

【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】平成25年2月7日 (2013.2.7)

【公表番号】特表2012-513758(P2012-513758A)  
 【公表日】平成24年6月21日 (2012.6.21)  
 【年通号数】公開・登録公報2012-024  
 【出願番号】特願2011-543724(P2011-543724)  
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 Q 1/04 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 Q 1/04 Z N A

C 1 2 Q 1/68 A

【手続補正書】

【提出日】平成24年12月12日 (2012.12.12)

【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】

第一の T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドおよびプライマーオリゴヌクレオチドを含む、*Listeria* 核酸増幅アッセイにおいて使用するためのオリゴヌクレオチドのセットであって、

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、大腸菌 16S rRNA の約 364 - 440 のヌクレオチド位置に対応する *Listeria* 核酸領域内の配列をターゲットにし、

前記プライマーオリゴヌクレオチドが、*Listeria* 核酸領域内の配列をターゲットにし、および

前記増幅アッセイにおいて使用される前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記プライマーオリゴヌクレオチドが、増幅すべき前記 *Listeria* 核酸配列の逆ストランドをターゲットにする、オリゴヌクレオチドのセット。

【請求項 2】

第二の T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドであって、その配列が、前記第一の T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドと一部重複するが、1つ以上の *Listeria* 種の塩基配列間でミスマッチが存在する位置において1つ以上の塩基が異なるものである第二の T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドをさらに含む、請求項 1 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項 3】

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの第一のものが、大腸菌 16S rRNA のヌクレオチド位置 407 に対応する *Listeria* 核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にアデニンを含み、および

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの第二のものが、大腸菌 16S rRNA のヌクレオチド位置 407 に対応する *Listeria* 核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にグアニンを含む、

請求項 2 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項 4】

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、大腸菌 16 S rRNA の約 398 - 417 のヌクレオチド位置に対応する *Listeria* 核酸領域内の配列をターゲットにする、請求項 2 または 3 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項 5】

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つの塩基配列が、配列番号 8、9、10、11、12、13、14、15 の塩基配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、請求項 2 ~ 4 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項 6】

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの前記第一のものの塩基配列が、配列番号 13 の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの前記第二のものの塩基配列が、配列番号 14 の塩基配列またはその相補配列を含む、請求項 3 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項 7】

前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、大腸菌 16 S rRNA の約 439 - 505 のヌクレオチド位置に対応する *Listeria* 核酸領域内の配列をターゲットにする、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項 8】

前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、大腸菌 16 S rRNA の約 480 - 501 のヌクレオチド位置に対応する *Listeria* 核酸領域内の配列をターゲットにする、請求項 7 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項 9】

前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 16、17、18、19、20、21、22、23 の配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、請求項 7 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項 10】

前記第一の T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 13 の塩基配列またはその相補配列を含むかあるいは配列番号 14 の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 23 の塩基配列またはその相補配列を含む、請求項 1 または請求項 2 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項 11】

検出オリゴヌクレオチドをさらに含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項 12】

前記検出オリゴヌクレオチドが分子トーチオリゴヌクレオチドであり、前記トーチオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 24、25、26、27、28 の配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、請求項 11 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項 13】

ブロッカーオリゴヌクレオチド、ターゲット捕捉オリゴヌクレオチドまたはヘルパーオリゴヌクレオチドのうちの 1 以上をさらに含む、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項 14】

前記ブロッカーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 1、2、3、4、5、6、7 の配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、請求項 13 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項 15】

前記ターゲット捕捉オリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 29、30、31、32

、 33、34、35、36の配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、請求項13に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項16】

配列番号13の塩基配列またはその相補配列を含む第一のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドと、配列番号14の塩基配列またはその相補配列を含む第二のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドと、配列番号23の塩基配列またはその相補配列を含むプライマーオリゴヌクレオチドとを含む、*Listeria* 核酸増幅アッセイにおいて使用するためのオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項17】

検出オリゴヌクレオチドであって、前記検出オリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号27の塩基配列またはその相補配列を含む検出オリゴヌクレオチド；あるいは  
ブロッカーオリゴヌクレオチドであって、前記ブロッカーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号6の塩基配列またはその相補配列を含む、ブロッカーオリゴヌクレオチド；  
あるいは  
ターゲット捕捉オリゴヌクレオチドであって、前記ターゲット捕捉オリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号31またはその相補配列である、ターゲット捕捉オリゴヌクレオチド；

のうちの1つ以上をさらに含む、請求項16に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項18】

2つ以上のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび1つ以上のプライマーオリゴヌクレオチドを含む、*Listeria* 核酸増幅アッセイにおいて使用するためのオリゴヌクレオチドのセットであって、

*L. monocytogenes*、*L. innocua*、*L. grayi*、*L. ivanovii*、*L. welshimeri*、*L. murrayi*、および*L. seeligeri*が、前記*Listeria* 核酸増幅アッセイ条件下で増幅されるように、前記2つ以上のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記1つ以上のプライマーオリゴヌクレオチドが構成および配列され；

*Brochothrix thermosphacta*および*Erysipelothrix rhusiopathiae*が、前記*Listeria* 核酸増幅アッセイ条件下で実質的に増幅されないように、前記2つ以上のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記1つ以上のプライマーオリゴヌクレオチドが構成および配列される、オリゴヌクレオチドのセット。

