

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2025年4月10日(10.04.2025)



(10) 国際公開番号

WO 2025/075009 A1

(51) 国際特許分類:

C12M 3/00 (2006.01) C12N 5/10 (2006.01)
C12M 1/34 (2006.01) C12Q 1/02 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2024/035135

(22) 国際出願日: 2024年10月1日(01.10.2024)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:

特願 2023-174510 2023年10月6日(06.10.2023) JP

(71) 出願人: 住友化学株式会社
(SUMITOMO CHEMICAL COMPANY, LIMITED) [JP/JP]; 〒1036020 東京都中央区日本橋二丁目7番1号 (JP).

(72) 発明者: 石川 時郎 (ISHIKAWA, Tokiro);
〒5548558 大阪府大阪市此花区春日出中三丁目1番9号住友化学株式会社内 (JP). 山本 真寿 (YAMAMOTO, Masatoshi); 〒5548558

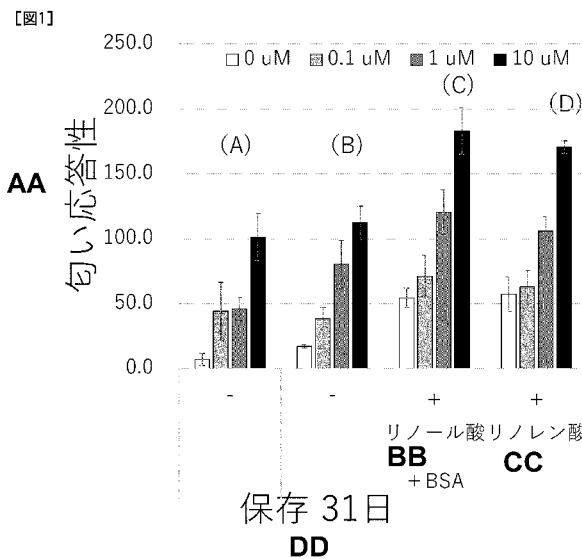
大阪府大阪市此花区春日出中三丁目1番9号住友化学株式会社内 (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT,

(54) Title: CELL CONTACT SOLUTION OR GEL THEREOF

(54) 発明の名称: 細胞接触用溶液又はそのゲル



(57) Abstract: Provided is a cell contact solution or a gel thereof capable of improving the detectability of chemical substances such as odorants. This cell contact solution or a gel thereof contains an unsaturated fatty acid.

(57) 要約: 匂い物質等の化学物質の検出性を向上させることができる細胞接触用溶液又はそのゲルを提供すること。不飽和脂肪酸を含有する、細胞接触用溶液又はそのゲル。

[続葉有]

RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF,
CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

添付公開書類：

- 一 国際調査報告（条約第21条(3)）

明 細 書

発明の名称：細胞接触用溶液又はそのゲル

技術分野

[0001] 本発明は、細胞接触用溶液又はそのゲル等に関する。

背景技術

[0002] ヒトの特定の疾患や精神状態等を特徴付ける匂い物質群が同定されており、検査マーカーとしての利用価値が高いことから、これらをターゲットとした様々な匂いセンサの開発が盛んになっている。生物の嗅覚受容体は、多様性、感度、選択性等の面で半導体等の従来の匂いセンサ素子にはない優れた特性を有することから、嗅覚受容体をセンサ素子とした新しい匂いセンサの開発が期待されている。

[0003] 特許文献1では、改変嗅覚受容体を発現する細胞や改変嗅覚受容体を備える脂質二重膜を匂いセンサとして用いることについて開示されている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：国際公開第2022/024902号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 嗅覚受容体等のセンサタンパク質を備える脂質二重膜を人工的に調製する工程を有する匂いセンサは、製造効率が必ずしも十分ではないため、匂いセンサのさらなる製造効率向上が求められている。そこで、センサタンパク質を発現する細胞を利用することに着目した。本発明者は、これに基づいて研究を進める中で、細胞に接触させる成分の種類によって、匂い物質などの化学物質の検出性、特に細胞を冷蔵保存した後における化学物質の検出性に差があることを見出した。

[0006] そこで、本開示は、匂い物質等の化学物質の検出性を向上させることができる細胞接触用溶液又はそのゲルを提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

- [0007] 本発明者は上記課題に鑑みて鋭意研究を進めた結果、不飽和脂肪酸を含有する、細胞接触用溶液又はそのゲル、であれば、上記課題を解決できることを見出した。即ち、本開示は、下記の態様を包含する。即ち、本発明は、下記の態様を包含する。
- [0008] 項 1. 不飽和脂肪酸を含有する、細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [0009] 項 2. 前記不飽和脂肪酸の濃度が10～1000 μM である、項 1 に記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [0010] 項 3. 前記不飽和脂肪酸の濃度が50 μM 以上である、項 1 に記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [0011] 項 4. 前記不飽和脂肪酸の融点が0℃以下である、項 1 に記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [0012] 項 5. 細胞培地成分を含有する、項 1 に記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [0013] 項 6. 前記細胞培地成分がアルブミンを含む、項 5 に記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [0014] 項 7. 細胞保存液、細胞処理液、又は細胞培地である、項 1～6 のいずれかに記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [0015] 項 8. 細胞維持培地である、項 7 に記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [0016] 項 9. 冷蔵保存に供する又は供した細胞との接触に用いられる、項 1～6 のいずれかに記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [0017] 項 10. 前記細胞がセンサタンパク質のコード配列を含む外来性ポリヌクレオチドを含む、項 1～6 のいずれかに記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [0018] 項 11. 前記センサタンパク質が嗅覚受容体タンパク質である、項 9 に記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [0019] 項 12. センサタンパク質の化学物質応答活性の測定に供する細胞との

接触に用いられる、項1～6のいずれかに記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。

[0020] 項13. 前記細胞が昆虫細胞である、項1～6のいずれかに記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。

[0021] 項14. 細胞と項1～6のいずれかに記載の細胞接触用溶液又はそのゲルとを含む区画を含む、細胞チップ。

[0022] 項15. 細胞と不飽和脂肪酸とを接触させることを含む、前記細胞のセンサタンパク質の化学物質応答活性を向上させる方法。

[0023] 項16. 不飽和脂肪酸を含有する、細胞のセンサタンパク質の化学物質応答活性の向上化剤。

発明の効果

[0024] 本開示によれば、匂い物質等の化学物質の検出性を向上させることができる細胞接触用溶液又はそのゲルを提供することができる。本明細書において、化学物質の検出性の向上とは、細胞接触溶液又はゲルの接触前よりも化学物質の検出性が高くなることのみならず、化学物質の検出性が低下傾向にある場合において当該検出性の低下の程度を抑制する又は当該検出性を維持することも包含する。

図面の簡単な説明

[0025] [図1]試験例2の嗅覚受容体の活性測定結果を示す。縦軸は蛍光強度を示す。横軸に培地への添加成分を示す（(A)添加なし(-)、(B)0.7% BSA(+BSA)、(C)0.7% BSA, 250 μ M リノール酸(+BSA +リノール酸)、(D)0.7%BSA, 250 μ M リノレン酸(+BSA +リノレン酸)）。凡例は化合物a濃度を示す。

