



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0080075
(43) 공개일자 2022년06월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12P 19/30 (2006.01) A61K 31/706 (2006.01)
A61K 8/60 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01) C12N 1/20 (2006.01)
C12R 1/01 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12P 19/30 (2013.01)
A61K 31/706 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7007600
(22) 출원일자(국제) 2020년10월06일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년03월07일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2020/037902
(87) 국제공개번호 WO 2021/070829
국제공개일자 2021년04월15일
(30) 우선권주장
JP-P-2019-187501 2019년10월11일 일본(JP)

(71) 출원인
고쿠리츠 다이가꾸 호우진 시즈오카 다이가꾸
422-8529 일본 시즈오카켄 시즈오카시 수루가쿠
오야 836
가부시키가이샤 오사카소다
일본 오사카후 오사카시 니시쿠 아와자 1초메 12
반 18고
(72) 발명자
요시다 노부유키
일본 4328561 시즈오카 하마마츠시 나카쿠 조호쿠
3초메 5-1 고쿠리츠 다이가꾸 호우진 시즈오카 다
이가꾸 내
니시카와 고후지
일본 5500011 오사카후 오사카시 니시쿠 아와자
1초메 12반 18고 가부시키가이샤 오사카소다 내
이도가키 히데아키
일본 5500011 오사카후 오사카시 니시쿠 아와자
1초메 12반 18고 가부시키가이샤 오사카소다 내
(74) 대리인
김종선, 이형석

전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 **니코틴아미드 리보시드를 산생하는 유산균, 및 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드를 산생하는 유산균**

(57) 요약

본 발명의 목적은, 니코틴아미드 리보시드의 산생 효율이 높은 미생물, 및 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 양쪽의 생산 효율이 높은 미생물을 제공하는 것이다. 프록토바실러스속에 속하는 유산균을 배양하는 것으로, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드를 제조할 수 있다.

(52) CPC특허분류

A61K 8/602 (2013.01)

A61P 43/00 (2018.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

C12N 1/20 (2021.05)

C12R 2001/01 (2021.05)

명세서

청구범위

청구항 1

프룩토바실러스(Fructobacillus)속에 속하는 유산균의 배양을 실시하고, 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물을 조제하는 공정을 포함하는, 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 배양을, 프룩토오스를 포함하지 않는 배지에서 실시하는, 제조 방법.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

상기 유산균이, 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주(기탁 번호 NITE P-02764), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주(기탁 번호 NITE P-02766), 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주로 이루어지는 균에서 선택되는, 제조 방법.

청구항 4

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

상기 유산균이, 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 및/또는 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주인, 제조 방법.

청구항 5

프룩토바실러스(Fructobacillus)속에 속하는 유산균에서 얻어지는 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물, 상기 배양물로부터 분리된 상청, 및/또는 상기 상청으로부터 단리된 니코틴아미드 리보시드를 함유하는, 니코틴아미드 리보시드 강화제.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

상기 유산균이, 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주(기탁 번호 NITE P-02764), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주(기탁 번호 NITE P-02766) 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주로 이루어지는 균에서 선택되는, 강화제.

청구항 7

제 5 항에 있어서,

상기 유산균이, 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 및/또는 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주인, 강화제.

청구항 8

제 5 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 기재된 니코틴아미드 리보시드 강화제를 포함하는 식품, 화장품 또는 의약품.

청구항 9

프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주(기탁 번호 NITE P-02764), 프룩토바실러스

트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주(기탁 번호 NITE P-02766), 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주로 이루어지는 균에서 선택되는, 니코틴아미드 리보시드를 산생하는 유산균.

청구항 10

프룩토바실러스(Fructobacillus)속에 속하는 유산균의 배양을 실시하는 공정을 포함하는, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법.

청구항 11

제 10 항에 있어서,

상기 배양을, 프룩토오스를 포함하는 배지에서 실시하는, 제조 방법.

청구항 12

제 10 항 또는 제 11 항에 있어서,

상기 유산균이, 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주(기탁 번호 NITE P-02764), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주(기탁 번호 NITE P-02766), 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주로 이루어지는 균에서 선택되는, 제조 방법.

청구항 13

제 10 항 또는 제 11 항에 있어서,

상기 유산균이, 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 및/또는 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주인, 제조 방법.

청구항 14

프룩토바실러스(Fructobacillus)속에 속하는 유산균에서 얻어지는 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물, 상기 배양물로부터 분리된 균체, 상기 균체의 파쇄물, 및/또는 상기 파쇄물로부터 단리된 니코틴아미드 리보시드 및 니코틴아미드 리보시드를 함유하는, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 강화제.

청구항 15

제 14 항에 있어서,

상기 유산균이, 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주(기탁 번호 NITE P-02764), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주(기탁 번호 NITE P-02766), 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주로 이루어지는 균에서 선택되는, 강화제.

청구항 16

제 14 항에 있어서,

상기 유산균이, 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주(기탁 번호 NITE P-02764), 및/또는 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주인, 강화제.

청구항 17

제 14 항 내지 제 16 항 중 어느 한 항에 기재된 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 강화제를 포함하는 식품, 화장품 또는 의약품.

청구항 18

프록토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주(기탁 번호 NITE P-02764), 프록토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 프록토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주(기탁 번호 NITE P-02766), 및 프록토바실러스 프록토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주로 이루어지는 군에서 선택되는, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드를 산생하는 유산균.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은, 니코틴아미드 리보시드를 산생하는 유산균, 및 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드를 산생하는 유산균에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근, 노화 및 노화 관련 질환은, 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드(nicotinamide adenine dinucleotide: NAD⁺) 양 저하 및 NAD⁺ 의존성 탈아세틸화 효소 시르투인(sirtuin)의 활성 저하와 밀접한 관계를 갖는 것으로 나타내어져 있다(비특허문헌 1, 2). 또한, 시르투인의 활성화는, 칼로리 제한에 있어서의 수명 연장 또는 건강 증진과 관련된 효과의 많은 부분을 설명해 줄 것으로 생각되고 있다(비특허문헌 2).

