

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2004 年 12 月 23 日 (23.12.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/110513 A1

- (51) 国際特許分類⁷: **A61L 27/52**
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2003/007358
- (22) 国際出願日: 2003 年 6 月 10 日 (10.06.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 北海道
ティー・エル・オー株式会社 (HOKKAIDO TECHNOLOGY LICENSING OFFICE CO., LTD.) [JP/JP];
〒060-0807 北海道 札幌市北区 北 7 条西 2 丁目 8 番
地 1 Hokkaido (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 長田 義仁 (OSADA, Yoshihito) [JP/JP]; 〒005-0832 北海道 札幌市南区
北ノ沢 1 丁目 1 1 番 1 7-3 号 Hokkaido (JP). グン
チェンピン (GONG, Jian Ping) [CN/JP]; 〒005-0003 北
海道 札幌市南区 澄川 3 条 4 丁目 4 番 1 6-1 4 0 6
Hokkaido (JP).
- (74) 代理人: 伊藤 温 (ITO, Atsushi); 〒105-0003 東京都
港区 西新橋 2 丁目 1 5 番 1 7 号 新橋レインボービ
ル Tokyo (JP).

- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: ULTRA HIGH-STRENGTH GEL HAVING BIOCOMPATIBILITY

(54) 発明の名称: 生体適合性を有する超高強度ゲル

(57) Abstract: A hydrogel having a mutual invasion network structure or a hydrogel having a semi-mutual invasion network structure which is excellent in biocompatibility and mechanical strength, characterized in that a charged natural polymer is provided in a bacteria cellulose network.

(57) 要約: 生体適合性及び機械強度に優れた、バクテリアセルロースの網目間に電荷を有する天然高分子が介在していることを特徴とする、相互侵入網目構造ハイドロゲル又はセミ相互侵入網目構造ハイドロゲル。



WO 2004/110513 A1

明 細 書

生体適合性を有する超高強度ゲル

技術分野

5 本発明は、天然素材のみの超高強度ゲル、特に、生体適合性を有する前記ゲルに関するものである。

背景技術

10 現在、人工臓器・インプラントや医療デバイス、例えば、人工弁・ペースメーカー・人工関節・人工血管に用いるための、様々な種類の生体（細胞・組織）適合性材料（医療用材料、バイオマテリアル）が提供されている。この材料には、目的毎に必要な機械強度と、免疫拒絶を惹起しにくい生体適合性の高さが要求される。今までに、ポリマー、金属、セラミック、ヒドロキシアパタイト、ハイドロゲル等の使用が提案されているが、その一つであるハイドロゲルに関しては、機械強度に優れた合成高分子（特にポリビニルアルコール系）が中心となっており、
15 生体適合性を向上させるために、コラーゲンのような天然物で処理するという方式が一般に採られている。

 しかしながら、前記のような合成高分子を用いた場合には、長期的には、生体適合性や生体安全性の観点から問題が無いとはいえず、天然素材のみの生体適合性材料が求められている。しかし、天然素材のみでは生態適合性材料として用いるには機械強度が低すぎるという問題が在る。例えば、生体軟骨として用いる場合には、高い力学物性 {例えば、初期弾性率（1 MPa）・応力（3～18 MPa）} を該材料が有している必要があるところ、天然高分子だけを組み合わせた系においては、このような機械強度を有する高強度のゲルは、未だ提供されていない。
25

 そこで、本発明は、天然素材のみの超高強度ゲル、特に生体適合性を有する前記ゲルの創製を目的とする。

発明の開示

本発明者らは、ナタデココとしてデザートに用いられている、主に食用として利用されているバクテリアセルロースに着目した。バクテリアセルロースは、材料としても非常に優れた性質を示すことが知られている（引っ張りに対して非常に強い）ものの、ゲルとしては保水能力が低く、一度変形してしまうと元の形に戻らないという欠点を有している。そこで、本発明者らは、このバクテリアセル
5 ロースゲルを、電荷を持つ天然高分子と組み合わせて（セミ）相互侵入網目構造ゲルとすることにより、前記欠点が解消すると共に、機械強度、生体適合性及び保水能を備えた材料が得られることを見出し、本発明を完成させたものである。

即ち、本発明（１）は、バクテリアセルロースの網目間に電荷を有する天然高
10 分子が介在していることを特徴とする、相互侵入網目構造ハイドロゲル又はセミ相互侵入網目構造ハイドロゲルである。

本発明（２）は、電荷を有する天然高分子が、タンパク質又は多糖類である、前記発明（１）の相互侵入網目構造ハイドロゲル又はセミ相互侵入網目構造ハイドロゲルである。

15 本発明（３）は、電荷を有する天然高分子が、ゼラチン、コラーゲン、アルギン酸ナトリウム、ジェランガム、カラギーナン、キトサン、ヒアルロン酸、プロテオグリカン及びアグリカン並びにこれらの組み合わせからなる群より選択される、前記発明（２）の相互侵入網目構造ハイドロゲル又はセミ相互侵入網目構造ハイドロゲルである。

20 本発明（４）は、電荷を有する天然高分子が、ゼラチンである、前記発明（３）の相互侵入網目構造ハイドロゲル又はセミ相互侵入網目構造ハイドロゲルである。

25 本発明（５）は、前記発明（１）～（４）のいずれか一つの相互侵入網目構造ハイドロゲル又はセミ相互侵入網目構造ハイドロゲルの製造方法であって、電荷を有する天然高分子が入った培地中で菌を培養することによりバクテリアセルロースを生産させる工程を含む方法である。

本発明（６）は、電荷を有する天然高分子が、タンパク質又は多糖類である、前記発明（５）の方法である。

本発明（７）は、電荷を有する天然高分子が、ゼラチン、コラーゲン、アルギ

ン酸ナトリウム、ジェランガム、カラギーナン、キトサン、ヒアルロン酸、プロ
テオグリカン及びアグリカン並びにこれらの組み合わせからなる群より選択され
る、前記発明（６）の方法である。

本発明（８）は、電荷を有する天然高分子が、ゼラチンである、前記発明（７）
の方法である。 本発明（９）は、前記発明（１）～（４）のいずれか一つの相
互侵入網目構造ハイドロゲル又はセミ相互侵入網目構造ハイドロゲルの製造方法
であって、バクテリアセルロースを電荷を有する天然高分子の溶液に含浸させ、
バクテリアセルロース中に電荷を有する天然高分子を取り込ませる工程を含む方
法である。

本発明（１０）は、電荷を有する天然高分子が、タンパク質又は多糖類である、
前記発明（９）の方法である。

本発明（１１）は、電荷を有する天然高分子が、ゼラチン、コラーゲン、アル
ギン酸ナトリウム、ジェランガム、カラギーナン、キトサン、ヒアルロン酸、プ
ロテオグリカン及びアグリカン並びにこれらの組み合わせからなる群より選択さ
れる、前記発明（１０）の方法である。

本発明（１２）は、電荷を有する天然高分子が、ゼラチンである、前記発明
（１１）の方法である。

本発明（１３）は、前記発明（１）～（４）のいずれか一つの相互侵入網目構
造ハイドロゲル又はセミ相互侵入網目構造ハイドロゲルを基材とする生体適合性
材料である。

本発明（１４）は、人工血管又は人工軟骨である、前記発明（１３）の生体適
合性材料である。

図面の簡単な説明

図１は、試験例１に従い得られた、実施例１及び２（ゼラチン）並びに比較例
１のＢＣハイドロゲルの引張応力－歪曲線である。尚、図中、（１）は比較例１、
（２）は実施例１、（３）は実施例２のものである{(２)と(３)は殆ど重なっ
ているので一本の線のように表示されている}。図２は、試験例２に従い得られ
た、実施例３（アルギン酸ナトリウム）及び比較例２のＢＣハイドロゲルの引張

応力-歪曲線である。尚、図中、(1) は比較例 2、(2) は実施例 3 のものである。図 3 は、試験例 2 に従い得られた、実施例 4 (ジェラン) 及び比較例 2 の B C ハイドロゲルの引張応力-歪曲線である。尚、図中、(1) は比較例 2、(2) は実施例 4 のものである。図 4 は、試験例 3 に従い得られた、実施例 5 (ゼラチン)、実施例 6 (架橋ゼラチン) 及び市販 B C の B C ハイドロゲルの圧縮応力-歪曲線である。尚、図中、(1) は市販 B C、(2) は実施例 5、(3) は実施例 6 のものである。図 5 は、試験例 4 に従い得られた、実施例 7 (架橋ゼラチン) 及び比較例 3 の B C ハイドロゲルの圧縮応力-歪曲線である。尚、図中、(1) は比較例 3、(2) は実施例 7 のものである。図 6 は、試験例 4 に従い得られた、実施例 8 (アルギン酸ナトリウム) 及び比較例 3 の B C ハイドロゲルの圧縮応力-歪曲線である。尚、図中、(1) は比較例 3、(2) は実施例 8 のものである。図 7 は、試験例 4 に従い得られた、実施例 9 (ヒューカラギーナン) 及び比較例 3 の B C ハイドロゲルの圧縮応力-歪曲線である。尚、図中、(1) は比較例 3、(2) は実施例 9 のものである。図 8 は、実施例 10 (ジェランガム) 及び比較例 3 の B C ハイドロゲルの圧縮応力-歪曲線である。尚、図中、(1) は比較例 3、(2) は実施例 10 のものである。図 9 は、試験例 4 に従い得られた、実施例 7 (架橋ゼラチン) 及び比較例 3 の B C ハイドロゲルの引張応力-歪曲線である。尚、図中、(1) は比較例 3、(2) は実施例 7 のものである。図 10 は、試験例 4 に従い得られた、実施例 8 (アルギン酸ナトリウム) 及び比較例 3 の B C ハイドロゲルの引張応力-歪曲線である。尚、図中、(1) は比較例 3、(2) は実施例 8 のものである。図 11 は、試験例 4 に従い得られた、実施例 9 (ヒューカラギーナン) 及び比較例 3 の B C ハイドロゲルの引張応力-歪曲線である。尚、図中、(1) は比較例 3、(2) は実施例 9 のものである。図 12 は、実施例 10 (ジェランガム) 及び比較例 3 の B C ハイドロゲルの引張応力-歪曲線である。尚、図中、(1) は比較例 3、(2) は実施例 10 のものである。図 13 は、試験例 5 に従い得られた、EDC 濃度の異なる実施例 11 及び 12 (架橋ゼラチン) 及び比較例 4 の B C ハイドロゲルの圧縮応力-歪曲線である。尚、図中、(1) は比較例 4、(2) は実施例 11、(3) は実施例 12 のものである。図 14 は、試験例 5 に従い得られた、EDC 濃度の異なる実施例 11 及び 12 (架

橋ゼラチン) 及び比較例 4 の B C ハイドロゲルの引張応力-歪曲線である。尚、
図中、(1) は比較例 4、(2) は実施例 1 1、(3) は実施例 1 2 のものである。
図 1 5 は、試験例 5 に従い得られた、ゼラチン濃度の異なる実施例 1 3 ~
1 6 (架橋ゼラチン) 及び比較例 4 の B C ハイドロゲルの圧縮応力-歪曲線であ
る。尚、図中、(1) は比較例 4、(2) は実施例 1 3、(3) は実施例 1 4、
(4) は実施例 1 5、(5) は実施例 1 6 のものである。図 1 6 は、試験例 5 に
従い得られた、ゼラチン濃度の異なる実施例 1 3 ~ 1 6 (架橋ゼラチン) 及び比
較例 4 の B C ハイドロゲルの引張応力-歪曲線である。尚、図中、(1) は比較
例 4、(2) は実施例 1 3、(3) は実施例 1 4、(4) は実施例 1 5、(5) は実
施例 1 6 のものである。図 1 7 は、ゲル中の溶媒を N a C l 水溶液にした状態で
の、B C /ゼラチン D N ゲルの圧縮応力-歪曲線である。尚、図中、(1) は
0 M N a C l 水溶液、(2) は 0. 0 0 1 M N a C l 水溶液、(3) は 0. 0 1 M
N a C l 水溶液、(4) は 0. 1 M N a C l 水溶液の場合を示す。図 1 8 は、ゲ
ル中の溶媒を N a C l 水溶液にした状態で、B C /ゼラチン D N ゲルの引張応
力-歪曲線である。尚、図中、(1) は 0 M N a C l 水溶液、(2) は
0. 0 0 1 M N a C l 水溶液、(3) は 0. 0 1 M N a C l 水溶液、(4) は
0. 1 M N a C l 水溶液の場合を示す。図 1 9 は、B C /ゼラチン (5 0) D N
ハイドロゲルのサイクル試験の結果を示すものである。図 2 0 は、ゼラチン
(5 0) ハイドロゲルのサイクル試験の結果を示すものである。図 2 1 は、B C
ハイドロゲルのサイクル試験の結果を示すものである。図 2 2 は、ゼラチン濃度
に対する水の残存量を示したものである。尚、図中の○はゼラチン単独の場合を、
●は B C /ゼラチン D N ハイドロゲルの場合を示すものである。図 2 3 は、B
C /ゼラチン D N ハイドロゲルの皮下埋植試験後の、皮下ゲル周囲の状況を撮影
した電子写真である。図 2 4 は、皮下埋植試験後に取り出した、B C /ゼラチン
D N ハイドロゲルを撮影した電子写真である。

発明を実施するための最良の形態

まず、本明細書で用いる用語につき説明する。「相互侵入網目構造ハイドロゲル」とは、一般的な意味における「相互侵入網目構造ハイドロゲル」と同義であ

り、ベースとなる網目構造に、他の網目構造が、ゲル全体において好適には均一に絡みついており、結果としてゲル内に複数の網目構造を形成しているようなゲルを指す。例えば、この種のゲルは、複数の架橋点を有する第一の網目構造と、複数の架橋点を有する第二の網目構造とから構成され、これら第一の網目構造と第二の網目構造が、互いに網目を介して物理的に絡まり合っている。

「セミ相互侵入網目構造ハイドロゲル」とは、一般的な意味における「セミ相互侵入網目構造ハイドロゲル」と同義であり、ベースとなる網目構造に、直鎖状ポリマーが、ゲル全体において好適には均一に絡みついており、結果としてゲル内に複数の網目構造を形成しているようなゲルを指す。例えば、この種のゲルは、複数の架橋点を有する第一の網目構造と、直鎖状ポリマーとから構成され、これら第一の網目構造と直鎖状ポリマーが、互いに網目を介して物理的に絡まり合っている。尚、本発明の場合、第一の網目構造は、バクテリアセルロースから成るものである。

尚、「相互侵入網目構造ハイドロゲル」及び「セミ相互侵入網目構造ハイドロゲル」は、ダブルネットワーク型のみでなく、三重や四重以上の網目構造を有するゲルをも含む概念である。

化学架橋やイオン架橋を行う場合における「架橋度」とは、架橋剤のモル濃度で表した値をいう。なお、実際には、重合に関与しなかったモノマーや架橋に関与しなかった架橋剤も僅かにある場合があるが、この際も、本明細書におけるゲルの架橋度は、前記の通りとする。

「膨潤度」(q)とは、以下の式で求められる値をいう：

$$\text{膨潤度} = \text{膨潤させたゲルの重量} (W_w) / \text{乾燥ゲルの重量} (W_d)$$

「初期弾性率」とは、圧縮（引張）歪みが0～5%の範囲における圧縮（引張）応力と圧縮（引張）歪み曲線の傾きから求めたものを指す。

「圧縮破断応力」とは、(圧縮破断時の力／元の断面積)の式で算出され、また、「圧縮破断歪」とは、(元の長さ－圧縮破断時の長さ)／元の長さ×100%の式で算出される。

