

(19) 日本国特許庁 (JP)

再 公 表 特 許 (A1)

(11) 国際公開番号

W02010/071237

発行日 平成24年5月31日 (2012. 5. 31)

(43) 国際公開日 平成22年6月24日 (2010. 6. 24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 16/02 (2006.01)	C O 7 K 16/02	2 B 0 0 5
C07K 16/12 (2006.01)	C O 7 K 16/12	2 B 1 5 0
A23L 1/305 (2006.01)	A 2 3 L 1/305	4 B 0 1 8
A61K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	4 C 0 8 5
A61P 31/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/00 1 7 1	4 H 0 4 5
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2010-543033 (P2010-543033)	(71) 出願人	508374483
(21) 国際出願番号	PCT/JP2009/071716		株式会社 さいわいメディックス
(22) 国際出願日	平成21年12月18日 (2009. 12. 18)		東京都千代田区神田和泉町 1 番地 1 2 - 1
(31) 優先権主張番号	特願2008-324257 (P2008-324257)		7 久保田ビル 1 F
(32) 優先日	平成20年12月19日 (2008. 12. 19)	(74) 代理人	100091096
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		弁理士 平木 祐輔
		(74) 代理人	100118773
			弁理士 藤田 節
		(74) 代理人	100111741
			弁理士 田中 夏夫
		(72) 発明者	七里 眞義
			東京都板橋区若木 1 - 2 7 - 1 - 1 2 0 6
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 タンパク質架橋固定試薬で固定した微生物を抗原として用いる網羅的抗表面抗体作製法

(57) 【要約】

微生物の表面に発現するタンパク質全体に対する網羅的抗体の作製方法、及び該方法により得られた網羅的抗体の提供。

(a) 微生物をタンパク質架橋固定試薬で処理することにより、前記微生物の表面に発現しているタンパク質を分子内架橋により固定し、(b) 該タンパク質架橋固定試薬で固定した前記微生物を免疫原として動物に投与し、(c) 動物から抗体を得ることを含む、微生物の表面に発現するタンパク質分子全体に対する抗体を含む網羅的抗体を作製する方法。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) 微生物をタンパク質架橋固定試薬で処理することにより、前記微生物の表面に発現しているタンパク質を分子内架橋により固定し、(b) 該タンパク質架橋固定試薬で固定した前記微生物を免疫原として動物に投与し、(c) 動物から抗体を得ることを含む、微生物の表面に発現するタンパク質分子全体に対する抗体を含む網羅的抗体を作製する方法。

【請求項 2】

タンパク質架橋固定試薬が、ホルムアルデヒド、パラホルムアルデヒド及びグルタルアルデヒドからなる群から選択される、請求項 1 記載の網羅的抗体を作製する方法。

10

【請求項 3】

タンパク質架橋固定試薬が 1～38% (v/v) ホルマリンである、請求項 1 記載の網羅的抗体を作製する方法。

【請求項 4】

タンパク質架橋固定試薬による固定を 10 分～48 時間行う、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の網羅的抗体を作製する方法。

【請求項 5】

免疫原を投与する動物がニワトリである請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載の網羅的抗体を作製する方法。

【請求項 6】

免疫原を投与したニワトリが産生した鶏卵より抗体を得る、請求項 5 記載の網羅的抗体を作製する方法。

20

【請求項 7】

請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載の方法で得られた、微生物の表面に発現するタンパク質分子全体に対する抗体を含む網羅的抗体。

【請求項 8】

請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載の方法で得られた、微生物の表面に発現するタンパク質分子全体に対する抗体を含む網羅的抗体を含む微生物感染症の予防又は治療剤。

【請求項 9】

請求項 6 記載の方法で鶏卵より得られた網羅的抗体を含む食品。

30

【請求項 10】

請求項 6 記載の方法で鶏卵より得られた網羅的抗体を含む飼料。

【請求項 11】

請求項 6 記載の方法で鶏卵より得られた網羅的抗体を含む水産動物感染症治療用組成物。

【請求項 12】

水産動物が生息する環境水中に適用するための請求項 11 記載の水産動物感染症治療用組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

40

【0001】

本発明は、抗体の作製方法に関し、微生物の表面に発現するタンパク質全体に対する網羅的抗体の作製方法に関する。

【背景技術】

【0002】

細菌菌体、ウイルス等の微生物には数々のタンパク質が発現している。従来はこれらの中から有用と思われる特定の抗原タンパク質分子を選択して、主にモノクローナル抗体を作製し、医療等に応用する試みが行われてきた。しかし、細菌等の表面に発現する単一の抗原分子を認識する抗体によって、細胞そのものを特異的に認識し、標的とすることには限界があった。

50

従来より、細菌、ウイルス等の感染症等の予防や治療には、主として抗生物質が用いられていた。また、弱毒化ウイルスを用いて作製したワクチンを投与して生体内でウイルスに対する抗体を産生させ、ウイルス感染症の予防又は治療に役立てることが行われていた。しかし、抗生物質は細菌により適切な抗生物質を選択する必要がある、また、耐性菌が生じるという問題があった。また、ワクチンはワクチンの安全性を考慮する必要性があり、適用できる感染症は限られていた。

さらに、腸管出血性大腸菌の菌体を抗原としてニワトリを免疫して得たペロ毒素に特異的な抗体を大腸菌の感染症の治療に利用することが報告されていた（特許文献1参照）。しかし、該方法は、菌体を抗原として用いているものの、腸管出血性大腸菌の分泌性のペロ毒素に対する抗体の産生を目的としており、細菌表面に発現しているタンパク質分子全体に対する網羅的抗体は得られていない。また、得られた抗体も分泌されたペロ毒素の中和のために用いられており、大腸菌そのものの排除はできない。

【特許文献1】特開平10-298105号公報

【発明の概要】

【0003】

本発明は、微生物の表面に発現するタンパク質全体に対する網羅的抗体の作製方法、及び該方法により得られた網羅的抗体の提供を目的とする。

本発明者らは、ウイルス又は細菌等の微生物の菌体表面をホルムアルデヒドを用いて固定処理したものをそのまま抗原として用いて動物を免疫することにより、固定された抗原タンパク質分子全体に対して広く網羅的に抗体が作製できることを見出した。この網羅的な抗体を含有する抗体組成物は、従来の抗体作製法では得られなかった高い特異性及び感受性を有していた。本発明者らは、該抗体組成物が個々の細菌そのものを特異的に、なおかつ強く認識し、抗菌などの治療に効果的であることを見出し、本発明を完成させた。