【請求項19】

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドの第一のものが、大腸菌16S rRNAのヌクレオチド位置407に対応する*Listeria* 核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にアデニンを含み、および

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドの第二のものが、大腸菌16S rRNAのヌクレオチド位置407に対応する*Listeria* 核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にグアニンを含む、

請求項18に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項20】

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも1つの塩基配列が、大腸菌16S rRNAの約398 - 417のヌクレオチド位置に対応する*Listeria* 核酸領域内の配列をターゲットにする、請求項18または19に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

【請求項21】

前記第一のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号13の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記第二のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号14の塩基配列またはその相補配列を含む、請求項19に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

## 【請求項 22】

前記プライマーオリゴヌクレオチドが、大腸菌 16S rRNA の約 480 - 501 のヌクレオチド位置に対応する *Listeria* 核酸領域内の配列をターゲットにする、請求項 18 ~ 21 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

## 【請求項 23】

前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 23 の塩基配列またはその相補配列を含む、請求項 18 ~ 22 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

## 【請求項 24】

検出オリゴヌクレオチドをさらに含む、請求項 18 ~ 23 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

## 【請求項 25】

請求項 1 ~ 24 のいずれか一項に記載の T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドおよびプライマーオリゴヌクレオチドを含む、*Listeria* 核酸増幅アッセイにおいて使用するためのキット。

## 【請求項 26】

検出オリゴヌクレオチド、ブロッカーオリゴヌクレオチド、ヘルパーオリゴヌクレオチドまたはターゲット捕捉オリゴヌクレオチドのうちの 1 以上をさらに含む、請求項 25 に記載のキット。

## 【請求項 27】

前記検出オリゴヌクレオチドがトーチオリゴヌクレオチドであり、前記トーチオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 24、25、26、27、28 の塩基配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、請求項 26 に記載のキット。

## 【請求項 28】

前記ブロッカーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 1、2、3、4、5、6、7 の塩基配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、請求項 26 に記載のキット。

## 【請求項 29】

前記ターゲット捕捉オリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 29、30、31、32、33、34、35、36 の塩基配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、請求項 26 に記載のキット。

## 【請求項 30】

請求項 1 ~ 10 および 12 ~ 24 のいずれか一項に記載の T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドおよびプライマーオリゴヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドのセットを使用して核酸増幅アッセイを行うことおよび検出工程を行って、前記サンプル中の *Listeria* の存在または不在の指標として前記増幅アッセイからの産物の存在または不在を同定することを含む、サンプル中の *Listeria* を検出するための方法。

## 【請求項 31】

前記オリゴヌクレオチドのセットが検出オリゴヌクレオチドをさらに含む、請求項 30 に記載の方法。

## 【請求項 32】

前記検出オリゴヌクレオチドがトーチオリゴヌクレオチドであり、前記トーチオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 24、25、26、27、28 の配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、請求項 31 に記載の方法。

## 【請求項 33】

前記オリゴヌクレオチドのセットがブロッカーオリゴヌクレオチド、ターゲット捕捉オリゴヌクレオチドまたはヘルパーオリゴヌクレオチドのうちの 1 以上をさらに含む、請求項 30 または 32 に記載の方法。

## 【請求項 34】

前記ブロッカーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 1、2、3、4、5、6、7 の配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、請求項 33 に記載の方法。

。

【請求項 35】

前記ターゲット捕捉オリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 29、30、31、32、33、34、35、36 の塩基配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、請求項 33 に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0025

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0025】

本明細書において提供する態様の一部の好ましい実施形態において、前記組成物、キット、および/または方法は、ヘルパーオリゴヌクレオチドをさらに含むまたは使用することがある。

本発明の好ましい実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目 1)

T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドおよびプライマーオリゴヌクレオチドを含む、L i s t e r i a 核酸増幅アッセイにおいて使用するためのオリゴヌクレオチドのセットであって、

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、大腸菌 16 S r R N A の約 364 - 440 のヌクレオチド位置に対応する L i s t e r i a 核酸領域内の配列をターゲットにし、

前記プライマーオリゴヌクレオチドが、L i s t e r i a 核酸領域内の配列をターゲットにし、および

前記増幅アッセイにおいて使用される前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記プライマーオリゴヌクレオチドが、増幅すべき前記 L i s t e r i a 核酸配列の逆ストランドをターゲットにする、オリゴヌクレオチドのセット。

(項目 2)

第二の T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドであって、その配列が、第一の T7 プロバイダーと一部重複するが、1つ以上の L i s t e r i a 種の塩基配列間でミスマッチが存在する位置において1つ以上の塩基が異なるものである第二の T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 1 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 3)

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの第一のものが、大腸菌 16 S r R N A のヌクレオチド位置 407 に対応する L i s t e r i a 核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にアデニンを含み、および

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの第二のものが、大腸菌 16 S r R N A のヌクレオチド位置 407 に対応する L i s t e r i a 核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にグアニンを含む、

項目 2 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 4)

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも1つが、大腸菌 16 S r R N A の約 398 - 417 のヌクレオチド位置に対応する L i s t e r i a 核酸領域内の配列をターゲットにする、項目 2 または 3 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 5)

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも1つの塩基配列が、配列番号 8、9、10、11、12、13、14、15 の塩基配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、項目 2 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 6)

