコチン酸からなる群から選択され得る。栄養製剤は、以下のミネラル類及び微量元素：Ca、P、K、Na、Cl、Mg、Mn、Fe、Cu、Zn、Se、Cr又はIを含有し得る。

【0080】

好ましい実施形態では、栄養製剤は、乳幼児用栄養製剤である。乳幼児用栄養製剤は、生後4~6カ月中の乳幼児による特定の栄養利用を目的とし、乳幼児の栄養所要量を単独で満たす食物を意味する。乳幼児用栄養製剤は、1種以上のプロバイオティクスのビフィドバクテリウム(Bifidobacterium)種、フルクトオリゴ糖及びガラクトオリゴ糖等のプレバイオティクス、カゼイン、大豆、ホエイ又はスキムミルク由来のタンパク質、例えばラクトース、サッカロース、マルトデキストリン、デンプン又はそれらの混合物等の炭水化物、脂質(例えば、パームオレイン、ヒマワリ油、紅花油)並びに日々の食生活において必須であるビタミン類及びミネラル類を含有し得る。乳幼児用調製粉乳は、0.1~3.0g/100g(調製粉乳)の総量で固形のHMO製品を含有する。

【0081】

別の好ましい実施形態では、栄養製剤は、固形のHMO製品を含む食品サプリメントで

10

20

30

40

50

あり得る。食品サプリメントは、個体、好ましくは小児及び成人において所望の作用を達成するために十分な量の１種以上のプロバイオティクスを含み得る。食品サプリメントは、ビタミン類、ミネラル類、微量元素及び他の微量栄養素も同様に含有し得る。食品サプリメントは、例えば、錠剤、カプセル剤、トローチ剤又は液剤の形態であり得る。サプリメントは、バインダー、コーティング剤、乳化剤、可溶化剤、カプセル封入剤、フィルム形成剤、吸着剤、担体、充填剤、分散剤、湿潤化剤、ゼリー化剤、ゲル形成剤等から選択されるが、それらに限定されない従来型添加剤を含有し得る。固形のＨＭＯ製品の１日量の範囲は、０．１～３．０ｇである。

【００８２】

下記では、番号付けした本発明の態様を提供する：

10

態様１．１種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖（ＨＭＯ）、ＨＭＯ前駆体及び／又はＨＭＯ合成の副生成物を含む固形のＨＭＯ製品を提供するための方法であって、前記１種以上のヒトミルクオリゴ糖（ＨＭＯ）、ＨＭＯ前駆体及び／又はＨＭＯ合成の副生成物を含む水性組成物をドラム乾燥させる工程を含む方法。

【００８３】

態様２．固形のＨＭＯ製品を固形のＨＭＯ粉末に粉砕する工程を更に含む、態様１に記載の方法。

【００８４】

態様３．固形のＨＭＯ粉末をふるいにかけて、且つＨＭＯ粉末を少なくとも第１のＨＭＯ粉末画分及び第２のＨＭＯ粉末画分に分離する工程を更に含む、態様２に記載の方法。

20

【００８５】

態様４．固形のＨＭＯ製品は、固形のＨＭＯ製品の総重量のパーセンテージとしておよそ４０重量％以上、例えばおよそ５０重量％以上、好ましくはおよそ６０重量％以上の合成ＨＭＯを含む、態様１～３の何れか１つに記載の方法。

【００８６】

態様５．合成ＨＭＯは、ＬＮＴ、ＬＮｎＴ、２'-ＦＬ、３'-ＦＬ、ＤＦＬ、ＬＮＦＰⅠ、３'-ＳＬ、６'-ＳＬ、ＦＳＬ、ＬＳＴ_a、ＬＳＴ_b及びＤＳ-ＬＮＴ、好ましくはＬＮＴ、ＬＮｎＴ、２'-ＦＬ、３'-ＦＬ、ＤＦＬ、ＬＮＦＰⅠ、３'-ＳＬ及び６'-ＳＬの１つ以上から選択される、態様１～４の何れか１つに記載の方法。

【００８７】

30

態様６．水性組成物は、前記１種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖（ＨＭＯ）、ＨＭＯ前駆体及び／又はＨＭＯ合成の副生成物の水溶液又は水性懸濁液、好ましくは前記１種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖（ＨＭＯ）、ＨＭＯ前駆体及び／又はＨＭＯ合成の副生成物の水溶液である、態様１～５の何れか１つに記載の方法。

【００８８】

態様７．水性組成物は、２種以上のＨＭＯ、例えば３種以上のＨＭＯ又は４種以上のＨＭＯを含む、態様１～６の何れか１つに記載の方法。

【００８９】

態様８．水性組成物は、好ましくは、ＬＮＴ、ＬＮｎＴ、２'-ＦＬ、３'-ＦＬ、ＤＦＬ、ＬＮＦＰⅠ、３'-ＳＬ、６'-ＳＬ、ＦＳＬ、ＬＳＴ_a、ＬＳＴ_b及びＤＳ-ＬＮＴからなる群から選択される５種以上のＨＭＯを含む、態様１～７の何れか１つに記載の方法。

40

【００９０】

態様９．ドラム乾燥工程は、大気圧で１００～１６０の温度、好ましくは１１０～１４０の温度において行われる、態様１～８の何れか１つに記載の方法。

【００９１】

態様１０．前記ドラム乾燥工程において、水性組成物は、ドラム上で２０～１８０秒間の滞留時間を有する、態様１～９の何れか１つに記載の方法。

【００９２】

態様１１．前記ドラム乾燥工程前に、発酵、酵素反応又は合成反応により、前記１種以

50

上の合成 HMO を生成する工程を更に含む、態様 1 ~ 10 の何れか 1 つに記載の方法。

【0093】

態様 12 . 1 つ以上の精製工程は、前記ドラム乾燥工程前に、HMO 発酵ブロス、酵素反応環境又は合成反応混合物に対して実施される、態様 11 に記載の方法。

【0094】

態様 13 . 発酵ブロス、酵素反応環境又は合成反応混合物に対して実施される前記 1 つ以上の精製工程は、

- 固形物質を除去する工程；
- 塩及び荷電分子を除去する工程；
- 非荷電又は非常電物質を除去する工程；
- HMO 前駆体及びノ又は副生成物を除去する工程；
- HMO 混合物が生成される場合、HMO を分離する工程；
- 過剰の水を除去する工程

