

(19) 日本国特許庁(JP)

## 再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

WO2020/027133

発行日 令和2年9月17日(2020.9.17)

(43) 国際公開日 令和2年2月6日(2020.2.6)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>AO1N 35/02 (2006.01)</b>	AO1N 35/02	4H011
<b>AO1P 1/00 (2006.01)</b>	AO1P 1/00	
<b>AO1N 37/02 (2006.01)</b>	AO1N 37/02	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 21 頁)

出願番号 特願2020-531679 (P2020-531679)	(71) 出願人 302006658 株式会社シーライブ 愛媛県新居浜市大生院2151-10
(21) 国際出願番号 PCT/JP2019/029834	
(22) 国際出願日 令和1年7月30日(2019.7.30)	
(31) 優先権主張番号 特願2018-142530 (P2018-142530)	(74) 代理人 100067736 弁理士 小池 晃
(32) 優先日 平成30年7月30日(2018.7.30)	(74) 代理人 100192212 弁理士 河野 貴明
(33) 優先権主張国・地域又は機関 日本国(JP)	(74) 代理人 100204032 弁理士 村上 浩之
	(74) 代理人 100200001 弁理士 北原 明彦
	(72) 発明者 岡崎 利彦 日本国奈良県奈良市登美ヶ丘5丁目19-13

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 滅菌・核酸分解用組成物

## (57) 【要約】

低濃度域での滅菌と核酸分解を可能とし、かつ且つ短時間で優れた効能を発揮することのできる滅菌・核酸分解用組成物を提供することを目的とする。また同時にLPS分解を行える組成物を提供することを目的とする。核酸の分解と滅菌することが可能な液体状態の滅菌・核酸分解用組成物であって、少なくともホルムアルデヒドとギ酸を含有し、ホルムアルデヒドの濃度が10重量%以下であり、かつ、ギ酸の濃度が1重量%以下である。

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

核酸の分解と、滅菌することが可能な液体状態の滅菌・核酸分解用組成物であって、少なくともホルムアルデヒドとギ酸を含有し、前記ホルムアルデヒドの濃度が10重量%以下であり、かつ、前記ギ酸の濃度が1重量%以下である滅菌・核酸分解用組成物。

**【請求項 2】**

更に、メタノールを含み、前記メタノール、前記ホルムアルデヒド、前記ギ酸の誘導体を任意に含む請求項 1 に記載の滅菌・核酸分解用組成物。

10

**【請求項 3】**

さらにLPSを分解できることを特徴とする請求項 1 又は請求項 2 に記載の滅菌・核酸分解用組成物。

**【請求項 4】**

核酸の分解と、滅菌することが可能な気体状態の滅菌・核酸分解用組成物であって、少なくともホルムアルデヒドとギ酸を含有する滅菌・核酸分解用組成物。

**【請求項 5】**

メタノール、前記ホルムアルデヒド、前記ギ酸、一酸化炭素、二酸化炭素、水素、酸素及び/又はこれらのラジカルを含む請求項 3 に記載の滅菌・核酸分解用組成物。

**【請求項 6】**

ホルムアルデヒドの濃度が500ppm以下でありかつギ酸の濃度が、400ppm以下であることを特徴とする請求項 4 又は請求項 5 に記載の滅菌・核酸分解用組成物。

20

**【請求項 7】**

さらにLPSを分解できることを特徴とする請求項 4 乃至請求項 6 に記載の滅菌・核酸分解用組成物。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0001】**

本発明は、細菌やウイルス等の滅菌と、核酸やLipopolysaccharide(以下、LPS)を分解することが可能な滅菌・核酸分解用組成物に関する発明である。本出願は、日本国において2018年7月30日に出願された日本特許出願番号特願2018-142530を基礎として優先権を主張するものであり、この出願は参照されることにより、本出願に援用される。

30

**【背景技術】****【0002】**

分子生物学や生化学等に係る試験や研究実験等を行うに当たり、水に難溶性の高分子である核酸が、使用する反応容器等の固体の表面や反応液等の液体中に不必要に混入していたり、雑菌や細胞が、反応容器等の固体の表面や反応液等の液体中に不必要に混入していたりすれば、それが試験や研究実験等の結果に重大な悪影響を及ぼすおそれがある。また、滅菌はしたものの残存する雑菌や細胞に存在するLPSが試験や研究実験等の結果に重大な悪影響を及ぼすおそれがある。

40

**【0003】**

例えば、特許文献1に記載されている吸水樹脂、及び吸水樹脂に保持されたホルムアルデヒド水溶液を含有する殺菌材が、優れた殺菌作用を持ち、且つ安価で簡便に廃棄することができる優れた殺菌材として使用できることが記載されている。

**【0004】**

しかしながら、特許文献1に記載の殺菌材では、十分な殺菌効果を得るためには10~50%のホルムアルデヒド濃度の水溶液が必要とされている。高濃度のホルムアルデヒドは、人体に対して粘膜への刺激性を中心とした急性毒性があり、蒸気は呼吸器系、目、のどなどの炎症を引き起こすといった毒性を有するものである。一方で、ホルムアルデヒド

50

が5%以下といった低濃度では十分な殺菌効果を得ることができなかった。

【0005】

ところで、メタノールから触媒反応により発生する複合ガスを利用した滅菌システムは、これまで医療器具等の滅菌に用いるガスとして多用されていたエチレンオキサイドガス（EOG）やオゾン等以上の殺菌力を持ち、残留性、腐食性が極めて少ないことが確認されており、浸透性や拡散性も優れていることから現在多くの分野において注目されている。

【0006】

複合ガスとは、メタノールから触媒により生じた強力な殺菌効果及び滅菌効果をもつガスのことである。複合ガスは、浸透性が高く、大気圧のままでも被滅菌物の内部まで浸透して滅菌ができる。接触性殺菌のミストでないことから、金属の腐食やプラスチック等の劣化（腐食性）が少なく、被滅菌物の素材を選ばず、さらに、被滅菌物に残留しにくい（残留性）などの優れた特質があり、拡散性も広く隅々まで満遍なく暴露が可能であり、細かな隙間まで浸透し、精密機器や電子機器等の通電稼動状態においても暴露が可能であり、高い有用性がある。

【0007】

この技術分野に関し、本件の発明者等は、自己反応のための触媒反応温度を一定に保ち、安定した濃度の滅菌ガスを発生させる滅菌・核酸分解処理装置を先に提案している（例えば、特許文献2参照）。この滅菌・核酸分解処理装置によれば、核酸分解の効果効能を発揮する環境温度を37℃の体温域とし、15分以内の短時間で、且つ、低いホルムアルデヒド成分濃度において、二重螺旋のDNA核酸を有効に分解（10 base pair(bp)以下の塩基鎖へのバラバラ状態）する能力を有し、気相の核酸分解法として核酸分解能99.99%～100%を達成することができる。一方で、これらの効能を引き起こす成分の特定や詳しいメカニズムは未だ十分には解明されていなかった。