[0003] NAD⁺는 예로부터 산화 환원 반응의 보조소로서 알려져 있는 한편, 최근에는 폴리 ADP 리보오스 폴리메라아제, CD38/CD157, 시르투인의 기질 등으로서의 역할도 알려지게 되었다(비특허문헌 1). 특히, 시르투인에 의한 NAD⁺에서 니코틴아미드에의 분해 반응은, 그것과 공역하는 시르투인에 의한 리신잔기 탈아세틸화 반응을 촉진시키는 것으로, 건강, 장수와 관련된 다양한 생명 현상에 관여하고 있다(비특허문헌 1, 2). 노화에 따라 NAD⁺ 양 및 시르투인 활성은 저하되는 한편, 니코틴아미드에서 NAD⁺를 재합성하는 율속효소 니코틴아미드 포스포리보실트랜스페라제(nicotinamide phosphoribosyltransferase)(NAMPT)의 효소 반응 산물, 구체적으로는, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드(nicotinamide mononucleotide: NMN) 및 니코틴아미드 리보시드(nicotinamide riboside: NR)와 같은 NAD⁺ 중간 대사 산물의 보충은, 시르투인을 효과적으로 재활성화시키는 것(비특허문헌 1)으로 알려져 있으며, 또한, 시르투인의 활성화를 통해 폭넓은 항산화 작용을 발현하는 것으로 알려져 있다. 이 때문에, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드는, 칼로리 제한에 있어서의 수명 연장 및 건강 증진 등과 관련되는 많은 생체 현상에 기여하는 것으로 알려져 있다.

[0004] 따라서, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 또는 니코틴아미드 리보시드를 효율적으로 생산하는 방법이 요구되고 있다. 지금까지, 토롤라(torula) 효모 등의 식경험이 있는 효모에서 니코틴아미드 모노뉴클레오티드를 취득할 수 있는 것(특허문헌 1), 및, 대장균(E. coli), B. 서브틸리스(B. subtilis), C. 글루탐미쿰(C. glutamicum), A. 베일리(A. baylyi), 및 R. 에우트로파(R. eutropha)로 이루어지는 군에서 선택되는 세균의 유전 수식 세균에서 니코틴아미드 리보시드를 취득할 수 있는 것(특허문헌 2)으로 보고되어 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 특허문헌 1: 국제 공개 제 2017/200050 호
(특허문헌 0002) 특허문헌 2: 국제 공개 제 2017/083858 호

비특허문헌

[0006] (비특허문헌 0001) 비특허문헌 1: 이마이, 에스. 및 구아렌테, 엘.(Imai, S. & Guarente, L.) (2014) 세포생물학의 동향(Trends Cell Biol.), 24, 464-471.
(비특허문헌 0002) 비특허문헌 2: 구아렌테, 엘.(Guarente, L.) (2013) 유전자와 발달 회지(Genes Dev.), 27, 2072-2085.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 또는 니코틴아미드 리보시드를 산생하는 지금까지의 미생물학적 방법으로는, 여전히 생산 효율에 개선의 여지가 있다.
- [0008] 따라서, 본 발명은 니코틴아미드 리보시드의 산생 효율이 높은 미생물, 및 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 양쪽을 산생할 수 있는 미생물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0009] 본 발명자는 예의 검토한 결과, 특정의 속에 속하는 유산균이 니코틴아미드 리보시드를 효율적으로 산생하며, 또한, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 양쪽을 생산할 수 있음을 찾아냈다. 본 발명은 이 지견에 기초하여 더욱 검토를 거듭하여 완성한 것이다.
- [0010] 즉, 본 발명은 이하에 열거하는 태양의 발명을 제공한다.
- [0011] 항 1. 프룩토바실러스(Fructobacillus)속에 속하는 유산균의 배양을 실시하고, 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물을 조제하는 공정을 포함하는, 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법.
- [0012] 항 2. 상기 배양을, 프룩토오스를 포함하지 않는 배지에서 실시하는, 항 1에 기재된 제조 방법.
- [0013] 항 3. 상기 유산균이, 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주(기탁 번호 NITE P-02764), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주(기탁 번호 NITE P-02766), 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주로 이루어지는 균에서 선택되는, 항 1 또는 2에 기재된 제조 방법.
- [0014] 항 4. 상기 유산균이, 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 및/또는 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주인, 항 1 또는 2에 기재된 제조 방법.
- [0015] 항 5. 프룩토바실러스(Fructobacillus)속에 속하는 유산균에서 얻어지는 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물, 상기 배양물로부터 분리된 상청(上淸), 및/또는 상기 상청으로부터 단리된 니코틴아미드 리보시드를 함유하는, 니코틴아미드 리보시드 강화제.
- [0016] 항 6. 상기 유산균이, 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주(기탁 번호 NITE P-02764), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주(기탁 번호 NITE P-02766), 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주로 이루어지는 균에서 선택되는, 항 5에 기재된 강화제.
- [0017] 항 7. 상기 유산균이, 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 및/또는 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주인, 항 5에 기재된 강화제.
- [0018] 항 8. 항 5 내지 7 중 어느 한 항에 기재된 니코틴아미드 리보시드 강화제를 포함하는 식품, 화장품 또는 의약품.
- [0019] 항 9. 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주(기탁 번호 NITE P-02764), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주(기탁 번호 NITE P-02766), 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주로 이루어지는 균에서 선택되는, 니코틴아미드 리보시드를 산생하는 유산균.
- [0020] 항 10. 프룩토바실러스(Fructobacillus)속에 속하는 유산균의 배양을 실시하는 공정을 포함하는, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법.

