

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02013/051562

発行日 平成27年3月30日 (2015. 3. 30)

(43) 国際公開日 平成25年4月11日 (2013. 4. 11)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 31/045 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/045	4 C 2 0 6
<b>A 6 1 K 31/01 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/01	
<b>A 6 1 K 31/194 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/194	
<b>A 6 1 P 15/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 15/00	1 7 1
<b>A 6 1 P 15/08 (2006.01)</b>	A 6 1 P 15/08	

審査請求 有 予備審査請求 有 (全 24 頁)

出願番号 特願2013-537513 (P2013-537513)  
 (21) 国際出願番号 PCT/JP2012/075521  
 (22) 国際出願日 平成24年10月2日 (2012. 10. 2)  
 (31) 優先権主張番号 特願2011-219111 (P2011-219111)  
 (32) 優先日 平成23年10月3日 (2011. 10. 3)  
 (33) 優先権主張国 日本国 (JP)

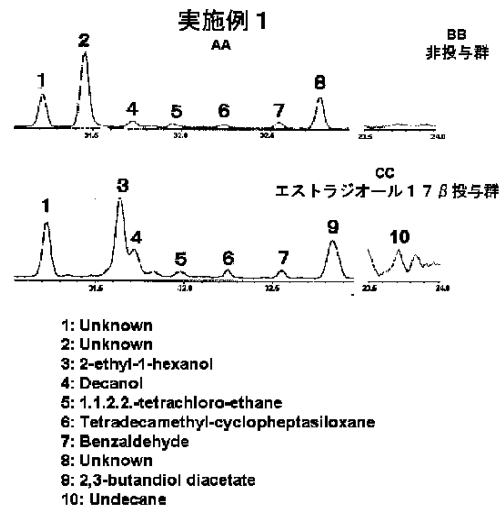
(71) 出願人 598041566  
 学校法人北里研究所  
 東京都港区白金5丁目9番1号  
 (74) 代理人 100095407  
 弁理士 木村 満  
 (74) 代理人 100111464  
 弁理士 齋藤 悦子  
 (74) 代理人 100109449  
 弁理士 毛受 隆典  
 (74) 代理人 100161621  
 弁理士 越山 祥子  
 (72) 発明者 米澤 智洋  
 日本国神奈川県相模原市南区北里1丁目1  
 5番1号 学校法人北里研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 マウスの交配誘引剤、マウスの交配促進方法およびネズミ類の捕獲方法

(57) 【要約】

卵巣摘出後にエストロジェンを投与して発情状態を誘導したメスマウスの尿に含まれる成分から抽出した2-エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2,3-ブタンジオールジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種を使用する。この成分をメスマウスに付与すると、オスマウスが追尾する行動が増加する。鋤鼻器官を摘出したオスマウスは、追尾行動の増加が観察されないため、上記成分は、鋤鼻器官を介して交配を誘引するフェロモン様物質である。この成分は、交配誘引剤として有用に使用することができる。



AA EXAMPLE 1  
 BB CONTROL GROUP  
 CC GROUP ADMINISTERED 17-BETA ESTRADIOL

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

2 - エチルヘキサノール、ウンデカンおよび 2, 3 - ブタンジオール ジアセテートからなる群から選択される少なくとも 1 種を含有するマウスの交配誘引剤。

## 【請求項 2】

2 - エチルヘキサノール、ウンデカンおよび 2, 3 - ブタンジオール ジアセテートからなる群から選択される少なくとも 1 種を用いることを特徴とする、マウスの交配促進方法。

## 【請求項 3】

2 - エチルヘキサノール、ウンデカンおよび 2, 3 - ブタンジオール ジアセテートからなる群から選択される少なくとも 1 種を含む部材をネズミ類捕獲装置に配設することを特徴とする、ネズミ類の捕獲方法。

10

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、2 - エチルヘキサノール、ウンデカンおよび 2, 3 - ブタンジオール ジアセテートからなる群から選択される少なくとも 1 種を含有するマウスの交配誘引剤、前記化合物をメスマウスに使用したマウスの交配促進方法およびネズミ類の捕獲方法に関する。

## 【背景技術】

20

## 【0002】

マウスやラットなどのネズミ類は、穀物を食い荒らし、ペストをはじめとする種々の伝染病を媒介する。また、近年では、ネズミ類による電気配線への噛み付きが停電や火事の原因ともなっている。このようなネズミによる害を防止するため、ネズミの駆除を目的とする齧歯動物用フードを用いた捕獲器が開発され、シーズニングオイルや海藻類を使用するものの他、米糠や米糠由来成分を配合した齧歯動物用誘引・喫食性向上剤が開発されている（特許文献 1）。

## 【0003】

また、性誘引剤を使用して害虫駆除を駆除する方法も提案されている（特許文献 2）。フェロモンは同種の動物どうしがコミュニケーションをとるために体外へ放出する化学物質の総称であり、異性を互いに引きよせるなど、繁殖行動の際に重要な役割を果たす。特許文献 2 では、ミカンヒメコナカイガラムシのフェロモンとして 2, 2 - ジメチル - 3 - (1 - メチルエテニル)シクロブタンメチル 3 - メチル - 3 - プテネートを特定し、これを性誘引剤として使用することを提案している。なお、前記化合物は、ミカンヒメコナカイガラムシ未交尾雌成虫を接種したカボチャの雰囲気から抽出され、ミカンヒメコナカイガラムシ雄成虫に対する性誘引活性を指標として選択された化合物である。

30

## 【0004】

フェロモンは、種特異性が高い。マウスに関するフェロモンとして、性成熟後のオスのマウスの眼窩外涙腺から分泌される ESP1 (Exocrine gland - secreting peptide 1) と称されるペプチドが報告されている（非特許文献 1）。マウスの性行動は、互いによる匂い嗅ぎ探索行動、そののちのオスによるアプローチ（乗駕行動）、それにひきつづくメスによるオスの受け入れ行動（ロードシス）、およびオスによるペニスの挿入（イントロミッション）の 4 つの段階に区分できる。マウスの嗅覚系は、主嗅覚系と鋤鼻系とから構成されフェロモンは鋤鼻系で認識されると考えられている。非特許文献 1 では、マウス鋤鼻器官に発現する V2Rp5 が ESP1 の受容体であることを見出している。そして、メスの V2Rp5 ノックアウトマウスに ESP1 を取り込ませたときにはロードシス、イントロミッションの亢進が観察されないことから、ESP1 がマウス鋤鼻器官に発現する V2Rp5 という単一の受容体で認識され、メスに特異的な神経回路を介して視床下部領域を活性化し、メスのロードシス性行動を促進する効果をもたらすフェロモンであると結論している。

40

50

## 【0005】

また、オスマウスから抽出されたフェロモンとして、3,4-デヒドロ-エキソ-ブレビコミン(3,4-dehydro-exo-brevicomine)や2-セカンダリーブチル-4,5-ジヒドロチアゾール(2-sec-butyl-4,5-dihydrothiazole)もある(非特許文献2)。これらは揮発性物質であり、鋤鼻器官のみに作用するか不明であるが、 $1 \times 10^{-10}$  Mという低い濃度で鋤鼻器官における電気応答を引き起こすとしている。

## 【0006】

さらに、メスマウスの尿由来フェロモンとして、1-ヨード-2-メチルウンデカンに関する報告もある(非特許文献3)。この化合物は、発情前期および発情期に出現して交配前行動に参与し、オスマウスの生殖活動を増強する化合物である。卵巣摘出されたマウスや前思春期のメスマウスには存在しないがエストロゲン治療によって再出現することが知られている。実施例では、スイス系マウスを用い、卵巣摘出されたメスマウス群と、卵巣摘出しかつエストロゲンを投与したメスマウス群、および前思春期のメスマウス群の尿成分を分析している。その結果、卵巣摘出しかつエストロゲンを投与したメスマウス群の尿からのみ抽出される成分を特定し、スニフing(Sniffing)、リッキング行動(Licking behavior)、グルーミング(Grooming)を観察し、効果の高い1-ヨード-2-メチルウンデカンフェロモンと選別している。