10

の 1 つ以上から選択される、態様 12 に記載の方法。

【0095】

態様 14 . 前記 1 種以上の合成 HMO は、発酵によって生成され、及び発酵ブロスは、前記 1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (HMO) を含む水性組成物を調製するために更に処理される、態様 11 ~ 13 の何れか 1 つに記載の方法。

【0096】

態様 15 . a) 懸濁粒子及び汚染物質、特に細胞、細胞成分、不溶性代謝産物及び発酵プロセスからの残屑を除去するためにブロスを浄化する工程；その後、
b) 工程 a) において得られた水溶液から、その後の精製工程を妨害し得る実質的に全てのタンパク質並びにペプチド、アミノ酸、RNA 及び DNA 並びに任意の内毒素及び糖脂質を除去する工程

20

を含む、態様 13 又は態様 14 に記載の方法。

【0097】

態様 16 . i) 限外濾過 (UF)、
ii) ナノ濾過 (NF)、及び
iii) イオン交換樹脂による処理
を含む、態様 15 に記載の方法。

30

【0098】

態様 17 . 1 種以上の合成 HMO は、発酵によって生成され、発酵ブロスは、前記 1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (HMO) を含む水性組成物として、いかなる中間精製工程もなしにドラム乾燥機に直接供給される、態様 11 に記載の方法。

【0099】

態様 18 . 乾燥工程は、固形の HMO 製品中における 15 % 未満、好ましくは 10 % 未満、より好ましくは 7 % 未満、最も好ましくは 6 % 未満の含水率まで行われる、態様 1 ~ 態様 17 の何れか 1 つに記載の方法。

【0100】

態様 19 . ドラム乾燥の工程で使用されるドラム乾燥機は、いかなるアプリケーションローラーも含まない、態様 1 ~ 18 の何れか 1 つに記載の方法。

40

【0101】

態様 20 . ドラム乾燥の工程で使用されるドラム乾燥機は、二重ドラム乾燥機である、態様 1 ~ 19 の何れか 1 つに記載の方法。

【0102】

態様 21 . ドラム乾燥の工程で使用されるドラム乾燥機は、真空ドラム乾燥機である、態様 1 ~ 19 の何れか 1 つに記載の方法。

【0103】

態様 22 . 態様 1 ~ 21 の何れか 1 つの方法によって得られる、1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (HMO) を含む、ドラム乾燥された固形の HMO 製品。

50

【 0 1 0 4 】

態様 2 3 . 1 種以上のヒトミルクオリゴ糖 (H M O) を含む固形の H M O 製品であって、 1 2 0 超のガラス転移温度 (T_g) を有する固形の H M O 製品。

【 0 1 0 5 】

態様 2 4 . 固形の H M O 製品は、 1 種以上の非晶質の H M O 、又は非晶質及び結晶質の H M O の混合物、又は結晶質の H M O を含む、態様 2 2 ~ 2 3 の何れか 1 つに記載の固形の H M O 製品。

【 0 1 0 6 】

態様 2 5 . 態様 2 1 ~ 2 3 の何れか 1 つに記載の固形の H M O 製品を含む食品、特に栄養製剤、例えば乳幼児用栄養製剤。

10

【 0 1 0 7 】

態様 2 6 . 1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (H M O) 、 H M O 前駆体及び / 又は H M O 合成の副生成物を含む固形の H M O 製品を提供するための方法であって、前記 1 種以上のヒトミルクオリゴ糖 (H M O) 、 H M O 前駆体及び / 又は H M O 合成の副生成物を含む水性組成物をベルト乾燥させる、好ましくは真空ベルト乾燥させる工程を含む方法。

【 0 1 0 8 】

態様 2 7 . 固形の H M O 製品を固形の H M O 粉末に粉砕する工程を更に含む、態様 2 6 に記載の方法。

【 0 1 0 9 】

態様 2 8 . 固形の H M O 粉末をふるいにかけて、且つ H M O 粉末を少なくとも第 1 の H M O 粉末画分及び第 2 の H M O 粉末画分に分離する工程を更に含む、態様 2 7 に記載の方法。

20

【 0 1 1 0 】

態様 2 9 . 固形の H M O 製品は、固形の H M O 製品の総重量のパーセンテージとしておよそ 4 0 重量 % 以上、例えばおよそ 5 0 重量 % 以上、好ましくはおよそ 6 0 重量 % 以上の合成 H M O を含む、態様 2 6 ~ 2 8 の何れか 1 つに記載の方法。

【 0 1 1 1 】

態様 3 0 . 合成 H M O は、 L N T 、 L N n T 、 2 ' - F L 、 3 - F L 、 D F L 、 L N F P I 、 3 ' - S L 、 6 ' - S L 、 F S L 、 L S T a 、 L S T b 及び D S - L N T 、好ましくは L N T 、 L N n T 、 2 ' - F L 、 3 - F L 、 D F L 、 L N F P I 、 3 ' - S L 及び 6 ' - S L の 1 つ以上から選択される、態様 2 6 ~ 2 9 の何れか 1 つに記載の方法。

30

【 0 1 1 2 】

態様 3 1 . 水性組成物は、前記 1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (H M O) 、 H M O 前駆体及び / 又は H M O 合成の副生成物の水溶液又は水性懸濁液、好ましくは前記 1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (H M O) 、 H M O 前駆体及び / 又は H M O 合成の副生成物の水溶液である、態様 2 6 ~ 3 0 の何れか 1 つに記載の方法。

【 0 1 1 3 】

態様 3 2 . 水性組成物は、 2 種以上の H M O 、例えば 3 種以上の H M O 又は 4 種以上の H M O を含む、態様 2 6 ~ 3 1 の何れか 1 つに記載の方法。