「引張破断応力」とは、(引張破断時の力／元の断面積)の式で算出され、また、「引張破断歪」とは、(引張破断時の長さ－元の長さ)／元の長さ×100%

の式で算出される。

次に、本発明につき詳細に説明する。本発明は、バクテリアセルロースの網目間に電荷を有する天然高分子が介在していることを特徴とする、相互侵入網目構造ハイドロゲル又はセミ相互侵入網目構造ハイドロゲルである。ここで、「バク

5 テリアセルロース」(以下、BCと省略する場合がある)とは、微生物により産生された、セルロース、セルロースを主鎖としたヘテロ多糖、 β -1, 3-, β -1, 2等のグルカンのいずれか又はこれらの混合物である。なお、ヘテロ多糖の場合のセルロース以外の構成成分は、マンノース、フラクトース、ガラクトース、キシロース、アラビノース、ラムノース、グルクロン酸等の6炭糖、5炭糖

10 及び有機酸等である。ここで、バクテリアセルロースを産生する微生物は、特に限定されないが、グルコンアセトバクター・キシリナム・サブスピーシス・キシリナム ATCC-53582 {*Gluconacetobacter xylinus* subsp. *xylinus* (Yamada)}、アセトバクター・アセチ・サブスピーシス・キシリナム ATCC-10821 (*Acetobacter acetisubsp. xylinum*)、同パストウリアン

15 (*A. pasteurium*)、同ランセンス (*A. rancens*)、サルシナ・ベントリクリ (*Sarcina ventriculi*)、バクテリウム・キシロイデス (*Bacterium xyloides*)、シュードモナス属細菌、アグロバクテリウム属細菌等で、バクテリアセルロースを産生するものを利用することができる。

次に、「電荷を有する天然高分子」とは、電荷を有するタンパク質や多糖類等を指す。具体的には、タンパク質としては、ゼラチンやコラーゲン等を、また、多糖類としては、アルギン酸ナトリウム、ジェランガム、カラギーナン、キトサンやヒアルロン酸等を挙げることができる。また、糖とタンパク質の共有結合化合物である糖タンパク質をも含み、例えば、このような糖タンパク質として、プロテオグリカン、アグリカンを挙げることができる。バクテリアセルロース中に

20 介在する電荷を有する天然高分子は、一種でなくとも複数種存在していてもよい。

バクテリアセルロース中に介在している電荷を有する天然高分子は、そのままで存在していてもよく(セミ相互侵入網目構造ハイドロゲル)、架橋していてもよい(相互侵入網目構造ハイドロゲル)。

次に、本発明に係るハイドロゲルの製造方法につき説明する。本発明に係るハ

イドロゲルの製造方法としては、①電荷を有する天然高分子（例えば、多糖類やタンパク質）が入った培地でバクテリアセルロースを生産させる手法、②分子量（サイズ）が小さな電荷を有する天然高分子（例えば、多糖類やタンパク質）をバクテリアセルロースに含浸させ、取り込ませる手法、③電荷を有する天然高分子（例えば、多糖類やタンパク質）のゲル中に菌を閉じ込め、出来た菌含有ゲルを培地に浸しバクテリアセルロースを形成させる手法、④電荷を有する天然高分子（例えば、多糖類やタンパク質）のゲルを凍結乾燥して多孔質のスポンジを作り、出来たスポンジを菌入り培地に浸してバクテリアセルロースを形成させる手法を挙げることができる。

尚、電荷を有する天然高分子を架橋させる場合には、架橋剤（化学架橋剤、イオン架橋剤等）を用いればよい。例えば、化学架橋剤としては、水溶性カルボジイミド（WSC、EDC）を、また、イオン架橋剤としては、 CaCl_2 を挙げることができる。また、架橋剤を添加しなくても、例えば、ゼラチンなどは、ある程度の濃度以上で水素結合で架橋する。但し、この場合でも、更に化学架橋させてもよい。

尚、化学架橋やイオン架橋する場合、架橋度を $10^{-3} \sim 5 \times 10^{-2} \text{M}$ の範囲に設定すると、しなやかで丈夫なゲルを得ることができ、架橋度を $5 \times 10^{-2} \sim 2 \text{M}$ （好適には、 $10^{-1} \sim 1 \text{M}$ ）の範囲に設定すると、硬くて丈夫なゲルを得ることができる。

本発明に係るハイドロゲルは、天然物素材のみからなるため、生体適合性に優れており、しかも、非常に優れた機械強度を有する。したがって、例えば、人工臓器・インプラントや医療デバイス、例えば、人工弁・ペースメーカー・人工関節・人工血管に用いるための、様々な種類の生体（細胞・組織）適合性材料（医療用材料、バイオマテリアル）として使用可能である。特に、人工血管や人工軟骨として有用である。尚、本発明に係るハイドロゲルを乾燥させて乾燥ゲルとすることで、高強度の吸収性材料として使用することもできる。

実施例

以下、本発明を実施例を参照しながら具体的に説明する。尚、本実施例により

本発明が限定されるものではない。

実施例 1 (BC/ゼラチン・ダブルネットワークゲルの製造①)

Bacto Pepton 0.5%、Yeast Extract 0.5%、リン酸水素二ナトリウム 0.27%、クエン酸 0.115%、グルコース 2%、の仕込みで脱イオン水に溶解し H S 培地を得た。次いで、この培地に、培地に対して 15 重量%となるようにゼラチンを混合し、この培地を三角フラスコに 15～30 ml 程度の分量で取分けた後、フラスコにキャップをし、そのままオートクレーブ滅菌を 120℃、20 分間行った。その後、-80℃に保存してある酢酸菌 (ATCC 53582) を取り出して培地に移した。そして、28～30℃の間で約 2～3 日間静置をすると、培地の空気界面側からバクテリアセルロースが生産始め、更に厚さが約 2 mm になるまで培養を続けた。得られたバクテリアセルロース/ゼラチン・ダブルネットワークゲルについて、1% NaOH 水溶液による洗浄を 1 日、更に純水による溶媒交換を 2 日行い、標記ゲルを製造した。尚、このゲルの膨潤度は 30 であった。

実施例 2 (BC/ゼラチン・ダブルネットワークゲルの製造②)

培地に対して 20 重量%となるようにゼラチンを混合すること以外は、実施例 1 と同様の方法で標記ゲルを製造した。尚、このゲルの膨潤度は 36 であった。

比較例 1 (BC シングルネットワークゲルの製造)

ゼラチンを混合しない点以外は実施例 1 と同様の方法で、標記ゲルを製造した。尚、このゲルの膨潤度は 89 であった。

試験例 1 (引張試験)

得られたゼラチン含有バクテリアセルロースの引張試験を行った。尚、引張試験は、TENSILON 測定機を用い、サンプルを 5 mm×1.5 mm×30 mm の短冊状にし、引張速度を 1 mm/min. として行った。図 1 及び表 1 にその結果を示す。

表 1

サンプル	破断応力 (MPa)	破断歪	初期弾性率 (MPa)
実施例 1	1.15	0.12	9.027
実施例 2	0.83	0.99	6.268
比較例 1	0.64	0.45	0.037

実施例 3 (BC/アルギン酸ナトリウム・ダブルネットワークゲルの製造)

培地に対し 2 重量%となるようにアルギン酸ナトリウムを混合すること、及び、多糖部分を Ca^{2+} によってイオン架橋する目的で 0.1M CaCl_2 溶液に 2 日間浸漬した以外は、実施例 1 と同様の方法で標記ゲルを製造した。尚、このゲルの膨潤度は 20 であった。

実施例 4 (BC/ジェランガム・ダブルネットワークゲルの製造)

培地に対し 0.4 重量%となるようにジェランガムを混合する点以外は、実施例 3 と同様の方法で標記ゲルを製造した。尚、このゲルの膨潤度は 28 であった。

比較例 2 (BC シングルネットワークゲルの製造)

実施例 1 と同様の方法で標記ゲルを製造した。尚、このゲルの膨潤度は 36 であった。

試験例 2 (引張試験)

試験例 1 と同じ方法で、実施例 3 及び 4 並びに比較例 2 のゲルに引張試験を行った。図 2、図 3 及び表 2 にその結果を示す。

表 2

サンプル	破断応力 (MPa)	破断歪	初期弾性率 (MPa)
実施例 3	1. 0 6	0. 1 1	1 0. 6 2 5
実施例 4	1. 0 6	0. 0 9	1 4. 4 6 4
比較例 2	1. 4 0	0. 2 3	2. 6 5 5

実施例 5 (BC/ゼラチン・ダブルネットワークゲルの製造③)

- 5 市販のナタデココ (膨潤度 : 1 8 9) を 4 0 重量%ゼラチン水溶液に浸し、
8 0 度で 3 日間含浸させた。その結果、茶褐色の標記ゲルが得られた。尚、この
ゲルの膨潤度は 3. 6 であった。

実施例 6 (BC/ゼラチン・ダブルネットワークゲルの製造④)

- 10 実施例 5 で得られたゲルを、ゲル内部のゼラチンを架橋する目的で、1 M の W
S C 溶液に浸漬させた。その結果得られたゲルの膨潤度は 5. 2 であった。

試験例 3 (圧縮試験)

圧縮試験は、TENSILON 測定機を用い、サンプルを 1 0 mm × 1 0 mm × 5 mm の直
方体状にし、圧縮速度をサンプル厚さに対して 1 0 %/min. として行った。その
結果を図 4 及び表 3 に示す。

15

表 3

サンプル	破断応力 (MPa)	破断歪	初期弾性率 (MPa)
市販 BC	—	—	0. 0 0 3
実施例 5	—	—	0. 0 3 8
実施例 6	1. 2 3	0. 6 1	1. 1 6 7

実施例 7 ~ 1 0 ・ 比較例 3 (各種 DN ゲルの製造)

- 20 ゼラチン (実施例 7 : 3 0 重量%、5 0 °C、p H 7)、多糖類 {アルギン酸ナ
トリウム (実施例 8 : 4 重量%、7 0 °C)、 ι -カラギーナン (実施例 9 : 5 重
量%、7 0 °C)、ジェランガム (実施例 1 0 : 3 重量%、7 0 °C)} 溶液に 1 週間
浸漬した後、BC/ゼラチンに対しては 1 M の W S C (化学架橋)、BC/多糖
に対しては 0. 1 M の CaCl_2 (イオン架橋) を準備し、夫々のサンプルにつ
き 4 日間浸漬した。その後、溶媒を純水に変えて 1 週間溶媒交換を行った。尚、
これ以外の製造条件は、実施例 1 と同じである。このようにして得られた実施例

7～10のゲルの膨潤度は、順に、4.6、20、30、27であった。また、比較のために作成したバクテリアセルロースゲル膨潤度は、89であった。

試験例4（引張・圧縮試験）

圧縮試験は、TENSILON 測定機を用い、サンプルを直径9mm×5mmの円柱状にし、圧縮速度をサンプル厚さに対して10%/min.に設定して行った。また、引張試験は、同測定機を用い、サンプルを5mm×2mm×30mmの短冊状にし、更に直径25mmの円形カッターでダンベル状にし、引張速度はサンプルの自然長さに対して10%/min.に設定して行った。結果を図5～12及び表4に示す。

表4

サンプル	圧縮試験			引張試験		
	破断応力 (MPa)	破断歪	初期弾性 率(MPa)	破断応力 (MPa)	破断歪	初期弾性 率(MPa)
比較例3	—	—	0.007	2.2	0.21	5.2
実施例7	3.7	0.37	1.7	2.8	0.17	23
実施例8	—	—	0.61	2.2	0.3	6.7
実施例9	—	—	0.12	0.5	0.26	1.8
実施例10	—	—	0.38	1.16	0.37	2.3

この結果より分かるように、まず、圧縮試験を見てみると、初期弾性率については比較例3と比較しておよそ1～2桁も上昇した。例えば、実施例7のDNゲルに関しては、初期弾性率が1.7MPaという非常に高い弾性率を示すと共に、破断点に関しては歪が40%において約4MPaという高い値を示している。合成高分子を用いず、天然素材のみでここまでの機械特性を示したことは驚くべき結果である。また、引張試験を見てみると、バクテリアセルロース自体が、元々「引っぱり」の力に強い物質であるため、多糖類については、圧縮のとき程には、弾性率のオーダーが変わるほどの大幅な変化は見られなかった。一方、ゼラチンについては、23MPaという非常に高い値を示した。これまでのDNゲルでこの付近の値を示したことは勿論なく、応力に関しても約3MPaという高い値を示した。

試験例 5 (BC/ゼラチン・ダブルネットワークゲルにおけるゼラチン濃度と縮合剤濃度(EDC)を変化させることによる物性の変化の確認試験)

比較例 2 と同様の方法で得た BC シングルネットワークゲル (比較例 4) を、
30 重量%のゼラチン水溶液 (50℃、pH 7) に 1 週間浸漬した。その後、濃
5 度を変えた EDC 水溶液 (0.1 M、1 M) を準備し、夫々のサンプルを 4 日間
浸漬した。更に溶媒を純水に変えて 1 週間溶媒交換を行い、実施例 11 (EDC
水溶液: 0.1 M) 及び 12 (EDC 水溶液: 1 M) の標記ゲルを得た。また、
比較例 2 と同様の方法で得た BC シングルネットワークゲル (比較例 4) を、濃
10 度を変えたゼラチン水溶液 (15%、30%、40%、50%; 50℃、pH
7) に 1 週間浸漬した。その後、1 M の EDC 水溶液を準備し、夫々のサンプル
を 4 日間浸漬した。更に溶媒を純水に変えて 1 週間溶媒交換を行い、実施例
13~16 (実施例 13: ゼラチン 15%、実施例 14: ゼラチン 30%、実施
例 15: ゼラチン 40%、実施例 16: ゼラチン 50%) の標記ゲルを得た。こ
れらについて、以下の測定方法で各種機械特性を測定した:

15 ・圧縮試験

サンプルを直径 9 mm × 5 mm の円柱状にし、圧縮速度をサンプル厚さに対して
10%/min. とし、TENSIRON 測定機を用いて測定。

・引張試験

20 サンプルを 5 mm × 2 mm × 30 mm の短冊状にし、更に直径 2.5 mm の円形カッ
ターでダンベル状にし、引張速度をサンプルの自然長に対して 10%/min. とし
て、TENSIRON 測定機を用いて測定。

この結果を表 5 及び図 13~図 16 に示す。

表 5

サンプル	q	圧縮試験			引張試験		
		破断応力 (MPa)	破断歪	初期弾性率 (MPa)	破断応力 (MPa)	破断歪	初期弾性率 (MPa)
BC (比較例 4)	120	-	-	0.007	2.2	0.21	2.9
BC+Gelatin 0.1M EDC (実施例 1 1)	5.3	3.0	0.48	1.2	2.2	0.22	11
BC+Gelatin 1M EDC (実施例 1 2)	4.6	3.7	0.37	1.7	2.8	0.17	23
BC+Gelatin(15%) (実施例 1 3)	11	2.1	0.41	1.3	1.1	0.22	5.0
BC+Gelatin(30%) (実施例 1 4)	4.6	3.7	0.37	1.7	2.8	0.17	23
BC+Gelatin(40%) (実施例 1 5)	3.6	5.2	0.36	2.8	3.7	0.23	19
BC+Gelatin(50%) (実施例 1 6)	3.1	5.3	0.44	3.9	3.8	0.28	21

試験例 6 (バクテリアセルロース/ゼラチンダブルネットワークゲルの生理食塩

水中での機械特性試験)

試験例 5 で用いたバクテリアセルロース/ゼラチンダブルネットワークゲル (製造時のゼラチン濃度が X = 5、15、30、40、50 重量%) を、1M EDC 水溶液に 4 日間浸漬した。さらに、溶媒を純水に変えて 1 週間溶媒交換をした。以降のサンプルは BC-Gelatin (x%) と表記する。