## 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【0007】

【特許文献1】特開2008-137928号公報

【特許文献2】特許第4017107号公報

## 【非特許文献】

## 【0008】

【非特許文献1】はが紗智子・東原和成 「マウスの雄フェロモンESP1の受容機構の解明ライフサイエンス新着レビュー」 2010年9月1日(<http://first.lifesciencedb.jp/archives/5>)

【非特許文献2】哺乳類におけるフェロモンと鋤鼻器官 阿部峻之他 日本生殖内分泌学会雑誌 p5-8、13巻(2008)

【非特許文献3】S. Achiraman et al., 「1-Iodo-2-methylundecane [1I2MU]: an estrogen-dependent urinary sex pheromone of female mice」 Theriogenology p345-353、Vol 74(2010)

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0009】

ネズミ類の駆除のためにネズミ捕獲装置が開発されているが、ネズミ類による被害は後を絶たない。これは、捕獲装置に仕掛けられているおとり食物の効果が弱いことが一因と考えられる。このようなおとり食物にフェロモンを混入すれば捕獲効率を向上させることができる。しかしながら、非特許文献1で開示するESP1(Exocrine gland-secreted peptide 1)は、アミノ酸65個からなるペプチドであり製造や入手が容易でない。しかも、上記フェロモンは不揮発性化合物であるため、直接の接触によって初めてネズミに認識される。このため、ネズミ捕獲装置内に仕掛ける給餌に混練しても、ネズミを捕獲する効果を期待することができない。

## 【0010】

これに対し、非特許文献2記載の3,4-デヒドロ-エキソ-ブレビコミンや2-セカンダリーブチル-4,5-ジヒドロチアゾールや非特許文献3記載の1-ヨード-2-メチルウンデカンは揮発性のフェロモンである。したがって、おとり食物に混練すれば成分が揮発するため、ネズミが直接接触しなくても、捕獲率を向上させうる。しかしながら、

10

20

30

40

50

3, 4 - デヒドロ - エキソ - プレピコミンや 2 - セカンダリーブチル - 4, 5 - ジヒドロチアゾールは、オスマウスの攻撃行動を促進するため、捕獲後の処理が容易でない。また、1 - ヨード - 2 - メチルウンデカンはハロゲン化アルキルであり、安全性が高くない。

【0011】

さらに、非特許文献3に記載される1 - ヨード - 2 - メチルウンデカンは、オスマウスのメスマウスに対する追尾行動の増加は認められるが、乗駕行動を含む性行動の増加については認められておらず、性行動を誘発するフェロモンであるかどうかについては疑問の余地がある。従って、食物のフレーバー以外の方法でマウスやラットを呼び寄せることができ、安全性が高く、かつ安価かつ簡便に入手しうる薬剤の開発が望まれる。

【0012】

一方、マウスやラットは有用な実験動物として医学研究領域で多用される小動物である。例えば、マウスは、ノックアウトマウスなどの作出が可能であるため、様々な遺伝子疾患の仕組みの解明になくはない存在となっている。ネズミ類は、高い繁殖能力を有するが、研究に用いられるマウスの系統のなかには繁殖能力の弱い系統も存在する。よって、繁殖効率を増加しうる薬剤の開発が望まれる。

【0013】

上記現状に鑑みて、本発明は、新たなマウスの交配誘引剤を提供することを目的とする。

【0014】

また、このような交配誘引剤を使用したネズミ類の捕獲方法やマウスの交配促進方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0015】

本発明者らは、マウスのフェロモン様化合物について検索したところ、エストロジェンによって発情させたメスマウスが、尿中に2 - エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2, 3 - ブタンジオール ジアセテートを分泌することを見いだした。これらの化合物をメスマウスに塗布するとオスマウスによる追尾行動が増加した。上記化合物は揮発性であるため、おとり食物などに混練してネズミ捕獲装置内に収納すればネズミを捕獲しうる。上記化合物は、オスマウスの鋤鼻器官を切除すると増加していた追尾行動量が減少するため、鋤鼻器官を介して行動や内分泌系を制御する交配誘引剤として作用する。

【0016】

すなわち、本発明は、2 - エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2, 3 - ブタンジオール ジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種を含有するマウスの交配誘引剤を提供するものである。

【0017】

また本発明は、2 - エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2, 3 - ブタンジオール ジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種を用いることを特徴とする、マウスの交配誘引方法を提供するものである。

【0018】

また本発明は、2 - エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2, 3 - ブタンジオール ジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種を含む部材をネズミ類捕獲装置に配設することを特徴とする、ネズミ類の捕獲方法を提供するものである。

【発明の効果】

【0019】

本発明によれば、新規なマウスの交配誘引剤を提供することができる。

また、本発明によればメスマウスに前記交配誘引剤を塗布することでオスマウスの追尾行動を誘引できるため、マウスの交配機会を増加することができる。

本発明の交配誘引剤は、これを他の給餌と混練することでネズミ類の捕獲装置に使用しおとり食物として使用することができる。

【図面の簡単な説明】

10

20

30

40

50

## 【0020】

【図1】実施例1の結果を示す図である。卵巣摘出手術後にエストラジオール17を投与したメスマウスの尿のGC-MSクロマトグラムと、非投与群のメスマウスの尿のGC-MSクロマトグラムである。

【図2】実施例2、比較例1の結果を示す図である。卵巣を摘出したメスマウスに、2-エチル-1-ヘキサノールの1/10, 000溶液を塗布し(実施例2)、または脱臭水を塗布し(比較例1)、オスマウスの単飼ケージに導入した際の15分間の雄マウスの追尾回数を示す。

【図3】実施例3の結果を示す図である。鋤鼻器官切除マウス群とシャムオペ群とを調製し、メスマウスへの追尾行動を観察した結果を示す。

【図4】実施例4、比較例2の結果を示す図である。2-エチルヘキサノールとウンデカンとの混合物を卵巣摘出した成熟メスマウスに塗布し、成熟オスマウスの行動を観察した結果を示す(実施例4)。蒸留水を塗布した比較例2も同様に観察した。

【図5】実施例5の結果を示す図である。2-エチルヘキサノールとウンデカンとの混合物をタオルに含浸して交配誘引剤含有タオルとし、成熟オスマウスの行動を観察した結果を示す(実施例5)。蒸留水を塗布した蒸留水含有タオルを対照として観察した。

## 【発明を実施するための形態】

## 【0021】

本発明の第一は、2-エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2,3-ブタンジオールジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種を含有するマウスの交配誘引剤である。

卵巣は、性ホルモンであるエストロゲンとプロゲステロンとを分泌する組織である。後記する実施例に示すように、卵巣を摘出したメスマウス群と、卵巣摘出後にエストロゲンを投与したメスマウス群とからそれぞれの尿を採取して成分を比較すると、エストロゲン投与群に特異な成分として2-エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2,3-ブタンジオールジアセテートとが見出された。上記化合物の希釈液をメスマウスに塗布してオスマウスの単飼ケージに投入すると、オスマウスによる追尾行動が増加することが判明した。マウスの嗅覚系は、主嗅覚系と鋤鼻系とからなり、フェロモンは鋤鼻系で認識されると考えられている。オスマウスの鋤鼻器官を摘出すると前記追尾行動が減少したので、上記化合物は、オスマウスの鋤鼻器官で認識されるフェロモンの1種と考えられる。