すなわち、本発明は以下のとおりである。

[1] (a) 微生物をタンパク質架橋固定試薬で処理することにより、前記微生物の表面に発現しているタンパク質を分子内架橋により固定し、(b) 該タンパク質架橋固定試薬で固定した前記微生物を免疫原として動物に投与し、(c) 動物から抗体を得ることを含む、微生物の表面に発現するタンパク質分子全体に対する抗体を含む網羅的抗体を作製する方法。

[2] タンパク質架橋固定試薬が、ホルムアルデヒド、パラホルムアルデヒド及びグルタルアルデヒドからなる群から選択される、[1]の網羅的抗体を作製する方法。

[3] タンパク質架橋固定試薬が1～38% (v/v) ホルマリンである、[1]の網羅的抗体を作製する方法。

[4] タンパク質架橋固定試薬による固定を10分～48時間行う、[1]～[3]のいずれかの網羅的抗体を作製する方法。

[5] 免疫原を投与する動物がニワトリである[1]～[3]のいずれかの網羅的抗体を作製する方法。

[6] 免疫原を投与したニワトリが産生した鶏卵より抗体を得る、[5]の網羅的抗体を作製する方法。

[7] [1]～[6]のいずれかの方法で得られた、微生物の表面に発現するタンパク質分子全体に対する抗体を含む網羅的抗体。

[8] [1]～[6]のいずれかの方法で得られた、微生物の表面に発現するタンパク質分子全体に対する抗体を含む網羅的抗体を含む微生物感染症の予防又は治療剤。

[9] [6]の方法で鶏卵より得られた網羅的抗体を含む食品。

[10] [6]の方法で鶏卵より得られた網羅的抗体を含む飼料。

[11] [6]の方法で鶏卵より得られた網羅的抗体を含む水産動物感染症治療用組成物。

[12] 水産動物が生息する環境水中に適用するための[11]の水産動物感染症治療用組成物。

本明細書は本願の優先権の基礎である日本国特許出願2008-324257号の明細

10

20

30

40

50

書および／または図面に記載される内容を包含する。

【図面の簡単な説明】

【0004】

図1は、網羅的抗体を用いたアユ冷水病の防止試験を行なった養殖池の概略を示す図である。

図2は、網羅的抗体を用いたアユ冷水病の防止試験1（鶏卵抗体による養殖池別冷水病試験成績 試験No1）の結果を示す図である。

図3は、網羅的抗体を用いたアユ冷水病の防止試験2（鶏卵抗体による養殖池別冷水病試験成績 試験No2）の結果を示す図である。

図4は、冷水菌に感染したアユの写真である。

図5は、網羅的抗体を含む鶏卵粉末（鶏卵抗体）を含む餌を与え、冷水菌への感染が回避されたアユの写真である。

【発明を実施するための形態】

【0005】

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明の方法により、微生物に対して網羅的に抗体を作製することができる。ここで、微生物に対して網羅的に抗体を作製するとは、微生物の表面に発現する多数の抗原タンパク質分子全体に対して一度に抗体を作製することをいい、得られた抗体を網羅的抗表面抗体と呼ぶ。網羅的抗表面抗体は微生物の表面に発現する多数の抗原タンパク質に対する個々の抗体を含むポリクローナル抗体である。本発明の方法によれば、固定した微生物を動物に投与するだけで、表面タンパク質分子の全体に対する抗体を含む網羅的抗表面抗体を得ることができる。ここで、表面タンパク質分子の全体に対する抗体とは、微生物の表面に発現している全てのタンパク質に対する抗体を含むことまでは要求されないが、表面タンパク質のうち、存在量が多いもののほとんどに対する抗体を含むことが望ましい。

本発明においては、網羅的な抗体を作製しようとする、微生物をタンパク質分子内架橋固定試薬を用いて固定する。この場合、菌体等の微生物としては微生物体を用いればよい。タンパク質分子内架橋固定試薬としては、ホルムアルデヒド、パラホルムアルデヒド、グルタルアルデヒドなどのアルデヒドが挙げられる。好ましくは、ホルムアルデヒドの35～38%、好ましくは37%水溶液であるホルマリンを用いて行う。

これらのタンパク質分子内架橋固定試薬を固定試薬として用いた場合、試薬は微生物細胞中に浸透し、分子中のアルデヒド基が微生物表面のタンパク質のアミノ基（ α -アミノ基やリジン残基の ϵ -アミノ基）やSH基に結合して分子間架橋を形成し、タンパク質は凝固変性する。架橋により、タンパク質の立体構造が損なわれ、酵素活性、輸送、分泌などの様々な生物活性が阻害される。タンパク質分子内架橋固定試薬の作用はタンパク質分子の架橋反応であるため、脂質などの物質に対しては固定作用は働かず、脂質等は流出してしまう。

市販の35～38%ホルムアルデヒド水溶液であるホルマリンを用いる場合、固定化は1～38%（v/v）ホルマリン、好ましくは2～20%（v/v）ホルマリン、さらに好ましくは5～10%（v/v）ホルマリンを用いて行なえばよい。用いるホルマリンは、蒸留水、生理食塩水、緩衝液等を用いて調製すればよい。

菌体等の微生物をホモジナイズし、該のホモジナイズのペレット1gに対して、ホルマリンを5～20ml添加する。固定は、微生物ホモジナイズにホルマリンを添加した後、攪拌し、4～30℃で30分～48時間以上静置することにより行う。生きた微生物は、短時間のホルマリン処理で不活化されるが、本発明の方法においては、微生物を不活化するのみでは足りず、微生物の表面に発現しているタンパク質分子が分子内架橋を生じる程度のホルマリン処理が必要である。

固定化した微生物ホモジナイズを必要に応じて生理食塩水や緩衝液で希釈、懸濁し公知のアジュバントと混合し、免疫原として動物に投与すればよい。用いる動物としては、マウス、ラット、ヌートリア、ウサギ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、ウシ等の哺乳動物、ニワトリ、ダチョウ等の鳥類が挙げられる。この中でも、IgY抗体を含有した鶏卵を得ることが