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの1つの塩基配列が、配列番号 13 の塩基配列

またはその相補配列を含む、項目 2 ~ 4 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 7)

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの 1 つの塩基配列が、配列番号 14 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 2 ~ 4 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 8)

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの前記第一のものの塩基配列が、配列番号 13 の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの前記第二のものの塩基配列が、配列番号 14 の配列塩基またはその相補配列を含む、項目 3 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 9)

前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、大腸菌 16S rRNA の約 439 - 505 のヌクレオチド位置に対応する *Listeria* 核酸領域内の配列をターゲットにする、項目 1 ~ 8 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 10)

前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、大腸菌 16S rRNA の約 480 - 501 のヌクレオチド位置に対応する *Listeria* 核酸領域内の配列をターゲットにする、項目 1 ~ 9 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 11)

前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 16、17、18、19、20、21、22、23 の配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、項目 1 ~ 9 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 12)

前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 23 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 1 ~ 11 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 13)

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 13 の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 23 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 1 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

。

(項目 14)

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つの塩基配列が、配列番号 13 の塩基配列またはその相補配列を含み、前記プライマーオリゴヌクレオチドが、配列番号 23 の配列またはその相補配列を含む、項目 2 または 3 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 15)

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 14 の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 23 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 1 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

。

(項目 16)

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つの塩基配列が、配列番号 14 の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 23 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 2 または 3 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 17)

検出オリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 1 ~ 16 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 18)

前記検出オリゴヌクレオチドが、トーチオリゴヌクレオチドまたはアクリジニウムエステルプローブである、項目 17 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 19)

前記トーチオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 24、25、26、27、28 の配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、項目 18 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 20)

ブロッカーオリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 1 ~ 19 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 21)

前記ブロッカーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 1、2、3、4、5、6、7 の配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、項目 20 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 22)

ターゲット捕捉オリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 1 ~ 21 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 23)

前記ターゲット捕捉オリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 29、30、31、32、33、34、35、36 の配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、項目 22 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 24)

ヘルパーオリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 1 ~ 23 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 25)

配列番号 13 の塩基配列またはその相補配列を含む第一の T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドと、配列番号 14 の塩基配列またはその相補配列を含む第二の T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドと、配列番号 23 の塩基配列またはその相補配列を含むプライマーオリゴヌクレオチドとを含む、L i s t e r i a 核酸増幅アッセイにおいて使用するためのオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 26)

検出オリゴヌクレオチドをさらに含み、前記検出オリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 27 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 25 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 27)

ブロッカーオリゴヌクレオチドをさらに含み、前記ブロッカーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 6 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 25 または 26 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 28)

ターゲット捕捉オリゴヌクレオチドをさらに含み、前記ターゲット捕捉オリゴヌクレオチドが、配列番号 31 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 25 ~ 27 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 29)

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に少なくとも 90 % 相補的である 15 ~ 35 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1、13、および 15 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 30)

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に少なくとも 90 % 相補的である 15 ~ 35 のヌクレオチド塩基を含む、項目 2 ~ 8、14、16、または 25 ~ 28 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 3 1)

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に 1 0 0 % 相補的である 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1、1 3、および 1 5 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 3 2)

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に 1 0 0 % 相補的である 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 2 ~ 8、1 4、1 6、または 2 5 ~ 2 8 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 3 3)

ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、1 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1、1 3、および 1 5 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 3 4)

ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、1 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 2 ~ 8、1 4、1 6、または 2 5 ~ 2 8 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 3 5)

ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、2 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1、1 3、および 1 5 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 3 6)

ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、2 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチドを含む、項目 2 ~ 8、1 4、1 6、または 2 5 ~ 2 8 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 3 7)

ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、3 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1、1 3、および 1 5 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 3 8)

ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、3 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 2 ~ 8、1 4、1 6、または 2 5 ~ 2 8 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 3 9)

ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、4 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1、1 3、および 1 5 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 4 0)

ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、4 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 2 ~ 8、1 4、1 6、または 2 5 ~ 2 8 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 4 1)

ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、5 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1、1 3、および 1 5 のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 4 2)



ターゲットとなる前記 *Listeria* 核酸配列に相補的である前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも1つが、5つのミスマッチを伴う15～35のヌクレオチド塩基を含む、項目2～8、14、16、または25～28のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目43)

2つ以上のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび1つ以上のプライマーオリゴヌクレオチドを含む、*Listeria* 核酸増幅アッセイにおいて使用するためのオリゴヌクレオチドのセットであって、

*L. monocytogenes*、*L. innocua*、*L. grayi*、*L. ivanovii*、*L. welshimeri*、*L. murrayi*、および*L. seeligeri*が、前記 *Listeria* 核酸増幅アッセイ条件下で増幅されるように、前記2つ以上のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記1つ以上のプライマーオリゴヌクレオチドが構成および配列され；

*Brochothrix thermosphacta*および*Erysipelothrix rhusiopathiae*が、前記 *Listeria* 核酸増幅アッセイ条件下で実質的に増幅されないように、前記2つ以上のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記1つ以上のプライマーオリゴヌクレオチドが構成および配列される、オリゴヌクレオチドのセット。

(項目44)

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドの第一のものが、大腸菌16S rRNAのヌクレオチド位置407に対応する *Listeria* 核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にアデニンを含み、および

