

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2007-68538
(P2007-68538A)

(43) 公開日 平成19年3月22日(2007.3.22)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 1/20 (2006.01)	C 1 2 N 1/20 A	4 B 0 1 8
C 1 2 P 19/04 (2006.01)	C 1 2 P 19/04	4 B 0 6 4
A 2 3 L 1/30 (2006.01)	A 2 3 L 1/30 Z	4 B 0 6 5
A 6 1 K 36/48 (2006.01)	A 6 1 K 35/78 J	4 C 0 8 3
A 6 1 K 36/00 (2006.01)	A 6 1 K 35/78 Y	4 C 0 8 8
審査請求 有 請求項の数 10 O L (全 11 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2006-244731 (P2006-244731)	(71) 出願人 506306226 江原大学校 産学協力団 大韓民国江原道春川市孝子洞 1 9 2 - 1 江原大学路 4 2
(22) 出願日 平成18年9月8日(2006.9.8)	(71) 出願人 506306237 株式会社ニューバイオエンタープライズ 岡山県岡山市花尻みどり町 2 - 1 0 3
(31) 優先権主張番号 10-2005-0083845	(74) 代理人 100095957 弁理士 亀谷 美明
(32) 優先日 平成17年9月8日(2005.9.8)	(74) 代理人 100096389 弁理士 金本 哲男
(33) 優先権主張国 韓国 (KR)	(74) 代理人 100101557 弁理士 萩原 康司
最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 α-グルコシターゼの阻害剤を多量生産する菌株およびその製造方法

(57) 【要約】

【課題】 - グルコシターゼの阻害剤を大量生産する新しい菌株を提供し、このような菌株を利用して多様な薬品、食品及び美容組成物などを提供する。

【解決手段】 本発明は蒸した大豆を発酵させたもの(納豆)から分離培養されて、 - グルコシターゼの阻害剤を多量に生産するバチルスサブチルス DC - 1 5 菌株、その製造方法、上記の菌株を利用した - グルコシターゼ及び機能性食品の製造方法また上記の - グルコシターゼを含める薬学的組成物、機能性食品及び美容組成物に関するものである。本発明によれば、 - グルコシターゼの阻害剤を大量に生産する菌株を得ることができて本発明による菌株は納豆(蒸した大豆を発酵させたもの)のような各種機能食品の製造に有用に使用されるのみならず、本発明による菌株より製造された - グルコシターゼは高付加価値の血糖降下剤、抗肥満機能性食品などの製造に有用に用いることができる。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

納豆（チョングッチャン）より分離培養されて、 α -グルコシターゼ阻害剤の生産に用いるパチルスサブチルス DC - 15 菌株。

【請求項 2】

寄託番号 KCTC 10763BP として寄託された、請求項 1 に記載のパチルスサブチルス DC - 15 菌株。

【請求項 3】

納豆（チョングッチャン）試料を蒸留水に懸濁させて、常温水槽で熱処理する段階と；
前記熱処理された懸濁液を寒天が含まれた LB 平板培地に塗抹した後に、培養機で培養してコロニーを形成する菌体を分離する段階と；