できるニワトリ等の鳥類が好ましい。

免疫原による動物の免疫は、公知の方法に従って行うことができる。例えば、一般的方法として、免疫原を動物の腹腔内または皮下に注射することにより行われる。免疫は1回でもよいが、2～10日毎に数回投与するのが望ましい。また、初回投与後5～10日毎に数回、追加免疫を行なってもよい。

例として細菌の免疫原調製方法を以下に挙げる。以下の方法は、一例であり、これらの方法に限定されない。

細菌の場合は、これらを遠心分離により集め、ペレット状にし、該ペレットをホルマリンに入れ、攪拌により分散させ、30分間静置する。次いで、荒目の濾紙を用いて濾過し、残渣を除去する。濾液を回収し、遠心分離を行い、ペレットにリン酸バッファーを添加し、これを免疫原として用いる。

本発明の網羅的抗表面抗体組成物は免疫を行った動物の血清から得ることができる。また、免疫する動物がニワトリの場合、ニワトリが産む鶏卵より得ることができる。最終免疫後、約3カ月で高い抗体価の抗体を含有する鶏卵が得られる。鶏卵の卵黄にはIgYが含まれ、卵白にはIgA及びIgMが含まれる。抗体を全卵から回収した場合、網羅的抗体組成物中にはIgY、IgA及びIgMが含まれ、卵黄から回収した場合、IgYが含まれる。鶏卵を用いて本発明の抗体組成物を調製する場合、全卵を用いてもよいし、卵黄のみを用いてもよい。

得られた鶏卵は、割卵し、卵黄及び卵白と一緒に、あるいは卵黄のみを攪拌し、粉末化する。この際、抗体はタンパク質である為に熱に弱く70℃を超えるとその活性を失うので、好ましくは60℃以下で行う。好適には、凍結乾燥、スプレードライ又は温風乾燥により60℃以下で乾燥し粉末化すればよい。粉末化した鶏卵は、必要ならば、さらに粉碎機にかけ細粒粉末とする。この方法で得られた粉末には卵黄の油成分が含まれているので、粉末は湿り気がある。超低温臨界法により完全脱脂することにより、脂分を除いてもよい。

鶏卵から得られた網羅的抗表面抗体組成物を鶏卵抗体と呼ぶことがある。

得られた抗体の抗体価は、ELISA（酵素結合免疫吸着検定法）、EIA（酵素免疫測定法）、RIA（放射免疫測定法）、蛍光抗体法等を用いて測定することができる。抗体価は、動物から採取した血清を用いて測定すればよい。また、鶏卵を用いる場合、鶏卵より抗体を抽出して抽出物中の抗体価を測定すればよい。

本発明の微生物に対する網羅的抗体は、微生物の感染症の予防又は治療に用いることができる。本発明の網羅的抗体は、細菌やウイルス等の微生物の表面に発現するタンパク質分子全体に対する抗体を含むため、細菌やウイルス等の微生物に対する攻撃力が強く、細菌やウイルス等の微生物を死滅させ、排除・防除することができる。

微生物は、細菌、ウイルス、真菌、リケッチア、せん毛虫等の寄生虫等を含み、好ましくは動物に感染し、動物に対して病原性を有する病原微生物である。

以下に微生物の例を挙げる。以下の微生物は例示であり、これらに限定されない。

水産動物に感染する微生物

水産動物としては、魚類、甲殻類、軟体動物等が挙げられる。魚類としては、アユ、ウナギ、マス、サケ、マグロ、ハマチ、マダイ、ヒラメ等の養殖魚や金魚、コイ、熱帯魚等のアクアリウム魚や観賞用魚類が挙げられる。甲殻類としては、カニ、エビ等が挙げられる。軟体動物としては貝類等が挙げられる。

微生物としては、アユ冷水病の病原菌であるアユ冷水菌（フラボバクテリウム・サイクロフィラム（*Flavobacterium psychrophilum*））、尾腐れ病の病原菌であるフレキシバクター・コルムナリス（*Flexibacter columnaris*）、穴あき病の病原菌であるアエロモナス・サルモニシダ（*Aeromonas salmonicida*）、エロモナス症の病原菌であるアエロモナス・ヒドロフィラ（*Aeromonas hydrophila*）、ミズカビ症の病原真菌であるミズカビ、白点病の病原寄生虫である、ウオノカイセンチュウ（*Ichthyophthirius multifiliis*）やクリプトカリオン・イリタンス（*Cryptocaryon irritans*）

ryon irritans)などのせん毛虫、コイヘルペスウイルス病の病原ウイルスであるコイヘルペスウイルス(KHV)等が挙げられる。その他、魚類の病原菌であるエドワードシェラ・タルダ(*Edwardsiella tarda*)、エンテロコッカス・セリオリシダ(*Enterococcus seriolicida*)、フラボバクテリウム・ブランチオフィラム(*Flavobacterium branchiophilum*)、フレキシバクター・マリチムス(*Flexibacter maritimus*)、リストネラ・アングララム(*Listonella anguillarum*)、マイコバクテリウム・マリナム(*Mycobacterium marinum*)、ノカルジア・セリオラエ(*Nocardia seriolae*)、パスツレラ・ピスシシダ(*Pasteurella piscicida*)、シュードモナス・アングリセプチカ(*Pseudomonas anguilliseptica*)、シュードモナス・フルオレセンス(*Pseudomonas fluorescens*)、シュードモナス・プチダ(*Pseudomonas putida*)、レニバクテリウム・サルモニナラム(*Renibacterium salmoninarum*)、スタフィロコッカス・エピデルミジス(*Staphylococcus epidermidis*)、スタフィロコッカス・イニアエ(*Staphylococcus iniae*)、ビブリオ(*Vibrio*)属微生物等が挙げられる。