[図2]試験例3の嗅覚受容体の活性測定結果を示す。縦軸は蛍光強度を示す。横軸に培地への添加成分を示す（(A)添加なし(-)、(B)0.7%BSA, 250 μ M リノレン酸(+リノレン酸)）。凡例は化合物a濃度（単位は μ M）を示す。

[図3]試験例4の嗅覚受容体の活性測定結果を示す。縦軸は蛍光強度を示す。横軸に培地への添加成分（(A)添加なし(-)、(B)0.7%BSA, 250 μ M リノール酸, 250 μ M リノレン酸(+ 脂肪酸)）、及び保存期間を示す。凡例は化合物a濃

度（単位は μM ）を示す。

発明を実施するための形態

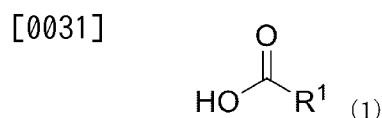
[0026] 本明細書中において、「含有」及び「含む」なる表現については、「含有」、「含む」、「実質的にからなる」及び「のみからなる」という概念を含む。

[0027] 本明細書中において、ある数値範囲について、上限及び下限を任意に組み合わせる数値範囲もまた、直接且つ一義的に開示されている。

[0028] 本開示は、その一態様において、不飽和脂肪酸を含有する、細胞接触用溶液又はそのゲル（本明細書において、「本開示の溶液／ゲル」と示すこともある。）、に関する。以下に、これについて説明する。

[0029] 本開示の溶液／ゲルは、液体（本開示の溶液）又はゲル（本開示のゲル）である。本開示のゲルは、本開示の溶液をゲル化してなるものである。

[0030] 不飽和脂肪酸は、1つ以上の不飽和の炭素結合をもつ脂肪酸であり、一般式(1)：



[0032] [式中： R^1 は鎖式不飽和炭化水素基を示す。]

で表される化合物である。

[0033] 不飽和脂肪酸が有する鎖式不飽和炭化水素基の炭素原子数は、特に制限されず、例えば3～29である。当該炭素原子数は、不飽和脂肪酸による化学物質の検出性の向上作用の観点から、好ましくは7以上、より好ましくは11以上、さらに好ましくは13以上、よりさらに好ましくは15以上、特に好ましくは16以上であり、また好ましくは27以下、より好ましくは25以下、さらに好ましくは23以下、よりさらに好ましくは21以下、特に好ましくは19以下である。

[0034] 鎖式不飽和炭化水素基は、直鎖又は分岐鎖状のいずれであってもよいが、不飽和脂肪酸による化学物質の検出性の向上作用の観点から、好ましくは直鎖状である。

[0035] 不飽和脂肪酸は、化学物質の検出性の向上作用の観点から、融点が 0°C 以下

であること、及び／又は炭素間の二重結合の数が2以上であることが特に好ましい。当該融点は、 -1°C 以下が好ましく、 -2°C 以下がより好ましく、 -3°C 以下がさらに好ましく、 -4°C 以下がよりさらに好ましく、 -5°C 以下がとりわけ好ましい。当該不飽和脂肪酸の二重結合の数は、2~6が好ましく、2~5がより好ましく、2~4がさらに好ましく、2~3がよりさらに好ましい。

[0036] 不飽和脂肪酸として、具体的には、例えば以下の物質が挙げられる。

[0037] モノ不飽和脂肪酸：クロトン酸、ミリストレイン酸、パルミトレイン酸、サピエン酸、オレイン酸、エライジン酸、バクセン酸、ガドレイン酸、エイコセン酸、エルカ酸、ネルボン酸；

ジ不飽和脂肪酸：リノール酸、エイコサジエン酸、ドコサジエン酸；

トリ不飽和脂肪酸：リノレン酸、ピノレン酸、エレオステアリン酸、ミード酸、ジホモ- γ -リノレン酸、エイコサトリエン酸；

テトラ不飽和脂肪酸：ステアリドン酸、アラキドン酸、エイコサテトラエン酸、アドレン酸；

ペンタ不飽和脂肪酸：ボセオペンタエン酸、エイコサペンタエン酸、オズボンド酸、イワシ酸、テトラコサペンタエン酸；

ヘキサ不飽和脂肪酸：ドコサヘキサエン酸、ニシン酸。

[0038] 本開示の溶液／ゲル中の不飽和脂肪酸の濃度は、特に制限されるものではなく、例えば $10\mu\text{M}$ 以上とすることができる。当該濃度は、不飽和脂肪酸による化学物質の検出性の向上作用の観点から、好ましくは $20\mu\text{M}$ 以上、より好ましくは $30\mu\text{M}$ 以上、さらに好ましくは $50\mu\text{M}$ 以上、よりさらに好ましくは $70\mu\text{M}$ 以上、とりわけ好ましくは $100\mu\text{M}$ 以上、とりわけより好ましくは $150\mu\text{M}$ 以上、とりわけさらに好ましくは $200\mu\text{M}$ 以上、とりわけよりさらに好ましくは $220\mu\text{M}$ 以上である。また、当該濃度は、例えば $2000\mu\text{M}$ 以下、 $1500\mu\text{M}$ 以下、 $1000\mu\text{M}$ 以下、 $500\mu\text{M}$ 以下、 $400\mu\text{M}$ 以下、又は $300\mu\text{M}$ 以下である。

[0039] 不飽和脂肪酸は、1種単独であってもよいし、2種以上の組合せであってもよい。

[0040] 本開示の溶液／ゲルは、細胞へのダメージ（特に、保存下におけるダメー

ジ)を軽減するという観点から、細胞培地成分を含有することが好ましい。
細胞培地成分は、細胞の培地に含まれるものである限り、特に制限されない。
。

[0041] 培地は、通常、細胞が資化し得る炭素源及び無機塩類等を含有する。また、培地は、窒素源を含むことができる。

[0042] 炭素源としては、細胞が資化し得るものであればよく、例えば、グルコース、フラクトース、スクロース、及びこれらを含有する糖蜜、デンプン及びデンプン加水分解物等の炭水化物、酢酸及びプロピオン酸等の有機酸、並びにエタノール及びプロパノール等のアルコール類を用いることができる。

[0043] 窒素源としては、例えば、アンモニア、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、酢酸アンモニウム及びリン酸アンモニウム等の無機酸又は有機酸のアンモニウム塩、その他の含窒素化合物、並びにペプトン、肉エキス、酵母エキス、コーンスチープリカー、カゼイン加水分解物、大豆粕及び大豆粕加水分解物、各種発酵菌体及びその消化物を用いることができる。

[0044] 無機塩としては、例えば、リン酸第一カリウム、リン酸第二カリウム、リン酸マグネシウム、硫酸マグネシウム、塩化ナトリウム、硫酸第一鉄、硫酸マンガン、硫酸銅及び炭酸カルシウムを用いることができる。

[0045] 培地のより具体的な例としては、昆虫細胞培養培地の場合であれば、TNM-FH培地 (Pharmingen社製)、Sf-900 III SFM培地 (Life Technologies社製)、ExCell400、ExCell405 (いずれもJRH Biosciences社製)、Grace's Insect Medium (Nature, 195, 788 (1962)) 等が挙げられる。