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドの第二のものが、大腸菌16S rRNAのヌクレオチド位置407に対応する *Listeria* 核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にグアニンを含む、  
項目43に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目45)

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも1つの塩基配列が、大腸菌16S rRNAの約398 - 417のヌクレオチド位置に対応する *Listeria* 核酸領域内の配列をターゲットにする、項目43または44に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目46)

前記第一のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号13の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記第二のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号14の塩基配列またはその相補配列を含む、項目44に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目47)

前記プライマーオリゴヌクレオチドが、大腸菌16S rRNAの約480 - 501のヌクレオチド位置に対応する *Listeria* 核酸領域内の配列をターゲットにする、項目43～46のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目48)

前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号23の塩基配列またはその相補配列を含む、項目43～47のいずれか一項に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目49)

検出オリゴヌクレオチドをさらに含む、項目43～48に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目50)

T7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよびプライマーオリゴヌクレオチドを含む、*Listeria* 核酸増幅アッセイにおいて使用するためのキットであって、

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドが、大腸菌16S rRNAの約364 - 4

40のヌクレオチド位置に対応するL i s t e r i a核酸領域内の配列をターゲットにし、

前記プライマーオリゴヌクレオチドが、L i s t e r i a核酸領域内の配列をターゲットにし、および

前記増幅アッセイにおいて使用される前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記プライマーオリゴヌクレオチドが、増幅すべき前記L i s t e r i a核酸配列の逆ストランドをターゲットにする、キット。

(項目51)

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドが、大腸菌16S rRNAのヌクレオチド位置407に対応するL i s t e r i a核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にアデニンを含む、項目50に記載のキット。

(項目52)

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドが、大腸菌16S rRNAのヌクレオチド位置407に対応するL i s t e r i a核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にグアニンを含む、項目50に記載のキット。

(項目53)

第二のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドをさらに含む、項目50に記載のキット。

(項目54)

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドの1つが、大腸菌16S rRNAのヌクレオチド位置407に対応するL i s t e r i a核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にアデニンを含む、項目53に記載のキット。

(項目55)

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドの1つが、大腸菌16S rRNAのヌクレオチド位置407に対応するL i s t e r i a核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にグアニンを含む、項目53に記載のキット。

(項目56)

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドの第一のものが、大腸菌16S rRNAのヌクレオチド位置407に対応するL i s t e r i a核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にアデニンを含み、および

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドの第二のものが、大腸菌16S rRNAのヌクレオチド位置407に対応するL i s t e r i a核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にグアニンを含む、

項目53に記載のキット。

(項目57)

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドが、大腸菌16S rRNAの約398-417のヌクレオチド位置に対応するL i s t e r i a核酸領域内の配列をターゲットにする、項目50~52のいずれか一項に記載のキット。

(項目58)

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも1つが、大腸菌16S rRNAの約398-417のヌクレオチド位置に対応するL i s t e r i a核酸領域内の配列をターゲットにする、項目53~56に記載のキット。

(項目59)

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも1つの塩基配列が、配列番号8、9、10、11、12、13、14、15の塩基配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、項目53に記載のキット。

(項目60)

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドの1つの塩基配列が、配列番号13の塩基配列またはその相補配列を含む、項目53、54または56のいずれか一項に記載のキット。

(項目61)

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドの1つの塩基配列が、配列番号14の塩基配列

またはその相補配列を含む、項目 5 3、5 5 または 5 6 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 6 2)

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの前記第一のものの塩基配列が、配列番号 1 3 の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの前記第二のものの塩基配列が、配列番号 1 4 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 5 6 に記載のキット。

(項目 6 3)

前記プライマーオリゴヌクレオチドが、大腸菌 1 6 S rRNA の約 4 3 9 - 5 0 5 のヌクレオチド位置に対応する L i s t e r i a 核酸領域内の配列をターゲットにする、項目 5 0 ~ 6 2 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 6 4)

前記プライマーオリゴヌクレオチドが、大腸菌 1 6 S rRNA の約 4 8 0 - 5 0 1 のヌクレオチド位置に対応する L i s t e r i a 核酸領域内の配列をターゲットにする、項目 5 0 ~ 6 3 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 6 5)

前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 1 6、1 7、1 8、1 9、2 0、2 1、2 2、2 3 の塩基配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、項目 5 0 ~ 6 3 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 6 6)

前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 2 3 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 5 0 ~ 6 5 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 6 7)

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 1 3 の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 2 3 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 5 0 ~ 5 2 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 6 8)

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの 1 つの塩基配列が、配列番号 1 3 の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 2 3 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 5 3、5 4 および 5 6 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 6 9)

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 1 4 の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 2 3 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 5 0 ~ 5 2 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 7 0)

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの 1 つの塩基配列が、配列番号 1 4 の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 2 3 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 5 3、5 5 および 5 6 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 7 1)

検出オリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 5 0 ~ 7 0 のいずれか一項に記載のキット。

(項目 7 2)

前記検出オリゴヌクレオチドが、トーチオリゴヌクレオチドまたはアクリジニウムエステルプローブである、項目 7 1 に記載のキット。

(項目 7 3)

前記トーチオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 2 4、2 5、2 6、2 7、2 8 の塩基配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、項目 7 2 に記載のキット。

( 項目 7 4 )

ブロッカーオリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 5 0 ~ 7 3 のいずれか一項に記載のキット。

( 項目 7 5 )