10

その他の動物に感染する微生物

その他の動物としては、両生類、爬虫類、鳥類、哺乳類が挙げられる。

微生物としては、グラム陰性細菌、グラム陽性が挙げられる。例えば、グラム陰性細菌としては、緑膿菌、コレラ菌、病原性大腸菌等が、グラム陽性細菌としては、黄色ブドウ球菌等が挙げられる。また、水虫や爪水虫等の病原真菌となる白癬菌、副鼻腔炎等の原因となる緑膿菌、腸内感染症の病原菌となる病原性大腸菌、サルモネラ属細菌、クロストリジウム属細菌、カンピロバクター属細菌等が挙げられる。その他、食中毒の病原菌となるウェルシュ属細菌、日和見感染症を引き起こすセラチア属細菌、エンテロバクター属細菌、アルカリゲネス属細菌等が挙げられる。

20

また、ウイルスとしては、インフルエンザウイルス、HIV、ポックスウイルス、ヘルペスウイルス、アデノウイルス、パルボウイルス、バクローウイルス、ピコルナウイルス、トガウイルス、レトロウイルス、オルトミクソウイルス、パラミクソウイルス、ラブドウイルス、レオウイルス、コロナウイルス、SARSコロナウイルス、タバコモザイクウイルス、ポチウイルス、コモウイルス、カウリモウイルス等が挙げられる。

30

微生物感染症の予防又は治療用抗体組成物は、例えば、動物に投与して用いる。該抗体組成物は、経口ルート、鼻腔ルート、並びに静脈内、筋肉内、皮下及び腹腔内の注射又は非経腸的ルートで投与することができる。鼻腔炎等の治療のためには、公知の浸透剤と混合した液体状態又はエアロゾル状態で時に軟膏で投与することができる。また、皮膚の感染症等の治療のためには、軟膏等の塗布剤の形態で皮膚の患部に塗布又は液剤の噴霧により局所投与され得る。該軟膏は、キャリアとして、脂肪、脂肪油、ラノリン、ワセリン、パラフィン、プラスチック、樹脂、プラスチック、グルコール類、高級アルコール、グリセリン、水若しくは乳化剤、懸濁化剤を含む。本発明の医薬組成物の投与量は、症状、年齢、体重などによって異なるが、通常、経口投与では、成人に対して、1日約0.01mg~10000mgであり、これらを1回、又は数回に分けて投与することができる。

40

微生物感染症の予防又は治療用抗体組成物は、製剤分野において通常用いられる担体、希釈剤、賦形剤を含んでもよい。たとえば、錠剤用の担体、賦形剤としては、乳糖、ステアリン酸マグネシウムなどが使用される。

さらに、本発明の微生物に対する網羅的抗体を動物の飼料に混合し、動物に投与することにより、動物における微生物感染症を予防又は治療することができる。

また、水産動物の感染症の場合、水産動物が生息している水槽、養殖池、養殖用生簀等の環境水(飼育水)中に本発明の微生物に対する抗体組成物を添加してもよい。この場合、水産動物が経口的に体内に治療用抗体を取り込んで体内で効果を発揮することができ、

50

さらに、環境水中に存在する微生物に結合し、微生物を不活性化する。また、微生物と結合して、抗体と微生物の水不溶性の凝集体が形成され、沈殿し、養殖池の排水溝から除かれること等により、環境水中から除去される。

以下に、養殖魚類や甲殻類の感染症の治療法の具体例を挙げる。養殖魚類の感染症としては、アユ等のフラボバクテリウム（冷水菌）を原因菌とする冷水病、シュウドモナスを原因菌とする穴あき等があるが、これらには限定されない。魚類の感染症の予防又は治療のためには、原因菌の菌体の表面に発現するタンパク質を固定し、免疫原を作製し、ニワトリを免疫し、鶏卵抗体を得る。得られた鶏卵抗体を、魚類の餌に混合し、給餌すればよい。また、得られた鶏卵抗体を養殖魚類が生息する環境水中に添加してもよい。

そのまま餌と共に給餌されることで魚体の消化管に取り込まれると共に一部は魚体に取り込まれることなく魚を飼育している飼育水中に溶解し又はけん濁した状態で存在する。溶け込んだ飼育水中の抗体は、飼育水中に浮遊する細菌と反応し、菌体に結合し、菌体を死滅させる。

本発明は、鶏卵より得られた網羅的抗体を含む食品又は飼料を包含する。さらに、本発明は鶏卵より得られた網羅的抗体を含む水産動物感染症治療用組成物を包含する。該水産動物感染症治療用組成物は、餌として水産動物に供給してもよいし、環境水中に添加して適用してもよい。

本発明を以下の実施例によって具体的に説明するが、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。

【実施例 1】

【0006】

細菌を抗原とする網羅的抗体作製

抗原として、アユ冷水菌の菌体を用いた。

アユ冷水菌（フラボバクテリウム・サイクロフィラム：Flavobacterium psychrophilum）をサイトファーガー培地（またはTYES培地〔トリプトン0.04%，酵母エキス0.005%，MgSO₄・7H₂O 0.005%，CaCl₂/2H₂O 0.005%，pH7.2〕）にて18℃で培養し、寒天平板培地に18℃で5日間培養することにより、不規則な波上の縁を持つ黄色のコロニーを形成することを確認した後（写真）、培養液を遠心して菌体をペレットとし、このペレットを抗原として使用するまで冷凍保存した。

容量15mlの栓付試験管に解凍したアユ冷水菌のペレット約3mgを入れ、そこに5%（v/v）ホルマリン溶液を5ml加えて密封した。

試験管ミキサーで数回（約10分）攪拌し、均等に拡散溶解するまで、5%（v/v）ホルマリン溶液（純生薬品（株）製：ホルムアルデヒド35.0～38.0%、メタノールを5～13%含有を水で希釈）にペレットを完全に溶解させて、15分インキュベーションし黄色ブドウ球菌の表面抗原を固定化した。インキュベーション終了後30分間放置した。

若干の注射用蒸留水で、湿らせておいた荒目の濾紙で濾過し、残渣を除去した。この際、作製量が少ない場合は重力を利用した自然濾過を行い、作製量が多い場合は吸引濾過を行った。細菌の菌体を含む濾液を回収したのち、高速にて遠心分離した（回転数15000rpm以上、30分以上）。