【0008】

LPSは、グラム陰性菌細胞壁外膜の構成成分であり、脂質及び多糖から構成される物質（糖脂質）である。LPSは内毒素（エンドトキシン）であり、ヒトや動物など他の生物の細胞に作用すると、多彩な生物活性を発現する。LPSの生理作用発現は、宿主細胞の細胞膜表面に存在するToll様受容体（Toll like Receptor、TLR）4（TLR4）を介して行われる。更に本件の発明者等は、グラム陰性菌細胞壁外膜の構成成分であるLPSをも分解する能力があることを見出した。LPSは細胞壁から容易には遊離せず、細菌が死滅したときなどに細胞が融解・破壊されることで遊離し、それが動物細胞などに作用することで毒性を発揮する。このような性質から、細菌が外に分泌する毒素（＝外毒素）ではなく、分泌されない「菌体内に存在する毒素」、すなわち内毒素とも呼ばれる。

【0009】

LPSの分解に関しては、特許文献3に記載のようにオゾン分解を用いて多糖部分を脱重合する方法が示されてはいるが、これらは多糖類からの糖の切り出し方法であり、LPSの分解不活化を狙ったものではない。

【0010】

また、特許文献4記載の免疫調節活性物質の濃度を増加及び/または減少させる方法については、LPSを分解するのではなく、受容体を介する吸着機構により量の増減を図るものである。

【0011】

LPSは熱的・化学的にも安定で、通常の滅菌に用いられるオートクレーブでは不活化することができない。不活化には250℃で30分間の加熱や、γ線等の放射線を照射することを要することが知られているのみである。しかしながら、これらの条件では耐熱性のない材料からなる器材には適用できないし、運搬できない環境浄化の用途にも適用できるものは今まで存在しなかった。

【先行技術文献】

【特許文献】

10

20

30

40

50

## 【 0 0 1 2 】

【特許文献1】特開2013-166729号公報

【特許文献2】特許第5463378号公報

【特許文献3】特表2001-519817号公報

【特許文献4】特表2003-519503号公報

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【 0 0 1 3 】

本発明は、このような状況を鑑みてなされたものであり、ホルムアルデヒドの低濃度域での滅菌と核酸分解を可能とし、かつ且つ短時間で優れた効能を発揮することのできる滅菌・核酸分解用組成物を提供することを一つの目的とし、さらにLPSを分解することを二つ目の目的とする。

10

## 【課題を解決するための手段】

## 【 0 0 1 4 】

本発明者らは、複合ガス中の成分分析により滅菌及び核酸分解に寄与する特定の物質を見出し、そのメカニズムを明らかにすることで本発明を完成させた。

## 【 0 0 1 5 】

また、本出願の発明者らは、ほぼ同じ滅菌、核酸分解組成物を用いることで、液体状態での反応についても、気体状態での反応についても、滅菌、核酸分解に要する時間よりも長時間の曝露が必要である点異なるものの、LPSを不活化、少なくともリムルス活性を不活化させようことを見出した。

20

## 【 0 0 1 6 】

すなわち、本発明の一態様は、核酸の分解と、滅菌することが可能な液体状態の滅菌・核酸分解用組成物であって、少なくともホルムアルデヒドとギ酸を含有し、ホルムアルデヒドの濃度が10重量%以下であり、かつ、ギ酸の濃度が1重量%以下である。

## 【 0 0 1 7 】

本発明の一態様によれば、ホルムアルデヒドとギ酸を上記割合で混合することにより、それぞれ単独では効能を発揮しないような低濃度であっても高効率な核酸分解を可能とする。

## 【 0 0 1 8 】

このとき、本発明の一態様では、更に、メタノールを含み、メタノール、ホルムアルデヒド、ギ酸の誘導体を任意に含むとしても良い。

30

## 【 0 0 1 9 】

滅菌対象物や使用条件に合わせて、メタノールや、メタノール誘導体、ホルムアルデヒド誘導体、ギ酸誘導体を適宜含めることによって、より効能を発揮させることができる。

## 【 0 0 2 0 】

また、本発明の一態様では、さらにLPSを分解できることを特徴とする。

## 【 0 0 2 1 】

本発明の他の態様は、核酸の分解と、滅菌することが可能な気体状態の滅菌・核酸分解用組成物であって、少なくともホルムアルデヒドとギ酸を含有する。

40

## 【 0 0 2 2 】

本発明の他の態様によれば、気相中にホルムアルデヒドとギ酸を含む複合ガスは、低濃度であっても短時間で優れた核酸分解能を発揮することができる。

## 【 0 0 2 3 】

このとき、本発明の他の態様では、メタノール、ホルムアルデヒド、ギ酸、一酸化炭素、二酸化炭素、水素、酸素及び/又はこれらのラジカルを含むとしても良い。

## 【 0 0 2 4 】

これらの組成物及び/又はそのラジカル種を含有するかは任意である。

## 【 0 0 2 5 】

また、本発明の他の態様では、ホルムアルデヒドの濃度が500ppm以下であり、か

50

つ、ギ酸の濃度が400ppm以下としてもよい。

【0026】

また、本発明の他の態様では、さらにLPSを分解できる。

【発明の効果】

【0027】

本発明によれば、低濃度域での滅菌と核酸分解を可能とし、かつ短時間で優れた効能を発揮することができる。

【図面の簡単な説明】

【0028】

【図1】(A)～(E)は、比較例1として、ホルムアルデヒドのみを使用した場合のDNA分解能の結果を示す図である。

10

【図2】(A)～(D)は、比較例2として、ギ酸のみを使用した場合のDNA分解能の結果を示す図である。

【図3】(A)、(E)は、ギ酸のみ、(B)、(D)は、ホルムアルデヒドのみ、(C)、(F)は、実施例としてホルムアルデヒドとギ酸を併用した場合のDNA分解能の結果を示す図である。

【図4】(A)、(E)は、ギ酸のみ、(B)、(D)は、ホルムアルデヒドのみ、(C)、(F)は、実施例としてホルムアルデヒドとギ酸を併用した場合のDNA分解能の結果を示す図である。

【発明を実施するための形態】

20

【0029】

以下、本発明に係る滅菌・核酸分解用組成物について図面を参照しながら説明する。なお、本発明は以下の例に限定されるものではなく、本発明の要旨を逸脱しない範囲で、任意に変更可能である。

【0030】

上述した通り、ホルムアルデヒドは、細菌及び真菌などの微生物に対する滅菌効果を有しており、様々な分野で実用化されている。一方で、ホルムアルデヒドは病理学においてホルムアルデヒドの水溶液であるホルマリン浸漬による生体組織の長期固定などに古くから用いられて来たが、最近ではホルマリン固定組織からDNAやRNAなどの核酸物を抽出する技術が開発されたことで、その遺伝学的解析に応用され医学の進歩に大きく寄与している。

30

【0031】

そこで議論されているのは、いかに上手くNickなどの核酸の損傷のない、遺伝情報が保たれた長鎖の核酸物を抽出することができるかということで、その保存方法や抽出方法に様々な工夫がなされてきた。これらから、ホルムアルデヒドには核酸分解能というよりも保存性能の面から利用されて来たことがわかる。

【0032】

科学文献的な観点では、ホルムアルデヒドはアミノ酸や生体異物を代謝する際、内因的にも生成し、ホルムアルデヒドに暴露されていない人でも、血液中ホルムアルデヒド濃度が $2.61 \pm 0.14 \mu\text{g/g}$  (ほぼ2.6ppm)との報告がある(化学物質の初期リスク評価書\_独立行政法人 製品評価技術基盤機構 化学物質管理センター)。しかし、ホルムアルデヒドの作用として蛋白質分子の架橋反応が知られており、ホルムアルデヒド分子中のアルデヒド基が組織中の蛋白質のアミノ基に結合し、さらに架橋することで蛋白質の立体構造を損なわせる。特に高濃度ではホルマリンは核酸と蛋白質の架橋を引き起こすため、DNAは物理的ストレスを受けやすくなり断片化が生じるとされている。