前記ブロッカーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 1、2、3、4、5、6、7 の塩基配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、項目 7 4 に記載のキット。

( 項目 7 6 )

ターゲット捕捉オリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 5 0 ~ 7 5 のいずれか一項に記載のキット。

( 項目 7 7 )

前記ターゲット捕捉オリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 2 9、3 0、3 1、3 2、3 3、3 4、3 5、3 6 の塩基配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、項目 7 6 に記載のキット。

( 項目 7 8 )

ヘルパーオリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 5 0 ~ 7 7 のいずれか一項に記載のキット。

( 項目 7 9 )

配列番号 1 3 の塩基配列またはその相補配列を含む第一の T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドと、配列番号 1 4 の塩基配列またはその相補配列を含む第二の T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドと、配列番号 2 3 の塩基配列またはその相補配列を含むプライマーオリゴヌクレオチドとを含む、L i s t e r i a 核酸増幅アッセイにおいて使用するためのキット。

( 項目 8 0 )

配列番号 2 7 の塩基配列またはその相補配列を含む検出オリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 7 9 に記載のキット。

( 項目 8 1 )

配列番号 6 の塩基配列またはその相補配列を含むブロッカーオリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 7 9 または 8 0 に記載のキット。

( 項目 8 2 )

配列番号 3 1 の塩基配列またはその相補配列を含むターゲット捕捉オリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 7 9 ~ 8 1 のいずれか一項に記載のキット。

( 項目 8 3 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に少なくとも 9 0 % 相補的である 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 5 0 ~ 5 2、5 7、6 7、および 6 9 のいずれか一項に記載のキット。

( 項目 8 4 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に 1 0 0 % 相補的である 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 5 0 ~ 5 2、5 7、6 7、および 6 9 のいずれか一項に記載のキット。

( 項目 8 5 )

ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、1 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 5 0 ~ 5 2、5 7、6 7、または 6 9 のいずれか一項に記載のキット。

( 項目 8 6 )

ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、2 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 5 0 ~ 5 2、5 7、6 7、または 6 9 のいずれか一項に記載のキット。

( 項目 8 7 )

ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオ

リゴヌクレオチドが、3つのミスマッチを伴う15～35のヌクレオチド塩基を含む、項目50～52、57、67、または69のいずれか一項に記載のキット。

(項目88)

ターゲットとなる前記*Listeria*核酸配列に相補的である前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドが、4つのミスマッチを伴う15～35のヌクレオチド塩基を含む、項目50～52、57、67、または69のいずれか一項に記載のキット。

(項目89)

ターゲットとなる前記*Listeria*核酸配列に相補的である前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドが、5つのミスマッチを伴う15～35のヌクレオチド塩基を含む、項目50～52、57、67、または69のいずれか一項に記載のキット。

(項目90)

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも1つが、ターゲットとなる前記*Listeria*核酸配列に少なくとも90%相補的である15～35のヌクレオチド塩基を含む、項目53～56、58～62、68、70、または79～82のいずれか一項に記載のキット。

(項目91)

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも1つが、ターゲットとなる前記*Listeria*核酸配列に100%相補的である15～35のヌクレオチド塩基を含む、項目53～56、58～62、68、70、79～82、または90のいずれか一項に記載のキット。

(項目92)

ターゲットとなる前記*Listeria*核酸配列に相補的である前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも1つが、1つのミスマッチを伴う15～35のヌクレオチド塩基を含む、項目53～56、58～62、68、70、79～82、または90のいずれか一項に記載のキット。

(項目93)

ターゲットとなる前記*Listeria*核酸配列に相補的である前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも1つが、2つのミスマッチを伴う15～35のヌクレオチド塩基を含む、項目53～56、58～62、68、70、79～82、または90のいずれか一項に記載のキット。

(項目94)

ターゲットとなる前記*Listeria*核酸配列に相補的である前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも1つが、3つのミスマッチを伴う15～35のヌクレオチド塩基を含む、項目53～56、58～62、68、70、79～82、または90のいずれか一項に記載のキット。

(項目95)

ターゲットとなる前記*Listeria*核酸配列に相補的である前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも1つが、4つのミスマッチを伴う15～35のヌクレオチド塩基を含む、項目53～56、58～62、68、70、79～82、または90のいずれか一項に記載のキット。

(項目96)

ターゲットとなる前記*Listeria*核酸配列に相補的である前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも1つが、5つのミスマッチを伴う15～35のヌクレオチド塩基を含む、項目53～56、58～62、68、70、79～82、または90のいずれか一項に記載のキット。

(項目97)

2つ以上のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび1つ以上のプライマーオリゴヌクレオチドを含む、*Listeria*核酸増幅アッセイにおいて使用するためのキットであって、

*L. monocytogenes*、*L. innocua*、*L. grayi*、*L. iva*

novii、L. welshimeri、L. murrayi、およびL. seeligeriが、前記Listeria核酸増幅アッセイ条件下で増幅されるように、前記2つ以上のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記1つ以上のプライマーオリゴヌクレオチドが構成および配列され；

Brochothrix thermosphactaおよびErysipelothrix rhusiopathiaeが、前記Listeria核酸増幅アッセイ条件下で実質的に増幅されないように、前記2つ以上のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記1つ以上のプライマーオリゴヌクレオチドが構成および配列される、キット。

(項目98)