上清を捨てて約3mgのペレットに約1.5mlのリン酸バッファーを添加し、ペレットを分散させ、これを投与抗原として用いた。

投与抗原組成物は、エマルジョン（emulsion）ポンプに抗原1mlとホワイトオイル（日本新薬社）1mlを徐々に混和し、エマルジョン（乳化液）を作製することにより作製した。

作成した抗原組成物エマルジョン0.5mlを、5週齢の雌のニワトリの単径部皮下に投与した。この際、ニワトリへの侵襲を少なくする為に、投与抗原組成物をニワトリの体温である37℃に加温しておいた。

固定後の遠心分離によるホルマリンの分離が不十分であった場合は、抗原投与後およそ

10

20

30

40

50

3日位は、ニワトリは疼痛のためにうずくまり、吸水のみで食餌行動は無いことがあり、その間に死亡する個体もあった。抗原投与部位は固く硬結した状態となった。

初回投与後5日毎に、2回抗原組成物を投与し、追加免疫を行い、計3回の免疫を行った。抗体は免疫を行ったニワトリが産む鶏卵より得ることができた。最終免疫後、約3カ月で高い抗体価の抗体を含有する鶏卵が得られた。ヤマト科学製スプレードライヤーGA22型、温風乾燥機及び粉碎機を用いて乾燥した鶏卵粉末を製造した。

【実施例2】

【0007】

網羅的抗表面抗体を用いたアユ冷水病の防止

実施例1で作製したアユ冷水菌に対する抗体を含む鶏卵粉末を用いた。ここで、抗体を含む鶏卵粉末を鶏卵抗体と呼ぶ。

3つの地域（地域1：日本国滋賀県長浜市、地域2：日本国滋賀県滋賀町及び地域3：日本国滋賀県知内川水系）のアユの流水式養殖池を利用した。

養殖池は、約100m²のものを用地域1及び地域2においては2面の養殖池を利用し、地域3においては1面の養殖池を利用した。また、各地域において、コントロール用の約100m²の養殖池を準備し、鶏卵抗体を供給せずに、従来用いられているアユ冷水病防止用水産用医薬品、イスランソーダ（一般名：スルフィソゾールナトリウム）、およびピブリオ病防止用水産用医薬品、ノボビオシンを投与してアユの飼育を行った。

試験は、1年3ヶ月をかけて行い、その間に4ヶ月の測定期間を2回設けた。それぞれ、試験1及び試験2とする。

試験には、エリ漁（エリと呼ぶ定置網を用いた漁法）で捕獲した日本国滋賀県琵琶湖産稚魚を用い、海産アユ、アユの人工種苗は用いなかった。

養殖池のアユの数は、試験1では532300～833300匹（総重量315～450kg）、試験2では603773～882352匹（総重量320～450kg）であった。

給餌する餌に対して重量比3%で鶏卵抗体粉末を混合し、各養殖池において、総魚体重量に対して重量比2～5%で鶏卵抗体を含む餌を給餌した。給餌は1日5～6回行った。総給餌量は統一が困難なため統一しなかった。

試験実施中の養殖池においては、抗生物質の投与、温水療法等、従来より行われていたアユ冷水病予防法は適用しなかった。

試験期間中、毎日午後5時に斃死魚を集め、さらに、斃死の原因を、病死か自然死かを鑑別した。また、病死の斃死魚は、冷水病によるものか他の病気（エロモナス菌、シュードモナス等の細菌感染症による斃死、寄生虫による斃死）によるものかを鑑別した。冷水病は、鰓蓋や内臓の貧血、鰓蓋下部の出血、体表面の退色、体表面の潰瘍形成による穴あき症状、肛門拡張、胆のう肥大、下顎欠損、尾へい部欠損などの症状により鑑別することができる。

鶏卵抗体は、そのまま餌と共に給餌されることで魚体の消化管に取り込まれると共に一部は魚体に取り込まれることなく池水中に溶け込んだ。池水に溶け込んだ抗体は、池水中に浮遊する冷水菌と反応し、菌体に取り付く。また、池水中に溶け込んだ抗体は、アユが鰓呼吸する際に鰓蓋に取り込まれ、鰓蓋内に存在する冷水菌や魚体表面の冷水菌がアユの病巣部に感染している冷水菌に対し、その表面抗原に強力に結合することにより症状の改善を達成した。この様に水中に存在する冷水菌は、ことごとく抗体の反応対照となり、抗体が付着した菌体は、池の底に沈殿し中央にある排水溝より養殖池外へ排出された。

図1に養殖池略図を示す。図1中には、抗体及び冷水菌並びに抗体と冷水菌の存在の様式をも示してある。

図2に試験1における結果、図3に試験2における結果を示す。

図2及び図3においては、3地域の養殖池をそれぞれA-1及びA-2池、B-1池及びB-2池、並びにC-1池とし、3地域においてコントロールとして利用した養殖池を、それぞれAコントロール（AC）、Bコントロール（BC）、Cコントロール（CC）と呼んだ。

10

20

30

40

50

試験 1、試験 2 とともに 4 ヶ月間行なった。図 2 及び図 3 には月ごとの冷水病で斃死した魚及びその他の原因で斃死した魚の個体数を示した。養殖は、前年の 12 月下旬から開始した。

図中、残存率は各池への入荷稚魚の総重量と出荷時の総重量を各十匹の平均体重で除し算出した。

試験 1 における、1 月の 100 匹平均魚体重は A-1 池 (0.58 g)、A-2 池 (0.55 g)、AC (0.57 g)、B-1 池 (0.51 g)、B-2 池 (0.59 g)、BC (0.55 g)、C-1 池 (0.49 g)、CC (0.54 g) であり、4 月末の 100 匹平均魚体重は A-1 池 (25.4 g)、A-2 池 (26.4 g)、AC (24.8 g)、B-1 池 (27.7 g)、B-2 池 (26.9 g)、BC (25.7 g)、C-1 池 (26.3 g)、CC (26.1 g) であった。

10

試験 2 における、1 月の 100 匹平均魚体重は A-1 池 (0.54 g)、A-2 池 (0.52 g)、AC (0.53 g)、B-1 池 (0.53 g)、B-2 池 (0.55 g)、BC (0.53 g)、C-1 池 (0.52 g)、CC (0.51 g) であり、4 月末の 100 匹平均魚体重は A-1 池 (24.8 g)、A-2 池 (25.3 g)、AC (26.9 g)、B-1 池 (25.1 g)、B-2 池 (24.7 g)、BC (26.2 g)、C-1 池 (25.3 g)、CC (26.8 g) であった。

