

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02017/222029

発行日 平成31年4月11日(2019.4.11)

(43) 国際公開日 **平成29年12月28日(2017.12.28)**

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 2 3 C 9/13 (2006.01)	A 2 3 C 9/13	4 B 0 0 1
A 2 3 L 33/10 (2016.01)	A 2 3 L 33/10	4 B 0 1 8
C 1 2 P 1/02 (2006.01)	C 1 2 P 1/02 Z	4 B 0 6 4
C 1 2 P 21/06 (2006.01)	C 1 2 P 21/06	4 C 0 8 7
A 6 1 K 35/20 (2006.01)	A 6 1 K 35/20	4 C 0 8 8
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 20 頁) 最終頁に続く		

出願番号 特願2018-524168 (P2018-524168)	(71) 出願人 504150461 国立大学法人鳥取大学 鳥取県鳥取市湖山町南4丁目101番地
(21) 国際出願番号 PCT/JP2017/023100	
(22) 国際出願日 平成29年6月22日(2017.6.22)	
(31) 優先権主張番号 特願2016-124765 (P2016-124765)	(71) 出願人 504155293 国立大学法人島根大学 島根県松江市西川津町1060
(32) 優先日 平成28年6月23日(2016.6.23)	
(33) 優先権主張国 日本国(JP)	(74) 代理人 100145403 弁理士 山尾 憲人
	(74) 代理人 100122301 弁理士 富田 憲史
	(72) 発明者 岡本 賢治 鳥取県鳥取市湖山町南4丁目101番地 国立大学法人鳥取大学内
	最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アンジオテンシン変換酵素阻害活性の高い発酵乳および生理活性ペプチドの製造方法

(57) 【要約】

本発明は、アンジオテンシン変換酵素阻害活性、血圧降下活性および/または脳卒中予防活性の高い発酵乳を提供する。さらに本発明は、きのこを用いて乳を発酵させることを特徴とする、アンジオテンシン変換酵素阻害活性、血圧降下活性および/または脳卒中予防活性の高い発酵乳の製造方法および T y r - P r o の製造方法を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

きのこを用いて乳を発酵させることを特徴とする、アンジオテンシン変換酵素阻害活性、血圧降下活性および/または脳卒中予防活性を有する発酵乳の製造方法。

【請求項 2】

きのこがキカイガラタケ科のきのこ、サルノコシカケ科のきのこまたはコウヤクタケ科のきのこである請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

きのこがNeolentinus属、Trametes属またはPeniophora属のきのこである請求項 2 記載の方法。

【請求項 4】

きのこがNeolentinus属またはPeniophora属のきのこである請求項 3 記載の方法。

【請求項 5】

乳が牛乳またはスキムミルクである請求項 1 ~ 4 のいずれか記載の方法。

【請求項 6】

請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項記載の方法により得られる、アンジオテンシン変換酵素阻害活性、血圧降下活性および/または脳卒中予防活性を有する発酵乳。

【請求項 7】

請求項 6 記載の発酵乳を含有させることを特徴とする、アンジオテンシン変換酵素阻害活性、血圧降下活性および/または脳卒中予防活性を有する飲食物の製造方法。

【請求項 8】

請求項 6 記載の発酵乳を含有させることを特徴とする、アンジオテンシン変換酵素阻害用、血圧降下用および/または脳卒中予防用の医薬組成物の製造方法。

【請求項 9】

きのこを用いて乳を発酵させることを特徴とする、T y r - P r o の製造方法。

【請求項 10】

きのこがキカイガラタケ科のきのこ、サルノコシカケ科のきのこまたはコウヤクタケ科のきのこである請求項 9 記載の方法。

【請求項 11】

きのこがNeolentinus属、Trametes属またはPeniophora属のきのこである請求項 10 記載の方法。

【請求項 12】

きのこがNeolentinus属またはPeniophora属のきのこである請求項 11 記載の方法。

【請求項 13】

乳が牛乳またはスキムミルクである請求項 9 ~ 12 のいずれか記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、生理活性を有する食品の製造方法、詳細にはアンジオテンシン変換酵素阻害活性、血圧降下活性および/または脳卒中予防活性の高い発酵乳の製造方法に関する。さらに本発明は、生理活性ペプチドの製造方法、詳細にはT y r - P r o の製造方法に関する。なお、本願は、国等の委託研究の成果に係る特許出願（平成28年度農林水産省「農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業」産業技術力強化法第19条の適用を受ける特許出願）である。

【背景技術】

【0002】

食と健康との関係が益々注目されている昨今において、新しくかつ優れた生理活性を有する食品の開発が望まれている。食品の生理活性については多くの研究がなされており、様々な生理活性を有する食品が開発され、販売されている。とりわけ発酵食品の生理活性は注目すべきものが多い。例えば、タンパク質分解活性をもつ乳酸菌を用いた発酵乳は血

10

20

30

40

50

圧低下活性を有することが知られている（例えば特許文献1参照）。

【0003】

血圧低下活性を示す発酵乳中の物質として、Ile-Pro-Pro、Val-Pro-Pro、Tyr-Proなどのペプチドが知られている。これらのペプチドはアンジオテンシン変換酵素阻害活性によって血圧を低下させる。しかし、これらのペプチドの安価な工業生産技術はまだ確立されておらず、高価である。

【0004】

したがって、従来の発酵乳よりも更にアンジオテンシン変換酵素阻害活性や血圧低下活性などが高い発酵乳が求められている。また、上記のようなアンジオテンシン変換酵素阻害活性や血圧低下活性を有するペプチドは非常に高価であり、安価かつ簡単にこれらのペプチドを製造する技術が求められていた。

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】国際特許出願公開公報W02012/063826A1

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

本発明の解決しようとする課題は、アンジオテンシン変換酵素阻害活性、血圧低下活性および/または脳卒中予防活性の高い新規な発酵乳を得ることであった。さらに、本発明の解決しようとする課題は、アンジオテンシン変換酵素阻害活性を有するペプチドを安価かつ簡単に製造することであった。

20

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意研究を重ね、ある種のきのこを用いて得られた発酵乳が、非常に高いアンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害活性、血圧低下活性および/または脳卒中予防活性を示すこと、そして得られた発酵乳中のTyr-Pro含量が極めて多いことを見出し、本発明を完成させるに至った。