- [0021] 항 11. 상기 배양을, 프룩토오스를 포함하는 배지에서 실시하는, 항 10에 기재된 제조 방법.
- [0022] 항 12. 상기 유산균이, 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주(기탁 번호 NITE P-02764), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주(기탁 번호 NITE P-02766), 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주로 이루어지는 균에서 선택되는, 항 10 또는 11에 기재된 제조 방법.
- [0023] 항 13. 상기 유산균이, 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 및/또는 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주인, 항 10 또는 11에 기재된 제조 방법.
- [0024] 항 14. 프룩토바실러스(Fructobacillus)속에 속하는 유산균에서 얻어지는 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물, 상기 배양물로부터 분리된 균체, 상기 균체의 파쇄물, 및/또는 상기 파쇄물로부터 단리된 니코틴아미드 리보시드 및 니코틴아미드 리보시드를 함유하는, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 강화제.
- [0025] 항 15. 상기 유산균이, 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주(기탁 번호 NITE P-02764), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주(기탁 번호 NITE P-02766), 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주로 이루어지는 균에서 선택되는, 항 14에 기재된 강화제.
- [0026] 항 16. 상기 유산균이, 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주(기탁 번호 NITE P-02764), 및/또는 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주인, 항 14에 기재된 강화제.
- [0027] 항 17. 항 14 내지 16 중 어느 한 항에 기재된 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 강화제를 포함하는 식품, 화장품 또는 의약품.
- [0028] 항 18. 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주(기탁 번호 NITE P-02764), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주(기탁 번호 NITE P-02766), 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주로 이루어지는 균에서 선택되는, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드를 산생하는 유산균.
- [0029] 항 19. 프룩토바실러스(Fructobacillus)속에 속하는 유산균에서 얻어지는 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물, 상기 배양물로부터 분리된 상청, 및/또는 상기 상청으로부터 단리된 니코틴아미드 리보시드의, 니코틴아미드 리보시드 강화제의 제조를 위한 사용.
- [0030] 항 20. 프룩토바실러스(Fructobacillus)속에 속하는 유산균에서 얻어지는 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물, 상기 배양물로부터 분리된 균체, 상기 균체의 파쇄물, 및/또는 상기 파쇄물로부터 단리된 니코틴아미드 리보시드 및 니코틴아미드 리보시드의, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 강화제의 제조를 위한 사용.

발명의 효과

- [0031] 본 발명에 따르면, 니코틴아미드 리보시드의 산생 효율이 높은 미생물, 및 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 양쪽을 산생할 수 있는 미생물로서, 프룩토바실러스(Fructobacillus)속에 속하는 유산균이 제공된다. 따라서, 프룩토바실러스(Fructobacillus)속에 속하는 유산균에서 얻어지는, 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물, 또는 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물은, 각각, 니코틴아미드 리보시드를 강화시키는 식품 첨가물 또는 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드를 강화시키는 식품 첨가물에 이용할 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0032] 1. 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법

- [0033] 본 발명의 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법은, 프룩토바실러스(Fructobacillus)속에 속하는 유산균을 배양하고, 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물을 조제하는 공정을 포함하는 것을 특징으로 한다. 이하에서는, 본 발명의 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법에 대해 자세히 설명한다.
- [0034] 유산균
- [0035] 본 발명의 제조 방법에서 이용되는 유산균은, 프룩토바실러스(Fructobacillus)속에 속하는 유산균이면 특별히 한정되지 않는다. 프룩토바실러스속에 속하는 유산균은 니코틴아미드 리보시드를 산생한다.
- [0036] 바람직한 유산균의 예로서는, 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil), 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus)를 들 수 있으며, 보다 바람직하게는, 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil), 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus)를 들 수 있다.
- [0037] 보다 바람직한 유산균의 예로서는, 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주, 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주, 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주, 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주, 및 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) NBRC113239 주를 들 수 있으며, 더욱 바람직하게는, 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주, 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주, 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주, 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주를 들 수 있다.
- [0038] 본 발명의 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법에 있어서는, 니코틴아미드 리보시드를 보다 한층 많이 산생하는 관점에서, 유산균으로서 바람직하게는, 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) 및 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주를 들 수 있으며, 보다 바람직하게는, 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주, 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주를 들 수 있으며, 특히 바람직하게는, 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주를 들 수 있다.
- [0039] 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주는, 도쿠리츠교세이호징 세이헝효카기쥬츠키방키코 특허 미생물 기탁 센터(NPMD)(일본국 치바켄 키사라즈시 카즈사카마타리 2-5-8 122호실)에, 2018년 8월 21일부로 수탁 번호 NITE P-02764로서 일본 국내 기탁되어 있다.
- [0040] 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주는, 도쿠리츠교세이호징 세이헝효카기쥬츠키방키코 특허 미생물 기탁 센터(NPMD)(일본국 치바켄 키사라즈시 카즈사카마타리 2-5-8 122호실)에, 2018년 8월 21일부로 수탁 번호 NITE P-02765로서 일본 국내 기탁되어 있다.
- [0041] 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주는, 도쿠리츠교세이호징 세이헝효카기쥬츠키방키코 특허 미생물 기탁 센터(NPMD)(일본국 치바켄 키사라즈시 카즈사카마타리 2-5-8 122호실)에, 2018년 8월 21일부로 수탁 번호 NITE P-02766으로서 일본 국내 기탁되어 있다.
- [0042] 이러한 프룩토바실러스균 유산균주는, 1종을 단독으로 이용해도 되고, 복수종을 조합하여 이용해도 된다.
- [0043] 배지
- [0044] 프룩토바실러스균 유산균의 배양에 이용되는 배지는 적절히 선택하면 된다. 배지로서는, 확대 배양에 이용되는 것(전 배양 배지), 및 생산 배양에 이용되는 것(본 배양 배지)을 들 수 있다. 본 배양 배지는, 전 배양 배지에서 이용되는 배지를 기본으로 하여, 첨가물을 더 함유시켜 조제할 수 있다. 배지의 성상에 대해서는, 바람직하게는 액체 배지이지만, 한천 배지여도 된다. 배지는, 탄소원 외에, 일반적으로는 질소원, 미네랄 등을 포함한다.
- [0045] 탄소원으로서, 당질 및 당질 재료를 들 수 있다. 당질로서는, 당류(단당, 이당, 올리고당), 다당류, 및 당알코올을 들 수 있다. 당질로서는, 유당, 자당, 글루코오스, 전분, 자일리톨, 텍스트로스 등을 들 수 있다. 당질 재료는, 당질을 포함하는 유기 조성물이면 되고, 예를 들면, 젓 및 그 가공품(탈지분유, 웨이(whey), 밀크 파우더, 연유 등), 두유 및 그 가공품(두유 가수분해물 등), 곡류, 과일, 야채 등의 식품을 들 수 있다. 젓으로서, 소, 염소, 양, 물소, 낙타, 라마, 당나귀, 야크, 말, 순록 등의 임의의 포유동물에서 유래하는 것을 들 수 있다. 또한 당질은, 단리된 것이어도 되고, 당질 재료에 포함되어 있는 것이어도 된다. 예를 들면, 프룩토오스(당질)는, 과일(당질 재료)에 포함되는 형태의 것을 이용해도 된다. 이러한 탄소원은, 1종을 단독으로