## 【0022】

本発明の交配誘引剤は、前記2-エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2,3-ブタンジオールジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種を単独で使用してもよく、混合して使用してもよい。2,3-ブタンジオールジアセテート以外の化合物は市販されており、入手が容易である。本発明の特徴は、このような入手が容易な化合物がマウスのフェロモンであることを見出した点にある。これにより、当該化合物を交配誘引剤として広範囲に使用することができる。しかも、本発明の交配誘引剤を構成する上記化合物はいずれも揮発性成分であるため、オスマウスは本発明の交配誘引剤に直接アクセスすることなく、雰囲気を通して認識することができる。このため、本発明の交配誘引剤に直接接触する以外の用途にも、本発明の交配誘引剤を使用することができる。

## 【0023】

本発明の交配誘引剤は、2-エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2,3-ブタンジオールジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種を含有する。メスマウスに直接塗布する場合には、上記化合物の $1 \times 10^{-3} \sim 1 \times 10^{-5}$ 倍、より好ましくは $3 \times 10^{-3} \sim 8 \times 10^{-4}$ 倍、特に好ましくは $5 \times 10^{-3} \sim 5 \times 10^{-4}$ 倍の希釈液を交配誘引剤として使用する。この範囲で十分にオスマウスに認識され、交配誘引効果を発揮しうるからである。希釈液は、上記化合物を水に溶解して調製することができる。その他、上記化合物の安定性を確保でき、かつ交配誘引剤としての効果を維持しうる種々の成分を配合し、乳剤、懸濁液、軟膏などに調製してもよい。たとえば、上記化合物を予め少量のエタノール、アセトン、ジメチルスルホキシド、ゴマ油などに溶解し、ついで水を

10

20

30

40

50

添加して上記濃度の希釈液を調製することができる。水とともに乳化剤を添加すれば、乳剤を調製することもできる。

【0024】

本発明の第二は、2-エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2,3-ブタンジオールジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種を用いることを特徴とする、マウスの交配促進方法である。マウスやラットは医学研究領域その他で多用される小動物であるが、系統のなかには繁殖能力の弱い系統も存在するため、交配を促進することで繁殖率を向上させることができる。なお、本発明において「2-エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2,3-ブタンジオールジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種を用いる」とは、塗布その他によってメスマウスに投与する態様の他、いずれかの方法でメスマウスに効果を及ぼす場合を含む。

10

【0025】

前記したように、2-エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2,3-ブタンジオールジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種は、エストロゲンによって偽発情状態を誘導されたメスマウスの尿に出現する成分であり、フェロモンの1種である。ここに、フェロモンは、リリーサーフェロモンとプライマーフェロモンとに大別される。リリーサーフェロモンとは、同種他個体に直接的な行動を引き起こすフェロモンと定義され、フェロモンの効果は短時間に起こりすぐ行動をひきおこすものである。また、プライマーフェロモンとは、同種他個体の生理過程に影響し、間接的に個体の発達や生殖機能などに効果を与えるフェロモンと定義され、効果は比較的長時間に持続し、影響はホルモンなどの変化により二次的なものとなる。本発明で使用する2-エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2,3-ブタンジオールジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種は、これらをメスマウスに塗布するとオスマウスによる追尾行動が増加するため、少なくともリリーサーフェロモンとしての作用を有する。

20

【0026】

一方、2-エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2,3-ブタンジオールジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種は、エストロゲン投与によって尿中に排出された成分であり、エストロゲンは性周期に関連するホルモンである。このため、上記化合物は性周期に関連して排出される成分といえる。マウスにおけるプライマーフェロモンの作用としては、性周期の同調作用が知られている。複数のメスマウスを集団飼育する際に、ケージ内に上記化合物を導入してメスマウスの性周期を同調させて交配管理を行うことで繁殖力を増加させることができる。

30

【0027】

本発明で使用する2-エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2,3-ブタンジオールジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種は、それぞれ単独で使用してもよく併用してもよい。濃度は、用途によって適宜選択しうるが、一般には、上記化合物を $1 \times 10^{-3} \sim 1 \times 10^{-5}$ 倍、より好ましくは $3 \times 10^{-3} \sim 8 \times 10^{-4}$ 倍、特に好ましくは $5 \times 10^{-3} \sim 5 \times 10^{-4}$ 倍に希釈して使用する。希釈溶媒は、水でもよいがフェロモンとしての効果を損なわない他の溶媒その他を配合してもよい。上記濃度に希釈した場合の使用量は $1 \sim 1000 \mu\text{l}$ 、好ましくは $5 \sim 500 \mu\text{l}$ 、より好ましくは $10 \sim 300 \mu\text{l}$ である。

40

【0028】

本発明において、マウスの交配促進のために用いる態様としては、2-エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2,3-ブタンジオールジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種を含む部材をケージのいずれかに載置したり、このようなケージのいずれかに上記化合物を塗布したり、または上記化合物を直接メスマウスに塗布する方法などがある。

【0029】

ケージに上記化合物を含む部材を載置して複数のメスマウスを飼育すれば、上記化合物がケージ内の雰囲気中に揮散してメスマウスの性周期を同調させることができる。その他、

50

ケージ内に上記化合物を揮散することができれば、上記態様に限定されるものではない。したがって、いずれかのメスマウスに上記化合物を塗布した場合にも、他のメスマウスの性周期を同調させることができる。

【0030】

また、オスマウスと上記化合物を塗布したメスマウスとをケージで飼育すると、オスマウスによる追尾行動が増加するため交配機会が増加する。本発明で使用する上記化合物は揮発性であるため、メスマウスに直接塗布せず、ケージに上記化合物を含む部材を載置したりケージ自体やケージ内の部材のいずれかに上記化合物を塗布することでオスマウスによる追尾行動が促進される。ただし、より効果的にはメスマウスに上記化合物を塗布する態様である。追尾行動の促進により交配機会が増加し、繁殖率を増加させることができる。

10

【0031】

本発明の第三は、2 - エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2, 3 - ブタンジオールジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種を含む部材をネズミ類捕獲装置に配設することを特徴とする、ネズミ類の捕獲方法である。「2 - エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2, 3 - ブタンジオールジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種を含む部材」としては、ネズミ類をネズミ類捕獲装置に誘導するためのおとり食物であってもよく、その他、水、紙基材、布基材、パルプ基材、樹脂基材、無機基材、これらの複合基材、その他の媒体に、2 - エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2, 3 - ブタンジオールジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種を含浸その他の方法で含ませた部材を広く使用することができる。

20

【0032】

ネズミ類は、夜行性であるためコミュニケーションには、視覚情報より化学物質が重要な役割を果たしている。フェロモンは、このようなケミカルコミュニケーションに関与する物質のひとつである。ネズミ類捕獲装置にフェロモンを含む部材を配設すると、ネズミ類がこれを媒体としてケミカルコミュニケーションを行うため捕獲装置内に誘導される。前記2 - エチルヘキサノールおよび2, 3 - ブタンジオールジアセテートをメスマウスに塗布するとオスマウスの追尾行動が誘発される。上記化合物を含む部材をネズミ類捕獲装置内に載置すると、前記部材から揮散するフェロモンに誘発されてオスマウスが前記部材を追尾し、ネズミ類捕獲装置内に誘導される。

30

【0033】

ネズミ類捕獲装置としては、ネズミ類の侵入口があり、侵入したネズミ類が装置内に捕獲された状態で維持しうるものを広く使用することができる。たとえば、ネズミ類の侵入口から誘導されたネズミ類が底部の粘着層によって捕獲される態様のネズミ類捕獲装置の場合には、2 - エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2, 3 - ブタンジオールジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種を含有させた粘着層を使用してもよい。