【0008】

すなわち、本発明は下記に関する：

30

（1）きのこを用いて乳を発酵させることを特徴とする、アンジオテンシン変換酵素阻害活性、血圧低下活性および/または脳卒中予防活性を有する発酵乳の製造方法。

（2）きのこがキカイガラタケ科のきのこ、サルノコシカケ科のきのこまたはコウヤクダケ科のきのこである（1）記載の方法。

（3）きのこがNeolentinus属、Trametes属またはPeniophora属のきのこである（2）記載の方法。

（4）きのこがNeolentinus属またはPeniophora属のきのこである（3）記載の方法。

（5）乳が牛乳またはスキムミルクである（1）～（4）のいずれか記載の方法。

（6）（1）～（5）のいずれか記載の方法により得られる、アンジオテンシン変換酵素阻害活性、血圧低下活性および/または脳卒中予防活性を有する発酵乳。

40

（7）（6）記載の発酵乳を含有させることを特徴とする、アンジオテンシン変換酵素阻害活性、血圧低下活性および/または脳卒中予防活性を有する飲食物の製造方法。

（8）（6）記載の発酵乳を含有させることを特徴とする、アンジオテンシン変換酵素阻害用、血圧低下用および/または脳卒中予防用の医薬組成物の製造方法。

（9）きのこを用いて乳を発酵させることを特徴とする、Tyr-Proの製造方法。

（10）きのこがキカイガラタケ科のきのこ、サルノコシカケ科のきのこまたはコウヤクダケ科のきのこである（9）記載の方法。

（11）きのこがNeolentinus属、Trametes属またはPeniophora属のきのこである（10）記載の方法。

（12）きのこがNeolentinus属またはPeniophora属のきのこである（11）記載の方

50

法。

(1 3) 乳が牛乳またはスキムミルクである (9) ~ (1 2) のいずれか記載の方法。

【発明の効果】

【 0 0 0 9 】

本発明により得られる発酵乳は非常に高い A C E 阻害活性、血圧降下活性および / または脳卒中予防活性を有するので、血圧が高い人の血圧管理や高血圧の予防、脳卒中の予防などを効果的に行うことができる。また、本発明の発酵乳は、A C E 阻害作用、血圧降下作用、脳卒中予防作用だけでなく、抗不安作用、精神安定作用、鎮痛作用、筋肉疲労の回復作用、呈味効果などを有するものである。可食性のきのこあるいは毒性が認められないきのこを用いて製造する場合、本発明の発酵乳は安全性が高い。さらに、本発明によれば、A C E 阻害作用、抗不安作用、鎮痛作用などの生理活性を有する T y r - P r o を牛乳などの原料から、安価かつ簡単に製造することができる。

10

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 0 】

【図 1】図 1 は、マツオウジを用いて得られた発酵乳の A C E 阻害活性の経時変化を示すグラフである。

【図 2】図 2 は、マツオウジを用いて得られた発酵乳と市販品の A C E 阻害活性を比較したグラフである。

【図 3】図 3 は、カワタケを用いて得られた発酵乳の A C E 阻害活性の経時変化を示すグラフである。

20

【図 4】図 4 は、カワタケを用いて得られた発酵乳と市販品の A C E 阻害活性を比較したグラフである。

【図 5】図 5 は、マツオウジを用いて得られた発酵乳の脳卒中易発症自然発症高血圧ラット (S H R S P ラット) に対する血圧降下作用を調べた結果を示すグラフである。実線はマツオウジ発酵乳投与区分の収縮期血圧、破線は対照区分の収縮期血圧を示す。

【図 6】図 6 は、マツオウジを用いて得られた発酵乳の脳卒中易発症自然発症高血圧ラット (S H R S P ラット) に対する脳卒中予防効果を調べた結果を示すグラフである。実線は 1 % 食塩を含むマツオウジ発酵乳投与区分の生存率、破線は対照区分の生存率を示す。

【図 7】図 7 は、マツオウジを用いて得られた発酵乳中の T y r - P r o を同定した結果を示すエレクトロスプレーイオン化質量分析 (E S I - M S) のチャートである。

30

【図 8】図 8 は、T y r - P r o 生産菌のスクリーニング結果を示すグラフである。

【図 9】図 9 は、マツオウジを用いて得られた発酵乳中の T y r - P r o 濃度の経時変化を示すグラフである。

【図 1 0】図 1 0 は、カワタケを用いて得られた発酵乳中の T y r - P r o 濃度の経時変化を示すグラフである。

【図 1 1】図 1 1 は、カワタケを前培養せずに菌糸体を直接原料に接種して得られた発酵乳中の T y r - P r o 濃度の経時変化を示すグラフである。左パネルは牛乳を原料とした場合、右パネルはスキムミルクを原料とした場合の T y r - P r o 濃度を示す。

【図 1 2】図 1 2 は、マツオウジを用いて得られた発酵乳中のアミノ酸分析結果を示すグラフである。

40

【図 1 3】図 1 3 は、カワタケを用いて得られた発酵乳中のアミノ酸分析結果を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 1 】

本発明は、1 の態様において、きのこを用いて乳を発酵させることを特徴とする、発酵乳の製造方法に関する。好ましくは、本発明の方法により得られる発酵乳は A C E 阻害活性、血圧降下活性および / または脳卒中予防活性を有するものである。

【 0 0 1 2 】

本発明は、さらなる態様において、きのこを用いて乳を発酵させて得られる、血圧降下活性および / または脳卒中予防活性を有する発酵乳に関する。

50

【 0 0 1 3 】

発酵乳の製造には乳酸菌を用いるという技術常識が存在している。かかる状況下において本発明者らは、きのこを用いて発酵乳の製造を試みたところ、意外なことに極めて強力なACE阻害活性、血圧降下活性および/または脳卒中予防活性を有する発酵乳が得られることを見出した。さらに本発明者らは、得られた発酵乳中のTy r - P r o含量が、乳酸菌を用いた発酵乳中のTy r - P r o含量よりも遙かに多いことも見出した。これらの知見に基づいて、本発明が完成された。