(1) 試験例 6-1

より生体内に近い環境での測定を目的として、BC-Gelatin ゲルの溶媒を生理食塩水 (0.1M NaCl 水溶液) にした状態での圧縮、引っ張り試験を行うと共に、イオン強度を変化させて力学物性値がどう変わるのかを調べた。サンプルは BC-Gelatin(30) ゲルを用い、3 種類の NaCl 水溶液 (0.001、0.01、0.1M) を準備して 1 週間溶媒交換を行った。これらのサンプルについて、試験例 5 と同じ方法で圧縮・引張試験を行った。その結果を表 6 及び 7 並びに図 17 及び 18 に示す。

表 6

サンプル名	q	破断応力(MPa)	破断歪	初期弾性率(MPa)
BC+Gelatin in water	5.8	3.7	0.37	1.7
BC+Gelatin 0.001M NaCl	5.4	3.4	0.34	2.4
BC+Gelatin 0.01M NaCl	4.9	4.4	0.36	1.5
BC+Gelatin 0.1M NaCl	4.6	3.0	0.41	0.9
Gelatin in water	10	0.12	0.35	0.16
Gelatin 0.001M NaCl	7.0	0.11	0.39	0.15
Gelatin 0.01 NaCl	6.7	0.14	0.42	0.09
Gelatin 0.1MNaCl	6.1	0.12	0.45	0.07
BC in water	89	—	—	0.007
BC 0.001M NaCl	88	—	—	0.010
BC 0.01M NaCl	88	—	—	0.007
BC 0.1M NaCl	80	—	—	0.009

表 7

サンプル名	q	破断応力(MPa)	破断歪	初期弾性率(MPa)
BC+Gelatin in water	5.8	3.3	0.17	22
BC+Gelatin 0.001M NaCl	5.4	3.3	0.17	21
BC+Gelatin 0.01M NaCl	4.9	3.8	0.17	23
BC+Gelatin 0.1M NaCl	4.6	3.8	0.19	19
Gelatin in water	10	0.068	0.32	0.20
Gelatin 0.001M NaCl	7.0	0.078	0.36	0.21
Gelatin 0.01 NaCl	6.7	0.087	0.37	0.22
Gelatin 0.1MNaCl	6.1	0.085	0.33	0.25
BC in water	89	2.2	0.21	2.9
BC 0.001M NaCl	88	2.3	0.22	2.4
BC 0.01M NaCl	88	3.2	0.27	3.5
BC 0.1M NaCl	80	2.9	0.22	2.7

(2) 試験例 6-2

BC 単体ではいったん大変形してしまうと元には戻らない性質を持っているが、電解質である Gelatin を含有させることで変形からの回復効果が得られるようになった否かの確認のため、圧縮によるサイクル試験を行った。

TENSILON 測定機を用いてサンプル (BC-Gelatin(50)) の圧縮試験を行った。サンプルについてはほぼ直径 9 mm×5 mm の円柱状にし、圧縮速度はサンプル厚

さに対して10%/min.とした。歪30%のところまでサイクルを5回繰り返した。

図19～21からいずれの場合も、1回目の往路の立ち上がりが早いこと、2回目以降の往路と全体の復路はほぼ一定の経路をたどることがわかった。図21を見ると荷重を抜いても押し返す力が弱く、復路の落ち込みが大きいことがわかる。これはBCの回復性の低さが表れている為だと考えられる。図19及び20では、2回目以降の立ち上がりが歪約7%のところであり、一方で図21では歪約12%のところであるので、DNでの2サイクル以降はGelatinの性質が強く出ているのではないかと理解される。

素材の観点から図19を見ると、このゲルは破断直前の歪をかけた後も高い弾性率を保ち、また高荷重にも耐えていることから耐久性のある物質であることがわかる。

(3) 試験例6-3

BCに電解質を加えることでどれくらい保水能力が上がっているのかを試験した。尚、圧縮試験は試験例5に準じて行った。サンプルはBC-Gelatin(x%)を用いた。保水力は、歪30%で圧縮を止めてゲル周囲の水分を拭き取り、圧縮前後のゲルの重量から評価した。

重量評価については

$$W_{water} = W_{polymer} \times (q - 1)$$

$$\text{水の減少率} \quad A = \frac{W_{before} \times \alpha - W_{after}}{W_{water}}$$

$$\text{水の残存量} \quad B = 1 - A \quad (\% \text{で表示した})$$

α : 圧縮しない状態での補正值(大気中への蒸発)

から算出した。

図22にBCに含浸させるゼラチン濃度と水の残存量との関係を示した。ゲルに与えた歪量が30%であったのでBC単体(ゼラチン0%)でも80%の水は残っているが、ゼラチン濃度を徐々に上げていくことでDNでの残存量は上昇し、ゼラチン濃度が40、50%にもなるとDNもゼラチンSNも大差なく近い値を示していることがわかる。

試験例 7 {生体内耐久性に関する評価 (皮下埋植試験)}

実施例 7 のバクテリアセルロース／ゼラチン DN 型ハイドロゲルにつき、以下のプロトコルに従い、標記試験を行った：

1. 材料と方法

1) ゲル材料

Cellulose-Gelatin (size 10mm×10mm×5mm) 4 個

2) 使用動物

白色家兎雄 2 羽 (体重 3kg 台)

3) 滅菌方法

- ・ イソジン消毒 10 分 → 抗生剤入り (ミノマイシン 1g 48 時間) 浸漬
- ・ 兎 1 羽につき背骨を対称に間隔を空け 3 箇所 to ゲル素材埋植
- ・ 兎背部の傍脊柱筋上の皮膚に約 2cm 程の皮切を加え皮下を剥離し埋植するスペースを確保した後ゲル材料を 1 個埋植し皮膚縫合。
- ・ 術後の兎はケージ内で 6 週間飼育。

4) 埋植実験

①埋植群：ゲル 2 個を滅菌処置後 6 週間皮下埋植

②対照群 (滅菌処置のみ)：2 個を滅菌処置後に 6 週間蒸留水中で保管

5) 検討項目

- ・ 兎背部手術創周囲の状態
- ・ 皮下のゲル周囲の状態
- ・ ゲルの形状、変形状態

2. 結果

埋植群： 兎 2 羽は特に重篤な感染兆候なく 6 週経過後屠殺。

ゲル材料を回収し 2 時間後に先端研にて破壊試験施行

・ 背部の状況

ゲル埋植部において軽度の膨隆を認めるが著明な発赤、熱感等は認めず

・ 皮下ゲル周囲の状況

ゲルを中心として被膜を形成。著明な感染の兆候は認めず {図 23 (1) 及び (2)}

- ・ゲルの形状、変形の有無

size 9.63×10.19×4.88

埋植前の状態と比べ若干変形があったものの、ほぼ原型維持(図24)

5 力学試験の結果

Cellulose-Gelatin	破断応力 (MPa)	破断歪み	初期弾性率 (MPa)
コントロール群	3.7	37%	1.7
滅菌群	1.9	30%	2.2
埋植群	3.5	58%	0.34

*コントロール群：未処置

*滅菌群：滅菌処置（抗生剤&イソジン浸漬）後6週間蒸留水中で保管

*埋植群：滅菌処置後皮下6週間埋植

請 求 の 範 囲

1. バクテリアセルロースの網目間に電荷を有する天然高分子が介在していることを特徴とする、相互侵入網目構造ハイドロゲル又はセミ相互侵入網目構造ハイドロゲル。

2. 電荷を有する天然高分子が、タンパク質又は多糖類である、請求の範囲第1項記載の相互侵入網目構造ハイドロゲル又はセミ相互侵入網目構造ハイドロゲル。

3. 電荷を有する天然高分子が、ゼラチン、コラーゲン、アルギン酸ナトリウム、ジェランガム、カラギーナン、キトサン、ヒアルロン酸、プロテオグリカン及びアグリカン並びにこれらの組み合わせからなる群より選択される、請求の範囲第2項記載の相互侵入網目構造ハイドロゲル又はセミ相互侵入網目構造ハイドロゲル。

4. 電荷を有する天然高分子が、ゼラチンである、請求の範囲第3項記載の相互侵入網目構造ハイドロゲル又はセミ相互侵入網目構造ハイドロゲル。

5. 請求の範囲第1項～第4項のいずれか一項記載の相互侵入網目構造ハイドロゲル又はセミ相互侵入網目構造ハイドロゲルの製造方法であって、電荷を有する天然高分子が入った培地中で菌を培養することにより、バクテリアセルロースを生産させる工程を含む方法。

6. 電荷を有する天然高分子が、タンパク質又は多糖類である、請求の範囲第5項記載の方法。

7. 電荷を有する天然高分子が、ゼラチン、コラーゲン、アルギン酸ナトリウム、ジェランガム、カラギーナン、キトサン、ヒアルロン酸、プロテオグリカン及びアグリカン並びにこれらの組み合わせからなる群より選択される、請求の範囲第6項記載の方法。

8. 電荷を有する天然高分子が、ゼラチンである、請求の範囲第7項記載の方法。

9. 請求の範囲第1項～第4項のいずれか一項記載の相互侵入網目構造ハイドロゲル又はセミ相互侵入網目構造ハイドロゲルの製造方法であって、バクテリアセルロースを電荷を有する天然高分子の溶液に含浸させ、バクテリアセルロース中

に電荷を有する天然高分子を取り込ませる工程を含む方法。

10. 電荷を有する天然高分子が、タンパク質又は多糖類である、請求の範囲第9項記載の方法。

5 11. 電荷を有する天然高分子が、ゼラチン、コラーゲン、アルギン酸ナトリウム、ジェランガム、カラギーナン、キトサン、ヒアルロン酸、プロテオグリカン及びアグリカン並びにこれらの組み合わせからなる群より選択される、請求の範囲第10項記載の方法。

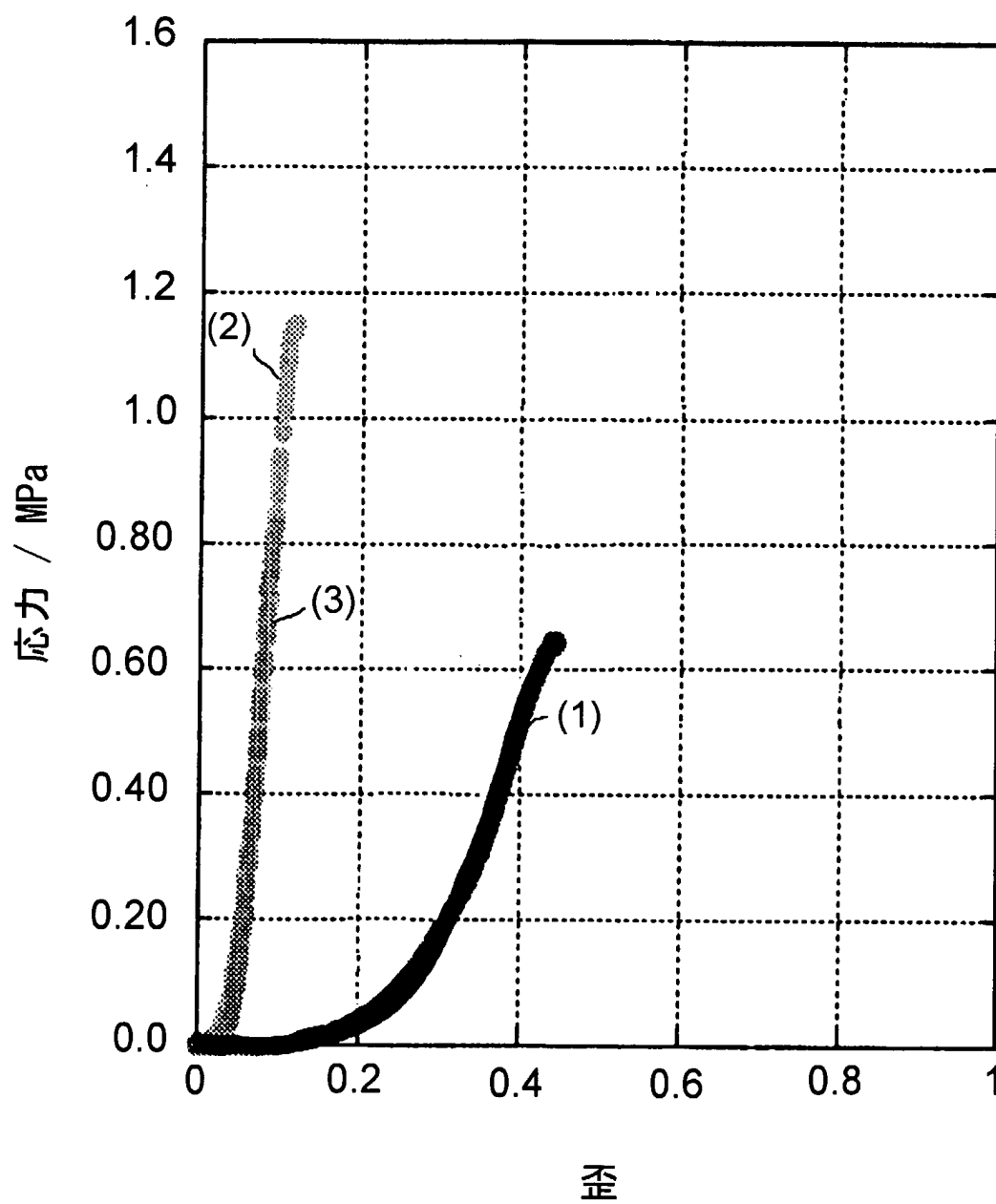
12. 電荷を有する天然高分子が、ゼラチンである、請求の範囲第11項記載の方法。