40

【0033】

一方で、ギ酸に関しては核酸分解能についての知見は乏しく、一部でDNAを脱プリン化によるDNA鎖切断の要因のことが触れられているに過ぎない。その具体的な濃度による効果効能についての文献は皆無である。すなわち、ホルムアルデヒド及びギ酸共に滅菌の効能についての報告は見られるが、それらによる核酸分解能については未だ詳細な報告はない

50

。特に、ホルムアルデヒド及びギ酸による低濃度域での核酸分解の効果効能については明らかにされていない。

【 0 0 3 4 】

上述したような滅菌システムはその発生複合ガスにより、滅菌と核酸分解を同時に可能とする効果効果を有することを既に報告してきたが、本件では滅菌システムが生み出すこれらの効果に関して、発生複合ガス中に含まれる組成成分分子毎に各々単独に、濃度、反応時間と効果との相関関係の評価を行い、さらにそれらの様々な混合比別に効果効果への影響を検討しデータベース化することで、低濃度域でかつ極めて短時間で効果を発揮するメカニズム (Mode of Action) 及び最適化条件を初めて明らかにし本発明に至ったものである。

10

【 0 0 3 5 】

すなわち、本発明の一実施形態に係る滅菌・核酸分解用組成物は、核酸の分解と、滅菌することが可能な液体状態の滅菌・核酸分解用組成物であって、少なくともホルムアルデヒドとギ酸を含有し、ホルムアルデヒドの濃度が10重量%以下であり、かつ、ギ酸の濃度が1重量%以下である。

【 0 0 3 6 】

本発明によれば、ホルムアルデヒドとギ酸を上記割合で混合することにより、それぞれ単独では効果を発揮しないような低濃度であっても高効率な滅菌と核酸分解を可能とする。ギ酸を共存させることにより、ホルムアルデヒドは濃度が10重量%以下でも滅菌と核酸分解効果を発揮するようになる。ホルムアルデヒドの濃度は、より好ましくは(ギ酸の共存下で滅菌と核酸分解効果を得るための最低濃度という観点からは)5重量%以下でも良い。ホルムアルデヒド濃度の下限値はおおよそ0.1重量%である。また、ホルムアルデヒドと混合させるギ酸の濃度は1重量%以下で十分である。ギ酸の濃度の下限値もおおよそ0.1重量%である。

20

【 0 0 3 7 】

本発明の一実施形態に係る滅菌・核酸分解用組成物は、細菌、真菌類及びウイルス等の滅菌と核酸分解に有効である。本発明の一実施形態に係る滅菌・核酸分解用組成物によれば、5分以内の短時間で、条件によっては1分間で、細菌、真菌類及びウイルス等のDNA及びRNAを有効に分解(10bp以下の塩基鎖へのバラバラ状態)し、極めて高い核酸分解効果を奏することができる。

30

【 0 0 3 8 】

本発明の一実施形態に係る滅菌・核酸分解用組成物は、純水等の水や、メタノール、エタノール等のアルコール類、その他の有機溶媒、或いはこれらの混合液等を溶媒として用いても良い。溶媒中には、pHを調整するための緩衝液や、保存料等が適宜含まれていても良い。

【 0 0 3 9 】

また、本発明の一実施形態に係る滅菌・核酸分解用組成物は、使用時にホルムアルデヒド及びギ酸が上記濃度となっていればよい。例えば、使用前の保管時には、高濃度に濃縮された状態とし、使用時に適宜希釈して用いても良い。或いは、それぞれの成分を分割して保管し、使用時に混合して用いるような態様でも良い。

40

【 0 0 4 0 】

本発明の一実施形態に係る滅菌・核酸分解用組成物は、更に、メタノールを含み、メタノールの誘導体、ホルムアルデヒドの誘導体、ギ酸の誘導体を任意に含むことができる。なお、ここで、誘導体とは、任意の官能基の導入、酸化、還元、原子の置き換えなど、メタノール、ホルムアルデヒド、又はギ酸の構造や性質を大幅に変えない程度の改変がなされた化合物を言う。

【 0 0 4 1 】

一方、本発明の一実施形態に係るLPS分解用組成物は、LPSを分解することが可能な液体状態の組成物であって、滅菌・核酸分解用と同じく、少なくともホルムアルデヒドとギ酸を含有し、ホルムアルデヒドの濃度が10重量%以下であり、かつ、ギ酸の濃度が1重量

50

%以下である。本発明によれば、ホルムアルデヒドとギ酸を上記割合で混合することにより、それぞれ単独では効能を発揮しないような低濃度であってもLPS分解を可能とする。ギ酸を共存させることにより、ホルムアルデヒドは濃度が10重量%以下でもLPS分解効果を発揮するようになる。ホルムアルデヒドの濃度は、より好ましくは(ギ酸の共存下で滅菌と核酸分解効果を得るための最低濃度という観点からは)5重量%以下でも良い。ホルムアルデヒド濃度の下限値はおおよそ0.03重量%である。また、ホルムアルデヒドと混合させるギ酸の濃度は1重量%以下で十分である。ギ酸の濃度の下限値もおおよそ0.01重量%である。LPS分解用組成物によれば、好ましくは10分~2時間、より好ましくは15分から2時間程度接触反応させることで、1mLあたり、100から1000EU(エンドトキシンユニット)の量のLPSを約半減程度以下にさせることが出来る。

10

#### 【0042】

本発明の一実施形態に係る滅菌・核酸分解用組成物の液相での使用態様は特に限定されないが、例えば、滅菌・核酸分解、LPS分解対象物を滅菌・核酸分解もしくはLPS分解用組成物溶液に浸漬することにより滅菌・核酸分解およびLPS分解しても良いし、滅菌・核酸分解、LPS分解対象物に滅菌・核酸分解、LPS分解用組成物を吹きかけるようにして滅菌・核酸分解、LPS分解しても良い。特に滅菌・核酸分解用組成物、LPS分解用組成物をミスト状にして対象物に対して噴霧すると効果的である。滅菌・核酸分解用組成物との接触時間は、5分以内で十分な効果を得ることができる。但し、LPS分解用組成物によるLPS分解については、30分以上の反応を待った方が良い。また、接触温度も特に限定されず、室温でも良いし、適宜37~50程度に、さらに60程度に加熱しても良い。これ以上の高温になると、被処理物の耐熱性を考慮する必要が出てくるため、好ましくはない。

20

#### 【0043】

また、本発明の一実施形態に係る滅菌・核酸分解用組成物は、気体状態で使用することも可能である。すなわち、本発明の一実施形態に係る滅菌・核酸分解用組成物は、核酸の分解と滅菌することが可能な気体状態の滅菌・核酸分解用組成物であって、少なくともホルムアルデヒドとギ酸を含有する。ホルムアルデヒドとギ酸の好ましい濃度範囲の一例として、ホルムアルデヒドの濃度が500ppm以下であり、かつ、ギ酸の濃度が400ppm以下である。また、ホルムアルデヒドの濃度が200ppm以下であり、かつ、ギ酸の濃度が100ppm以下の時、微生物(BI指標菌)に対して5分以内で効果的に作用することを発明者らは確認している。