【 0 0 1 4 】

きのこは、菌類のうち肉眼で観察できる程度の大きさの子実体を形成するものをいい、その多くは担子菌門または子のう菌門に属する生物である。本発明の発酵乳の製造方法およびTy r - P r oの製造方法において用いるきのこは、食用とされているきのこ、あるいは毒性が認められないきのこであれば特に限定されない。そのようなきのこの例としては、ヒラタケ (*Pleurotus ostreatus*)、タモギタケ (*Pleurotus cornucopiae* var. *citrinopileatus*)、ウスヒラタケ (*Pleurotus pulmonarius*)、トキイロヒラタケ (*Pleurotus djamor*)、エリンギ (*Pleurotus eryngii*)、バイリング (ハクレイタケ) (*Pleurotus nebrodensis*)、オオヒラタケ (*Pleurotus cystidiosus*)、クロアワビタケ (*Pleurotus abalonus*)、マツオウジ (*Neolentinus lepideus*)、スエヒロタケ (*Schizophyllum commune*)、シイタケ (*Lentinula edodes*)、ハタケシメジ (*Lyophyllum decastes*)、ブナシメジ (*Hypsizygus marmoreus*)、ムラサキシメジ (*Lepista nuda*)、コムラサキシメジ (*Lepista sordida*)、ニオウシメジ (*Trichoroma gigantea*)、ナラタケ属のきのこ (*Armillaria* spp.)、ムキタケ (*Panellus serotinus*)、ヌメリツバタケ (*Oudemansiella mucida*)、ヤコウタケ (*Mycena chlorophos*)、エノキタケ (*Flammulina velutipes*)、オオイチョウタケ (*Leucopaxillus giganteus*)、フクロタケ (*Volvariella volvacea*)、ツクリタケ (マッシュルーム) (*Agaricus bisporus*)、カワリハラタケ (別名ヒメマツタケ、アガリクス) (*Agaricus brazei*)、ササクレヒトヨタケ (*Coprinus comatus*)、ヤナギマツタケ (*Agrocybe cylindracea*)、サケツバタケ (*Stropharia rugosoannulata*)、キサケツバタケ (*Stropharia rugosoannulata* Farlow in Murrill f. *lutea* Hongo)、クリタケ (*Naematoloma sublateritium*)、シビレタケ属のきのこ (*Psilocybe* spp.)、ナメコ (*Pholiota nameko*)、ヌメリスギタケ (*Pholiota adiposa*)、ヌメリスギタケモドキ (*Pholiota aurivella*)、チャナメツムタケ (*Pholiota lubrica*)、シロナメツムタケ (*Pholiota lenta*)、ハナビラタケ (*Sparassis crispa*)、カンゾウタケ (*Fistulina hepatica*)、サンゴハリタケ (*Hericium ramosum*)、ヤマブシタケ (*Hericium erinaceum*)、エゾハリタケ (*Climacodon septentrionalis*)、ブナハリタケ (*Mycoleptodonoides aitchisonii*)、タマチョレイタケ (*Polyporus tuberaster*)、アミスギタケ (*Favolus arcularius*)、チョレイマイタケ (*Polyporus umbellatus*)、トンビマイタケ (*Meripilus giganteus*)、マイタケ (*Grifola frondosa*)、マスタケ (*Laetiporus sulphureus*)、ブクリョウ (*Wolfiporia cocos*)、マンネンタケ (*Ganoderma lucidum*)、マゴジャクシ (*Ganoderma neojaponicum*)、コフキササルノコシカケ (*Elfvungia applanata*)、カバノアナタケ (*Inonotus obliqua*)、メシマコブ (*Phellius linteus*)、シロキクラゲ (*Tremella fuciformis*)、ハナビラニカワタケ (*Tremella foliacea*)、アラゲキクラゲ (*Auricularia polytricha*)、キクラゲ (*Auricularia auricula*)、キヌガサタケ (*Dictyophora indusiata*) などが挙げられるが、これらに限定されない。本発明において好ましく用いられるきのこは乳をよく発酵し、発酵乳中にACE阻害活性、血圧降下活性および/または脳卒中予防活性を生じさせることができるきのこ、あるいは発酵乳中にTy r - P r oを多く生じさせることができるきのこである。本発明において好ましく用いられるきのこの例としてはキカイガラタケ科 (*Gloeophyllaceae*) のきのこ、コウウヤクタケ科 (*Corticaceae*) のきのこ、サルノコシカケ科 (*Polyporaceae*) のきのこなどが挙げられる。

【 0 0 1 5 】

本発明に用いることのできるキカイガラタケ科のきのことしては、*Neolentinus*属のきのこ、例えばマツオウジ (*Neolentinus lepideus*) などが例示されるが、これらに限定さ

10

20

30

40

50

れない。マツオウジは褐色腐朽菌で、針葉樹の切り株や丸太に発生する比較的大型のきのこであり、可食性であり、弾力のある肉質を有し、ラムネ様の芳香を放つ。本発明に用いることのできるサルノコシカケ科のきのことしては、*Trametes*属のきのこ、例えばカワラタケなどが例示されるが、これらに限定されない。本発明に用いることのできるコウヤクダケ科のきのことしては、*Peniophora*属のきのこ、例えばカワタケなどが例示されるが、これらに限定されない。

【0016】

本発明において好ましく用いられるきのことしては、*Neolentinus*属、*Trametes*属または*Peniophora*属のきのこが挙げられるが、これらに限定されない。

【0017】

本発明に用いることができるきのこは、森林、山野、野原などから採取することができる。本発明に用いることができるきのこは、鳥取大学農学部附属菌類きのこ遺伝子資源研究センター(FMRC)、独立行政法人製品評価技術基盤機構(NITE)、American Type Culture Collection(ATCC)などの機関から分譲してもらうこともできる。

【0018】

本発明に用いる乳は哺乳動物の乳である。乳が由来する動物種は特に限定されず、ウシ、ヤギ、ヒツジ、スイギュウ、ヤク、ラクダ、ロバ、ウマ、トナカイ、ヘラジカなどが例示される。牛乳は生産量も多く比較的安価であるので、本発明の発酵乳を大量生産するために好適に用いられる。本明細書において、乳という場合には、脱脂粉乳(スキムミルク)などの乳の加工品も含まれる。

【0019】

きのこによる乳の発酵は、乳または乳を含む液体中にきのこの菌糸または胞子を添加して一定時間培養することにより行われる。きのこによる乳の発酵において、ラクトース、グルコース、ガラクトース、マンノース、キシロース、マルトース、セロビオース、デンプン、蔗糖などの炭素源、酵母エキス、カゼインの加水分解物、ホエータンパク質加水分解物、大豆タンパク質加水分解物、コーンステープリカー等の有機窒素含有物を窒素源として乳に添加してもよい。リン酸塩、ナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩などの無機塩類を乳に添加してもよい。

【0020】

発酵温度はきのこの種類、乳の種類、乳への添加物の種類、発酵時間などの要因によって異なるが、通常は20 ~ 37、好ましくは25 ~ 35、より好ましくは28 ~ 33であるが適宜変更できる。発酵は、通常は、好気条件下または微好気条件下で行う。微好気条件下とは、きのこが増殖可能な中~低酸素環境下をいう。このような条件は当業者に公知であり、適宜定めうる。静置培養、攪拌培養、振とう培養などの様々な公知の培養様式にて発酵を行うことができる。培養容器も公知のものを適宜選択して使用することができる。発酵過程においてpHの調節を行ってもよく、行わなくてもよい。発酵時間もきのこの種類、乳の種類、乳への添加物の種類、発酵温度などの要因によって異なるが、通常は1日~30日、好ましくは3日~21日であるが適宜変更できる。発酵時間は、例えば、発酵乳中のACE阻害活性や所望のペプチドの生産量などを測定することによって決めることができる。発酵条件は当業者が通常の知識を用いて、あるいは通常の実験を行うことにより決定することができる。乳へのきのこの接種は、あらかじめ作成しておいた種培養を原料乳に添加することにより行ってもよく、きのこの菌体を直接原料乳に添加することにより行ってもよい。

【0021】

本明細書においてACE阻害とは、アンジオテンシン変換酵素の活性を低下させることをいう。具体的にはアンジオテンシンIからアンジオテンシンIIへの変換を触媒する活性を低下させることをいう。ACE阻害はインビトロにおけるものであってもよく、インビボにおけるものであってもよい。ACE阻害活性の測定は公知の方法(例えばCushman, DW., Cheung, HS. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-con

10

20

30

40

50

verting enzyme of rabbit lung. Biochemical Pharmacology, 20: 1637-1648 (1971)に記載の方法)にて行うことができる。ACE阻害活性測定用キットも市販されている。

【0022】

本発明の発酵乳は、Tyr-Proを多く含み、高いACE阻害活性を有するので、優れた血圧降下作用を示す。本明細書において血圧降下とは、対象の血圧を低下させることをいう。血圧の測定は公知の方法にて行うことができる。本発明の発酵乳を高血圧の治療および/または予防に用いてもよい。高血圧の治療とは、対象における血圧を低下させて正常な血圧にする、あるいは正常な血圧に近づけることをいう。高血圧の予防とは、対象における将来の高血圧の発症可能性を低下させることをいう。