[0046] 本開示の溶液／ゲルは、不飽和脂肪酸の溶解性を向上させるために、アルブミンを含むことが好ましい。アルブミンとしては、例えば血清アルブミン、卵アルブミン、乳アルブミン等が挙げられる。アルブミンとして、代表的にはBSA (ウシ血清アルブミン) が用いられる。

[0047] 本開示の溶液／ゲル中のアルブミン濃度は、不飽和脂肪酸の溶解性等の観点から、好ましくは0.01～5質量%、より好ましくは0.05～3質量%、さらに好ましくは0.1～2質量%、よりさらに好ましくは0.2～1.5質量%である。

- [0048] 細胞培地成分は、1種単独であってもよいし、2種以上の組合せであってもよい。
- [0049] 本開示の溶液／ゲルの溶媒は、細胞の生存に著しく悪影響を与えないものである限り特に制限されない。当該溶媒は、水を含有することが好ましい。当該溶媒中の水の含有率は、好ましくは50質量%以上、より好ましくは70質量%以上、さらに好ましくは80質量%以上、よりさらに好ましくは85質量%以上、とりわけ好ましくは90質量%以上、特に好ましくは95質量%以上である。
- [0050] 本開示のゲルは、ゾル化可能なものであることが好ましい。ゾル化することにより、検出対象物質の高い拡散性が担保され、迅速且つ安定な測定が可能になると考えられる。また、ゾル化することにより、容易に除去することができるので、検出対象物質の拡散性がより優れた溶液に置換することが可能となる。
- [0051] ゾル化可能なゲルを形成する成分（ゲル形成成分：架橋されてネットワークを形成する成分）は、特に制限されないが、例えばゼラチン；寒天、カラギナン、澱粉、キサンタンガム等の多糖類；PVA、PEGなどの水溶性合成ポリマー類等が挙げられる。これらの中でも、上記した望ましい性質を発現させ易いという観点から、特に好ましくはゼラチンが挙げられる。ゼラチンは、牛骨、牛皮、豚骨、豚皮、魚鱗等のコラーゲン原料を、酸またはアルカリで前処理し、水洗、温水抽出、精製、濃縮乾燥することで得られる。ゼラチンのゾル物性及びゲル物性は、コラーゲン原料の種類、前処理、温水抽出条件等によって変化する。上記の本発明に望ましいゾル温度、ゾルーゲル転移温度、ゾル粘度、ゲル弾性率を実現するためには、ゼラチンの中でも、魚由来のゼラチン（魚ゼラチン）が特に好ましく、前処理や温水抽出条件を適宜調整することで本発明に適したゾル物性及びゲル物性を得ることができる。
- [0052] ゲル形成成分は、1種単独であることができ、また2種以上の組合せであることができる。
- [0053] 本開示の溶液／ゲルは、細胞との接触のために用いられるものである。限

定的な解釈を望むものではないが、不飽和脂肪酸が細胞表面のセンサタンパク質に接触する及び／又は細胞膜成分として取り込まれることにより、センサタンパク質の構造が安定化し、このため化学物質の検出性が向上すると考えられる。

[0054] 接触の態様は特に制限されない。例えば、本開示の溶液／ゲルと細胞層とが接触している態様、本開示の溶液／ゲル中に細胞が分散している態様が挙げられる。

[0055] 本開示の溶液／ゲルは、より具体的には、例えば細胞保存液、細胞処理液、又は細胞培地であることができる。

[0056] 細胞保存液は、一態様において、冷蔵保存に用いるためのものである。冷蔵保存の温度は、例えば10℃以下、又は6℃以下である。冷蔵保存の期間は、例えば5日以上、10日以上、15日以上、20日以上、25日以上、30日以上、40日以上、50日以上、60日以上、又は70日以上であることができ、また200日以下、150日以下、又は100日以下であることができる。冷蔵保存の後、所定の温度（例えば20℃、又は25℃）以上での培養に供することができる。

[0057] 細胞処理液は、細胞の一過的な処理に供するための液であり、その限りにおいて特に制限されない。処理時間は、例えば30分間以上、1時間以上、2時間以上、4時間以上、又は8時間以上であることができ、また16時間以下、又は12時間以下であることができる。

[0058] 細胞培地は、一態様において、細胞維持培地である。細胞維持培地は、細胞の増殖を要せず、細胞を生存状態に保つことを目的とするものである限り特に制限されない。

[0059] 本開示の溶液／ゲルは、一態様において、冷蔵保存に供する又は供した細胞との接触に用いられる。冷蔵保存により、細胞の化学物質の検出性は低下する傾向にあるが、本開示の溶液／ゲルを細胞と接触させることにより、当該低下現象を抑制することができ、また化学物質の検出性を冷蔵保存前よりも高めることも可能である。

[0060] 本開示の溶液／ゲルは、一態様において、センサタンパク質の化学物質応

答活性の測定に供する細胞との接触に用いられる。

- [0061] 細胞は、特に制限されない。細胞は、化学物質の検出に適しているという観点から、昆虫細胞、哺乳類動物細胞等の動物細胞が好ましく、本開示の溶液／ゲルの使用により適しているという観点、CO₂や温度管理が不要であるなど管理の容易さから昆虫細胞が特に好ましい。
- [0062] 昆虫細胞としては、例えば、Sf細胞、MG1細胞、High Five™細胞、BmN細胞などが用いられる。Sf細胞としては、例えば、Sf9細胞（ATCC CRL1711）、Sf21細胞などが用いられる。昆虫細胞の中でも、特にヒトリガ科（Arctiidae）の昆虫由来細胞が好ましい。
- [0063] ヒトリガ科の昆虫由来細胞は、ヒトリガ科の昆虫由来細胞の生体構成細胞の初代培養細胞、又は株化細胞であり、その限りにおいて特に制限されない。
- [0064] ヒトリガ科としては、例えばヒトリガ亜科（Arctiinae）、コケガ亜科（Lithosiinae）、カノコガ亜科（Syntominiinae）等が挙げられるが、これらの中でも好ましくはヒトリガ亜科が挙げられる。ヒトリガ亜科としては、好ましくはSpilosoma（クワゴマダラヒトリ属）、Spilarctia、Rhagonisの属が挙げられ、特に好ましくはクワゴマダラヒトリ属が挙げられる。クワゴマダラヒトリ属としては、特に制限されないが、特に好ましくはクワゴマダラヒトリ（*Spilosoma imparilis*）が挙げられる。
- [0065] ヒトリガ科の昆虫由来細胞は、公知の生物バンクから入手することもできるし、公知の方法に従って又は準じてヒトリガ科の昆虫の生体から採取・培養して得ること、必要に応じて株化して得ることができる。
- [0066] クワゴマダラヒトリ由来細胞としては、例えば農業生物資源ジーンバンクのFFPRI-SpIm-2AM-SF細胞（MAFF番号：275052）、FFPRI-SpIm-2AM-IPL411細胞（MAFF番号：275053）等が挙げられる。
- [0067] 細胞は、センサタンパク質のコード配列を含む外来性ポリヌクレオチドを含むことが好ましい。これにより、任意のセンサタンパク質を発現させることができ、また目的のセンサタンパク質の発現量を増やし目的の化学物質の