30

#### 【0044】

このように、気体状態においても、気相中にホルムアルデヒドとギ酸を所定の濃度範囲で含む複合ガスは、低濃度であっても短時間で優れた滅菌と核酸分解能を発揮することができる。

#### 【0045】

一方、本発明の一実施形態に係るLPS分解用組成物は、気体状態でLPSを分解することが可能な組成物であって、滅菌・核酸分解用と同じく、少なくともホルムアルデヒドとギ酸を含有する。ホルムアルデヒドとギ酸の好ましい濃度範囲の一例として、ホルムアルデヒドの濃度が500ppm以下であり、かつ、ギ酸の濃度が400ppm以下である。また、ホルムアルデヒドの濃度が200ppm以下であり、かつ、ギ酸の濃度が100ppm以下の時、LPS分解用組成物によれば、好ましくは10分~2時間、より好ましくは15分から2時間程度接触反応させることで、1mLあたり、100から1000EU(エンドトキシンユニット)の量のLPSを半減程度以下にさせることが出来る。

40

#### 【0046】

本発明の一実施形態に係る滅菌・核酸分解用組成物を気体状態で使用する方法は、ホルムアルデヒドとギ酸を含む複合ガスとなるのであれば特に限定されない。例えば、液体状態の本発明の一実施形態に係る滅菌・核酸分解用組成物を加熱により気化させても良いし、メタノール等を銅などの触媒と反応させて発生する複合ガス中のホルムアルデヒドとギ酸が所定の濃度範囲となるように反応条件を設定しても良い。ホルムアルデヒドとギ酸の濃度の下限値は特に限定されるわけではないが、おおよそ1ppmである。

50

## 【 0 0 4 7 】

また、本発明の一実施形態に係る滅菌・核酸分解用組成物は、気体状態にする過程で、メタノール、ホルムアルデヒド、ギ酸、一酸化炭素、二酸化炭素、水素、酸素及び/又はこれらのラジカルが含まれていても良い。

## 【 0 0 4 8 】

本発明の一実施形態に係る滅菌・核酸分解用組成物の気相での使用態様は特に限定されないが、例えば、チャンバー等の閉じた空間内に滅菌・核酸分解対象物を載置し、本発明の一実施形態に係る滅菌・核酸分解用組成物を気化したものを充填させることにより滅菌・核酸分解することができる。この時、適度な湿度(50~90相対湿度%)を加えても良いし、滅菌・核酸分解対象物が水分に弱いときは、低湿度(50相対湿度%未満)で滅菌・核酸分解しても良い。また、接触温度も特に限定されず、室温でも良いし、適宜37~50程度、さらには60程度までに加熱しても良い。これ以上の高温になると、被処理物の耐熱性を考慮する必要があるため、好ましくはない。

10

## 【 0 0 4 9 】

以上、説明してきたように、本発明の一実施形態に係る滅菌・核酸分解用組成物は、液相状態、気相状態のいずれにおいても、ホルムアルデヒドとギ酸を組み合わせることによって、それぞれ単独では効果を発揮しないような低濃度域においても、優れた滅菌効果と核酸(DNA、RNA等)の分解能を有し、短時間で効果を発揮することができる。

## 【実施例】

## 【 0 0 5 0 】

以下に、本発明の実施例及び比較例によって本発明をさらに詳細に説明するが、本発明は、これらの実施例によって何ら限定されるものではない。

20

## 【 0 0 5 1 】

## [ 1 . DNA の調整 ]

核酸分解の試験に用いるDNAは継代培養したHeLa cells (ヒト子宮頸がん由来の細胞株 : human cervical adenocarcinoma)(American Type Culture Collection: ATCC)から、DN easy Blood & Tissue (Qiagen)のメーカープロトコールに従いgenomic DNAとして抽出精製したものをを用いて実施した。

## 【 0 0 5 2 】

精製したgenomic DNAの濃度は、Nano drop (NanoDrop One, Thermo Fisher Scientific)を用いて測定し、UltraPure™ DNase/RNase Free Distilled Water (DW ; Thermo Fisher Scientific)にて希釈濃度調整した。希釈濃度調整したgenomic DNAを超音波破碎機 (UR 21P, TOMY) を用いて超音波破碎を行ったものを破碎DNAサンプルとして用いた。

30

## 【 0 0 5 3 】

得られた破碎DNAの500ngをそれぞれ用いて以下の実験を行なった。

## 【 0 0 5 4 】

## [ 2 . 比較例 1 : ホルムアルデヒド単独でのDNA分解能 ]

比較例 1 として、ホルムアルデヒドを単独で使用した場合のDNA分解能につき、ホルムアルデヒド濃度及び反応時間によるDNA分解能の検討を行なった。ホルムアルデヒド(37.0%、WAKO特級試薬)を蒸留水で希釈して、0.1%、0.5%、1.0%、2.0%、3.0%、4.0%、5.0%、10%、20%、30%のホルムアルデヒド溶液を調製した。0.5 ml PCRチューブにそれぞれのホルムアルデヒド希釈濃度になるよう分取調整を行い、最後に破碎DNAサンプルを添加し、ストップウオッチにて反応時間を計測した。反応終了後、速やかにQIAquick PCR purification kitによりサンプルの洗浄・回収を行い、得られたサンプルをBioanalyzerにより解析を行った。

40

## 【 0 0 5 5 】

なお、以降の比較例及び実施例において、Bioanalyzerに付与されているマーカーのうち、Upper Marker(分子量17000)のピーク値に対してのサンプルの測定ピーク値の割合からDNA分解効果を以下のように分類する。

Upper Markerピーク値の75%以上100%以下 : レベル 1

50



Upper Markerピーク値の50%以上75%未満 : レベル2

Upper Markerピーク値の25%以上50%未満 : レベル3

Upper Markerピーク値の25%未満 : レベル4

【0056】

(結果)

ホルムアルデヒド単独でのDNA分解能の結果を図1に示す。ホルムアルデヒド希釈液単独でのDNA分解能の評価結果は、1分の反応時間で0.1%~5.0%の低濃度域では明らかなDNA分解効果を認めなかった。10%以上の高濃度域においても、ホルムアルデヒド希釈溶液10%[FA10%](以下、「GA」はギ酸を、「FA」はホルムアルデヒドを表す。), 1min.でレベル3(0.385)(図1(A))、3min.でもレベル4(0.138)(図1(B))で、DNAの完全分解効果は得られなかった。[FA30%]の高濃度になると、5min.(図1(C))でDNAの完全分解効果を示した。

10

【0057】

低濃度域として0.1%~5.0%におけるDNA分解能を詳細に調べた結果、3分間の反応時間では0.1~3.0%では明らかなDNA分解効果を認めなかったが、4.0%濃度になると若干のDNA分解効果が認められるようになり、5.0%濃度でようやくレベル3(0.491)(図1(D))のDNA分解能を認めた。5分間の反応時間においても、0.1~2.0%では明らかなDNA分解効果を認めなかったが、3.0~4.0%濃度で若干のDNA分解能が見られるようになり、5.0%濃度でレベル3(0.422)(図1(E))のDNA分解能を認めた。

【0058】

20

[3.比較例2:ギ酸単独でのDNA分解能]

比較例2として、ギ酸単独での濃度、反応時間によるDNA分解能につき検討を行なった。ギ酸(98.0%, WAKO特級試薬)を蒸留水で希釈して、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、3.0%、5.0%のギ酸溶液を調製した。以降は、比較例1と同様にしてDNA分解能を評価した。