【0023】

本発明の発酵乳はまた、優れた脳卒中予防活性を有する。脳卒中は、脳出血と脳梗塞およびクモ膜下出血を包含する。本明細書において、脳卒中の予防とは、対象における将来の脳卒中の発症可能性を低下させることをいう。

【0024】

本発明の発酵乳は、発酵によって生じたTyr-Proを、好ましくは200 μ g/ml以上、より好ましくは300 μ g/ml以上含有する。

【0025】

さらに、本発明の発酵乳は、バリン、ロイシン、イソロイシンなどの分岐鎖アミノ酸、フェニルアラニン、トリプトファン、チロシンなどの芳香族アミノ酸、グルタミン酸などの呈味性アミノ酸を豊富に含むので、ACE阻害作用、血圧降下作用、脳卒中予防作用だけでなく、抗不安作用、精神安定作用、鎮痛作用、筋肉疲労の回復作用、栄養補填効果、呈味効果などを有する。

【0026】

本発明の発酵乳は、きのこにより発酵された乳そのままであってもよく、きのこにより発酵された乳を濃縮、希釈、乾燥などの処理・加工に付したものであってもよい。これらの処理・加工は当業者に公知であり、公知の方法により行うことができる。したがって、本発明の発酵乳の形態はいずれの形態であってもよく、特に限定されない。本発明の発酵乳の形態は液体であってもよく、あるいは粉末、顆粒、フレーク、ブロックなどの固体、ゲル、ペースト、クリームなどの半固体であってもよい。

【0027】

本発明は、さらなる態様において、きのこを用いて乳を発酵させて得られる発酵乳を食品または食品素材、あるいは担体または賦形剤に含有させることを特徴とする、ACE阻害活性、血圧降下活性、および/または脳卒中予防活性を有する飲食物の製造方法に関する。

【0028】

本発明は、さらにもう1つの態様において、きのこを用いて乳を発酵させて得られる発酵乳を含む、ACE阻害活性、血圧降下活性、および/または脳卒中予防活性を有する飲食物に関する。

【0029】

本発明の飲食物は、ACE阻害作用、血圧降下作用、および/または脳卒中予防作用だけでなく、抗不安作用、精神安定作用、鎮痛作用、筋肉疲労の回復作用、栄養補填効果、呈味効果などを有する。

【0030】

きのこを用いて乳を発酵させて得られる発酵乳を含有させる食品は、いかなる種類の食品であってもよく、特に限定されない。きのこを用いて乳を発酵させて得られる発酵乳を含有させる食品素材についても、いかなる種類の食品素材であってもよく、特に限定されない。食品素材は、食品を製造するために処理・加工される素材であり、食品の原料も含まれる。

【0031】

本発明の飲食物は液体であってもよく、乾燥品のごとき固体であってもよく、ペースト

10

20

30

40

50

などの半固体であってもよい。本発明の飲食物を固体、液体または半固体にする方法は公知である。本発明の発酵乳をそのまま飲食物として提供してもよく、あるいは本発明の発酵乳を飲料、菓子、あるいはクリーム、チーズなどの乳製品などに含ませた飲食物を製造してもよい。本発明の発酵乳を乳製品以外の飲食物に含ませた飲食物を製造してもよい。

【0032】

本発明の発酵乳や飲食物はサプリメントであってもよい。サプリメントの調製方法は公知であり、製薬分野で公知の担体や賦形剤を用いて調製してもよい。サプリメントはドリンク剤、濃縮液のごとき液剤、錠剤、粉末や顆粒あるいはドロップのごとき固形剤、クリーム、ペースト、ゲルのごとき半固形剤、あるいはカプセル剤などとして調製することができる。きのこを用いて得られる、高いACE害活性、血圧降下活性、および/または脳卒中予防活性を有する発酵乳はこれまで知られていないので、それを含む飲食物は新規なものである。本発明の発酵乳をクロマトグラフィー法などの公知の方法により精製し、ACE阻害活性の高い1またはそれ以上の画分を得て、該画分を含む飲食物を得てもよい。かかる飲食物もまた新規である。

10

【0033】

本発明は、さらなる態様において、きのこを用いて乳を発酵させて得られる発酵乳を担体または賦形剤に含有させることを特徴とする、アンジオテンシン変換酵素阻害用、医薬組成物の製造方法に関する。担体や賦形剤は製薬分野で公知のものを用いることができる。本発明の医薬組成物は、混合、粉碎、充填、打錠などの公知のプロセスにより製造することができる。着色料、香料、甘味料などの公知の添加物を本発明の医薬組成物に用いてもよい。

20

【0034】

本発明は、さらにもう1つの態様において、きのこを用いて乳を発酵させて得られる発酵乳を含む、アンジオテンシン変換酵素阻害用、血圧降下用、および/または脳卒中予防の医薬組成物に関する。

【0035】

本発明の医薬組成物は、ACE阻害、血圧降下、脳卒中予防だけでなく、抗不安、精神安定、鎮痛、筋肉疲労の回復、栄養補填などにも用いることができる。

【0036】

本発明の医薬組成物の剤形は特に限定されるいずれの剤形であってもよい。錠剤、ドロップ、顆粒、粉末などの固形であってもよく、シロップなどの液体であってもよく、クリーム、ペーストのような半固体であってもよく、あるいはカプセル剤としてもよい。各種剤形の製法は公知であり、本発明の医薬組成物にも適用することができる。本発明の発酵乳をクロマトグラフィー法などの公知の方法により精製し、ACE阻害活性、血圧降下活性、および/または脳卒中予防活性の高い1またはそれ以上の画分を用いて、ACE阻害用、血圧降下用、および/または脳卒中予防の医薬組成物を製造してもよい。

30

【0037】

本発明は、別の態様において、きのこを用いて乳を発酵させることを特徴とする、Ty r - P r oの製造方法に関する。

【0038】

上で説明したように、Ty r - P r oはACE阻害活性を有しているので、血圧降下作用がある。Ty r - P r oは抗不安作用を有すること、鎮痛活性にも重要であることも知られている。

40

【0039】

本発明のTy r - P r oの製造方法に用いる乳については上で説明したとおりである。

【0040】

本発明のTy r - P r oの製造方法に用いられるきのこについても、上で説明したとおりであるが、加えて、後の操作によってTy r - P r oと毒性物質が分離できる場合には毒性が認められるきのこであっても使用可能である。本発明のTy r - P r oの製造方法に好ましく用いられるきのこはキカイガラタケ科のきのこ、サルノコシカケ科のきのこま

50

たはコウヤクタケ科のきのこなどである。これらのきのこについては上で説明したとおりである。本発明のTy r - P r oの製造方法において、より好ましく用いられるきのこはNeolentinus属、Trametes属またはPeniophora属のきのこが挙げられるが、これらに限定されない。

【0041】

本発明のTy r - P r oの製造方法における乳の発酵条件も当業者が適宜定めうる。当業者であれば、きのこの種類、乳の種類や濃度、発酵温度、発酵時間、発酵pH、通気攪拌条件、培養容器などの諸条件を選定して、Ty r - P r oの生産量の増加をはかることができる。