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドの第一のものが、大腸菌16S rRNAのヌクレオチド位置407に対応するListeria核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にアデニンを含み、および

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドの第二のものが、大腸菌16S rRNAのヌクレオチド位置407に対応するListeria核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にグアニンを含む、

項目97に記載のキット。

(項目99)

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも1つが、大腸菌16S rRNAの約398 - 417のヌクレオチド位置に対応するListeria核酸領域内の配列をターゲットにする、項目97または98に記載のキット。

(項目100)

前記第一のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号13の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記第二のT7プロバイダーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号14の塩基配列またはその相補配列を含む、項目98に記載のキット

。

(項目101)

前記プライマーオリゴヌクレオチドが、大腸菌16S rRNAの約480 - 501のヌクレオチド位置に対応するListeria核酸領域内の配列をターゲットにする、項目97～100のいずれか一項に記載のキット。

(項目102)

前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号23の塩基配列またはその相補配列を含む、項目97～101のいずれか一項に記載のキット。

(項目103)

検出オリゴヌクレオチドをさらに含む、項目97～102のいずれか一項に記載のキット

。

(項目104)

T7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよびプライマーオリゴヌクレオチドを使用して核酸増幅アッセイを行うことを含む、サンプル中のListeriaを検出するための方法であって、

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドが、大腸菌16S rRNAの約364 - 440のヌクレオチド位置に対応するListeria核酸領域内の配列をターゲットにし、

、

前記プライマーオリゴヌクレオチドが、Listeria核酸領域内の配列をターゲットにし、および

前記増幅アッセイにおいて使用される前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記プライマーオリゴヌクレオチドが、増幅すべき前記Listeria核酸配列の逆ストランドをターゲットにする、方法。

(項目105)

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドが、大腸菌16S rRNAのヌクレオチド位置407に対応するListeria核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌク

レオチド位置にアデニンを含む、項目 1 0 4 に記載の方法。

( 項目 1 0 6 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、大腸菌 1 6 S r R N A のヌクレオチド位置 4 0 7 に対応する L i s t e r i a 核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にグアニンを含む、項目 1 0 4 に記載の方法。

( 項目 1 0 7 )

第二の T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 1 0 4 に記載の方法。

( 項目 1 0 8 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの 1 つが、大腸菌 1 6 S r R N A のヌクレオチド位置 4 0 7 に対応する L i s t e r i a 核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にアデニンを含む、項目 1 0 7 に記載の方法。

( 項目 1 0 9 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの 1 つが、大腸菌 1 6 S r R N A のヌクレオチド位置 4 0 7 に対応する L i s t e r i a 核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にグアニンを含む、項目 1 0 7 に記載の方法。

( 項目 1 1 0 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの第一のものが、大腸菌 1 6 S r R N A のヌクレオチド位置 4 0 7 に対応する L i s t e r i a 核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にアデニンを含み、および

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの第二のものが大腸菌 1 6 S r R N A のヌクレオチド位置 4 0 7 に対応する L i s t e r i a 核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にグアニンを含む、項目 1 0 7 に記載の方法。

( 項目 1 1 1 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、大腸菌 1 6 S r R N A の約 3 9 8 - 4 1 7 のヌクレオチド位置に対応する L i s t e r i a 核酸領域内の配列をターゲットにする、項目 1 0 4 ~ 1 0 6 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 1 1 2 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、大腸菌 1 6 S r R N A の約 3 9 8 - 4 1 7 のヌクレオチド位置に対応する L i s t e r i a 核酸領域内の配列をターゲットにする、項目 1 0 7 ~ 1 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 1 1 3 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つの塩基配列が、配列番号 8、9、10、11、12、13、14、15 の塩基配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、項目 1 0 7 に記載の方法。

( 項目 1 1 4 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの 1 つの塩基配列が、配列番号 1 3 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 1 0 7、1 0 8、または 1 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 1 1 5 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの 1 つの塩基配列が、配列番号 1 4 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 1 0 7、1 0 9、または 1 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 1 1 6 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの前記第一のものの塩基配列が、配列番号 1 3 の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの前記第二のものの塩基配列が、配列番号 1 4 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 1 1 0 に記載の方法。

( 項目 1 1 7 )

前記プライマーオリゴヌクレオチドが、大腸菌 1 6 S r R N A の約 4 3 9 - 5 0 5 のヌクレオチド位置に対応する L i s t e r i a 核酸領域内の配列をターゲットにする、項目

1 0 4 ~ 1 1 6 のいずれか一項に記載の方法。

( 項 目 1 1 8 )

前記プライマーオリゴヌクレオチドが、大腸菌 1 6 S r R N A の約 4 8 0 - 5 0 1 のヌクレオチド位置に対応する L i s t e r i a 核酸領域内の配列をターゲットにする、項目 1 0 4 ~ 1 1 7 のいずれか一項に記載の方法。

( 項 目 1 1 9 )

前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 1 6 、 1 7 、 1 8 、 1 9 、 2 0 、 2 1 、 2 2 、 2 3 の塩基配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、項目 1 0 4 ~ 1 1 7 のいずれか一項に記載の方法。

( 項 目 1 2 0 )

前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 2 3 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 1 0 4 ~ 1 1 9 のいずれか一項に記載の方法。