検出感度を高めることができる。

[0068] 外来性ポリヌクレオチドとは、昆虫細胞のゲノムDNA（特に、染色体ゲノムDNA）に由来しない塩基配列を含むポリヌクレオチドであり、その限りにおいて特に制限されない。

[0069] センサタンパク質は、化学物質の存在を検出可能なタンパク質から選択すればよく、例えば化学物質をリガンドとする受容体タンパク質であることができる。センサタンパク質は、好ましくは嗅覚受容体タンパク質であり、特に好ましくは昆虫嗅覚受容体タンパク質である。

[0070] 昆虫嗅覚受容体タンパク質は、7回膜貫通構造を有する膜タンパク質であり、生物の匂いセンサとして働く。嗅覚受容体タンパク質のアミノ末端（以下、「N末端」という場合もある。）からカルボキシル末端（以下、「C末端」という場合もある。）に向かって順に、N末端領域（NT）、第1膜貫通ドメイン（TM1）、第1細胞外ループ（EC1）、第2膜貫通ドメイン（TM2）、第1細胞内ループ（IC1）、第3膜貫通ドメイン（TM3）、第2細胞外ループ（EC2）、第4膜貫通ドメイン（TM4）、第2細胞内ループ（IC2）、第5膜貫通ドメイン（TM5）、第3細胞外ループ（EC3）、第6膜貫通ドメイン（TM6）、第3細胞内ループ（IC3）、第7膜貫通ドメイン（TM7）、及びC末端領域（CT）が連結されて構成される。本開示において、各領域は、TMPred（K. Hofmann, W. Stoffel, TMbase – a database of membrane spanning proteins segments, Biol. Chem. Hoppe-Seyler, 374 (1993), p. 166、https://embnet.vital-it.ch/software/TMPRED_form.html）を用いた構造予測（条件はデフォルト）により決定される。

[0071] 昆虫嗅覚受容体タンパク質の由来昆虫としては、好ましくはカ科、ショウジョウバエ科等の双翅目昆虫；カイコガ科等の鱗翅目昆虫；ミツバチ科等の膜翅目昆虫；バッタ科等の直翅目昆虫；トコジラミ科等の半翅目昆虫等が挙げられ、さらに好ましくはカ科、ショウジョウバエ科等の双翅目昆虫；バッタ科等の直翅目昆虫；トコジラミ科等の半翅目昆虫が挙げられる。カ科の昆虫としては、例えば、ガンビエハマダラカ（*Anopheles gambiae*）、ネッタイ

シマカ (*Aedes aegypti*)、ネッタイエカ (*Culex quinquefasciatus*) 等が挙げられる。ショウジョウバエ科の昆虫としては、例えば、キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*)、ウスグロショウジョウバエ (*Drosophila pseudoobscura*)、クロショウジョウバエ (*Drosophila virillis*) 等が挙げられる。カイコガ科の昆虫としては、例えば、カイコガ (*Bombyx mori*)、クワコ (*Bombyx mandarina*)、イチジクカサン (*Trilocha varians*) 等が挙げられる。ミツバチ科の昆虫としては、例えば、セイヨウミツバチ (*Apis mellifera*)、ヒメミツバチ (*Apis florea*)、オオミツバチ (*Apis dorsata*)、セイヨウオオマルハナバチ (*Bombus terrestris*) 等が挙げられる。バッタ科の昆虫としては、例えば、トノサマバッタ (*Locusta migratoria*) 等が挙げられ、トコジラミ科の昆虫としては、例えば、トコジラミ (*Cimex lectularius*) 等が挙げられる。

[0072] 野生型の昆虫嗅覚受容体タンパク質として、具体的には、例えば、AaOR1、AaOR2、AaOR4、AaOR5、AaOR6、AaOR8、AaOR9、AaOR10a、AaOR15、AaOR22、AaOR24、AaOR25、AaOR26、AaOR27、AaOR28、AaOR30、AaOR34、AaOR36、AaOR38、AaOR41a、AaOR41b、AaOR42、AaOR43、AaOR44、AaOR47、AaOR49、AaOR50、AaOR52、AaOR54、AaOR58、AaOR59、AaOR60、AaOR61、AaOR64、AaOR65、AaOR66、AaOR67a、AaOR69a、AaOR70、AaOR71、AaOR72a、AaOR73、AaOR74、AaOR75、AaOR77、AaOR78、AaOR79、AaOR81、AaOR83b、AaOR84、AaOR85、AaOR86、AaOR87、AaOR91、AaOR95、AaOR97、AaOR96、AaOR99、AaOR100、AaOR102、AaOR103、AaOR104a、AaOR105、AaOR107、AaOR108、AaOR109、AaOR110、AaOR112、AaOR114、AaOR116、AaOR117、AaOR118、AaOR122、AaOR125、AaOR128、AgOR1、AgOR2、AgOR3、AgOR4、AgOR5、AgOR6、AgOR8、AgOR9、AgOR10、AgOR11a、AgOR12a、AgOR12b、AgOR13、AgOR14、AgOR15、AgOR16a、AgOR17、AgOR18、AgOR20、AgOR21、AgOR23、AgOR25、AgOR26、AgOR27、AgOR28、AgOR30、AgOR34、AgOR36、AgOR37、AgOR38、AgOR39a、AgOR40、AgOR42、AgOR44、AgOR45、AgOR46、AgOR47、AgOR49、AgOR50、AgOR54、AgOR56a、AgOR57、AgOR60、AgOR61、AgOR62、AgOR63、AgOR64、AgOR65、AgOR69、AgOR70、AgOR71、AgOR72、AgOR74

、AgOR75、AgOR76a、AmOR1、AmOR3、AmOR9、AmOR10、AmOR13、AmOR41、AmOR51、AmOR52、AmOR55、AmOR71、AmOR73、AmOR78、AmOR85、AmOR89、AmOR90、AmOR114、AmOR115、AmOR118、AmOR120、AmOR121、AmOR161、BmOR1、BmOR2、BmOR3、BmOR4、BmOR5、BmOR8、BmOR9、BmOR10、BmOR13、BmOR17、BmOR18、BmOR23、BmOR24、BmOR25、BmOR35、BmOR36、BmOR42、BmOR45、BmOR49、BmOR51、BmOR52、BmOR55、BmOR56、BmOR61、DmOR1a、DmOR9a、DmOR19a、DmOR22a、DmOR22b、DmOR22c、DmOR24a、DmOR30a、DmOR33a、DmOR33b、DmOR33c、DmOR35a、DmOR42b、DmOR43a、DmOR45a、DmOR45b、DmOR47a、DmOR49b、DmOR59b、DmOR65b、DmOR65c、DmOR67b、DmOR67c、DmOR69a、DmOR71a、DmOR74a、DmOR82a、DmOR83a、DmOR83c、DmOR85a、DmOR85c、DmOR85e、DmOR85f、DmOR88a、DmOR92a、DmOR94a、DmOR94b、DmOR98b等が挙げられる。