【 0 1 1 4 】

態様 3 3 . 水性組成物は、 L N T 、 L N n T 、 2 ' - F L 、 3 - F L 、 D F L 、 L N F P I 、 3 ' - S L 、 6 ' - S L 、 F S L 、 L S T a 、 L S T b 及び D S - L N T からなる群からの好ましくは 5 種以上の H M O を含む、態様 2 6 ~ 3 2 の何れか 1 つに記載の方法。

40

【 0 1 1 5 】

態様 3 4 . 真空ベルト乾燥機は、 9 0 ~ 1 6 0 の温度、好ましくは 1 1 0 ~ 1 4 0 の温度及び 1 0 ~ 3 0 m b a r の圧力で作動する、態様 2 6 ~ 3 3 の何れか 1 つに記載の方法。

【 0 1 1 6 】

態様 3 5 . 前記ベルト乾燥、好ましくは真空ベルト乾燥の工程前に、発酵、酵素反応又

50

は合成反応により、前記１種以上の合成ＨＭＯを生成する工程を更に含む、態様２６～３４の何れか１つに記載の方法。

【０１１７】

態様３６．１つ以上の精製工程は、前記ベルト乾燥、好ましくは真空ベルト乾燥の工程前に、ＨＭＯ発酵ブロス、酵素反応環境又は合成反応混合物に対して実施される、態様３５に記載の方法。

【０１１８】

態様３７．発酵ブロス、酵素反応環境又は合成反応混合物に対して実施される前記１つ以上の精製工程は、

- 固形物質を除去する工程；
- 塩及び荷電分子を除去する工程；
- 非荷電又は非常電物質を除去する工程；
- ＨＭＯ前駆体及び／又は副生成物を除去する工程；
- ＨＭＯ混合物が生成される場合、ＨＭＯを分離する工程；
- 過剰の水を除去する工程

の１つ以上から選択される、態様３６に記載の方法。

【０１１９】

態様３８．前記１種以上の合成ＨＭＯは、発酵によって生成され、及び発酵ブロスは、前記１種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖（ＨＭＯ）を含む水性組成物を調製するために更に処理される、態様３５～３７の何れか１つに記載の方法。

【０１２０】

態様３９．ａ）懸濁粒子及び汚染物質、特に細胞、細胞成分、不溶性代謝産物及び発酵プロセスからの残屑を除去するためにブロスを浄化する工程；その後、

ｂ）工程ａ）において得られた水溶液から、その後の精製工程を妨害し得る実質的に全てのタンパク質並びにペプチド、アミノ酸、ＲＮＡ及びＤＮＡ並びに任意の内毒素及び糖脂質を除去する工程

を含む、態様３７又は態様３８に記載の方法。

【０１２１】

態様４０．ｉ）限外濾過（ＵＦ）、

ｉｉ）ナノ濾過（ＮＦ）、及び

ｉｉｉ）イオン交換樹脂による処理

を含む、態様３９に記載の方法。

【０１２２】

態様４１．１種以上の合成ＨＭＯは、発酵によって生成され、及び発酵ブロスは、前記１種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖（ＨＭＯ）を含む水性組成物として、いかなる中間精製工程もなしにベルト乾燥機、好ましくは真空ベルト乾燥機に直接供給される、態様３５に記載の方法。

【０１２３】

態様４２．乾燥工程は、固形のＨＭＯ製品中における１５％未満、好ましくは１０％未満、より好ましくは７％未満、最も好ましくは６％未満の含水率まで行われる、態様２６～４１の何れか１つに記載の方法。

【０１２４】

態様４３．真空ベルト乾燥機は、少なくとも３つの温度帯域を含む、態様２６～４２の何れか１つに記載の方法。

【０１２５】

態様４４．態様２６～４３の何れか１つの方法によって得られる、１種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖（ＨＭＯ）を含む、ベルト乾燥、好ましくは真空ベルト乾燥された固形のＨＭＯ製品。

【０１２６】

態様４５．１種以上のヒトミルクオリゴ糖（ＨＭＯ）を含む固形のＨＭＯ製品であって

10

20

30

40

50

、 100 を超える、例えばおよそ 105 ~ およそ 160 、例えばおよそ 100 ~ 150 又はおよそ 120 ~ 140 等のガラス転移温度 (T_g) を有する固形の HMO 製品。

【0127】

態様 46 . 固形の HMO 製品は、1 種以上の非晶質の HMO、又は非晶質及び結晶質の HMO の混合物、又は結晶質の HMO を含む、態様 44 ~ 45 の何れか 1 つに記載の固形の HMO 製品。

【0128】

態様 47 . 態様 44 ~ 46 の何れか 1 つに記載の固形の HMO 製品を含む、食品、特に栄養製剤、例えば乳幼児用栄養製剤。

10

【0129】

態様 48 . 1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (HMO)、HMO 前駆体及び / 又は HMO 合成の副生成物を含む固形の HMO 製品を提供するための方法であって、前記 1 種以上のヒトミルクオリゴ糖 (HMO)、HMO 前駆体及び / 又は HMO 合成の副生成物を含む水性組成物を造粒して粒状組成物を形成する工程、その後、前記粒状組成物を乾燥させる工程を含む方法。

【0130】

態様 49 . 造粒工程は、湿性造粒である、態様 48 に記載の方法。

【0131】

態様 50 . 造粒工程及び乾燥工程は、同じ装置内で実施される、態様 48 ~ 49 の何れか 1 つに記載の方法。

20

【0132】

態様 51 . 固形の HMO 製品を固形の HMO 粉末に粉砕する工程を更に含む、態様 48 ~ 50 の何れか 1 つに記載の方法。

【0133】

態様 52 . 固形の HMO 粉末をふるいにかけて、且つ HMO 粉末を少なくとも第 1 の HMO 粉末分画及び第 2 の HMO 粉末分画に分離する工程を更に含む、態様 51 に記載の方法。

【0134】

態様 53 . 固形の HMO 製品は、固形の HMO 製品の総重量のパーセンテージとしておよそ 40 重量%以上、例えばおよそ 50 重量%以上、好ましくはおよそ 60 重量%以上の合成 HMO を含む、態様 48 ~ 52 の何れか 1 つに記載の方法。