【0059】

(結果)

ギ酸単独でのDNA分解能の結果を図2に示す。ギ酸希釈液単独でのDNA分解能の評価結果は、1分間の反応時間で0.1%濃度で若干のDNA分解効果がみられ、1.0%でもレベル3(0.296)(図2(A))とDNAの完全分解効果は得られず中程度のDNA分解能を示した。2.0%以上の高濃度域になると1分間の反応時間でDNAの完全分解効果を認めた。3分の反応時間では、0.1%濃度では若干(レベル1程度)(図2(B))のDNA分解効果がみられ、0.2%濃度でレベル2、0.3~0.5%でレベル3と濃度依存的に中程度のDNA分解効果を示し、1.0%以上になるとDNA完全分解効果を示した(図2(C))。5分の反応時間では、0.1%濃度では若干(図2(D))のDNA分解効果がみられ、0.2~0.5%の濃度域ではレベル1~3と濃度依存的に中程度のDNA分解効果を示し、1.0%以上になるとDNA完全分解効果を示した。

30

【0060】

[4.実施例1:ホルムアルデヒド及びギ酸の混合液におけるDNA分解能]

実施例では、本発明の一実施形態に係る滅菌・核酸分解用組成物を用いてDNA分解能を評価した。ホルムアルデヒド及びギ酸の単独ではDNA完全分解効果が得られない濃度範囲において、両者を様々な濃度で混合することによりDNA分解効果の相乗効果が得られるかどうかを検討した。その結果、それぞれ単独希釈液では実現できない低濃度、短時間反応であっても、最小濃度混合比でDNA完全分解効果が得られる最適化条件を特定できた。

40

【0061】

ホルムアルデヒド単独での評価結果(比較例1)で明らかになったように、最終濃度が0.1~4.0%の範囲ではほとんどDNA分解効果を認めなかった。同様に、ギ酸単独(比較例2)でも0.1~0.5%の低濃度域では5分間の反応時間によってもレベル4以上のDNA分解効果は得られなかった。そこで、DNA分解効果を示さないホルムアルデヒド濃度の場合に、低濃度のギ酸を添加することによりDNA分解能に対して相乗効果が得られるか否かの評価を行い、相乗効果を認める場合にはDNA完全分解効果を得るためのホルムアルデヒド及びギ

50

酸の最小濃度混合比を明らかにすることを目的に以下の検討を行った。

【 0 0 6 2 】

ホルムアルデヒド及びギ酸原液をそれぞれ蒸留水で希釈し、それらを様々な希釈濃度に調整した混合液を用いてDNA分解能の評価を行なった。すなわち、比較例 1、2 の場合と同様に、あらかじめ3倍～200倍に希釈した調整試薬を用意し、0.5mIPCRチューブに表 1 に示すようにそれぞれの希釈試薬を用いて該当する最終濃度に分取調整を行ない、最後に破砕DNAサンプルを添加し、ストップウオッチにて反応時間を計測した。表 1 に調整したサンプルの一覧を示す。なお、表 1 中で、「GA」はギ酸を、「FA」はホルムアルデヒドを表す。反応終了後、メーカーのマニュアルに従い速やかにQIAquick PCR purification kitによりサンプルの洗浄・回収を行い、得られたサンプルをBioanalyzerにより解析を行った。

10

【 0 0 6 3 】

【表 1】

混合溶液成分最終濃度				
[GA 0.1% + FA 0.1%]	[GA 0.2% + FA 0.1%]	[GA 0.3% + FA 0.1%]	[GA 0.4% + FA 0.1%]	[GA 0.5% + FA 0.1%]
[GA 0.1% + FA 0.5%]	[GA 0.2% + FA 0.5%]	[GA 0.3% + FA 0.5%]	[GA 0.4% + FA 0.5%]	[GA 0.5% + FA 0.5%]
[GA 0.1% + FA 1.0%]	[GA 0.2% + FA 1.0%]	[GA 0.3% + FA 1.0%]	[GA 0.4% + FA 1.0%]	[GA 0.5% + FA 1.0%]
[GA 0.1% + FA 2.0%]	[GA 0.2% + FA 2.0%]	[GA 0.3% + FA 2.0%]	[GA 0.4% + FA 2.0%]	[GA 0.5% + FA 2.0%]
[GA 0.1% + FA 3.0%]	[GA 0.2% + FA 3.0%]	[GA 0.3% + FA 3.0%]	[GA 0.4% + FA 3.0%]	[GA 0.5% + FA 3.0%]
[GA 0.1% + FA 4.0%]	[GA 0.2% + FA 4.0%]	[GA 0.3% + FA 4.0%]	[GA 0.4% + FA 4.0%]	[GA 0.5% + FA 4.0%]

【 0 0 6 4 】

(結果)

本発明に係るホルムアルデヒドとギ酸を併用した場合のDNA分解能の結果を表 2 に示す。表 2 中で、「n.s.」はほとんど(レベル 1 未満)DNAの分解効果が得られなかったことを表し、「1」～「4」は上記レベル 1～レベル 4 のDNAの分解効果を表し、「CD」はほぼ完全にDNAの分解効果が得られたことを表す。ホルムアルデヒド単独での評価結果で明らかになったように、最終濃度が0.1～4.0%の範囲ではほとんどDNA分解効果を認めなかったのに対し、低濃度のギ酸を添加することで、相乗効果によりDNAの完全分解効果を得ることが分かった。実用化においては、短時間で、残留性の少ない条件下での効能評価による運用基準が優先されることから、以下では、作用時間、濃度の面からDNA完全分解効果の得られる最適化条件の具体例を示す。

30

【 0 0 6 5 】

【表 2】

混合溶液成分最終濃度	反応時間		
	1min	3min	5min
[GA 0.1% + FA 0.1%]	n.s.	n.s.	n.s.
[GA 0.1% + FA 0.5%]	n.s.	n.s.	n.s.
[GA 0.1% + FA 1.0%]	n.s.	n.s.	2
[GA 0.1% + FA 2.0%]	n.s.	2	2
[GA 0.1% + FA 3.0%]	1	1	1
[GA 0.1% + FA 4.0%]	1	4	CD
[GA 0.2% + FA 0.1%]	n.s.	n.s.	n.s.
[GA 0.2% + FA 0.5%]	1	2	3
[GA 0.2% + FA 1.0%]	n.s.	2	3
[GA 0.2% + FA 2.0%]	1	3	2
[GA 0.2% + FA 3.0%]	2	4	4
[GA 0.2% + FA 4.0%]	2	CD	CD
[GA 0.3% + FA 0.1%]	n.s.	n.s.	n.s.
[GA 0.3% + FA 0.5%]	2	3	CD
[GA 0.3% + FA 1.0%]	3	2	CD
[GA 0.3% + FA 2.0%]	3	3	CD
[GA 0.3% + FA 3.0%]	4	CD	CD
[GA 0.3% + FA 4.0%]	4	CD	CD
[GA 0.4% + FA 0.1%]	n.s.	2	CD
[GA 0.4% + FA 0.5%]	n.s.	2	CD
[GA 0.4% + FA 1.0%]	3	CD	CD
[GA 0.4% + FA 2.0%]	4	CD	CD
[GA 0.4% + FA 3.0%]	4	CD	CD
[GA 0.4% + FA 4.0%]	CD	CD	CD
[GA 0.5% + FA 0.1%]	n.s.	CD	CD
[GA 0.5% + FA 0.5%]	3	CD	CD
[GA 0.5% + FA 1.0%]	2	CD	CD
[GA 0.5% + FA 2.0%]	2	CD	CD
[GA 0.5% + FA 3.0%]	2	CD	CD
[GA 0.5% + FA 4.0%]	CD	CD	CD