【0034】

本来、ネズミ類捕獲装置は、ネズミ類を捕獲することが目的であり飼育を目的としていない。このため、本来、おとり食物などの給餌を配置する必要がない。本発明によれば、2 - エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2, 3 - ブタンジオールジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種を含む部材を使用することで、芋、チーズ、ソーセージなどの生の食品を使用する場合に発生する腐敗などの問題を回避することができる。

40

なお、本発明では、毒物などを使用しないため、フィールドにおいて、絶滅危惧種や希少動物とされているネズミ類の捕獲を行うこともできる。

【実施例】

【0035】

次に実施例を挙げて本発明を具体的に説明するが、これらの実施例は何ら本発明を制限するものではない。

【0036】

(実施例1)

50

マウスは、S P F 動物室で14時間点灯、10時間消灯の照明条件(0500~1900時)、室温 $23 \pm 3$  の環境下で飼育し、固型飼料(ラボMRストック、日本農産工業、神奈川)と水を自由に摂取させたものを各実施例及び比較例に使用した。

上記により飼育した12~15週齢のC57BL系メスマウスの8匹から卵巣を摘出した。前記卵巣摘出マウスの内4匹には、摘出手術直後からエストラジオール17を0.4mg/mlでごま油に溶解した液を充填したシラスコンチューブ(内径0.2cm、全長1cm)を留置した。留置より1週間後、プロジェステロン0.4mgを皮下投与し、その30分後に300 $\mu$ lの尿を採取した(エストラジオール17投与群)。

一方、前記卵巣摘出マウスの内4匹には、摘出手術直後からごま油を充填したシラスコンチューブ(内径0.2cm、全長1cm)を留置した。留置より1週間後、300 $\mu$ lの尿を採取した(エストラジオール17非投与群)。

エストラジオール17投与群およびエストラジオール17非投与群から得られた尿を、それぞれ脱臭水1ml、ジクロロメタン1ml、酢酸エチル100 $\mu$ lとともによく攪拌し、有機溶媒層のみを抽出した。なお、脱臭水とは、精製したポラスポリマー(ジーエルサイエンス株式会社製、商品名「Tenax TA」)充填ガラスカラムに、超純水を通させて作成したものである。ついで、前記有機溶媒層に硫酸ナトリウムを適量加えて十分に脱水した後、溶媒を窒素ガスにて10 $\mu$ lまで留去してGC-MS用試料とした。なお、GC-MS分析は、下記条件にて行った。

エストラジオール17投与群とエストラジオール17非投与群のGC-MSのチャートを図1に示す。エストラジオール17投与群と非投与群との相違から、本発明では、エストラジオール17投与群の尿中に出現する化合物を選択し、2-エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2,3-ブタンジオールジアセテートをメスマウスの新規フェロモンとして特定した。

#### 【0037】

GC-MS分析条件

装置：株式会社島津製作所製「GCMS-QP2010」

キャピラリーカラム：アジレントテクノロジ社製、「DB-WAX」、カラム直径：0.25mm、フィルム厚；0.25 $\mu$ m、総長；60m

分析条件：カラム温度40で5分間保持したのち、3/分の速度で220まで昇温

#### 【0038】

(実施例2)

2-エチルヘキサノール(東京化成株式会社製)を脱臭水に1/10,000の濃度に溶解し、12~15週齢、C57BL系、卵巣摘出した成熟メスマウス4匹の膣口に綿棒にて30~100 $\mu$ l塗布した。このメスマウスを12~15週齢、C57BL系の成熟オスマウス4匹の単飼ケージにそれぞれ導入し、その後のオスマウスの行動を15分間観察した。オスマウスがメスマウスを追尾する行動は、15分間に平均約12回程度であった。結果を図2に示す。

#### 【0039】

(比較例1)

2-エチルヘキサノール(東京化成株式会社製)を脱臭水に1/10,000の濃度に溶解したものに代えて脱臭水を30~100 $\mu$ l塗布した以外は、実施例2と同様に操作し、オスマウスがメスマウスを追尾する行動を観察した。オスマウスがメスマウスを追尾する行動は、15分間に平均6回であった。結果を図2に示す。実施例2と比較し、追尾行動は有意に低かった。2-エチルヘキサノールをメスマウスに塗布することで、オスマウスの追尾行動が促進され、交配機会が増加し、繁殖率を増加させられる可能性が示唆された。

#### 【0040】

(実施例3)

鋤鼻器官の影響を調べるため、オスマウスに鋤鼻器官切除術(VMOX)を行い、鋤鼻

10

20

30

40

50



器官切除マウスとシャムオペマウスによるメスマウスへの追尾行動を比較観察した。

12～15週齢、C57BL系の成熟オスマウス4匹に下記に従い鋤鼻器官を摘出し、単飼ケージで飼育した(鋤鼻器官切除マウス群)。鋤鼻器官切除マウス群には、さらにドリルで鋤骨尾側端を切断して鋤骨を取り出した。その後、あいた腔にスポンゼルを詰めて傷口を閉じた。

一方、対照として12～15週齢、C57BL系の成熟オスマウス4匹にシャムオペを行い、単飼ケージで飼育した。シャムオペは、マウスを麻酔下に頭位を固定し、軟口蓋を小白歯の生え始める辺りの奥側から門歯ギリギリまで正中切開し、時計ピンセットで口蓋の表皮を観音開きにして骨を露出した(シャムオペ群)。

2-エチルヘキサノール(東京化成株式会社製)を脱臭水に1/10,000の濃度に溶解し、12～15週齢、C57BL系、卵巣摘出後ごま油を留置した成熟メスマウス4匹の腔口に綿棒にて30～100 $\mu$ l塗布した。このメスマウスを前記シャムオペ群および鋤鼻器官切除マウス群のマウスの単飼ケージにそれぞれ導入し、その後のオスマウスの行動を15分間観察した。オスマウスがメスマウスを追尾する行動は、15分間に鋤鼻器官切除マウス群では平均7回、シャムオペ群では12回であった。結果を図3に示す。以上より、2-エチルヘキサノールが鋤鼻器系を介する性フェロモン的一种であることが示唆された。

#### 【0041】

(実施例4)

2-エチルヘキサノール(シグマアルドリッチ社製)およびウンデカン(シグマアルドリッチ社製)をそれぞれ脱臭水に1/10,000の濃度に溶解し、10週齢、C57BL6-J系、卵巣摘出した成熟メスマウス6匹の腔口に綿棒にて30～100 $\mu$ l塗布した。このメスマウスを10週齢、C57BL6-J系の成熟オスマウス6匹の単飼ケージにそれぞれ導入し、その後のオスマウスの行動を30分間観察した。オスマウスのメスマウスに対する乗駕行動は平均約12回であった。結果を図4に示す。

#### 【0042】

(比較例2)

実施例4と異なる日に、実施例4で使用したメスマウス6匹の腔口に綿棒にて蒸留水を30～100 $\mu$ l塗布した。このメスマウスを実施例4で使用したオスマウスの単飼ケージにそれぞれ導入し、その後のオスマウスの行動を15分間観察した。オスマウスに対する乗駕行動は平均約7回であった。結果を図4に示す。

1-ヨード-2-メチルウンデカンはオスマウスのメスマウスに対する追尾行動の増加は生じるものの、乗駕行動を含む性行動の増加は観察されない。しかしながら、本発明で使用する2-エチルヘキサノールおよびウンデカンは、投与により乗駕行動を含む性行動の増加が認められ、1-ヨード-2-メチルウンデカンを凌駕する優れた作用を持つことが示唆された。

#### 【0043】

(実施例5)

2-エチルヘキサノール(シグマアルドリッチ社製)およびウンデカン(シグマアルドリッチ社製)をそれぞれ脱臭水に1/10,000の濃度に溶解した交配誘引剤10mlをペーパータオルに染み込ませて交配誘引剤含有タオルを調製し、これを直径1.5mの円形容器の端に設置した。