30

【0135】

態様 54 . 合成 HMO は、LNT、LNnT、2'-FL、3-FL、DFL、LNFP I、3'-SL、6'-SL、FSL、LST a、LST b 及び DS-LNT、好ましくは LNT、LNnT、2'-FL、3-FL、DFL、LNFP I、3'-SL 及び 6'-SL の 1 つ以上から選択される、態様 48 ~ 53 の何れか 1 つに記載の方法。

【0136】

態様 55 . 水性組成物は、前記 1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (HMO)、HMO 前駆体及び / 又は HMO 合成の副生成物の水溶液又は水性懸濁液、好ましくは前記 1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (HMO)、HMO 前駆体及び / 又は HMO 合成の副生成物の水溶液である、態様 48 ~ 54 の何れか 1 つに記載の方法。

40

【0137】

態様 56 . 水性組成物は、2 種以上の HMO、例えば 3 種以上の HMO 又は 4 種以上の HMO を含む、態様 48 ~ 55 の何れか 1 つに記載の方法。

【0138】

態様 57 . 水性組成物は、好ましくは、LNT、LNnT、2'-FL、3-FL、DFL、LNFP I、3'-SL、6'-SL、FSL、LST a、LST b 及び DS-LNT からなる群からの 5 種以上の HMO を含む、態様 48 ~ 56 の何れか 1 つに記載の方法。

50

【 0 1 3 9 】

態様 5 8 . 造粒工程は、大気圧で 7 0 ~ 1 5 0 の温度において行われる、態様 4 8 ~ 5 7 の何れか 1 つに記載の方法。

【 0 1 4 0 】

態様 5 9 . 前記造粒は、流動床造粒又は押し出し造粒法 (E - S) による造粒である、態様 4 8 ~ 5 8 の何れか 1 つに記載の方法。

【 0 1 4 1 】

態様 6 0 . 前記造粒の工程前に、発酵、酵素反応又は合成反応により、前記 1 種以上の合成 H M O を生成する工程を更に含む、態様 4 8 ~ 5 9 の何れか 1 つに記載の方法。

【 0 1 4 2 】

態様 6 1 . 1 つ以上の精製工程は、前記造粒の工程前に、H M O 発酵ブロス、酵素反応環境又は合成反応混合物に対して実施される、態様 6 0 に記載の方法。

【 0 1 4 3 】

態様 6 2 . 発酵ブロス、酵素反応環境又は合成反応混合物に対して実施される前記 1 つ以上の精製工程は、

- 固形物質を除去する工程；
- 塩及び荷電分子を除去する工程；
- 非荷電又は非帯電物質を除去する工程；
- H M O 前駆体及び / 又は副生成物を除去する工程；
- H M O 混合物が生成される場合、H M O を分離する工程；
- 過剰の水を除去する工程

の 1 つ以上から選択される、態様 6 1 に記載の方法。

【 0 1 4 4 】

態様 6 3 . 前記 1 種以上の合成 H M O は、発酵によって生成され、及び発酵ブロスは、前記 1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (H M O) を含む水性組成物を調製するために更に処理される、態様 4 8 ~ 6 2 の何れか 1 つに記載の方法。

【 0 1 4 5 】

態様 6 4 . a) 懸濁粒子及び汚染物質、特に細胞、細胞成分、不溶性代謝産物及び発酵プロセスからの残屑を除去するためにブロスを浄化する工程；その後、
b) 工程 a) において得られた水溶液から、その後の精製工程を妨害し得る実質的に全てのタンパク質並びにペプチド、アミノ酸、R N A 及び D N A 並びに任意の内毒素及び糖脂質を除去する工程
を含む、態様 6 2 又は態様 6 3 に記載の方法。

【 0 1 4 6 】

態様 6 5 . i) 限外濾過 (U F) 、
i i) ナノ濾過 (N F) 、及び
i i i) イオン交換樹脂による処理
を含む、態様 6 4 に記載の方法。

【 0 1 4 7 】

態様 6 6 . 前記 1 種以上の合成 H M O は、発酵によって生成され、発酵ブロスは、前記 1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (H M O) を含む水性組成物として、いかなる中間精製工程もなしに造粒機に直接供給される、態様 6 3 に記載の方法。

【 0 1 4 8 】

態様 6 7 . 造粒及び乾燥工程は、固形の H M O 製品中における 1 5 % 未満、好ましくは 1 0 % 未満、より好ましくは 7 % 未満、最も好ましくは 6 % 未満の含水率まで行われる、態様 4 8 ~ 態様 6 6 の何れか 1 つに記載の方法。

【 0 1 4 9 】

態様 6 8 . 態様 4 8 ~ 6 7 の何れか 1 つの方法によって得られる、1 種以上の合成ヒトミルクオリゴ糖 (H M O) を含む、造粒され、乾燥された固形の H M O 製品。

【 0 1 5 0 】

10

20

30

40

50

態様 69 . 1 種以上のヒトミルクオリゴ糖 (H M O) を含む固形の H M O 製品であって、およそ 120 又はそれを超えるガラス転移温度 (T_g) を有する固形の H M O 製品。

【 0 1 5 1 】

態様 70 . 固形の H M O 製品は、1 種以上の非晶質の H M O、又は非晶質及び結晶質の H M O の混合物、又は結晶質の H M O を含む、態様 68 ~ 69 の何れか 1 つに記載の固形の H M O 製品。

【 0 1 5 2 】

態様 71 . 態様 68 ~ 70 の何れか 1 つに記載の固形の H M O 製品を含む、食品、特に栄養製剤、例えば乳幼児用栄養製剤。

【 0 1 5 3 】

態様 72 . 所定の多形形態における結晶質の H M O を前記 H M O の水性組成物から生成するための方法であって、

- 任意選択的に、前記 H M O の前記水性組成物に前記所定の多形形態の前記 H M O のシード結晶を播種する工程、及び
- 前記水性組成物を 10 重量 / 重量 % 未満の含水率に乾燥させ、それにより前記所定の多形形態における結晶質の H M O を生成する工程

を含む方法。

【 0 1 5 4 】

態様 73 . 前記 H M O の水性組成物は、45 ~ 90、好ましくは 60 ~ 80、好ましくは約 75 の B r i x を有する、態様 72 に記載の方法。