## 【0066】

まず検討した混合希釈液の範囲で、1分間という短時間でDNA完全分解効果を得るための条件は、[GA 0.4% + FA 4.0%], 1minの反応条件が必要であることが分かった。(図3 (A) ~ (C) 参照、図3 (A) がギ酸のみ、(B) がホルムアルデヒドのみであり、(

C)で両者を併用することにより、DNA完全分解効果が得られていることが分かる。)

【0067】

ギ酸の最小濃度[GA 0.1%]希釈液の添加によりDNAの完全分解効果の得られるホルムアルデヒド最小濃度は、FA濃度が3%以下では5min.の反応時間によっても得られず、[FA 4.0%]濃度で5min.の反応時間が必要であることが明らかになった。(図3(D)~(F)参照、図3(D)がホルムアルデヒドのみ、(E)がギ酸のみであり、(F)が両者を併用した場合である。)

【0068】

ホルムアルデヒドの最小濃度[FA 0.1%]希釈液の添加によりDNAの完全分解効果の得られるギ酸最小濃度は0.4%で、[GA 0.4%]で5min.の反応時間によりDNAの完全分解効果を示すことが明らかになった。さらに濃度を上げ[GA 0.5%]では、さらに短時間(3min.)でDNAの完全分解効果を示した。(図4(A)~(F)参照、図4(A)、(E)がギ酸のみ、(B)、(D)がホルムアルデヒドのみであり、(C)、(F)が両者を併用した場合である。)

10

【0069】

このように、単剤ではDNA分解能が得られない低濃度域であっても、それらを混合することで相乗効果によって極めて高いDNA分解能を獲得することが可能となることが明らかになった。滅菌・核酸分解処理装置を用いてこの混合液に相当するホルムアルデヒドとギ酸を同時に発生させることが可能であり、これにより優れたDNA分解能を示すシステムであると言える。すなわち、この最適化濃度の複合ガスを同時に生成させることのできるシステムである。

20

【0070】

[5. 実施例2:ホルムアルデヒド及びギ酸の混合ガスにおけるDNA分解能]

実施例1と同様にして、ホルムアルデヒド及びギ酸の混合ガスを用いて、核酸分解を検討した。DNA分解能の結果を表3に示す。

【0071】

【表 3】

混合成分最終濃度	反応時間			
	1min	5min	10min	15min
(GA0.01%+FA0.01%)	2	3	3	3
(GA0.01%+FA0.02%)	2	3	4	4
(GA0.01%+FA0.03%)	3	4	CD	CD
(GA0.01%+FA0.04%)	4	CD	CD	CD
(GA0.01%+FA0.05%)	CD	CD	CD	CD
(GA0.02%+FA0.01%)	2	4	4	CD
(GA0.02%+FA0.02%)	3	4	CD	CD
(GA0.02%+FA0.03%)	4	CD	CD	CD
(GA0.02%+FA0.04%)	CD	CD	CD	CD
(GA0.02%+FA0.05%)	CD	CD	CD	CD
(GA0.03%+FA0.01%)	3	4	CD	CD
(GA0.03%+FA0.02%)	4	CD	CD	CD
(GA0.03%+FA0.03%)	CD	CD	CD	CD
(GA0.03%+FA0.04%)	CD	CD	CD	CD
(GA0.03%+FA0.05%)	CD	CD	CD	CD
(GA0.04%+FA0.01%)	4	4	CD	CD
(GA0.04%+FA0.02%)	CD	CD	CD	CD
(GA0.04%+FA0.03%)	CD	CD	CD	CD
(GA0.04%+FA0.04%)	CD	CD	CD	CD
(GA0.04%+FA0.05%)	CD	CD	CD	CD

## 【0072】

30

[6. 実施例3～19：ホルムアルデヒド及びギ酸の混合液及びガスにおけるLPS分解能]

LPSの標準試料としては、ENDOSAFE(ENDOTOXIN INDICATOR; Catalog #EVV2K, コード番号513 87082)を用い、注射用水(大塚)を用いて規定の濃度に希釈したものを使用して測定した。容器や分注チップはすべてLPSフリーのものを用いた。

測定は、endosafe PTSを使い、PTSカートリッジJP(5.05EU/mL)を用いて測定した。ホルムアルデヒド、ギ酸は、測定上干渉作用があり、予めリムルスES IIシングルテストを用い検討し、endosafe PTS測定時のホルムアルデヒド濃度は0.03%以下、ギ酸の濃度は0.003%以下になるよう濃度設定をおこない実施した。

## 【0073】

40

結果を表4に示す。表中の左から4列目のLPS量とは、分解前のLPS量のことであり、右から2列目の曝露後LPS量との比較によって、LPS分解の程度が分かる。実施例3～9が液体を用いた際の結果である。それぞれ、分解前のLPS量に対して、約半減したことが分かる。

## 【0074】

また、実施例10～19は、表4のとおりホルムアルデヒドとギ酸の混合気体で暴露させたときのLPS分解結果である。実施例10, 11は、LPS水溶液を1.5mLエッペンドルフチューブに取り、58℃乾燥機中で蒸発乾固させてLPSをペレット状に底に堆積させた状態で実施した。

## 【0075】

50

実施例 1 2 ~ 1 5 では、LPS水溶液をPVDFフィルター（0.4 μm径）に付着させ、風乾したものをサンプルとして用いた。LPSが、膜全体に広がり、ペレット状のものに比べて薄く広がった状態のモデルとした。明らかにペレット状のものに比べ分解効率が上がっていることが示された。おなじ状態でPVDFフィルターに付着させ、乾燥後、混合ガスでの暴露だけを行わず、実施例 1 2 ~ 1 5 と同様に注射用水を用いて回収した際は、LPS量の設定に対し、65%程度の回収が出来ていることを確認した。

【0076】

また、実施例 1 6 ~ 1 8 は、LPS標準バイアル（ENDOSAFE(ENDOTOXIN INDICATOR; Catalog #EUV2K, コード番号513 87082)）を開封しキャップを外した状態でそのまま用いて混合ガスに暴露させ、その後注射用水を用いて所定の濃度に希釈し測定した。実施例 1 9 は、実施例 1 0 , 1 1 と同様でペレット状のLPS付着をさせたものであり、実施例 1 9 と同時に同じ手法で作成したサンプルを線 2.5 k Gy照射したときのLPS残存量の値が0.66 EUであるのに対し、0.33 EUとなり更に低下していることが示された。本方法を用いれば、線照射に匹敵するLPS分解能を身近に得られるため、産業利用価値が大きいことが分かった。