이용해도 되고, 복수종을 조합하여 이용해도 된다. 이러한 탄소원 중에서도 바람직하게는 글루코오스를 들 수 있다. 본 발명의 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법에 있어서는, 배지에는 프룩토오스를 포함하지 않는 것이 바람직하다.

[0046] 배지 중의 탄소원의 농도에 대해서는 특별히 한정되지 않으며, 배지의 종류나 배양 방식 등에 따라 적절히 설정하면 되지만, 예를 들면 0.5 ~ 4w/w%, 바람직하게는 1 ~ 3w/w%, 보다 바람직하게는 1.5 ~ 2.5w/w%를 들 수 있다.

[0047] 질소원으로서, 임의의 무기 질소원 또는 유기 질소원을 사용할 수 있다. 예를 들면, 효모 엑기스(맥주 효모 등), 고기 엑기스, 카세인 등의 단백질; 펩톤(프로테아제펩톤 등) 등의 단백질 가수분해물, 펩티드 등의 펩티드류; 암모늄염(구연산암모늄 등), 질산염 등의 질소 함유 염 등을 들 수 있다. 이러한 질소원은 1종을 단독으로 이용해도 되고, 복수종을 조합하여 이용해도 된다.

[0048] 배지 중의 질소원의 농도에 대해서는 특별히 한정되지 않으며, 배지의 종류나 배양 방식 등에 따라 적절히 설정하면 되지만, 단백질의 경우, 예를 들면 0.3 ~ 4w/w%, 바람직하게는 0.5 ~ 3w/w%, 보다 바람직하게는 1 ~ 2w/w%를 들 수 있으며; 펩티드류의 경우, 예를 들면 0.1 ~ 2w/w%, 바람직하게는 0.3 ~ 1.8w/w%, 보다 바람직하게는 0.5 ~ 1.5w/w%를 들 수 있으며; 질소 함유 염의 경우, 예를 들면 0.03 ~ 1.5w/w%, 바람직하게는 0.05 ~ 1w/w%, 보다 바람직하게는 0.1 ~ 0.5w/w%를 들 수 있다.

[0049] 미네랄로서는, 예를 들면, 망간(황산망간 등), 아연, 철, 나트륨(초산나트륨 등), 칼륨(황산수소2칼륨, 인산칼륨 등), 마그네슘(황산마그네슘 등), 칼슘, 인(인산칼륨 등), 유황(황산망간, 황산수소칼륨, 황산마그네슘 등), 미량 원소 등을 들 수 있다. 이러한 미네랄은 1종을 단독으로 이용해도 되고, 복수종을 조합하여 이용해도 된다. 이러한 미네랄 중에서도 바람직하게는, 망간, 나트륨, 마그네슘, 칼륨을 들 수 있다.

[0050] 배지 중의 미네랄의 농도에 대해서는 특별히 한정되지 않으며, 배지의 종류나 배양 방식 등에 따라 적절히 설정하면 되지만, 망간의 경우, 예를 들면 0.001 ~ 0.01w/w%, 바람직하게는 0.003 ~ 0.008w/w%를 들 수 있으며; 나트륨의 경우, 예를 들면 0.05 ~ 1.5w/w%, 바람직하게는 0.1 ~ 1w/w%를 들 수 있으며; 마그네슘의 경우, 예를 들면 0.001 ~ 0.02w/w%, 바람직하게는 0.005 ~ 0.015w/w%를 들 수 있으며; 칼륨의 경우, 예를 들면 0.05 ~ 1w/w%, 바람직하게는 0.1 ~ 0.5w/w%를 들 수 있다.

[0051] 배지는 상기 성분 이외에 비타민(비타민 B군 등), 계면활성제(비이온성 계면활성제(트윈(Tween) 등), 음이온성 계면활성제(SDS 등) 등), 항균제(트리클로산 등), 항생 물질(모넨신 등) 등의 다른 성분을 포함해도 좋다. 이러한 다른 성분은 1종을 단독으로 이용해도 되고, 복수종을 조합하여 이용해도 된다. 이러한 다른 성분 중에서도 바람직하게는 계면활성제, 보다 바람직하게는 비이온성 계면활성제를 들 수 있다.

[0052] 배지 중의 다른 성분의 농도에 대해서는 특별히 한정되지 않으며, 다른 성분의 종류, 배지의 종류, 배양 방식 등에 따라 적절히 설정하면 되지만, 계면활성제를 포함하는 경우, 계면활성제의 농도로서, 예를 들면 0.01 ~ 0.5w/w%, 바람직하게는 0.05 ~ 0.3w/w%를 들 수 있다.

[0053] 또한, 본 발명의 제조 방법으로 얻어진 배양물을 식품에의 니코틴아미드 리보시드 강화제로서 이용하는 경우, 배지 성분은, 상기의 성분 중, 식품 첨가물로서 인가되어 있는 성분이 선택된다.

[0054] 배양 방법

[0055] 본 발명의 제조 방법에 있어서는 프룩토바실러스속 유산균의 배양 방법으로서, 프룩토바실러스속 유산균의 생육 조건하, 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물을 조제할 수 있는 조건하이면 특별히 한정되지 않는다.