【 0 1 5 5 】

態様 74 . 乾燥は、ベルト乾燥、好ましくは真空ベルト乾燥である、態様 72 又は態様 73 に記載の方法。

【 0 1 5 6 】

態様 75 . H M O は、2' - F L である、態様 72 ~ 74 の何れか 1 つに記載の方法。

【 0 1 5 7 】

態様 76 . 多形形態は、多形体 I I である、態様 72 ~ 75 の何れか 1 つに記載の方法。

【 0 1 5 8 】

態様 77 . 水性組成物は、前記 H M O を生成するための発酵プロセスからの発酵ブロスである、態様 72 ~ 76 の何れか 1 つに記載の方法。

【 0 1 5 9 】

本技術について、多数の態様及び実施形態を参照して記載してきた。これらの態様及び実施形態は、当業者によって必要に応じて組み合わせることができるが、添付の請求項によって規定されるように、本発明の範囲内に残る。詳細には、本明細書に記載した方法に関連する特徴は、方法の特徴が固形の H M O 製品自体における識別可能な相違を生じさせる程度まで、固形の H M O 製品にも適用することができる。

【 0 1 6 0 】

[実施例]

[真空ベルト乾燥]

[実施例 1]

2' - F L 含有ブロスを、L a c Z⁻、L a c Y⁺ 表現型の遺伝子改変大腸菌 (E . c o l i) 株を使用する発酵により生成し、前記株は、G D P - フコースのフコースを内在化ラクトースに転移させ得る α - 1, 2 - フコシルトランスフェラーゼ酵素をコードする組み換え遺伝子と、G D P - フコースへの生合成経路をコードする遺伝子とを含む。

【 0 1 6 1 】

この発酵を、外部から添加したラクトースと好適な炭素源との存在下でこの株を培養することにより実施すると、それにより発酵ブロス中の主要な炭水化物不純物としての D F L 及び未反応のラクトースを伴う 2' - F L が生成された。

【 0 1 6 2 】

10

20

30

40

50

ブロスは、pH 3.6 に pH 調整し、限外濾過（15 kD、Kerasesep Ceramic 膜）を受けさせた。UF 浸透液を更に濃縮し、NF（Trisep UA 60 膜）によって透析濾過し、その後、脱塩及び変色についてイオン交換体によって処理した。イオン交換体は、弱塩基性アニオン交換樹脂（Dowex 66）に接続した強酸性カチオン交換樹脂（Dowex 88）である。処理した生成物は、活性炭（CPG-LF 20×40）によって更に脱色し、その後、ナノ濾過及び真空蒸発によって濃縮した。生成物は、スプレー乾燥によって乾燥させるか、又は国際公開第 2016/095924 号パンフレットに記載されたように酢酸を用いて結晶化させることができる。スプレー乾燥の場合、最終組成物は、発酵ブロス内に含有された炭水化物不純物（ラクトース、DFL）を含むであろう。

10

【0163】

2'-FL 溶液（Brinx 58）は、60 において、スプレー乾燥させた / 結晶質粉末（比率 2 : 1）を溶解させることにより調製した。生じた溶液は、NaOH を用いて pH 4.2 に調整した。こうして得られた溶液の一部分をフリーズドライした一方、別の部分は、乾燥した固体を得るために、真空ベルト乾燥機のパイロット装置（ZWAG、スイス国、20 mbar、加熱帯域 1、130、加熱帯域 2、120、加熱帯域 3、90、冷却帯域 30、滞留時間 20 分間、供給流速、溶液 150 g / 分）上で乾燥させた。固体を更に手で粉砕し、ふるい（1 mm）にかけると、白色粉末（Karl-Fischer による残留湿度：6.0 %）が得られた。

20

【0164】

粒径分布：

【0165】

【表 4】

D10	35 μm
D50	213 μm
D90	475 μm

【0166】

XRPD スペクトル（Cu K α 放射線（ $\lambda = 0.15418 \text{ nm}$ ）を用いて、Phillips モデル PW1710 / PW1820 機器上で記録された）は、少量の結晶質 2'-FL 形態 II を含有する試料の圧倒的多数（> 95 %）が非晶質であることを示している。

30

【0167】

フリーズドライ及び真空ベルト乾燥させた試料は、HPAE クロマトグラフィーによって分析した。データは、各成分の濃度が（乾燥物質についての正規化後に）両方の試料において実際に相違しないことを証明した。詳細には、2'-FL（例えば、フコース、ラクトース、ラクツロース、フコシルラクツロース、ガラクトース、グルコース、フコシルガラクトース、フルクトース）の可能性のある熱分解及び / 又は転位プロセスの生成物である可能性のある不純物の濃度並びに不特定の不純物各々の濃度は、試料中で実際に同じであった。これらのデータは、驚くべきことに、ベルト乾燥のより過酷な条件が、入手可能な固形の 2'-FL 生成物の品質を変化させないことを示している。

40

【0168】

【実施例 2】

2'-FL 含有ブロスは、LacZ、LacY⁺ 表現型の遺伝子改変大腸菌（E. coli）株を使用する発酵により生成し、前記株は、GDP - フコースのフコースを内在化ラクトースに転移させ得る $\alpha 1, 2$ - フコシルトランスフェラーゼ酵素をコードする組み換え遺伝子と、GDP - フコースへの生合成経路をコードする遺伝子とを含む。この発酵を、外部から添加したラクトースと好適な炭素源との存在下でこの株を培養することにより実施すると、それにより発酵ブロス中の主要な炭水化物不純物としての DFL 及び未

