

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】令和 2 年 4 月 30 日 (2020.4.30)

【公表番号】特表 2019-517778 (P2019-517778A)

【公表日】令和 1 年 6 月 27 日 (2019.6.27)

【年通号数】公開・登録公報 2019-025

【出願番号】特願 2018-552671 (P2018-552671)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/6844 (2018.01)

C 1 2 Q 1/06 (2006.01)

C 1 2 N 15/10 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/6844 Z N A Z

C 1 2 Q 1/06

C 1 2 N 15/10 1 0 0 Z

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 3 月 19 日 (2020.3.19)

【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】

核酸増幅法であって、

試料を、リン酸緩衝液構成成分を含まない配合を有し、第 1 の緩衝液を含む栄養培地と接触させることによって、集積培養物を形成することと、

前記集積培養物を、ある時間、標的微生物の生育を促進する温度に維持することと、

前記集積培養物を維持した後に、第 1 の体積の前記集積培養物を第 2 の体積の溶解緩衝液と混合し、第 3 の体積の水性組成物を形成することにより、前記水性組成物を形成することであって、

前記第 1 の体積の前記集積培養物を前記第 2 の体積の前記溶解緩衝液と混合することが、無希釈の第 1 の体積の前記集積培養物を前記第 2 の体積の前記溶解緩衝液と混合することを含み、

前記溶解緩衝液が第 2 の緩衝液を含み、

前記溶解緩衝液が有機多価陽イオンキレート試薬を含み、前記有機多価陽イオンキレート試薬が、三価鉄に対して  $10^4 \cdot 2$  以上の第 1 の結合定数と、マグネシウムに対して  $10^3 \cdot 8$  未満の第 2 の結合定数とを有し、前記第 1 の結合定数及び前記第 2 の結合定数が、20 の脱イオン水中、pH 8.45 で測定されたものであり、

前記溶解緩衝液は、25 で pH が 8.6 超であり、

前記水性組成物は、25 で pH が約 8.45 ~ 8.85 であり、

前記水性組成物中の前記第 1 の緩衝液と前記第 2 の緩衝液との合算した濃度が、少なくとも約 15 mM であり、

前記第 1 の体積の前記第 2 の体積に対する比が 3 : 1 以上であり、前記第 2 の体積の前記第 3 の体積に対する比が 1 : 4 以下である、前記水性組成物を形成することと、

前記水性組成物を、ポリメラーゼ媒介核酸増幅反応を阻害する物質を封鎖する有効量の水不溶性材料と接触させることと、

前記水性組成物を熱溶解プロセスに付すことと、

前記水性組成物を前記熱溶解プロセスに付した後に、前記水性組成物の一部分を核酸増幅プロセスに付すことと、

を含む、方法。

【請求項 2】

前記溶解緩衝液が三価鉄を更に含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記第 1 の体積の前記第 2 の体積に対する前記比が 5 : 1 以上であり、前記第 2 の体積の前記第 3 の体積に対する前記比が 1 : 6 以下である、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記水不溶性材料が、前記第 3 の体積中、約  $10 \text{ m}^2 / \text{L}$  ~ 約  $600 \text{ m}^2 / \text{L}$  の表面積を有する、複数の酸化ジルコニウム粒子を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記水性組成物を前記熱溶解プロセスに付した後、かつ前記水性組成物の前記一部分を前記核酸増幅プロセスに付す前に、前記水性組成物の前記一部分を用い、核酸増幅用の脱水された試薬を再水和すること、を更に含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

ポリメラーゼ媒介核酸増幅反応を阻害する物質を封鎖する水不溶性材料と、

有機多価陽イオンキレート試薬と、

少なくとも 1 種のノニオン性界面活性剤と、

三価鉄と、

ポリメラーゼ活性を促進する試薬と、

N - シクロヘキシル - 3 - アミノプロパンスルホン酸又はその塩を含む緩衝液と、

水と、

を含み、

1 mM 未満のリン酸又はその塩を含み、2.5 で pH が約 9.8 ~ 10.5 (両端の値を含む) である、溶解緩衝液。

【請求項 7】

前記有機多価陽イオンキレート試薬が、三価鉄イオンに対して  $10^4 \cdot 2$  以上の結合定数と、マグネシウムイオンに対して  $10^3 \cdot 8$  未満の結合定数とを有し、前記第 1 の結合定数及び前記第 2 の結合定数が、20 の脱イオン水中、pH 8.45 で測定されたものである、請求項 6 に記載の溶解緩衝液。

【請求項 8】

塩化カリウムを更に含む、請求項 6 又は 7 に記載の溶解緩衝液。

【請求項 9】

硫酸アンモニウムを更に含む、請求項 6 ~ 8 のいずれか一項に記載の溶解緩衝液。

【請求項 10】

前記溶解緩衝液の温度をモニターするための指示染料を更に含む、請求項 6 ~ 9 のいずれか一項に記載の溶解緩衝液。