10

前記分離された菌株を LB 液体培地に接種及び培養する段階と；

培養液を遠心分離した後、上澄み液から α -グルコシターゼ阻害活性を測定して、阻害活性が最も高い菌株を選び出す段階と；

を含むことを特徴とする、パチルスサブチルス DC - 15 菌株の製造方法。

【請求項 4】

請求項 1 又は 2 に記載の菌株の培養液を遠心分離する段階と；

前記遠心分離により得られた上澄み液から α -グルコシターゼ阻害剤を収得する段階と

；

を含むことを特徴とする、 α -グルコシターゼ阻害剤の製造方法。

20

【請求項 5】

前記遠心分離は、5000g ~ 7000g で 5 分 ~ 15 分間行うことを特徴とする、請求項 4 に記載の α -グルコシターゼ阻害剤の製造方法。

【請求項 6】

請求項 1 又は 2 に記載の菌株を利用した、機能性食品の製造方法。

【請求項 7】

前記機能性食品は、納豆（チョングッチャン）であることを特徴とする、請求項 6 に記載の機能性食品の製造方法。

【請求項 8】

請求項 4 に記載の方法に基づいて製造された α -グルコシターゼ阻害剤を含む薬学的組成物。

30

【請求項 9】

請求項 4 に記載の方法に基づいて製造された α -グルコシターゼ阻害剤を含む機能性食品。

【請求項 10】

請求項 4 に記載の方法に基づいて製造された α -グルコシターゼ阻害剤を含む美容組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、 α -グルコシターゼの阻害剤を多量生産する新しい菌株とその製造方法 { A strain having high Productivity for α glucosidase inhibitor and a method for preparing the strain } 及びその利用に関し、具体的には、納豆より分離培養され、 α -グルコシターゼの阻害剤を多量に生産するパチルスサブチルス DC - 15 菌株、その製造方法、上記の菌株を利用した α -グルコシターゼを含める薬学的組成物、機能性食品および美容組成物に関するものである。

40

【背景技術】

【0002】

α -グルコシターゼの阻害剤は、 α -グルコシターゼによるオリゴ糖の分解を阻害する

50

物質で一部の植物や微生物に分布している。微生物起源の α -グルコシターゼの阻害剤としては、Actinoplanes 菌株起源のシュドオリゴ糖 (pseudo oligosaccharide)、ストレプトマイセス (Streptomyces) 及びバチルス (Bacillus) 中の細菌が生産する 1-デオキシノジリマイシン (1-deoxynojirimycin) などが知られており、これらの誘導体は血糖降下用の医薬品として開発され市販されている。

【0003】

現在、数多くの α -グルコシターゼの阻害剤が臨床実験中であり、すでに薬剤として市販されている (Kmusse et al., 1982; Rhinehalt et al., 1987; Yoshikuni, 1988)。市販されている代表的な血糖降下用 α -グルコシターゼの阻害剤としては、バイエル (Bayer) 社のアクティノプラネス (Actinoplanes) 菌株が発酵して生産する二次代謝産物であるシュドオリゴ糖で 1972 年に発見された物質のアカルボース (Acarbose) (Rury et al., 1999) を主成分とするグルコベイ (Glucobay)、1978 年にストレプトマイセスの中の菌株より分離された 1-デオキシノジリマイシン (Asano, 1994) の誘導体であるミグリトル (miglitol) とエミグリテイト (emiglitate) の中ではミグリトル (DeBuno et al., 1993)、またタケダ (Takeda) 社のバリオラニン (valiolanin) などがある。そして、臨床実験の段階まで至った物質としては、ポリペプチドであるテンダミステット (tendamistat)、単糖類であるエミグリテイト (emiglitate) 10
20
などがある。これらの α -グルコシターゼの阻害剤は、微生物の培養液より多く分離されているが、特に、アクティノプラネス (Actinoplanes)、アンプラリーエラ (Ampullariella) 及びストレプトポランジウム (Streptoporum) の中の菌とアスペルギラス (Aspergillus) およびクラドソリウム (Cladosporium) の中にある黴菌の α -グルコシターゼの阻害剤生産が報告されている。

【0004】

大部分の α -グルコシターゼの阻害剤は炭水化物誘導体で、活性部分に置換されたツクロヘクセン輪と、4, 6-D-デオキシ-4-アミノ-D-グルコース構造を持っており、この構造のアミノ基と α -グルコシターゼのヒドロキシル基が酸素結合により加水分解 30
活性を現す事を阻害する (Heiker, 1982)。

【0005】

これ以外に多様な起源のポリペノール類が α -グルコシターゼだけに特異的ではないが、効果的に α -グルコシターゼの活性を阻害し、伴って血糖上昇抑制に効果があるという報告もある (Hara and Honda, 1990; Honda and Hara, 1993; Matsumoto, 1993)。

【0006】

この α -グルコシターゼの活性を阻害することにより、血糖降下及び肥満治療のような効果を得るための多様な抑制剤が開発されていて、このような抑制剤を経済的に大量生産するための必要性は次第に増大していく状況である。 40