50

反応のラクトースを伴う 2' - F L が生成された。

【 0 1 6 9 】

ブロスは、p H 3 . 6 に p H 調整し、限外濾過 (1 5 k D、K e r a s e p C e r a m i c 膜) を受けさせた。U F 浸透液を更に濃縮し、N F (T r i s e p U A 6 0 膜) によって透析濾過し、その後、脱塩及び変色についてイオン交換体によって処理した。イオン交換体は、弱塩基性アニオン交換樹脂 (D o w e x 6 6) に接続した強酸性カチオン交換樹脂 (D o w e x 8 8) である。処理した生成物は、活性炭 (C P G - L F 2 0 × 4 0) によって更に脱色し、その後、ナノ濾過及び真空蒸発によって濃縮した。生成物は、スプレー乾燥によって乾燥させるか、又は国際公開第 2 0 1 6 / 0 9 5 9 2 4 号パンフレットに記載されたように酢酸を用いて結晶化させることができる。スプレー乾燥の場合、最終組成物は、発酵ブロス内に含有された炭水化物不純物 (ラクトース、D F L) を含むであろう。

10

【 0 1 7 0 】

過飽和 2' - F L 溶液 (B r i x 7 4) は、9 0 において、スプレー乾燥 / 結晶質粉末 (比率 3 : 1) を溶解させることにより調製した。生じた溶液を 7 0 に冷却し、N a O H を用いて p H 4 . 2 に調整した。こうして得られた溶液の一部分をフリーズドライした一方、別の部分は、乾燥された固体を得るために、真空ベルト乾燥機のパイロット装置 (Z W A G、スイス国、2 0 m b a r、加熱帯域 1、1 3 0、加熱帯域 2、1 2 0、加熱帯域 3、9 0、冷却帯域 3 0、滞留時間 2 0 分間、供給流速、溶液 1 5 0 g / 分) 上で乾燥させた。固体を更に手で粉砕し、ふるい (1 m m) にかけて、白色粉末 (K a r l - F i s h e r による残留湿度 : 4 . 3 %) が得られた。

20

【 0 1 7 1 】

D S C 分析 : 0 ~ 1 2 0 にガラス転移温度なし。

【 0 1 7 2 】

粒径分布 :

【 0 1 7 3 】

【 表 5 】

D10	33 μ m
D50	228 μ m
D90	514 μ m

30

【 0 1 7 4 】

フリーズドライ及び真空ベルト乾燥させた試料は、H P A E クロマトグラフィーによって分析した。データは、各成分の濃度が (乾燥物質についての正規化後に) 両方の試料において実際に相違しないことを証明した。詳細には、2' - F L (例えば、フコース、ラクトース、ラクツロース、フコシルラクツロース、ガラクトース、グルコース、フコシルガラクトース、フルクトース) の可能性のある熱分解及び / 又は転位プロセスの生成物である可能性のある不純物の濃度並びに不特定の不純物各々の濃度は、試料中で実際に同じであった。これらのデータは、驚くべきことに、ベルト乾燥のより過酷な条件が、入手可能な固形の 2' - F L 生成物の品質を変化させないことを示している。

40

【 0 1 7 5 】

[実施例 3]

2' - F L 含有ブロスは、L a c Z、L a c Y⁺ 表現型の遺伝子改変大腸菌 (E . c o l i) 株を使用する発酵により生成し、前記株は、G D P - フコースのフコースを内在化ラクトースに転移させ得る α 1, 2 - フコシルトランスフェラーゼ酵素をコードする組み換え遺伝子と、G D P - フコースへの生合成経路をコードする遺伝子とを含む。この発酵を、外部から添加したラクトースと好適な炭素源との存在下でこの株を培養することにより実施すると、それにより発酵ブロス中の主要な炭水化物不純物としての D F L 及び未反応のラクトースを伴う 2' - F L が生成された。

50

【 0 1 7 6 】

ブ罗斯は、pH 3 . 6 に pH 調整し、限外濾過 (1 5 k D、K e r a s e p C e r a m i c 膜) を受けさせた。U F 浸透液を更に濃縮し、N F (T r i s e p U A 6 0 膜) によって透析濾過し、その後、脱塩及び変色についてイオン交換体によって処理した。イオン交換体は、弱塩基性アニオン交換体 (D o w e x 6 6) に接続した強酸性カチオン交換体 (D o w e x 8 8) である。処理した生成物は、活性炭 (C P G - L F 2 0 × 4 0) によって更に脱色し、その後、ナノ濾過及び真空蒸発によって b r i x 7 6 に濃縮した。溶液を播種し (2 ' - F L 種多形体 I I)、2 日間にわたり室温に冷却した。

【 0 1 7 7 】

得られた懸濁液を 5 0 に再加温し、乾燥された固体を得るために、真空ベルト乾燥機 10 のパイロット装置 (Z W A G、スイス国、2 0 m b a r、加熱帯域 1、1 3 0 、加熱帯域 2、1 2 0 、加熱帯域 3、9 0 、冷却帯域 3 0 、滞留時間 2 0 分間、供給流速、溶液 1 5 0 g / 分) 上で乾燥させた。固体を更に手動で粉碎し、ふるい (1 m m) にかけて、白色粉末 (K a r l - F i s h e r による残留湿度 : 2 . 5 %) が得られた。

【 0 1 7 8 】

X R P D スペクトル (C u K α 放射線 (λ = 0 . 1 5 4 1 8 n m) を使用して、P h i l i p s モデル P W 1 7 1 0 / P W 1 8 2 0 機器上で記録された) は、試料が明確に結晶質の 2 ' - F L 形態 I I (図 1 を参照されたい ; 星印 を付けたピークは、国際公開第 2 0 1 1 / 1 5 0 9 3 9 号パンフレットに記載されている参照の 2 ' - F L 多形体 I I に 20 属する) である。

【 0 1 7 9 】

粒径分布 :