一方、蒸留水10mlをペーパータオルに染み込ませて蒸留水含有タオルを調製し、これを前記円形容器の中心を基準に前記交配誘引剤含有タオルと対向する端に設置した。

10週齢、C57BL6-J系、成熟オスマウスをこのケージ内に導入し、このオスマウスの行動を15分間観察した。実験は4匹のマウスについて1匹ずつ行った。

オスマウスが蒸留水含有タオルの匂いをかいだ回数が平均約12回だったのに対し、交配誘引剤含有タオルの匂いをかいだ回数は平均約16回と、有意に多かった。結果を図5に示す。

この結果から、2-エチルヘキサノールおよびウンデカンを用いてオープンフィールド

10

20

30

40

50

におけるネズミ類の捕獲効率の向上が示唆される。

【 0 0 4 4 】

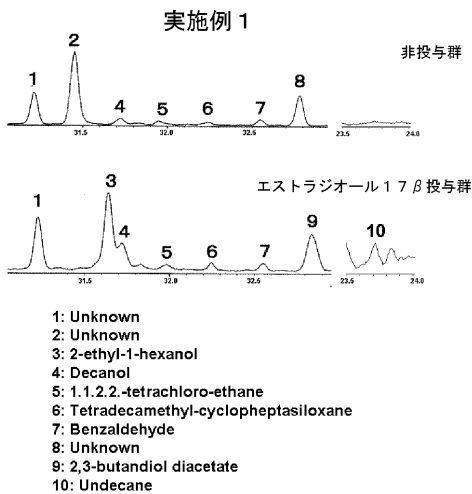
本発明は 2 0 1 1 年 1 0 月 3 日に出願された日本国特許出願 2 0 1 1 - 2 1 9 1 1 1 号に基づく。本明細書中に日本国特許出願 2 0 1 1 - 2 1 9 1 1 1 号の明細書、特許請求の範囲、図面全体を参照として取り込むものとする。

【 産 業 上 の 利 用 可 能 性 】

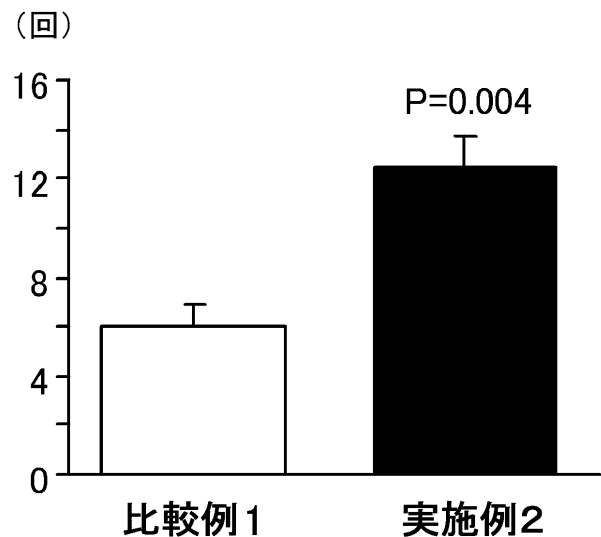
【 0 0 4 5 】

本発明によれば、簡便、安価かつ安全にマウスの交配を誘引することができる。このため、繁殖力の弱いマウスに対して交配確率を増加して繁殖力を向上させ、または農場や牧場などのネズミ類の被害の多い場所では、ネズミ類の捕獲効率を向上させることができる。

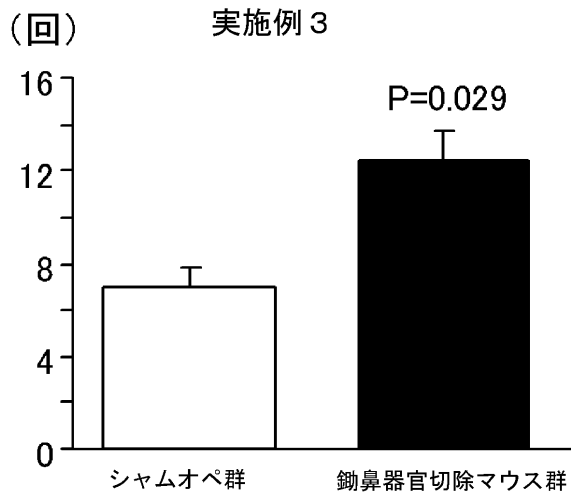
【 図 1 】



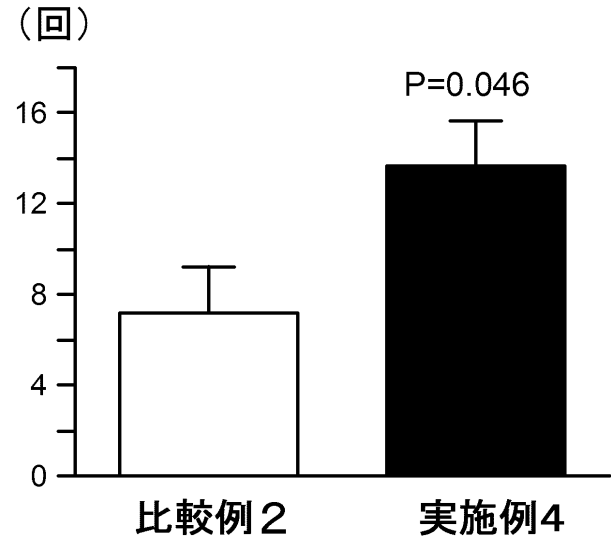
【 図 2 】



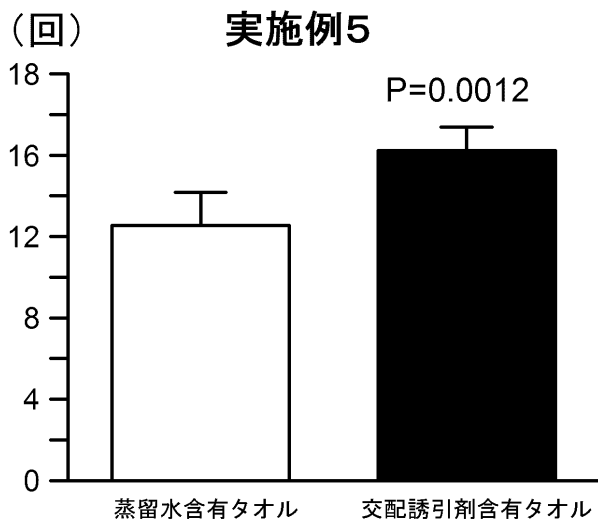
【 図 3 】



【 図 4 】



【 図 5 】



## 【手続補正書】

【提出日】平成25年4月23日(2013.4.23)

## 【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】

2, 3 - ブタンジオール ジアセテートを含有するマウスの交配誘引剤。

【請求項2】

2, 3 - ブタンジオール ジアセテートを用いることを特徴とする、マウスの交配促進方法。

【請求項3】

2, 3 - ブタンジオール ジアセテートを含む部材をネズミ類捕獲装置に配設することを特徴とする、ネズミ類の捕獲方法。

【請求項4】

2, 3 - ブタンジオール ジアセテートと共に、2 - エチルヘキサノールおよび/またはウンデカン含有する、請求項1記載の交配誘引剤。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0001

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0001】

技術分野

[0001]

本発明は、2, 3 - ブタンジオール ジアセテートを含有するマウスの交配誘引剤、前記化合物をメスマウスに使用したマウスの交配促進方法およびネズミ類の捕獲方法に関する。

背景技術

[0002]

マウスやラットなどのネズミ類は、穀物を食い荒らし、ペストをはじめとする種々の伝染病を媒介する。また、近年では、ネズミ類による電気配線への噛み付きが停電や火事の原因ともなっている。このようなネズミによる害を防止するため、ネズミの駆除を目的とする齧歯動物用フードを用いた捕獲器が開発され、シーズニングオイルや海藻類を使用するものの他、米糠や米糠由来成分を配合した齧歯動物用誘引・喫食性向上剤が開発されている(特許文献1)。