図 2 及び 3 に示すように、3 地域のいずれにおいても、鶏卵抗体を含む餌を給餌した池での残存率がコントロール池に比べ著しく上昇した。

図 4 に冷水菌に感染したアユの写真を示す。冷水菌に感染したアユは、内臓が溶けており、えらや心臓は貧血状態となって白くなっていた。図 5 に鶏卵抗体を含む餌を給餌したアユの写真を示す。内臓の色彩、形態ともに正常であり、えらも酸素飽和度の高い血液で満たされており、赤色を呈していた。

20

【産業上の利用可能性】

【0008】

本発明の方法により、微生物の表面に発現しているタンパク質をタンパク質分子内架橋試薬を用いて分子内架橋により固定して動物に投与した場合、微生物の表面に発現しているタンパク質全体に対する抗体を含む網羅的抗体を得ることができる。

この網羅的抗体は、微生物の表面全体に結合し、微生物を不活化し、又は死滅させることができる。特に微生物の感染症の予防や治療に用いることができる。

30

本明細書で引用した全ての刊行物、特許および特許出願をそのまま参考として本明細書にとり入れるものとする。

図 2

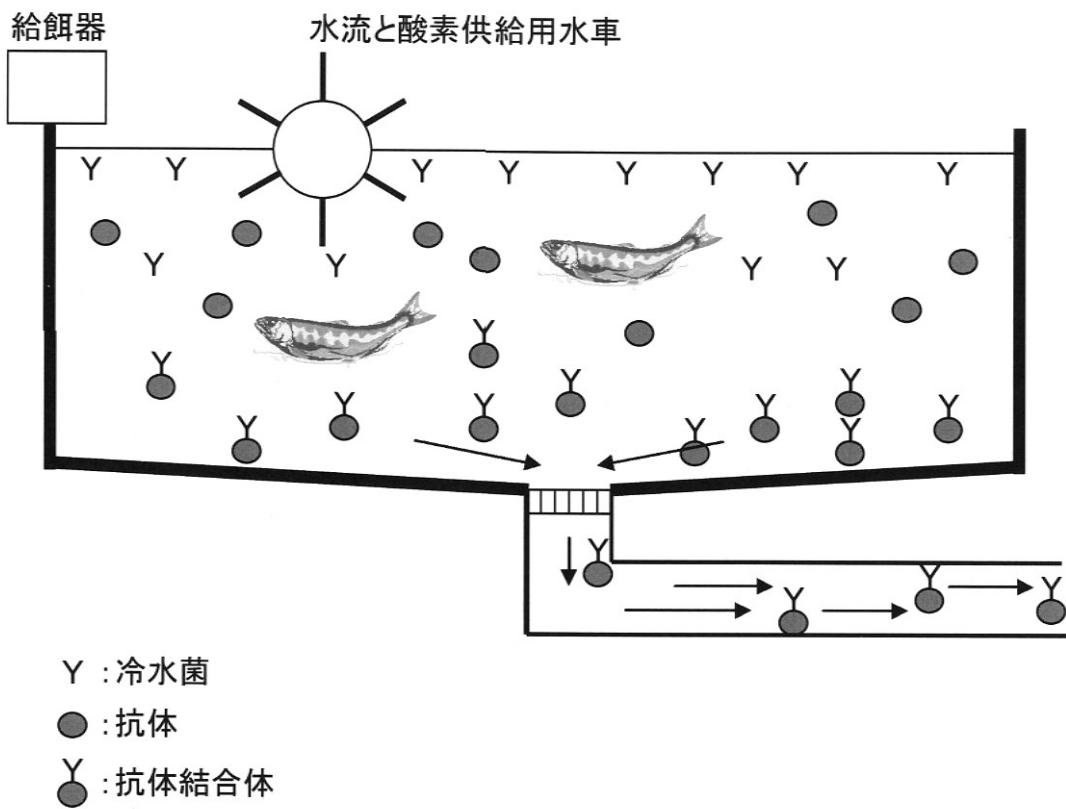
	入荷時		1月		2月		3月		4月		合計		出荷時		冷水槽 残存率
	重量 (kg)	集体量 (匹)	冷水槽		その他		冷水槽		その他		冷水槽計		その他計		集体量
			重量	集体量	重量	集体量	重量	集体量	重量	集体量	重量	集体量	重量	集体量	
A-1池	320	551700	7473	1288	11202	2523	9175	1877	512	1385	28362	7073	13957	516300	93.5%
A-2池	335	644200	9625	1319	12547	3146	11753	2243	823	2189	34730	8897	15855	600573	93.1%
A池平均	328	597950	8549	1304	11875	2835	10464	2060	668	1787	31546	7985	14506	559437	93.3%
Aコナール	400	727300	31886	581	163346	462	127566	841	23416	1420	346214	3304	9368	377762	51.9%
B-1池	315	617600	8142	965	13432	1961	10885	1269	813	2243	33272	6438	16008	577890	93.4%
B-2池	330	532300	10272	854	9885	2773	10078	1544	740	2876	30975	8047	13289	493278	92.8%
B池平均	323	574950	9207	910	11659	2367	10482	1407	777	2560	32124	7243	14639	535584	93.0%
Bコナール	450	818200	42730	397	170563	881	151435	1328	31516	1764	396244	4360	10732	417596	50.8%
C-1池	300	612200	14283	1572	13880	825	17274	1292	2162	1746	47599	5435	14706	559166	91.3%
Cコナール	450	833300	54230	1884	161768	1543	148879	1752	32178	2967	396855	8126	11179	428319	51.0%