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明は、このような状況に鑑みてなされたものであり、 α -グルコシターゼの阻害剤を大量生産する新しい菌株を提供し、このような菌株を利用して多様な薬品、食品及び美容組成物などを提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0008】

上記課題を解決するために、本発明の第 1 の観点によれば、納豆 (チョングッチャン) より分離培養されて、 α -グルコシターゼの阻害剤を大量に生産するバチルスサブチルス 50

DC - 15 菌株が提供される。

【0009】

上記課題を解決するために、本発明の第2の観点によれば、納豆試料を蒸留水に混ぜて、常温水槽で熱処理する段階と；上記の熱処理された液を寒天が含まれたLB平板の培地に塗りつけて、培養機で培養しコロニーを形成する菌体を分離する段階と；上記の分離された菌株をLB液体の培地に接種及び培養する段階と；上記の培養液を遠心分離させた後、上澄み液より - グルコシターゼの阻害活性を測定して、阻害活性が一番高い菌株を選ぶ段階と；を含むパチルスサブチルスDC - 15 (KCTC 10763BP) 菌株の製造方法が提供される。

【0010】

上記課題を解決するために、本発明の第3の観点によれば、本発明によるパチルスサブチルスDC - 15 (KCTC 10763BP) 菌株を利用した - グルコシターゼの阻害剤製造方法が提供される。

【0011】

上記課題を解決するために、本発明の第4の観点によれば、本発明によるパチルスサブチルスDC - 15 (KCTC 10763BP) 菌株を利用した機能性食品の製造方法が提供される。

【0012】

上記課題を解決するために、本発明の第5の観点によれば、本発明による方法に基づいて製造された - グルコシターゼを含む薬学的組成物が提供される。

【0013】

上記課題を解決するために、本発明の第6の観点によれば、本発明による方法に基づいて製造された - グルコシターゼを含める機能性食品が提供される。

【0014】

上記課題を解決するために、本発明の第7の観点によれば、本発明による方法に基づいて製造された - グルコシターゼの阻害剤を含める美容組成物が提供される。

【発明の効果】

【0015】

本発明によれば、 - グルコシターゼ阻害剤を大量に生産する菌株を得ることが出来て、本発明による菌株は納豆(チョングッチャン)のような各種機能性食品の製造に有用に用いられるばかりか、本発明による菌株より製造された - グルコシターゼ阻害剤は高付加価値の血糖降下剤、抗肥満機能性食品などの製造に有用に使われる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0016】

以下に、本発明の好適な実施の形態について詳細に説明する。

【0017】

本発明者らは、韓国伝統の大豆発酵食品である納豆(チョングッチャン)より分離された新しい菌株パチルスサブチルスDC - 15が - グルコシターゼの阻害剤を大量に生産する能力の保有を確認し、本発明を完成するに至った。

【0018】

具体的に、本発明は、稲わらを利用した韓国伝統の大豆発酵食品である納豆(チョングッチャン)より分離された菌株パチルスサブチルスDC - 15 (Bacillus subtilis var. DC - 15, KCTC 10763BP)、上記の菌株の製造方法、上記の菌株より生産される - グルコシターゼの阻害剤、及び上記の - グルコシターゼの阻害剤を含める薬学的組成物、機能性食品及び美容組成物に関するものである。

【0019】

本発明によれば、簡単で経済的な方法により - グルコシターゼの阻害剤を大量に生産することが出来るうえ、生産された - グルコシターゼを利用して高付加価値の血糖降下、抗肥満機能性食品などの製品開発が可能になるのである。

10

20

30

40

50

【0020】

本発明者らは、上記のような多様な機能と応用性を持っている - グルコシターゼの阻害剤を生産する微生物を得るために、韓国各地で生産、市販されている様々な納豆(チョングッチャン)を収集して、 - グルコシターゼの阻害剤の生産性が優秀な菌株を探索、分離した。