10 13. 請求の範囲第1項～第4項のいずれか一項記載の相互侵入網目構造ハイドロゲル又はセミ相互侵入網目構造ハイドロゲルを基材とする生体適合性材料。

14. 人工血管又は人工軟骨である、請求の範囲第13項記載の生体適合性材料。

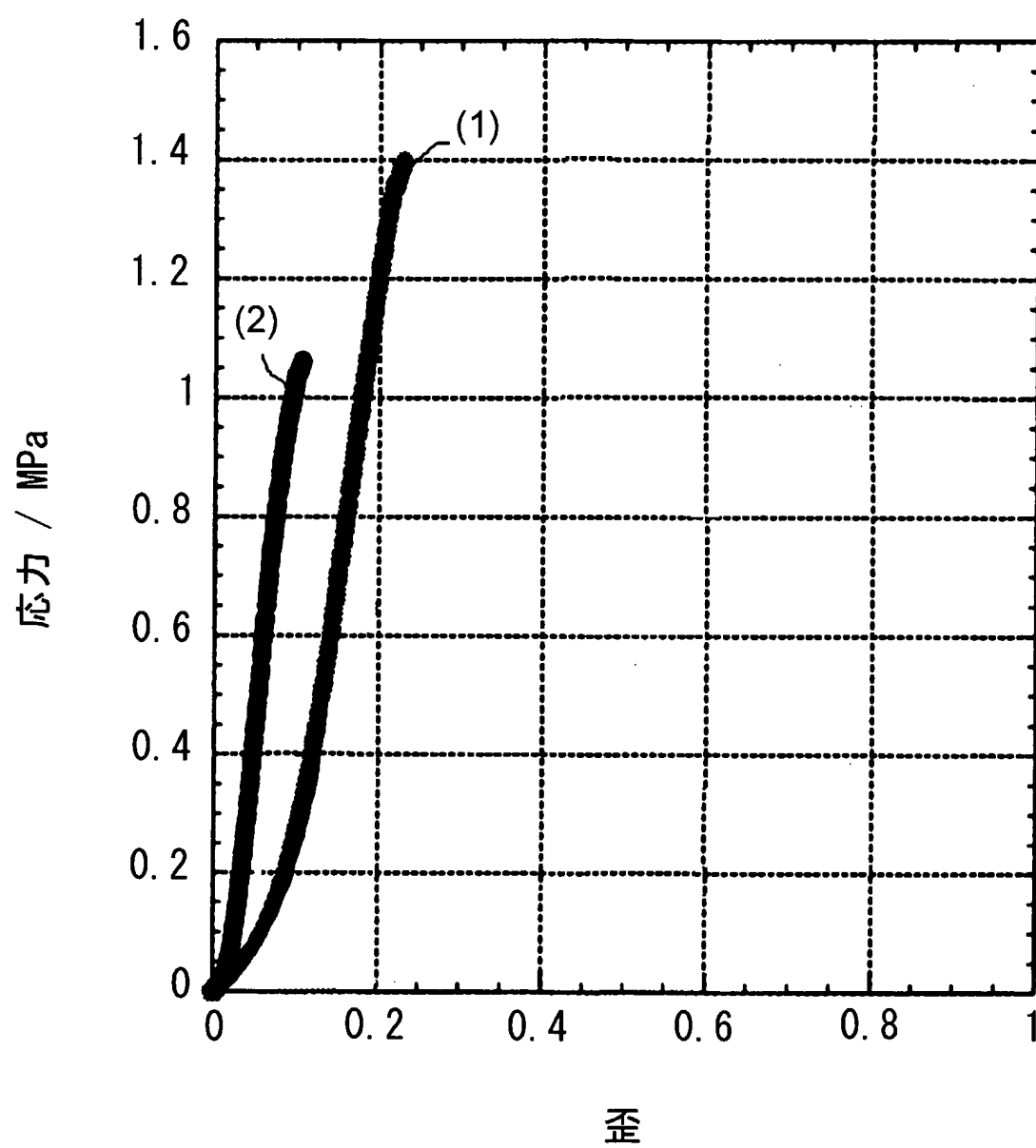
1/23

図 1



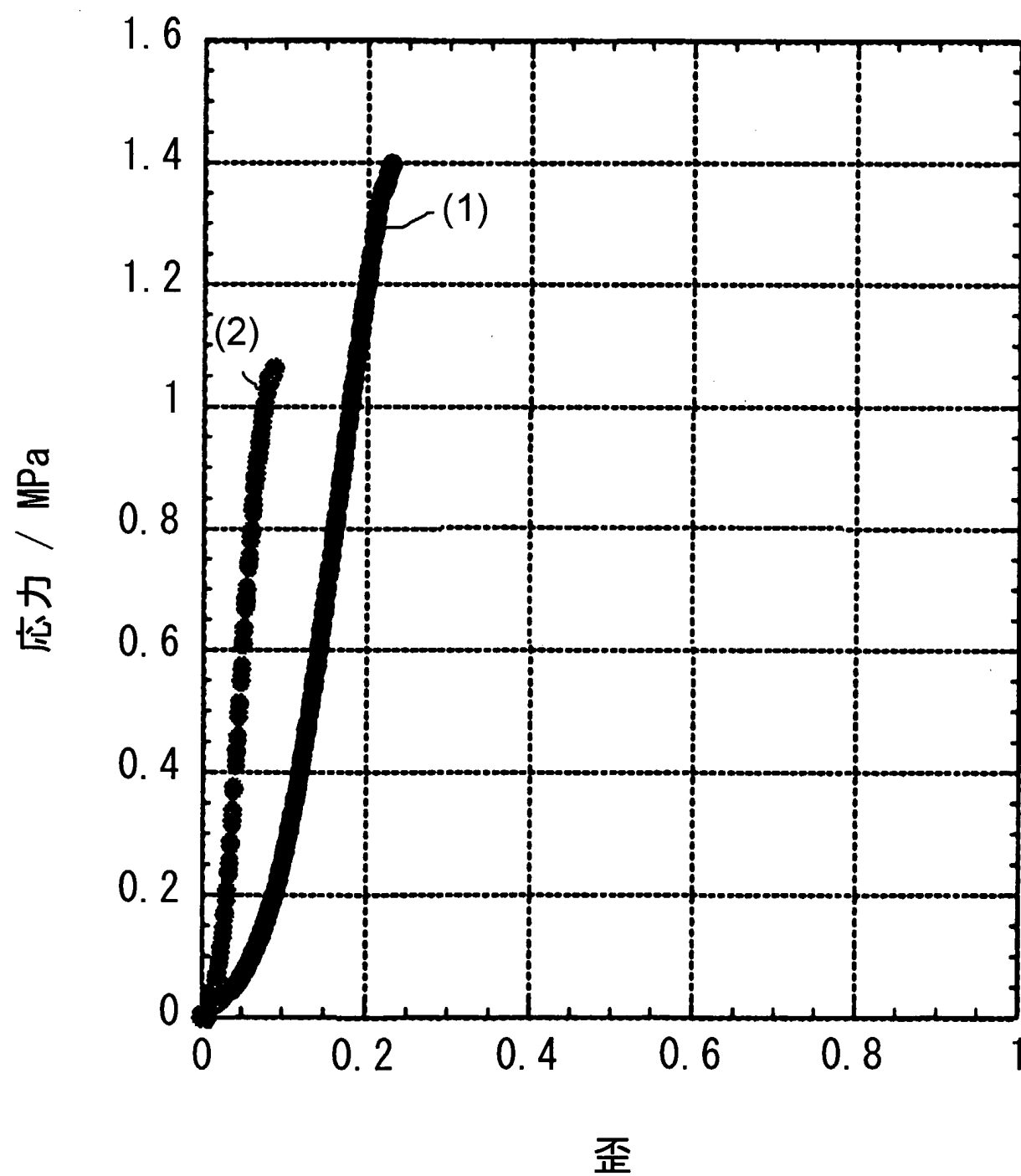
2/23

図 2



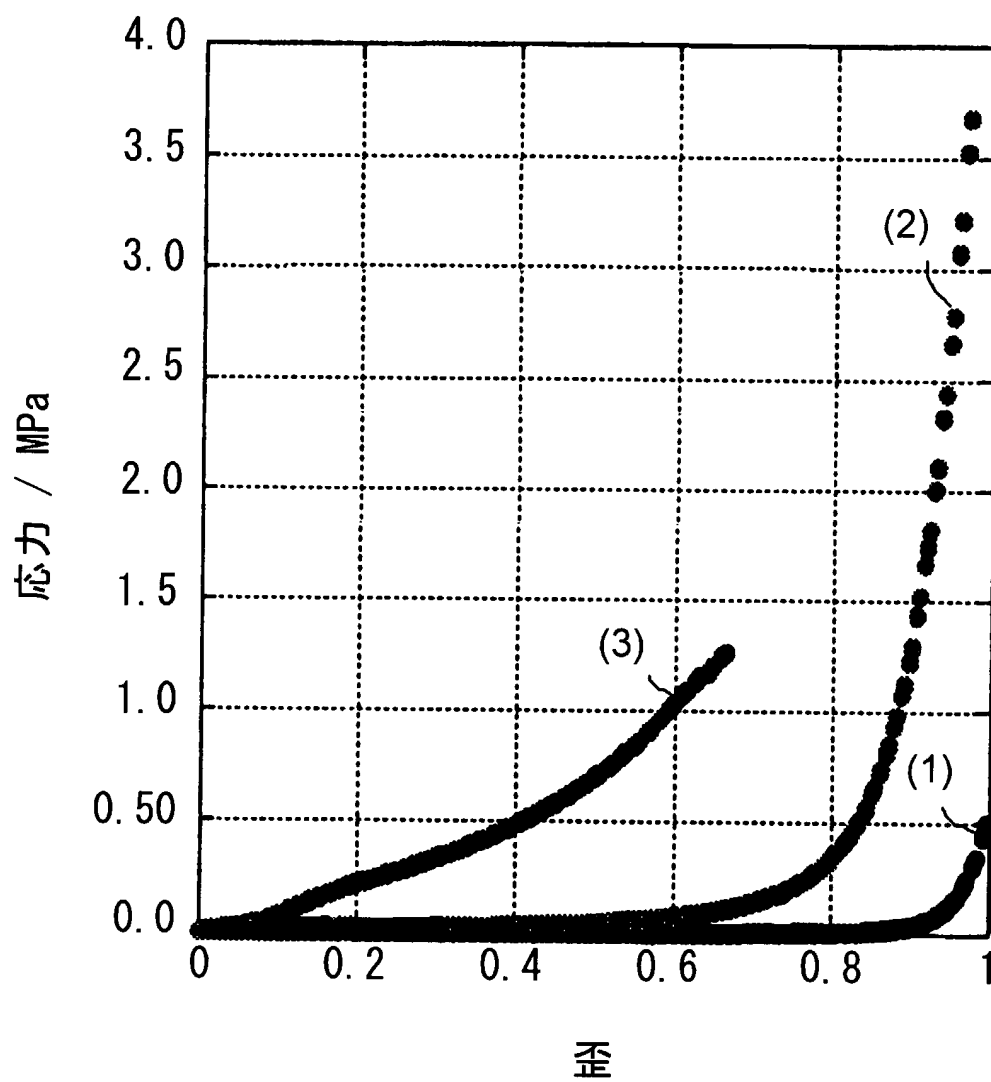
3/23

図 3



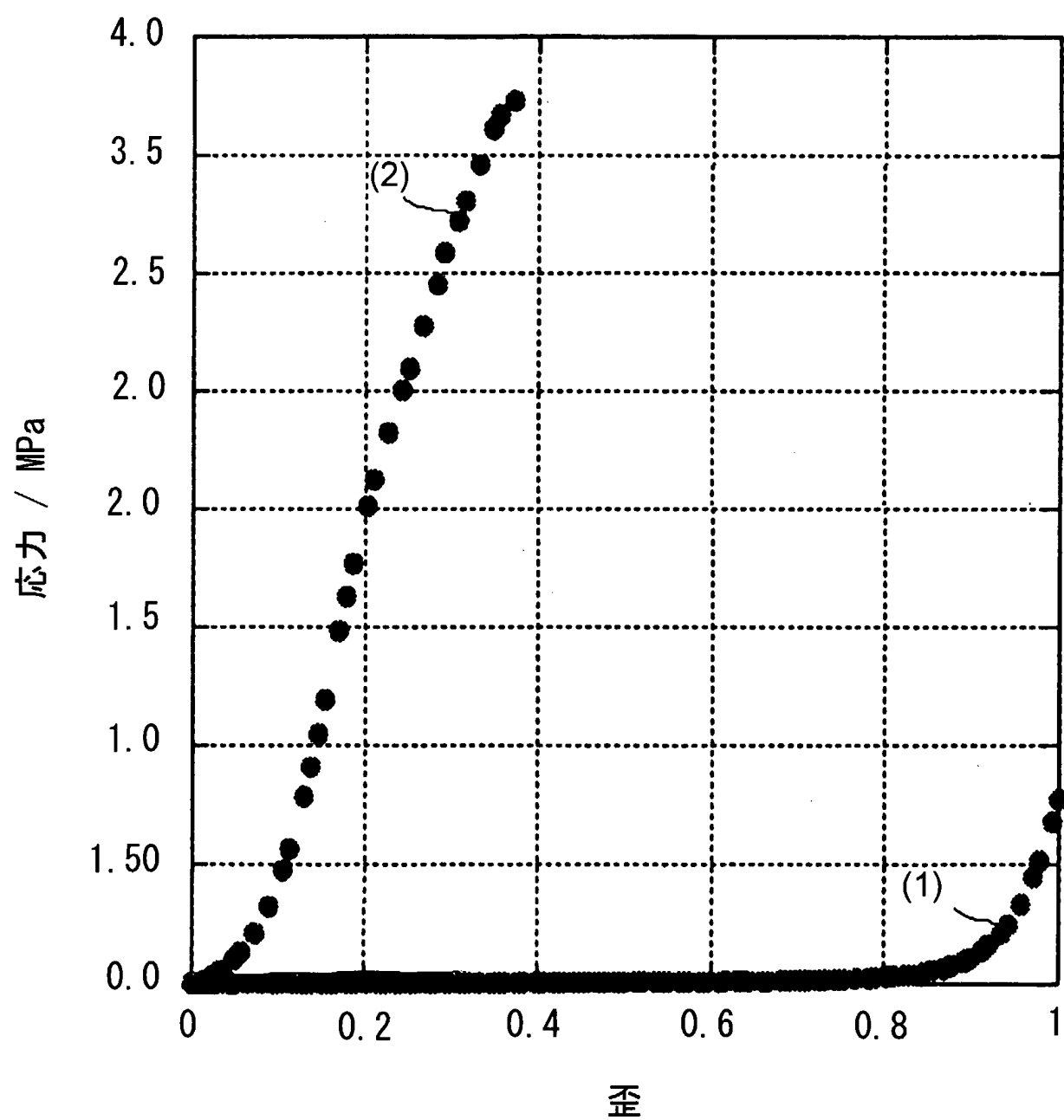
4/23

図 4



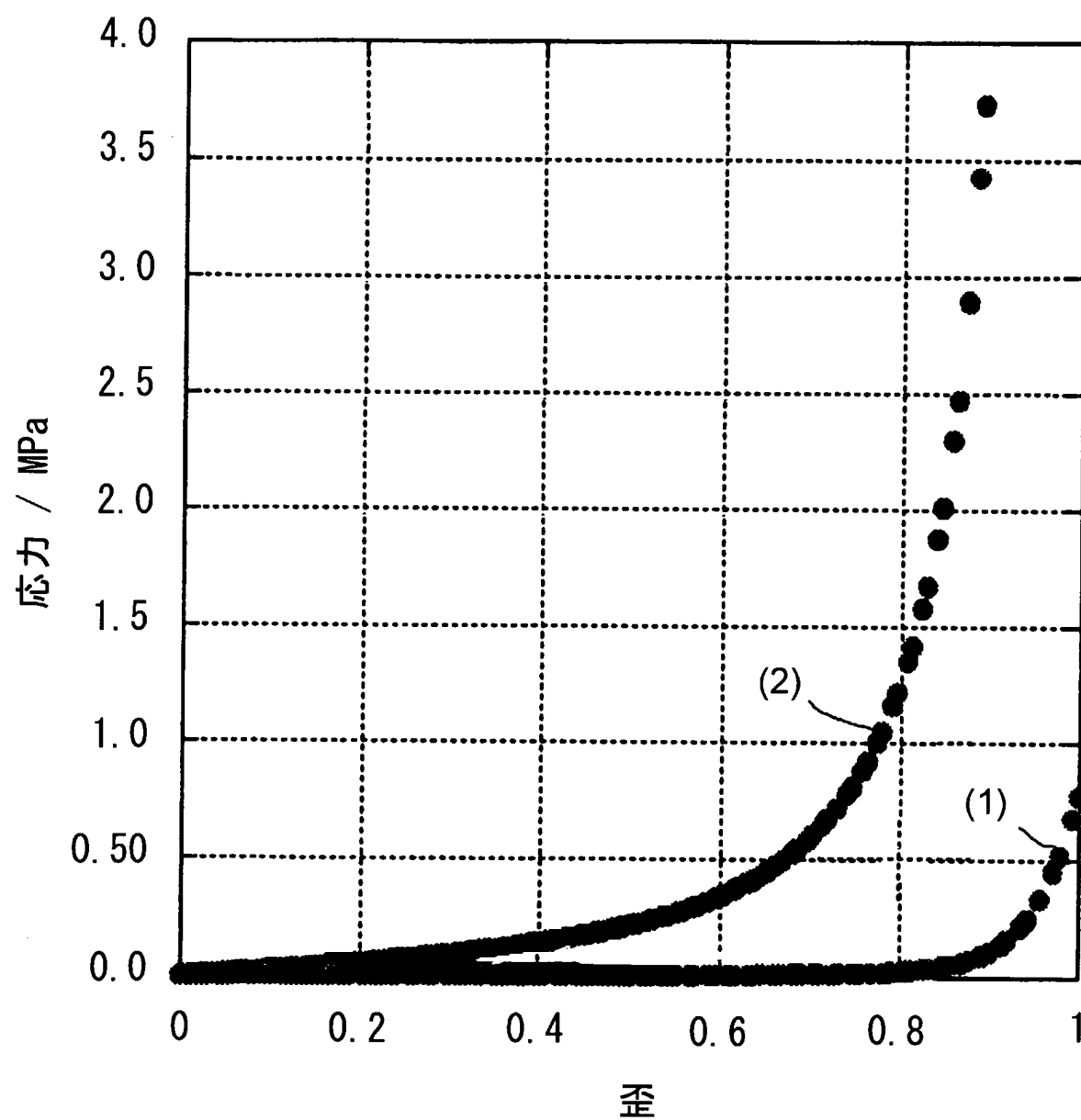
5/23

図 5



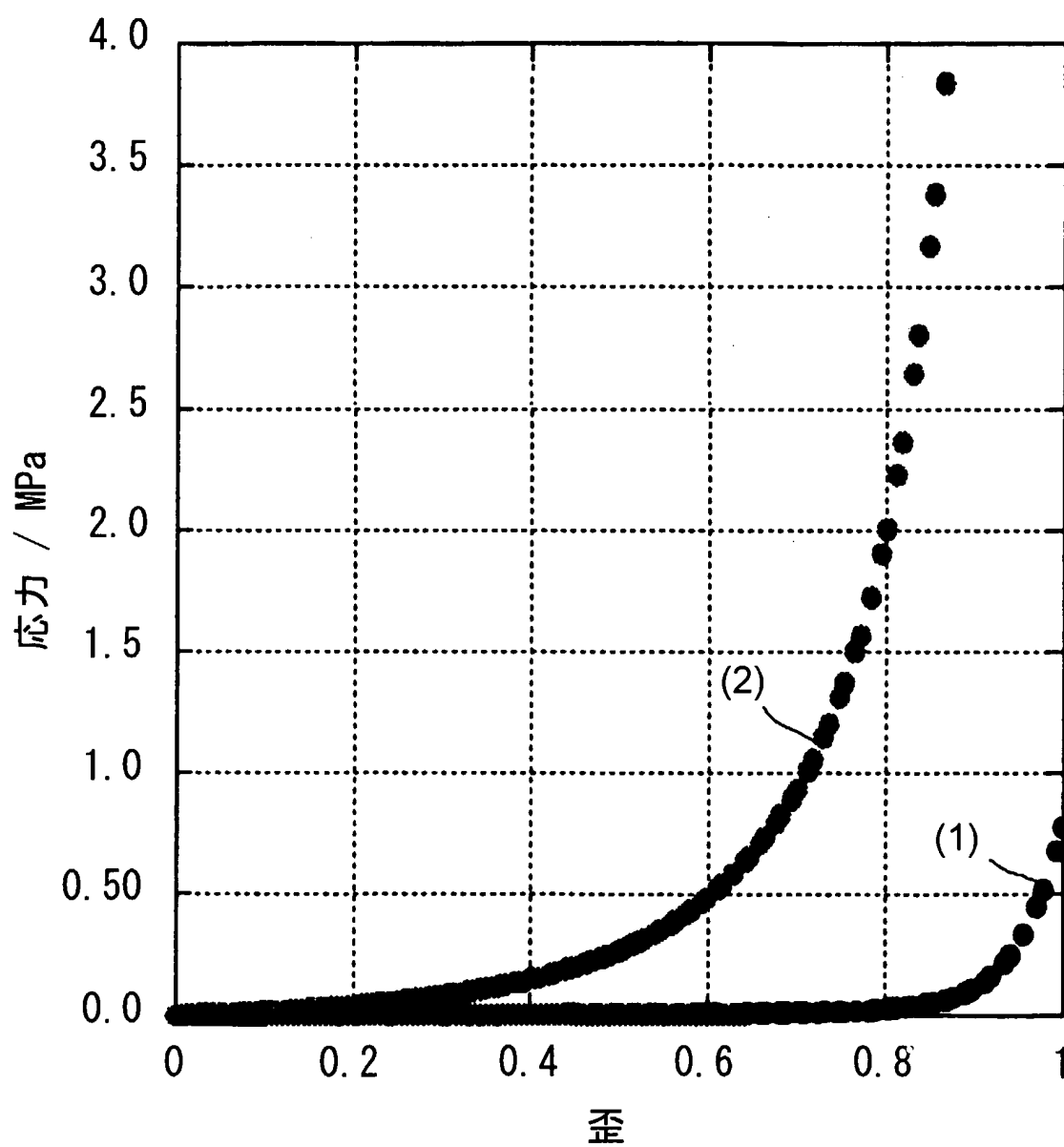
6/23

図 6



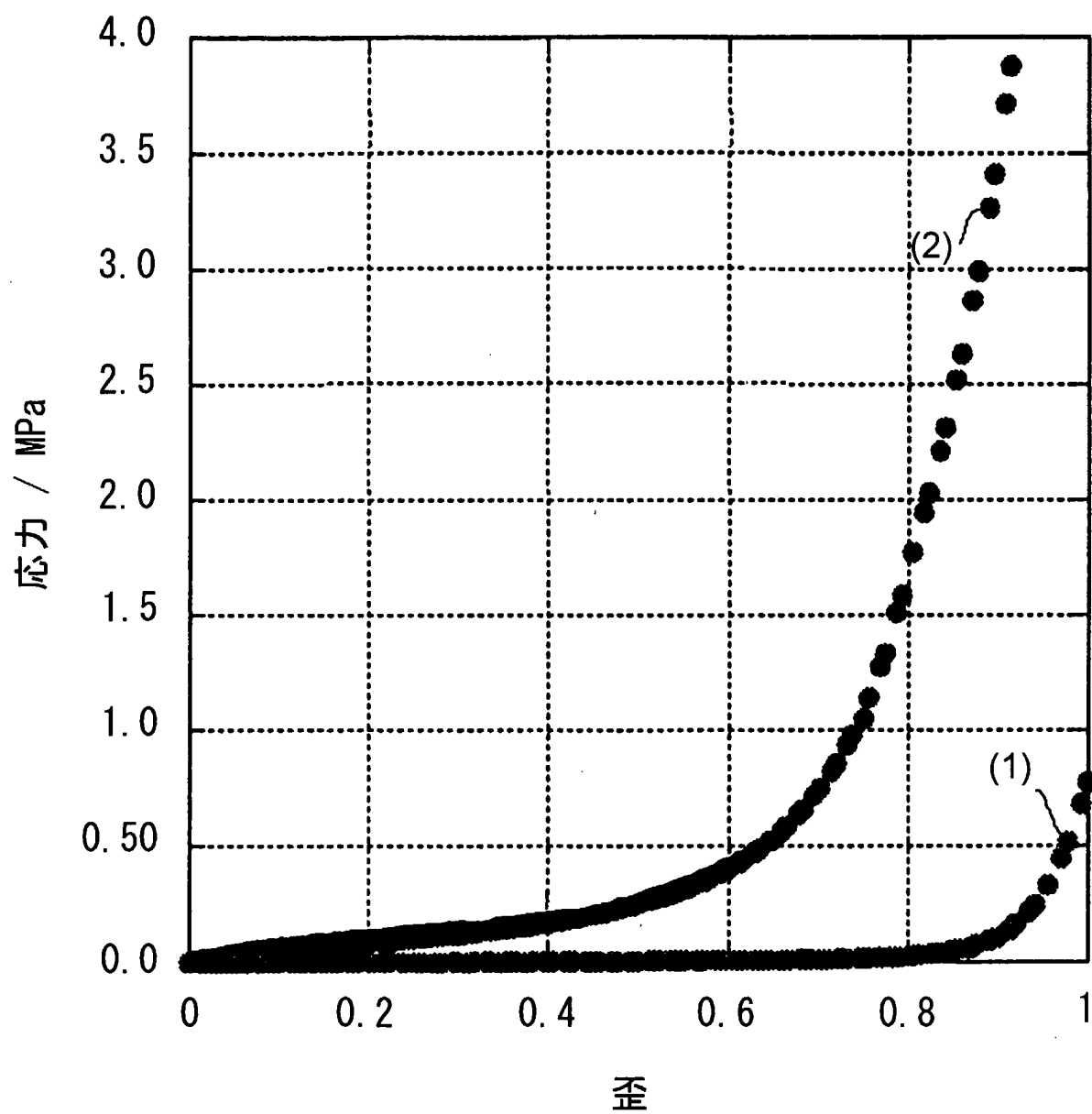
7/23

図 7



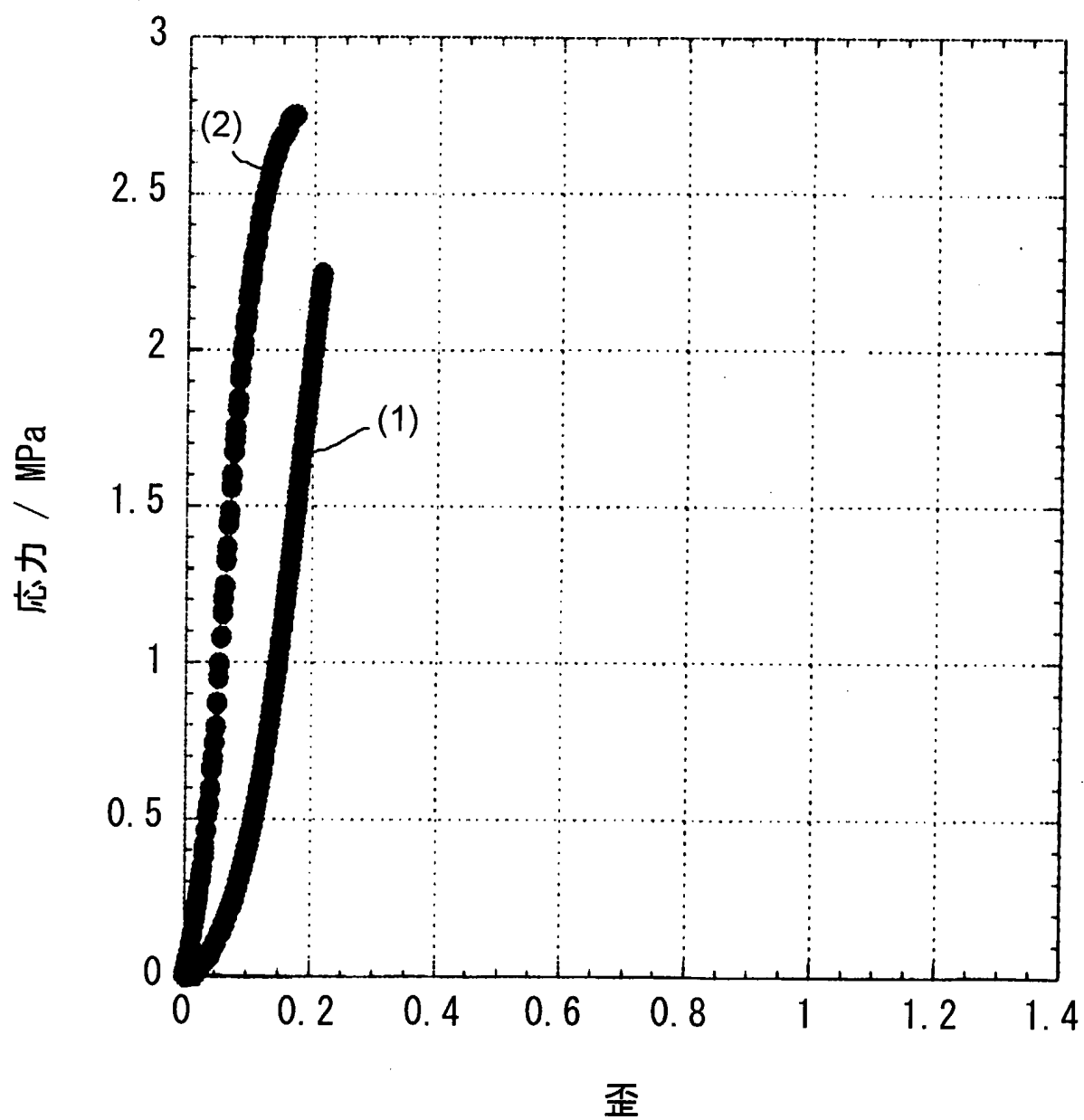
8/23

図 8



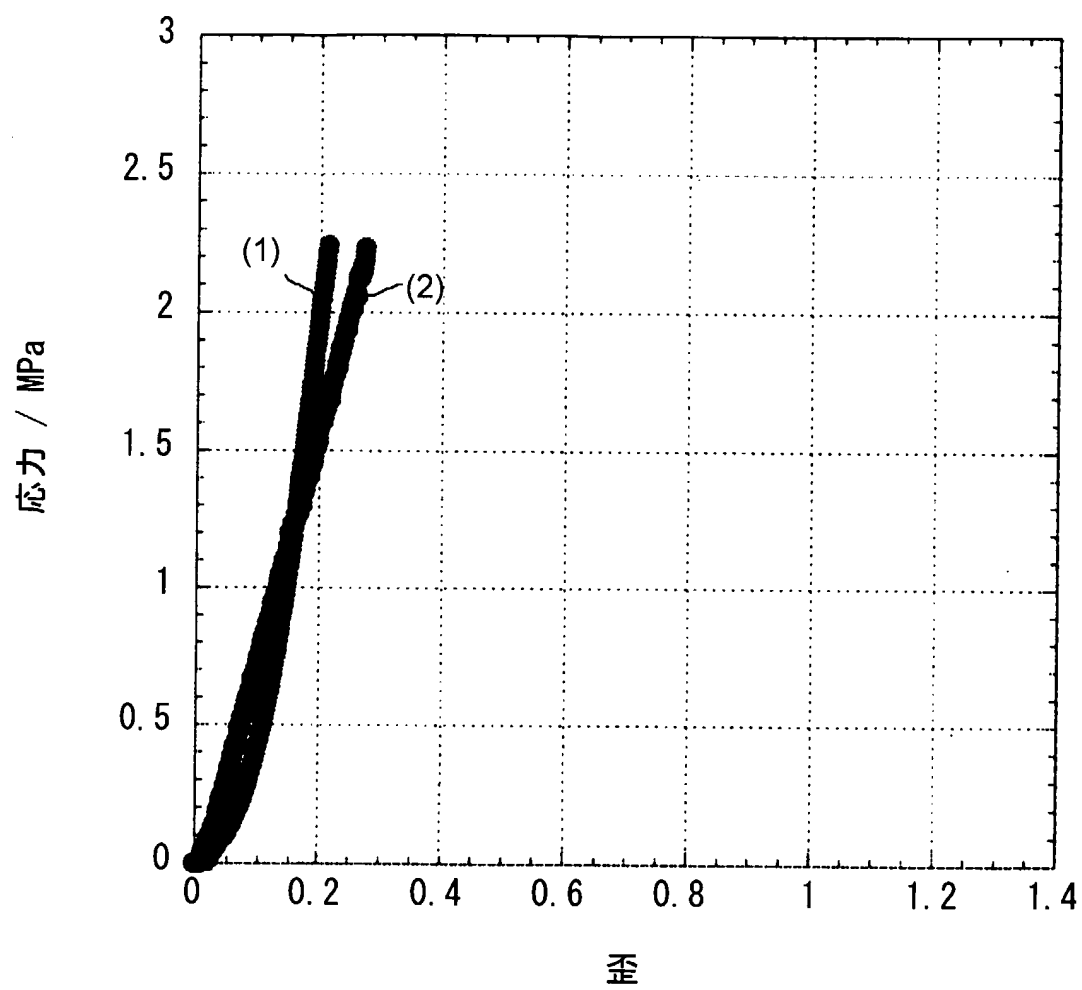
9/23

図 9



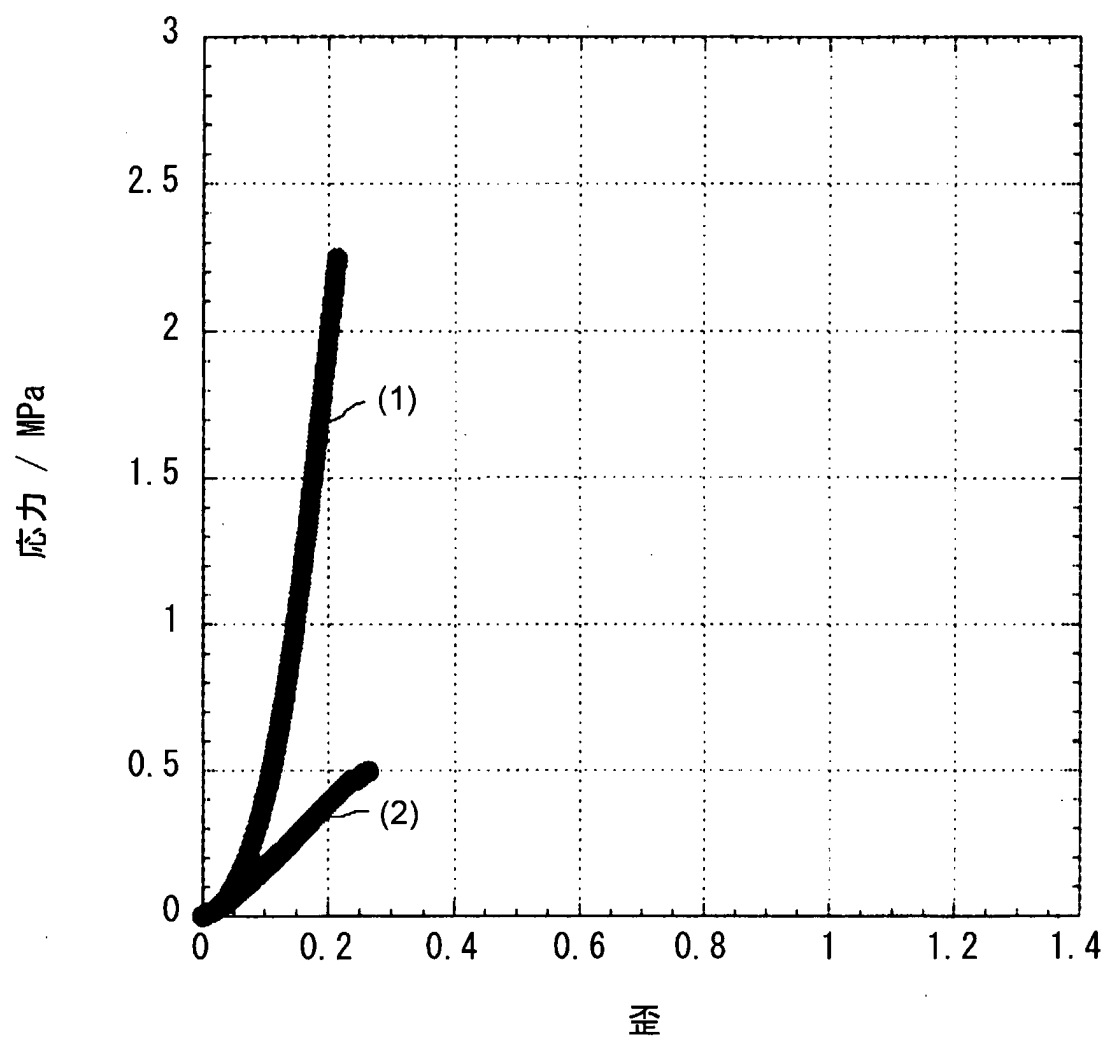
10/23

図 10



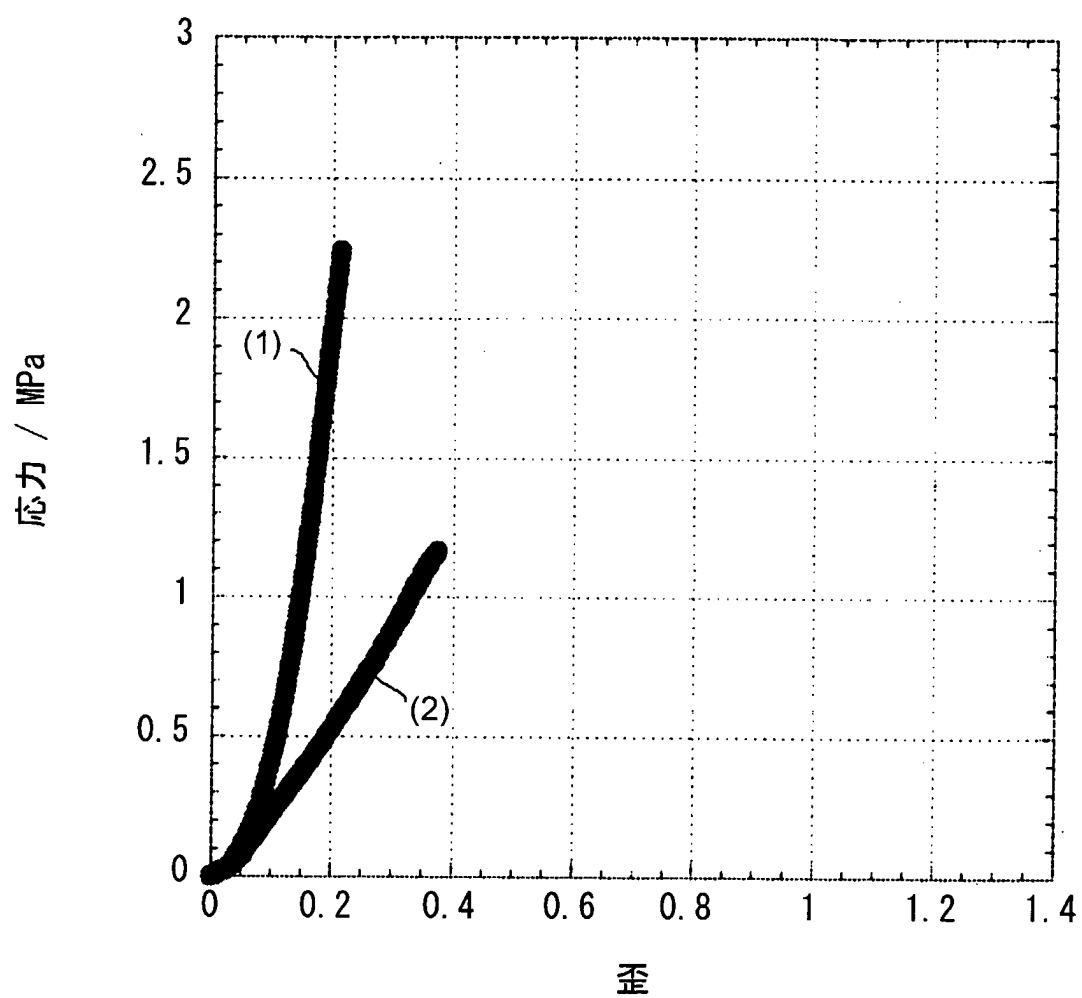
11/23

図 11



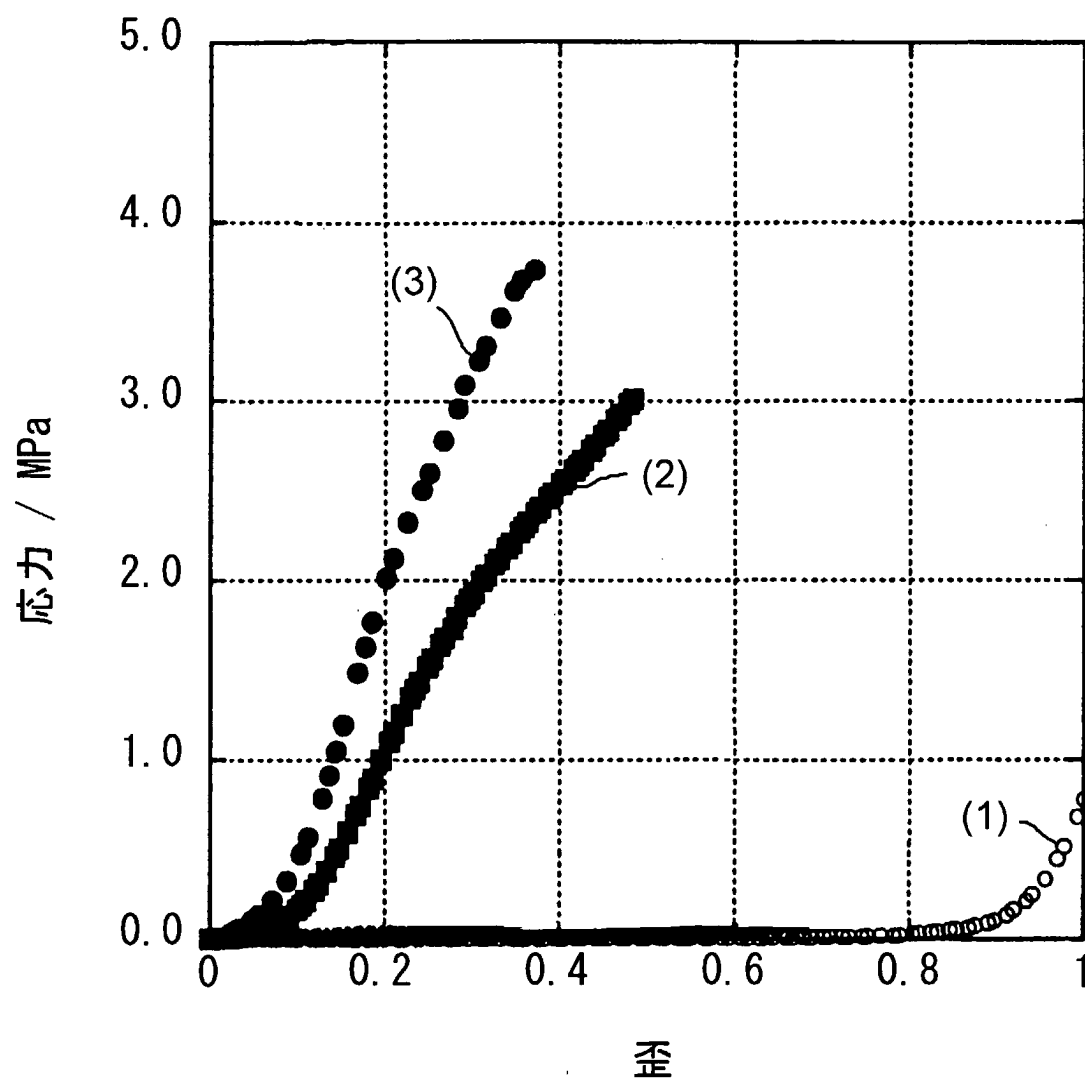
12/23

図 12



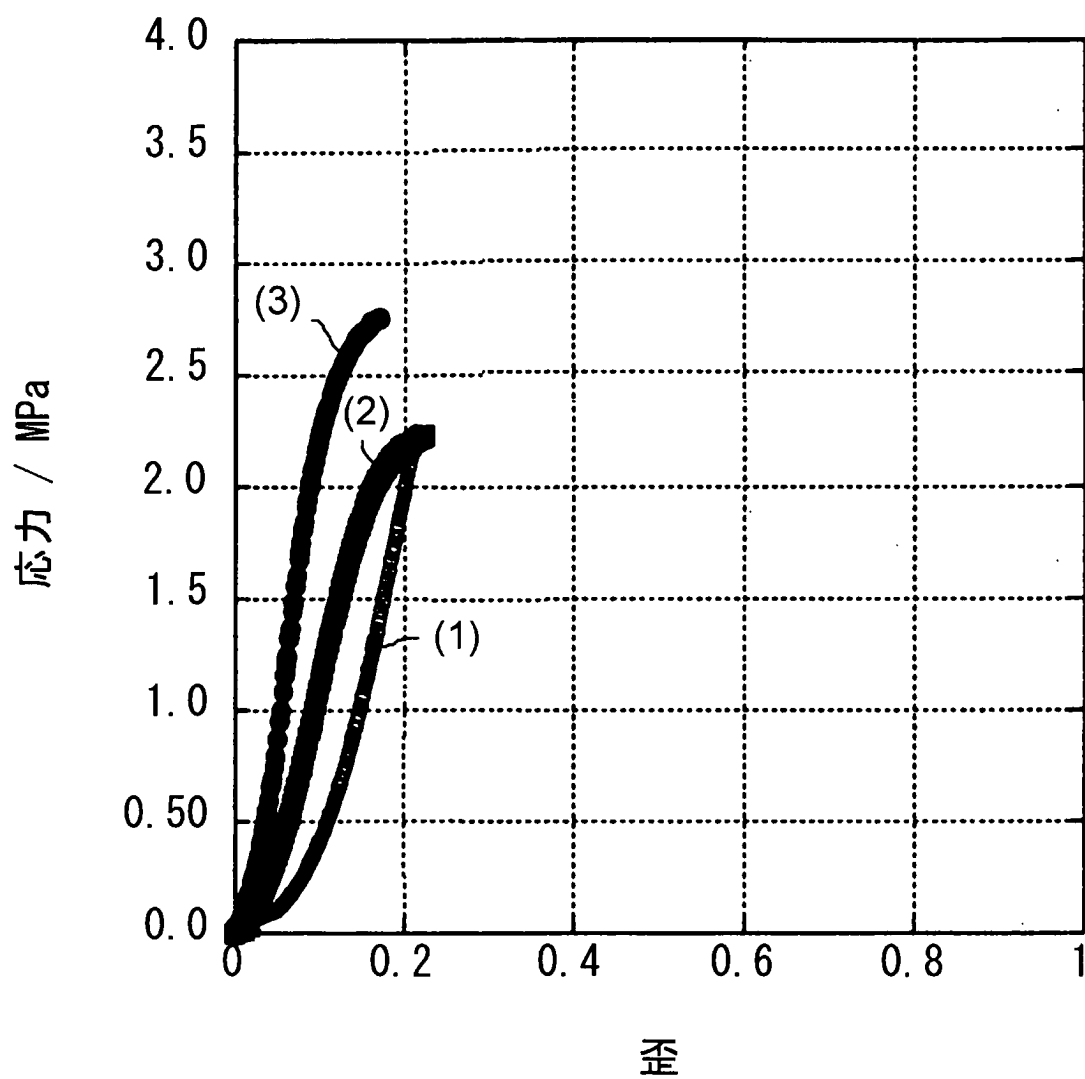
13/23

図 13



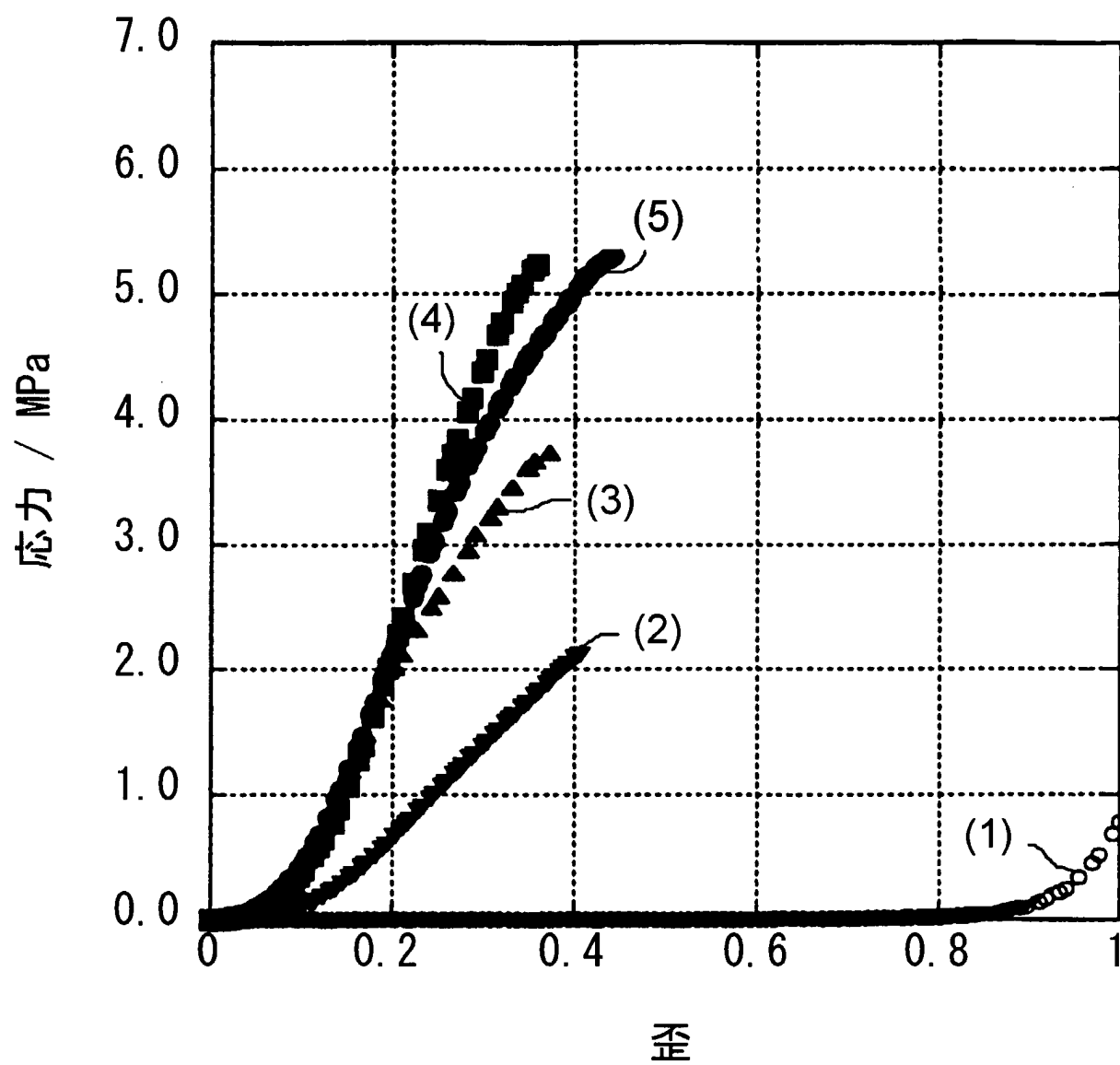
14/23

図 14