【 0 1 8 0 】

【 表 6 】

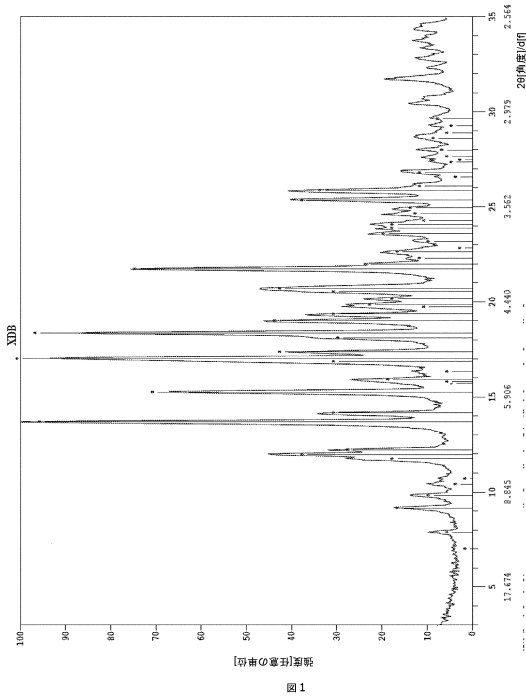
D10	63 μm
D50	364 μm
D90	601 μm

30

40

50

【 図 面 】
【 図 1 】



10

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/IB2021/050703
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: see extra sheet 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) IPC: A23C, A23L, C07H, F26B Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched SE, DK, FI, NO classes as above Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, PAJ, WPI data, CHEM ABS Data, COMPENDEX		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2016065324 A1 (EVOLVE BIOSYSTEMS INC), 28 April 2016 (2016-04-28); paragraphs [0025]-[0028], [0038], [0053]	1-2, 4-19, 21, 23
Y	--	3, 20
X	EP 2272374 A1 (NESTEC SA), 12 January 2011 (2011-01-12); paragraphs [0040]-[0043]	1, 9-10
Y	CN 104783028 A (SICHUAN YISHENGYUAN TECHNOLOGY CO LTD), 22 July 2015 (2015-07-22); (abstract) Retrieved from: WPI database; Original document: p.4, last paragraph; p. 5-6 experiments	3, 20, 26
☒ 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 "D" document cited by the applicant in the international application "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 24-02-2021		Date of mailing of the international search report 25-02-2021
Name and mailing address of the ISA/SE Patent- och registreringsverket Box 5055 S-102 42 STOCKHOLM Facsimile No. + 46 8 666 02 86		Authorized officer Tony Zhao Telephone No. + 46 8 782 28 00

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB2021/050703

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: 10
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a). 20

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

See Continuation of Box III

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims. 30
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 40

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB2021/050703

Continuation of: Box No. III

According to Rule 13.1 PCT, an international application shall relate to one invention only or to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

According to Rule 13.2 PCT when a group of inventions is claimed, the requirement of Rule 13.1 PCT shall be fulfilled only when there is a technical relationship among those inventions involving one or more of the same or corresponding special technical features. In this context, "special technical features" means those technical features with which each invention contributes over the prior art.

If the independent claim lacks novelty and/or an inventive step it is investigated whether there are any common special technical features that unite the dependent claims. This is investigated irrespective of whether one or more dependent claims lack novelty and/or an inventive step beyond the prior art as defined in the document D1. If these dependent claims lack a common special technical feature, the application is considered to include several independent inventions.

The following separate inventions were identified:

1: Claims 1-2, 5-18, 22-23 (partially) and 3, 19-20 directed to a process for providing a solid HMO product comprising a step of belt drying or drum-drying an aqueous composition comprising said HMO product.

2: Claims 1-2, 5-18, 22-23 (partially) and 4, 21 directed to directed to a process of providing a solid HMO product comprising a step of granulating an aqueous composition comprising said HMO product.

3: Claims 24-29 directed to a method of producing a crystalline HMO in a predetermined polymorphic form from an aqueous composition of said HMO.

The present application has been considered to contain 3 inventions which are not linked such that they form a single general inventive concept, as required by Rule 13 PCT for the following reasons:

Invention 1 relates to the problem of preparing a solid HMO product. This problem is solved by belt-drying or drum-drying a HMO product.

Invention 2 relates to the problem of preparing a solid HMO product. This problem is solved by granulating the HMO product.

Invention 3 relates to the problem of preparing a solid, crystalline HMO product of a certain polymorphic form. This problem is solved by drying the HMO product to a certain water content.

The single general concept of the present application is the teaching of a method of preparing a solid HMO product.

.../...

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/IB2021/050703
--

Continuation of: Box No. III

Document D1 discloses a composition comprising colostrum oligosaccharides from various mammals, amongst them human colostrum oligosaccharides, which comprises human milk oligosaccharides and lactose. D1 further discloses that colostrum oligosaccharides can be dried by drum drying (see [0025]). D1 also discloses that the colostrum oligosaccharides, isolated from mammalian sources can be processed using ultrafiltration and that enzymes can be added to degrade lactose. Both the ultrafiltration and the enzyme degradation step would result in an aqueous composition comprising colostrum oligosaccharides. A method for preparing a solid HMO product by drum drying an aqueous composition comprising HMOs and/or lactose is therefore considered implicitly disclosed by D1.

10

Thus, the single general concept is known and cannot be considered as a single general inventive concept in the sense of Rule 13.1 PCT.

No other features can be distinguished which can be considered as the same or corresponding special technical features in the sense of Rule 13.2 PCT.

20

Thus, the application lacks unity of invention.

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.
 PCT/IB2021/050703

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 20160255849 A1 (DIEKHAUS MARTIN ET AL), 8 September 2016 (2016-09-08); paragraphs [0177]-[0180] --	3, 20, 26
A	US 20130035481 A1 (PEREZ FIGUEROA IGNACIO ET AL), 7 February 2013 (2013-02-07); paragraphs [0322]-[0323] --	1-29
A	WO 2019110806 A1 (JENNEWEIN BIOTECHNOLOGIE GMBH), 13 June 2019 (2019-06-13); page 18, line 7 - page 18, line 8; pages 20-25 --	1-29
X	US 20190292211 A1 (JENNEWEIN STEFAN ET AL), 26 September 2019 (2019-09-26); paragraphs [0135]-[0136] --	22
X	EP 2922860 A2 (INALCO S A S DI GIOVANNI CIPOLETTI & C ET AL), 30 September 2015 (2015-09-30); pages 25-35	24-25, 27-29
Y	--	26
P, X	Jennewein Biotechnologie GmbH; Mischa Baier; Tobias Seitz ; Markus Helfrich; Stefan Jannewein - A Method for drying human milk oligosaccharides - Prior art Register, XP007023342; RID 31305334; whole document -- -----	1-29