【0021】

上記の探索を行った結果、日本で市販中である大豆発酵食品の納豆12種類より分離したバチルスからは生産されない - グルコシターゼの阻害剤を大量生産する優秀なバチルス菌株を分離することが出来、これをバチルスサブチルスDC-15 (*Bacillus subtilis* var. DC-15)と命名し、便宜上上記の菌株の名称をバチルス属DC-15 (*Bacillus* sp. DC-15)として2005年1月18日に韓国生命工学研究院の遺伝子銀行(KCTC、大田広域市ユソン区オウン洞52所在)にKCTC 10763BPの受託番号で寄託した。上記の分離された菌株は長い間食用として使われていて安全性が立証された納豆(チョングッチャン)から取得したのであり、従って上記の菌株が生産する - グルコシターゼの阻害剤は適量、適正な方法で薬学的組成物、機能性食品及び美容組成物などに添加して使うことが出来るのである。

10

【0022】

本発明はまた一実施形態として、上記の菌株を製造するための方法を提供し、これは納豆(チョングッチャン)の試料を蒸留水に懸濁して、常温水槽で熱処理する段階と；上記の熱処理された液を寒天が含まれたLB平板の培地に塗りつけて、培養機で培養し、菌がコロニーを形成する菌体を分離する段階と；上記の分類された菌株をLB液体の培地に接合及び培養する段階と；上記の培養液を遠心分離した後、上澄み液から - グルコシターゼの阻害活性を測定し、阻害活性が一番高い菌株を選び抜く段階と；を含む。

20

【0023】

上記の熱処理は、60 あるいは70 で20分~30分程度行われ、熱処理された液の培養をするとき、培養機の温度は20 あるいは40 、培養の時間は1日~3日である。

【0024】

また、分離された菌株が接種されるLB液体培地の容積は1ml~10mlであるものが望ましい。そして接合後培養温度及び時間は各々20 ~40 及び24時間~72時間であるのが望ましい。

30

【0025】

上記の方法によって製造された菌株の形態学的及び生理学的な特性は次のようである。

【0026】

すなわち、本発明による菌株はLB寒天の平板培地で培養したとき、乳白色の粗い表面を持つ菌のコロニーを形成して、25 ~30 の好揮的な条件の中で菌体の成長が活発なグラム 양성菌として、55 以上の培養温度では菌体の成長が見られない特性がある。

【0027】

本発明はまた他の実施形態として、上記のように製造された菌株を利用した - グルコシターゼの阻害剤の製造方法を提供する。

40

【0028】

本発明による - グルコシターゼの阻害剤の製造方法は、上記の菌株の培養液を遠心分離する段階と；上記の遠心分離より得られた上澄み液から - グルコシターゼの阻害剤を収得する段階と；を含む。

【0029】

上記の遠心分離の条件は、望ましくは、5,000g~7,000gで5分~15分間行われる。

【0030】

本発明はまた他の実施形態として、上記のように製造された菌株を利用した機能性食品

50

の製造方法を提供し、上記の機能性食品は納豆（チョングッチャン）が望ましい。

【0031】

本発明による菌株を使用して納豆（チョングッチャン）を製造しようとする場合には、本発明による菌株をゆでた大豆に接種及び培養した後、通常的な納豆（チョングッチャン）製造方法に基づいてこれを製造することが出来る。

【0032】

本発明によって製造された納豆（チョングッチャン）は、 α -グルコシターゼの阻害剤の活性が非常に高い菌株を選別し製造されたので、その活性が従来の通常的な納豆（チョングッチャン）に比べて優れている。つまり、日本で市販中である大豆発酵食品の納豆12種類からでは α -グルコシターゼの阻害剤の活性が全く見られないし、韓国内で市販されている従来の通常的なチョングッチャンも低く、不均一である。一方、本発明による納豆（チョングッチャン）は顕著に異なる α -グルコシターゼの活性が見られる。これら従来の通常的な納豆（チョングッチャン）は、菌株の混合培養又は α -グルコシターゼ阻害剤の非活性菌株を利用した純粋培養によって製造される反面、本発明による納豆（チョングッチャン）は α -グルコシターゼ活性が特に高い菌株だけを選別し、純粋培養することに基づいて納豆（チョングッチャン）を製造されたからである。