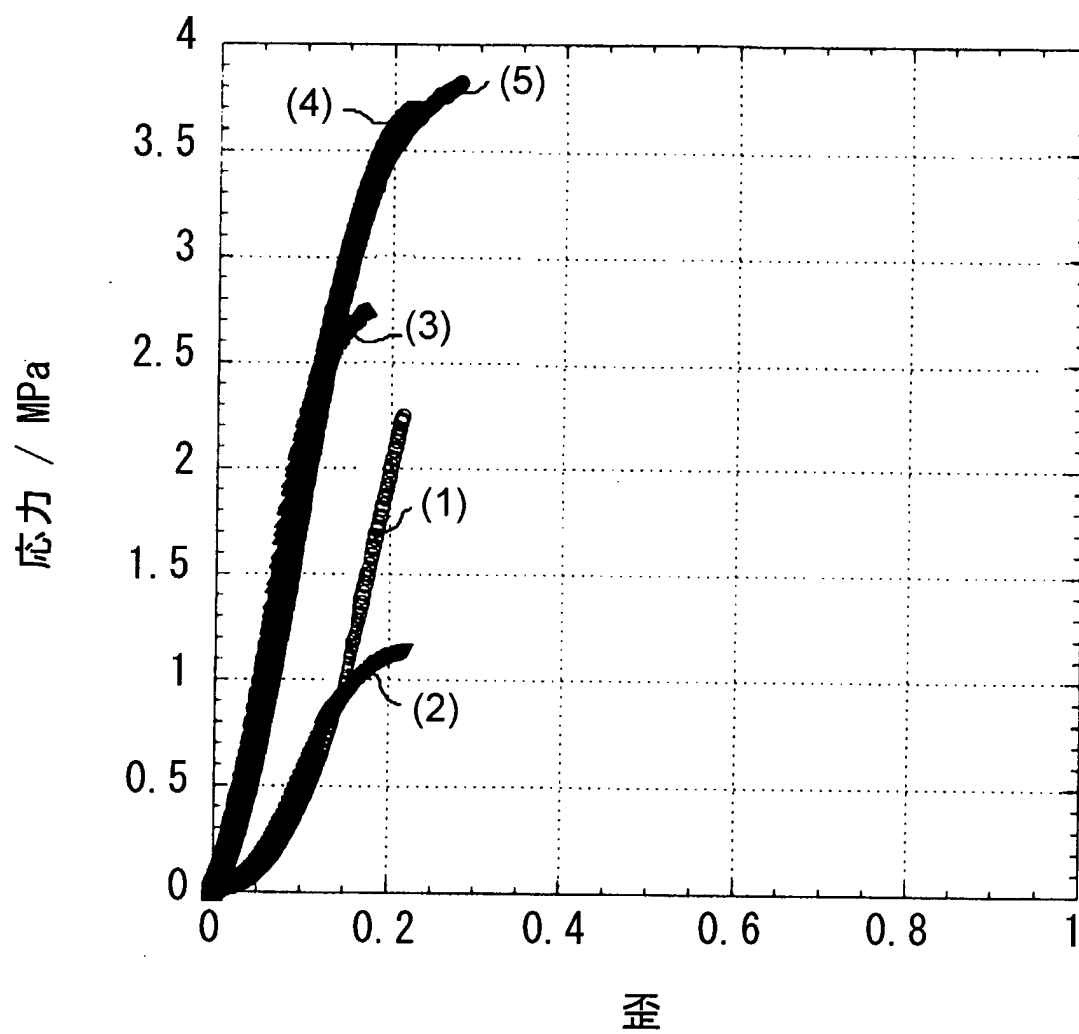
15/23

図 15



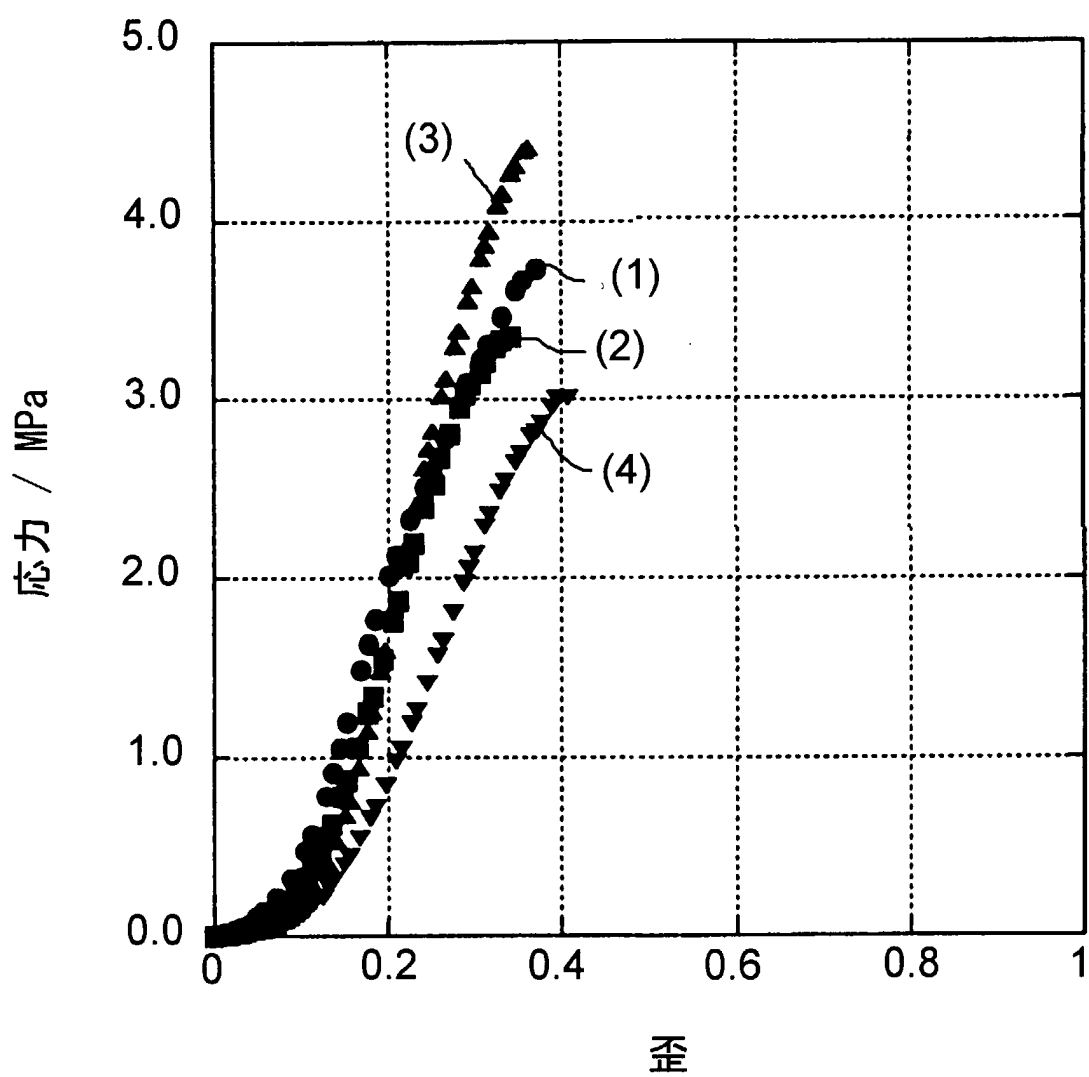
16/23

図 16



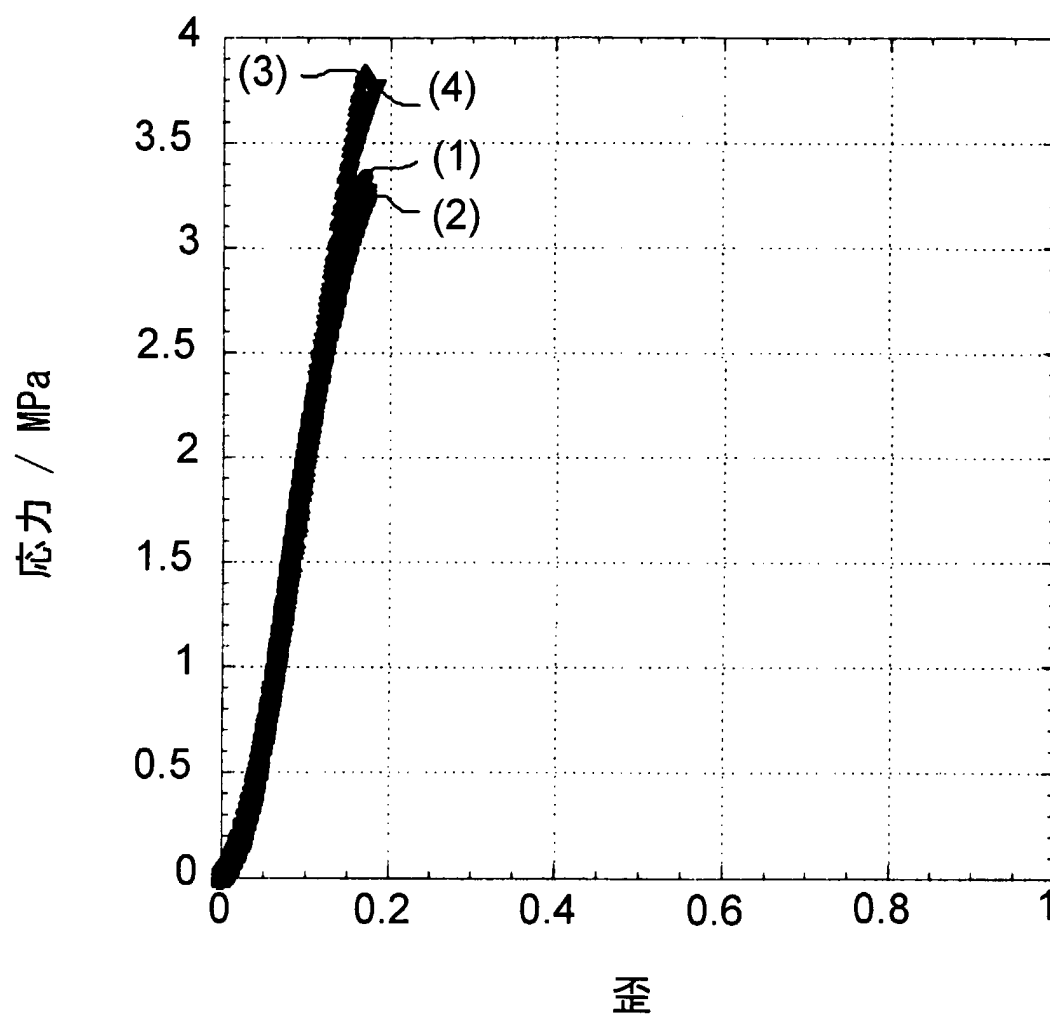
17/23

図 17



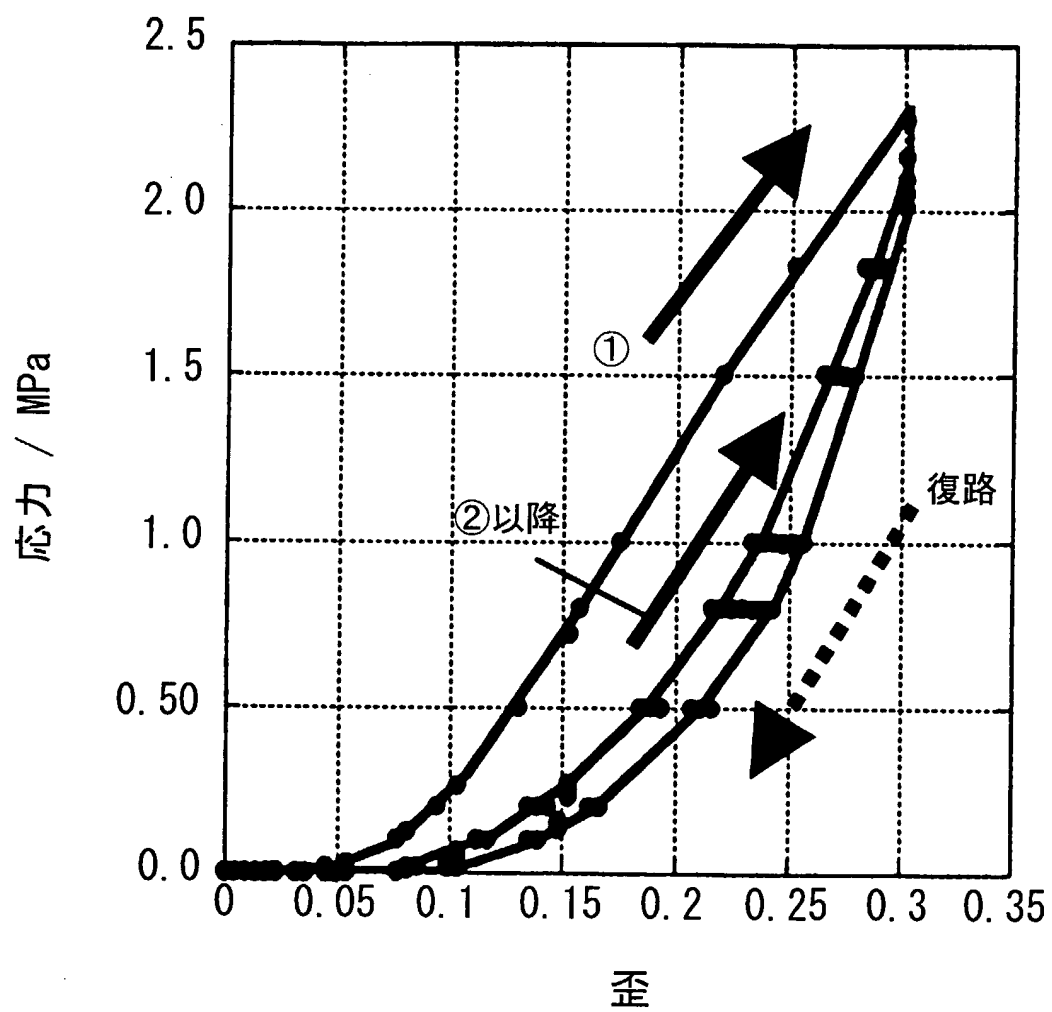
18/23

図 18



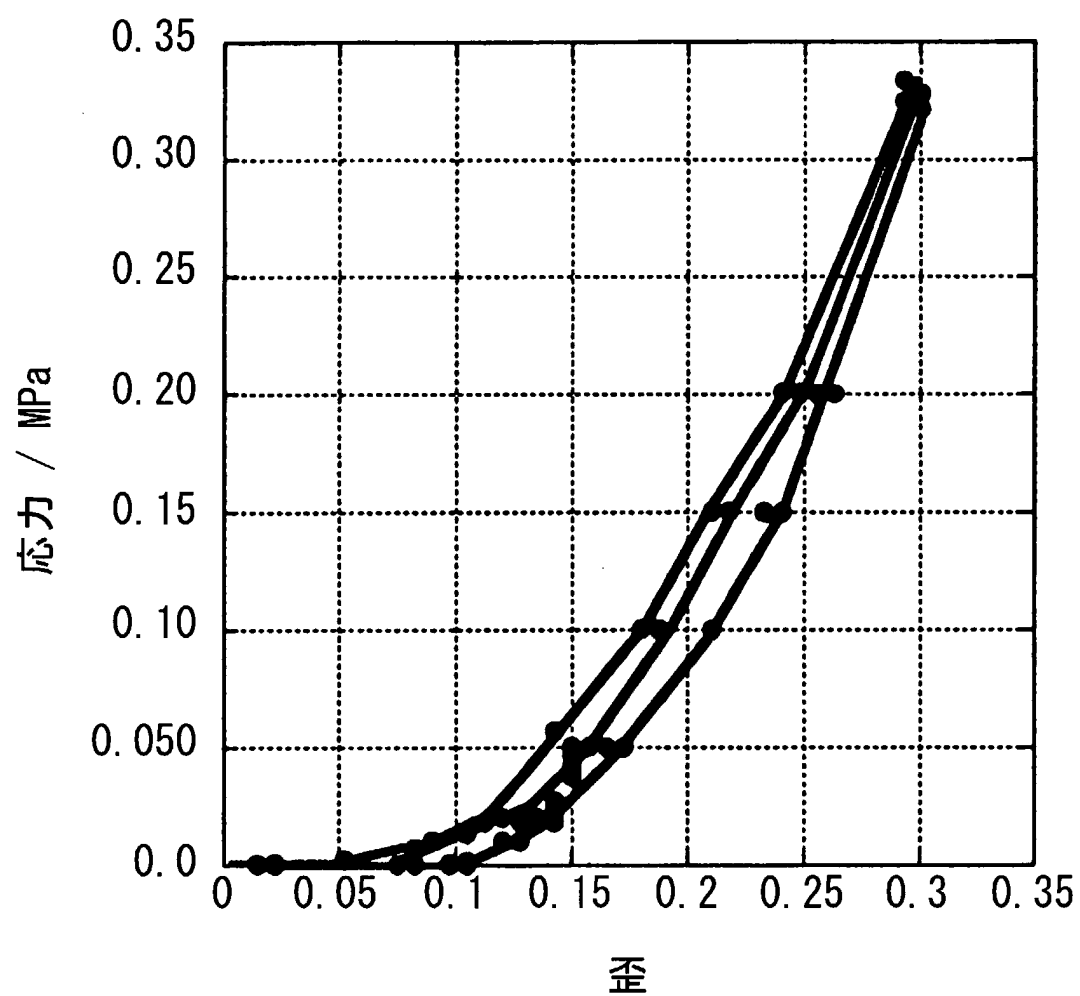
19/23

図 19



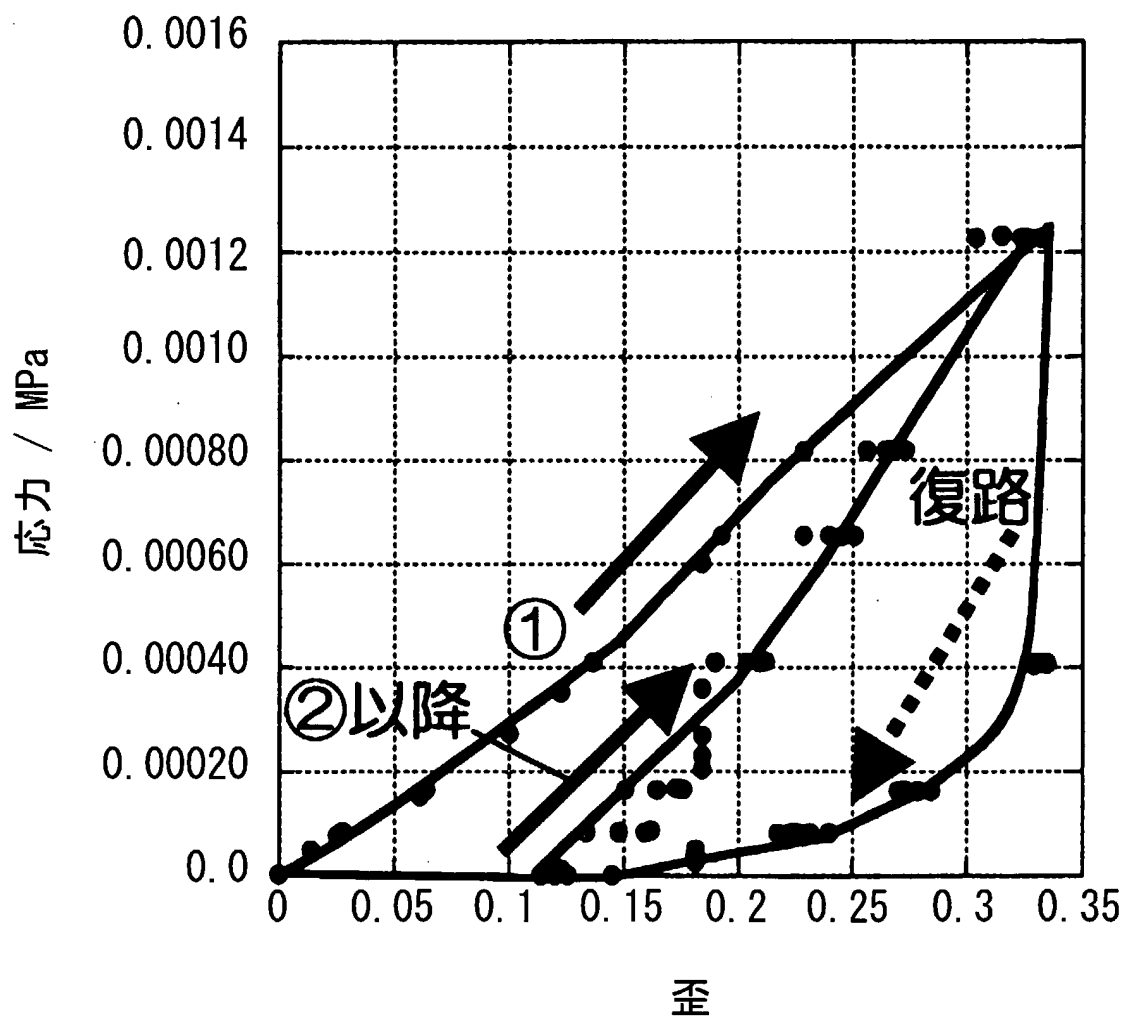
20/23

図 20



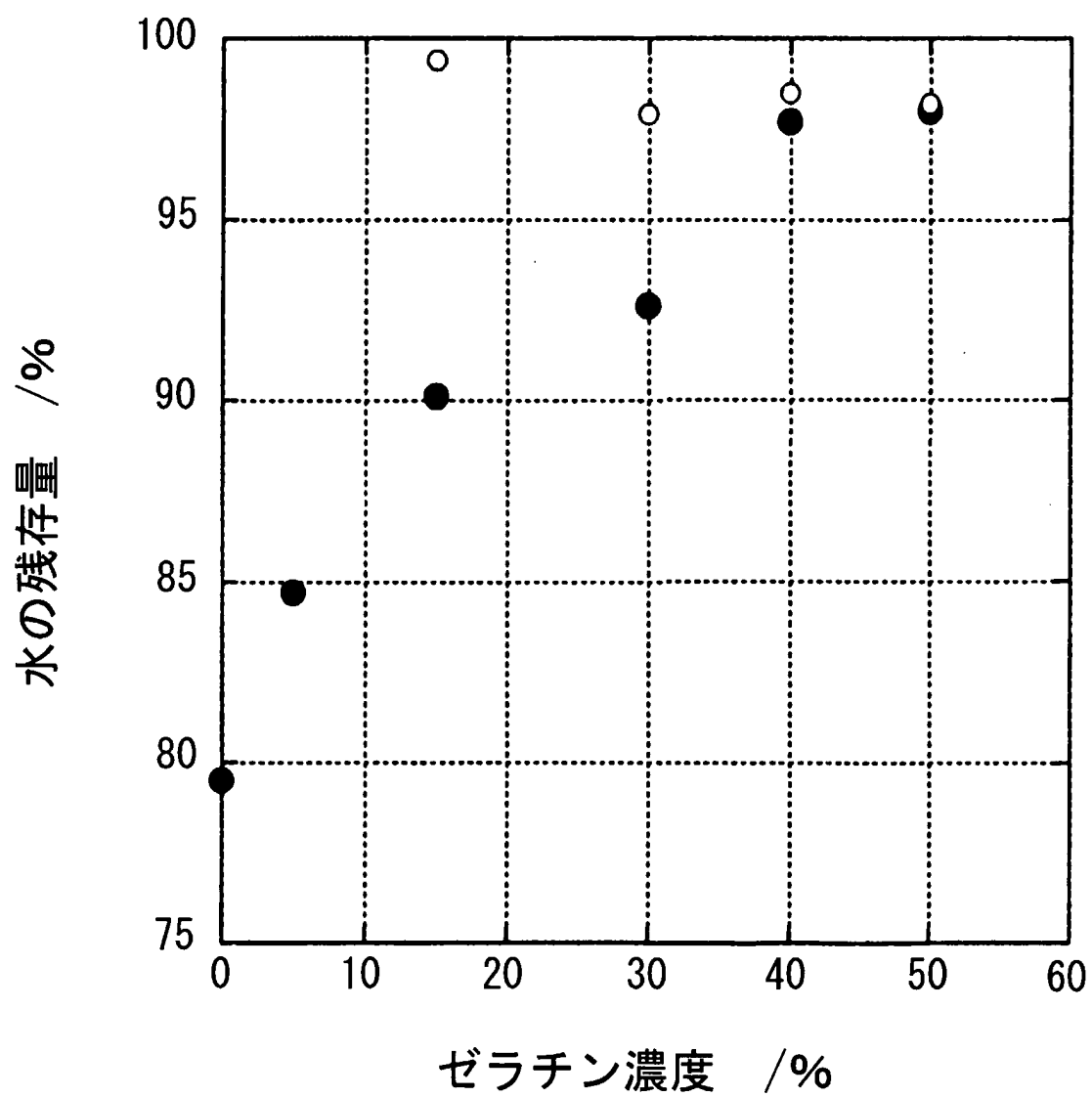
21/23

図 21



22/23

図 22



23/23

図 23

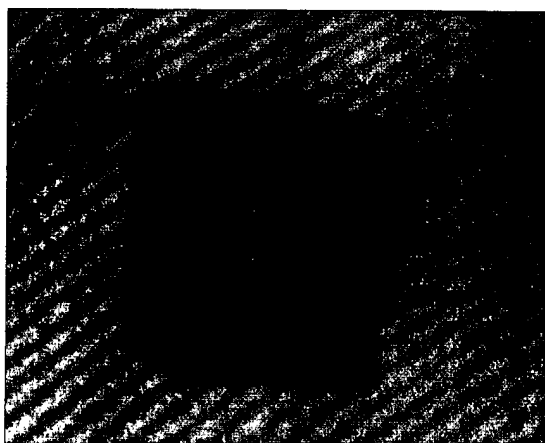


(1)



(2)

図 24



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/07358

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ A61L27/52

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)
Int.Cl⁷ A61L27/52

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

Jitsuyo Shinan Koho	1926-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2003
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2003	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2003

