

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K00599

研究課題名(和文)新規気相式核酸分解・滅菌技術の実用化へ向けた最適化研究

研究課題名(英文) Research of optimization for practical application of innovative gas phase sterilization and nucleic acids decomposition system

研究代表者

岡崎 利彦 (OKAZAKI, TOSHIHIKO)

大阪大学・医学部附属病院・特任准教授(常勤)

研究者番号：90529968

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：我々は従来の滅菌技術の課題克服を目的に、新しい滅菌システムとしてメタノールを原材料とし触媒法による混合ガス発生装置を開発し、有効性の評価及びその実用化研究を推進してきた。本研究期間においては、有効性に寄与する分子種の特定に至り、これらが相乗効果として核酸分解に寄与している事を明らかにした(特許申請)。今後は水溶性カートリッジなどのより小型で安価な身近なデバイスの供給への弾みがついた。更に、新たな機能として常温化でのエンドトキシンの低減化効果が確認され、常温化でのガス様式によるエンドトキシンの低減化技術としては世界初の革新的なデバイス開発につながる可能性が見えてきた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果により、人類は非常に強力な微生物(細菌、ウイルスなど)を死滅させる手段を新たに手に入れることができるようになる。豚コレラやO-157、さらには近年の世界的混乱を引き起こした新型コロナウイルス(COVID-19)など微生物汚染による被害は、社会全般に及ぼす甚大な健康被害の面からも杞憂すべき重要な問題となっている。これらの現場では対応が難しかった課題に対し、きわめて有効に対処出来る事が期待され、その応用範囲は多岐に及ぶ。学術面においても、再生医療を支える細胞製造施設の無菌管理への大きな貢献が期待される。

研究成果の概要(英文)：For overcoming the problems of conventional sterilization technology, we have developed a new sterilization system utilizing catalytic mechanism to generate mixed bio gas using methanol as a raw material. In this study we have promoted the evaluation of its effectiveness and research for its practical application. During this research period, we identified molecular species specifically contributing to its efficacy, and clarified these molecules contributing nucleic acid degradation in a synergistic manner (patent application). In the future, we could supply of smaller and cheaper devices in the market such as water-soluble cartridges. Furthermore, this system was identified to exhibit additional new potential function of reducing endotoxin at room temperature, and it has become possible to develop the world's first innovative device as a technology for reducing endotoxin by the gas mode at room temperature.

研究分野：遺伝子治療、再生医療

キーワード：核酸分解 ガス滅菌 作用機序

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

微生物汚染による被害は医療の現場だけではなく、農業や水産業を含め畜産業における豚コレラやO-157、さらには近年の世界的混乱を引き起こした新型コロナウイルス(COVID-19)などその社会全般に及ぼす甚大な健康被害の面からも杞憂すべき重要な問題となっている。また近年のヒト培養細胞を用いた再生医療の技術革新により、GMP準拠の細胞調製加工施設(CPC)の基盤整備が喫緊の課題となる中、その無菌管理の基本技術の確立が極めて重要な位置づけとなっている。我々は橋渡し研究並びに臨床研究中核拠点病院施設としてCPCの高度で恒常的な無菌管理を実現すべく、従来技術の課題克服を目的に、新しい滅菌システムとしてメタノールを原材料とし触媒法による混合ガス発生装置を新たに開発し、その有効性の評価、及びその実用化研究を推進してきた。

### 2. 研究の目的

我々がこれまでに開発してきた新規技術は、エタノールを原材料とし銅触媒反応により発生させた混合ガスが、従来得られなかった常温下での滅菌・核酸分解同時機能を示すという極めて興味深い結果を示す革新的技術である。これらの開発技術を具体的な実用化技術として進展させていくには、安全性にも配慮した具体的な運用条件の決定が不可欠となる。そこで、本研究期間を通じて、その作用分子種の具体的な有効濃度の幅を特定し、有効性に寄与する最小有効濃度、かつそれらの総合作用動態を明らかにしてデータベース化すると共に、その有効性に寄与する主たる分子種を特定し、その作用メカニズムの詳細を明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

当初に使用してきた試験装置を一部改良し、庫内型評価装置として庫内混合ガスを反応途中で直接サンプリングが行えるようにし、これらの混合ガス中の有効分子種の成分分析の評価をおこなうとともに、一部のパラメーターについてはリアルタイムでモニタリングできるように新たにセンサーを付与することで、その反応動態の詳細を評価しデータベース化を行う。その特定された分子種の中から有効(滅菌・核酸分解)機能に寄与する主たる分子種を特定し、別の独立したアッセイ系を用いてそれらの分子種のもたらす効果を濃度・反応時間・温度(常温)の面から検証を行い、その作用メカニズムの詳細を明らかにする。

### 4. 研究成果

改良型庫内型ガス発生装置を用いた反応中のサンプリング結果により、発生ガス中の構成成分が確認できた(Fig. 1)。それにより有効性機能に寄与する主要な2分子種を特定した。それら2作用分子によるin vitroアッセイ系から本件開発機器の有効作用機序が明らかになるとともに、それらが連動する新たなメカニズム(Mechanism of Action)の解明に至った。すなわち、滅菌並びに核酸分解には、

1) エタノールの触媒反応から生じるギ酸およびホルムアルデヒドが主要な作用を担っていること、

2) これら2分子は本試験装置の特定の条件下のみに実現する共存状態でその機能が見られること、

3) その有効性機能は2分子の相加効果ではなく相乗効果として表出されること、を見だし、最適化条件(最小濃度・最大効果)を見だしデータベース化を行った。庫内発生装置における核酸分解能が主要分子種(ギ酸、ホルムアルデヒド、メタノール)による相乗効果によりもたらされるモノであることと、その最適化ポイントの特定を含めて特許申請を行った。