[0003]

また、性誘引剤を使用して害虫駆除を駆除する方法も提案されている(特許文献2)。フェロモンは同種の動物どうしがコミュニケーションをとるために体外へ放出する化学物質の総称であり、異性を互いに引きよせるなど、繁殖行動の際に重要な役割を果たす。特許文献2では、ミカンヒメコナカイガラムシのフェロモンとして2, 2 - ジメチル - 3 - (1 - メチルエテニル)シクロブタンメチル3 - メチル - 3 - プテネートを特定し、これを性誘引剤として使用することを提案している。なお、前記化合物は、ミカンヒメコナカイガラムシ未交尾雌成虫を接種したカボチャの雰囲気から抽出され、ミカンヒメコナカイガラムシ雄成虫に対する性誘引活性を指標として選択された化合物である。

[0004]

フェロモンは、種特異性が高い。マウスに関するフェロモンとして、性成

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0005

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0005】

を目的とする。

[0014]

また、このような交配誘引剤を使用したネズミ類の捕獲方法やマウスの交配促進方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0015]

本発明者らは、マウスのフェロモン様化合物について検索したところ、エストロジェンによって発情させたメスマウスが、尿中に2-エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2,3-ブタンジオール ジアセテートを分泌することを見いだした。これらの化合物をメスマウスに塗布するとオスマウスによる追尾行動が増加した。上記化合物は揮発性であるため、おとり食物などに混練してネズミ捕獲装置内に収納すればネズミを捕獲しうる。上記化合物は、オスマウスの鋤鼻器官を切除すると増加していた追尾行動量が減少するため、鋤鼻器官を介して行動や内分泌系を制御する交配誘引剤として作用する。

[0016]

すなわち、本発明は、2,3-ブタンジオール ジアセテート単独、または、2,3-ブタンジオール ジアセテートに更に2-エチルヘキサノールおよび/またはウンデカンを含むマウスの交配誘引剤を提供するものである。

[0017]

また本発明は、2,3-ブタンジオール ジアセテートを用いることを特徴とする、マウスの交配促進方法を提供するものである。

[0018]

また本発明は、2,3-ブタンジオール ジアセテートを含む部材をネズミ類捕獲装置に配設することを特徴とする、ネズミ類の捕獲方法を提供するものである。

発明の効果

[0019]

本発明によれば、新規なマウスの交配促進剤を提供することができる。

また、本発明によればメスマウスに前記交配促進剤を塗布することでオスマウスの追尾行動を誘引できるため、マウスの交配機会を増加することができる

本発明の交配促進剤は、これを他の給餌と混練することでネズミ類の捕獲

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0006

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0006】

装置に使用するおとり食物として使用することができる。

図面の簡単な説明

[0020]

[図1] 実施例1の結果を示す図である。卵巣摘出手術後にエストラジオール17 を投与したメスマウスの尿のGC-MSクロマトグラムと、非投与群のメスマウスの尿のGC-MSクロマトグラムである。

[図2] 実施例2、比較例1の結果を示す図である。卵巣を摘出したメスマウスに、2-エチル-1-ヘキサノールの1/10,000溶液を塗布し(実施例2)、または脱臭水を塗布し(比較例1)、オスマウスの単飼ケージに導入した際の15分間の雄マウスの追尾回数を示す。

[ 図 3 ] 実施例 3 の結果を示す図である。鋤鼻器官切除マウス群とシャムオペ群とを調製し、メスマウスへの追尾行動を観察した結果を示す。

[ 図 4 ] 実施例 4、比較例 2 の結果を示す図である。2 - エチルヘキサノールとウンデカンとの混合物を卵巣摘出した成熟メスマウスに塗布し、成熟オスマウスの行動を観察した結果を示す(実施例 4)。蒸留水を塗布した比較例 2 も同様に観察した。

[ 図 5 ] 実施例 5 の結果を示す図である。2 - エチルヘキサノールとウンデカンとの混合物をタオルに含浸して交配誘引剤含有タオルとし、成熟オスマウスの行動を観察した結果を示す(実施例 5)。蒸留水を塗布した蒸留水含有タオルを対照として観察した。

発明を実施するための形態

[ 0 0 2 1 ]

本発明の第一は、2, 3 - ブタンジオール ジアセテートを含有するマウスの交配誘引剤である。本発明の交配誘引剤は、更に 2 - エチルヘキサノールおよび/またはウンデカンを含むものであってもよい。

卵巣は、性ホルモンであるエストロゲンとプロゲステロンとを分泌する組織である。後記する実施例に示すように、卵巣を摘出したメスマウス群と、卵巣摘出後にエストロゲンを投与したメスマウス群とからそれぞれの尿を採取して成分を比較すると、エストロゲン投与群に特異な成分として 2 - エチルヘキサノール、ウンデカンおよび 2, 3 - ブタンジオール ジアセ

【手続補正 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 0 7

【補正方法】変更

【補正の内容】

[ 0 0 0 7 ]

テートとが見出された。上記化合物の希釈液をメスマウスに塗布してオスマウスの単飼ケージに投入すると、オスマウスによる追尾行動が増加することが判明した。マウスの嗅覚系は、主嗅覚系と鋤鼻系とからなり、フェロモンは鋤鼻系で認識されると考えられている。オスマウスの鋤鼻器官を摘出すると前記追尾行動が減少したので、上記化合物は、オスマウスの鋤鼻器官で認識されるフェロモンの 1 種と考えられる。

[ 0 0 2 2 ]

本発明の交配誘引剤は、2, 3 - ブタンジオール ジアセテートを単独で使用してもよく、2 - エチルヘキサノールやウンデカンを混合して使用してもよい。2, 3 - ブタンジオール ジアセテート以外の化合物は市販されており、入手が容易である。本発明の特徴は、このような入手が容易な化合物がマウスのフェロモンであることを見出した点にある。これにより、当該化合物を交配誘引剤として広範囲に使用することができる。しかも、本発明の交配誘引剤を構成する上記化合物はいずれも揮発性成分であるため、オスマウスは本発明の交配誘引剤に直接アクセスすることなく、雰囲気を通して認識することができる。このため、本発明の交配誘引剤に直接接触する以外の用途にも、本発明の交配誘引剤を使用することができる。

[ 0 0 2 3 ]

メスマウスに直接塗布する場合には、上記化合物の  $1 \times 10^{-3} \sim 1 \times 10^{-5}$  倍、より好ましくは  $3 \times 10^{-3} \sim 8 \times 10^{-4}$  倍、特に好ましくは  $5 \times 10^{-3} \sim 5 \times 10^{-4}$  倍の希釈液を交配誘引剤として使用する。この範囲で十分にオスマウスに認識され、交配誘引効果を発揮しうるからである。希釈液は、上記化合物を水に溶解して調製することができる。その他、上記化合物の安定性を確保でき、かつ交配誘引剤としての効果を維持しうる種々の成分を配合し、乳剤、懸濁液、軟膏などに調製してもよい。たとえば、上記化合物を予め少量のエタノール、アセトン、ジメチルスルホキシド、ゴマ油などに溶解し、ついで水を添加して上記濃度の希釈液を調製することができる。水とともに乳化剤を添加すれば、乳剤を調製することもできる。

[ 0 0 2 4 ]

本発明の第二は、2, 3 - ブタンジオール ジアセテートを用いることを特徴とする、マウスの交配促進方法である。マウスやラットは医学研究領域

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0008

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0008】

その他で多用される小動物であるが、系統のなかには繁殖能力の弱い系統も存在するため、交配を促進することで繁殖率を向上させることができる。なお、本発明において「2, 3 - ブタンジオール ジアセテートを用いる」とは、塗布その他によってメスマウスに投与する態様の他、いずれかの方法でメスマウスに効果を及ぼす場合を含む。