【0077】

【表 4】

	水準	液体／気体	LPS量 【EU】	ホルムアル デヒド 【ppm】	ギ酸 【ppm】	曝露温度 【℃】	時間 【分】	曝露後LPS量 【EU】	備考
実施例	3	液体	10	27000	270	30	60	5	
	4	液体	5	3000	1000	30	60	2.43	
	5	液体	5	300	100	30	60	2.36	
	6	液体	5	500	500	30	60	2.22	
	7	液体	5	3000	1000	30	120	2.25	
	8	液体	5	300	100	30	120	2.30	
	9	液体	5	500	500	30	120	2.21	
	10	気体	2.5	180	58	50	60	1.35	溶液乾固
	11	気体	5	180	58	50	60	1.00	溶液乾固
	12	気体	2.5	180	58	50	60	0.64	フィルター付着乾固
	13	気体	2.5	180	58	50	120	0.054	フィルター付着乾固
	14	気体	2.5	200	100	57	120	<0.05	フィルター付着乾固
	15	気体	5	500	400	57	120	<0.05	フィルター付着乾固
	16	気体	40	200	100	60	180	0.093	2000EU標準バイアル 使用
	17	気体	40	200	100	27	90	0.177	2001EU標準バイアル 使用
	18	気体	40	200	100	38	90	0.160	2002EU標準バイアル 使用
	19	気体	10.5	350	200	40	15	0.33	溶液乾固

【0078】

[ 7 . 比較例 3 ~ 4 : 容器付着混合ガス、ホルムアルデヒドのみによるLPS分解 ] ( 表 5 に記載、表中の左から 4 列目のLPS量とは、分解前のLPS量のことであり、右から 2 列目の曝露後LPS量との比較によって、LPS分解の程度が分かる。 )

混合ガスに暴露した際、容器に付着した微量の成分がLPS分解を起こしている可能性があるため、容器のみに気体での暴露をおこなった後、LPSを添加して60分間反応させた後、残存LPSを測定したところ、分解に対して影響はないことがわかった。また、ギ酸を加えない状況での曝露をおこなったところ、表 5 に示されているとおり、これもほとんどLPS分解は起こっていないことが分かった。

【0079】

【表 5】

	水準	液体／気体	LPS量 【EU】	ホルムアル デヒド 【ppm】	ギ酸 【ppm】	曝露温度 【℃】	時間 【分】	曝露後LPS量 【EU】	備考
比較例	3	気体	2	500	400	57	60	2.02	容器だけ曝露しLPS 添加し反応
	4	気体	2	200	0	50	60	2.02	ギ酸なし

## 【0080】

なお、上記のように本発明の一実施形態および各実施例について詳細に説明したが、本発明の新規事項および効果から実体的に逸脱しない多くの変形が可能であることは、当業者には、容易に理解できるであろう。したがって、このような変形例は、全て本発明の範囲に含まれるものとする。

10

## 【0081】

例えば、明細書または図面において、少なくとも一度、より広義または同義な異なる用語と共に記載された用語は、明細書または図面のいかなる箇所においても、その異なる用語に置き換えることができる。また、滅菌・核酸分解用組成物の構成も本発明の一実施形態および各実施例で説明したものに限定されず、種々の変形実施が可能である。

## 【産業上の利用可能性】

## 【0082】

本発明の一実施形態に係る滅菌・核酸分解用組成物は、高度先端的医療（細胞治療、遺伝子治療、再生医療）分野や海洋研究分野、航空宇宙分野の他、危機管理分野（防衛、消防、警察等）、医療、介護等におけるDNA・RNAフリー（バイオ系核酸レベルのコンタミネーションの除去・除染）、LPSフリーを必要とする分野や効果効能レベルのコントロールによって滅菌、殺菌、除菌の分野への適用が可能である。