[0073] 本明細書において、ORは嗅覚受容体 (Odorant receptor) を示し、Dmは*Drosophila melanogaster*由来であることを示し、Bmは*Bombyx mori*由来であることを示し、Agは*Anopheles gambiae*由来であることを示し、Aaは*Aedes aegypti*由来であることを示す。これらを含む各種嗅覚受容体タンパク質のアミノ酸配列及びコード配列は公知であるか、公知の配列に基づいた配列同一性検索により容易に同定することができる。

[0074] センサタンパク質は、化学物質応答活性が著しく低減しない限りにおいて、野生型アミノ酸配列に対するアミノ酸変異を含むことができる。「著しく低減しない」とは、例えば、アミノ酸変異を含むセンサタンパク質の化学物質応答活性が、野生型のセンサタンパク質の化学物質応答活性100%に対して、例えば50%以上、好ましくは60%以上、より好ましくは70%以上、さらに好ましくは80%以上、よりさらに好ましくは90%以上である、ことを意味する。

[0075] アミノ酸変異は、例えばアミノ酸の置換、挿入、付加、又は欠失であり、好ましくは置換であり、特に好ましくは保存的置換である。

[0076] センサタンパク質は、野生型アミノ酸配列、野生型アミノ酸配列に対して例えば70%以上、好ましくは80%以上、より好ましくは90%以上、さらに好

ましくは95%以上、よりさらに好ましくは98%以上、特に好ましくは99%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含むことができる。

[0077] 本明細書において、化学物質応答活性とは、センサタンパク質が化学物質を認識し、そのセンサタンパク質単独が又は他のタンパク質と共役してシグナル伝達活性（例えば、イオンチャネル活性）を示す性質をいう。センサタンパク質が嗅覚受容体である場合、Gタンパク質共役型受容体であってもよいし、イオンチャネル型受容体であってもよいが、昆虫嗅覚受容体の場合であれば、嗅覚受容体が化学物質を認識し、その嗅覚受容体と嗅覚受容体共受容体とが形成した嗅覚受容体複合体が活性化されてイオンチャネル活性を示す性質をいう。センサタンパク質の化学物質応答活性は、化学物質と接触したセンサタンパク質のシグナル伝達活性を指標として（例えばシグナル分子の量を定量・評価して）測定することができる。昆虫嗅覚受容体の場合であれば、嗅覚受容体の化学物質応答活性は、化学物質と接触した嗅覚受容体と嗅覚受容体共受容体とが形成する嗅覚受容体複合体のイオンチャネル活性を指標として測定することができる。例えば、(a)嗅覚受容体、(b)嗅覚受容体共受容体、及び(c)嗅覚受容体複合体が応答した場合に細胞内に流入するイオン（カルシウムイオン等）により蛍光又は発光を発するタンパク質を発現する細胞と、化学物質とを接触させ、当該細胞の蛍光又は発光量を測定する。測定された蛍光又は発光量が多い程、嗅覚受容体の化学物質の応答活性が高いと判定する。具体的には特許文献1に記載の方法に従って測定することができる。

[0078] センサタンパク質のコード配列は、センサタンパク質をコードする塩基配列である限り、特に制限されない。外来性ポリヌクレオチドは、その一態様において、センサタンパク質の発現カセットを含む。発現カセットは、細胞内でセンサタンパク質を発現可能なポリヌクレオチドである限り特に制限されない。センサタンパク質の発現カセットの典型例としては、プロモーター、及びそのプロモーターの制御下に配置されたセンサタンパク質のコード配列を含むポリヌクレオチドが挙げられる。

- [0079] センサタンパク質が昆虫嗅覚受容体である場合、外来性ポリヌクレオチドは、昆虫の嗅覚受容体共受容体のコード配列を含むことが好ましい。昆虫の嗅覚受容体共受容体は、嗅覚受容体と同様に7回膜貫通構造を有する膜タンパク質であり、嗅覚受容体とヘテロ複合体を形成して機能する。嗅覚受容体と嗅覚受容体共受容体とから構成されるヘテロ複合体である嗅覚受容体複合体は、匂い物質で活性化されるイオンチャネル活性が備わっており、活性化されるとナトリウムイオン (Na^+)、カルシウムイオン (Ca^{2+}) 等の陽イオンを細胞内に流入させる。
- [0080] 外来性ポリヌクレオチドは、センサタンパク質（特に、嗅覚受容体タンパク質）が応答した場合に細胞内に流入するイオン（カルシウムイオン等）により蛍光又は発光を発するタンパク質のコード配列を含むことが好ましい。このようなタンパク質としては、イクオリン、Yellow Cameleon (YC)、GCaMP等が挙げられる。或いは、本開示の細胞は、カルシウムイオン依存性蛍光色素（例えばFura-2、Fluo-3、Fluo-4等）等のイオン依存性蛍光色素を含むことが好ましい。
- [0081] 昆虫の嗅覚受容体共受容体のコード配列、蛍光又は発光を発するタンパク質のコード配列、薬剤耐性遺伝子のコード配列等のコード配列は、発現カセットの形態で外来性ポリヌクレオチドに含まれていることが好ましい。発現カセットの構成についてはセンサタンパク質の発現カセットと同様である。発現カセットのプロモーターは、複数のコード配列間で共有することが可能である。
- [0082] 外来性ポリヌクレオチドは、好ましくはゲノムDNA（特に好ましくは染色体ゲノムDNA）に組み込まれている。これにより、安定にセンサタンパク質を発現することができ、化学物質検出に適したものとなる。この場合、ポリヌクレオチドは、ゲノムDNA内の、1つの連続領域であることができ、また2つ以上の連続領域の組み合わせ（例えばセンサタンパク質コード配列が連続領域Aに含まれ、薬剤耐性遺伝子のコード配列が連続領域Aとは別の連続領域である連続領域Bに含まれる形態、或いはセンサタンパク質コード配列が連続領域Aと

連続領域Bの両方に含まれる形態）であることができる。

[0083] ポリヌクレオチドは、別の態様において、ゲノムDNAに組み込まれない状態であることができる。この場合、外来性ポリヌクレオチドは、例えばベクターの形態であることができる。この場合、ポリヌクレオチドは、1種のポリヌクレオチド分子であることができ、また2種以上のポリヌクレオチド分子（例えばセンサタンパク質コード配列がポリヌクレオチド分子Aに含まれ、薬剤耐性遺伝子のコード配列がポリヌクレオチド分子Aとは別の分子であるポリヌクレオチド分子Bに含まれる形態、或いはセンサタンパク質コード配列がポリヌクレオチド分子Aとポリヌクレオチド分子Bの両方に含まれる形態）であることができる。

[0084] 本発明は、その一態様において、細胞と本開示の溶液／ゲルとを含む区画を含む、細胞チップ（本明細書において、「本開示の細胞チップ」と示すこともある。）、に関する。これにより、チップ中の細胞の化学物質の検出性を向上させることができる。

[0085] 区画の形態は、細胞を保持できる態様である限り特に制限されない。細胞の保持性、製造効率、又は化学物質検出性の観点から、区画は、ウェル状であることが好ましい。

[0086] 区画の材質は、細胞を保持できるものである限り特に制限されない。材質は、例えば樹脂、金属等であることができる。

[0087] 区画の面積は、検出感度の観点、又は製造効率の観点から、好ましくは0.5～100mm²、より好ましくは1～50mm²、さらに好ましくは1.5～40mm²、よりさらに好ましくは2～40mm²である。本開示の好ましい一態様において、当該面積は、50mm²以下、35mm²以下、又は15mm²以下である。