[0056] 배양 온도로서는, 배양 대상이 되는 프룩토바실러스속 유산균의 최적 온도이면 되며, 예를 들면 26 ~ 40℃, 바람직하게는 27 ~ 38℃, 보다 바람직하게는 28 ~ 36℃, 더욱 바람직하게는 29 ~ 34℃를 들 수 있다. 배양 시간으로서, 실제로 배양하는 프룩토바실러스속 유산균의 종류 등에 맞게 적절히 설정하면 되며, 예를 들면 4 ~ 48시간, 바람직하게는 8 ~ 36시간, 보다 바람직하게는 12 ~ 24시간을 들 수 있다.

[0057] 본 발명의 제조 방법에 있어서는, 프룩토바실러스속 유산균의 배양 중에 배양액을 교반하지 않아도 좋으며, 이러한 조건이어도 니코틴아미드 리보시드를 고산생할 수 있다. 또한, 본 발명의 제조 방법에서는, 니코틴아미드 리보시드를 보다 고산생하기 위해 유산균의 배양 중에 배양액을 교반해도 무방하다.

[0058] 본 발명의 제조 방법에 있어서는, 바람직하게는, 상술한 배양을 일정 시간 생산 배양(본 배양)으로서 실시하며, 그 전에, 소량(예를 들면 체적비로 본 배양 배지의 1/6 ~ 1/4)의 배지에서 확대 배양(전 배양)을 실시할 수 있

다. 전 배양의 배양 조건은 프록토바실러스속 유산균의 종류 등에 맞게 적절히 설정하면 되며, 상술한 조건을 채용할 수 있다. 또한, 본 배양에 있어서는, 전 배양에서 얻어진 배양물을, OD660이 예를 들면 0.01 ~ 0.04, 바람직하게는 0.01 ~ 0.03이 되도록 본 배양 배지에 식균(植菌)할 수 있다.

[0059] 이상과 같이 해서 얻어지는 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물이 조제된다. 이 배양물에는, 배양으로 공-산생(共產生)된 다른 프록토바실러스속 유산균 대사물이 포함되어 있어도 된다.

[0060] 조제된 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물의 사용 형태로서는, 조제된 배양물 그대로 사용하는 형태, 당해 배양물로부터 상청(上淸)을 분리시켜 사용하는 형태, 및 상청으로부터 니코틴아미드 리보시드를 단리시켜 사용하는 형태를 들 수 있다. 분리 방법으로서, 예를 들면 원심분리법, 막 여과법 등을 들 수 있다. 단리법으로서, 이온 교환 크로마토그래피, 겔 여과 크로마토그래피, 역상 크로마토그래피, 고속 액체 크로마토그래피 등의 각종 크로마토그래피 기술, 염석, 용매 침전 등을 들 수 있다.

[0061] 2. 니코틴아미드 리보시드 강화제; 음식품, 화장품 또는 의약품

[0062] 이상과 같이 해서 얻어진 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물, 당해 배양물로부터 분리된 상청, 및/또는 당해 상청으로부터 단리된 니코틴아미드 리보시드는, 니코틴아미드 리보시드의 강화를 목적으로 한 식품에의 첨가물 혹은 화장품 또는 의약품의 유효 성분으로서 배합되는, 니코틴아미드 리보시드 강화제로서 호적하게 이용될 수 있다.

[0063] 니코틴아미드 리보시드 강화제는, 음식품, 화장품 또는 의약품에 배합하여 섭취, 복용 또는 적용시키는 것으로, 체내에 받아들여진 니코틴아미드 리보시드가, 세포가 에너지를 이용하기 위해 필요한 물질인 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드로 변환되는 것에 의한 다양한 유용한 효과가 나타난다.

[0064] 니코틴아미드 리보시드 강화제는, 니코틴아미드 리보시드 이외에, 다른 프록토바실러스속 유산균 대사물이 포함되어 있어도 된다. 이 경우, 니코틴아미드 리보시드 강화제는 니코틴아미드 리보시드에 더해, 당해 다른 프록토바실러스속 유산균 대사물 중 적어도 어느 하나의 강화제로서도 이용될 수 있다.

[0065] 니코틴아미드 리보시드 강화제를 음식품에 배합하는 것으로, 음식에 의해 니코틴아미드 리보시드를 효율적으로 섭취할 수 있다. 이에 따라, 니코틴아미드 리보시드 섭취에 의한 건강 효과(칼로리 제한, 안티에이징, 건강 증진 등)를 기대할 수 있다. 또한, 음식품에는 인간용의 음식품뿐만 아니라, 동물용의 사료도 포함된다.

[0066] 음식품으로서, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들면, 음료로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들면, 발효유(드링크 요구르트 등), 유산균 음료, 유음료(커피 우유, 과일 우유 등), 차계 음료(녹차, 홍차 및 우롱차 등), 과일·야채계 음료(오렌지, 사과, 포도 등의 과즙, 토마토, 당근 등의 야채즙을 포함하는 음료), 알코올성 음료(맥주, 발포주, 와인 등), 탄산 음료, 청량 음료, 물 베이스의 음료 등의 음료; 및 발효유(세트-타입 요구르트(set-type yogurt), 소프트 요구르트 등), 과자, 인스턴트 식품, 조미료 등의 가공 식품 등의 식품을 들 수 있다.

[0067] 또한, 음식품으로서, 기능성 식품도 들 수 있다. 기능성 식품은, 생체에 대해 일정한 기능성을 갖는 식품을 의미하며, 예를 들면, 특정 보건용 식품(조건부 특보[특정 보건용 식품]를 포함한다) 및 영양 기능 식품 등의 보건 기능 식품, 기능성 표시 식품, 특별 용도 식품, 영양 보조 식품, 건강 보조 식품, 서플리먼트(예를 들면, 정제, 피복정, 당의정, 캡슐 및 액제 등의 각종 제형의 것) 및 미용 식품(예를 들면 다이어트 식품) 등을 들 수 있다. 나아가, 기능성 식품은, 병자용 식품, 임산부·수유부용 분유, 유아용 조제분유, 고령자용 식품, 개호용(介護用) 식품 등의 특별 용도 식품이어도 된다.