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA/MEDLINE/BIOSIS/EMBASE (STN), JSTPlus/JMEDPlus (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 03-157402 A (Nakano Vinegar Co., Ltd.),	1-13
Y	05 July, 1991 (05.07.91), Full text; particularly, page 2, lower right column, line 6 to page 3, upper left column, line 4; page 3, upper right column, line 6 to lower right column, line 7 (Family: none)	14
X	JP 08-126697 A (AJINOMOTO CO., INC.),	1-3, 5-7,
Y	21 May, 1996 (21.05.96), Full text; particularly, Par. No. [0024] (Family: none)	9-11, 13 4, 8, 12, 14
X	EP 243151 A2 (AJINOMOTO CO., INC.),	1-3, 5-7,
Y	28 October, 1987 (28.10.87), Full text; particularly, page 3, lines 42 to 55 & JP 63-152601 A & US 5558861 A	9-11, 13 4, 8, 12, 14

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search
11 August, 2003 (11.08.03)

Date of mailing of the international search report
26 August, 2003 (26.08.03)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/07358

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	EP 396344 A2 (AJINOMOTO CO., INC.), 07 November, 1990 (07.11.90), Full text; particularly, column 5, line 39 to column 6, line 38 & JP 03-272772 A	1-4, 9-14 5-8
Y	JP 03-165774 A (AJINOMOTO CO., INC.), 17 July, 1991 (17.07.91), Claim 2 (Family: none)	14

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61L27/52

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. Cl⁷ A61L27/52

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	1926-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2003年
日本国実用新案登録公報	1996-2003年
日本国登録実用新案公報	1994-2003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)

CA/MEDLINE/BIOSIS/EMBASE (STN),
JSTPlus/JMEDPlus (JOIS)

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 請求の範囲の番号
X Y	JP 03-157402 A (株式会社中埜酢店) 1991. 07. 05, 全文、特に第2頁右下欄第6行~第3頁左上欄第4行、第3頁右上欄第6 行~右下欄第7行等参照 (ファミリーなし)	1-13 14
X Y	JP 08-126697 A (味の素株式会社) 1996. 05. 21, 全文、特に【0024】段落参照 (ファミリーなし)	1-3, 5-7, 9-11, 13 4, 8, 12, 14

☒ 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

の日の後に公表された文献
「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

11. 08. 03

国際調査報告の発送日

26.08.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
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)

富永 保

4C

3039

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

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 請求の範囲の番号
X	EP 243151 A2 (AJINOMOTO CO., INC.) 1987. 10. 28, 全文、特に第3頁第42～55行参照 & JP 63-152601 A & US 5558861 A	1-3, 5-7, 9-11, 13 4, 8, 12, 14
Y		
X	EP 396344 A2 (AJINOMOTO CO., INC.) 1990. 11. 07, 全文、特に第5欄第39行～第6欄第38行参照 & JP 03-272772 A	1-4, 9-14 5-8
Y		
Y	JP 03-165774 A (味の素株式会社) 1991. 07. 17, 請求項2等参照 (ファミリーなし)	14