[0088] 区画の数は、検出感度の観点、又は製造効率の観点から、好ましくは1～2000個、より好ましくは4～1600個、さらに好ましくは8～400個である。本開示の好ましい一態様において、当該数は、10以上、20以上、又は50以上である。

[0089] 区画は、検出感度の観点から、通常、複数個の細胞を含む。区画における

面積 (mm^2) 当たりの細胞数 (cells) は、例えば $50 \sim 20000 \text{ cells/mm}^2$ である。検出感度、細胞生存性等の観点から、好ましくは $100 \sim 15000 \text{ cells/mm}^2$ 、より好ましくは $100 \sim 10000 \text{ cells/mm}^2$ 、さらに好ましくは $200 \sim 10000 \text{ cells/mm}^2$ 、よりさらに好ましくは $500 \sim 7000 \text{ cells/mm}^2$ 、とりわけ好ましくは $1000 \sim 5000 \text{ cells/mm}^2$ である。

[0090] 本開示の細胞チップは、1種のセンサタンパク質の細胞のみを含むものであることができるが、センサタンパク質の種類が互いに異なる2種以上（より好ましくは3種以上、さらに好ましくは4種以上、よりさらに好ましくは5種以上、10種以上、15種以上、又は20種以上）の細胞を含むことが好ましい。

[0091] センサタンパク質の化学物質応答活性の測定により、化学物質を検出することができる。化学物質は、例えば体液（例えば、尿、血液、唾液）、空気（例えば、室内の空気、包装内の空気）、水（例えば、河川水、海水、水道水、上水、下水）等の試料中の化学物質であることができる。この場合、例えば本開示の基材の区画に、試料を添加することにより、試料中の化学物質が細胞に到達し、細胞のセンサタンパク質に接触することができる。例えば細胞内に流入するイオンを検出する（例えばイオンにより蛍光又は発光を発生するタンパク質により検出する）ことにより、センサタンパク質の化学物質応答活性を測定することができ、化学物質を検出することができる。

[0092] 上述の通り、不飽和脂肪酸は、細胞と接触させることにより、細胞のセンサタンパク質の化学物質応答活性を向上させることができる。このため、本発明は、その一態様において、細胞と不飽和脂肪酸とを接触させることを含む、前記細胞のセンサタンパク質の化学物質応答活性を向上させる方法；不飽和脂肪酸を含有する、細胞のセンサタンパク質の化学物質応答活性の向上化剤、等に関する。

実施例

[0093] 以下に、実施例に基づいて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例によって限定されるものではない。

[0094] 試験例1. 安定発現細胞の作製

クワゴマダラヒトリ (*Spilosoma imparilis*) 由来細胞 (SpIm細胞) に、嗅覚受容体タンパク質 (ORA) コード配列、嗅覚受容体共受容体コード配列、カルシウムセンサー蛍光タンパク質コード配列、及びピューロマイシン耐性遺伝子コード配列がプロモーター配列の制御下に配置されてなり、且つこれらの配列が5' ITR (逆向き反復配列) 及び3' ITRの間に配置されてなるトランスポゾンベクターを導入し、ピューロマイシンでセクションを行い、上記コード配列及びプロモーター配列を含む外来DNAが染色体ゲノムDNAに組み込まれてなる嗅覚受容体安定発現SpIm細胞 (以下、ORA細胞) を作製した。当該嗅覚受容体は、昆虫由来の嗅覚受容体であり、化合物aの受容体である。ORA細胞は、化合物aに応答して蛍光を発する。

[0095] 試験例2. 嗅覚受容体の活性測定1

ORA細胞を96-well plate (CORNING 3903) に 5×10^4 / $100 \mu\text{L}$ / wellで播種し、27°Cインキュベーター (CO₂供給なし) 内で静置した。培地は、Sf-900III SFM培地を使用した。播種から24時間後に各wellから培地を除去し、(A) Sf-900III SFM培地(-)、又はSf-900III SFM培地に(B)0.7% BSA(富士フィルム和光 011-15144)(+BSA)、(C)0.7% BSA, 250 μM リノール酸(+BSA, +リノール酸)、若しくは(D)0.7%BSA, 250 μM リノレン酸(+BSA, +リノレン酸)を添加した液 (濃度は終濃度を示す) それぞれ100 μL を各wellに添加した。4°Cで29日間保管後、27°Cで2日間培養した。その後、各wellから培地を除去し、0.1%BSA/1 $\times$ Hanks ' buffer/20mM HEPES buffer 80 μL を各wellに添加した。終濃度が0、0.1、1、10 μM になるように化合物a (ORAが応答する物質) 溶液又は化合物aを含まない以外は化合物a溶液と同じ液を各wellに添加し、添加前後の蛍光強度の変化をマイクロプレートリーダー (FlexStation3、Molecular Devices) を用いて測定した。

[0096] 結果を図1に示す。比較群である(A)及び(B)と比較して、不飽和脂肪酸添加群(C)及び(D)では各濃度での匂い応答シグナルが増強された。

[0097] 試験例3. 嗅覚受容体の活性測定2

ORA細胞を384-well plate (Greiner、781098) に 3×10^4 / $40 \mu\text{L}$ / wellで播

種し、27℃インキュベーター（CO₂供給なし）内で静置した。培地は、Sf-900I II SFM培地を使用した。播種から24時間後に各wellから培地を除去し、(A)魚ゼラチンが濃度質量1%含まれたSf-900III SFM培地(-)、又は(B)当該培地に0.7% BSA(富士フィルム和光011-15144), 250 μM リノレン酸を添加した培地(+リノレン酸)（濃度は終濃度を示す）それぞれ40 μLを各wellに添加した。4℃で14日間保管後、27℃で3日間培養した。その後、各wellから培地を除去し、0.1%BSA/1×Hanks ' buffer/20mM HEPES buffer 40 μLを各wellに添加した。終濃度が0、0.1、1、10 μMになるように化合物a（ORAが応答する物質）溶液又は化合物aを含まない以外は化合物a溶液と同じ液を各wellに添加し、添加前後の蛍光強度の変化をマイクロプレートリーダー（FlexStation3、Molecular Devices）を用いて測定した。

[0098] 結果を図2に示す。比較群である(A)と比較して、不飽和脂肪酸添加群(B)では各濃度での匂い応答シグナルが増強された。

[0099] 試験例4. 嗅覚受容体の活性測定3

ORA細胞を96-well plate (CORNING 3903) に 5×10^4 / 100 μL / wellで播種し、27℃インキュベーター（CO₂供給なし）内で静置した。培地は、Sf-900III SFM培地を使用した。播種から24時間後に各wellから培地を除去し、(A) Sf-900III SFM培地(-)、又は(B) Sf-900III SFM培地に0.7% BSA(富士フィルム和光011-15144), 125 μM リノール酸, 125 μM リノレン酸、を添加した液(+脂肪酸)（濃度は終濃度を示す）それぞれ100 μLを各wellに添加した。4℃で27日間、48日間、又は75日間保管後、27℃で2日間培養した。その後、各wellから培地を除去し、0.1%BSA/1×Hanks ' buffer/20mM HEPES buffer 80 μLを各wellに添加した。終濃度が0、0.1、1、10、100 μMになるように化合物a（ORAが応答する物質）を各wellに添加し、添加前後の蛍光強度の変化をマイクロプレートリーダー（FlexStation3、Molecular Devices）を用いて測定した。