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 2019)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/IB2021/050703

Continuation of: second sheet**International Patent Classification (IPC)****F26B 3/20** (2006.01)**A23C 9/20** (2006.01)**C07H 1/06** (2006.01)**F26B 3/24** (2006.01)**A23L 29/30** (2016.01)**A23L 33/125** (2016.01)

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/IB2021/050703

WO	2016065324 A1	28/04/2016	AU	2015335601 A1	01/06/2017
			BR	112017008284 A2	19/12/2017
			CA	2965663 A1	28/04/2016
			CN	107249611 A	13/10/2017
			EP	3209308 A1	30/08/2017
			MX	2017005260 A	30/01/2018
			SG	11201703298 A	30/05/2017
			SG	10202002593 A	28/05/2020
			US	20200397837 A1	24/12/2020
			US	20170304375 A1	26/10/2017
			US	10716816 B2	21/07/2020
EP	2272374 A1	12/01/2011	AR	077213 A1	10/08/2011
			AU	2010264848 A1	19/01/2012
			BR	PI1015227 A2	25/08/2015
			CL	2011003280 A1	01/06/2012
			CN	105746703 A	13/07/2016
			CN	102458134 A	16/05/2012
			EP	2470027 B1	17/04/2019
			ES	2533617 T3	13/04/2015
			ES	2727021 T3	11/10/2019
			MX	2011013997 A	08/06/2012
			MY	161448 A	14/04/2017
			SG	176775 A1	30/01/2012
			US	20160000105 A1	07/01/2016
			US	20120189733 A1	26/07/2012
			WO	2010149557 A1	29/12/2010
CN	104783028 A	22/07/2015	NONE		
US	20160255849 A1	08/09/2016	AU	2016201347 B2	08/03/2018
			BR	102016004641 A2	06/09/2016
			CA	2922229 A1	02/09/2016
			CN	105935082 A	14/09/2016
			DE	102016002279 B4	03/09/2020
			DK	3078276 T3	01/04/2019
			JP	2016165273 A	15/09/2016
			JP	6799930 B2	16/12/2020
			NZ	717614 A	23/03/2018

INTERNATIONAL SEARCH REPORT				International application No.	
Information on patent family members				PCT/IB2021/050703	
US	20130035481	A1	07/02/2013	AU	2011217614 A1 02/08/2012
				BR	112012020791 A2 03/05/2016
				CA	2789821 A1 25/08/2011
				CN	102822186 A 12/12/2012
				EP	2536736 A4 30/10/2013
				JP	2013519694 A 30/05/2013
				KR	20120138772 A 26/12/2012
				MX	2012009306 A 12/09/2012
				RU	2012140011 A 27/03/2014
				US	9237764 B2 19/01/2016
				WO	2011100979 A1 25/08/2011

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/IB2021/050703

WO	2019110806 A1	13/06/2019	AU	2018380959 A1	18/06/2020
			AU	2018380962 A1	11/06/2020
			AU	2018380957 A1	11/06/2020
			AU	2018380956 A1	11/06/2020
			AU	2018380960 A1	04/06/2020
			BR	112020011300 A2	17/11/2020
			BR	112020011296 A2	24/11/2020
			BR	112020011242 A2	17/11/2020
			BR	112020011236 A2	17/11/2020
			BR	112020011202 A2	17/11/2020
			CN	111432663 A	17/07/2020
			CN	111447843 A	24/07/2020
			CN	111465331 A	28/07/2020
			CN	111447845 A	24/07/2020
			CN	111447844 A	24/07/2020
			DE	202018006272 U1	20/12/2019
			DK	201900113 U8	05/11/2020
			DK	201900079 U1	15/10/2019
			EP	3720301 A1	14/10/2020
			EP	3720300 A1	14/10/2020
			EP	3720299 A1	14/10/2020
			EP	3720298 A1	14/10/2020
			EP	3720297 A1	14/10/2020
			KR	20200096770 A	13/08/2020
			KR	20200096793 A	13/08/2020
			KR	20200096779 A	13/08/2020
			KR	20200096772 A	13/08/2020
			KR	20200096771 A	13/08/2020
			SG	11202004914 A	29/06/2020
			SG	11202004659 A	29/06/2020
			SG	11202004655 A	29/06/2020
			SG	11202004650 A	29/06/2020
			SG	11202004414 A	29/06/2020
			US	20200384041 A1	10/12/2020
			US	20200383367 A1	10/12/2020
			WO	2019110801 A1	13/06/2019
			WO	2019110804 A1	13/06/2019
			WO	2019110803 A1	13/06/2019
			WO	2019110800 A1	13/06/2019

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/IB2021/050703

US	20190292211 A1	26/09/2019	BR	112016007342 B1	17/11/2020
			CN	109705175 A	03/05/2019
			CN	105814070 A	27/07/2016
			EP	2857410 A1	08/04/2015
			EP	3063159 A1	07/09/2016
			JP	2016535724 A	17/11/2016
			JP	6666243 B2	13/03/2020
			KR	20160090791 A	01/08/2016
			MX	2016004288 A	18/01/2017
			PH	12016500594 A1	13/06/2016
			RU	2685537 C2	22/04/2019
			RU	2016109548 A	09/11/2017
			US	20160237104 A1	18/08/2016
			US	10435427 B2	08/10/2019
			WO	2015049331 A1	09/04/2015
EP	2922860 A2	30/09/2015	IT	FI20120143 A1	13/01/2014
			US	10851128 B2	01/12/2020
			US	20200048295 A1	13/02/2020
			US	20200048294 A1	13/02/2020
			US	20190284219 A1	19/09/2019
			US	10308675 B2	04/06/2019
			US	20160060283 A1	03/03/2016
			WO	2014009921 A3	13/03/2014

10

20

30

40

50

フロントページの続き

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,SN,TD,TG),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,K
E,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,N
G,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

スエム インテレクチュアル プロパティ

F ターム (参考) 3L113 BA01
 4B018 LB10 LE02 LE03 MD29 MD31 MD85 ME02 ME14 MF01 MF06
 MF07 MF08 MF13
 4C057 AA04 BB04