( 項 目 1 2 1 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 1 3 の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 2 3 の塩基配列または相補配列を含む、項目 1 0 4 ~ 1 0 6 のいずれか一項に記載の方法

。

( 項 目 1 2 2 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの 1 つの塩基配列が、配列番号 1 3 の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 2 3 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 1 0 7 、 1 0 8 、 および 1 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

( 項 目 1 2 3 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 1 4 の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 2 3 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 1 0 4 、 1 0 5 、 および 1 0 6 のいずれか一項に記載の方法。

( 項 目 1 2 4 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの 1 つの塩基配列が、配列番号 1 4 の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 2 3 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 1 0 7 、 1 0 9 、 および 1 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

( 項 目 1 2 5 )

検出オリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 1 0 4 ~ 1 2 4 のいずれか一項に記載の方法

。

( 項 目 1 2 6 )

前記検出オリゴヌクレオチドが、トーチオリゴヌクレオチドまたはアクリジニウムエステルプローブである、項目 1 2 5 に記載の方法。

( 項 目 1 2 7 )

前記トーチオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 2 4 、 2 5 、 2 6 、 2 7 、 2 8 の配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、項目 1 2 6 に記載の方法。

( 項 目 1 2 8 )

ブロックオリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 1 0 4 ~ 1 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

( 項 目 1 2 9 )

前記ブロックオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 の配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、項目 1 2 8 に記載の方法

。

( 項 目 1 3 0 )

ターゲット捕捉オリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 1 0 4 ~ 1 2 9 のいずれか一項に



記載の方法。

(項目 1 3 1)

前記ターゲット捕捉オリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 2 9、3 0、3 1、3 2、3 3、3 4、3 5、3 6 の塩基配列およびそれらの相補配列から選択される塩基配列を含む、項目 1 3 0 に記載の方法。

(項目 1 3 2)

ヘルパーオリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 1 0 4 ~ 1 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 3 3)

配列番号 1 3 の塩基配列またはその相補配列を含む第一の T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドと、配列番号 1 4 の塩基配列またはその相補配列を含む第二の T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドと、配列番号 2 3 の塩基配列またはその相補配列を含むプライマーオリゴヌクレオチドとを使用して核酸増幅アッセイを行うことを含む、サンプル中の L i s t e r i a を検出するための方法。

(項目 1 3 4)

配列番号 2 7 の塩基配列またはその相補配列を含む検出オリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 1 3 3 に記載の方法。

(項目 1 3 5)

配列番号 6 の塩基配列またはその相補配列を含むブロッカーオリゴヌクレオチドをさらに含む、項目 1 3 3 または 1 3 4 に記載の方法。

(項目 1 3 6)

配列番号 3 1 の塩基配列またはその相補配列を含むターゲット捕捉オリゴヌクレオチドをさらに含む項目 1 3 3 ~ 1 3 5 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 3 7)

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に少なくとも 9 0 % 相補的である 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1 0 4、1 0 5、1 0 6、1 1 1、1 2 1、または 1 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 3 8)

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に 1 0 0 % 相補的である 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1 0 4 ~ 1 0 6、1 1 1、1 2 1、または 1 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 3 9)

ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、1 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1 0 4 ~ 1 0 6、1 1 1、1 2 1、または 1 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 4 0)

ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、2 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1 0 4 ~ 1 0 6、1 1 1、1 2 1、または 1 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 4 1)

ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、3 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1 0 4 ~ 1 0 6、1 1 1、1 2 1、または 1 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 4 2)

ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、4 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1 0 4 ~ 1 0 6、1 1 1、1 2 1、または 1 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 4 3)

ターゲットとなる前記 L i s t e r i a 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドが、5 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項

目 1 0 4 ~ 1 0 6、1 1 1、1 2 1、または 1 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

( 項 目 1 4 4 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、ターゲットとなる前記 *L i s t e r i a* 核酸配列に少なくとも 9 0 % 相補的である 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1 0 7 ~ 1 1 0、1 1 2 ~ 1 1 6、1 2 2、1 2 4、または 1 3 3 ~ 1 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

( 項 目 1 4 5 )

前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、ターゲットとなる前記 *L i s t e r i a* 核酸配列に 1 0 0 % 相補的である 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1 0 7 ~ 1 1 0、1 1 2 ~ 1 1 6、1 2 2、1 2 4、1 3 3 ~ 1 3 6、または 1 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

( 項 目 1 4 6 )

ターゲットとなる前記 *L i s t e r i a* 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、1 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1 0 7 ~ 1 1 0、1 1 2 ~ 1 1 6、1 2 2、1 2 4、1 3 3 ~ 1 3 6、または 1 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

( 項 目 1 4 7 )

ターゲットとなる前記 *L i s t e r i a* 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、2 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1 0 7 ~ 1 1 0、1 1 2 ~ 1 1 6、1 2 2、1 2 4、1 3 3 ~ 1 3 6、または 1 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

( 項 目 1 4 8 )

ターゲットとなる前記 *L i s t e r i a* 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、3 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1 0 7 ~ 1 1 0、1 1 2 ~ 1 1 6、1 2 2、1 2 4、1 3 3 ~ 1 3 6、または 1 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

( 項 目 1 4 9 )

ターゲットとなる前記 *L i s t e r i a* 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、4 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1 0 7 ~ 1 1 0、1 1 2 ~ 1 1 6、1 2 2、1 2 4、1 3 3 ~ 1 3 6、または 1 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