【0042】

発酵乳中のTy r - P r oをHPLC等の公知の手段により定量することができる。発酵乳中に生じたTy r - P r oを、遠心分離、膜分離などの方法による固液分離、ならびにイオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過、疎水クロマトグラフィーなどの公知の分離、精製方法によって精製し、目的に応じた純度とすることができる。

【0043】

以下に実施例を示して本発明をより詳細かつ具体的に説明するが、実施例は本発明を限定するものではない。

【実施例1】

【0044】

実施例1．きのこを用いるACE阻害活性（ACE阻害活性）を有する発酵乳の製造

（1）マツオウジ（Neolentinus lepideus）の前培養

MYG培地（麦芽エキス1.0%、酵母エキス0.4%、グルコース0.4%、寒天1.5%）で生育させた菌糸を5mm²のサイズで切り出し、前培養用のMYG液体培地（麦芽エキス1.0%、酵母エキス0.4%、グルコース0.4%）50mlに接種し、28℃で7～9日間培養した。その後、生育した培養菌糸体を無菌条件下でろ過により分離し、発酵乳の製造に用いた。実験に用いたマツオウジは、特許手続上の微生物の寄託の国際的承認に関するブダペスト条約に基づいて、郵便番号292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8 122号室の、独立行政法人製品評価技術基盤機構 特許微生物寄託センターに寄託され、2016年6月8日付けで受領番号NITE AP-02283を付与された。このマツオウジは、同センターにおいて国際寄託に移管され、2017年6月9日付けで受託番号NITE BP-02283を付与された。このマツオウジを以下の実験で使用した。

【0045】

（2）マツオウジによる発酵乳の製造とACE阻害活性

前培養で得られた菌糸体を、オートクレーブ済みの牛乳培地に植菌し、28℃、微好気条件下で培養し、培養物の一部を経日的にサンプリングし、遠心分離（4℃、1500rpm、10分）して上清をフィルター濾過したサンプルについて、ACE Kit-WST（同仁化学研究所）を用いて行った。結果を図1に示す。ACE阻害活性は経日的に増加し、発酵4日目にACE活性を約70%以上阻害し、発酵6日目以降にACE活性を約80%阻害するに至った。

【0046】

（3）マツオウジを用いて得られた発酵乳と市販特定保健用食品のACE阻害活性の比較

上記と同様にしてマツオウジを用いて6日間発酵して得られた発酵乳と、市販特定保健用食品（牛乳に乳酸菌を作用させて製造される血圧が高めの人に適していると言われる乳性飲料）のACE阻害活性を比較した。本発明の発酵乳と市販特定保健用食品（ラクトリペプチドVPPおよびIPPを含有）をそれぞれ100倍希釈、500倍希釈したサンプルを調製し、ACE阻害活性を調べた結果を図2に示す。本発明の発酵乳を100倍希釈したものは、市販特定保健用食品を100倍希釈したものに比べて2倍近くのACE阻害活性を有していた。本発明の発酵乳を500倍希釈したものは、市販特定保健用食品を

10

20

30

40

50

500倍希釈したものに比べて2倍以上のACE阻害活性を有していた。本発明の発酵乳は1000倍希釈してもACE活性を示したが、市販特定保健用食品は1000倍希釈するとACE活性をほとんど消失した。これらの結果から、本発明の発酵乳は、市販特定保健用食品よりも高いACE阻害活性を有することがわかった。

【0047】

(4) カワタケ (*Peniophora* sp.) による発酵乳の製造とACE阻害活性

上記(2)と同様にして、カワタケを用いて発酵乳を製造し、ACE阻害活性を調べた。結果を図3に示す。ACE阻害活性は経日的に増加し、発酵4日目にACE活性を約70%以上阻害し、発酵6日目以降にACE活性を約80%阻害するに至った。実験に用いたカワタケは、特許手続上の微生物の寄託の国際的承認に関するブダペスト条約に基づいて、郵便番号292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8 122号室の、独立行政法人製品評価技術基盤機構 特許微生物寄託センターに寄託され、2016年6月8日付けで受領番号NITE AP-02284を付与された。このカワタケは、同センターにおいて国際寄託に移管され、2017年6月9日付けで受託番号NITE BP-02284を付与された。このカワタケを以下の実験で使用した。

10

【0048】

(5) カワタケを用いて得られた発酵乳と市販特定保健用食品のACE阻害活性の比較

上記(3)と同様にして、カワタケを用いて6日間発酵して得られた発酵乳と、市販特定保健用食品(牛乳に乳酸菌を作用させて製造される血圧が高めの人に適していると言われる乳性飲料)のACE阻害活性を比較した。結果を図4に示す。本発明の発酵乳を100倍希釈したものは、市販特定保健用食品を100倍希釈したものに比べて2倍近くのACE阻害活性を有していた。本発明の発酵乳を500倍希釈したものは、市販特定保健用食品を500倍希釈したものに比べて2倍以上のACE阻害活性を有していた。本発明の発酵乳は1000倍希釈してもACE活性を示したが、市販特定保健用食品は1000倍希釈するとACE活性をほとんど消失した。これらの結果から、本発明の発酵乳は、市販特定保健用食品よりも高いACE阻害活性を有することがわかった。

20

【0049】

(6) マツオウジを用いて得られた発酵乳の脳卒中易発症自然発症高血圧ラット(SHRSPラット)に対する血圧降下作用

10週令もしくは8週令の雄性SHRSP10匹を2群に分け、対照群には蒸留水を、実験群には3倍希釈した発酵乳を自由摂取させた。1週間毎にtail-cuff法にて血圧を測定するとともに、飲水量、摂餌量、体重の測定を実施した。

30

【0050】

結果を図5に示す。飲用開始2週目あたりから、発酵乳区分と対照区分との間に有意な収縮期血圧差が認められた($p = 0.027$)。この結果から、マツオウジを用いて得られた発酵乳のSHRSPラットに対する血圧降下作用が確認された。

【0051】

(7) マツオウジを用いて得られた発酵乳の脳卒中易発症自然発症高血圧ラット(SHRSPラット)に対する脳卒中予防作用

12週令の雄性SHRSP12匹を2群に分け、対照群には1%食塩水を、実験群には1%食塩水に3倍希釈の発酵乳を加えたものを自由摂取させ、脳卒中発症までの日数を測定した。脳卒中発症は、麻痺や痙攣、無動、体重の急速な減少などで判断し、MRIにて脳梗塞、脳出血があることを確認した。

40

【0052】

結果を図6に示す。発酵乳区分では6匹中1匹のみが脳卒中を発症して死亡したが、対照区分では6匹中5匹が脳卒中を発症して死亡し、log rank testにて有意な差がみられた($p = 0.01$)。この結果から、マツオウジを用いて得られた発酵乳のSHRSPラットに対する脳卒中予防効果が確認された。