注目する主要成分であるギ酸およびホルムアルデヒドに関しては、現状の技術ではリアルタイムに迅速に測定モニターすることが難しい(または開発段階のため莫大なコストがかかる)ことがわかり、特定した分子種に変わるサロゲートマーカーにも今後注目して、有効性を反映するリアルタイムモニタリングの機能実現の検討が必要である(Fig. 3)。

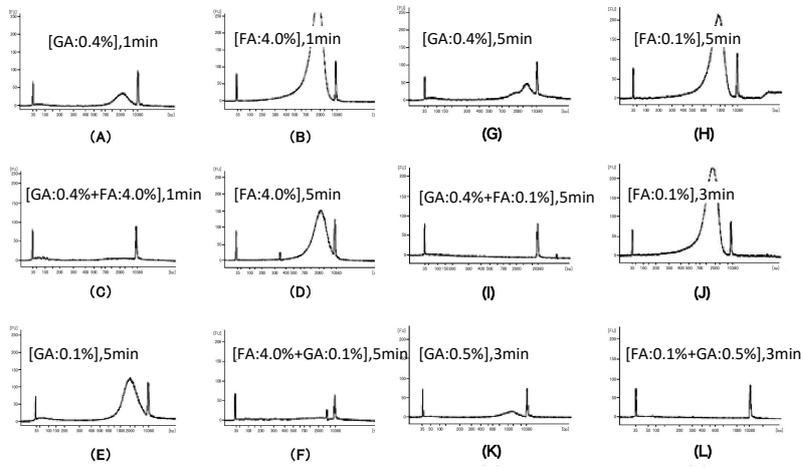
Fig.1 Composition analysis of mixed bio gas

Sterilization chamber state: Volume 150 liters / Normal pressure / 27 °C, 85% RH / Sensor index value. (1.0V)							
	CH <sub>3</sub> OH (methanol)	HCHO (formaldehyde)	HCOOH (formic acid)	O <sub>2</sub> (Oxygen)	H <sub>2</sub> (Hydrogen)	CO <sub>2</sub> (carbon dioxide)	N <sub>2</sub> (Nitrogen)
Earth's atmosphere	0	0	0	21%	0.00005%	0.037%	78%
Composition of exposed gas	6000ppm	250ppm	<3.0ppm	18%	0.5%	0.5%	78%

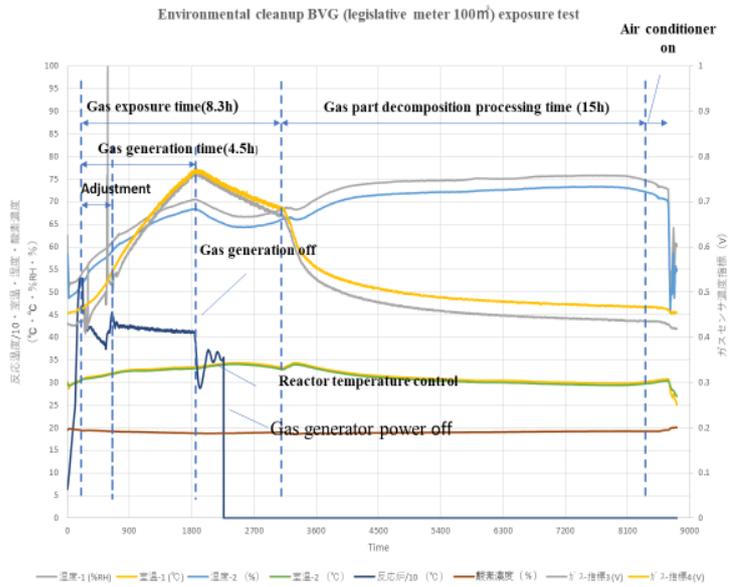
\* The measured sterilization gas did not contain CO (carbon monoxide).

\* This value is assumed to be the minimum required for sterilization exposure. (Preliminary)

**Fig.2 Mechanism of Action (MOA)**



**Fig.3 Real time monitoring of Bio gas elements during room sterilization process**



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Toshihiko Okazaki
2. 発表標題 Innovative gas phase sterilization system for nucleic acids decomposition.
3. 学会等名 5th Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society World Congress (TERMIS) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡崎利彦
2. 発表標題 細胞調製施設管理
3. 学会等名 第6回ARO協議会CPC専門家連絡会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 丹羽保晴、宮崎有紀、中西洋一、岡崎利彦
2. 発表標題 アカデミア細胞調製施設におけるサニテーションの課題と対応
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 TOSHIHIKO OKAZAKI
2. 発表標題 Innovative gas phase sterilization system for nucleic acids decomposition
3. 学会等名 18th World Sterilization Congress(Oct. 4-7, 2017, Bonn, Germany) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Toshihiko Okazaki
2. 発表標題 Inactivation of Endotoxins at low temperature condition utilizing innovative gas phase sterilization system.
3. 学会等名 20th World Sterilization Congress (Oct.30-Nov.2, 2019, Hague, Netherland) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Toshihiko Okazaki
2. 発表標題 Innovative gas phase sterilization system for nucleic acids decomposition
3. 学会等名 第58回日本生体医工学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 滅菌・核酸分解用組成物	発明者 岡崎利彦、鈴木康士	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-142530	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 滅菌・核酸分解用組成物	発明者 岡崎利彦、鈴木康士	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2019/29834	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----