( 項 目 1 5 0 )

ターゲットとなる前記 *L i s t e r i a* 核酸配列に相補的である前記 T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、5 つのミスマッチを伴う 1 5 ~ 3 5 のヌクレオチド塩基を含む、項目 1 0 7 ~ 1 1 0、1 1 2 ~ 1 1 6、1 2 2、1 2 4、1 3 3 ~ 1 3 6、または 1 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

( 項 目 1 5 1 )

2 つ以上の T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび 1 つ以上のプライマーオリゴヌクレオチドを使用して核酸増幅アッセイを行うことを含む、サンプル中の *L i s t e r i a* を検出するための方法であって、

*L . m o n o c y t o g e n e s*、*L . i n n o c u a*、*L . g r a y i*、*L . i v a n o v i i*、*L . w e l s h i m e r i*、*L . m u r r a y i*、および *L . s e e l i g e r i* が、前記 *L i s t e r i a* 核酸増幅アッセイ条件下で増幅されるように、前記 2 つ以上の T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記 1 つ以上のプライマーオリゴヌクレオチドが構成および配列され；

*B r o c h o t h r i x t h e r m o s p h a c t a* および *E r y s i p e l o t h r i x r h u s i o p a t h i a e* が、前記 *L i s t e r i a* 核酸増幅アッセイ条件下で実質的に増幅されないように、前記 2 つ以上の T 7 プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記 1 つ以上のプライマーオリゴヌクレオチドが構成および配列される、方法。

( 項 目 1 5 2 )

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの第一のものが、大腸菌 16S rRNA のヌクレオチド位置 407 に対応する *Listeria* 核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にアデニンを含み、および

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの第二のものが、大腸菌 16S rRNA のヌクレオチド位置 407 に対応する *Listeria* 核酸配列内のヌクレオチド位置に相補的であるヌクレオチド位置にグアニンを含む、

項目 151 に記載の方法。

(項目 153)

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つが、大腸菌 16S rRNA の約 398 - 417 のヌクレオチド位置に対応する *Listeria* 核酸領域内の配列をターゲットにする、項目 151 または 152 に記載の方法。

(項目 154)

前記第一の T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 13 の塩基配列またはその相補配列を含み、および前記第二の T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 14 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 152 に記載の方法。

(項目 155)

前記プライマーオリゴヌクレオチドが、大腸菌 16S rRNA の約 480 - 501 のヌクレオチド位置に対応する *Listeria* 核酸領域内の配列をターゲットにする、項目 151 ~ 154 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 156)

前記プライマーオリゴヌクレオチドの塩基配列が、配列番号 23 の塩基配列またはその相補配列を含む、項目 151 ~ 155 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 157)

検出オリゴヌクレオチドをさらに含む項目 151 ~ 156 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 158)

増幅された前記核酸の検出が、リアルタイムで行われる、項目 104、133、または 151 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 159)

*Listeria* 16S リボソーム核酸の 450 領域のフラグメントを増幅するように計画された 2 つ以上の増幅オリゴヌクレオチドを含む、サンプル中の *Listeria* を検出するためのオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 160)

*Listeria* 16S リボソーム核酸を検出するための 1 つ以上のプローブをさらに含む、項目 159 に記載のオリゴヌクレオチドのセット。

(項目 161)

項目 159 に記載の増幅オリゴヌクレオチドを使用して核酸増幅アッセイを行うこと、および増幅された核酸を項目 160 に記載の 1 つ以上のプローブで検出することを含む、サンプル中の *Listeria* の存在を検出するための方法。

(項目 162)

T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドおよびプライマーオリゴヌクレオチドを含む、*Listeria* 核酸増幅アッセイにおいて使用するためのオリゴヌクレオチドのセットであって、

前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記プライマーが、大腸菌 16S rRNA の約 1180 - 1370 のヌクレオチド位置に対応する *Listeria* 核酸領域内の配列をターゲットにし、ならびに

前記増幅アッセイにおいて使用される前記 T7 プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記プライマーオリゴヌクレオチドが、増幅すべき前記 *Listeria* 核酸配列の逆ストランドをターゲットにする、オリゴヌクレオチドのセット。

(項目 163)

T7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよびプライマーオリゴヌクレオチドを含む、L i s t e r i a 核酸増幅アッセイにおいて使用するためのキットであって、

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記プライマーが、大腸菌16S rRNAの約1180 - 1370のヌクレオチド位置に対応するL i s t e r i a 核酸領域内の配列をターゲットにし、ならびに

前記増幅アッセイにおいて使用される前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記プライマーオリゴヌクレオチドが、増幅すべき前記L i s t e r i a 核酸配列の逆ストランドをターゲットにする、キット。

(項目164)

T7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよびプライマーオリゴヌクレオチドを使用して核酸増幅アッセイを行うことを含む、サンプル中のL i s t e r i aを検出するための方法であって、

前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記プライマーが、大腸菌16S rRNAの約1180 - 1370のヌクレオチド位置に対応するL i s t e r i a 核酸領域内の配列をターゲットにし、ならびに

前記増幅アッセイにおいて使用される前記T7プロバイダーオリゴヌクレオチドおよび前記プライマーオリゴヌクレオチドが、増幅すべき前記L i s t e r i a 核酸配列の逆ストランドをターゲットにする、方法。