【実施例2】

【0053】

50

実施例 2 . きのこを用いて乳を発酵させることによる Tyr - Pro (Y P) の製造

(1) 発酵乳中の Y P の同定

実施例 1 (1) と同様に前培養したマツオウジ菌系体を、9 % (w / w) 脱脂粉乳液に植菌し、微好気条件下にて 28 °C で培養し、培養物の一部を経日的にサンプリングし、遠心分離 (15000 rpm、10 分) して上清を 0.22 μm のフィルター (ミリポア社製、Millex - GP) で濾過してサンプルを得た。サンプルを Cadenza CD - c18 カラム (カラムサイズ 4.6 mm X 150 mm , Imtakt 社製) を用いる逆相 HPLC (島津製作所のモデル Prominence) にて分画した。溶出は、流速 0.6 ml / min、カラム温度 28 °C にて、溶液 A (0.1 % トリフルオロ酢酸 - H₂O) をまず 5 分間流し、そこから 100 分後に 20 % の溶液 B (0.1 % トリフルオロ酢酸 - アセトニトリル) になる直線濃度勾配に設定して行った。ペプチドの検出は、紫外光の 215 nm で行った。

10

【 0054 】

発酵の経過に伴い増加傾向が認められた保持時間 5.2 分のピーク画分を分取し、再度上記条件で逆相 HPLC を行い、このピーク画分について同仁化学社製造キット ACE Kit - WST を用いて ACE 阻害活性を調べたところ、この画分の ACE 阻害率は 40 ~ 55 % であり、他の画分よりも高かった。

【 0055 】

上記ピーク画分について、タンパク質一次構造分析装置 (PPSQ - 31A、島津製作所) を用いてペプチドシーケンスを行って、Tyr - Pro であるという結果を得た。さらに、上記ピーク画分について、質量分析計 (ExactiveTM Plus Orbitrap、サーモフィッシャーサイエンティフィック社) を用い、ポジティブイオンモードにてエレクトロスプレーイオン化質量分析 (ESI - MS) を行った。結果を図 7 に示す。Tyr - Pro (Y P) の分子量 278.31 に対応するシグナル m / z 279.1339 [M + H]⁺ が検出され、当該ピークがジペプチド Y P であることが明らかになった。

20

【 0056 】

(2) Y P 生産菌のスクリーニング

野生きのこ 23 菌株を用いて、実施例 1 (1) と同様に前培養した菌系体を用いて、9 % (w / w) 脱脂粉乳液にて微好気条件下、28 °C で 6 日間培養して、発酵乳中の Y P 生成量を逆相 HPLC にて測定した。発酵乳中の Y P は、ベックス社 (BEX CO., LTD.) による化学合成品を標品として作成した検量線に基づいて行った。結果を図 8 に示す。試験した 4 株のマツオウジ (Neolentinus lepideus 1-4) はいずれも Y P を産生し、Neolentinus lepideus 1-3 は多くの Y P を産生した。Neolentinus lepideus 4 も比較的多くの Y P を産生した。試験した 5 株のカワラタケ (Trametes versicolor 1-4 および Trametes hirsuta) はいずれも Y P を産生し、Trametes versicolor 1-4 が比較的多くの Y P を産生した。試験した 5 株のコウヤクタケ (Peniophora sp.、Peniophora cinerea 1-2 および Peniophora incarnata 1-2) はいずれも Y P を産生し、Peniophora sp. が多くの Y P を産生した。

30

【 0057 】

(3) マツオウジによる Y P 生産量の経時変化

実施例 1 と同様にマツオウジを用いて 9 % (w / w) 脱脂粉乳液で発酵を行い、経時的にサンプリングを行って、HPLC を用いて Y P 生成量を測定した。結果を図 9 に示す。Y P 生成量は経時的に増加し、4 日目以降は 200 μg / ml 以上となり、21 日目で 450 μg / ml に達した。Y P の ACE に対する IC₅₀ 値は 720 μM と報告されており、この値は 200 μg / ml に相当する。特許文献 1 によると、乳酸菌 (Lactobacillus helveticus) の Y P 生成量は最大で約 70 μg / ml であった。

40

【 0058 】

(4) カワタケによる Y P 生産量の経時変化

菌株をカワタケに変えて上記 (3) と同様に発酵を行い、HPLC を用いて Y P 生成量を測定した。結果を図 10 に示す。Y P 生成量は経時的に増加し、4 日目に約 200 μg

50

/ml となり、21日目で350 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上に達した。

【0059】

菌株としてカワタケを用い、上記実験とは異なり、前培養を行わずに菌糸体を直接牛乳またはスキムミルク(9%)に添加して培養を行った。牛乳では培養16日目に最大590 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のYPが得られ(図11左パネル)、スキムミルクでは培養14日目に最大430 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のYPが得られた(図11右パネル)。

【0060】

以上の結果から、きのこを用いて乳を発酵させるとYPが大量に得られることがわかった。YPは、ACE阻害作用、血圧降下作用、抗不安作用、鎮痛作用等の作用効果を有することが知られている。したがって、YPを多く含む本発明の発酵乳はこのような作用を有するものである。

10

【実施例3】

【0061】

実施例3：きのこ発酵乳中のアミノ酸分析

(1) マツオウジ発酵乳中のアミノ酸分析

マツオウジを用いて9%(w/w)脱脂粉乳液で30、8日間静置培養を行い、全自動アミノ酸分析機(JLC-500/V2、日本電子)を用い、生体遊離アミノ酸分析110分(高分離)モードにてアミノ酸生成量を測定した。結果を図12に示す。各アミノ酸は経時的に増加し、特にロイシン、グルタミン酸の増加が顕著であった。また、チロシン、フェニルアラニン、バリン、イソロイシンの生成量も多かった。

20

【0062】

(2) カワタケ発酵乳中のアミノ酸分析

上記(1)と同様にして、カワタケ発酵乳中のアミノ酸生成量を測定した。結果を図13に示す。グルタミン生成量が比較的多い以外はマツオウジ発酵乳と同様の結果であった。

【0063】

グルタミン酸は呈味効果、フェニルアラニン、トリプトファン、チロシンなどの芳香族アミノ酸は精神安定作用、抗不安作用、鎮痛作用、バリン、ロイシン、イソロイシンなどの分岐鎖アミノ酸は筋肉疲労の回復作用を有することが知られている。したがって、これらのアミノ酸を多く含む本発明の発酵乳はこのような作用を有するものである。