10

【0033】

また、上記のように製造された α -グルコシターゼ阻害剤は、多様な医学品、食品及び化粧品などに添加させることが可能であり、従って本発明は上記の α -グルコシターゼ阻害剤を含める薬学的組成物、機能性食品及び美容組成物を提供する。

20

【0034】

例えば、本発明による α -グルコシターゼ阻害剤を含める薬学的組成物を製造する場合、薬剤学的に許容可能な多様な添加剤が含まれて、このような添加剤としては通常的な賦形剤、崩解剤、結合剤、活沢剤、懸濁化剤などの中で1種類又は2種類以上が選択的に使われることが出来る。例えば、本発明の組成物を錠剤又は硬質カプセルなどの固形剤の形で製造する場合、賦形剤として微結晶セルロース、乳糖、低置換ヒドロキシセルロースなどを使用することが出来る。崩解剤としては澱粉グリコル酸ナトリウム、無水リン酸水素カルシウムなどが使われることが出来る。結合剤としてはポリビニルピロリドン、低置換ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロースなどが使用可能であり、活沢剤としてはステアリン酸マグネシウム、二酸化ケイ素、タルクなどから選択して使うことが出来る。また、懸濁化剤としては薬剤学分野で通常的に使われている界面活性剤（例えばソルビタンエステル類、またはポリソルベート類など）の使用が可能である。

30

【0035】

上記の薬学的組成物は、固形及び液状形態を含めた様々な形態の剤形として製剤化が出来、これらの剤形は錠剤、カプセル剤（硬質又は軟質）、液剤（Solution）、懸濁剤、乳剤及びシロップ剤などを含む。

【0036】

上記の薬学的組成物は経口又は非経口を含めた様々な投与方法によって投与出来る。投与量は年齢及び性別のような状態、疾病の軽重などに合わせて適当な量を調整し、投与することが出来る。このような投与量は臨床的に患者の治療又は予防に従事する者であればたやすく調整出来るのである。

40

【0037】

本発明による α -グルコシターゼ阻害剤は、様々な形態の機能性食品に添加することが出来て、このような機能性食品の非制限的な例としては、菓子類、ガム類、飲料などがある。また、本発明による α -グルコシターゼ阻害剤は美容組成物の製造にも使うことが出来る。この場合、上記のことに従事する者であれば様々な種類の添加剤を適当な含量の範囲内で添加することは可能である。

【0038】

本発明による α -グルコシターゼ阻害剤を使用して機能性飲料又は美容組成物を製造する場合、本発明による納豆（チョングッチャン）の培養物を水で抽出して、これを遠心分

50

離した後上澄み液を濃縮して添加することによって製造される。

【0039】

この場合、上記の納豆(チョングッチャン)培養物の抽出液の中には - グルコシターゼ阻害剤以外に水溶性ペプチド、ポリ - グルタミン酸のような添加剤が含まれて - グルコシターゼ阻害剤以外の機能性を与えることも出来る。

【実施例】

【0040】

以下、本発明を実施例を通してより具体的に説明する。しかし、下記の実施例は本発明を例示的に説明する為であって、本発明の範囲が下記の実施例のみ限定されたのではない。

10

【0041】

実施例1. 本発明による菌株の分離及び同定

(1.1 菌株の分離)

稲わらを媒体とする伝統的な大豆発酵法によって生産された伝統的大豆発酵食品200種類の納豆(チョングッチャン)を全国各地から入手して、試料として使用した。各試料を滅菌蒸留水に少量加えて混ぜた後、60の常温水槽で20分間熱処理し、バチルス菌が持つ内生孢子形成化過程を経た後、2%の懸濁液を寒天が含まれているLB平板培地(1%トリプトン、0.2%砂糖、0.5%酵母抽出物及び0.5%NaCl、pH7.0)に塗抹して、30の培養機で2日間培養した。培養後、コロニーを形成する菌体を分離した。本発明によって得られた - グルコシターゼ阻害剤の生産量を調整するために、分離された5mlのLB液体培地に接種し、30の状態(200)で48時間の間培養した。上記の培養液を遠心分離して、上澄み液より - グルコシターゼ阻害活性を測定して、阻害活性が一番高い菌株を選び出した。