図 3

	入荷時		1月		2月		3月		4月		合計		出荷時		残存率
	重量(kg)	集体量	冷水槽		その他		冷水槽		その他		冷水槽計		その他計		集体量
			重量	集体量	重量	集体量	重量	集体量	重量	集体量	重量	集体量	重量	集体量	
A-1池	330	611111	11280	983	17354	1527	10057	2373	1065	2539	39756	7422	13985	563933	92.2%
A-2池	350	673076	13520	1018	15171	1892	12441	2213	941	2379	42073	7502	15775	623501	92.6%
A池平均	340	642064	12400	1001	16263	1710	11249	2293	1003	2459	40915	7462	14880	593717	92.4%
Aコナール	390	735849	41220	870	138305	783	142469	1818	31450	3261	353444	6732	10106	375673	50.6%
B-1池	320	603773	14762	947	15264	856	14981	984	1150	3161	46177	5948	13846	551648	91.3%
B-2池	340	618181	17238	837	18468	1276	15225	1694	880	3521	51811	7328	13808	559042	90.3%
B池平均	330	610977	16010	892	14966	1066	14103	1339	1015	3341	45994	6638	13902	559345	90.8%
Bコナール	380	716981	47240	731	165470	1573	132773	1758	45373	3284	390856	7346	8352	318779	43.9%
C-1池	320	615384	23544	1130	15958	2430	16889	3767	3558	4838	59944	12165	13745	543275	88.0%
Cコナール	450	882352	56318	684	151371	880	158097	3152	45735	5416	411521	10132	12347	460699	51.7%

【図 1】

図 1



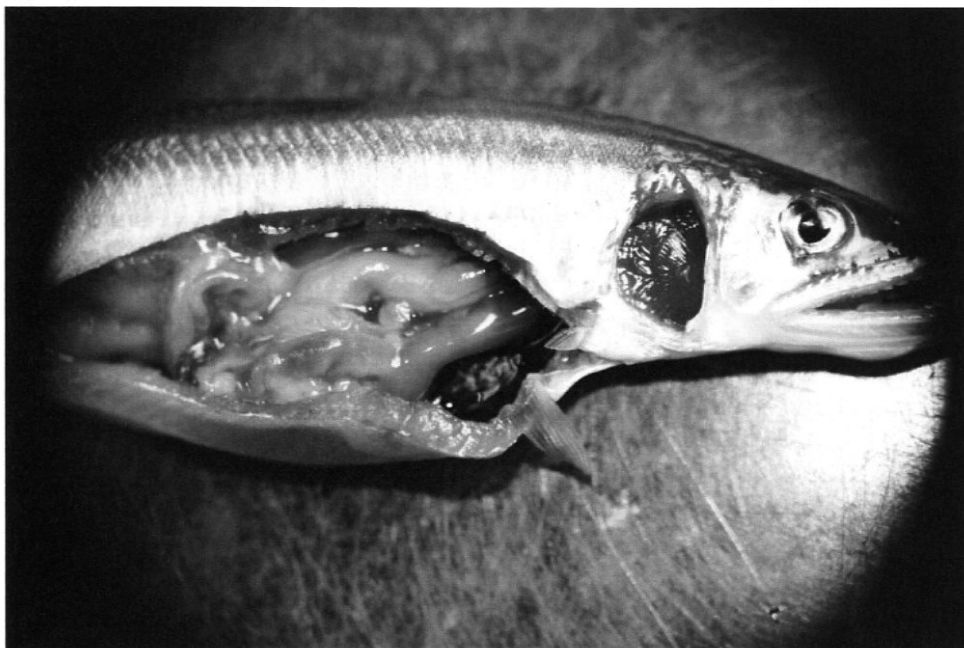
【図 4】

図 4



【図 5】

図 5



【手続補正書】

【提出日】平成22年10月18日(2010.10.18)

【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】

(a) 微生物をホモジナイズし、該ホモジナイズしたペレットに対して、5～38% (v/v) ホルマリンをタンパク質架橋固定試薬として5～20ml添加し処理することにより、前記微生物の表面に発現しているタンパク質を分子内架橋により固定し、(b) 該タンパク質架橋固定試薬で固定した前記微生物を免疫原として動物に投与し、(c) 動物から抗体を得ることを含む、微生物の表面に発現するタンパク質分子全体に対する抗体を含む網羅的抗体を作製する方法。

【請求項 2】

(削除)

【請求項 3】

(削除)

【請求項 4】

タンパク質架橋固定試薬による固定を10分～48時間行う、請求項1記載の網羅的抗体を作製する方法。

【請求項 5】

免疫原を投与する動物がニワトリである請求項1又は4に記載の網羅的抗体を作製する方法。

【請求項 6】

免疫原を投与したニワトリが産生した鶏卵より抗体を得る、請求項5記載の網羅的抗体を作製する方法。

【請求項 7】

請求項1及び4～6のいずれか1項に記載の方法で得られた、微生物の表面に発現するタンパク質分子全体に対する抗体を含む網羅的抗体。

【請求項 8】

請求項1及び4～6のいずれか1項に記載の方法で得られた、微生物の表面に発現するタンパク質分子全体に対する抗体を含む網羅的抗体を含む微生物感染症の予防又は治療剤。

【請求項 9】

請求項6記載の方法で鶏卵より得られた網羅的抗体を含む食品。

【請求項 10】

請求項6記載の方法で鶏卵より得られた網羅的抗体を含む飼料。

【請求項 11】

請求項6記載の方法で鶏卵より得られた網羅的抗体を含む水産動物感染症治療用組成物。

【請求項 12】

水産動物が生息する環境水中に適用するための請求項11記載の水産動物感染症治療用組成物。

【手続補正書】

【提出日】平成23年6月10日(2011.6.10)

【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】

(a) 微生物をホモジナイズし、該ホモジナイズしたペレットに対して、5～38%(v/v)ホルマリンをタンパク質架橋固定試薬として5～20ml添加し処理することにより、前記微生物の表面に発現しているタンパク質を分子内架橋により固定し、(b) 該タンパク質架橋固定試薬で固定した前記微生物を免疫原として動物に投与し、(c) 動物から抗体を得ることを含む、微生物の表面に発現するタンパク質分子全体に対する抗体を含む網羅的抗体を作製する方法。

【請求項 2】

タンパク質架橋固定試薬による固定を10分～48時間行う、請求項1記載の網羅的抗体を作製する方法。

【請求項 3】

免疫原を投与する動物がニワトリである請求項1 又は2に記載の網羅的抗体を作製する方法。

【請求項 4】

免疫原を投与したニワトリが産生した鶏卵より抗体を得る、請求項3記載の網羅的抗体を作製する方法。

【請求項 5】

請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の方法で得られた、微生物の表面に発現するタンパク質分子全体に対する抗体を含む網羅的抗体。