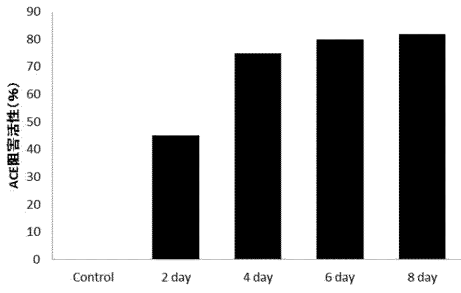
30

【産業上の利用可能性】

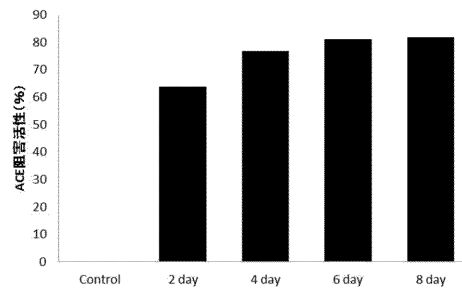
【0064】

本発明は、食品や医薬品などの分野において利用可能である。

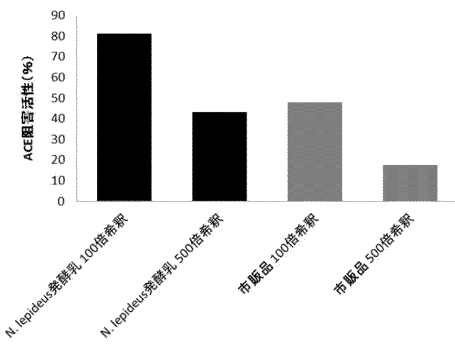
【 図 1 】



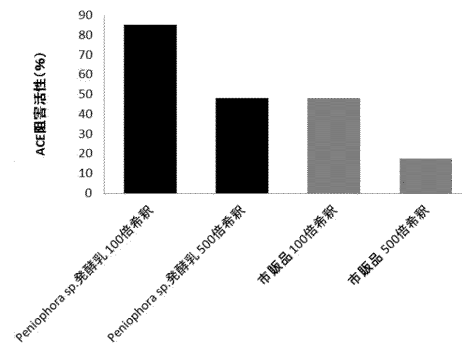
【 図 3 】



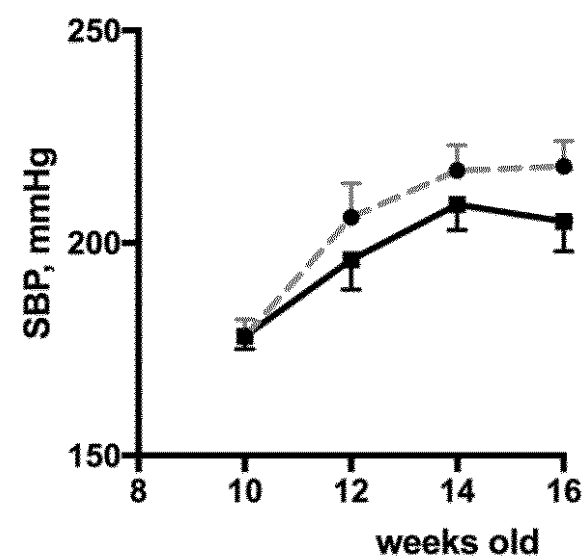
【 図 2 】



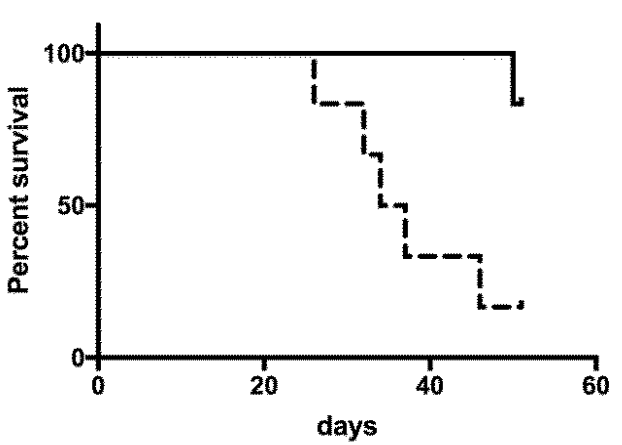
【 図 4 】



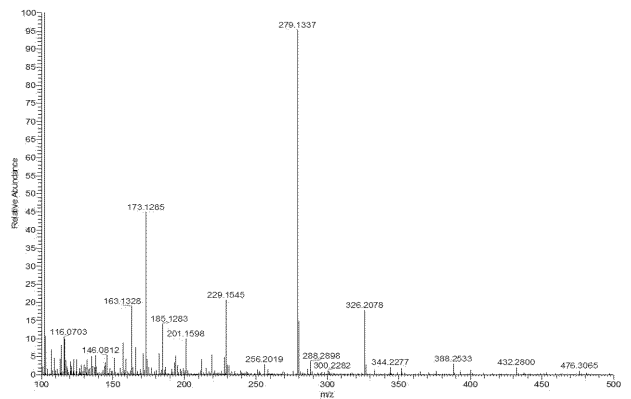
【 図 5 】



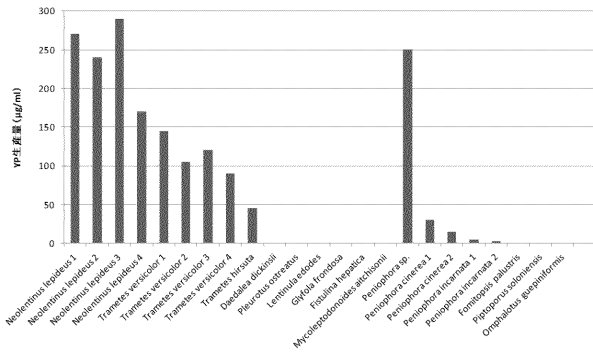
【 図 6 】



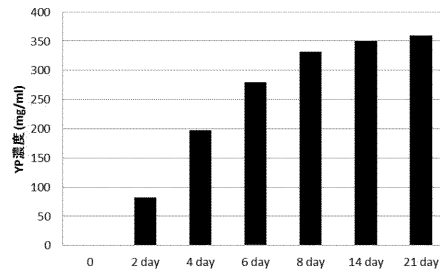
【 図 7 】



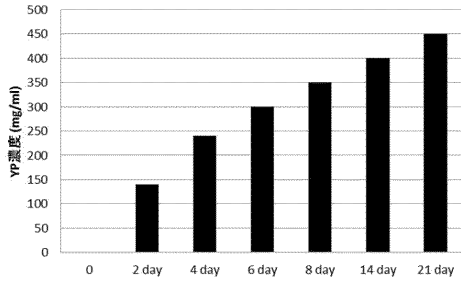
【 図 8 】



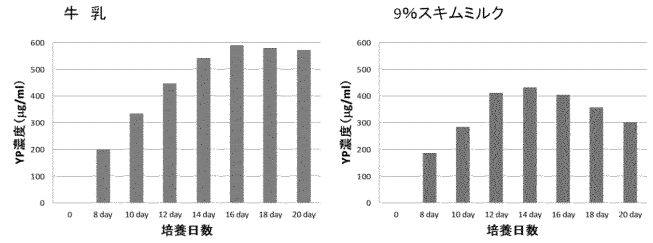
【 図 1 0 】



【 図 9 】

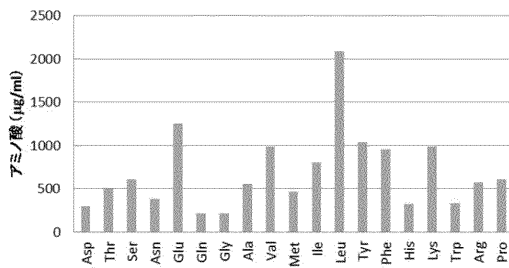


【 図 1 1 】



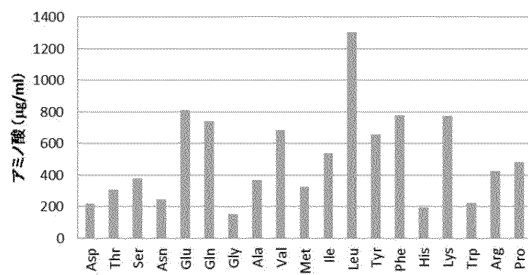
【 図 1 2 】

*N. lepideus*発酵乳のアミノ酸分析



【 図 1 3 】

*Peniophora sp.*発酵乳のアミノ酸分析



【手続補正書】

【提出日】平成29年12月28日(2017.12.28)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