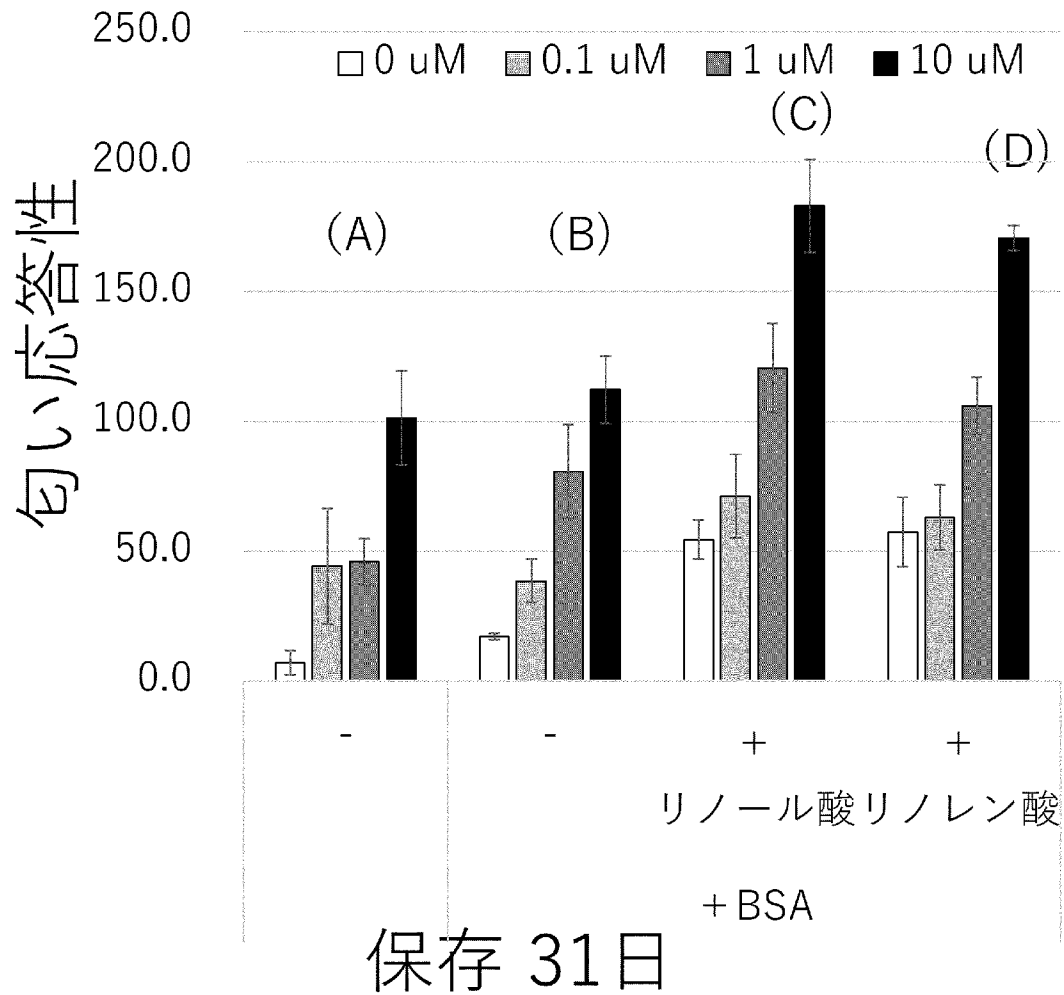
[0100] 結果を図3に示す。比較群である(A)と比較して、不飽和脂肪酸添加群(B)では各濃度での匂い応答シグナルが増強された。

請求の範囲

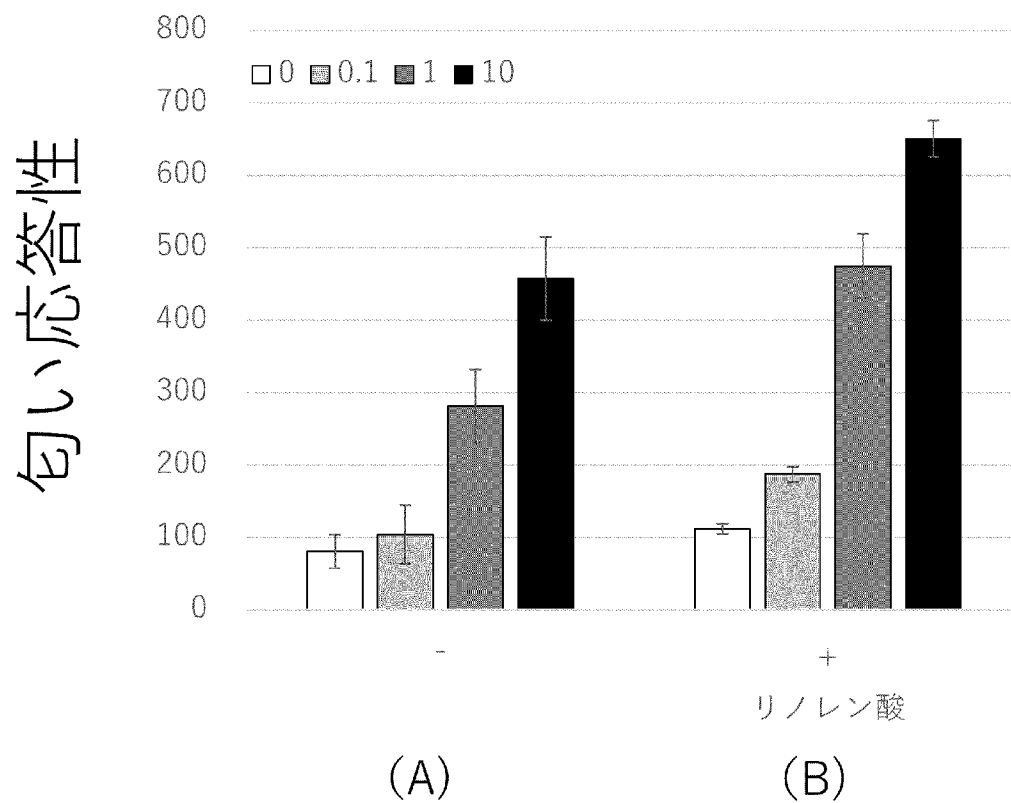
- [請求項1] 不飽和脂肪酸を含有する、細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [請求項2] 前記不飽和脂肪酸の濃度が $10\sim 1000\mu\text{M}$ である、請求項1に記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [請求項3] 前記不飽和脂肪酸の濃度が $50\mu\text{M}$ 以上である、請求項1に記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [請求項4] 前記不飽和脂肪酸の融点が 0°C 以下である、請求項1に記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [請求項5] 細胞培地成分を含有する、請求項1に記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [請求項6] 前記細胞培地成分がアルブミンを含む、請求項5に記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [請求項7] 細胞保存液、細胞処理液、又は細胞培地である、請求項1～6のいずれかに記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [請求項8] 細胞維持培地である、請求項7に記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [請求項9] 冷蔵保存に供する又は供した細胞との接触に用いられる、請求項1～6のいずれかに記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [請求項10] 前記細胞がセンサタンパク質のコード配列を含む外来性ポリヌクレオチドを含む、請求項1～6のいずれかに記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [請求項11] 前記センサタンパク質が嗅覚受容体タンパク質である、請求項9に記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [請求項12] センサタンパク質の化学物質応答活性の測定に供する細胞との接触に用いられる、請求項1～6のいずれかに記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。
- [請求項13] 前記細胞が昆虫細胞である、請求項1～6のいずれかに記載の細胞接触用溶液又はそのゲル。