20

(1.2 分離された菌株の形態学的及び生化学的特性)

(1) 分離された菌株の形態学的特性

上記の分離された - グルコシターゼ阻害剤の高生産活性菌株は、LB寒天平板培養地で乳白色のコロニーを形成して、菌体の縁はのこぎりの歯のような形をしていて、コロニーの表面はたくさんのしわを持つ外形として現れた。菌体の成長に及ぶ温度の影響は25以上~40以下の範囲内で成長が良好であり、50以上では菌体の成長が見られなかった。LB液体培地を利用した菌体成長の代数期のとき、顕微鏡で観察した結果、グラム陽性の短い棒のような形で、比較菌株であるバチルスサブチルスと似ていて、菌株の電子顕微鏡写真を図1に示した。菌株はグラム陽性であり、細胞の大きさは大体0.6~0.7x1.5~1.7μmであった。

30

(2) 分離された菌株の生化学的特性

バジスマニアルによるバチルス属菌株の分類学的特性分析方法(Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2002)とAPI50CHBキット(bioMerieux社, France)を使用して、本発明による菌株の生化学的特性などを調査した。本発明による菌株はグラム陽性の円筒形で、孢子細胞中央に形成されて、硝酸塩の還元力があって、インドルの生成をさせない。また、カゼインと澱粉を分解し、カタラーゼを生産して好期的な条件のみで成長出来る。一方、グリセロール、L-アラビノス、D-ザイルロス、D-ガラクトース、D-グルコース、D-マンニトール、シュクロース、マルトースなどを利用できることが明らかになった。

40

【0042】

本発明による菌株の詳細な形態学的及び生化学的特性を下記の表1に示した。

【0043】

【表 1】

特性	本説明の菌株
グラム染色	陽性
形態及び大きさ	棒の形 0.6~0.7×1.6~1.9 μm
孢子	形成している
孢子の位置	円筒形で細胞中心に位置
運動性 (電子顕微鏡写真)	陽性
成長温度	25~40℃
NaCl 7%での成長	陽性
好氣的条件での成長	陽性
嫌氣的条件での成長	陰性
ボゲスープロスカウンジャー試験	陽性
硝酸塩還元	陽性
インドル形成	陰性
カタラーゼ	陽性
澱粉分解	陽性
カゼイン分解	陽性
プロピオン酸利用性	陰性
グリセロールから酸生成	陽性
L-アラビノスから酸生成	陽性
D-ザイロースから酸生成	陽性
D-ガラクトースから酸生成	陽性
D-グルコースから酸生成	陽性
D-マンニトールから酸生成	陽性
D-マルトースから酸生成	陽性
D-スクロースから酸生成	陽性
D-ラクトースから酸生成	陽性

10

20

30

【0044】

(3) 分離された菌株の同定

本発明の菌株は、通常的なバチルス属菌株とは違い、 α -グルコシターゼ阻害剤を大量生産する特性を見せる。従って、本発明の菌株をバチルスサブチルスに属する新菌株として分類し、'バチルスサブチルス DC-15' (*Bacillus subtilis* var. DC-15) と命名して、便宜上前期菌株の名称を 'バチルス属 DC-15' (*Bacillus* sp. DC-15) として、2005年1月18日韓国生命工学研究院遺伝子銀行 (KCTC, 大田広域市ユソン区オウン洞52所在) に寄託して寄託番号 KCTC 10763BP を与えられた。