[0025]

前記したように、2, 3 - ブタンジオール ジアセテートは、エストロゲンによって偽発情状態を誘導されたメスマウスの尿に出現する成分であり、フェロモンの1種である。ここに、フェロモンは、リリーサーフェロモンとプライマーフェロモンとに大別される。リリーサーフェロモンとは、同種他個体に直接的な行動を引き起こすフェロモンと定義され、フェロモンの効果は短時間に起こりすぐ行動をひきおこすものである。また、プライマーフェロモンとは、同種他個体の生理過程に影響し、間接的に個体の発達や生殖機能などに効果を与えるフェロモンと定義され、効果は比較的長時間に持続し、影響はホルモンなどの変化により二次的なものとなる。本発明で使用する2, 3 - ブタンジオール ジアセテートは、これらをメスマウスに塗布するとオスマウスによる追尾行動が増加するため、少なくともリリーサーフェロモンとしての作用を有する。

[0026]

一方、2 - エチルヘキサノール、ウンデカンおよび2, 3 - ブタンジオール ジアセテートからなる群から選択される少なくとも1種は、エストロゲン投与によって尿中に排出された成分であり、エストロゲンは性周期に関連するホルモンである。このため、上記化合物は性周期に関連して排出される成分といえる。マウスにおけるプライマーフェロモンの作用としては、性周期の同調作用が知られている。複数のメスマウスを集団飼育する際に、ケージ内に上記化合物を導入してメスマウスの性周期を同調させて交配管理を行うことで繁殖力を増加させることができる。

[0027]

交配促進方法に使用する濃度は、一般には、上記化合物を $1 \times 10^{-3} \sim 1 \times 10^{-5}$ 倍、より好ましくは $3 \times 10^{-3} \sim 8 \times 10^{-4}$ 倍、特に好ましくは $5 \times 10^{-3} \sim 5 \times 10^{-4}$ 倍に希釈して使用する。希釈溶媒は、水でもよいがフ

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0009

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0009】

エロモンとしての効果を損なわない他の溶媒その他を配合してもよい。上記濃度に希釈した場合の使用量は $1 \sim 1000 \mu\text{l}$ 、好ましくは $5 \sim 500 \mu\text{l}$ 、より好ましくは $10 \sim 300 \mu\text{l}$ である。

[0028]

本発明において、マウスの交配促進のために用いる態様としては、2, 3 - ブタンジオール ジアセテートを含む部材をケージのいずれかに載置したり、このようなケージのいずれかに上記化合物を塗布したり、または上記化合物を直接メスマウスに塗布する方法などがある。

[0029]

ケージに上記化合物を含む部材を載置して複数のメスマウスを飼育すれば、上記化合物がケージ内の雰囲気中に揮散してメスマウスの性周期を同調させることができる。その他、ケージ内に上記化合物を揮散することができれば、上記態様に限定されるものではない。したがって、いずれかのメスマウスに上記化合物を塗布した場合にも、他のメスマウスの性周期を同調させることができる。

[ 0 0 3 0 ]

また、オスマウスと上記化合物を塗布したメスマウスとをケージで飼育すると、オスマウスによる追尾行動が増加するため交配機会が増加する。本発明で使用する上記化合物は揮発性であるため、メスマウスに直接塗布せず、ケージに上記化合物を含む部材を載置したりケージ自体やケージ内の部材のいずれかに上記化合物を塗布することでオスマウスによる追尾行動が促進される。ただし、より効果的にはメスマウスに上記化合物を塗布する態様である。追尾行動の促進により交配機会が増加し、繁殖率を増加させることができる。

[ 0 0 3 1 ]

本発明の第三は、2, 3 - ブタンジオール ジアセテートを含む部材をネズミ類捕獲装置に配設することを特徴とする、ネズミ類の捕獲方法である。「2, 3 - ブタンジオール ジアセテートを含む部材」としては、ネズミ類をネズミ類捕獲装置に誘導するためのおとり食物であってもよく、その他、水、紙基材、布基材、パルプ基材、樹脂基材、無機基材、これらの複合基材、その他の媒体に、2, 3 - ブタンジオール ジアセテートを含浸その他の方法で含ませた部材を広く使用することができる。

【手続補正 9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

[ 0 0 1 0 ]

[ 0 0 3 2 ]

ネズミ類は、夜行性であるためコミュニケーションには、視覚情報より化学物質が重要な役割を果たしている。フェロモンは、このようなケミカルコミュニケーションに関与する物質のひとつである。ネズミ類捕獲装置にフェロモンを含む部材を配設すると、ネズミ類がこれを媒体としてケミカルコミュニケーションを行うため捕獲装置内に誘導される。前記2 - エチルヘキサノールおよび2, 3 - ブタンジオール ジアセテートをメスマウスに塗布するとオスマウスの追尾行動が誘発される。上記化合物を含む部材をネズミ類捕獲装置内に載置すると、前記部材から揮散するフェロモンに誘発されてオスマウスが前記部材を追尾し、ネズミ類捕獲装置内に誘導される。

[ 0 0 3 3 ]

ネズミ類捕獲装置としては、ネズミ類の侵入口があり、侵入したネズミ類が装置内に捕獲された状態で維持しうるものを広く使用することができる。たとえば、ネズミ類の侵入口から誘導されたネズミ類が底部の粘着層によって捕獲される態様のネズミ類捕獲装置の場合には、2, 3 - ブタンジオールジアセテートを含有させた粘着層を使用してもよい。

[ 0 0 3 4 ]

本来、ネズミ類捕獲装置は、ネズミ類を捕獲することが目的であり飼育を目的としていない。このため、本来、おとり食物などの給餌を配置する必要がない。本発明によれば、2, 3 - ブタンジオール ジアセテートを含む部材を使用することで、芋、チーズ、ソーセージなどの生の食品を使用する場合に発生する腐敗などの問題を回避することができる。

なお、本発明では、毒物などを使用しないため、フィールドにおいて、絶滅危惧種や希少動物とされているネズミ類の捕獲を行うこともできる。

実施例

[ 0 0 3 5 ]



次に実施例を挙げて本発明を具体的に説明するが、これらの実施例は何ら本発明を制限するものではない。

[ 0 0 3 6 ]

( 実施例 1 )

マウスは、S P F 動物室で 1 4 時間点灯、1 0 時間消灯の照明条件 ( 0 5 0 0 ~ 1 9 0 0 時 )、室温  $23 \pm 3$  の環境下で飼育し、固型飼料 ( ラボ M R ストック、日本農産工業、神奈川 ) と水を自由に摂取させたものを各実施

【 手続補正 1 0 】

【 補正対象書類名 】 明細書

【 補正対象項目名 】 0 0 1 1

【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【 0 0 1 1 】

例及び比較例に使用した。

上記により飼育した 1 2 ~ 1 5 週齢の C 5 7 B L 系メスマウスの 8 匹から卵巣を摘出した。前記卵巣摘出マウスの内 4 匹には、摘出手術直後からエストラジオール 1 7 を 0 . 4 m g / m l でごま油に溶解した液を充填したシラスコンチューブ ( 内径 0 . 2 c m、全長 1 c m ) を留置した。留置より 1 週間後、プロジェステロン 0 . 4 m g を皮下投与し、その 3 0 分後に 3 0 0  $\mu$  l の尿を採取した ( エストラジオール 1 7 投与群 )。

一方、前記卵巣摘出マウスの内 4 匹には、摘出手術直後からごま油を充填したシラスコンチューブ ( 内径 0 . 2 c m、全長 1 c m ) を留置した。留置より 1 週間後、3 0 0  $\mu$  l の尿を採取した ( エストラジオール 1 7 非投与