[0068] 또한, 당해 니코틴아미드 리보시드 강화제를 화장품에 배합하는 것으로, 적용에 의해, 니코틴아미드 리보시드에 의한 약리 효과(노화 예방 등)를 기대할 수 있다.

[0069] 화장품으로서, 화장수, 유액, 크림, 에센스, 겔, 팩, 시트 마스크, 립 크림 등의 기초 화장품; 세안료, 화장 제거제(클렌징제를 포함한다), 각질 제거제, 바디 샴푸 등의 피부 세정료; 자외선 차단제, 바디용 겔, 바디용 마사지제, 땀 억제제, 방취제, 제모제, 입욕제 등의 바디 케어 화장품; 파운데이션, 분, 립스틱, 볼펜지, 아이 섀도우, 아이라이너, 마스크라, 눈썹 연필 등의 메이크업 화장품; 매니큐어, 네일 리무버 등의 손톱용 화장품; 헤어 스타일링제, 샴푸, 컨디셔너, 린스, 욱모제 등의 모발 화장품; 액체 치약, 크림 치약, 구강 청정제, 마우스 스프레이 등의 구강용 화장품 등을 들 수 있다.

[0070] 또한, 당해 니코틴아미드 리보시드 강화제를 의약품에 배합하는 것으로, 복용 또는 적용에 의해 니코틴아미드 리보시드를 유효 성분으로서 경구 또는 경피 섭취할 수 있다. 이에 따라, 니코틴아미드 리보시드 섭취에 의한

약리 효과(코케인 중후군 및 나이툼과 관련된 질병 등의 치료 또는 예방, 및 피부의 산화 손상의 치료 또는 예방 등)를 기대할 수 있다.

- [0071] 의약품으로서는, 경구제 및 외용제(의약품외품을 포함한다)를 들 수 있다. 경구제의 제형으로서는, 정제, 피복정, 당의정, 캡슐 및 액제 등을 들 수 있으며, 외용제의 제형으로서는, 액제(로션제, 스프레이제, 에어졸제, 및 유액제를 포함한다), 폼제, 연고제, 크림제, 젤제, 침부제 등을 들 수 있다.
- [0072] 니코틴아미드 리보시드 강화제를 포함하는 식품, 화장품 또는 의약품의 적용 대상으로서는, 바람직하게는 포유동물을 들 수 있으며, 예를 들면, 인간, 침팬지, 고릴라 등의 영장류; 개, 고양이, 토끼, 소, 말, 돼지, 염소, 양, 당나귀 등의 애완동물 또는 가축; 마우스, 래트, 햄스터, 원숭이 등의 실험동물을 들 수 있다.
- [0073] 3. 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법
- [0074] 프룩토바실러스(Fructobacillus)속에 속하는 유산균은 니코틴아미드 리보시드와 함께 니코틴아미드 모노뉴클레오티드도 산생한다. 따라서, 본 발명은 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법도 제공한다.
- [0075] 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법에서는, 프룩토바실러스속 유산균의 생육 조건하, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물을 조제할 수 있는 조건하에서 배양을 실시하는 것으로, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드를 공-산생한다. 이에 따라, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물이 조제된다.
- [0076] 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법에 있어서 이용되는 유산균은 상기 "1. 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법"에서 기재한 바와 같다. 구체적으로는, 바람직한 유산균의 예로서는, 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis), 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil), 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus)를 들 수 있다.
- [0077] 보다 바람직한 유산균의 예로서는, 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주, 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주, 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주, 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주, 및 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) NBRC113239 주를 들 수 있다.
- [0078] 단, 본 발명의 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법에 있어서는, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드를 보다 많이(즉, 니코틴아미드 리보시드에 대해 니코틴아미드 모노뉴클레오티드의 비율이 보다 높게 되도록) 산생하는 관점에서, 유산균으로서 바람직하게는 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis), 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus), 및 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주를 들 수 있으며, 보다 바람직하게는 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis), 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus)를 들 수 있으며, 더욱 바람직하게는 프룩토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주, 및 프룩토바실러스 프룩토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주를 들 수 있다.
- [0079] 또한, 본 발명의 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법에 있어서는, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 양쪽을 밸런스 좋게 산생하는 관점에서, 유산균으로서 바람직하게는 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil)을 들 수 있으며, 바람직하게는 프룩토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주를 들 수 있다.
- [0080] 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법에 있어서 이용되는 배지는, 탄소원으로서는 프룩토오스를 더 포함하는 것이 바람직한 것을 제외하고, 상기 "1. 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법"에서 기재한 바와 같다. 배지 중의 프룩토오스의 농도에 대해서는 특별히 한정되지 않으며, 배지의 종류나 배양 방식 등에 따라 적절히 설정하면 되지만, 예를 들면 0.5 ~ 4w/w%, 바람직하게는 1 ~ 3.5w/w%, 보다 바람직하게는 1.5 ~ 2.5w/w%를 들 수 있다. 배지 중에 프룩토오스를 포함하는 것으로, 프룩토바실러스속에 속하는 유산균은 니코틴아미드 리보시드 및 니코틴아미드 리보시드를 균체 내에 축적한다.
- [0081] 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법에 있어서 이용되는 배양 방법 등에 대해서도 상기 "1. 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법"에서 기재한 바와 같다. 이에 따라, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 양쪽을 산생한다. 조제된 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 양쪽을 포함하는 배양물의 사용 형태로서는, 조제된 배양물 그대로 사용하는 형태, 당해 배양

물로부터 균체를 분리시켜 사용하는 형태, 균체를 파쇄시켜 사용하는 형태, 및 니코틴아미드 리보시드를 단리시켜 사용하는 형태를 들 수 있다. 분리 방법으로는, 예를 들면 원심분리법, 막 여과법 등을 들 수 있다. 균체 파쇄법으로는, 비즈 파쇄법 등을 들 수 있다. 단리법으로는, 이온 교환 크로마토그래피, 겔 여과 크로마토그래피, 역상 크로마토그래피, 고속 액체 크로마토그래피 등의 각종 크로마토그래피 기술, 염석, 용매 침전 등을 들 수 있다.