【請求項 6】

請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の方法で得られた、微生物の表面に発現するタンパク質分子全体に対する抗体を含む網羅的抗体を含む微生物感染症の予防又は治療剤。

【請求項 7】

請求項 4 記載の方法で鶏卵より得られた網羅的抗体を含む食品。

【請求項 8】

請求項 4 記載の方法で鶏卵より得られた網羅的抗体を含む飼料。

【請求項 9】

請求項 4 記載の方法で鶏卵より得られた網羅的抗体を含む水産動物感染症治療用組成物。

【請求項 10】

水産動物が生息する環境水中に適用するための請求項 9 記載の水産動物感染症治療用組成物。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/071716

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K16/02(2006.01)i, A23K1/18(2006.01)i, A23L1/305(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61P31/00(2006.01)i, C07K16/12(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)

C07K16/02, A23K1/18, A23L1/305, A61K39/395, A61P31/00, C07K16/12

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/Y	Teruo MIYAZAKI, "Keiran Kotai no Gyorui Kansensho Bojo eno Riyo", Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan (1993 Nen) vol.67, pages 1440 to 1443, entire text	1-8,10-12/9
X/Y	NYGREN E. et al. "Murine antibody responses following systemic or mucosal immunization with viable or inactivated Vibrio cholerae." Vaccine (9 Dec.2008) vol. 26, pages 6784-6790, entire text	1-4,7,8/9
X/Y	TETI G. et al. "Specificity and protective activity of murine monoclonal antibodies directed against the capsular polysaccharide of type III group B streptococci." Hybridoma (1992) vol. 11, pages 13-22, entire text	1-4,7,8/9

☒ 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

"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
16 March, 2010 (16.03.10)Date of mailing of the international search report
30 March, 2010 (30.03.10)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/071716

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y/A	Makoto SHIMIZU, "Keiran Ran'o Chu ni Chikuseki suru Kotai - sono Tokusei to Riyo Niwatori Yurai IgG Kotai = IgY no Shokuhin, Shiyaku eno Oyo ni Kitai", Kagaku to Seibutsu (1992 Nen), vol.30, pages 492 to 494, entire text	9/5, 6, 10-12
A	Tsukasa SUGIYAMA, "Judo Men'eki Shokuhin to shite no Tamago -Keiran Kotai (IgY) to sono Riyo ni Tsuite-", Nogyo Gijutsu Kenkyu (1996 Nen), vol.50, no.5, pages 86 to 87	5, 6, 9-12
A	Kazunori NAKAGAWA et al., "Niwatori o Mochiita Kotai no Sakuseiho", Kessen Shiketsushi (1998 Nen), vol.9, pages 435 to 439	5, 6, 9-12
A	Hiroaki KINTSUJI et al., "17) Hapten-ka Oyobi Men'eki Gensei Kyoka shita Reisuihyokintai Shinshi Vaccine no Yukosei", Heisei 14 Nendo Shiga-Ken Suisan Shikenjo Jigyo Hokoku (2002 Nen) pages 188 to 189	1-12

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 0 9 / 0 7 1 7 1 6	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C07K16/02 (2006.01)i, A23K1/18 (2006.01)i, A23L1/305 (2006.01)i, A61K39/395 (2006.01)i, A61P31/00 (2006.01)i, C07K16/12 (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. C07K16/02, A23K1/18, A23L1/305, A61K39/395, A61P31/00, C07K16/12			
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			
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) CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN), 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/ Y	宮崎照雄「鶏卵抗体の魚類感染症防除への利用」日本農芸化学会誌 (1993 年) 第 67 巻, 第 1440-1443 頁、全文	1-8, 10-12/ 9	
X/ Y	NYGREN E. et al. "Murine antibody responses following systemic or mucosal immunization with viable or inactivated <i>Vibrio cholerae</i> ." Vaccine (9 Dec. 2008) vol. 26, pages 6784-6790、全文	1-4, 7, 8/ 9	
X/ Y	TETI G. et al. "Specificity and protective activity of murine monoclonal antibodies directed against the capsular polysaccharide of type III group B streptococci." Hybridoma (1992) vol. 11, pages 13-22、全文	1-4, 7, 8/ 9	
☒ 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 16.03.2010		国際調査報告の発送日 30.03.2010	
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) 石丸 聡	4 B 3 7 7 7 電話番号 03-3581-1101 内線 3448

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2009/071716

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
Y/ A	清水誠「鶏卵卵黄中に蓄積する抗体—その特性と利用 ニワトリ由来 I g G 抗体—I g Y の食品, 試薬への応用に期待」化学と生物 (1992 年) 第 30 巻、第 492—494 頁、全文	9/ 5, 6, 10-12
A	杉山典「受動免疫食品としての卵—鶏卵抗体 (I g Y) とその利用について—」農業技術研究 (1996 年) 第 50 巻, 第 5 号, 第 86—87 頁	5, 6, 9-12
A	中川和憲 他 2 名「ニワトリを用いた抗体の作製法」血栓止血誌 (1998 年) 第 9 巻, 第 435—439 頁	5, 6, 9-12
A	金辻宏明 他 3 名「17) ハプテン化および免疫原性強化した冷水病原体浸漬ワクチンの有効性」平成 14 年度滋賀県水産試験場事業報告 (2002 年) 第 188—189 頁	1-12

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
A 2 3 K	1/18	(2006.01)	A 2 3 K 1/18 1 0 2	
A 2 3 K	1/16	(2006.01)	A 2 3 K 1/16 3 0 4 B	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(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, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 井伊 康洋
 東京都千代田区神田和泉町1番地12-17 久保田ビル1F 株式会社 さいわいメディックス
 内

Fターム(参考) 2B005 GA01 GA02 GA06 LA07
 2B150 AA07 AB10 AC00 AD02 DD12
 4B018 MD20 MD72 ME14
 4C085 AA13 BB11 CC07 DD52 EE01
 4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA75 EA29 FA71

(注) この公表は、国際事務局(W I P O)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。