20

【図 1】

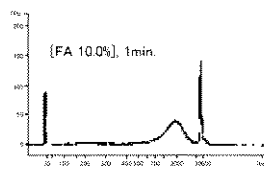


FIG.1A

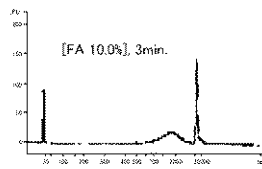


FIG.1B

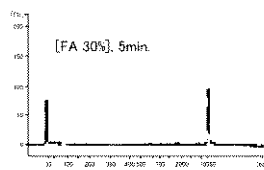


FIG.1C

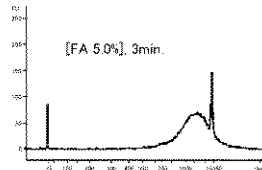


FIG.1D

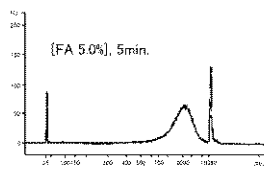


FIG.1E

【図 2】

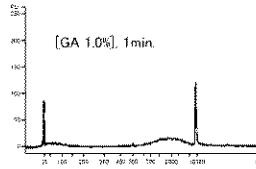


FIG.2A

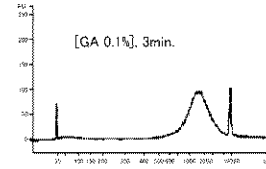


FIG.2B

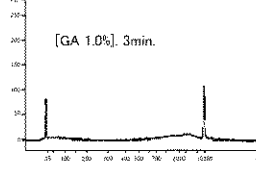


FIG.2C

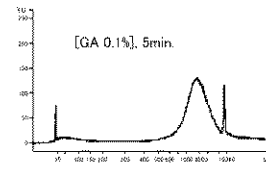


FIG.2D

【 3 】

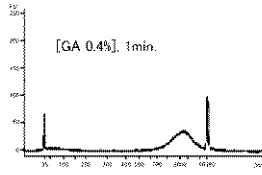


FIG.3A

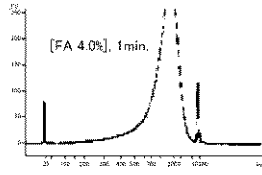


FIG.3B

【 4 】

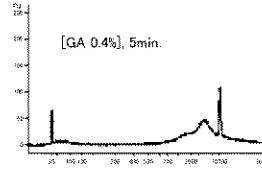


FIG.4A

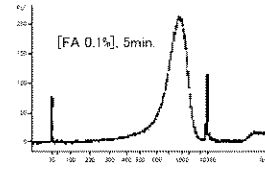


FIG.4B

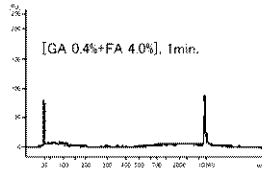


FIG.3C

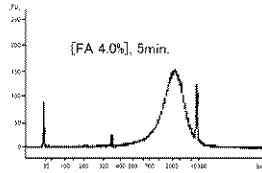


FIG.3D

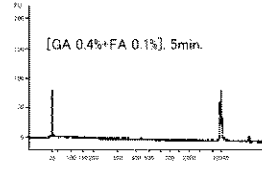


FIG.4C

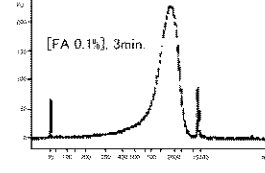


FIG.4D

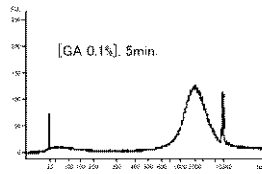


FIG.3E

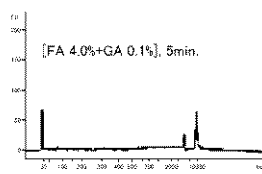


FIG.3F

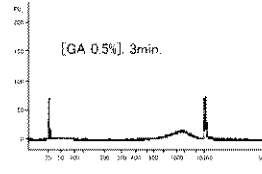


FIG.4E

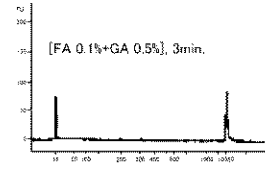


FIG.4F



## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/029834

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>	
Int.Cl. A01N35/02(2006.01)i, A01N37/02(2006.01)i, A01P1/00(2006.01)i	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC	
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>	
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl. A01N35/02, A01N37/02, A01P1/00	
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched	
Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2019
Registered utility model specifications of Japan	1996-2019
Published registered utility model applications of Japan	1994-2019
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII) CAplus/REGISTRY (STN)	
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>	
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages
X A	JP 2013-192498 A (SEALIVE, INC. et al.) 30 September 2013, claims, paragraphs [0014], [0019], [0022], [0024], [0095], [0096], [0198], examples (Family: none)
X A	JP 2011-41483 A (WINGTURF CO., LTD. et al.) 03 March 2011, claims, paragraphs [0020], [0029], [0030], [0042], examples (Family: none)
	Relevant to claim No. 4, 6, 7 1-3, 5 4, 6, 7 1-3, 5
<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	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"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
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search 20 September 2019 (20.09.2019)	Date of mailing of the international search report 08 September 2019 (08.10.2019)
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/JP2019/029834

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	JP 2015-167846 A (LUNAERE CO., LTD. et al.) 28 September 2015, claims, paragraphs [0022]-[0027], [0058], examples (Family: none)	4, 6, 7 1-3, 5
X A	鈴木康司 他, 新規化学的核酸分解・除染技術による滅菌システムへの適用, 第 51 回日本実験動物技術者協会 総会 講演要旨集, 2017, p. 83, PR-2, non-official translation (SUZUKI, Koji et al., "Application to sterilization system by new chemical nucleic acid degradation and decontamination technologies", Lecture abstracts of the 51st Annual Meeting of Japanese Association for Experimental Animal Technologists)	4, 6, 7 1-3, 5
X A	羽柴智彦他, (B-10)特化則に対応する新規 MR ガス滅菌技術の展開, 第 27 回空気清浄とコンタミネーションコントロール研究大会 予稿集, 2009, pp. 81-84, 4. Features of MRG sterilization system, (HASHIBA, TOMOHIKO et al., "(B-10) Development of newly invented MRG (Methanol Radical Gas) sterilization system", Proceedings of 27th Annual Technical Meeting on Air Cleaning and Contamination Control Program)	4, 6, 7 1-3, 5
A	JP 2008-137962 A (KYUSHU UNIVERSITY et al.) 19 June 2008, claims, paragraph [0005], examples & US 2010/0170777 A1 & WO 2008/068923 A1, claims, paragraph [0008], examples & EP 2090169 A1 & CA 2633591 A & KR 10-2008-0088581 A & CN 101378657 A	1-7
A	須藤 浩, サイレージ生産の際の保存剤の利用 (2)' 畜産の研究, 1987, vol. 41, no. 12, pp. 1411-1416, 1414-1415, (8) Mixing formaldehyde and formic acid, non-official translation (SUDO, Hiroshi, "Use of storage in silage production (2)", Animal-husbandry)	1-7
A	大島 光昭, ラジノクローバーサイレージ熟成中における核酸塩基の消長について, 日本草地学会誌, 1982, vol. 283, pp. 302-309, abstract, tables, (OSHIMA, Mitsuaki, "The Fate of Nucleic Acid Bases in Ladino Clover during Ensilage", Japanese Journal of Grassland Science)	1-7
A	JP 2002-12505 A (DICEL CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) 15 January 2002, claims, paragraph [0003], examples (Family: none)	1-7
A	JP 9-503383 A (UNIVERSITY OF CALIFORNIA, LOS ANGELES) 08 April 1997, claim 4 & US 5693486 A & WO 1995/003325 A1, example 4 & EP 711305 A1 & KR 10-1999-0071547 A	1-7

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 9 / 0 2 9 8 3 4	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A01N35/02(2006, 01)i, A01N37/02(2006, 01)i, A01P1/00(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. A01N35/02, A01N37/02, A01P1/00			
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 1971-2019年 日本国実用新案登録公報 1996-2019年 日本国登録実用新案公報 1994-2019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) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII) CAplus/REGISTRY (STN)			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリ*	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 A	JP 2013-192498 A (株式会社シーライブ 他) 2013.09.30, 特許請求の範囲、[0014]、[0019]、[0022]、[0024]、[0095]、[0096]、[0198]、実施例 (ファミリーなし)	4, 6, 7 1-3, 5	
X A	JP 2011-41483 A (株式会社ウイングターフ 他) 2011.03.03, 特許請求の範囲、[0020]、[0029]、[0030]、[0042]、実施例 (ファミリーなし)	4, 6, 7 1-3, 5	
<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		の日の後に公表された文献	
「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		「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	
「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		「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	
「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)		「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	
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		「&」同一パテントファミリー文献	
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願			
国際調査を完了した日 20.09.2019		国際調査報告の発送日 08.10.2019	
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) 薄井 慎矢	4H 7882
		電話番号 03-3581-1101 内線 3443	

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 9 / 0 2 9 8 3 4
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 A	JP 2015-167846 A (株式会社ルナエル 他) 2015.09.28, 特許請求の範囲、[0022] - [0027]、[0058]、実施例 (ファミリーなし)	4, 6, 7 1-3, 5
X A	鈴木 康司 他, 新規化学的核酸分解・除染技術による滅菌システムへの適用, 第51回日本実験動物技術者協会 総会 講演要旨集, 2017, p.83, PR-2	4, 6, 7 1-3, 5
X A	羽柴 智彦 他, (B-10) 特化則に対応する新規MRガス滅菌技術の展開, 第27回空気清浄とコンタミネーションコントロール研究大会 予稿集, 2009, p.81-84, 4. MRG滅菌システムの特徴	4, 6, 7 1-3, 5
A	JP 2008-137962 A (国立大学法人九州大学 他) 2008.06.19, 特許請求の範囲、[0005]、実施例 & US 2010/0170777 A1 & WO 2008/068923 A1, claims, [0008], Examples & EP 2090169 A1 & CA 2633591 A & KR 10-2008-0088581 A & CN 101378657 A	1-7
A	須藤 浩, サイレージ生産の際の保存剤の利用 (2), 畜産の研究, 1987, Vol. 41, No. 12, p.1411-1416, 第1414頁-第1415頁 (8) フォルムアルデヒドとギ酸の混合)	1-7
A	大島 光昭, ラジノクローバーサイレージ熟成中における核酸塩基の消長について, 日本草地学会誌, 1982, Vol. 283, p. 302-309, 要約、T a b l e s	1-7
A	JP 2002-12505 A (ダイセル化学工業株式会社) 2002.01.15, 特許請求の範囲、[0003]、実施例 (ファミリーなし)	1-7
A	JP 9-503383 A (ユニバーシティ オブ カリフォルニア, ロスアンゼルス) 1997.04.08, 実施例 4 & US 5693486 A & WO 1995/003325 A1, Example 4 & EP 711305 A1 & KR 10-1999-0071547 A	1-7

---

フロントページの続き

(81)指定国・地域 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

(72)発明者 鈴木 康士

日本国愛媛県新居浜市大生院 2 1 5 1 - 1 0

(72)発明者 島垣 昌明

日本国滋賀県大津市青山 5 - 7 - 5

Fターム(参考) 4H011 AA02 AA04 BA06 BB05 BB06 DA13

(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。