- [0082] 4. 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 강화제; 식품, 화장품 또는 의약품
- [0083] 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 제조 방법에 의해 얻어지는 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드를 포함하는 배양물, 당해 배양물로부터 분리된 균체, 당해 균체의 파쇄물, 및/또는 당해 파쇄물로부터 단리된 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드는, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 강화를 목적으로 한 식품에의 첨가물 혹은 화장품 또는 의약품의 유효 성분으로서 배합되는, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 강화제로서 효과적으로 이용될 수 있다.
- [0084] 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 강화제는, 식품, 화장품 또는 의약품에 배합하여 섭취, 복용 또는 적용시키는 것으로, 체내에 받아들여진 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드가, 세포가 에너지를 이용하기 위해 필요한 물질인 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드로 변환되는 것에 의한 다양한 유용한 효과가 나타난다.
- [0085] 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 강화제는, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 이외에, 다른 프록토바실러스속 유산균 대사물이 포함되어 있어도 된다. 이 경우, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 강화제는, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드에 더해, 당해 다른 프록토바실러스속 유산균 대사물의 강화제로서도 이용될 수 있다.
- [0086] 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 강화제를 식품에 배합하는 것으로, 음식에 의해 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드를 효율적으로 섭취할 수 있다.
- [0087] 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 강화제가 배합되는 식품에 대해서는, 상기 "2. 니코틴아미드 리보시드 강화제; 식품, 화장품 또는 의약품"에 기재된 바와 같다.
- [0088] 또한, 당해 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 강화제를 화장품에 배합하는 것으로, 적용에 의해, 니코틴아미드 리보시드에 의한 약리 효과(노화 예방 등) 및 니코틴아미드 모노뉴클레오티드에 의한 약리 효과(세포 내 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 증가, 노화 예방 등)를 기대할 수 있다.
- [0089] 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 강화제가 배합되는 화장품에 대해서는, 상기 "2. 니코틴아미드 리보시드 강화제; 식품, 화장품 또는 의약품"에 기재된 바와 같다.
- [0090] 또한, 당해 식품의 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 강화제를 의약품에 배합하는 것으로, 복용 또는 적용에 의해 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드를 유효 성분으로서 경구 또는 경피 섭취할 수 있다. 이에 따라, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 섭취에 의한 약리 효과(나이들과 관련된 질병 등의 치료 또는 예방 등) 및 니코틴아미드 리보시드 섭취에 의한 약리 효과(코케인 중후군 및 나이들과 관련된 질병 등의 치료 또는 예방, 및 피부의 산화 손상의 치료 또는 예방 등)를 기대할 수 있다.
- [0091] 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 강화제가 배합되는 의약품의 제형 및 적용 대상에 대해서는, 상기 "2. 니코틴아미드 리보시드 강화제; 식품, 화장품 또는 의약품"에 기재된 바와 같다.
- [0092] 실시예
- [0093] 이하에 실시예를 나타내어 본 발명을 보다 구체적으로 설명하지만, 본 발명은 이들로 한정되는 것은 아니다.
- [0094] 실시예 1. 프록토바실러스속 유산균을 이용한 니코틴아미드 리보시드의 산생
- [0095] 프록토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주(기탁 번호 NITE P-02764), 프록토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주(기탁 번호 NITE P-02765), 프록토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주(기탁 번호 NITE P-02766), 및 프록토바실러스 프록토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주를, 각각 독립적으로, 디프코(Difco)사제의 MRS 배지(전 배양 배지) 3ml에 식균하여, 30℃에서 24시간, 정치(靜置)로 확대 배양했다. 얻어진 배양액을 OD660이 0.02가 되도록, MRS 배지(본 배양 배지) 15ml에 식균하여, 30℃에서 12시간, 정치로 생산 배양했다. 얻어진 배양액을 원심분리에 제

공하여 상청과 균체를 각각 회수했다. 회수한 배양 상청 및 회수한 균체 각각에 대해, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드(NMN) 및 니코틴아미드 리보시드(NR)의 정량을 실시했다.

- [0096] (MRS 배지 조성)
- [0097] 2w/w% 글루코오스
- [0098] 1w/w% 프로테아제펩톤
- [0099] 1w/w% 쇠고기 엑기스
- [0100] 0.5w/w% 효모 엑기스
- [0101] 0.2w/w% 구연산암모늄
- [0102] 0.1w/w% 트윈(Tween) 80
- [0103] 0.5w/w% 초산나트륨
- [0104] 0.01w/w% 황산마그네슘
- [0105] 0.005w/w% 황산망간
- [0106] 0.2w/w% 인산수소2칼륨
- [0107] (상청 중의 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 정량)
- [0108] 회수한 상청 15ml를, 동일 체적의 4w/w% 탄산수소나트륨 용액과 혼합하여, 얻어진 혼합액을 본드 엘루트 PBA(Bond Elut PBA) 칼럼(1ml, 애질런트(Agilent)사제)에 통액시켰다. 또한, 칼럼에 3ml의 2w/w% 탄산수소나트륨 용액을 통액시켜 세정을 실시하고, 이어서, 3ml의 2v/v% 포름산 용액을 통액시켜, 용출액을 회수했다. 용출액 250 μl에, 150 μl의 1.3M 수산화칼륨 수용액, 및 100 μl의 20w/w% 아세트페논을 가하여, 4℃에서 30분간 반응시킨 후, 400 μl의 98v/v% 포름산 수용액을 가하여, 110℃에서 7분간 반응시키는 것으로, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 형광 유도체화 처리를 실시하여, 후술하는 HPLC 조건에서 분석하여, 상청 중의 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 생산량(배양액당의 생산량; mg/L)을 측정했다. 결과를 표 1에 나타낸다. 또한, 표 1 중 n.d.는 불검출된 것을 나타낸다.
- [0109] (균체 내의 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 정량)
- [0110] 회수한 균체를 10ml의 0.85w/w% KCl 수용액으로 세정했다. 세정한 균체를 재차 원심분리에 제공하여, 균체를 회수했다. 회수한 균체를 0.5ml의 0.1M 인산칼륨 완충액(pH 7.0)에 현탁하여, 0.1mm의 지르코니아 비즈를 등량 첨가한 후, 비즈 파쇄기로 균체를 파쇄했다. 파쇄된 균체를 원심분리로 분리시켜, 상청(균체 파쇄 추출액)을 회수했다. 균체파쇄 추출액 250 μl에, 150 μl의 1.3M 수산화칼륨 수용액 및 100 μl의 20w/w% 아세트페논을 가하여, 4℃에서 30분간 반응시킨 후, 400 μl의 98v/v% 포름산 수용액을 가하여, 110℃에서 7분간 반응시키는 것으로, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 형광 유도체화 처리를 실시하여, 후술하는 HPLC 조건에서 분석하여, 회수 균체 중의 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드 생산량(균체당의 생산량; mg/건조 균체 1g당)을 측정했다. 결과를 표 1에 나타낸다.
- [0111] (HPLC 분석 조건)
- [0112] 칼럼: YMC Triart C18(4.6×150mm)
- [0113] 칼럼 온도: 30℃
- [0114] 용리액 A: 0.1v/v% 포름산의 수용액
- [0115] 용리액 B: 0.1v/v% 포름산의 아세트니트릴 용액
- [0116] 그래디언트 조건: 0분(용리액 A:용리액 B=9:1(체적비))에서 15분(용리액 A:용리액 B=3:7(체적비))에의 그래디언트
- [0117] 유속: 1ml/min
- [0118] 검출기: 형광 검출기(Ex: 320nm, Em: 458nm)