きのこを用いて乳を発酵させることを特徴とする、アンジオテンシン変換酵素阻害活性、血圧降下活性および/または脳卒中予防活性を有する発酵乳の製造方法であって、発酵乳が100 μ g/ml以上のTyr-Proを含有するものである方法。

【請求項2】

きのこがキカイガラタケ科のきのこ、サルノコシカケ科のきのこまたはコウヤクタケ科のきのこである請求項1記載の方法。

【請求項3】

きのこがNeolentinus属、Trametes属またはPeniophora属のきのこである請求項2記載の方法。

【請求項4】

きのこがNeolentinus属またはPeniophora属のきのこであり、発酵乳が200 μ g/ml以上のTyr-Proを含有するものである請求項1記載の方法。

【請求項5】

乳が牛乳またはスキムミルクである請求項1~4のいずれか記載の方法。

【請求項6】

請求項1~5のいずれか1項記載の方法により得られる、アンジオテンシン変換酵素阻害活性、血圧降下活性および/または脳卒中予防活性を有する発酵乳。

【請求項7】

請求項6記載の発酵乳を含有させることを特徴とする、アンジオテンシン変換酵素阻害活性、血圧降下活性および/または脳卒中予防活性を有する飲食物の製造方法。

【請求項8】

請求項6記載の発酵乳を含有させることを特徴とする、アンジオテンシン変換酵素阻害用、血圧降下用および/または脳卒中予防用の医薬組成物の製造方法。

【請求項9】

きのこを用いて乳を発酵させることを特徴とする、Tyr-Proの製造方法であって、発酵乳中のTyr-Pro濃度が100 μ g/ml以上である方法。

【請求項10】

きのこがキカイガラタケ科のきのこ、サルノコシカケ科のきのこまたはコウヤクタケ科のきのこである請求項9記載の方法。

【請求項11】

きのこがNeolentinus属、Trametes属またはPeniophora属のきのこである請求項10記載の方法。

【請求項12】

きのこがNeolentinus属またはPeniophora属のきのこであり、発酵乳中のTyr-Pro濃度が200 μ g/ml以上である請求項11記載の方法。

【請求項13】

乳が牛乳またはスキムミルクである請求項9~12のいずれか記載の方法。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2017/023100
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A23C9/13(2006.01)i, A23L33/00(2016.01)i, A61K35/20(2006.01)i, A61K36/07(2006.01)i, A61K38/05(2006.01)i, A61P9/12(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, C12P21/02(2006.01)i 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) A23C9/13, A23L33/00, A61K35/20, A61K36/07, A61K38/05, A61P9/12, A61P43/00, C12P21/02 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2017 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2017 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2017 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2-283240 A (Masasuke KANETANI), 20 November 1990 (20.11.1990), claims; examples (Family: none)	1-13
X	JP 1-206970 A (Kureha Chemical Industry Co., Ltd.), 21 August 1989 (21.08.1989), example 3 (Family: none)	1-13
X	JP 59-44016 B1 (Tsuneto YOSHII), 26 October 1984 (26.10.1984), claims; example 1 (Family: none)	1-13
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 05 September 2017 (05.09.17)		Date of mailing of the international search report 19 September 2017 (19.09.17)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/023100

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 104719471 A (QINGDAO BISHUILANTIAN BIOLOGICAL TECHNOLOGY CO., LTD.), 24 June 2015 (24.06.2015), claims (Family: none)	1-13
X	KR 2006-0052760 A (BIRAK CO., LTD.), 19 May 2006 (19.05.2006), claims (Family: none)	1-13
A	JP 2003-48849 A (Calpis Co., Ltd.), 21 February 2003 (21.02.2003), claims & US 5854029 A claims & EP 821968 A2	1-13
A	YAMAMOTO N. et al., Purification and Characterization of an Antihypertensive Peptide from a Yogurt-Like Fermented by <i>Lactobacillus</i> <i>helveticus</i> CPN4, J Dairy Sci, 1999, vol.82, pp.1388-1393, Abstract	1-13

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 7 / 0 2 3 1 0 0	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A23C9/13(2006.01)i, A23L33/00(2016.01)i, A61K35/20(2006.01)i, A61K36/07(2006.01)i, A61K38/05(2006.01)i, A61P9/12(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, C12P21/02(2006.01)i			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A23C9/13, A23L33/00, A61K35/20, A61K36/07, A61K38/05, A61P9/12, A61P43/00, C12P21/02			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2017年 日本国実用新案登録公報 1996-2017年 日本国登録実用新案公報 1994-2017年			
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	
X	JP 2-283240 A (金谷 正祐) 1990.11.20, 特許請求の範囲, 実施例 (ファミリーなし)	1-13	
X	JP 1-206970 A (呉羽化学工業株式会社) 1989.08.21, 実施例3 (ファミリーなし)	1-13	
X	JP 59-44016 B1 (吉井 常人) 1984.10.26, 特許請求の範囲, 実施例1 (ファミリーなし)	1-13	
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献	
国際調査を完了した日 05.09.2017		国際調査報告の発送日 19.09.2017	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 福岡 信子 電話番号 03-3581-1101 内線 3488	4 N 3539

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 7 / 0 2 3 1 0 0
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	CN 104719471 A (QINGDAO BISHUILANTIAN BIOLOGICAL TECHNOLOGY CO., LTD.) 2015. 06. 24, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	1-13
X	KR 2006-0052760 A (BIRAK CO., LTD.) 2006. 05. 19, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	1-13
A	JP 2003-48849 A (カルピス株式会社) 2003. 02. 21, 特許請求の範囲 & US 5854029 A claims & EP 821968 A2	1-13
A	YAMAMOTO N. et al., Purification and Characterization of an Antihypertensive Peptide from a Yogurt-Like Fermented by Lactobacillus helveticus CPN4, J Dairy Sci, 1999, vol. 82, pp.1388-1393, Abstract	1-13

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I		テーマコード(参考)
A 6 1 K 36/07 (2006.01)	A 6 1 K	36/07	4 H 0 4 5
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P 9/12 (2006.01)	A 6 1 P	9/12	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
C 0 7 K 5/065 (2006.01)	C 0 7 K	5/065	
C 1 2 R 1/645 (2006.01)	C 1 2 R	1:645	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, 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, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(出願人による申告)平成28年度農林水産省「農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業」産業技術力強化法第19条の適用を受ける特許出願

(72) 発明者 並河 徹

島根県出雲市塩冶町89-1 国立大学法人島根大学内

Fターム(参考) 4B001 AC05 AC21 BC14 EC05
 4B018 MD20 MD71 MD82 ME04 ME14 MF13
 4B064 AG01 BJ12 CA05 CB01 CD20 CD21 DA01
 4C087 AA01 AA02 AA03 BB39 CA07 CA50 MA16 MA23 MA28 MA35
 MA41 MA43 MA52 NA14 ZA36 ZA42 ZC20
 4C088 AA02 AA04 AC16 CA25 MA16 MA23 MA28 MA35 MA37 MA41
 MA43 MA52 NA14 ZA36 ZA42 ZC20
 4H045 AA10 AA20 AA30 BA11 CA10 CA40 EA20 FA15 FA16

(注)この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。