- [請求項14] 細胞と請求項1～6のいずれかに記載の細胞接触用溶液又はそのゲルとを含む区画を含む、細胞チップ。
- [請求項15] 細胞と不飽和脂肪酸とを接触させることを含む、前記細胞のセンサタンパク質の化学物質応答活性を向上させる方法。
- [請求項16] 不飽和脂肪酸を含有する、細胞のセンサタンパク質の化学物質応答活性の向上化剤。

[図1]

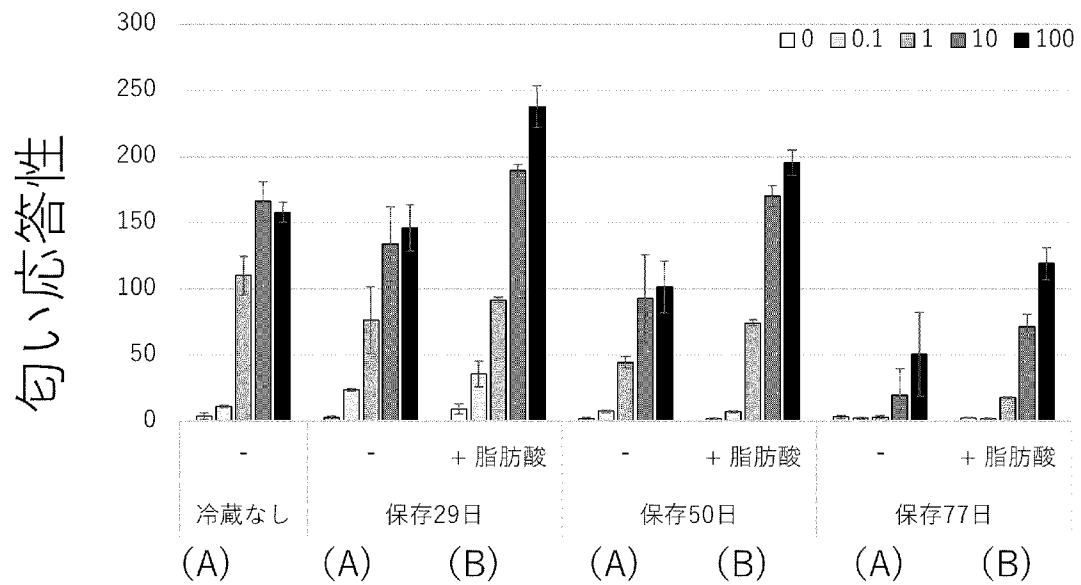


[図2]



[図3]

* +脂肪酸= BSA+リノール酸+リノレン酸



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/035135

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <i>C12M 3/00</i> (2006.01)i; <i>C12M 1/34</i> (2006.01)i; <i>C12N 5/10</i> (2006.01)i; <i>C12Q 1/02</i> (2006.01)i FI: C12M3/00 Z; C12M1/34 Z; C12N5/10; C12Q1/02 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) C12M3/00; C12M1/34; C12N5/10; C12Q1/02 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 1971-2024 Registered utility model specifications of Japan 1996-2024 Published registered utility model applications of Japan 1994-2024 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) 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 Y A	WO 2019/026910 A1 (TWO CELLS CO., LTD.) 07 February 2019 (2019-02-07) claims, paragraphs [0166]-[0172], [0213]-[0219], fig. 10-11	1-9, 14 10-13 15-16
X Y A	WO 2015/016357 A1 (TWO CELLS CO., LTD.) 05 February 2015 (2015-02-05) paragraphs [0019]-[0020], [0163]-[0165]	1-8, 14 10-13 9, 15-16
Y	JP 2013-027376 A (KANZAKI, Ryohei) 07 February 2013 (2013-02-07) paragraphs [0042]-[0049], fig. 1-9	10-13
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: “A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance “D” document cited by the applicant in the international application “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date “L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed “T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention “X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone “Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art “&” document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 03 December 2024		Date of mailing of the international search report 17 December 2024
Name and mailing address of the ISA/JP Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2024/035135

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO	2019/026910	A1	07 February 2019	US 2020/0205399 A1 claims, paragraphs [0261]- [0267], [0327]-[0335], fig. 10-11	
WO	2015/016357	A1	05 February 2015	US 2016/0166734 A1 paragraphs [0019]-[0020], [0203]-[0205] EP 3028722 A1 CN 105392489 A KR 10-2016-0035069 A	
JP	2013-027376	A	07 February 2013	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））
C12M 3/00(2006.01)i; C12M 1/34(2006.01)i; C12N 5/10(2006.01)i; C12Q 1/02(2006.01)i
FI: C12M3/00 Z; C12M1/34 Z; C12N5/10; C12Q1/02

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））
C12M3/00; C12M1/34; C12N5/10; C12Q1/02

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 1971-2024年
日本国実用新案登録公報 1996-2024年
日本国登録実用新案公報 1994-2024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 (JDreamII)

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	WO 2019/026910 A1（株式会社ツーセル） 07.02.2019（2019-02-07） 請求の範囲，段落 [0166]-[0172]，[0213]-[0219]，図10-11	1-9, 14
Y		10-13
A		15-16
X	WO 2015/016357 A1（株式会社ツーセル） 05.02.2015（2015-02-05） 段落 [0019]-[0020]，[0163]-[0165]	1-8, 14
Y		10-13
A		9, 15-16
Y	JP 2013-027376 A（神崎 亮平） 07.02.2013（2013-02-07） 段落 [0042]-[0049]，図1-9	10-13

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☒ 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、一般的技术水準を示すもの
“D” 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献
“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抵触するものではなく、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
03. 12. 2024

国際調査報告の発送日
17. 12. 2024

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

権限のある職員（特許庁審査官）

田畑 利幸 4N 4544

電話番号 03-3581-1101 内線 3461

様式 PCT/ISA/210（第2ページ）（2022年7月）

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2024/035135

引用文献			公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO	2019/026910	A1	07.02.2019	US 2020/0205399 A1 Claims, paragraphs [0261]-[0267], [0327]- [0335], FIGs. 10-11	
WO	2015/016357	A1	05.02.2015	US 2016/0166734 A1 paragraphs [0019]-[0020], [0203]-[0205] EP 3028722 A1 CN 105392489 A KR 10-2016-0035069 A	
JP	2013-027376	A	07.02.2013	(ファミリーなし)	