[0119] 검출 시간: 4.3분(니코틴아미드 모노뉴클레오티드의 경우), 5.1분(니코틴아미드 리보시드의 경우)

표 1

	상청 중 (mg/L)		균체 내 (mg/건조 균체 1g)	
	NMN	NR	NMN	NR
프록토바실러스 두리오니스 RD011727주	n.d.	0.8	n.d.	n.d.
프록토바실러스 트로파에오일 RD012353주	n.d.	1.5	n.d.	n.d.
프록토바실러스 트로파에오일 RD012354주	n.d.	0.8	n.d.	n.d.
프록토바실러스 프록토서스 NBRC3516주	n.d.	1.1	n.d.	n.d.

[0120]

[0121] 표 1에서 분명하듯이, 프록토오스를 포함하지 않는 배지를 이용하여 얻어진 배양물에 있어서는, 균체 내에서는 니코틴아미드 모노뉴클레오티드(NMN) 및 니코틴아미드 리보시드(NR) 중 어느 것도 검출되지 않았으며, 상청 중에서는 니코틴아미드 모노뉴클레오티드(NMN)가 검출되지 않은 한편, 상청 중에서 니코틴아미드 리보시드(NR)의 특이적 산생을 확인할 수 있었다. 또한, 그 중에서도 프록토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주 및 프록토바실러스 프록토서스(Fructobacillus fructosus) NBRC3516 주, 특히 프록토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주에서, 많은 니코틴아미드 리보시드(NR)의 산생을 확인할 수 있었다.

[0122] 실시예 2. 프록토바실러스속 유산균을 이용한 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 산생

[0123] 본 배양 배지에 2w/w%의 프록토오스를 첨가한 것 이외는 실시예 1과 동일한 방법으로, 배양, 배양 상청 및 균체의 회수, 및 니코틴아미드 모노뉴클레오티드 및 니코틴아미드 리보시드의 정량을 실시했다. 결과를 표 2에 나타낸다.

표 2

	상청 중 (mg/L)		균체 내 (mg/건조 균체 1g)	
	NMN	NR	NMN	NR
프록토바실러스 두리오니스 RD011727주	n.d.	n.d.	1.8	0.07
프록토바실러스 트로파에오일 RD012353주	n.d.	n.d.	1.4	0.19
프록토바실러스 트로파에오일 RD012354주	n.d.	n.d.	0.76	0.06
프록토바실러스 프록토서스 NBRC3516주	n.d.	n.d.	1.4	0.09

[0124]

[0125] 표 2에서 분명하듯이, 프록토오스를 포함하는 배지를 이용하여 얻어진 배양물에 있어서는, 상청 중에서는 니코틴아미드 모노뉴클레오티드(NMN) 및 니코틴아미드 리보시드(NR) 중 어느 것도 검출되지 않은 한편, 균체 내에서의 니코틴아미드 모노뉴클레오티드(NMN) 및 니코틴아미드 리보시드(NR)의 특이적 산생을 확인할 수 있었다. 또한, 프록토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주 및 프록토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012354 주, 특히 프록토바실러스 트로파에오일(Fructobacillus tropaeoil) RD012353 주에서는, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드(NMN) 및 니코틴아미드 리보시드(NR)의 양쪽이 밸런스 좋게 산생되었다. 한편, 프록토바실러스 두리오니스(Fructobacillus durionis) RD011727 주 및 프록토바실러스 프록

토서스(*Fructobacillus fructosus*) NBRC3516 주, 특히 프룩토바실러스 두리오니스(*Fructobacillus durionis*) RD011727 주에서는, 니코틴아미드 모노뉴클레오티드(NMN) 및 니코틴아미드 리보시드(NR)의 양쪽이 산생됨과 동시에, 이들 중 니코틴아미드 모노뉴클레오티드(NMN)의 비율이 특히 높게 되도록 산생된 것으로 확인할 수 있었다.

수탁번호

[0126]

기탁기관명 : 일본 도쿠리츠교세이호징 세이헝효카기쥬츠키방키코 특허 미생물 기탁 센터

수탁번호 : NPMDNITEP02764

수탁일자 : 20180821

기탁기관명 : 일본 도쿠리츠교세이호징 세이헝효카기쥬츠키방키코 특허 미생물 기탁 센터

수탁번호 : NPMDNITEP02765

수탁일자 : 20180821

기탁기관명 : 일본 도쿠리츠교세이호징 세이헝효카기쥬츠키방키코 특허 미생물 기탁 센터

수탁번호 : NPMDNITEP02766

수탁일자 : 20180821