【 手続補正書 】

【 提出日 】 平成 26 年 4 月 21 日 ( 2014 . 4 . 21 )

【 手続補正 1 】

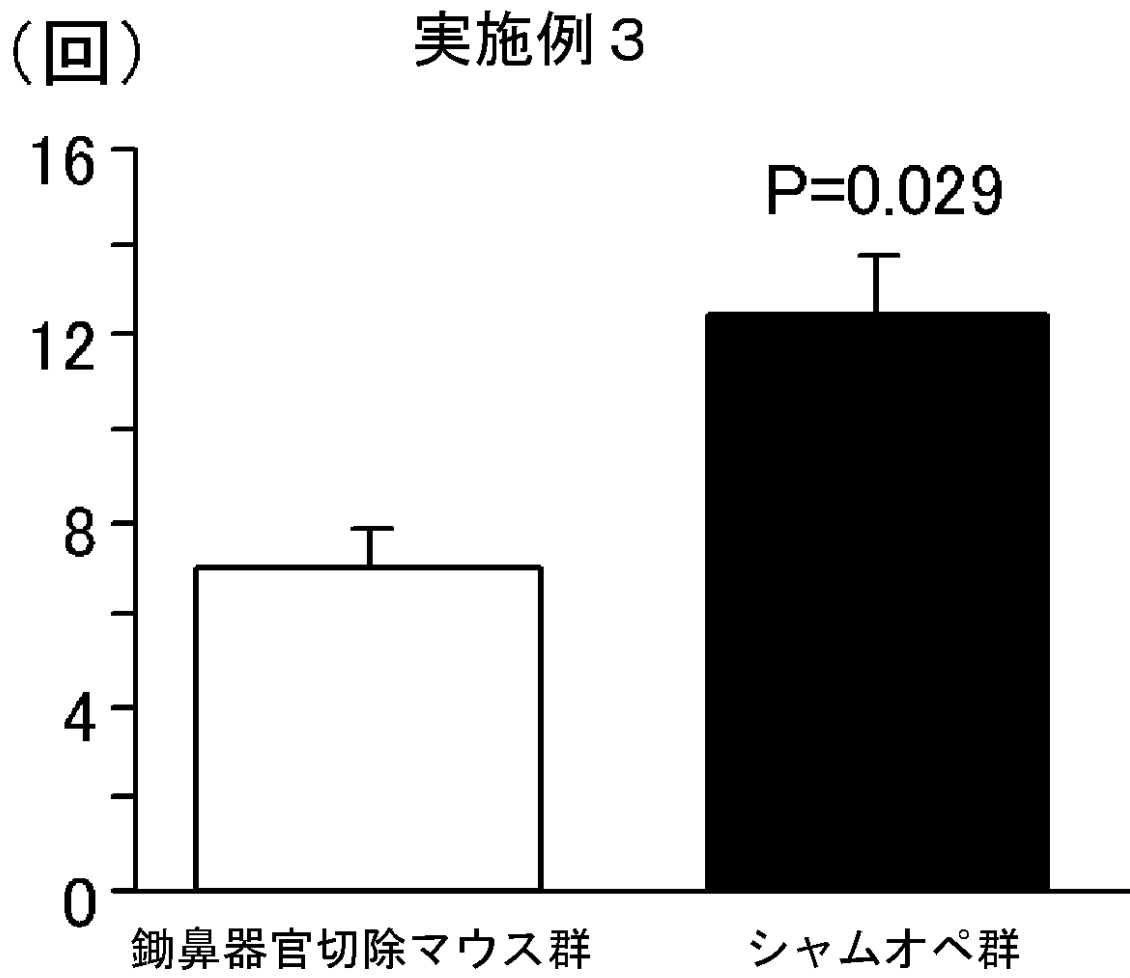
【 補正対象書類名 】 図面

【 補正対象項目名 】 図 3

【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【図3】



## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2012/075521
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> A61K31/01(2006.01)i, A01M23/00(2006.01)i, A61K31/045(2006.01)i, A61K31/194(2006.01)i, A61P15/00(2006.01)i, A61P15/08(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) A61K31/01, A01M23/00, A61K31/045, A61K31/194, A61P15/00, A61P15/08  Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2012 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2012 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2012  Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CA/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Perez-Miller S, et al, High resolution X-ray structures of mouse major urinary protein nasal isoform in complex with pheromones., Protein Sci., 2010.08, 19(8), 1469-79, doi: 10.1002/pro.426.	1-3
X	Achiraman S, Archunan G., 1-Iodo-2methylundecane, a putative estrus-specific urinary chemo-signal of female mouse (Mus musculus), Theriogenology, 2006, 66(8), 1913-20	1-3
A	Mallouchos A, et al, Volatile compounds of wines produced by cells immobilized on grape skins., J Agric Food Chem., 2003.05.07, 51(10), 3060-66	1-3
<input 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 "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 28 December, 2012 (28.12.12)		Date of mailing of the international search report 15 January, 2013 (15.01.13)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/075521

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Claim 1 of the present application includes an alternative expression. However, the compounds specified in claim 1 are not recognized as a group of compounds and, moreover, have no characteristic structural moiety in common. Therefore, it is obvious that the aforesaid expression does not specify matters having similar properties.

Therefore, the invention of claim 1 does not satisfy the requirement of same or corresponding special technical feature.

Further, the above-said opinion may be also applied to the inventions of claims 2 and 3

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2012/075521									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A61K31/01(2006.01)i, A01M23/00(2006.01)i, A61K31/045(2006.01)i, A61K31/194(2006.01)i, A61P15/00(2006.01)i, A61P15/08(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. A61K31/01, A01M23/00, A61K31/045, A61K31/194, A61P15/00, A61P15/08											
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 <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2012年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2012年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2012年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2012年	日本国実用新案登録公報	1996-2012年	日本国登録実用新案公報	1994-2012年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2012年										
日本国実用新案登録公報	1996-2012年										
日本国登録実用新案公報	1994-2012年										
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CA/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(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	Perez-Miller S, et al, High resolution X-ray structures of mouse major urinary protein nasal isoform in complex with pheromones., Protein Sci., 2010, 08, 19(8), 1469-79, doi: 10.1002/pro.426.	1-3									
X	Achiraman S, Archunan G., 1-Iodo-2methylundecane, a putative estrus-specific urinary chemo-signal of female mouse (Mus musculus), Theriogenology, 2006, 66(8), 1913-20	1-3									
<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ー		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 28.12.2012		国際調査報告の発送日 15.01.2013									
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) 金子 亜希	4C 3956								
		電話番号 03-3581-1101 内線 3452									

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2012/075521

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
A	Mallouchos A, et al, Volatile compounds of wines produced by cells immobilized on grape skins., J Agric Food Chem., 2003.05.07, 51(10), 3060-66	1-3

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 2 / 0 7 5 5 2 1

## 第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1.  請求項 \_\_\_\_\_ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2.  請求項 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3.  請求項 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

本願の請求項1は、択一的記載を含むものであるが、請求項1に規定された化合物群は、一群のものとして認識されるものではないうえ、特徴的な構造部分を共通して有するものでもないから、前記記載は同様の性質のものを特定するものでないことは明らかである。したがって、請求項1に係る発明は、同一又は対応する特別な技術的特徴の要件を満たしていない。また、請求項2、3に係る発明についても同様である。

1.  出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2.  追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3.  出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4.  出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

様式PCT/ISA/210 (第1ページの続葉(2)) (2009年7月)

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, 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, 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, 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, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(72)発明者 大畑 素子

日本国神奈川県相模原市南区北里1丁目15番1号 学校法人北里研究所内

Fターム(参考) 4C206 AA01 AA02 BA01 CA07 DA36 MA01 MA04 NA14 ZC03 ZC61

(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。