【0045】

実施例 2. 本発明による菌株を利用した納豆 (チョングッチャン) の製造及び製造された納豆 (チョングッチャン) の α -グルコシターゼ阻害剤活性測定

本発明の菌株をふやかしてゆでた大豆に接種した後、30℃で72時間の間培養した。培養中、酸素の円滑な供給のために一日2回の攪拌を実施した。培養が終わった後、これを加圧滅菌して、本発明の菌株によって生産された α -グルコシターゼ及びプロターゼを実活させた後、納豆 (チョングッチャン) 10g に10倍量の50mMのリン酸緩衝溶液 (pH 7.0) を加えてホモジナイザー (homogenizer) で細かく砕いた後、4℃で10時間以上攪拌して抽出した。懸濁液を遠心分離して、上澄み液の α -グルコシターゼ阻害活性を測定した。 α -グルコシターゼ阻害活性は下記のように測定した。つまり、1Mリン酸緩衝溶液 (pH 7.0) 50 μl、所定濃度で希釈した豚の小腸起源の

40

50

- グルコシターゼ助酵素液 50 μ l、及び - グルコシターゼ阻害剤 50 μ l を混合して 37 で 3 分間予備加熱した後、基質である 0.075% の麦芽糖溶液 500 μ l を加えて反応をさせた。続いて 30 分間反応後、沸騰した湯で 5 分間加熱し、反応を停止させて、十分に冷却した後、この中の 100 μ l をブドウ糖定量用キッド溶液 1 ml に添加し、37 で 5 分間放置した。そして、分光光度計で 500 nm での、吸光度を測定することによって、- グルコシターゼ阻害活性を測定出来た。このとき、阻害剤の代わりに水を入れたのを対照として下記の式にしたがって阻害率を計算した。

【0046】

$$\text{阻害率 (\%)} = (A - B) / A \times 100$$

【0047】

上記の式で、A は対照の吸光度であり、B は阻害剤を入れた試料の吸光度である。

10

【0048】

本発明による納豆（チョングッチャン）と国内及び日本で市販されている従来の通常的な納豆（チョングッチャン）16種類を上記の方法を用いて抽出した後、3200倍に希釈して、上記の方法で - グルコシターゼ阻害率を測定した結果を下記の表 2 に示した。

【0049】

【表 2】

試料	α -グルコシターゼ阻害率 (%)
パチルスサブチルス DC-15 チョングッチャン	32
韓国市販 チョングッチャン A	0
韓国市販 チョングッチャン B	0
韓国市販 チョングッチャン C	0
韓国市販 チョングッチャン D	0
日本市販 納豆 E	0
日本市販 納豆 F	0
日本市販 納豆 G	0
日本市販 納豆 H	0
日本市販 納豆 I	0
日本市販 納豆 J	0
日本市販 納豆 K	0
日本市販 納豆 L	0
日本市販 納豆 M	0
日本市販 納豆 N	0
日本市販 納豆 O	0
日本市販 納豆 P	0

20

30

【0050】

以上、本発明の好適な実施形態について説明したが、本発明はかかる例に限定されないことは言うまでもない。当業者であれば、特許請求の範囲に記載された範疇内において、各種の変更例または修正例に想到し得ることは明らかであり、それらについても当然に本発明の技術的範囲に属するものと了解される。

40

【図面の簡単な説明】

【0051】

【図 1】本発明による菌株の電子顕微鏡の写真である

【 図 1 】



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	8/97	(2006.01)	A 6 1 K	8/97	
A 6 1 Q	99/00	(2006.01)	A 6 1 Q	99/00	
A 6 1 P	3/04	(2006.01)	A 6 1 P	3/04	
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
C 1 2 N	9/99	(2006.01)	C 1 2 N	9/99	

(72)発明者 李 海翊

大韓民国江原道春川市フピョン3洞 東亞アパート105/501

Fターム(参考) 4B018 MD31 MD88 MD91 ME01 MF01 MF13
 4B064 AF04 CA02 CE02 DA01 DA10
 4B065 AA19X BA22 CA41 CA44 CA50
 4C083 AA111 AB051 CC01 DD23 DD27 EE03 EE09 FF01
 4C088 AB61 AC04 BA09 BA37 CA05 CA25 MA02 NA14 ZA70 ZC20
 ZC35